

京都大学	博士 (医学)	氏 名	NGUYEN MANH TUNG
論文題目	Activation-induced cytidine deaminase is dispensable for virus-mediated liver and skin tumor development in mouse models (マウスモデルによる肝腫瘍と皮膚腫瘍発がんに AID は必要ない)		
(論文内容の要旨) <p>Activation-induced cytidine deaminase (AID) not only promotes immune diversity by initiating somatic hypermutation (SHM) and class switch recombination (CSR) in immunoglobulin (Ig) genes, but also provokes genomic instability by introducing translocations and mutations into non-Ig genes. Chronic infections of pathogens such as Hepatitis C virus, Helicobacter pylory, and human T cells leukemia type1 in human have been shown to trigger ectopic AID expression which have been supposed to partly play a role in tumor development. To test whether AID is essential for virus-induced tumor development, we used two transgenic tumor models: mice expressing hepatitis C virus (HCV) core proteins (HCV-Tg) driven by the hepatitis B virus-promoter, and mice expressing human papillomavirus type 8 proteins (HPV8-Tg), driven by the K14 promoter. Both strains were analyzed in the absence and presence of AID by crossing each with <i>AID</i>^{-/-} mice. There was no statistical difference in the liver tumor frequency between the HCV-Tg/<i>AID</i>^{+/+} and HCV-Tg/<i>AID</i>^{-/-} mice at 20 months of age, although the <i>AID</i>^{+/+} mice showed more severe histological findings and increased cytokine expression. Furthermore, a low level of AID transcript was detected in the HCV-Tg/<i>AID</i>^{+/+} liver tissue that was not derived from hepatocytes themselves but from intra-hepatic immune cells, and AID protein was not detectable in the liver samples examined by western blot and immunohistochemistry approach. Although AID may not be the direct cause of HCV-induced oncogenesis, AID expressed in B cells, not in hepatocytes, may prolong steatosis and cause increased lymphocyte infiltration into HCV core-protein-induced liver lesions. In case of HPV8-Tg, both the AID protein and its transcript were undetectable in all of skin tumor samples analyzed, histological analysis seem to be similar between HPV8-Tg/<i>AID</i>^{-/-} and HPV8-Tg/<i>AID</i>^{+/+} mice, and finally there was no difference in the time course of skin tumor development between the HPV8-Tg/<i>AID</i>^{-/-} and HPV8-Tg/<i>AID</i>^{+/+} groups. In conclusion, AID does not appear to be required for tumor development in the two virus-induced tumor mouse models tested, although AID expressed in infiltrating B cells may promote inflammatory reactions in HCV core-protein-induced liver pathogenesis.</p>			

(論文内容の要旨)

Activation-induced cytidine deaminase (AID)は免疫グロブリン遺伝子の体細胞突然変異やクラススイッチ組換えを通じて抗体による免疫多様性を創出するのみならず、非免疫グロブリン遺伝子の突然変異や染色体転座を引き起こし、ゲノム不安定性を惹起する。C型肝炎ウイルス(HCV)、ヘリコバクター・ピロリ、成人T細胞白血病ウイルス(HTLV-I)などの各種病原体による慢性感染状態は異所性のAID発現を誘発することが知られ、AIDの発現はそれらの慢性感染に伴う発がんに関与していることが疑われていた。

本研究ではAIDがこれらウイルス誘発性の発がんにとって必須である可能性を探るため、二種類のウイルス発がんモデルマウスを用い、AIDの関わりを検証した。その1つはB型肝炎ウイルスプロモーターの制御下にC型肝炎ウイルスコアタンパク質を発現するHCVコアタンパク質トランスジェニックマウス(HCV-Tg)であり、もう1つはヒトパピローマウイルス8型ウイルスタンパク質をケラチン14プロモーター制御下に発現するHPV8トランスジェニックマウス(HPV8-Tg)である。双方ともに、AIDノックアウトマウスと交配し、AIDの有無と発がんとの関係を検討した。まず、HCV-Tgにおいて、肝組織でのAIDの発現を検討したところ、低レベルのAID mRNAの発現のみが認められ、タンパク質レベルでのAIDは確認できなかった。また、AID mRNAの発現は肝細胞由来ではなく、肝組織に浸潤する免疫担当細胞由来であった。AIDの発現をモニターし、マウスAID遺伝子由来の大腸菌人工染色体制御下にRFPを発現するマウスとの交配によっても、HCV-TgではAIDの発現は肝細胞ではなく浸潤する免疫担当細胞由来と認められた。20ヶ月令のHCV-Tg/*AID*^{+/+}マウスとHCV-Tg/*AID*^{-/-}マウスとの間に肝腫瘍発生頻度の差はなかったが、HCV-Tg/*AID*^{+/+}マウスでは肝脂肪変性の遷延、リンパ球の組織浸潤といった組織学所見がHCV-Tg/*AID*^{-/-}マウスよりも重症な傾向があり、また、HCV-Tg/*AID*^{+/+}マウスでのTNF- α の発現もHCV-Tg/*AID*^{-/-}マウスよりも高く、炎症の程度には両者の間に差があると考えられた。今回の解析においてHCV-Tgマウスにおける肝発がんにはAIDは必須であると結論することはできなかったが、今回の5倍規模でマウス個体数を集積すれば、AIDの関与に関してより強い結論が得られると推測された。本解析で用いたHCV-Tgは肝細胞のみでHCVコアタンパク質を発現するトランスジェニックマウスであるが、HCVの自然感染の場合にはBまたはTリンパ球にもHCVウイルスが感染することが知られるため、自然感染とは病像が異なる可能性もある。また、HPV8-Tg/*AID*^{+/+}マウスの場合、AIDタンパク質やAID mRNAは皮膚病変からは検出されず、組織学的所見もHPV8-Tg/*AID*^{-/-}マウスとHPV8-Tg/*AID*^{+/+}マウスとの比較においても、何ら変わりはない。この2群のマウスの皮膚腫瘍発生頻度を生後6か月間にわたり検討したが、2群間で差は認められなかった。結論として、AIDはこれらの二種類のウイルス誘発性腫瘍マウスモデルにおいて、必須ではないと考えられた。しかしながら、肝腫瘍モデルにおいては、浸潤リンパ球に発現するAIDが炎症像の重症化に関与していると考えられた。

(論文審査の結果の要旨)

Activation-induced cytidine deaminase (AID)は免疫グロブリン遺伝子の体細胞突然変異やクラススイッチ組換えを通じて抗体による免疫多様性を創出するのみならず、非免疫グロブリン遺伝子の突然変異や染色体転座を引き起こし、ゲノム不安定性を惹起する。C型肝炎ウイルス(HCV)、ヘリコバクター・ピロリ、成人T細胞白血病ウイルス(HTLV-I)などの各種病原体による慢性感染状態に異所性のAID発現がそれらに伴う発がんに関与していることが疑われていた。本研究ではAIDがこれらウイルス誘発性の発がんにとって必須である可能性を探るため、二種類のウイルス発がんモデルマウス、すなわちHCV-TgとHPV8-Tgを用い、AIDの関わりを検証した。双方ともに、AIDノックアウトマウスと交配し、AIDの有無と発がんとの関係を検討した。HCV-TgではAIDの発現は肝細胞ではなく浸潤する免疫担当細胞由来と認められ、20ヶ月令のHCV-Tg/AID+/+マウスとHCV-Tg/AID-/-マウスとの間に肝腫瘍発生頻度の差はなかった。しかし、HCV-Tg/AID+/+マウスではHCV-Tg/AID-/-マウスよりも肝臓組織学所見が重症な傾向があり、また、サイトカイン発現もよりも高く、両者の間に炎症の程度の差があると考えられた。また、HPV8-Tg/AID+/+マウスの場合、AIDタンパク質やAID mRNAは皮膚病変からは検出されず、組織学的所見もHPV8-Tg/AID-/-マウスとHPV8-Tg/AID+/+マウスとの間に差はなかった。この2群のマウスの皮膚腫瘍発生頻度も2群間で差は認められなかった。結論として、AIDはこれらの二種類のウイルス誘発性腫瘍マウスモデルにおいて、必須ではないと考えられた。しかしながら、肝腫瘍モデルにおいては、浸潤リンパ球に発現するAIDが炎症像の重症化に関与していると考えられた。

以上の研究は慢性感染に伴う発がんの病理機構解明に貢献し感染病理学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成26年4月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。