

氏 名	こう ただ ゆき 高 忠 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3102 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Expression of activation - induced cytidine deaminase in human hepatocytes during hepatocarcinogenesis. (ヒト肝発癌過程における Activation-induced cytidine deaminase の発現に関する検討)
論文調査委員	(主 査) 教 授 上 本 伸 二 教 授 坂 井 義 治 教 授 武 藤 誠

論 文 内 容 の 要 旨

細胞の分化や増殖、アポトーシスを制御する種々の遺伝子に変異が蓄積することが、ヒトの発癌に深く関与していることが知られている。しかしながら、遺伝子変異の生成蓄積のメカニズムの多くは不明であり、一部の遺伝性大腸癌で DNA 修復系の異常が知られているのみである。

Activation-induced cytidine deaminase (AID) は DNA 上のシチジン (C) を脱アミノ化することによりウリジン (U) に変換させる DNA 編集酵素である。AID は生理的条件下ではリンパ節の胚中心における活性化 B 細胞に特異的に発現し、免疫グロブリンの可変領域への遺伝子変異導入に必須の役割を果たしているが、その異所性発現は癌関連遺伝子への変異導入を介してリンパ系腫瘍の発生に関与していると考えられている。事実、AID のトランスジェニックマウスは高率に悪性リンパ腫を発症するが、同時に肺癌や肝癌などの上皮性腫瘍も発生しうることとも明らかとなってきた。そこで本研究では、ヒト肝細胞における AID の発現とその制御機構を検討することにより、DNA 変異活性を有する AID がヒト肝発癌に寄与している可能性を明らかにすることを目的とした。

最初に、ヒト肝組織中における AID の発現を Real-time RT-PCR 法により検討した。肝炎などのない正常肝組織では AID の発現はほとんど認められなかったが、肝癌組織中では AID の有意な発現上昇を認めた。同時に、ヒト肝癌の発生母地である慢性肝炎・肝硬変を伴った肝組織中においても、AID の発現が顕著であることが明らかとなった。肝疾患の要因別検討では、C 型肝炎ウイルス感染が原因となっている慢性肝疾患・肝癌症例で AID の発現が有意に高いことがわかった。

次に、ヒト AID に特異的な抗体を用いて、タンパク質レベルでの発現の検討を行ったところ、慢性肝疾患・肝癌各組織ともに AID タンパクの有意な発現上昇が Western Blotting により確認された。免疫組織学検討からは、組織浸潤リンパ球とともに慢性肝炎・肝硬変を伴った肝細胞においても肝癌細胞と同じ程度の AID タンパクの発現が認められた。以上のヒト臨床検体の解析結果から、AID は肝癌組織のみならずその前癌状態とされる慢性肝炎や肝硬変組織中においてもその発現が亢進していることが明らかとなった。

AID が慢性炎症下の肝細胞で発現亢進していたことから、慢性肝炎から肝硬変への進展や肝発癌に深く関与することが知られているサイトカイン TGF- β に着目し、肝培養細胞における TGF- β 刺激前後の AID の発現量の比較検討を行った。肝癌由来の肝培養細胞株及びヒト初代培養肝細胞に TGF- β 刺激を加えることにより AID の発現が mRNA 及びタンパク質ともに有意に亢進することがわかった。以上の検討から、AID は炎症性サイトカインの一つである TGF- β 刺激により肝細胞中に発現誘導されることが明らかとなった。

最後に AID の過剰発現が肝細胞中の遺伝子変異生成に関与するかを検討する目的で、HepG2 細胞を用いた AID 誘導活性化系を構築したところ、AID の活性化により癌抑制遺伝子 p53 に複数の遺伝子変異が生成することが確認された。

本研究により、AID はヒト肝細胞においても TGF- β など炎症性サイトカイン刺激により発現が誘導され、ヒト慢性肝疾患や肝癌の組織ではその発現が亢進していることが明らかとなった。DNA 編集酵素である AID の異所性の過剰発現は、

肝発癌過程における遺伝子変異の生成蓄積に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

細胞の分化や増殖、アポトーシスを制御する種々の遺伝子に変異が蓄積することが、ヒトの発癌に深く関与すると考えられているが、遺伝子変異の蓄積のメカニズムの多くは不明である。

本研究において申請者は、DNA 編集酵素である Activation-induced cytidine deaminase (AID) に着目し、ヒト肝癌における遺伝子変異の蓄積への AID の関与についての検討を行った。

ヒト肝組織中の AID 発現の検討では、正常肝組織では AID の発現はほとんど認められないのに対し、肝癌及びその発生源とされる慢性肝炎・肝硬変組織においては AID の発現が著明に上昇していることを明らかにした。また、AID の発現の伴った慢性肝炎・肝硬変組織では肝癌組織と同様に癌抑制遺伝子 p53 遺伝子に遺伝子変異が生じていることを示した。以上の検討から、肝細胞において AID が炎症性刺激により発現誘導されることが示唆された。

In vitro における検討からは、AID は TGF- β 刺激により肝培養細胞において発現誘導されることを示した。また、肝培養細胞を用いた AID 誘導活性化系での検討からは、肝培養細胞における AID の活性化により p53 遺伝子に遺伝子変異が誘導されることが確認された。

以上の研究はヒト発癌過程における遺伝子変異蓄積の分子機構の解明に貢献し、癌研究の発展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のあるものと認める。なお、本学位申請者は平成19年2月5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。