

学位論文抄録

Clarification of the mechanism of p53 inactivation by the novel
HCV infection-related protein 3 β -hydroxysterol Δ 24-reductase

(新規HCV関連因子 3 β -hydroxysterol Δ 24-reductase による
p53機能抑制機構の解明)

西村 知裕

指導教員

原田 信志 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻感染防御学

学位論文抄録

[目的] C型肝炎ウイルス(HCV)は容易に持続感染を成立し、慢性肝炎を引き起こし、肝硬変を経て肝がんを発症する原因となる。肝がんの発症は長期にわたる炎症と修復の繰り返しによると考えられているが、そのメカニズムは不明な点が多く残されている。HCV感染による肝がん発症のメカニズムを解明するために、HCV感染で発現上昇する宿主因子をスクリーニングし、HCV感染に対する新しい治療方法を提案することを目的とした。

[方法] 始めに、HCVの全長遺伝子を持続発現する細胞をマウスに免疫し、複数種の抗体を得た。HCV全長遺伝子発現細胞のみで発現上昇している蛋白質を認識する抗体をスクリーニングし、認識する抗原をMALDI/TOF-MSで同定した。この蛋白質の過剰発現が細胞に与える影響を、ルシフェラーゼレポーター解析法、ウエスタンブロット法、免疫沈降法、RNAiなどの分子生物学的手法で解析した。

[結果] HCV全長遺伝子持続発現細胞で発現上昇する約60kDaの蛋白質3 β -hydroxysterol Δ 24-reductase (DHCR24)を同定した。DHCR24は酸化ストレス誘導性の蛋白質で、がん抑制因子であるp53の安定性にも関与するという報告がある。HCV蛋白質発現細胞のDHCR24をsiRNAでサイレンシングすると、Caspase3/7を介する酸化ストレス誘導性のアポトーシスが促進した。また、HepG2細胞にDHCR24を過剰発現させると、酸化ストレス誘導性のアポトーシスが抑制された。一方、HCV全長遺伝子発現細胞では、p53の翻訳が亢進しているにもかかわらず、p53により活性制御されているp21^{Waf1/Cip1}プロモーターの活性化が抑制されていた。この、DHCR24の過剰発現とp53機能抑制の相関を解明するために、p53の翻訳後修飾を解析した結果、DHCR24過剰発現細胞ではp53のリジン残基(K373/382)アセチル化が抑制されていた。さらに、DHCR24過剰発現細胞では、p53のE3リガーゼであるMDM2と、p53との複合体形成が細胞質で亢進し、p53の核内集積量が減少していた。

[考察] DHCR24の過剰発現は、p53の翻訳後修飾や細胞内局在を制御し、腫瘍抑制機能を低下させている可能性がある。これにより、HCV感染によって発生する酸化ストレスによるアポトーシスが抑制されることが、肝がん発症の一因になっている可能性が考えられた。

[結論] HCV全長遺伝子発現により、細胞内のDHCR24が過剰発現し、p53の活性を抑制する事が示された。DHCR24を制御することで、HCVによる肝がん発症抑制に貢献できる可能性が新たに拓かれた。