

西村 知裕氏の学位論文審査の要旨

論文題目

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)

C型肝炎ウイルス(HCV)の持続感染は、慢性肝炎を引き起こし、肝硬変を経て肝がんを発症する要因となる。肝がんの発症は長期にわたる肝組織の炎症と修復の繰り返しによると考えられているが、その発がんメカニズムは不明である。本研究では、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探索・同定し、その機能解析を行った。

HCVの全長遺伝子を持続発現する細胞をマウスに免疫し、HCV全長遺伝子発現細胞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で解析し、約60 kDaの蛋白質3 β -hydroxysterol Δ 24-reductase (DHCR24)を同定した。さらに、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、免疫沈降法などの分子生物学的手法で解析した。DHCR24は酸化ストレス誘導性の蛋白質であり、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でノックダウンすると、caspase3/7を介する酸化ストレス誘導性のアポトーシスが増加した。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減少した。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関わらず、p53の転写活性が抑制されていた。その抑制機序として、DHCR24がp53のリジン残基(K373/382)のアセチル化を抑制し、細胞質でのp53 E3リガーゼMDM2とp53との複合体形成を促進し、その結果、p53の核内集積量が減少しているものと思われた。この現象は、肺由来の細胞では認められず、肝細胞特異的な応答である可能性が示唆された。HCV感染によって、ERストレスからミトコンドリアを介してreactive oxygen species (ROS)が過剰に産生されることが知られており、ROSにより誘発される酸化ストレスが、宿主遺伝子に変異原性を発揮して肝細胞発がんに関与することが指摘されている。よって、今回の研究成果より、HCV持続感染においてDHCR24がHCV感染に伴ったROS産生によって誘発される細胞死を抑制することで、HCVの持続感染と酸化ストレスによる発がん効果を増強し、肝がん発症の一因となる可能性が示された。さらに、DHCR24過剰発現などHCVの持続感染に伴った細胞死の制御異常がHCV感染の新たな治療の標的となることが提案された。

審査では、1)HCV感染細胞を認識する抗体の作製方法、2)コレステロール生合成におけるDHCR24の細胞内局在と機能、3)DHCR24の酵素活性(コレステロール生合成)とp53抑制機能との関連性、4)HCV複製とDHCR24発現の関係、5)DHCR24のp53変異体への抑制活性、6)DHCR24阻害剤の抗HCV活性、7)DHCR24とp53の蛋白質-蛋白質相互作用(結合)、など実験手技、実験結果、ならびに考察内容に関連して様々な質問がなされ、申請者からは概ね適切な回答がなされた。

本研究は、HCV全長遺伝子発現細胞を用いて、HCV感染細胞内のDHCR24過剰発現によるp53機能抑制を介した、肝がんの分子機構の一端を明らかにし、DHCR24を標的としたHCVの感染制御と肝がん発症抑制に向けた新たな治療の可能性を示した点で学位授与に値するものと評価した。

審査委員長 微生物学担当教授

赤池 孝章

審査結果

学位申請者名：西村 知裕

専攻分野：感染防御学

学位論文題名

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)

指導：原田 信志 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査
可

不可

平成23年1月17日

審査委員長 微生物学担当教授

赤池 孝章

審査委員 免疫学担当教授

阪口 薫雄

審査委員 分子病理学担当教授

山本 哲郎

審査委員 エイズ学 III 担当教授

岡田 誠治