

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

C型肝炎における脂質代謝異常と肝発癌機序の関連性の解析

分担研究者 森屋恭爾（東京大学医学部感染制御学）

研究要旨 肝脂肪化に引き続いて肝細胞癌を発生するC型肝炎ウイルス（HCV）コア遺伝子トランスジェニックマウスをモデルとして、肝発癌のメカニズムを検討した。C型肝炎における肝脂肪化の原因は、 β 酸化の障害に加えて肝細胞からのVLDLの分泌障害も要因であることが明らかとなった。ヒト患者においても、アポリポ蛋白を中心とした脂質代謝異常が存在することも明らかになった。また、コア蛋白はレチノイドX受容体 α と結合し、その機能を修飾していることも証明した。この現象はコア遺伝子トランスジェニックマウスにおいても確認され、C型肝炎における脂質代謝異常から肝発癌へと至る病態のひとつの経路であることが示唆された。

A. 研究目的

ヒト慢性C型肝炎における肝発癌の機序はまだ全く不明である。チンパンジー以外にC型肝炎の疾患モデルがないことも、解明の妨げとなっている。我々はHCVのコア遺伝子がトランスジェニックマウスにおいて肝細胞を誘発することを確認している。このマウスモデルを用いてC型肝炎における病態の解明、肝発癌機序の解明を行なう。また、マウス之出るで得られた知見をもとにして、ヒトC型肝炎患者においても検討を行なう。

B,C. 研究方法と結果

HCVのコア遺伝子を導入されたトランスジェニックマウスを用いて、以下のような解析を行なった。

肝脂肪化(steatosis)と肝細胞癌はC型肝炎の組織学的特徴であり、動物や細胞モデルによって、HCVコア蛋白のこれらの病態への関与が示されている。そこで、本年度はC型肝炎における肝脂肪化、脂

質代謝異常に関して重点的に検討を行なった。

1)CVコア遺伝子トランスジェニックマウスにおける肝脂肪化の機序の解明。 β 酸化の低下が、C型肝炎における肝脂肪化の機序のひとつであることを、我々は既に見出しているが、本年度は、肝からのVLDLの分泌障害が肝脂肪化のもうひとつの機序であることを明らかにした。すなわち、コア遺伝子トランスジェニックマウスでは、肝におけるmicrosomal triglyceride transfer proteinの活性が低下するためにVLDLの分泌が障害されていた。さらに、肝ヒトアポAII遺伝子を導入したトランスジェニックマウスとコア遺伝子トランスジェニックマウスを掛け合わせることで、VLDLの分泌は改善した。これは、コア蛋白とアポAII蛋白が結合し、コア蛋白を肝細胞から排出させるためであった。

2) C型慢性肝炎患者における脂質代謝異常を検討するため、B型慢性肝炎患者を対照として血清中のアポリポ蛋白量を測定した。C型慢性肝炎患者ではアポリポ蛋白 C2, C3 の低下を始めとする所見を認め、C型慢性肝炎においても脂質代謝障害の存在することが確認された。

3) コア蛋白が、細胞の増殖、分化や脂質代謝と関連する転写因子であるレチノイドX受容体 α (RXR- α)と結合することを見出した。コア蛋白はRXR- α のDNA結合部位に結合し、RXR- α の反応性因子への結合を強化するように作用していた。細胞レチノール結合蛋白II(CRBPII)とアシル CoA オキシダーゼをレポーターとした検討によって、コア蛋白はRXR- α ホモ2量体に制御される転写活性のみならず、peroxisome proliferator activated receptor(PPAR)- α とのヘテロ2量体によって制御される転写活性をも増強することが示された。CRBPII 遺伝子は、HCVコア遺伝子トランスジェニックマウス肝においても転写が活性化されていた。これらの結果は、RXR- α に制御される遺伝子発現のコア蛋白による修飾がHCV感染症の病態に関与していることを示唆している。現在、RXR- α のアゴニスト、アンタゴニストを用いた検討を行なっている。

D. 考察

HCVコア遺伝子トランスジェニックマウスにおいては初期より脂肪肝が発生し、ヒトC型肝炎における肝細胞癌と同様に、マウスの寿命の後半において肝細胞癌が発生した。コア蛋白の発現によって、脂

肪化と相まって肝内における活性酸素の発生が増強されていた。活性酸素の発生は、コア遺伝子トランスジェニックマウスにおける肝発癌の少なくとも一部には関与していると考えられる。

肝脂肪化すなわち脂質代謝障害は、肝発癌を含むC型肝炎の病態と密接に関連していることが推測される。VLDL 分泌障害のみならず、 β 酸化障害、核内受容体との関わりがC型肝炎における脂質代謝障害を引き起こし、ひいてはC型肝炎の病態をもたらしていると考えられる。

E. 結論

肝脂肪化すなわち脂質代謝障害は、肝発癌を含むC型肝炎の病態と密接に関連していることが推測される。VLDL 分泌障害のみならず、 β 酸化障害、核内受容体との関わりがC型肝炎における脂質代謝障害を引き起こし、ひいてはC型肝炎の病態をもたらしていると考えられる。

F. 健康危険情報 なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tsutsumi T, Suzuki T, Shimoike T, Moriya K, Yotsuyanagi H, Matsuura Y, Koike K, Miyamura T. Interaction of Hepatitis C Virus Core Protein with Retinoid X Receptor- α Modulates its Transcriptional Activity. *Hepatology* 35:937-946, 2002.

2) Koike K, Moriya K, Kimura S. Role of hepatitis C virus in the development of hepatocellular

carcinoma: Transgenic approach to viral hepatocarcinogenesis.

J Gastroenterol Hepatol. 17:394-400, 2002.

3) Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K, Nojiri N, Juji T, Hoshino H, Hino K. HBV DNA in serum of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors. Transfusion 42:1616-1617, 2002.

4) Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Matsuura Y, Kimura S, Koike K, Miyamura T. Intrahepatic cytokine expression and AP-1 activation in mice transgenic for hepatitis C virus core protein. Virology 304:415-424, 2002.

5) Koike K, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Moriya K. Role of hepatitis viruses in hepatocarcinogenesis. Oncology 62: 29-37, 2002.

6) Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Kimura S, Koike K. Serum Lipid Profile of Patients with Genotype 1b Hepatitis C Viral Infection in Japan. Hepatol Res 25: 369-374, 2003.

2. 学会発表

1. Moriishi, K., Okabayashi, T., Nakai, K., Moriya, K., Koike, K.,

Murata, S., Chiba, T., Tanaka, K., Suzuki R., Suzuki, T., Miyamura, T., and Matsuura, Y. Nuclear localization of HCV core protein through PA28 γ -dependent pathway. 9th Molecular biology of HCV and related viruses. San Diego 2002.

2. Tsutsumi, T., Matsuda M., Moriya, K., Miyoshi, H., Fujie, H., Shintani, Y., Koike, K., Suzuki, T., and Miyamura, T. Proteomics analysis of mitochondrial proteins in the liver of the hepatitis C virus core-transgenic mouse and hepG2 cells expressing the core protein. 9th Molecular biology of HCV and related viruses. San Diego 2002.

3. 堤武也、鈴木哲朗、森屋恭爾、新谷良澄、藤江肇、三好秀征、松浦善治、小池和彦、宮村達男. C型肝炎ウイルスコア遺伝子トランスジェニックマウスの肝臓内における mitogen-activated protein kinase の活性化の検討. 第38回日本肝臓学会総会, 2002年6月, 大阪.

4. 堤武也、鈴木哲朗、森屋恭爾、新谷良澄、藤江肇、三好秀征、松浦善治、小池和彦、宮村達男. C型肝炎ウイルスコア遺伝子トランスジェニックマウスの肝臓内における MAPK の活性化の検討. 第61回日本癌学会総会. 2002年10月, 東京.

5. 堤武也、松田麻未、森屋恭爾、三好秀征、藤江肇、新谷良澄、小池和彦、鈴木哲朗、宮村達男. C型肝炎ウイルスコア蛋白発現細胞におけるミトコンドリア蛋白のプロテオミクス解析. 同上

6. 新谷良澄、森屋恭爾、藤江 肇、堤 武也、三好秀征、木村 哲、小池和彦
C 型肝炎ウイルスによるインスリン抵抗性の誘発 第 38 回日本肝臓学会総会（大阪）2002.
7. 新谷良澄、四柳 宏、森屋恭爾、木村 哲、小池和彦. HBs 抗原陰性 抗 HBc 抗体陽性献血者の血清中には高率に HBV が存在する. 第 76 回日本感染症学会総会（東京）2002.4
8. 堤武也、松田麻未、森屋恭爾、三好秀征、藤江 肇、新谷良澄、新谷良澄、小池和彦、鈴木哲朗、宮村達男. C 型肝炎ウイルスコア蛋白発現細胞におけるミトコンドリア蛋白のプロテオミクス解析. 第 50 回日本ウイルス学会学術集会（札幌） 2002.10

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Topilco, Samson-Bouna M-E, Chretien Y, Pessayre D, Koike K, Chapman J, Barba G, Brechot C.	Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis.	FASEB J	16	185-194	2002
Tsutsumi T, Suzuki T, Shimoike T, Moriya K, Yotsuyanagi H, Matsuura Y, Koike K, Miyamura T.	Interaction of Hepatitis C Virus Core Protein with Retinoid X Receptor- α Modulates its Transcriptional Activity.	Hepatology	35	937-946	2002
Koike K	Hepatitis C virus and hepatocarcinogenesis.	J Gastroenterol	37	55-64	2002
Koike K, Moriya K, Kimura S.	Role of hepatitis C virus in the development of hepatocellular carcinoma: Transgenic approach to viral hepatocarcinogenesis.	J Gastroenterol Hepatol.	17	394-400	2002
Koike K.	Remission of breakthrough hepatitis in chronic hepatitis B patients on lamivudine.	J Gastroenterol	37	988-990	2002
Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K, Nojiri N, Juji T, Hoshino H, Hino K.	HBV DNA in serum of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors.	Transfusion	42	1616-1617,	2002
Tsutsumi T, Suzuki T, Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Matsuura Y, Kimura	Intrahepatic cytokine expression and AP-1 activation in mice transgenic for hepatitis C virus core protein.	Virology	304	415-424	2002

S. Koike K, Miyamura T.					
Koike K, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Moriya K.	Role of hepatitis viruses in hepatocarcinogenesis.	Oncology	62	29-37	2002
Iwahori T, Matsuura T, Maehashi H, Sugo K, Saito M, Hosokawa M, Chiba K, Masaki T, Aizaki H, Ohkawa K, Suzuki T.	CYP3A4 inducible model for in vitro analysis of human drug metabolism using a bioartificial liver.	Hepatology	37	665-673	2003
Otsuka M., Aizaki H., Kato N., Suzuki T., Miyamura T., Omata M., and Seki N.	Differential cellular gene expression induced by hepatitis B and C viruses.	Biochem. Biophys. Res. Commun	300	443-447	2002
Aizaki H., Otsuka M., Matsuda M., Li Y.W., Harada T., Kawakami H., Seki N., Matsuura Y., Miyamura T., Suzuki T.	Expression profiling of liver cell lines expressing entire or parts of hepatitis C virus open reading frame	Hepatology	36	1431-1438	2002
Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Kimura S, Koike K.	Serum Lipid Profile of Patients with Genotype 1b Hepatitis C Viral Infection in Japan.	Hepatology Res	25	369-374	2003
Noto H. Hara M. Karasawa K. Iso-O N. Satoh H. Togo M. Hashimoto Y. Yamada Y. Kosaka T. Kimura S. Tsukamoto K.	Human plasma platelet activating factor-acetylhydrolase binds to all the murine lipoproteins, conferring protection against oxidative stress.	Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology	22	In press	2003

20021380

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.23- P.24の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。