

C型肝炎ウイルス増殖に関わる宿主因子の同定とその肝病態における役割

著者	本多 政夫
著者別表示	Honda Masao
雑誌名	平成18(2006)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2005-2006
ページ	14p.
発行年	2007-03
URL	http://doi.org/10.24517/00050633



C型肝炎ウイルス増殖に関わる宿主因子の同定と
その肝病態における役割

(研究課題番号：17591036)

平成17年度～平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（C））
研究成果報告書

平成19年3月

研究代表者 本多政夫
(金沢大学院医学研究科感染症病態学講座助教授)

金沢大学附属図書館



1300-04232-X



はしがき

研究代表者 本多政夫
(金沢大学院医学研究科感染症病態学講座助教授)

現在、世界でおよそ1億7千万人以上の人々がC型肝炎ウイルス(以下HCV)に感染しているとされる。我が国においてはC型慢性肝炎・肝硬変から高率に発癌し、肝細胞癌による年間死亡数は増加の一途をたどっている。肝細胞癌の発生を押さえるためには、C型慢性肝炎の治療が急務である。現在最も効果的な治療法としてインターフェロン療法が挙げられる。しかしながら、HCVゲノタイプ1bで高ウイルス量の症例では極めて著効率が低く、我が国では、皮肉なことに、ゲノタイプ1b、高ウイルス量の症例が多くを占めている。これまでに、多方面よりHCVの臨床的、基礎的研究が積み上げられてきたが、HCVのウイルス量を規定する因子について十分な検討はなされて来なかった。本研究ではHCV複製の第一段階である蛋白翻訳に注目し、それを制御する宿主因子を同定し解析することを目的とした。

これまでに、HCV蛋白翻訳機能を細胞内で解析できるシステムを構築した。(HCV-IRES発現培養細胞 RCF-26: Gastroenterology. 2000 Jan;118(1):152-62)。この細胞を用いてHCV-IRES活性に及ぼす各翻訳関連因子の役割を検討した。HCV-IRESに関連するとされる宿主因子La, PTB, eIF3-p110, eIF3-p170, PCBP1, PCBP2, RNPL, eIF2gamma, eIF2beta, PMSA7、及びキャップ依存性蛋白翻訳機構に関与するeIF2, eIF4A, eIF4E, eIF4Gに対するアンチセンスオリゴを作成し、各翻訳関連因子を発現抑制した状態でのHCV-IRES活性を検討した。また、各翻訳関連因子の発現ベクターを細胞内で過剰発現させ、HCV-IRES活性を検討した。これらの翻訳関連因子のうちHCV-IRES活性に影響した宿主因子はLa, PTB, eIF3, eIF2 gamma, PMSA7であった。一方、脳心筋炎ウイルス(Encephalomyocarditis virus; EMCV)のIRES発現細胞を樹立しHCV-IRES活性との比較を行っ

たところ、HCV-IRES 活性に影響を与えたこれらの宿主因子は EMCV-IRES 活性に影響を与えなかった。したがって HCV-IRES 活性は宿主因子により依存していることが明らかとなった。

これらの知見を HCV レプリコンを用いて検証した。現行の HCV レプリコンシステムは HCV-IRES、ネオマイシン耐性遺伝子、EMCV-IRES、非構造蛋白 NS3-NS5 を結合した subgenomic RNA が恒常的に複製するシステムであり、非構造蛋白の蛋白翻訳は EMCV-IRES によって行われる。翻訳関連因子と HCV 複製効率を検討するには EMCV-IRES の代わりに HCV-IRES を入れ込んだレプリコンの使用が必要である。本研究では、従来型レプリコン (NNeowt) に加え HCV-IRES のみを有する新しいレプリコン (MH14C) を用いて検討した。La, PTB, eIF3 PCBP2, eIF2gamma, PMSA7 に対する siRNA を作成しレプリコン細胞にランスフェクションし HCV-RNA の増減を RTD-PCR 法にて検証した。従来型レプリコン (NNeowt) では La, PTB, eIF3 PCBP2, eIF2gamma, PMSA7 の発現は 10-20%に抑制されたが、HCV 複製には変化は認められなかった。HCV-IRES のみを有するレプリコン (MH14C) では La, PTB, eIF2gamma, PMSA7 の発現抑制により HCV 複製抑制が、発現抑制依存性に認められた。以上より、HCV 複製は HCV-IRES 活性に強く依存していること、これらの翻訳関連因子が HCV 複製に極めて重要な働きをしていることが明らかとなった。

実際の C 型慢性肝炎組織におけるこれらの宿主因子の発現と HCV 複製との関連を検討すると、La, eIF2 gamma, PSMA7, PCBP2 の発現が、肝組織内の HCV-RNA と有意に相関することが明らかになった。マイクロアレイを用いた正常肝 18 例、C 型慢性肝炎組織 37 例の肝組織遺伝子発現プロファイル解析では、これらの宿主因子は C 型慢性肝炎肝組織で誘導される一群の遺伝子クラスターに群別された。興味深いことに La の発現制御の検討から、La は HCV タンパク自身の発現によって誘導されることが明らかとなった。La プロモーター領域をクローニングし、ルシフェラーゼ・レポーターアッセイにて検討すると、HCV タンパクの一つが、La プロモーターを活性化していることが明らかとなった。以上より、La は HCV 感染そのものによっても誘導されていることが明らかとなった。

この研究によって、HCV の蛋白翻訳・複製制御には宿主翻訳関連因子が極めて重要な働きを有していることが明らかになった。今後、宿主翻訳因子の発現を制御し HCV の複製を抑制するストラテジーを検討する必要があると考えられた。

研究組織

研究代表者 本多政夫

(金沢大学院医学研究科感染症病態学講座助教授)

分担者 金子周一

(金沢大学院医学研究科恒常性制御学講座教授)

交付決定額

平成 17 年度	1800 千円
平成 18 年度	1700 千円
総計 (千円)	3500 千円

研究発表

論文発表

1. Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon.
FEBS Lett. 2007. 581(10):1983-1987.
Hiraga N, Imamura M, Tsuge M, Noguchi C, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Abe H, Maekawa T, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Sakai A, Sakai Y, Honda M, Kaneko S, Wakita T, Chayama K.
2. Expression profiling of peripheral-blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C undergoing interferon therapy.
J Infect Dis. 2007. 195(2):255-67.
Tateno M, Honda M, Kawamura T, Honda H, Kaneko S.
3. Genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately upregulated with fasting hyperglycaemia in livers of patients with type 2 diabetes.
Diabetologia. 2007.50(2):268-77.
Misu H, Takamura T, Matsuzawa N, Shimizu A, Ota T, Sakurai M, Ando H, Arai K, Yamashita T, Honda M, Yamashita T, Kaneko S.

4. Different signaling pathways in the livers of patients with chronic hepatitis B or chronic hepatitis C.
Hepatology. 2006. 44(5):1122-38
Honda M, Yamashita T, Ueda T, Takatori H, Nishino R, Kaneko S.

5. Virological effects and safety of combined double filtration plasmapheresis (DFPP) and interferon therapy in patients with chronic hepatitis C: A preliminary study.
Hepatology Res. 2006. 36(3):167-75.
Yamashita T, Arai K, Sakai A, Mizukoshi E, Sakai Y, Kagaya T, Nakamoto Y, Honda M, Wada T, Yokoyama H, Kaneko S.

6. The development and clinical features of splenic aneurysm associated with liver cirrhosis.
Liver Int. 2006. 26(3):291-7.
Sunagozaka H, Tsuji H, Mizukoshi E, Arai K, Kagaya T, Yamashita T, Sakai A, Nakamoto Y, Honda M, Kaneko S.

7. Effect of hepatitis C virus (HCV) NS5B-nucleolin interaction on HCV replication with HCV subgenomic replicon.
J Virol. 2006. 80(7):3332-40.
Shimakami T, Honda M, Kusakawa T, Murata T, Shimotohno K, Kaneko S, Murakami S.

8. Pure red cell aplasia associated with concomitant use of mycophenolate mofetil and ribavirin in post-transplant recurrent hepatitis C.
Transpl Int. 2006. 19(2):170-1
Hodo Y, Tsuji K, Mizukoshi E, Yamashita T, Sakai A, Nakamoto Y, Honda M, Kaneko S.

9. cDNA microarray analysis of autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis and consecutive disease manifestation.

J Autoimmun. 2005. 25(2):133-40.

Honda M, Kawai H, Shirota Y, Yamashita T, Kaneko S.

10. Ephrin-A1 expression contributes to the malignant characteristics of {alpha}-fetoprotein producing hepatocellular carcinoma.

Gut. 2005. 54(6):843-51.

Iida H, Honda M, Kawai HF, Yamashita T, Shirota Y, Wang BC, Miao H, Kaneko S.

11. Differential gene alteration among hepatoma cell lines demonstrated by cDNA microarray-based comparative genomic hybridization.

Biochem Biophys Res Commun. 2005. 329(1):370-80

Kawaguchi K, Honda M, Yamashita T, Shirota Y, Kaneko S.

12. La protein is a potent regulator of replication of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C through internal ribosomal entry site-directed translation.

Gastroenterology. 2005. 128(2):449-62

Honda M, Shimazaki T, Kaneko S.

学会発表

国内

1. 本多政夫, 上田晃之, 金子周一

B 型及び C 型慢性肝炎における肝障害機序の違いと肝発癌機構,
W5-01

第 92 回 日本消化器病学会総会 小倉 ワークショップ 口演
4/21/2006

2. 砂子阪肇, 本多政夫, 山下太郎, 鷹取元, 西野隆平, 上田晃之,
金子周一

遺伝子発現プロファイルを用いた肝細胞癌治療における新規腫瘍

マーカーの同定, O-19

第 42 回 日本肝臓学会総会 京都 一般演題 口演 5/25/2006

3. 鷹取元, 西野隆平, 山下太郎, 本多政夫, 金子周一
肝細胞癌の核酸代謝関連遺伝子発現の包括的解析, O-20
第 42 回 日本肝臓学会総会 京都 一般演題 口演 5/25/2006
4. 西野隆平, 山下太郎, 鷹取元, 本多政夫, 金子周一
包括的遺伝子解析による肝内胆管癌新規マーカー遺伝子群の同定,
O-22
第 42 回 日本肝臓学会総会 京都 一般演題 口演 5/25/2006
5. 酒井佳夫, 本多政夫, 上田晃之, 小村卓也, 金子周一
末梢血液単核球細胞の遺伝子発現プロファイルによる C 型肝硬変,
肝癌の判別の可能性, O-23
第 42 回 日本肝臓学会総会 京都 一般演題 口演 5/25/2006
6. 本多政夫, 上田晃之, 山下太郎, 鷹取元, 西野隆平, 金子周一
肝炎ウイルスによる肝障害機序と肝発癌機序の解明, O-18
第 42 回 日本肝臓学会総会 京都 一般演題 口演 5/25/2006
7. 上田晃之, 本多政夫, 山下太郎, 西野隆平, 鷹取元, 金子周一
HCV 関連肝細胞癌における代謝関連遺伝子の発現変化と脂肪化
の意義, P-66
第 42 回 日本肝臓学会総会 京都 一般演題 ポスター
5/25/2006
8. 島上哲朗, 本多政夫, 山下竜也, 下遠野邦忠, 金子周一, 村上清史
HCV NS5B とヌクレオリンの相互作用の HCV RNA 複製に与える
影響に関する検討, WS1-7
第 42 回 日本肝臓学会総会 京都 ワークショップ 口演
5/25/2006

9. 村上清史, 大石尚毅, 中本安成 本多政夫, 金子周一
B 型肝炎ウイルス X 蛋白 (HB_x) の転写修飾能とヒト細胞の細胞形質転換促進能, S23-4
第 65 回 日本癌学会学術総会 横浜 シンポジウム 口演
9/30/2006
10. 本多政夫, 上田晃之, 金子周一
B 型及び C 型慢性肝炎における進展因子の違い, S6-5
第 10 回 日本肝臓学会大会 札幌 シンポジウム 口演
10/11/2006
11. 上田晃之, 本多政夫, 金子周一
HCV 関連肝細胞癌の発癌における代謝関連遺伝子の発現変化とその意義-cDNA マイクロアレイを用いた解析から-, W14-10
第 10 回 日本肝臓学会大会 札幌 ワークショップ 口演
10/12/2006
12. 砂子阪肇, 本多政夫, 金子周一
遺伝子発現プロファイルを用いた肝細胞癌における新規腫瘍マーカーの同定, P-237
第 10 回 日本肝臓学会大会 札幌 一般演題 ポスター
10/12/2006
13. 本多政夫, 上田晃之, 金子周一
慢性肝炎・肝細胞癌における脂肪化の意義-cDNA マイクロアレイを用いた解析から-, W10-03
第 91 回 日本消化器病学会 ワークショップ 口演 4/15/2005
14. 本多政夫, 島崎猛夫, 金子周一
C 型肝炎ウイルス複製制御に関わる宿主因子の検討, PD-14
第 41 回 日本肝臓学会総会 大阪 パネルディスカッション 口演 6/17/2005

15. 中本安成, 本多政夫, 金子周一
慢性肝炎の発がんポテンシャルと分子病態, S03-5
第 64 回日本癌学会学術総会 札幌 シンポジウム 口演
9/14/2005
16. 島上哲朗, 本多 政夫, 草川 貴史, 下遠野 邦忠, 金子
周一, 村上 清史
HCV NS5B とヌクレオリンの相互作用の HCV RNA 複製に与える
影響に関する検討, PA124
第 64 回日本癌学会学術総会 札幌 一般演題 ポスター
9/14/2005
17. 本多政夫, 島崎猛夫, 金子周一
C 型肝炎ウイルス複製に関する宿主因子の検討, W8-10
第 9 回 日本肝臓学会大会 神戸 ワークショップ 口演
10/6/2005
18. 本多政夫
慢性肝炎、肝細胞癌の分子マーカーの探索, S-5
第 23 回 日本絨毛性疾患研究会 富山 シンポジウム 口演
10/27/2005
19. 本多政夫, 金子周一
W40 ポストゲノム時代の分子診断学 ―バイオマーカー探索の
最前線―
慢性肝炎、肝細胞癌の分子マーカーの探索, W40 -1
第 28 回 日本分子生物学会年会 ワークショップ 口演
12/10/2005
20. 川口和紀, 本多政夫, 酒井佳夫, 上田晃之, 代田幸博, 金子
周一

ヒト肝癌細胞株における様々なマイクロアレイ法を用いたゲノム構造異常と発現異常との比較検討, 2P-0121

第28回 日本分子生物学会年会 一般演題 ポスター 12/8/2005

国際学会

1. Aburatani S, Saito S, Honda M, Kaneko S, Toh H, Horimoto K
Orchestration of gene system inferred from expression profiling by graphical chain model, S85-1
20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress
京都 シンポジウム 口演 6/23/2006
2. Kawaguchi K, Honda M, Ueda T, Takatori H, Sakai Y, Kaneko S
Genomic amplification and over expression of angiogenic factor jagged1 in α -fetoprotein positive hepatoma cells, 909
第 57 回 米国肝臓学会 ボストン 一般演題 ポスター
10/30/2006
3. Oishi N, Nakamoto Y, Honda M, Murakami S, Kaneko S
Hepatitis B Virus X protein overcomes oncogene-induced senescence with active H-RasV12 in human immortal cells, 914
第 57 回 米国肝臓学会 ボストン 一般演題 ポスター
10/30/2006
4. Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Noguchi C, Takahashi S, Iwao E, Tateno C, Honda M, Kaneko S, Wakita T, Yoshizato K, Chayama K,
Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon, 409
第 57 回 米国肝臓学会 ボストン 一般演題 ポスター
10/28/2006

5. Ueda T, Honda M, Yamashita T, Nishino R, Takatori H, Kaneko S
A unique feature of metabolic changes in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma and molecular targets, 903
第 57 回 米国肝臓学会 ポストン 一般演題 ポスター
10/30/2006

6. Sakai Y, Honda M, Fujinaga H, Komura T, Kaneko S
Molecular Signature of Peripheral Blood Mononuclear Cells Successfully Discerns Hepatocellular Carcinoma Associated with Hepatitis C-related Liver Cirrhosis Identifying a Set of 11 Genes for Diagnosis, 1159
第 57 回 米国肝臓学会 ポストン 一般演題 ポスター
10/31/2006

7. Honda M, Misu H, Takamura T, Matsuzawa N, Shimizu A, Ohta T, Sakurai M, Ando H, Arai K, Yamashita T, Yamashita T, Kaneko S
Different regulation of genes for mitochondrial oxidative phosphorylation in liver and skeletal muscle of patients with type 2 diabetes, 35
第 57 回 米国肝臓学会 ポストン パラレルセッション 口演
10/29/2006

8. Honda M, Imamura M, Hiraga N, Sakai A, Chayama K, Kaneko S
Gene expression profiling of human hepatocyte chimeric mice infected with hepatitis C virus compared to profiling of livers from chronic hepatitis C patients, 324
第 57 回 米国肝臓学会 ポストン 一般演題 ポスター
10/28/2006

9. Kawaguchi K, Honda M, Ueda T, Takatori H, Sakai Y, Kaneko S
Genomic amplification and over-expression of angiogenic factor Jagged1 in α -fetoprotein positive hepatoma cells, 909

第 57 回 米国肝臓学会 ボストン 一般演題 ポスター
10/30/2006

10. Sunagozaka H, Honda M, Yamashita T, Takatori H, Nishino R, Ueda T, Kaneko S.

Identification of a novel growth factor in hepatocellular carcinoma using the sage method, 116

第 56 回 米国肝臓学会 サンフランシスコ パラレルセッション
口演 11/15/2005

11. Honda M, Shimazaki T, Murata T, Shimotohno K, Lemon S, Kaneko S
La protein is a potent regulator of replication of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C through internal ribosomal entry site(IRES) directed translation, 170

第 56 回 米国肝臓学会 サンフランシスコ パラレルセッション
口演 11/14/2005

12. Shimakami T, Honda M, Kaneko S, Murakami S

Effect of interaction between HCV NS5B and nucleolin on HCV RNA replication, 929

第 56 回 米国肝臓学会 サンフランシスコ 一般演題 ポスター
11/14/2005

13. Honda M, Yamashita T, Minagawa H, Kaneko S

Combined proteome analysis of hepatocellular carcinoma and quantitative transcriptome analysis by serial gene expression analysis, 470

第 56 回 米国肝臓学会 サンフランシスコ 一般演題 ポスター
11/13/2005

14. Yamashita T, Honda M, Ueda T, Sunakozaka H, Kaneko S

Transcriptional activation of small ubiquitinrelated modifier-3 enhances

stress resistant cell growth in hepatocellular carcinoma, 292

第 56 回 米国肝臓学会 サンフランシスコ 一般演題 ポスター
11/12/2005

15. Ueda T, Honda M, Yamashita T, Nishino R, Takatori H, Kaneko S

A unique feature of metabolic changes of hepatitis C virus-related
hepatocellular carcinoma, 275

第 56 回 米国肝臓学会 サンフランシスコ 一般演題 ポスター
11/12/2005