

Concerted action of activation-induced cytidine deaminase and uracil-DNA glycosylase reduces covalently closed circular DNA of duck hepatitis B virus

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/39439

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 乙第11号 氏名 Chowdhury Sajeda
論文審査担当者 主査 清水 徹 印
副査 市村 宏 印
金子 周一 印

学位請求論文

題 名 Concerted action of activation-induced cytidine deaminase and uracil-DNA glycosylase reduces covalently closed circular DNA of duck hepatitis B virus

掲載雑誌名 FEBS Letters 第587巻第18号 3148頁～3152頁
平成25年9月掲載

B型肝炎ウイルス(HBV)は肝細胞癌を起こすウイルスである。

HBVは、部分2本鎖開環状DNA(RC-DNA)をゲノムとし、感染後、閉環状2本鎖DNA(cccDNA)が感染肝細胞内に長期に維持される。cccDNAが肝炎持続に重要であるが、これを直接排除する治療薬はない。

AIDは、DNAやRNA上のシトシン塩基(C)をウラシル(U)に変換する酵素で、抗体遺伝子座のsomatic hypermutationやクラススイッチ組換えを誘導する。抗体遺伝子座のDNAにAIDが導入したUが、UNGによって塩基がないAP サイトに変換され、APサイトがさらにAP endonuclease I (APEI)によってDNA切断に変換され、組換えやhypermutationを誘発する。

最近、AIDとHBV病態との関与が示唆されている。そこで本研究ではAIDのcccDNAへの作用が検討された。実験系はcccDNAで一般に使用されるトリHBVの実験系が選択された。まずトリHBVの発現プラスミドをトリ肝細胞に導入し、cccDNA産生が起こる状況で、トリAIDを強制発現させたところ、RC-DNAレベルの低下が観察された。次にUNG阻害タンパク質を強制発現させる事でUNG/APE経路の寄与が検討された。その結果UNG阻害にも関わらずAIDが起こすRC-DNAの低下は観察されUNG/APEIの経路はRC-DNA低下に不要という事がわかった。一方、同じ条件下でcccDNAを定量した。AID強制発現はcccDNAを低下させたが、UNG阻害下ではこの低下は起こらなかった。従って、AIDは異なるメカニズムでRC-DNAとcccDNAを低下させており、cccDNAの低下作用にはUNGが必要である事が明らかとなった。次にcccDNAのhypermutationが検討された。その結果、hypermutationはUNG阻害時でかつAID強制発現時でのみ観察された。この事からAID強制発現時はcccDNAに導入されたUの多くは、UNG/APEIの活性で処理されUを持つcccDNAが消失しており、UNGを阻害するとUをもつcccDNAが検出可能になると推察された。

ヒトAIDは核と細胞質を行き来する性質があり、細胞質局在シグナル(NES)の欠損型AIDは、核に蓄積し抗体遺伝子座のsomatic hypermutation 誘導活性が増強する事が知られている。そこでトリ肝細胞株でもAIDの細胞内局在を調べたところ、AIDは細胞質に局在し、核から細胞質のタンパク輸送をレプトマイシンで阻害すると核に局在した。またNES欠損型AIDは核に局在した。興味深い事にNES欠損変異型AIDは、野生型よりcccDNAをより効率よく低下させた。

以上の実験結果は、AIDが核でcccDNAに作用し低下させる事を意味し、その機序としてはAIDの作るC-to-U変換がDNA切断を誘導しcccDNA分解を誘導した可能性を示唆した。

本研究はHBV持続感染のキーププレーヤーであるcccDNAの維持分解に関わる理解を深めた研究であり学位授与に値すると考えられた。