



Differential expression of hepatic apurinic/aprimidinic endonuclease 1, a DNA repair enzyme, in chronic hepatitis

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-07-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 住吉, 信一 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/10271/2712 |

博士(医学) 住吉 信一

論文題目

Shinichi Sumiyoshi, Yoshimasa Kobayashi, Kinya Kawamura, Kazuhito Kawata, Hirotohi Nakamura: Differential expression of hepatic apurinic/aprimidinic endonuclease 1, a DNA repair enzyme, in chronic hepatitis

(慢性肝炎における肝臓の DNA 修復酵素 apurinic/aprimidinic endonuclease 1 の特異な発現について)

論文の内容の要旨

[はじめに]

慢性炎症によって発生する活性酸素(ROS)は、肝細胞の酸化的 DNA 損傷と密接に関係があり肝細胞癌形成にも関係しているかもしれない。酸化ストレスの下では、ROS が DNA を攻撃し、8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG)を形成することで酸化的 DNA 損傷に導く。DNA 修復過程が完全に修復されない時、細胞の DNA 損傷は突然変異へ導き、発癌につながる可能性がある。最近、酸化的 DNA 損傷の増強について、B型肝炎ウイルス(HBV)や C 型肝炎ウイルス(HCV)感染症患者の肝臓で報告されている。この報告では、酸化的 DNA 損傷が慢性の HBV や HCV 感染における肝細胞癌形成の病因に関与するという可能性をあげている。DNA 修復の役割からみれば、apurinic/aprimidinic endonuclease-1 (APE-1) は酸化的損傷から DNA と転写制御因子を保護し慢性ウイルス性肝炎の酸化ストレスの状況下で肝細胞障害を受けた DNA を修復するようである。このように、APE-1 は肝細胞癌形成の防御に重要な役割を果たしているのかもしれない。今回の研究の狙いは、HBV または HCV 感染症、自己免疫肝疾患そして正常肝コントロール群とで肝臓 APE-1 と 8-OHdG 発現を比較することである。

[患者ならびに方法]

この研究には 27 人の慢性 HBV 感染症患者、30 人の慢性 HCV 感染症患者、6 人の自己免疫肝炎(AIH)患者と 6 人の原発性胆汁性肝硬変(PBC)患者を検討した。浜松医科大学医学部附属病院で肝生検を受け評価した。正常肝組織は、大腸がん肝転移のために肝切除術を受けた 4 人の患者の外科的切除標本を検討した。なお本研究に際し浜松医科大学医の倫理委員会の承認を受けた上で実施された。

・肝生検

慢性ウイルス肝炎と AIH の組織学的所見は Desmet による基準に従い評価し、PBC の肝組織は Ludwig による基準に従い評価した。

・免疫組織染色分析

APE-1 と 8-OHdG の免疫組織学的な評価を行った。肝細胞核 APE-1 の免疫反応性の強さは 4 つのカテゴリーに分類し、全てのスライドの平均信号の強さを評価した。8-OHdG 発現の定量評価には、肝細胞内の 8-OHdG 陽性の核の割合を算出し評価した。

・ウェスタンブロット分析

各々の患者から採取した凍結肝組織 (HBV、16 検体; HCV、18 検体; AIH、3 検体; PBC、3 検体; 正常肝、4 検体) を使用した。APE-1 のレベルは、G3PDH を基準として測定された。

・リアルタイム PCR 定量分析

RNA は肝生検サンプルから抽出した (HBV、5 検体; HCV、5 検体)。

[結果]

・患者の臨床的特徴

血清 ALT、AST と GGTP 濃度は HCV 患者より HBV 患者群で高かったが、性、平均年齢、組織の肝細胞壊死、炎症の程度に関するグループ間の有意差はなかった。

・肝臓 APE-1 蛋白質と mRNA 発現

APE-1 の核染色の強さは HCV、AIH/PBC または正常サンプルと比較し HBV で弱かった。また、肝細胞核 APE-1 蛋白質の染色の強さは、HBV ($r=0.42$, $P<0.05$) と HCV ($r=0.38$, $P<0.05$) で血清 ALT レベルと相関していた。ウェスタンブロット解析でも APE-1 蛋白質濃度が正常肝と比較して HBV で低いことが示された。リアルタイム PCR 分析法でも、APE-1 mRNA 濃度が HCV より HBV で 58 % 低いことを示した。

・慢性肝疾患患者における酸化的 DNA 損傷

慢性肝疾患患者からの肝臓標本において、8-OHdG 陽性細胞は、HBV と HCV グループの両グループにおいて、肝細胞核 APE-1 蛋白質染色の強さと相関していた (HBV、 $r=0.34$, $P<0.05$; HCV、 $r=0.54$, $P<0.01$)。

[考察]

我々の研究結果は以下の通りである。(a)肝細胞内の核の APE-1 濃度と蛋白レベルの肝 APE-1 発現、mRNA 濃度は、HCV 患者でなく HBV 患者で減弱している。(b) 8-OHdG 陽性の核を有する肝細胞数は、HBV 患者でなく HCV 患者で多い。APE-1 蛋白の肝細胞核における発現は、正常肝と比較して HBV 患者において減弱している。核内 APE-1 の発現低下は、変性した細胞周囲への移動、蛋白質合成の減少、あるいは APE-1 蛋白分解の増加によるかもしれない。また、HBV 患者と HCV 患者において、肝細胞内の核 APE-1 蛋白質の染色の強さが、8-OHdG に対して陽性の肝細胞の割合と相関していた。これは、肝細胞内の核 APE-1 発現が HBV や HCV に感染している肝臓では酸化的 DNA 損傷に依存しており、酸化ストレスに対する APE-1 の適切な反応を反映していることを示唆している。さらに HBV 患者において、APE-1 発現は酸化的損傷を受けた DNA 増加がなくとも減弱している。HCV 患者においては、APE-1 発現は酸化的 DNA 損傷に比例して十分には誘発されていない。以前の動物モデルでは、APE-1 異型のマウスで自然突然変異が増強されたことや発癌しやすいことが示されており、酸化的 DNA 損傷と APE-1 発現の不均衡は、慢性の HBV と HCV 感染症において塩基置換突然変異から肝細胞癌形成を引き起こしている可能性が示唆された。

[結論]

慢性 HBV 感染症において、肝臓 8-OHdG の濃度上昇に関係なく APE-1 発現は減弱

される。また慢性 HCV 感染症においても、肝臓 8-OHdG の蓄積が増えるからといって APE-1 発現が増加するわけではない。酸化的 DNA 損傷と APE-1 発現の間の不均衡は、慢性ウイルス性肝炎で肝細胞癌形成の一因であると考えられた。