



A p53 polymorphism associated with increased risk of hepatitis c virus infection

岡田, 文治

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2003-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2695

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002695>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 89 】

氏 名 ・(本 籍) 岡田 文治 (兵庫県)

博士の専攻分野の名称 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博い第1484号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成15年3月31日

【 学位論文題目 】

A p53 polymorphism associated with increased risk of hepatitis C virus
infection

(C型肝炎ウイルス感染と p53 遺伝的多型の関連)

審 査 委 員

主 査 教 授 佐藤 茂秋

 教 授 黒坂 昌弘

 教 授 西尾 久英

【緒言】

癌抑制遺伝子 p53 はヒトの多くの種類の癌化に関与していることが過去の研究により知られている。p53 は 17 番染色体短腕に位置し、393 のアミノ酸からなり、特定の遺伝子群の転写を活性化し、細胞の増殖抑制に関与している。遺伝子の構造学的変化として、mutation (突然変異) と polymorphism (遺伝的多型) がある。p53 mutation はほぼすべての癌形成に関与していることが知られており、p53 に関する遺伝性腫瘍症として、Li-Fraumeni 症候群がある。また最近の報告で、ヒトパピローマウイルス感染による子宮頸癌発生に p53 の codon72 (exon 4) の CGC (arginine) 型が CCC (proline) 型より大きく影響を与えていることが解明された。

先に我々は p53 polymorphism の内、codon 72 の CCC (proline) 型を有する人が、C 型肝炎ウイルス (HCV) による肝細胞癌 (HCC) の症例で対照に比し有意に高いことを見いだしており、今回この polymorphism と日本における大部分の HCC 発生の原因である HCV 感染の関連について検討した。

【方法】

1) 対象者

対象者は HCV 感染率の高い兵庫県の一地域の島の住民とした。1996 年 4 月から 1999 年 3 月までの健康診断時にインフォームドコンセントを得て採血を施行した。

2) Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP) 法

Phenol-chloroform 法により、末梢血白血球 DNA を抽出した。それらの DNA を用い PCR-SSCP 法にて codon 72 polymorphism を調べた。Upper primer は 5'-ATGGATGATTTGATGCT-3' を使用し、lower primer は 5'-GGACAGAAGATGACAGG-3' を使用し、銀染色法により判定した。

3) Allele の定義

過去の文献に従い、野生型を A2 allele (CGC 又は arginine 型) とし、変異型を A1 allele (CCC 又は proline 型) とした。

4) 解析方法

JMP software を使用し、接合体頻度の解析に 3×2 で Pearson χ^2 検定を用い、染色体頻度の解析では 2×2 で Fisher's exact の検定を用いた。オッズ比と 95% 信頼区間で評価し、分布相関は Hardy-Weinberg 法にて検定した。

【結果】

1) 全肝炎ウイルス感染結果

全島民 8500 名中 2000 名に対して健康診断を行い、401 名 (20.1 %) に HCV 抗体を、39 名 (2.0 %) に HBV 抗原陽性者を認めた。HCV 抗体陽性者比率は兵庫県の平均比率と比較しても高値であった。このうち A 地区に於いて、HCV 抗体陽性者が、876 名中 327 名 (37.3 %) と特に高かった。B 型肝炎ウイルス (HBV) 抗原陽性者についてはとくに地域差は認められなかった。また、A 地区で HCV の genotype (遺伝子型) の判別が可能であったのは 174 名であった。この HCV genotype の分布に関しては特に相関は認められなかった。

2) HCV 感染と p53 遺伝的多型の関連

A 地区の HCV 抗体陽性で HCV genotype が判別した 75 名と非感染者 232 名との codon 72 における genotype の分布に関しては統計学的な相関は特に認められなかった。これら感染者に HBV 抗原陽性者は含まれていない。

しかしながら、男性の HCV 1b 型感染 24 名と年齢をマッチさせた非感染者 45 名の間では CCC (proline) 型ホモ接合体の頻度が感染者で有意に高く ($p=0.039$ 、オッズ比 7.17、95 % 信頼区間: 1.32-38.93)、染色体数もこの型が有意に高かった ($p=0.010$ 、オッズ比 2.21、95 % 信頼区間: 1.04-4.67)。平均年齢は感染者 51.1 \pm 9.0 歳。非感染者 51.0 \pm 8.0 歳であった。また Hardy-Weinberg の分布相関でも 5% 以下を示し、有為な分布であることが判明した。

女性は対象が少なく解析は行えなかった。また他の HCV genotype では相関は認められなかった。

【考察】

3 年間の健康診断から一島の A 地区が HCV 感染率が非常に高い地域であることが判明した。感染経路については特定するに至らなかったが、陽性者のほとんどが 40 歳以上に限られていることから、最近の新たな感染では無いものと考えられる。

遺伝子の構造学的変化として、mutation と polymorphism があるが、過去の研究から、p53 mutation は HCC を始め、様々な種類の癌化に関与していることが明らかになっており、また p53 polymorphism は肺癌、大腸癌、子宮頸癌等の発生に関与していることが報告されている。しかしながら、HCV と p53 polymorphism との関連は本報告が最初である。

いくつかのウイルスは p53 産物の機能を阻害することにより、細胞の異常増殖、癌化を誘導することが明らかになってきた。例えば、アデノウイルス、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス、HBV 等である。またヒトパピローマウイルス感染による子宮頸癌発生に p53 の codon 72 の CGC (arginine) 型が CCC (proline) 型より大きく影響を与えているとしている。最近では、IL-1 β 遺伝子 polymorphism が、ヘリコバクター・ピロリ菌感染による胃癌発生と密接に結びついているとする報告が為された。

最近の報告から、HCV の N3 蛋白質は p53 に作用し、ウイルスの増殖や、細胞の癌化に関与していることが判明した。また HCV のコア蛋白質が細胞周期調節蛋白 p21 に作用し、同様に細胞の癌化に関与しているとされている。そしてこの p21 は p53 により誘導される。このことから p53 polymorphism が p21 の誘導、HCV の増殖を変化させ、肝炎から HCC の進行の過程に影響を与えるという仮説が成り立つ。

今回の研究で p53 polymorphism と HCV 1b 型のみが相関関係を示したことは、他の型の絶対数が少なかったためと思われる。女性に関しては遺伝学的な要因よりは、生活環境要因の方が HCV 感染に大きく関与しているのかもしれない。同地域の男性に比較し、女性の感染率は極端に少なかった。

この p53 の遺伝的多型が HCV 感染または増殖のどちらの過程に関与するのかは今後の研究の課題である。

論文審査の結果の要旨

受付番号	甲第 1486 号	氏名	岡田 文治
論文題目	<p>A p53 polymorphism associated with increased risk of hepatitis C virus infection</p> <p>C 型肝炎ウイルス感染と p53 遺伝的多型の関連</p>		
審査委員	<p>主 査 紅野 義秋</p> <p>副 査 黒坂 昌弘</p> <p>副 査 西尾 久英</p>		
審査終了日	平成 15 年 1 月 30 日		

(要旨は 1, 000 字～2, 000 字程度)

人間の種々の癌において癌抑制遺伝子 p53 の突然変異が見出されている。また Li-Fraumeni 症候群や乳、肺、大腸、子宮頸部癌とこの遺伝子のある種の遺伝的多型との関連も指摘されている。本研究者のグループは C 型肝炎ウイルス (HCV) による肝癌の患者では、p53 の 72 番目のコドンの遺伝的多型が CCC(Pro) 型のものが対照者に比べ多い事が見出していた。それ故 HCV 感染とこの遺伝的多型の関連を調べたのが本論文である。

HCV 感染者の多い兵庫県のある地域の住民を対象として 1996-1999 年の間に、健康診断時にインフォームドコンセントを得て採血した。末梢血白血球の DNA を材料として PCR-SSCP 法により p53 のコドン 72 の遺伝的多型 [CGC(Arg)又は CCC(Pro)] を解析した。又 HCV 抗体陽性者に対しては、この地域の健康診断時に RNA の有無、ウイルスの遺伝子型の調査も行ったので、その結果と p53 遺伝的多型の関連を解析した。

当該地域で HCV 遺伝子型が判明した 75 名と非感染者 232 名について p53 コドン 72 の遺伝的多型を調べた所、全体的には著明な関連は見られなかった。しかしながら年齢と性をマッチさせた HCV-RNA 陽性者と非感染者との比較においては、男性で HCV1b 型感染者 24 名と非感染者 45 名の間では p53 の CCC(Pro) 型ホモ接合体の頻度が感染者で有意に高く ($p=0.039$, オッズ比 7.17, 95%信頼区間 1.32-38.93)、染色体の数においても有意に多かった ($p=0.010$, オッズ比 2.21, 95%信頼区間 1.04-4.67)。平均年齢は感染者 51.1 ± 9.0 才、非感染者 51.0 ± 8.0 才であった。女性は対象者の数が少なく解析不能であった。更に他の HCV 遺伝子型では相関は見られなかった。

p53 の遺伝的多型と HCV 感染の関連の報告はこれが初めてである。p53 の産物は特定の遺伝子群の転写を制御する事により細胞の増殖、分化、癌下に関連している。ヒトパピローマウイルス感染による子宮頸部癌の発生にはコドン 72 の遺伝的多型が関連すると報告されている。HCV 感染の際には、N3 蛋白質と p53 の作用が見い出されており、p53 の遺伝的多型の違いがこの作用を介して、

感染の成立に関連しているのかも知れない。また HCV のコア蛋白質は細胞周期調節蛋白 p21 と作用し、この p21 は p53 により誘導される。P53 の遺伝的多型はこの段階にも影響を与えている可能性がある。p53 の遺伝的多型が HCV の感染か又は増殖の過程のどちらに関与しているかは今後の研究の課題である。

本研究は p53 の遺伝的多型と HCV 感染の関連について研究したものであるが、従来ほとんど行われていなかったウイルス感染とヒトの遺伝的要因について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。