

令和元年6月3日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09344

研究課題名(和文) 宿主microRNAとB型肝炎ウイルス転写産物との相互作用による病態生理の解析

研究課題名(英文) Pathogenesis induced by interaction between microRNA and HBV transcripts

研究代表者

近藤 祐嗣 (KONDO, Yuuji)

東京大学・医学部附属病院・登録診療員

研究者番号：00572231

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：HBVと宿主因子との相互作用を検討するうえで、HBV-RNAと宿主非コードRNAに着目した。配列の相似性から、HBV preS2領域の配列と宿主let7の配列が近似することから、preS2領域のRNAが発現していると宿主のlet7の機能を減弱させることを見出した。いっぽうで、let7の過剰発現はHBVRNAに作用しcccDNAの産生を妨げる作用があることも見出した。ウイルスと宿主の相互作用がRNAを介して起こり、病態形成に関与していることが示唆された。

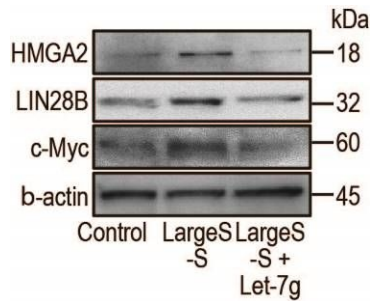
研究成果の学術的意義や社会的意義

B型肝炎ウイルスの病態生理形成にウイルスRNAが関与している可能性を検討した。その結果、B型肝炎ウイルス由来のRNAの一部が、宿主のmicroRNA let7と配列が近似し、その結果、let7を吸着して、その本来の機能を阻害していることを見出した。Let7はがん抑制性のmicroRNAのひとつなので、この作用が、HBV感染での易発癌性に関与していることが示唆されるいっぽう、let7はHBVRNAに作用してウイルスの持続感染に重要なcccDNAの産生を阻害した。ウイルスと宿主の分子的なせめぎあいの解明は病態を明らかにするうえで重要なことが示された。

研究成果の概要(英文)：To better understand the pathological roles of HBV RNAs, the sequence homologies between HBVRNA and host microRNAs were examined. Pre S sequences in the HBVRNA have similarities to the let7g sequences and indeed preS2 RNA suppressed the let7g function. Because let7 is a representative tumor-suppressive microRNA, this may explain the increased probabilities of HCC during HBV infection. On the other hand, let7 suppressed HBV cccDNA production. Therefore, the interaction between virus and host RNA factors may play roles in the viral pathogenesis.

研究分野：消化器内科学

キーワード：HBV microRNA

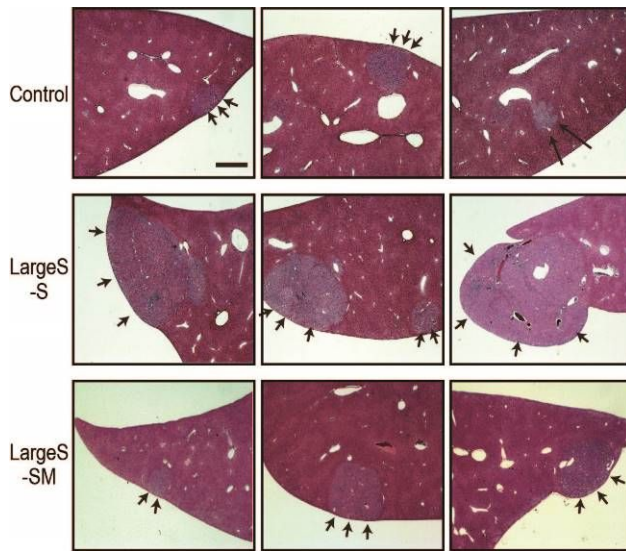


Let7の標的因子であるLIN28Bの蛋白発現量はHBV-RNA存在下で多くなる傾向があった。

これらの結果は、HBV-RNAがlet7のdecoyとなってその機能を損なわせる可能性があることを示している。

(3) トランスジェニックマウスを作製

ストップコドンを入れて、HBV-RNAを発現するけれどもタンパクに翻訳されないコンストラクトを transgenic mouse として作成した。



そこでDENによる化学発癌を惹起したところ、let7の機能が損なわれていることが想定されるHBV-RNAトランスジェニックマウスでは腫瘍の大きさ、個数とも悪化することが示された。

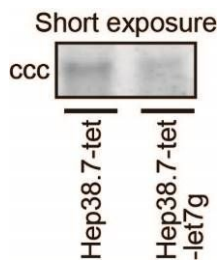
HBV-Large S-RNAを発現するトランスジェニックマウスでは腫瘍径も個数も大きく、変異を入れたものではそれが改善する。

(4) その他の分子機構の解明：

いっぽうで、let7がウイルス複製に与える影響もあると考えられた。

そこで、cccDNA量に及ぼす影響をSouthern blottingで検討したところ、下図のように、cccDNA量がlet7の過剰発現で減少することが示された。

これはlet7によるHBV-RNAとの相互作用が、ウイルスDNA産生に負に影響を及ぼし、その結果、cccDNA量も減少することが示唆された。



Let7gの発現によってcccDNA量が減少する。

以上の結果から、ウイルスと宿主の相互作用が生物学的にも影響を及ぼしていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

1. Nakagomi R, Tateishi R, Masuzaki R, Soroida Y, Iwai T, Kondo M, Fujiwara N, Sato M, Minami T, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Tanaka Y, Otsuka M, Kato N, Moriya K, Ikeda H, Koike K. Liver stiffness measurements in chronic hepatitis C: Treatment evaluation and risk assessment. *J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Nov 4. doi: 10.1111/jgh.14530.
2. Uchino K, Tateishi R, Nakagomi R, Fujiwara N, Minami T, Sato M, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Shibahara J, Shiina S, Koike K. Serum levels of ferritin do not affect the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma undergoing radiofrequency ablation. *PLoS One*. 2018 Jul 25;13(7):e0200943. doi: 10.1371/journal.pone.0200943.
3. Sawai H, Nishida N, Khor SS, Honda M, Sugiyama M, Baba N, Yamada K, Sawada N, Tsugane S, Koike K, Kondo Y, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Taketomi A, Fukai M, Kurosaki M, Izumi N, Kang JH, Murata K, Hino K, Nishina S, Matsumoto A, Tanaka E, Sakamoto N, Ogawa

K, Yamamoto K, Tamori A, Yokosuka O, Kanda T, Sakaida I, Itoh Y, Eguchi Y, Oeda S, Mochida S, Yuen MF, Seto WK, Poovorawan Y, Posuwan N, Mizokami M, Tokunaga K. Genome-wide association study identified new susceptible genetic variants in HLA class I region for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*. 2018 May 21;8(1):7958. doi:10.1038/s41598-018-26217-7.

4. Enooku K, Kondo M, Fujiwara N, Sasako T, Shibahara J, Kado A, Okushin K, Fujinaga H, Tsutsumi T, Nakagomi R, Minami T, Sato M, Nakagawa H, Kondo Y, Asaoka Y, Tateishi R, Ueki K, Ikeda H, Yoshida H, Moriya K, Yotsuyanagi H, Kadowaki T, Fukayama M, Koike K. Hepatic IRS1 and β -catenin expression is associated with histological progression and overt diabetes emergence in NAFLD patients. *J Gastroenterol*. 2018 Dec;53(12):1261-1275. doi: 10.1007/s00535-018-1472-0.
5. Minami T, Tateishi R, Nakagomi R, Fujiwara N, Sato M, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Shiina S, Koike K. The impact of direct-acting antivirals on early tumor recurrence after radiofrequency ablation in hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2016 Dec;65(6):1272-1273. doi:10.1016/j.jhep.2016.07.043.
6. Minami T, Tateishi R, Kondo M, Nakagomi R, Fujiwara N, Sato M, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Moriya K, Shiina S, Koike K. Serum Alpha-Fetoprotein Has High Specificity for the Early Detection of Hepatocellular Carcinoma After Hepatitis C Virus Eradication in Patients. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Jun;94(23):e901. doi: 10.1097/MD.0000000000000901.
7. Uchino K, Tateishi R, Fujiwara N, Minami T, Sato M, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Yoshida H, Moriya K, Shiina S, Omata M, Koike K. Impact of serum ferritin level on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res*. 2016 Apr;46(4):259-68. doi: 10.1111/hepr.12517.
8. Takata A, Otsuka M, Ohno M, Kishikawa T, Yoshikawa T, Koike K. Mutual antagonism between hepatitis B viral mRNA and host microRNA let-7. *Sci Rep*. 2016 Mar 16;6:23237. doi: 10.1038/srep23237.

[その他]

ホームページ等

<https://sites.google.com/site/225kenncrna/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：大塚 基之

ローマ字氏名：(OTSUKA, Motoyuki)

所属研究機関名：東京大学

部局名：医学部附属病院

職名：講師

研究者番号 (8 桁) : 90518945

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。