

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 五藤 忠

本研究はデルタ肝炎ウイルス (HDV) の産生するたった 2 種の蛋白が、5 つの細胞内シグナル伝達経路に与える影響と、その機序について解析を行ったものである。また、デルタ肝炎ウイルスは B 型肝炎ウイルスの存在下でのみ感染可能なウイルスであるため、B 型肝炎ウイルスの発現する HBx 蛋白との協調作用についても検討しており、下記の結果を得ている。

1. 一過性にスモール、ラージデルタ抗原を HeLa細胞内に発現させる系を用い、合成したプロモーター配列を持つレポータープラスミドを使用したルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、ラージ抗原のみが SRF、SRE、AP-1、NF- κ B、そしてCRE依存性 pathwayのうち、SRF関連 pathway を活性化した。培養肝癌細胞においても同様の結果が得られた。
2. ラージ抗原は、ゲルシフトアッセイにて SRFの CArG boxへの DNA結合能を変えなかった。しかし、酵母の GAL4-UASを用いて細胞内でのアーチファクトを除いたレポーターアッセイで、ラージ抗原には SRFの転写活性化能増強作用があることが示された。
3. ラージ抗原は SM22 α からの転写を SRF依存性に活性化した。また、*c-fos* プロモーターからの転写を、Elk1によらず、同じく SRF依存性に活性化した。

4. ラージ抗原は B型肝炎ウイルスの発現蛋白のなかで HBx蛋白との組み合わせで、SRE依存性 pathwayを協調的に活性化した。
5. 上記の作用はスモール抗原には認められず、またスモール抗原の存在は、ラージ抗原の作用に影響しなかった。

以上、本論文はデルタ肝炎ウイルス蛋白が、細胞内シグナル伝達経路に与える影響について検討し、ラージデルタ抗原が SRF関連 pathwayを活性化し、HBx蛋白とも関連して細胞増殖に関わる可能性を示唆できたこと、また、2つのデルタ抗原の機能上の差異が新たに明らかになった点で、学位の授与に値すると思われる。

尚、審査会時点から、論文の内容中、以下の点が改訂された。

1. 結論から、「ラージ抗原は *c-fos* 転写促進により癌化に、また、stellate 細胞による線維化に影響している可能性が示唆された。」との記載を削除し、考察のみにとどめた。
2. すべての実験について実験回数 (n=)を記載した。
3. ラージデルタ抗原と HBx 蛋白の SRE dependent pathway における相互作用の結果を追加した。それに伴い、研究の背景および目的 (pp.6)、方法 (pp.9 B型肝炎ウイルス蛋白発現プラスミドの構築, pp.13 培養細胞へのトランスフェクション)、結果 (pp.29-30 ラージ抗原と HBx 蛋白の相互作用, 図 12)、考察 (pp.35)、結論 (pp.37)の一部を変更、追加した。
4. 図 2 (pp.6)に SRF pathway を追加した。
5. 誤字修正を行った。