肝臓を標的とするマイコトキシンとウイルス

小 俣 政 男*

M. OMATA, M.D.*: The effects of mycotoxin and hepatitis virus to the liver

は じ め に

従来より化学物質、ウイルス、マイコトキシン等、病因的に種々の物質が肝発癌に関係ありとされてきた。また、B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus-HBV) は急性、慢性肝炎、肝硬変さらには肝癌発生と関係ありとされている。特にウイルス DNA が癌細胞 DNA 中に組み込まれていることが示された。しかし、発癌との関連は未だ明確にされていない。病因としてこの肝炎ウイルスと対比してしばしば述べられるのが、アフラトキシン等のマイコトキシンである。ヒト HBV に類似した構造を有し、かつ実験的に慢性感染症を作製し得るダック B型肝炎ウイルス (duck hepatitis B virus-DHBV) について概説し、また肝発癌の実験モデルとしての有用性について我々の現在までの経験をもとに述べたい。

1. Hepadna ウイルス

1965年 Blumberg らにより、オーストラリア原住民の血液中に血友病患者中の抗体と反応する抗原が存在することが初めて明らかにされ、これがオーストラリア抗原と命名され、B型肝炎ウイルス (HBV) 研究の突破口を開いた。1978年、Blumberg と同じ研究所の Summers らが、彼らの研究所から遠くないフィラデルフィア動物園にいたウッドチャック (ゲッ歯類) の血中に構造の類似した肝炎ウイルス (woodchuck hepatitis virus-WHV) が存在することを明らかにした。さらにその後数年以内にリス (ground squirrel hepatitis virus-GSHV)、およびペキンダック (duck hepatitis B virus-DHBV) にそれぞれ同様のウイルスが存在することが明らかにされ、現在これらは肝に特異的に感染を惹起する DNA ウイルスという意味で Hepadna ウイルスと呼ばれている。これらウイルスの構造等の対比を表1に示した。これらのウイルスは核酸として環状不完全二重鎖 DNA を含む。この二重鎖 DNA の一方の鎖 (プラス鎖あるいは短鎖) は全周の 50 から 60% しかない。ウイルス粒子の外殻は表面抗原 (hepatitis B surface antigen=HBsAg) で、なかに核抗原 (hepatitis B core antigen=HBcAg) を含む。このウイルス本体 (Dane 粒子と呼ばれる) 以外に HBsAg のみを含む球状、あるいは管状粒子が血中に存在するが、これらには感染性がない。

DHBV も HBV と同様の構造を有するが、通常管状粒子を欠く。これらのウイルス抗原の交叉性は哺乳類の肝炎ウイルスの間では存在するが、DHBV と他の哺乳類肝炎ウイルス間では明確な抗原交叉性はない。また交叉感染性も調べられたが、これら肝炎ウイルス間では宿主以外には感染は生じないようである。したがって DHBV はヒトには感染しない。ヒトのウイルスキャリアーは

* 千葉大学医学部第一内科 (〒280 千葉市亥鼻 1-8-1)

Ist Department of Medicine, Chiba University School of Medicine (1-8-1, Inohana, Chiba 280)

表 1 ヘパディナウイルスの対比

	HBV	WHV	GSHV	DHBV
ウイルス粒子	42nm 球状 28nm 球状コア	47nm 球状 27nm 球状コア HBcAg と抗原交叉 (+)	47nm 球状 約 30nm 球状コア HBcAg と抗原交叉 (+)	40~45nm 球状 27nm 球状コア (スパイクあり)
ゲノム	DNAポリメラーゼ活性 環状 DNA 不完全二重鎖	DNAポリメラーゼ活性 環状 DNA 不完全二重鎖	DNAポリメラーゼ活性 環状 DNA 不完全二重鎖	DNAポリメラーゼ活性 環状 DNA 不完全二重鎖, 完全二重鎖
S抗原粒子	L鎖: 3,182 bp, 5'末端 蛋白結合 血中に HBsAg 22nm, 球状, 管状	L鎖: 3,308 bp, 5'末端 蛋白結合 血中に WHsAg 20~25nm, 球状, 管状	L鎖: 3,311 bp, 5'末端 蛋白結合 血中に GSHsAg 15~25nm, 球状, 管状	L鎖: 3,021 bp, 5'末端 蛋白結合 血中に DHBsAg 40~60nm, 球状 (不整形)
自然宿主	ヒト 全世界	HBsAgと弱い抗原交叉 東部ウッドチャック ペンシルベニア州, メリーランド州	HBsAgと弱い抗原交叉 地リス カリフォルニア州	北京アヒル 中国, アメリカ, フランス
持続感染率	0~20%	30~35%	0~50%	10~70%
伝播様式	垂直感染, 水平感染	不明	不明	経卵感染
臓器親和性	肝	肝	肝	肝, 腎, 脾, 膵
疾患	健康キャリアー 急性, 慢性肝炎 肝細胞癌	健康キャリアー 慢性肝炎 肝細胞癌	健康キャリアー 不明 不明	健康キャリアー 慢性肝炎 肝細胞癌

全世界で調べられ, 持続感染率は 0 から 20% といわれている。中国では濃厚感染地区が知られている。DHBV の感染率を我々は中国各地, インド, インドネシア, 台湾で調べた。中国本土の東海岸には濃厚感染地区が存在し, 上海北方の啓東地区では 70% の持続感染率が存在した。極めて興味深いことには, この地区には肝癌がヒトに多発し, かつ HBs 抗原持続感染率も極めて高い。本邦のペキンダックには (一つの養鴨場であるが) 感染が見られなかった。

2. DHBV 感染実験とウイルス増殖

実験室での感染ダック作製のために, 生後 1 日目のダックに DHBV 陽性血清を接種し, 経過を観察したところ, ほぼ全例に持続感染が成立した¹⁾。特にウイルス感染成立時に肝内でのウイルス増殖系が検索し得た²⁾。すなわち, Dane 粒子中の不完全二重鎖 DNA は肝細胞中に感染直後, 完全二重鎖 DNA となり, かつねじれ (Supercoiled form) となり, これが最初の転写鋳型となると考えられる (表 2)。これは, 感染実験直後時間で起こり, 次いで RNA が転写され, これから不完全二重鎖 DNA の長鎖 (マイナス鎖 DNA) が逆転写される。この RNA→DNA の過程が存在することが, このウイルスの極めて特徴的な面と考えられる。つまり, DNA ウイルスであるが, RNA ウイルスであるレトロウイルスのごとく, 逆転写過程が存在することである。このマイナス DNA 鎖から, DNA ポリメラーゼの働きによってもう一方の鎖 (短鎖, あるいはプラス鎖) が生成され, 不完全二重鎖 DNA となり感染後数日中に血中に検出された。

3. DHBV DNA の肝癌細胞中への組み込み

ヒトおよびウッドチャックでは, ウイルス DNA が肝細胞癌の宿主 DNA 中に組み込まれてい

表 2 Summary of DHBV Replication at the Early Stage of Infection*

Inoculation	Liver	Serum DHBV DNA
	Entry of virion of viral DNA into hepatocyte	
6 hr	Generation of supercoiled DNA	—
12 hr	Transcription of RNAs “pre-genome” mRNA	—
	Reverse transcription of DNA	
24 hr	Amplification of RNAs	—
	Synthesis of protein	
	Increase of “pre-genome”	
	Synthesis of double-stranded DNA	—
	Coating and Export?	
3 days	Secretion of virion	+
	Reinfection to other hepatocytes	
6 days		+++

* Tagawa, M., Omata, M., Okuda, K.: Appearance of viral RNA transcripts in the early stage of duck hepatitis B virus infection (in press).

ることが1979年、初めて示され、発癌との関係が論じられている。Hepadna ウイルスのなかでもリスおよびダックでの肝癌発生とウイルスの組み込みの存在は明らかにされていなかった。我々は中国のダックを検索中、ダック肝に癌の発生を見た。この癌組織を解析した結果、癌細胞中にダック B型肝炎ウイルス DNA が組み込まれていることが見い出された⁸⁾。さらに、この組み込まれたウイルス DNA とその周辺の DNA をクローニング解析しているが、ヒト HBV DNA が肝細胞癌 DNA に組み込まれた際に見られる DNA の再編成が観察されている⁹⁾。したがって、ダックにおけるウイルス DNA の組み込みと肝癌発生はヒトの場合と相似しているかもしれない。

4. アフラトキシンとアヒル肝癌

ヒト肝癌発生における原因の追求は種々のデーターを提供している。なかでも、アフラトキシンと B型肝炎ウイルスはその双壁である。また実験的にも種々の化学発癌剤が癌を肝に誘発しているのは周知の事実である。特にこれら病因が単独、あるいは相補的に作用した場合、癌発生がどのように影響を受けるかは知られていない。我々は予備的な実験として、アセチルアミノフルオレン、DAB、あるいはニトロソアミンなどの化学発癌剤、およびアフラトキシンを DHBV を感染ダックに投与し、肝癌が発生する可否かを観察した。現在まで、1年から2年の間にアセチルアミノフルオレン投与の1羽とアフラトキシンの3羽に肝癌の発生を見ている。今後はウイルス感染とアフラトキシンが肝癌発生あるいはウイルス DNA の組み込みにいかに関与しているかを調べたい。

ま と め

ウイルスとアフラトキシンは肝癌発生の原因の二大双壁である。この二者のヒト肝発癌への影響を見る実験モデルとして DHBV 感染症は有用と思われる。

謝 辞 アフラトキシンにつき御教示いただいた千葉大学生物活性研究所寺尾清先生および国立予防衛生研究所栗飯原景昭先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) Omata, M., Yokosuka, O., Imazeki, F., Matsuyama, Y., Uchiumi, K., Ito, Y., Mori, J., Okuda, K.: *Hepatology*, **4**, 603 (1984).
- 2) Tagawa M., Omata, M., Yokosuka, O., Uchiumi, K., Imazeki, F., Okuda, K.: *Gastroenterology*, **89**, 1224(1985).
- 3) Yokosuka, O., Omata, M., Zhou, Y., Imazeki, F., Okuda, K.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 5180 (1985).
- 4) 今関文夫, 小俣政男, 奥田邦雄, 柳沼克幸, 小林みどり, 小池克郎: 第44回日本癌学会 東京総会記事, 1546 (1985).