

4. HCV による肝癌発症機序

土方 誠

京都大学ウイルス研究所がんウイルス研究部門ヒトがん研究分野

C型肝炎ウイルス (HCV) は肝細胞癌 (HCC) の主要な原因因子のひとつとして知られている。HCV 感染による慢性肝炎がこの HCV が関連した HCC の発症に大きな要因である可能性が考えられているが、この HCC の発症機序はまだ完全に解明されてはいない。いくつかの HCV 遺伝子産物には培養細胞を形質転換する活性があることが示されており、それらのタンパク質を外来性に培養細胞に発現させることにより、発癌に関連した細胞内のシグナル経路に変化が生じるという結果が得られている。また、これらの HCV タンパク質の中でコアタンパク質 (コア) を発現するトランスジェニックマウスの中からは、比較的長い飼育の後、明確な肝炎症状なしに脂肪肝と HCC を発症するマウスが出てくることも報告されている。そこで細胞内の様々な事象の変化に対するコアの機能について広範囲に研究されている。ここではそうした HCV に関連した HCC の発症機構に関する研究の進展状況について概説したい。

はじめに

我が国における癌による年間死亡者数において、肝癌は肺癌、胃癌に次いで第3番目に多い死亡原因となっており、年間2万人以上の方が肝がんによって亡くなっている。1989年にそれまで非A非B型肝炎ウイルスと呼ばれていたウイルスのRNAゲノムに対するcDNAがクローニングされ、C型肝炎ウイルス (Hepatitis C virus: HCV) と命名されてから、このHCVの感染に関する分子疫学研究が可能になった^{6, 18)}。これを基に血液中の抗HCV抗体検出系やRT-PCRを用いた高感度のHCVゲノム検出系が開発され、まず非A非B型肝炎の大部分がHCV感染によるものであり、また肝癌患者の約80%にC型肝炎ウイルス (HCV) が感染していることが確認された。このことからHCV感染は肝癌発症の高危険要因と考えられるようになった。また、同時に世界人口の約3%が既にこのウイルスに感染していると推定されたことから、HCVは人類に対する

大きな脅威の一つであると認識されるようになった。現在、HCV発見から既に17年の歳月が経つが、未だにHCV感染による肝癌発症のメカニズムの詳細が明らかになっているわけではない。しかしながら多くの研究者の努力によりこれまでに様々な重要な知見が蓄積されてきている。本稿ではそうした知見を紹介しながら、HCV感染による肝発癌機構について考察したいと思う。

I. HCV 感染による肝発癌の特徴

HCVの感染は高い確率で慢性肝炎を引き起こし、この感染による慢性肝炎は自然治癒することはまれである。HCVが感染した肝臓は長期にわたる慢性肝炎の後に繊維化が進んでいき肝硬変へと進行する。そして、感染から約30年の年月を経て、肝硬変からさらに肝癌に進行するという段階的な病態の進行を示す特徴を有する。また、この肝癌も一般的に癌部が結節状になっており、比較的肝細胞の形質を残した高分化型の結節の中に未分化型、つまりより悪性化した結節が存在するという特徴的な形態を示している。このことからこの肝癌が長期にわたる多段階の遺伝子変異の蓄積により発生し、経時的に悪性度を高めていくように病態を進行させていると考えられる。このことからHCVの遺伝子産物が単独で細胞を直接的に癌化するような古典的ながん遺伝子産物として働くのではなく、HCVの感染が細胞の癌化に必要ないくつかのステップに関わる宿主細胞の遺伝子変化を誘導することによって正常細胞を癌化させる

連絡先

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53
 京都大学ウイルス研究所
 TEL : 075-751-4046
 FAX : 075-751-3998
 E-mail : mhijikat@virus.kyoto-u.ac.jp

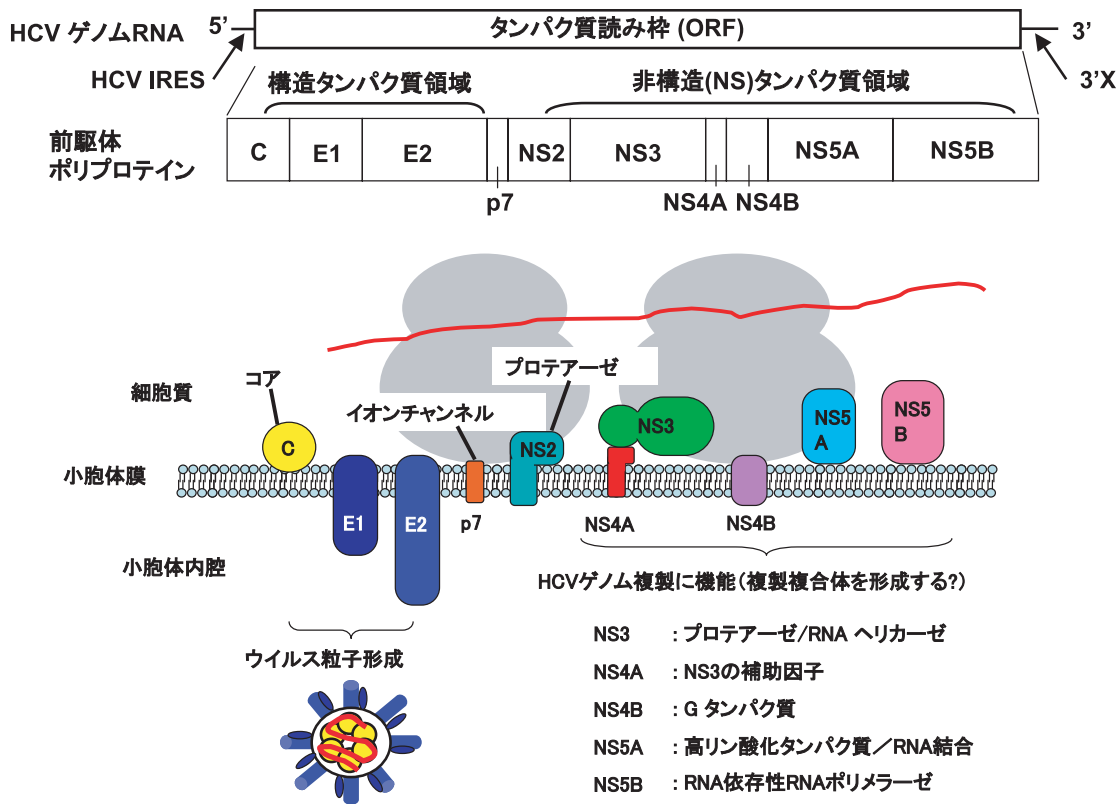


図1 HCV ゲノム構造とその遺伝子産物の機能

というメカニズムが推定されている。

II. 肝炎と肝発癌

古くから慢性的な炎症が発癌に重要な原因となることが考えられており、HCV 感染による肝発癌の原因の一つが当然慢性肝炎そのものである可能性が考えられる。ウイルス性肝炎はウイルスが感染した細胞を宿主の免疫系が攻撃し、これを排除するという生体反応であると考えられている。旺盛な再生力をもった肝臓ではこのようにして排除された肝細胞はすぐに再生によって補われる。従って慢性的な炎症下では、肝細胞は免疫系細胞群からの種々の炎症性サイトカインや遺伝子変異を引き起こす活性酸素に曝されることになり、また継続的な肝細胞の破壊と再生の繰り返しは肝細胞の増殖活性化を意味することになる。継続的な細胞増殖は遺伝子変異の蓄積を引き起こす可能性が考えられているが、肝臓では他の組織とは異なる事情も存在する。つまり、肝臓は本来血液中の発癌物質を始めとする化学物質の解毒作用を持つ組織であるが、発癌物質の無毒化の中間産物にDNAの塩基に付加体を形成する作用をもつ分子が産生される場合があることが知られている。このことは肝細胞の再生のための細胞分裂期にこのような遺伝子変異誘導物質が近傍で産生される危険性が他の組織に比べて著しく高くなることを示唆するものである。このように慢性的

な肝炎そのものが遺伝子変異誘導の引き金になる可能性は非常に高いと考えられる。しかしながら、慢性肝炎の中でも自己免疫性肝炎症例の場合、肝硬変へと進行するが肝臓の発症はウイルス性肝炎と比較して大幅に少ないことから、HCV 感染による慢性肝炎においてはウイルス側の何らかの因子がさらに肝発癌への重要な要因となっている可能性が考えられている。

III. HCV の遺伝子産物による細胞形質転換

1. HCV の遺伝子構造

HCV はプラス鎖 RNA ウイルスであり、約 9500 ヌクレオチド長の一本鎖 RNA をそのゲノムとしている (図1)。そのゲノムの大部分は一つのタンパク質読み枠 (open reading frame: ORF) で占められ、ウイルスタンパク質はすべてここにコードされている。この RNA ゲノムには大部分の宿主細胞 mRNA とは異なり CAP 構造が存在しないため⁴³⁾、この ORF からの翻訳は 5'非翻訳領域に存在する内部リボソーム挿入部位依存的におこなわれる⁴⁸⁾。主要なウイルスタンパク質はその ORF から翻訳される前駆体ポリタンパク質から宿主側あるいはそのポリタンパク質に存在するプロテアーゼ活性によってプロセシングされて産生されてくる³⁹⁾。そのプロセシングパターンから ORF は 5'末端側からコア (C)、エンベロップ1そして2 (E1,E2) と

いったウイルス粒子を構成する構造タンパク質群, そのC末端側からはp7と呼ばれるイオンチャネルを形成する分子, そしてさらにゲノム複製等に関与すると考えられる6種の非構造(nonstructural: NS)タンパク質(NS2からNS5Bまで)をコードしていることがわかっている. 3'非翻訳領域はウリジンに富んでいて様々な長さをもつ領域を含み, その3'末端には98ヌクレオチドからなる良く保存されたステムループ構造を形成する3'X領域と呼ばれる配列が存在している^{16, 45)}. レトロウイルスやDNAウイルスなどの他の発がんウイルスの場合, ウイルスゲノムは宿主細胞の核内で複製され, そのゲノムが宿主染色体に挿入され, それが発癌の原因となる場合があるが, HCVゲノムは細胞質において複製されると考えられており²³⁾, 現在のところ, このRNAあるいはcDNAは核内から検出されていない. このことからその遺伝子産物つまりHCVタンパク質が細胞癌化に対して何らかの機能を持つ可能性が考えられるわけである. そこでHCVのタンパク質を各種細胞等に発現させ, その細胞に対して何らかの影響を与えるか否かについて様々な検討がなされてきている.

2. HCV タンパク質による細胞形質転換

これまでに上記, HCVタンパク質の中でコア, NS3, NS4B, NS5Aについて実験的に培養細胞に形質転換を引き起こす活性を有するという結果が報告されており^{11, 31, 33, 38, 47)}, これらのタンパク質による形質転換機構に関して様々な研究がなされてきている. この中でもっとも盛んに研究されているコアについてはその詳細を後述することにする. NS3に関してはがん抑制遺伝子p53¹³⁾, タンパク質リン酸化酵素A(PKA)³⁾やC(PKC)⁴⁾などいくつかの細胞側の因子との相互作用によってそれらの生理機能を抑制する可能性が指摘されているが, 今のところ, その相互作用と細胞形質転換との直接的な関連は示されていない. NS5Aに関しては, その機能が不明であったことからこれと相互作用する細胞性因子のスクリーニングがおこなわれ, 様々な候補分子が報告されている. その中にはNS3同様p53も含まれ²¹⁾, 他にRNA依存性タンパク質リン酸化酵素¹⁰⁾や増殖因子受容体とRas/MAPキナーゼをつなぐアダプター因子であるGrb2⁴⁴⁾そしてCDK2²⁾などの報告もあり, それぞれの機能を阻害するとしている. しかしながら後者2つとの相互作用では細胞増殖を抑制することになり, 形質転換能とは相反する結果となっている. また, Transforming Growth Factor (TGF)- β 受容体Iと結合することでSmadを介したTGF- β シグナルを抑制するという結果も得られているが, その役割は不明である⁵⁾. 一方, NS5Aはフォスフォイノシチド3リン酸化酵素(PI3K)と相互作用することにより, これを活性化して細胞のアポトーシス抵抗性に寄与するとする結果も示されている⁴¹⁾. PI3Kの活性化によりその下流のリン酸化カスケードが活性化され, グリコゲン合

成酵素リン酸化酵素3 β (GSK3 β)がリン酸化されることで活性が抑制され, 結果的に肝発癌との関連性が指摘されている β -cateninの活性化がおけると報告されている⁴²⁾. アポトーシス抵抗性に関しては最近アポトーシス誘導因子であるBin1と相互作用しこれを抑制するというメカニズムも提唱されている²⁸⁾.

これまでに種々のトランスジェニックマウスが作成され解析された結果, この中でコアを発現するトランスジェニックマウスには長期間の飼育の後に肝発癌するものが出てくることがわかった²⁵⁾. そこで, このコアタンパク質が現在HCVタンパク質の中で最も肝発癌に関連したタンパク質と考えられており, 様々な角度から研究が進められている. そこでここではこのコアに焦点を絞りその細胞内シグナル経路に対する効果についての研究結果について紹介する. コアのこうした機能についての最初の報告は, コアを癌遺伝子の一つである活性型Rasと同時にラット胎児繊維芽細胞に発現させるとその細胞を形質転換することができるというものであった³³⁾. 我々の研究室においてマウスBALB/c 3T3 A31-1-1細胞を用いた場合でも同様の結果が得られ, コア発現によって細胞増殖能が亢進されることも観察された⁴⁷⁾. この形質転換されたBALB/c 3T3 A31-1-1細胞ではコア発現によってMAPキナーゼ経路の活性化が上昇することが観察されたが, その詳細なメカニズムについては未だに不明である^{8, 47)}. このコアによるMAPキナーゼ経路の活性化はエタノール投与したコア発現トランスジェニックマウスでも観察されている⁵⁰⁾. 最近, 肝癌由来細胞HuH-7細胞にコアを発現させた場合やHCVの全長ゲノムからなるレプリコンが複製している細胞の培養上清にはHuH-7に由来する細胞の増殖やDNA合成を亢進させる働きがあることが示された⁹⁾. HuH-7にコアを発現させた場合のどのような遺伝子が誘導されるのかを既知の遺伝子についてマイクロアレイ解析したところ, Wnt-1遺伝子とその下流遺伝子のWISP-2遺伝子の発現上昇が確認された. siRNAでWnt-1 mRNAを減少させるとコア発現の効果が打ち消され, Wnt-1を発現させたHuH-7細胞の上清にはコア発現細胞同様の細胞増殖活性化能が認められた. このことからコアの発現によってHuH-7はWnt-1遺伝子発現が誘導され, 分泌されたWnt-1がHuH-7細胞の増殖を活性化することが示唆された. 細胞増殖の活性化については異なる報告もある. 肝芽腫由来のHepG2細胞ではコア領域を含むHCVゲノム全長を発現させた時だけ, 44日以上継代培養した後に増殖活性が上昇するが, コア領域を含む場合でも部分ゲノムの発現ではこの現象は認められないと報告されている⁴⁹⁾. HepG2細胞ではWnt-1下流の β -catenin遺伝子に変異があり既に活性化状態となっているためにHuH-7細胞とは異なる結果と成っているのかもしれない. ヒト初代肝細胞にコアを発現させることでこの細胞は不死化するという報告もなされている³⁴⁾. 現時点では同様の結果が

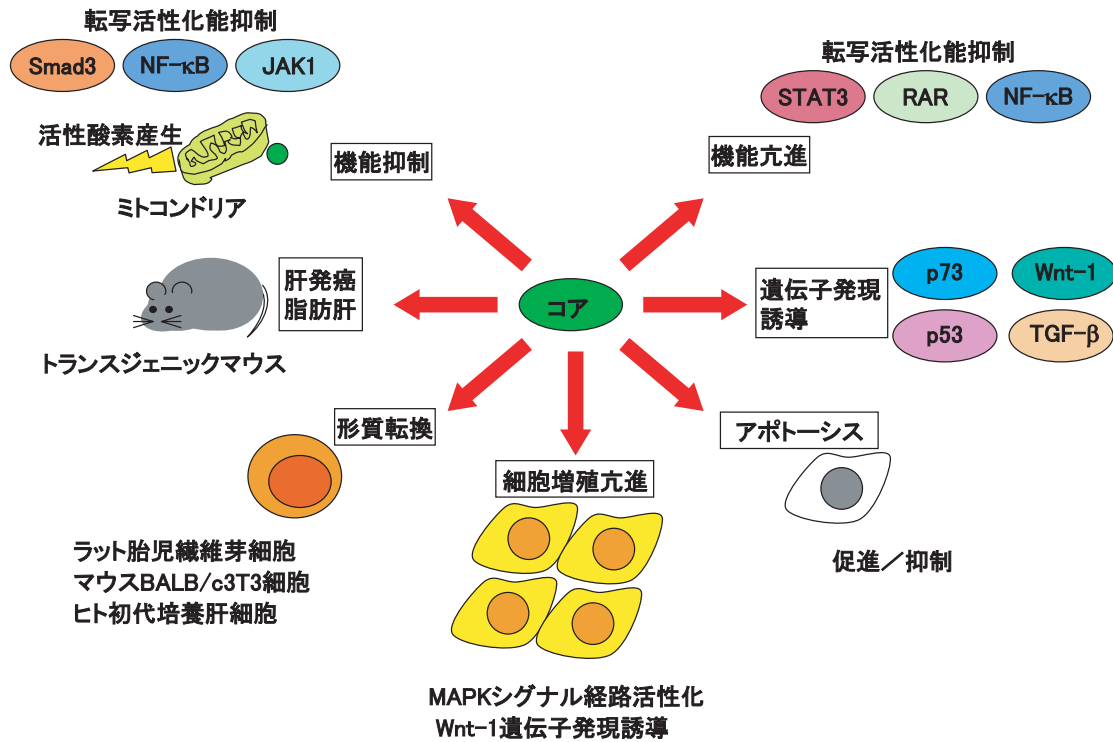


図2 HCV コアタンパク質発現によって観察される現象

複数の研究室からなされているわけではないが、実際にこのような活性をコアが示す条件をさらに検討する必要があるかもしれない。細胞癌化を考える上で重要な要因のひとつであるアポトーシスについてもコアがその感受性を制御する効果を有することが見出されている。HCVのORF全長をHepG2というヒト肝芽腫由来の細胞に一過性に発現した場合、この細胞はFasを介して誘導されるアポトーシスに対して抵抗性を示すようになることがわかった。その効果はORFの欠失変異体解析からコアの発現に依存することがわかった²²⁾。しかし、一方、樹立したコア常時発現細胞では同様のアポトーシス誘導刺激に対して逆にアポトーシス促進効果があるという報告もある³⁷⁾。コア発現による細胞機能の変化を観察する実験では時としてこのように相反する結果が得られることがあり、コアの機能について一定の見解が得られないという問題となっている。我々が上記アポトーシス実験に用いているコアを用いた場合でも、乳癌由来のMCF7細胞にこのコアを発現させた場合、オールトランス型レチノイン酸によって誘導されるこの細胞のアポトーシスに関してはこれを促進するようにコアが働くという結果になる⁵²⁾。これはコアがレチノイン酸受容体(RAR)に依存した転写活性化を亢進するために起る現象であることがわかった。つまりコアはRARの転写抑制因子Sp110bに結合し、この分子をコアが局在している細胞内膜上に係留し、核への局在を阻害することでその活性を

抑制するために生じていた。このことから、おそらくコアは細胞側の非常に多くのシグナル経路に対して影響を与えるために、使用する細胞種やその細胞に与える刺激によってコアが影響を与える応答が全く異なる可能性が考えられる。

3. HCV コアタンパク質による細胞内シグナル経路の攪乱

コアによる種々の細胞内シグナル系やその最終的な機能因子である転写関連因子の活性制御に関する報告が多く認められる(図2)。発癌と密接に関連すると考えられるものとしてまずがん抑制遺伝子p53があげられる。肝癌においては高頻度にp53遺伝子の変異が認められており、p53は不活性化されている。コアによるp53への影響はp53遺伝子のプロモーター活性を抑制し、その転写に阻害的に働くという報告³⁶⁾があるが、一方これとは逆にコアがp53と結合することでその転写活性そのものを上昇させる報告がなされている^{19,30)}。このようなコアによるp53の活性化がどのような意味を有するのか現時点では不明である。またp53関連遺伝子であるp73についても同様にコアと結合して転写活性が上昇するという報告もある¹⁾。近年、p73のバリエーションのひとつであるアミノ末端側の転写活性化領域を持たないNΔp73の発現が肝癌細胞内で上昇していることが見いだされている²⁷⁾。NΔp73はp53や他の転写活性をもつp73と結合し、その活性を抑制する、所謂ドミ

ナントネガティブ体として機能することが知られている^{40, 51)}。したがって p53 や p73 に依存したがん抑制的な機能を抑制することで細胞の癌化に役割を果たすことが推定されているが、この場合もコアによる転写活性の上昇との関連は今のところ不明である。コアを発現させることにより各種サイトカイン遺伝子やアポトーシス関連遺伝子といった炎症関連遺伝子などの発現に重要な役割をもつ転写因子 NF- κ B の転写活性化能についてもコアにこれを活性化する働きがあると報告されている^{15, 22)}。ただし、全く逆に抑制するとする報告もなされている¹⁴⁾。また肝癌において高い頻度で転写活性の亢進が報告されている STAT3 についてもコアの発現によって転写活性化能が上昇するという報告がある^{20, 53)}。一方、コアによって STAT3 を活性化するリン酸化酵素である JAK1 の活性が抑制され、STAT の活性に対してコアが抑制的に働くという報告もある¹²⁾。コアによるこれらシグナル経路に対する影響はこれを活性化する場合と抑制する場合、そしてなら影響を与えないという様々な報告がなされる場合があり、一定の見解が得られていない傾向があるため、コアの機能を考える上で大きな問題となっている。最近、癌部から単離した HCV ゲノムにコードされているコアは Smad3 と結合して TGF- β シグナル経路を阻害するが、その癌部近傍の非癌部から得たコアでは同様のことが認められなかったという報告もなされている³²⁾。ただしこれとは異なり、コアを発現させると TGF- β 遺伝子の発現が誘導され、TGF- β の産生が上昇するという実験結果も得られている⁴⁶⁾。確かに HCV は多様性に富み、同一の感染患者の中にも配列の異なるウイルスが多数存在していると考えられ、宿主免疫系からの逃避やインターフェロンや抗ウイルス剤に対する感受性を変化させるという生き残り戦略をもっている。したがって用いたコアのわずかなアミノ酸多様性によって細胞に対する効果が変化することは十分に考えられることである³⁵⁾。ただし、こうした報告間の相違が生じる原因の一つは用いたコアの配列の相違だけでなく、使用した細胞種あるいはコアの発現方法や発現量、活性の検出系といった実験条件の相違であるのかもしれない。こうした条件が実際の HCV 感染患者の中でどのようなタイミングを反映したもので、どのような意味をもつものなのかは現時点では明らかになっていない。また、上記のようにコアタンパク質は様々な細胞内シグナル経路に影響を与える可能性について多くの報告があるが、具体的にコアがどのようなメカニズムでそうした現象を引き起こしているのかについて詳細に示しているものは極一部にすぎないため、今後は詳細なメカニズムを明らかにしていく必要があると思われる。

4. HCV コアタンパク質発現による活性酸素産生

長期飼育の後に肝発癌するコアのトランスジェニックマウスの解析から、この 16 ヶ月齢以上のマウス肝組織には、

炎症は認められないがコントロールマウスに比較して 1.8 倍の過酸化脂質が存在することが認められた。若いトランスジェニックマウスにおいても過酸化水素化合物の産生の上昇が認められ、コアの発現により活性酸素の産生が上昇する可能性が示唆された²⁶⁾。培養細胞においてコアを発現させた場合でも同様に過酸化脂質産生の上昇や抗酸化反応因子の遺伝子発現誘導が観察されていることからこの現象はコアが直接引き起こしていることと考えられている²⁹⁾。トランスジェニックマウスと培養細胞のどちらの場合でもコアを発現させた場合にミトコンドリアに損傷が生じていることが認められていることから、コア発現による活性酸素の産生にはミトコンドリアが関与していることが示唆されている。また、最近、コアが細胞内の酸化型グルタチオン量を低下させ、ミトコンドリアの外膜に結合し、電子伝達複合体 I の機能を阻害することで Reactive oxygen species (ROS) の産生を増加させているというメカニズムの存在が示唆されている¹⁷⁾。これらの結果は HCV 感染による慢性肝炎患者の肝臓では活性酸素の産生が上昇している可能性が示唆されていることと良く一致している⁷⁾。ただし、コアタンパク質の細胞内局在が主として小胞体や脂肪滴であること、そして C 型慢性患者からの生検肝を用いてもなかなかコアの発現が認められないほど HCV タンパク質の発現量が限られていることから、炎症による活性酸素産生以外に、量的に少ないコアのミトコンドリアへの直接的な局在が実際にどの程度のこのオルガネラの障害を引き起こしているのかについてはさらに検討する必要があると思われる。

おわりに

HCV の感染によって引き起こされる肝発癌の基礎には長期にわたる慢性肝炎という非常に大きな問題が存在している (図 3)。これに加えて HCV は発癌の可能性を高める要因となっている可能性が考えられるが、現時点ではそのメカニズムは明らかではない。これまでの多くの実験では本来のウイルスタンパク質発現とは異なり、特定のタンパク質が単独で発現されている。またその HCV タンパク質の発現量も比較的高い条件でおこなわれていると考えられる。これまでに HCV 陽性慢性肝炎患者の生検肝組織を用いた免疫組織染色をおこなっても、培養細胞内で発現ベクターを用いて発現させた時とは異なり、容易には HCV タンパク質を検出することはできない。つまり慢性肝炎状態の肝臓組織においては通常 HCV タンパク質の発現が低いレベルに保たれていることが考えられるのである。これは宿主免疫系から逃れる HCV の生き残り戦略のひとつとしても HCV が過度なタンパク質発現や効率的なゲノム複製をしないことに由来するのか、あるいはウイルスタンパク質の発現量の多い細胞は宿主免疫系により排除される所以かもしれない。できるならば可能な限り自然な状態

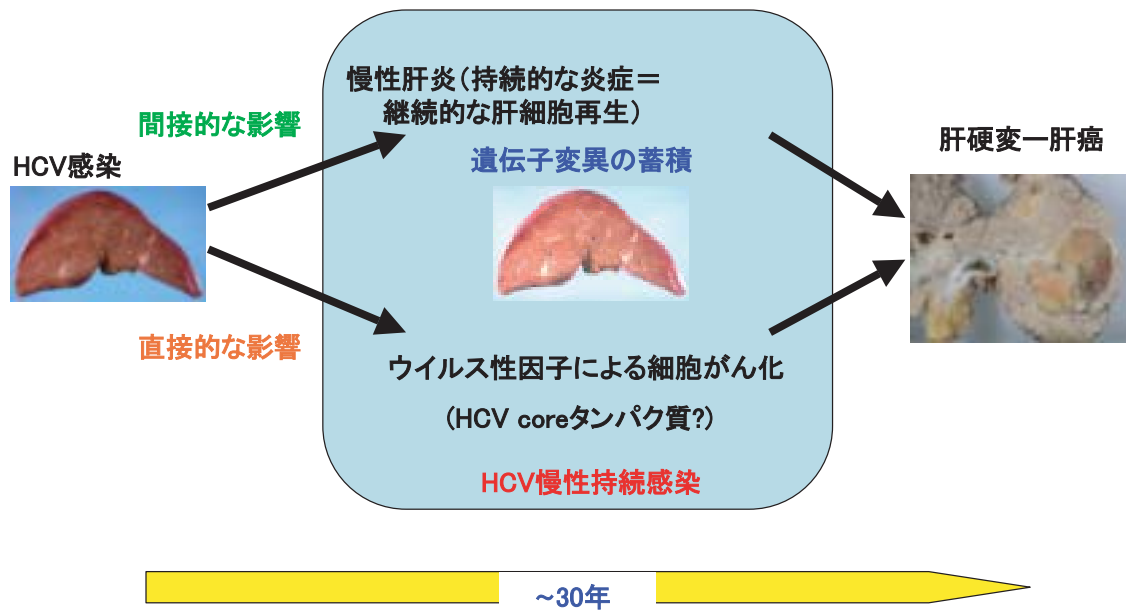


図3 HCV感染による肝癌発症機構のモデル

のHCVの感染増殖によって肝細胞に何らかの影響が生ずるのかどうか調べる必要があると思われる。ただHCVが効率良く感染し、その増殖が安定して維持されるような正常肝細胞を用いた実験系は残念ながら現時点では存在しない。しかし、こうした実験系ができればHCVによる細胞癌化のメカニズムの研究に新たな切り口を与えてくれると思われる。今後さらなる研究によってHCV感染による肝癌発症のメカニズムを明らかにし、これを抑制する戦略を構築し、抗HCV薬剤によるHCV感染排除とともにHCV感染による肝癌の発症を根絶すること期待している。

文 献

- 1) Alisi A., Giambartolomei S., Cupelli F., Merlo P., Fontemaggi G., Spaziani A., Balsano C.: Physical and functional interaction between HCV core protein and the different p73 isoforms., *Oncogene* 22:2573-2580, 2003
- 2) Arima N., Kao C.Y., Licht T., Padmanabhan R., Sasaguri Y., Padmanabhan R.: Modulation of cell growth by hepatitis C virus Nonstructural Protein NS5A. *J. Biol. Chem.* 276:12675-12684, 2001
- 3) Borowski P., Oehlmann K., Heiland M., and Lauf R.: Nonstructural protein 3 of hepatitis C virus blocks the distribution of the free catalytic subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase. *J. Virol.* 71:2838-2843 1997
- 4) Borowski P., zur Wiesch J.S., Resch K., Feucht H., Laufs R., Schmitz H.P.: Protein kinase C recognizes the protein kinase A-binding motif of nonstructural protein 3 of hepatitis C virus. *J. Biol. Chem.* 274:30722-30728, 1999
- 5) Choi S.H., Hwang S.B.: Modulation of the transforming growth factor-beta signal transduction pathway by hepatitis C virus nonstructural 5A protein. *J. Biol. Chem.* 281:7468-7478, 2006
- 6) Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M.: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral-hepatitis genome. *Science* 244:359-362, 1989
- 7) Farinati F., Cardin R., De Maria N., Della Libera G., Marafin C., Lecis E., Burra P., Floreani A., Cecchetto A., Naccarato R.: Iron storage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive hepatitis. *J. Hepatol.* 22:449-456 1995
- 8) Fukuda K., Tsuchihara K., Hijikata M., Nishiguchi S., Kuroki T., Shimotohno K.: Hepatitis C virus core protein enhances the activation of the transcription factor, Elk1, in response to mitogenic stimuli. *Hepatology* 33: 159-165, 2001
- 9) Fukutomi T., Zhou Y., Kawai S., Eguchi H., Wands J.R., Li J.: Hepatitis C virus core protein stimulates hepatocyte growth: Correlation with upregulation of wnt-1 expression. *Hepatology* 41:1096-1105, 2005
- 10) Gale M.J., Korth M.J., Tang N.M., Tan S/L., Hopkins D.A., Dever T.E., Polyak S.J., Gretch D.R., Katze M.G.: Evidence that hepatitis C virus resistance to interferon is mediated through repression of the PKR protein kinase by the nonstructural 5A protein. *Virology* 230: 217-227, 1997
- 11) Gale M.J., Kwieciszewski B., Dossett M., Nakao H., Katze M.G.: Antiapoptotic and oncogenic potentials of hepatitis C virus are linked to interferon resistance by viral repression of the PKR protein kinase. *J. Virol.* 73:6505-6516, 1999
- 12) Hosui A., Ohkawa K., Ishida H., Sato A., Nakanishi F.,

- Ueda K., Takehara T., Kasahara A., Sasaki Y., Hori M., Hayashi N.: Hepatitis C virus core protein differently regulates the JAK-STAT signaling pathway under interleukin-6 and interferon-gamma stimuli. *J. Biol. Chem.* 278:28562-28571 2003
- 13) Ishido S., Hotta H.: Complex formation of the non-structural protein 3 of hepatitis C virus with the p53 tumor suppressor. *FEBS Lett.* 438:258-262, 1998
 - 14) Joo M.S., Hahn Y.S., Kwon M.J., Sadikot R.T., Blackwell T.S., Christman J.W.: Hepatitis C virus core protein suppresses NF-kappa B activation and cyclooxygenase-2 expression by direct interaction with I kappa B kinase beta. *J. Virol.* 79: 7648-7657, 2005
 - 15) Kato N., Yoshida H., Ono-Nita S.K., Kato J., Goto T., Otsuka M., Lan K.H., Matsushima K., Shiratori Y., Omata M.: Activation of intracellular signaling by hepatitis B and C viruses: C-viral core is the most potent signal inducer. *Hepatology* 32:405-412, 2000
 - 16) Kolykhalov A.A., Feinstone S.M., Rice C.M.: Identification of a highly conserved sequence element at the 3' terminus of hepatitis C virus genome RNA. *J. Virol.* 70:3363-3371, 1996
 - 17) Korenaga M., Wang T., Li Y.C., Showalter L.A., Chan T.S., Sun J.R., Weinman S.A.: Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases reactive oxygen species (ROS) production. *J. Biol. Chem.* 280:37481-37488, 2005
 - 18) Kuo G., Choo Q.L., Alter H.J., Gitnick G.L., Redeker A.G., Purcell R.H., Miyamura T., Dienstag J.L., Alter M.J., Stevens C.E., Tegtmeier G.E., Bonino F., Colombo M., Lee W.S., Kuo C., Berger K., Shuster J.R., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M.: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B-hepatitis. *Science* 244:362-364, 1989
 - 19) Lu W., Lo S.Y., Chen M., Wu K.J., Fung Y.K.T., Ou J.H.: Activation of p53 tumor suppressor by hepatitis C virus core protein. *Virology* 264: 134-141, 1999
 - 20) Machida K., Cheng K.T.H., Lai C.K., Jeng K.S., Sung V.M.H., Lai M.M.C.: Hepatitis C virus triggers mitochondrial permeability transition with production of reactive oxygen species, leading to DNA damage and STAT3 activation. *J. Virol.* 80:7199-7207, 2006
 - 21) Majumder M., Ghosh A.K., Steele R., Ray R., Ray R.B.: Hepatitis C virus NS5A physically associates with p53 and regulates p21/waf1 gene expression in a p53-dependent manner. *J. VIROL.* 75: 1401-1407, 2001
 - 22) Marusawa H., Hijikata M., Chiba T., Shimotohno K.: Hepatitis C virus core protein inhibits Fas- and tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis via NF-kappa B activation. *J. Virol.* 73:4713-4720, 1999
 - 23) Miyanari Y., Hijikata M., Yamaji M., Hosaka M., Takahashi H., Shimotohno K.: Hepatitis C virus non-structural proteins in the probable membranous compartment function in viral genome replication. *J. Biol. Chem.* 278:50301-50308, 2003
 - 24) Moriya K., Nakagawa K., Santa T., Shintani Y., Fujii H., Miyoshi H., Tsutsumi T., Miyazawa T., Ishibashi K., Horie T., Imai K., Todoroki T., Kimura S., Koike K.: Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res.* 61:4365-4370 2001
 - 25) Moriya K., Fujii H., Shintani Y., Yotsuyanagi H., Tsutsumi T., Ishibashi K., Matsuura Y., Kimura S., Miyamura T., Koike K.: The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nature Med.* 4:1065-1067 1998
 - 26) Moriya K., Nakagawa K., Santa T., Shintani Y., Fujie H., Miyoshi H., Tsutsumi T., Miyazawa T., Ishibashi K., Horie T., Imai K., Todoroki T., Kimura S., Koike K.: Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res.* 61:4365-4370 2001
 - 27) Muller M., Schilling T., Sayan A.E., Kairat A., Lorenz K., Schulze-Bergkamen H., Oren M., Koch A., Tannapfel A., Stremmel W., Melino G., Krammer P.H.: TAp73/Delta Np73 influences apoptotic response, chemosensitivity and prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Differ.* 12: 1564-1577, 2005
 - 28) Nanda S.K., Herion D., Liang J.: Src homology 3 domain of hepatitis C virus NS5A protein interacts with Bin1 and is important for apoptosis and infectivity. *Gastroenterology* 130:794-809 2006
 - 29) Okuda M., Li K., Beard M.R., Showalter L.A., Scholle F., Lemon S.M., Weinman S.A.: Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology* 122:366-375 2002
 - 30) Otsuka M., Kato N., Lan K.H., Yoshida H., Kato J., Goto T., Shiratori Y., Omata M.: Hepatitis C virus core protein enhances p53 function through augmentation of DNA binding affinity and transcriptional ability. *J. Biol. Chem.* 275: 34122-34130, 2000
 - 31) Park J.S., Yang J.M., Min M.K.: Hepatitis C virus non-structural protein NS4B transforms NIH3T3 cells in cooperation with the Ha-ras oncogene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 267:581-587, 2000
 - 32) Pavo N., Battaglia S., Boucreux D., Arnulf B., Sobesky R., Hermine O., Brechot C.: Hepatitis C virus core variants isolated from liver tumor but not from adjacent non-tumor tissue interact with Smad3 and inhibit the TGF-beta pathway. *Oncogene* 24:6119-6132, 2005
 - 33) Ray R.B., Lagging L.M., Meyer K., Ray R.: Hepatitis C virus core protein cooperates with ras and transforms primary rat embryo fibroblasts to tumorigenic phenotype. *J. Virol.* 70:4438-4443, 1996
 - 34) Ray R.B., Meyer K., Ray R.: Hepatitis C virus core protein promotes immortalization of primary human hepatocytes. *Virology* 271: 197-204, 2000
 - 35) Ray R.B., Steele R., Basu R., Meyer K., Majumder M., Ghosh A.K., Ray R.: Distinct functional role of hepatitis C virus core protein on NF-kappa B regulation is linked to genomic variation. *Virus Res.* 87: 21-29, 2002
 - 36) Ray R.B., Steele R., Meyer K., Ray R.: Transcriptional repression of p53 promoter by hepatitis C virus core protein. *J. Biol. Chem.* 272: 10983-10986, 1997
 - 37) Ruggieri A., Harada T., Matsuura Y., Miyamura T.: Sensitization to Fas-mediated apoptosis by hepatitis C virus core protein. *Virology* 229: 68-76, 1997

- 38) Sakamuro D., Furukawa T., Takegami T.: Hepatitis C virus nonstructural protein NS3 transforms NIH3T3 cells. *J. Virol.* 69:3893-3896, 1995
- 39) Shimotohno K., Tanji Y., Hirowatari Y., Komoda Y., Kato N., Hijikiata M.: Processing of the hepatitis C virus precursor protein. *J. Hepatol.* 22:87-92, 1995
- 40) Stiewe T., Theseling C.C., and Putzer B.M.: Transactivation-deficient DTA-p73 inhibits p53 by direct competition for DNA binding. *J. Biol. Chem.* 277:14177-14185, 2002
- 41) Street A., Macdonald A., Crowder K., Harris M.: The hepatitis C virus NS5A protein activates a phosphoinositide 3-kinase-dependent survival signal cascade. *J. Biol. Chem.* 279:12232-12241, 2004
- 42) Street A., Macdonald A., McCormick C., Harris M.: The hepatitis C virus NS5A-mediated activation of phosphoinositide 3-kinase results in stabilization of cellular beta-catenin and stimulation of beta-catenin-responsive. *J. Virol.* 79:5006-5016, 2005
- 43) Takahashi H., Yamaji M., Hosaka M., Kishine H., Hijikata M., Shimotohno K.: Analysis of 5' end structure of HCV subgenomic RNA replicated in a Huh7 cell line. *Intervirology* 48:104-111, 2005
- 44) Tan S. L., Nakao H., He Y., Vijaysri S., Neddermann P., Jacobs B.L., Mayer B.J., Katze M.G.: NS5AA, a non-structural protein of hepatitis C virus, binds growth factor receptor-bound protein 2 adaptor protein in a Src homology 3 domain/ligand-dependent manner and perturbs mitogenic signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96:5533-5538, 1999
- 45) Tanaka T., Kato N., Cho M.J., Shimotohno K.: A novel sequence found at the 3'-terminus of hepatitis-C virus genome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 215:744-749, 1995
- 46) Taniguchi H., Kato N., Otsuka M., Goto T., Yochida H., Shiratori Y., Omata M.: Hepatitis C virus core protein upregulates transforming growth factor-beta 1 transcription. *J. Med. Virol.* 72:52-59 2004
- 47) Tsuchihara K., Hijikata M., Fukuda K., Kuroki T., Yamamoto N., Shimotohno K.: Hepatitis C virus core protein regulates cell growth and signal transduction pathway transmitting growth stimuli. *Virology* 258: 100-107, 1999
- 48) Tsukiyama-Kohara K., Iizuka N., Kohara M., Nomoto A.: Internal ribosome entry site within hepatitis-C virus-RNA. *J. Virol.* 66:1476-1483, 1992
- 49) Tsukiyama-Kohara K., Tone S., Maruyama I., Inoue K., Katsume A., Nuriya H., Ohmaori H., Ohkawa J., Taira K., Hoshikawa Y., Shibasaki F., Reth M., Minatogawa Y., Kohara M.: Activation of the CDI-CDK-Rb-E2F pathway in full genome hepatitis C virus-expressing cells. *J. Biol. Chem.* 279:14531-14541, 2004
- 50) Tsutsumi T., Suzuki T., Moriya K., Shintani Y., Fujie H., Miyoshi H., Matsuura Y., Mike K., Miyamura T.: Hepatitis C virus core protein activates ERK and p38 MAPK in cooperation with ethanol in transgenic mice. *Hepatology* 38: 820-828, 2003
- 51) Vossio S., Palescandolo E., Pediconi N., Moretti F., Balsano C., Levrero M., Costanzo A: DN-p73 is activated after DNA damage in a p53-dependent manner to regulate p53-induced cell cycle arrest *Oncogene* 21:3796-3803, 2002
- 52) Watashi K., Hijikata M., Tagawa A., Doi T., Marusawa H., Shimotohno K.: Modulation of retinoid signaling by a cytoplasmic viral protein via sequestration of Sp110b, a potent transcriptional corepressor of retinoic acid receptor, from the nucleus. *Mol. Cell. Biol.* 23: 7498-7509, 2003
- 53) Yoshida T., Hanada T., Tokuhisa T., Kosai K., Sata M., Kohara M., Yoshimura A.: Activation of STAT3 by the hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation. *J. EXP. MED* 196: 641-653, 2002

Pathogenesis of the Hepatocellular Carcinoma Associated with Hepatitis C Virus

Makoto HIJIKATA

Laboratory of Human Tumor Viruses
Department of Viral Oncology
Institute for Virus Research, Kyoto University
53 Shogoin Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, JAPAN
e-mail: mhijikat@virus.kyoto-u.ac.jp

Hepatitis C virus (HCV) is known as one of major causative agents of hepatocellular carcinoma (HCC) in the world. The pathogenesis of HCC associated with HCV, however, has not been fully elucidated yet, although the chronic inflammation induced by HCV infection is considered to contribute greatly to the HCC development. Some HCV gene products have been shown to possess transformation activities in cultured cells. Several oncogenic signal pathways in the cells were modulated by the exogenous expression of the HCV proteins. A few lines of the transgenic mice producing the core protein among those products was also reported to develop liver steatosis and HCC without apparent inflammation after rearing for a relatively long period. So, the functions of the core on the modulation of cellular events have been extensively examined and characterized. Here, I would summarize the progress of the research for the pathogenesis of HCC associated with HCV.

