

臨床的観点から 3

C 型肝炎治療と遺伝子情報

酒井明人 金子周一

さかい あきと、かねこ しゅういち：金沢大学大学院医学系研究科 恒常性制御学

● はじめに

C型肝炎ウイルス (HCV) キャリアは日本の全人口の約1%に及び、第2の国民病と言われる。慢性肝炎から肝硬変、肝臓へと至り、近年では毎年約3万人がC型肝炎関連肝疾患で死亡しており、対策が急がれる。C型肝炎ウイルスが発見されるまでは対症療法のみであったが、ウイルス発見後、1990年代に入り原因治療としてインターフェロン (IFN) 療法が登場し、ウイルスを完全に排除できる症例が得られるようになった。この著効症例は、肝病態は進行せず、肝臓発症率も非常に低く、予後が改善されることが明らかとなった。C型慢性肝炎に対するIFN療法は、遺伝子型1b型で高ウイルス量の症例に対しては著効率は10%前後と低く、費用、副作用の面から問題であった。しかし近年、ペグ化IFNおよびリバビリン併用療法の登場により、1b型高ウイルス量でも50%前後、2型では80%以上の症例で、著効が得られるようになってきている。

IFN療法の治療効果に影響する因子としては、上記のウイルス遺伝子型、ウイルス量、特定領域のウイルス遺伝子配列 (NS5A領域遺伝子配列、コア領域アミノ酸変異など) が重要である。しかしながら、1b型高ウイルス量症例でも著効になる、あるいは2型、低ウイルス量症例でも無効となる症例が存在する。このような

予測からはずれる症例は未知のウイルス側因子の影響もありうる一方、宿主側因子による可能性も存在する。報告されている宿主側因子の検討は多くはないが、HLA、人種、年齢、性、肥満度、アルコール、肝線維化進展度などがあげられている¹⁾。しかしながら、これらの因子のみでIFN療法の効果予測が可能なのではない。分子生物学的手法、機器の進歩に伴いヒトゲノムが解析され、さらに短時間で個々の症例よりばく大な遺伝子情報が得られるようになり、C型肝炎に対するIFN療法に影響する新たな宿主側因子として、遺伝子情報が重要となってきた。

● IFN 関連遺伝子と治療効果

IFNは細胞膜表面の受容体に結合すると、細胞内にその受容体の下流に存在するシグナル伝達を起こし、核内に存在するIFN誘導遺伝子を発現させて各種抗ウイルス蛋白を誘導すると考えられている (図1)。受容体から転写活性因子複合体であるIFN-stimulating genes factor 3 (ISGF3) を構成するまではTyk2, JAK1, STATなどが関与し、このISGF3が結合するプロモーターであるISRE (IFN-stimulating response element) は、IFN遺伝子発現にアクセラをかけるinterferon regulatory factor-1 (IRF-1)、ブレーキをかけるIRF-2の両転写因子と結合す

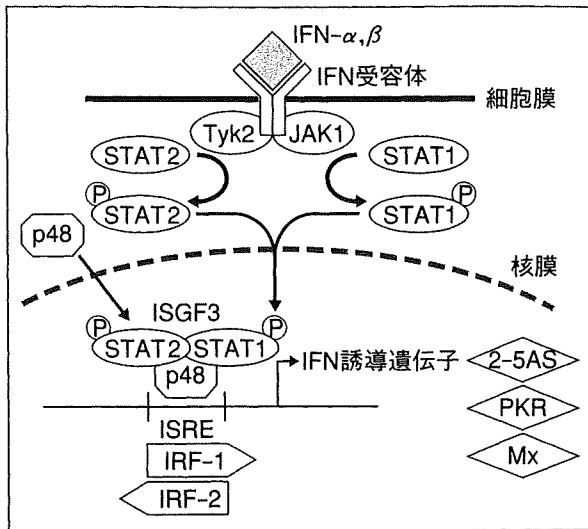


図1 インターフェロン (IFN) シグナルの伝達経路

ることが可能である。

抗ウイルス蛋白である 2-5AS や PKR の発現は上流に位置する ISRE によって制御されており、このような転写調節因子の発現には個体差が存在することが予想される。また、IFN シグナル伝達経路である JAK-STAT 経路のネガティブ・フィードバック機構として STAT の活性を抑制する cytokine-inducible SH2 protein (CIS) や JAK に結合してそのシグナルの発現を遮断する JAK-binding protein の存在も報告され、これらの IFN 発現遺伝子を制御する因子が IFN 治療効果に関連する可能性がある。

報告されている IFN 関連遺伝子と IFN 治療効果についてはまず、IFN 受容体に関するものがあげられる。IFN が結合する受容体としては IFNAR1 と IFNAR2 があり、前者は IFN α のサブタイプのひとつである IFN α 8 にのみ結合し、後者はすべての IFN α と IFN β に結合することが知られている。この IFN 受容体 mRNA の肝での発現量が高い症例は IFN 療法の効果が高いことが報告されており^{2,3)}、これは肝での IFNAR2 の蛋白レベルでの発現においても確認されている⁴⁾。また逆に、可溶性 IFNAR2 の発現量が多い症例は IFN の効果が低く⁵⁾、これは IFN α がレセプターに結合するのと拮抗するためと考えられている⁶⁾。また、肝細胞 IFN シグナル関連 mRNA では、JAK-binding protein の発

表 1 末梢血リンパ球中の遺伝子発現の組み合わせによるインターフェロン (IFN) 治療効果の予測 (文献 19 より引用改変)

IFN 投与前 末梢血リンパ球中の遺伝子の組み合わせ	精度, %	
	training	test
1 topoisomerase (DNA) I	53.9	46.2
2 catenin (cadherin-associated protein) β 1 (88 kDa)	66.0	57.1
3 Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2	91.0	89.1
IFN 投与開始 2 週間後 末梢血リンパ球中の遺伝子の組み合わせ	精度, %	
	training	test
1 differentiation 6 (septin 2)	28.8	25.8
2 cyclin G1	75.0	64.4
3 cell division cycle 20 homolog (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	90.2	87.9
1 MIHC	28.8	25.0
2 cyclin G1	75.0	64.4
3 cell division cycle 20 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	90.2	87.9
1 apoptosis inhibitor 1 (baculoviral IAP repeat-containing 3)	28.8	25.0
2 cyclin G1	75.0	64.4
3 cell division cycle 20 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	90.2	87.9

現が高い症例で IFN 著効例が多いと報告されている⁷⁾。

また、IFN はサイトカインの一種であり、免疫系に関与するサイトカインは IFN の作用と密接に関連している。インターロイキン 10 (IL-10) は suppressor of cytokine signaling (SOCS) ファミリーとよばれる蛋白を発現して IFN α のシグナルを阻害することが知られており、血清中 IL-10 が高い症例は IFN 療法の効果が低いと報告されている⁸⁾。同様に IL-6, IL-1, TNF- α なども SOCS や、STAT の活性化を抑制する CIS を誘導することが知られており、これらのサイトカインも血清中濃度が高い症例は IFN の効果が低いと報告されている^{9~11)}。

● IFN 療法における単一塩基多型 (SNP)

遺伝子がコードする open reading frame の中にアミノ酸変異が存在すれば、蛋白の機能に個

体差が生じることになる。また非翻訳領域においても、イントロンやプロモーターの領域に点変異、欠失や挿入などが起これば、mRNAの発現量に大きな影響を与える可能性がある。この特定の単一塩基の違いにより蛋白の質あるいは発現量に個体差が生じる現象を単一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) という。今まで述べてきた各種 IFN 関連遺伝子の発現、サイトカイン濃度などは、この SNP 解析にて遺伝子と関連付けられているものがある。

抗インフルエンザウイルス活性を示す Mx1 蛋白が高発現している症例は IFN の効果が高いとされているが、Mx 蛋白のプロモーター領域の-88 の部位に G/T の SNP が存在していることと関連している¹²⁾。このようなプロモーター領域の SNP は IL-10¹³⁾、細胞障害性 T 細胞の活性を抑制する CTLA4¹⁴⁾、Th1 反応開始に関連する osteopontin¹⁵⁾ などでも認められている。SNP 解析により、IFN 療法に関連した遺伝子の発現量に差がある原因が求められ、同じウイルス量、同じ HCV ジェノタイプでも IFN 療法に差が出る背景であると考えられる。

● 包括的遺伝子情報解析

上述のように IFN 関連遺伝子、サイトカインなどのそれぞれの単一の遺伝子の発現量、あるいは蛋白の発現量により IFN 療法の効果が規定されている可能性が示唆されている。しかしながら、このような単一の遺伝子発現量のみを調べることで、ウイルス側因子を超える IFN 療法効果予測はできない。これは、それぞれ報告されている遺伝子のみならず、未知の遺伝子を含め IFN 療法に一見関連しないと思われる多数の遺伝子が、実際には複雑に関係し合っているためと考えられる。

われわれは serial analysis of gene expression 法を用いて、正常肝を含むさまざまな肝病態における遺伝子発現プロファイルを検討し、正常肝、慢性 C 型肝炎、肝細胞癌において、それぞれ異なった遺伝子プロファイルを示すことを報告している¹⁶⁾。また、cDNA マイクロアッセイ法を用いて、同じ慢性肝炎でも、C 型肝炎感染

と B 型肝炎感染では異なった遺伝子発現を示すことも明らかにしてきた¹⁷⁾。

このように包括的に肝内で発現している遺伝子を解析したデータをもとに、われわれは新たに IFN 効果を予測するために、IFN 療法と関連が報告されているものを中心に 295 遺伝子を搭載した cDNA chip を作成し、IFN 療法を行った症例について IFN 投与前の肝生検サンプルで検討した。IFN 単独療法を行った 15 症例において発現遺伝子量を適当な解析アルゴリズムを設定することにより、IFN 投与中に血中 HCV RNA の消失が得られなかった症例と、IFN 投与中に HCV RNA 消失が得られた症例 (著効例と再燃例をまとめた群) を、ウイルス量、HCV ジェノタイプと無関係に分けることが可能であった¹⁸⁾。

さらに肝生検よりサンプル取得が容易な末梢血リンパ球中の遺伝子発現をみることで、IFN 治療効果予測が可能であるか検討を行った¹⁹⁾。遺伝子発現の高低にかかわらず単一の遺伝子では治療効果予測の精度は良くても 50% であったが、表 1 に示すように適切な遺伝子の組み合わせを SWEEP operator method で選んでいくと、投与前では topoisomerase (DNA) I, catenin, Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 の組み合わせで 91.0% の精度で治療効果予測が可能であった。同様に IFN 投与開始 2 週間後の末梢血リンパ球でも、投与前とは異なった 3 種類の遺伝子発現の組み合わせで精度 90.2% で効果予測が可能であった。

● おわりに

本稿では述べなかったが、IFN 療法のみならず C 型肝炎の病態、進行度に関しても SNP をはじめとするさまざまな遺伝子情報が蓄積されてきている。現在は研究の域を出ていないが、大量、迅速かつ安価に遺伝子情報が解析されるようになれば、個々の患者に合わせたテーラーメイド治療の時代がくるものと期待される。

文献

- 1) Gao B, Hong F, Radaeva S. Host factors and failure of

- interferon- α treatment in hepatitis C virus. *Hepatology* 2004 ; 39 : 880-90.
- 2) Yatsuhashi H, Yamasaki K, Aritomi T, et al. Quantitative analysis of interferon alpha/beta receptor mRNA in the liver of patients with chronic hepatitis C : correlation with serum hepatitis C virus-RNA levels and response to treatment with interferon. *J Gastroenterol Hepatol* 1997 ; 12 : 460-7.
 - 3) Mizukoshi E, Kaneko S, Yanagi M, et al. Expression of interferon alpha/beta receptor in the liver of chronic hepatitis C patients. *J Med Virol* 1998 ; 56 : 217-23.
 - 4) Yatsuhashi H, Fujino T, Matsumoto T, et al. Immunohistochemical analysis of hepatic interferon alpha-beta receptor level : relationship between receptor expression and response to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1999 ; 30 : 995-1003.
 - 5) Mizukoshi E, Kaneko S, Kaji K, et al. Serum levels of soluble interferon Alfa/Beta receptor as an inhibitory factor of interferon in the patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1999 ; 30 : 1325-31.
 - 6) Pfeffer LM, Basu L, Pfeffer SR, et al. The short form of the interferon alpha/beta receptor chain 2 acts as a dominant negative for type I interferon action. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 11002-5.
 - 7) 八橋弘. IFN レセプター. *肝胆膵* 2002 ; 45 : 981-7.
 - 8) Kuzushita N, Hayashi N, Katayama K, et al. High levels of serum interleukin-10 are associated with a poor response to interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. *Scand J Gastroenterol* 1997 ; 32 : 169-74.
 - 9) Larrea E, Garcia N, Qian C, et al. Tumor necrosis factor alpha gene expression and the response to interferon in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996 ; 23 : 210-7.
 - 10) Soardo G, Pirisi M, Fonda M, et al. Changes in blood lipid composition and response to interferon treatment in chronic hepatitis C. *J Interferon Cytokine Res* 1995 ; 15 : 705-12.
 - 11) Kishihara Y, Hayashi J, Yoshimura E, et al. IL-1 beta and TNF-alpha produced by peripheral blood mononuclear cells before and during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1996 ; 41 : 315-21.
 - 12) Hijikata M, Ohta Y, Mishiro S. Identification of a single nucleotide polymorphism in the MxA gene promoter (G/T at nt-88) correlated with the response of hepatitis C patients to interferon. *Intervirology* 2000 ; 43 : 124-7.
 - 13) Yee LJ, Tang J, Gibson AW, et al. Interleukin 10 polymorphisms as predictors of sustained response in antiviral therapy for chronic hepatitis C infection. *Hepatology* 2001 ; 33 : 708-12.
 - 14) Yee LJ, Perez KA, Tang J, et al. Association of CTLA4 polymorphisms with sustained response to interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2003 ; 187 : 1264-71.
 - 15) Naito M, Matsui A, Inao M, et al. SNPs in the promoter region of the osteopontin gene as a marker predicting the efficacy of interferon-based therapies in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2005 ; 40 : 381-8.
 - 16) Yamashita T, Kaneko S, Hashimoto S, et al. Serial analysis of gene expression in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 ; 282 : 647-54.
 - 17) Honda M, Kaneko S, Kawai H, et al. Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology* 2001 ; 120 : 955-66.
 - 18) Daiba A, Inaba N, Ando S, et al. A low-density cDNA microarray with a unique reference RNA : pattern recognition analysis for IFN efficacy prediction to HCV as a model. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 ; 315 : 1088-96.
 - 19) Tateno M, Honda M, Kawamura T, et al. Expression profiling of peripheral-blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C undergoing interferon therapy. *J Infect Dis* 2007 ; 195 : 255-67.

