

財団法人 日中医学協会

2010 年度共同研究等助成金報告書－調査・共同研究－

2011 年 3 月 14 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った調査・共同研究について報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名： 加藤 直也
所属機関名： 東京大学医科学研究所
所属部署名： 疾患制御ゲノム 職名： 特任准教授
医学ユニット
所在地： 東京都港区白金台 4-6-1
電 話： 03-3443-8111 内線： 72335



1. 助成金額： 900,000 円

2. 研究テーマ

C型肝炎ウイルスコア蛋白変異と発癌および抗ウイルス治療効果

3. 研究組織：

日本側研究者氏名： 加藤 直也	職名： 特任准教授
所属機関名： 東京大学医科学研究所	部署名： 疾患制御ゲノム 医学ユニット
中国側研究者氏名： 王 岳	職名： 研究員
所属機関名： 中国疾病対策予防センター	部署名： ウイルス肝炎

4. 当該研究における発表論文等

学会発表

加藤直也、室山良介、五藤 忠. C型肝炎ウイルスコア領域 70 の置換により

ペグインターフェロン/リバビリン併用療法に対する感受性は変わるか？ 第

46 回日本肝臓学会総会 2010/5/27-28 山形

C型肝炎ウイルスコア蛋白変異と発癌および抗ウイルス治療効果

日本側研究者氏名	加藤 直也
所 属 機 関	東京大学医科学研究所 特任准教授
共同研究者氏名	李 雯雯、胡 中傑、室山良介、古渡礼恵
中国側研究者氏名	王 岳
所 属 機 関	中国疾病対策予防センター 研究員

要 旨

C型肝炎のペグインターフェロン・リバビリン併用治療抵抗性に最も関与しているウイルス側因子は、コア蛋白第70番のアミノ酸変異である。われわれはコア蛋白第70番目アミノ酸の野生型および変異型C型肝炎ウイルスのリアルタイムPCRアッセイによる個別定量法を確立し、それぞれのダイナミクスを詳細に検討した。

まず、1型高ウイルス量のC型慢性肝炎患者のシリーズ血清を用いて、治療前・中・後の野生型と変異型C型肝炎ウイルスのダイナミクスを検討した。次に、治療前の野生型および変異型C型肝炎ウイルスの比率と治療効果につき検討した。

治療前血清においては、36例中26例72%が野生型と変異型の混在型であった。その比率は治療中も変化せず、野生型および変異型C型肝炎ウイルスの治療に対する初期感受性は同等であった。治療前に野生型優位であった再燃例では、治療後のウイルス再出現時早期（治療後第4週目）には変異型が優位に変化しており、その後野生型と変異型C型肝炎ウイルスの比率は治療前と同様に野生型優位に復した。また、変異型C型肝炎ウイルスの比率が高くなるほどウイルス学的著効は得られにくかった。

多くの患者においてコア蛋白アミノ酸第70番目の野生型と変異型C型肝炎ウイルスが混在しており、変異型C型肝炎ウイルスの比率が高い患者ほどペグインターフェロン・リバビリン併用療法に抵抗性である。変異型C型肝炎ウイルスは排除されにくいと考えられた。

Key Words C型肝炎ウイルス、コア蛋白、アミノ酸置換、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法、治療効果

緒 言：

世界中には実に1億7千万人ものC型肝炎ウイルス感染者がいるとされる。日本の国民の約2%、また、中国の国民の約3%がC型肝炎ウイルスに感染している。C型肝炎ウイルスは、急性・慢性肝炎のみならず、肝硬変・肝癌の主要な原因である。したがって、日中両国にとって、C型肝炎は健康上の大いなる脅威となっている。C型慢性肝炎に対しては、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法が標準治療として行われているが、その奏功率は最も多い遺伝子型1型のC型肝炎ウイルスに対しては、たかだか50%に過ぎず、より治療効果を上げる方策が必要である。

最近になり、治療抵抗例ではC型肝炎ウイルスコア蛋白の第70番目アミノ酸が変異していることが多いことが報告された。また、このコア蛋白アミノ酸変異は治療抵抗性のみならず、肝発癌とも関連していることが報告された。実際に、われわれは本アミノ酸変異が肝癌と関連していることをグローバルデータベースを用いた解析で確認した。

そこで、まず、コアアミノ酸第70番目変異の高感度検出法を開発し、ペグインターフェロン・リバビリン

ン併用療法との関連を明らかにする必要がある。また、治療抵抗性と発癌に関わるコアアミノ酸第 70 番目変異の機能解析を行い、それらのメカニズムを明らかにする必要がある。

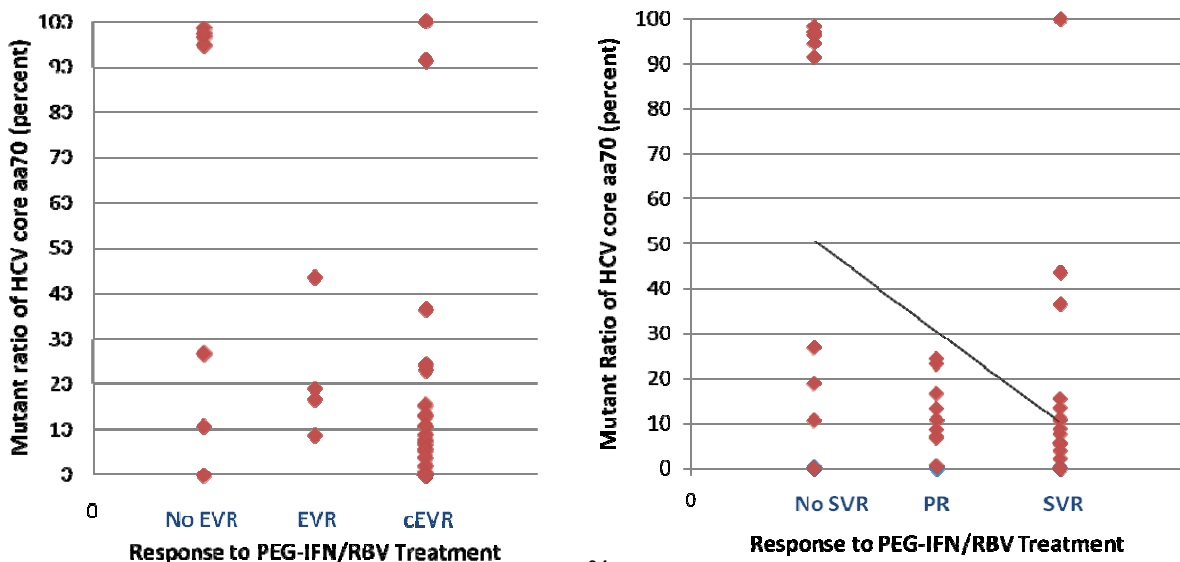
研究対象と方法：

- 1) Taqman MGB probe を用いて、コアアミノ酸第 70 番目の野生型と変異型 C 型肝炎ウイルスを個別に定量する高感度リアルタイム PCR アッセイを確立する。
- 2) インフォームドコンセントが得られた 36 例の遺伝子型 1 型の C 型慢性肝炎患者血清を用いて、治療前、治療経過中、治療後の野生型と変異型 C 型肝炎ウイルスの個別の量的推移を検討する。
- 3) 野生型優勢型の変異型コア領域と変異型優勢型の変異型コア領域を比較検討した。
- 4) 野生型および変異型 C 型肝炎ウイルスコア蛋白が、肝癌細胞 (Huh7 細胞) においてインターフェロニンシグナル伝達系およびインターロイキン 28B シグナル伝達系に及ぼす影響を検討する。
- 5) 野生型および変異型 C 型肝炎ウイルスコア蛋白が、アポトーシスに及ぼす影響を検討する。

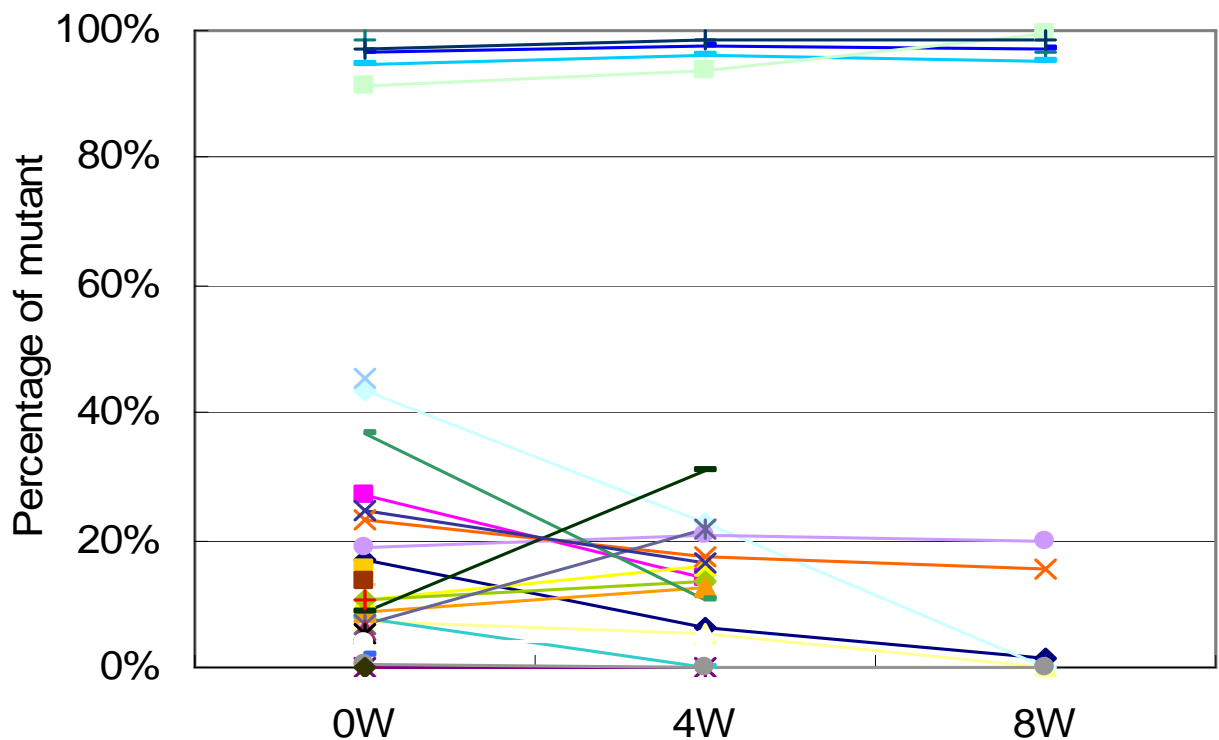
結 果：

- 1) 野生型および変異型 C 型肝炎ウイルス用プローブは、それぞれ 5 コピー中の 50% の野生型あるいは変異型 C 型肝炎ウイルスを検出可能、また、50 コピー中の 10% の野生型あるいは変異型 C 型肝炎ウイルスを検出可能であり、高感度かつ特異的な個別定量系が確立された。
- 2) 治療前血清において、36 例中 26 例 (72%) が野生型と変異型の混在型であった。また、36 例中 6 例 (17%) で変異株が野生株より優位であった。

変異株の割合が高いほど、有意に早期抗ウイルス効果 (early virological response: EVR) およびウイルス学的著効 (sustained virological response: SVR) が得られにくかった。



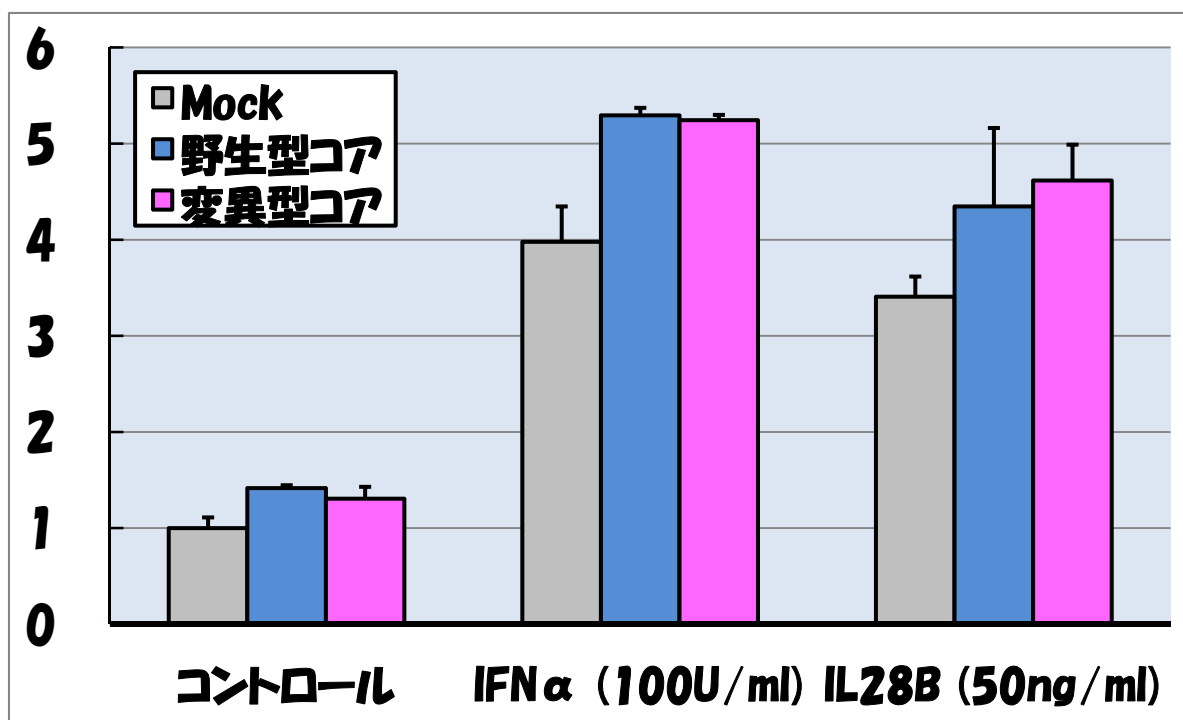
しかしながら、治療経過中の野生型と変異型 C 型肝炎ウイルスのダイナミクスを検討すると、治療経過中の野生型と変異型 C 型肝炎ウイルスの比率は変化せず、野生型と変異型 C 型肝炎ウイルスのペグインターフェロン・リバビリン併用療法に対する感受性は少なくとも治療初期には同等であることが判明した。



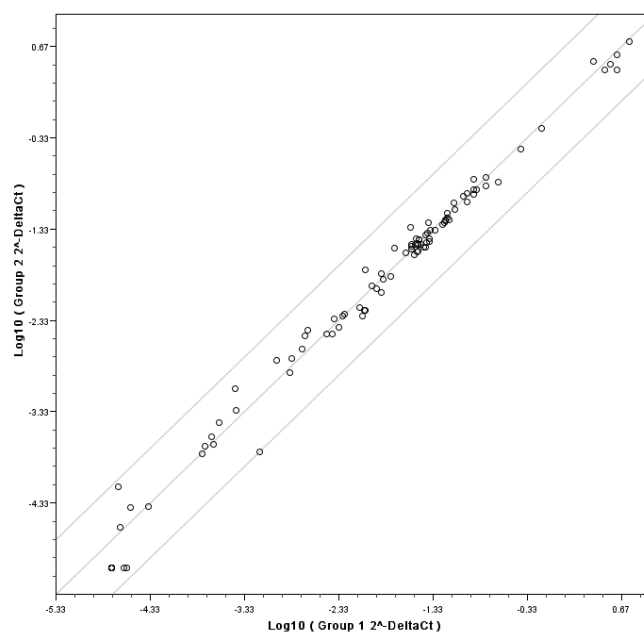
しかしながら、治療前に野生型優位であった再燃例では、治療後のウイルス再出現時早期（治療後第 4 週目）には変異型が優位に変化しており、その後野生型と変異型 C 型肝炎ウイルスの比率は治療前と同様に野生型優位に復していた。

3) 変異型が優位な場合と野生型が優位な場合では変異型 C 型肝炎ウイルスに 2 塩基の有意な違いがあり、これらはウイルス増殖能に関連している可能性が考えられた。

4) 野生型および変異型 C 型肝炎ウイルスコア蛋白はインターフェロンシグナル伝達系を活性化する傾向にあったが、両者の及ぼす影響には差がなかった。また、同様に、インターロイキン 28B シグナル伝達系に野生型および変異型コア蛋白が及ぼす影響には差がなかった。



5) 野生型および変異型コア蛋白がアポトーシスに及ぼす影響には差がなかった。



考察：

ほとんどの患者においては、C型肝炎ウイルスコア蛋白第70番目アミノ酸の野生型と変異型が混在していた。変異型優位の症例ではペグインターフェロン・リバビリン併用療法に治療抵抗性であるにもかかわらず、同一患者内における野生型と変異型C型肝炎ウイルスのダイナミクスには違いがなかった。しかしながら、再燃時には一時的に変異型が優位となり、変異型C型肝炎ウイルスは排除されにくいことが明らかとなった。

なぜある患者では変異型が優位になるのかについては、コア領域の変異と関連している可能性が示唆された。

しかしながら、変異型コア蛋白のペグインターフェロン・リバビリン併用量に対する治療抵抗性を生ずるメカニズム、あるいは肝発癌に関わるメカニズムについては、なお検討の必要がある。

参考文献：

1. Hu Z, Muroyama R, Kowatari N, Chang J, Omata M, Kato N: Characteristic mutations in hepatitis C virus core gene related to the occurrence of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* Vol 100, 2465-2468 (2009)

注：本研究は、2010年5月27日『46回日本肝臓学会総会』にて口演発表、2010年8月1日『BIT's 1st Annual Inaugurate Symposium of Hepatitis (SHV-2010)』にて口演発表、2010年9月10-14日『17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses』にてポスター発表、2010年10月28日『第1回疾患医科学ミニシンポジウム』にて口演発表、2010年12月17日『The APASL 7th Single Topic Conference "Hepatitis C Virus"』にてポスター発表、2011年2月18日『The 21st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL)』にて口演発表。

作成日：2011年3月14日