

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 16 日現在

機関番号：11501  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21590824  
 研究課題名（和文）  
 C型肝炎ウイルス NS3 蛋白質と宿主病態制御分子の相互作用に関する研究  
 研究課題名（英文）  
 Study of interaction between HCV NS3 protein and host protein  
 研究代表者  
 齋藤 貴史（SAITO TAKAFUMI）  
 山形大学・医学部・准教授  
 研究者番号：80250918

研究成果の概要（和文）：C型肝炎ウイルス（HCV）1b型のNS3蛋白質N末端120残基の二次構造に基づきHCV NS3 グループ分類（A,B,Cの3型）を行い、ペグインターフェロン・リバビリン（PegIFN・RBV）併用療法の治療効果および肝がんの発生リスクとの関連性を、前向きコホートにて検討した。その結果、このHCV多型分類が、C型慢性肝炎におけるPegIFN・RBV併用療法の治療効果の予測に有効であり、また、C型慢性肝炎患者の発がん予測に有用な指標となり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The secondary structure of the 120 residues of the amino-terminal HCV-1b non-structural region 3 (NS3) deduced from the amino acid sequence was classified into three major groups: A, B and C. The association between this polymorphism and virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy to chronic hepatitis C, or an increased risk of development of hepatocellular carcinoma (HCC), was analyzed. The results suggest that polymorphism in the secondary structure of the HCV-1b NS3 amino-terminal region influences the virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy and an increased risk of HCC, and that virus grouping based on this polymorphism can contribute to prediction of the outcome of chronic HCV infection.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：C型肝炎、NS3、HCV、蛋白質、肝がん、インターフェロン

1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス（HCV）NS3蛋白質は、感染宿主側の免疫と係わる種々の蛋白質との相互作用により、C型肝炎の自然経過に影響を与えることが知られている。HCV遺伝子上には抗HCV療法に感受性を有する領域があり、C

型慢性肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン（PegIFN・RBV）併用療法の治療効果を、ウイルス学的差異から予測する試みがなされている。HCV NS3蛋白質の多型性に着目し、本多型性とPegIFN・RBV併用療法の治療効果について、検討された報告はなか

った。また、HCV NS3 蛋白質は p53 依存性アポトーシスを抑制したり、p53 結合領域のアミノ酸配列多型性と p53 結合能に差異があることなどが報告され、HCV NS3 蛋白質と肝発がんリスクの関連性が示唆されていた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、HCV NS3 蛋白質二次構造の差異と C 型慢性肝炎の PegIFN・RBV 併用療法の治療効果についての関連性を検討すること、ならびに、本患者コホートを用いて HCV NS3 蛋白質二次構造の差異と発がんリスクについての関連性を前向きに検討することである。

## 3. 研究の方法

対象は、HCV-1b 型感染で高ウイルス量 (100 KIU/ml 以上) の C 型慢性肝炎 132 例である。HCV NS3 蛋白質二次構造は、患者血清より直接シーケンス法により得られた HCV NS3 領域の推定アミノ酸配列に基づき、コンピューターソフト GENETYX Ver. 10.1 を用いて、Robson 法により決定した。HCV NS3 領域は 631 アミノ酸 (aa1027-1657) よりなるが、N 末端側アミノ酸 120 残基 (aa1027-1146) の蛋白質二次構造を推定することで、HCV NS3 蛋白質二次構造多型性をグループ A、グループ B およびグループ C に分類可能である。HCV NS3 蛋白質二次構造の差異が、PegIFN・RBV 併用療法の治療効果に及ぼす影響および本患者コホートにおける発がんリスクとの関連性について、前向き検討を行った。

## 4. 研究成果

(1) 患者背景と NS3 蛋白質の二次構造分類対象者 132 名の性別は男性 81 名 (59%)、女性 51 名 (41%)、平均年齢は  $56.6 \pm 8.8$  歳であった。HCV NS3 蛋白質の二次構造分類は、グループ A が 43 例 (31%)、グループ B が 71 例 (51%)、グループ C が 15 例 (10%)、混合型 3 例 (7%) であった。グループ A、グループ B、グループ C の 3 群の対象者間に、性、年齢、ALT、HCV RNA (アンプリア法)、線維化ステージ、に有意差はなかった (表 1)。

(2) NS3 蛋白質二次構造分類と PegIFN・RBV 併用療法の治療効果の関連性

本患者コホートにおける ITT 解析による全体の sustained virological response (SVR) 率は 41%、non-SVR 率は 59% であった。このグループ分類と PegIFN・RBV 併用療法の ITT 解析による治療成績を示す (図 1)。グループ A では、SVR 51%、non-SVR 49%、グループ B では、SVR 32%、non-SVR 68%、グループ C では、SVR 53%、non-SVR 47%、であった ( $p=0.08$ )。グループ B とグループ A/C に分類して検討を行った (図 2)。グループ A/C における SVR 52%、

non-SVR 48% に対し、グループ B では SVR 32%、non-SVR 68%、であり、両グループ間での治療効果には有意差が認められた ( $P<0.05$ )。以上から、グループ B は、グループ A/C に比し、non-SVR と関連性を有するすることが示唆された。

図 1. グループ別SVR率 (ITT解析)

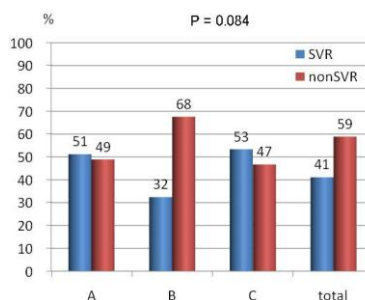
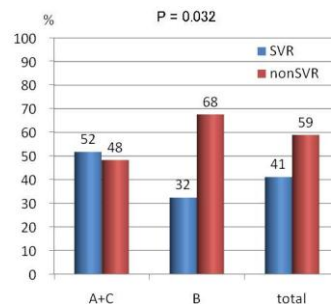


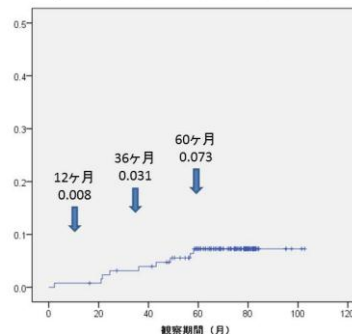
図 2. グループ別SVR率 (ITT解析)



(3) PegIFN・RBV 併用療法症例における前向き HCC 累積発生率

PegIFN・RBV 併用療法症例における前向き HCC 累積発生率は、12 カ月時点で 0.008 人、36 カ月時点で 0.031 人、60 カ月時点で 0.073 人であった (図 3)。

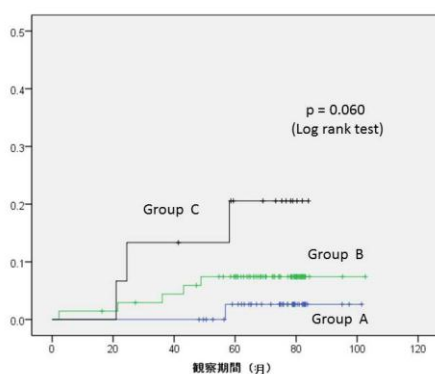
図 3 PegIFN・RBV治療コホートにおけるHCC累積発生率



(4) NS3 蛋白質二次構造分類と発がんの関連性

発がん者の HCV NS3 グループ分類は、グループ A が 1/43 例 (2.3%)、グループ B が 5/71 例 (7.4%)、グループ C が 3/15 (20.0%) 例、混合型 0/3 例であり (p=0.075)、発がんまでの観察期間はグループ A が 6.1±1.0 年、グループ B が 5.8±1.5 年、グループ C が 5.3±1.7 年であった。HCV NS3 グループ別の HCC 累積発生率はグループ C >B>A (p=0.06, Log rank test) であり (図 4)、発がん症例 8 例中 7 例は PegIFN・RBV 併用療法のウイルス学的無効例であった。今後、更なる長期間の観察が必要であるが、グループ A は、グループ B/C に比し、発がんリスクが低い可能性が示唆された。

図 4 NS3 グループ別 HCC 累積発生率



以上より、HCV NS3 領域アミノ末端 120 残基の蛋白質二次構造の多型性が、C 型慢性肝炎における PegIFN・RBV 併用療法の治療効果に影響を及ぼし、発がんリスクと関連性を有する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Saito T, Okumoto K, Haga H, Nishise Y, Ishii R, Sato C, Watanabe H, Okada A, Ikeda M, Togashi H, Ishikawa T, Terai S, Sakaida I, Kawata S: Potential therapeutic application of intravenous bone marrow infusion in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Stem Cells Dev* 2011; 20: 1503-1510 査読有  
DOI:10.1111/j.1348-0421.2011.00331.x
- ② Soga T, Sugimoto M, Honma M, Mori M,

Igarashi K, Kashikura K, Ikeda S, Hirayama A, Yamamoto T, Yoshida H, Otsuka M, Tsuji S, Yatomi Y, Sakuragawa T, Watanabe H, Nihei K, Saito T, Kawata S, Suzuki H, Tomita M, Suematsu M: Serum metabolomics reveals  $\gamma$ -glutamyl dipeptides as biomarkers for discrimination among different forms of liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 896-905 査読有  
DOI: 10.1016/j.jhp.2011.01.031

- ③ El-Shamy A, Shoji I, Saito T, Watanabe H, Ide YH, Deng L, Kawata S, Hotta H: Sequence heterogeneity of NS5A and core proteins of hepatitis C virus and virological responses to pegylated-interferon/ribavirin combination therapy. *Micobiol Immunol* 2011; 55: 418-426 査読有  
DOI:10.1111/j.1348-0421.2011.00331.x
- ④ Sanjo M, Saito T, Ishii R, Nishise Y, Haga H, Okumoto K, Ito J, Watanabe H, Saito K, Togashi H, Fukuda K, Imai Y, El-Shamy A, Deng L, Shoji I, Hotta H, Kawata S: Secondary structure of the amino-terminal region of HCV NS3 and virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol* 2010; 82: 1364-1370 査読有  
DOI:10.1002/jmv.21818

[学会発表] (計 3 件)

- ① 石井里佳、斎藤貴史、富田恭子、佐藤智佳子、芳賀弘明、奥本和夫、西瀬雄子、渡辺久剛、富樫整、河田純男: 当科における肝硬変の成因別実態: 第 15 回日本肝臓学会大会、福岡市 マリンメッセ福岡、2011 年 10 月 21 日
- ② 石井里佳、斎藤貴史、河田純男、他: HCV NS3 アミノ末端領域蛋白質二次構造の多型性と治療効果予測. 第 190 回日本消化器病学会東北支部例会、仙台市 仙台国際センター、2011 年 2 月 5 日
- ③ 斎藤貴史、三條麻衣、堀田 博、河田純男、他: HCV NS3 蛋白質二次構造の多型性と HCV RNA 量およびペグインターフェロン・リバビリン併用療法の効果予測の検討. 第 45 回日本肝臓学会総会、神戸市 神戸ポートピアホテル、2009 年 6 月 4 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

齋藤 貴史 (SAITO TAKAFUMI)  
山形大学・医学部・准教授  
研究者番号：80250918

### (2) 研究分担者

なし。

### (3) 連携研究者

なし。