

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790801

研究課題名(和文) 新たなC型肝炎治療効果予測因子としてのインターフェロンラムダ受容体発現の解析

研究課題名(英文) Analysis of the interferon lambda receptor expression as a Chronic hepatitis C therapy prediction factor

研究代表者

野崎 昭人 (Nozaki, Akito)

横浜市立大学・センター病院・講師

研究者番号：20335631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円、(間接経費) 540,000円

研究成果の概要(和文)：PEG-IFN/RBV併用療法を行ったgenotype2のC型肝炎患者101症例についてIL28B遺伝子を中心として解析を後向きに行った。URVR、EVR、ETR、SVRと再燃率はそれぞれ22.2%、61.4%、95.0%、87.1%、と7.9%であった。単変量解析ではRVRの有無とIL28B SNPがSVRと有意に相関していた。サブグループ解析ではIL28B SNPはgenotype2aでのみ有意に相関していた。多変量解析では、RVRの有無とIL28B SNPが、独立して有意にSVRと相関していた。さらに、IL28B SNPは再燃の有無と有意に相関したが、RVRの有無とは相関しなかった。

研究成果の概要(英文)：In a retrospective study of 101 patients infected with either genotype 2a (n = 65) or 2b (n = 36) and treated with peginterferon plus ribavirin, we investigated predictive factors for a sustained virological response (SVR), including genetic variations near the IL28B gene and clinical variables such as age, gender, body mass index, stage of fibrosis, and drug adherence. Ultra-rapid virological response, rapid virological response (RVR), end-of-treatment response, SVR, and relapse rates were 22.2%, 61.4%, 95.0%, 87.1%, and 7.9%, respectively. In univariate analysis, RVR and IL28B single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were significantly associated with SVR. In subgroup analysis, IL28B SNPs were significantly associated with SVR in genotype 2a patients but not in genotype 2b patients. In multiple logistic regression analysis, RVR and IL28B SNP (rs8099917) were independently associated with SVR. Furthermore, IL28B SNP was significantly associated with relapse but RVR was not.

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：消化器内科学

キーワード：C型慢性肝炎 C型肝炎ウイルス(HCV) IL28B SNP

1. 研究開始当初の背景

C型肝炎は、年間3万人以上が亡くなっている肝がんの第一の原因となっており、早期の治療によるウイルスの排除が望まれている。最近のペグインターフェロン・リバビリン併用治療の登場により、50%程度が治癒するようになったが、治療効果をあらかじめ予測することは困難であった。2009年、宿主側因子として、IFN 3(IL28B)のSNPがペグインターフェロン・リバビリン療法の強力な治療効果予測因子となることが、相次いで報告された (Ge et al., Nature. 7265:798-801, Suppiah et al., Nat Genet. 41:1100-4, Tanaka et al., Nat Genet. 41:1105-9. )

2. 研究の目的

インターフェロンがC型肝炎ウイルスを排除する分子生物学的機構は、ほとんど解明されていない。さらに、その受容体として最近存在が明らかとなったインターフェロン受容体の役割については、治療効果との関連を中心とした臨床的検討から、抗ウイルス効果に及ぼす基礎的検討まで、ほとんどなされていない。これらの機構が明らかになれば、さらに強力なC型肝炎治療薬の開発にもつながることが期待される。そこで第一の目的は、インターフェロン受容体の発現が新たな治療効果予測因子として有用であるか検討することである。次に genotype2 の C型肝炎については IL28B SNP の治療効果に対する影響が明らかとなっていないため、臨床的なパラメーターを含めて総合的に検討を行うことにした。

3. 研究の方法

genotype1 の C型肝炎症例ではペグインターフェロン・リバビリン併用療法を受けた C型肝炎慢性肝炎患者のうち、インフォームドコンセントが得られた患者について、治療前肝生検組織中インターフェロン受容体 mRNA 発現量の解析を行った。genotype2 の C型肝炎症例では 2005 年より 2012 年まで PEG-IFN/Ribavirin 併用療法を導入した症例のうち、同意取得し IL28B SNP 解析を行った 101 症例について、様々な臨床情報と治療効果との関連を検討した。

4. 研究成果

前半の genotype1 の C型肝炎患者の解析では、残念ながら IFN ラムダ受容体の mRNA 発現量と治療効果との間には有意な相関関係は認められなかった。そこで未だ IL28BSNP と治療効果との間の関連にコンセンサスが得られていない genotype2 症例に着目し、自施設においてペグインターフェロン・リバビリン併用療法を行った計 101 例について IL28B SNP を測定し、それ以外の臨床的パラメーターについても集計を行った。その結果、IL28B SNP(rs8099917)はメジャーホモが 77 例、ヘテロが 24 例であった。

genotype は 2a が 65 例、2b が 36 例であった。以下患者背景を図に示す。

患者背景

|                          | ALL (n=101)     | 2a (n=65)       | 2b (n=36)       | P-value*  |
|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------|
| 性別 (男/女)                 | 45/56           | 28/37           | 17/19           | NS(0.835) |
| 年齢(years)                | 51.0(26-79)     | 51.5(26-79)     | 50.0(32-68)     | NS(0.525) |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 23.8(16.9-34.4) | 23.4(16.9-34.4) | 24.4(17.5-34.0) | NS(0.186) |
| 前治療 (ありなし)               | 11/90           | 4/61            | 7/29            | NS(0.051) |
| 線維化 (F0-2/F3-4)          | 87/14           | 59/6            | 28/8            | NS(0.081) |
| IL28B SNPs               |                 |                 |                 |           |
| rs8099917 (TT/TC)        | 77/24           | 50/15           | 27/9            | NS(0.813) |
| rs11881222 (AA/AG)       | 78/23           | 51/14           | 27/9            | NS(0.805) |
| rs8103142 (TT/TC)        | 78/23           | 51/14           | 27/9            | NS(0.805) |

\*Comparison between 2a versus 2b; BMI,body mass index; HCV,Hepatitis C virus

このうち、genotype と治療効果を比較してみると 2a と 2b で唯一 URVR(治療開始 2 週間後ウイルス陰性化の有無)で有意に genotype 2a で URVR となっていた (以下図)。

genotypeと治療効果

| Genotype(%) | 2a+2b         | 2a           | 2b           | P-value   |
|-------------|---------------|--------------|--------------|-----------|
| URVR        | 22/99 (22.2)  | 18/63 (28.6) | 4/36 (11.1)  | 0.049     |
| RVR         | 62/101 (61.4) | 41/65 (63.1) | 21/36 (58.3) | NS(0.674) |
| ETR         | 96/101 (95.0) | 61/65 (93.8) | 35/36 (97.2) | NS(0.653) |
| SVR         | 88/101 (87.1) | 55/65 (84.6) | 33/36 (91.7) | NS(0.370) |

URVR, ultra-rapid virological response; RVR, rapid virological response; ETR, end-of-treatment response; SVR, sustained virological response.

次に薬剤投与量と治療効果を比較すると唯一、ペグインターフェロンの投与量を目標投与量の 70%以上投与すると有意に治療終了時の HCV RNA 陰性化 (ETR) 率が高かった (以下図)。

薬剤投与量と治療効果

| character                               | < 70%      | ≥ 70%      | P-value   |
|---|------------|------------|-----------|
| pegylated interferon(PEG-IFN) adherence |            |            |           |
| URVR                                    | 2/8(25)    | 20/90 (22) | NS(1.000) |
| RVR                                     | 4/8(50)    | 58/92 (63) | NS(0.474) |
| ETR                                     | 6/8(75)    | 90/92(98)  | 0.031     |
| SVR                                     | 6/8(75)    | 82/92 (89) | NS(0.245) |
| Ribavirin(RBV) adherence                |            |            |           |
| URVR                                    | 4/16(25)   | 18/82(22)  | NS(0.752) |
| RVR                                     | 11/16 (69) | 51/84(61)  | NS(0.589) |
| ETR                                     | 14/16 (88) | 82/84(98)  | NS(0.119) |
| SVR                                     | 12/16 (75) | 76/84(91)  | NS(0.098) |

URVR, ultra-rapid virological response; RVR, rapid virological response; ETR, end-of-treatment response; SVR, sustained virological response.

SVR に寄与する因子を単変量解析で解析した結果、RVR (治療開始 4 週間後ウイルス陰性化)の有無、IL28B SNP が有意な因子として抽出された (次頁図)。

著効に関する因子(単変量解析)

|                          | SVR (n=88)      | Non-SVR (n=13)  | P-value      |
|--------------------------|-----------------|-----------------|--------------|
| Genotype (2a/2b)         | 55/33           | 10/3            | NS(0.370)    |
| IL28B SNPs               |                 |                 |              |
| rs8099917 (TT/TG)        | 71/17           | 6/7             | <b>0.012</b> |
| rs11881222 (AA/AG)       | 72/16           | 6/7             | <b>0.009</b> |
| rs103142 (TT/TC)         | 72/16           | 6/7             | <b>0.009</b> |
| 年齢 (years)               | 50.3(26-79)     | 55.6(29-73)     | NS(0.116)    |
| 性別 (male/female)         | 42/46           | 3/10            | NS(0.136)    |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 23.8(17.5-34.4) | 23.5(16.9-34.1) | NS(0.730)    |
| 繊維化 (F0-2/3-4)           | 77/11           | 10/3            | NS(0.383)    |
| RVR (RVR/non-RVR)        | 59/29           | 3/10            | <b>0.004</b> |
| PEG-FIN 投与量 (≧70%/<70%)  | 82/6            | 10/2            | NS(0.245)    |
| RBV 投与量 (≧70%/<70%)      | 76/12           | 8/4             | NS(0.098)    |

Bold indicated P-value of less than 0.05.  
SNPs, single nucleotide polymorphisms; BMI, body mass index; RVR, rapid virological response

同様に SVR に寄与する因子を多変量解析で解析した結果、RVR の有無 (オッズ比 8.598)、IL28B SNP (オッズ比 6.491) が有意な因子として抽出された (以下図)。

著効に関する因子(多変量解析)

| Factor                | Category | Odds ratio (95% CI)         | P-value      |
|-----------------------|----------|-----------------------------|--------------|
| RVR                   | non-RVR  | 1                           |              |
|                       | RVR      | <b>8.598 (1.983-37.286)</b> | <b>0.004</b> |
| IL28B SNP (rs8099917) | TG       | 1                           |              |
|                       | TT       | <b>6.491(1.669-25.241)</b>  | <b>0.007</b> |

Bold indicated P-value of less than 0.05.  
SNPs, single nucleotide polymorphisms; RVR, rapid virological response

genotype 別の解析では、単変量解析において genotype 2a のみで IL28B SNP が有意な SVR 予測因子として抽出された (以下図)。

IL28B SNP (rs8099917)と治療効果

| Character                     | IL28B major (TT) | IL28B hetero/minor (TG) | P-value      |
|-------------------------------|------------------|-------------------------|--------------|
| <b>Number/total number(%)</b> |                  |                         |              |
| URVR                          | 16/76 (21)       | 6/23(26)                | NS(0.581)    |
| RVR                           | 47/77 (61)       | 15/24(63)               | NS(1.000)    |
| ETR                           | 74/77 (96)       | 22/24(92)               | NS(0.590)    |
| SVR                           | 71/77 (92)       | 17/24(71)               | <b>0.012</b> |
| <b>Genotype2a</b>             |                  |                         |              |
| URVR                          | 13/49(27)        | 5/14(36)                | NS(0.517)    |
| RVR                           | 32/50(64)        | 9/15(60)                | NS(0.770)    |
| ETR                           | 48/50(96)        | 13/15(87)               | NS(0.226)    |
| SVR                           | 45/50(90)        | 10/15(67)               | <b>0.043</b> |
| <b>Genotype2b</b>             |                  |                         |              |
| URVR                          | 3/27(11)         | 1/9(11)                 | NS(1.000)    |
| RVR                           | 15/27(56)        | 6/9(67)                 | NS(0.705)    |
| ETR                           | 26/27(96)        | 9/9(100)                | NS(1.000)    |
| SVR                           | 26/27(96)        | 7/9(78)                 | NS(0.148)    |

Bold indicated P-value of less than 0.05. SNPs, single nucleotide polymorphisms; RVR, rapid virological response; URVR, ultra-rapid virologic response; ETR, end-of-treatment response; SVR, sustained virological response.

また、RVR の有無と IL28B SNP の間で SVR に及ぼす影響の違いを探るべく、再燃の有無との関係を検討した結果、IL28B SNP のみが単変量解析で有意に再燃の有無に相関することが明らかになった(p=0.017) (次頁図)。

再燃に関する検討(単変量解析)

|                                | relapse(+) | relapse(-) | P-value      |
|--------------------------------|------------|------------|--------------|
| RVR/non-RVR                    | 3/5        | 59/34      | 0.255        |
| IL28B(rs8099917) major / minor | 3/5        | 74/19      | <b>0.017</b> |

Bold indicated P-value of less than 0.05; RVR, rapid virological response.

以上の結果は Hepatology Research 誌に掲載された。

## 5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計3件)

Effects of IL-28B gene polymorphism on response to peginterferon plus ribavirin combination therapy for genotype 2 chronic hepatitis C. Shimoyama Y, Nozaki A (corresponding author), Morimoto M, Moriya S, Kondo M, Fukuda H, Numata K, Miyajima E, Oba MS, Taguri M, Morita S, Maeda S, Tanaka K. Hepatology Research 2013 Sep;43(9):919-924. 査読あり

Fucosylated fraction of alpha-fetoprotein as a serological marker of early hepatocellular carcinoma. Moriya S, Morimoto M, Numata K, Nozaki A, Shimoyama Y, Kondo M, Nakano M, Maeda S, Tanaka K. Anticancer Res.2013 Mar;33(3):997-1001. 査読あり

Hepatic failure in pregnancy successfully treated by online hemodiafiltration: Chronic hepatitis B virus infection without viral genome mutation. Arata S, Nozaki A, Takizawa K, Kondo M, Morimoto M, Numata K, Hayashi S, Watanabe T, Tanaka Y, Tanaka K. Hepatology Research 2013 Dec;43(12):1356-1360. 査読あり

## 〔学会発表〕(計4件)

発表者名 野崎昭人  
発表課題 遺伝子検査をもっと身近に：チーム医療に根ざした院内における遺伝子検査体制の構築シナリオ  
学会等名 日本臨床検査自動化学会第45回大会 ランチョンセミナー10(招待講演)  
2013年10月12日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

発表者名 野崎昭人 下山友 田中克明  
発表課題 IL28B SNP は genotype 2 の C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/RBV 療法の SVR 予測因子となりえるか？  
学会等名 JDDW2013 ワークショップ  
2013 年 10 月 9 日 品川プリンスホテル（東京都品川区）

発表者名 下山友 野崎昭人 清水悠朗  
滝澤憲一 守屋聡 近藤正晃 福田浩之  
森本学 沼田和司 田中克明 前田慎  
発表課題 Serotype 2 型 C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/RBV 併用療法の治療効果予測因子の検討。  
学会等名 JDDW2012 2012 年 10 月 10 日  
神戸国際展示場（兵庫県神戸市）

発表者名 野崎昭人 森岡友 田中克明  
木田沙緒里 田中春華 竹森美紀 廣瀬春香  
米澤広美 宮島栄治  
発表課題 当センターにおける PEG-IFN 2b+RBV 併用療法における IL28B SNP 解析の意義。  
学会等名 日本臨床検査自動化学会第 43 回大会 2011 年 10 月 6 日 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

〔産業財産権〕  
取得状況（計 1 件）

名称：C 型肝炎治療剤  
発明者：野崎昭人、田中克明、池田正徳、加藤宜之  
権利者：公立法人横浜市立大学、国立大学法人 岡山大学  
種類：特許  
番号：特許第 5 5 2 7 5 4 9 号  
取得年月日：平成 26 年 4 月 25 日  
国内外の別：国内

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

野崎 昭人 (NOZAKI, Akito)  
横浜市立大学・市民総合医療センター・講師  
研究者番号：2 0 3 3 5 6 3 1