

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 17 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860406

研究課題名(和文) MICプロモータ領域の遺伝子多型解析によるC型肝炎のIFN治療効果予測

研究課題名(英文) MHC class I-related chain B gene polymorphism is associated with virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C infection.

研究代表者

塩谷 淳 (SHIOYA, MAKOTO)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：20599451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：C型肝炎患者に対するペグインターフェロン+リバビリン治療の効果を予測する因子として、MICB(MHC class I-related chain B)の遺伝子多型が有用かどうかを患者107例(セロタイプ1が74名、セロタイプ2が33名)において、検討した。結果、C型肝炎患者において、MICBがメジャーアリルであれば、有意に良好な治療成績が得られることが分かった。また、セロタイプ別に検討したところ、特にセロタイプ2型において、MICBはペグインターフェロン+リバビリン治療の効果を予測する因子として優れていることが分かった。

研究成果の概要(英文)：MHC class I-related chain B (MICB) genotypes and therapeutic response to pegylated interferon plus ribavirin (PEG-IFN/RBV) therapy was investigated in hepatitis C virus (HCV)-infected patients. In total, 107 patients with chronic HCV infection (74 with HCV serotype 1 and 33 with serotype 2) were enrolled. Genotyping of MICB single-nucleotide polymorphism (SNP) rs3828913 was performed using TaqMan[®] SNP genotyping assays. The genotype distribution of the MICB alleles was: CC, 79.4%; CA, 17.8%; and AA, 2.8%. Sustained virological response (SVR) rate of patients with MICB major (CC) alleles was 62.3% and this rate was significantly higher than that of the patients with MICB minor (CA and AA) alleles (27.2%) (P=0.0068). In addition, in HCV serotype 2 patients, the MICB genotype was the sole significant factor contributing to SVR (OR, 30.68; P=0.006). In conclusion, the MICB genotype is a strong predictive factor for virological response to PEG-IFN/RBV therapy in HCV patients.

研究分野：消化器免疫

キーワード：MICB C型肝炎 インターフェロン治療 セロタイプ2型 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

(1)C 型肝炎ウイルスの排除に働く自然免疫機構にはNK細胞活性が重要であり、活性化が弱い例では輸血後慢性肝炎が発症する。MHC class - related chain B(MICB) は、ウイルス感染やがんなど様々なストレス化に誘導され、NK細胞レセプター(NKG2D)のligandとして働き、NK細胞活性に一役を担っている。このMICBは、慢性C型肝炎患者のDCでは発現の低下を認めており、ウイルスが免疫機構から逃れ、慢性化する要因として示唆されている。

(2)研究開始当初、C型肝炎ウイルスの排除を目的とした治療はIFN製剤の投与が不可欠であった。しかし、IFN投与に対する反応は個人によって様々であり、副作用の観点から治療効果予測因子の確立が重要である。C型肝炎に対するインターフェロン(IFN)治療の有効性を予測する手段として、セロタイプ1型のC型肝炎では、ウイルスの遺伝子型の差異や変異の他、宿主側因子としてIL-28B近傍のSNPの関与が報告されている。しかし、セロタイプ2型ウイルスではインターフェロン治療効果予測因子として1型ウイルスほど有用なものは特に確立されていない現状であった。

(3)申請者の所属する研究室では、以前、MICBのプロモーター領域のうち、熱ショックエレメントを有する部位について、遺伝子多型の解析を行った経緯がある(rs3828913)(論文化されていない)。C型肝炎ウイルスの複製には熱ショック蛋白(heat shock protein:HSP)が関わっているという報告もあることから、申請者はC型肝炎患者において、このMICB遺伝子のプロモーター領域(rs3828913)に着目し、予備実験を行った。セロタイプ1型のC型肝炎に対しては、CA/AAのminor alleleを有する患者においてIFN感受性が悪く、セロタイプ2型においても、治療後に再燃する傾向があった。同部位の遺伝子多型がC型肝炎に対するIFN治療抵抗性と関わっている可能性があると考え、今回、科学研究費を申請の上、臨床研究を行うに至った。

2. 研究の目的

IFN治療(特には当時もっとも行われていた、ペグインターフェロンおよびリバビリンの併用療法)を行った慢性C型肝炎患者において、MICBプロモーター領域(rs3828913)の遺伝子多型を検索し、この遺伝子多型がIFN治療効果の予測因子となり得るかどうかについて、臨床的な研究を行う。

3. 研究の方法

滋賀医科大学消化器内科あるいは滋賀医科大学関連病院に通院中の、ペグインターフェロ

ンおよびリバビリン併用療法を施行した慢性C型肝炎患者を対象に、同意を得てMICBプロモーター領域(rs3828913)の遺伝子多型を検索した。患者採血時の残血を用いてDNAを抽出し、Taqman-probe法を用いてこの遺伝子多型を調べた。ペグインターフェロンおよびリバビリン治療結果と、この遺伝子多型との関連を統計学的に検討し、治療予測因子として有用かどうかについて検討した。

4. 研究成果

この研究に同意が得られたC型肝炎患者は合計107名で、そのうち、74名はセロタイプ1型、33名はセロタイプ2型であった。

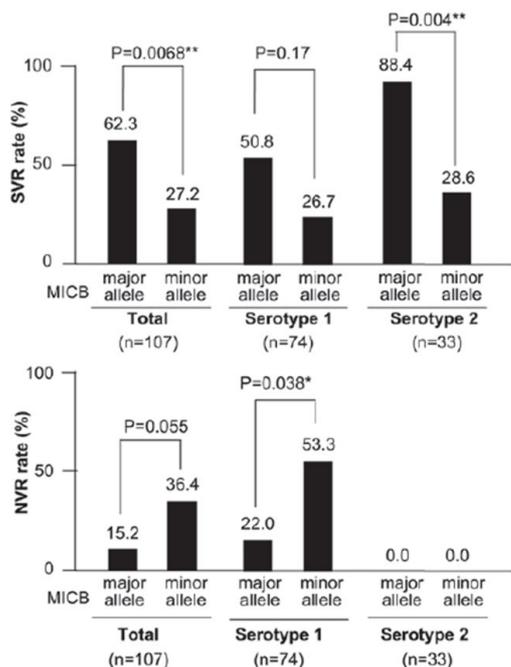
(1)まず、エントリーされたC型肝炎患者のMICBのアリル頻度について調べた。日本人のこの遺伝子多型の頻度はHapMapのデータによると、メジャータイプのCCが74.4%、マイナータイプのCAが23.3%、AAが2.3%である。C型肝炎セロタイプ1型の患者ではCCが79.7%、CAが17.6%、AAが2.7%であった。セロタイプ2型の患者ではCCが78.8%、CAが18.2%、AAが3.0%であり、セロタイプ1型2型とも、アリル頻度においては健常人と違いは認められなかった。(table 1)

Variables	MICB SNP rs3828913		
	CC	CA	AA
HCV serotype 1, n (%)	59 (79.7)	13 (17.6)	2 (2.7)
HCV serotype 2, n (%)	26 (78.8)	6 (18.2)	1 (3.0)
Total, n (%)	85 (79.4)	19 (17.8)	3 (2.8)
HapMap, %	74.4	23.3	2.3

(table 1)

(2)続いて、ペグインターフェロンおよびリバビリン治療を受けたC型肝炎患者のうち、ウイルス学的寛解(Sustained Viral Response;SVR)が得られた症例を調べると、全体で55.1%であった。なお、MICBのメジャーアリルを有する症例でSVRを得られた症例は62.3%であったのに対し、マイナーアリルを有する症例では27.2%しかなく、統計学的な有意差を認めた。また、セロタイプごとに調べてみると、セロタイプ1型の症例において、MICBメジャーアリルを有する症例でSVR率は50.8%、マイナーアリルの症例では26.7%とSVR率が低下する傾向にはあったが、統計学的な有意差は認められなかった。それに対し、セロタイプ2型のC型肝炎ウイルスでは、MICBメジャーアリルの症例のうち88%でSVRが得られるのに対し、マイナーアリルの症例では28%しかSVRが得られず、統計学的有意差を認めた(Figure1)。一方、治療に対して治療期間中に1度もウイルス陰性化しない症例(Non Viral Response;NVR)を調べてみると、セロタイプ1型ウイルスにおいて、メジャーアリルでは22%のNVR率であったのに対し、マイナーアリルを有する症例では53.3%のNVR率

があり、マイナーアレル群では有意差をもって NVR となってしまう、という結果であった (Figure1)



(figure. 1)

(3)C型肝炎患者全体における、SVRとNVRに寄与する因子について、MICBの遺伝子多型その他、年齢、性別、BMI、HCVウイルス量、肝機能、ヘモグロビン値、血小板、ペグインターフェロンの投与量、リバビリンの投与量、宿主のインターフェロン感受性遺伝子として認識されている IL-28B の遺伝子多型 (rs8099917) を含め、多変量解析で調べた。結果は、table2 に示すように、SVR に寄与する因子として最も有効なものが IL-28B であり、続いて MICB、ウイルス量となった。NVR に寄与する因子としては IL-28B のみが有意な因子であった。

Variables	OR	95% CI	P-value
Predicting SVR			
IL-28B major genotype	7.14	2.19-23.22	0.001
MICB major genotype	4.47	1.46-13.70	0.009
Lower HCV-RNA	2.39	1.19-4.78	0.014
Predicting NVR			
IL28B minor genotype	5.63	1.94-16.38	0.002
Higher γ -GTP levels	1	1.00-1.01	0.121

(table 2)

(4)(2)の結果において、特にセロタイプ2型の慢性C型肝炎では、ペグインターフェロンおよびリバビリン療法のSVR率にMICBが大きく寄与する可能性が示唆されたため、セロタイプ2型のみを検討として、年齢、性別、BMI、HCVウイルス量、肝機能、ヘモグロビン値、血小板、ペグインターフェロンの投与量、リ

バビリンの投与量などの因子を加え、MICBの遺伝子多型ともに比較検討した。

その結果、セロタイプ2型では、SVRに寄与する因子はMICBの遺伝子多型のみで、他の因子はSVRに寄与しなかった。

(Table.2)

Factors	SVR	TVR	P-value SVR vs. non-SVR
Patients, n	25	8	-
Age, years	56.5±8.9	60.6±7.0	0.28
Gender, male/female, n	16/9	5/3	1
Body mass index, kg/m ²	23.7±3.7	26.3±8.3	0.53
HCV-RNA level, log IU/ml	6.01±0.77	6.19±1.15	0.26
AST, U/l	63.4±56.6	46.1±23.2	0.53
ALT, U/l	83.6±84.9	53.5±31.1	0.51
γ -GTP, U/l	70.8±104.4	42.5±28.3	0.51
Hemoglobin, g/dl	14.1±1.41	14.2±0.99	0.55
Platelets, $\times 10^9$ /mm ³	18.6±5.6	15.6±6.3	0.40
Total cholesterol, mg/dl	173.7±27.0	181.9±25.7	0.51
PEG-IFN, μ g/kg	49.1±32.1	55.7±38.0	0.54
RBV, mg/kg/day	10.5±1.9	8.6±2.4	0.52
MICB genotype: major/minor, n	23/2	3/5	0.004 ^P
IL28B genotype: major/minor, n	21/4	7/1	1
Fibrosis stage: 1-2/3-4 ^P , n	18/3	3/1	0.83

(table 2)

さらに、これを確認する目的にて、セロタイプ1型ではSVRに寄与する因子として知られる、年齢、性別、ウイルス量、ペグインターフェロンおよびリバビリンの総投与量、IL-28Bの遺伝子多型、線維化の進行度、治療早期に反応があったか(RVR)を比較対象因子として加え、多変量解析を行った。やはり、多変量解析でも、MICBの遺伝子多型はSVR率と強い相関があり、MICBは特にセロタイプ2型のC型慢性肝炎において、ペグインターフェロンおよびリバビリンの治療効果予測因子となり得ることが示された(table3)。セロタイプ2型のウイルスは、もともと高率にSVRが得られることが多く、治療抵抗因子の検討や治療予測因子の報告がなかったが、この研究により2型ウイルスに対する新たなインターフェロン治療の治療効果予測因子としてMICBの遺伝子多型を報告した。

	オッズ比	95%信頼区間	p値
若年	1.00	0.85-1.18	0.969
男性	1.35	0.09-20.62	0.830
ウイルス量	0.37	0.06-2.24	0.279
PEG-IFN量	1.03	0.96-1.11	0.382
RBV量	1.00	1.00-1.00	0.481
MICB major type	44.62	1.57-1270.87	0.026
IL28B major type	0.75	0.03-17.84	0.859
RVR	3.03	0.21-44.30	0.418
肝線維化(F1-2)	4.72	0.21-107.05	0.330

(table 3)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1件)

AYUMI ASADA, MAKOTO SHIOYA, RIE OSAKI, TAKASHI NISHIMURA, TAKAYUKI TAKEUCHI, YOSHIKI OKUMURA, AKIRA ANDOH; MHC

class- -related chain B gene polymorphism is associated with virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C infection. BIOMEDICAL REPORTS 3:247-253,2015, 査読有

研究者番号：

〔学会発表〕(計 1件)

— MAKOTO SHIOYA, AYUMI ASADA, RIE OSAKI, TAKASHI NISHIMURA, TAKAYUKI TAKEUCHI, YOSHIAKI OKUMURA, AKIRA ANDOH; MICB(MHC class- -related chain B)gene polymorphism is associated with virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C infection. DDW(米国消化器病学会週間) in May 17, 2015, Washington DC.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

塩谷 淳 (SHIOYA, Makoto)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号：20599451

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()