

平成23年 5月20日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590474

研究課題名(和文) 高齢女性に特化した新しいC型慢性肝炎治療法の開発

研究課題名(英文) Development of new therapy for elder women with chronic hepatitis C

研究代表者

池田 正徳 (IKEDA MASANORI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：30315767

研究成果の概要(和文)：C型慢性肝炎に対する標準治療はインターフェロンとリバビリンの併用療法であるが、その有効率は約50%にとどまっている。高齢女性は治療効果が低いことが知られている。本研究では更年期女性の骨粗鬆症の治療剤である、ラロキシフェンが抗C型肝炎ウイルス(HCV)活性について明らかにした。ラロキシフェンはインターフェロンの抗HCV活性を増強した。一方、ラロキシフェンは高脂血症の抗HCV活性を減弱させた。

研究成果の概要(英文)：Interferon and ribavirin therapy is a standard medication for chronic hepatitis C. However, the effect of the therapy is approximately 50%. The elder female patients are especially resistant to the therapy. To overcome this problem, we investigated the anti-hepatitis C virus (HCV) activity of osteoporosis reagent, raloxifene. Raloxifene exhibited anti-HCV activity by itself in cell culture system and enhanced anti-HCV activity of interferon. On the other hand, raloxifene reduced anti-HCV activity of cholesterol lowering reagent, statins.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：ウイルス学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：C型慢性肝炎、HCV、ラロキシフェン、スタチン剤

1. 研究開始当初の背景

現在、C型慢性肝炎に対してペグインターフェロン(PEG-IFN)とリバビリン(RBV)の

併用療法が標準的治療となっており、その有効率は、遺伝子型2型では80—90%であるのに対して、遺伝子型1b型では約50%

と抵抗性を占める例が多い。したがって、現在、IFN治療に抵抗性を示す遺伝子型1b型に対する治療成績の向上が急務となっている。遺伝子型1b型のC型慢性肝炎患者のなかでも閉経期以降の高齢女性ではIFN治療の有効率が男性に比べて極端に低くなっており、1b型のIFN治療成績を低下させる原因であることが示唆されている。

閉経期以降の高齢女性では、女性ホルモンの変化により高脂血症、骨粗鬆症を発症する。これまで、高脂血症の治療剤であるスタチン剤が抗HCV血漿を見出して来た。これらの結果を踏まえて、本研究では女性ホルモンの変化が、高齢女性における治療抵抗性と関わるのではないかと考え新しい治療法について探索した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、高齢女性でIFN治療の有効性が低下する原因を明らかにし、高齢女性を標的とした新しい治療法を開発して、IFN治療成績を底上げすることで、IFN治療に抵抗性を示す遺伝子型1b型HCVに対する治療成績の向上を目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、申請者らが開発した、ヒト肝癌細胞株HuH-7細胞で全長HCV RNAが複製するOR6細胞を用いた。OR6細胞では遺伝子型1bのHCV-0株が自律的に複製している。また、HCV RNAには、レニラルシフェラーゼがレポーターとして組込まれているためHCV RNA複製レベルを簡便にモニターすることが可能である。薬剤を濃度をふって、OR6細胞に添加して、72時間後にルシフェラーゼ活性を測定した。

骨粗鬆症の治療剤であるビスフォスフォネート、SERM (選択的エストロゲン受容体モジュレーター)あるいはエストロゲンの抗

HCV 効果に付いて検討した。IFN- α (1 IU/ml)に薬剤を0-10 μ Mの濃度でOR6細胞に添加し抗HCV効果について検討した。

本研究で用いられた、HCV株はHCV-0株であるが、HCV株の違いによって薬剤の感受性が異なるかを明らかにするために、HCV-0株以外のHCV株を用いてレプリコン細胞の樹立を試みた。

4. 研究成果

全長HCV RNA複製レポーターアッセイ系(OR6アッセイシステム)を用いてラロキシフェンのHCV RNA複製に及ぼす効果を検討した。ラロキシフェンは濃度依存的にHCV RNA複製を抑制した (EC50:1 μ M)。

また、ラロキシフェンをIFNあるいはスタチン剤と併用したときの抗HCV活性について検討した。ラロキシフェンは濃度依存的にIFNの抗HCV活性を増強した。一方予想外にラロキシフェンとスタチン剤の併用は相反効果を示した。スタチン剤、ラロキシフェンは現在臨床の場で更年期の女性に対して用いられている薬剤である。標準療法であるPEG-IFN/RBVにスタチン剤を追加することで治療成績が改善されることがこれまでに報告されている。今回の結果はPEG-IFN/RBVにラロキシフェンを追加することで治療成績が改善されることを示唆している。一方、スタチン剤とラロキシフェンを併用することはそれぞれの抗HCV活性を減弱させてしまう可能性があるため、臨床でこれらの2剤を併用する場合の有用な情報となるものと思われる。

HCV-0株以外の3つの1b型HCV陽性患者血清(1B-4, 1B-5, KAH5)よりサブゲノムレプリコン複製細胞を作成し、スタチン剤に対する感受性を検討した。ピタバスタチンに対する1B-4, 1B-5, KAH5, 0由来のレプリ

コンのEC50はそれぞれ 0.40, 0.51, 0.64, 1.00 μ MでありHCV株により感受性が異なることがわかった。他のスタチン剤（フルバスタチン、ロスバスタチン）でもKAH5由来のレプリコンは最も低い感受性を示した。このことは、C型慢性肝炎患者においてもスタチン剤の感受性に違いがある可能性を示唆している。これからは、新しく樹立したレプリコン細胞を用いてラロキシフェンに対する感受性を検討してゆきたい。

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 13 件)

1) Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Kato N. Gene expression profile of Li23, a new human hepatoma cell line enables robust hepatitis C virus replication: Comparison with HuH-7 and other hepatic cell lines. *Hepatology Res.*, 査読あり, 40: 2010, 1248–1253

2) Nakamura M, Saito H, Ikeda M, Hokari R, Kato N, Hibi T, Miura S. An antioxidant resveratrol significantly enhanced replication of hepatitis C virus. *World J. Gastroenterol.*, 査読あり, 16: 2010, 184-192.

3) Oshiumi H, Ikeda M, Matsumoto M, Watanabe A, Takeuchi O, Akira S, Kato N, Shimotohno K, and Seya T. Hepatitis C virus core protein abrogates the DDX3 function that enhances IPS-1-mediated IFN- β induction. *PLoS One*, 査読あり, 5: 2010, e14258.

4) Kato N, Mori K, Abe K, Dansako H, Kuroki M, Ariumi Y, Wakita T, Ikeda M. Efficient replication systems for hepatitis C virus using a new human hepatoma cell line. *Virus Res.*, 査読あり, 146: 2009, 41-50.

5) Abe K, Ikeda M, Ariumi Y, D Hiromichi, Wakita T, Kato N. HCV genotype 1b chimeric replicon with NS5B of JFH-1 exhibited resistance to cyclosporine A. *Arch Virol.*, 154: 2009, 1671-1677.

6) Yano M, Ikeda M, Abe K, Kawai Y, Kuroki M, Mori K, Dansako H, Ariumi Y, Ohkoshi S, Aoyagi Y, Kato N. Oxidative stress induces anti-hepatitis C virus status via the activation

of extracellular signal-regulated kinase. *Hepatology*, 50: 2009, 678-688.

7) Ikeda M, Mori K, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Oncostatin M synergistically inhibits HCV RNA replication in combination with interferon- α . *FEBS Letters*, 583 : 2009, 1434-1438.

8) Dansako H, Ikeda M, Ariumi Y, Wakita T, Kato N. Double-stranded RNA-induced interferon- β and inflammatory cytokine production modulated by hepatitis C virus serine proteases derived from patients with hepatic diseases. *Arch Virol.* 査読あり, 154: 2009, 801-810.

9) Kawai Y, Ikeda M, Abe KI, Yano M, Ariumi Y, Dansako H, Yamamoto K, Kato N. Development of an HCV relapse model using genome-length HCV RNA-harboring cells possessing the IFN- α -resistance phenotype. *Hepatol Res.*, 査読あり, 39: 2009, 898-909.

10) Kuroki M, Ariumi Y, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N. Arsenic trioxide inhibits hepatitis C virus RNA replication through modulation of the glutathione redox system and oxidative stress. *J Virol.*, 査読あり, 83: 2009, 2338-48.

11) Nishimura G, Ikeda M, Mori K, Nakazawa T, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Replicons from genotype 1b HCV-positive sera exhibit diverse sensitivities to anti-HCV reagents. *Antiviral Res.*, 査読あり, 82: 2009, 42-50.

12) Dansako H, Ikeda M, Abe K, Mori K, Takemoto K, Ariumi Y, Kato N. A new living cell-based assay system for monitoring genome-length hepatitis C virus RNA replication. *Virus Res.*, 査読あり, 137: 2008, 72-79.

13) Nakamura M, Saito H, Ikeda M, Tada S, Kumagai N, Kato N, Shimotohno K, Hibi T. Possible molecular mechanism of the relationship between NS5B polymorphisms and early clearance of hepatitis C virus during interferon plus ribavirin treatment. *J. Med. Virol.*, 査読あり, 80: 2008, 632-639.

[学会発表] (計 14 件)

1) 池田 正徳, 森 京子, 武田 緑, 中澤 貴秀, 有海 康雄, 團迫 浩方, 加藤 宣之 異なる HCV 株、細胞株を用いた HCV RNA 複製培養細胞での薬剤評価 第 58 回日本

ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

2) 森 京子、池田 正徳、有海 康雄、團迫 浩方、脇田 隆字、加藤 宣之 リバビリンの抗 HCV 活性を決定する因子の解析 第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

3) Ikeda M, Mori K, Nakazawa T, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Development of genome-length HCV RNA replication assay systems derived from different HCV strains using HuH-7 and Li23 cells. 17th international symposium on hepatitis C virus and related viruses, 2010 Sep.11-15, Yokohama (Japan)

4) Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N. Anti-HCV mechanism of ribavirin in novel HCV replication cell systems. 17th international symposium on hepatitis C virus and related viruses, 2010 Sep.11-15, Yokohama (Japan)

5) Yano M, Ikeda M, Abe K, Kawai Y, Kuroki M, Mori K, Dansako H, Ariumi Y, Matsuda Y, Ohkoshi S, Aoyagi Y, Kato N. Involvement of the MEK-ERK1/2 Signaling Pathway in the Anti-HCV Mechanism of Oxidative Stress. The Liver Meeting 2009, AASLD, 2009 Oct.30-Nov.3, Boston, Massachusetts, USA

6) 池田 正徳、森 京子、有海 康雄、團迫 浩方、加藤 宣之 オンコスタチン M はインターフェロンの抗 HCV 活性を相乗的に増強する 第57回日本ウイルス学会学術集会、2009年10月25日～27日、東京

7) 森 京子、池田 正徳、有海 康雄、團迫 浩方、加藤 宣之 リバビリンの抗 HCV 活性を解析評価できる Li23 細胞由来の HCV-RNA 複製システム 第57回日本ウイルス学会学術集会、2009年10月25日～27日、東京

8) Ikeda M, Mori K, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Oncostatin M synergistically inhibits HCV RNA replication in combination with interferon- α . 16th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2009 Oct.3-7, Nice, France

9) Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Li23 cell-derived HCV-RNA replicating systems enabling analysis for anti-HCV mechanism of Ribavirin. 16th International Meeting on Hepatitis C Virus and

Related Viruses, 2009 Oct. 4., Nice, France

10) Nishimura G, Ikeda M, Mori K, Nakazawa T, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Replicons from genotype 1b HCV-positive sera exhibit diverse sensitivities to anti-HCV reagents. 16th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2009 Oct. 4., Nice, France

11) 池田 正徳、森 京子、西村 剛、阿部 健一、有海 康雄、團迫 浩方、中沢 貴之、加藤 宣之 異なる 1b 型 HCV 陽性血清由来の全長 HCV RNA レポーターアッセイ系の開発 第56回日本ウイルス学会、2008年10月26日～28日、岡山

12) 森 京子、加藤 宣之、阿部 健一、有海 康雄、團迫 浩方、池田 正徳 新しいヒト肝癌細胞株 Li23 由来の全長 HCV-RNA 複製細胞を用いた薬剤評価システム 第56回日本ウイルス学会、2008年10月26日～28日、岡山

13) Ikeda M, Abe K, Kuroki M, Ariumi Y, Dansako H, Kato N. Identification of 5-HETE as the anti-HCV molecule among the arachidonic acid metabolites. 15th international symposium on hepatitis C virus & related viruses, 2008 Oct.5-9, San Antonio(U.S.A)

14) Kato N, Mori K, Abe K, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Ikeda M. A new human hepatoma cell line enabling persistent reproduction of HCV life cycle and assay for anti-HCV reagents 15th international symposium on hepatitis c virus & related viruses, 2008 Oct.5-9 San Antonio(U.S.A)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.okayama-u.ac.jp/user/med/dmb/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 正徳 (IKEDA MASANORI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：30315767

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし