

機関番号：13501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590768

研究課題名（和文）データ・マイニング解析、ウイルス遺伝子解析による C 型肝炎の病態解明

研究課題名（英文）Data mining analysis for the investigation of clinical features of chronic hepatitis C

研究代表者

黒崎 雅之（KUROSAKI MASAYUKI）

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・医学研究員

研究者番号：10280976

研究成果の概要（和文）：データ・マイニングを用いて、C型肝炎の治療効果と関連する因子を検討したところ、肝臓の脂肪化や血糖値が高い症例では治療効果が得られにくかった。ウイルスの遺伝子を調べることで、治療効果が期待できる症例を治療開始前に同定することができた。患者の IL28B 遺伝子を調べることでウイルスが消えない確率が高い症例を同定できた。ウイルスが消えた後に治療終了後に再出現するリスクは、ウイルス遺伝子を調べることで予測できた。

研究成果の概要（英文）：We have analyzed factors that are predictive of response to peg-interferon plus ribavirin in chronic hepatitis C using data mining method. We found that hepatic steatosis, lower LDL-cholesterol level, higher glucose level and higher GGT level was predictive of poor virological response during the early treatment period. The HCV sequences in the ISDR and Core 70 was predictors of response independently of other factors. In 2009, a SNP near the IL28B was found to be most closely associated with the response to interferon therapy. We found that while IL28B was associated with the probability of viral decline, ISDR was a predictor of SVR independently of IL28B since ISDR was related to relapse of hepatitis. In the search for the factors associated with HCC development, lower albumin, higher FIB-4 index, hepatic steatosis and hyperglycemia was identified as a significant predictor. Hyperglycemia and hepatic steatosis was related to HCC development independent of liver fibrosis. Whether these metabolic features could be the target for therapeutic intervention to reduce the incidence of HCC awaits further investigation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：データ・マイニング、C型肝炎、肝がん、インターフェロン、個別化診療

1. 研究開始当初の背景

C型慢性肝炎に対するPEG interferon/ribavirin 併用療法において、宿主因子による治療抵抗機序は十分に解明されていなかった。我々は、仮説検証型統計解析では見出せない法則性を膨大なデータから網羅的に探索する研究手法であるデータ・マイニングを宿主因子解析に導入し、PEG interferon/ribavirin 併用療法の抗ウイルス効果を肝脂肪化、インスリン抵抗性、LDL-コレステロールなどの代謝性宿主因子が規定することを見出していた。(のちにこれらの因子は、宿主遺伝子 IL28B の臨床的表現型であることが明らかにされる)。さらにC型肝炎における発癌に肝脂肪化、肥満などの代謝性宿主因子が関連することも見出していた。このようなデータ・マイニングへの臨床医学研究への応用は世界的にも端緒についたばかりであった。

2. 研究の目的

本研究では、PEG interferon/ribavirin 併用療法の治療抵抗性機序の解明のための基盤を確立することを目標とし、データ・マイニングにより宿主側の治療抵抗性因子について網羅的探索をおこなうことを目的とした。またウイルス因子、治療因子を含めた解析を行い、治療抵抗性に対する対策を検討することも目的とした。

さらに、C型肝炎における肝発癌を規定する因子を解明し、肝癌撲滅と予後改善への基盤を確立することを第二の目標とした。そのため、肝発癌を規定する因子についてデータ・マイニングによる網羅的な探索をおこない、さらに発癌と関連するウイルス遺伝子構造を同定することを目指した。

3. 研究の方法

診療データベースに蓄積されたC型肝炎 interferon 治療症例、発癌症例の臨床データをデータ・マイニング解析することにより、interferon 治療効果を規定する宿主因子および肝発癌に寄与する宿主因子を網羅的に探索・検証する。さらに同定された宿主因子を均一化した集団において interferon 治療抵抗性、および発癌に関連するウイルス遺伝子構造を探索する。

4. 研究成果

- (1) インターフェロン治療効果と関連する宿主因子：インターフェロン治療に対する感受性を検討するために、治療早期(12週以内)にHCV RNAが陰性化することと関連する因子について、網羅的に解析した。その結果、肝脂肪化が30%以上あると極めてウイルス減衰率が低いことが判明した。またLDL-コレステロール値が低値であるとHCVの早期陰性化が得られにくかった。さらに血糖高値、GGT

高値であるとHCVの早期陰性化が得られにくかった。これらの因子の組み合わせにより12週以内のHCV RNA陰性化の確率が18%から77%までの症例を同定できた(Predictive Model of Response to Peginterferon Ribavirin in Chronic Hepatitis C using Classification and Regression Tree Analysis. *Hepatol Res.* 2010)。これらの代謝性因子は、のちに発見されるIL28B遺伝子型と密接に関連することが明らかとなった。このような代謝性因子が、直接治療効果と関連するのか、あるいはIL28B遺伝子との関連を介して間接的に治療効果との関連があるように見えているのかは、現時点では結論が出ていない。

- (2) インターフェロン治療効果と関連するウイルス因子：宿主因子に加えて、既知の治療抵抗性ウイルスであるISDR野生型、およびCore70遺伝子変異型のインパクトを解析した。その結果ISDR変異型は、宿主因子に関わらず、極めて治療感受性であることが判明した。またISDRが野生型でも、60歳未満でCore70が野生型であれば65%でSVRが得られ、加えてLDL-コレステロール値が120以上であれば83%でSVRが得られることも明らかとなった。すなわち、ウイルス側の治療抵抗性因子がISDRのみであれば、他の宿主因子が治療感受性であれば、十分な治療効果が期待できることが証明された(Sequences in the Interferon Sensitivity Determining Region and Core Region of Hepatitis C Virus Impact Pretreatment Prediction of Response to Peg-interferon Plus Ribavirin: Data Mining Analysis. *J Med Virol* 2011)
- (3) IL28B遺伝子とISDRを組み入れた治療効果予測方法：2009年、名古屋市立大学の田中らにより、宿主遺伝子IL28B遺伝子の構造が、interferon治療抵抗性を規定する最も重要な因子であることが報告され、世界で同時に検証された。この発見により、C型肝炎の治療抵抗性機序の研究は大きく進展した。IL28B遺伝子は、治療抵抗性のウイルス遺伝子と関連することを見出したが、この知見は国内の他の研究者においても同様の結果であった。そこで、従来の研究手法にIL28B遺伝子、及びHCV遺伝子の情報も組み込んで解析を行ったところ、ISDRはIL28Bとは独立した治療効果関連因子であり、IL28Bはウイルス陰性化に寄与し、ISDRは再燃と密接に関連することが明らかとなった(Pretreatment Prediction of

Response to Pegylated-Interferon Plus Ribavirin for Chronic Hepatitis C using Genetic Polymorphism in IL28B and Viral Factors. J Hepatol 2011). HCV 遺伝子の網羅的解析からは、既知の治療抵抗性 HCV 遺伝子以外の特異的遺伝子構造は見いだされなかった。

- (4) C 型肝炎からの発癌関連因子：インターフェロン治療を行い SVR が得られず、その後抗ウイルス療法を行うことなく 5 年以上観察できた症例を対象として、5 年以内に発癌するリスクを検討した。一般検査を用いた解析では、年齢、血小板数、アルブミン値、AST 値が発癌と関連した因子として抽出され、これらの因子の組み合わせで、5 年以内の発がん率が 0% から 21% までのグループを同定できた。一方、肝生検所見を含めた、より詳細な解析で構築された発癌予測モデルでは、アルブミン値、FIB-4、血糖値、肝脂肪化が発癌関連因子として抽出された。アルブミン値、FIB-4 は肝線維化を反映する因子として有意になったと推察されるが、血糖値、肝脂肪化は、肝線維化とは独立して発癌と関連しており、発癌リスクを評価する上で重要な臨床マーカーであった。これらの代謝性因子に対して治療を行うことで、発癌が抑止される可能性が仮説として示唆されるが、実際の治療介入で発癌抑止が得られるかは長期にわたる前向き研究が必要である。

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 14 件)

1. Itakura J, Asahina Y, Tamaki N, Hirayama I, Yasui Y, Tanaka T, Sato M, Ueda K, Kuzuya T, Tsuchiya K, Nakanishi H, Kurosaki M, Gabriel GS, Schneider GJ and Izumi N. Changes in hepatitis C viral load during first 14 days can predict the undetectable time point of serum viral load by pegylated interferon and ribavirin therapy. Hepatol Res 2011; 41:217-224. 査読有
2. Sakamoto N, Kurosaki M, et al. Association of IL28B polymorphism with response to pegylated-interferon alpha plus ribavirin combination therapy in patients with chronic genotype 2 hepatitis C. J Medical Virol 2011; 25:22038. 査読有
3. Izumi N, Asahina Y and Kurosaki M. Predictors of virological response to a combination therapy with pegylated interferon plus ribavirin including virus and host factors. Hepat Res Treat: 2010(703602): 703602. 査読有
4. Kurosaki M, Tanaka Y., Nishida N., Sakamoto N., Enomoto, N., Honda, M., Sugiyama M., Matsuura, K., Sugauchi, K., Asahina Y, Nakagawa, M., Watanabe, M., et al. Pretreatment Prediction of Response to Pegylated-Interferon Plus Ribavirin for Chronic Hepatitis C using Genetic Polymorphism in IL28B and Viral Factors. J Hepatol 2011 査読有
5. Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Tamori A, Nakagawa M, Izumi N. Sequences in the Interferon Sensitivity Determining Region and Core Region of Hepatitis C Virus Impact Pretreatment Prediction of Response to Peg-interferon Plus Ribavirin: Data Mining Analysis. J Med Virol 2011;83(3):445-52 査読有
6. Kurosaki M., Matsunaga K., Hirayama I., Tanaka T., Sato M., Yasui Y., et al. A Predictive Model of Response to Peginterferon Ribavirin in Chronic Hepatitis C using Classification and Regression Tree Analysis. Hepatol Res. 2010; 40: 251-60. 査読有
7. Kurosaki M., Hosokawa, T., Matsunaga, K., Hirayama, I., Tanaka, T., Sato, M., Yasui, Y., Tamaki, N., Ueda, K., Tsuchiya, K., Kuzuya, T., Nakanishi, H., Itakura, J., Takahashi, Y, Asahina, Y, Enomoto, N, Izumi, N Hepatic steatosis in chronic hepatitis C is a significant risk factor for developing hepatocellular carcinoma independent of age, sex, obesity, fibrosis stage and response to interferon therapy Hepatol Res. 2010; 40: 870-7. 査読有
8. Asahina Y, Tsuchiya K, Tamaki N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Kurosaki M, Enomoto N, Izumi N. Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus infection. Hepatology 2010; 52:518-527. 査読有
9. Itakura J., Kurosaki M, Itakura Y, Maekawa S., Asahina Y, Izumi N, et al. Reproducibility and usability of chronic virus infection model using

agent-based simulation; comparing with a mathematical model. Biosystems. 2009;12:12. 査読有

10. Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Komatsu N, Umeda N, et al. The presence of steatosis and elevation of alanine aminotransferase levels are associated with fibrosis progression in chronic hepatitis C with non-response to interferon therapy. J Hepatol 2008;48:736-742. 査読有
11. Kurosaki M, Izumi N External validation of FIB-4 : diagnostic accuracy is limited in elderly populations. Hepatology 2008; 47: 352-353. 査読有
12. Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Kurosaki M, Enomoto N, Tasaka M, Sakamoto N, Miyake S Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulators involving innate immunity in antiviral response. Gastroenterology 2008; 134: 1396-1405. 査読有

[学会発表] (計3件: 国際学会のみ)

1. Kurosaki M. et al. Prediction of Response to Pegylated-Interferon for Chronic Hepatitis C: Impact of SNPs near the *IL28B* gene and Mutations in the ISDR of HCV Revealed by Data Mining Analysis. 米国肝臓学会 2010. 11. 1 Boston
2. Kurosaki M. et al. Impact of Mutations in ISDR and Core Region of HCV on Pretreatment Prediction of Sustained Virological Response to Pegylated-interferon Plus Ribavirin Therapy; Classification and Regression Tree Analysis 第16回国際C型肝炎ウイルスおよび関連ウイルスシンポジウム 2009. 10. 6 Nice
3. Kurosaki M. et al. Predictive value of FIB-4 index for hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis C 米国肝臓学会 2009. 10. 30 Boston

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒崎 雅之 (KUROSAKI MASAYUKI)
山梨大学・大学院医学工学総合研究部・医学

研究員

研究者番号 : 10280976

(2) 研究分担者

泉 並木 (IZUMI NAMIKI)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・医学
研究員

研究者番号 : 20397300

榎本 信幸 (ENOMOTO NOBUYUKI)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
研究者番号 : 20251530

朝比奈 靖浩 (ASAHINA YASUHIRO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・医学
研究員

研究者番号 : 00422692

(3) 連携研究者

なし