

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 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390151

研究課題名（和文）C型慢性肝炎に対するテーラーメイド治療を目指した IL28B 遺伝要因の包括的解析

研究課題名（英文）Comprehensive analyses of IL28B genetic factor toward tailor-made therapy for chronic hepatitis C

研究代表者

田中 靖人（TANAKA YASUHITO）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90336694

研究成果の概要（和文）：[目的] IL28B 遺伝要因の基礎的・臨床的な包括的解析を実施し、テーラーメイド治療を目指す。[方法・結果]（臨床研究）(1) 新規 SNPs の同定：(2) IL28B、ITPA SNP の臨床的意義の検証：個別化医療を実現。（基礎研究）(1) IL28B 遺伝子発現制御：①IL28B 遺伝子プロモーター領域に存在する SNPs の影響。② エピジェネティック解析。(2) IL28B 機能解析：IFN λ を介した獲得免疫の修飾が HCV 排除に重要。新規治療薬の開発に繋げたい。

研究成果の概要（英文）：(Aim) Toward the tailor-made therapy for chronic hepatitis C, basic and clinical researches of IL28B were conducted. (Methods and Results) Clinical research: (1) Detection of new candidate SNPs, (2) Successful tailor-made therapy based on IL28B and ITPA SNPs. Basic research: (1) IL28B gene expression was controlled by SNPs and the epigenetic changes within promoter region, (2) Functional analyses of IL28B showed that the induction of IFN- λ s followed by immune response might contribute to different viral kinetics and treatment outcome in HCV-infected patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2012年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

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：HCV・テーラーメイド治療・IL28B・SNP・IFN ラムダ

1. 研究開始当初の背景

2009年、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(PEG-IFN α /RBV)治療効果を規定する遺伝要因(IL28B)が、我々の

研究グループ(Nat Genet 2009)と欧米で同時に報告された。HCVに一旦感染すると慢性肝炎から肝臓に至ることが知られており、HCVを効率的に排除することで生命予後の改善

が期待できる。

2. 研究の目的

本研究の目的では、IL28B 遺伝要因の基礎的・臨床的な包括的解析を実施し、テーラーメイド治療を目指すことである。臨床研究 (SNP 測定法・IL28B 発現系の開発、新規 SNPs 候補探索、治療効果や肝癌に寄与する遺伝要因の解明) 及び基礎研究 (IL28B 遺伝子発現制御、IL28B 機能解析) を同時に実施することで、インターフェロン治療が無効となるメカニズムを明らかにし、新規治療薬の開発に繋げる。

3. 研究の方法

(臨床研究) (1) 新規 SNPs の同定。

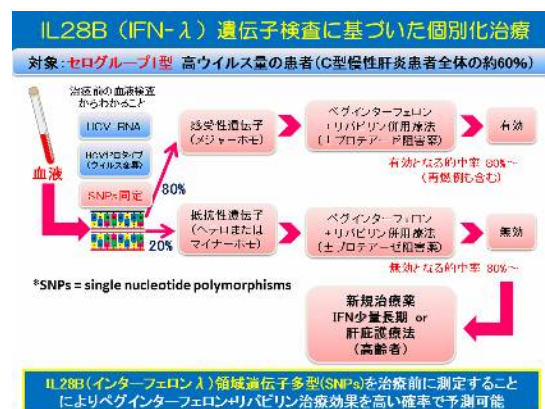
(2) IL28B、ITPA SNP の臨床的意義の検証。

(基礎研究) PEG-IFN α /RBV 併用療法による C 型肝炎治療効果予測因子である IL28B SNPs のメカニズム解明のため、**(1) IL28B 遺伝子発現制御**、**(2) IL28B 機能解析** : HCV 感染患者に対する抗ウイルス効果と獲得免疫が除去されたヒト肝細胞置換キメラマウス HCV 感染モデルの抗ウイルス効果を比較して、肝内自然免疫応答 (IFN 誘導遺伝子 (ISG) や IFN λ) の影響を検討した。

4. 研究成果

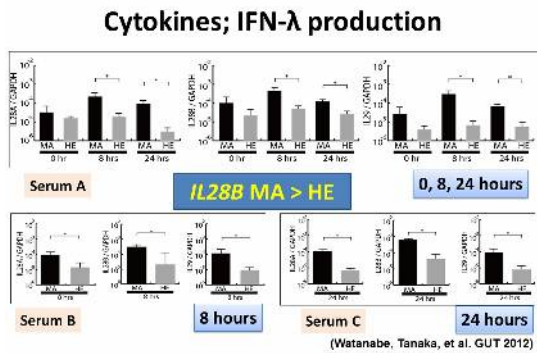
(臨床研究) **(1) 新規SNPsの同定** : ゲノムワイド関連解析により貧血、血小板減少に関連した DDRGK1/ITPA 遺伝子領域 (20番染色体) の SNPs を同定した。PEG-IFN/RBV 併用療法への応答性に関与する IL28B 遺伝子 (rs8099917) 以外 (例外例含む) の遺伝子の探索を行ったが、IL28B SNPs 以外の遺伝要因は同定できなかった。また、HCV 自然治癒に関する遺伝要因について検討した結果、IL28B SNP 及び HLA-DQ が有意な因子として同

定された。**(2) IL28B、ITPA SNP の臨床的意義の検証** : 近年プロテアーゼ阻害剤を含む 3 剤併用療法が標準治療となっているが、皮疹や貧血などの副作用が顕著であるため、治療効果を予測する IL28B 及び貧血を予測する ITPA SNP の結果に基づいて治療を実施した。IL28B 遺伝子検査は先進医療として実施され、C 型肝炎に対する個別化治療は実現した (図)。治療ガイドラインに基づいて、IL28B major type の方に積極的に 3 剤併用療法を導入した結果、約 90% の著効が得られた。



(基礎研究) **(1) IL28B 遺伝子発現制御** : ① IL28B 遺伝子プロモーター領域に存在する SNPs の影響 : (TA)_n のリピート配列が長い場合は転写活性が高く、IL28B 遺伝子発現レベルも高いことがわかった。② エピジェネティック解析及びトランスクリプトーム解析 : IL28 のプロモーター近郊 CpG がインプリンティングによる制御を受けている可能性が示唆された。**(2) IL28B 機能解析** : ヒト肝細胞置換キメラマウス HCV 感染モデルを用いて、抗ウイルス効果及び肝内自然免疫応答の影響を検討した結果、キメラマウスでは肝内 ISG 誘導能は IL28B SNP による差異を認めなかったが、IL28B を含めた IFN λ s 発現量が SNP により異なっていた (図)。したがって、IL28B SNP による C 型肝炎治療効果の差はこの IFN λ 量が Key であると類推され、産生される IFN λ を介した獲得免疫の修飾が HCV 排

除に重要であると考えられた。



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 Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y. (13人中3番目). Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon- α in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut*. 査読有. 2013. 印刷中. <http://gut.bmj.com/content/early/2012/11/06/gut.jnl-2012-302553.full.pdf+html>.
- ② Date T, Tanaka Y. (12人中9番目). Novel cell culture-adapted genotype 2a hepatitis C virus infectious clone J *Virology*. 査読有. 2012. 86(19). 10805-10820. doi:10.1128/JVI.07235-11.
- ③ Kani S, Tanaka Y. (10人中の2人目). Development of new IL28B genotyping method using invader plus assay. *Microbiol Immunol*. 査読有. 2012. 56(5). 318-323. doi:10.1111/j.1348-0421.2012.00439.x.
- ④ Tanaka Y, Kurosaki M, Sugauchi F. (22人中1番目). Genome-wide association study identified ITPA/DDRGGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet*. 査読有. 2011. 20(17). 3507-3516. doi:10.1093/hmg/ddr249.
- ⑤ Afdhal NH, Tanaka Y. (11人中8番目). Hepatitis C pharmacogenetics: state of the art in 2010. *Hepatology*. 査読有. 2011. 53(1). 336-345. doi:10.1002/hep.24052.
- ⑥ Sakamoto N, Tanaka Y. (20人中3番目). Association of IL28B variants with response to pegylated-interferon

alpha plus ribavirin combination therapy reveals intersubgenotypic differences between genotypes 2a and 2b. *J Medical Virology*. 査読有. 2011. 83(5) 871-878. doi:10.1002/jmv.22038.

- ⑦ Sugiyama M, Tanaka Y. (4人中2番目). Novel Findings for the Development of Drug Therapy for Various Liver Diseases: Genetic Variation in IL-28B Is Associated With Response to the Therapy for Chronic Hepatitis C. *J Pharmacol Sci*. 査読有. 2011. 115(3). 263-269. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jphs/115/3/115_10R15FM/_pdf.
- ⑧ Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M. (5人中1番目). lambda-Interferons and the single nucleotide polymorphisms: A milestone to tailor-made therapy for chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 査読有. 2010. 40(5). 449-460. doi:10.1111/j.1872-034X.2010.00671.x.
- ⑨ Kurbanov F, Tanaka Y, Sugauchi F. Positive selection of core 70Q variant genotype 1b hepatitis C virus strains induced by pegylated interferon and ribavirin. *J Infect Dis*. 査読有. 2010. 201(11). 1663-1671. doi:10.1086/652500.
- ⑩ Sakamoto N, Tanaka Y. (15人中2番目). ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon- α and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 査読有. 2010. 40(11). 1063-1071. doi:10.1111/j.1872-034X.2010.00741.x.

[学会発表] (計 31 件)

- ① Tanaka Y. Role of IFN- λ on Antiviral Therapy for Hepatitis C. The 10th JSH Single Topic Conference. 2012年11月21日-2012年11月22日. 京王プラザホテル.
- ② Matsuura K. IL28B genetic variants and serum IP-10 level associated with virological response to PEG-IFN/RBV and PEGIFN/RBV/Telaprevir therapy. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2012年11月09日-2012年11月13日. Hynes Convention Center (アメリカ).
- ③ Tanaka Y. Host Factors Determining the Efficacy of Hepatitis C Treatment in Japan. The 3rd International Forum of the 98th General Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology. 2012年04月20日-2012

- 年04月21日. 京王プラザホテル.
- ④ Tanaka Y. Genetic variation in IL28B in response to interferon/ribavirin therapy. The 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. 2012年2月16日-2012年2月19日. Taipei International Convention Center (台湾).
 - ⑤ Tanaka Y. Host genetic factors on the treatment of chronic hepatitis C. The 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. 2012年2月16日-2012年2月19日. Taipei International Convention Center (台湾).
 - ⑥ Tanaka Y. Host Genetic Factors and Treatment Response of Chronic Hepatitis C. The 21st Conference of the Asian Pacific Association for The Study of the Liver. 2011年2月17日-2011年2月20日. Queen Sirikit National Convention Center (タイ).
 - ⑦ Tanaka Y. Genetic Variation in IL28B is Associated with Response to Interferon Therapy for Chronic Hepatitis C The 7th APASL Single Topic Conference. 2010年11月17日-2010年11月18日. 幕張メッセ.
 - ⑧ Tanaka Y. ITPA Gene Variants Protect Against Anemia Induced By Pegylated Interferon-Alfa and Ribavirin Therapy for Japanese Patients with Chronic Hepatitis C. 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2010年10月30日-2010年11月3日. The Hynes Convention Center (アメリカ).
 - ⑨ Tanaka Y. Genome-Wide Association Study Identifies IL28B Associated With Response to Pegylated Interferon-Alfa and Ribavirin Therapy for Japanese Patients with Chronic Hepatitis C. 45th Annual Meeting of The European Association for The Study of The Liver. 2010年4月14日-2010年4月18日. Reed Messe Wien Exhibition & Congress Center (オーストリア).
 - ⑩ 田中靖人. IL28B遺伝子多型に基づいたC型肝炎に対するテーラーメイド治療の確立. 第46回日本肝臓学会総会. 2010年5月27日-2010年5月28日. ホテルメトロポリタン山形.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 靖人 (TANAKA YASUHIITO)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：90336694

(2) 研究分担者

菅内 文中 (SUGAUCHI FUMINAKA)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：20405161

近藤 豊 (KONDO YUTAKA)

愛知県がんセンター・分子腫瘍学部・室長

研究者番号：00419897

三好 一郎 (MIYOSHI ICHIRO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：10183972

(3) 連携研究者

藤田 尚志 (FUJITA TAKASHI)

京都大学・ウイルス研究所・教授

研究者番号：10156870