

論文内容の要旨

申請者氏名 塚田 裕庸

【背景と目的】

慢性 C 型肝炎の治療には HCV の排除が重要であり、現在抗 HCV 作用を示す治療薬としては I 型 interferon (IFN- α と β) が臨床応用されている。本研究では、IFN 治療効果と関連する患者遺伝因子の同定を目的として、single nucleotide polymorphism (SNP) を遺伝的多型マーカーに用いたケース・コントロール関連解析を行い、IFN シグナル伝達分子の遺伝的多型と IFN 治療効果との関連を検討した。

【方法】

I 型 IFN 受容体下流の JAK-STAT および p38 MAP キナーゼ経路の 13 遺伝子について、HapMap Data Base の日本人 SNP 遺伝子型データおよび Haploview software を用いて、各遺伝子領域上で密接に連鎖する SNP 群の遺伝的多型を代表する tag SNP を合計 116 選定した。さらに、同定された IFN 感受性関連遺伝子の遺伝的多型について、IFN 治療効果に対する機能的意義を Allele Specific Transcript Quantification (ASTQ) 法、reporter gene assay 法および HCV RNA が自律複製する HCV replicon 細胞を用いて検討した。

【結果と考察】

MAPKAPK3 (mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3) の第 2 イントロンに位置する tag SNP rs3792323 (A>T) および rs616589 (G>A) が HCV 遺伝子型 1b 感染患者における慢性 C 型肝炎の IFN 治療効果と関連することを明らかにした。多変量 Logistic 回帰分析の結果、IFN 治療効果との関連は tag SNP rs3792323 に代表され、tag SNP rs3792323 の IFN 抵抗性対立遺伝子 T をもつ場合に非著効となる可能性が 3.4 倍高いと予測された (P 値 0.0011)。MAPKAPK3 遺伝的多型は量的変異を介して IFN 治療効果に影響を与える可能性が高いと考えられる。すなわち、IFN 治療効果と関連する tag SNP rs3792323 (A>T) の対立遺伝子の違いによる MAPKAPK3 高発現が一つの原因となり、IFN 抵抗性となる可能性が示唆された。さらに、IFN- α の抗ウイルス作用に重要な転写制御配列 ISRE および GAS からの転写誘導が MAPKAPK3 高発現により抑制されること、HCV RNA が自律複製する HCV replicon 細胞へ MAPKAPK3 を一過性に過剰発現させた実験から、IFN- α による抗 HCV 作用が減弱されることなどを明らかにした。以上の結果より、MAPKAPK3 の高発現が一つの原因となり、IFN 抵抗性となる可能性が強く支持された。

【結語】

MAPKAPK3 遺伝的多型は慢性 C 型肝炎患者の IFN 治療効果と有意に関連し、治療効果の予測に有用な患者遺伝因子であることが示された。MAPKAPK3 は新規の IFN 感受性関連遺伝子であり、肝臓での発現量の違いを介して治療効果の個人差に関与することが示唆された。本研究は、臨床上の課題である IFN 治療効果の個人差の原因の一つを見出した重要な成果となる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 塚田 裕庸

慢性 C 型肝炎は肝がんへと進行しうる深刻な疾患であり、その治療法の開発は社会的な課題となっている。慢性 C 型肝炎の治療には HCV の排除が重要であり、抗 HCV 作用を示す治療薬としては I 型 interferon (IFN- α と β) のみが臨床応用されている。日本では HCV 遺伝子型 1b の感染患者が約 70% と最も多く、その約 50% の患者では HCV が排除されない。そのため、治療効果の個人差が課題となっている。IFN 治療効果と強く関連する因子として、HCV 遺伝子型と血中 HCV RNA 量が報告されている。しかし、これら因子が類似の患者でも治療効果の個人差が認められるため、患者側因子、特に遺伝因子の影響も大きいと考えられている。

申請者は、IFN 治療効果と関連する患者遺伝因子の同定を目的として、Single Nucleotide Polymorphism (SNP) を遺伝的多型マーカーに用いたケース・コントロール関連解析を行い、IFN シグナル伝達分子の遺伝的多型と IFN 治療効果との関連を検討した。

その結果、MAPKAPK3 (mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3) の第 2 イントロンに位置する tag SNP rs3792323 (A>T) および rs616589 (G>A) が HCV 遺伝子型 1b 感染患者における慢性 C 型肝炎の IFN 治療効果と関連することを明らかにした。MAPKAPK3 遺伝的多型はこれまで報告されている患者側因子 (年齢、性別、肝繊維化) よりも強く IFN 治療効果と関連することを明らかにした。

さらに、IFN 治療効果と関連する tag SNP rs3792323 (A>T) の対立遺伝子の違いが、MAPKAPK3 転写活性の違いと関連する可能性を検討するため ASTQ 法を行った。慢性 C 型肝炎患者の肝生検試料を解析した結果、対立遺伝子 T をもつ患者の肝臓では MAPKAPK3 高発現が一つの原因となり、IFN 抵抗性となる可能性が考えられた。そこで、MAPKAPK3 高発現が IFN- α シグナル伝達に与える影響を検討するための機能解析を行った結果、IFN- α の抗ウイルス作用に重要な転写制御配列 ISRE および GAS からの転写誘導が MAPKAPK3 高発現により抑制されることを明らかにした。さらに、IFN- α の抗 HCV 作用に対する MAPKAPK3 高発現の影響を検討するため、HCV RNA が自律複製する HCV replicon 細胞へ MAPKAPK3 を一過性に過剰発現させた。その結果、IFN- α の抗ウイルス作用に重要な OAS1 および MxA 遺伝子の転写誘導が抑制され、IFN- α による抗 HCV 作用が減弱されることを明らかにした。本研究により、MAPKAPK3 高発現が一つの原因となり、IFN 抵抗性となる可能性が強く支持された。今後、MAPKAPK3 作用機序の詳細な解析により、新しい治療法や治療薬の開発につながる有用な知見が得られることが期待される。

これらの研究成果は慢性 C 型肝炎の治療において見られる個人差を理解する上で大きな手がかりを与えるものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。