

C型慢性肝疾患における宿主側因子(IL28B)と 肝病態の関連性の検討

松岡俊一¹⁾, 森山光彦¹⁾, 田中寅彦²⁾

Analysis of correlation between SNP of IL28B and pathogenesis in chronic hepatitis C

Shunichi MATSUOKA¹⁾, Mitsuhiko MORIYAMA¹⁾, Torahiko TANAKA²⁾

要旨

C型慢性肝疾患患者のIL28βのSNPを検出し、肝組織所見およびPG-IFN+RBV療法の治療効果との関連性について検討した。[対象] 2000年より肝生検ないしはPEG-IFN+RBV併用治療を施行された、C型慢性肝炎・肝硬変・肝癌200例である。IL28β(rs8099917)のSNPの検出はreal time PCRにて行った。【結果】Majorは227例(81.9%)、Minorは54例(46.2%)であった。Gender, Age, F stage間、および検査所見では有意差は認められず、血小板数においてのみMinor群が有意に低値であった。肝組織所見では、steatosisの程度がMinor群で有意に強く認められた。F stage進展年率は、Major群で0.094 stage/year、Minor群で0.051 stage/yearであり、Major群が速い傾向が見られた。IFN治療効果は、Major群がMinor群に比較してHCV駆除率が高い傾向が見られた。【結論】IL28βSNPにより血小板数と肝内のsteatosisに有意に差異が認められた。さらにF stageの進展速度にも差異が見られた。以上より、IL28Bの遺伝子多型はCHCの臨床病態に影響を及ぼしていることが推測された。

1. はじめに

C型慢性肝炎・肝硬変に対する中心的治療法は、ペグインターフェロン(PG-IFN)とリバビリン(RBV)療法である。この治療法は、従来の治療法に比較して大幅なHCV駆除率の向上をもたらしたが、HCV genotype1b型の高ウイルス量例ではHCV駆除率は50%前後である。2009年にほぼ同時期に世界各国より3つのIL28BのSNP(major homo)がこのPG-IFN+RBV併用療法の治療効果を規定することが報告された。IL28B遺伝子は19番染色体長腕に位置し、約1.5kと非常に小さいがその詳細な機能は不明である。このIL28B領域の4つのSNPs(rs8105790, rs11881222, rs8099917 and rs7248668)はPG-IFN+RBV併用療法の無効例に強く関連していた。すなわち、IFNの一種であるIL28B遺伝子及びその遺伝子周辺に存在する遺伝子多型(SNPs)に関して、その危険遺伝子(マイナーアレル)を持つ

HCV患者群は危険遺伝子を持たない(メジャーアレル)患者群に比較して、危険率30倍の確率でPG-IFN+RBV併用療法で無効例であること、さらに無効例はIL28B遺伝子発現レベルが有意に低いことが明らかにされた。最近では、肝線維化進展に関与することが報告されている。しかしながら、このIL28BのSNPが肝病態に与える影響については明らかではない。本研究はC型慢性肝炎ないしは肝硬変患者のIL28BのSNPを検出し、肝組織所見との関連性ないしはPG-IFN+RBV併用療法の治療効果との関連性について検討するものである。本研究を行うことにより、IL28BのSNPがC型慢性肝疾患の病態ないしは生命予後へどのような影響を与えているかについて、一部ではあるが明らかにすることが可能と考えられる。

1) 内科学系消化器肝臓内科学分野

2) 生体機能医学系生化学分野

松岡俊一: Matsuoka.shunichi@nihon-u.ac.jp

2. 対象および方法

対象症例は、2000年より当施設にて肝生検ないしはPG-IFN+RBV併用治療を施行された、C型慢性肝炎ないしは肝硬変・肝癌200例である。尚日本大学医学部倫理委員会にて、すでにIL28BのSNPの検出に関しては承認を得ている。また板橋病院臨床研究審査委員会においてもすでに承認を得ている。

I: IL28BのSNPの検出:

IL28B領域の4つのSNPs (rs8105790, rs11881222, rs8099917 and rs7248668)のうち、比較的日本人のPG-IFN+RBV併用治療効果と関連性が高いとされているrs8099917のSNPを検出する。検出方法は、ABI社にrs8099917のリアルタイムプローブの作製を依頼し、感染症ゲノムセンターにて7500 Fast Real time PCR systemなどの機器にて検出を行う。

II: 肝生検組織所見とIL28BのSNPとの関係:

対象症例を、IL28Bのrs8099917のmajor homo, minor homo, heteroの3群に分類する。次に肝生検組織所見を炎症性細胞浸潤の程度、F stage、肝細胞不規則再生の程度、steatosisの程度などについて検索し、全ての項目をスコア化する。次にこの組織スコアとrs8099917のSNPとの関連性について検討する。さらに解析を進め、IL28BのSNPによる肝組織所見の差異について詳細に検討する。肝組織所見の評価は以下のごとく各項目別にscore化して、Major群 (Major homo), Minor群 (Minor homo, hetero)の2群間で比較検討した。病理学的検索として、肝内炎症反応 [periportal (H1), parenchyma (H2), portal (H3), portal lymphoid reaction (H5)]及び、肝細胞不規則再生 (IR), portal sclerosis (PS), Bile duct Damage (BDD), perivenular fibrosis (PVF), pericellular fibrosis (PCF), Bridging necrosis (BN), steatosis (ST), の程度を0:noneから4:severeの5段階で評価した。

III: PG-IFN+RBV併用治療効果との検討:

1) PG-IFN+RBV併用治療を施行したC型慢性肝炎・肝硬変症例について、rs8099917のSNPと治療効果ないしは合併症の発生との関連性について検討している。本研究を行うことにより、IL28BのSNPがC型慢性肝炎ないしは肝硬変患者の病

態ないしは生命予後へどのような影響を与えているかについて、一部ではあるが明らかにすることが可能と考えられる。また今後肝細胞癌発生との関連性などについても検討することが可能になると思われる。

3. 結果

I: IL28BのSNPの検出:

1) について、real-time PCRを用いてIL28BのSNPの検出を行った。この結果、Majorは227例 (男性134例81.9%), Minorは54例 (男性25例46.2%)であった。

II: 肝生検組織所見とIL28BのSNPとの関係:

1) Gender, Age, F stage間で検討では2群間に有意差は認められなかった。PT, HPT, AST, ALT, γ -GT, ALP, LAP, T-Bil, TP, ALB, ICG15分値はいずれも両者間に有意差は見られなかったが、血小板数においてMinor群がMajor群に比較して有意に低値であった (P=0.0446)。

2) 肝組織所見の評価は以下のごとく各項目別にscore化して、Major群 (Major homo), Minor群 (Minor homo, hetero)の2群間で比較検討した。

この結果では、H1, H2, H3, H5, IR, PS, BDD, PVF, PCF, BNの各群では2群間に有意差は見られなかった。唯一steatosisのみがMajor homo群 (0.8)に比較してminor homo群 (1.328)が、有意に高値を呈した (P=0.0069)。

3) 肝生検施行時のF stageと輸血を受けた時から肝生検施行時までの期間で求めたF stage進展年率は、Major群で0.094 stage/year, Minor群で0.051 stage/yearであり有意差は認められなかったが、Major群で進展率が速い傾向が見られた。

III: PG-IFN+RBV併用治療効果との検討:

現在検討中であるが、IL28 β Major群とMinor群の比較では、Major群がMinor群に比較してHCV駆除率が高い傾向が認められている。臨床背景因子との検討を現在行っている。

4. 考察

IL28 β Major群とMinor群の比較では、血小板数と肝内のsteatosisに有意に差異が認められた。F

stageの進展速度は、Major群がMinor群に比較して速い傾向にあった。以上より、IL28Bの遺伝子多型はCHCの臨床病態に影響を及ぼしていることが推測された。

IL28BのSNPは、C型慢性肝炎および肝硬変のPeg-IFN+RBV治療効果に影響を与えていることや感組織所見に差異を認めていることより、個人の肝病態に影響を与えていることは確実である。今後は、IL28B SNPによる長期予後のうち、肝細胞癌発生の危険因子となりえるのかについて検証を加えたい。

文献

Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105-1109.

Iwasaki Y, Shiratori Y, Hige S, et al. A randomized trial of 24 versus 48 weeks of peginterferon alpha-2a in patients infected with chronic hepatitis C virus genotype 2 or low viral load genotype 1: a multicenter national study in Japan. *Hepato Int* 2009; 3: 468-478.

Stenkvist J, Sönnernborg A, Weiland O. HCV RNA decline in chronic HCV genotype 2 and 3 during standard of care treatment according to IL28B polymorphism. *J Viral Hepat* 2013; 20: 193-199.

F-stage進展年率

n=94

	Major	SD	Minor	SD	P value
Total	0.1084	±0.168	0.0720	±0.079	0.145
F0+F1	0.0856	±0.1807	0.0722	±0.103	
F2+F3	0.1003	±0.0850	0.0718	±0.028	

輸血から生検までの年数

	Major	SD	Minor	SD	P value
Total	29.175	±11.502	31.128	±11.742	0.722
F0+F1	27.014	±11.477	29.984	±10.426	
F2+F3	30.930	±11.154	32.527	±13.038	

	〈Major〉	SD	〈Minor〉	SD	p-value
periportal	2.117	±0.738	1.922	±0.652	p=0.123
parenchyma	2.114	±0.686	2.118	±0.704	p=0.804
Portal lymphoid reaction	2.596	±0.576	2.451	±0.604	p=0.150
lymphoid reaction	2.040	±1.052	1.919	±1.148	p=0.346
portal lymphoid reactionSum	〈Major〉		〈Minor〉	Sum	p-value
リンパ濾胞あり	20 (90.9%)		2 (8.1%)	22	0.271
リンパ濾胞なし	145 (81.4%)		33 (18.6%)	178	
Sum	165 (82.5%)		35 (17.5%)	200	
	〈Major〉	SD	〈Minor〉	SD	p値
F-stage	1.852	±1.011	1.647	±0.925	p=0.1821
Portal sclerosis	0.753	±0.819	0.600	±0.819	p=0.1582
Peri-venular fibrosis	1.238	±1.001	1.256	±1.001	p=0.6637
Peri-cellular fibrosis	1.123	±0.995	1.040	±0.995	p=0.8996
Bridging necrosis	0.063	±0.260	0.020	±0.139	p=0.2575
Steatosis	0.932	±1.036	1.510	±1.089	p=0.0006
Bile duct damage	0.816	±1.001	0.733	±0.748	p=0.3228