

論文内容要旨

Differences in serum microRNA profiles in
hepatitis B and C virus infection.

(B型およびC型肝炎ウイルス感染における
血清マイクロRNA特性の違い)

Journal of Infection, 70: 273-287, 2015.

主指導教員：茶山 一彰教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

副指導教員：坂口 剛正教授

(基礎生命科学部門 ウィルス学)

副指導教員：北台 靖彦准教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

赤松 さくら

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景・目的】不完全二重鎖の DNA ウイルスである B 型肝炎ウイルス (HBV) と一本鎖 RNA ウイルスである C 型肝炎ウイルス (HCV) による慢性感染は、肝硬変や肝不全、肝癌へと移行するリスクを伴う。現在、インターフェロンや核酸アナログ、直接作用型抗ウイルス薬(Direct Acting Antivirals ; DAA)などの抗ウイルス性治療薬の開発が進んでおり、ウイルスを排除できる症例も増えてきた。しかし、特に HBV では HCV に比べてウイルスが排除できる症例は少なく、HCV でも無効や再燃を繰り返す難治性も存在する。そのため、ウイルス感染やそれによる肝細胞障害の有用なバイオマーカーの探索することは臨床および前臨床の場で重要な課題となっている。最近血液中にマイクロ RNA (miRNA) が安定的に存在していることが明らかにされ、バイオマーカーの一つとして注目されている。今回著者は肝炎ウイルス感染患者の血清から得られた miRNA のプロファイリングを行い、バイオマーカーとしての意義の検討を行った。【方法】血清 miRNA のマイクロアレイ解析には、TORAY 3-D アレイシステムを用い、健常者 22 名、HBV 患者 42 名、HCV 患者 30 名の血清 300ul を使用した。マイクロアレイ解析により選ばれた miRNA は定量 RT-PCR により再現性を確認し、その値を元に回帰分析を行った。定量 PCR には、健常者 22 名、HBV 患者 186 名、HCV 患者 107 名の血清 300ul を使用した。【結果】マイクロアレイ解析結果より、HBV および HCV とともに健常者に比べて血清中 miRNA の発現量が増減したものが多数認められ、増加したもののほうが多数認められた。HBV 感染者においては miR-122、miR-99a、miR-125b、miR-720、miR-22、miR-1275 等 16 種類が、HCV 感染者では miR-720、miR-122、miR-1246 等 34 種類が有意に増加していた。HBV 感染で有意に増加していた miR-122、miR-99a、miR-125b、miR-720、miR-22、miR-1275 について定量 RT-PCR で確認を行ったが、マイクロアレイの結果と同様に HBV 感染患者で増加が認められた。定量 PCR の結果を HBeAg 陽性、陰性別に比較すると、miR-1275 を除いたすべての miRNA で HBeAg 陰性患者より HBeAg 陽性患者の方がより発現量が多かった。さらに、HBV DNA、HBsAg、HBeAg、HBeAb、ALT、AST、 γ -GTP の高低に寄与する miRNA について、増加した miRNA との関連を回帰分析により解析したところ、HBV ウイルス量との間に有意な関連が見られたものは miR-122 と miR-125b であった。その他に HBsAg、HBeAg と miR-125b との間に有意な関連が見られ、 γ -GTP と miR-22 と miR-1275 との関連が認められた。Pathway 解析では HBV、HCV 感染により増減した miRNA はともに pathways in cancer に属するものが有意なものとして拾い上げられた。【考察】HCV や HBV 感染により特異的変動する血清 miRNA の存在は、ウイルスの産生、宿主による抗ウイルス防御や病態形成に関与していることを示唆する。今回の研究結果より、血清 miRNA 発現レベルがウイルス肝炎の原因や HBeAg の陽性、陰性による違いを反映している事がわかった。miR-122、miR-125b、miR-199a、miR-210 などの miRNA は、直接 HBV ゲノムのターゲット配列に結合することが報告されており、これらの増加は宿主の防御反応である可能性を示唆している。また miR-199a と miR-210 は、培養細胞中の HBsAg を抑制していることが報告されている。本研究では HBeAg の陰性、陽性によって血中に存在する miRNA のプロファ

イルが異なっていることを明らかにした。このことは宿主の HBV に対する抵抗性が表れてきたことに伴うものである可能性が有り、さらに今後検討する必要があると考えられた。このほかの miRNA の変動についても様々な病態と関連している可能性が高く、さらに解析を進めることにより、病態解析に有用なバイオマーカーとなり得ることが示唆された。