<原 著>

C 型慢性肝炎時から肝癌発生まで経過を追えた C 型肝炎ウイルス
ジェノタイプ 1b のコア蛋白アミノ酸多様性と肝癌発生との関連性進藤 道子^{1)2)*} Ahmed El-Shamy³⁾ 奥野 忠雄¹⁾²⁾ 堀田 博⁴⁾

要旨：C 型肝炎ウイルスによる C 型慢性肝炎から肝癌発生にはウイルス側と宿主側の因子が関与していると考えられる。ウイルス側の因子としてはコア蛋白 70 番目および 91 番目のアミノ酸変異が報告されている。今回我々は、C 型慢性肝炎時より肝癌発生まで平均 7 年以上経過を追えた 49 例の症例と、同時代に経過観察が可能でかつ肝癌を発生しなかった症例 50 例を対象にこれらコア蛋白のアミノ酸多様性の違いを明らかにすると同時に、肝癌発生前後での多様性の変化につき検討した。その結果、コア蛋白 70 番目のアミノ酸変異が肝癌発生に関与しているが、91 番目のアミノ酸は関与していないことが示唆された。また、肝癌発生群にて肝癌発生前後におけるコア蛋白アミノ酸の多様性の変化は少なく、この領域は極めて保存性が高いと考えられた。多変量解析ではコア蛋白 70 番目のアミノ酸 Gln と α フェトプロテイン (AFP) 値が有意に肝癌と関連していた。

索引用語： C型肝炎ウイルス 慢性肝炎 肝癌
コア蛋白70番目および91番目のアミノ酸変異 累積肝癌発生率

緒 言

C 型肝炎ウイルス (HCV) は C 型慢性肝炎、肝硬変、肝癌の原因となることはよく知られている^{1)~3)}。インターフェロン (IFN) を基本とした治療はウイルスを排除し、著効例では劇的に生化学的、組織学的に改善し肝癌のリスクも低下する⁴⁾。しかし、治療に反応しなかった例では炎症が持続し肝硬変、肝癌へ進行する。

IFN に対する反応性には、宿主側の因子では男性、高齢、肝線維化の進展、IL28B の遺伝子変異などが関与し^{5)~8)}、ウイルス側の因子としてコア蛋白 70 番目と 91 番目のアミノ酸変異、及び NS5A の IRRDR (interferon/ribavirin resistance determining region) や ISDR (interferon sensitivity determining region) の変異数などが関与することが報告されている^{9)~12)}。

肝癌発生には、ウイルス側と宿主側の因子が複雑に絡み合っていると考えられる。IFN に対する反応性も肝癌発生に寄与することが報告されており、上記の IFN 反応性に関する因子は肝癌発生にも関与する。少なくとも 10 種類の HCV 蛋白の中でコア蛋白、NS3、NS5A が肝癌発生に関与することが培養細胞系やトランスジェニックマウス等を用いた動物実験系で報告されている¹³⁾。臨床的にはコア蛋白 70 番目、91 番目のアミノ酸変異が肝癌発生に関与しているという報告がなされている^{14)~16)}。

今回我々は、C 型慢性肝炎時から肝癌発生にいたるまで長期間にわたり経過観察可能であり、かつ C 型慢性肝炎時と肝癌発生時点でのペア血清がある症例 49 例を対象に、C 型肝炎ウイルスコア蛋白のアミノ酸がどのように変化するのか、またどのように肝癌発生に関与するのかを、同時代に 10 年以上経過観察可能でかつ肝癌を発生しなかった症例 50 例をコントロールとして比較検討した。

対象および方法

患者

対象は 1988 年から 2003 年の間に明石市立市民病院

1) 明石市立市民病院肝臓内科

2) 医療法人社団奥野消化器内科クリニック

3) Division of Liver Diseases, Mount Sinai School of Medicine, New York, New York, USA

4) 神戸大学大学院医学研究科微生物学分野

*Corresponding author: mokuno@hera.eonet.ne.jp

<受付日2012年6月23日><採択日2012年8月4日>

Table 1 Clinical characteristics studied.

	HCC group	Control	P value
No.	49	50	
Age (y/o)	57 ± 7.0*	56 ± 8.7	0.2465
Sex (M : F)	31 : 18	35 : 14	
ALT (IU/l)	160 ± 80	132 ± 51	0.009
AST (IU/l)	113 ± 62	89 ± 44	0.02
PLT count (×104/uI)	16 ± 2.8	16 ± 2.2	0.7766
AFP (ug/L)	29 ± 33	18 ± 4.6	0.002
Grading score	8.7 ± 0.9	8.3 ± 1.3	0.0454
Staging score	2.4 ± 0.5	2.2 ± 0.5	0.0305
Level of viremia (KIU/ml)	593 ± 112	605 ± 94	0.0914

* Mean ± S.D.

肝臓内科を訪れ、初診時 C 型慢性肝炎と組織学的に診断され、その後肝癌発生するまで平均 6.5 ± 2.9 年 (3-15 年) 経過を追うことができた肝癌症例 (HCC 群) 49 例である。いずれも初診時と肝癌発生時の血清 (ペア血清) が保存されており、下記の解析に用いた。初診時、C 型慢性肝炎と診断され IFN 治療を受ける前の血清サンプルを pre HCC sample とし、肝癌診断時における血清サンプルを post HCC sample とした。HCV のジェノタイプは全例 1b 型であった。コントロール群 (non-HCC 群) として、1988 年から 2003 年の間に当科を訪れ、初診時組織学的に C 型慢性肝炎と診断され 10 年間以上 (10-15 年) 経過を追え、かつ HCC 群 49 例と平均年齢を合わせた 50 例を用いた。いずれも初診時に IFN 治療を受ける前に血清サンプル (non-HCC serum sample) があり、かつ全例 HCV ジェノタイプ 1b 型の症例を選んだ。全ての患者は HCV 抗体、HCV RNA いずれも陽性であり、B 型慢性肝炎、自己免疫性肝炎は除外した。全例、初診時から数カ月以内に IFN 単独療法 (Sumiferon (大日本住友製薬, 東京, 日本), Intron A (MSD, 東京, 日本) を 600-1000 万単位/日、週 3 回投与、6 カ月間) を 1 回のみ受けているが、いずれもウイルス駆除に至った症例はなかった。IFN 治療後は強力ミノファゲンやウルソ、グリチロンの内服を受けていた。患者は経過観察中 2 カ月に 1 回診察に訪れており、血液検査を受け、肝癌の有無を調べるため 6 カ月から 1 年ごとに腹部エコー、CT スキャンを受けていた。

全ての患者から肝生検、血清保存、治療に対する同意書が得られており、明石市立市民病院及び神戸大学大学院医学研究科の倫理委員会にて承認を得た。

HCV コア蛋白 70 番目及び 91 番目のアミノ酸残基の解析

HCV RNA は 140 µl の血清から市販のキット (QIAmp viral RNA kit, QIAGEN, Tokyo, Japan) を用いて抽出し、コア遺伝子領域を RT-PCR 法を用いて増幅し、増幅された cDNA の塩基配列を direct sequence 法にて決定した¹¹⁾。アミノ酸配列は GENETYX Win software version 7.0 (GENETYX Corp., Tokyo, Japan) を用いて決定した。HCV コア蛋白のアミノ酸残基の番号はジェノタイプ 1b のプロトタイプである HCV-J に従った。

統計学的解析

統計学的解析は Student t test, Fisher's exact probability test あるいは Chi square test を用いて行った。単変量解析で <0.1 の因子を選び多変量解析を行った。得られたデータは Log-rank test にて評価した。全ての解析は SPSS version 16 software (SPSS Inc., Chicago, IL) を用いて行った。P < 0.05 を有意とした。

結 果

1) HCC 群と対照 (non-HCC) 群の臨床的特徴

初診時の IFN 治療前の HCC 群及び non-HCC 群の臨床的特徴を比較した (Table 1)。HCC 群の方が有意に ALT 値、AST 値、組織学的 grading, staging 値、AFP 値が高値であった (各々 p = 0.0411, 0.042, 0.0455, 0.0305 と 0.002)。

2) HCC 群と対照 (non-HCC) 群における HCV コア蛋白 70 番目と 91 番目アミノ酸の比較検討

HCC 群と non-HCC 群における HCV コア蛋白 70 番目と 91 番目のアミノ酸を比較検討した (Table 2)。

Table 2 Correlation between core polymorphism and HCC

Factor	Total	HCC	Non-HCC	P value
Mutant core (Gln ⁷⁰ /Met ⁹¹ , Gln ⁷⁰ /Leu ⁹¹ and Arg ⁷⁰ /Met ⁹¹)	49	27 (55%)	22 (45%)	0.4
Wild core (Arg ⁷⁰ /Leu ⁹¹)	48	22 (46%)	26 (54%)	
Gln ⁷⁰	28	21 (75%)	7 (25%)	0.003
Non-Gln ⁷⁰	70	28 (40%)	42 (60%)	
Non-Leu ⁹¹	28	12 (43%)	16 (57%)	0.5
Leu ⁹¹	70	37 (53%)	33 (47%)	

Non-HCC	Cons.	IPKARRPEGRITWAQPGYPWFLYNEGLGWAGW
C-2	Q	A
C-17	Q	A
C-28	Q	A
C-31	Q	A
C-38	Q	A
C-41	Q	A
C-50	Q	A
C-3	P	
C-1		A
C-9		A
C-5	D	ST.KS.GK
C-6		
C-7		
C-8		A
C-9		
C-10		A
C-11	A	
C-12		
C-13	A	
C-14	S	
C-15	A	
C-16		
C-18	V	A
C-19		
C-20		
C-21	S	
C-22	A	
C-23	A	
C-24	A	
C-25	A	
C-26		
C-27		
C-29	A	
C-30		
C-32		
C-33	D	ST.KS.GK
C-35	S	
C-36		
C-37		
C-40		
C-42	A	
C-43		
C-44		
C-45		
C-46	L	
C-47	A	
C-48		
C-49		
C-51		

HCC	Cons.	IPKARRPEGRITWAQPGYPWFLYNEGLGWAGW
2	Q	CA
4	V	OR
5		
6	Q	A
7	Q	A
9	Q	A
17	Q	A
23	Q	A
27	Q	A
28	T	
29	Q	A
31	Q	A
32	Q	A
35	Q	A
36	Q	A
39	V	Q
40	Q	A
41	Q	A
42	Q	A
45	Q	A
46	Q	A
1		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
18	V	A
19		
20	V	A
21		
22		
24		
25		
26	S	
3		
30		
33		
34		
37		
38		
43		
44		
47		
48		
49		
8		

Fig. 1 Comparison in the polymorphism of the core protein of HCV genotype 1b between HCC and the control (non-HCC) groups. Serum samples examined were obtained before IFN treatment in all patients of both groups.

解析した血清は HCC 群, non-HCC 群いずれも, 全て初診時, IFN 治療前のものである. コア蛋白 70 番目のアミノ酸残基は Gln が, また, 91 番目は Met が変異型である.

70 番目と 91 番目の両方あるいはいずれか一方に変異を有するコア蛋白は 49 例に見られたが, そのうちの 27 例 (55%) は HCC 群 に, 22 例 (45%) は non-HCC 群に見られた.

一方, 70 番目のアミノ酸の変異のみに着目すると,

Gln⁷⁰ は 28 例に見られ, そのうちの 21 例 (75%) が HCC 群で見られた. non-HCC 群では Gln⁷⁰ は 7 例 (25%) のみであり, 両群間の違いは有意であった ($p=0.003$).

91 番目のアミノ酸の変異については, Met⁹¹ は 28 例に見られ, そのうちの 12 例 (43%) が HCC 群, 16 例 (57%) が non-HCC 群であり, 両群間に有意差は認められなかった.

個々の症例のコア蛋白の当該領域のアミノ酸配列を Fig.1 に示す.

Cons	IPKARRPEGRTWAQPGYPWPLYGNEGLGWAGWL	Cons	IPKARRPEGRTWAQPGYPWPLYGNEGLGWAGWL
1-1	M.....	25-1	
1-2	M.....	25-2	
2-1	Q.....A.....	26-1	S.....D.....M.....
2-2	Q.....CA.....	26-2	S.....DV.....M.....
4-1	V.....QR.....	27-1	Q.....A.....
4-2	V.....QR.....	27-2	Q.....A.....
5-1	Q.....A.....	28-1	Q.....S.....
5-2	Q.....A.....	28-2	T.....Q.....
6-1	Q.....A.....	29-1	Q.....A.....M.....
6-2	Q.....A.....	29-2	Q.....A.....M.....I.....
7-1	Q.....A.....	30-1	Q.....A.....M.....
7-2	Q.....A.....	30-2	Q.....A.....M.....
8-1	A.....	31-1	Q.....A.....M.....
8-2	A.....	31-2	Q.....A.....M.....
9-1	Q.....A.....	32-1	Q.....A.....
9-2	Q.....A.....	32-2	Q.....A.....
10-1		34-1	A.....
10-2	A.....	34-2	A.....
11-1		35-1	Q.....A.....
11-2		35-2	Q.....A.....
13-1	Q.....D.....	36-1	Q.....A.....M.....
13-2	D.....	36-2	Q.....A.....M.....
14-1	M.....	37-1	A.....
14-2	M.....	37-2	A.....
15-1		38-1	A.....
15-2		38-2	A.....
16-1		39-1	Q.....A.....M.....
16-2		39-2	V.....Q.....A.....V.....M.....R.....
17-1	M.....	40-1	Q.....
17-2	Q.....M.....	40-2	Q.....
19-1	A.....	41-1	Q.....A.....R.....P.....P.....
19-2	A.....	41-2	Q.....A.....R.....P.....P.....
20-1	V.....A.....M.....	42-1	H.....S.....M.....
20-2	V.....A.....M.....	42-2	Q.....A.....
21-1		43-1	A.....
21-2		43-2	A.....
22-1	A.....	44-1	
22-2	A.....	44-2	
23-1	Q.....A.....M.....	45-1	Q.....A.....
23-2	Q.....A.....M.....	45-2	Q.....A.....
24-1		46-1	Q.....A.....
24-2		46-2	Q.....A.....
		47-1	
		47-2	
		48-1	
		48-2	
		49-1	A.....
		49-2	A.....

Fig. 2 Sequence patterns of the HCV core protein at positions 70 and 91 before and after the occurrence of HCC. The number 1 followed by patient number indicates the sample before the occurrence of HCC and the number 2 after the occurrence of HCC. Serum samples before HCC were obtained before the IFN treatment.

上記のように、HCC 群と non-HCC 群で唯一有意差を認めたのは、HCC 群でコア蛋白のアミノ酸残基 70 番目の Gln 変異の頻度が高いということだけであった。そこで、HCC 群のなかで、70 番目のアミノ酸残基が Gln である症例と Arg である症例の臨床的特徴を比較したが、両群間に有意差を認めなかった (data not shown)。

3) HCC 発生前後での HCV コア蛋白 70, 91 番目のアミノ酸残基の変化

HCC 群で、肝臓発生前後のコアアミノ酸残基を比較した (Fig. 2)。患者番号の後の記載されている数字 1 は HCC 発生前の初診時、IFN 治療前の C 型慢性肝炎時点での血清であり、数字 2 は HCC 診断時の血清である。

Table 3 Univariate and multivariate regression analyses to identify factors associated with HCC

Variable	Univariate		Multivariate	
	Odds ratio (95% CI)	P value	Odds ratio (95% CI)	P value
Core-Gln ⁷⁰	0.25 (0.11-0.55)	0.003	6.8 (2.1-23.0)	0.003
AFP (>20 ug/L)	13 (5.2-30.3)	0.002	19.7 (4.9-80.2)	0.001
ALT (>165 IU/L)	4.1 (1.8-8.7)	0.006		
AST (>65 IU/L)	3.9 (1.5-10.0)	0.003		
Fibrosis staging score (≥3)	2.4 (1.1-4.9)	0.02

Fig. 3 Cumulative HCC occurrence rates based on the sequence pattern of the HCV core protein at position 70. In follow up study, the cumulative HCC rates of patients infected with HCV isolates with core protein of Gln⁷⁰ and non-Gln⁷⁰ were compared using the pre HCC samples in the HCC and the control groups at the first visit. All samples were obtained before IFN treatment. The rates were 36% vs 9% at the end of 5 years; 68% vs 36% at the end of 10 years; and 75% vs 41% at the end of 15 years. They were significantly different between the two groups ($P=0.0001$; Log-rank test).

45例のHCC症例で4症例(0.9%)のみに変化が見つかった。患者番号13には2カ所、患者番号17には1カ所、患者番号30には1カ所、患者番号42には3カ所変化が認められた。これらの変化には共通なものや有意なものは認められなかった。

4) 単変量および多変量解析

単変量解析により、HCCと有意の相関を示す因子としてHCVコア蛋白のGln⁷⁰変異、AFP高値、ALT高値、AST高値及び肝の線維化スコアが抽出された(Table 3)。これらについて多変量解析を行ったところ、コア

蛋白のGln⁷⁰変異($p=0.003$)とAFP高値($p=0.001$)が独立してHCCと相関することがわかった。

5) HCVコア蛋白アミノ酸70番目のGln変異に基づく累積肝癌発生率

HCC群において、初診時、IFN治療前の血清サンプルで、コア蛋白アミノ酸70番目がGlnに変異している患者(Gln⁷⁰群)と変異していない患者(non-Gln⁷⁰群)における15年間での累積肝癌発生率を比較検討した(Fig. 3)。5年間の累積肝癌発生頻度はGln⁷⁰群で36%、non-Gln⁷⁰群で9%であり、また10年間の累積肝癌発生頻度はGln⁷⁰群で68%、non-Gln⁷⁰群で36%、15年間では75% vs 41%であった。Glnに変異している患者群で有意に肝癌を発生する頻度が高かった($p=0.0001$; Log-rank test)。

考 察

肝癌発生には宿主側とウイルス側の因子が複雑に絡み合っていると考えられている。HCVジェノタイプ1b、C型慢性肝臓において、コア蛋白が肝癌発生に関与しているとの報告がなされている^{13)~16)18)~20)}。とりわけコア蛋白の70番目と91番目のアミノ酸変異が肝癌発生に寄与しているといわれている^{13)~16)}。今回の我々の研究からもコア蛋白70番目のアミノ酸がGlnに変異していること(Gln⁷⁰)が肝癌発生に有意に関与しているという結果が得られた。しかし、91番目のアミノ酸変異との有意な関連は認められなかった。

Kobayashiら¹⁵⁾は、70番目のアミノ酸が年月を経ると同時にArgからGlnに変化し病変の重篤度を変えるか、あるいは元々これらGlnに変異しているウイルス株が重篤な肝疾患を引き起こすのかは、一時期のみの血清からの測定検査からは結論付けることは難しいと述べている。Nakamotoら¹⁶⁾もまたnon-double-wild typeが肝疾患の重篤度を増幅させ肝癌発生に関与している

ことを示唆しているが、いずれの論文も一時期のみの血清を測定した結果からの結論であり、経過観察の血清検査を必要としている。今回の我々の論文の興味深い点は、まさにこの時間の経過によりアミノ酸変異がおこり肝臓へ移行するのか、元々から重篤度の高い肝疾患を引き起こし肝臓発生に寄与するウイルス株に感染しているのかという問いに対する答えが肝臓発生前後のベア血清の解析によって明らかにされたところにある。即ち、HCV コア蛋白のアミノ酸残基は調べ得た HCC 群では極めて保存性が高く、時間の経過とともに変わりうるものではないことから、むしろ重篤度の高い肝疾患を引き起こし肝臓発生に深く関与するウイルス株に元々感染している可能性が高いことが示唆された。変異を起こした 4 例では IFN 治療によりもたらされた可能性も否定できないが、加藤らにより PegIFN/RBV 治療により、コア蛋白 70 位の変異はおこらないことを示唆することが発表されており、その可能性は極めて低いと考えられる¹⁷⁾。コア蛋白アミノ酸配列の経時的保存性に関しては、今回は HCC 群のみにしかベア血清がないことからコントロール群では調べられていないため、今後の検討が必要であろう。

なぜ HCV コア蛋白の 70 番目のアミノ酸が変化することが肝臓発生に関与するのか、すなわち上記のように単に重篤度の高い肝疾患を引き起こすためだけなのか、あるいは他にも理由があるのかは完全に解明されていない。コア蛋白は Ras 癌遺伝子とともに働きラット胎児を悪性形質転換させると報告されている¹⁸⁾。また、Pavio ら¹⁹⁾はコア蛋白が Smad3 とともに働き、TGF- β 経路を阻害すると報告している。Delihem ら²⁰⁾は、HCC 患者から得られたコア蛋白の 70 番目と 91 番目が non-wild type である場合は肝臓発生に関与する PKR を活性化すると報告している。未だ議論のあるところであり、今後の解明が待たれる。

多変量解析では、調べたウイルス側因子ではコア蛋白 70 番目の Gln のみが有意に HCC 発生に相関していた。また、臨床的には AFP 値が有意差に相関していた。

以上結語として、本研究より、1) HCV コア蛋白のアミノ酸 70 番目の Gln が有意に肝臓発生に相関していたが、91 番目の変異は相関していなかった 2) HCC 群において肝臓発生前後におけるコアアミノ酸残基の変化を調べた結果、極めて保存性が高かった。3) AFP 値は有意に肝臓発生に相関していることが示唆された。

今後、HCC 発生に関与するウイルス因子として、コア蛋白のみならず、その他の領域に関しても同様の解

析が必要と考えられた。

文 献

- 1) Alberti A, Chemello L, Benvegnu L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31: S17—24
- 2) Seef LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S35—S46
- 3) Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995; 21: 570—583
- 4) Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, et al. Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of chronic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. IHIT Study group. Inhibition of hepatocarcinogenesis by interferon therapy. *Ann Intern Med* 1999; 131: 174—181
- 5) Lok AS, Seef LB, Morgan TR, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C related advanced liver disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 138—148
- 6) Ge D, Fellary J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461: 399—401
- 7) 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
- 8) Supplah V, Moldovan N, Athlenstiel G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41: 1100—1104
- 9) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype 1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy. *Intervirology* 2005; 48: 372—380
- 10) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Predictive factors of early and sustained responses to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b: Amino acid substitutions in the core region and low-density lipoprotein cholesterol levels. *J Hepatol* 2007; 46: 403—410
- 11) El-Shamy A, Nagano-Fujii M, Sasase N, et al. Sequence variation in hepatitis C virus nonstructural

- protein 5A clinical outcome of pegylated interferon/ribavirin combination therapy. *Hepatology* 2008; 48: 38—47
- 12) Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996; 334: 77—81
- 13) Banerjee A, Ray RB, Ray R. Oncogenic potential of hepatitis C virus proteins. *Viruses* 2010; 2: 2108—2133
- 14) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2007; 46: 1357—1364
- 15) Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, et al. Influence of amino-acid polymorphism in the core protein on progression of liver disease in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol* 2010; 82: 41—48
- 16) Nakamoto S, Imazeki F, Fukai K, et al. Association between mutations in the core region of hepatitis C virus genotype 1 and hepatocellular carcinoma development. *J Hepatol* 2010; 52: 72—78
- 17) 加藤直也, 李ウエンウエン, 小池和彦. ペグインターフェロン・リバビリン併用療法におけるC型肝炎ウイルスコア蛋白第70番目アミノ酸野生型と変異型のダイナミクスからわかったこと. *肝臓* 2011; 52 (Suppl. 1) : A145
- 18) Ray RB, Lagging LM, Meyer K, et al. Hepatitis C virus core protein cooperates with ras and transforms primary rat embryo fibroblasts to tumorigenic phenotype. *J Virol* 1996; 70: 4438—4443
- 19) Pavo N, Battaglia S, Boucreux D, et al. Hepatitis C virus core variants isolated from liver tumor but not from adjacent non-tumor tissue interact with 5mad3 and inhibit the TGF-beta pathway. *Oncogene* 2005; 24: 6119—6132
- 20) Delhem N, Sabile A, Gajardo R, et al. Activation of the interferon-inducible protein kinase PKR by hepatocellular carcinoma derived-hepatitis C virus core protein. *Oncogene* 2001; 20: 5836—5845

The relationship between the core protein polymorphism and the development of hepatocellular carcinoma in patients chronically infected with hepatitis C virus genotype 1b

Michiko Shindo^{1)2)*}, Ahmed El-Shamy³⁾, Tadao Okuno¹⁾²⁾, Haku Hotta⁴⁾

The aim of this study was to determine whether amino acid residues 70 and 91 of the core protein of hepatitis C virus (HCV) genotype 1b are associated with the development of hepatocellular carcinoma (HCC), and whether this region could change over time with the development of HCC. A total of 49 paired serum samples from patients who had been followed up for more than 7 years from the time of chronic hepatitis C (pre HCC sample) before IFN treatment until the time of the development of HCC (post HCC samples) were examined for mutations in the core protein of HCV. A total of 50 sera from 50 pre-IFN treatment chronic hepatitis C patients who also had been followed up for more than 10 years and did not develop HCC were used as a control.

The incidence of the HCV core protein mutation at position 70 (Gln⁷⁰) was significantly higher in the HCC group than in the control ($p = 0.003$), while the residue at 91 (non-Leu⁹¹) did not significantly differ between the two groups. Sequence patterns of the core protein at positions 70 and 91 did not significantly change over time before and after the occurrence of HCC in the HCC group. The present study suggests that the residue of the HCV core protein at position 70, but not 91, was significantly associated with the development of HCC, and that the residue did not change over time with the development of HCC.

Key words: hepatitis C virus chronic hepatitis C hepatocellular carcinoma
mutation of the HCV core protein at positions 70 and 91 cumulative HCC rates

Kanzo 2012; 53: 541—548

1) Akashi Municipal Hospital

2) Okuno Syoukaki Clinic

3) Division of Liver Diseases, Mount Sinai School of Medicine, New York, New York, USA

4) Division of Microbiology, Kobe University Graduate School of Medicine

*Corresponding author: mokuno@hera.eonet.ne.jp