ウイルス感染と腫瘍

2) C型肝炎と肝発癌

森屋 恭爾¹⁾ 三好 秀征²⁾小池 和彦²⁾**Key words** HCV, 糖脂質代謝, 酸化ストレス, 加齢, 発癌

はじめに

C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus : HCV) はフラビウイルスに属する一本鎖RNA (ribonucleic acid) ウイルスであり, 持続感染者は世界で1億2千万人, 日本では140万人存在すると推定されている. 日本のHCV感染者は年間約3万人の肝細胞癌死亡者の60%以上を占めるとともに, 60歳以上が感染者の約70%以上を占めている. 血液を介した感染経路をとるが, 若年者の感染率が極めて低いことから, 医療におけるHCV感染経路に対する制御が有効であったと考えられる.

HCVゲノムは約6,600塩基対からなり, 構造タンパクをコードするcore env geとNS2 NS3/4 NS5A NS5Bなどウイルス蛋白の切り出しを行うprotease, RNA依存性RNA polymeraseなど非構造タンパクをコードするゲノムからなる (図1). 遺伝子型は1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3bなどからなり, 日本では1bの感染例が最多である.

また, 世界的にも遺伝子型1bが感染者の約半数を占めていると考えられている. 遺伝子型1bはインターフェロン治療抵抗性であるが, 遺伝子型の違いが発癌率の違いをもたらすかの定まったデータは存在しない. HCV感染症の制御はインターフェロン単独投与から始まり, peginterferon ribavirin併用, またpeginterferon, ribavirin, さらにprotease阻害薬 (NS3に作用) により, 治療困難なgenotype1bにおいても70%を超えるSVR (sustained viral response) を獲得するようになり, 現在はprotease inhibitorとNS5Aに作用するdaclatasvirの併用により, NS5A L31Y93変異を認めない場合, genotype1bであっても90%前後のSVR獲得を望めるようになった. このようにHCV感染症の制御も進み, SVR獲得により, 消化管出血, 肝不全, 肝細胞癌を含めた肝臓関連疾患全体の予後改善も報告されている. 一方, SVR獲得後も長期にわたり肝細胞癌発生をみることも, また, 2015年現在, 日本のHCV感染者が高齢者中心であること (図

¹⁾東京大学医学部附属病院感染制御部, ²⁾同 消化器内科

112th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine : Symposium : 2. Viral infection and tumors ; 2) HCV and carcinogenesis. Kyoji Moriya¹⁾, Hideyuki Miyoshi²⁾ and Kazuhiko Koike²⁾ : ¹⁾Department of Infection Prevention and Control, Faculty of Medicine, University of the Tokyo, Japan and ²⁾Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of the Tokyo, Japan.

本講演は, 平成27年4月11日 (土) 京都市・みやこめっせ (京都市勧業館) にて行われた.

図1 HCV 構造

図2 HCV感染者年齢別人数 (文献1より改変)

2)¹⁾, 発癌に年齢が関与することなどから, 今後SVR達成者が増加する中, 長期にわたり肝細胞癌制御を行う必要がある。

1. 発癌

B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus : HBV) は DNA (deoxyribonucleic acid) ウイルスであり, ホストへのウイルスゲノム組み込みが確認されているが, RNAウイルスであるHCVにはホスト

遺伝子への組み込みを認めない。HCVの発癌メカニズムの解析は, 外来ウイルス遺伝子発現蛋白のホスト肝細胞内における作用を解析するという点でtransgenic mouseの系が有効であった。肝細胞癌の制御においては, HCV構造タンパクであるcore遺伝子発現マウスモデルを中心に解析が進み, トランスジェニックマウスモデル, 臨床データからもHCVは肝臓脂肪化, インスリン抵抗性, 肝臓鉄沈着などの代謝変化をもたらすことが明らかになっている。特にミトコンド

リア障害に起因する酸化ストレス増大，加齢に伴う抗酸化系の相対的な減弱が発癌メカニズムに関連することがtransgenic mouse model, 臨床症例研究から示されている。

HCVと代謝

C型肝炎における脂質代謝および糖代謝の変化ならびに発癌と鉄，ミトコンドリアを中心とした活性酸素と発癌の密接な関連が指摘され，代謝の中心作用を持つ肝臓としての発癌機構の特性が注目されている。

HCV core蛋白発現マウスではC型肝炎の病理組織の特徴である脂肪化を経て肝細胞の発生を確認している²⁾。この系ではミトコンドリアの形態異常，肝臓内への過酸化脂質の増加，アルコール付加による過酸化脂質増悪が認められた。HCV発癌では活性酸素が発癌に大きく関与することが示された。

SteatosisはHCV病理三大組織特徴の1つである。HCV coreタンパク発現マウス肝臓ではSREBP1-c(sterol regulatory element-binding protein 1-c)，FAS(fatty acid synthetase)などの脂肪酸合成酵素mRNA増加とともに，肝細胞から脂質を分泌するMTP(microsomal triglycerides transfer protein)活性の低下，ミトコンドリアβ酸化の障害を認め，脂質合成亢進，β酸化低下，肝細胞からの分泌低下によるsteatosis発生機序が示されている。Steatosisという肝臓脂質量の変化のみならず，マウスおよびヒトHCV感染肝臓の中性脂肪構成脂肪酸脂質組成において不飽和度(二重結合数)増加を認めている。SCD-1(stearoyl CoA desaturase)を代表としたdesaturase活性増加の反映であるが，肝細胞癌未分化度およびまた他の癌においてもSCD-1発現増加が報告されている³⁾。VLDL(very low density lipoprotein)として放出する際に必要なMTP(microsomal triglyceride transfer protein)活性をcore蛋白は抑制するともいわれ，これらは全てcore蛋白による肝脂肪化の原因となり得る。

2. インスリン抵抗性との関連

ヒトHCV感染においてインスリン抵抗性，2型糖尿病の関連が示唆されている。また，core遺伝子導入マウスにおいても肝でのインスリン抵抗性が肝脂肪化の起こる前からみられ，インスリン刺激による肝臓糖新生抑制作用が低下している。HCVに感染した肝でのインスリンシグナル伝達の障害を示す結果が報告されている。core遺伝子導入マウスでも同様に，肝でのIRS-1(insulin receptor substrate-1)のチロシンリン酸化障害が認められる。マウスではTNFα(tumor necrosis factor α)抗体投与により，IRS1シグナルの改善が認められる。このTNFαはミトコンドリアから産生されているROS(reactive oxygen species)が産生増大させている機序が考えられる⁴⁾。

Coreマウスにおいて高脂肪食投与により，糖尿病が誘発される。HCV coreによるインスリン糖新生抑制作用の低下が加齢，過栄養により，インスリン抵抗性を増悪させ，糖尿病を誘導することが推定されている。人において糖尿病が肝細胞癌を中心に消化器系発癌リスクを高めることも疫学上報告確認され，肝細胞癌発生機序の中で重要な因子であると考えられる。

3. ウイルス蛋白による酸化ストレス

構造蛋白の1つであるコア蛋白は培養細胞での発現系や遺伝子導入マウスの実験で酸化ストレスを含む様々な作用が報告されている。コア遺伝子導入マウスでは血中ALT(alanine aminotransferase)の上昇，肝炎の組織所見は認められないにもかかわらず，ラジカルの産生増加と肝内カタラーゼ活性増加，肝内抗酸化作用の拮抗を示す結果が認められている。また，加齢とともにコア遺伝子導入マウスの肝内過酸化脂質が対照マウスに比べて増加していることも酸化ストレス亢進を示唆する⁵⁾。

このようにHCVにはウイルス感染による酸化

図3 鉄代謝

HCV coreがmitochondria内への鉄流入を増加し、ROS産生を増加させる。

(Sekine S : Mitochondrial iron accumulation exacerbates hepatic toxicity caused by hepatitis C virus core protein. Toxicol Appl Pharmacol 282: 237-243, 2015)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2014.12.004>

ストレス誘導とは別にウイルス蛋白による直接的な細胞内ROS産生の亢進作用が示されている。HCV core蛋白が直接的に酸化ストレスを誘導するか、その詳細なメカニズムは明らかでないが、ミトコンドリアシャペロンprohibitinの機能変化が示唆されている。Prohibitinはmitochondria DNAにコードされる蛋白のシャペロンとして作用することが知られている。コア蛋白発現レプリコン細胞やトランスジェニックマウスにおいてprohibitin発現増加とcore蛋白との結合が認められている。HCV core蛋白発現下では、ミトコンドリアDNA由来cytochrome C oxidase（電子伝達系複合体IV）subunit蛋白とシャペロンであるprohibitinの相互作用が減弱し、subunit蛋白発現低下とともに、電子伝達複合体IV活性低下が確認された。Core蛋白はprohibitinのシャペロン機能を阻害し、電子伝達系活性阻害とROS産生を直接誘導すると考えられる。また、HCV core蛋白による電子伝達系複合体I活性低下もマウスで確認されている⁶⁾。

4. 鉄代謝と活性酸素

C型慢性肝炎において肝内の鉄過剰が認められる。また、C型肝炎症例に対する瀉血による除鉄療法がウイルス量に影響を与えることなく、血清ALTを有意に改善すること、さらに除鉄療法による肝内8-OHdG（8-hydroxy-2'-deoxyguanosine）を指標とした酸化ストレスの低減が確認されている。インターフェロン療法が困難または無効であった活動性C型慢性肝炎線維化進展例に対して瀉血および鉄制限食を施行し、発癌率の低下も示されている。酸化ストレスとHCV肝発癌との強い関連が示されている。

Sekineはcore蛋白がmitochondria calcium uniporterを介してミトコンドリア内への鉄とり込み増加とFenton反応を介した酸化ストレス増加をHCV coreタンパク発現細胞で示している。また、肝臓内鉄沈着の指標となる血清ferritinの検討により、男性において血清ferritinと発癌の関連を認めている（図3）^{7,8)}。

- Taking home message
- HCV 疫学
 - 新規感染者を抑制
 - HCV感染も制御 (SVR達成率の向上) しつつある
 - しかし, 肝細胞癌の制御は困難
 - HCV 発癌リスク因子
- HCVが引き起こす代謝異常, 特に糖尿病, ミトコンドリア障害, 酸化ストレス, 線維化, 加齢 患者の多くは65歳以上

SVRを達成しても, 発癌因子加齢, 線維化, ミトコンドリア障害 (加齢), 代謝異常 (糖代謝異常) は残存する

長期にわたり, 高齢者, 線維化, 糖尿病を背景に肝発癌を認めることが予想
肝細胞癌早期発見, 治療を継続する必要がある

図4 まとめ

5. 加齢

ミトコンドリア機能低下, 抗酸化系の減弱, インスリン抵抗性発症という側面を有する加齢因子と発癌の関連が強く示唆されている⁹⁾.

おわりに

HCVのコア蛋白質によるインスリン抵抗性, 脂肪肝, そして肝細胞癌を発症するが, マウスモデルではPA28 γ を欠損させると, これらの病態が完全に消失する¹⁰⁾. 最近, PA28 γ がautophagyを抑制することが報告され, 肝発癌とautophagyの関連についての研究も行われている. HCV肝発癌にはHCVに起因する酸化ストレスとミトコンドリア障害の関連が示されている. 性差 (男性), 年齢, 肝臓線維化, 糖代謝異常との関連もHCV発癌に認められる. 加齢そのものに伴い, ミトコンドリア機能は低下, 抗酸化系機能減弱も起きる. 今後, 薬剤によるHCV排除は

90%を超えると期待される. しかし, 今後の日本におけるSVR獲得症例は65歳以上が中心であり, 肝臓の線維化進展例, 糖尿病症例も多く存在する. HCV感染制御により, 肝細胞癌発生は確かに減少が期待できるが, すでに発癌に必要なミトコンドリア障害, 抗酸化系の加齢に伴う減弱, 炎症による線維化, インスリン抵抗性の条件を満たしている患者さんも日本の感染者分布から数多いと言わざるを得ない. したがって, 今後, 肝細胞癌はHCV感染症治療後でありながら, 長期にわたり臨床で直面することが予想される. 「ウイルス排除=肝細胞癌発癌0」という誤解を患者に与えることなく, 今後も長期にわたる超音波, 腫瘍マーカーによる肝細胞癌スクリーニングと糖尿病を含む管理を行う必要がある (図4).

著者のCOI (conflicts of interest) 開示: 森屋恭爾; 寄附金 (MSD)

文献

- 1) Tanaka J, et al : Sex-and age-specific carriers of hepatitis B and C viruses in Japan estimated by the prevalence in the 3,485,648 first-time blood donors during 1995-2000. *Intervirology* 47 : 32-40, 2004.
- 2) Moriya K, et al : The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med* 4 : 1065-1067, 1998.
- 3) Budhu A, et al : Integrated metabolite and gene expression profiles identify lipid biomarkers associated with progression of hepatocellular carcinoma and patient outcomes. *Gastroenterology* 144 : 1066-1075, 2013.
- 4) Shintani Y, et al : Hepatitis C virus infection and diabetes : direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology* 126 : 840-848, 2004.
- 5) Moriya K, et al : Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 61 : 4365-4370, 2001.
- 6) Tsutsumi T, et al : Proteomics analysis of mitochondrial proteins reveals overexpression of a mitochondrial protein chaperon, prohibitin, in cells expressing hepatitis C virus core protein. *Hepatology* 50 : 378-386, 2009.
- 7) Sekine S, et al : Mitochondrial iron accumulation exacerbates hepatic toxicity caused by hepatitis C virus core protein. *Toxicol Appl Pharmacol* 282 : 237-243, 2015.
- 8) Uchino K, et al : Impact of serum ferritin level on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res*, 2015 (Epub ahead of print).
- 9) Asahina Y, et al : Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 52 : 518-527, 2010.
- 10) Moriishi K, et al : Critical role of PA28gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 : 1661-1666, 2007.