

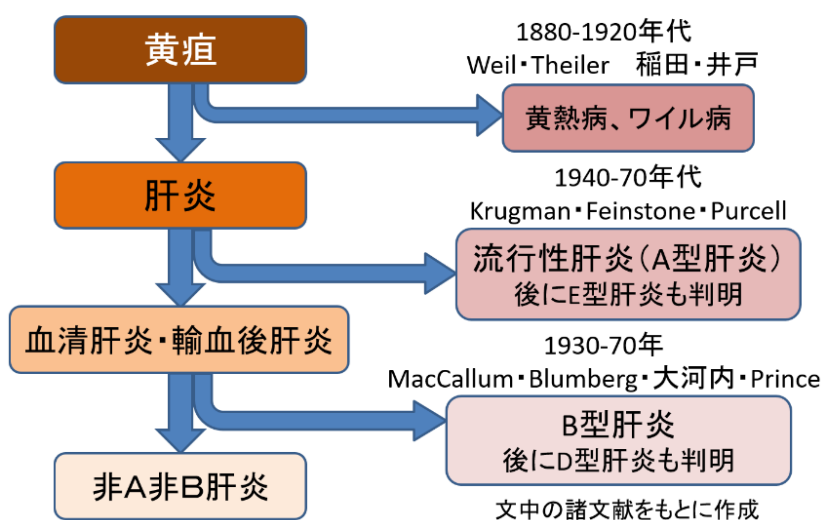
「肝臓内科レター第70号」発行にあたって

飯塚病院肝臓内科 部長 本村 健太

秋も深まり紅葉が美しくなってきました。先生方にはいつも大変お世話になっております。今年のノーベル医学生理学賞は、C型肝炎の発見と治療薬の開発に大きな役割を果たした3人の研究者に授与されました。今回はノーベル賞特集として、このところC型肝炎についてまとめてきた中で、漏れていた部分を含めてもう一度まとめなおしました。

<Harvey J. Alter 博士 「非A非B肝炎」の存在の証明>

「黄疸」から「非A非B肝炎」の疾患概念までの経緯



予防接種は、人類を感染症から守る近現代医学の大きな成果ですが、19世紀の終わりから天然痘や麻疹、黄熱病に対する予防注射後に肝炎の発生が報告され始めました。英国の黄熱病ワクチン製造・開発の責任者 Frederic MacCallum は、予防接種後の肝炎の原因が、ワクチン製造に使用される多数の供血者からのプール血清であることを突き止めました (Proc R Soc Med. 31;799-806:1938, 同 39; 655-7:1946)。そして、感染経路と潜伏期の違いから、水・食事などの経口感染による流行性肝炎を「A型肝炎」、血清か輸血によって生じるものを「B型肝炎」と呼ぶことを提唱しました (Lancet 2;691-692: 1947)。

その後、1965年に米国の Baruch Blumberg と Harvey J. Alter 博士がオーストラリア抗原 (HBs 抗原) を発見し (JAMA 191;541-546:1965)、さらに1973年には、米国の Stephen Feinstone 博士が A型肝炎ウイルスを同定しました (Science 182;1026-28:1973)。

B型肝炎ウイルス発見後、輸血用血液の HBs 抗原検査が開始されても輸血後肝炎の発生が続いたことで別の肝炎ウイルスの存在が明らかになり、Alfred Prince (ニューヨーク血液センター) は、1974年には A型、B型いずれも陰性の輸血後肝炎を報告し「C型肝炎」という用語を初めて使用しました (Lancet 2;241-6:1974)。Blumberg とともにオーストラリア抗原を発見した Alter 博士は NIH (アメリカ国立衛生研究所) で輸血後肝炎の研究を続けており、共同研究者の Robert Purcell 博士らと「非A非B肝炎」を提唱し (NEJM 292;767-70:1975)、「非A非B肝炎」患者の血清と、肝炎の原因の供血者の血清をチンパンジーに接種するといずれも肝炎が起きた事を報告しました (Lancet 1;459-63:1978)。これで「非A非B肝炎」の存在が証明され、このウイルスを特定する研究が始まりました。

<Michael Houghton 博士 C型肝炎ウイルス HCV の発見>

非A非B肝炎ウイルスは、血中のウイルス粒子の数が微量で、それまでのウイルスの分離・培養・同定の方法が通用しませんでした。カイロン社 (バイオ医薬品会社→後にノバルティスにより買収合併) の Michael Houghton

C型肝炎ウイルス同定までの経緯

A型、B型が否定された輸血後肝炎の存在と疾患の提唱
Prince「C型肝炎」 Alter・Purcell 「非A非B肝炎」

ウイルス感染症であることの証明
患者血清のチンパンジーへの感染実験 Alter・Purcell

チンパンジーの感染実験によるウイルスの性質推定
と感染性の高い血液サンプルの確保 Bradley

分子生物学的手法によるウイルスのクローニングと
診断のための抗体検出系の作成 Choo・Kuo・Houghton

臨床症例の保存血清を使用した抗体検出系の検証
Alter・宮村・片山・Choo・Kuo・Houghton

研究者名は敬称略。文中の諸文献をもとに作成

博士の研究チームは、ウイルス本体ではなく、遺伝子を釣り上げる方がうまくいくと考えました。感染したチンパンジーの血漿中の核酸（DNA と RNA）は、大部分はチンパンジー自体の遺伝子由来ですが、ごく一部に未知のウイルス遺伝子を含んでいるはずでした。血漿から核酸を含む分画を超速心で分離して、逆転写酵素で「cDNA ライブラリー（DNA 断片のコレクション＝血漿中の DNA と RNA 断片のすべてを DNA 断片に変換したもの）」を作成し、バクテリオファージを使って大腸菌に cDNA を組み込んでその蛋白を作らせ、患者血清（の抗体）と反応したものを調べる、という手法で 155 塩基対の短い cDNA を釣り上げることに成功しました。そして、

この cDNA を足がかりに、前後の DNA 配列を調べて HCV-RNA の配列を突き止めました (Science 244:359-362:1989)。最初に釣れた配列を含む cDNA 断片から C100 抗原というタンパクを酵母で大量に作り、これを用いた抗 HCV 抗体検出系が作られ、非 A 非 B 肝炎患者の血清から抗体が検出されることが確認されました (Science 244:362-364:1989)。

本年のノーベル医学・生理学賞を受賞した、C型肝炎の存在を示した Alter 博士とウイルスを同定した Houghton 博士は、2000 年にノーベル医学・生理学賞への登竜門と言われる米国のラスカー賞を受賞していました。

<Charles M Rice 博士 治療薬 DAA 開発への貢献>

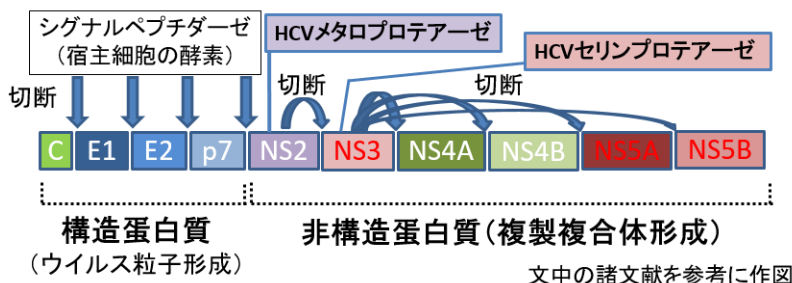
ウイルスが発見され診断もできるようになると、次は治療薬の開発が目標になります。治療薬を作るには、標的となるウイルス増殖に関わるウイルス独自の蛋白（主に酵素）を見つけ出すことと、薬の効果を試す実験系が必要です。

米国の Charles M Rice 博士は、シンドビスウイルスや黄熱病ウイルスなどの RNA ウイルスを cDNA から人工的に作成することに成功し、30 歳代前半にはすでに自分の研究室を持ち、RNA ウイルスの遺伝子の構造やタンパク質の機能などについての有力な研究者になっていました。これらの研究が肝炎ウイルス学の大御所の一人、A 型肝炎ウイルスの発見者 Stephen Feinstone 博士の目にとまり、発見されたばかりの HCV についての共同研究が開始されました。(PNAS 113:13934-13937:2016、

PNAS 108:8541-8543:2011、JCI 126:3639-3644:2016)。

Rice 博士の研究チームは、まず、他のフラビウイルスの研究をもとに、HCV も前駆体蛋白からプロテアーゼ（蛋白切断酵素）によって部品が切り出されることを示し (J Virol 67:1385-1395:1993)、これが後のプロテアーゼ阻害剤開発につ

前駆体蛋白のプロセッシング

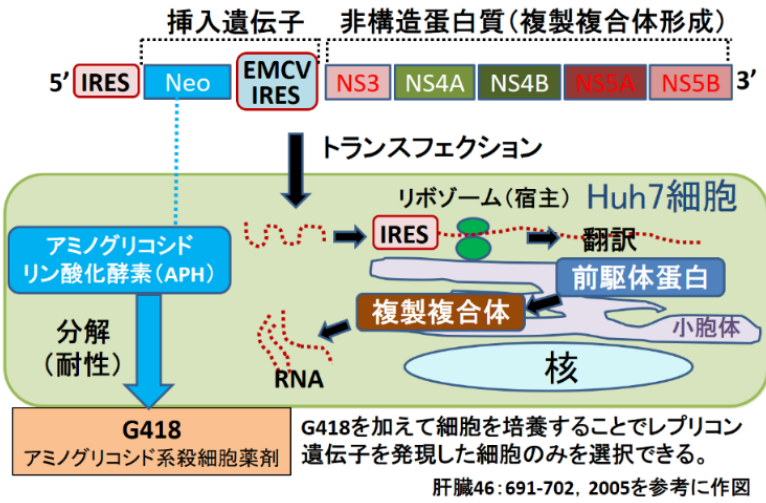


ながっていきました。

他の RNA ウイルスで「レプリコン（培養細胞でのウイルス複製系）」を作成した経験があった彼らは、HCV でも同じことができると考えました。RNA ウイルスは複製時にどんどん変異が入るので、まず適切な遺伝子配列が何かを知る必要があります。そこで、チンパンジー血清から得られた多くの HCV 遺伝子の塩基配列を決定し、そのコンセンサス配列（最も頻繁にみられた配列）をもつ cDNA をつなぎあわせた全長の HCV-cDNA を合成しました。

この過程で、他のフラビウイルスを熟知していた彼らは、それまでに発表されていた HCV の遺伝子配列の 3' 末端側が短すぎることに気づき、この部分をきちんと付け足した cDNA を作成して、そこから作成した RNA をチンパンジーの肝臓に直接接種することで肝炎を発症させることに成功しました (J. Virol 70:3363-3371:1996、Science 277:570-4:1997)。HCV 遺伝子の 3' 末端側に HCV 複製に重要な部分があることを見つけたことと、HCV 感染のみで C 型肝炎が起きることを証明したことはたいへん重要で、理論的には、このウイルスを複製できる培養細胞を見つければ実験系が出来る可能性があることを示していました。

HCVレプリコンRNAの構造とレプリコン実験系略図



その後の研究によって、HCV はわずかな遺伝子配列や感染させる細胞腫の違いで増殖の状況が大きく変わることがわかるのですが、このチンパンジーに感染できた cDNA の株は、培養細胞系では増殖できないものでした (Curr Opin Virol 35:27-34:2019)。そんなわけで、彼らは最初の培養細胞の実験系を作ることはできず、65号で述べたように、ドイツのウイルス学者 Ralf F. W. Bartenschlager 博士 (警察官→法医学研究→ウイルス学という経歴)

のチームが、工夫を凝らした画期的な「HCV レプリコンシステム」を開発しました (Science 285:110-113:1999)。その後 Rice 博士の研究チームはレプリコンの複製効率を大幅に高める研究を行い、多数の DAA の開発につながっていきました (Curr Opin Virol 35:27-34:2019)。

前章の 2010 年の Alter 博士と Houghton 博士のように、Rice 博士と Bartenschlager 博士は 2016 年のラスカー賞を受賞していました。HCV 発見後、HCV レプリコンの作成が現在の DAA 治療への道を開いた最大のブレイクスルーであり、この作成が理論上可能だと示した人 (加えてプロテアーゼ阻害剤開発とレプリコン改良に貢献) と、最初に作成に成功した人、のどちらがノーベル賞受賞かということだったわけです。

いずれにせよ、彼らの研究のおかげでこの地区でも多くの患者さんが救われ、この 5-6 年でわれわれの診療風景が本当に大きく変わりました。今回は、飯塚病院肝臓内科での C 型肝炎ウイルス除去後の発癌についての研究結果です。

	月	火	水	木	金
本村 健太		○/●	○/●	●	
矢田 雅佳		○/●		○/●	●
田中 紘介		●	○/●	●	
栗野 哲史	○		●		●
森田 祐輔	●				○/● (10:30~)
増本 陽秀	●				●

□外来スケジュール 受付時間 (○初診・●再診) 8:00~11:00