

B 型肝炎ウイルス複製におけるエピジェネティクス制御機構の解明と新規治療法の開発

田中康雄

東京大学医学部附属病院 消化器内科

【研究の背景】

B 型肝炎ウイルス(HBV)は一度感染すると完全な駆除が困難であることが知られている。特に現在大きな問題となっているのは「HBV 再活性化」と言われる HBV 既感染者にステロイドなどを用いた免疫抑制療法や抗がん剤による化学療法を施行した場合、HBV が再増殖し致死的な重症肝炎を発症する現象である。この HBV 再活性化の原因は、HBV が免疫学的に排除された既感染者でも肝細胞の核内に HBV の複製の錆型である完全閉鎖二本鎖 DNA[covalently closed circular DNA(cccDNA)]が微量に残存しており、この cccDNA からウイルス増殖が再び活発化するためと考えられている。この cccDNA は従来型の核酸アナログ製剤でも排除困難で、cccDNA の制御及び排除を可能ならしめる新規治療法の開発が現在の B 型肝炎治療の大きな課題となっている¹⁾。

近年この cccDNA が宿主のヒストンタンパクによりクロマチン様構造を呈した状態で核内に安定に存在し、cccDNA からのウイルスゲノムの転写がヒストンのアセチル化などのエピジェネティックな制御を受けていると報告があり注目されている^{2,3)}。エピジェネティクスとは、ヒストン修飾や DNA のメチル化など DNA の塩基配列の変化を伴わない機序で遺伝子発現が調節される機構である。このような転写制御のメカニズムは HBV 以外の DNA ウィルスでは報告されておらず、いまだその制御機構は明らかではない。

【目的】

本研究では、HBV の複製におけるエピジェネティクスの役割、特にヒストンアセチル化に注目し解析を行い、ヒストンアセチル化を誘導する鍵分子を同定し、その阻害剤の効果を検討する。

【方法】

1. HBV DNA を導入したヒト肝癌細胞株 HepG2.2.15 細胞をヒストン脱アセチル化酵素 (Histone deacetylase; HDAC) 阻害剤である Trichostatin-A (TSA) にて刺激し、プレゲノム RNA [pregenomic RNA (pgRNA)] の転写を検討した。さらにウイルス複製時の cccDNA のヒストン H3/H4 のアセチル化状態およびヒストンに誘導されてくるヒストンアセチル基転移酵素 (Histone acetyl transferase; HAT) をクロマチン免疫沈降法 [Chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay] にて解析した。
2. HBV 再活性化を模倣した状態であるデキサメタゾン投与下にて 1. と同様の検討を行った。
3. HAT 阻害剤の cccDNA からの HBV 転写への影響を検討した。

【結 果】

1. TSA は HBV pgRNA の転写を容量依存性に亢進させた。ChIP assay による検討で cccDNA ヒストン H3/H4 のアセチル化の亢進も確認された。
2. デキサメタゾン投与は TSA よりは弱いながらも HBV pgRNA の転写及び cccDNA ヒストン H3/H4 のアセチル化を誘導した。同時にデキサメタゾンは HAT である GCN5、PCAF、CBP を pgRNA の転写が開始されるコア・プロモーター領域へ誘導した。
3. HAT 阻害剤である CPTH2(GCN5 阻害剤)、Garcinol(PCAF/p300 阻害剤)、C646(p300/CBP 阻害剤) のうち、CPTH2 はデキサメタゾンにより誘導された HBV 転写を減弱させた。

【考 察】

cccDNA のヒストンアセチル化により HBV pgRNA の転写が誘導され、複製が亢進した。さらにデキサメタゾンにより誘導される HBV 複製にも HAT の分子群、特に GCN5 によるエピジェネティックな機序が関与しており、GCN5 阻害剤による HBV 増殖抑制の可能性が示された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

従来の薬剤は HBV の逆転写酵素を標的にしてきた薬剤のみで、耐性株の出現が大きな問題であった。

本研究により、HBV 増殖抑制におけるエピジェネティクス制御化合物の有効性が見いだされ、HBV 再活性化治療にも有効な可能性が考えられた。

今後は本研究をもとにエピジェネティック制御機構を利用した新規抗ウイルス療法の開発を目指したい。

【参考・引用文献】

1. Lucifora J et al. Attacking hepatitis B virus cccDNA-The holy grail to hepatitis B cure. *J Hepatol*, 2016; 64:S41-8.
2. Pollicino T et al. Hepatitis B virus replication is regulated by the acetylation status of hepatitis B virus cccDNA-bound H3 and H4 histones. *Gastroenterology*, 2006;130:823-37.
3. Koumbi L et al. The Epigenetic Control of Hepatitis B Virus Modulates the Outcome of Infection. *Front Microbiol*, 2015;6:1491.