

令和 5年 9月 15日

## C型肝炎患者における肝臓への鉄沈着の分子機構を解明

### <研究成果のポイント>

- C型肝炎ウイルス（HCV）感染によって引き起こされる病態の一つに肝組織の鉄蓄積が知られていますが、HCV感染がなぜ鉄蓄積につながるのかは十分解明されていませんでした。
- 今回、C型肝炎ウイルス感染による鉄蓄積の原因となる小胞体ストレスによる hepcidin 誘導と NS3-4A プロテアーゼの重要な役割を発見しました。
- 肝臓への鉄の異常蓄積は肝不全や肝がんの発症リスクの一つであることから、この研究成果は肝臓病に対する新たな治療法の開発につながることで期待されます。

※本研究成果は、国際学術誌「PLOS Pathogens」に日本時間 8月16日に発表されました。

### <概要>

C型肝炎ウイルス（HCV）感染によって引き起こされる病態の一つに肝組織の鉄蓄積が知られていますが、HCV感染がなぜ鉄蓄積につながるのかは十分解明されていませんでした。浜松医科大学微生物学・免疫学講座（鈴木哲朗教授）らの研究グループは、C型肝炎患者における肝臓への鉄沈着に関わる以下の2つの分子機構を明らかにしました。

1) HCVタンパク質が小胞体ストレスを誘導することが起点となって転写因子 CREBH が活性化されることにより鉄代謝調節ホルモン、ヘプシジン（hepcidin）<sup>\*1</sup>の遺伝子発現が上昇する。hepcidinは鉄イオン排出タンパク質、フェロポーチン（FPN1）<sup>\*2</sup>との結合により FPN1 を分解へ誘導するため、hepcidin 発現の上昇は FPN1 レベルを低下させ細胞からの鉄排出が抑制される。

2) HCVの前駆体タンパク質の切断に働くセリンプロテアーゼ NS3-4A<sup>\*3</sup>が、FPN1の中央部分を切断し、FPN1機能を低下、失活させることにより鉄イオン排出が抑制される。肝臓への鉄の異常蓄積は肝不全や肝がんの発症リスクの一つであることから、この研究成果は肝臓病に対する新たな治療法の開発につながることで期待されます。

本成果は2023年8月16日に PLOS Pathogens にオンライン掲載されました。

### <研究の背景>

C型肝炎ウイルスは1989年に発見された1本鎖RNAウイルスで、肝臓への慢性感染により肝硬変や肝細胞癌の原因となります。C型肝炎患者における鉄代謝異常、肝臓への鉄沈着は広く知られており、過剰な鉄、特に鉄(II)イオンは細胞内の活性酸素種(reactive oxygen species; ROS)の産生に深く関与し、フェントン反応によって生じたヒドロキシラジカルは脂質過酸化やDNA傷害を引き起こすことが分かっています。しかしながら、その詳細な分子機構については十分に解明されていません。本研究は未だ十分に明らかにされていないHCV感染に起因する鉄代謝異常の分子機構の解明を目的として進められました。

### <研究手法・成果>

HCV感染細胞およびHCV core-NS2蛋白発現細胞では hepcidin mRNA 発現上昇がみられました(図1A)。この hepcidin 転写誘導において、転写因子 CREBH が hepcidin プロモーターだけでなく BMP6 プロモーターにも結合し(図1B)、BMP6 を介した hepcidin の誘導経路を新たに見出しました。HCV感染細胞では hepcidin 発現亢進により FPN1 蛋白分解促進がみられます

が、HCV 感染細胞および NS3-4A プロテアーゼ発現細胞において FPN1 の部分断片が hepcidin 非依存的に検出されることを見出しました(図 2A)。さらにこの FPN1 断片が NS3-4A プロテアーゼによって切断されたものあることを N 末端アミノ酸解析により明らかにし、FPN1 の切断によって細胞内鉄量の増加がみられた(図 2B)ことから FPN1 の鉄輸送能が失活したと考えられた。ヒトとマウスの FPN1 は相同性が高く、ヒトおよびマウス FPN1 に NS3-4A プロテアーゼの認識配列が共通して存在する(図 2C)。マウス肝臓への HCV Core-NS2 と NS3-4A の発現によりそれぞれ hepcidin の誘導(図 3A)と FPN1 の切断(図 3C)がみられ、肝臓にはベルリンブルー染色で陽性となる鉄沈着が確認されたが、Core-NS2 及び NS3-4A の共発現によりさらに鉄沈着量が増加することを見出した(図 3C)。

### <今後の展開>

本研究では C 型肝炎ウイルス感染による鉄蓄積の原因となる小胞体ストレスによる hepcidin 誘導と NS3-4A プロテアーゼの重要な役割を発見しました。C 型肝炎に対する抗ウイルス療法の治療成績は 2014 年に直接作用型抗ウイルス薬の登場により飛躍的に向上しました。しかしながら、ウイルス排除後も病勢の進行や肝発癌に至る症例が散見され、未だに多くの問題を抱えています。今後の研究で鉄蓄積が肝不全および肝発癌に寄与する分子機構が解明されることが期待されます。

### <用語解説>

- \*1 hepcidin:主に肝臓で産生されるペプチドホルモンで細胞表面の FPN1 に結合することで FPN1 の分解に働きます。FPN1 とともに鉄代謝の恒常性を重要な役割を果たしています。
- \*2 FPN1: 肝細胞や腸管上皮細胞、マクロファージなどに存在する鉄輸送膜蛋白です。細胞外に鉄を放出する働きにより鉄の吸収・貯蔵・再利用に働いています。
- \*3 HCV NS3-4A プロテアーゼ: ウイルス蛋白のプロセッシングや RNA 複製に関与しています。ウイルス蛋白だけでなく宿主の蛋白も切断することがわかっています。

### <発表雑誌>

PLoS Pathogens (DOI: 10.1371/journal.ppat.1011591)

### <論文タイトル>

Role of hepcidin upregulation and proteolytic cleavage of ferroportin 1 in hepatitis C virus-induced iron accumulation

### <著者>

太田和義、伊藤昌彦、千田剛士、中島謙治、酒井聡、鐘ヶ江裕美、河崎秀陽、青島拓也、高林秀次、高橋宏隆、川田一仁、勝二郁夫、澤崎達也、須田隆文、鈴木哲朗

### <研究グループ>

浜松医科大学微生物学・免疫学講座、内科学第二講座、地域医療支援学講座、分子生物学講座、光先端医学教育研究センターナノスーツ開発研究部、同センター 医用動物資源支援部、東京慈恵会医科大学基盤研究施設、愛媛大学プロテオサイエンスセンター、神戸大学大学院医学研究科附属感染症センター

### <研究支援>

本研究は国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) JP23fk0210086h0003、JP22fk0210086h0002、JP21fk0210086h0001、JP21fk0210090s0301、JP21fk0210066h0102、JP21fk0108123h0702、JP21fk0210053h0403、JP21fk0310103h0805、JP21fk0310104s0705、JP20fk0210040s0803、科研費 JP18H02661 (鈴木哲朗)、浜松医科大学大学院生研究支援事業 42351E(太田和義)の助成を受けたものです。

<本件に関するお問い合わせ先>

国立大学法人 浜松医科大学微生物学・免疫学講座教授 鈴木哲朗

Tel: 053-435-2336、FAX: 053-435-2337

E-mail: tesuzuki@hama-med.ac.jp

<参考図>

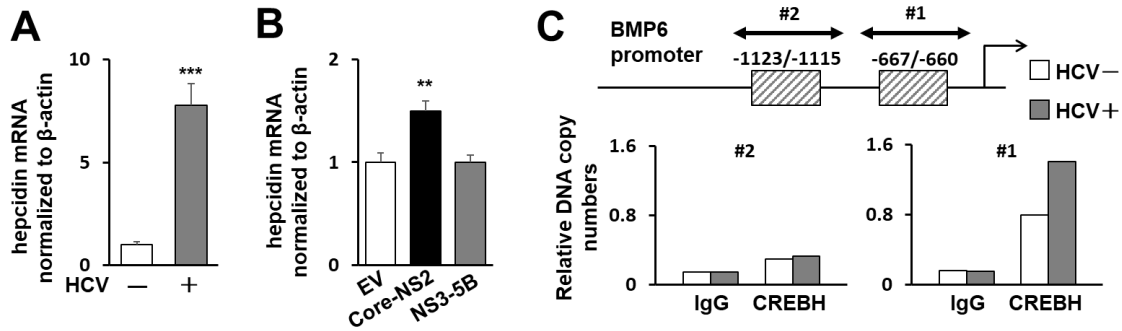


図1. (A) HCV感染・非感染細胞のhepcidin mRNAの比較(RT-qPCR法). (B) コントロール(EV)細胞、HCV core-NS2発現細胞、HCV NS3-5B蛋白発現細胞のhepcidin mRNAの比較(RT-qPCR法). (C) HCV感染・非感染細胞のBMP6プロモーターへの転写因子CREBHの結合量の比較(クロマチン免疫沈降法). Student's *t* test; \*\**P*<0.01, \*\*\**P*<0.001.

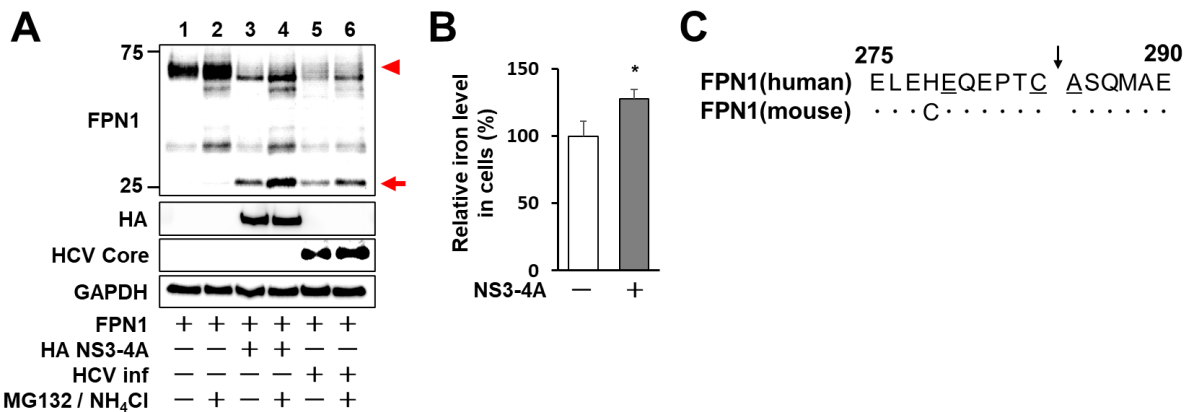


図2. (A) HCV感染細胞、HCV NS3-4A発現細胞でのFPN1蛋白(赤矢頭)、FPN1断片(赤矢印)(Western blot法). (B) HCV NS3-4A発現・非発現細胞での細胞内鉄量の比較(メタロアッセイ法). (C) ヒトおよびマウスFPN1の切断配列近傍のFPN1アミノ酸配列の比較. Student's *t* test; \**P*<0.05.

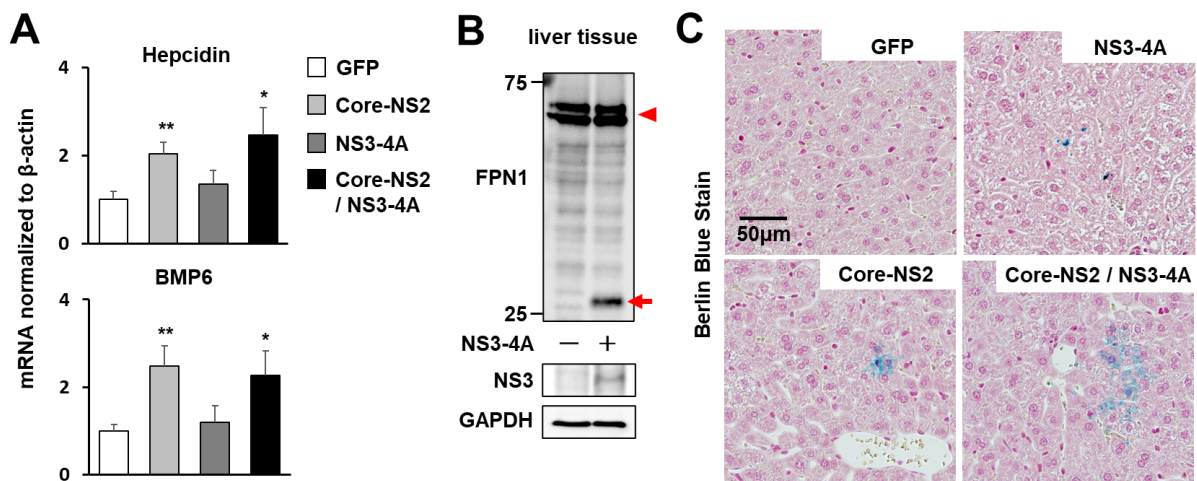


図3. (A)HCV core-NS2蛋白、HCV NS3-4A蛋白、HCV core-NS2 + NS3-4A蛋白発現マウス肝臓におけるhepcidin、BMP 6 mRNAの比較(RT-qPCR法)(B) HCV NS3-4A蛋白発現マウス肝臓におけるFPN1蛋白(赤矢頭)、切断FPN1蛋白(赤矢印). (C)(A)のマウス肝組織のベルリンブルー染色画像. Student's *t* test; \**P*<0.05, \*\**P*<0.01.