

最新のトピックス

薬物性肝障害の新規バイオマーカーとしてのマイクロRNA

信州大学医学部附属病院薬剤部

山折大

I はじめに

薬物性肝障害は、临床上最も頻繁に起こる副作用の1つであり、多くの場合、速やかな被疑薬の休薬により回復が期待される。一方稀ではあるが、重症化し肝移植などによる救命が必要となる事例もあり、予測不可能であるため临床上大きな問題となっている。また、薬物性肝障害は医薬品の開発や販売の中止に至る主な原因の1つともなっている。そのため、薬物性肝障害の有用なバイオマーカーの開発は、臨床および前臨床の場で重要な課題となっている。従来の肝障害バイオマーカーは、偽陽性/偽陰性の発生頻度が無視できなかったり、感度や組織特異性が低く、これらのことがバイオマーカー利用の信頼性を低下させる原因となっている。近年、末梢血中の肝特異的 mRNA やマイクロRNA (miRNA) が既存のマーカーに比べて組織特異性が高く、高感度なマーカーとして注目されている。ここでは、薬物性肝障害の新規バイオマーカーとして期待されている肝特異的 miRNA の有用性について紹介する。

II マイクロRNA

miRNA は、タンパク質をコードしない22塩基程度の一本鎖 RNA であり、標的 mRNA の主に3'非翻訳領域に部分相補的に結合し、分解または翻訳を抑制することにより、タンパク質の発現を負に制御することが知られている。miRNA は発生、分化、増殖、免疫、細胞死、恒常性などあらゆる生命現象に関与している。現在までにヒトでは約1,500種類の miRNA が同定されている。多くの miRNA が様々な組織に広く分布しているが、いくつかの miRNA は組織特異性の高いものが知られている。肝臓は多種類の miRNA を発現しており、なかでも miR-122は最も存在量の多い miRNA で成人肝の全 miRNA の約70%を占める。miR-122は多機能性の miRNA で代謝やストレス応

答に関わる多くの標的 mRNA と相互作用する。

III 薬物性肝障害とマイクロRNA

最近、miR-122と別の肝特異的 miRNA である miR-192の血液バイオマーカーとしての有用性が、解熱鎮痛薬であるアセトアミノフェン (APAP) 誘発性肝障害のモデルマウスで立証されている¹⁾。これを受けて、Starkey Lewis ら²⁾は、ヒトの APAP 誘発性肝障害のバイオマーカーとして、これら肝特異的 miRNA が有用であるか否かについて評価している。

A 肝特異的 miRNA はヒトの APAP 誘発性肝障害発症後の血清中で上昇するか？

APAP 誘発性肝障害の患者群では、血清 ALT 活性と同様に、miR-122と miR-192の血清レベルはともに健常人に比べて有意に高いことが示された (図1)。また、APAP と無関係の肝障害 (ウイルス性や自己免疫性の肝炎、悪性病変など) 患者群では miR-122のみが健常人よりも有意に高かった。つまり、miR-122は miR-192とは対照的に、肝炎や悪性病変を含む複数の型の肝障害が発症した後に末梢血中で有意に高くなることから、miR-122は miR-192よりも優れた診断ポテンシャルを持つことが示唆される。一方、心臓特異的 miR-1の血清レベルは、どちらの肝障害患者群でも健常人との差異は見られなかった。また、APAP を過量投与しても肝障害に至らなかった患者群では、miR-122と miR-192の血清レベルはともに健常人と同じレベルであった。慢性腎疾患患者群における miR-122と miR-192の血清レベルは、健常人と比べてわずかに高いものの、APAP 誘発性肝障害の患者群ほど高いものではなく、さらに血清 ALT 活性は健常人と変わらなかった。ALT の産生臓器は主に肝臓であるが、その分子種は筋肉など他の組織にも存在する。Zhang ら³⁾は血清 ALT 活性が多発性筋炎患者で、また運動によって誘発された筋肉ダメージ後により高くなるが、miR-122の上昇は伴わな

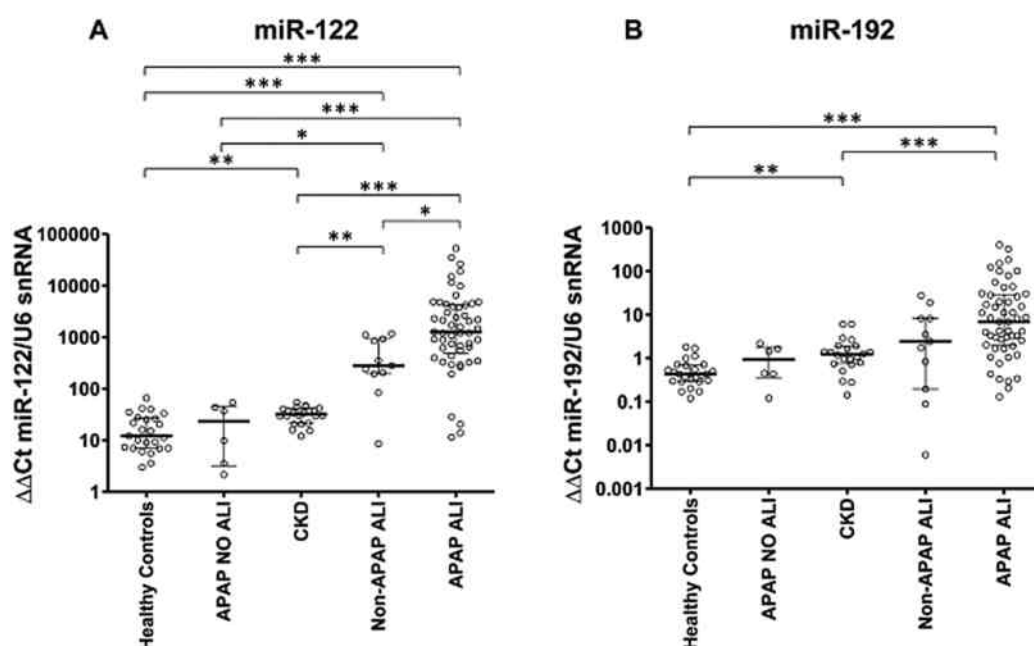


Fig. 2. Circulating liver-enriched miR-122 and miR-192 species are significantly higher in patients with APAP ALI. Relative dynamic ranges of two liver-enriched miRNA species were evaluated in human serum or plasma in grouped controls (n = 25), APAP no AU patients (n = 6), CKD patients (n = 22), non-APAP AU patients (n = 11), and APAP AU patients (n = 53). Panels show the relative levels of circulating (A) miR-122 and (B) miR-192 across six cohorts. Bars represent the interquartile range (25th, 75th percentiles) from the median (horizontal line). The miR-122 group medians (25th, 75th percentiles) are 12.13 (6.99, 26.91), 23.21 (3.192, 45.95), 32.03 (21.14, 40.86), 279.2 (194.7, 922.9), and 1,265 (491.3, 4,270) for healthy controls, APAP no AU, CKD, non-APAP AU, and APAP-induced AU groups, respectively. The miR-192 medians (25th, 75th percentiles) are 0.4350 (0.295, 0.694), 0.941 (0.359, 1.784), 1.230 (0.741, 1.912), 2.420 (0.196, 8.225), and 6.940 (1.96, 29.16) for healthy controls, APAP no AU, CKD, non-APAP ALI, and APAP ALI groups, respectively. ***P < 0.001; **P < 0.01; *P < 0.05 (Kruskal-Wallis multiple-comparison test).

図1 APAP 誘発性肝障害における肝特異的 miRNA の血清レベル
ALI: 急性肝障害, CKD; 慢性腎疾患
(Starkey Lewis らの論文より抜粋)

いことを報告している。ALT の組織特異性を考慮すると、血清ALT活性の上昇だけでは肝障害のマーカーとして不十分な場合があることが分かる。

B 肝特異的 miRNA はヒトにおいて既存のバイオマーカーと相関するか？

APAP 誘発性肝障害の患者群 (n = 53) において、miR-122の血清レベルは血清 ALT 活性のピーク値と有意に相関したが (Pearson R = 0.46, P = 0.0005), miR-192は相関しなかった (Pearson R = 0.19, P = 0.16)。一方、血清 miR-122レベルは、急性肝不全の臨床マーカーであるプロトロンビン時間 (Pearson R = 0.13, P = 0.37) や血清総ビリルビン値 (Pearson R = 0.10, P = 0.48) との間では有意な相関は見られなかった。このことから、miR-122の末梢血への逸脱は急性肝障害発症時の肝臓の凝固因子産生阻止またはヘム代謝の攪乱によるものではなく、それより初期のイベントである可能性が考えられる。また、miR-122は腎機能の標準マーカーである血清クレアチニンレベル (Pearson R = -0.16, P = 0.26) とも相関し

なかった。心臓特異的な miR-1レベルは血清ALTピーク値を含めどのマーカーとも相関しなかったことから、薬物性肝障害が末梢血中の miRNA 量に非特異的な上昇を誘発しないことが示唆される。

C 肝特異的 miRNA は薬物性肝障害の予後を予測できるか？

現在の肝障害バイオマーカーは予後を予測することはできないが、miR-122ではどうだろうか。研究開始1日目に採取した血清試料で miRNA レベルを測定したところ、APAP 誘発性肝障害の患者群の中で、肝移植の実施を判断する King's College Criteria を満たす患者の血清 ALT 活性 (6123 ± 694 U/L) は、基準を満たさない患者に比べてわずかに11.4%高いだけであったが、miR-122レベル (ΔΔCt 6848 ± 3144) は96.3%も高かった。また、予後不良 (死亡または移植を必要とするもの) の患者におけるALT活性 (5863 ± 890 U/L) は、回復した患者に比べてわずか3.5%高いのに対して、miR-122レベル (ΔΔCt 7522 ± 3966) は110%も高かった。しかし、いずれの群も

有意差はなかった。現時点では、miR-122レベルの程度でこれらの予後を確実に予測することは困難であるようだが、少なくともmiR-122の方が血清ALT活性よりも予測性があることは間違いないと思われる。

IV おわりに

以上の結果より、肝特異的なmiR-122の血清レベルはAPAP誘発性肝障害を含めた種々の急性肝障害患者群で有意に上昇し、また薬物性肝障害の既存のバイオマーカーとも相関することが初めて示された。この結果は、末梢血中の肝由来miRNAがヒトの肝障

害を検出し診断するバイオマーカーとして新しく加わる可能性を示唆する。今後の課題として、細胞内miRNAの逸脱機構やその逸脱が障害応答における機能的で適応性のある役割をもつのかどうかを明らかにすること、miR-122が前向き臨床試験や肝疾患の他の病因をもつ実際の臨床現場で、既存の薬物性肝障害のバイオマーカーを凌ぐ臨床診断的価値を見出せるか否かを決定することなどが挙げられる。末梢血中のmiRNAは肝障害以外にも100種類以上の疾患について診断バイオマーカーになる可能性が報告されていることから、今後の進展が期待される。

文 献

- 1) Wang K, Zhang S, Marzolf B, Troisch P, Brightman A, Hu Z, Hood LE, Galas DJ: Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 4402-4407, 2009
- 2) Starkey Lewis PJ, Dear J, Platt V, Simpson KJ, Craig DG, Antoine DJ, French NS, Dhaun N, Webb DJ, Costello EM, Neoptolemos JP, Moggs J, Goldring CE, Park BK: Circulating microRNAs as potential markers of human drug-induced liver injury. *Hepatology* 54: 1767-1776, 2011
- 3) Zhang Y, Jia Y, Zheng R, Guo Y, Wang Y, Guo H, Fei M, Sun S: Plasma microRNA-122 as a biomarker for viral-, alcohol-, and chemical-related hepatic diseases. *Clin Chem* 56: 1830-1838, 2010