

薬剤性肝障害のバイオマーカー

Biomarkers for drug-induced liver injury

梶淵 泰宏

Yasuhiro MASUBUCHI

薬剤性肝障害 (DILI) は医薬品の重大な副作用の一つであり、その回避は適正な薬物療法の実現のために必須な課題である。特に、特定の患者で発症する特異体質性のDILIは予測が難しいため、早期に検出し、重症化を防ぐためのバイオマーカーが求められている。臨床検査値として長く用いられている血清トランスアミラーゼが、代表的なDILIのバイオマーカーと言えるが、細胞膜傷害を検出するという機序、肝臓特異性、予後の予測性といった様々な面で理想的でない点も多い。そのため近年、様々なアプローチからの新たなDILIバイオマーカーが開発あるいは提唱されている。これらには、細胞死に関わる代表的なタンパク質HMGB1、マイクロRNA、グルタチオン生合成の副産物である γ -グルタミルジペプチド、Th17型サイトカインなどが含まれる。いずれのバイオマーカーもトランスアミラーゼを凌ぐ点も持ち合わせているものの、完全な実用化に向けてはハードルも少なくない。一方、バイオマーカーの機序を探って行く中でDILIの新たな発症過程が見出されるといった進歩も見られる。単独のバイオマーカーが、臨床現場のすべてのニーズを満たすことは難しいので、個々のバイオマーカーの利点を生かした実用化が望まれる。

1. はじめに

バイオマーカー(生物学的指標)は、古くから知られている概念であるが、近年、その重要性が再認識されている。米国食品医薬品局(FDA)は、バイオマーカーを「正常な生物学的過程、疾患の発症過程、あるいは治療による薬理学的な反応の指標として客観的に測定が可能な特性値」と定義しており¹⁾、広く「身体の状態を表す定量的指標」を表すと言える。広く知られているバイオマーカーとして、日常的に診療に用いられている臨床検査値や、その中でも、がん検診に用いられる腫瘍マーカーなどが挙げられ、測定対象としては主に血液中や尿に含まれるタンパク質、ペプチド、DNA、RNAや生体由来の代謝物などの物質であるが、血圧などのバイタルサインやMRIなどの画像診断データもバイオマーカーに含まれる。このような測定対象による分類に加えて、バ

イオマーカーはその目的、用途に応じて分類される。例えば日常診療で用いられる臨床検査値のようなバイオマーカーは、疾患を診断し、それに対する治療の効果を測定する診断マーカーに位置づけられる。一方、医薬品開発においても薬力学マーカーや安全性マーカーといった様々なバイオマーカーが利用され、特に、臨床試験における真のエンドポイントを代替し、有効性を確認するためのサロゲートマーカー(代替マーカー)の開発が臨床試験の効率化に必須であるとの認識が高まっている。また、医薬品の効果に関連した標的分子を発現している患者を選別する患者層別マーカーは、臨床試験の対象とする患者を事前選別するのみならず、個別化医療を実践するためにも必要なツールとなっている。本稿では、医薬品の重大な副作用の一つである薬剤性肝障害を取り上げ、その診断、予測あるいは回避を目的としたバイオマーカーの現状についてまとめた。

連絡先：梶淵泰宏 ymasubuchi@cis.ac.jp

千葉科学大学薬学部薬学科

Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Chiba Institute of Science

(2015年9月30日受付, 2015年12月21日受理)

2. 薬剤性肝障害の特徴

薬剤性肝障害あるいは薬物性肝障害(どちらも drug-induced liver injury, DILI)は、肝臓の機能が障害される医薬品の副作用であり、自覚症状が見られないマーカー

一酵素の軽微な漏出から重篤な劇症肝炎まで、その重症度は多様である。このうち前者を含めると、おのおの医薬品における発症頻度は低いものの、市販されている多くの医薬品が肝障害を惹起する可能性がある指摘されている²⁾。一方、重篤な肝障害は特に発症頻度が低い、治験薬の開発中止や市販薬の販売中止の直接の原因となる重大な副作用である。DILIのうち、限られた患者群において発症するものを特異体質性 (idiosyncratic) 肝障害といい、アレルギー機序によるものとそれ以外の、特異体質の機序が明確でないものに分類される。発熱や発疹といったアレルギーの症状が無ければ、一般に肝障害は自覚症状に乏しいことから、肝障害に気付かず原因薬の服用を続けて肝不全に至ることがある。そのため肝障害を早めに検知し、原因薬の服用を中止するなどの対応を取るためには肝機能検査が必要であり、実際、服用初期からの定期的肝機能検査 (服用開始後2ヶ月間は2~3週に1回) が求められている薬も少なくない。このような臨床検査の必要性に加えて、新薬や開発中の薬剤であれば、さらに発症予測が困難であることから、DILIに対するより良いバイオマーカーの開発が求められている。

3. 薬剤性肝障害を判定する臨床検査値

肝生化学検査においては、一般に血清肝酵素が測定されている。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASTまたはGOT) やアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALTまたはGPT) は、正常時には血液中には存在しないが、肝臓等の臓器が傷害されると、その臓器由来の酵素が血液中へ漏出するため、血清酵素活性値の上昇が測定される。DILIは肝細胞障害型と胆汁うっ滞型に分類されるが、血清ASTやALTは前者で上昇する。ASTは心筋など肝臓以外の臓器にも比較的多く存在するため、ALTに比べると肝臓への特異性が低い。このように、肝臓の特異機能の低下ではなく、細胞膜傷害を検出するという機序の面からは理想的でないものの、ALTは長く診断マーカーのスタンダードに位置づけられている。一方、アルカリホスファターゼ (ALP) やγ-グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ-GTP) は胆管が閉塞した際に血液中に移行するため、胆汁うっ滞型のDILIにおいて血清値が上昇する。また、酵素以外の臨床検査値の一つにヘモグロビンの分解物であるビリルビンがある。ビリルビンは、グルクロン酸抱合を受けた胆汁中に排泄されるため、DILIにおいては胆汁中への排泄が低下し、血清中の抱合型ビリルビン (直接ビリルビン) ならびに非抱合型と合わせた総ビリルビン濃度が上昇する。肝臓機能を直接測定するマーカーには、肝臓で合成されるアルブミンや血液凝固因子の一つプロトロンビンがあり、肝障害時には血中アルブミン量の低下 (低アルブミン血症) や血液凝固にかかる時間 (プロトロンビン時間)

の延長として検出される。これらは重症化された肝障害で検出される一方、肝障害以外の要因も受けやすく、上述の血清肝酵素に比べると注意が必要である。

本邦における薬剤性肝障害の診断には、2004年の日本消化器関連学会週間 (DDW-Japan) のワークショップにおいて作成された「DDW-Japan 2004薬物性肝障害診断基準スコアリングシステム」³⁾が広く用いられている。この診断基準では、上述のALTとALPが用いられ、ALT値が正常上限の2倍、ALPが正常上限を超えたものを肝障害と定義している。まず、初期判定においては、ALTが正常上限の2倍であれば肝細胞障害型、ALPが正常上限を超えれば胆汁うっ滞型、その両方であれば混合型と分類される (図1)。次いで、8つの項目、①発症までの期間、②経過、③危険因子、④薬物以外の原因の有無、⑤過去の肝障害の報告、⑥好酸球増加、⑦薬物によるリンパ球刺激試験、⑧偶発の再投与が行われた時の反応、についてスコアリングを行い、「可能性が高い」、「可能性あり」、「可能性が低い」を判定するものである。この診断システムについての有効性や改善の可能性は引き続き議論されているものの、初期判定についての疑義は見られないことから、これら血液生化学値の診断マーカーとしての普遍性を示すものと言える。

血清ALT	2N	肝細胞障害型	混合型
	N	正常	胆汁うっ滞型
		血清ALP	
		N	2N

図1 薬剤性肝障害の病型分類

薬剤性肝障害の診断基準において、まず、血清ALT値とALP値から以下のようにタイプ分類される。本図はこのタイプ分類の前半部分を模式化したものである。

肝細胞障害型 ALT > 2N + ALP ≤ N または ALT比/ALP比 ≥ 5
 胆汁うっ滞型 ALT ≤ N + ALP > 2N または ALT比/ALP比 ≤ 2
 混合型 ALT > 2N + ALP > N かつ 2 < ALT比/ALP比 < 5
 N: 正常上限, ALT比 = ALT値/N, ALP比 = ALP値/N

4. Hy's law

前節では、バイオマーカーという観点では、ALTをはじめとする古典的な臨床検査値が、DILIの診断マーカーに位置づけられることを示したが、これらは予後マーカーあるいは予測マーカーとしても重要である。Hy's

lawは、1978年にZimmermanにより、「黄疸を伴う肝細胞型DILIを起こすと、死亡率が10～50%になる」と報告されたものであり⁴⁾、近年、FDAが重度の薬剤性肝障害の可能性を予測するための指標になっている。その「薬剤性肝障害に関する製薬業界向けガイダンス：市販前臨床評価」⁵⁾によると、臨床試験において、以下のHy's lawの3要素を満たす患者が1例以上を認められた場合、被検薬が重篤な肝障害を起こす可能性があるとしている。

- ①ASTまたはALTが基準値上限の3倍以上に増加。
- ②総ビリルビンが基準値上限の2倍以上に増加し、ALP増加を伴わない。
- ③アミノトランスフェラーゼおよび総ビリルビンがともに増加する原因が他に認められない。

このガイダンスは、血清ALT、ASTならびにビリルビン値が、DILIの予後マーカーとして有効であることを示している。さらに最近では、胆汁うっ滞型DILIを説明するためのALPを組み入れたHy's lawの拡張も検討されている⁶⁾。

5. 薬剤性肝障害の新規バイオマーカー

前節で示したように、日常診療においてDILIの診断ならびにある程度の予測に用いられている臨床検査値は、古典的なバイオマーカーと置き換えることができる。一方、予測の難しい特異体質性のDILIを事前に察知し、回避するために、より良いバイオマーカー、すなわち感度が高く、肝臓特異性が高く、偽陽性あるいは偽陰性のより少ないバイオマーカーの開発が求められている。実際、近年、DILIに対する多くの新規バイオマーカーが発見あるいは提案されている。以下に示す一連の新規のバイオマーカーは、肝障害メカニズムを元に見出されたり、逆に肝障害の新たなメカニズムを提示しうることから、メカニスティック・バイオマーカー(機構論的バイオマーカー)と呼ばれている。

5-1. 細胞死関連タンパク質

近年、提唱されている代表的なメカニスティック・バイオマーカーにHigh mobility group box-1 (HMGB1)とKeratin-18 (K18)がある。HMGB1は、クロマチン構成分子としてDNAの立体構造の維持に関わるDNA結合タンパク質である。通常、核内タンパク質として機能しているが、様々な刺激により核外さらには細胞外へ分泌される。例えば細胞が壊死すると、HMGB1はネクロシス細胞から放出され、細胞障害関連分子パターン (damage-associated molecular pattern, DAMP) として作用する。その際、免疫担当細胞のToll様受容体 (Toll-like receptor, TLR) や最終糖化産物受容体 (receptor of advanced glycation end product, RAGE)

を標的とし、それらへの結合を起点に自然免疫が活性化すると考えられている。一方、K18は、肝細胞や他の上皮細胞の細胞骨格を維持するために中間径フィラメントとして働く、繊維状タンパク質であり、肝臓の総タンパク質の5%を占める。K18は、アポトーシスの過程で様々なカスパーゼによって切断される。そのため、全長のK18 (full-length K18, FL-K18) がネクロシス細胞から放出されるのに対して、カスパーゼ切断型のK18 (caspase-cleaved K18, cK18) はアポトーシスに伴って血中に放出される (図2)。

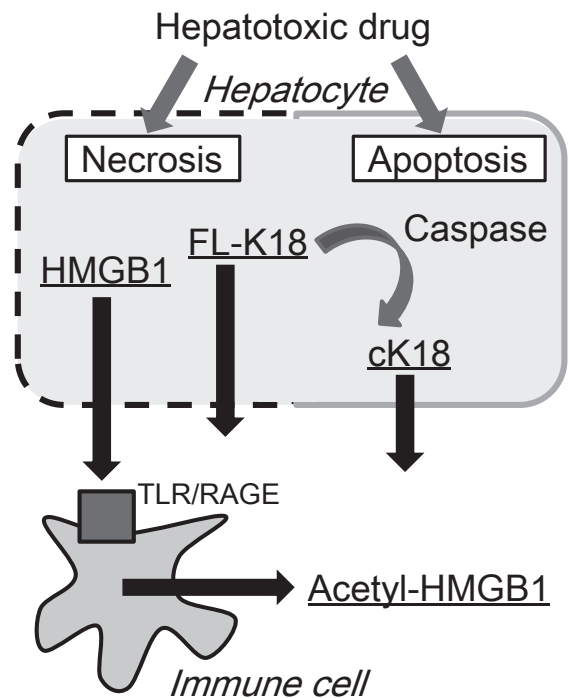


図2 肝細胞からの細胞死関連タンパク質の漏出
薬剤性肝障害において、肝細胞はネクロシスとアポトーシスが起る。ネクロシス細胞からはHigh mobility group box-1 (HMGB1)と全長のKeratin-18 (FL-K18)が漏出する。アポトーシス細胞からはカスパーゼ切断型のK18 (cK18)が漏出する。HMGB1はToll様受容体または最終糖化産物受容体 (TLR/RAGE) を介して、免疫担当細胞を活性化し、当該細胞からはアセチル化されたHMGB1 (Acetyl-HMGB1)が分泌される。

このような背景から、Antoineらはアセトアミノフェン (APAP) の投与によるマウス肝障害モデルを用いて、HMGB1とK18のメカニスティック・バイオマーカーとしての可能性を検討した⁷⁾。肝臓に対するAPAPの毒性学的な影響は、肝細胞のネクロシスとアポトーシスに加えて、前述の自然免疫の活性化が挙げられる。APAPを投与したマウスにおいて、組織学的所見から得

られたネクローシスと血清中HMGB1およびFL-K18との間、ならびにアポトーシスと血清中cK18との間に相関が見られ、かつALTに比べて良好な感度が得られた。また、血清中から新たに高度にアセチル化されたHMGB1が検出され、それが肝障害に伴う炎症反応を反映することが判明した⁷⁾(図2)。

臨床研究においては、APAPを過量投与された患者を、肝障害に至った患者と正常であった患者で層別解析され、前者のみで血清HMGB1とFL-K18はALTとの相関が得られた⁸⁾。これらならびにアセチル化HMGB1においては、ALTでは予測できない予後の悪化(死亡例や肝移植が必要であった患者)との関連が得られた。これらのことから、血清中総HMGB1とFL-K18は初期の肝障害を捉え、アセチル化HMGB1は予後を捉えるバイオマーカーとしての可能性が示された。

上述の通り、損傷を受けた肝細胞から放出されるHMGB1は、単に損傷の結果を示すだけでなく、DAMPとしてマクロファージや好中球などの免疫担当細胞を活性化し、肝障害の増幅を招くものと推定される。また、アセチル化を主とする翻訳後修飾を受けることにより、細胞間隙に漏出しやすくなると考えられる。さらにアセチル化HMGB1は、活性化された免疫担当細胞からも分泌されるため、DILIにおける自然免疫活性化のバイオマーカーとして有用であるだけでなく、図2に示したDILIの増幅や修復過程における自然免疫の役割を解明するためにも重要な研究対象であると考えられる。最近、HMGB1ノックアウトマウスを用いた研究で、HMGB1欠損によりAPAP誘発肝障害が緩和され、その際、好中球の浸潤が顕著に抑えられていることが示され、実際、HMGB1がDAMPとして好中球を介したDILIの悪化、増幅に関与することが明らかになった⁹⁾。以上、細胞死関連タンパク質はDILIの重要なバイオマーカーであると位置づけられるだけでなく、DILIのプロセスにも関わっていると結論づけることができる。ただし、前提で示されているように肝臓特異的なマーカーではないため、臨床上的有用性、実用性には更なる検証が必要と考えられる。

5-2. ミトコンドリア酵素

ミトコンドリアは細胞に必要なエネルギー産生のためであり、細胞の生存に必須な細胞内小器官である。DILIの発症過程においてもミトコンドリアの傷害が重要なイベントであることが、APAPマウス肝障害モデルで明らかにされており¹⁰⁾、ミトコンドリアの傷害の検出はメカニスティック・バイオマーカーの開発に結びつくことが期待されている。このような観点から、肝障害バイオマーカーとしてミトコンドリアDNA(mtDNA)とミトコンドリアマトリックス酵素であるグルタミン酸デヒドロゲ

ナーゼ(glutamate dehydrogenase, GDH)が提案されている。マウスAPAP肝障害モデルならびにAPAP肝障害罹患患者において、これらの血清中濃度が増加することが報告されている¹¹⁾。一方、例外的にミトコンドリア傷害を介さないことが知られている他の肝障害モデルでは上昇しないので、これらはミトコンドリア傷害を捉えるバイオマーカーであると考えられる。mtDNAとGDHのようなミトコンドリア内容物が血清マーカーとして検出されるには、ミトコンドリア透過性遷移によって細胞質に流出し、さらに膜障害によって細胞外へ放出される必要がある。また、これらは比較的大きい分子であることから、広範な障害と膜破壊がないと漏出ししないと考えられる。一方、両バイオマーカーは臨床におけるAPAP肝障害の予後と相関することから、予後バイオマーカーとしての有用性に加えて、ミトコンドリア傷害がAPAP肝障害の中心的な役割を担っていることを裏付ける結果と言える¹²⁾。mtDNAとGDHは、上述のDAMPの一種であることも考えられており、バイオマーカーであるだけでなくDILIの進展にも関与する可能性が高い。

5-3. マイクロRNA

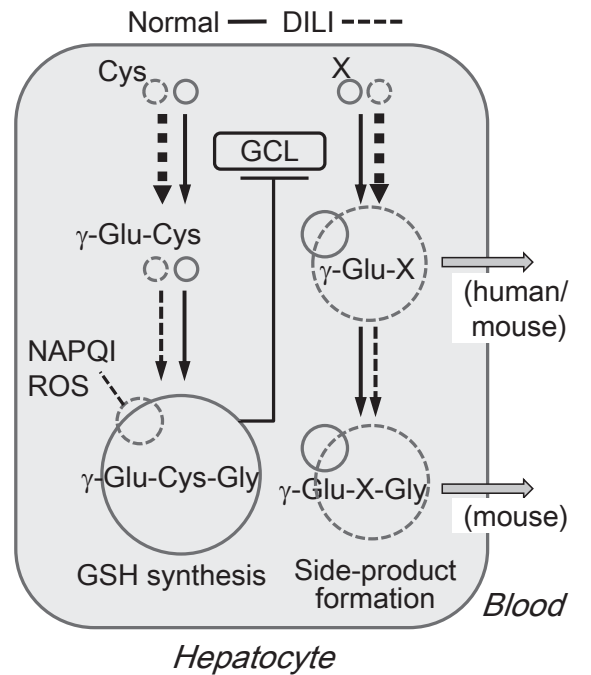
マイクロRNA(miRNA)は、タンパク質をコードしていない数十塩基のRNAであり、遺伝子発現調節を行っている。miRNA分子は、標的となる塩基配列を持つmRNAの3'非翻訳領域に結合し、RNAの切断やリボゾームによるmRNAの翻訳を阻害することで、タンパク質の発現を抑制的に制御していると考えられている。miRNAの存在量は全RNA量の0.01%と極微量であるが、発生・分化などの生命現象や様々な疾患に関与することが明らかにされている。ヒトにおいて2000種類以上のmiRNAが同定されており、すべてのヒト遺伝子のうちの半分以上が、これらのmiRNAによって制御されていると推定されている。miRNAの発現特性は臓器間で異なり、正常時と疾患時でも異なること、また、血液中でも存在することから、近年、miRNAは疾患バイオマーカーとして注目されている。

DILIとの関連においては、肝臓のmiRNAの主要成分であるmiR-122と肝特異的なmiRNAであるmiR-192がバイオマーカーの主な候補になっている。WangらはAPAPを投与したマウスにおいて、血漿中のmiR-122とmiR-192濃度が上昇することを明らかにした¹³⁾。これらは血清ALTレベルや病理組織評価を反映している一方、両miRNA濃度が、肝障害惹起に先立って上昇すること、また準毒性投与量でも上昇することから、ALTに比べて感度の良いバイオマーカーと考えられた。ヒトにおいても動物実験に沿った結果が得られ、APAP肝障害患者においてmiR-122とmiR-192の上昇が見られた¹⁴⁾。miR-122はmiR-192に比べて反応が良く、ウイルス性

肝炎などのAPAP以外の要因による肝障害時にも上昇した一方、APAPを過量投与されても肝障害に至らなかった患者や肝疾患以外の患者では上昇しなかった。miR-122はALTのピーク値と相関したが、他の既存マーカーであるプロトロンビン時間やビリルビンの相関は見られず、miR-122が肝障害における比較的初期の変化を捉えている可能性が考えられた。また、miR-122は、ALTでも十分に予測できない肝移植の実施の判断基準であるKing's College Criteriaとも良い対応を示し、予後予測バイオマーカーとしての有用性も示唆された¹⁴⁾。前述したようにmiR-122がALTより早期にあるいは感度良く上昇することから、ALTとは異なり肝細胞膜の傷害の結果としてではなく、他の要因によって細胞外へ放出されると考えられる。現時点でmiR-122の細胞外放出機構は解明されていないが、エキソソームなどの微小胞によって輸送される経路やアルゴノート等のタンパク質と複合体を形成して輸送される経路が推定されている。

5-4. γ -グルタミルジペプチドならびにトリペプチド

生体内に存在する低分子代謝物質レベルを網羅的に分析し、代謝に関する定量的な解釈を与える研究手法をメタボロミクスといい、血液や尿などの生体試料に対して、キャピラリー電気泳動-質量分析計(CE-MS)をはじめとする様々な分析装置が用いられる。メタボロミクス解析は、近年の分析技術の進歩に伴って、バイオマーカー検索の代表的なアプローチの一つになっている。Sogaらは、APAPを投与したマウス肝臓のメタボロミクス解析によって、肝臓内グルタチオン(GSH)濃度の低下に対応して、未知物質が増加することを見出した¹⁵⁾。未知物質はグルタチオンと類似の構造を持つ、既知の γ -グルタミルトリペプチドであるオフタルミン酸と同定され、さらにその生合成経路がGSHの生合成経路と共通することが明らかになった。GSHと異なりオフタルミン酸は血液中からも検出され、肝臓中濃度を反映した時間推移を示した¹⁵⁾。図3に示すように、GSH合成の第一段階かつ律速酵素であるグルタミン酸システインリガーゼ(GCL)は、肝臓内に十分な量のGSHが存在すると、フィードバック阻害によりその酵素活性が抑えられている。しかし、APAPが投与され、毒性代謝物であるN-アセチル-p-ベンゾキノイミン(NAPQI)が生成し、それを捕捉するためにGSHが消費されると、GCLの阻害が解除されGSH合成が高まる。GCL活性の上昇により、NAPQIとは反応しないオフタルミン酸の生合成も高まり、過剰に生成したオフタルミン酸は血液中に漏出する。このようにオフタルミン酸は、GSHの枯渇というDILIの前段階を捉え、かつ血液中に漏出することから、DILIのバイオマーカーとして有用性が高いと考えられた。



問3 グルタチオンの枯渇による γ -グルタミルジペプチドならびにトリペプチド合成の促進と肝細胞からの漏出

実線は正常時、点線はグルタチオン(GSH)枯渇時を示し、線の太さや生成物○の大きさは生成量の大小を模式的に示したものである。GSH生合成の律速酵素であるグルタミン酸システインリガーゼ(GCL)は正常下では生成物であるGSH(γ -Glu-Cys-Gly)によりフィードバック阻害を受けている。アセトアミノフェンの活性代謝物であるN-アセチル-p-ベンゾキノイミン(NAPQI)や活性酸素(ROS)の暴露により、GCLの阻害が解除されるとGSH合成が活発化する。システイン(Cys)以外を出発物質とする γ -グルタミルジペプチド(γ -Glu-X)もGCLにより生成するため、GSH枯渇時には合成が亢進し、血液中に漏出するため、肝障害時に様々なアミノ酸を出発物質とする γ -Glu-Xの血中濃度上昇が見られる。マウスにおいてはGSHと同じようにさらにグリシンが結合した γ -グルタミルトリペプチド(γ -Glu-X-Gly)も検出される。最初にマウスで検出されたのが2-アミノ酪酸を出発物質とするオフタルミン酸であるが、ヒト血液からは検出されていない。(文献15および16を改変して作成)

臨床試験においては、DILIに加えてB型肝炎、C型肝炎、肝硬変を含む肝疾患の患者血清を用いて、改めてメタボロミクス解析が行われ、DILIに限らず肝疾患患者すべてにおいて、 γ -グルタミルグリシンをはじめとする一連の γ -グルタミルジペプチド化合物の血清中濃度の上昇が観察された¹⁶⁾。ただし、ALTやASTと異なり、DILIよりむしろ無症状のB型肝炎ウイルス保持患者とALT正常値のC型肝炎患者で高く、 γ -グルタミル

ジペプチド類はこれらの診断マーカーにも適すると考えられた。GSH生合成の中間代謝物である γ -グルタミルシステインをはじめとする γ -グルタミルジペプチドは、GCLにより生成される。上述の通り、APAP投与時にはGSH枯渇によってGCL活性が上昇するが、ウイルス性肝炎においては、生成が亢進した活性酸素を捕捉するGSHが低下し、GCL活性が上昇し、GSH合成の副生成物である γ -グルタミルジペプチドが増加すると推定できる(図3)。また、肝疾患の種類によって肝臓内のアミノ酸組成が異なるため、対応する γ -グルタミルジペプチドの血中漏出量も異なると考えられる。DILIではウイルス性肝炎に比べて γ -グルタミルジペプチドの血清中濃度は高くないが、 γ -グルタミルシトルニン等は変化の逆に少ないことが特徴的であり、DILIの診断にも有効であるとしている¹⁶⁾。

意外にもAPAP肝障害マウスの結果から期待されたオプタルミン酸は、健常人のみならず、DILIならびに他の肝疾患患者においても検出されなかった。これはオルタルミン酸の生合成経路あるいは血液中への輸送過程にヒトとマウスの間で種差があるためと推定されている¹⁶⁾。他の研究グループの報告においても、オルタルミン酸のDILIのバイオマーカーとしての有用性を示す臨床データは得られていない。一方、ヒト肝細胞を用いた*in vitro*の検討ではオルタルミン酸は検出されていることから¹⁷⁾、ヒトにおいてオルタルミン酸が生合成されないわけではなく、オルタルミン酸の血管側への移行に輸送タンパクが関与し、ヒトではその輸送が活発でないために、オルタルミン酸が血液中に検出されなかった可能性が考えられる(図3)。

6. バイオマーカーとしてのサイトカインとケモカイン

DILI発症における病態の進展あるいは防御に、様々なサイトカインが関与する。特に、APAP肝障害マウスにおいては、腫瘍壊死因子- α (tumor necrosis factor- α 、TNF- α)をはじめとする炎症性サイトカインが肝障害の進展に関与し、インターロイキン-10 (interleukin-10、IL-10)をはじめとする抗炎症性サイトカインが肝障害の進展に対する生体側の防御機構として機能するなど、個々のサイトカインの役割が解明されている¹⁸⁾。これらをヘルパーT細胞(Th)の分類に置き換えると、Th1/Th2比のTh1への偏向がDILIの進展・悪化に介在すると単純化することができるが、最近ではこれらに加えて、Th17や制御性T細胞(regulatory T cell、Treg)の関与の報告も散見される。このように機能がほぼ明らかになっているサイトカインについて、バイオマーカーとしての有用性を改めて評価することは、前節で示した網羅的な代謝物同定とはむしろ逆のアプローチと考えられる。臨床における検討例は多くないが、APAP肝障害患者に

おいて、IL-6、IL-8ならびに単球走化性タンパク質-1(monocyte chemoattractant protein-1、MCP-1)の血清中濃度が上昇することが報告されている¹⁹⁾。これらは炎症時にマクロファージから分泌されるものであり、かつ肝保護的に働くことから、肝障害回復過程における炎症反応の重要性を示している。

最近、米国DILIネットワークによって、異なるタイプのDILI患者における27種のサイトカイン類(サイトカイン14、ケモカイン7、増殖因子6)血清中濃度プロファイルが検討された²⁰⁾。その結果、血清中のIL-9、IL-17、PDGF-BB(platelet-derived growth factor-BB、血小板由来成長因子)やRANTES(regulated on activation normal T cell expressed and secreted、血小板やT細胞由来の好酸球走化性物質)が低く、かつ血清アルブミン濃度が低い患者では予後が悪いことが示され、自然免疫に関連するサイトカインの高発現は予後の悪化に結びついており、適応免疫に関連するサイトカインの高発現は長期予後の良化に結びついていると結論している²⁰⁾。このうちTh17型の適応免疫経路はDILIの病態にも関与すると考えられ、特異体質性DILIにおける役割の解明は今後の重要な課題になると思われる。

7. おわりに

本稿では、DILIのバイオマーカーについて、網羅的に概説するというよりむしろ、バイオマーカー設定の考え方の違いに基づいて、それぞれから注目度の高い代表的なバイオマーカーを取り上げ概説した。オールマイティなバイオマーカーこそ無いものの、診断、予測といった目的に応じた優れたバイオマーカーが次々と報告されている。原因薬によってDILIの初発段階は異なるので、肝障害初期を捉えようとすれば薬ごとのバイオマーカーが必要になってしまうし、逆にDILI共通のバイオマーカーを設計しようとするとは肝障害の結果のみを示す診断的バイオマーカーになってしまうというジレンマがあるように思われる。肝臓特異性という点からも、理想的なバイオマーカーには到達していない。DILIにおいて多数の肝臓特異な代謝系が変化し、それらすべてがバイオマーカーのソースになりうるので、今後さらに新たな角度からのDILIマーカーの発見や開発が期待される。

参考文献

- 1) Biomarkers Definitions Working Group: Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework, *Clin Pharmacol Ther.* 69 (3) , 89-95, 2001.
- 2) 厚生労働省: 重篤副作用疾患別対応マニュアル 薬物性肝障害, 2008. <http://www.info.pmda.go.jp/juutoku/file//jfm0804002.pdf>
- 3) 滝川一, 恩地森一, 高森頼雪, 村田洋介, 谷口英明, 伊藤正, 渡辺真彰, 綾田穰, 前田直人, 野本実, 村田浩之, 大森茂, 久持顕子, 炭田知宜: DDW-J 2004 ワークショップ薬物性肝障害診断基準の提案, *肝臓.* 46 (2) , 85-90, 2005.
- 4) Zimmerman H: Drug-Induced Liver Disease, Hepatotoxicity, The Adverse Effects of Drugs and Other Chemicals on the Liver, 1st ed., Appleton-Century-Crofts, New York, 351-353, 1978.
- 5) U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) : Guidance for Industry, Drug-Induced Liver Injury: Premarketing Clinical Evaluation, 2009. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance/UCM174090.pdf>
- 6) Robles-Diaz M, Lucena MI, Kaplowitz N, Stephens C, Medina-Caliz I, Gonzalez-Jimenez A, Ulzurrun E, Gonzalez AF, Fernandez MC, Romero-Gomez M, Jimenez-Perez M, Bruguera M, Prieto M, Bessone F, Hernandez N, Arrese M, Andrade RJ, Spanish DR, Network SL, Safer, Faster Evidence-based Translation C: Use of Hy's law and a new composite algorithm to predict acute liver failure in patients with drug-induced liver injury, *Gastroenterology.* 147 (1) , 109-118 e105, 2014.
- 7) Antoine DJ, Williams DP, Kipar A, Jenkins RE, Regan SL, Sathish JG, Kitteringham NR, Park BK: High-mobility group box-1 protein and keratin-18, circulating serum proteins informative of acetaminophen-induced necrosis and apoptosis in vivo, *Toxicol Sci.* 112 (2) , 521-531, 2009.
- 8) Antoine DJ, Jenkins RE, Dear JW, Williams DP, McGill MR, Sharpe MR, Craig DG, Simpson KJ, Jaeschke H, Park BK: Molecular forms of HMGB1 and keratin-18 as mechanistic biomarkers for mode of cell death and prognosis during clinical acetaminophen hepatotoxicity, *J Hepatol.* 56 (5) , 1070-1079, 2012.
- 9) Huebener P, Pradere JP, Hernandez C, Gwak GY, Caviglia JM, Mu X, Loike JD, Jenkins RE, Antoine DJ, Schwabe RF: The HMGB1/RAGE axis triggers neutrophil-mediated injury amplification following necrosis, *J Clin Invest.* 125 (2) , 539-550, 2015.
- 10) Masubuchi Y, Suda C, Horie T: Involvement of mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced liver injury in mice, *J Hepatol.* 42 (1) , 110-116, 2005.
- 11) McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, Taha M, Curry SC, Jaeschke H: The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation, *J Clin Invest.* 122 (4) , 1574-1583, 2012.
- 12) McGill MR, Staggs VS, Sharpe MR, Lee WM, Jaeschke H, Acute Liver Failure Study G: Serum mitochondrial biomarkers and damage-associated molecular patterns are higher in acetaminophen overdose patients with poor outcome, *Hepatology.* 60 (4) , 1336-1345, 2014.
- 13) 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 U S A.* 106 (11) , 4402-4407, 2009.
- 14) 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 (5) , 1767-1776, 2011.
- 15) Soga T, Baran R, Suematsu M, Ueno Y, Ikeda S, Sakurakawa T, Kakazu Y, Ishikawa T, Robert M, Nishioka T, Tomita M: Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption, *J Biol Chem.* 281 (24) , 16768-16776, 2006.
- 16) Soga T, Sugimoto M, Honma M, Mori M, Igarashi K, Kashiura K, Ikeda S, Hirayama A, Yamamoto T, Yoshida H, Otsuka M, Tsuji S, Yatomi Y, Sakuragawa T, Watanabe H, Nihei K, Saito T, Kawata S, Suzuki H, Tomita M, Suematsu M: Serum metabolomics reveals gamma-glutamyl dipeptides as biomarkers for discrimination among different forms of liver disease, *J Hepatol.* 55 (4) , 896-905, 2011.
- 17) Geenen S, du Preez FB, Snoep JL, Foster AJ, Sarda S, Kenna JG, Wilson ID, Westerhoff HV: Glutathione metabolism modeling: a mechanism for liver drug-robustness and a new biomarker strategy, *Biochim Biophys Acta.* 1830 (10) , 4943-4959, 2013.
- 18) 榊淵泰宏: アセトアミノフェンの肝毒性とサイトカイン, *薬物動態.* 16 (2) , 151-156, 2001.
- 19) Antoniadou CG, Quaglia A, Taams LS, Mitry RR, Hussain M, Abeles R, Possamai LA, Bruce M, McPhail M, Starling C, Wagner B, Barnardo A, Pomplun S, Auzinger G, Bernal W, Heaton N, Vergani D, Thursz MR, Wendon J: Source and characterization of hepatic macrophages in acetaminophen-induced acute liver failure in humans, *Hepatology.* 56 (2) , 735-746, 2012.

- 20) Steuerwald NM, Foureau DM, Norton HJ, Zhou J, Parsons JC, Chalasani N, Fontana RJ, Watkins PB, Lee WM, Reddy KR, Stolz A, Talwalkar J, Davern T, Saha D, Bell LN, Barnhart H, Gu J, Serrano J, Bonkovsky HL: Profiles of serum cytokines in acute drug-induced liver injury and their prognostic significance, PLoS One. 8 (12) , e81974, 2013.