

表 12 累積服薬率別 SVR 率

		PEG/R 群				IFN/R 群			
		IFN 製剤服薬率							
		≥ 95%	≥ 50% -<95%	< 50%	計	≥ 95%	≥ 50% -<95%	< 50%	計
Riba 服 薬 率	≥ 95%	26/29 (90%)	8/8 (100%)	-	34/37 (92%)	24/27 (89%)	8/11 (73%)	-	32/38 (84%)
	≥ 50% -<95%	4/5 (80%)	11/11 (100%)	2/3 (67%)	17/19 (89%)	4/5 (80%)	9/9 (100%)	-	13/14 (93%)
	< 50%	-	1/1 (100%)	3/6 (50%)	4/7 (57%)	-	0/1 (0%)	2/8 (25%)	2/9 (33%)
	計	30/34 (88%)	20/20 (100%)	5/9 (56%)	55/63 (87%)	28/32 (88%)	17/21 (81%)	2/8 (25%)	47/61 (77%)

表 13 SVR に関連する要因の検討 (Logistic 回帰分析)

要因	Odds 比	P 値
性 (男→女)	0.213 (0.058-0.781)	0.0197
HCV RNA 量 (< 300/-499/-848/ > 850)	0.430 (0.2350-0.785)	0.0060
白血球数 (5000 未満→ 5000 以上)	4.903 (1.180-20.367)	0.0287
血小板数 (16 万未満→ 16 万以上)	7.211 (1.623-32.035)	0.0094
IFN 製剤減量 (有→無)	0.208 (0.041-1.047)	0.0568
IFN 製剤投与期間 (12 週以上→ 12 週未満)	0.029 (0.006-0.154)	< 0.0001

PEG/R 群では、PEG-IFN α -2b あるいはリバビリンの減量を行っても SVR 率の低下はみられなかったが、IFN/R 群では IFN α -2b あるいはリバビリンの減量により SVR 率がやや低下していた。また、両剤の投与を中止しても、PEG/R 群の SVR 率は 73.3% (11/15) とわずかな低下にとどまったが、IFN/R 群では 34.6% (4/11) までに低下していた。IFN/R 群では治験薬剤の減量により SVR 率が低下傾向にあったことから、減量・休薬が必要となった時点別に SVR 率を検討し表 11 に示した。IFN/R 群では投与 2 週目以降に減量・休薬が必要となった症例での SVR 率が PEG/R 群に比べてやや低下していた。同じく表 11 に、投与中止時期別の SVR 率を示したが、両群とも投与開始 4 週以内に投与を中止した症例から SVR となった症例は認められなかった。なお、これら

投与 4 週以内に投与を中止した症例中、PEG/R 群の 1 例、IFN/R 群の 1 例では投与終了時には HCV RNA が陰性化していた。

次に、服薬率が SVR 率に与える影響を検討した (表 12)。ほぼプロトコルどおりに服薬が可能であった症例を既定の 95% 以上服用例とし、服薬不十分を 50% 未満とした。服薬率を群別に検討しても、2 群間の SVR 率に有意差は認められなかったが、両群とも IFN 製剤あるいはリバビリンの服薬率が 50% 未満に低下すると服薬率が 50% 以上であった症例に比べて SVR 率は明らかに低下していた。ただし、低下の程度は IFN/R 群で大きかった。両剤の投与がほぼ完全 (95% 以上) に実施された症例中、両群とも 3 例でウイルス学的に無効となった症例が存在した。6 例中 5 例は女性で、いずれも genotype 2 の症例であっ

表 14 Genotype 2 症例での再燃要因 (Logistic 回帰分析)

要因	Odds 比	P 値
性 (男→女)	> 999.999 (3.346- > 999)	0.0240
F stage (F0-1 → F2-4)	0.048 (0.002-0.906)	0.0428
HCV RNA 量 (< 300/-499/-848/ > 850)	6.383 (1.237-32.007)	0.0242
好中球数 (200 未満→ 2000 以上)	0.023 (< 0.001-0.751)	0.0340
リンパ球数 (2000 未満→ 2000 以上)	0.100 (0.007-1.459)	0.0923
IFN 製剤減量 (有→無)	14.013 (0.831-236.379)	0.0671
リバビリン休薬 (有→無)	0.012 (< 0.001-0.824)	0.0404

た。4 例では HCV RNA が 4 週目までに陰性化しており、高ウイルス量であった 1 例の陰性化は 24 週目であった。残りの 1 例は genotype 1/ 低ウイルス量の症例で、投与早期にウイルスが陰性化した。終了後早期にウイルスの再燃がみられた。これら症例では多くが女性で体重も 60 kg 未満であったという以外、特に無効要因は認められていない。なお表には示さないが、各薬剤とも服薬率がプロトコールの 80% 以上、投与期間が 80% 以上の症例における SVR 率を比較すると、PEG/R 群では 92% (35/38)、IFN/R 群は 87% (39/45) と大差なかった。一方、いずれかが 80% 未満となっていた症例における SVR 率は、PEG/R 群で 80% (20/25) に対して IFN/R 群では 50% (8/16) と有意差 (P = 0.095: Fisher) はないものの PEG/R 群でやや SVR 率が高くなっていた。

2) SVR に対する影響因子

SVR に影響を与える患者要因を検討した。要因としては、投与群 (PEG/R, IFN/R)、性、年齢 (65 歳以上、未満)、体重 (60 kg 以上、未満)、IFN 治療歴 (未治療、既治療)、Stage (F0-1, F2-4)、Grade (A0-2, A3-4)、Genotype (1, 2)、ウイルス量 (300 KIU/mL 未満、300 ~ 500 KIU/mL 未満、500 ~ 850 KIU/mL 未満、850 KIU/mL 以上)、ALT (100 IU/L 以上、未満)、WBC (5,000/mm³ 以上、未満)、好中球数 (2,000/mm³ 以上、未満)、血小板数 (16 万 /mm³ 以上、未満)、Hb (14 g/dL 以上、未満)、リバビリン減量の有無、IFN 製剤減量の有無、リバビリンおよび IFN 製剤中止の有無、リバビリン投与期間 (12 週以上、未満)、

IFN 製剤投与期間 (12 週以上、未満)、リバビリン服薬率 (80% 以上、未満)、IFN 製剤服薬率 (80% 以上、未満) とした。Stepwise に変数を選択した後の多変量 Logistic 回帰分析による結果を表 13 に示した。治療法および genotype は有意な独立因子とは選択されなかった。最も大きな影響要因は IFN 製剤投与期間であり、その他に HCV RNA 量、血小板数、性、白血球数が独立因子として選択された。また、SVR とならなかった症例の多くは女性、高齢、体重が 60 kg 未満、クレアチニン低値とリバビリンの血中濃度が上昇しやすい症例であった。

3) ウイルス学的再燃要因

Genotype 2 の症例では HCV RNA が早期に陰性化するにもかかわらず投与終了後早くにウイルスが再燃する症例が少数ではあるが存在することが知られている。IFN/R 群の 1 例で、投与 2 週目にウイルスが陰性化し、しかも投与が 24 週間完了したにも関わらず投与終了後にウイルスの再燃がみられた。さらに、投与 4 週目までに HCV RNA が陰性化し、投与が完了した症例中、PEG/R 群で 1 例、IFN/R 群の 2 例で投与後にウイルスの再燃をみた。これら 4 例中 2 例では治療薬の両剤が減量されていたが、他の 2 例は減量・休薬もなされていなかった。なお、上記 4 例および投与 2 週以内にウイルスが陰性化した早期投与中止のためウイルスの再燃をみた 2 例も含めてすべて genotype 2a の症例であったことから、genotype 2 の症例に限定して投与終了後のウイルス再燃要因を検討した。検討要因としては、上記の SVR

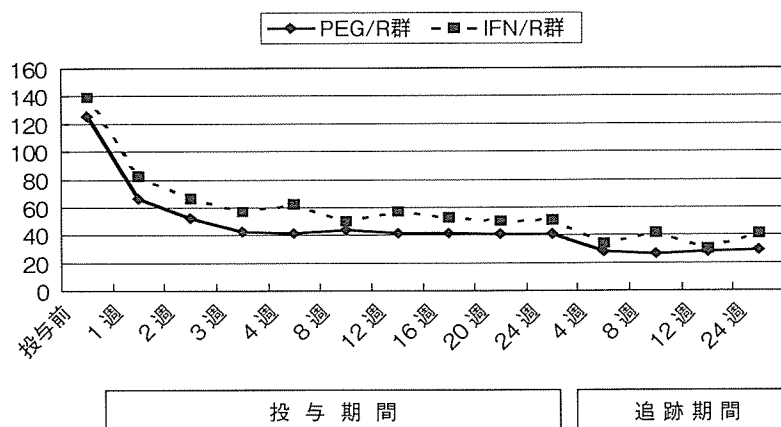


図4 投与中および経過観察期間中のALT平均値の推移

に対する検討と同じ項目を用い、多変量 Logistic 回帰分析の結果を表 14 に示した。女性、F0-1、HCV RNA 高値、好中球数 2,000/mm³ 未満、リバビリン休薬ありが独立した影響要因と選定された。

4) 肝機能改善度

FAS 集団を対象とした場合の投与終了後 24 週目の ALT 正常化率は、PEG/R 群で 81.0 % (51/63)、IFN/R 群で 57.4 % (35/61) であった。ただし、PEG/R 群で 8 例、IFN/R 群では 19 例が判定不能であったことがこの有効率に大きく影響していた。このため、ALT に関する有効性について ALT 平均値を用いて検討し、図 4 に示した。IFN/R 群では各ポイントにおける ALT 変動幅が特に大きく、両群の ALT 推移は統計学的には有意とはならなかった。なお、SVR と ALT 持続正常化との関連を ALT 持続正常化判定不能を除いて検討すると、PEG/R 群では 50 例中 48 例 (96%) [SVR 例中残り 5 例は判定不能]、IFN/R 群では 40 例中 35 例 (87.5%) [SVR 例中残り 7 例は判定不能] で ALT が持続正常化していた。SVR にもかかわらず ALT が持続正常化しない 7 例の症例背景に一定の傾向はみられなかったが、体重は 53.8 ~ 97.5 kg と 70 kg 以上の症例が 5 例存在していた。

3. 安全性

1) 減量・休薬・中止率

安全性に関わる 治験薬剤の投与中止率は、

PEG/R 群: 20.6 % (13/63)、IFN/R 群: 14.8 % (9/61) と有意な差は見られなかった。IFN 製剤あるいはリバビリンの減量率は、PEG/R 群で 39.7 % (25/63)、IFN/R 群で 39.7 % (24/61)、また両剤の休薬率は PEG/R 群で 7.9 % (5/63)、IFN/R 群で 9.8 % (6/61) であり、ともに両群間に有意差は認められなかった。

2) 副作用発現頻度

PEG/R 群および IFN/R 群の安全性のプロファイルは、これまでの報告の範囲内であった。いずれかの投与群において、50%以上の症例で認められた有害事象は、悪心、倦怠感、発熱、悪寒、胃腸障害、食欲不振、白血球数減少、好中球数減少、赤血球数減少、Hb 減少であった。投与期間中、注射部位の有害事象を除き大部分の有害事象は IFN/R 群において PEG/R 群よりも高頻度に発現した。特に、IFN/R 群においてインフルエンザ様症状、消化器症状および呼吸器系の有害事象が多く認められた。臨床検査値では主に、PEG/R 群で白血球数減少、好中球数減少および溶血に関連する検査値の異常が多く認められ、IFN/R 群では ALT の上昇が認められた。

投与期間中に認められた自覚症状、他覚所見および臨床検査値異常変動は、いずれも投与終了とともに観察期間中に改善すると考えられた。血液学的検査項目である Hb、好中球数、血小板数については投与期間中に減少し経過観察期間中に投与前値への回復が認められた。なお、観察期間中

に消化器症状および感染症（主に咽頭炎）が認められていたがこれらは通常の観察時にもよく認められるものであった。

4 考 察

今回の試験から genotype 1 かつ低ウイルス量の症例、あるいは genotype 2 の症例における PEG-IFN α -2b 1.5 μ g/kg/週とリバビリン 600～1,000 mg/日（PEG/R）を 24 週間併用投与した場合の極めて高い有効性が確認された。試験の目的が非劣性の証明であったため IFN α -2b とリバビリン（IFN/R）の 24 週併用投与に比べて有意とはならなかったが、症例数設定によるものであり、SVR 率では 10% 上回っていた。確かに、今回の成績からは PEG/R の極めて高率な有効性が示されたが、この強力な治療法を抗ウイルス薬の有効性が比較的高い genotype 1/低ウイルス量および genotype 2 の治療に導入する意義を検証してみた。これら症例に対する国内における初期の IFN 単独療法の検討はほとんどが初回治療と想定される。しかも、それらの大規模検討成績はほとんどが retrospective な調査であり、prospective な研究と比較するには問題を残すが、SVR 率としては約 60% と報告¹³⁻¹⁶⁾ されている。一方、prospective に IFN 再治療例のみを対象とした豊田らの検討¹⁷⁾ では SVR 率は約 30% と低下している。2001 年からはリバビリン併用療法が主流となったことから、豊田ら¹⁷⁾ の同一検討集団において研究された IFN α -2b とリバビリン併用投与の SVR 率は 70% であり、今回の検討における IFN 既治療例における IFN α +リバビリン投与群の SVR 率 67% とよく一致している。今回の検討における IFN 既治療例に対する PEG-IFN α -2b +リバビリン併用投与の SVR 率は 86% となっており、IFN 既治療例では PEG-IFN α -2b をリバビリンと併用すべきと考えられる。IFN 未治療の genotype 1/低ウイルス量あるいは genotype 2 症例に対する IFN α -2b +リバビリン併用療法の有効性に関するまとまった国内臨床研究はまだ報告されていない。海外における検討では genotype

2/3 を対象としたものであるが投与期間が 24 週あるいは 48 週に関わらず 64～69% と報告¹⁸⁻¹⁹⁾ されている。今回の検討では SVR 率 81% という結果であり、有効性がやや低いとされる genotype 3 を含まないことを考慮すると近似した結果とも考えられる。今回の PEG-IFN α -2b +リバビリン併用投与を用いた IFN 未治療例に対する SVR 率はさらに上昇して 88% という結果であり、海外における 24 週投与で 93%²⁰⁾ という結果とよく一致していた。PEG-IFN 単独投与における genotype 2 の症例に対する国内臨床検討も PEG-IFN α -2a で報告²¹⁾ されているが 180 μ g 投与で 71% (24/34)、低用量の 90 μ g 投与では 50% (9/18) であり、多くの症例では 180 μ g から 90 μ g への減量が必要であることから従来型の IFN 製剤投与時の有効性と大きく異なっていない。したがって、PEG-IFN α -2b とリバビリン併用療法は IFN 未治療の genotype 2 や genotype 1 かつ低ウイルス量の症例においても最強の治療法と考えられる。

次に genotype 別・ウイルス量別に今回の有効性を FAS 解析でみると、genotype 2 で高ウイルス量の症例では PEG/R 群が IFN/R 群に比べて有効性が優っていた。Zeuzem²⁰⁾ らの検討においても genotype 2/高ウイルス量例に対する SVR 率は 91% と今回の検討とほぼ一致している。国内での genotype 1/高ウイルス量例における検討ではリバビリンを併用投与すると投与前のウイルス量は有意な影響因子とはされていない⁹⁾ が、Weiland ら²²⁾ と同じく今回の検討では genotype 2 に限定（データは示さない）してもウイルス量が SVR に対する寄与因子と選択されていた。このため、genotype 2 の症例でも高ウイルス量の症例においてはやはり PEG/R を第一選択とすべきと考える。Genotype 1 かつ低ウイルス量に限定した臨床検討は少ない。飯野は全国アンケート調査の結果¹³⁾ からウイルス排除率は 39% と報告している。PEG-IFN α -2a の国内検討²¹⁾ では 48 週投与ということもあり 50～57% とされている。これら症例に対する IFN α -2b +リバビリンの報告は少ないが、今回の検討では少数例ではあった

が80%のSVR率が認められた。なお、genotype 1/低ウイルス量例に対するPEG-IFN α -2b + リバビリンの6カ月投与の成績として、海外ではZeuzemら²³⁾が50%と報告している。Mannsら²⁴⁾の48週投与時の71%に比べて投与期間短縮のため再燃率が37%にも上昇している結果がSVR率の差に関係していると発表している。今回の成績は少数例であるが80%と高率であった。なお、Zeuzemら²³⁾の検討では投与16週未満と投与期間が不十分であった症例が有効性の低下原因となっており、さらに投与4週以内にウイルスが陰性化していた症例でのSVR率は89%であったことから、24週間投与できればわれわれの成績に近づくものと考えられる。いずれにしても、genotype 1で低ウイルス量の症例にはリバビリンの24週間併用投与が勧められる。

Genotype 2の症例では上記のようにPEG-IFN + リバビリン併用療法の導入により極めて高い有効性が期待できることから、最近の研究は投与期間の短縮化および低投与量の可能性にターゲットが移ってきている。Mangiaら⁴⁾は、PEG-IFN α -2b 1.0 μ g/kg にリバビリンを1,000 ~ 1,200 mg/日併用して、至適投与期間の検討を行っている。Genotype 2の症例にPEG-IFN α -2b の1.0 μ g/kg にリバビリンを併用投与した場合の24週間投与時のSVR率は76%とZeuzemら²⁰⁾のPEG-IFN α -2b を1.5 μ g/kg 投与したときの93%に比べてやや低率となっていた。今回の検討におけるPEG-IFN α -2b + リバビリン併用時ではPEG-IFN α -2b の投与量を減量しても有効性の低下はなかったが、初期は1.5 μ g/kg 投与していたことから、初期投与量の差がこのSVRの低下に関連している可能性も考えられる。なお、PEG-IFN α -2b 1.0 μ g/kg を12週投与した場合のSVR率は82%と24週投与時と大差なく、特に投与開始4週以内にウイルスが陰性化していた症例に限定するとSVR率は89%にまで上昇することから、投与4週以内にウイルスが陰性化した場合は投与期間が12週でも十分有効性が期待できると報告している。別に、投与4週目のウイルス陰性化例を対象に投与期間を14週、あるいは

16週とする試験が進行中^{25,26)}である。また、PEG-IFN の投与量を減量する検討はPEG-IFN α -2a でも行われている²⁷⁾。Genotype 2あるいはgenotype 1で低ウイルス量の症例において投与期間の短縮という観点から今回の成績を検討した。4週以内の投与中止例ではSVR例が見られないことから、少なくとも4週以上の投与は必要で、中止時期が12週以降であれば有効性の低下は低いことから12週以上の投与があれば有効性はある程度確保されると考えられた。服薬率の点からもリバビリンあるいはPEG-IFN α -2b が50%以上投与されておれば90%を越える症例でSVRが得られていることから、12週以上の投与があれば有効性の低下は低いと想定される。ただし、SVRに対する影響因子として、IFN製剤の投与期間および減量の有無が選択されていた。また、genotype 2症例における投与終了後のウイルス再燃要因の検討から、リバビリンの投与期間が短くなると再燃リスクが上昇することも示された。したがって、安易な投与期間の短縮化は避けるべきである。ただし、服薬率が80%未満の症例におけるSVR率は有意ではないもののPEG-IFN α -2b 投与時が高率であり、服薬率が50%を割ってもPEG-IFN α -2b 投与時の有効性の低下はIFN α -2b 投与時に比べて低かった。この結果は両製剤の血中残存性の差を示すものと考えられた。投与量については、減量・休薬時期とSVR率との関係からPEG-IFN α -2b とリバビリン併用投与では有効性の低下がほとんどないことから、PEG-IFN α -2b あるいはリバビリン投与量を減量しても有効である症例の存在が予測され、今後の検討課題と考える。

海外における検討で4週目のウイルス陰性化例では投与期間を短縮できる可能性があることとされることから、ウイルス陰性化時期と効果予測性を検討すると、2週、4週、12週ともPPVはほぼ90%であり、陰性化する症例頻度から考えると海外報告と同じく4週目までのウイルス陰性化が投与期間の短縮を考える上で重要なポイントと判断された。しかしながら、投与4週目におけるNPVは低い。投与早期にウイルスが陰性化した

症例、あるいは服薬率がほぼ100%であった症例からの再燃も確認されている。さらに、投与期間の短縮で再燃率が上昇したと考察されていることから、投与期間の短縮化が期待できるのは特定の集団であり、原則は24週投与が望ましい。

今回の試験期間中に有害事象のため投与が中止となった症例は、PEG-IFN α -2b + リバビリン併用で約20%、IFN α -2b + リバビリン併用で約15%とPEG-IFN α -2b 投与例でやや多い傾向にあった。さらに、genotype 1/高ウイルス量例を対象とした試験⁹⁾における初期24週間の中止率(約12%)と比較しても高率になっていたが、統計学には有意差はなかった。中止原因となった有害事象および中止後の転帰もいずれの群と比較しても差は認められないことから、中止率のわずかな上昇はみかけの数字と考えた。有害事象の発現率もPEG-IFN α -2b 投与例での注射部位反応を除いて両群に差はなかった。ただし、好中球数および血小板数減少については、飯野らが既に報告⁹⁾しているようにPEG/Rでやや強いことから、血球系の有害事象発現が危惧されるような症例に関しては、慎重な薬剤選択が必要である。

5 結論

Genotype 1 かつ低ウイルス量、あるいはgenotype 2 の症例に対してはIFN 単独投与でも一定の有効性が報告されている。今回これらの症例を対象として、世界的にC型慢性肝炎に対する標準的治療とされているPEG-IFN α -2b とリバビリン併用療法の有効性・安全性を、国内ではIFN 既治療例に限って承認されているIFN α -2b とリバビリン併用療法と比較した。研究の目的が非劣性の証明にあったため、症例数の関連からウイルス学的有効性(SVR率)は有意とはならなかったが、PEG-IFN α -2b 投与が優れるという結果が示された。治験薬剤減量例でも有効性の低下はほとんど認められず、投与中止例でも12週以降であれば有効性の低下は低いことから、安全性を考えると投与期間の短縮、あるいは少量からの投与開始も考えられるが、PEG-IFN α -2b あるいはリ

バビリンの投与期間がSVRや投与終了後の再燃に影響を与えること、投与4週目のNPVは低率であることから、これらは今後の検討課題である。今回の結果からは、短期の週1回投与で十分な有効性を確保することが可能という点から、抗ウイルス剤の有効性が高いとされるgenotype 1/低ウイルス量やgenotype 2 の症例に対してもPEG-Intron 1.5 μ g とリバビリン併用療法が推奨される。

文 献

- 1) EASL international Consensus Conference on Hepatitis C. Paris 26–28 Feb. 1999 Consensus Statement. *J Hepatol* 30: 956–961, 1999
- 2) National Institutes of Health. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement—Management of Hepatitis C. *Hepatology* 36: S3–S20, 2002
- 3) Strader DS, Wright T, Thomas DL et al: AASLD practice guideline. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 39: 1147–1171, 2004
- 4) Mangia A, Santoro R, Minerva N et al: Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 352: 2609–2617, 2005
- 5) Zeuzem S, Pawlotsky JM, Lukasiewicz E et al: International, multicenter, randomized, controlled study comparing dynamically individualized versus standard treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 43: 250–257, 2005
- 6) Buti M, Lurie Y: Extending combination therapy with Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for genotype 1 chronic hepatitis C late responders: a report of 9 cases. *Hepatology* 37: 1226–1227, 2003
- 7) Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P et al: Longer treatment duration with Peginteron alfa-2a (40KD) (Pegasys) and ribavirin (Copegus) in naïve patients with chronic hepatitis C and detectable HCV RNA by week 4 of therapy; Final results of the randomized, multicenter TERA-VIC-4 study. *Hepatology* 40 (suppl. 1): 218A, 2004: abstract 126.
- 8) Payen C, Roudot-Thoraval F, Marcellin P et al: Changing of hepatitis C virus genotype patterns in France at the beginning of the third millennium: the GEMHEP GenoCII study. *J Viral Hepatitis* 12: 405

- 413, 2005
- 9) 飯野四郎, 沖田 極, 小俣政男, 他: Genotype 1 かつ高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する PEG-インターフェロン α -2b とリバビリン 48 週併用投与の有効性-インターフェロン α -2b とリバビリン 6 カ月併用療法との retrospective な比較. 肝胆膵 49: 1099-1121, 2004
 - 10) 林 紀夫, 熊田博光: 肝疾患における recommendation 1. C 型肝炎. コンセンサス肝疾患治療 2004. アークメディア, pp11-18
 - 11) 熊田博光: B 型及び C 型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究. 総括研究報告. 厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業 (肝炎分野). 平成 16 年度 総括・分担研究報告書, 2005. pp1-12
 - 12) Ikeda K, Saitoh S, Kobayashi M et al: Distinction between chronic hepatitis and liver cirrhosis in patients with hepatitis C virus infection. Practical discriminant function using common laboratory data. Hepatol Res 18: 252-266, 2000
 - 13) 飯野四郎: C 型慢性肝炎に対するインターフェロン療法の効果に関するアンケート調査. 厚生省非 A 非 B 型肝炎研究班 平成 7 年度研究報告書, 1996. pp72-73
 - 14) Akuta N, Suzuki F, Tsubota A et al: Efficacy of interferon monotherapy to 394 consecutive naïve cases infected with hepatitis C virus genotype 2a in Japan: therapy efficacy as consequence of tripartite interaction of viral, host and interferon treatment-related factors. J Hepatol 37: 831-836, 2002
 - 15) Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K et al: Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. Hepatology 27: 1394-1402, 1998
 - 16) Yabuuchi I, Imai Y, Kawata S et al: Long-term responders without eradication of hepatitis C virus after interferon therapy: characterization of clinical profiles and incidence of hepatocellular carcinoma. Liver 20: 290-295, 2000
 - 17) 豊田成司, 妻神重彦, 安田清美, 他: インターフェロン無効または再燃した C 型慢性肝炎に対するインターフェロン α -2b と SCH10908 (リバビリン) の併用投与とインターフェロン α -2b 単独投与の比較-二重盲検群間比較法を用いた併用効果の検討. 臨床医薬 18: 539-563, 2002
 - 18) Poynard T, Marcellin P, Lee SS et al: Randomised trial of interferon α 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon α 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. Lancet 352: 1426-1432, 1998
 - 19) McHutchison JG, Gordon ST, Schiff ER et al: Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. N Engl J Med 1485-1492, 1998
 - 20) Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M et al: Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. J Hepatol 40: 993-999, 2004
 - 21) 堺 隆弘, 小俣政男, 飯野四郎, 他: Ro25-8310 (ペグインターフェロンアルファ-2a) の C 型慢性肝炎に対する第 II 相臨床試験. 医学と薬学 50: 655-672, 2003
 - 22) Weiland O, Freid MW, Hadzyannis SJ et al: Peginterferon α -2a (40kD) plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C and genotype 2 or 3 infection: individual estimated probability of sustained virological response. J Hepatol 42 (suppl.2): 226-227, 2005: abstract 619
 - 23) Zeuzem S, Esteban-Mur R, Ferenci P et al: Efficacy of 6 months treatment with PEG-Interferon α -2b plus ribavirin (P/R) in patients infected with hepatitis C with genotype 1 of low viral load (G1LVL). J Hepatol 42 (suppl.2): 229, 2005: abstract 625
 - 24) Dalgard O, Bjoro K, Hellum K et al: Short (14 weeks) treatment with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin in patients with hepatitis C genotype 2/3 virus infection and early virological response. Hepatology 40 (suppl.1): 252A, 2004: abstract 197
 - 25) Von Wagner M, Huber M, Berg T et al: Randomized multicenter study comparing 16 vs. 24 weeks of combination therapy with peginterferon alfa-2a plus ribavirin in patients chronically infected with HCV genotype 2 or 3. Hepatology 40 (suppl.1): 725A, 2004: abstract LB02
 - 26) Bozorg B, Kleiner DE, Pawlotsky JM et al: Early viral kinetics during treatment with low doses of peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 2 and 3. Hepatology 40 (suppl.1): 340A, 2004: abstract 404

ウイルス感染と バイオディフェンス

—注目される補中益気湯の可能性—

監修・取材先

服部 俊夫 先生 東北大学大学院医学系研究科感染症・呼吸器病態学 教授

取材先

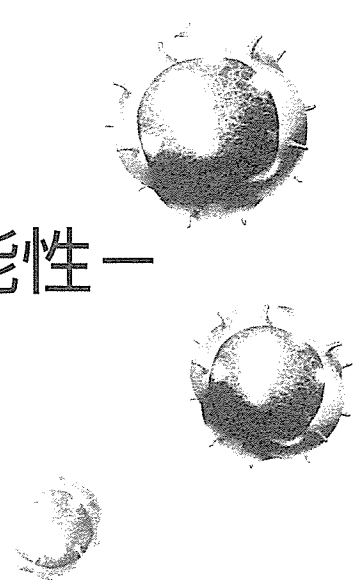
巽 浩一郎 先生 千葉大学大学院医学研究院加齢呼吸器病態制御学 助教授

資料協力先

岩垣 博巳 先生 岡山大学医学部・歯学部附属病院消化管外科 講師

取材・構成

佐久間光江 (医学ライター)



HIV、SARS、鳥インフルエンザ。医学が進歩してもなお、人類はウイルス感染の脅威にさらされ続けている。SARSについては一応の落ち着きをみたが、HIV、そしてインフルエンザのパンデミックに対して、果たして人類は勝利することができるのだろうか。

微生物との緊張感ある闘いのなかで、効果的なバイオディフェンス製剤を求めてさまざまなアプローチが試みられている。既存の薬剤や植物成分の見直しもその一つである。そのなかで、漢方薬も有効性が期待されるものとして研究対象になっている。

ここでは、かねてより免疫賦活作用が報告されている補中益気湯(TJ-41)を中心に、バイオディフェンスの視点で漢方薬の位置付けを考える。

今回、東北大学大学院感染症・呼吸器病態学の服部俊夫氏、千葉大学大学院加齢呼吸器病態制御学の巽浩一郎氏にお話を伺い、岡山大学医学部・歯学部附属病院消化管外科の岩垣博巳氏に資料協力をいただいた。

「Open Sesame」
—開けゴマ—
ウイルスエンタリーの
呪文が破られるとき

今年(2006年)、Cell、JAMAに相

次いでウイルス学の注目すべき論文が掲載された。Cell掲載の「Virus Entry: Open Sesame」というタイトルを冠した論文¹⁾は、ウイルス感染経路について最新の知見をレビューしたもので、標的細胞表面にあるウイルス受

容体とウイルス膜との結合、ウイルスの刺激による細胞内シグナリング、エンドサイトーシスによるウイルス侵入経路などが明快に解説されている(図1)。ちなみに、インフルエンザウイルスはこの図が示すB、風邪の原因ウイ

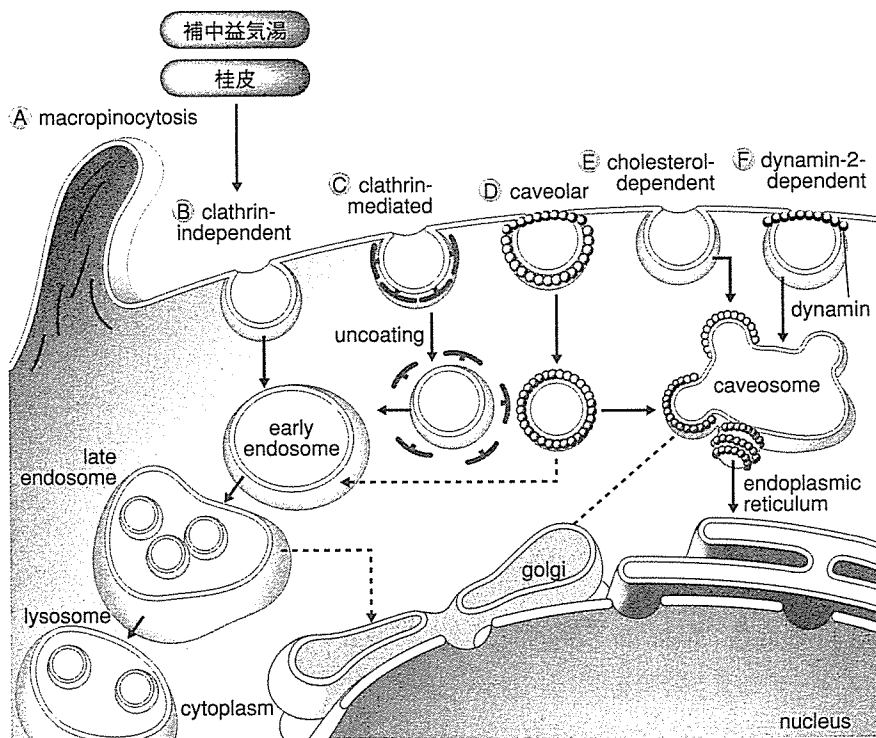


図1 ウイルス進入経路 文献1より引用、改変

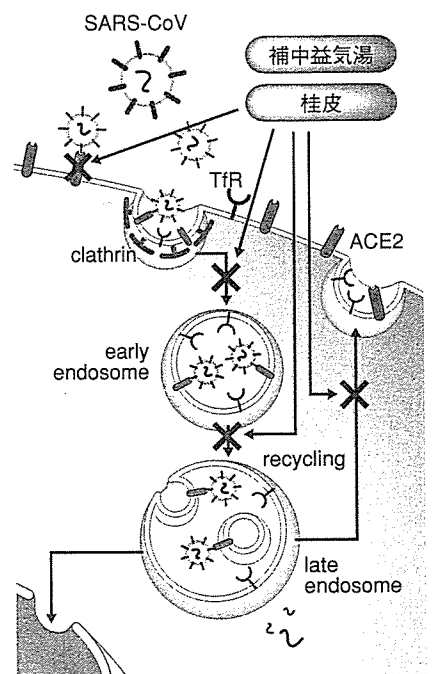


図2 生薬によるエンドサイトーシスの調節の可能性

ルスで最も多いとされるコロナウイルスは主にDの経路で細胞内に侵入すると考えられている。

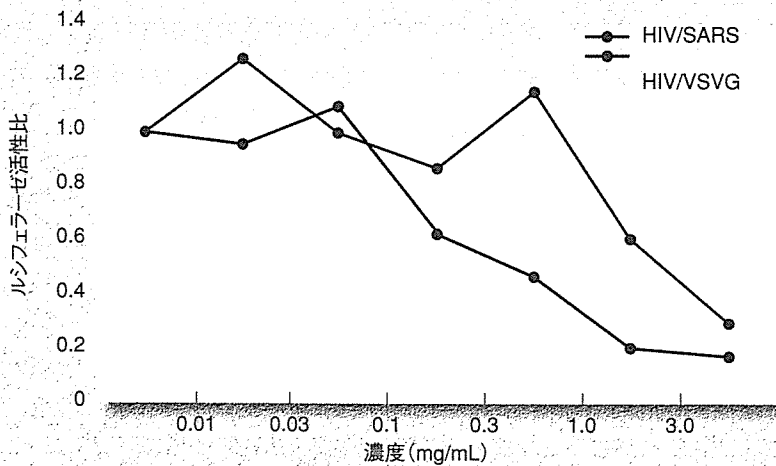
こうしたウイルスエンタリー、すなわちウイルスが細胞内に侵入する経路の解明は、エンタリーインヒビターという新しいアプローチの抗ウイルス薬開発には欠かせない。例えば、HIV感染はウイルス表面のスパイク蛋白gp120と標的細胞表面の受容体CD4が結合し、gp120-CD4複合体がさらに細胞表面のケモカイン受容体と結合することでウイルス膜と標的細胞膜との融合が起こる。この融合を、ケモカイン受容体をブロックすることで阻害

しようという設計で、いくつかの薬剤が開発段階にあり、そのうち一つはすでに上梓に至っている。ウイルスエンタリー経路の詳細な分析は、ウイルスインヒビターのターゲットをより細かく絞り込み、特異的な阻害作用を得ることになる。

服部氏は、これまで一貫してウイルスエンタリー阻害による抗ウイルス作用に焦点を当てて、さまざまな成分について精力的な研究を進めてきた。検討した成分には、感染防御作用が指摘される漢方薬の構成生薬や、HIV感染患者に対する臨床効果が報告されているアフリカ原産の植物エキスなども含

まれている。また、技術面でもウイルスエンタリーを高感度に測定する実験系も確立している。これはルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだレポーター遺伝子にウイルスの外膜糖蛋白遺伝子を導入して外膜のスパイク蛋白を発現する疑似ウイルスを使うもので、この実験系ではルシフェラーゼ活性を測定することでウイルスエンタリーを詳細に評価することができる。

こうした研究アプローチによって服部氏はこれまでに、漢方薬の補中益気湯や生薬の桂皮などがウイルス感染の抑制効果を示すこと、なかでも桂皮および子エキスがHIV/SARS疑似ウイ



ルス感染に対し濃度依存性に抑制効果を示すことを明らかにしている²⁾。

特に桂皮エキスの抑制効果は大きく、多種類のウイルス感染に対し阻害作用を示すことから、桂皮エキスは「ウイルス感染の共通部分に作用している可能性」が考えられる。そこで服部氏は、桂皮成分がエンドサイトーシスの諸相に抑制的に作用しているとの仮説を立て、より詳細な研究を進めている(図2)。

図3 HIV/SARS疑似ウイルスに対する補中益気湯の抑制効果

補中益気湯はHIV/SARSおよびHIV/VSIGを用量依存的に抑制した。(庄敏・服部俊夫)文献2より引用

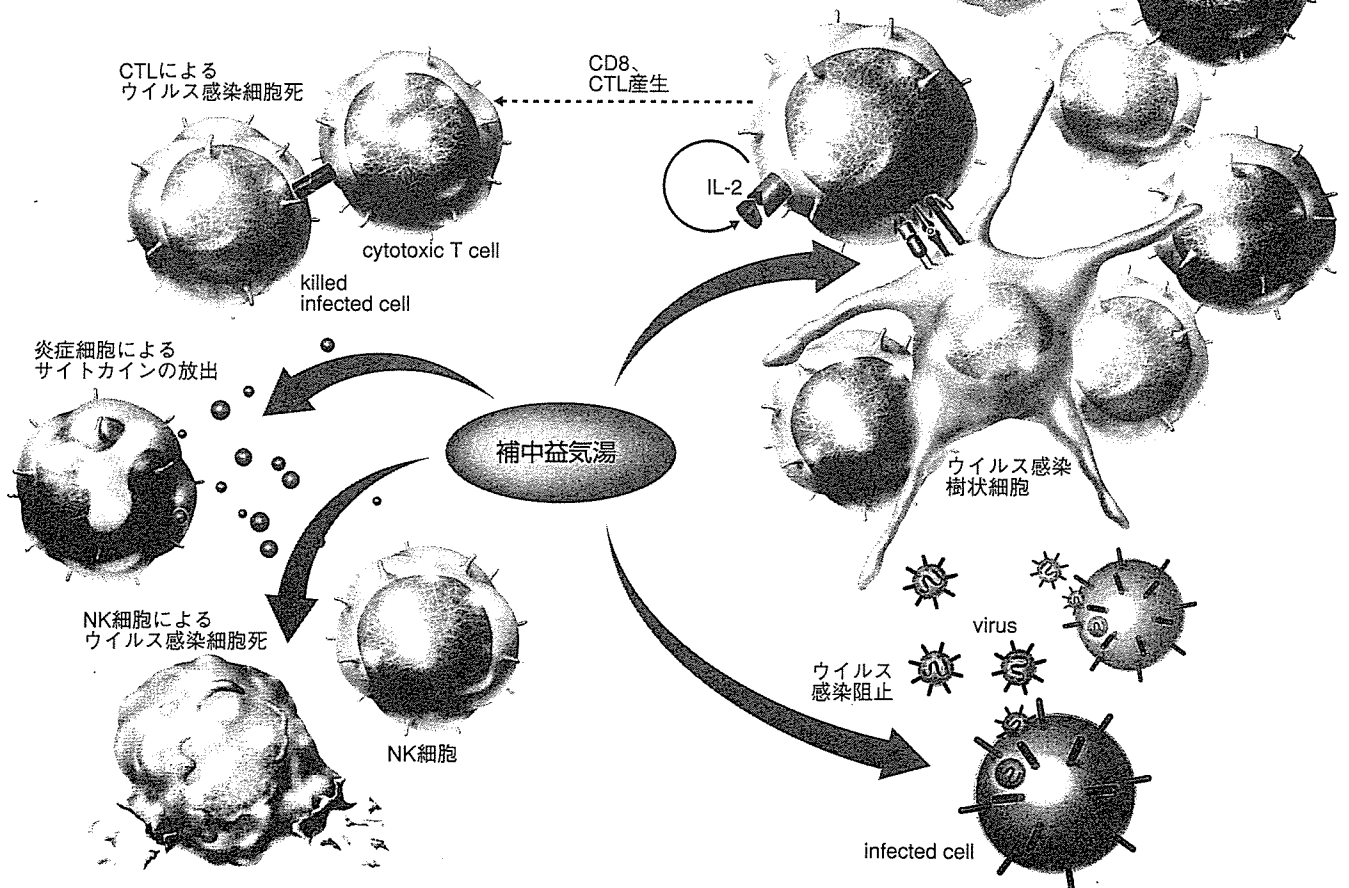


イラスト 補中益気湯の作用機序 (監修: 服部俊夫)

さらに同様の実験系で補中益気湯についても検討を行ない、桂皮と同様のウイルス感染抑制効果を補中益気湯に認めている(図3)。これについて服部氏は補中益気湯の構成成分である柴胡・黄耆が特に抗ウイルス作用に参与している可能性を指摘している。

「ウイルス量はHIV感染予後因子にあらず」の衝撃

もう一つの論文は、今年のJAMA 9月27日号に載った「Predictive Value of Plasma HIV RNA Level on Rate of CD4 T-Cell Decline in Untreated HIV Infection」である³⁾。これは、1984-2004年間に行なわれた約3000人対象のコホートスタディで明らかになった、HIV感染者の未治療段階での血清ウイルス量はその後のAIDS発症の予後予測因子にはならない、という解析結果である。この論文に対し、かつてHIV感染者のウイルス量がAIDS発症と生命予後を規定するとの論文を掲載したScienceが9月29日号でコメントを発表したのをも、その論文の衝撃の大きさがうかがえる。JAMA掲載の論文の考察では、CD4T細胞の減少を規定するのはウイルス量ではなく他の因子-まだ確定はできないがおそらくは長期間の炎症持続状態の関与を示唆している。

服部氏はこの論文について「ウイルス量と予後は必ずしも一致しないということは、多くの臨床家が感じていたことで、その間を埋める因子として、全身性炎症の持続が指摘されたことに

なる」と評価。慢性ウイルス感染におけるバイオディフェンスを考えるうえで、炎症反応という新たなターゲットが提示されたのである。

全身性炎症抑制作用を補中益気湯で確認

全身性炎症の持続については、一見ウイルス感染とは関係のない領域でも興味深い報告がある。

その一つが、慢性閉塞性肺疾患(COPD)を全身性炎症としてとらえ、その対策として補中益気湯の有用性を検討した千葉大学の巽氏の研究である。

かつてのCOPDの疾患概念は、気道炎症と肺泡破壊という局所病変を背景にした、進行性で非可逆性の一秒量低下を病態の本質としてとらえるものだった。しかし、2004年にCelliにより、%FEV1・BMI・運動能力・運動時の息切れの4項目を指標としたBODE indexがCOPD患者の予後予測因子となることが報告⁴⁾された頃から、COPDは全身性疾患として認識されるようになり、特に栄養状態と予後の関係が注目されるようになってきた。

巽氏は、COPD患者では気道炎症反応で生じた炎症性サイトカインが他組織におよび、全身性の炎症反応を惹

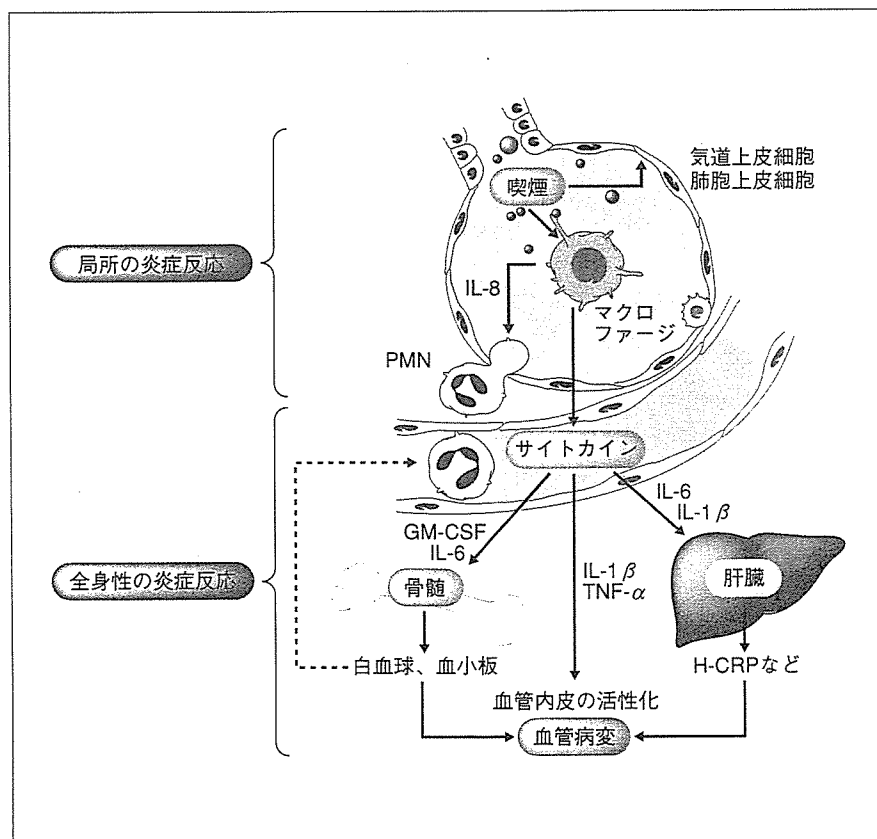


図4 COPDと全身性炎症

起しているとの考えに立ち(図4)、呼吸器疾患症状(SGRQのSymptom score)、漢方医学的な体調評価(気虚スコア)、感冒回数、急性増悪回数、炎症指標⁵⁾(高感度CRP、TNF- α 、IL-6)、栄養指標(プレアルブミン、レプチン)、動脈硬化指標(高分子量アディポネクチン)を評価項目として、COPD患者に対する補中益気湯の効果を調べた。対象はCOPD症例35例で、うち17例に補中益気湯を投与し、18例を対照群とした。その結果、補中益気湯投与群ではSGRQのSymptom scoreおよび気虚スコアが改善し、感冒罹患頻度、急性増悪頻度が抑制され(図5)、高感度CRPおよびTNF- α 値の低下が認められた。また、%一秒量と各種炎症指標とは負の相関がみられ、COPDが重症化するほど全身性炎症反応が強まっていることが示唆された。こうした結果は、COPDの病態は栄養状

態および全身性炎症反応と深く関与し、補中益気湯はCOPDの栄養状態を改善し、全身性炎症反応を抑制している可能性を示唆するものといえる。

また、動脈硬化指標のアディポネクチン値も補中益気湯群で改善が認められた。これについて巽氏は、「近年、動脈硬化を血管壁の炎症反応としてとらえるようになり、また欧米ではCOPD患者に心血管イベントの発症頻度が高いという指摘がある。そういう意味でもCOPDを全身性炎症反応とする考え方は示唆に富んでいる」と、炎症反応に関与している可能性を指摘した。

過剰な炎症を抑え、免疫抑制を是正

このように、全身性炎症反応の抑制効果が指摘された補中益気湯だが、その一方で従来からNK細胞の活性化や

CTL免疫誘導といった免疫賦活作用も知られている(図6)。

ここで一つの疑問が生じる。一般に免疫応答は炎症反応をともなうものである。果たして補中益気湯の抗炎症作用と免疫賦活作用は両立するものなのだろうか。

これについては、岡山大学の岩垣氏の周術期患者に補中益気湯を投与したデータが一つの答えを示している。進行胃・大腸癌患者を対象とし、補中益気湯の術前投与が術後の全身性炎症反応症候群(SIRS)とそれに引き続き起こる代償性抗炎症反応症候群(CARS)への影響をみたもので、これによると、補中益気湯群では手術後の体温上昇が非投与群に対し抑えられ、術後感染症併発率(術後予防投与に用いた抗菌薬とは異なる抗菌薬を術後2週間以内に投与した症例を術後感染症併発と定義)も補中益気湯群で有意

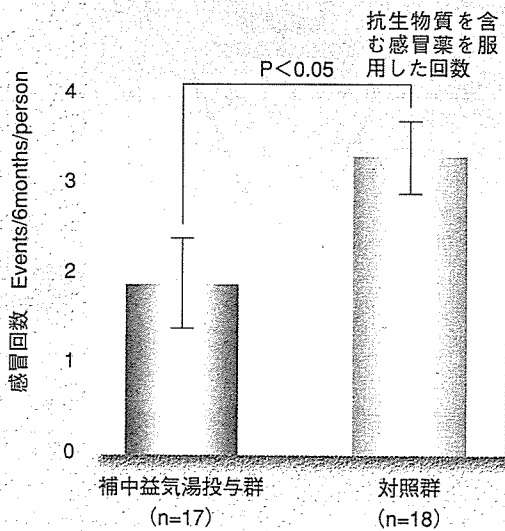


図5 COPD患者に対する補中益気湯投与群と対照群での感冒罹患頻度

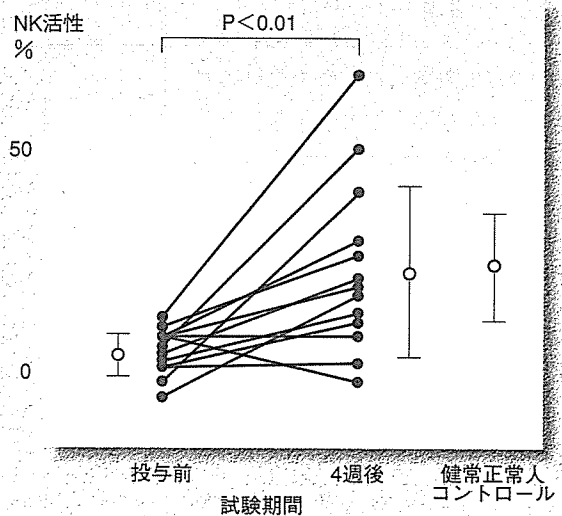


図6 NK活性低値例における補中益気湯の効果

に減少していた(図7)。このデータは、補中益気湯が術後の過度の炎症反応および免疫低下をどちらも改善していることを示すものといえる(図8)。

こうした補中益気湯がもつ作用の多面性について服部氏はこう述べる。「漢方は体内の環境バランスを整える方向で作用します。補中益気湯が免疫賦活作用・抗ウイルス作用・抗炎症作用を併せもつことを示すこれらのデータは、同剤が生体防御に有利な状態に体内環境を整える方剤であることを示しているといえます」。

ここで紹介したデータの他にも、補中益気湯についてはインフルエンザ感染マウスの生存率向上、感冒(ライノウイルス)感染抑制、ヘルペスウイルス感染抑制、タバコ刺激に対する抗炎症効果、などの報告もある。こうした作用は同剤の多面的作用によるバイオディフェンス増強作用によるものといえるだろう。

● ● ● ● ●

ひたひたと着実に広がりを見せる鳥インフルエンザの人への感染例、そしてHIV感染は世界的に増加の一途をたどっている。バイオディフェンスを増強する手段は、選択肢は多いほど人類にとっては好ましい。服部氏らが取り組む、こうした漢方薬の薬理効果の新たな解明に、多くの期待が集まっている。

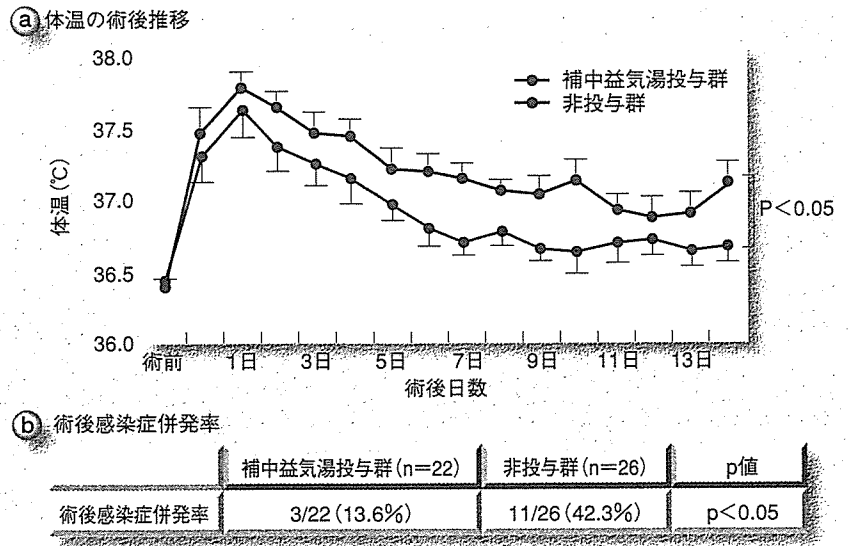


図7 体温の術後推移と術後感染症併発率に対する補中益気湯の効果

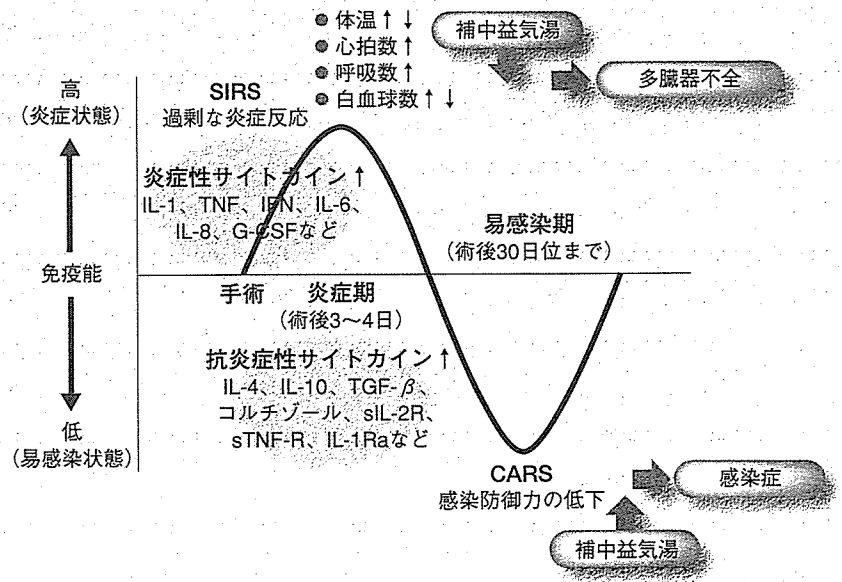


図8 術後侵襲による炎症反応・感染防御力低下に対する補中益気湯の可能性

文献

- Marsh M, Helenius A. Review Virus Entry: Open Sesame Cell. 2006; 124: 729-40.
- インタビュー 感染症と漢方薬の抗ウイルス作用.漢方医学 2006;30,1:11-3
- Rodriguez B. et al. Predictive value of plasma HIV RNA level on rate of CD4 T-cell decline in untreated HIV infection: JAMA. 2006; 296: 1498-506.
- Celli BR, et al. The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease. N Engl J Med. 2004; 350: 1005-12.
- Shinozuka N, et al. The traditional herbal medicine hochuekkito improves systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Journal of the American Geriatrics Society. in press

※図7は別刷制作時に追記したものです。

増え続ける HIV 感染症

Key Words

HIV の感染と 増殖のメカニズム

HIV
AIDS
CD4
CCR5
CXCR4

服部 俊夫*1 芦野 有信*1
宇佐美 修*1 吉田 里佳*2

*1 東北大学大学院医学系研究科感染症・呼吸器病態学分野
*2 大阪府赤十字血液センター研究部

はじめに

後天性免疫不全症候群 (AIDS) は、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) に感染したことによって発症する。このウイルスに感染すると、宿主は、いったんウイルスの増殖を許し急性期 HIV 症候群を示す。初期には抗 HIV 抗体は陰性であるが、徐々に、宿主側の免疫反応によりウイルスの増殖を抑え始め 2~3 週後から、抗体は陽性となる。しかし、ウイルスを排除しきれずウイルスと免疫が均衡を保った状態が 10 年程度続く。この時期は無症候性キャリア (AC) 期とよばれ、HIV はゆっくり増え、産生量も少ない状態を示す。宿主細胞へ侵入するコレセプターとしては CCR5 を使用する。やがて免疫とウイルス増殖との均衡がくずれ、生態の免疫の負ける時期を迎え AIDS の発症となる。このときの HIV は、早く増殖し生産量も多くコレセプターとしては CXCR4 を使うようになる。しかし病態は一定しておらず、CCR5 のままで感染後 AIDS を発症するや、すぐに AIDS 期になる者から 15 年以上も AC 期が長く続く長期未発症者の存在もあり増殖メカニズムがすべて解明され

ているわけではない。

本稿では、現在まで解明された HIV の細胞内への侵入とウイルスの複製の一般に述べられているメカニズムについて記述する。

ウイルスの遺伝子

まず、複製には欠かせない遺伝子やその蛋白であるが、HIV には 9 個の遺伝子が存在するが、このうち 5 個 (*gag*, *pol*, *env*, *tat*, *rev*) はウイルス複製に必須であり、ほかの 4 つはアクセサリ遺伝子 (*vif*, *vpr*, *vpu*, *nef*) とよばれ必ずしも必要とされないとされてきた。このような遺伝子やあるいは遺伝子からつくられる蛋白質 (大文字で表す) の働きによって、ウイルス産生量、スピード、宿主細胞の破壊のそれぞれの程度が決定され、HIV の増殖に深く関わっている。

HIV の増殖はウイルスの受容体への結合に始まり、integration, maturation を経て、発芽に至る。その機構に基づいた増殖阻止薬を多数使用することにより HAART 治療が可能になり、死亡者数が激減している。本稿では感染初期の機構を中心に概説し、まだ薬剤としてあまり開発されていない、entry inhibitor

についても触れる。

感染における分子機構

1. gp120 の構造と機能

HIV 表面には gp120 と gp41 という糖鎖に富むエンベロープ蛋白が存在し、CD4 陽性 T 細胞と HIV が結合する際にはこれらエンベロープ蛋白が中心的な役割を果たす。エンベロープ蛋白は HIV に抗体が結合するうえで標的となる分子でもあり、ワクチン開発の主要な標的ともなっている。HIV-1 表面のエンベロープ蛋白は、gp120 と gp41 がそれぞれ三量体を形成しているとされる。gp120 が受容体に結合し、gp41 がその後の fusion を生ずる。gp120 が結合する標的細胞表面のレセプター分子は、CD4 とケモカイン受容体 (CCR5, CXCR4) である。CXCR4 と結合する HIV 株は T-tropic とよばれ、おもに活性化 T 細胞に感染する。また、CCR5 と結合する HIV 株は M-tropic とよばれ、おもに静止期 T 細胞やマクロファージに感染する。また、CXCR4, CCR5 どちらのコレセプターも利用することのできる株もあり、Dual-tropic とよばれている。また、CXCR4, CCR5 以外のコレセプ

ターを使用する株も同定されている。まず gp120 が CD4 分子と結合し、構造変化を生じ、R5 ウイルスではおもに V3 ループを介して CCR5 と結合することができると思われる。

CD4 分子と結合した gp120 の構造解析では、観察すると予想どおり V3 ループが gp120 コアから 30 オングストローム外側に飛び出していることが明らかにされた¹⁾。一方で電子顕微鏡を用いた解析では、確かに gp41 の 3 本の柱によって gp120 の三量体が形成されていることが直接可視化された。また、一つのウイルス粒子当たりの三量体エンベロープ粒子は、14 個以下と予想外に少ないことも明らかになっている²⁾。これらの感染に重要な分子を標的にした感染阻止薬が考案されているが、臨床の場を用いるとあまり有効な効果が上がらない (図 1)。おそらく gp120 が変異し、その機能を変えることができるためであり、これは後述するように gp120 の抗体が病態の進行と関連がないようにみえることとメカニズムは似ていると思われる。

2. gp41 の構造と機能

gp120 の経時的なレセプター分子への結合

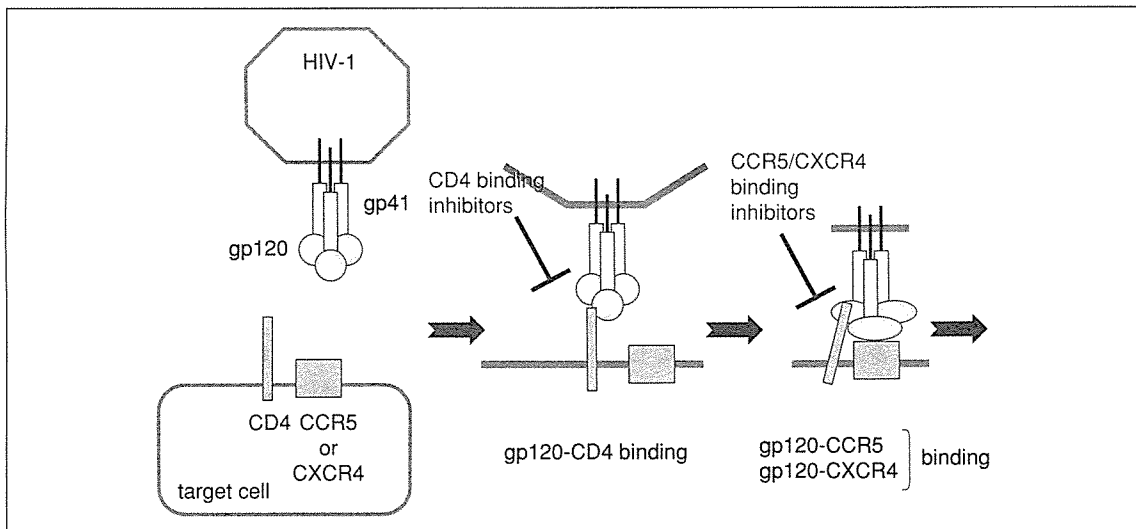


図1 gp120 と受容体

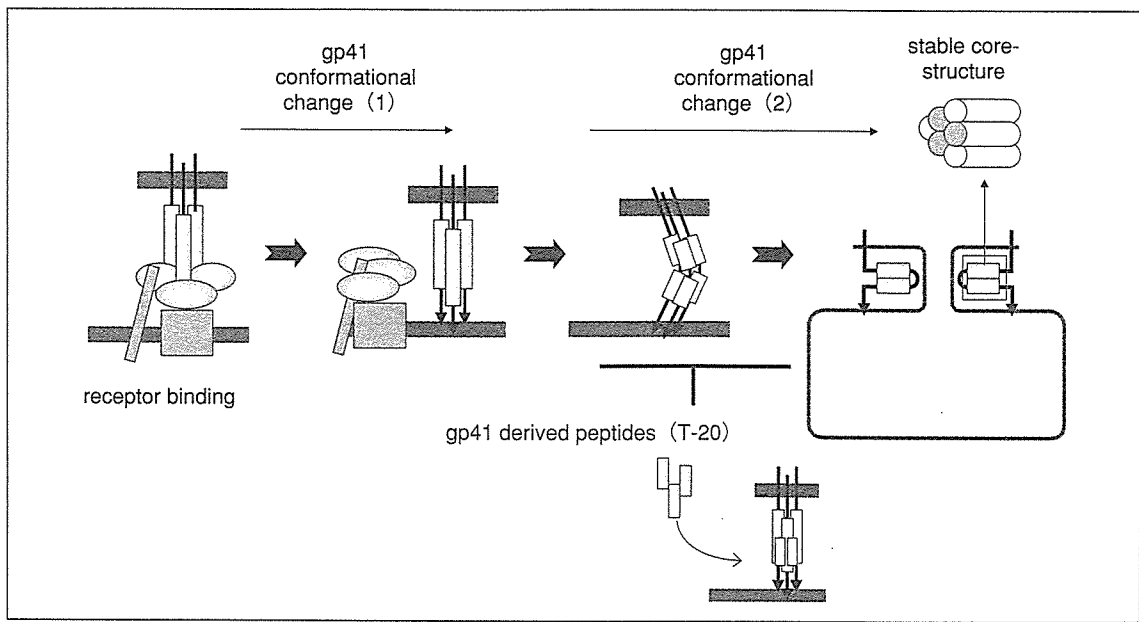


図2 gp41 とその立体構造

により、gp41 の活性化が生ずる。gp41 三量体は先端に疎水性アミノ酸配列を有し、これが融合ペプチドとして標的細胞膜と融合する。gp41 は立体構造変化を起こし、中間体を経て fusion core をもつ post-fusogenic gp41 となる。この際に放出される熱エネルギーが膜融合に使用されるとされている。十分な数の gp41 が (必要な数はわかっていない) 膜融合を果たすと、HIV と標的細胞の間に pore が生じ、これによって HIV の感染が成立する。gp41 が立体構造変化を起こしていく過程が近年明らかとなってきた。fusion core を生ずる立体構造は2つのアルファヘリックス領域 (DP107, DP178 というペプチド名称をもつ) によるコイル-コイル構造である。しかし、DP178 (T20) を培養液中に添加するとそのコイル-コイル構造をとることができなくなり、感染が阻止される。すでにこのペプチドは臨床の場合においても使用されているが、gp41 の立体構造変化を阻止することが唯一の機構か否かは不明である (図2)。

抗エンベロープ抗体の意義

これらの現状を踏まえ、受容体に結合する gp120 を標的とした、entry inhibitor と抗体の実用化が目指されてはいるが、その道のりは平坦ではない (表1)。感染個体はこれらのエンベロープ蛋白に対して抗体を産生する。抗体に関していえば、たとえば無治療で CD4 数の低下しない群と、HAART 治療により CD4 細胞数が上昇している群では、自己由来のウイルスに対する中和抗体価は、ほとんど差が認められない。これらのことは病態の安定化に高い中和抗体価は不要であることを示している³⁾。また、一方で高い中和抗体価はウイルスの不要な変異を促進する可能性もある。gp120 の V3 ループに対する抗体は強い中和活性をもつことが知られているが、HIV は中和抗体から逃れるための巧妙な仕組みをもっている。近年、中和抗体に耐性ウイルスをもつ遺伝子配列を解析した結果、中和エピトープ以外の部位にも耐性を獲得できる変異があることがわかってきた。これは glycan shield

表1 HIV entry inhibitors

inhibitory target	inhibitors	available drugs
receptor binding	anti-gp120 antibodies	<i>on developing</i>
	receptor antagonists	<i>on developing</i>
fusion	anti-gp41 antibodies	<i>on developing</i>
	gp41 derived peptides	Enfuvirtide (T-20)

長所：細胞膜表面が作用点 →細胞を非感染状態に保つ
→薬剤デリバリーがしやすい

短所：Env は変異しやすい。受容体は生理的に重要

とよばれ、中和エピトープから離れた部位の変異によって、gp120 を覆っている糖鎖の配置が変化するために中和抗体が結合できなくなるという。一方で予想されていることは、gp120 が立体構造変化を起こすことにより重要な抗原性を隠すことにより、抗体が効きにくいということも考えられる。

CD4 非依存性 HIV の存在

これらのウイルスの究極の形として、CD4 非依存性に標的細胞に感染しうる HIV 株が発見されている。筆者らも CD4 数の著明に減少したニューモシステイス患者より HIV を単離した (SDA-1)⁴⁾。SDA-1 は CD4 が陽性細胞の細胞に感染する場合には多様な補受容体 (CXCR4, CCR5, CCR3, CCR8) を使用するが、CD4 抗原非存在下では CXCR4 のみを用いて感染するという特性をもつ。

このように CD4 細胞数が著減した患者において、CD4 非依存性の HIV が存在することなどは、gp120 が受容体 inhibitor の存在下ではその受容体を使用しない方向への変異が進むことも示唆され、治療の困難さを予想させる。

感染後の HIV の増殖メカニズム¹⁾²⁾

1. プロウイルスの誕生

脱核後ウイルスによって持ち込まれた tRNA をプライマーとしてウイルス逆転写酵

素 (RT) により RNA は逆転写 (revers transcription) され、2 本鎖 DNA が作られる。その後、まずアクチンと結合し、逆転写された 2 本鎖 DNA は、インテグラーゼ (IN: 宿主の染色体に己の DNA を組み込ませる)、マトリックス蛋白 (MA: Gag 蛋白の一部でエンベロープ内側に存在する)、Vpr 蛋白質 (細胞を G2/M 期に停止させ病原性にかかわる) などと複合体 (preintegration complex: PIC) を形成し、細胞内の微細管に沿って核膜を越えて核内に移動 (integration import) する。そしてこの IN の働きにより核内で宿主染色体 DNA 鎖に転位結合する (integration)。このようにして染色体上にできたウイルス DNA をプロウイルスという⁵⁾。

2. ウイルス RNA の合成と蛋白合成

染色体上にウイルス DNA を組み込むことにより、ウイルス遺伝情報は極めて安定となる。プロウイルスから合成されるウイルス RNA は、細胞染色体 DNA にコードされる mRNA と全く同じように合成され、これが己の子孫の設計図となる。ウイルス RNA へは NF- κ B などの細胞転写因子を使って変換される (transcription) が、1 分子のプロウイルスが、数千分子のウイルス RNA へ変換合成される。転写により合成されたウイルス RNA は、分子量の違いにより 2.0kb, 4.0kb, 9.2kb の分子がある。2.0kb は、低分子量であるので核膜孔を受動的に通過し、細胞質のリボゾームに達し、Tat 蛋白と Rev 蛋白質にそれ

ぞれ翻訳される。高分子 RNA である 4.0kb, 9.2kb の RNA は単独では核膜孔を通過できず、核外移行因子と RanGTPase と先に核外翻訳された Rev 蛋白の作用により能動的に核膜孔を通過でき (RNA export), ウイルス構造蛋白の翻訳 (translation) が実行される。

合成された蛋白のうち、ウイルス粒子を形作る Gag 蛋白と次の感染過程に必要な酵素群 (RT, IN) のそれぞれの前駆体 (GagPol) は、細胞質において多量体形成し、さらに粒子内に package されるウイルス RNA と結合して (RNA encapsidation) 細胞質膜に移行する。そして、それを取り囲むエンベロープ蛋白質は ER, そしてゴルジ体を経て糖鎖修飾され、T 細胞では細胞質膜の脂質ラフトにおいて、マクロファージでは細胞内の late

endosome に輸送され encapsidation された RNA と会合し最終的にウイルス粒子として組み立てられる (assembly)。

3. 新たなウイルスの誕生

ゲノムが内包されたウイルス粒子が細胞内より細胞外に出芽 (budding) し遊離され、新たなウイルスが誕生する。この過程は、培養細胞で Gag を単独発現させるだけでウイルス様粒子が培養上清に産生させることがわかっており、出芽に必要な十分なエレメントは Gag に存在することが示唆されていた。HIV の機能領域は Gag 蛋白の C 末端の p6 領域がそれである。

また、これと相互作用する宿主因子としてリソゾームにおいて蛋白分解の過程に関わる ESCRT (endosomal sorting complex required

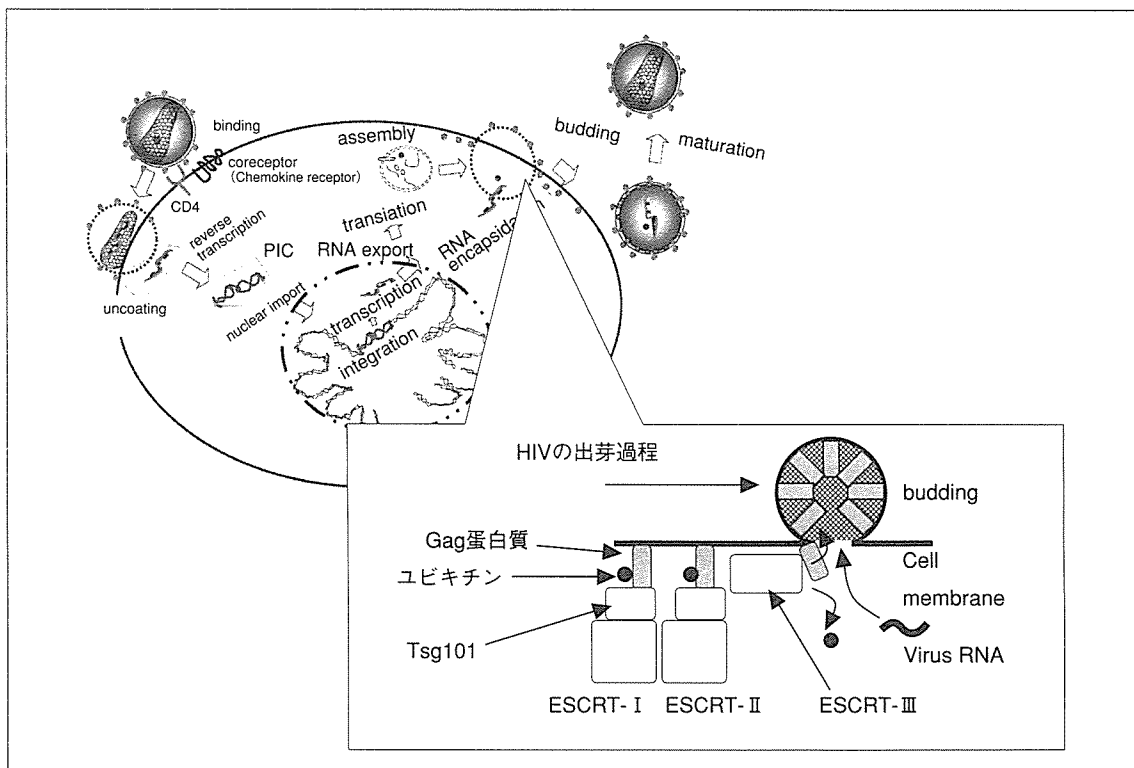


図3 HIVの増殖メカニズム

HIVの宿主細胞への結合 (binding) → 脱核 (uncoating) → 逆転写 (reverse transcription) → ウイルス DNA の核への移行 (nuclear import) → 宿主 DNA への組み込み (integration) → プロウイルスからの転写 (transcription) → ウイルス RNA の核外移行 (RNA export) → 翻訳 (translocation) → 細胞膜での蛋白の集合 (assembly) → ウイルス RNA の取り込み (RNA encapsidation) → ウイルスの発芽 (budding) → 成熟 (maturation) → 再感染

for transport) -I の構成成分である Tsg101 (tumor susceptibility gene 101) が同定されている。Tsg101 の生理機能としては、細胞内分子輸送、転写制御、細胞周期調節がある。そして endosomal における Multivesicular body (MVB : エンドゾーム膜の内空側陥入によって形成される小胞) sorting に関わっている。MVB sorting とは、ある種のユビキチン化蛋白質を積み荷として認識しエンドゾーム膜に輸送した後 MVB に積み荷を封入するという細胞内輸送系である。普段は、われわれはこの過程を細胞表面のレセプター脱感作や、ある種の酵素のプロセッシングに使っている。ウイルスはこの小胞化形成を利用し発芽すると思われる。まず、ESCRT-I 構成因子の一つである Tsg101 は、MVB sorting の初期過程で働き直接ユビキチン化された Gag 蛋白 P6 蛋白質と結合し Gag と ESCRT-I の複合体を作り、ESCRT-II, ESCRT-III と連続に作用したのち AAA (ATPases associated with diverse cellular activities)-ATPase (蛋白分解, 膜融合, オルガレラの維持に関わる) である Vps4 により複合体が解体され小胞化形成される。この機構を HIV は細胞質膜で行い、小胞化形成すなわちウイルスの出芽となる (図 3)⁶⁷⁾。

4. ウイルスの成熟 (maturation)

細胞外に遊離後、ウイルス粒子内のプロテアーゼが活性化し、Gag 蛋白質、ならびに、Pol 蛋白質が切断され、それぞれ成熟ウイルス粒子を形成し、そして感染性ウイルスが次の標的細胞へ感染する。

おわりに

本稿では、前半でウイルス entry を中心に、また後半では侵入後の発芽機構を述べた。現在の治療薬と今後出現する薬剤の作用点の理解の一助となればと思う。

引用文献

- 1) Huang CC et al.: Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core. *Science* 310:1025-1028, 2005
- 2) Zhu P et al.: Distribution and three-dimensional structure of AIDS virus envelope spikes. *Nature* 441: 847-852, 2006
- 3) Bailey JR et al.: Neutralizing antibodies do not mediate suppression of human immunodeficiency virus type 1 in elite suppressors or selection of plasma virus variants in patients on highly active antiretroviral therapy. *J Virol* 80:4758-4770, 2006
- 4) Xiao P et al.: Characterization of a CD4-independent primary HIV-1 (投稿中)
- 5) Sherman MP et al.: Slipping through the door: HIV entry into the nucleus. *Microbes Infect* 4:67-73, 2002
- 6) 安田二郎: HIV 発芽と Tsg101. *ウイルス* 55: 281-286, 2005
- 7) Pornillos O et al.: Structure and functional interactions of Tsg101 UVE domain. *EMBO J* 21:2397-2406, 2002

著者連絡先

(〒980-8575)
宮城県仙台市青葉区青陵町 2-1
東北大学大学院医学系研究科感染症・呼吸器病態学分野
服部俊夫
[E-mail: hattori.t@rid.med.tohoku.ac.jp]