

	odds ratio (95%CI)	p
年齢 (<60歳/≥60歳)	0.453 (0.191~1.073)	0.0719
肝線維化 (F1/F2~4)	0.356 (0.152~0.833)	0.0173
HCVコア蛋白量	0.454 (0.196~1.055)	0.0663
ISDR (変異数 <2/≥2)	5.125 (1.590~16.520)	0.0062

表2 ベグインターフェロン/リバビリン併用療法(1b)のSVRに寄与する因子(多変量ロジスティック解析)(n=140)

また、ISDRは治療開始前のHCV RNA量と相関しているが、多変量解析ではRNA量はISDRに勝る因子ではなかった。さらに投与前のウイルス量を1,000KIU以上と未満に分けて検討しても、同等のウイルス量群のなかでも、変異型の効果が高いことが判明し上記を裏付けているものと思われた<sup>7,8)</sup>。

しかし、ISDR変異数が同じであっても治療反応性が異なる症例が存在することは事実であり、特にISDR変異数0ないしは1の症例でも、SVRとなる症例とそうでない症例が存在する。そこでわれわれは、ISDR変異数0ないしは1の症例で、他のウイルス学的条

件と臨床的条件がそろった症例で、IFN反応性が良好な症例とそうでない症例について、HCV全ゲノムの相違を検討した。その結果、両者に相違がみられたのは、コア領域とNS2領域のアミノ酸であり、統計学に有意な相違が見られたのはコア領域の70番目のアミノ酸のみであった。さらにこの領域に注目してretrospectiveに、IFN治療効果とこのアミノ酸変異との関連を検討すると、ISDRが0ないしは1の難治が予測される症例であっても、このアミノ酸が、HCVのプロトタイプのHCV-Jにみられるアルギニン(R)であれば高率にSVRが期待できるものの、

グルタミン(Q)に変異していると、IFN治療反応性がきわめて悪く、主治医の判断で治療中断した症例や、治療遅延してもSVRにならない症例が多数を占めていた。また、最近Akutaらは、コア領域の70番目と91番目のアミノ酸に変異がみられるとインターフェロン治療効果が劣り、特に50歳以上の女性ではその傾向が顕著であることを報告している<sup>9)</sup>。コア蛋白は、ゲノムと結合しヌクレオカプシドを形成するほか、細胞内シグナル伝達や、ウイルス粒子の形成にも関与すると考えられており、今後の研究が待たれるところである。

## 文献

- Okamoto H, Kojima M, Okada S, Yoshizawa H, Iizuka H, Tanaka T, et al. Genetic drift of hepatitis C virus during an 8.2-year infection in a chimpanzee: variability and stability. *Virology* 1992; 190: 894-9.
- Sakamoto M, Akahane Y, Tsuda F, Tanaka T, Woodfield DG, Okamoto H. Entire nucleotide sequence and characterization of a hepatitis C virus of genotype V/3a. *J Gen Virol* 1994; 75: 1761-8.
- Okada S, Akahane Y, Suzuki H, Okamoto H, Mishiro S. The degree of variability in the amino terminal region of the E2/NS1 protein of hepatitis C virus correlates with responsiveness to interferon therapy in viremic patients. *Hepatology* 1992; 16: 619-24.
- Taniguchi S, Okamoto H, Sakamoto M, Kojima M, Tsuda F, Tanaka T, et al. A structurally flexible and antigenically variable N-terminal domain of the hepatitis C virus E2/NS1 protein: implication for an escape from antibody. *Virology* 1993; 195: 297-301.
- Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, et al. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. Sensitivity to interferon is conferred by amino acid substitutions in the NS5A region. *J Clin Invest* 1995; 96: 224-30.
- Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996; 334: 77-81.
- 坂本 雅, 榎本信幸. ISDRと初期抗ウイルス効果からみた治療効果. コンセンサス肝疾患2007 B型肝炎・C型肝炎. 坪内博仁, 監修. 岡上武, ほか編. 東京: 日本メディカルセンター; 2007. p96-101.
- 坂本 雅, 榎本信幸. ウイルス性慢性肝炎: 診断と治療の進歩. 日本内科学会誌. in press.
- Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, et al. Predictors of viral kinetics to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol* 2007; 79: 1686-95.

診断と治療〔第96巻・第3号〕別刷

2008年3月1日発行

発 行 所 株式会社 診断と治療社

---



ウイルス性肝炎のプライマリケア

総論

慢性ウイルス性肝炎の診断と  
節目検診

坂本 穂 穂本 信 幸

Key Words

肝炎ウイルス検診  
節目検診  
節目外検診  
肝炎診療協議会  
肝疾患診療連携拠点病院

- \*\*\*\*\*
- \*1 山梨大学大学院医学工学総合研究部  
肝疾患地域先端医療システム学
  - \*2 山梨大学医学部第1内科
- \*\*\*\*\*

はじめに

B型肝炎, C型肝炎に代表されるウイルス性肝炎は, わが国の慢性肝炎の大部分を占める。しかも, 年余にわたるウイルスの持続感染の結果, 自覚症状がないまま慢性肝炎や肝硬変, さらに肝細胞癌へと進展する症例もあることから, ウイルス肝炎検診が急務とされた。そこで, わが国では, 平成14年から肝炎ウイルス検診(節目検診, 節目外検診)が施行され, 当初目標の5年が経過した。平成19年度は, 過去5年間に検診を受診しなかったものを拾い上げる目的で事業が継続された。

肝炎ウイルス検診とウイルス  
肝炎の診断

肝炎ウイルス検診は, 平成14(2002)年4月1日から老人保健法に基づき, 全国の市町村が実施している, 基本健康診査(いわゆる住民検診)に追加するかたちで開始された。このうち「節目検診」は, 40~70歳までの5歳刻み, すなわち40, 45, 50, 55, 60, 65, 70歳のすべての受診者を対象に検診を行

い, 5年間ですべての検診者のウイルス感染を診断しようとするものである。一方, 「節目外検診」は, 過去に肝機能異常を指摘されたことのある者, 広範な外科的処置を受けたことがある者, 妊娠分娩時に多量に出血をした者などの希望者を対象としている。検診では, B型肝炎はHBs抗原検査で診断し, C型肝炎はまずHCV抗体によるスクリーニングを行い, 抗体価に応じてHCVコア抗原(コア蛋白), HCV RNAを測定し, ウイルス血症の有無の判定までを行うものとされている。

1. HBs抗原陽性の場合

HBs抗原陽性の場合, 原則としてB型肝炎ウイルス(HBV)キャリアである。日本肝臓学会の「慢性肝炎の治療ガイド2008」によれば, 病歴(特に家族歴, 飲酒歴)を聴取し, 一般肝機能検査, 末梢血検査, プロトロンビン時間を測定し, 肝炎の有無, 肝病態の進展度や活動性を把握し, HBVDNA量やHBe抗原, HBe抗体の測定によりウイルス学的状態を把握するよう記述されている。また, 腹部エコー検査と腫瘍マーカー(AFP等)の測定により肝臓の合併の有無を診断することが重要である(図1)。

B型肝炎ウイルスキャリアの多くは非活動性の「無症候性キャリア」で、1割程度のみが、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌に進展する(図2)り。また、若年者では自然経過で、HBe抗原からHBe抗体へのセロコンバージョンが

起こり、これを契機に肝炎の沈静化が起こることがしばしばあり、たとえ肝機能異常がみられても、ただちに治療対象とはならないことがある。したがって、B型肝炎の診療にあたっては、現在の肝病態の進展度と活動性を把握し、これに応じた治療・経過観察方針を立てることが重要である。

## 2. HCV 陽性の場合

肝炎ウイルス検診では、はじめにHCV抗体によるスクリーニングを行い、高力価陽性の場合には「現在HCVに感染している可能性が極めて高い」として医療機関への受診勧奨を行う。また、中力価ないしは低力価の場合は、HCVコア抗原(コア蛋白)検査、さらにはHCVRNA検査を行い、ウイルス血症の有無を判定し、HCVRNAが陽性の場合のみ、受診勧奨を行うこととされている(図3)。これはHCV抗体が感染防御抗体ではないため、HCV抗体低力価陽性者のなかには、感染既往者も含まれるためである。したがって、肝炎ウイルス検診によってHCV感染が判定された場合は、この手順によって診断がなされており、医療機関などでHCV抗体陽性を指摘された場合とは、異なることに注意が必要である。ただ単に「HCV抗体陽性を指摘され

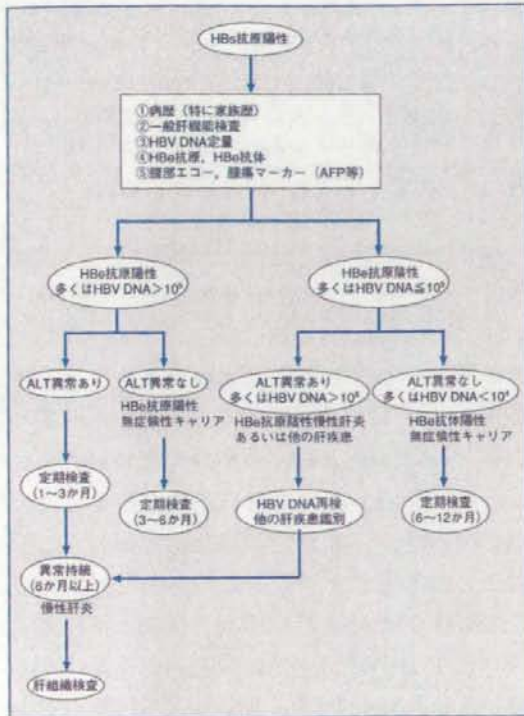


図1 B型肝炎の診断

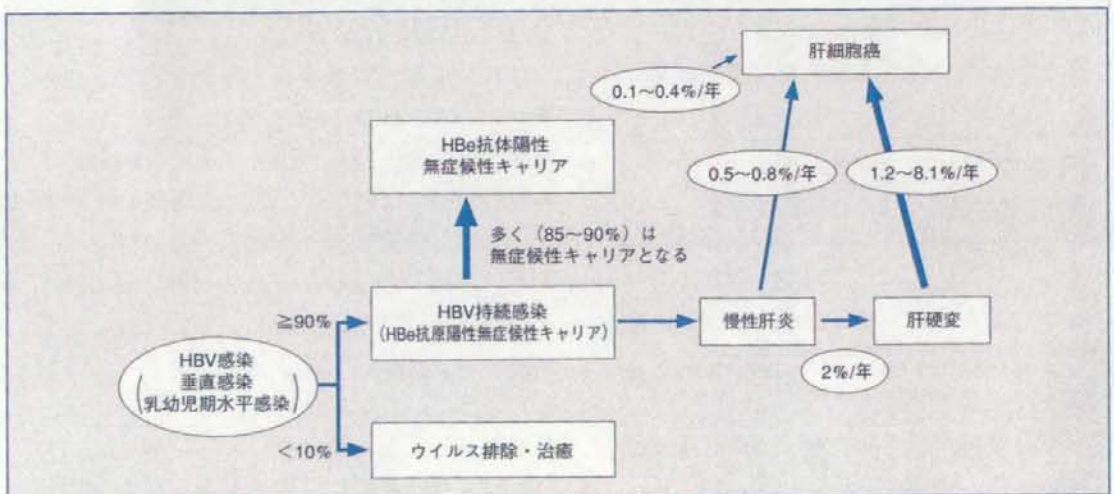


図2 B型肝炎の自然経過



た」場合には、HCV コア抗原検査ないしは HCVRNA 検査（2008 年 2 月現在、コマーシャルベースの検査ではリアルタイム PCR 法〈Taqman PCR 法〉が最も検出感度が高い）を行い、真のウイルス血症の有無を判定する必要がある。

C 型肝炎ウイルス（HCV）感染が診断された場合、まず肝炎の有無についての検査を行う。すなわち慢性肝炎であるか、無症候性キャリアの状態であるかを診断するのであるが、たとえ AST、ALT が施設内基準値であっても、ALT が 30 IU/mL 以上の場合は、わずかな肝炎が存在する可能性がある<sup>2,3</sup> ほか、たまたま検査時に基準値以下であった可

能性などを考慮する必要がある。また、最近では ALT の基準値を 30 IU/mL 以下とする意見が多く、たとえば血清 ALT 値が基準値以下であっても抗ウイルス療法の適応となることがある。C 型肝炎の自然経過は、感染すると 70 ~ 80% が慢性肝炎と移行し、平均 10 年、20 年、30 年の経過で慢性肝炎・肝硬変・肝細胞癌へと進展する（図 4）<sup>1</sup>。この間の肝線維化の程度と血小板数は、C 型肝炎では高い相関が認められる<sup>4</sup> ため、肝線維化の程度を肝生検なしで把握するためには、血小板数の測定は極めて重要である<sup>5</sup>。また、B 型肝炎と同様、肝病変の進展度と肝細胞癌の合併の診断には、腹部超音波検査や AFP をはじめと

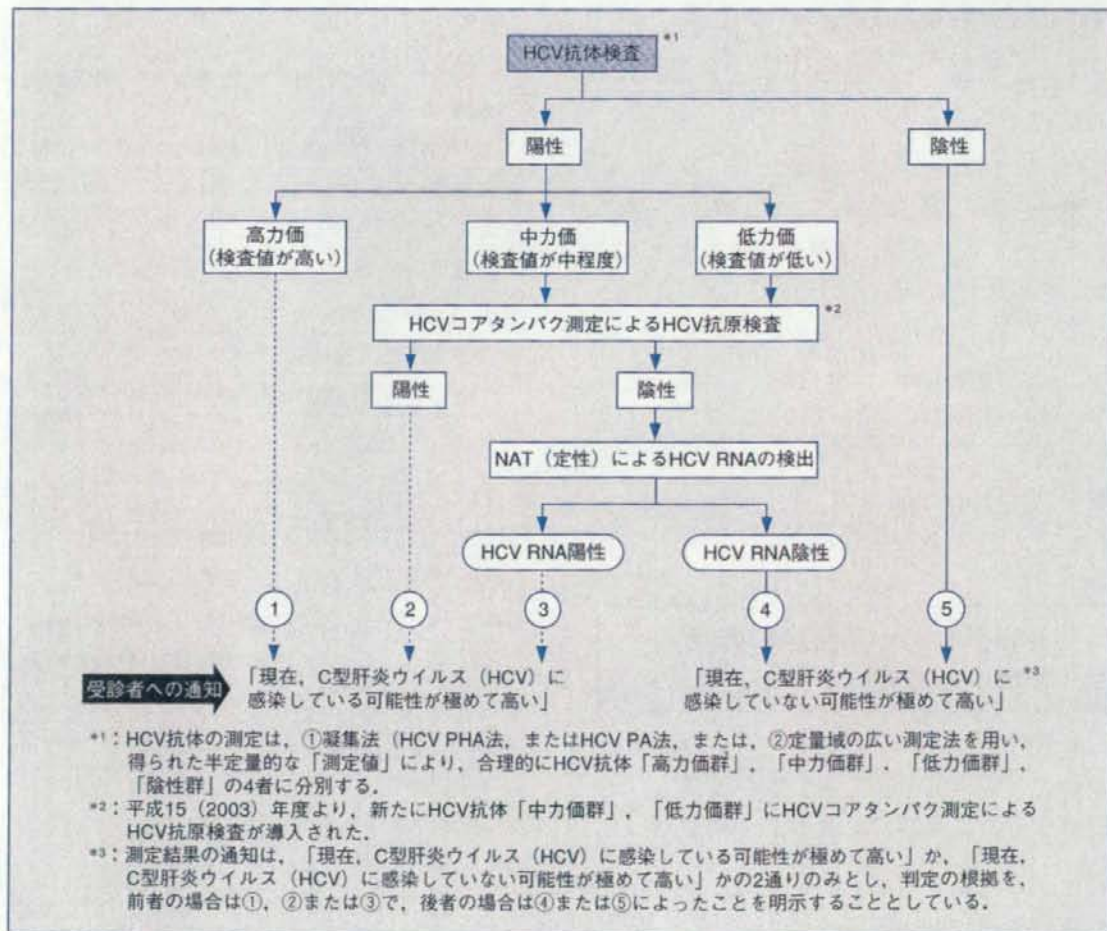


図3 検診におけるC型肝炎ウイルス検査

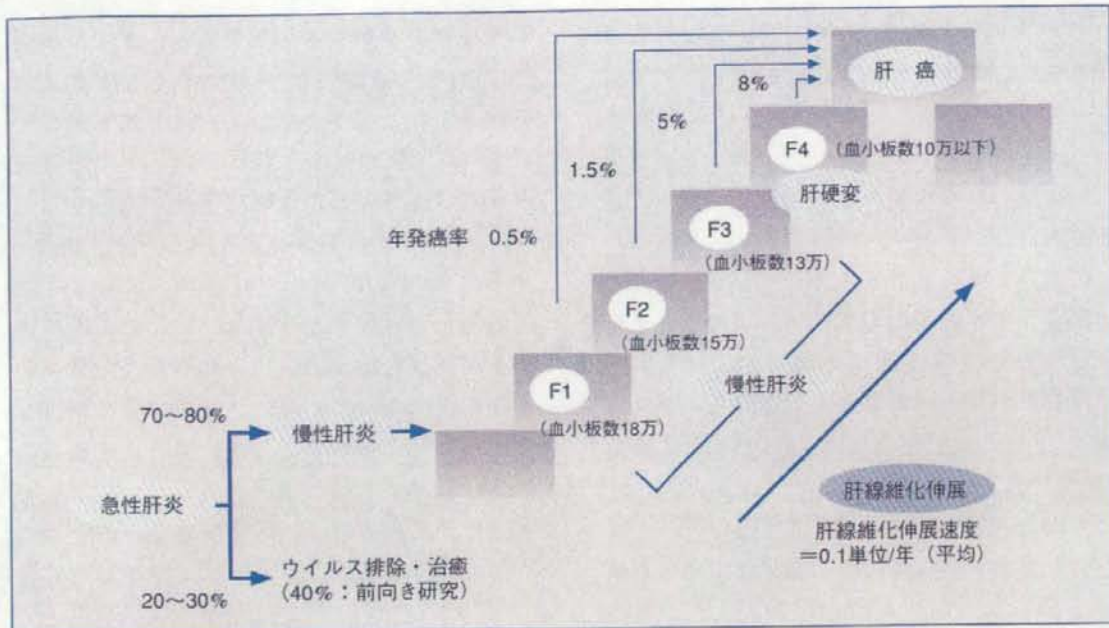


図4 C型肝炎の自然経過

した腫瘍マーカーの測定が重要であることはいうまでもない。

一方、C型慢性肝炎の治療には、抗ウイルス療法と肝庇護療法があるが、根本的な治療には抗ウイルス療法、すなわちインターフェロン治療を検討することが好ましい。このためには、治療方針決定のために、HCVのウイルス型 (serogroup, genotype) の測定とウイルス量の測定は非必須であるが、さらに詳細な治療効果予測にはHCVのNS5Aに存在するISDR (Interferon sensitivity determining region)<sup>6)</sup> やコア蛋白変異の測定<sup>7)</sup> が有用である。

### 肝炎ウイルス検診の実施状況と成果

厚生労働省によれば、平成14～18年度までの5年間の肝炎ウイルス検診受診者は約628万人で、受診対象者の26.4%であった(表1)。このうち、「現在C型肝炎ウイルスに感染している可能性が極めて高い」と判定されたのは0.9%の約55,000人で、HBs抗原

表1 肝炎ウイルス検診受診率 (C型肝炎ウイルス検診、節目検診)

年度	受診対象者	受診者数	受診率 (%)
平成14年度	4,331,521	1,298,746	30.0
平成15年度	4,676,852	1,375,583	29.4
平成16年度	5,061,690	1,271,320	25.1
平成17年度	4,848,053	1,196,457	24.7
平成18年度	4,904,926	1,138,005	23.2
計	23,823,042	6,280,111	26.4

陽性は1.1%の70,000人であった。一方節目外検診では、それぞれ45,000人、31,000人発見されていることから、この5年間でHCV、HBV感染者がそれぞれ約10万人発見されたことになる(表2)。この数字は、それなりに意味のあることではあるが、受診対象者の73%が検診を受けていないことから、まだ多くの未診断者が存在することになる。さらに、この検診は、老人保健法に基づく検診であり、国民健康保険加入者に限られることを考えると、これ以外の各種健康保険組合保険加入者への検診の普及を図ることが重要である。



表2 肝炎ウイルス検診実績

C型肝炎ウイルス

	受診者 (人)			「現在C型肝炎ウイルスに感染している可能性が極めて高い」と判定された者 (人)			感染者率 (%)		
	節目検診	節目外検診	計	節目検診	節目外検診	計	節目検診	節目外検診	計
平成14年度	1,298,746	624,734	1,923,480	14,672	16,721	31,393	1.1	2.7	1.6
平成15年度	1,375,583	454,687	1,830,270	13,324	10,167	23,491	1.0	2.2	1.3
平成16年度	1,271,320	347,431	1,618,751	10,385	6,446	16,831	0.8	1.9	1.0
平成17年度	1,196,457	331,356	1,527,813	8,909	5,067	13,976	0.7	1.5	0.9
平成18年度	1,138,005	596,190	1,734,195	7,453	6,806	14,259	0.7	1.1	0.8
計	6,280,111	2,354,398	8,634,509	54,743	45,207	99,950	0.9	1.9	1.2

B型肝炎ウイルス

	受診者 (人)			HBs抗原検査において「陽性」と判定された者 (人)			感染者率 (%)		
	節目検診	節目外検診	計	節目検診	節目外検診	計	節目検診	節目外検診	計
平成14年度	1,291,195	631,918	1,923,113	15,239	9,191	24,430	1.2	1.5	1.3
平成15年度	1,382,663	466,462	1,849,125	15,842	6,678	22,520	1.1	1.4	1.2
平成16年度	1,279,704	356,230	1,635,934	13,950	4,804	18,754	1.1	1.3	1.1
平成17年度	1,205,423	341,400	1,546,823	12,735	4,395	17,130	1.1	1.3	1.1
平成18年度	1,145,291	604,301	1,749,592	11,742	6,407	18,149	1.0	1.1	1.0
計	6,304,276	2,400,311	8,704,587	69,508	31,475	100,983	1.1	1.3	1.2

厚生労働省ホームページ (<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2007/10/h1003-1.html>) より改変

また、検診により見出された肝炎ウイルス感染者に対するフォローアップ体制は、一部の地方を除いてはまだ確立されておらず、発見された肝炎ウイルス感染者の医療機関受診率の向上を図るとともに、経過観察、治療を系統的に行なえるような仕組みを作り上げることが今後の課題である<sup>9)</sup>。

今後の肝炎対策事業と展望

平成14年から行なわれた、ウイルス肝炎検診は「C型肝炎等緊急総合対策」の一環として行われ、一定の成果をあげてきた。しかし、上述のような残された課題に対し、平成17年に「C型肝炎対策等に関する専門家会議」が設置され、「C型肝炎対策等の一層の推進について」とする報告書がとりまとめら

れた。これに基づき、全国C型肝炎診療懇話会が開催され、この報告書として「都道府県における肝炎検査後肝疾患診療体制に対するガイドライン」が制定された。これによれば、各都道府県に医師会・肝炎に対する専門医、関係市町村や保健所の関係者によって構成される「肝炎診療協議会」を設置することが決定し、都道府県の実情に応じて、

- ① 要診療者に対する保健指導
  - ② かかりつけ医と専門医療機関の連携
  - ③ 高度専門的ないし集学的な治療を提供可能な医療機関の確保
  - ④ 受診状況や治療状況等の把握
  - ⑤ 医療機関情報の収集と提供
  - ⑥ 人材の育成
- 等について必要な検討を行うとともに、関

係者との連絡・調整を図ることが期待されている。

また、肝疾患診療においては、かかりつけ医と肝疾患に関する専門医療機関との連携、さらに高度先進的医療に対応する新たに設置される「肝疾患診療連携拠点病院」との間で連携を図ることが求められている(図3)。このなかでは、肝疾患専門医療機関では、

- ① 専門的な知識を持つ医師による診断と治療方針の決定
- ② インターフェロンなどの抗ウイルス療法

③ 肝がんの高危険群の同定と早期診断が可能である必要があり、2次医療圏に1か所以上の施設を選定することになっている。また、肝疾患診療連携拠点病院は、

- ① 肝疾患に係る一般的な医療情報の提供
- ② 都道府県内の専門医療機関に関する情報の収集や紹介
- ③ 医療従事者や地域住民を対象とした研修会や講演会の開催や肝疾患に関する相談支援
- ④ 肝疾患に関する専門医療期間との協議の場の設定

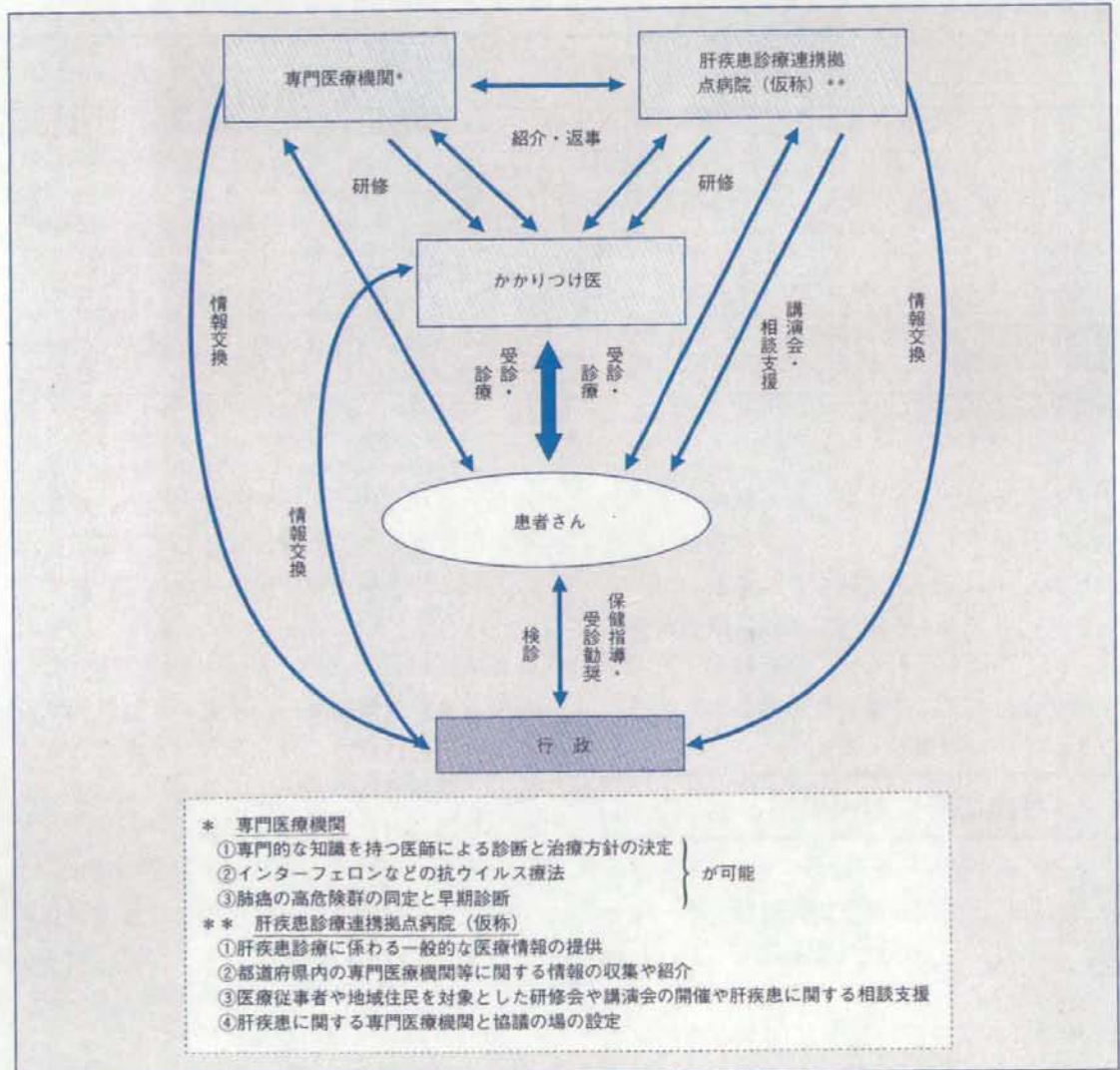


図5 都道府県における肝疾患診療ネットワーク(イメージ図)



を行うこととし、各都道府県のなかで肝疾患の診療ネットワークの中心的な役割を現在果たしているか、将来果たすことが期待される病院として、原則、都道府県に1か所選定することとされている。

以上のような活動が、平成20年度から本格的に開始するが、これらのネットワークが実際に稼動することが今後の肝炎対策の鍵を握るものと考えられる。

### Y-PERS と Y-PERS ネットワーク

筆者らは、平成18年から Yamanashi-PEG-interferon ribavirin study (Y-PERS) という組織を立ち上げてきた。これは、PEG-IFN + Ribavirin 治療を筆者らの大学病院と肝疾患専門医療機関と連携して行うことを意図して設立したもので、治療を通じて最適な治療方法と成績の検討、新たな知識の共有を目指している。さらに地域連携を図るために、地域のかかりつけ医の機能をもつ開業医・診療所の先生方との連携を図る Y-PERS ネットワークを設立した。ここでは、治療成績の検討会や講演会の開催などを随時行っており、まさに、今後、国が求めている肝炎対策を先取りしたものと考えられる。

### おわりに

わが国の HCV 感染者は推定 200 万人、HBV 感染者は推定 140 万人いるといわれている。しかしその多くが、いまだ感染者であることを診断されておらず、たとえ検診で感染が判明しても医療機関を受診していない現状がある。また、正しい知識と技術が提供されていない患者も多く存在することも事実である。したがって、これからはかかりつけ医や

肝疾患専門医療機関、肝疾患診療連携拠点病院とが連携を図りつつ、系統的な経過観察、治療を行える仕組みづくりが必要である。

### 文 献

- 1) 日本肝臓学会編：慢性肝炎の治療ガイド 2008, 文光堂 2007
- 2) Zeuzem S, et al.: Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 127:1724-1732, 2004
- 3) Okanoue T, et al.: A follow up study to determine the value of liver biopsy and need for antiviral therapy for hepatitis C virus carriers with persistently normal serum aminotransferase. *J Hepatol* 43:599-605, 2005
- 4) Shiratori Y, et al.: Histologic Improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann Intern Med* 132:517-524, 2005
- 5) Ono E, et al.: Platelet count reflect stage of chronic hepatitis C. *Hepatology Research* 15:192-200, 1999
- 6) Enomoto N, et al.: Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 334:77-81, 1996
- 7) Akuta N, et al.: Predictors of Viral Kinetics to Peginterferon Plus Ribavirin Combination Therapy in Japanese Patients Infected With Hepatitis C Virus Genotype 1b. *J Med Virol* 79:1686-1695, 2007
- 8) 吉沢浩司, 他: 肝炎ウイルス検診の実施と今後に残された課題, 日本消化器病学会雑誌 102:1123-1131, 2005
- 9) 坂本穰: 「Y-PERS ネットワーク」で C 型慢性肝炎の治療法を研究. *病院新時代* 31:15-17, 2007

### 著者連絡先

(〒409-3898)  
山梨県中央市下河東 1110  
山梨大学大学院医学工学総合研究部  
肝疾患地域先端医療システム学  
坂本 穰  
[E-mail: msakamoto@yamanashi.ac.jp]

## 特集II 高齢者 C 型慢性肝炎に対する治療のあり方

# ISDRからみた高齢者の C 型慢性肝炎に対する治療法\*

坂本 穰\*\*  
榎本 信幸\*\*\*

**Key Words** : interferon, ISDR, amino acid mutations in HCV core region

### はじめに

C 型慢性肝炎に対するインターフェロン (interferon : IFN) 治療は, PEG-IFN と Ribavirin 併用療法により格段に進歩した。しかし, いまだ難治例が存在し, 1 型高ウイルス量症例ではウイルス排除率 (Sustained virologic response : SVR) 率は 50% に満たない<sup>1,2)</sup>。とくに高齢者では, 治療完遂しても治療効果が劣るとともに, 副作用の出現率が高いことから十分な治療が行えないことも, 大きな要因と考えられている。一方, 治療効果を規定する因子としては, 年齢・性別などの宿主因子のみならず, ウイルス側の因子も重要視されている。とくに 1b 型 C 型肝炎ウイルス (Hepatitis C virus : HCV) の IFN 感受性領域 (Interferon sensitivity determining region : ISDR) は, 治療効果を規定する因子として重要であることを, われわれは報告してきた<sup>3,4)</sup>。そこで, 本稿では ISDR からみた高齢者に対する IFN 療法について述べる。

### 1b 高ウイルス量症例に対する PEG-IFN/Ribavirin 併用療法の治療成績

当科および関連施設で構成する共同研究 Y-PERS

(Yamanashi-PEG-Interferon  $\alpha$ 2b-Ribavirin Study) で集積された PEG-IFN/Ribavirin 併用療法を施行した 465 症例を検討した。初回治療の場合は高ウイルス量症例に限られるが, 1b 型に対する 48 週治療, 2a 型および 2b 型の 24 週治療の SVR 率はそれぞれ 45% (63/140), 77% (17/22), 68% (13/19) であった (図 1)。とくに, 難治の 1b 型かつ高ウイルス量症例に関して, 60 歳未満/以上, 男性/女性に分けて検討すると, 60 歳未満では男女差がないものの, 60 歳以上では, 男性 44% に対し女性 22% の SVR 率で, 高齢女性の SVR 率がきわめて悪いことが明らかになった (図 2)。この理由としては, 高齢者, とくに女性では, 治療中止・減量率が高いことが考えられた。そこで, 治療完遂率と完遂者における SVR の関連について検討した。この結果は, 60 歳以上の女性では治療完遂率は 61% と, 他と比べて若干劣るものの, 有意な差はみられなかった。しかし, SVR 率は 36% であり, 60 歳以上の高齢女性は, たとえ治療完遂しても SVR 率が悪いことが判明した。したがって, 高齢者の治療成績が劣ることは, 単に副作用による治療中止・減量によるものではなく, 他の原因があると考えられた。これまで, この理由として, HCV の持続感染期間の差による線維化進展の可能性 (すなわち高齢者では線維化進展例が多い) や, 女性特有のホルモン環境の相違,

\* Mutations in ISDR on efficacy of interferon therapy for elderly chronic hepatitis C patients.

\*\* Minoru SAKAMOTO, M.D., Ph.D.: 山梨大学大学院医学工学総合研究部肝疾患地域先端医療システム学 [〒409-3898 中央市下河東 1110] ; Advanced and Community Medicine for Liver Disease, University of Yamanashi, Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, Chuo 409-3898, JAPAN

\*\*\* Nobuyuki ENOMOTO, M.D., Ph.D.: 山梨大学医学部内科学講座第一教室



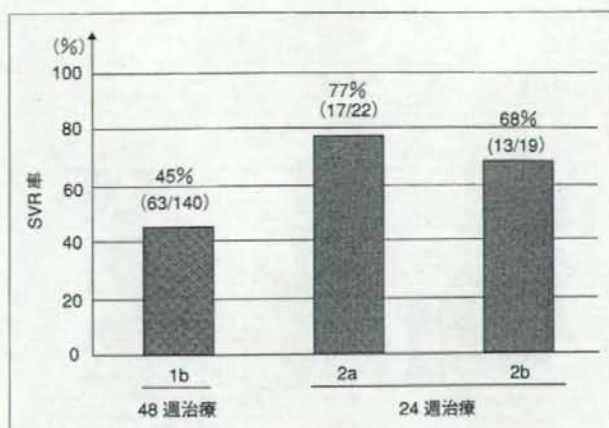


図1 PEG-IFN/Ribavirin併用療法におけるgenotypeとウイルス排除率(SVR)率

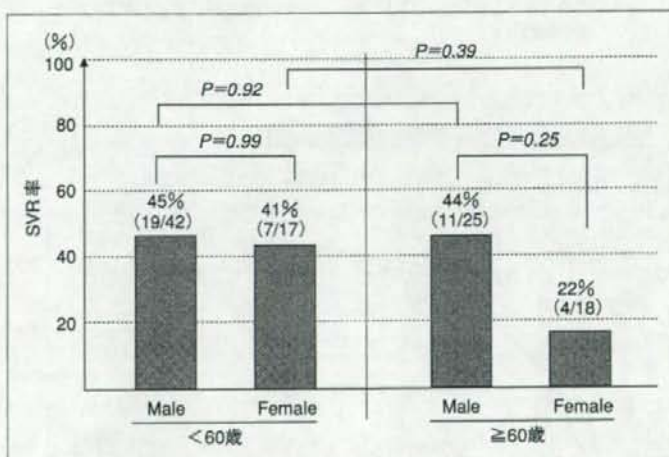


図2 PEG-IFN/Ribavirin併用療法における年齢・性別別のウイルス排除率(SVR)率 (n=102)

宿主の免疫反応によるHCV陰性化時期の遅延などが論じられてきたが、いまだ、明らかな結論は得られていない。

#### ISDRからみたPEG-IFN/Ribavirin併用療法の治療成績

1b型のHCVにおいては、IFN単独療法の治療成績を規定する因子として、ISDRの関与が明らかになっている。これはHCVのNSSA領域内の40アミノ酸領域で、この領域にアミノ酸変異のまっ

たくない野生型(Wild type)ではIFN単独療法のSVR率はきわめて低く、4個以上の変異がある変異型(Mutant type)では、きわめて高いSVR率を示し、1~3個の変異がある中間型(Intermediate type)では、この中間のSVR率を示す。PEG-IFN/Ribavirin併用療法においても、ISDR別にSVR率を検討すると、野生型では37% (29/78)、中間型では44% (19/43)であるのに対し、変異型では80% (12/15)であり、変異型は中間型や野生型に比べ有意にSVR率が高かった(図3)<sup>9</sup>。この理由は、

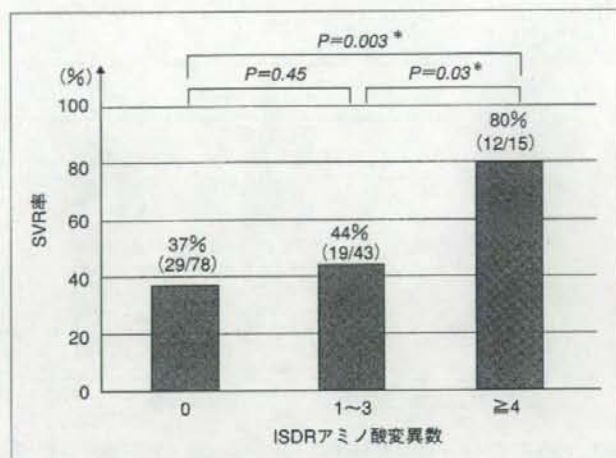


図3 PEG-IFN/Ribavirin併用療法におけるIFN感受性領域ウイルス排除率(SVR)率(1b症例 n=140)

\* Significant difference

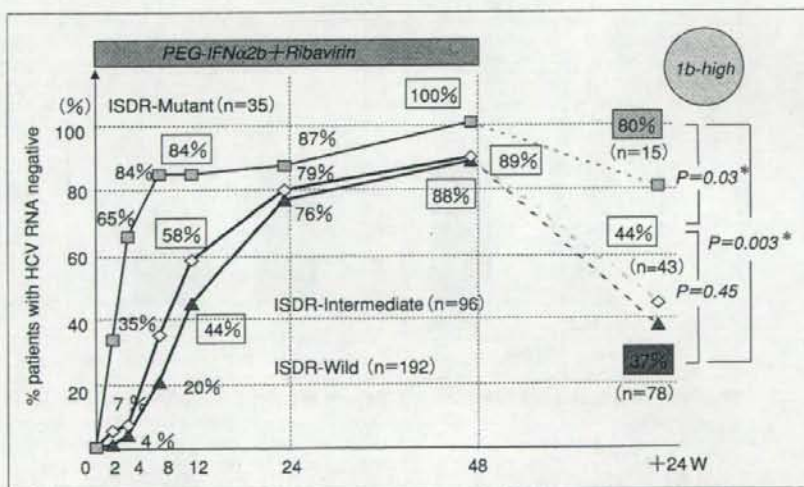


図4 PEG-IFN/Ribavirin併用療法におけるIFN感受性領域(ISDR)と経時的ウイルス陰性化率(1b症例 n=323)

\* Significant difference

ISDRが治療早期のウイルス量の減少と関係しているためと考えられている。すなわち、ISDR変異型では野生型・中間型に比較して投与開始2週間ないしは4週間のウイルス量の減少率が高く、12週以内のウイルス消失(Early virologic response : EVR)に影響していた(図4)。EVRは治療効

果(SVR)予測する重要な因子とされ<sup>6)</sup>、1b型高ウイルス量症例ではEVRが得られた症例では48週間の治療により高率にSVRとなる。したがって、HCVのIFN反応性はウイルスダイナミクスにより判定することが可能であるが、これは、ISDRとも強く関連しているということである。さらに



表1 PEG-IFN/Ribavirin併用療法(1b)のウイルス排除率(SVR)に寄与する因子  
(多変量解析)(n=140)

	odds ratio (95% CI)	P value
年齢 (<60歳/≥60歳)	0.453 (0.191-1.073)	0.0719
肝線維化 (F1/F2~4)	0.356 (0.152-0.833)	0.0173
HCV コア蛋白量	0.454 (0.196-1.055)	0.0663
ISDR (変異数<2/≥2)	5.125 (1.590-16.520)	0.0062

多変量ロジスティック回帰分析

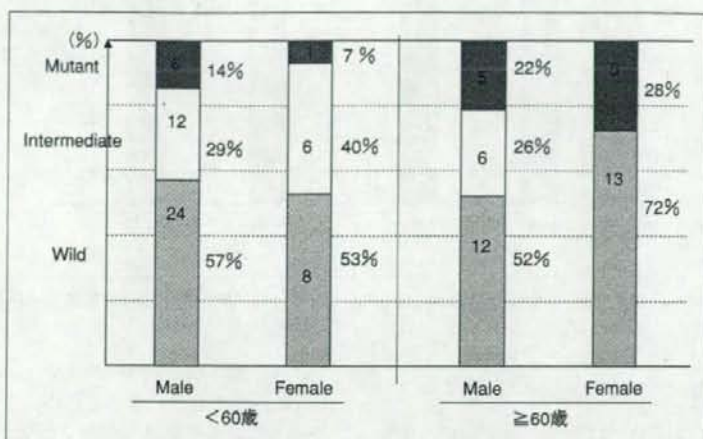


図5 年齢・性別とIFN感受性領域(ISDR)の分布(1b-high)(n=101)

SVRに寄与する因子について宿主側の因子を含めて、多変量ロジスティック回帰分析を行なうと、抽出された因子は年齢、肝線維化(F2以上とそれ以外)とISDR変異数(2未満と2以上のみ)のみであり、この中でもISDRがもっとも強い因子であった(表1)。また、ISDRは治療開始前のHCV RNA量と相関しているが、多変量解析ではRNA量はISDRに勝る因子ではなく、投与前のウイルス量を1,000 KIU以上と未満とに分けて検討すると、同等のウイルス量群の中でも、変異型の効果が高いことが判明し、上記を裏づけているものと思われた<sup>7)</sup>。

しかし、ISDR変異数が同じであっても治療反応性が異なる症例が存在し、ISDR変異数0ないしは1の難治症例でも、SVR例と非SVR例が存在する。そこで、われわれは、ISDR変異数0ないしは1の症例で、他のウイルス学的条件と臨床的条件がそろった症例で、IFN反応性が良好な

症例とそうでない症例について、HCV全ゲノムの相違を検討した。その結果、両者に相違がみられたのは、コア領域とNS2領域のアミノ酸であり、統計学に有意な相違がみられたのはコア領域の70番目のアミノ酸のみであった。さらにこの領域に注目してretrospectiveに、IFN治療効果とこのアミノ酸変異との関連を検討すると、ISDRが0ないしは1の難治が予測される症例であっても、このアミノ酸がHCVのプロトタイプ(HCV-J)にみられるアルギニン(R)であれば高率にSVRが期待できるものの、グルタミン(Q)に変異しているとIFN治療反応性がきわめて悪く、主治医の判断で治療を中断した症例や、治療完遂してもSVRにならない症例が多数を占めていた。同様の報告はAkutaらにより、コア領域の70番目と91番目のアミノ酸に変異がみられるとインターフェロン治療効果が劣り、とくに50歳以上の女性ではその傾向が顕著であることが報告されている<sup>8)</sup>。

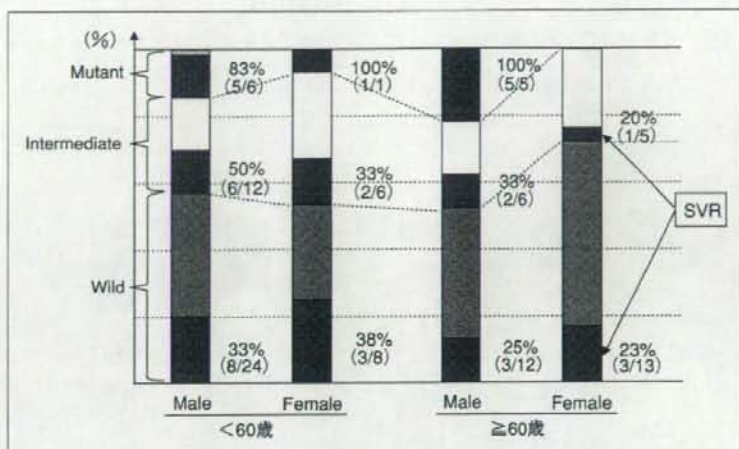


図6 年齢・性別とIFN感受性領域(ISDR)の分布とウイルス排除率(SVR)の関係(n=101)

#### ISDRと年齢・性別との関連

上記のようにISDRは治療効果と密接に関連しているが、これと年齢・性別との関連についても検討した。本検討では、ISDRの分布は野生型が多くを占め、中間型や変異型は少なかったが、60歳以上の女性には変異型の比率が低いことが判明した(図5)。各年代、男性/女性におけるISDR別の治療成績には差がほとんどみられないことから、ISDRの分布が各年代の治療成績に関連し、60歳以上の女性のSVR率が低いことの一つの理由にISDRの分布の差が関与していることが推測された(図6)。しかし、この分布の理由については、変異型のHCVが、過去の治療や自然経過で駆逐されており、現在のPEG-IFN/Ribavirin併用療法の治療対象でないことが推測された。そこで、約10年ほど前のIFN単独療法時のISDRについても検討した。しかし、10年ほど前の50歳以上の女性でもISDRのmutant typeは少なく、もともとある年代以上の、女性にはこのtypeが少ない可能性が考えられた。すなわちこの集団の感染経路が異なりISDRの分布が異なる可能性や、女性ではmutant typeは持続感染しにくく、ある年代以降で自然治癒している可能性などが考えられるが、一定の結論が得られるような証拠は存在しない。しかし、かつてのIFN単独療法の時

代でも、wild typeやintermediate typeの比率が高い高齢女性の治療成績はきわめて悪く、ISDRが関与している可能性も否定できなかった。しかし、この傾向は他の地域でも普遍的にみられるのかどうかなど、今後の検討課題も存在する。

#### ISDRからみた高齢者のC型慢性肝炎に対する治療法

これまでの検討で、ISDRはPEG-IFNを含むIFN単独治療ないしはPEG-IFN/Ribavirin併用療法において、治療効果を規定する重要な因子であることが明らかとなった。高齢女性にはISDR mutant typeが少ないことから、治療効果が低いことの一つの説明であることが推測された。しかし、この傾向が、他の地域や集団で普遍的なものであるかどうかなどは、今後の検討に委ねられるものと考えられる。しかしながら、ISDRは治療効果予測因子として非常に重要であり、とくに、副作用の出現率が高い高齢者では、治療法や治療期間を選択するうえで重要な情報となりえる可能性がある。われわれは、年齢・性別などの宿主要因とウイルス型、ウイルス量などのウイルス要因にISDRやコア領域変異を参考に治療方針を個々に検討している。すなわち、1bかつ高ウイルス量で高齢者のきわめて難治が予測される症例であってもISDRがmutant typeであれば積



極的に治療を行うが、wild typeかつコア70番のアミノ酸がQであれば、仮に治療開始してもNull responseであれば、副作用を鑑み早期に治療を中断ないしは、肝癌抑止のための治療に切り替えるなどの検討を行っている。今後は、さらなる症例の蓄積と解析により、ISDRの解析が高齢者を含めた個々の症例に応じたテーラーメイド治療を可能にするものと考えられる。

#### 文 献

- 1) Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 958-65.
- 2) Fried NW, Schffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82.
- 3) Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, et al. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. Sensitivity to interferon is conferred by amino acid substitutions in the NS5A region. *J Clin Invest* 1995; 96: 224-30.
- 4) Enomoto N, Sukuma I, Asahina Y, et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996; 334: 77-81.
- 5) 坂本 穰, 榎本信幸. ウイルス性慢性肝炎: 診断と治療の進歩. *日本内科学会誌* 2008; 97: 57-63.
- 6) Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, et al. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 645-52.
- 7) 坂本 穰, 榎本信幸. ISDRと初期抗ウイルス効果からみた治療効果. In: 坪内博仁・監, 岡上 武, 小俣政男, 林 紀夫, ほか・編. コンセンサス肝疾患2007. B型肝炎・C型肝炎. 東京: 日本メディカルセンター; 2007. p. 96-101.
- 8) Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, et al. Predictors of Viral Kinetics to Peginterferon Plus Ribavirin Combination Therapy in Japanese Patients Infected With Hepatitis C Virus Genotype 1b. *J Med Virol* 2007; 79: 1686-95.

\* \* \*

## 第1章 肝炎の基礎

### (2) Hepatitis Virus Genome Wide Analysis

前川伸哉, 坂本 稔, 榎本信幸

#### 重要なポイント

- C型慢性肝炎に対する最新のペグインターフェロン (PEG-IFN) +リバビリン併用療法においても、依然として無効例は存在し、正確な治療効果予測法の確立が望まれている。
- IFN単独療法時代に見出されたISDR (IFN感受性決定領域) 変異は、PEG-IFN +リバビリン併用療法においても治療効果予測に有用であった。
- 一方で、ISDR変異のみでは治療効果予測に十分とはいえなかった。
- われわれは、全HCVゲノム領域を検索することによって、治療効果と関連するHCVコア70番目の変異を同定した。

#### はじめに

従来行われてきた、C型肝炎ウイルス (HCV) に対するインターフェロン (IFN) 単独療法においては、ウイルス学的著効 (Sustained Virological Response ; SVR) が得られるのは3割程度であった。しかし、2004年に長時間作用型のペグIFN (PEG-IFN) +リバビリン併用48週療法が認可されると、治療成績は大きく改善し、難治型であるGenotype 1bのHCVに限っても約5割の症例においてSVRを認めるようになった。

治療効果規定因子として、われわれはIFN単独療法時代にウイルス側因子に注目し、HCVのコードする非構造蛋白Nonstructural (NS) 5Aには、IFN治療効果を規定するISDR (Interferon Sensitivity Determining Region ; IFN感受性決定領域) が存在することを見出した。すなわち、ISDRに多数の変異があるとSVRとなることを報告し、臨床的有用性について明らかにしてき

たり<sup>1,2)</sup>。

一方、PEG-IFN +リバビリン時代においてもISDRは治療効果に強く関与したが、強力な同療法の下ではISDRにほとんど変異がなくとも、SVRとなる症例の存在することが臨床的観察から明らかとなり、ISDR以外に治療効果を規定する別の因子が存在することが示唆されていた。われわれはISDRにほとんど変異を認めないながらもまったく治療反応性の異なる症例群において、効果を規定するHCV領域を全HCVゲノム領域にわたり検索した。本稿では、PEG-IFN +リバビリン時代において治療効果を規定するHCV領域について、自験例を中心に概説する。

#### I. NS5A—ISDR

われわれは、IFN単独療法時代において、IFNが有効であったGenotype 1b HCV (HCV-1b) と、無効であったHCV-1bの全遺伝子構



造を比較することで、IFN感受性を規定しているHCV遺伝子領域の同定を試みた。その結果、IFN感受性HCVと抵抗性HCVのアミノ酸配列の相違はNS5AのC末端側の40アミノ酸(NS5A a.a. 2209-2248)に集中しており、同領域におけるアミノ酸配列がIFN感受性に関与していることを見出した。すなわち、Genotype HCV-1bの基準株であるHCV-Jと比較した場合、IFN著効例ではNS5A a.a. 2209-2248に多数のアミノ酸変異を認めたのに対し、IFN無効例ではほとんど認めず、この領域をIFN感受性を規定する領域として Interferon Sensitivity Determining Region (ISDR) と命名した (図2-1-3上)。

## II. IFN単独療法時代におけるHCV治療効果とISDR変異数

HCV-1bをISDRのアミノ酸変異数によりWild type (変異数0個)、Intermediate type (変異数1~3個)、Mutant type (変異数4個以上)の3種類に分類すると、IFN単独療法においてはWild type、Intermediate type、Mutant typeでのSVRはそれぞれ8%、15%、90%であった。次にISDRの変異数別に著効率を検討する

と、0個8%、1個13%、2個17%、3個30%、4個78%、5個以上93%となり、変異数の増加に伴って階段状にSVRは上昇した(図2-1-3下)。以上のように、HCV-1bのIFN単独療法においては、とくにISDRにおける変異数4個以上が、もっとも重要なSVRの予測因子であった。

## III. PEG-IFN+リバビリン時代における治療効果予測とISDR変異数

前述のように、IFN単独療法時代では、ISDR変異数4個以上がSVRのために重要な因子であった。しかしながら、SVR率の大きく改善したPEG-IFN+リバビリン時代において、ISDR変異数と治療効果はどのように関連するのだろうか？ われわれは、PEG-IFN+リバビリン治療を行ったHCV-1b症例において、治療効果を規定する因子について多変量解析を行ったところ、最終的に肝線維化とISDR変異数のみが独立した因子として抽出された(表2-1-1)。興味深いことにIFN単独療法時代とは異なり、PEG-IFN+リバビリン治療においては、ISDR変異数2個以上が治療効果を規定するもっとも重要な独立因子であった。すなわち、IFN単

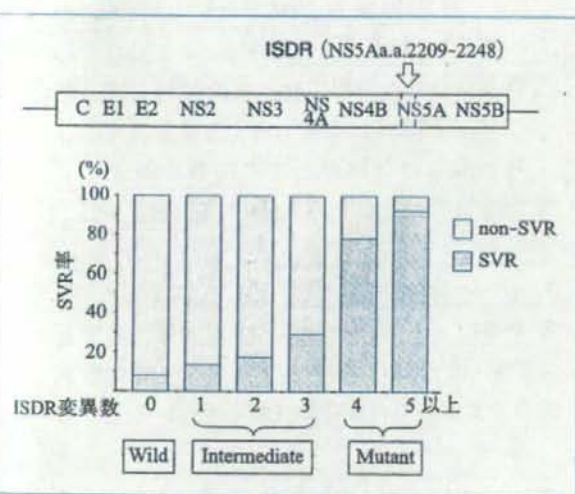


図2-1-3 ISDR変異数とIFN単独療法の治療効果

表2-1-1 PEG-IFN+リバビリン治療(HCV-1b)のSVRに寄与する因子(n=140)

	Odds ratio (95% CI)	p value
年齢(<60歳/≥60歳)	0.453	0.0719
HCVコア蛋白量	0.454	0.0663
肝線維化(F1/F2~4)	1.810	0.0173
ISDR(変異数<2/≥2)	5.125	0.0062

多変量ロジスティック回帰分析



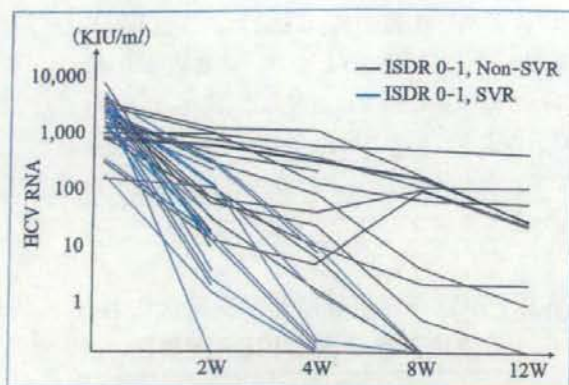


図2-1-4 HCV-1b・ISDR 0または1変異症例におけるウイルスダイナミクス (n=100)

独療法時ではISDR変異4個以上であることがSVRのために必要であったのが、強力なPEG-IFN+リバビリン治療においては、ISDR変異数2個以上で80%以上もの十分な効果が期待でき、SVRを予測するISDR変異数は4個から2個までに引き下げられることとなった。

一方、HCV-1bにおいてISDR変異が2個未満の症例群、すなわちISDR 0-1変異群ではIFN単独療法時代にはSVRをほとんど認めなかったが、PEG-IFN+リバビリン治療においては、ISDR 0-1変異群であっても約4割前後にSVRが達成されることがわれわれの検討で明らかとなった。ではISDR 0-1変異群においては、いったい何が治療効果を規定しているのだろうか？

このような観点から、HCV-1b・ISDR変異数0-1群において、PEG-IFN+リバビリン治療開始後のウイルスダイナミクスを詳細に検討すると、ウイルスの減少率には症例ごとに顕著な差が認められ、一部ではまったくといってよいほど減少しない症例が存在する。その一方で、一部では急速に血中から消失する症例が存在し、これらの消失率は最終的な治療成績と強く関連することが明らかとなった(図2-1-4)。この事実は、ISDR以外にも治療効果を規定す

る別なHCVゲノム領域が存在することを示唆していた。

#### IV. HCV-1b・ISDR 0-1変異症例において、治療反応性を規定するHCVゲノム領域の抽出

そこで、HCV-1b・ISDR 0-1変異症例において治療効果に関連する、ISDR以外のウイルス側因子を探索するため、PEG-IFN+リバビリン治療を行ったHCV-1b・ISDR 0-1変異症例のなかから、極端に初期反応性が異なった2群を選び、HCV全アミノ酸配列の違いを決定した。すなわち、治療開始後4週間でウイルス量が2 log未満に低下した症例をSteep Responder(急峻反応者)、一方、4週間でウイルス量低下が1 log drop未満のものをFlat Responder(平坦反応者)と定義し、血清からHCV RNAを抽出し、ダイレクトシーケンス法にて、HCV全アミノ酸配列の違いを決定した。表2-1-2に対照とした患者群の背景について示すが、2群における背景因子(年齢、性別、線維化、投与前のウイルス量(コア蛋白量))に有意差は認められない。一方、著しく異なっているのが、投与4週間後のウイルス量であった(表2-1-2)。

この2群間において、HCV全ゲノム領域にわたってアミノ酸配列を比較すると、NS2などにもいくつか各々の群で特徴的な配列を認めたものの、明らかに2群でもっとも有意差をもって異なっていたのが、コア70番目のアミノ酸であった。すなわち、Flat Responder全例で70Q(グルタミン)であったのに比して、Steep Responder全例で70R(アルギニン)であった(図2-1-5)。この結果からは、コア70番目のアミノ酸配列が、PEG-IFN+リバビリン治療成績を大きく規定している可能性が考えられる。





### V. HCV-1b・ISDR 0-1・コア70Qは、PEG-IFN + リバビリン治療に対し 著明な治療抵抗性を示す

そこで次に、コア70番目のアミノ酸配列のもつ臨床的意義をさらに明らかにするため、SteepあるいはFlat Responderに限らず、PEG-IFN + リバビリン治療を施行したほかのHCV-1b・ISDR 0-1群についても検討を行った。コア70番変異ごとのウイルス消失時期とSVRについて図2-1-6に示すが、コア70Rでは、解析28例のうち、4週までにウイルス消失したRVR (Rapid Viral Responder) 3例中SVR 3例、12週までに消失したEVR (Early Viral Responder) 18例中SVR 15例、24週までに消失したLVR (Late Viral Responder) 7例中SVR 3

例であったが、コア70R全例28例中21例(75%)がSVRとなっており、コア70RはSVRに強い関連を示した。

一方、コア70Qではさらに驚くべき結果であった。すなわち解析症例15例において、治療反応性が悪いため多くのものが途中で治療が中止されており、治療を完遂したものにおいてもSVRとなった症例はなかった。結果として、HCV-1b・ISDR 0-1、かつコア70Qの場合、われわれが検討した症例において、全例が最終的に無効となっており、コア70Qは強力な無効予測因子であった。

さらなる検討が必要ではあるものの、ISDR変異に加えてコア蛋白変異を治療前に測定することで、難治性であるHCV-1b患者のかかなりの部分の治療効果を、今後は正確に予測することが可能になるものと考えられる。

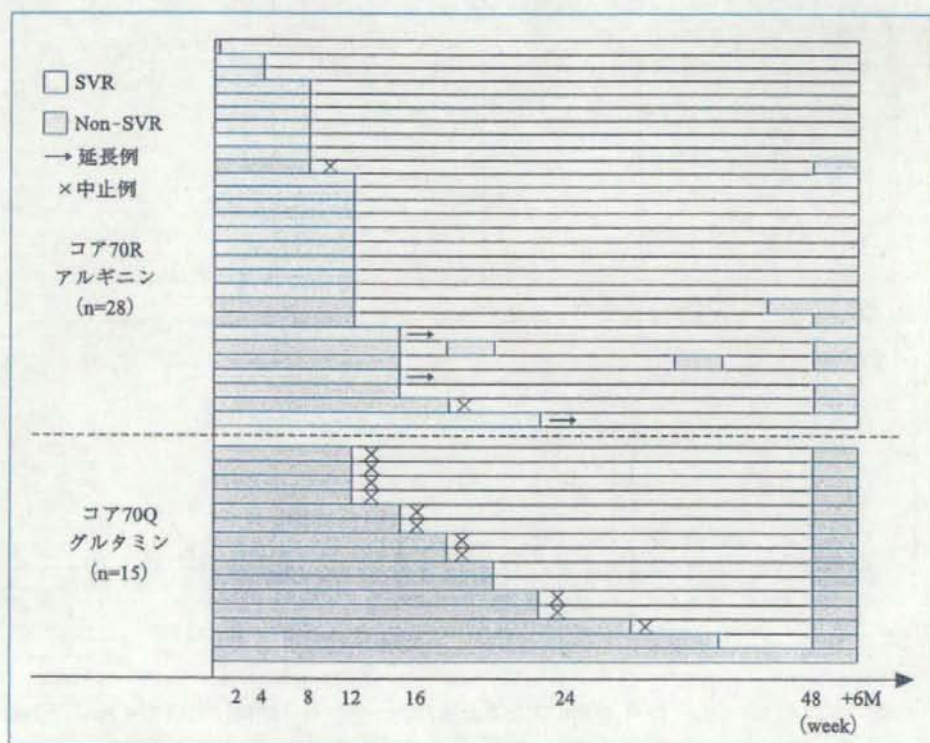


図2-1-6 コア蛋白変異とウイルス消失時期とSVR (HCV-1b・ISDR 0-1)