

おわりに

強力なPEG-IFN+リバビリン療法時代になって治療成績が大幅に改善した現在ではあるが、やはり一定の無効例が存在する。そのため治療効果を正確に予測することは、臨床場において重要であり、さらに、その機序を明らかにすることは、将来の新しい治療への進展へと結びつくものと考えられる。

今回われわれはHCV-1bにおいて、HCV Genome Wide Analysisによって、ISDR以外にコア蛋白変異の重要性、とくにコア70Qではほとんど治療抵抗性となることを明らかにした。コア蛋白の機能としては、インスリン抵抗性と肝細胞の脂肪化³⁾、IFN・シグナル伝達抑制分子SOCSの活性化^{4),5)}などが知られている。今後は、さらに大規模な解析を行うことにより、詳細な臨床経過との関連を明らかにすると同時に、近年発達しつつあるHCV培養系などによる機能解析を導入することによって、治療抵抗性の機序を明らかにし、これを克服する新たな治療戦略が可能となることが期待される。

文 献

- 1) 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.* 96 ; 224-230, 1995
- 2) Enomoto, N., Sakuma, 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.* 334 ; 77-81, 1996
- 3) Banerjee, S., Saito, K., Ait-Goughoulte, M., et al. : Hepatitis C virus core protein upregulates serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and impairs downstream akt/protein kinase B signaling pathway for insulin resistance. *J. Virol.* 82 ; 2606-2612, 2008
- 4) Kawaguchi, T., Yoshida, T., Harada, M., et al. : Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3. *Am. J. Pathol.* 165 ; 1499-1508, 2004
- 5) Miyoshi, H., Fujie, H., Shintani, Y., et al. : Hepatitis C virus core protein exerts an inhibitory effect on suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1 gene expression. *J. Hepatol.* 43 ; 757-763, 2005

Medical Practice

2008 vol. 25 no. 10

肝炎臨床に必須の遺伝子解析
C型肝炎ウイルス遺伝子解析と診療への応用

坂本 稔・榎本信幸

東京 文光堂 本郷

肝炎臨床に必須の遺伝子解析 C型肝炎ウイルス遺伝子解析と診療への応用

坂本 穰・榎本信幸*

山梨大学大学院肝疾患地域先端医療システム学・*山梨大学医学部第一内科/さかもと・みのる えのもと・のぶゆき

はじめに●

C型肝炎ウイルスに対する従来のインターフェロン単独療法では、ウイルス排除 sustained virological response (SVR)率は30%程度に過ぎなかったが、ペグインターフェロンとリバビリン併用療法が行われるようになり、約70%でウイルス排除が可能となった。しかし、難治とされる genotype 1b かつ高ウイルス量の慢性肝炎に対する治療成績は、併用療法を48週間行っても、約半数でウイルス排除が可能であるにすぎない。この、インターフェロン治療反応性の違いについては、さまざまな検討がなされてきたが、ウイルス側の要因として、C型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子型(genotype)をはじめとする、さまざまな遺伝子変異の存在が明らかになってきた。したがって、治療開始前にHCVの遺伝子解析を行えば、より詳細な治療効果予測が可能となり、治療適応の決定や治療法・治療期間の決定に重要な情報を得ることが可能となった。また、これらに、年齢・性

別・肝線維化などの個々の宿主因子を加えれば、さらに詳細な治療効果予測が可能となり、いわゆる「テーラーメイド医療」にも応用可能であると考えられる。

C型肝炎ウイルスの遺伝子構造●

C型肝炎ウイルス hepatitis C virus (HCV)は+1本鎖のRNAウイルスであり、ゲノムの両端に非翻訳領域が存在し、中央部には約3,010個のアミノ酸からなる1本のポリ蛋白前駆体をコードする open reading region が存在し、この領域からHCVの構造蛋白(コア、エンベロープ蛋白)とウイルス増殖に必要な種々の酵素(非構造蛋白)がつくられる(図1)。このうち、現在までにインターフェロン感受性との関連が指摘されているのは、コア70番・91番アミノ酸変異、E2/NS1に存在する超可変領域 hypervariable region (HVR)、phosphorylation homology domain (PePHD)、NS5A領域内のPKR binding domain、インター

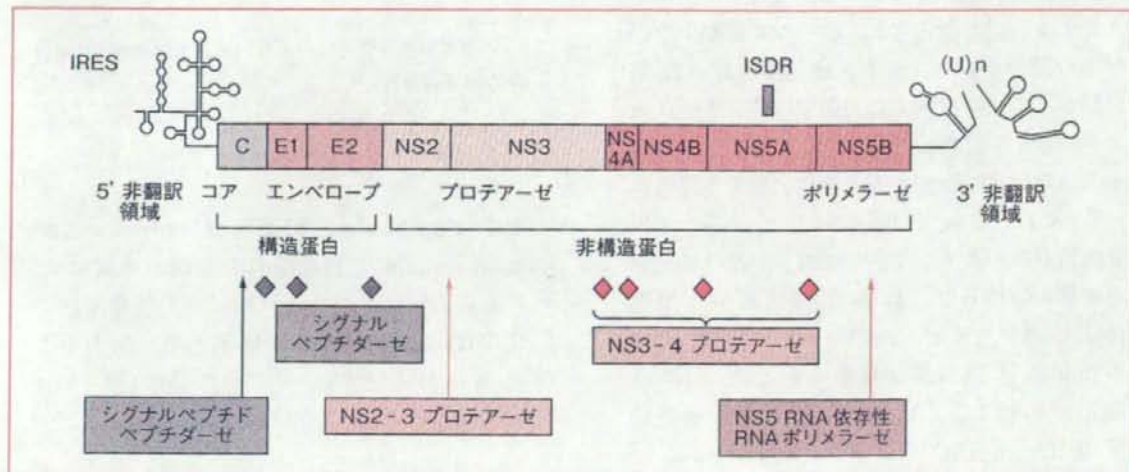


図1 C型肝炎ウイルスの遺伝子構造

- C型肝炎ウイルスの遺伝子解析のうち、臨床への応用可能なものには、ISDRとコアアミノ酸変異がある。
- C型肝炎ウイルスは遺伝子型によりインターフェロン感受性が異なる。

フェロン感受性領域 interferon sensitivity determining region (ISDR) などであるが、現在、診療への応用可能なものとしては ISDR とコアアミノ酸変異がある。

HCV 遺伝子型

HCV は、遺伝子の修復機構を持たないため、約 20% の塩基配列が異なる遺伝子型が存在する。世界では少なくとも 1~6 の遺伝子型が存在することが明らかになっているが、わが国では、ほとんどが、1b、2a、2b 型であり、1b が 70%、2a が 20%、2b が 10% を占めている。遺伝子型測定は、現在健康保険は適応ではないため、日常臨床の現場ではセログループ (serogroup) が用いられ、グループ 1 は 1b、グループ 2 は 2a、2b 型に相当する。

遺伝子型ごとのインターフェロン治療効果は大きく異なるが、感受性が最も高いのは 2a 型で、2b、1b の順で感受性が劣る。しかし、2a 型と 2b 型の感受性の差は大きくなく、臨床的には、グループ 2 は治療効果が高いと考えて差し支えない。一方、インターフェロンの治療効果は、ウイルス量によっても規定され、ウイルス量が少ないほど治療効果が高く、最も治療効果の高い 2a 型かつ低ウイルス量症例では、従来のインターフェロン単独 6 ヶ月間の SVR 率は 90% であり、インターフェロン単独療法でも十分高い効果が得られている (表 1)。また、初回治療の場合、高ウイルス量症例のみペグインターフェロン+リバビリン併用療法が認められており、治療期間も 1b 型の場合は 48 週であるが、2a 型ないしは 2b 型 (セログループ 2) は 24 週間が標準である (注: 現在、初回治療の場合、2 型の保険適応があるのは PEG-IFN α -2b [ペグイントロン] のみである)。当科および関連施設で組織する共同研究 Y-

表 1 C型肝炎における IFN 単独療法の SVR 率

遺伝子型 genotype	1b	2a	2b
ウイルス量 1 Meq または 100 KIU/ml 以上	8% (6/87)	53% (10/19)	69% (9/13)
1 Meq または 100 KIU/ml 未満	38% (29/77)	90% (27/30)	53% (9/17)

山梨大学第一内科 (N=243)

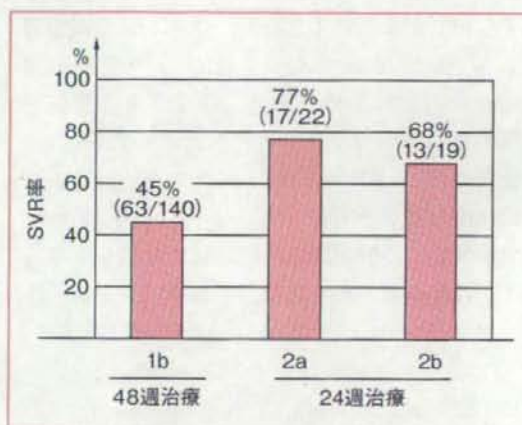


図 2 ペグインターフェロン+リバビリン併用療法における genotype と SVR 率

PERS (Yamanashi-PEG-interferon α -2b-Ribavirin Study) で集積された症例の検討では、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法の SVR 率は、1b 型に対する 48 週治療、2a 型および 2b 型の 24 週治療で、それぞれ 45% (63/140)、77% (17/22)、68% (13/19) であった (図 2)。

- ISDR は治療効果を規定する独立した因子である。
- インターフェロン単独療法では ISDR に 4 個以上のアミノ酸変異があると、きわめて高い SVR 率を示す。
- ペグインターフェロン+リバビリン併用療法では、ISDR の 2 個以上のアミノ酸変異が、治療効果を決定する最も重要な因子である。

表2 ペ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

NS5A-ISDR ●

1b 型の HCV では、インターフェロン単独療法において、NS5A 領域の C 末端よりの 40 アミノ酸が治療効果と密接に関連することが Enomoto らにより明らかにされ、この領域は ISDR と命名された¹⁾。この領域は PKR binding domain の N 末端側に位置し、ウイルス増殖に関与している部位と考えられている。インターフェロン単独療法では、この領域に変異のない野生型(wild type)で SVR となる可能性が低く、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 率を示すことが明らかになっている。臨床的には、野生型では、ウイルス量が多く、変異型ではウイルス量は低く、ISDR の変異数が増すほどウイルス量は減少し、ウイルス量とも相関することが明らかになっているが、多変量解析では、ISDR 変異数はウイルス量とは関係なく治療効果を決定する独立した因子であった。

同様に、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法において ISDR について検討すると、治療効果予測因子は、宿主因子を含めて多変量解析を行っても ISDR 変異 2 個以上が、治療効果を規定する最も重要な因子であることが明らかになった(表 2)²⁾。したがって、ISDR 変異は、インターフェロン単独療法では 4 個以上の変異が治療効果を得るために必要であったが、治療効果の高いペグインターフェロン+リバビリン併用療法では、2 個以上の変異があれば SVR が期待できることとなった。

コア領域変異 ●

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、治療完遂しても SVR にならない症例が多数を占めていた。すなわち、ISDR 変異数 0・1 かつコア 70 番が Q では

- ペグインターフェロン+リバビリン併用療法では、ISDRが0ないし1個変異であればコア70番のアミノ酸変異が治療効果予測因子として重要である。
- コア70番のアミノ酸がアルギニン(R)であればSVRが期待できる。
- コア70番のアミノ酸がグルタミン(Q)であっても治療早期にウイルスが消失した症例では、治療期間を延長することでSVRが得られる可能性がある。

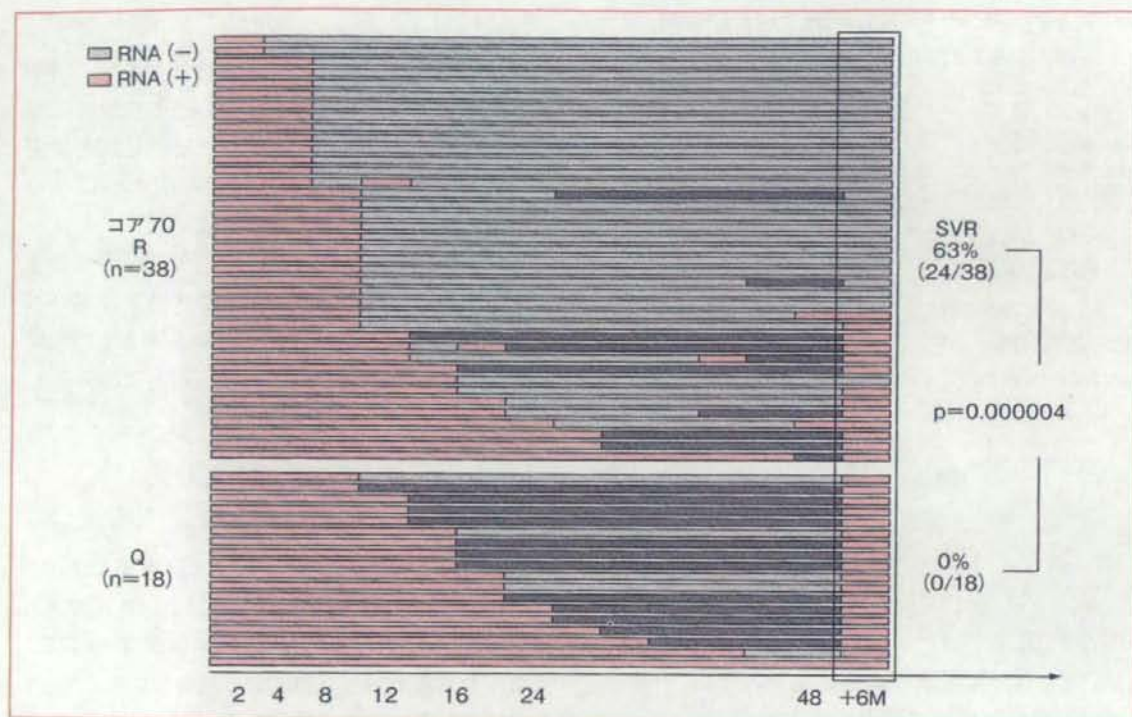


図3 コア蛋白変異とウイルス消失時期, SVR (1b-ISDR 0・1)

18例全例で治療効果が不良のため治療中止されており、最終的に1例もSVRが得られなかった。一方、ISDR 0・1でコア70番がRであれば63%がSVRとなっていた。特に、治療4週までにウイルス消失したRVR (rapid viral response)の症例では14例全例、12週までにウイルス消失したEVR (early viral response)の症例16例中13例(81%)でSVRとなっていた(図3)。一方、コア70番がQの難治例であっても、治療早期にウイルスが消失した症例では、治療期間を延長することでSVRが得られており、ウイルス学的に難治例であっても、治療法の工夫をすればウイルス排除が可能であった。コア領域のアミノ酸置換がペ

グインターフェロン+リバビリン併用療法の治療効果と関連するとの報告はDonlinらよりなされており³⁾、また、Akutaらも、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⁴⁾。コア蛋白は、ゲノムと結合しス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、治療反応性と関連する可能性が考えられている。

- 遺伝子型、ISDR、コアアミノ酸変異が、診療に応用できるC型肝炎ウイルスの遺伝子変異である。
- 遺伝子解析と宿主因子を考慮することでテーラーメイド医療が可能となる。

表3 C型肝炎に対するテーラーメイド治療

1) 遺伝子型				
2型：インターフェロン単独 高ウイルス量ではペグインターフェロン +リバビリン24週				
1型：ISDRとコア領域変異測定による方針決定				
2) 1型におけるISDRとコアアミノ酸70番変異				
ISDR変異数4個以上：インターフェロン単独				
ISDR変異数2個以上：ペグインターフェロン +リバビリン48週				
ISDR変異数0・1個の場合：下記のペグインター フェロン+リバビリンの成績をふまえ、検討する				
	ISDR 変異数	0	1	2個以上
コア70番 アミノ酸				
R		72週投与により 70%	86%	81%
NonR (Q)		72週投与(8週以内の陰性化例)により 40%		

フェロン+リバビリン併用療法48週間の治療でSVRが期待できる。またISDR変異数0・1であってもコア70番のアミノ酸がRであればSVRが期待できるが、Qであれば治療には慎重である必要がある。しかし、ISDR変異数0・1でコア70番がQであっても、治療早期(8週以内)にウイルス陰性化が得られれば、72週間投与によりSVRとなる可能性が残されているということになる(表3)。さらに、宿主因子である性別、年齢、肝線維化・脂肪化、初回・再治療、前治療の効果を考慮することによって、さらに詳細な治療効果予測が可能になると思われ、近い将来の、いわゆる「テーラーメイド治療」が実現する日も近いと考えられる。しかし、このためには、HCVの遺伝子解析が必須であり臨床応用することが重要である。

C型肝炎ウイルス遺伝子解析と診療への応用の

実際とテーラーメイド医療の可能性●

HCVの遺伝子解析により治療効果を予測することは可能となった。すなわち、遺伝子型が2aないしは2b型であれば、インターフェロン単独療法でもある程度効果が期待できるが、ウイルス量が多い場合は、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法が選択可能である。さらに、1b型でウイルス量が多い場合は、ISDRが重要である。ISDR変異数が4個以上あれば、単独療法でも治療可能であるし、2個以上あればペグインター

文献

- 1) 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* 334 : 77-81, 1996
- 2) 坂本 稷, 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* 97 : 57-63, 2008
- 3) Donlin, M.J., Cannon, N.A., Yao, E. et al. : Pre-treatment sequence diversity differences in the full-length hepatitis C virus open reading frame correlate with early response to therapy. *J Virol* 81 : 8211-8224, 2007
- 4) 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* 79 : 1686-1695, 2007

Interferon sensitivity determining region : ISDR

坂本 穰* 榎本 信幸**

索引用語：C型慢性肝炎，インターフェロン，ISDR，個別化医療

1 はじめに

C型肝炎に対する従来のインターフェロン単独療法の，ウイルス排除(SVR: sustained virological response)率は30%程度に過ぎなかったが，ペグインターフェロンとリバビリン併用療法が行われるようになり，約70%でウイルス排除が可能となった。しかし，難治とされる genotype 1b かつ高ウイルス量の慢性肝炎では，併用療法を48週間行っても，約半数でのみウイルス排除可能であるにすぎない。このインターフェロン治療反応性の違いについては，さまざまな検討がなされてきたが，ウイルス側の要因として，C型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子型(genotype)をはじめとする，さまざまな遺伝子変異の存在が明らかになってきた。特に，HCVの非翻訳領域(Nonstructural region: NS) 5Aに存在するインターフェロン感受性領域(Interferon sensitivity determining region: ISDR)のアミノ酸変異は，治療効果の予測因子として

臨床応用可能であることがみだされてい

2

C型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子構造とインターフェロン感受性領域(Interferon sensitivity determining region: ISDR)

C型肝炎ウイルス(Hepatitis C virus: HCV)は+1本鎖のRNAウイルスであり，ゲノムの両端に非翻訳領域が存在し，中央部には約3,010個のアミノ酸からなる1本のポリ蛋白前駆体をコードするopen reading frameが存在する。この領域にはHCVの構造蛋白(コア，エンベロープ蛋白)とウイルス増殖に必要な種々の酵素をコードする非構造領域(Nonstructural region: NS)が存在する。このうち，NS5A領域のC末端よりの40アミノ酸(NS5A a.a. 2209-2248)領域は，かつて，1b型のHCVに対するインターフェロン単独療法の著効症例と無効症例の全塩基配列の比較検討から，治療効果に関連した遺伝子領域とし

Minoru SAKAMOTO et al : Interferon sensitivity determining region: ISDR

*山梨大学大学院肝炎地域先端医療システム学 [〒409-3898 中央市下河東 1110]

**山梨大学医学部第1内科

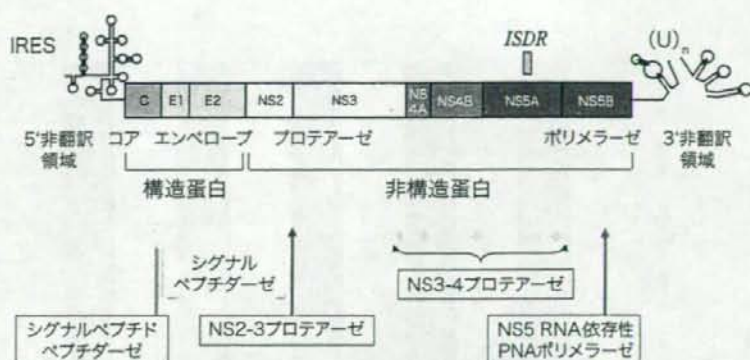


図1 C型肝炎ウイルスの遺伝子構造

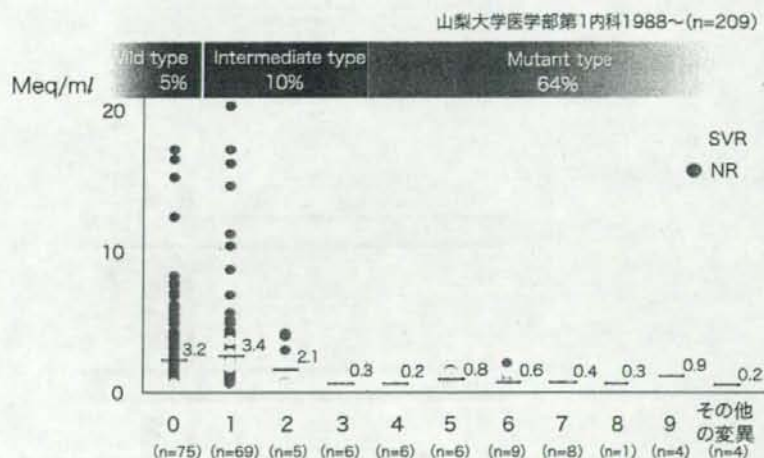


図2 IFN単独療法(6カ月)のISDR変異数と治療効果とウイルス量の関係

てみいだされ、インターフェロン感受性領域 (Interferon sensitivity determining region: ISDR) と命名された(図1)^{1,2)}。すなわち、1b型のHCVの標準株であるHCV-Jと比較して、変異のない野生型(wild type)ではインターフェロン単独療法ではSVRとなる可能性は極めて低いのにに対し、4個以上の変異がある変異型(mutant type)では高いSVR率を示し、1~3個の変異がある中間型(interme-

diate type)ではこの中間のSVR率を示す。この領域はPKR Binding domainのN末端側に位置し、ウイルス増殖と密接に関連している部位と考えられ、レプリコンを用いた細胞培養モデルでも適応変異(adaptive mutations)の集積部位である³⁾。さらにISDRを含むNS5A領域から翻訳される蛋白は、種々のtyrosine kinases活性を調節していることも推測されており、この領域のアミノ酸変異が

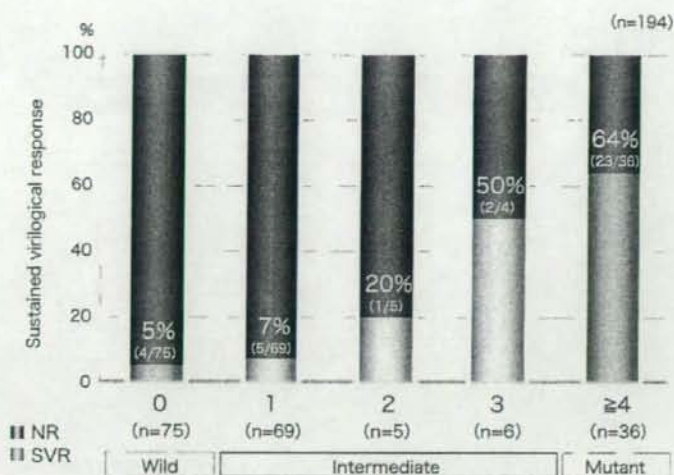


図3 IFN 単独療法 (6カ月) の ISDR 別 SVR 率

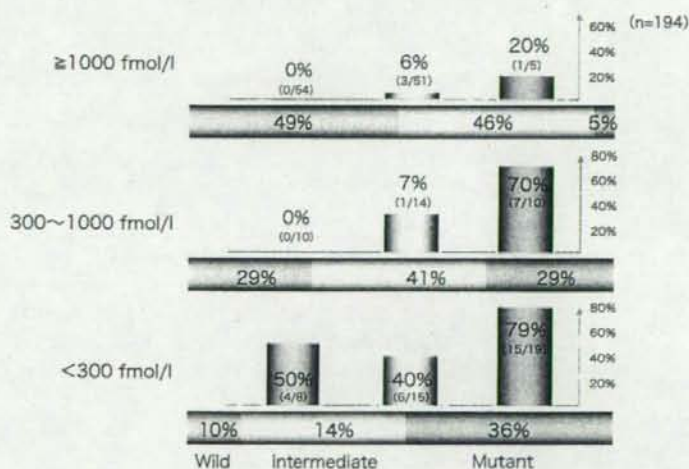


図4 IFN 単独療法 (6カ月) の HCV 量と ISDR 別 SVR 率

HCVの増殖やインターフェロン感受性と関連することは、ウイルス学的にも容易に推測される。また、臨床的には、野生型ではウイルス量が多く、変異型ではウイルス量は低く、ISDRの変異数が増すほどウイルス量は減少することが明らかになっている(図2)。

3 インターフェロン単独療法と ISDR変異

もともと、ISDRはインターフェロン単独療法の時代にみいだされたもので、1b型のC型慢性肝炎に対するインターフェロン単独6カ月間の治療成績をISDRのアミノ酸変異数

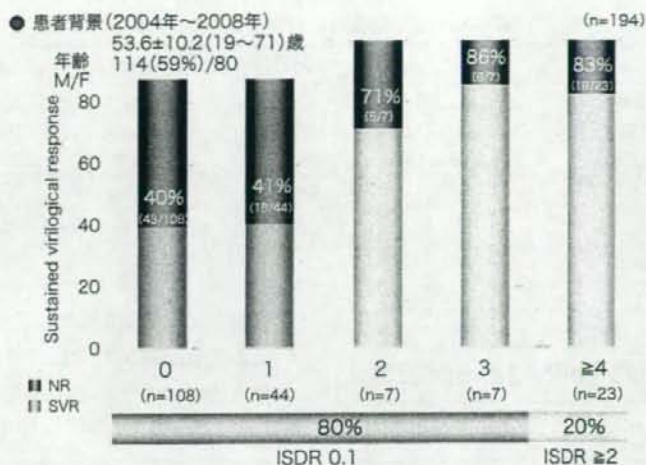


図5 PEG + Riba治療(12カ月)のISDR別SVR率(高ウイルス症例)

表1 PEG + Riba治療(1b)のSVRに寄与する因子(12カ月治療) (n=194)

		odds比	95% CI	p
年齢	<60/≥60	0.255	0.057-0.886	0.0329
F因子	0-1/2-4	0.139	0.034-0.563	0.0061
白血球数	<4600/≥4600	3.427	0.582-13.787	0.0828
ISDR変異数	0-1/2-	164.571	8.458 > 999.9	0.0008
コアAA70	Q/R	13.840	2.464-77.739	0.0028

多変量ロジスティック回帰分析

別に検討すると, Wild type, Intermediate type, Mutant typeのSVR率はそれぞれ5%, 10%, 64%であり, ISDRにおけるアミノ酸変異数の増加に伴い, 著効率は上昇するもののISDR変異数4個以上が重要であることが明らかにされている(図3)。インターフェロン単独療法では, 治療効果はウイルス量と相関し, HCVRNA量が高いほど治療効果が劣るが, ISDR変異とHCVRNA量は相関することから, ISDR変異は単にウイルス量を反映したに過ぎないとの指摘もある。しかし, 多変量解析では, ISDRはウイルス量とは関係なく, SVRに寄与する独立した因子として認

められるし, ウイルス量が同等であれば, ISDR変異数が多いほど治療効果は高い(図4)。一方, genotype 2aないしは2bにおいては, 総じて治療効果が高いため, ISDRは1b型ほど有意な治療効果規定因子とはなりえないが, ISDRのアミノ酸変異数が多いほど治療効果が高い傾向がある。また, 最近では, インターフェロン単独療法はペグインターフェロン(PEG-IFN α 2a: ペガシス)を用いることが多いが, この現象はPEG-IFN α 2a (12カ月治療)でも認められる。

表2 PEG/Riba治療(1b-ISDR 0・1)のSVRに寄与する因子(n=157)

		odds比	95% CI	p
年齢	<60/≥60	0.122	0.023-0.641	0.0129
F因子	0-1/2-4	0.066	0.011-0.407	0.0035
T.Chol	<160/≥160	10.757	1.630-70.990	0.0136
コアAA70	Q/R	49.457	4.499-543.583	0.0014

多変量ロジスティック回帰分析

4

ペグインターフェロン+
リバビリン併用療法とISDR変異

現在、1b型のHCVに対する標準治療は、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法であり、難治である1b型かつ高ウイルス量症例の治療成績を大きく向上させた。この治療法においても、ISDR変異はSVRを規定する独立した因子であり、宿主因子である肝の線維化とならび、最も重要な因子であった⁴⁾。しかし、インターフェロン単独療法でSVRが得られるためにはISDRのアミノ酸変異は4個以上必要であったが、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法においては、2個以上の変異があれば80%以上の高い確率でSVRを期待できることが明らかになった(表1)。これは、インターフェロン単独療法に比較して、PEG-IFN+リバビリン療法の抗ウイルス効果が格段に高いことに由来していると考えられるが、臨床的な血中リバビリン濃度では、HCVに対する単独の抗ウイルス効果はわずかに過ぎない。しかし、レプリコンシステムを用いた*in vitro*の検討では、インターフェロンにリバビリンを少量添加すると、濃度依存的にインターフェロンのHCV増殖抑制効果を高めることが確認され、リバビリンはインターフェロンの効果を相乗的に高めることが報告されている。さらに、リバビリンは、ウイルスのmutagenとして

作用して、NS5A領域の遺伝子変異を増加させる現象がみだされておられ、リバビリンの作用機序のひとつとして注目されている⁵⁾。しかし、ISDRのアミノ酸変異数が0ないし1個であっても、SVRとなる症例は存在する。そこで、ISDRのアミノ酸変異数が0ないし1個の症例に限り、治療開始後4週間でウイルス量が法が2 log以上低下したsteep responderと1 log未満しか低下しなかったflat responderにつき、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治療反応性が極めて悪く、主治医の判断で治療中断した症例や、治療完遂してもSVRにならない症例が多数を占め、ISDR変異数0ないし1個の症例ではコア70番のアミノ酸変異が、SVRを予測する最も重要な因子であった(表2)。1b型症例全体でもコア70番のアミノ酸変異は治療効果予測因子のひとつであるが、ISDR変異により、症例を細分化した

表3 C型慢性肝炎に対するテララーメイド治療

1) 遺伝子型
 2型: インターフェロン単独
 高ウイルス量ではペグインターフェロン+リバビリン24週
 1型: ISDRとコア領域変異測定による方針決定

2) 1型におけるISDRとコアアミノ酸70番変異
 ISDR変異数4個以上: インターフェロン単独
 ISDR変異数2個以上: ペグインターフェロン+リバビリン48週
 ISDR変異数0・1個の場合: 下記のペグインターフェロン+リバビリンの成績をふまえ、検討する

ISDR 変異数	コア70番 アミノ酸		
	0	1	2個以上
R	72週投与投与により 70%	86%	81%
NonR (Q)	72週投与(8週以内の陰性化例)により 40%		

うえて、難治が予測されるISDR変異数0ないし1の症例においては、コアアミノ酸変異を検討することが重要であると考えられる。

5 ISDRからみたC型慢性肝炎に対する治療方針

HCVのゲノム解析により、インターフェロン治療の効果予測は可能となりつつある。すなわち遺伝子型が2aないしは2b型であれば、遺伝子変異に関わらず、インターフェロン単独療法でもある程度効果期待できるが、ウイルス量が多い場合は、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法が望ましい。さらに、1b型でもISDR変異数が4個以上あれば、単独療法でも治癒可能であるし、2個以上あればペグインターフェロン+リバビリン療法48週間の治療でSVRが期待できる。またISDR変異数が0ないし1であってもコア70番のアミノ酸がRであればSVRが期待できるが、Qであれば治療には慎重である必要

がある。しかし、ISDR変異数0・1でコア70番がQであっても、治療早期(8週以内)にウイルス陰性化が得られれば、72週間投与によりSVRとなる可能性が残されており、さらに、宿主因子である性別、年齢、肝線維化・脂肪化、初回・再治療、前治療の効果を考慮することによって、さらに詳細な治療効果予測が可能になると思われ、近い将来の、いわゆる個別化医療にHCVのゲノム解析の臨床応用が重要な意味を持っているものと考えられる(表3)。

文献

- 1) 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* 334:77-81, 1996
- 2) 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* 96 : 224-230, 1995
- 3) Maekawa S, Enomoto N, Sakamoto N et al :
Introduction of NS5A mutations enable subgenomic HCV replicon derived from chimpanzee-infectious HC-J4 isolate to replicate efficiently in Huh-7 cells. *J Virol hepatitis* 11 : 394-403, 2004
- 4) 坂本穰, 榎本信幸 : ウイルス慢性肝炎 : 診断と治療の進歩. *日本内科学会誌* 97 : 57-63, 2008
- 5) Tanabe Y, Sakamoto N, Enomoto N et al :
Synergistic inhibition of intracellular hepatitis C virus replication by combination of ribavirin and interferon-alpha. *J Infect Dis* 189 : 1129-1139, 2004

*

*

*

特 集

5. ISDRにより治療効果はどう変わるか？

坂本 稜 榎本 信幸

ライフ・サイエンス



日本におけるC型肝炎治療のコンセンサス



坂本 稷

5. ISDRにより治療効果はどう変わるか?

Sakamoto Minoru

坂本 稷¹⁾

Enomoto Nobuyuki

榎本 信幸²⁾¹⁾山梨大学大学院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

C型肝炎に対するインターフェロン療法は、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法の登場によって格段に進歩した。しかし、難治とされるgenotype 1bかつ高ウイルス量の慢性肝炎では、併用療法を48週間行っても、約半数でのみウイルス排除可能であるにすぎない。このインターフェロン治療反応性の違いについては、様々な検討がなされてきたが、ウイルス側の要因として、C型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子型(genotype)をはじめとする、様々な遺伝子変異の存在が明らかになってきた。特に、HCVの非翻訳領域(nonstructural region: NS)5Aに存在するインターフェロン感受性領域(interferon sensitivity determining region: ISDR)のアミノ酸変異は、治療効果の予測因子として臨床応用可能であることが見出されている。

C型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子構造とISDR

C型肝炎ウイルス(hepatitis C virus: HCV)は+1本鎖のRNAウイルスであり、ゲノムの両端に非翻訳領域が存在し、中央部には約3,010個のアミノ酸からなる1本のポリ蛋白前駆体をコードするopen reading frameが存在する。このうち、NS5A領域のC末端寄りの40アミノ酸(NS5A a.a. 2209-2248)領域は、かつて1b型のHCVに対するインターフェロン単独療法の著効症例と無効症例の全塩基配列の比較検討から、治療効果に関連した遺伝子領域として見出され、インターフェ

ロン感受性領域(interferon sensitivity determining region: ISDR)と命名された(図1)^{1,2)}。すなわち、1b型のHCVの標準株であるHCV-Jと比較して、変異のない野生型(wild type)ではインターフェロン単独療法ではSVRとなる可能性が極めて低いのにに対し、4個以上の変異がある変異型(mutant type)では高い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。この領域はPKR binding domainのN末端側に位置し、ウイルス増殖と密接に関連している部位と考えられている。臨床的には、野生型ではウイルス量が多く、変異型ではウイルス量は少なく、ISDRの変異数が増すほどウイルス量は減少することが明らかになっている。

インターフェロン治療効果とISDRの関係

もともと、ISDRはインターフェロン単独療法の時代に見出されたもので、1b型のC型肝炎に対するインターフェロン単独療法6カ月間の治療成績をISDRのアミノ酸変異数別に検討すると、wild type, intermediate type, mutant typeのSVR率はそれぞれ5%、10%、64%であり、ISDRにおけるアミノ酸変異数の増加に伴い著効率は上昇するものの、ISDR変異数4個以上が重要であることが明らかにされている(図2)。インターフェロン単独療法では、治療効果はウイルス量と相関し、HCV RNA量が多いほど治療効果が劣るが、ISDR変異とHCV RNA量は相関することから、ISDR変異は単にウイルス量を反映したにすぎないとの指摘もある。しかし、多変量解析では、ISDRはウイルス量

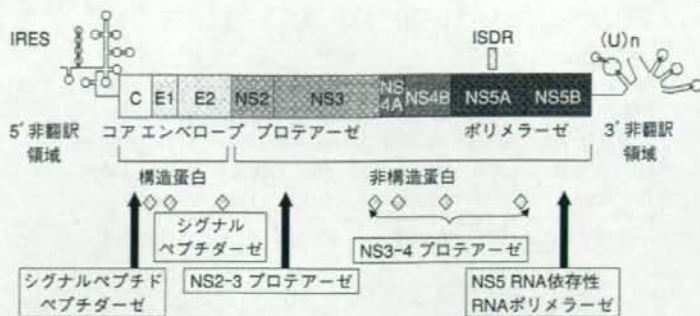


図1 C型肝炎ウイルスの遺伝子構造

C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) は+1本鎖のRNAウイルスであり、ゲノムの両端に非翻訳領域が存在し、中央部には約3,010個のアミノ酸からなる1本のポリ蛋白前駆体をコードするopen reading frameが存在する。このうち、NS5A領域のC末端寄りの40アミノ酸 (NS5A a.a. 2209-2248) 領域は、インターフェロン感受性領域 (interferon sensitivity determining region: ISDR) と命名されている。

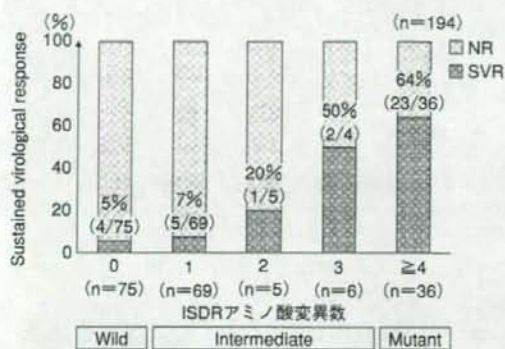


図2 IFN単独療法 (6カ月) のISDR別SVR率

1b型のC型肝炎に対するインターフェロン単独療法6カ月間のISDRのアミノ酸変異数別のSVR率はそれぞれ5%、10%、64%である。

とは関係なく、SVRに寄与する独立した因子として認められるし、ウイルス量が同等であれば、ISDR変異数が多いほど治療効果は高い。

現在、1b型のHCVに対する標準治療は、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法であり、難治である1b型かつ高ウイルス量症例の治療成績を大きく向上させた。この治療法においても、ISDR変異はSVRを規定する独立した因子であり、宿主の線維化と並び、最も重要な因子であった。しかし、インターフェロン単独療法でSVRを得るためにはISDRのアミノ酸変異は4個以上必要であったが、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法においては、2個以上の変異があれば80%以上の高い確率でSVRを期待できることが明らかになった(図3)。

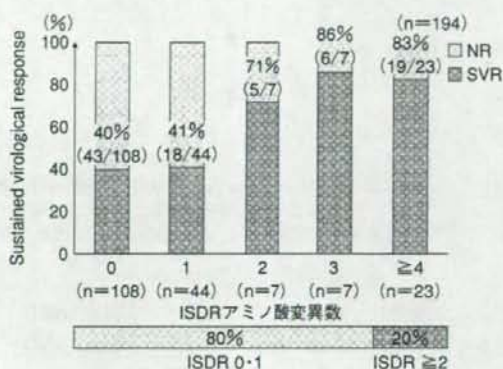


図3 PEG+Riba治療 (12カ月) のISDR別SVR率 (高ウイルス症例)

患者背景 (2004~2008年)。年齢 53.6 ± 10.2 (19~71) 歳、性別 (男/女、114 (59%) / 80)。

PEG-IFN+リバビリン併用療法では、ISDRのアミノ酸変異数0ないし1ではSVR率は40%であるのに対し、2個以上の変異があると81%となる。

ISDR別の抗ウイルス効果

ISDR変異数が多いほど、インターフェロン治療効果が高いことが明らかになったが、上述のようにISDRはHCVのウイルス量を規定しており、治療効果と関連する。しかし、同等のウイルス量であっても、ISDRにアミノ酸変異数が多いほど治療効果が高く、多変量解析を行うと、ウイルス量とは関係なく独立した因子として抽出される(表1)。一方、最終的な治療効果は、早期のウイルスの減少と関連することが明らかになっているが、ISDRも治療早期のウイルスの減少と関連している。すなわち、ISDRが変異型であれば、早期にウ

表1 PEG+Riba治療(1b型)のSVRに寄与する因子(12カ月治療)

		Odds比	95% CI	p
年齢	<60/≥60	0.255	0.057~0.886	0.0329
F因子	0~1/2~4	0.139	0.034~0.563	0.0061
白血球数(/ μ L)	<4,600/≥4,600	3.427	0.582~13.787	0.0828
ISDR変異数	0~1/2~	164.571	8.458~>999.9	0.0008
コアAA70	Q/R	13.840	2.464~77.739	0.0028

多変量ロジスティック回帰分析.

(n=194)

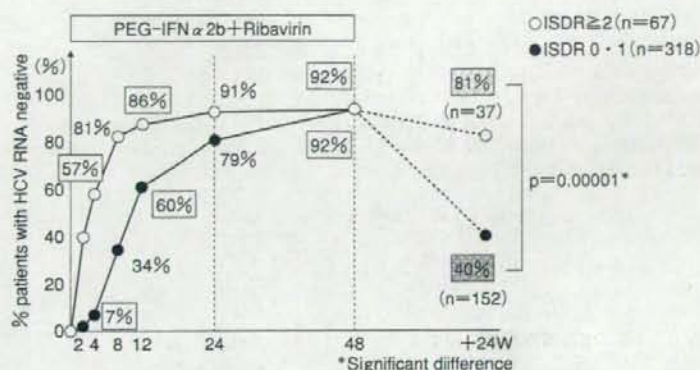


図4 PEG+Riba治療(12カ月)のISDR別の経時的ウイルス陰性化率(1b型, 高ウイルス症例)
ISDRの0ないしは1個変異, 2個以上変異でのRVR(rapid viral response)はそれぞれ7%, 57%であり, EVR(early viral response)はそれぞれ60%, 86%である。

ウイルスが減少し, 野生型であればウイルス減少は緩徐であり, 治療開始4週でのHCVの陰性化をRVR(rapid viral response), 12週でのウイルス陰性化をEVR(early viral response)とすると, ISDRの0ないしは1個変異, 2個以上変異でのRVRはそれぞれ7%, 57%であり, EVRはそれぞれ60%, 86%である。すなわち, ISDRのアミノ酸変異は早期のウイルスの減少に関連し, 結果的にSVRとも関連しているということである(図4)。一方, 予想に反して, ウイルス減少がみられない場合には, ISDR以外の因子との関連が推測され, 年齢・性別・肝線維化などの宿主因子や, ISDR以外のHCVゲノム変異などが関連しているものと思われる⁴⁾。このうちISDRのアミノ酸変異数が0ないし1個の症例では, 治療開始4週間でウイルス量が1 log未満しか低下しなかったflat responderを解析すると, コア領域70番のアミノ酸がグルタミン(Q)に変異していると, IFN治療反応性が極めて悪いことが指摘されている。

ISDRからみたC型肝炎に対する治療方針と個別化医療の可能性

C型肝炎に対するインターフェロン治療は, 厚生労働省の治療ガイドラインにも示されているように, 遺伝子型が2aないしは2b型であればインターフェロン単独療法でもある程度効果を期待できるが, ウイルス量が多い場合は, バグインターフェロン+リバビリン併用療法が望ましい。さらに, 1b型でもISDR変異数が4個以上あれば, 単独療法でも治療可能であるし, 2個以上あればバグインターフェロン+リバビリン療法48週間の治療でSVRが期待できる。また, ISDR変異数が0ないし1個であっても, コア70番のアミノ酸が変異型のQであれば治療効果が期待できない⁵⁾。しかし, ISDRとコアアミノ酸変異を加えた遺伝子変異を検討しても, 宿主因子である性別, 年齢, 肝線維化・脂肪化, 初回・再治療, 前治療の効果なども考慮しなければ, 一律に治療方針を決定することはできない, われわれの検討でも, ウイルス側因子から難治であると想定されても治療した症例では, 若年・男性・肝線維化が軽度である症例が多く含まれ, ウイルス側因子から

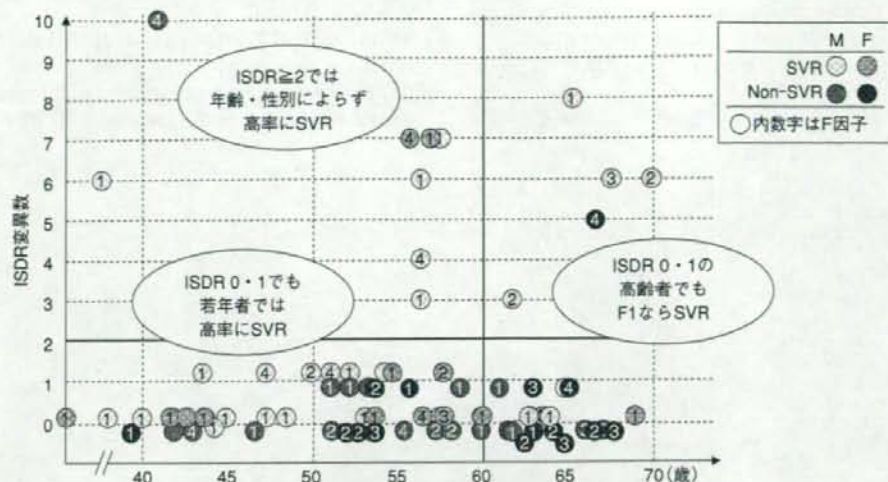


図5 ISDR・年齢・性別・肝線維化とSVRとの関連

ISDRと年齢、性別、肝線維化とSVRの関連をみると、ISDR変異が2個以上では年齢・性別によらず高率にSVRとなるが、ISDR 0・1変異では若年者にSVRが多い。高齢者でSVRとなった症例ではF1症例が多い。

表2 遺伝子変異からみた1b型のC型慢性肝炎に対する治療効果予測

HCV RNA量	ISDR 変異数	コア AA70	治療効果予測			
			0	1	2-3	≥4
高	R		PEG+Riba (12カ月) 58%		PEG+Riba (12カ月) 80%	
	NonR (Q)		PEG+Riba (12カ月) 18%	PEG+Riba (12カ月) 0%		
低			IFN単独投与(6~12カ月)60~70%			

SDRとコア蛋白アミノ酸変異による治療効果予測。難治例のうちLVR例では延長投与(18カ月)も考慮する。個々の症例の宿主因子を考慮することも重要。

SVRが期待されながら治療に失敗した例では、高齢、線維化進展例などが多い(図5)。現在までに得られたISDRとコアアミノ酸変異からみた治療効果予測を示す(表2)が、このほかにも、治療効果と関連すると考えられる因子は存在し、仮に10個の因子が関連するとして各因子に2個のカテゴリーが存在すると仮定しても、 $2^{10}=1,024$ の組み合わせが存在することになる(図6)。このうち治療効果予測に最も重要なものがISDRであることはいうまでもないが、今後はこれら因子を

1. 年齢
2. 性別
3. 肝線維化
4. ウイルス量
5. ウイルス遺伝子型
6. ISDR変異
7. コア遺伝子変異
8. リバビリン投与量
9. インターフェロン投与量
10. 陰性化時期・投与期間
11. 肥満、インスリン抵抗性...

ウイルス学的因子、宿主因子を個々に考慮した「個別化医療」へ

図6 遺伝子変異からみた1b型のC型慢性肝炎に対する個別化医療

組み合わせた詳細な治療効果予測によって、近い将来の、いわゆる個別化医療が可能になるものと思われる。

文 献

- 1) Enomoto N, Sakuma 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.
- 2) 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: 224-230.
- 3) Berg T, von Wagner M, Nasser S, et al: Extended

treatment duration for hepatitis C virus type 1 : comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006 ; 130 : 1086-1097.

4) 坂本 稔, 榎本信幸: ウイルス慢性肝炎: 診断と治

療の進歩. *日内会誌* 2008 ; 97 : 57-63.

5) 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 : 1686-1695.