

図2. HCV-1bにおいて Peginterferon/Ribavirin 治療効果を規定する HCV 遺伝子領域

間ラミブジンを投与された症例ではすでに耐性ウイルスが体内に出現している可能性があるため、ラミブジンは続行し万一臨床的に耐性ウイルスが確認されればアデホビルを加えることが推奨されている。

以上のように、核酸アナログ治療は短期的な効果は良好であるが、長期的な持続投与の効果については不明の点が残っている。一方、インターフェロンの半年から1年の投与で30%程度の患者で投与中止後の持続的なHBV増殖の鎮静化、さらに一部の患者ではウイルスの体内からの完全排除を達成する可能性があり、特にsero-conversionによる鎮静化の起こりやすい35歳以下の症例ではまず、第一に試みるべき治療となっている。週一回投与の可能なペグインターフェロンによる治療がすでに海外では認可されており治療の利便性も向上している⁴⁾。今後、B型慢性肝炎の治療としてはペグインターフェロンの導入、新たな核酸アナログ剤の導入・開発、併用療法の評価などが展望される。

2. C型慢性肝炎

HCVは肝癌の原因の約70%を占め、その対策

は現在国民的課題となっている。C型慢性肝炎の治療は2001年のペグインターフェロン・リバビリン治療の導入により劇的にその治療効果が向上した。すなわちインターフェロンに抵抗性のHCV-1b、高ウイルス量の症例であっても約45%は1年間の標準治療によりHCVの排除(sustained viral response, SVR)が達成されることが明らかとなった。

またインターフェロンに感受性のHCV遺伝子型2a/2bであれば6カ月間の治療で80~90%の症例でHCV排除が達成される。HCVの遺伝子型により肝癌への進展率に差はないので、HCV遺伝子型2a/2bであって肝癌に進展するまで未治療で放置されることがあってはならない。HCV陽性が判明した場合には必ずHCV遺伝子型を検索し2a/2b型であれば積極的にインターフェロン治療を考慮する必要がある。遺伝子型1b型であっても低ウイルス量の場合にはインターフェロン単独治療で高いウイルス排除率が見込まれる。これは後述のようにHCV遺伝子NS5A領域のインターフェロン感受性決定領域(ISDR)に変異を持つウイルスに感染している場合が多いためである。

HCV-1b感染でウイルス排除が可能であるかど

うかは、ウイルス因子、宿主因子、治療因子などに影響される。特にウイルス因子として重要なのはウイルス遺伝子変異であり、HCV遺伝子NS5A領域内のインターフェロン感受性決定領域 (interferon sensitivity determining region, ISDR)の変異⁵⁾およびコア蛋白70番アミノ酸変異⁶⁾が重要である。これらの解析は臨床検査として普及しており、インターフェロン治療の効果を予測する上で非常に有用である。ISDRはNS5A蛋白内の40アミノ酸領域(2209~2248番アミノ酸)であり、この領域に変異が多いほどHCVはインターフェロン感受性となり、一般に血中ウイルス量は低下する。4アミノ酸変異以上であればインターフェロン単独治療で、2アミノ酸変異以上であればペグインターフェロン・リバビリン併用治療で80%以上の高い治癒率が見込まれる。一方、ISDR変異が0または1変異のHCV-1bは難治性である。これらのウイルスに対するペグインターフェロン・リバビリン併用治療ではコア蛋白70番アミノ酸が治療効果に強い影響を与える。すなわち70番アミノ酸がアルギニンの場合には比較的治療感受性があり60%以上のウイルス排除率があるが、グルタミンの場合は一般に高度に治療抵抗性であり著効率は20%程度である。さらに、NS5A蛋白のIRRDR (interferon ribavirin resistance determining region)のアミノ酸変異がさらに詳細な治療効果に影響を与えることも解明されている⁷⁾。

一方、宿主因子としては年齢、性別、肝臓の線維化が影響する。年齢については、平均してウイルス排除率は男性で(100-年齢)%、女性は男性より同じ年齢であれば10%ウイルス排除率が低下する。男女とも1歳ごとに1%ずつウイルス排除率は低下する⁸⁾。肝臓の線維化は進行するほど著効率は低下する。これらの現象の機序は十分に解明されていない。2009年にゲノムワイド関連解析によるヒト全遺伝子のSNP解析によりIL28B (インターフェロンラムダ3) 遺伝子多型が治療感受性に非常に強い影響を与えるこ

とが明らかとなった⁹⁾。今後は、ウイルスおよび宿主遺伝子情報によるインターフェロン感受性検査が臨床上也さらに重要になると考えられる。

治療因子としてはペグインターフェロンおよびリバビリンの投与量および投与期間があり、一般的には投与量と投与期間が増大するほど治療効果は高くなるが、至適な投与量・期間はウイルスおよび宿主因子により異なる。さらには治療開始後の血液中のウイルス動態をガイドとして治療期間を設定することが一般化している。すなわち、投与開始4週以内に血中ウイルスが検出できなくなるrapid viral responderでは高い著効率が期待され、治療前のウイルス量が低い場合には24週間に治療期間を短縮できる可能性がある。また投与開始12週以内に血中ウイルスが陰性となるcomplete early viral responderは標準の48週治療により高率にウイルスが排除される。一方、12週でウイルスが陽性であるが治療前の100分の1以下となるpartial early viral responder、あるいは12週以降、36週までにウイルスが消失するlate viral responderは治療期間の延長が必要であり、通常は72週間の投与が行われる。12週の治療でHCVの減少が1/100に達しないno early viral responderではウイルス排除は通常困難であり治療の中止が考慮される。このようなresponse-guided therapyは現在のC型肝炎治療の基本となっている¹⁰⁾。

今後、登場する経口のHCVのプロテアーゼ阻害剤あるいはポリメラーゼ阻害剤はさらに治療効果を高めることが期待されている。プロテアーゼ阻害剤であるテラプレビルは最も開発の進んでいる薬剤であり臨床試験も終了しつつある。欧米の試験では、ペグインターフェロン・リバビリン・テラプレビルの3剤併用の24週治療でこれまでのペグインターフェロン・リバビリンの2剤併用の48週治療に比較して20%程度ウイルス排除率が向上することが示されており、その臨床導人が期待されている^{11,12)}。しかし、3剤併用によっても依然として難治の症例が存在

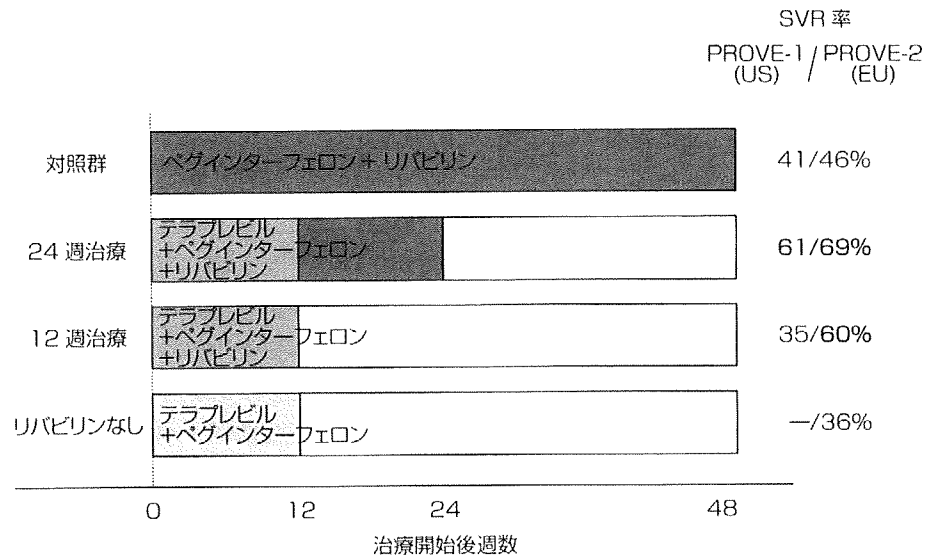


図 3. 新しい C 型肝炎治療薬テラプレビル（プロテアーゼ阻害剤）による治療効果

すること，また副作用が増大する懸念もありさらなる治療法の向上が望まれる。

おわりに

B型およびC型肝炎慢性肝炎治療の最近の状況と今後の展望を中心に解説した。ウイルス肝炎の治療は年単位で急速に進歩しており，一般内科医にその成果が周知される前に患者が肝細胞癌を発症しているくらいすらある。多くの内科専門医が最新の肝炎ウイルス治療に知悉し，一人でも多くの患者が最新の治療を受けられることが望まれる。

文 献

- 1) Chen CJ, et al; REVEAL-HBV Study Group: Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 295 (1) : 65-73, 2006.
- 2) Liaw YF, et al; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group: Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 351 (15) : 1521-1531, 2004.
- 3) Dienstag JL: Benefits and risks of nucleoside analog therapy for hepatitis B. *Hepatology* 49 (5 Suppl) : S112-121, 2009.
- 4) Perrillo R: Benefits and risks of interferon therapy for hepatitis B. *Hepatology* 49 (5 Suppl) : S103-101, 2009.
- 5) 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 (2) : 77-81, 1996.
- 6) Akuta N, et al: Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype 1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy. *Intervirology* 48(6) : 372-380, 2005.
- 7) El-Shamy A, et al: Sequence variation in hepatitis C virus nonstructural protein 5A predicts clinical outcome of pegylated interferon/ribavirin combination therapy. *Hepatology* 48 (1) : 38-47, 2008.
- 8) Watanabe S, et al; PERFECT Study Group: Prolonged treatment with pegylated interferon alpha 2b plus ribavirin improves sustained virological response in chronic hepatitis C genotype 1 patients with late response in a clinical real-life setting in Japan. *Hepatol Res* 2009. [Epub ahead of print]
- 9) Tanaka Y, et al: Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 41 (10) : 1105-1109, 2009. Epub 2009 Sep 13.
- 10) Ghany MG, et al; American Association for the Study of Liver Diseases: Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 49 (4) : 1335-1374, 2009.
- 11) McHutchison JG, et al; PROVE1 Study Team: Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV geno-

- type 1 infection. *N Engl J Med* 360(18) : 1827-1838, 2009.
Erratum in : *N Engl J Med* 2009 Oct 8; 361 (15) : 1516.
- 12) Hézode C. et al ; PROVE2 Study Team : Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med* 360 (18) : 1839-1850, 2009.
-

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型慢性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いだされている。

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

*山梨大学大学院肝疾患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

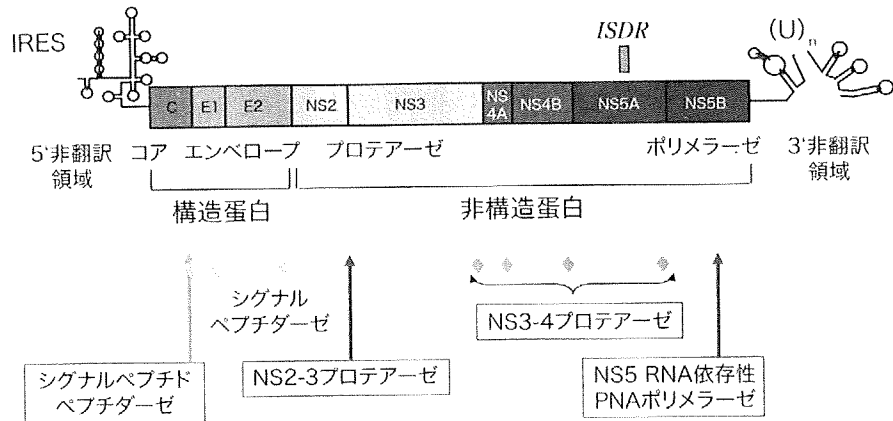


図1 C型肝炎ウイルスの遺伝子構造

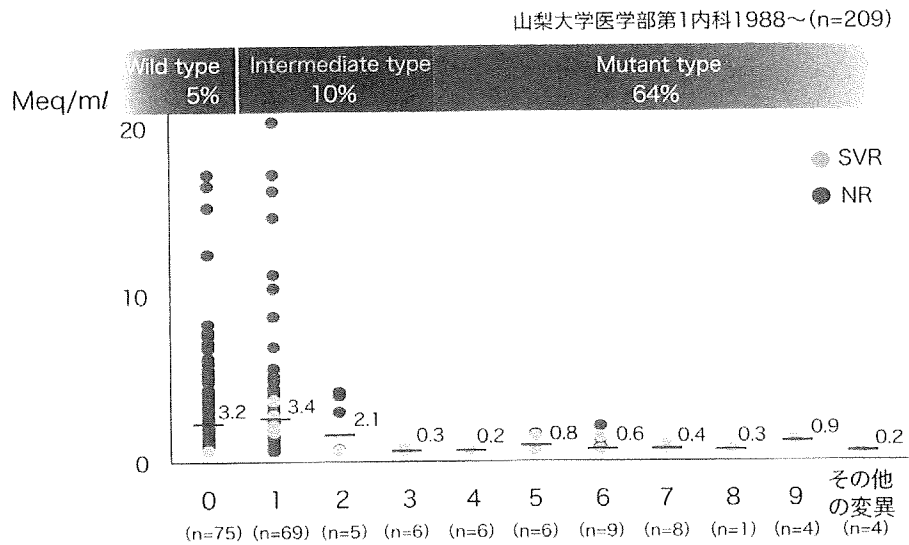


図2 IFN単独療法(6カ月)のISDR変異数と治療効果とウイルス量の関係

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 kinas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

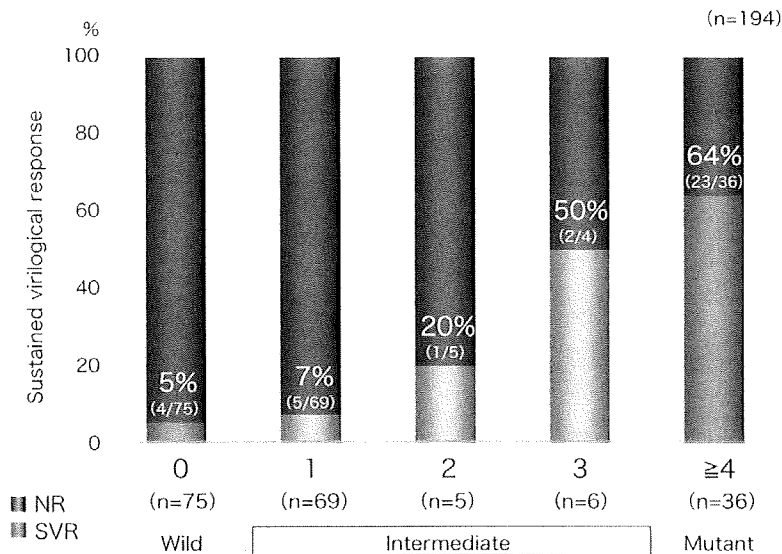


図3 IFN単独療法(6カ月)のISDR別SVR率

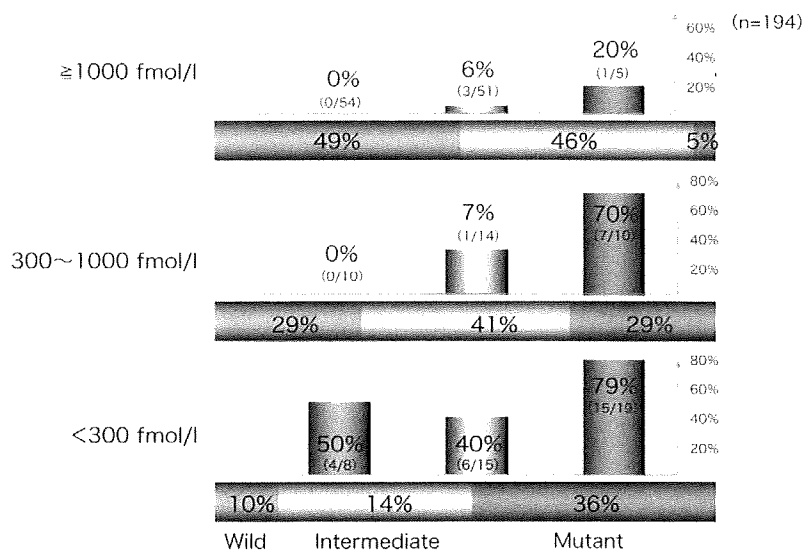


図4 IFN単独療法(6カ月)のHCV量とISDR別SVR率

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

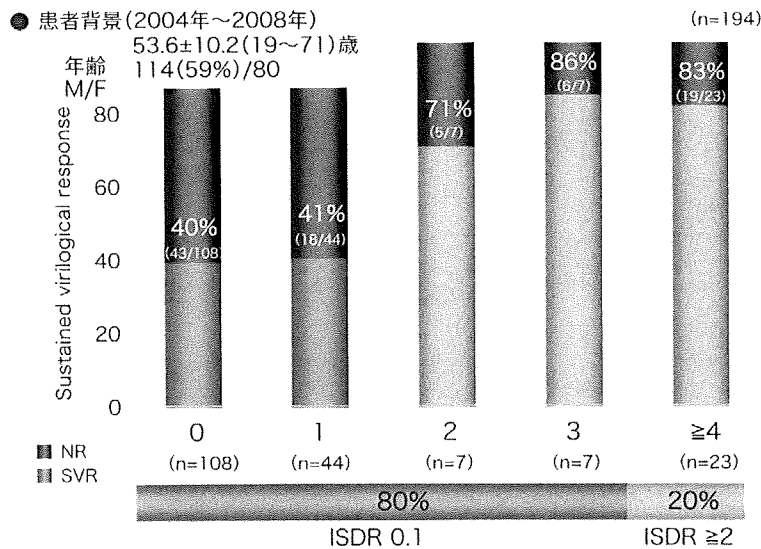


図5 PEG + Riba 治療(12カ月)のISDR別SVR率(高ウイルス症例)

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²⁾。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³⁾。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

コア70番 アミノ酸	ISDR 変位数		
	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%		

うえで、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 : ウイルス性慢性肝炎 : 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・C型肝炎 難治例の治療をどう行うか—治療効果の向上を目指して—

C型肝炎 難治例の治療の実際

—治療効果向上のための工夫をどう行うか

治療効果予測とテーラーメイド治療の可能性

坂本 穰*・榎本信幸**

Summary

1型かつ高ウイルス量のC型慢性肝炎に対するインターフェロン治療の治療効果予測に最も重要なものはISDRで、4個以上のアミノ酸変異がある場合はインターフェロン単独療法でも十分治癒可能であるし、2個以上の変異ではペグインターフェロン+リバビリン療法48週で治癒可能である。しかし、ISDRのアミノ酸変異が0ないし1個の場合には、コア70番アミノ酸がアルギニン(R)の場合以外には48週治療での治癒は期待できない。さらには、性別、年齢、肝線維化が治療効果予測には重要であるが、実際の治療には、治療中止や減量、治療期間、HCV RNA陰性化時期などを考慮することで個別化治療が可能になるものと思われる。

Key Words

C型慢性肝炎/ISDR/コア70番アミノ酸変異/個別化医療

はじめに

C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療は、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、難治とされる遺伝子型(genotype)1かつ高ウイルス量のC型慢性肝炎では、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、ウイルス側の因子、宿主側の因子、治療に関する因子が明らかになっている。すなわち、ウイルス側の因子と

してはC型肝炎ウイルス(HCV)のgenotype、ウイルス量、Interferon sensitivity determining region (ISDR)、コア遺伝子変異などであり、宿主側の因子としては年齢、性別、肥満、肝線維化・脂肪化、インスリン抵抗性などである。また治療因子としてインターフェロンの種類や投与量、リバビリンの併用の有無やその投与量、治療期間、ウイルス陰性化時期、減量・中止の有無などがある。このうち、最も重要なものはgenotypeをはじめとするウイルス側の因子で、厚生労働省による治療標準化に関するガイドラインでも、これらにより場合分けした治療方針が明記されている。すなわち、genotype 1は難治で、

* 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講座講師

** 山梨大学医学部内科学講座第1教室教授

表1 ペグインターフェロン+リバビリン治療 (1b) の SVR に寄与する因子 (12ヵ月治療) (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 (<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

最近用いられている Real time PCR 法で 5.0 log IU/mL 以上の高ウイルス量症例は難治であり、1 型かつ高ウイルス量症例は最も難治であり、ペグインターフェロン+リバビリン併用48週間治療が推奨される¹⁾。逆説的には、これ以外の症例は、高い治療効果が得られるため従来のインターフェロン単独24週治療でも十分で、高ウイルス量であってもペグインターフェロン+リバビリン併用療法を24週行えば80%以上の高いウイルス排除 (Sustained viral response: SVR) 率が得られている。そこで本項では、1 型かつ高ウイルス量の難治症例に関して、治療効果予測と個別化医療、すなわち「テーラーメイド」医療の可能性に関して検討する。

治療効果予測因子

治療効果を予測する因子として、genotype とウイルス量が重要であることは明らかであるが、1b 型の HCV に関しては、ISDR やコア遺伝子変異が明らかになっている。これらは感染しているウイルスそのものの要因であるため、長期にわたる感染で変化する可能性はあるものの、我々が観察可能な短期間では変化することはないと考えられている。また、宿主因子には、変化しないものと治療介入により変化するものがある。すなわち、

年齢は増加するものの減少することはなく、性別には変化はありえない。一方、肥満やインスリン抵抗性などは、生活習慣の改善や治療介入により改善可能であり、肝線維化に関しては、肝庇護療法などにより増悪を防止することが可能であるかもしれない。また、治療因子に関しては、治療者の選択や微調整により多少の変更が可能である。特に、ウイルス側因子や宿主因子などの背景により治療を選択することで、個別化医療が可能になる道も開けてくる。

そこで我々は、山梨大学第1内科と関連施設で組織する Y-PERS (Yamanashi PEG-interferon + Ribavirin Study) で集積された1b 高ウイルス量症例のうちペグインターフェロン α2b (ペグイントロン[®]) +リバビリン併用療法を12ヵ月間行った194例全例の SVR 率は48%であったが、上記項目について、治療効果すなわち SVR を予測する因子について多変量解析を行った。この結果、有意な因子は年齢 60歳未満、肝線維化 (F 因子 1 以下) といった宿主因子と、ISDR 変異数 2 個以上、コア70番アミノ酸アルギニン (R) のウイルス側因子であり、このうち最も強い因子は ISDR 変異数 2 個以上のウイルス側因子であった (Odds 比 164.571: 表1)。

ISDR

ISDR は、HCV の非構造領域 (Nonstructural region : NS) 5A の C 末端よりの25アミノ酸 (a.a.2209-2248) 領域であり、インターフェロン単独療法の時代に1b型の著効症例と無効症例の全塩基配列の比較から見出されたものである。すなわち、インターフェロン単独6ヵ月間の治療では、この領域に標準配列である HCV-J との比較で、4個以上のアミノ酸変異がある (Mutant type) と著効となる確率が高く、1~3個の変異 (Intermediate type) や変異なし (Wild type) では治療効果に乏しく、ISDR のアミノ酸変異数4個以上がSVRの必要条件と考えられる^{2,3)}。しかし、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 量が高いほど治療効果が劣るため、ISDR 変異は単にウイルス量を反映しているにすぎないとの指摘もある。実際、ISDR 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、ISDR に変異が多くなるほどウイルス量は少なくなることが知られている。しかし、治療効果を規定する因子につき多変量解析を行うと、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。

現在の1型かつ高ウイルス量のC型慢性肝炎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、難治であるこれらの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、宿主の線維化とならび、最も重要な因子であることが我々の検討で明らかになった。しかも、インターフェロン単独療法でSVRを得るためには4個以上のアミノ酸変異が必要であっ

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⁴⁾。

コア遺伝子変異

したがって、ISDRに2個以上のアミノ酸変異があれば、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法でSVRとなる可能性が高いことが明らかになったが、ISDRのアミノ酸変異数が0ないしは1個であってもSVRとなる症例は存在する。そこで、この集団において、治療効果を決定する因子についての検討を行った。まず、ウイルス側の相違について、治療開始後4週間でウイルス量が2log以上低下した Steep responder と1log未滿しか低下しなかった Flat responder につき、HCV全塩基配列の相違を検討した。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にインターフェロン治療効果とこのアミノ酸変異との関連を検討すると、ISDR変異数が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、インターフェロン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ていた。すなわち、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重要であることが明らかになった。そこで再度、ISDR変異数0ないし1個の症例で、治療効果予測因子についてSVRに寄与する

表2 ペグインターフェロン+リバビリン治療 (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

表3 C型慢性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 24週
- 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	48週投与では54% (72週投与により) 70%	48週投与により75%	81%
Non R (Q)	48週投与では0~18% (72週投与(8週以内の陰性化例)により) 40%		

因子を多変量で解析した。この結果、有意な因子は年齢 60歳未満、肝線維化 F1以下、T. Chol≥160、コア70番アミノ酸がアルギニン (R) であり、このうち最も重要な因子はコア70番アミノ酸であった (表2)。

▶ テーラーメイド医療の可能性

これまでの検討で、1型かつ高ウイルス量症例の場合、ISDR が治療効果予測に最も重要であることが明らかになった。すなわち、

ISDR 変異数 4 個以上ではインターフェロン単独療法 6 ヶ月でも高い SVR 率が得られ、2 個以上ではペグインターフェロン+リバビリン併用療法 (12 ヶ月) で高い治療効果が得られる。また、ISDR 変異が 0 ないし 1 個の場合はコア70番アミノ酸変異を考慮し、アルギニン (R) であれば高い効果が期待できるが、グルタミン (Q) を含む変異型であれば治療効果は期待できない。したがって、治療効果は、ある程度ウイルス側の要因で予測可能である。しかしこのほか、年齢、性、肝線

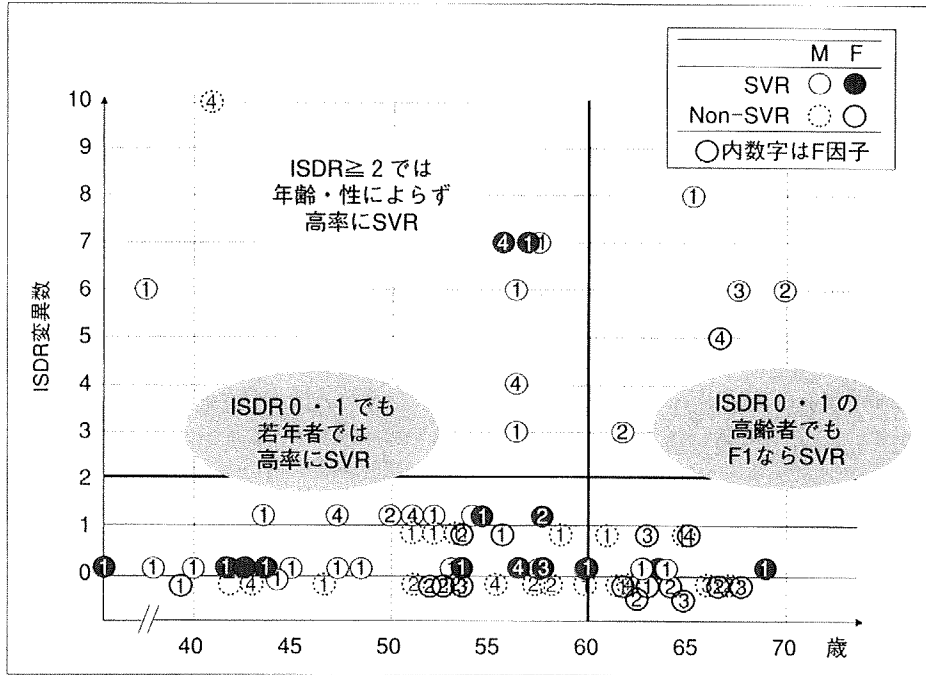


図1 ISDR, 年齢, 肝線維化とSVRとの関連

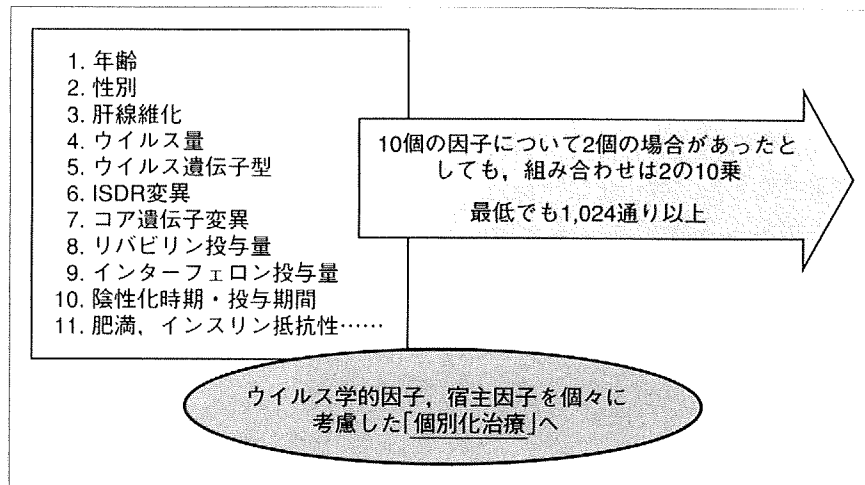


図2 遺伝子変異からみた1b型のC型慢性肝炎に対する個別化医療

維化などの宿主因子も治療効果に関与しており、個別化医療を考える場合にはこれらの因子も検討する必要がある。しかし、最も重要なものは上述のウイルス側の因子であり、まず、これらを選別した上で、他の因子を考慮することが必要となる(表3)。実際、難治と

考えられながら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、ウイルス側因子により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1)。したがって、これらの因子についてはきめ細かく治療を進めて

いく必要がある。すなわち、ウイルス側因子から難治であると想定された症例で、さらに高齢、肝線維化進展例では、副作用を鑑みながらではあるが、できるだけ薬剤の減量を行わないよう考慮する、あるいは治療期間を延長するなどの対策を考慮する必要がある。また、容易に治療可能と考えられる症例では、副作用軽減のためあるいは医療経済的観点からインターフェロン単独療法の選択が可能となる場合もあろう。また、治療中の因子も重要で、いわゆる Early viral response (EVR) 例では治療効果が高い⁵⁾。我々の検討では、ISDR に 2 個以上変異がある症例のほとんどは EVR 例であるし、ISDR 変異数 0 ないし 1 個でもコア 70 番アミノ酸がアルギニン (R) であれば高率に EVR を達成する。そして、EVR を達成した症例が SVR を達成する要因は、宿主因子や治療中止・減量といった治療因子が関与している。これらは非常に複雑で、従来の統計学的な解析手法ではなかなか結論が得られない。またこのほかにも、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 2)。このうち、治療効果予測に最も重要な

ものは ISDR であることは言うまでもないが、今後はこれら因子を組み合わせ個々に判断することで、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) 平成19年度厚生労働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). 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. 総括分担報告書.
- 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**(2): 77-81 (1996)
- 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* **96**(1): 224-230 (1995)
- 4) 坂本 稔, 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**(1): 57-63 (2008)
- 5) 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* **130**: 1086-1097 (2006)

今月のテーマ ● C 型肝炎の新しい治療

遺伝子変異からみた C 型慢性肝炎に対する インターフェロン治療効果予測

坂本 穰¹⁾ 榎本 信幸²⁾

要旨：ペグインターフェロン+リバビリン併用療法の登場により、C 型慢性肝炎治療は格段に進歩した。しかし 1b 型かつ高ウイルス量症例は難治で、約半数でのみウイルス排除が可能であるに過ぎない。治療効果予測に最も重要なものは ISDR であり、2 個以上の変異があれば十分な治療効果が期待できるが、0 ないし 1 個変異の症例では 48 週治療では効果が乏しい。さらにコア 70 番アミノ酸が野生型であればある程度の治療効果が期待できるが、変異型では効果が乏しく、延長投与などの治療の工夫が必要である。このように、ウイルス変異を検討したうえで、宿主因子やウイルス陰性化時期などの治療因子を検討すれば、さらに詳細な治療効果予測が可能となり、個別化医療の道も開けるものと考えられる。

索引用語：ペグインターフェロン+リバビリン併用療法、ISDR、コア 70 番アミノ酸変異、個別化医療

はじめに

C 型慢性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り格段に進歩した。すなわち、従来の 6 カ月間のインターフェロン単独療法では、難治とされる genotype 1b かつ高ウイルス量症例のウイルス排除（ウイルス持続陰性化；sustained virological response；SVR）率は 5% 程度であったが、インターフェロン+リバビリン併用 6 カ月療法では 20% に上昇した¹⁾²⁾。さらに、現在の標準療法である PEG（ペグ）インターフェロン+リバビリン併用療法を 48 週間行えば、約半数でウイルス排除が可能となり³⁾⁴⁾、genotype 2a ないしは 2b では、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法 6 カ月で 90% 近い SVR 率が得られるようになった⁵⁾。しかし、その半面、ペグインター

フェロン+リバビリン併用療法は強力な抗ウイルス療法であるが故の副作用も多く、貧血や鬱症状、間質性肺炎、脳出血など、生命予後に関わる副作用も多く、治療中の薬剤の中止・減量が治療成績を減弱させている。したがって、インターフェロン療法においては、治療開始前の効果予測が、適応症例の選択や治療期間を含めた治療法の決定には必要不可欠であることはもちろん、治療効果と副作用とのリスク対効果比較や不要な治療抑止などの面からも重要である。このため、これまでにさまざまな検討がなされ、治療効果予測因子として、年齢、性別、肝線維化・脂肪化、インスリン抵抗性などの宿主因子と、遺伝子型やウイルス量を含めたウイルス側の因子が明らかになってきた。とくに、ウイルス側因子は重要で、C 型肝炎ウイルス（HCV）の遺伝子型（genotype）やウ

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講座 2) 山梨大学医学部内科学講座第 1 教室
Prediction of response to peginterferon and ribavirin combination therapy using mutations in the HCV genome
Minoru SAKAMOTO¹⁾ and Nobuyuki ENOMOTO²⁾

1) Advanced and Community Medicine for Liver Disease, University of Yamanashi, 2) First Department of Internal Medicine (Gastroenterology), University of Yamanashi

Corresponding author：坂本 穰 (msakamoto@yamanashi.ac.jp)

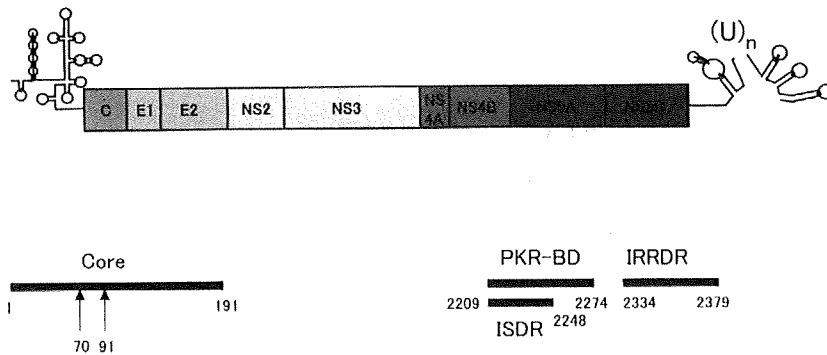


Figure 1. インターフェロン治療効果関 C 型肝炎ウイルスの遺伝子変異として、コア 70 番と 91 番アミノ酸、ISDR、IRRDR が示されている。

ウイルス量は、治療法選択の基本となり、厚生労働省研究班から出されている治療ガイドライン⁶⁾にも明記されている。すなわち、高ウイルス量例では、原則ペグインターフェロン+リバビリン併用療法が第一選択となり、低ウイルス量症例や、1型以外の症例では、インターフェロン単独療法も選択肢となる。

I C型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子構造と治療効果に関わる遺伝子変異

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3010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。HCVはRNAウイルスであるため、遺伝子の修復機構を持たず、約20%の塩基配列が異なる遺伝子型が存在する。これまで、インターフェロン治療の治療効果規定因子として明らかになっているウイルス側の因子は、遺伝子型、ウイルス量、インターフェロン感受性領域(interferon sensitivity determining region; ISDR)^{7,8)}、コアアミノ酸変異^{9)~12)}、IFN/RBV抵抗性領域(IFN/RBV resistance-determining region; IRRDR)¹³⁾である(Figure 1)。

II HCV 遺伝子型

これまで、世界では少なくとも1~6の遺伝子型(genotype)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%を占める。遺伝子型測定は健康保険の適応ではないため、日常臨床の現場ではセログループ(sero-group)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。従来のインターフェロン単独療法の治療成績は2aが70%、2bが50%、1bが20%程度であり、2aないしは2b型ではインターフェロン単独療法でも非常に高いウイルス排除率が期待できる。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と治療効果が高く、多いとウイルス排除率は低い。現在わが国では、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、標準治療期間も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週間である。当科および関連施設で組織する共同研究Y-PERS(Yamanashi-PEG-interferon α 2b-Ribavirin Study)で集積された症例の検討では、高ウイルス量症例に対する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¹⁴⁾。

III ISDR

HCVゲノムのうち、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て見出され、インターフェロン感受性領域(ISDR)と命名された。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となる可能性はきわめて低いのに対し、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、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¹⁵⁾。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と推測されており、この領域のアミノ酸変異がHCVの増殖やインターフェロン感受性と関連することが推測されている。臨床的には、ウイルス量は野生型で高く、変異型で低く、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。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のアミノ酸変異数別に検討すると、wild type, intermediate type, mutant typeのSVR率はそれぞれ6%、10%、64%であり、ISDRにおけるアミノ酸変異数の増加にともない著効率は上昇し、ウイルス排除を導くためには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。また、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、ISDR変異数が増すほどHCVRNA量が低くなり治療効果が増すが、われわれの行った多変量解析では、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、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ことが見出されている。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るが、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る。すなわち、全体のSVR率は48%であったが、ISDR変異数0ないし1個の症例のSVR率は40%であるのに対し、2個以上変異では81%の高いSVR率であった(Figure 2)¹⁶⁾。このことは、インターフェロン単独療法では、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、強力な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個以上の変異で高い効果が期待できることを示しており、治療の進歩によりウイルス側の難治要因を克服できるようになったことを示している。また、たとえ1b型かつ高ウイルス量症例であってもISDRのアミノ酸変異数が4個以上であれば、従来のインターフェロン単独療法でもウイルス排除が可能なことを示しており、リバビリンの不応例でも十分に治療可能であることを示している。

IV コアアミノ酸変異

1b型HCVのコア領域の70番と91番のアミノ酸変異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を規定することはAkutaらによって報告され、わが国の多施設共同研究でも効果予測に重要であることが示されている。すなわち、コアアミノ酸70番のアミノ酸は野生型ではアルギニン(arginine:R)で、91番はロイシン(leucine:L)であるが、治療抵抗例(non-virological response:NVR)例では、コア70番アミノ酸はグルタミン(glutamine:Q)ないしはヒスチジン(histidine:H)に、コア91番アミノ酸はメチオニン(methionine:M)に置換されている。特に、この両者が変異している(non-double wild type)はNVRに寄与するウイルス学要因であることが示されている⁹⁾。また、SVRに寄与する因子としては、両者が野生型(double wild type)であることが報告されており¹⁰⁾、コアアミノ酸70番あるいは91番のアミノ酸変異が独