

- 療戦略. 第38回日本肝臓学会東部会(パネルディスカッション)、東京、2010.12.3、
- 2) 井上泰輔、坂本穰、榎本信幸. ウイルス肝炎ネットワークの構築、第38回日本肝臓学会東部会(ワークショップ)、東京、2010.12.3
  - 3) 進藤浩子、雨宮史武、小馬瀬一樹、門倉信、末木良太、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. HCV replicon における IFN $\lambda$  の HCV 増殖抑制効果の検討. 第38回日本肝臓学会東部会、東京、2010.12.3、
  - 4) 三浦美香、前川伸哉、門倉信、末木良太、進藤邦明、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、中山康弘、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸. 肝炎の進展、癌化と関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第38回日本肝臓学会東部会、東京、2010.12.3
  - 5) 浅川幸子、坂本穰、佐藤光明、小松信俊、進藤邦明、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸. ウイルス変異と宿主ゲノム解析からみた IFN 単独療法の位置づけ. 第38回日本肝臓学会東部会、東京、2010.12.3、
  - 6) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. ウイルス変異と宿主ゲノム解析からみた C 型慢性肝炎に対する治療戦略. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) (パネルディスカッション) 横浜、2010.10.14
  - 7) 坂本穰. Y-PERS から得られた、ウイルス遺伝子と宿主ゲノム解析による C 型慢性肝炎の治療方針. 第52回日本消化器病学会大会 (JDDW) ランチオンセ  
 ミナー、横浜、2010.10.16
  - 8) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. IL28B SNP による PEG-IFN/RBV 療法における HCV 動態変化の検討. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) (ワークショップ)、2010.10.14、横浜
  - 9) 進藤浩子、雨宮史武、前川伸哉、小馬瀬一樹、門倉信、末木良太、三浦美香、井上泰輔、坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. HCV replicon における IFN $\lambda$  の HCV 増殖抑制効果の検討. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 10) 門倉信、前川伸哉、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、中川美奈、坂本直哉、榎本信幸. ゲノム全長解析による Genotype 2b 型 HCV における治療効果規定領域の検索. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 11) 三浦美香、前川伸哉、末木良太、門倉信、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. 肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 12) 小馬瀬一樹、前川伸哉、進藤浩子、門倉信、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. Cytokine Array 解析を用いた HCV の PEG-IFN+RBV 治療効果と関連する宿主因子の同定. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 13) K. Komase, S. Maekawa, H. Shindo, M.

- Kadokura, R. Sueki, M. Miura, K. Shindo, F. Amemiya, Y. Nakayama, T. Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto. Extensive analysis of Serum Cytokines Associated to The Response in The PEG-IFN+RBV Combination Therapy in Genotype 1b HCV Infection. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010,
- 14) H. Shindo, S. Maekawa, R. Sueki, M. Miura, M. Kadokura, K. Komase, K. Shindo, F. Amemiya, Y. Nakayama, T. Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto. Characterization of Protease Inhibitor Resistance Mutations in Untreated Patients Infected with Genotype 1b Hepatitis C Virus. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010.
- 15) M. Miura, S. Maekawa, M. Kadokura, R. Sueki, K. Komase, H. Shindo, F. Amemiya, Y. Nakayama, T. Kitamura, T. Uetake, T. Inoue, M. Sakamoto, S.-I. Okada, N. Enomoto. Investigation for viral genomic regions associated to hepatocarcinogenesis in hepatitis C. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010.
- 16) S. Maekawa, R. Sueki, A. Kanayama, M. Miura, M. Kadokura, K. Komase, H. Shindo, T. Omori, F. Amemiya, T. Kitamura, T. Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto. Analysis of the early response and the final outcome to pegylated-interferon plus ribavirin therapy in chronic HCV-1b infection using comprehensive information of viral and host factors. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010.
- 17) 三浦美香、前川伸哉、末木良太、門倉信、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. HCV ゲノム解析による肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 大阪、第 46 回日本肝癌研究会 2010.7.8
- 18) 坂本穰、前川伸哉、坂本穰. IRRDR からみた PEG-IFN/RBV 療法の治療成績. 第 4 回東京肝疾患研究会 (PERFECT)、東京、2010.6.26
- 19) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. ウイルス変異と宿主ゲノムからみたインターフェロン治療効果と個別化医療の可能性. 第 46 回日本肝臓学会総会 (シンポジウム)、山形、2010.5.27
- 20) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. HCV 全アミノ酸解析を用いた PEG-IFN/RBV 併用治療反応性の包括的検討. 第 46 回日本肝臓学会総会 (ワークショップ)、山形、2010.5.27
- 21) 進藤浩子、前川伸哉、小馬瀬一樹、門倉信、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸、朝比奈靖浩、泉並木、

- 中本安成、本多政夫、金子周一. HCV プロテアーゼ阻害剤未投与例における HCV-NS3 領域変異の検索と PEG-IFN/RBV 治療効果の検討. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27、
- 22) 門倉信、前川伸哉、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸、中川美奈、坂本直哉. ゲノム全長解析による Genotype 2 型 HCV における治療効果規定領域の検索. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 23) 小馬瀬一樹、前川伸哉、進藤浩子、門倉信、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. HCV genotype 1b に対する PEG-IFN+ribavirin 併用療法症例における cytokine 発現の網羅的解析. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 24) 三浦美香、前川伸哉、進藤浩子、小馬瀬一樹、末木良太、門倉信、雨宮史武、北村敬利、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. HCV ゲノム解析による肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 25) 雨宮史武、進藤浩子、前川伸哉、金山明日香、進藤邦明、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. IFN- $\lambda$  による HCV 増殖抑制効果. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 26) 坂本穰、前川伸哉、進藤浩子、三浦美香、門倉信、進藤邦明、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、岡田俊一、榎本信幸. ウイルス変異と宿主ゲノム解析からみた C 型肝炎に対するインターフェロン治療効果予測. 第 20 回日本抗ウイルス療法研究会学術講演会、熊本、2010.5.20
- 27) 三浦美香、前川伸哉、門倉信、末木良太、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. HCV ゲノム解析による肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第 20 回日本抗ウイルス療法研究会学術講演会、熊本、2010.5.20
- 28) 進藤浩子、前川伸哉、小馬瀬一樹、末木良太、門倉信、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、金子周一、泉並木、榎本信幸. HCV プロテアーゼ阻害剤未投与例における HCV-NS3 領域変異の検索と PEG-IFN/RBV 治療効果の検討. 第 20 回日本抗ウイルス療法研究会学術講演会、熊本、2010.5.20
- 29) S. Maekawa, A. Kanayama, T. Omori, M. Miura, M. Kadokura, R. Sueki, K. Komase, H. Shindo, F. Amemiya, K. Shindo, T. Kitamura, T. Inoue, M. Sakamoto, S.-I. Okada, N. Enomoto. Analysis of the response to pegylated-interferon plus ribavirin therapy in chronic HCV-1b infection using comprehensive information of viral and host factors. 45th annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL2010). Vienna, Austria, April 14-18, 2010.
- 30) H. Shindo, S. Maekawa, M. Miura, K. Komase, M. Kadokura, R. Sueki, F.

Amemiya, T. Kitamura, T. Inoue, M. Sakamoto, S.-I. Okada, N. Enomoto. Characterization of protease inhibitor resistance mutations in untreated patients infected with genotype 1b hepatitis c virus. 45th annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL2010). Vienna, Austria, April 14-18, 2010.

- 31) 坂本穰、進藤邦明、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、前川伸哉、岡田俊一、榎本信幸. C型慢性肝炎の診療ガイドラインの検証と個別化治療の可能性. 第96回日本消化器病学会総会、新潟、2010.4.24
- 32) 前川伸哉、三浦美香、門倉信、末木良太、小馬瀬一樹、進藤浩子、金山明日香、大森高子、雨宮史武、進藤邦明、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. ウイルスゲノム解析によるC型肝炎病態、および薬剤感受性の解析. 第96回日本消化器病学会総会、熊本、2010.4.23

#### H. 知的所有権の出願・取得状況

##### 1. 特許取得

特になし

##### 2. 実用新案登録

特になし

##### 3. その他

特になし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
坂本穰、榎本信幸	慢性肝炎の治療 (C型)	幕内雅敏、菅野健太郎、工藤正俊編	今日の消化器疾患治療指針 第3版	医学書院	東京	2010	585-588

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kurisaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Tamori A, Nakagawa M, Izumi N.	Sequences in the Interferin Sensitivity Determining Region and Core Region of Hepatitis C Virus Impact Pretreatment Prediction of Response to Peg-interferon Plus Ribavirin: Data Mining Analysis.	J Med Virol	in press		
Kadudura M, Maekawa S, Sueki R, Miura M, Komase K, Shindo H, Amemiya F, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, Nakagawa M, Sakamoto N, Watanabe M, Enomoto N.	Analysis of the Complete Open Reading Frame of Hepatitis C Virus Genotype 2a Infection Reveals Critical Site Influencing the Response to Peginterferon and Ribavirin Therapy.	Hepatol Int	in press		
Kurisaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Yatsuhashi H, Izumi N.	Pretreatment prediction of response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C using data mining analysis.	J Gastroenterol	in press (published on line September 2010)		2010
前川伸哉、坂本穰、榎本信幸	HCV全アミノ酸解析を用いたPEG-IFN/RBV併用療法の治療反応性の検討	消化器内科	51 (6)	642-651	2010
坂本穰、榎本信幸	山梨県における肝炎対策	肝胆膵	61 (5)	763-771	2010
坂本穰、榎本信幸	HCVゲノム解析からみた治療方針	最新医学	65 (9)	1892-1900	2010
坂本穰、榎本信幸	肝臓領域における検査法の進歩と臨床応用	日本内科学会雑誌	99	1959-1964	2010
坂本穰、榎本信幸	遺伝子変異と Adherenceからみた peg-IFN+RBV療法無効例の対策	消化器内科	50 (6)	575-580	2010

坂本穰、榎本信幸	ウイルス遺伝子から見たC型肝炎治療	Vita	27 (2)	32-38	2010
三浦美香、坂本穰、榎本信幸	最新の検査と臨床 肝炎ウイルスの遺伝子解析ー病態・治療効果との関連ー C型肝炎ウイルス (HCV)	Medical Practice	27 (1)	65-68	2010

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）

C型肝炎に対する新規治療法に関する研究

研究分担報告書

ウイルス変異と宿主因子から見たC型慢性肝炎に対するPEG-IFN+RBV療法の  
治療効果予測と個別化医療の検討

研究分担者 坂本 穰 山梨大学医学部附属病院肝疾患センター センター長・准教授

研究要旨：C型慢性肝炎に対するPEG-IFN+Ribavirin (RBV) 併用療法の治療効果は、ウイルス因子である genotype と、宿主因子である肝線維化と IL28B SNP が規定しており最も強い因子は genotype であった。また、最も難治の1b型に限ると、治療効果規定因子は、宿主因子である年齢と IL28B SNP と、ウイルス因子である IRRDR 変異数であり、これらが独立に関与していることが明らかになった。すなわちウイルス側因子が同一でも宿主因子によって治療効果は異なり、これら両者を考慮することが重要であることが示唆された。したがって肝臓専門医は、宿主とウイルスの遺伝子情報を含めた因子を解析し、これらの検査成績を、データマイニング手法を用いた個別化治療アルゴリズムに投入することにより、高精度の治療効果予測を可能としようと考えられた。

共同研究者

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 前川伸哉  
内科学講座第1教室 榎本信幸

積することを目的に、近年明らかになった宿主IL28BのSNPs (rs8099917) とウイルス側の遺伝子変異から治療効果との関連を検討し、個別化医療の可能性を検討した。

#### A. 研究目的

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は、C型肝炎ウイルス

(HCV) の遺伝子変異と宿主側の因子に密接に関連している。とくに難治の1b型かつ高ウイルス量症例においては、標準かつ最強のPEG-IFN+Ribavirin (RBV) 併用療法の48週間の治療成績は50%に満たず、治療効果予測は、効率的かつ安全な治療の推進に必要不可欠である。そこで、データマイニング手法を用いた個別化に資する情報を集

#### B. 研究方法

2004年12月から山梨大学第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PEG-IFNα2b (ペグイントロン)+Ribavirin (レボトール：RBV) 併用療法を行った946例のうち、治療効果が判明している612例を検討対象とした。これらにつき、年齢、性別、BMI、肝組織(F・A因子)および投与前のAlb、γGTP、AST、ALT、T.Chol、血糖、HbA1c、白血球

数、好中球数、Hb、血小板数、AFPの臨床検査値およびHCVRNA量（Amplicorハイレンジ法およびreal-time PCR法）、ISDR

（Interferon sensitivity determining region）変異数、IRRDR（Interferon-ribavirin resistance determining region）変異数、コア70番および91番アミノ酸変異を検討した。また、一部の症例については宿主因子であるIL28BのSNPs（rs8099917）と、リバビリンに関する貧血に関与する遺伝子ITPA（rs1127354）のSNPについても検討した。

（倫理面の配慮）

臨床試験の目的・方法・副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利・保護等に関し、十分に説明し、文書で同意を取得し研究をおこなった。なお、これらの研究の実施計画については、山梨大学医学部倫理委員会の承認を得た。とくに、

### C. 研究結果

1) 症例の内訳は、平均年齢 $55.2 \pm 10.3$ 歳、男/女=527（56%）/419、HCV genotypeは1b/2a/2b/その他=637（67%）/166/116/27であった。IL28B SNPの分布はTT/TG+GG=229（78%）/63であった。

2) PEG-IFN  $\alpha$  2b+RBV療法の治療成績

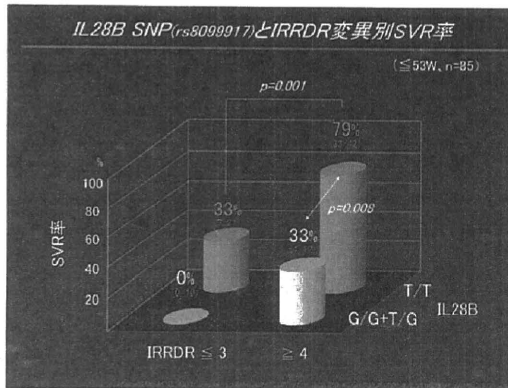
（Sustained viral response: SVR率）は、ITT解析で1b型50%（212/423）、2a型88%（102/116）、2b型80%（61/76）であった。そこでSVRに関与する因子につき単変量解析を行い、5%以下の危険率で有意と認められた項目について、多変量ロジスティック回帰分析を行うと、有意な因子は、F因子（ $F < 1$ ）（odds比3.89、 $p < 0.0001$ ）、IL28B TT、（odds比3.15、 $p = 0.0008$ ）、HCV geotype

2a+2b（odds比7.242、 $p = 0.0001$ ）であり、全症例の解析では治療効果を決定する最も強力な因子はウイルス因子であるgenotypeであった。そこでgenotype別に、IL28B、肝線維化を検討したところ、1b型では、IL28Bは有意な因子（ $p = 0.01$ ）であったが2a/2bでは有意ではなく、肝線維化は線維化の進行とともにSVR率が低下する傾向があったがいずれのgenotypeでも有意な因子ではなかった。

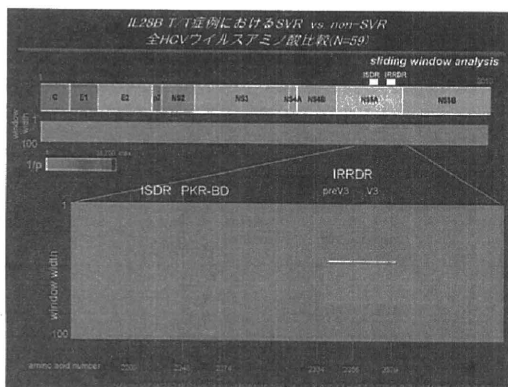
3) 最も難治である1b型症例に限り、このgenotypeで、治療効果と関係する因子として知られているISDR、IRRDR、コア70番および91番のアミノ酸変異につき検討した。この結果は、ISDR変異数2個以上では1個以下に比較して有意にSVR率が高く（82%対41%、 $p = 3.5 \times 10^{-8}$ ）、IRRDR変異数4個以上では3個以下に比較して有意にSVR率が高かった（70%対24%、 $p = 6.0 \times 10^{-6}$ ）。この情報をもとに多変量解析を行うと、有意な因子は60歳未満（odds比11.2、 $p = 0.002$ ）、IRRDR変異数4個以上（odds比20.0、 $p = 0.0005$ ）、IL28B TT（odds比14.0、 $p = 0.0014$ ）であり、1b型に限ると宿主因子とウイルス因子がそれぞれ独立して治療効果を規定していることが明らかになった。そこで、それぞれIL28B、IRRDR変異数別に治療効果を検討すると、IL28B TT（major type）の場合、IRRDR変異数4個以上では79%のSVR率であったが、IRRDR変異数3個以下では33%であり（ $p = 0.001$ ）、IL28B TGまたはGGかつIRRDR変異数4個以上では33%のSVR率であったが、3個以下の症例では1例もSVRにはならなかった。また、IRRDR変異数4個以上で比較すると、IL28B TTとTGまたはGGではSR



率に統計学的に有意な差が見られ  
( $p=0.008$ ) (図1)、宿主因子・ウイルス  
因子により大きくSVR率が異なっていた。



さらに、他のウイルス変異が治療効果と関  
連するか検討するためにsliding window  
analysisによる検討をおこなった。すなわち  
IL28B TTの症例に限り、SVRと非SVR例で  
のアミノ酸の相違を検討したところ、両者  
の相違はIRRDR領域に集積していることが  
明らかになった (図2)。



#### D. 考察

1) C型慢性肝炎に対するインターフェロン  
治療の治療効果はHCVのウイルス遺伝子変  
異と宿主因子がそれぞれ独立に規定してい  
ることが明らかになった。とくに宿主IL28  
BのSNPs (rs8099917) は重要でIFN反応性

を先天的に規定しているがHCV genotypeに  
勝る因子ではなかった。したがってC型慢性  
肝炎の治療方針を決定する上ではgenotype  
を測定する必要がある。

2) ただし、1b型に限るとISDRやIRRDRな  
どのウイルス因子とIL28BのSNPがそれぞ  
れ独立に治療効果を規定しており、治療開  
始前にこれらを測定することが重要と考え  
られた。とくにIRRDRの変異数が3個以下で  
あり、IL28BがTGもしくはGGであれば現  
行のPEG-IFN+RBVの48週治療では根治は  
見込めず、近々使用可能となるHCV NS3  
protease阻害剤を含めた新規治療法を検討  
する必要があることが示された。このよう  
に、ウイルス要因と宿主要因の検討により、  
現行治療法で治癒可能な症例と難治例とを  
選別することが可能となり、治療法の工夫  
など個別化医療への道が開けると考えられ  
た。

3) さらに、薬剤の中止・減量や、Adherence  
などの治療因子と、ウイルス消失時期、ウ  
イルス減少速度などを考慮することでさら  
に詳細な治療効果予測が可能になり、肝臓  
専門医は、高度な遺伝子情報を含めた解析  
により、個別化治療を可能としようと考え  
られた。

#### E. 結論

C型慢性肝炎に対するPEG-IFN+Ribavirin  
併用療法において、治療効果予測因子とし  
て重要なものはISDRやIRRDRなどのウイ  
ルス遺伝子変異とインターフェロン感受性  
のSNPを含めた宿主因子であることが明ら  
かになった。これらの検査成績を、データ  
マイニング手法を用いた個別化治療アルゴ

リズムに投入することにより、高精度の治療予測と個別化医療が可能になる考えられる。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kurisaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Tamori A, Nakagawa M, Izumi N. Sequences in the Interferin Sensitivity Determining Region and Core Region of Hepatitis C Virus Impact Pretreatment Prediction of Response to Peg-interferon Plus Ribavirin: Data Mining Analysis. J Med Virol 2010; in press
- 2) Kadokura M, Maekawa S, Sueki R, Miura M, Komase K, Shindo H, Amemiya F, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, Nakagawa M, Sakamoto N, Watanabe M, Enomoto N. Analysis of the Complete Open Reading Frame of Hepatitis C Virus Genotype 2a Infection Reveals Critical Site Influencing the Response to Peginterferon and Ribavirin Therapy. Hepatol Int; in press
- 3) Kurisaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Yatsushashi H, Izumi M. Pretreatment prediction of response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C using data

mining analysis. J Gastroenterol 2010 Sep (On line first)

- 4) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. HCV 全アミノ酸解析を用いた PEG-IFN/RBV 併用療法の治療反応性の検討、消化器内科 51(6): 642-651, 2010
- 5) 坂本穰、榎本信幸. 山梨県における肝炎対策、肝胆膵 61 (5) 、763-771, 2010
- 6) 坂本穰、榎本信幸. HCV ゲノム解析からみた治療方針、最新医学 65 (9) 、1892-1900, 2010
- 7) 坂本穰、榎本信幸. 肝臓領域における検査法の進歩と臨床応用、日本内科学会雑誌 99: 1959-1964、2010
- 8) 坂本穰、榎本信幸. 遺伝子変異と Adherence からみた peg-IFN+RBV 療法無効例の対策、消化器内科 50 (6) : 575-580, 2010
- 9) 坂本穰、榎本信幸. 慢性肝炎の治療 (C 型)、今日の消化器疾患治療指針第 3 版 (幕内雅敏、菅野健太郎、工藤正俊編)、医学書院、東京 585-588, 2010
- 10) 坂本穰、榎本信幸. ウイルス遺伝子から見た C 型肝炎治療、Vita 27(2). 32-38, 2010
- 11) 三浦美香、坂本穰、榎本信幸. 最新の検査と臨床 肝炎ウイルスの遺伝子解析—病態・治療効果との関連— C 型肝炎ウイルス (HCV) . Medical Practice 27 (1) 65-68. 2010

##### 2. 学会発表

- 1) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. ウイルス変異 (とくに IRRDR) と宿主ゲノム解析からみた C 型慢性肝炎に対する治

- 療戦略. 第38回日本肝臓学会東部会(パネルディスカッション)、東京、2010.12.3、
- 2) 井上泰輔、坂本穰、榎本信幸. ウイルス肝炎ネットワークの構築. 第38回日本肝臓学会東部会(ワークショップ)、東京、2010.12.3
  - 3) 進藤浩子、雨宮史武、小馬瀬一樹、門倉信、末木良太、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. HCV replicon における IFN $\lambda$  の HCV 増殖抑制効果の検討. 第38回日本肝臓学会東部会、東京、2010.12.3、
  - 4) 三浦美香、前川伸哉、門倉信、末木良太、進藤邦明、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、中山康弘、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸. 肝炎の進展、癌化と関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第38回日本肝臓学会東部会、東京、2010.12.3
  - 5) 浅川幸子、坂本穰、佐藤光明、小松信俊、進藤邦明、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸. ウイルス変異と宿主ゲノム解析からみた IFN 単独療法の位置づけ. 第38回日本肝臓学会東部会、東京、2010.12.3、
  - 6) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. ウイルス変異と宿主ゲノム解析からみた C 型慢性肝炎に対する治療戦略. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) (パネルディスカッション) 横浜、2010.10.14
  - 7) 坂本穰. Y-PERS から得られた、ウイルス遺伝子と宿主ゲノム解析による C 型慢性肝炎の治療方針. 第52回日本消化器病学会大会 (JDDW) ランチオンセミナー、横浜、2010.10.16
  - 8) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. IL28B SNP による PEG-IFN/RBV 療法における HCV 動態変化の検討. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) (ワークショップ)、2010.10.14、横浜
  - 9) 進藤浩子、雨宮史武、前川伸哉、小馬瀬一樹、門倉信、末木良太、三浦美香、井上泰輔、坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. HCV replicon における IFN $\lambda$  の HCV 増殖抑制効果の検討. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 10) 門倉信、前川伸哉、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、中川美奈、坂本直哉、榎本信幸. ゲノム全長解析による Genotype 2b 型 HCV における治療効果規定領域の検索. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 11) 三浦美香、前川伸哉、末木良太、門倉信、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. 肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 12) 小馬瀬一樹、前川伸哉、進藤浩子、門倉信、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. Cytokine Array 解析を用いた HCV の PEG-IFN+RBV 治療効果と関連する宿主因子の同定. 第14回日本肝臓学会大会 (JDW) 横浜、2010.10.14
  - 13) K. Komase, S. Maekawa, H. Shindo, M.

- Kadokura, R. Sueki, M. Miura, K. Shindo, F. Amemiya, Y. Nakayama, T. Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto. Extensive analysis of Serum Cytokines Associated to The Response in The PEG-IFN+RBV Combination Therapy in Genotype 1b HCV Infection. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010,
- 14) H. Shindo, S. Maekawa, R. Sueki, M. Miura, M. Kadokura, K. Komase, K. Shindo, F. Amemiya, Y. Nakayama, T. Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto. Characterization of Protease Inhibitor Resistance Mutations in Untreated Patients Infected with Genotype 1b Hepatitis C Virus. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010.
- 15) M. Miura, S. Maekawa, M. Kadokura, R. Sueki, K. Komase, H. Shindo, F. Amemiya, Y. Nakayama, T. Kitamura, T. Uetake, T. Inoue, M. Sakamoto, S.-I. Okada, N. Enomoto. Investigation for viral genomic regions associated to hepatocarcinogenesis in hepatitis C. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010.
- 16) S. Maekawa, R. Sueki, A. Kanayama, M. Miura, M. Kadokura, K. Komase, H. Shindo, T. Omori, F. Amemiya, T. Kitamura, T. Inoue, M. Sakamoto, N. Enomoto. Analysis of the early response and the final outcome to pegylated-interferon plus ribavirin therapy in chronic HCV-1b infection using comprehensive information of viral and host factors. 17th International meeting on hepatitis C virus and related viruses (HCV2010). Yokohama, Japan. September 10-14, 2010.
- 17) 三浦美香、前川伸哉、末木良太、門倉信、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸。HCV ゲノム解析による肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索。大阪、第 46 回日本肝癌研究会 2010.7.8
- 18) 坂本穰、前川伸哉、坂本穰。IRRDR からみた PEG-IFN/RBV 療法の治療成績。第 4 回東京肝疾患研究会 (PERFECT)、東京、2010.6.26
- 19) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸。ウイルス変異と宿主ゲノムからみたインターフェロン治療効果と個別化医療の可能性。第 46 回日本肝臓学会総会 (シンポジウム)、山形、2010.5.27
- 20) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸。HCV 全アミノ酸解析を用いた PEG-IFN/RBV 併用治療反応性の包括的検討。第 46 回日本肝臓学会総会 (ワークショップ)、山形、2010.5.27
- 21) 進藤浩子、前川伸哉、小馬瀬一樹、門倉信、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸、朝比奈靖浩、泉並木、

- 中本安成、本多政夫、金子周一. HCV プロテアーゼ阻害剤未投与例における HCV-NS3 領域変異の検索と PEG-IFN/RBV 治療効果の検討. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27、
- 22) 門倉信、前川伸哉、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸、中川美奈、坂本直哉. ゲノム全長解析による Genotype 2 型 HCV における治療効果規定領域の検索. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 23) 小馬瀬一樹、前川伸哉、進藤浩子、門倉信、末木良太、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. HCV genotype 1b に対する PEG-IFN+ribavirin 併用療法症例における cytokine 発現の網羅的解析. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 24) 三浦美香、前川伸哉、進藤浩子、小馬瀬一樹、末木良太、門倉信、雨宮史武、北村敬利、植竹智義、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. HCV ゲノム解析による肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 25) 雨宮史武、進藤浩子、前川伸哉、金山明日香、進藤邦明、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. IFN- $\lambda$  による HCV 増殖抑制効果. 第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27
- 26) 坂本穰、前川伸哉、進藤浩子、三浦美香、門倉信、進藤邦明、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、岡田俊一、榎本信幸. ウイルス変異と宿主ゲノム解析からみた C 型肝炎に対するインターフェロン治療効果予測. 第 20 回日本抗ウイルス療法研究会学術講演会、熊本、2010.5.20
- 27) 三浦美香、前川伸哉、門倉信、末木良太、小馬瀬一樹、進藤浩子、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. HCV ゲノム解析による肝発癌に関連する C 型肝炎ウイルス遺伝子領域の検索. 第 20 回日本抗ウイルス療法研究会学術講演会、熊本、2010.5.20
- 28) 進藤浩子、前川伸哉、小馬瀬一樹、末木良太、門倉信、三浦美香、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、金子周一、泉並木、榎本信幸. HCV プロテアーゼ阻害剤未投与例における HCV-NS3 領域変異の検索と PEG-IFN/RBV 治療効果の検討. 第 20 回日本抗ウイルス療法研究会学術講演会、熊本、2010.5.20
- 29) S. Maekawa, A. Kanayama, T. Omori, M. Miura, M. Kadokura, R. Sueki, K. Komase, H. Shindo, F. Amemiya, K. Shindo, T. Kitamura, T. Inoue, M. Sakamoto, S.-I. Okada, N. Enomoto. Analysis of the response to pegylated-interferon plus ribavirin therapy in chronic HCV-1b infection using comprehensive information of viral and host factors. 45th annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL2010). Vienna, Austria, April 14-18, 2010.
- 30) H. Shindo, S. Maekawa, M. Miura, K. Komase, M. Kadokura, R. Sueki, F.

Amemiya, T. Kitamura, T. Inoue, M. Sakamoto, S.-I. Okada, N. Enomoto. Characterization of protease inhibitor resistance mutations in untreated patients infected with genotype 1b hepatitis c virus. 45th annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL2010). Vienna, Austria, April 14-18, 2010.

- 31) 坂本穰、進藤邦明、雨宮史武、北村敬利、井上泰輔、前川伸哉、岡田俊一、榎本信幸. C 型慢性肝炎の診療ガイドラインの検証と個別化治療の可能性. 第 96 回日本消化器病学会総会、新潟、2010.4.24
- 32) 前川伸哉、三浦美香、門倉信、末木良太、小馬瀬一樹、進藤浩子、金山明日香、大森高子、雨宮史武、進藤邦明、北村敬利、井上泰輔、坂本穰、岡田俊一、榎本信幸. ウイルスゲノム解析による C 型肝炎病態、および薬剤感受性の解析. 第96回日本消化器病学会総会、熊本、2010.4.23

#### H.知的所有権の出願・取得状況

##### 1.特許取得

特になし

##### 2.実用新案登録

特になし

##### 3.その他

特になし

## 別紙5

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
坂本穰、榎本信幸	慢性肝炎の治療(C型)	幕内雅敏、菅野健太郎、工藤正俊編	今日の消化器疾患治療指針 第3版	医学書院	東京	2010	585-588

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kurisaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Tamori A, Nakagawa M, Izumi N.	Sequences in the Interferin Sensitivity Determining Region and Core Region of Hepatitis C Virus Impact Pretreatment Prediction of Response to Peg-interferon Plus Ribavirin: Data Mining Analysis.	J Med Virol	in press		
Kadudura M, Maekawa S, Sueki R, Miura M, Komase K, Shindo H, Amemiya F, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, Nakagawa M, Sakamoto N, Watanabe M, Enomoto N.	Analysis of the Complete Open Reading Frame of Hepatitis C Virus Genotype 2a Infection Reveals Critical Site Influencing the Response to Peginterferon and Ribavirin Therapy.	Hepatol Int	in press		
Kurisaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Yatsuhashi H, Izumi N.	Pretreatment prediction of response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C using data mining analysis.	J Gastroenterol	in press (published on line September 2010)		2010
前川伸哉、坂本穰、榎本信幸	HCV全アミノ酸解析を用いたPEG-IFN/RBV併用療法の治療反応性の検討	消化器内科	51 (6)	642-651	2010
坂本穰、榎本信幸	山梨県における肝炎対策	肝胆膵	61 (5)	763-771	2010
坂本穰、榎本信幸	HCVゲノム解析からみた治療方針	最新医学	65 (9)	1892-1900	2010
坂本穰、榎本信幸	肝臓領域における検査法の進歩と臨床応用	日本内科学会雑誌	99	1959-1964	2010
坂本穰、榎本信幸	遺伝子変異と Adherenceからみた peg-IFN+RBV療法無効例の対策	消化器内科	50 (6)	575-580	2010

坂本穰、榎本信幸	ウイルス遺伝子から見たC型肝炎治療	Vita	27 (2)	32-38	2010
三浦美香、坂本穰、榎本信幸	最新の検査と臨床 肝炎ウイルスの遺伝子解析ー病態・治療効果との関連ー C型肝炎ウイルス (HCV)	Medical Practice	27 (1)	65-68	2010



# Medical Practice

2010 vol. 27 no.1

最新の検査と臨床  
肝炎ウイルスの遺伝子解析—病態・治療効果との関連—  
C型肝炎ウイルス (HCV)  
三浦美香・坂本 穰・榎本信幸

東京 文光堂 本郷

最新の検査と臨床  
肝炎ウイルスの遺伝子解析—病態・治療効果との関連—  
C型肝炎ウイルス (HCV)

三浦美香・坂本 稔\*・榎本信幸

山梨大学医学部第1内科・\*山梨大学大学院肝疾患地域先端医療システム学/みうら・みか 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(HCV)は、高率に持続感染し、数十年の経過で肝硬変、肝癌を引き起こすが、これらの発症を防ぐにはHCVを体内から完全排除する必要があり、インターフェロン治療の重要性が高まっている。現在、C型慢性肝炎に対する治療成績はペグインターフェロンとリバビリンの併用療法によりウイルス学的著効 sustained virological response (SVR)率が70%に向上している。しかし、難治とされる genotype 1b かつ高ウイルス量では、併用療法を48週間行ってもSVRは50%弱である。このようなインターフェロン治療反応性については、ウイルス側の要因として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ている。これに宿主側因子(年齢、性別、肝線維化など)を加えることでより詳細な治療効果予測が可能となり、臨床応用されている。

HCVの遺伝子構造●

HCVは *Flavivirus* 科の *Hepacivirus* 属に属する約9,600塩基の一本鎖(プラス鎖)RNAウイルス

スである。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一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)。

HCVはウイルス増殖の過程で遺伝子の修復機構を持たないため、高頻度にウイルス遺伝子変化を生じる。さらに、一個体の中でも遺伝子配列のわずかに異なるさまざまな clone が混在する状態 (quasispecies) となっている。この多様性が臨床経過の決定的な差異を作り出している可能性がある。

これまでに、このHCV遺伝子変化とインターフェロン感受性との関連については多くの指摘がある。コア領域(コア70・91番アミノ酸変異)、E2/NS1領域に存在する超可変領域 hypervariable region (HVR)、phosphorylation homology domain (PePHD)、NS5A領域のPKR binding domain、インターフェロン感受性領域 interferon sensitivity determining region (ISDR)、IFN/RBV

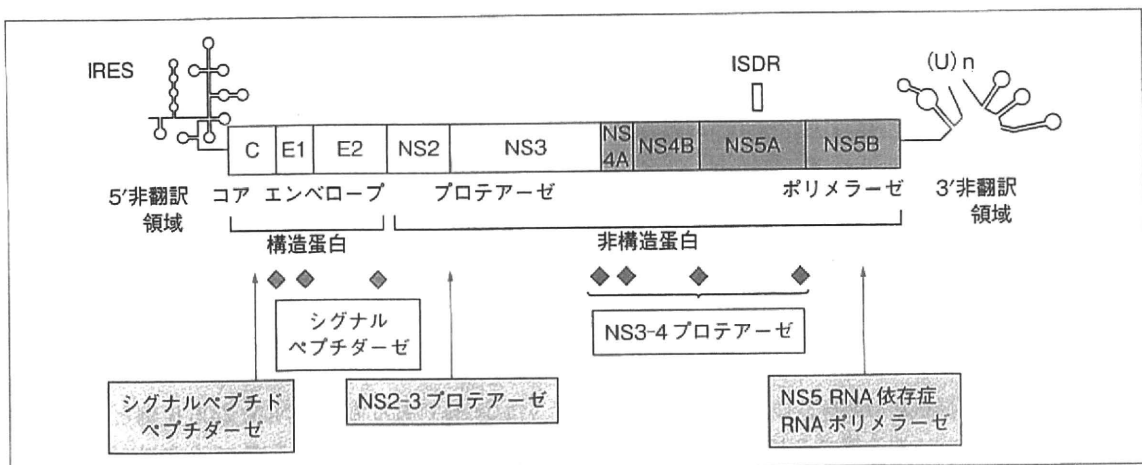


図1 C型肝炎ウイルスの遺伝子構造

- 現在、臨床応用に最も注目されているのが、NS5A 領域 (ISDR) とコアアミノ酸変異である。
- 遺伝子型ごとのインターフェロン治療効果は genotype 間で異なる。
- 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。

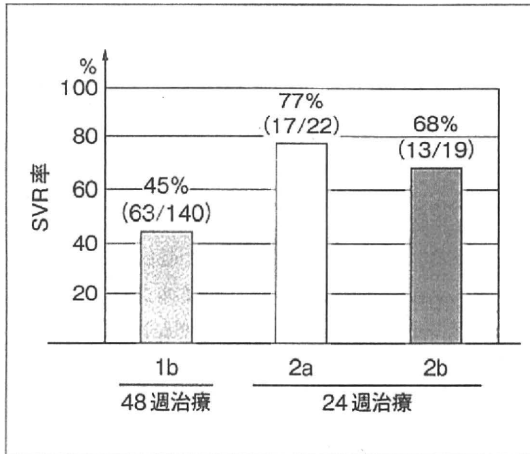


図2 ペグインターフェロン+リバビリン併用療法における genotype と SVR 率

resistance-determining region (IRRDR) などであるが、現在、臨床応用に最も注目されているのが、NS5A 領域 (ISDR) とコアアミノ酸変異である。

#### HCV 遺伝子型●

このように HCV 遺伝子は株間での変異が大きく、HCV はその核酸配列の比較解析から大きく 6 個の遺伝型 (genotype 1~6) に分けられ、さらにそれが 2 ないし 3 種類のサブタイプ (a, b, c など) に細分される。これらの遺伝子型は各国、地域ごとに分布が大きく異なっており、わが国においては、1b 型が 70%、2a 型が 20%、2b 型が 10% の構成である。

遺伝子型ごとのインターフェロン治療効果は genotype 間で異なり、一般に genotype 1, 4 で悪く、genotype 2, 3, 5, 6 で良好である。われわれの施設でのペグインターフェロンと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)。

#### 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 末端側の 40 アミノ酸 (NS5A a.a.2209-2248) が治療効果と密接に関連することが明らかにされ、この領域は ISDR と命名された<sup>1)</sup>。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となっている。臨床的には、野生型ではウイルス量は低く、ISDR の変異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独立した治療効果を決定する因子であった。同様に、ペグインターフェロンと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。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とリバビリン併用療法では、2 個以上の変異があれば 80% 以上の高い確率で 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し、特に ISDR 変異 0 ないし 1 個であっても 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 HCV genotype 1b で ISDR 変異 0 ないし 1 個の症例で

- ペグインターフェロンとリバビリン併用療法では、2個以上の変異があれば80%以上の高い確率でSVRが期待できる。
- ISDR変異0ないし1個の難治が予想される症例であっても、コア70番アミノ酸がアルギニン(R)であれば高率にSVRが期待できる。

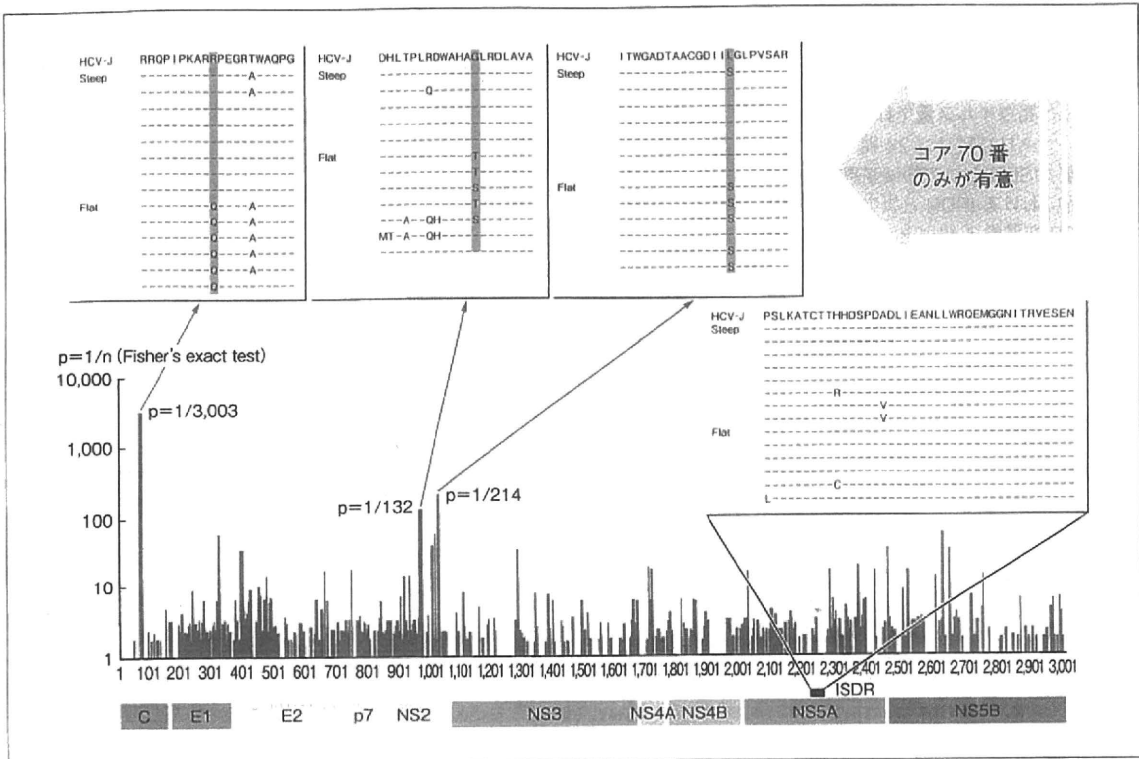


図3 1b型のHCVのうちISDR変異数0ないし1個の症例での、ウイルス反応別の各アミノ酸部位の相違

治療効果に関連する、ISDR以外のウイルス側因子を検討するため、ペグインターフェロンとリバビリン併用療法を行ったISDR変異1ないし0個の症例の中から、極端に初期反応性が異なる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以上低下したsteep responderと1 log未満しか低下しなかったflat responderと定義し、HCV全アミノ酸配列の相違を検討した。その結果、明らかにこの2群で有意差をもって異なっていたのは、コア70番のアミノ酸であった(図3)。

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アミノ酸変異との関連

を検討すると、ISDR変異0ないし1個の難治が予想される症例であっても、コア70番アミノ酸がアルギニン(R)であれば高率にSVRが期待できるが、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きわめて悪く、治療中断した症例や治療完遂してもSVRとならない症例が多数を占めた。このようにISDR変異に加えてコア変異を検討することで、難治性であるHCV genotype 1b症例の治療効果を正確に予測することが可能となった<sup>2,3)</sup>。

Akutaらもコア領域の70番と91番のアミノ酸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