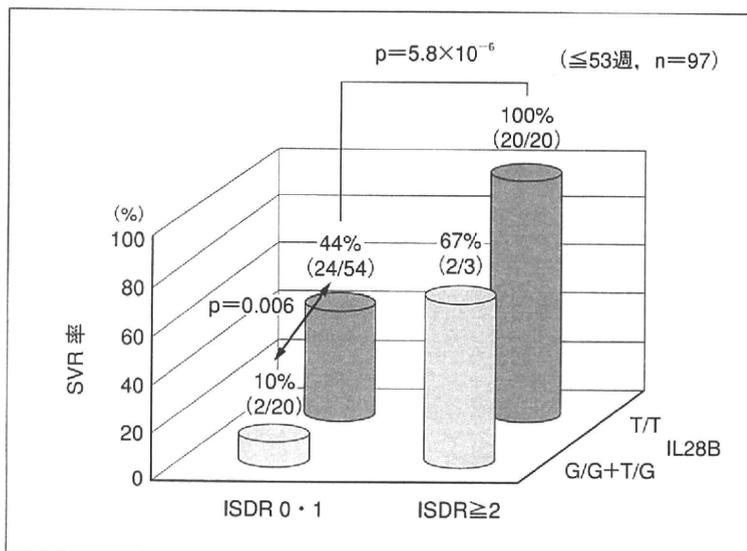


図6 遺伝子型1かつ高ウイルス量例 PEG-IFN+RBV 併用療法の ISDR および IL28B SNP (rs8099917) 別 SVR 率



略語：巻末の「今月の略語」参照

図7 ウイルス変異と宿主変異から見たC型慢性肝炎に対するIFN治療方針

HCV 遺伝子型	1b		2a/2b
	IRRDR ≤3 (IRRDR) または ISDR ≤1	左以外	
IL28B SNP	G/G+T/G	T/T	
治療方針	新規非 IFN 製剤		IFN 単独療法
	NS3 プロテアーゼ阻害薬		PEG-IFN+RBV 併用療法
	P+R 併用 (延長) 療法		
	新規治療に期待		
	新規治療に期待	総合的判断により治療導入	積極的に治療導入

略語：巻末の「今月の略語」参照

症例，近い将来使用可能となる PEG-IFN+RBV+NS3 プロテアーゼ阻害薬の三者併用療法で治療可能な症例を高い予測確率で選択することが可能であり，早期の治療導入が可能となる。しかし，難治が予測される症例では

現時点での治療必要性を考慮し，時間的余裕がある場合には将来の新規治療法に期待すべきであるし，肝線維化進展例や肝発がん危険群では現時点での治療可能性を考慮しつつ治療法を検討することなどが可能となる (図7)。

文 献

- 1) Manns MP, 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* **358**: 958-965, 2001.
- 2) Fried NW, et al: Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **347**: 975-982, 2002.
- 3) Zeuzem S, et al: Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with 2 or 3. *J Hepatol* **40**: 993-999, 2004.
- 4) 平成 21 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 総括分担研究報告書, 2010.
- 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**: 77-81, 1996.
- 6) Enomoto N, 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.
- 7) Akuta N, et al: Predictive factors of virological non-response to interferon-ribavirin combination therapy for patients infected with hepatitis C virus of genotype 1b and high viral load. *J Med Virol* **78**: 83-90, 2006.
- 8) 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.
- 9) Akuta N, et al: Prediction of response to pegylated intrerferon and ribavirin in hepatitis C by polymorphisms in the viral core protein and very early dynamics of viremia. *Intervirol* **50**: 361-368, 2007.
- 10) Donlin MJ, et al: Pretreatment 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.
- 11) 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**: 38-47, 2008.
- 12) 坂本 穰, 他: 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. *日消誌* **106**: 485-492, 2009.
- 13) Proutski V, et al: SWAN: sliding window analysis of nucleotide sequence variability. *Bioinformatics* **14**: 467-468, 1998.
- 14) Tajima F: Determination of window size for analyzing DNA sequences. *J Mol Evol* **33**: 470-473, 1991.
- 15) Tanaka Y, et al: Genome-wide association of *IL28B* with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* **41**: 1105-1109, 2009.
- 16) Ge D, et al: Genetic variation in *IL28B* predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* **461**: 399-401, 2009.
- 17) Suppiah V, et al: *IL28B* is associated with response to chronic hepatitis C interferon- α and ribavirin therapy. *Nat Genet* **41**: 1100-1104, 2009.
- 18) Berg T, et al: Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon- α 2a plus ribavirin. *Gastroenterology* **130**: 1086-1097, 2006.
- 19) Sánchez-Tapias JM, et al: Peginterferon- α 2a plus ribavirin for 48 versus 72 weeks in patients with detectable hepatitis C virus RNA at week 4 of treatment. *Gastroenterology* **131**: 451-460, 2006.
- 20) McHutchison JG, et al: Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* **360**: 1827-1838, 2009.
- 21) Hézode C, et al: Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med* **360**: 1839-1850, 2009.

Treatment Strategy According to HCV Genome Mutation

Minoru Sakamoto¹, Nobuyuki Enomoto²

¹ Center for Liver Disease, University Hospital, University of Yamanashi

² First Department of Internal Medicine, University of Yamanashi, School of Medicine

山梨県における肝炎対策

坂本 穰* 榎本 信幸**

索引用語：地域医療連携、肝疾患診療連携拠点病院、市町村保健指導推進モデル

肝疾患コーディネーター養成講習会、インターネットを利用した肝疾患診療ネットワーク

1 はじめに

ウイルス性肝炎は、わが国においては最も重要な感染症のひとつであり、その感染者は、B型肝炎約110～140万人、C型肝炎約190～230万人と推計されている¹⁾。しかも、放置すると肝硬変・肝癌へと進展する可能性が高く、生命に関連する重要な疾患である。逆に肝硬変・肝癌の成因を調査するとB型肝炎が10～15%、C型肝炎が70～80%を占めることが明らかになっており、肝癌の約90%はウイルス性肝炎に由来することが明らかになっている。今日、多くの悪性腫瘍のリスクファクターが徐々に明らかになっているが、肝癌と肝炎ウイルスほど明白な関連が指摘されているものはなく、ウイルス性肝炎対策が即、肝癌対策であることは明白な事実である。一方、ウイルス性肝炎に対する治療は、近年急速に進歩している。すなわち、B型肝炎においては核酸アナログ製剤の開発により、抗

ウイルス治療が可能となり、C型肝炎においては、インターフェロン治療、とくにペグインターフェロン+リバビリン製剤の治療によりウイルスの恒久的な排除が可能となった。したがって、わが国の医療福祉・健康問題において、ウイルス肝炎の感染者を早期に把握し・専門医による抗ウイルス治療の適否を判断することが肝癌抑止に非常に重要であり、肝癌の早期発見には、ハイリスクグループである肝炎ウイルス感染者の詳細な経過観察により、治療手技が施行可能な時期に治療を行うことが重要である。

2 山梨県の肝臓病の歴史

わが国における都道府県別肝癌死亡率は、一般に西日本で高く、東日本で低いことが知られているが、唯一、東日本で高いのが山梨県であった。この原因として、古くから山梨県の地方病である「日本住血吸虫症」との関連が指摘されてきた^{2,3)}。日本住血吸虫症は、

Minoru SAKAMOTO et al: Hepatitis control in Yamanashi prefecture

*山梨大学医学部附属病院肝疾患センター [〒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内科学講座

表1 平成16年～18年度のHCV検診で発見されたHCVキャリアの医療機関受診率およびHCVキャリアの専門医療機関受診率とインターフェロン療法施行率

	計(人)	率(%)
HCVキャリア発見率	710 (C)	
医療機関受診受診確認者数	466 (D)	65.5 (D/C)
専門医の受診者数	83 (E)	17.8 (E/D)
治療者数	387 (F)	83.0 (F/D)
インターフェロン療法	22 (G)	5.7 (G/F)

日本住血吸虫の遊泳している水田や溝渠に浸かることで経皮的に感染し、この寄生虫が最終的に門脈末梢枝に寄生・産卵することで門脈の閉塞と門脈周囲の壊死・炎症を惹起し肝硬変に至らしめる。とくに、門脈系への影響は著しく、脾腫や腹水は外見から顕著な変化として記述されている。このほか門脈系への経路である腸間膜静脈での炎症による消化管症状や、寄生虫の異所寄生・虫卵のためのさまざまな変化、稀には脳障害・中枢神経性変化などが報告されている。

このため、行政は日本住血吸虫の中間宿主である「ミヤイリガイ」殺貝し、さらに第二次世界大戦後には、これを棲息不可能とする溝渠のコンクリート化に膨大な予算をつぎ込んだ。また、感染者に対しては、駆虫剤である酒石酸ナトリウムアンチモニウム(スチブナール)を用いた静脈注射が頻回に行われ、その回数は最低20回以上必要とされてきた。これにより、1978年以降、新規感染者は発見されず、山梨県は1996年に日本住血吸虫症の「流行終息宣言」を発表している。しかし、かつての日本住血吸虫症の流行地において肝硬変・肝癌の死亡率が著しく高いことや、罹患者に肝硬変や肝癌の発生頻度が高いことから、日本住血吸虫症の罹患歴が肝癌と直接的に関連する可能性について、長年にわたり議

論されてきた^{4,5)}。この問題については、いまだ完全には解決されていないが、日本住血吸虫症罹患者ではHCV抗体陽性率が高く、同一注射器による頻回の静脈注射により、C型肝炎ウイルスが蔓延し、これが肝癌と密接に関連している可能性が示唆されている⁶⁾。

3 山梨県における市町村保健指導推進モデル事業

一方、平成14年から18年に老人保健法に基づいて行われた、いわゆる「節目検診」の結果、C型肝炎ウイルス感染率は全国の1.16%に対し、山梨県は1.47%であり全国9番目の高さであった⁷⁾。しかも、住民検診の結果、「要診療」と診断された者の医療機関の受診率は低く、専門医療機関への受診率やインターフェロン療法施行率も低い現状があった(表1)。

そこで山梨県では、平成19年に取りまとめられた「都道府県における肝炎検査後肝疾患診療体制に関するガイドライン」に基づき、積極的に肝炎対策に乗り出した。とくに、「市町村保健指導推進モデル事業」は、山梨県独自のもので、肝炎ウイルス検診における「要診療者」すなわち、B型ないしはC型肝炎ウイルス感染者の多い市町村をモデルに、「肝炎手帳」などを活用した、保健指導、相談支援、

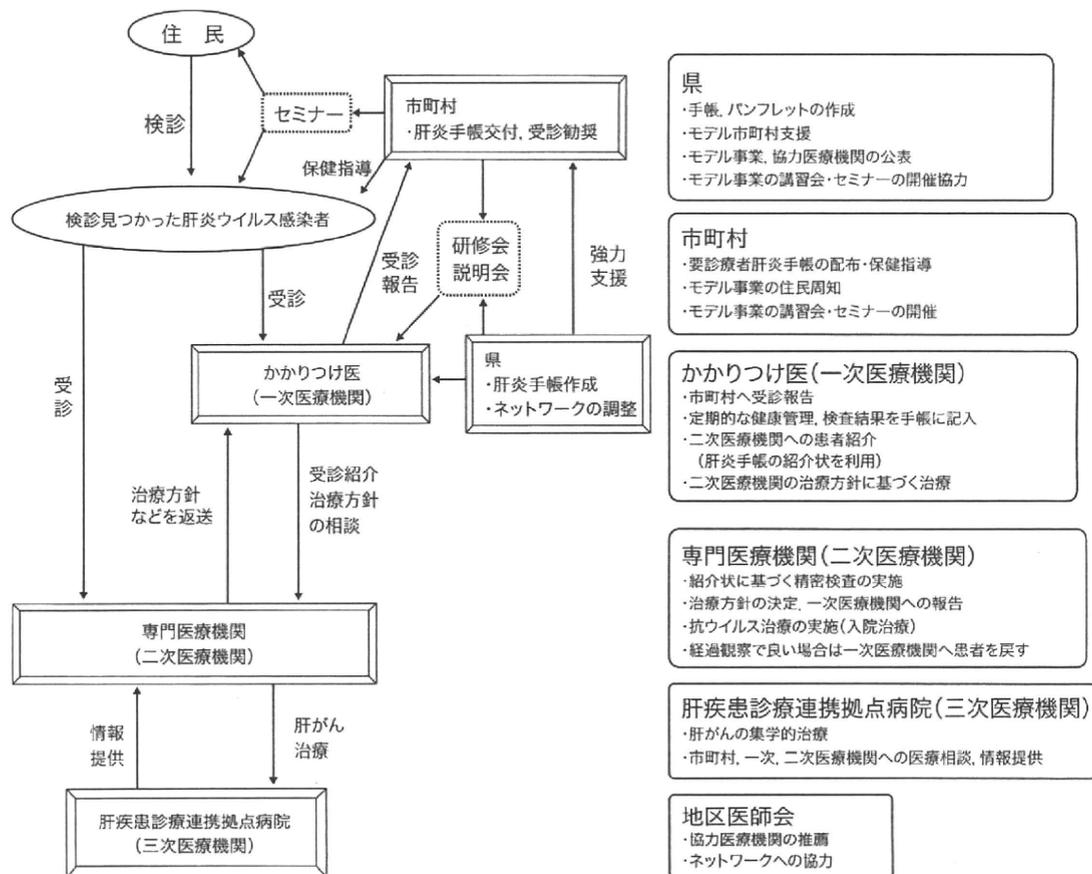


図1 市町村保健指導推進モデル事業

かかりつけ医と肝炎専門医療機関との連携体制の構築をはかるものである。これにより市町村における保健指導のモデルを確立し、検証の上、全県内に展開して行くことを目的としている(図1, 図2)。

概要は、

- 1)健康管理手帳(肝炎手帳)作成(県)
- 2)要診療者への肝炎手帳の交付(市町村)
- 3)地区医師会・専門医療機関などへの協力要請(県)
- 4)地区セミナーの開催(市町村)
- 5)肝炎ウイルス感染者(すでに把握されている者)への調査票配布(市町村)
- 6)関係者研修会の開催(市町村)

- 7)地域の実情に即した普及啓発活動(市町村)
- 8)健康相談(市町村)
- 9)地域の実情に即した普及啓発活動
- 10)健康相談

であり、具体的には、老人保健事業によるC型肝炎感染率は2.2%で、がんの部位別死亡率において肝癌が第1位(いずれも平成18年度)である、山梨県の北部を占める北杜市(人口約49,000人、平成20年)を実施主体として、平成19年度にモデル事業として実施した。従来の事業と異なる点は、「肝炎手帳」(図3)に、医療連携に必要な情報共有手段のみならず、肝炎に関する基礎知識を加え患者自身の

(肝 炎 サ ポ ー ト ネ ッ ト ワ ー ク 推 進 事 業)

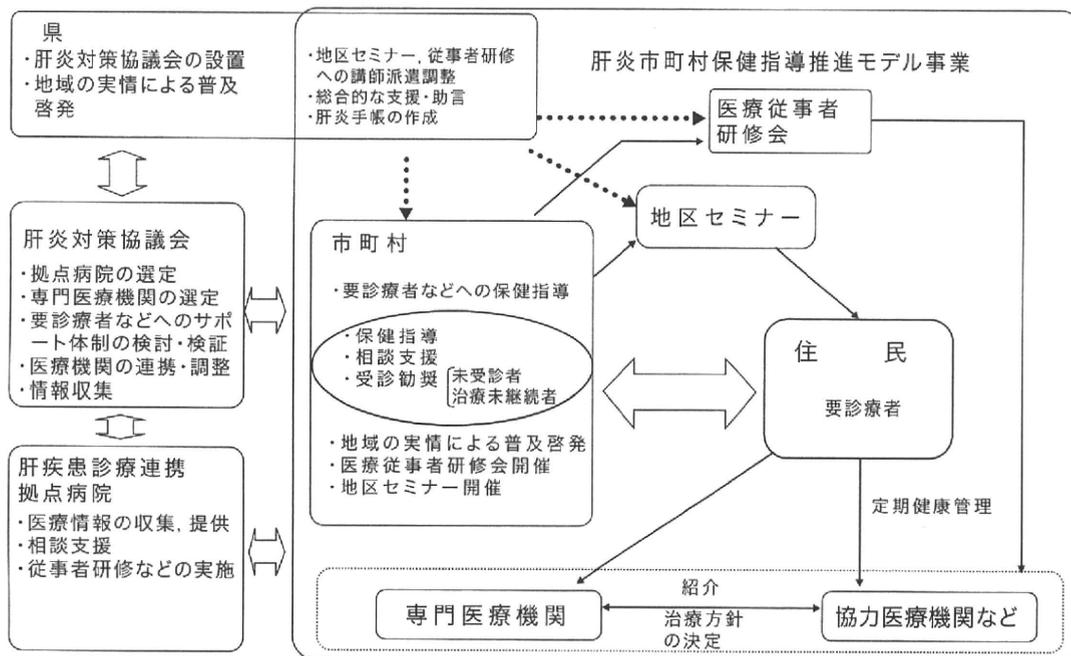


図2 県の肝炎対策と保健指導推進事業の関係

健康管理手帳C

発行にあたって
この手帳は、C型肝炎を克服するために、またC型肝炎と上手に付き合っていくために作られたものです。

この手帳は、住民健診等で「初めてC型肝炎ウイルスに感染していることがわかった人」「これから肝炎の治療をはじめよう」という人を対象として、山梨県、北杜市で作成しました。

また、肝炎療法の専門医と連携し、C型肝炎で治療、ただけでなく工夫した生活習慣の改善の記録と「協力医療機関」として広く活用されることを願っています。

北杜市須玉町大豆生田 961-1
北杜市役所 保健福祉部 健康増進課

C型肝炎の豆知識

肝炎の検査について
主な検査項目の内容説明です。C型肝炎の検査は、採血し、C型肝炎ウイルスに対する抗体を測定することから始まります。

- ・HCV抗体：C型肝炎ウイルスに感染すると作られる抗体です。抗体が陽性の場合には現在C型肝炎ウイルスに感染している状態（HCVキャリア：一般に抗体の量が多い）と、ウイルスが排除された感染が終息している状態（感染既往：抗体量は少ない）とがあります。
- ・HCV RNA：まずHCV RNAの定性（C型肝炎ウイルスが血液中にいるかどうか）を行い、陽性なら定量（血液中のウイルス量を測定）します。これにより、インターフェロン治療の適応を決めます。
- ・HCVの遺伝子型、血清型：インターフェロン治療の適応を決める際、ウイルス量とともに遺伝子型または血清型を用いて判断します。日本人に多い遺伝子型は1b（血清型1群）で全体の約70%を占めます。そのほかに2a（約20%）、2b（約10%）がみられます。
- ・HCVコア抗原：HCV RNA（定量）に代えてC型肝炎ウイルス量を知るために使うことができます。

血清型	遺伝子型	頻度	インターフェロン治療効果
1	1a	まれ	
	1b	約70%	治療効果は低～高程度の場合がある
2	2a	約20%	治療効果が非常に高い
	2b	約10%	治療効果は高い

図3 山梨県北杜市の健康管理手帳

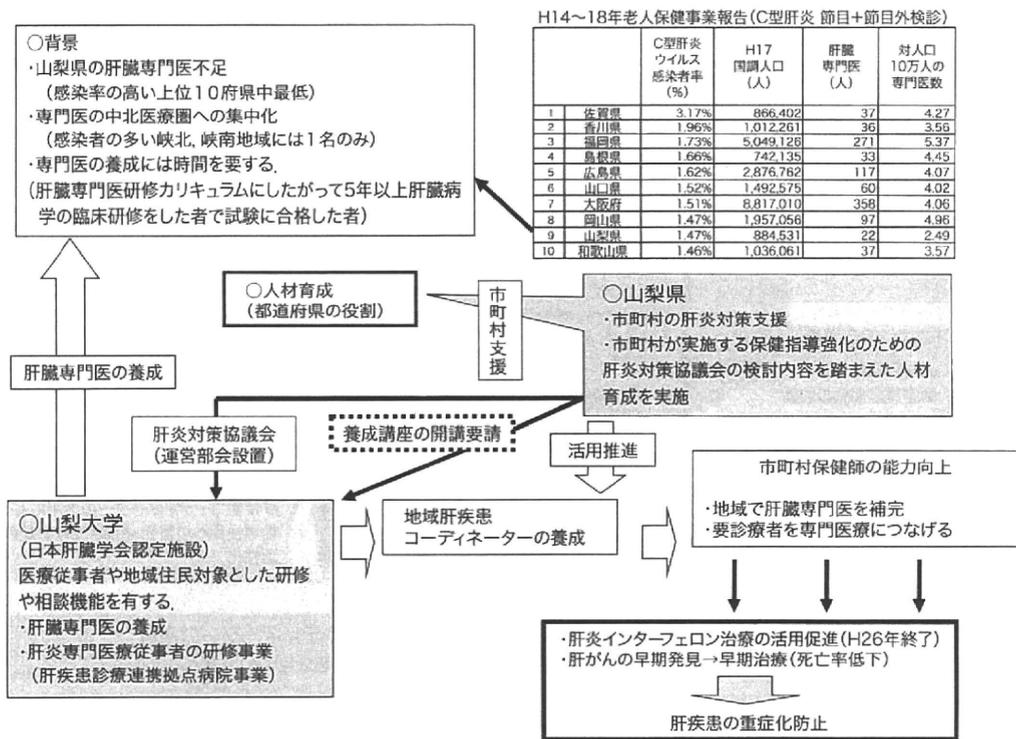


図4 地域肝疾患コーディネーター養成事業の背景と目的

健康管理に役立つ汎用性の高いものとしたことのほか、地域の実情に配慮し、小規模な地区セミナー開催やCATVや市町村広報など地域に密着したかたちでの普及啓蒙活動を実施したことにある。実際に、市町村で未把握のHCV感染者28人がセミナーに参加し、潜在的な「要診療者」の発掘に寄与するなど一定の成果をあげている。

4 山梨大学医学部肝疾患センター(肝疾患診療連携拠点病院)における地域肝疾患コーディネーター養成講習会

保健指導による患者支援・地域医療連携事業は一定の成果をあげてきた。そこで、平成20年度からは、この成果をもとに「保健指導推奨モデル」を策定し、各市町村への導入を

働きかけてきたが、保健指導に携わる人材の肝疾患に関する知識などが不十分である実態が明らかになってきた。また、市町村からは肝疾患全般に関する人材の総合的・体系的研修機会の要望もあり、山梨県の「肝疾患診療連携拠点病院」である、山梨大学医学部附属病院の「肝疾患センター」が主体となり、拠点病院事業の一つとして「地域肝疾患コーディネーター養成講習会」(図4、図5)を開催した。肝疾患連携拠点病院は、

- 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

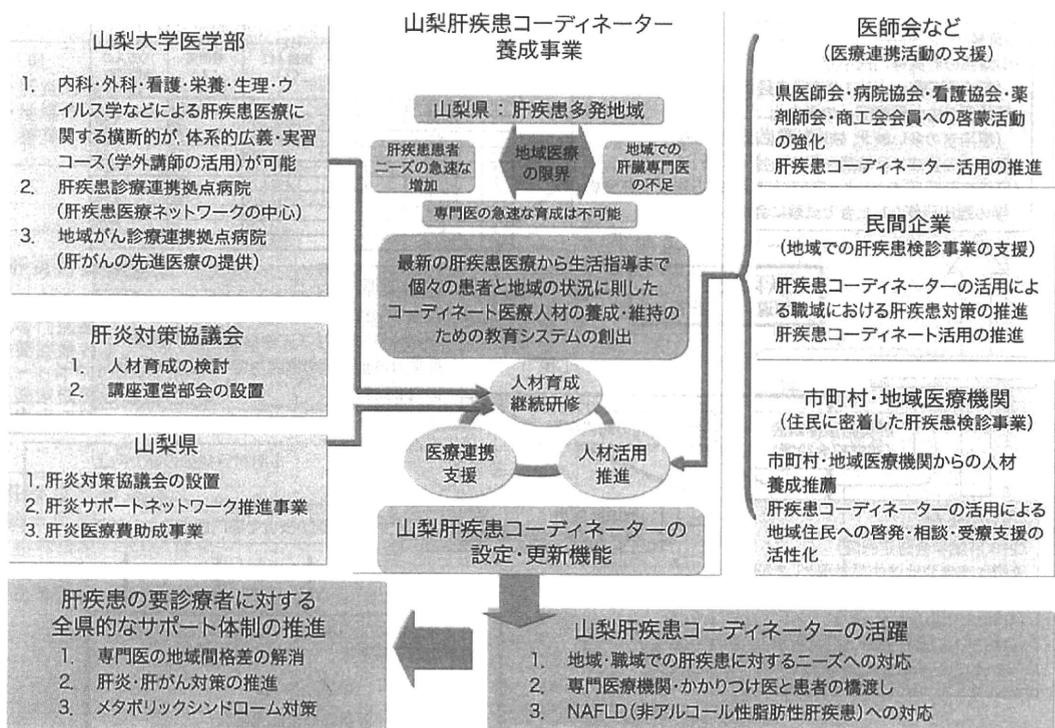


図5 地域肝疾患コーディネーター養成事業
(肝疾患全般に携われる人材の養成による全県的な肝疾患対策の推進)

場の設定

を目的としているが、地域での肝疾患診療連携にコーディネーター養成は全県的に必要不可欠で急を要する事業として山梨大学医学部附属病院独自に実施している。

講習内容は、肝臓病の基礎知識から内科・外科的診療の実際、公衆衛生的知識、臨床心理・看護技術、医療行政上の知識などの幅広い講義を行い、希望者には実際の診療現場を見学してもらうことにした。これにより机上の知識と実際の経験により、検診結果から医療現場につながるイメージが体験でき、より正確で親身の保健指導が可能となったと考えられる。また、修了者には認定試験を行い、基準点に達した受講者に認定証を交付した。平成21年度は23名が試験に合格し修了証を手に入れている。今後は、このコーディネーター

の地域・職域での活躍が期待できると考えられる。

5 Y-PERS (山梨肝疾患フォーラム) と Y-PERSネットワーク

これまでに、われわれは、Y-PERS (Yamanshi-PEG-interferon-ribavirin-study) という組織を立ち上げてきた。これは、現在の標準治療である PEG-IFN+ribavirin 治療を、われわれ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、同様の組織として「山梨肝疾患フォーラム」という組織も設立している。これは、山梨県の肝臓専門医のグループで、肝炎治療の標準化と最適化を図ることをめざして治療成績と安全性の検討することを目的としている。とくに大学病院ではウイルス遺伝子検査をはじめとした

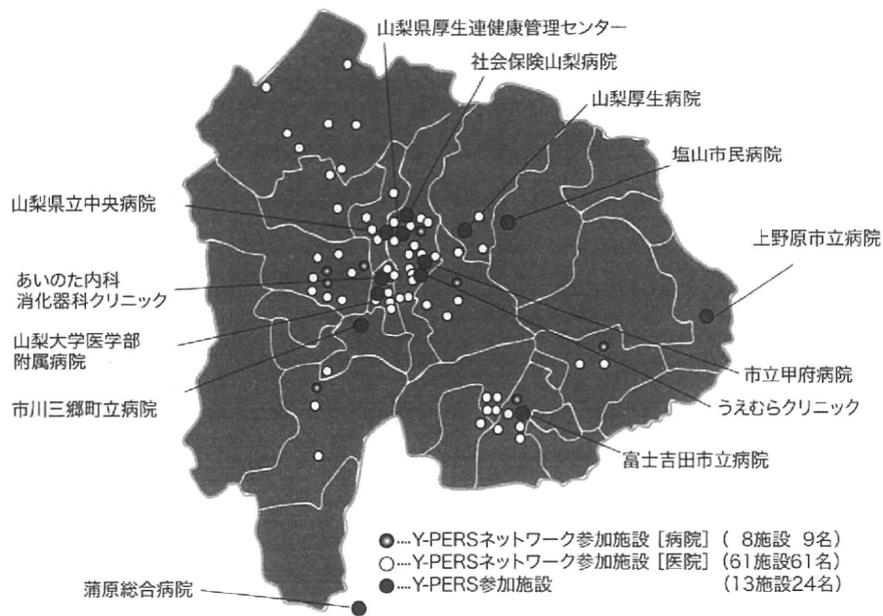


図6 Y-PERSとY-PERSネットワーク

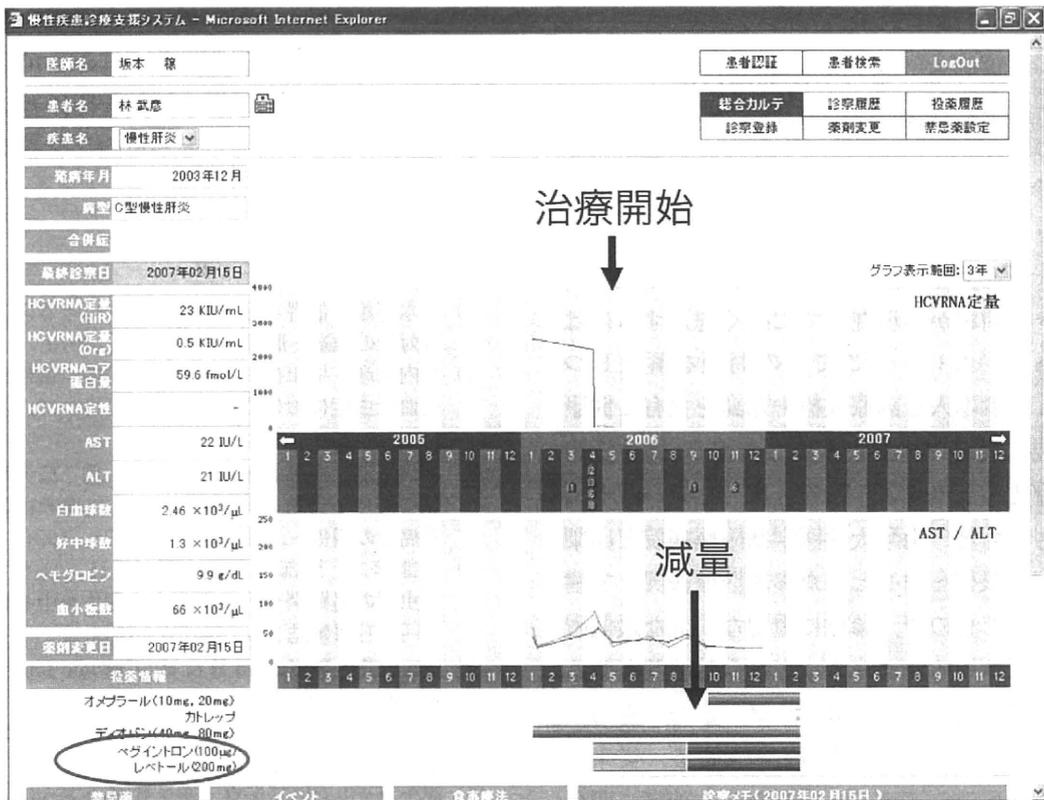


図7 インターネットを利用した「マイ健康記録」閲覧画面

研究を推進しており、研究成果を含めた最新知識の共有と、いち早い臨床導入を目指している⁸⁾。とくに、Enomoto⁹⁾やAkutaら¹⁰⁾により明らかにされた、C型肝炎ウイルスのISDRやコアアミノ酸変異の測定は、極めて重要な治療効果予測因子として^{11,12)}、山梨県ではY-PERSを通して、すでに臨床導入可能な状況になっている。また、さらに、さらに地域連携をはかるために、地域の「かかりつけ医」の機能をもつ開業医・診療所の先生方から、Y-PERS参加施設へのアクセス向上を目指してY-PERSネットワークを設立した(図6)。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いる。上述の保健指導による患者支援・地域医療連携事業においても、このネットワークが有効に機能していたことが報告されている。

6 インターネットを利用した肝疾患診療ネットワークの構築

診療ネットワークにITすなわちインターネットを用いる試みは以前からなされてきたが、医療情報の漏洩に対する安全性や運用コストの問題から現在までに広く普及するには至っていない。そこでこの問題を解決しつつ、患者本人も診療成績や知識を共有し健康管理に利用できるようにしたのが「慢性疾患診療支援システム」¹¹⁾である。このシステムはもともと、山梨大学医学部附属病院と山梨県内の眼科を中心とした参加医療機関とで構成されたもので、診療に重要な十分な最低限の情報を、インターネットを介して共有するもので、重要な情報はグラフなどの視覚的にもわかりやすく提供するものである。従来の電子カルテシステムとは異なり、独自に開発したプログラムを用い安価にしかも安全に使用できよう工夫をしている。すなわち共有す

る情報は必要最小限とし、通常のブラウザで閲覧可能とし利用者は特別なプログラムを要しない。また情報漏洩に対する安全性は二重の暗号化によるインターネット商取引と同等のセキュリティシステムを用いた個人情報保護システムを採用した。この上で大学病院の検査成績や投薬情報などの診療情報は直接接続することなく、一方向のみの自動の一括処理で投入できるようにした。具体的には登録患者には、ID、パスワードを記録した「マイ健康レコード」カードを配布し、これによりインターネットにアクセスし診療記録が閲覧できる仕組みである(図7)。医療関係者と患者自身でのアクセス権限には違いがあるがインターネットに接続可能な環境があればどこでも診療情報を閲覧可能である。さらに、このシステムの最大の特徴は患者自身でも情報を閲覧可能で、将来は限定的ではあるが患者自身が「患者日記」のように、医療関係者に自身の健康情報を伝えることが可能となるよう準備を進めている。

文 献

- 1) 丸本芳雄, 伯野春彦: 厚生労働省による肝炎総合対策の推進. 肝胆膵 61: 11-19, 2010
- 2) 井内正彦, 早川操子, 木谷健一, 他: 慢性日本住血吸虫症における原発性肝癌について. 肝臓 14: 249-252, 1973
- 3) 神代正道, 中島敏郎, 坂本和義, 他: 原発性肝癌に関する研究(第2報) - 日本住血吸虫症と肝癌との関係 -. 肝臓 15: 771-778, 1974
- 4) 溝部孝二, 刑部源太郎, 飯田文良: 日本住血吸虫症の追跡調査 - 肝細胞癌の発生を中心にして -. 日医雑誌 120: 99-104, 1998
- 5) Iida F, Iida R, Kamijo H et al: Chronic Japanese schistosomiasis and hepatocellular carcinoma: ten years of follow-up in Yamanashi prefecture, Japan. Bull World Organ 77: 573-581, 1999
- 6) 溝上雅史: C型肝炎ウイルスはどのように日本に蔓延したか? Mebio 20: 52-56, 2003
- 7) 厚生労働省ホームページ <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2007/10/h1003-1.html>

- 8) 坂本 稔：「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
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 坂本 稔, 榎本信幸：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. 日本消化器病学会雑誌106 : 485-492, 2009
- 12) 慢性疾患診療支援システム研究会ホームページ <http://www.manseisien.jp/>

* * *

特集Ⅱ C型肝炎ウイルスの感染・増殖メカニズムと臨床応用

HCV全アミノ酸解析を用いた PEG-IFN/RBV併用療法治療 反応性の検討*

前川 伸哉^{**,****}
坂本 穰^{***,****}
榎本 信幸^{***,****}

Key Words: pegylated-interferon plus ribavirin therapy, hepatitis C virus (HCV), HCV full open reading frame analysis, IL28B

はじめに

C型肝炎ウイルス(HCV)に対する現在の標準治療法であるペグ化IFN(PEG-IFN)/ribavirin(RBV)併用48週療法は、難治型であるゲノタイプ1bのHCVに限っても約5割の症例においてsustained viral response(SVR)が得られる治療であり、以前行われたインターフェロン(IFN)単独療法と比較して大きく進歩した。一方で、PEG-IFN/RBV療法はいまだに半数の症例が無効となるいまだ不十分な治療とも逆にいえるが、2011年の市場導入が予想されているプロテアーゼ阻害薬との併用によって治療効果はさらに大きく改善されることが期待されている。しかし、どのような症例が現行の治療で完治し、どのような症例が治療抵抗性となっていくのか現行治療の限界を明らかにすることは、新しい時代の治療適応を判別する上でも非常に重要なことと考えられる。

治療効果に関連する因子として、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; インターフェロン感受性規定領域)が存在することを見出し、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た¹⁾⁻³⁾。しかし、PEG-IFN/RBV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っていた。われわれはPEG-IFN/RBV時代において治療効果を規定するHCV領域について、ウイルス動態とHCV全翻訳領域の詳細な検討を行うことにより明らかとした。本稿ではわれわれの上記の検討を中心に概説する。

12週までの初期ウイルス反応性と最終治療効果

われわれは、PEG-IFN/RBV治療を導入したゲノタイプ1bのHCV感染症例連続103人に対し、治療導入前の血清からHCVウイルス全翻訳領域をダイレクトシーケンスで決定し、臨床背景因子との関連を明らかとすることとした(図1)。PEG-IFN/RBV最終治療効果を占う重要因子としては、治療早期の反応性が知られているが、特に治療導

* Investigation of the response to pegylated-interferon plus ribavirin therapy in chronic HCV infection through viral full open reading frame analysis.

** Shinya MAEKAWA, M.D., Ph.D.: 山梨大学医学部肝疾患地域先端医療システム学(☎409-3898 中央市下河東1110); Department of Frontier Medical System for Liver Disease, Faculty of Medicine, University of Yamanashi, Chuo 409-3898, JAPAN

*** Minoru SAKAMOTO, M.D., Ph.D. & Nobuyuki ENOMOTO, M.D., Ph.D.: 山梨大学医学部肝疾患センター

**** 山梨大学医学部第1内科

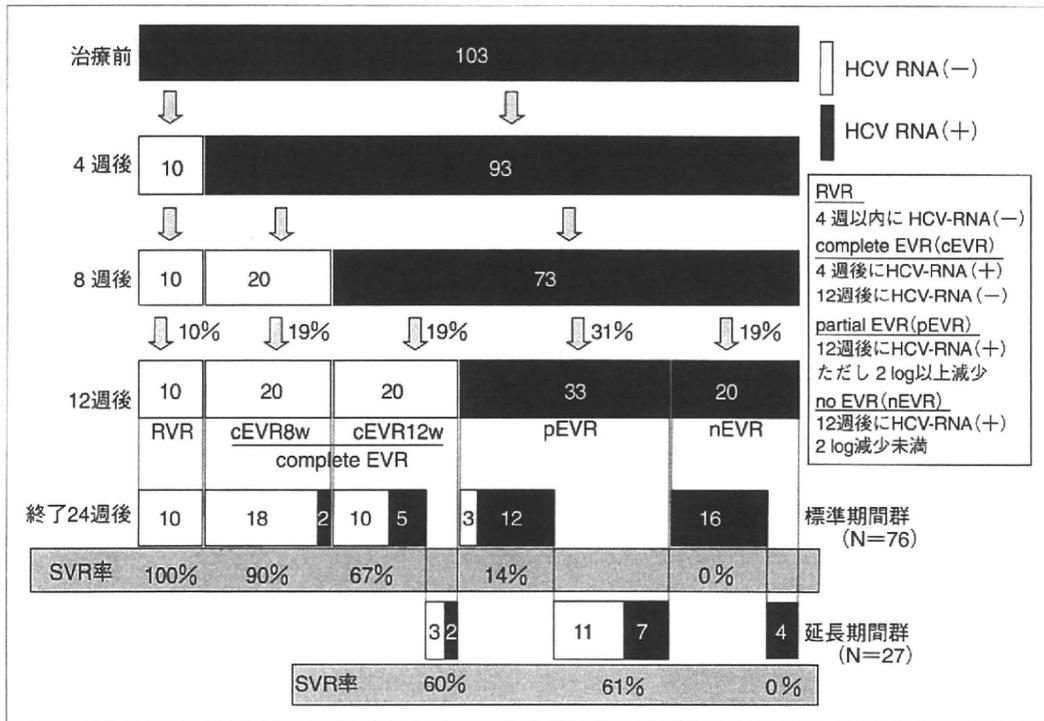


図1 Peg-IFN/RBV併用療法における12週までのウイルス消失とSVR

入後12週までのウイルス反応性が、SVRに強く関連することが報告されている³⁾。われわれの103症例において12週までの治療反応性と最終治療効果の関連を検討した。図1に示すように、4週でのウイルスが検出感度未満となった症例をRVR (rapid viral responder)、12週でなったものをcEVR (complete early viral responder)、12週でウイルス陽性であるものの治療前と比べて100分の1以下に減少したものをpEVR (partial early viral responder)、12週でウイルス陽性、かつ100分の1未満のものをnon-EVRと命名した。cEVRはさらに8週 (cEVR-8w)、12週 (cEVR-12w) までに検出感度未満になったものに分類した。するとこの分類と最終治療効果は強く関連することが本治療群でも検証された(図1)。すなわちPEG-IFN/RBV治療反応性において、それぞれの集団内部では同じ性質を持つ症例が集まっているものと考えられる。各集団を特徴づけるHCVの遺伝子領域の存在を明らかとするためにすべての症例でHCV全翻訳領域を決定することとした。

スライディングウィンドウ解析を含む解析方法について

HCV全長遺伝子は約9,600塩基の一本鎖RNAからなるが、3,010個のアミノ酸からなるウイルス蛋白は1個の読み枠 (open reading frame) で翻訳されたのちに成熟蛋白となる。われわれはこれを20のフラグメントに分割して、2ステップの polymerase chain reaction (PCR) にて増幅し、ダイレクトシーケンス法でドミナントなアミノ酸配列を決定した(図2)。

実際の検討に当たっては、比較検討する2群において3,010アミノ酸各部位における各群のアミノ酸残基出現頻度を比較した。さらに本検討において、単一のアミノ酸の比較のみではなく、“スライディングウィンドウ解析”によるウイルス“領域”の比較を行った(図3)。すなわち、2群の違いは1アミノ酸のみに起こるとは限らず、まとまったアミノ酸領域として生じる可能性がある。たとえば図3のような場合では、アミノ酸6番から19番までの14アミノ酸にAとBの

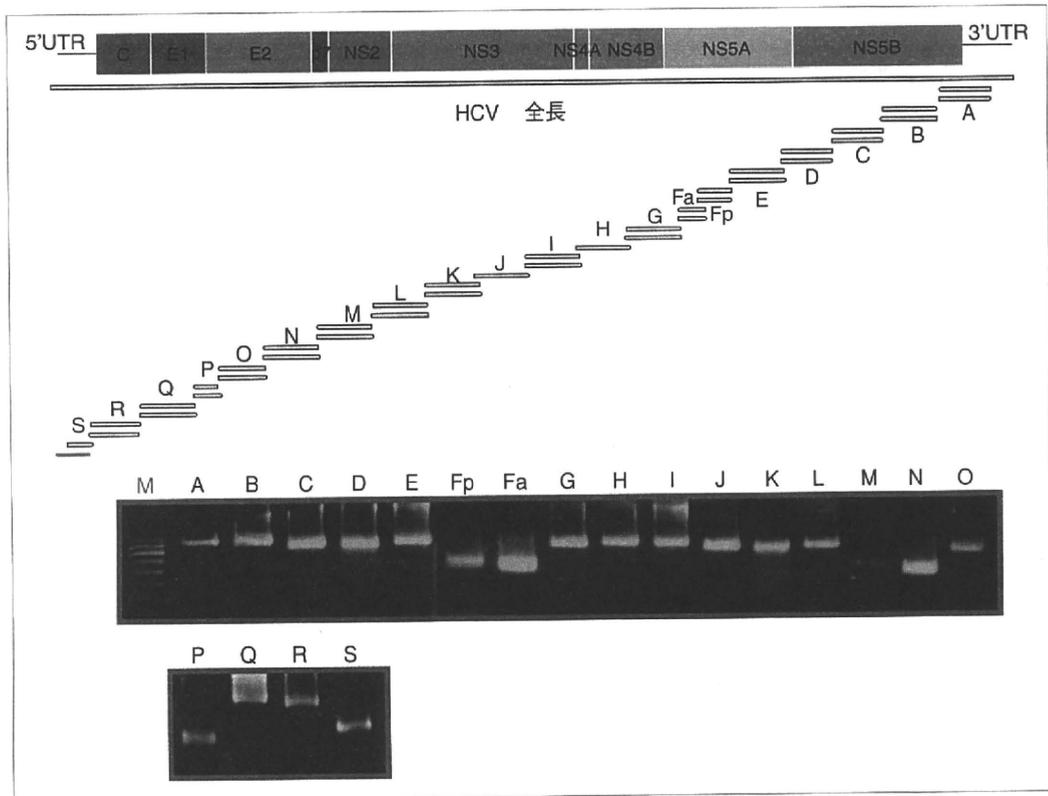


図2 PCRを用いたHCV全長解析方法
A~Sは各PCRフラグメント. 下はPCR産物の電気泳動, Mはサイズマーカー.

違いが集中していることが理解されると思う。このような例では図の右に示すが、アミノ酸1個の違いを比較してもA群とB群の違いの有意差は小さいが、アミノ酸6番から19番までの変異数合計ではA群とB群で平均アミノ酸変異数は大きく異なり、治療反応性と関連する領域であることがわかる。われわれはC型肝炎ウイルスの全アミノ酸解析においても、隣り合うアミノ酸変異を合計して、領域としてもアミノ酸の変異を検討した。

PEG-IFN/RBV治療効果と関連する HCVウイルス領域の検討

1. RVR群と非RVR群におけるウイルス配列の違い

上記に述べたように、われわれの症例を12週までの治療反応性によって5つのサブグループに分類し、それぞれの群における特徴的なウイルス配列の有無を全翻訳領域にわたり検討する

こととした。はじめにRVR群と非RVR群の2群間の違いについて比較したところ、図4-aに示すようにNS5Aの複数のアミノ酸部位(2240, 2355など)が有意差をもって2群で異なる領域として抽出された。一方、図4-aをみるとNS5Aのこれらの部分周囲にも小さなピークがいくつか存在しており、単一のアミノ酸よりも領域として変異が起きやすい可能性が考えられた。

そこで次にスライディングウインドウ解析を行った(図4-b)。スライディング解析において合計するアミノ酸幅を1から100までのウインドウ幅まで広げた解析を行い、有意差がある部分を色の濃淡で表し、最も大きい有意差を示すものを白色で表すようにエクセルでプログラムを作成して解析した。すると特にNS5Aに色の濃い部分が集中しているのがわかる。本検討では、特にNS5Aのアミノ酸番号2224から2248までの25アミノ酸領域が最も異なるP値を示す領域として抽出されたが、この領域はインターフェロン単

		ウインドウ幅 1 (アミノ酸番号 6)														ウインドウ幅 14 (アミノ酸番号 6~19)														アミノ酸変異数			
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	ウインドウ幅 1 アミノ酸番号 6	ウインドウ幅 14 アミノ酸番号 6~19
		コンセンサス配列 P S P K P L C T V E S E S A D A D L S T S I E A W R Q H M G G N I T H																															
反応群 A	症例 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	
	症例 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	
	症例 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
	症例 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
	症例 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	症例 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	症例 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
	症例 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
	症例 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
	症例 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
																平均変異数	0.1	0.6															
反応群 B	症例 1	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	
	症例 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
	症例 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2
	症例 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2
	症例 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	N	V	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	0	4
	症例 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	E	-	V	-	-	-	-	-	0	3
	症例 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Y	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	0	4
	症例 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-	0	2
	症例 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
	症例 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	Q	-	-	-	-	-	-	0	4
																平均変異数	0.3	2.9															

図 3 スライディングウインドウ解析

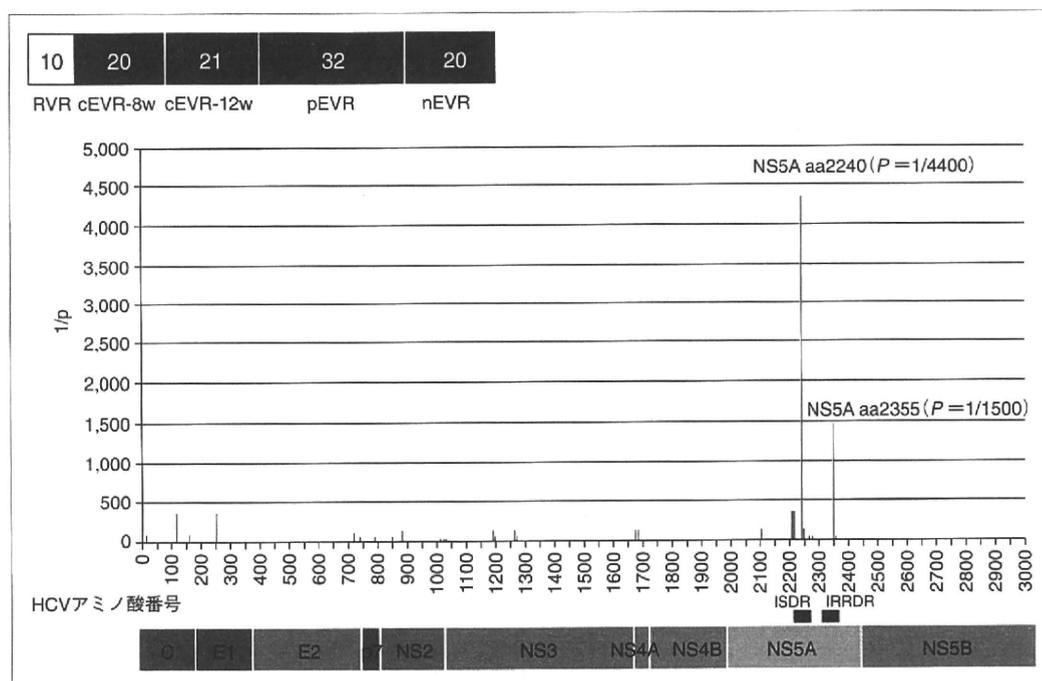


図 4-a HCVアミノ酸の違い—RVR群 vs. RVR以外—
単一アミノ酸ごとの解析。

独時代にインターフェロン感受性を決定する領域として報告されたISDRに含まれており、PEG-IFN/RBV併用療法においてRVRと強く関連する領域はISDRであることが示された(図 4-b)。すなわち、この領域にアミノ酸変異が多く存在するものほどRVRになりやすく、一方、変異のないものはRVRになりにくいことが明らかとなった。

2. Non-EVR群と非Non-EVR群におけるウイルス配列の違い

次に12週でウイルスの反応性が最も悪いnon-EVR群のウイルス配列の特徴を検討することとした(図 5)。まずウイルス各アミノ酸について比較したところ、図 5 に示すようにコアの70番のアミノ酸が最も大きな有意差を持って異なる部位として、著明な P 値を持って抽出された($P=7.0E-08$)。引き続きスライディングウインドウ解析によるアミノ酸領域としての検索も行ったが、アミノ酸“領域”としては抽出されず、やはりコア70番が最も異なるHCVのホットスポットとして抽出された。すなわち、コア70番が野生型のアルギニンではnon-EVRになるものがほとんどないのに比べて、グルタミンでは大半がnon-EVR

となっていた。すなわち、治療開始前のウイルスのコア70番がグルタミンの場合にはnon-EVRになる強力な予測因子であることがHCV全長解析によって明らかとなった。

3. SVR群とNon-SVR群におけるウイルス配列の違い

最終的な著効率の違いと、ウイルス配列がどのように関連するのかをウイルス各アミノ酸について、さらにスライディングウインドウ解析も行い検討した。図 6 に示すようにSVR群とnon-SVR群との比較では、NS5Aアミノ酸番号2340から2382までの43アミノ酸領域部位が最終的に効果に最も関連する領域として抽出されたが、同領域はインターフェロン・リバビリン併用療法に関連する領域とされているIRRDRにほぼ合致していた。すなわち、この領域にアミノ酸変異が多く存在するものはSVRになりやすく、一方、変異の少ないものはSVRになりにくいことが示された。興味深いことにIRRDRの後半部分はインターフェロン単独時代にやはり治療効果に関連するV3領域として報告されていたが、図 6 に示すようにPEG-IFN/RBV治療時代においても、

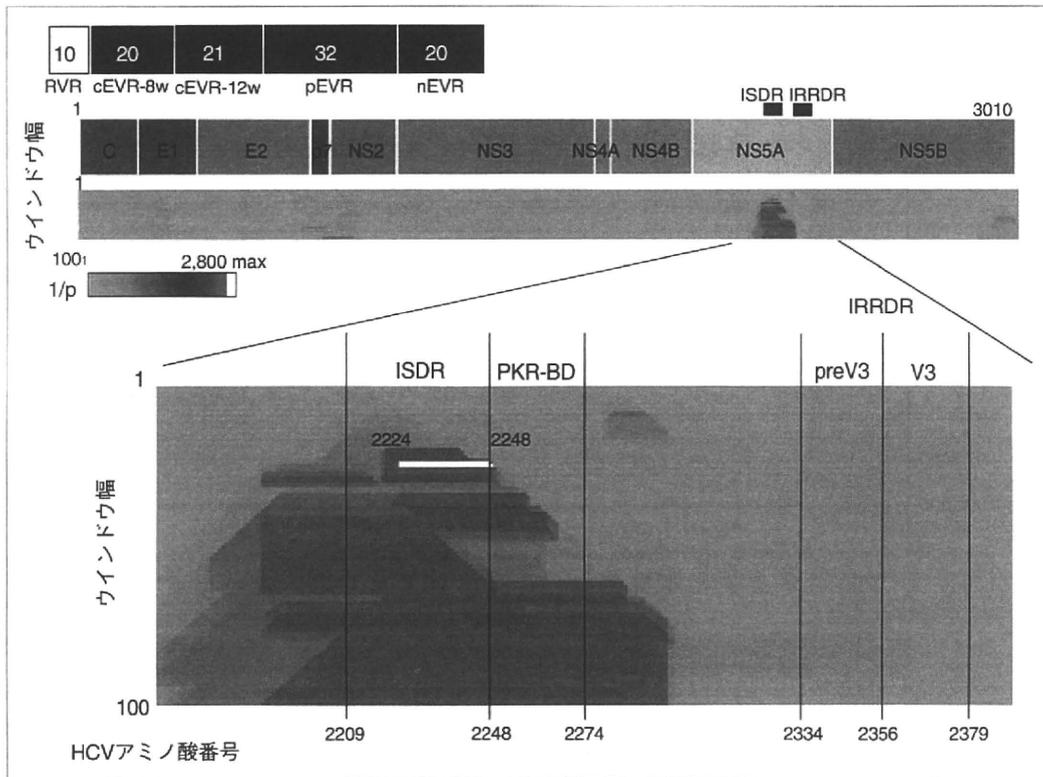


図 4-b HCVアミノ酸の違い—RVR群 vs. 非RVR群—
スライディングウインドウ解析.

IRRDR全体には及ばないがV3領域単独で効果に関連する領域として抽出されている。

実際と同領域のアミノ酸配列と最終治療効果の関係を図7に示す。解析した全症例で最も多く認められるアミノ酸を各アミノ部位のコンセンサス配列とし、そのコンセンサス配列と各症例の違いを図に示しているが、同領域には非常に変異が多く、変異を持たない症例がほとんど存在しないことがわかる。しかし、変異の数が3個未満のものと4個以上の2群に分類すると、図から3個未満ではほとんどのものが、non-SVRとなり、一方、4個以上のものは大半のものがSVRになっていることがわかる。すなわち同領域内の変異数が3個以内と4個以上のもので著明な反応性の違いが認められる。

ヒトIL28B遺伝子(インターフェロンλ3) 多型とウイルス学的治療反応性

2009年にPEG-IFN/RBV治療効果を規定する宿

主側因子として、ヒトIL28B遺伝子近傍のゲノム多型が著明な関連をすることが報告された⁴⁾⁻⁶⁾。すなわち、同遺伝子領域のSNP解析において、IL28B遺伝子アレルがメジャーかマイナーか、どちらのアレルを有するかによって、治療反応性に大きな差が生じてくる。実際の詳細な内容については、本特集号における名古屋市立大学の松浦先生の項で詳しく述べられている。われわれは、HCV全長解析を行ったなかで同意を得られた症例において、IL28Bの多型について検索し、IL28Bの多型によって症例ごとに有するHCVアミノ酸に違いがないかを比較検討した。図8に示すように、スライディングウインドウ解析を含む全長解析を用い、IL28B遺伝子多型ごとに有するHCVアミノ酸配列の違いを検討すると、コア70番変異とIL28Bの多型の間に著明な関連を認めた。すなわち治療効果の悪いウイルス学的反応性の低いIL28Bマイナーアレルを有する症例では、治療抵抗性と関連するコア70番の変異型である

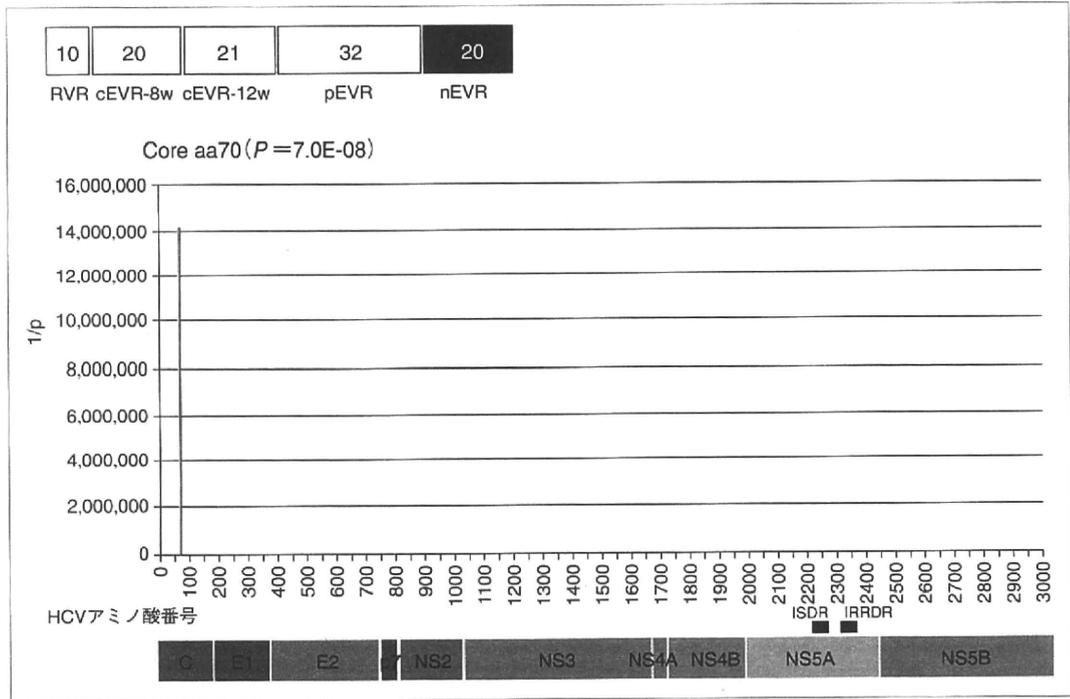


図5 HCVアミノ酸の違い—non-EVR群 vs. 非non-EVR群—
単一アミノ酸ごとの解析。

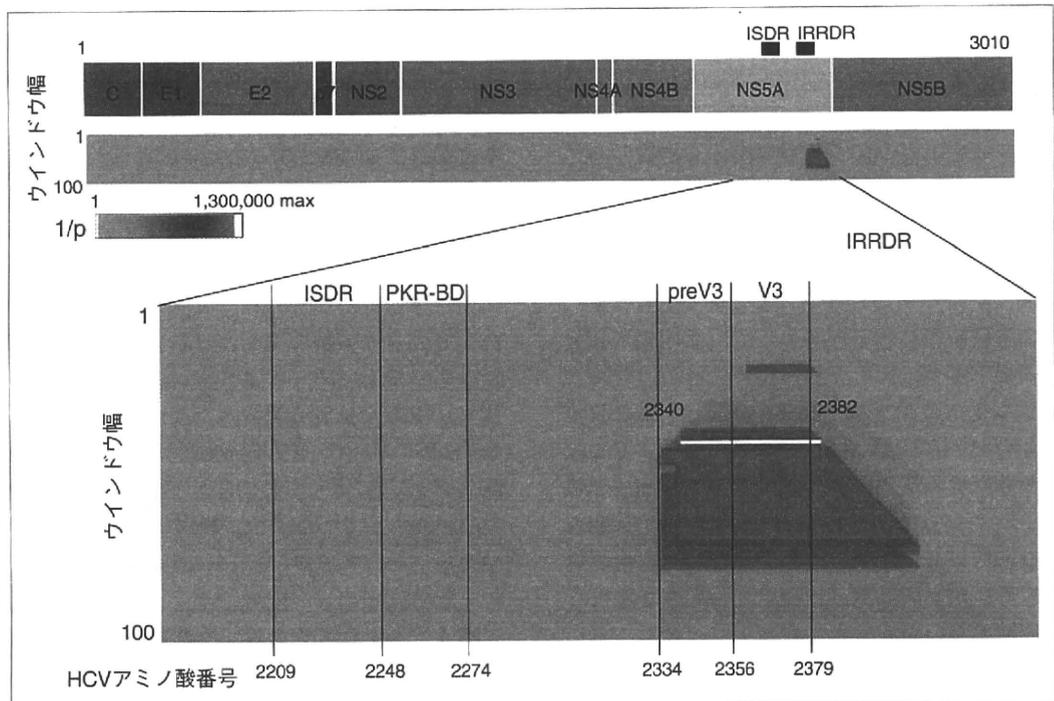


図6 HCV各アミノ酸配列の違い—SVR群 vs. non-SVR群—
スライディングウィンドウ解析。

2340		2382		変異数	最終効果
症例番号	VSSALAEATKTFGSSGSSAVDSGTATAPPDQASDDGDKGSDV				
1	-----A-----NN-MV-P-----PP-S-T-----			10	SVR
2	-----I-----E-P-A-----S-----PP-N-T-----			9	SVR
3	-----GP-----A-----A-----TT-----A-----A			8	SVR
4	-----A-S-----S-----TG-A-----P-NN-T-----A			8	SVR
5	-----E-T-A-----A-IVIT-L-----G-S-N-T-----A			8	SVR
6	-----EP-VA-----A-----L-L-A-----E-----			8	NonSVR
7	-----A-C-----QPP-A-----N-----L-L-N-T-----A			7	SVR
8	-----V-----S-----E-----N-----L-V-----E-----			7	SVR
9	I-----E-----E-----NES-G-----T-----			7	SVR
10	-----E-T-A-----P-----GE-----S-----			7	SVR
11	-----V-T-----V-----V-ND-IR-----			7	SVR
12	-----R-G-----TG-A-----RP-----L-I-T-----A			6	SVR
13	-----P-----P-----N-GA-----A-----			6	SVR
14	-----G-A-S-----A-P-S-A-----			6	SVR
15	-----E-GIG-A-----L-----			6	SVR
16	-----G-A-NG-----S-----C-----E-----			6	SVR
17	-----TTA-----S-----L-L-----E-----			6	NonSVR
18	-----V-T-----V-----D-IR-----A-----			6	NonSVR
19	-----V-----E-G-----V-----E-A-----			6	NonSVR
20	-----R-----A-----S-----N-A-----A-----			5	SVR
21	-----R-----L-----TR-----A-----			5	SVR
22	-----S-----VL-----G-----A-----			5	SVR
23	-----S-----VL-----G-----A-----			5	SVR
24	-----A-----E-A-----L-G-----F-D-----			5	SVR
25	-----E-A-----L-G-----E-----			5	SVR
26	-----T-A-----L-----G-E-----			5	SVR
27	-----E-I-T-V-L-----			5	NonSVR
28	-----E-A-----S-----N-----A-----			5	NonSVR
29	-----L-----P-N-T-----A-----			5	NonSVR
30	-----E-A-----P-S-P-----			5	NonSVR
31	-----I-----D-----G-----E-----			4	SVR
32	-----E-A-----P-N-E-----			4	SVR
33	-----E-A-----P-N-A-----			4	SVR
34	-----E-A-----L-----AR-----A-----			4	SVR
35	-----E-----M-----N-R-----			4	SVR
36	-----V-----P-----A-----E-----			4	SVR
37	-----V-----N-----G-----E-----			4	SVR
38	-----A-----S-----T-----D-----			4	SVR
39	LP-----A-----A-----M-----			4	SVR
40	-----A-----N-G-----A-----			4	SVR
41	-----A-----G-----E-----A-----			4	SVR
42	-----V-----E-----H-T-----			4	NonSVR
43	-----S-----I-----H-E-A-----			4	NonSVR
44	-----E-----P-----S-----			3	SVR
45	-----E-----P-----S-----			3	SVR
46	-----A-----RE-----			3	NonSVR
47	-----G-----N-----A-----			3	NonSVR
48	-----E-P-A-----			3	NonSVR
49	-----E-P-A-----A-E-----			3	NonSVR
50	-----D-----M-----T-----			3	NonSVR
51	-----P-N-T-----			3	NonSVR
52	-----T-ND-----			3	NonSVR
53	-----S-----E-----L-G-D-----			3	NonSVR
54	-----S-----D-----			3	NonSVR
55	-----E-A-----E-----			3	NonSVR
56	-----ER-----A-----			3	NonSVR
57	-----G-----A-----O-----			3	NonSVR
58	-----L-----T-----A-----			3	NonSVR
59	-----A-----L-----			2	SVR
60	-----A-----E-----			2	NonSVR
61	-----E-----A-----			2	NonSVR
62	-----E-----Q-----			2	NonSVR
63	-----S-----E-----T-----			2	NonSVR
64	-----RE-----			2	NonSVR
65	-----E-----E-----			2	NonSVR
66	-----A-----E-----			2	NonSVR
67	-----V-----E-----			1	NonSVR
68	-----E-----T-----			1	NonSVR
69	-----V-----E-----			1	NonSVR
70	-----S-----L-----			1	NonSVR
71	-----L-----			1	NonSVR
72					
73					
74					
75					
76					
77					

図7 NS5Aアミノ酸番号2330-2372内アミノ酸変異と最終効果

グルタミンを持つ症例が非常に多く、一方、メジャーアレルを有する症例ではコア70番野生型であるアルギニンを持つ症例が多く、宿主遺伝

子とウイルス遺伝子配列には強い相関があるという驚くべき事実が明らかとなった。宿主因子とウイルス因子は相互に関連して肝炎の病態を