

HCV-RNA陰性化 (10 IU/mL) は、MK7009 300mg×2/日併用群でそれぞれ75% (12/16), 80% (12/15), 600mg×2/日併用群で79% (15/19), 89% (16/18), 600mg/日併用群で69% (11/16), 88% (14/16), 800mg/日併用群で82% (14/17), 77% (13/17) と、対照群の6% (1/18), 60% (9/15) に比し、有意に高率であったと報告されている。

III Polymerase阻害剤

HCVの非構造蛋白NS5Bは、RNA polymerase活性を有しHCV-RNA複製に重要な役割を果たしている。Polymerase阻害剤は、HCV-RNA複製を直接抑制する作用があり、核酸型、非核酸型の2種類の薬剤があるが、現在のところ主な開発中の薬剤として、R1626^{18), 19)}, R7128²⁰⁾, ABT333²¹⁾などが挙げられる。

R1626は、NS5B polymerase阻害剤であるR1479のプロドラッグであり、初回治療のgenotype1型C型慢性肝炎 (HCV-RNA \geq 100KIU/mL) の35例を対象として、R1626 500mg×2/日, 1,500mg×2/日, 3,000mg×2/日, 4,500mg×2/日の4群比較(14日投与)による第Ib相試験¹⁸⁾が行われた。この結果、投与終了時のHCV-RNA減少量は、順に、0.32, 1.2, 2.6, 3.7 log₁₀IU/mLであり、4,500mg投与群の全例、3,000mg群の63%において2 log₁₀IU/mL以上のHCV-RNA減少を認め、投与中に薬剤耐性変異の出現は認めなかった。副作用による投与中止例はなかったが、3,000mg以上の投与群では消化器症状が高頻度に見られた。

上記試験の結果を受けて、現在、R1626/Peg-IFN α 2a (180 μ g/週)/RBV (1,000~1,200mg/日) 3剤併用療法の第IIa相試験が行われている¹⁹⁾。

初回治療のgenotype1型C型慢性肝炎 (HCV-RNA \geq 50KIU/mL) に対し、対照をPeg-IFN α 2a/RBV 48週投与として、治療開始4週間をR1626 (1,500mg×2/日)/Peg-IFN α 2a群, R1626 (3,000mg×2/日)/Peg-IFN α 2a群, R1626 (1,500mg×2/日)/Peg-IFN α 2a/RBV群に分け、その後、引き続いて各群ともPeg-IFN α 2a/RBV併用44週投与を行うものである。この中間報告では、治

療開始4週時点でのHCV-RNA減少量は、順に、3.6, 4.5, 5.2, 2.4 log₁₀IU/mL, HCV-RNA陰性化 (<15 IU/mL) は29%, 69%, 74%, 5%であり、R1626投与中には薬剤耐性が出現しなかった。一方、副作用面では、R1626 3,000mg×2併用群で消化器症状や好中球減少の出現頻度が高かったと報告されている。R1626とPeg-IFN, RBVとの3剤併用により強力な抗ウイルス作用が発揮されることが期待でき、同試験の最終報告の結果が待たれる。

IV Protease阻害剤とPolymerase阻害剤の併用

Protease阻害剤やpolymerase阻害剤の開発が進み、従来のIFN, RBVを併用せず、経口の酵素阻害剤のみを併用する試験も現在進行中である。INFORM-1 study²²⁾は、genotype 1型C型肝炎に対し、polymerase阻害剤であるR7128とprotease阻害剤であるR7227を14日間投与する第I相試験である。治療開始14日の平均HCV-RNA減少量が、初回投与例のR7128: 500mg×2/日/R7227: 100mg×3/日投与群で3.9 log₁₀IU/mL, R7128: 500mg×2/日/R7227: 200mg×3/日投与群で5.2 log₁₀IU/mL, R7128: 1,000mg×2/日/R7227: 100mg×3/日投与群で4.8 log₁₀IU/mL, R7128: 1,000mg×2/日/R7227: 200mg×3/日投与群で4.8 log₁₀IU/mLであり、また再治療例のR7128: 1,000mg×2/日/R7227: 600mg×3/日投与群で4.5 log₁₀IU/mLであったことより、IFN未治療例と既治療例に差を認めず、IFNやRBVを併用しない新たな抗ウイルス療法として、今後の臨床応用が期待される。

V その他の新規抗ウイルス薬

従来のIFN製剤, RBV製剤を改良し、抗ウイルス効果の増強、副作用の軽減を目指す試みが行われている。Albinterferon α 2b (Albferon) はIFN α 2b にヒトアルブミンを結合させたもので、従来のPeg-IFN α 2aよりも長く有効血中濃度が得られることが特徴である。Albferon (900 μ g/2週)/RBV 48週投与においてPeg-IFN α 2a (180 μ g/週)/RBV 48週投与とほぼ同等の著効率 (58~59%) が得られ、

治療期間中のQOLはAlbferon投与群で良好な結果であったと報告されている⁴⁾。TaribavirinはRBVのプロドラッグで、RBVの副作用である溶血性貧血を軽減させることが特徴であり、対照群をRBV 1,000~1,200mg/日、taribavirin群を800~1,600mg/日としてPeg-IFN α 2a (180 μ g/週)を併用した第II相試験⁵⁾では、溶血性貧血(Hb<10g/dL)の出現頻度が、taribavirin群で軽減されたと報告されている。

HCVの排除には、先天免疫と獲得免疫応答が必要である。HCVに対する不十分な免疫応答により持続感染が成立すると考えられており、免疫応答の修飾により、HCV排除が得られる可能性がある。現在開発中の薬剤として、病原体を認識し先天免疫応答に関与するtoll like receptor (TLR)のアゴニスト(TLR-9アゴニスト:CPGI0101²³⁾、TLR-7アゴニスト:Isatoribine²⁴⁾や、HCVワクチン(IC41)^{26), 27)}などの開発が進められている。

この他、抗寄生虫薬であるnitazoxanide (Alinia[®])が、*in vitro*においてB型肝炎ウイルス (hepatitis B virus: HBV)、HCVに対するウイルス複製抑制効果を有することが示され、現在、nitazoxanide/Peg-IFN/RBV併用療法試験^{28)~30)}が行われている。STEALTH C-1 study²⁸⁾は、初回治療のgenotype 4型C型慢性肝炎に対し、対照をPeg-IFN α 2a (180 μ g/週)/RBV (100~1,200mg/日) 48週投与群として、nitazoxanide (500mg \times 2/日) 12週間投与のち、nitazoxanide/Peg-IFN α 2a併用あるいはnitazoxanide/Peg-IFN α 2a/RBV3剤併用36週投与する群の3群を比較する第II相試験である。この結果、著効率は、対照群の50%に対し、nitazoxanide12週+nitazoxanide/Peg-IFN α 2a 36週投与で61%、nitazoxanide12週+nitazoxanide/Peg-IFN α 2a/RBV 36週投与で79%と、nitazoxanide併用群において著効率が向上したと報告されている。以上の結果を受けて、現在、genotype 1型C型慢性肝炎に対する第II相試験が行われている。初回投与のgenotype 1型C型肝炎を対象としたSTEALTH C-3 study³⁰⁾では、対照をプラセボ4週+Peg-IFN α 2a (180 μ g/週)/RBV (100~1,200mg/日) 48週投与群として、nitazoxanide

(500mg \times 2/日) 4週+nitazoxanide/Peg-IFN α 2a/RBV3剤併用48週投与を比較している。この中間報告では、治療開始16週および28週時点のHCV-RNA陰性化(<50 IU/mL)が、対照群ではそれぞれ49% (18/37)、68% (25/37)であったのに対し、nitazoxanide併用群では、それぞれ60% (45/75)、80% (60/75)と10%強の上乗せ効果があったことが報告されている。

VI おわりに

C型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法は、現在のPeg-IFN/RBV併用療法から、protease阻害剤をはじめとするHCV選択的抗ウイルス剤や免疫修飾剤の登場により新たな展開を迎えようとしている。これらの薬剤は、C型肝炎においてもIFNとは異なる機序の抗ウイルス活性を有しており、未治療症例だけではなく、Peg-IFN/RBV治療での非著効例や、IFN、RBVの副作用を考慮して治療適応外と考えられてきた症例に対しても治療効果が期待でき、第III相大規模臨床試験の結果が待たれる。一方で、本邦ではC型肝炎患者の高齢化が進んでおり、抗ウイルス効果のみならず安全性に優れた薬剤の併用が重要である。

参考文献

- 1) Hayashi N, Takehara T: Antiviral therapy for chronic hepatitis C: past, present, and future. *J Gastroenterol* 41: 17-27, 2006
- 2) 林 紀夫, 小瀬嗣子, 平松直樹: C型肝炎肝炎治療の要諦. *日消誌* 105: 175-185, 2008
- 3) Zeuzem S, Yoshida EM, Benhamou Y, et al: Albinterferon alfa-2b dosed every two or four weeks in interferon-naïve patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 48: 407-417, 2008
- 4) Gish RG, Arora S, Rajender Reddy K, et al: Virological response and safety outcomes in therapy-naïve patients treated for chronic hepatitis C with taribavirin or ribavirin in combination with pegylated interferon alfa-2a: a randomized, phase 2 study. *J Hepatol* 47: 51-59, 2007
- 5) Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ, et al: Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a phase 1b, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology* 131: 997-1002, 2006
- 6) Sarrazin C, Kieffer TL, Bartels D, et al: Dynamic hepatitis C virus genotypic and phenotypic changes in patients treated with the protease inhibitor telaprevir. *Gastroenterology*

- 132 : 1767-1777, 2007
- 7) Forestier N, Reesink HW, Weegink CJ, et al : Antiviral activity of telaprevir (VX-950) and peginterferon alfa-2a in patients with hepatitis C. *Hepatology* **46** : 640-648, 2007
 - 8) Kieffer TL, Sarrazin C, Miller JS, et al : Telaprevir and pegylated interferon- α -2a inhibit wild-type and resistant genotype 1 hepatitis C virus replication in patients. *Hepatology* **46** : 631-639, 2007
 - 9) Lawitz E, Rodriguez-Torres M, Muir AJ, et al : Antiviral effects and safety of telaprevir, peginterferon alfa-2a, and ribavirin for 28 days in hepatitis C patients. *J Hepatol* **49** : 163-169, 2008
 - 10) McHutchison JG, Everson GT, Gordon SC, et al : PROVE1 Study Team : Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* **360** : 1827-1838, 2009
 - 11) Hézode C, Forestier N, Dusheiko G, et al : PROVE2 Study Team : Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med* **360** : 1839-1850, 2009
 - 12) McHutchison JG, Manns M, Muir A, et al : PROVE3 final results and 1-year durability of SVR with telaprevir-based regimen in hepatitis C genotype 1-infected patients with prior nonresponse, viral breakthrough or relapse to peginterferon- α -2a/b and ribavirin therapy. *Hepatology* **50** (Suppl 4) : 334A, 2009
 - 13) Kwo P, Lawitz E, McCone J, et al : HCV SPRINT-1 final results : SVR 24 from a phase 2 study of boceprevir plus peginterferonTM (peginterferon alfa-2b)/RBV in treatment-naïve subjects with genotype-1 chronic hepatitis C. *J Hepatol* **50** (Suppl 1) : S4, 2009
 - 14) Manns M, Reesink H, Moreno C, et al : OPERA-1 trial : Interim analysis of safety and antiviral activity of TMC435 in treatment-naïve genotype 1 HCV patients. *J Hepatol* **50** (Suppl 1) : S7, 2009
 - 15) Manns M, Gane E, Rodriguez-Torres M, et al : Early viral response (EVR) rates in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C (CHC) genotype 1 infection treated with MK-7009, a novel NS3/4a protease inhibitor, in combination with pegylated interferon alfa-2a and ribavirin for 28 days. *Hepatology* **50** (Suppl 4) : 332A, 2009
 - 16) Sulkowski M, Ferenci P, Emanoil C, et al : SILEN-C1 : Early antiviral activity and safety of BI 201335 combined with peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment-naïve patients with chronic genotype 1 HCV infection. *Hepatology* **50** (Suppl 4) : 2009
 - 17) Vierling J, Poordad F, Lawitz E, et al : Once daily narlaprevir (SCH 900518) in combination with PEGINTRONTM (peginterferon alfa-2b)/ribavirin for treatment-naïve subjects with genotype-1 CHC : interim results from NEXT-1, a phase 2a study. *Hepatology* **50** (Suppl 4) : 2009
 - 18) Roberts SK, Cooksley G, Dore GJ, et al : Robust antiviral activity of R1626, a novel nucleoside analog : A randomized, placebo-controlled study in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* **48** : 398-406, 2008
 - 19) Pockros PJ, Nelson D, Godofsky E, et al : R1626 plus peginterferon Alfa-2a provides potent suppression of hepatitis C virus RNA and significant antiviral synergy in combination with RBV. *Hepatology* **48** : 385-397, 2008
 - 20) Lalezari J, Gane E, Rodriguez-Torres M, et al : Potent antiviral activity of the HCV nucleoside polymerase inhibitor R7128 with peg-IFN and RBV : Interim results of R7128 500mg bid for 28 days. *J Hepatol* **48** (Suppl 2) : S29, 2008
 - 21) Rodriguez-Torres M, Lawitz E, Cohen D, et al : Treatment-naïve, HCV genotype 1-infected subjects show significantly greater HCV RNA decreases when treated with 28 days of ABT-333 plus peginterferon and ribavirin compared to peginterferon and ribavirin alone. *Hepatology* **50** (Suppl 4) : 2009
 - 22) Gane E, Roberts S, Stedman C, et al : Combination therapy with a nucleoside polymerase (R7128) and protease (R7227/ITMN-191) inhibitor in HCV : safety, pharmacokinetics, and virologic results from INFORM-1. *Hepatology* **50** (Suppl 4) : 395A, 2009
 - 23) McHutchison JG, Bacon BR, Gordon SC, et al : Phase 1B, randomized, double-blind, dose-escalation trial of CPG 10101 in patients with chronic hepatitis C virus. *Hepatology* **46** : 1341-1349, 2007
 - 24) Horsmans Y, Berg T, Desager JP, et al : Isatoribine, an agonist of TLR7, reduces plasma virus concentration in chronic hepatitis C infection. *Hepatology* **42** : 724-731, 2005
 - 25) Kerr B, Bauman L, Webber S, et al : Pharmacokinetics, safety, and tolerability of the isatoribine oral prodrug ANA975 in phase 1 healthy volunteer study. *Hepatology* **42** (Suppl 1) : 533A, 2005
 - 26) Firbas C, Jilma B, Tauber E, et al : Immunogenicity and safety of a novel therapeutic hepatitis C virus (HCV) peptide vaccine : a randomized, placebo controlled trial for dose optimization in 128 healthy subjects. *Vaccine* **24** : 4343-4353, 2006
 - 27) Klade CS, Wedemeyer H, Berg T, et al : Therapeutic vaccination of chronic hepatitis C nonresponder patients with the peptide vaccine IC41. *Gastroenterology* **134** : 1385-1395, 2008
 - 28) Rossignol JF, Ellert A, El-Gohary Y, et al : Improved virologic response in chronic hepatitis C genotype 4 treated with nitazoxanide, peginterferon, and ribavirin. *Gastroenterology* **136** : 856-862, 2009
 - 29) Shiffman M, Ahmed A, Jacobson I, et al : Phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled study of nitazoxanide with Peginterferon alfa-2a and ribavirin in nonresponders (NR) with chronic HCV genotype 1 : week 28 interim analysis. *J Hepatol* **50** (Suppl 1) : S 385, 2009
 - 30) Bacon B, Shiffman M, Lim J, et al : Phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled study of nitazoxanide plus Peginterferon and ribavirin in HCV genotype 1 patients : interim analysis shows increase in EVR. *J Hepatol* **50** (Suppl 1) : S 381, 2009

VIII 松浦 健太郎

名古屋市立大学大学院 消化器・代謝内科学

データマイニング手法を用いた効果的な C 型肝炎治療法に関する研究

分担研究課題：C 型慢性肝疾患患者における、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果、副作用発現、発癌と宿主側因子についての検討

分担研究者：松浦健太郎 名古屋市立大学大学院医学研究科 臨床研究医

研究要旨：ゲノムワイド関連解析により、IL28B 遺伝子多型がインターフェロン治療効果に強く影響し、さらに C 型肝炎ウイルスの自然排除にも関連することが報告された。そこで、IL28B 遺伝子多型が、C 型肝炎患者における発癌にも関連するかどうかについて検討した。肝細胞癌（HCC）症例のマイナーアレルの割合は 28%であり、持続感染群（31%）と違いをみとめず、直接的に IL28B 遺伝子多型が HCC の発生に寄与している可能性はないと考えられた。また、ITPA 遺伝子多型とペグインターフェロン・リバビリン療法中の貧血、治療効果について検討し、重度貧血の発症には、ITPA 遺伝子多型が強く寄与していることが判明した。また、クレアチンクリアランスも貧血に関わる有意な因子であり、これらの因子が薬剤アドヒアランスに影響し、治療効果にも寄与している可能性が示唆された。

共同研究者
名古屋市立大学大学院医学研究科
田中靖人

A. 研究目的

難治性 C 型肝炎の標準的治療は、ペグインターフェロン（PEG-IFN）とリバビリン（RBV）の併用療法となっており、難治例である genotype 1b、高ウイルス量例での著効（SVR）率は 40～50%で、年齢、性別、肝線維化進展度、ウイルス陰性化時期、LDL コレステロール、γGTP、インスリン抵抗性などいくつかの因子により治療効果が予測されることが報告されてきた。われわれはゲノムワイド関連解析を行い、IL28B 遺伝子の領域内にある複数の遺伝子多型（SNP）がこれまでの報告されてきた治療効果規定因子よりはるかに強く治療応答性に関連していることを報告した（Tanaka Y. Nature Genetics 2009）。同時期に海外からも同様の報告がなされ、のちにこの IL28B 遺伝子多型が C 型肝炎ウイルス（HCV）の自然排除にも関連していることが報告された。しかし、この遺伝子多型が、C 型肝炎の病態進展、癌化に関与しているかについては明らかにされていない。また、PEG-IFN/RBV 治療における副作用として溶血性貧血が知られており、RBV のアドヒアランス、治療効果に影響することから、その発現予測は重要な課題である。2010年にFellayらにより PEG-IFN/RBV 療法に伴う貧血に対して抑制的に作用する 20 番染色体上の ITPA 遺伝子の SNP が同定された。今回、**【検討1】 IL28B 遺伝子多型が C 型肝炎患者における発癌と関連しているかについて、【検討2】 ITPA 遺伝子多型と PEG-IFN/RBV 治療中の貧血、治療効果について検討した。**

B. 研究方法

【検討1】 IL28B 遺伝子多型と発癌との関わり
全国多施設共同研究において、HCV 自然排除例（SC 群）107 例、PEG-IFN/RBV 併用療法を受けた genotype 1 型高ウイルス量患者で SVR あるいは一旦はウイル

スが消失したウイルス学的反応群（VR 群）186 例、ウイルス学的無反応の患者（NVR 群）86 例、HCV 関連肝細胞癌患者（HCC 群）111 例の IL28B 遺伝子多型（rs8099917）を直接塩基配列決定法あるいは DigiTag2 法で解析した。さらに、HCC 患者において IL28B 遺伝子多型別に臨床学的特徴について検討した。

【検討2】 ITPA 遺伝子多型と貧血との関わり

対象は名古屋市立大学病院において PEG-IFN/RBV を投与した 115 例（男性 63 例、年齢 55±12 歳）。ITPA 遺伝子多型（rs1127354）は TaqMan 法により解析し、治療中における Hb の減少値、重度貧血（Hb3g/dL 以上の減少、あるいは Hb 値 10g/dL 未満）に至った症例の頻度、要因、治療効果との関連について検討した。

（倫理面への配慮）

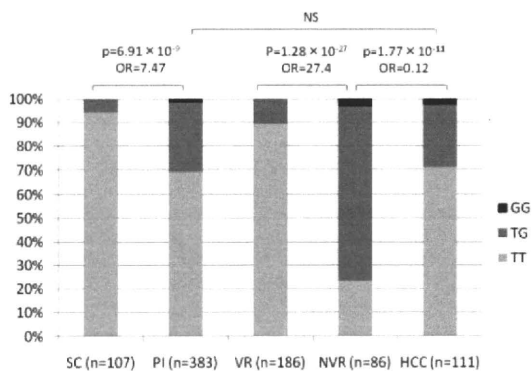
ヒト遺伝子解析を含めた本研究の目的・方法、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した。ヒト由来試料の解析にあたり、新規試料については必ずインフォームドコンセントを取得し、既存試料についてはインフォームドコンセントの取得されたもののみを取り扱い、解析データの公表に際しては個人情報保護を徹底した。本研究は名古屋市立大学大学院医学研究科ヒト遺伝子解析倫理委員会の承認を得ており（平成 19 年 3 月 30 日）、他施設の研究協力者は各所属機関の倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

【検討1】 IL28B 遺伝子多型と発癌との関わり

HCC 患者において rs8099917 のアレルの比率をみると、マイナーアレルの割合が 28%であり、SC、VR、NVR、HCC 群を含めた持続感染群（PI 群）（31%）と違いをみとめなかった（図 1）。すなわち、直接的に IL28B 遺伝子多型が直接的に HCC の発生に寄与している可能性はないと考えられた。HCC 患者における臨床的特徴について、IL28B 遺伝子多型別に検討

したところ、マイナーアリの HCC 患者では、年齢が若く、血小板数が低く、ALT が高い傾向がみられた。この傾向は、過去に IFN 治療歴のある患者において強くみとめられた(表 1)。



SC (spontaneous clearance), PI (persistent infection; VR+NVR+HCC), VR (virological response), NVR (null virological response), HCC (hepatocellular carcinoma)

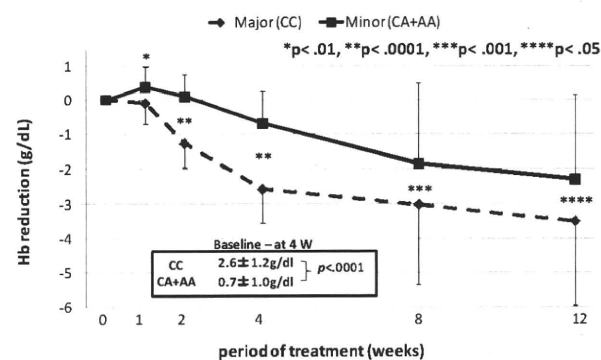
(図 1)HCV 自然排除、治療効果、HCC と IL28B 遺伝子多型

	Total (n=41)	Major Allele (n=26)	Minor Allele (n=15)	p value
Age	68 ± 8	71 ± 6	64 ± 10	<0.05
Sex (male : female)	31 : 10	20 : 6	11 : 4	NS
Outcomes of past IFN treatment				VR vs. NR <0.05
SVR / TR / NVR	4 / 19 / 18	2 / 16 / 8 /	2 / 3 / 10	
Fibrosis stage				NS
F3 / 0-2 / ND	20 / 4 / 17	14 / 3 / 9	6 / 1 / 8	
HCV genotype				NS
1 / 2 / ND	33 / 2 / 6	22 / 1 / 3	11 / 1 / 3	
PLT (×10 ³ /mm ³)	15.4 ± 16.6	10.0 ± 10.8	9.0 ± 4.7	<0.05
ALT (IU/L)	60.2 ± 49.3	64.7 ± 44.2	69.8 ± 87.5	NS
T-BI (mg/dL)	0.9 ± 0.4	0.81 ± 0.33	1.1 ± 0.4	<0.05
PT (%)	87.2 ± 11.1	89.9 ± 10.9	82.5 ± 10.0	NS
Alb (g/dL)	3.8 ± 0.5	3.8 ± 0.4	3.7 ± 0.6	NS
PIVKA-II (mAU/mL)	538 ± 1532	764 ± 1887	144 ± 285	NS
AFP (ng/mL)	1114 ± 5555	1379 ± 3907	355 ± 1618	NS

(表 1)HCC 患者における IL28B 遺伝子多型別の臨床的特徴(インターフェロン治療歴あり)

【検討2】ITPA 遺伝子多型と貧血との関わり

全症例における rs1127354 がマイナーアリル;CA+AA の頻度は 29%であった。全治療期間においてメジャーアリル;CC で Hb 値が低く、Hb の減少値の差は治療開始 4 週で顕著であった(CC; -2.6 ± 1.2g/dl, CA+AA; -0.7 ± 1.0g/dl, p<.0001) (図 2)。



(図 2)ITPA 遺伝子多型と治療中の Hb 減少値の推移

治療開始 12 週までに Hb 値が 10g/dl 未満となった例は CC で 32%(26/82)、CA+AA で 9%(3/33)であり(p<.01)、これに至る治療前要因(年齢、性別、体重、血小板値、Hb 値、クレアチニンクリアランス(Ccr)、rs1127354

遺伝子多型)について多変量解析を行うと ITPA 遺伝子多型と Ccr が有意であった。12 週までの RBV の投与量について ITPA と Ccr で層別化解析を行うと、CC かつ Ccr<90ml/min の例においては有意に減量例を多く認めた。Genotype 1、高ウイルス量、PEG-IFN/RBV48 週投与例で治療効果との関連について検討してみると、CA+AA では SVR 率が高く、再燃例が低い傾向であった。

D. 考察

IL28B 遺伝子多型は、HCC とは直接関連していなかった。しかし、IL28B 遺伝子多型がマイナーアリの HCC 患者の臨床的特徴を検討すると、特にインターフェロン治療歴を有する患者において、年齢が若く、血小板数が低く、ALT が高い傾向がみられた。このことは、IL28B 遺伝子多型がマイナーアリの患者においては、IFN 治療に抵抗性であり、その結果病態が進行し HCC に至っていることを反映している可能性が示唆された。今後コホート研究において、IL28B 遺伝子多型と病態進展、発癌との関連について明らかにしていく必要があると考えられ、現在検討中である。

PEG-IFN/RBV 療法患者における重度貧血の発症には、ITPA 遺伝子多型が強く寄与していることが判明した。また、Ccr も貧血に関わる有意な因子であり、これらの因子が RBV アドヒアランスに影響し、治療効果にも寄与している可能性が示唆された。したがって、これらの因子を用いることにより PEG-IFN/RBV による貧血のリスクを予測することが可能となる。とくに、貧血ハイリスク群においては、RBV の減量を余儀なくされる頻度が高く、治療期間を延長することにより治療効果の向上にもつながるものと考えられる。

E. 結論

IL28B 遺伝子多型は直接的な発癌との関連はないものと考えられたが、IFN 抵抗性アリルを有する HCC 患者においては、病態進展例が多い傾向がみられた。ITPA 遺伝子多型は PEG-IFN/RBV 療法による貧血の予測因子として重要である。

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) Kurbanov F, Tanaka Y, Matsuura K, Sugauchi F, Elkady A, Khan A, Hasegawa I, Ohno T, Tokuda H, Mizokami M. Positive selection of core 70Q variant genotype 1b hepatitis C virus strains induced by pegylated interferon and ribavirin. J Infect Dis. 2010 Jun 1;201(11):1663-71.

2) Akkarathamrongsin S, Sugiyama M, Matsuura K, Kurbanov F, Poovorawan Y, Tanaka Y, Mizokami M. High sensitivity assay using serum sample for IL28B genotyping to predict treatment response in chronic hepatitis C patients. Hepatol Res. 2010 Oct;40(10):956-62.

3) Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Sugiyama M, Matsuura K,

Sugauchi F, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Sakai A, Kaneko S, Ito K, Masaki N, Tokunaga K, Izumi N, Mizokami M. Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. J Hepatol. 2010 Sep 19. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- 1) Kentaro Matsuura, Yasuhito Tanaka, Nao Nishida, Masaya Sugiyama, Masayuki Kurosaki, Namiki Izumi, Akihiro Tamori, Koichi Abe, Fuminaka Sugauchi, Shunsuke Nojiri, Takashi Joh, Hirohito Tsubouchi, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami. Identification of genetic variants of the IL28B associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus in Japanese population. 45th Annual meeting of the European association for the study of the liver (EASL). April 14-18, 2010, Vienna, Austria.
- 2) 松浦健太郎, 田中靖人, 西田奈央, 杉山真也, 黒崎雅之, 泉並木, 田守昭博, 阿部弘一, 菅内文中, 野尻俊輔, 城卓志, 坪内博仁, 徳永勝士, 溝上雅史. IL28B 遺伝子多型は C 型肝炎ウイルス自然排除に関与する 第 46 回 日本肝臓学会総会, 2010/5/28, 山形
- 3) Kentaro Matsuura, Yasuhito Tanaka, Nao Nishida, Fuminaka Sugauchi, Shunsuke Nojiri, Takashi Joh, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami. Identification of *IL28B* polymorphism and viral factors are associated with response to pegylated interferon plus ribavirin therapy. HCV2010, 17th International Meeting on Hepatitis C virus and Related Viruses. Sep 10-14, 2010, Yokohama, Japan.
- 4) 松浦健太郎, 田中靖人, 飯尾悦子, 日下部篤宣, 千田勝博, 新海登, 宮木知克, 野尻俊輔, 城卓志, 溝上雅史. C 型慢性肝疾患に対する PEG-IFN/RBV 治療効果に関わる宿主側・ウイルス側因子の検討 ~IL28B 遺伝子型, Core70/91, NS5A-1SDR 変異の検討~ 第 14 回 日本肝臓学会大会 平成 22 年 10 月 13-14 日 パシフィコ横浜
- 5) Kentaro Matsuura, Yasuhito Tanaka, Nao Nishida, Masaya Sugiyama, Masayuki Kurosaki, Namiki Izumi, Akihiro Tamori, Koichi Abe, Masao Honda, Shuichi Kaneko, Hirohito Tsubouchi, Fuminaka Sugauchi, Shunsuke nojiri, Takashi Joh, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami. Identification of genetic variants of IL28B gene associated with clinical course of hepatitis C virus infection in Japanese population. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) . Oct.29- Nov.2, 2010, Boston, USA.
- 6) 松浦健太郎, 田中靖人, 飯尾悦子, 日下部篤宣, 新海登, 宮木知克, 野尻俊輔, 城卓志. C 型慢性肝炎のインターフェロン治療と IL28B・ITPA 遺伝子多型の解析. 日本消化器病学会東海支部第 113 回例会 名古屋国際会議場 平成 22 年 11 月 27 日
- 7) 松浦健太郎, 田中靖人, 溝上雅史. C 型慢性肝疾患に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療

- 法に伴う貧血関連遺伝子の検討. 第 38 回日本肝臓学会東部会 平成 22 年 12 月 3 日 京王プラザホテル
- 8) Yasuhito Tanaka, Nao Nishida, Masaya Sugiyama, Masayuki Kurosaki, Kentaro Matsuura, Naoya Sakamoto, Masao Honda, Fuminaka Sugauchi, Namiki Izumi, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami. Genome-wide association study identifies *IL28B* associated with response to pegylated interferon-alfa and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. 45th Annual meeting of the European association for the study of the liver (EASL). April 14-18, 2010, Vienna, Austria.
 - 9) M. Kurosaki, Y. Tanaka, N. Nishida, M. Sugiyama, K. Matsuura, Y. Asahina, F. Sugauchi, N. Sakamoto, M. Nakagawa, M. Watanebe, A. Sakai, M. Honda, S. Kaneko, K Ito, N. Masaki, K. Tokunaga, N. Izumi, M. Mizokami. Genetic polymorphism in IL28B predicts null virological response to pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. 45th Annual meeting of the European association for the study of the liver (EASL). April 14-18, 2010, Vienna, Austria.
 - 10) Masayuki Kurosaki, Yasuhito Tanaka, Nao Nishida, Naoya Sakamoto, Nobuyuki Enomoto, Masao Honda, Masaya Sugiyama, Kentaro Matsuura, Fuminaka Sugauchi, Yasuhiro Asahina, Mina Nakagawa, Kiyoaki Ito, Katsushi Tokunaga, Namiki Izumi, Masashi Mizokami. Pretreatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. HCV2010, 17th International Meeting on Hepatitis C virus and Related Viruses. Sep 10-14, 2010, Yokohama, Japan.
 - 11) Yasuhito Tanaka, Kentaro Matsuura, Takashi Shimada, Masakazu Kakuni, Chise Tatenno, Michinori Kohara, Masashi Mizokami. Anti-viral efficacy of interferon-alpha in chimeric mice carrying human hepatocytes (PXB-mice®) with variants of IL28B gene. HCV2010, 17th International Meeting on Hepatitis C virus and Related Viruses. Sep 10-14, 2010, Yokohama, Japan.
 - 12) 可児里美, 立松加奈子, 長沼初江, 高崎正樹, 平松久美子, 高木和美, 脇本幸夫, 松浦健太郎, 田中靖人. LightCycler 480 System II を用いた C 型肝炎治療の効果の規定する IL28B 遺伝子多型の検出. 日本臨床検査自動化学会第 42 回大会, 2010 年 10 月 7-9 日, 神戸国際会議場
 - 13) 菅内文中, 田中靖人, 西田奈央, 松浦健太郎, 黒崎雅之, 坂本直哉, 日野啓介, 西口修平, 泉並木, 徳永勝士, 城卓志, 溝上雅史. C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/RBV 併用療法の治療効果と IL28B 遺伝子多型との関連 ~年齢・性別によるサブ解析~ 第 14 回 日本肝臓学会大会 平成 22 年 10 月 13-14 日 パシフィコ横浜
 - 14) Yasuhito Tanaka, Naoya Sakamoto, Nobuyuki Enomoto, Shuhei Nishiguchi, Hiroshi Yatsuhashi, Masayuki Kurosaki, Kentaro Matsuura, Fuat

Kurbanov, Kiyooki Ito, Namiki Izumi, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami. ITPA gene variants protect against anemia induced by pegylated interferon-alfa and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) . Oct.29- Nov.2, 2010, Boston, USA.

15) Masayuki Kurosaki, Yasuhito Tanaka, Nao Nishida, Naoya Sakamoto, Nobuyuki Enomoto, Masao Honda, Kentaro Matsuura, Yasuhiro Asahina,

Katsushi Tokunaga, Namiki Izumi, Masashi Mizokami. Prediction of response to pegylated-interferon for chronic hepatitis C: mpact of SNPS near the IL28B gene and mutations in the ISDR of HCV revealed by data mining analysis. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) . Oct.29- Nov.2, 2010, Boston, USA.


H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

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

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
松浦健太郎、田中靖人、溝上雅史	C型肝炎の治療反応性と宿主因子	カレントセラピー	28巻8号	50-55	2010
松浦健太郎、田中靖人、溝上雅史	宿主応答遺伝子多型と治療反応性	治療学	44巻9号	55-59	2010
松浦健太郎、田中靖人	肝細胞癌高リスク群の囲い込みを目的とした新規糖鎖マーカーの探索	消化器内科	51巻5号	518-524	2010
松浦健太郎、田中靖人	IL28B 遺伝子多型と C 型肝炎	総合臨床	60巻1号	9-13	2011
松浦健太郎、田中靖人	IL28B 遺伝子多型は C 型肝炎ウイルスの自然排除に関与する	消化器内科	51巻6号	610-614	2010

 ライフサイエンス出版

TEL(03)3664-7900(代表)

【禁 無断転載・複製】

C 型肝炎ウイルス感染の病態と治療法 2

宿主応答遺伝子多型と治療反応性

松浦健太郎 田中靖人 溝上雅史

まつうら けんたろう：名古屋市立大学大学院医学研究科 消化器・代謝内科学，たなか やすひと：名古屋市立大学大学院医学研究科 病態医科学（ウイルス学），みぞかみ まさし：国立国際医療研究センター国府台病院 肝炎・免疫研究センター

● はじめに

C 型慢性肝炎の治療として，ペグインターフェロン＋リバビリン（PEG-IFN/RBV）併用療法により，難治例である genotype 1 型，高ウイルス量の症例では約 50% の著効が得られるようになったが，約 20% はこの併用療法がまったく効かないのが現状である。また，治療期間は長期にわたり，特に高齢者ではさまざまな副作用により減量，中断を余儀なくされる治療法である。したがって，治療前の効果予測がきわめて重要と考えられる。従来，治療効果予測因子として，さまざまなウイルス側因子，宿主側因子が知られているが，本稿では，2009 年にわれわれが報告した IL28B 遺伝子多型を中心に述べる。

● インターフェロン（IFN）治療と治療反応性

PEG-IFN/RBV 併用療法における治療効果予測因子として，genotype，ウイルス量，コア領域や NS5A 領域のアミノ酸変異などのウイルス側因子に加えて，PEG-IFN/RBV のアドヒアランス，年齢，性差，肝線維化進展度，インスリン抵抗性などの宿主側因子の重要性が多数報告されている（図 1）が，それらの因子を総動員して解析しても，治療前の効果予測は 50% 程度にとどまる。一方，ヒトゲノム計画の成功により，ヒト遺伝子は個人差として約 300 個に 1

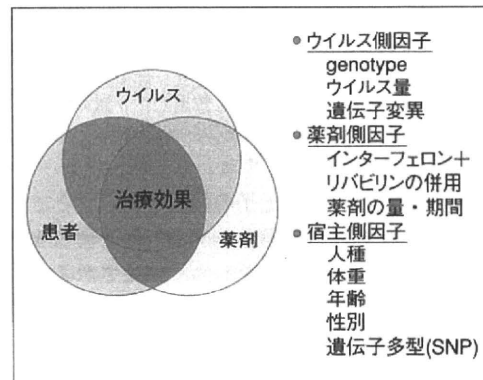


図 1 インターフェロン治療効果とウイルス，薬剤，宿主側因子

個，全ゲノムで約 1000 万か所の一塩基多型（SNP：single nucleotide polymorphism）が存在し，この SNP が個々の疾患の発症，薬剤反応性や副作用に大きく関与することが続々と明らかとなってきている。近年，ゲノムワイドに均一に配置された約 90 万か所（日本人では 62 万か所）の SNPs を一括タイピングすることが可能となり，この手法を用いてわれわれは，C 型慢性肝炎の IFN 治療反応性にきわめて強く関連する SNP を同定した¹⁾。

● 疾患関連遺伝子の同定

一般に，ある疾患の発症，薬剤反応性，副作用

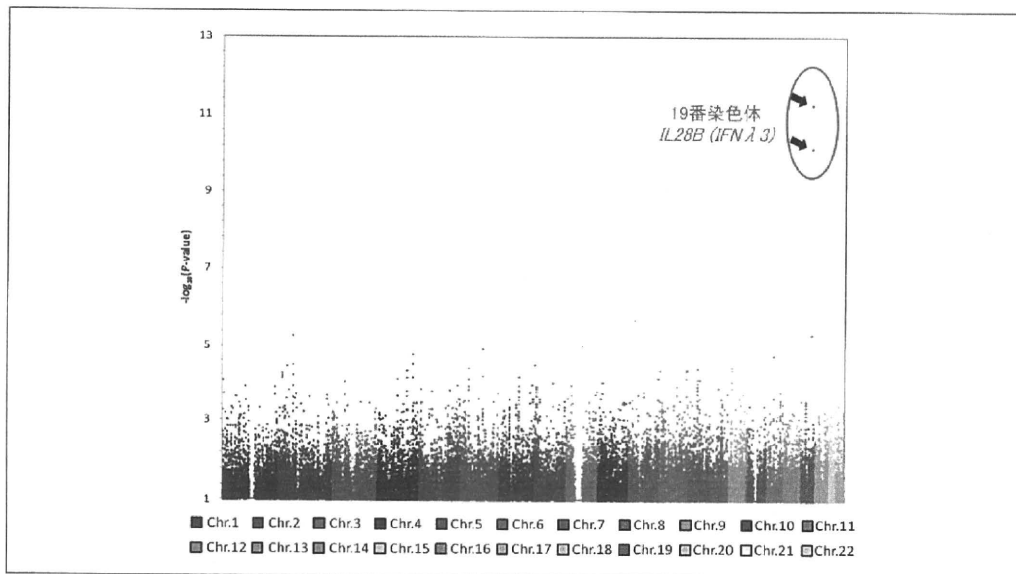


図 2 ゲノムワイド関連解析

ベグインターフェロン+リバビリン併用療法が有効(再燃例も含む)例と無効例で各染色体上のそれぞれの SNP のアリル頻度について比較し算出した p 値のプロット。19 番染色体の IL28B 遺伝子周辺に治療無効に関連する有意な SNPs を発見した。

用などに関与する遺伝子の同定をめざすとき、従来はある候補遺伝子からアプローチする手法が用いられてきた。すなわち、推定される病態機序などから選ばれた遺伝子の変異や多型について、患者群、健常群におけるケース・コントロールスタディを行い、疾患関連遺伝子を同定する。この方法では、ある程度の成功率で疾患関連遺伝子を同定できるが、全ゲノムで解析した場合、真に強く関連しているとは限らない。

一方で近年、ゲノムワイド関連分析法 (GWAS: genome-wide association study) は、ヒトのさまざまな多因子疾患に関わる遺伝子を網羅的に探索する戦略として、大きな注目を浴びている。この背景としては、大規模な SNP 解析技術の進歩が大きな役割を果たしており、ゲノムワイドに均一に配置された約 90 万か所 (日本人では 62 万か所) の SNPs を一括タイピングすることが可能となった。日本人集団の場合、これにより全ゲノムの約 87% が網羅可能であるものと考えられている。この手法を用いることにより、病態進展に多因子が関与すると想定されてきた II 型糖尿病、脳血管障害、B 型慢

性肝炎などさまざまな疾患において疾患関連遺伝子の同定が矢継ぎ早に報告されている^{2~5)}。

● SNP タイピング方法

SNP タイピング法としてよく知られている方法は、個々の多型部位を含むゲノム断片を特異的に PCR で増幅した後にアリルを識別する方法である。この方法では、1000 種程度の SNP を対象としたタイピングであれば実現可能であるが、数千以上となると困難となる。一方、近年になって多型部位特異的な PCR を行わずに大規模な SNP タイピングを行う方法が実用化された。そのひとつである Affymetrix 社によって確立された方法では、まず制限酵素反応でゲノム DNA を断片化し、それらの断片の両端にアダプター配列を付加して増幅した後、マイクロアレイを用いたアリル特異的なハイブリダイゼーションを行う。現在市販されている Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0 では一挙に約 90 万 SNP を解析することが可能である。

また、西田らは GWAS によって検出された候

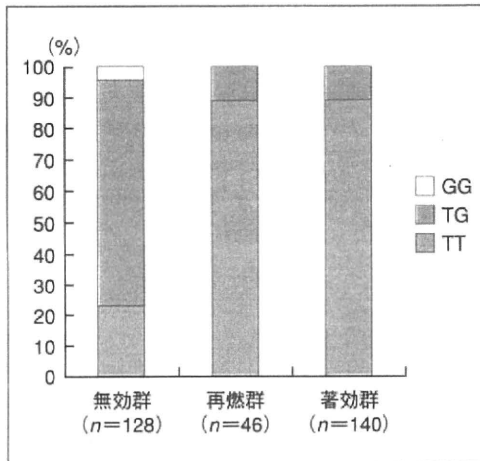


図3 IL28B 遺伝子多型とペグインターフェロン+リバビリン治療効果 (rs8099917)
IL28B 遺伝子多型の代表的な SNP である rs8099917 について治療効果別にみると、無効群ではマイナーアレル (TG+GG) の割合が高い。

補領域において、第一義的な疾患感受性遺伝子多型を特定するため (絞り込み) に適する技術として、DigiTag2 法を確立した⁶⁾。DigiTag2 法は 96 か所 (あるいは 32 か所) の SNP を同時に解析することができ、同一のマイクロアレイを用いることができる低コストで簡便な SNP 解析技術である。これを用いて、GWAS で得られた候補 SNP から真に疾患に関連する SNP の同定を行う。

● IL28B 遺伝子多型と治療効果

われわれは、PEG-IFN/RBV 併用療法の有効性に関連する SNP を同定するために、GWAS を実施した。すなわち、PEG-IFN/RBV 併用療法が有効 (再燃例も含む) であった日本人患者と無効であった患者 142 人に関して、ヒト遺伝子のなかで個人差があるとされる約 90 万か所を Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0 を用い分析した結果、19 番染色体の IL28B 遺伝子周辺に治療無効に関連する有意な SNPs を発見した (図 2)。別のコホート (検証群 172 人) を用いて、IL28B 遺伝子および遺伝子周辺を詳細に検討した結果、治療反応性に強く関与する SNPs は複数存在し、しかもすべてが連鎖不平

表 1 ペグインターフェロン+リバビリン治療無効例に寄与する因子の多変量解析

因子	オッズ比	95%信頼区間	p 値
rs8099917	37.68	16.71~83.85	<0.0001
年齢	1.02	0.98~1.07	0.292
性別	3.32	1.49~7.39	0.003
治療歴	1.12	0.55~2.33	0.750
血小板	0.93	0.87~1.01	0.080
ALT	1.00	0.99~1.00	0.753
線維化 stage	1.10	0.73~1.66	0.658
HCV RNA 量	1.01	0.99~1.02	0.139

衡であった。この代表的な SNP である rs8099917 (マイナーアレル G) の治療効果別のアレル頻度を図 3 に示した。すなわち、治療反応群 (著効群+再燃群) では、メジャーアレル (TT) の割合が高く、無効群ではマイナーアレル (TG+GG) の割合が高く、マイナーアレルの患者では治療抵抗性であることが示された。さらに、従来からインターフェロン治療効果に寄与する因子であることが報告されている年齢、性別、血小板数、肝線維化、HCV RNA 量を含めて多変量解析を行ったところ、これらの因子をはるかにしのぐ危険率約 30 倍の確率 ($p=2.68 \times 10^{-32}$) で、rs8099917 の SNP が PEG-IFN/RBV 併用療法の無効に寄与していることが明らかとなった (表 1)。

IL28B は 19 番染色体長腕に位置し約 1.5 kb と非常に小さく、IFN- $\lambda 3$ をコードするが、これは通常の C 型肝炎の治療に使用されている IFN- α や IFN- β とは異なる IFN- λ の 1 種である。IFN- λ には、1, 2, 3 が存在しそれぞれ IL29, IL28A, IL28B がコードする。IFN- λ は、レセプターは異なるが IFN- α/β と同じシグナル伝達系である JAK/STAT 経路を活性化し、その下流に存在する IFN 誘導遺伝子群 (ISGs: interferon-stimulated genes) を誘導して抗ウイルス効果をもたらすことが報告されている (図 4)。しかしながら、実際の臨床に使用されている IFN- α や IFN- β に比べて IFN- λ の ISGs の誘導は弱く、IFN- λ の機能については明らかにされていない。これらが解明されれば、IFN- λ を

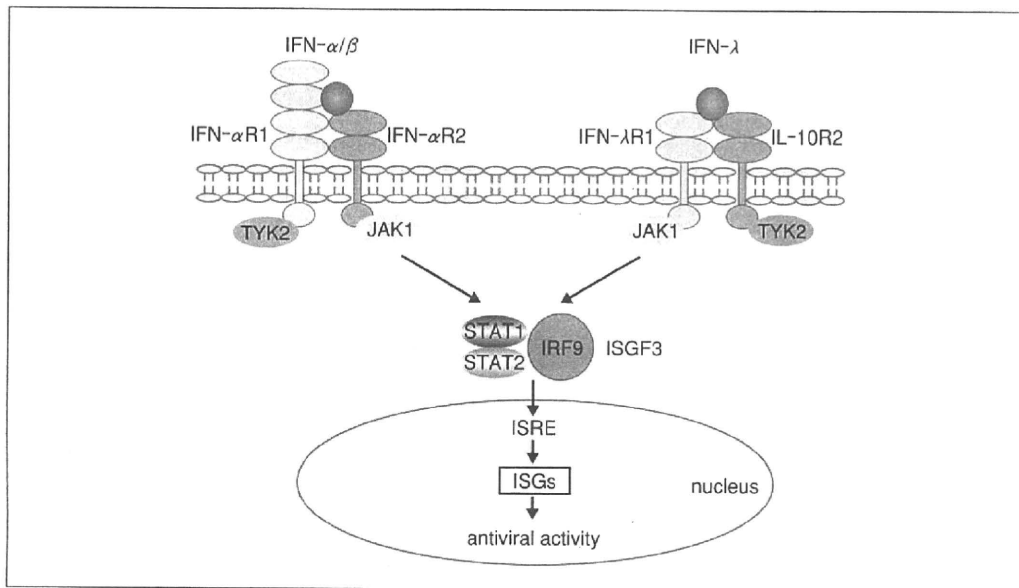


図 4 インターフェロン (IFN) シグナル伝達

IFN-λはIFN-α/βとレセプターは異なるが、同じJAK/STAT経路を活性化し、その下流に存在するIFN誘導遺伝子群 (ISGs) を誘導して抗ウイルス効果をもたらす。

補填あるいは誘導する新しい治療法の確立につながるものと考えられ期待されている。実際にIFN-λ1はすでに臨床試験 (phase I b) がヨーロッパで開始され、副作用が少なくその有効性が期待されている⁷⁾。

● IL28B 遺伝子多型に関する世界の状況

PEG-IFN/RBV 併用療法の有効性に関連するGWASについては、同時期に欧米でも報告され^{8,9)}、いずれの報告もIL28B遺伝子多型が関与するという結果であった。Geらの報告では、白人 (871人)、黒人 (191人)、ヒスパニック (75人) で検討した結果、白人においてIL28B遺伝子から3 kb上流のSNP (rs12979860) が著効に強く関連することがわかった。興味深いことに、rs12979860のメジャーアリル (C-アリル) の頻度は、アジアで最も多く (80~90%)、続いて白人 (European-Americans) およびヒスパニック (Hispanics) が70~80%、そして黒人 (African-Americans) は30~50%と低値であり、この頻度が著効率と正に相関していることが述べられている⁸⁾。Suppiahらは、オーストラリア

(北ヨーロッパ起源) およびヨーロッパ諸国 (イギリス、ドイツ、イタリア、オーストリア) で検討し、われわれとまったく同じSNPであるrs8099917がPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果に有意に関連していることを報告している⁹⁾。

さらに、rs12979860はHCVの自然排除にも関連していることが報告された¹⁰⁾。すなわち、HCVを自然に排除した患者388例と持続感染者620例のコホート研究において、インターフェロンの感受性のrs12979860の遺伝子型(CC)では、HCVの自然排除を促進していることが報告され (図5)、IL28B遺伝子がウイルス排除に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

● おわりに

IL28B遺伝子多型とPEG-IFN/RBV治療効果について、独立した3つのグループから、しかも人種を超えた遺伝要因であることが一気に証明されたことで、今後、IL28B遺伝子多型に基づいたテーラーメイド治療が展開されること

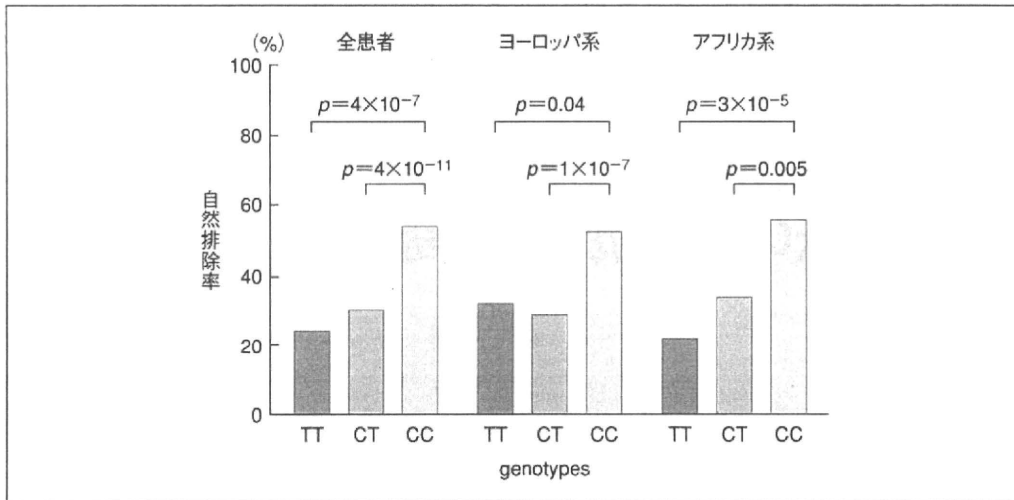


図5 IL28B 遺伝子多型と HCV 自然排除率 (rs12979860) (文献 10 より引用)
rs12979860 のアリルが CC では CT, TT と比べ HCV の自然排除率が高い。

が予測される。すなわち、治療前にこの SNP を調べることにより根治の見込める患者群を高い確率 (的中率 80~90%) で選別できるし、効かない人たちは無用な苦痛や出費から免れることができる (的中率 80~90%)。また、現在は不明である IFN-λ の機能解析を進めることにより、ウイルス排除のメカニズムの解明、IL28B を補填あるいは誘導する新規治療法確立の可能性が考えられ、期待される。

文献

- 1) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009 ; 41 : 1105-9.
- 2) Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet* 2008 ; 40 : 955-62.
- 3) Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007 ; 316 :

1331-6.

- 4) Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007 ; 447 : 1087-93.
- 5) Shi J, Levinson DF, Duan J, et al. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 2009 ; 460 : 753-7.
- 6) Nishida N, Tanabe T, Takasu M, et al. Further development of multiplex single nucleotide polymorphism typing method, the DigiTag2 assay. *Anal Biochem* 2007 ; 364 : 78-85.
- 7) Muir AJ, Shiffman ML, Zaman A, et al. Phase 1b study of pegylated interferon lambda 1 with or without ribavirin in patients with chronic genotype 1 hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2010 ; 52 : 822-32.
- 8) Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009 ; 461 : 399-401.
- 9) Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009 ; 41 : 1100-4.
- 10) Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009 ; 461 : 798-801.

綜合臨牀 第60巻第1号

(平成23年1月1日発行 別刷)

IL28B 遺伝子多型と C 型肝炎

Relation of IL28B gene polymorphism to chronic hepatitis C

松浦健太郎 田中 靖人
MATSURA Kentaro TANAKA Yasuto

永 井 書 店

IL28B 遺伝子多型と C 型肝炎

Relation of IL28B gene polymorphism to chronic hepatitis C

特集

松浦健太郎 田中 靖人*
MATSURA Kentaro TANAKA Yasuto

肝炎診療の新たな展開

Key words C型肝炎 IL28B 遺伝子多型 インターフェロン 治療効果

本邦の C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus ; HCV) 感染者は、約 200 万人存在するとされる。HCV はいったん感染すると 7~8 割が慢性肝炎に移行し、治療によりウイルスの消失が得られなければ、肝硬変、肝癌へと進展する症例も多い。ペグインターフェロン+リバビリン (PEG-IFN/RBV) 併用療法により治療効果は進歩したが、genotype 1 型、高ウイルス量の症例での効果は十分とは言えない。本稿では、C 型肝炎の治療反応性と宿主因子について、2009 年にわれわれが報告した IL28B 遺伝子多型を中心に述べる。

インターフェロン治療と治療反応性

C 型慢性肝炎の治療として PEG-IFN/RBV 併用療法で根治させることができるようになったが、日本人に最も多い genotype 1 型、高ウイルス量の症例では 50% 程度の根治しか得られず、約 20% はこの併用療法がまったく効かないのが現状である。しかも、治療期間が長期にわたるため、高齢者ではさまざまな副作用により減量、中断を余儀なくされるとの問題もある。したがって、治療前の効果予測が重要と考えられる。その治療効果予測因子として、genotype、ウイルス量、コア領域や NS5A 領域のアミノ酸変異などのウイルス側因子に加えて、PEG-IFN/RBV のアドヒアランス (薬剤因子)、年齢、性差、肝線維化進展

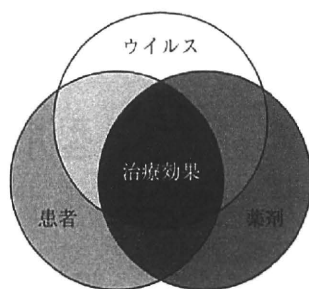
度、インスリン抵抗性などの宿主側因子の重要性が多数報告されている (図 1)。

一方、ヒトゲノム計画の成功により、ヒト遺伝子は個人差として約 300 個に 1 個、全ゲノムで約 1,000 万カ所の一塩基多型 (SNP ; single nucleotide polymorphism) が存在し、この SNP が個々の疾患の発症、薬剤反応性や副作用に大きく関与することが続々と明らかとなってきている。近年、ゲノムワイドに均一に配置された約 90 万カ所の SNP を一括タイピングすることが可能となり、この手法を用いてわれわれは昨年、C 型慢性肝炎の IFN 治療反応性にきわめて強く関連する SNP を同定した¹⁾。

疾患関連遺伝子の同定

一般に、ある疾患の発症、薬剤反応性、副作用などに関与する遺伝子の同定を目指す時、ある候

名古屋市立大学大学院医学研究科消化器・代謝内科学 *同 病態医学 (ウイルス学) 准教授



- ウイルス側因子
 - genotype
 - ウイルス量
 - 遺伝子変異
- 薬剤側因子
 - インターフェロン+
 - リバビリンの併用
 - 薬剤の量・期間
- 患者側因子
 - 人種
 - 体重
 - 年齢
 - 性別
 - 遺伝子多型 (SNP)

図1 インターフェロン治療効果とウイルス、薬剤、宿主側因子

補遺伝子からアプローチする手法が用いられてきた。すなわち、推定される病態機序などから選ばれた遺伝子の変異や多型について患者群、健常群における case-control study を行い、疾患関連遺伝子を同定する。この方法では、ある程度の成功率で疾患関連遺伝子を同定できるが、全ゲノムで解析した場合、真に強く関連しているとは限らない。

一方で近年、ゲノムワイド関連分析法(GWAS ; genome-wide association study)は、ヒトのさまざまな多因子疾患に関わる遺伝子を網羅的に探索する戦略として大きな注目を浴びている。この背景としては、大規模な SNP 解析技術の進歩が大きな役割を果たしており、ゲノムワイドに均一に配置された約90万カ所の SNP を一括タイピングすることが可能となったことがあげられる。日本人集団の場合、これにより全ゲノムの約87%が網羅可能であるものと考えられている。これにより、候補遺伝子から疾患関連遺伝子を同定する従来の手法では不可能であった全ゲノムを対象に網羅的に解析することができるようになり、真に関連する遺伝子を同定することが可能となった。

SNP タイピング法

SNP タイピング法としてよく知られている方法は、個々の多型部位を含むゲノム断片を特異的に PCR で増幅した後にアレルを識別する方法で

ある。この方法は、1000種程度の SNP を対象としたタイピングであれば実現可能であるが、数千以上となると困難となる。一方、近年になって多型部位特異的な PCR を行わずに大規模な SNP タイピングを行う方法が実用化された。その一つとして Affymetrix 社によって確立された方法では、まず制限酵素反応でゲノム DNA を断片化し、それらの断片の両端にアダプター配列を付加して増幅した後、マイクロアレイを用いたアレル特異的なハイブリダイゼーションを行う。現在市販されている Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0では一挙に約90万カ所の SNP を解析することが可能である。

また、Nishida らは GWAS によって検出された候補領域において第一義的な疾患感受性遺伝子多型を特定すること(絞り込み)に適した技術として、DigiTag2法を確立した²⁾。DigiTag2法は96カ所(あるいは32カ所)の SNP を同時に解析することができ、同一のマイクロアレイを用いることができる低コストで簡便な SNP 解析技術である。これを用いて、GWAS で得られた候補 SNP から真に疾患に関連する SNP の同定を行う。

IL28B 遺伝子多型と治療効果

われわれは、PEG-IFN/RBV 併用療法の有効性に関連する SNP を同定するために、GWAS を実施した。すなわち、PEG-IFN/RBV 併用療法

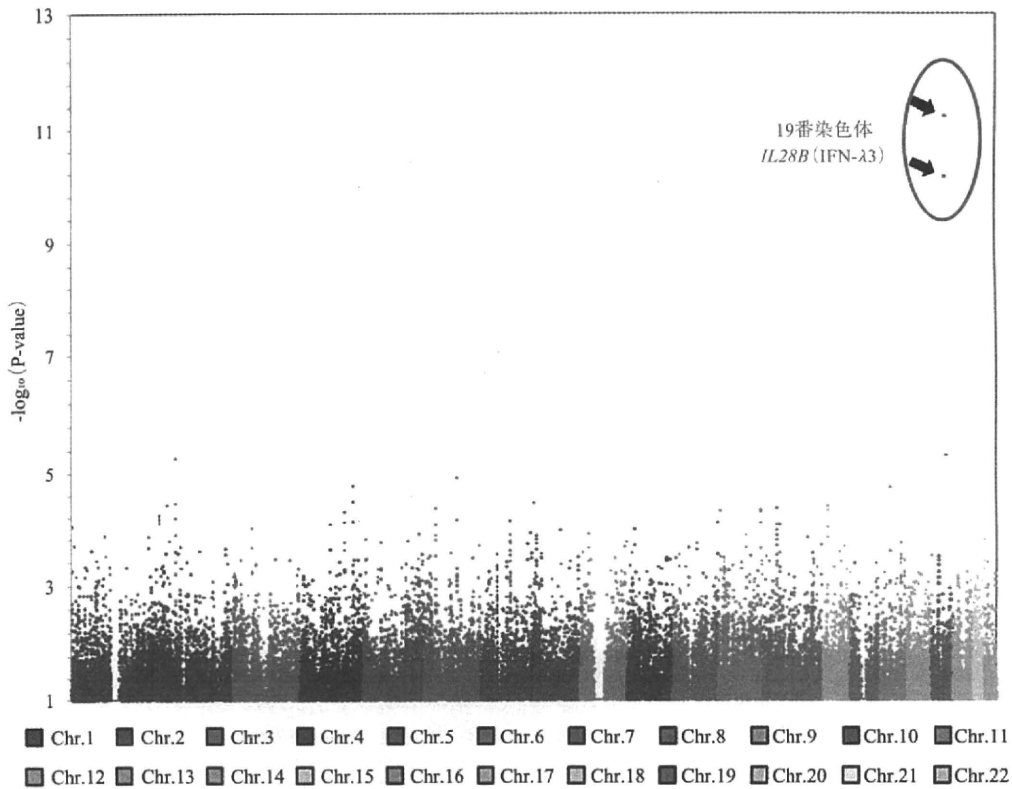


図2 ゲノムワイド関連解析

PEG-IFN/RBV 併用療法が有効(再燃例も含む)例と無効例で各染色体上のそれぞれの SNP のアリル頻度について比較し算出した P 値のプロット。19番染色体の *IL28B* 遺伝子周辺に治療無効に関連する有意な SNPs を発見した。

が有効(再燃例も含む)であった日本人患者と無効であった患者142人に関して、ヒト遺伝子のなかで個人差があるとされる約90万カ所を Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用い分析した結果、19番染色体の *IL28B* 遺伝子周辺に治療無効に関連する有意な SNP を発見した(図2)。別のコホート(検証群172人)を用いて、*IL28B* 遺伝子および遺伝子周辺を詳細に検討した結果、治療反応性に強く関与する SNP は複数存在し、しかもすべてが連鎖不平衡であった。

この代表的な SNP である rs8099917(マイナーアリル G)の治療効果別のアリル頻度について、図3に示した。すなわち、治療反応群(著効群+再燃群)では、メジャーアリル(TT)、無効群ではマイナーアリル(TG+GG)の割合が高く、マイナーアリルの患者では治療抵抗性であることが示

された。さらに、従来から IFN 治療効果に寄与する因子であることが報告されている年齢、性別、血小板数、肝線維化、HCV-RNA 量を含めて多変量解析を行ったところ、これらの因子をはるかに凌ぐ危険率約30倍の確率($P=2.68 \times 10^{-32}$)で、rs8099917の SNP が PEG-IFN/RBV 併用療法の無効に寄与していることが明らかとなった(表1)。

IL28B は19番染色体長腕に位置し約1.5k と非常に小さく、IFN-λ3をコードするが、これは通常のC型肝炎の治療に使用されている IFN-αやβとは異なる IFN-λの1種である。IFN-λには、1, 2, 3が存在し、それぞれ *IL29*, *IL28A*, *IL28B* がコードする。IFN-λは、レセプターは異なるが IFN-α/βと同じシグナル伝達系である JAK/STAT 経路を活性化し、その下流に存在す

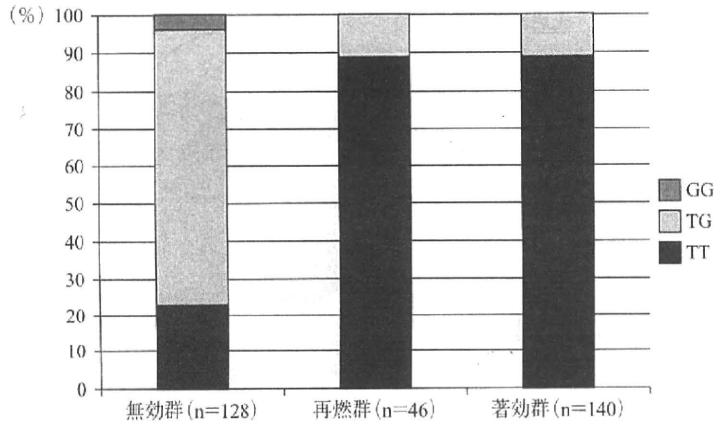


図3 IL28B 遺伝子多型と PEG-IFN/RBV 治療効果(rs8099917)

IL28B 遺伝子多型の代表的な SNP である rs8099917 について治療効果別にみると、無効群ではマイナーアレル (TG+GG) の割合が高い。

表1 PEG-IFN/RBV 治療無効例に寄与する因子の多変量解析

Factors	Odds Ratio	95% Conf. Interval	p-values
rs8099917	37.68	16.71-83.85	<0.0001
年齢	1.02	0.98-1.07	0.292
性別	3.32	1.49-7.39	0.003
治療歴	1.12	0.55-2.33	0.750
血小板	0.93	0.87-1.01	0.080
ALT	1.00	0.99-1.00	0.753
線維化 stage	1.10	0.73-1.66	0.658
HCV-RNA 量	1.01	0.99-1.02	0.139

る IFN 誘導遺伝子群 (ISGs) を誘導して抗ウイルス効果をもたらすことが報告されている。しかしながら、実際の臨床に使用されている IFN- α や β に比べて IFN- λ の ISGs の誘導は弱く、IFN- λ の機能については明らかにされていない。これらが解明されれば、IFN- λ を補填あるいは誘導する新しい治療法の確立につながるものと考えられ期待されている。実際に IFN- λ 1 はすでに臨床試験 (phase I b) がヨーロッパで開始され、副作用が少ないことが明らかにされつつあり、その有効性が期待されている。

IL28B 遺伝子多型に関する世界的状況

PEG-IFN/RBV 併用療法の有効性に関連する GWAS については、同時期に欧米でも報告さ

れ³⁴⁾、いずれの報告も IL28B 遺伝子多型が関与するという結果であった。Ge らの報告では、白人 (871人)、黒人 (191人)、ヒスパニック (75人) で検討した結果、白人において IL28B 遺伝子から 3 kb 上流の SNP (rs12979860) が著効に強く関連することがわかった。興味深いことに、rs12979860 のメジャーアレル (C-アレル) の頻度は、アジアで最も多く (80~90%)、続いて白人 (European-Americans) およびヒスパニック (Hispanics) が 70~80%、そして黒人 (African-Americans) は 30~50% と低値であり、この頻度が著効率と正に相関していることが述べられている³⁾。Suppiah らは、オーストラリア (北ヨーロッパ起源) およびヨーロッパ諸国 (イギリス、ドイツ、イタリア、オーストリア) で検討し、われわれと同じ SNP である rs8099917 が PEG-IFN/RBV 併用療法の治療効果に有意に関連していることを報告している⁴⁾。

さらに、rs12979860はHCVの自然排除にも関連していることが報告された⁵⁾。すなわち、HCVを自然に排除した患者と持続感染者のコホート研究において、rs12979860の遺伝子型(CC)では、HCVの自然排除を促進していることが報告され、IL28Bがウイルス排除に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。



おわりに

IL28B 遺伝子多型と PEG-IFN/RBV 治療効果について、独立した3つのグループから、しかも

人種を越えた遺伝要因であることが一気に証明されたことで、今後、IL28B 遺伝子多型に基づいたテーラーメイド治療が展開されることが予測される。すなわち、治療前にこのSNPを調べることにより、根治の見込める患者群を高い確率(的中率80~90%)で選別できるし、効かない人たちは無用な苦痛や出費から免れることができる(的中率80~90%)。また、現在は不明であるIFN-λの機能解析を進めることにより、ウイルス排除のメカニズムの解明、IL28Bを補填あるいは誘導する新規治療法確立の可能性が考えられ期待される。

文 献

- 1) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al : Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. Nat Genet 41 : 1105-1109, 2009.
- 2) Nishida N, Tanabe T, Takasu M, et al : Further development of multiplex single nucleotide polymorphism typing method, the DigiTag2 assay. Anal Biochem 364 : 78-85, 2007.
- 3) Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al : Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. Nature 461 : 399-401, 2009.
- 4) Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, et al : IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. Nat Genet 41 : 1100-1104, 2009.
- 5) Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al : Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. Nature 461 : 798-801, 2009.