

表3 ラミブジン投与中B型慢性肝炎患者に対する核酸アナログ製剤治療ガイドライン

HBV DNA 量	ラミブジン投与期間	
	3年未満	3年以上
<2.6 log copies/mL 持続	エンテカビル 0.5 mg/日に切り替え可	
≥2.6 log copies/mL	BTH* なし	エンテカビル**0.5 mg/日に切り替え可
	BTH* あり	アデフォビル 10 mg/日併用

* BTH : breakthrough hepatitis

(文献1より引用)

** ラミブジン変異のないことを確認後投与

れている。アデフォビルはエンテカビルと比較して、HBV DNA の減少率で上回り、またラミブジンとの併用で両剤への耐性ウイルスの出現率が低率であることが報告されている。一方エンテカビルの場合は、ラミブジン耐性ウイルスが存在する症例ではエンテカビル耐性ウイルスの出現の可能性があるためその使用には慎重でなくてはならない。

○ 処方例 ○

①ヘプセラ(10 mg) 1錠/日(分1), 経口投与。ラミブジン耐性ウイルス出現時にラミブジン 100 mg と併用投与する

経口投与。ラミブジン耐性ウイルス出現例では 1.0 mg 投与が可能である。この場合ラミブジンから切り替える必要がある。

エンテカビルの登場によって核酸アナログ製剤の使用法も変化してきている。もともとラミブジンを使用していた症例での核酸アナログ製剤使用の方法についてもガイドラインは提示している(表3)。HBV DNA 量が 2.6 log copies/mL 以上で breakthrough hepatitis (BTH) を認めた症例はラミブジンとアデフォビル併用、BTH を認めていない3年未満の症例ではできればラミブジン耐性ウイルスの有無を確認し耐性ウイルスが認められなければエンテカビルに切り替え可能、3年以上経過している症例では耐性ウイルスが認められる可能性が高いことからラミブジンを継続しBTH 出現時にはアデフォビルを併用することとしている。HBV DNA 量が 2.6 log copies/mL 未満の症例のうち、投与期間が3年未満ではラミブジン耐性ウイルスの存在する可能性が低いためエンテカビルに切り替え可能であるが、3年以上投与例では耐性ウイルスが存在している可能性が高くなるためラミブジン継続としている。

③ その他

ガイドラインの補足として、治療の対象や治療に対する基本的な考え方が提示されている(表4)。B型慢性肝炎の経過は個々の症例で違いがあり、年齢、ウイルスマーカー、肝組織所見、家族歴などを考慮し総合的に決定する必要がある。

エンテカビルは2006年9月に保険適用となった新たな核酸アナログ製剤である。エンテカビルは、ラミブジンと比較してHBV DNA の減少率で有意に上回っていること、また核酸アナログ未使用症例(naïve 症例)においては耐性ウイルスの出現率が低率であることが報告されている。このことからガイドラインでは naïve 症例における第一選択薬となっている。一方前述したようにラミブジン耐性ウイルスが出現した症例では、エンテカビル投与によってエンテカビル耐性ウイルスの出現の可能性があり、エンテカビルの使用は慎重でなくてはならない。

○ 処方例 ○

①バラクルード(0.5 mg) 1錠/日(分1)
(内服前後で2時間は食事摂取を避ける必要がある。このため眠前に投与することが多い)、経口投与

②バラクルード(1.0 mg) 1錠/日(分1),

表 4 B 型慢性肝炎の治療(ガイドラインの補足)

1. 抗ウイルス療法は、ALT 値が ALT \geq 31 IU/L の場合に考慮する。しかし高齢者や HBe 抗原陰性例、抗ウイルス薬の投与が難しい例では肝庇護療法(SNMC, UDCA など)で経過をみることも可能である。
2. 若年(35 歳未満)症例では、インターフェロン(IFN)長期投与(3 ヶ月以上)あるいはエンテカビル投与が原則。なお、ステロイド、IFN、核酸アナログの短期併用療法も考慮すること。ただし組織像の軽い症例では自然経過での HBe 抗原の seroconversion を期待し follow-up することもある。(IFN 在宅自己注射可能な症例は QOL を考慮し在宅自己注射を推奨する)
3. 中高齢(35 歳以上)症例では、核酸アナログ未使用例は、エンテカビルが第一選択になる。
4. 母子感染例は IFN 抵抗性のことが多く、エンテカビル単独あるいはエンテカビル+IFN 連続療法も適応になる。
5. ラミブジン耐性ウイルスによる肝炎に対しては、アデフォビルが第一選択になる。組織学的進行例では HBV DNA 量が上昇した時点でアデフォビルを開始する。
6. 肝硬変例および肝細胞癌治療後の症例も、核酸アナログの治療を行う。

注意

1. HIV を合併している症例では、エンテカビルの使用により HIV 耐性ウイルスが出現する可能性があるためエンテカビルは使用できない。
2. HBV DNA 量が低値で ALT 値が正常の例であっても免疫抑制作用のある薬剤や抗がん剤投与時には HBV DNA 量が上昇して高度の肝障害をきたすことがあるため注意が必要である(免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎に対する診療ガイドライン参照)。(文献 1 より引用)

参考文献

1) 熊田博光：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)，肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究，平成

19 年度総括・分担研究報告書，平成 20 年 3 月

2) Suzuki F et al : Efficacy of 6-month interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection in Japan. J Gastroenterol 39 : 969-974, 2004

Session 1 IFN延長投与の基準

〈演題2〉HCV RNA陰性化時期および背景因子とSVR

豊田 成司*

はじめに

C型肝炎に対する抗ウイルス療法において、従来から難治とされている1b高ウイルス症例に対してはPEG-IFN/RIBA (RBV) 併用48週投与が標準的治療法として一定の評価を得ている。しかし、その際12週までにウイルスの陰性化が達成されれば高率にSVRが得られるものの、陰性化が遅延するいわゆるLate Viral Responder (LVR) での効果は未だ十分ではなく、投与期間を72週に延長することによってSVR率を向上させる試みがおこなわれている^{1) 2)}。

今回、当科での48週投与例の背景因子、HCV dynamicsおよびウイルス陰性化時期と臨床効果との関連を解析し、延長投与をすべき症例をいかに選択すべきかについて検討したので報告する。

I. 患者背景

PEG-IFN/RIBA併用48週投与した179例を対象として検討した。男性81例、女性98例で、平均年齢は 54.7 ± 11.6 歳、治療前HCV RNA量はTaqMan法で 6.1 ± 0.9 Log IU/mLであった。また、これらの症例での最終的な臨床効果はSVR 93例、ETR 35例、NR 51例であった。

II. 臨床効果規定因子の検討

1. SVR関連要因

年齢、性別、HCV RNA量などの投与前背景因子をSVR, ETR, NRの臨床効果別に比較検討した(表1)。

SVRとETR, NRを合わせたnon SVRとで対比すると、年齢、A score, steatosis, Core70番アミノ酸変異、CL/F, HCV RNA量の6因子で有意な差を認め、なかでも年齢およびHCV RNA量がより強く臨床効果に影響していると推察された。多変量解析では、この年齢、HCV RNA量、steatosisに加え、体重も有意な因子となった(表2)。年齢を56歳未満と56歳以上に分けてSVR率をみると、それぞれ67.0% (55/82) と40.2% (39/97) と56歳未満で高率となり、さらにHCV RNA量が6Log以上ではSVR率が39.0%であったのに対し、6Log未満では72.2%と高率にSVRが得られた。しかし、これらの背景因子にHCV dynamicsを加えて検討すると、CL/Fおよび4週時のHCV RNA量のみが有意な因子となった。

2. NR関連要因

同様にNRとnon NRに区別して比較すると、SVR要因であったHCV RNA量、steatosis、Core70番アミノ酸変異のほかHOMA-IR、総コレステロール、IP-10も効果関連因子であった(表1)。Core 70番がwildのNR率は20.5%であったが、non wildで

*札幌厚生病院〔〒060-0033 北海道札幌市中央区北3条東8-5〕

表1 ウイルス学的有効性別患者背景

	SVR (n=93)	ETR (n=35)	NR (n=51)	p(S/他)	p(N/他)
性(M/F)	45/48	15/20	21/30	0.453	0.515
年齢	52	62	60	<0.001	0.060
F(0-1/2-4)	44/41	15/17	14/27	0.151	0.101
A(0-1/2-3)	45/43	8/24	15/29	0.007	0.286
Fat(0-1/2-3)	69/10	25/ 5	28/14	0.039	0.010
Core70(non-W/W)	30/45	12/19	33/14	0.036	<0.001
CL/F	12.3	8.9	10.8	0.007	0.533
IP-10	394	338	595	0.199	<0.001
Hb	13.3	13.6	13.2	0.565	0.326
PLT	16.3	15.5	13.5	0.150	0.057
HOMA	1.7	1.7	2.2	0.059	0.015
T-Chol	168	175	161	0.367	0.025
TG	95.5	88.0	97.0	0.567	0.437
HCV RNA量(Log)	5.9	6.4	6.4	<0.001	0.003

Fischer's test or Mann-Whitney U-test

表2 SVR要因の検討：多変量Logistic回帰分析

検討因子

宿主因子(性、年齢、F、A、Fat、AA70変異、AA91変異、CL/F、IP-10、BW、Cr、WBC、Hb、Plt、ALT、 γ GTP、HOMA-IR、TG、T-Chol、TaqMan0W、Riba4W濃度)

要因	オッズ比	95%CI	p
年齢(<56/≥56)	0.391	0.176-0.871	0.021
A(0-1/2-3)	0.419	0.188-0.937	0.034
Fat(0-1/2-3)	0.272	0.087-0.854	0.026
BW(<60/≥60)	2.479	1.077-5.711	0.033
TaqMan(<6/≥6)	0.169	0.070-0.408	<0.001

は45.3%と高率にNRとなった。また、投与前のIP-10値を臨床効果別にみると、SVR、ETRでは平均でそれぞれ394pg/mL、339pg/mLと差がなかったが、NRでは595pg/mLとnon NRに比べて明らかに高値であった(p<0.001)。この投与前IP-10値を400pg未満と400pg以上に分けてHCV dynamicsをみると、400pg未満の投与前HCV RNA量の中央値が6.1Logであったのに対し、400pg以上では6.4Logと高く、その後のdynamics

も同様の差をもって推移した。さらに最終的な臨床効果をみても、SVR率には400pg未満、400pg以上でそれぞれ53.7%、43.9%と大きな差を認めなかったものの、NR率では13.4%と39.4%で400pg以上ではNRが高率であった(図1)。また、この投与前IP-10値はHCV RNA量ばかりでなく、年齢、F score、Core70番アミノ酸変異、HOMA-IRなど臨床効果に影響する諸要因とも有意の相関を示した。

図1 投与前IP-10レベル別ウイルス学的有効性

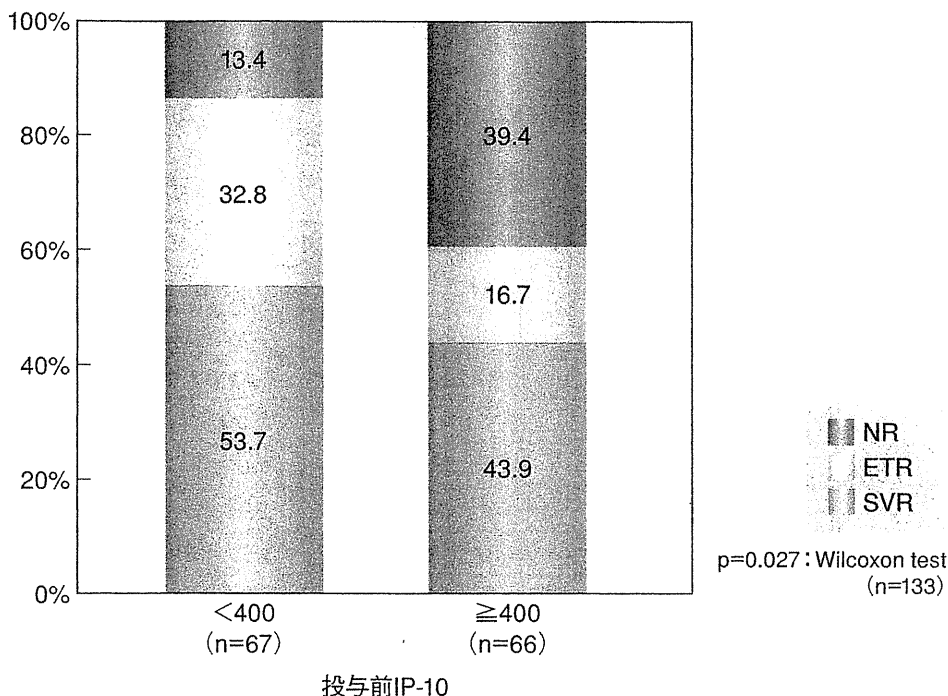


表3 NR要因の検討：多変量Logistic回帰分析

検討因子

宿主因子(性、年齢、F、A、Fat、AA70変異、AA91変異、CL/F、IP-10、BW、Cr、WBC、Hb、Plt、ALT、γGTP、HOMA-IR、TG、T-Chol、TaqMan0W、Riba4W濃度)

要因	オッズ比	95%CI	p
年齢(<56/≥56)	2.599	1.077-6.270	0.034
AA70(non-W/W)	0.237	0.100-0.564	0.001
ALT(<42/≥42)	2.645	1.101-6.354	0.030
TaqMan(<6/≥6)	4.396	1.582-12.214	0.005

このNR要因を多変量解析すると、SVR要因同様、年齢、HCV RNA量が抽出されるとともに、Core70番アミノ酸変異、ALT値が有意な因子となった(表3)。しかし、この投与前背景因子にHCV dynamicsを加えて解析した結果はSVR要因と同様に、4週時RNA量のみが有意な因子となった。

Ⅲ. HCV RNA陰性化時期とSVR

以上のように、背景因子にHCV dynamicsを加えて解析したSVRおよびNR寄与要因としては治療開始後のウイルス減衰が最も有用との結果であったが、さらに有効な予後予測因子はHCV RNAの陰性化時期と考えられる。

このRNA陰性化時期別のSVR率をみると、8週以内に陰性化が得られた47例では全例SVR

図2 HCV RNA陰性化時期別SVR率(TaqMan)

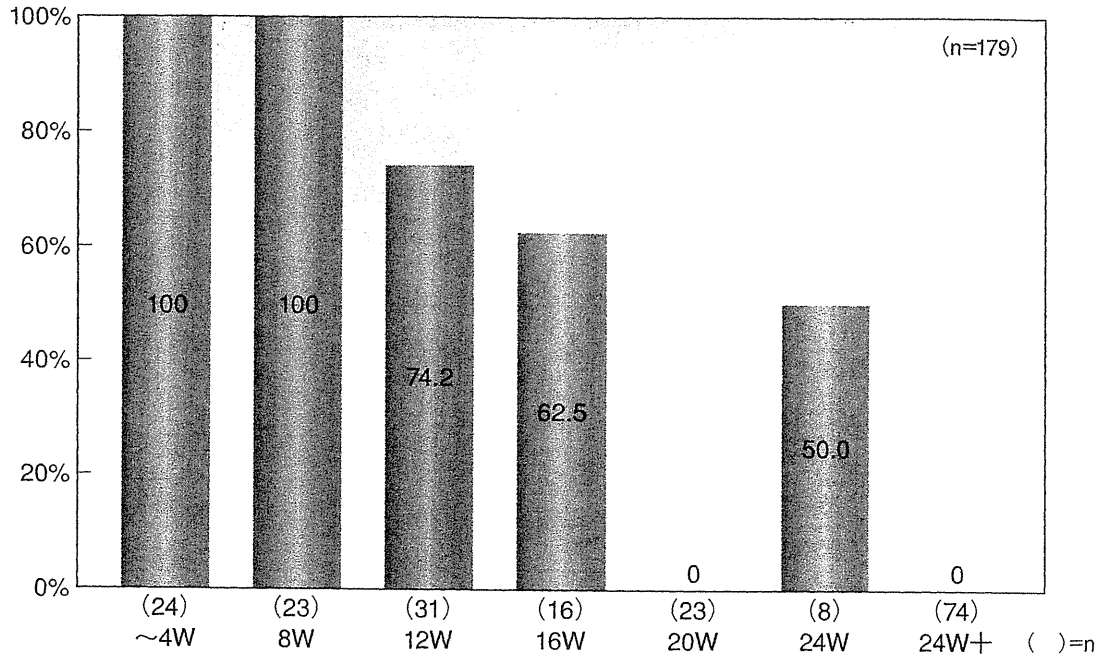


表4 投与8週以内HCV RNA陰性化例の有効性別患者背景

	陰性化(n=47)	陰性化せず(n=132)	p
性(M/F)	19/28	62/70	0.497
年齢	52.7±11.1	55.3±11.8	0.082
F(0-1/2-4)	25/18	48/67	0.075
A(0-1/2-3)	26/19	42/77	0.012
Fat(0-1/2-3)	39/1	83/28	<0.001
AA70(non-W/W)	17/20	58/58	0.709
IP-10	416±220	511±291	0.104
CL/F	12.5±5.0	12.3±5.3	0.587
HOMA-IR	2.3±2.4	2.7±3.4	0.188
HCV RNA量(Log)	5.2±1.2	6.3±0.6	<0.001
ALT	91±90	69±62	0.671
血小板数	16.6±6.0	16.1±5.5	0.733
RBV 4W濃度	2384±707	2345±615	0.710

Fischer's test or Mann-Whitney U-test

となり、12週陰性化例および16週陰性化例からもそれぞれ74.2%と62.5%と高率にSVRが得られた。また、20週以降でも20週陰性化例の3例からはSVRが得られなかったものの、24週陰性化例では8例中4例がSVRとなった。しかし、今回の

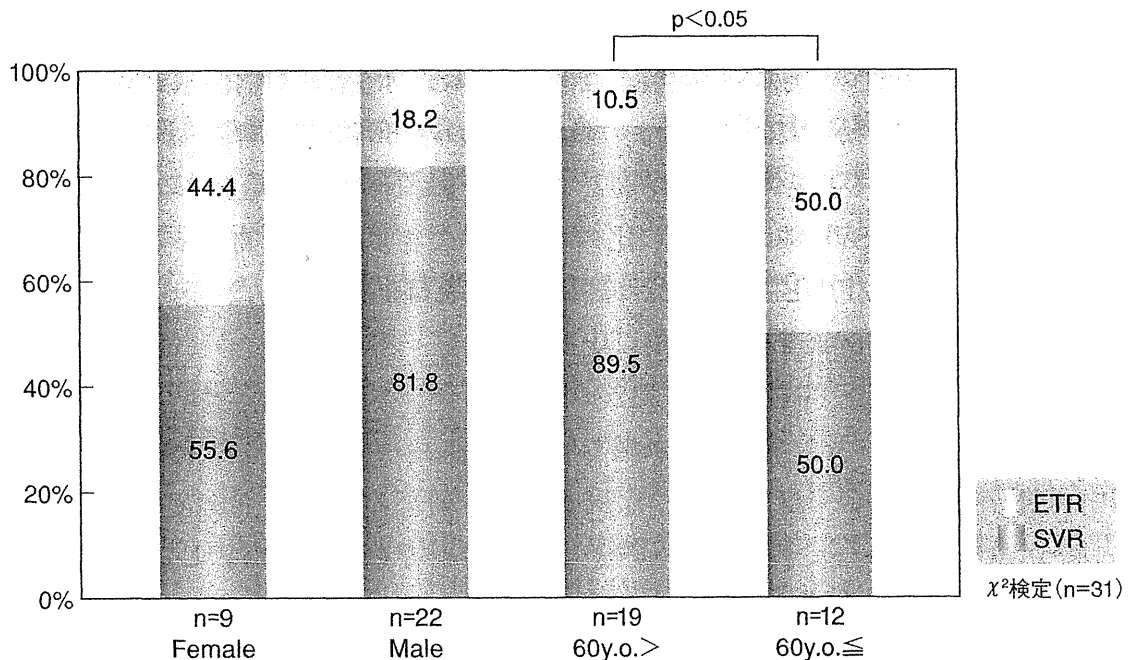
対象症例では、24週目もRNAが陽性であった症例はその後にウイルスの陰性化が得られても1例もSVRとはならなかった(図2)。

表5 投与12週目HCV RNA陰性化例の有効性別患者背景

	SVR (n=23)	ETR (n=8)	p
性(M/F)	18/5	4/4	0.185
年齢	46.5±14.5	62.1±6.4	0.005
F(0-1/2-4)	11/10	5/3	0.697
A(0-1/2-3)	13/8	2/6	0.109
Fat(0-1/2-3)	14/5	6/0	0.289
AA70(non-W/W)	6/12	0/6	0.277
IP-10	464±273	270±95	0.067
CL/F	16.5±5.6	10.6±2.1	0.003
HOMA-IR	1.8±0.9	2.1±0.8	0.303
HCV RNA量(Log)	6.3±0.7	6.1±0.6	0.719
ALT	98±72	47±20	0.034
血小板数	17.5±3.8	16.5±7.4	0.513
RBV 4W濃度	2374±524	2126±749	0.164

Fischer's test or Mann-Whitney U-test

図3 12週目HCV RNA陰性化の性別, 年齢別SVR



1. 8週以内陰性化例の背景因子

SVR率が100%であった8週以内陰性化例とその他の非陰性化例の背景因子を比較すると、性別、年齢、4週時RIBA濃度などに差を認めず、A score, steatosisおよびHCV RNA量が有意な

因子であった(表4)。多変量解析でもsteatosisとHCV RNA量が抽出されたが、8週以内のウイルス陰性化を得るためには投与前RNA量が6Log未満と比較的低ウイルスであることが最も重要ではないかと考えられた。

表6 投与16週目HCV RNA陰性化例の有効性別患者背景

	SVR (n=10)	ETR (n=6)	p
性(M/F)	3/7	1/5	1
年齢	55.6±12.3	62.7±4.8	0.384
F(0-1/2-4)	5/3	2/3	0.529
A(0-1/2-3)	4/5	1/4	0.580
Fat(0-1/2-3)	6/2	4/1	1
AA70(non-W/W)	3/5	2/3	1
IP-10	505±355	395±128	0.531
CL/F	11.4±5.6	7.2±0.9	0.175
HOMA-IR	2.7±2.0	1.3±0.8	0.143
HCV RNA量(Log)	6.3±0.5	6.4±0.3	0.943
ALT	74±38	69±61	0.302
血小板数	16.3±6.6	17.3±5.4	0.625
RBV 4W濃度	2307±684	2429±643	0.723

Fischer's test or Mann-Whitney U-test

2. 12週目陰性化例の臨床効果

12週目にウイルスが陰性化した症例は31例であったが、性別では女性の9例に対し男性が22例と多数を占め、うち23例がSVRとなった。

このSVR例と治療終了後再燃した8例とで背景因子を比較すると、SVR例は再燃例に比べて約15歳若年であり、CL/F、ALT値も有意に高値であった(表5)。年齢を60歳未満と60歳以上に分けて臨床効果をみると、60歳以上では12例中6例と半数で再燃がみられたが、60歳未満では19例中再燃例は2例のみでほとんどの症例がSVRとなった($p < 0.05$)。また、性別では有意差は得られなかったものの、女性では9例中5例のみがSVRになったのに対し、男性では22例中18例(81.8%)と高率にSVRが得られた(図3)。

3. 16週目陰性化例の臨床効果

16週目にRNAが陰性化した症例は16例であったが、男性は4例のみで女性が12例と12週目陰性化例とは逆に3/4が女性であった。このうち

男性3例、女性7例の計10例(62.5%)でSVRが得られた。

この16週目陰性化例についてSVR例とETRとなった6例でその背景因子を比較したが、性別、年齢、HCV RNA量などに有意な差を認めることはできず、SVRに寄与する有用な要因を見出すことは出来なかった(表6)。

IV. PEG-IFN/RIBA 72週延長投与の有用性

前述の48週投与例の臨床効果を踏まえて、当科でも症例を選択して72週延長投与をおこなっている。

現在までに効果判定が可能であった症例は26例であり、男性13例、女性13例で、平均年齢は54.5±10.5歳と48週投与例と差はみられなかった。また、HCV RNA量は6.4±0.6Logとやや高値であり、比較的ウイルス量の少ない6Log未満の症例は4例(15.4%)のみであった。

この延長投与例からは男性8例、女性5例の

13例(50%)がSVRとなった。この延長投与した26例のHCV RNA陰性化時期別に臨床効果を見ると、12週目および16週目陰性化例は1例ずつであったが、いずれもSVRとなった。さらに、20週目陰性化例からは6例中4例、24週目陰性化例からも8例中5例でSVRが得られたが、28週以降の陰性化例では9例中1例がSVRとなったのみであった(図4)。比較的lowウイルス量の6Log未満の4例では2例が再燃したが、これらの再燃例では24週目および28週目にRNAが陰性化したものの、HCV dynamicsをみるといずれの症例も4週までのRNA減衰量が1Log未満と初期のウイルス減衰の悪い症例であった。

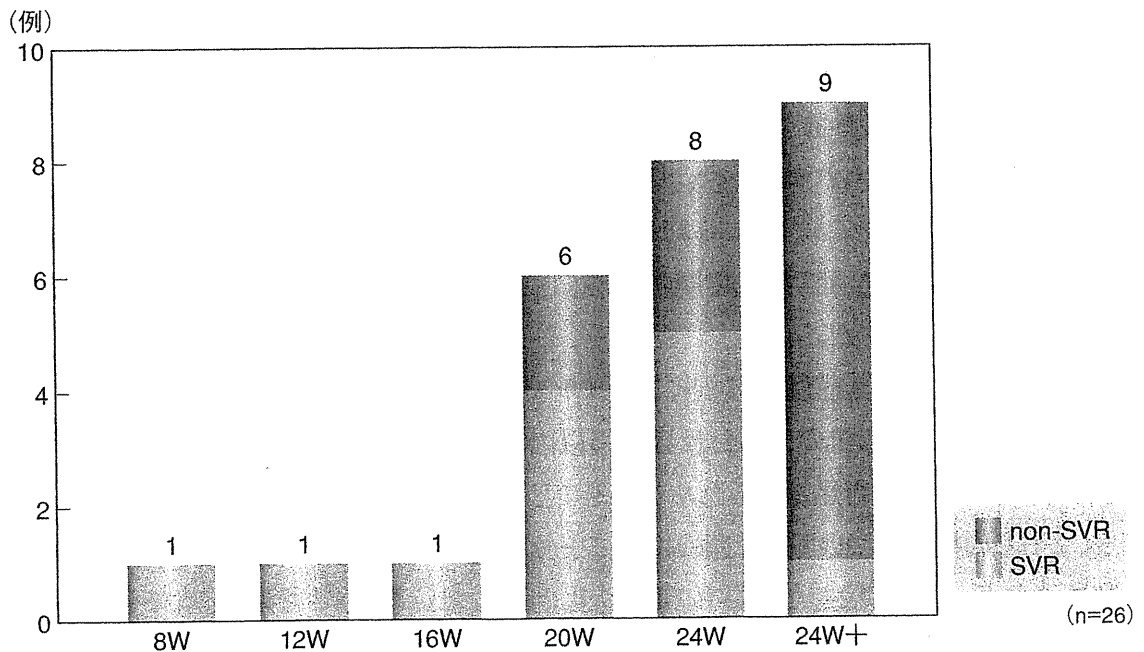
考 察

PEG-IFN/RIBA併用療法はC型肝炎に対する抗ウイルス療法の効果を飛躍的に向上させ、難治とされる1b高ウイルス症例でも約50%のSVRが得られるまでになった。また、この抗ウイルス効果

を規定する要因として、年齢や性差に加えてCoreアミノ酸変異³⁾やインスリン抵抗性⁴⁾など多くの因子の関与が指摘されている。

今回の検討でもSVR要因として年齢が有意な因子となり、Core70番アミノ酸変異やHOMA-IRがNRの関連要因となっていた。また、Interferon Stimulating Gene (ISG)のひとつであるIP-10については投与前に高値の症例ではPEG-IFN/RIBA併用療法の効果が低下するとの報告⁵⁾があるが、今回の当科の成績でもNR例ではnon NRに比べて投与前IP-10が明らかに高値であった。このIP-10の高さは投与前RNA量と相関しており、ウイルス増殖と内因性IFNの誘導との関連が示唆された。このRNA量に加えて、さらに年齢やCore70番アミノ酸変異、HOMA-IRといったNR関連要因とも相関しており、無効要因が集積する傾向があると考えられた。年齢では55歳以上で55歳未満に比べてIP-10が有意に高く($p=0.029$)、投与開始後の反応性(IP-10上昇率)も若年者に比べて低下しており、このようなことも

図4 72週延長投与例のHCV RNA陰性化時期とSVR



高齢者での臨床効果の低下に関与しているのではないかと考えられた。

SVRおよびNR両方の関連要因がTaqMan法でのHCV RNA量であった。IFN単独療法の際にはRNA量が臨床効果に対する強い影響因子であったが、PEG-IFN/RIBA併用療法の開始以降はアンプリコアモニターのハイレンジ法でも高ウイルス領域でのウイルスの多寡と臨床効果の関連は明確ではなかった。しかし、real time PCR法によるウイルス量の定量が可能となったことにより、ウイルス量と抗ウイルス効果の関連が明らかとなった⁶⁾。今回の成績でもウイルス量が増加するとともにSVR率は低下し、6Log未満と6Log以上に分けてみても明らかな有意差を認めた。

これら多数のSVRおよびNRの関連要因が複雑に臨床効果に影響を与えていると考えられたが、ひとたびPEG-IFN/RIBA併用療法を開始したのちはウイルス減衰が最も強い効果規定因子であった。4週時のHCV RNA量が4Log未満に減衰していた症例では76.3%と高いSVR率が得られ、2Log未満にまで減衰していた42例では1例を除いて全例が12週までにRNAが陰性化するとともにSVR率も97.6%であった。反対に、4Log以上であった症例ではSVR率が10.3%と低下し、4週時も5Log以上と減衰量がわずかであった37例からは1例もSVRが得られなかった。このように、投与開始後のウイルス減衰は最終的な臨床効果ばかりでなく、RNA陰性化時期の予測にも非常に有用と考えられた。

72週延長投与すべき症例の選択にはウイルス陰性化時期がもっとも重要と思われる。8週以内陰性化例からは1例も再燃がみられなかったことから、これらの症例については48週の投与で十分と判断される。また、12週および16週陰性化例からも比較的高いSVRが得られたが再燃例も

少なからず認められており、これら再燃例に対する延長投与の効果はより高いと推察される。12週陰性化例の背景因子と臨床効果との関連をみると高齢者では再燃する傾向が強く、60歳以上では12週で陰性化が得られていても可能であれば延長投与すべきと考えられる。一方、16週陰性化例ではSVRとnon SVRで背景因子に有意な差を認めず、これらの結果から16週以降の陰性化例については厚労省班会議のGuideline通り72週の延長投与が妥当と思われる。

当科での延長投与例についてRNA陰性化時期と臨床効果の関連をみると、16～24週の陰性化例においても15例中10例(66.7%)がSVRとなっており、延長投与により効果が向上しているものと判断される。しかし、24週以降の陰性化例からは9例中1例しかSVRが得られなかった。また、開始時のRNA量が6Log未満と比較的低ウイルスの2例でも再燃がみられたが、いずれも女性で4週までのウイルスの低下量が1Log未満と極めて少なく、ウイルス減衰の勾配が緩やかなために陰性化時期が予想以上に遅延したものと考えられる。これらの症例ではprotease inhibitorやpolymerase inhibitorといった今後開発が予定されている新規薬剤の適用も考慮すべきではないかと考えられた。

おわりに

PEG-IFN/RIBA 72週延長投与はその有効性を向上させるものと思われ、特に16～24週の陰性化例ではSVR率を著明に改善すると期待される。また、現在の厚労省班会議治療Guidelineは極めて妥当と考えられるが、高齢者では12週目陰性化例であっても延長投与を考慮すべきと思われた。

〈文 献〉

- 1) Berg T et al : Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1 : comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterol* **130** : 1086-1097, 2006.
- 2) Pearlman BL et al : Treatment extension to 72 weeks of peginterferon and ribavirin in hepatitis c genotype 1-infected slow responders. *Hepatology* **46** : 1688-1694, 2007.
- 3) Akuta N et al : Predictors of viral kinetics of peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol* **79** : 1686-1695, 2007.
- 4) Romero-Gomez M et al : Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol* **128** : 636-641, 2005.
- 5) Reiberger T et al : IP-10 correlates with hepatitis C viral load, hepatic inflammation and fibrosis and predicts hepatitis C virus relapse or non-response in HIV-HCV coinfection. *Antivir Ther* **13** : 969-976, 2008.
- 6) 豊田成司 他 : コバスTaqMan HCV「オート」によるC型慢性肝炎抗ウイルス療法時のウイルス動態と効果予測. *肝臓* **49** : 297-306, 2008.

* * *

C型肝炎の自然免疫系遺伝子発現プロファイルと抗ウイルス療法の治療効果

朝比奈 靖浩*

はじめに

わが国において年間約3万4千人が肝臓癌で死亡しており、肝臓癌は死亡原因として重要な位置を占めている。肝細胞癌の75%はC型肝炎が原因であり、わが国における肝細胞癌の撲滅にはC型肝炎ウイルス(HCV)の駆除が極めて重要である。HCVの駆除にはインターフェロン(IFN)治療が最も基本的であるが、わが国のC型慢性肝炎の約70%を占めるHCV genotype 1bはIFNに抵抗性を示すことが知られ、特に高ウイルス量症例やIFN感受性決定領域(Interferon sensitivity determining region; ISDR)にアミノ酸変異がない症例では、IFN単独24週の治療ではウイルス学的著効(sustained viral response; SVR)が得られる率はこれまで10%以下であった。

近年、genotype 1b型かつ高ウイルス症例のいわゆる難治性C型慢性肝炎に対して、ペグインターフェロン(PEG-IFN)/リバビリン(RBV)併用療法が導入され、約50%の症例でSVRが得られるようになった。しかし、約15%は治療中HCV dynamicsの第2相以降のウイルス減少を認めないいわゆるnull responderで治療抵抗性である¹⁾。これらnull responderに対しては、治療抵抗性の機序を解明し、プロテアーゼ阻害薬などの新薬による治療も視野に入れた対策が必要である。しかし、これら難治例の治療抵抗性の機序は不明であり、またPEG-IFN/RBV併用

療法の治療前にnull responseを予測することは困難である。今回、筆者らはHCVの排除に重要と考えられている宿主の自然免疫機構に注目し、これらの遺伝子発現とPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果との関連について検討したので概説する²⁾。

PEG-IFN/RBV併用療法の治療効果に関与する要因

PEG-IFN/RBV併用療法は、承認以来すでに5年近くが経過し、実地臨床における治療成績の実態を多数例で解析することが可能になってきた。そこで、まず当院においてPEG-IFN α -2b/RBV併用療法を施行した561例のうちgenotype 1b型かつ高ウイルス量の473例を対象とし、難治要因に関わる因子を検討した。すでに最終治療効果を判定し得た症例について検討すると、予定投与量の80%以上を投与できた症例におけるSVR率(PP解析)は61%であったが、減量・中止例を含めたITT解析では37%となった。SVRに関与する治療前因子を単変量解析で検討すると、年齢、性別のほか、過去のIFN治療効果、血小板数、ヘモグロビン値、血清クレアチニン値、血清 γ -GTP値、肝線維化が有意な因子として挙げられ、さらに体重、LDLコレステロール値、血糖値、肝脂肪化といった代謝に関連する因子に有意差があった。ウイルス学的には、ウイルス量は有意ではなかったが、ISDR変異とHCV

*武蔵野赤十字病院 消化器科〔〒180-8610 東京都武蔵野市境南町1-26-1〕

コア70番・91番変異が有意であった。これらについて非SVRに寄与する独立因子を多変量解析を用いて検討すると、①高齢、②女性、③架橋形成を伴う高度線維化、④ISDR野生型、⑤HCVコア変異型の5因子が難治要因として抽出された。

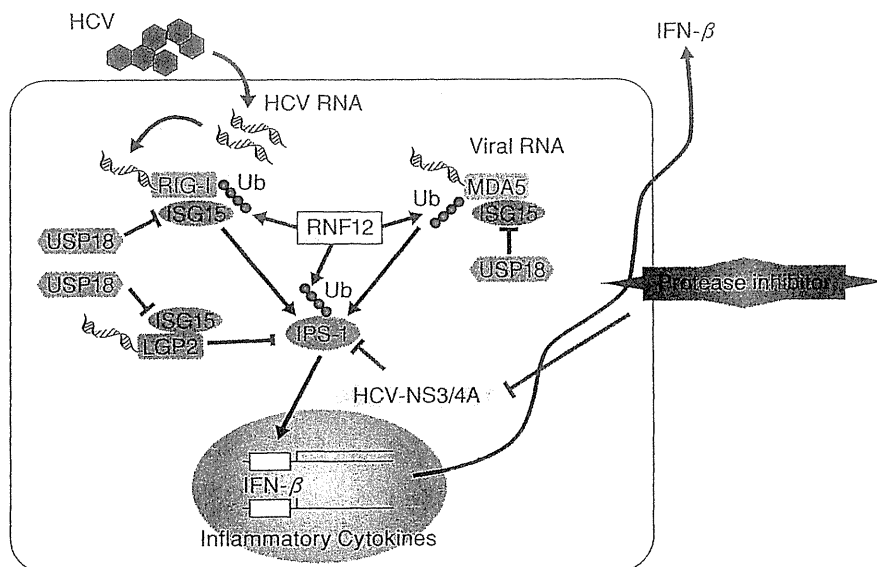
一方、予定投与量の80%以上が投与できているにも関わらず、治療中HCVが陰性化しない nonvirological response (NVR) の症例は、13%に認めた。NVRに関与する治療抵抗因子としては、①HCVコア変異、②架橋形成を伴う高度線維化、③血清 γ -GTP高値、④血清クレアチニン低値が多変量解析により抽出された。したがって、これらの臨床的検討から治療抵抗性に関わる因子としては、ウイルス因子の他に何らかの宿主因子が関与している可能性が考えられた。しかし、その機序の詳細は未だ十分に明らかではなく、宿主因子とウイルス因子の相互の関わり合いについても不明である。

C型肝炎ウイルスと自然免疫

そこで、筆者らは、IFN不応性に関わる宿主側要因として宿主自然免疫系に注目した。すなわち、近年の *in vitro* の研究によるとHCVに対する生体防御には宿主自然免疫が重要とされるが³⁾、この自然免疫系にはIFN系が深く関わっていることから、IFN治療抵抗性には宿主自然免疫が何らかの影響を及ぼしていると考えた。

HCVが細胞に感染すると、まずHCV由来のRNAが細胞内のウイルスセンサーであるRIG-I (retinoic acid inducible gene I) によって探知され、そのシグナルがアダプター分子であるIPS-1 (IFN- β promoter stimulator-1: 別名MAVS, Cardif, VISA) を介して核に伝達されIFN- β が産生される。この自然免疫の作動がHCV感染に際して生体側で起こる最初の防御機構であるとされる(図1)。

図1 HCV感染と宿主自然免疫



Asahina Y et al: *Gastroenterology* 134:1396-1405, 2008. 改変

RIG-Iは細胞質に存在するヘリカーゼであり、ウイルス由来の5'の三リン酸構造や3'のポリU配列を認識し、形質細胞様樹状細胞以外のほとんどの細胞においてウイルス感染センサーとして必須の役割を担っている⁴⁾。RIG-Iと構造上非常に類似したファミリー分子であるMDA5も同様の機能を有するウイルスセンサー分子であることが示されているが、ピコルナウイルスなどRIG-Iとは違ったウイルス種を認識しているとされる⁵⁾。RIG-IまたはMDA5がウイルス由来RNAを感知するとその三次構造が変化し、下流で機能するアダプター分子であるIPS-1と会合する。IPS-1はミトコンドリアにアンカリングしている蛋白であり、RIG-IやMDA5が感知したウイルス感染シグナルを核に伝えるのに必須である⁶⁾⁻⁹⁾。

これらRIG-I/IPS-1系は、いろいろな宿主分子により制御を受けている可能性が示されている。たとえば、RIG-Iと同様の分子構造をもつRIG-Iファミリー分子のLGP2はIPS-1との結合に必要なCARDドメインを欠くため、シグナルを核に伝達することができずRIG-I/IPS-1系の制御に関与すると報告されている⁵⁾。また、ユビキチン様蛋白であるISG15は、STAT1やJak1と結合しIFNシグナル伝達を修飾する一方、RIG-IやIPS-1などと結合することにより(ISGylation)その機能を修飾していると考えられている¹⁰⁾。そして、ISG15とその結合蛋白とを解離させる特異的プロテアーゼであるUSP18はISGylationに対して抑制的に働くことが報告されている¹¹⁾¹²⁾。さらに、最近このRIG-I/IPS-1系の特異的ユビキチンE3リガーゼであるRNF125が同定され、ubiquitin-proteasome pathwayによりRIG-I, MDA5およびIPS-1を分解し抑制的に調節していることが示されている¹³⁾。

一方、非常に興味深いことにHCVのNS3/4AセリンプロテアーゼはIPS-1をミトコンドリアとアン

カリングしている部分で切断することが示されており、HCVはRIG-I/IPS-1系を標的とすることで巧みに宿主の自然免疫系から逃れている可能性が示唆されている(図1)⁶⁾¹⁴⁾。したがって、これまでの*in vitro*の研究から、RIG-I/IPS-1系は宿主によるHCVの排除およびそれに対するHCVの抵抗性に重要な鍵を握っていることは間違いないと考えられる。しかし、RIG-I/IPS-1系の状態と実際の抗ウイルス療法の治療効果との関連は不明で、ヒトにおける臨床的意義はほとんど解明されていない。そこで筆者らは、臨床検体を用いてこれら自然免疫系分子の遺伝子発現プロファイルとPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果との関連を検討した。

自然免疫系遺伝子の 肝内発現プロファイルと抗ウイルス効果

PEG-IFN/RBV併用療法を施行した1b高ウイルス量のC型慢性肝炎74例を対象として、治療直前に肝生検を施行し、総RNAを抽出後リアルタイムPCR法を用いて細胞内ウイルスセンサーであるRIG-I, MDA5や修飾・制御系分子であるLGP2, ISG15, USP18, RNF125およびアダプター分子であるIPS-1のmRNAの肝内発現を定量した(図2)²⁾。また、原発性胆汁性肝硬変などの非ウイルス性肝疾患を対照としてその肝内遺伝子発現プロファイルを比較した。

1. C型慢性肝炎と非ウイルス性肝疾患との比較 (図3)

まず、これら自然免疫系分子の肝内遺伝子発現プロファイルをC慢性肝炎患者と非ウイルス性肝疾患患者で比較した。その結果、C型慢性肝炎患者におけるRIG-I, MDA5, LGP2, ISG15, USP18, RNF125の肝内遺伝子発現は非ウイルス

性肝疾患患者に比し有意に高いことが分かり、これらの分子はHCV感染による内因性IFNにより肝内に発現誘導されていることが示唆され

た。それに対して、IPS-1は両者の間で肝内発現量に有意差はなく、比較的constitutiveに発現していると考えられた。

図2 治療プロトコール(上段)と研究方法(下段)

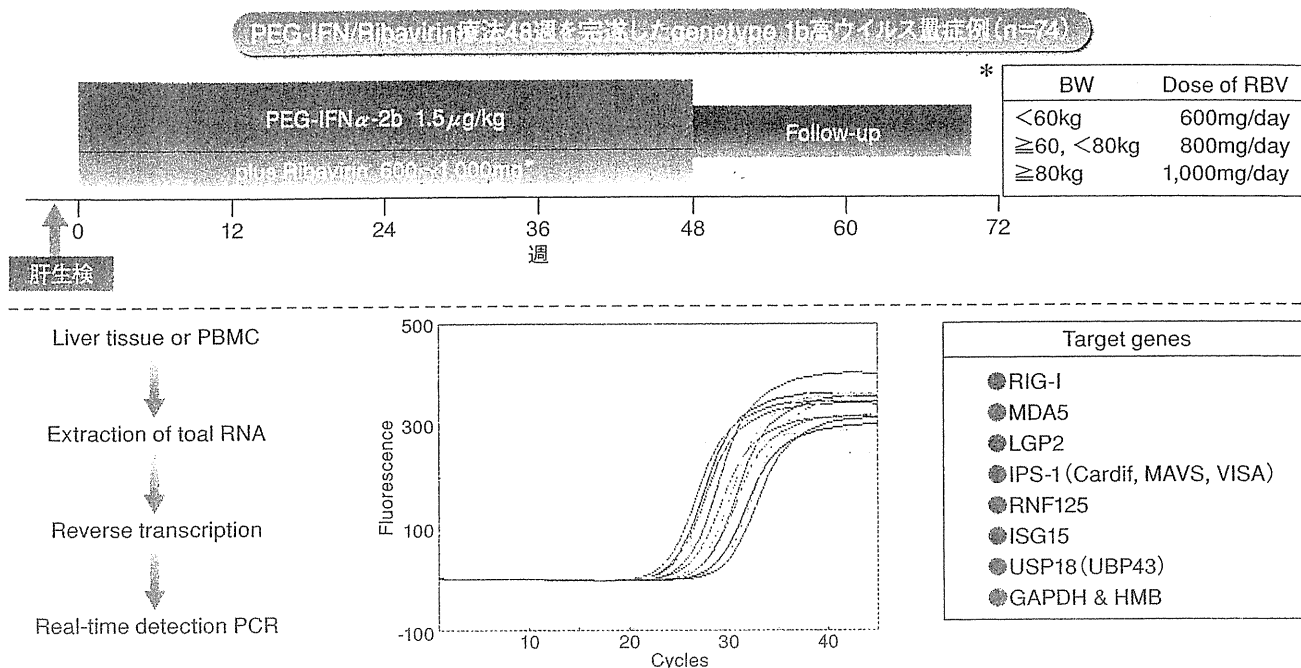
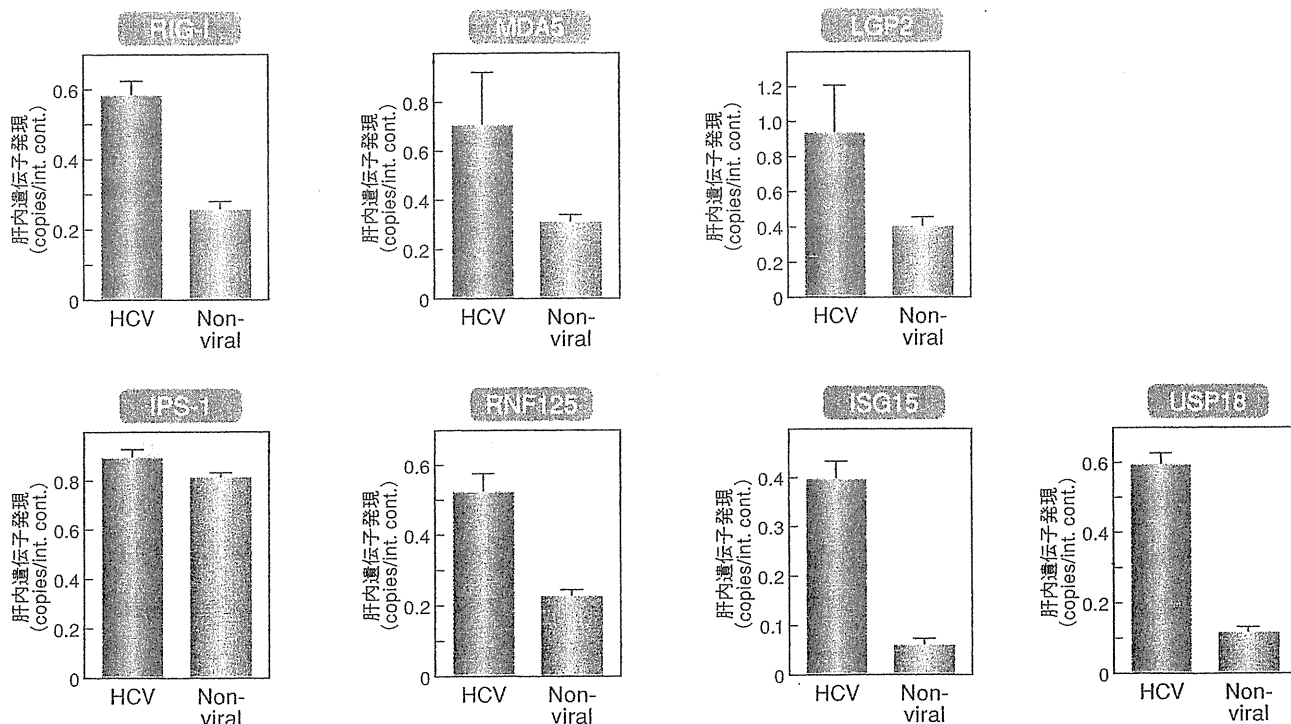


図3 C型慢性肝炎および非ウイルス性肝疾患における自然免疫系分子の肝内遺伝子発現の比較



Asahina Y et al: *Gastroenterology* 134: 1396-1405, 2008. 改変

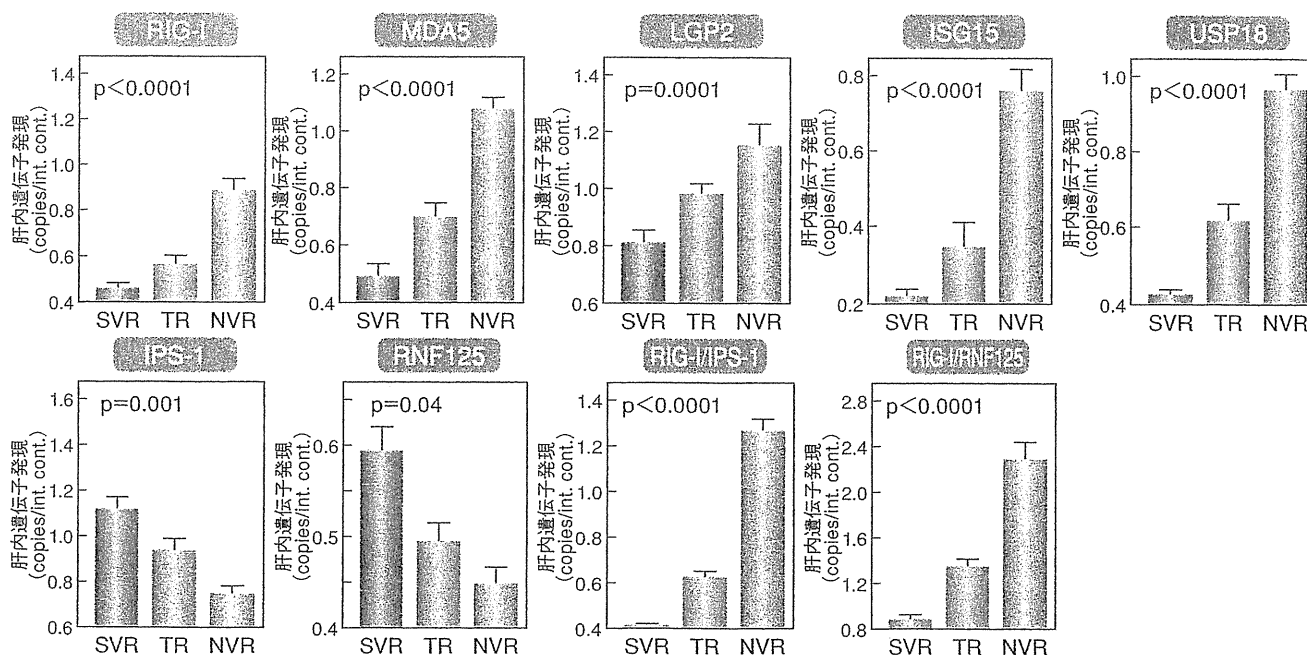
2. 治療前肝内遺伝子発現プロファイルとPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果(図4)

次に、PEG-IFN/RBV併用療法を施行した症例を最終的なウイルス学的治療効果により、著効(SVR: n=30)、再燃(TR: n=24)および治療中HCVが全く消失しない無効(NVR: n=20)に分類し、これらの治療効果と治療前における肝内遺伝子発現との関連を解析した。その結果、RIG-I, MDA5, LGP-2, ISG15およびUSP18の肝内遺伝子発現は、治療中HCVが減衰しないNVR群でSVR群に比し有意に1.5~4倍高発現していた。それに対して、IPS-1とRNF125の治療前肝内遺伝子発現はNVR群で有意に低値で、RIG-I/IPS-1比またはRNF125比はNVRで有意に高かった(NVR: SVR=1.3:0.4, 2.3:0.8)。このNVR例におけるIPS-1の発現低下は、ウエスタン・ブロットにより蛋白レベルでも確認された(図5)。しかし、筆者らの検討では、HCVのプロテアーゼにより切断されたと考えられるIPS-1の切断体はウエスタン・ブロットでは検出されなかった。その

原因として、IPS-1の切断体は生体内での安定性が低いため、ウエスタン・ブロットのバンドとして検出されなかった可能性がある。

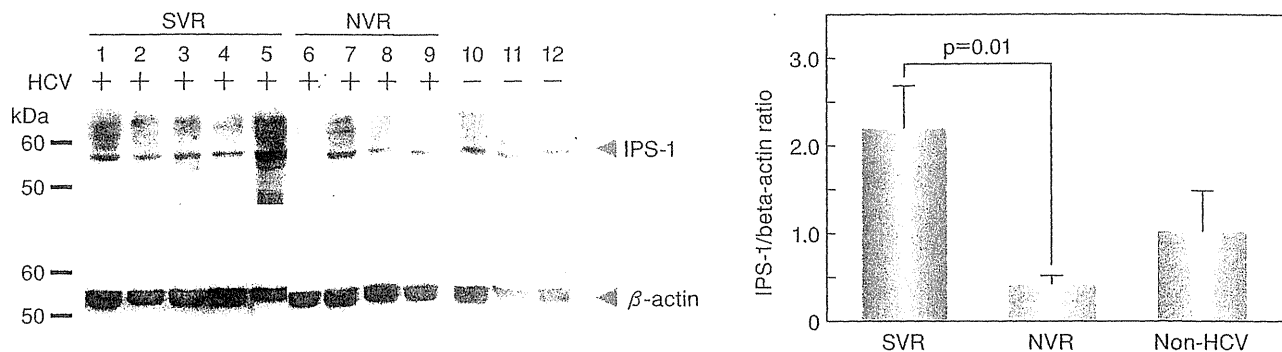
多変量解析でNVRに關与する因子を検討すると、ISG15またはUSP18発現およびRIG-I/IPS-1比と血小板数が独立因子として有意であった。ROC解析ではISG15, USP18発現およびRIG-I/IPS-1比のarea under the curveは0.9以上で、これらの遺伝子の治療前における肝内発現を定量することは、これまで困難とされてきたPEG-IFN/RBV併用療法の最終治療効果を治療前に予測するのに極めて有用と考えられた(図6)。一方、最近PEG-IFN/RBV併用療法のNVRに關与するHCV遺伝子変異としてコア70番および91番変異が報告されているが¹⁵⁾、筆者らの症例ではNVR例ではコア変異の有無に關係なくRIG-I/IPS-1比は高値であり、反対にSVR例では低値であった。多変量解析で検討すると、RIG-I/IPS-1比はこれらHCVコア遺伝子変異とは独立してNVRに關与している可能性が示唆された(表1)。

図4 PEG-IFN/RBV併用療法の最終ウイルス学的治療効果と自然免疫系分子の肝内遺伝子発現



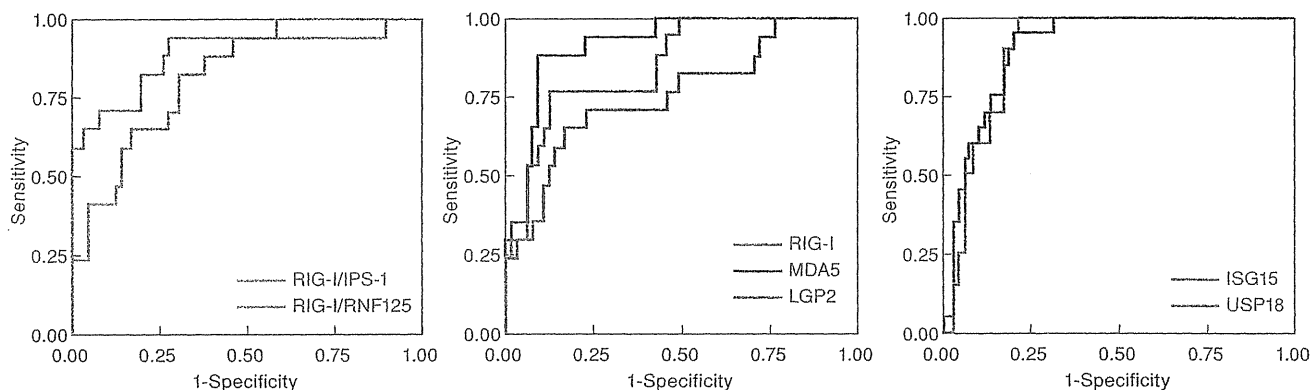
Asahina Y et al: *Gastroenterology* 134: 1396-1405, 2008. 改変

図5 ウェスタン・ブロットによる肝内IPS-1の蛋白発現と最終治療効果



Asahina Y et al: *Gastroenterology* 134: 1396-1405, 2008. 改変

図6 NVR診断に関わるROC解析



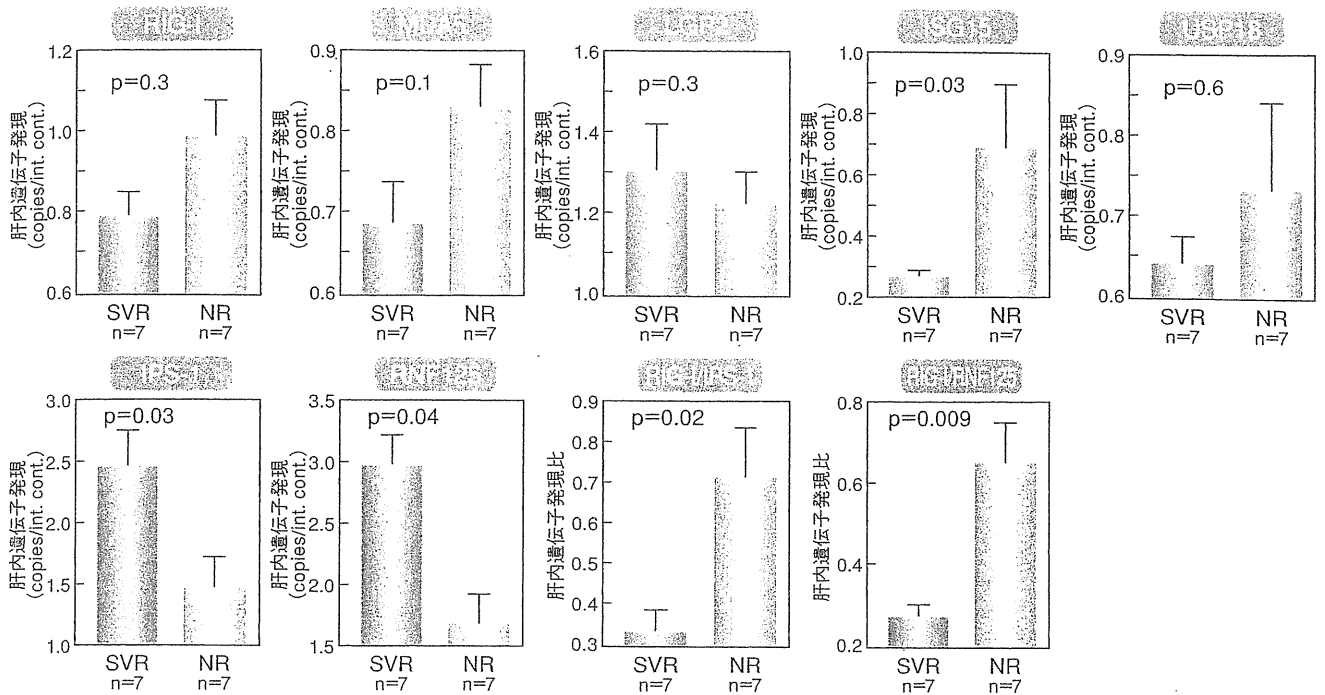
Variables	Az	95% CI	Cut-off	Sensitivity	Specificity	NPV	PPV
RIG-I	0.89	0.78-0.95	0.68	0.80	0.87	0.92	0.70
MDA5	0.92	0.86-0.98	0.84	0.82	0.89	0.93	0.74
LGP2	0.76	0.63-0.90	1.03	0.65	0.72	0.85	0.46
RIG-I/IPS-1	0.91	0.84-0.99	0.88	0.75	0.91	0.91	0.75
RIG-I/RNF125	0.81	0.69-0.93	1.05	0.82	0.62	0.91	0.43
ISG15	0.91	0.85-0.97	0.36	0.90	0.81	0.96	0.64
USP18	0.90	0.84-0.96	0.67	0.90	0.83	0.96	0.67

Asahina Y et al: *Gastroenterology* 134: 1396-1405, 2008. 改変

表1 NVRに関与する因子(多重ロジスティック解析)

Variables	Odds Ratio	95% CI	p value
RIG-I/ISP-1 ratio (by 0.2↑)	2.6	1.5- 4.5	0.0007
Core 71&91 double mut.	6.7	0.9-45.4	0.05
Platelet count (by 50×10 ³ /μL)	1.8	1.4- 9.6	0.01
Age (by 1 yr.)	1.0	0.9- 1.1	0.55
Gender (Female)	4.1	0.7-25.7	0.12

図7 Genotype 2におけるPEG-IFN/RBV併用療法の最終ウイルス学的治療効果と自然免疫系分子の肝内遺伝子発現



Asahina Y et al: *Gastroenterology* 134: 1396-1405, 2008. 改変

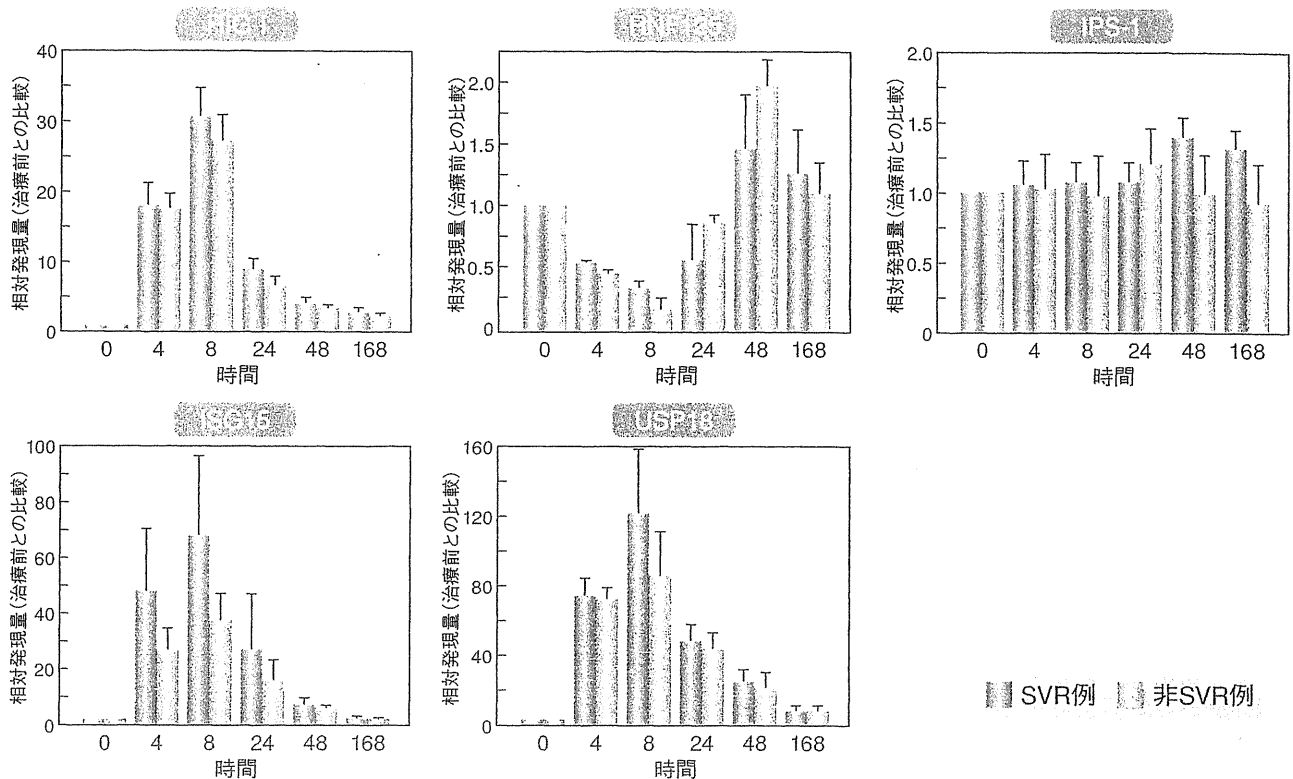
3. Genotype 2における自然免疫系遺伝子発現プロファイルと治療効果

Genotype 2はgenotype 1に比しIFN治療効果が高い。しかし、genotype 2におけるNVR例も極めて少ないが存在し、その機序については不明な点が多い。そこで、筆者らは、genotype 2においてもRIG-I/IPS-1系を中心とする自然免疫系遺伝子の発現状態とPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果を検討した。それによると、genotype 2においても、NR例(n=7)ではSVRに比しISG15発現、RIG-I/IPS-1比およびRIG-I/RNF125比は高値であった(図7)。したがって、genotype 1bで認められた自然免疫系遺伝子発現と治療効果との関連は、genotype 1にかかわりなく認められる現象と考えられた。

自然免疫系遺伝子の経時的発現と治療効果

前述のように、RIG-Iなどの治療前における肝内遺伝子発現は、PEG-IFN/RBV併用療法不応例であるNVRで高発現していることがわかったが、PEG-IFN/RBV投与による反応性はどのようになっているであろうか。そこで、筆者らは、末梢血単核球中における、RIG-I、ISG15、USP18、RNF125およびIPS-1のPEG-IFN/RBV投与前後における経時的遺伝子発現動態を解析した²⁾(図8)。その結果、RIG-I、ISG15、USP18の発現量は、PEG-IFN/RBV投与の8時間後に治療前の30~120倍となり、治療により強く誘導されることがわかった。さらに、この遺伝子誘導は最終的にウイルスが駆除されたSVR例で高い傾向を認め、外因性IFNによる遺伝子の誘導能と治療効果との間に関連があることが示唆された。一方、抑制系遺伝子であるRNF125はRIG-Iの発現動態とは

図8 PEG-IFN/RBV併用療法治療中における自然免疫系遺伝子の発現動態と最終治療効果
[末梢血単核球における検討]



Asahina Y et al: *Gastroenterology* 134: 1396-1405, 2008. 改変

対照的で、PEG-IFN/RBV投与で抑制され投与後8時間で最低値となったが、その後発現が亢進しRIG-Iの発現が最も誘導された投与後48時間後にピークとなり、RIG-Iの発現が抑制されるにたがって168時間後に治療前値に復した。このように、RNF125は実際の治療状態において、精巧にRIG-I系を制御していると考えられた。これらの分子の発現動態と異なって、IPS-1の発現動態はPEG-IFN/RBV投与により大きく影響は受けないことが観察され、治療中もconstitutiveに発現していることが示唆された。

宿主自然免疫系が治療効果へ関与するメカニズム

宿主自然免疫系が実際のPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果にどのように関わるかのメカニズムの詳細については、未だ十分解明されていない。上述したように、筆者らの検討では、RIG-I, ISG15, USP18などのIFN誘導遺伝子はHCV感染による内因性IFNによりC型慢性肝炎患者において高発現しているが、PEG-IFN/RBV併用療法に不応性であるNVR例でより治療前の肝内発現が亢進していることがわかった。反対に、これらの遺伝子のIFN投与による反応性はSVR例でNVR例に比しより良好であることが観察された。このことから、NVR例では治療前に内因性IFNにより自然免疫系がすでにup regulationされているため、治療である外因性IFNに対する

反応性が現弱していることが示唆され、IFNに対する不応性のメカニズムを探る糸口になると考えられた。IFNに抵抗性を示す特定のHCVがこのような宿主の不応性を惹起するのか、宿主免疫自体に問題があるのかは不明であるが、これまでの筆者らの検討ではHCVコア遺伝子変異は自然免疫系遺伝子発現に関与していなかった。しかし、今後HCV全長遺伝子の解析などHCVと自然免疫との関連について詳細に検討する必要があると考えられた。

今回の筆者らの検討では、IPS-1はNVR例でRIG-Iと対照的にその発現がより低値であった。ウエスタン・ブロットにおいてこの低発現は蛋白レベルでも確認されたが、そのメカニズムは十分明らかではない。これまでの報告ではHCVは自身のNS3/4AセリンプロテアーゼによりIPS-1を分解し巧みにRIG-I/IPS-1系から逃避する可能性が示唆されているが¹⁶⁾、HCVが何らかの機序で転写レベルでもIPS-1を抑制している可能性は否定できない。この点については、HCVの治療抵抗性を解明し治療法を開発する上で極めて重要であり、今後のさらなる検討が期待される。

プロテアーゼ阻害薬治療中の 自然免疫系遺伝子発現の経時的変化

現行のPEG-IFN/RBV併用療法に対して不応性であるNVR例に対しては、プロテアーゼ阻害薬などの新薬による治療が期待される。プロテアーゼ阻害薬は、HCVのNS3/4Aセリン・プロテアーゼを阻害することによりHCVの複製を強力に直接抑制することで主に抗ウイルス効果を発揮する。一方、NS3/4Aセリン・プロテアーゼがプロテアーゼ阻害薬により抑制されることにより、RIG-I/IPS-1系を中心とする宿主自然免疫能が改善することもプロテアーゼ阻害薬の効果として想定される。

筆者らは、テラプレビル単独で治療した症例において、治療中のRIG-I, IPS-1, ISG15, RNF125などの末梢血単核球中の経時的遺伝子発現について検討し、テラプレビル単独投与による強力な抗ウイルス効果に伴いRIG-Iなどの発現が低下する症例が多いことを認めており、さらに抗ウイルス効果による差について検討中である。

おわりに

これまで述べてきたように、RIG-I/IPS-1系の遺伝子発現は治療効果に深く関与しており、これらの遺伝子発現プロファイルを解析することはPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果予測に有用と考えられた。すなわち、HCV感染により誘導される自然免疫は治療効果と密接に関連し、これらを解析することは治療効果予測や治療抵抗性の機序の解明、さらに自然免疫系を標的とした治療法の開発に有用である。さらに、最近宿主IL28B遺伝子のSNPsがPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果に極めて強く関与することが報告された^{17) 18)}。自然免疫系の中心的役割を果たすI型IFNとIL28B遺伝子のコードするIFN- λ との関連などIFN抵抗性の機序に関わる今後の研究が期待される。