

〈文献〉

- 1) Zeuzem S, Pawlotsky JM, Lukasiewicz E et al : DITTO-HCV Study Group. International, multi-center, randomized, controlled study comparing dynamically individualized versus standard treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 43 : 250-257, 2005.
- 2) Asahina Y, Izumi N, Hirayama I et al : Potential relevance of cytoplasmic sensors and related regulators involving innate immunity in antiviral response. *Gastroenterology* 134 : 1396-1405, 2008.
- 3) Biron CA : Initial and innate responses to viral infections-pattern setting in immunity or disease. *Curr Opin Microbiol* 2 : 374-381, 1999.
- 4) Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T et al : The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat Immunol* 5 : 730-737, 2004.
- 5) Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K et al : Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J Immunol* 175 : 2851-2858, 2005.
- 6) Meylan E, Curran J, Hofmann K et al : Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature* 437 : 1167-1172, 2005.
- 7) Kawai T, Takahashi K, Sato S et al : IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat Immunol* 6 : 981-988, 2005.
- 8) Seth RB, Sun L, Ea CK et al : Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF 3. *Cell* 122 : 669-682, 2005.
- 9) Xu LG, Wang YY, Han KJ et al : VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN-beta signaling. *Mol Cell* 19 : 727-740, 2005.
- 10) Zhao C, Denison C, Huibregtse JM et al : Human ISG15 conjugation targets both IFN-induced and constitutively expressed proteins functioning in diverse cellular pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 10200-10205, 2005.
- 11) Schwer H, Liu LQ, Zhou L et al : Cloning and characterization of a novel human ubiquitin-specific protease, a homologue of murine UBP43 (Usp18). *Genomics* 65 : 44-52, 2000.
- 12) Malakhov MP, Malakhova OA, Kim KI et al : UBP43 (USP18) specifically removes ISG15 from conjugated proteins. *J Biol Chem* 277 : 9976-9981, 2002.
- 13) Arimoto K, Takahashi H, Hishiki T et al : Negative regulation of the RIG-I signaling by the ubiquitin ligase RNF125. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 7500-7505, 2007.
- 14) Li XD, Sun L, Seth RB et al : Hepatitis C virus protease NS3/4A cleaves mitochondrial antiviral signaling protein off the mitochondria to evade innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 17717-17722, 2005.
- 15) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y et al : Prediction of response to pegylated interferon and ribavirin in hepatitis C by polymorphisms in the viral core protein and very early dynamics of viremia. *Intervirology* 50 : 361-368, 2007.
- 16) Loo YM, Owen DM, Li K et al : Viral and therapeutic control of IFN-beta promoter stimulator 1 during hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 : 6001-6006, 2006.
- 17) Dongliang G, Fellay J, Thompson AJ et al : Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009.
- 18) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M et al : Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009.

* * *

8

C型肝炎ウイルス変異と治療反応性

坂本 穰, 榎本信幸

C型慢性肝炎は、C型肝炎ウイルス(HCV)の持続感染と宿主の不完全な免疫応答の結果、壊死炎症反応が持続することで生じ、多くの場合、肝硬変・肝癌へと進展する。したがって、治療の第一の目標はHCVの排除であるが、現在、これを可能とするのはインターフェロンを用いる抗ウイルス療法のみである。従来のインターフェロン単独療法ではウイルス排除(sustained virological response: SVR)率は30%程度にすぎなかったが、現在の標準療法であるペグインターフェロン+リバビリン併用療法を行えば、約70%の症例でウイルス排除が可能となった。しかし、難治とされる genotype 1b かつ高ウイルス量の慢性肝炎に対する治療成績は、併用療法を48週間行っても、約半数でウイルス排除が可能であるにすぎない。この、インターフェロン治療反応性の違いについては、さまざまな検討がなされてきたが、ウイルス側の要因として、C型肝炎ウイルスの遺伝子型(genotype)をはじめとする、さまざまな遺伝子変異の存在が明らかになってきた。したがって、治療開始前にHCVの遺伝子解析を行うことで、より詳細な治療効果予測が可能となり、治療適応の決定や治療法・治療期間の決定に重要な情報を得ることができるようになった。また、これらに、年齢・性別・肝線維化などの個々の宿主因子を加えれば、さらに詳細な治療効果予測が可能となり、個別化医療にも応用できると考えられる。

I HCV 遺伝子型

HCVは、RNAウイルスであるため遺伝子の修復機構を持たず、約20%の塩基配列が異なる遺伝子型が存在する。世界では少なくとも1~6

の遺伝子型(genotype)が存在することが明らかになっているが、わが国では、ほとんどが、1b, 2a, 2b型であり、1bが70%、2aが20%、2bが10%を占める。遺伝子型測定は、現在健康保険の適応ではないため、日常臨床の現場ではセログループ(serogroup)が用いられ、グループ1は1b、グループ2は2a, 2b型に相当する。

遺伝子型ごとのインターフェロン治療効果は大きく異なるが、感受性が最も高いのは2a型で、2b, 1bの順で感受性が劣る。従来のインターフェロン単独療法の治療成績は2aが70%、2bが50%、1bが20%程度であった。しかし現在のペグインターフェロン+リバビリン併用療法では、2a型ないしは2b型では非常に高いウイルス排除率が期待できるため、遺伝子型が判定できなくとも、セログループ2であれば治療効果は高いと考えられる。一方、インターフェロンの治療効果は、ウイルス量によっても規定され、ウイルス量が少ないと治療効果が高く、多いとウイルス排除率は低い。現在わが国では、初回治療の場合、高ウイルス量症例のみペグインターフェロン+リバビリン併用療法が認められており、標準治療期間も1b型の場合は48週であるが、2a型ないしは2b型(セログループ2)は24週間である。当科および関連施設で組織する共同研究 Yamanashi-PEG-interferon+2b-Ribavirin Study (Y-PERS)で集積された症例の検討では、高ウイルス量症例に対するペグインターフェロン+リバビリン併用療法のSVR率は、1b型に対する48週治療、2a型および2b型の24週治療で、それぞれ45%(63/140)、77%(17/22)、68%(13/19)であった(図1)。

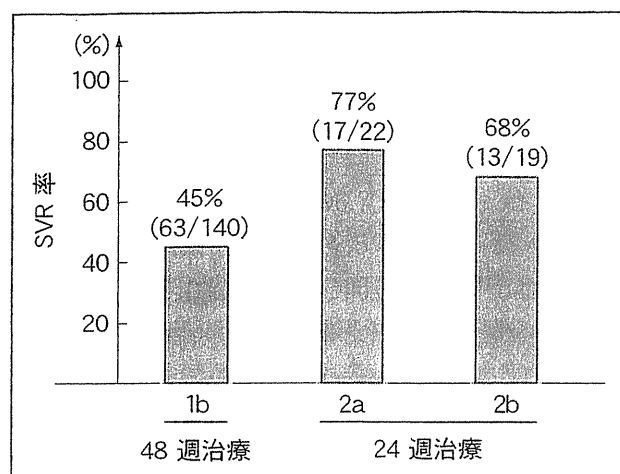


図1 高ウイルス量症例に対するペグインターフェロン+リバビリン併用療法のSVR率

II ISDR(インターフェロン感受性決定領域)

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末端よりの40アミノ酸が治療効果と密接に関連することをEnomotoらが明らかにし、この領域はISDRと命名されている¹⁾。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)では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)では極めて高い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になっている。同様に、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法において検討すると、治療効果予測因子として、宿主因子を含めて多変量解析を行うと、ISDR変異2個以上が最も重要な因子であることが明らかになった²⁾(表1)。この結果は、ISDR変異は治療効果に関与する重要な因

子であることを示すほか、インターフェロン単独療法では4個以上の変異がSVR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+リバビリン併用療法では、2個以上の変異があればSVRが期待できるということの意味する。

また、ISDRはウイルス量とも関連し、ISDRに変異がみられる場合にはウイルス量が低くなる傾向がある。しかし、実際にはISDRに変異が少なくてもウイルス量の低い症例も存在し、この症例は治療抵抗性を示す。一方、ウイルス量が多くてもISDRに変異が多ければ治療感受性であり、高い治癒率が得られる。また、わが国で難治とされる高齢・女性ではISDRに変異のみられる症例が少ないことから、この群で治療効果が劣る理由のひとつと考えられる。さらに、ISDR解析は2a/2b型においてもISDRはインターフェロン感受性と関連しており、変異数が多いほど治療効果は高いことが明らかになっている。また、2a型の多くの症例はISDR変異が多く、2b型の多くはISDR変異が少ないことから、2a型が2b型に比して治癒しやすい理由である可能性がある。

III コア遺伝子領域

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することは事実であり、とくに、ISDR変異数0ないしは1の症例でも、約30%はSVRとなるが、約25%の症例では、ほとんどウイルス量が減少しない高度抵抗性を示す。そこでわれわれは、ISDR変異数0ないしは1の症例で、他のウイルス学的条件と臨床的条件がそろった症例で、4週投与でウイルス量の減少

表1 ペグインターフェロン/リバビリン併用療法(1b)のSVRに寄与する因子(多変量解析)(n=140)

	オッズ比(95%CI)	p値
年齢(<60歳/≥60歳)	0.453(0.191~1.073)	0.0719
肝線維化(F1/F2~4)	0.356(0.152~0.833)	0.0173
HCVコア蛋白量	0.454(0.196~1.055)	
ISDR(変異数<2/≥2)	5.125(1.590~16.520)	0.0062

多変量ロジステック回帰分析

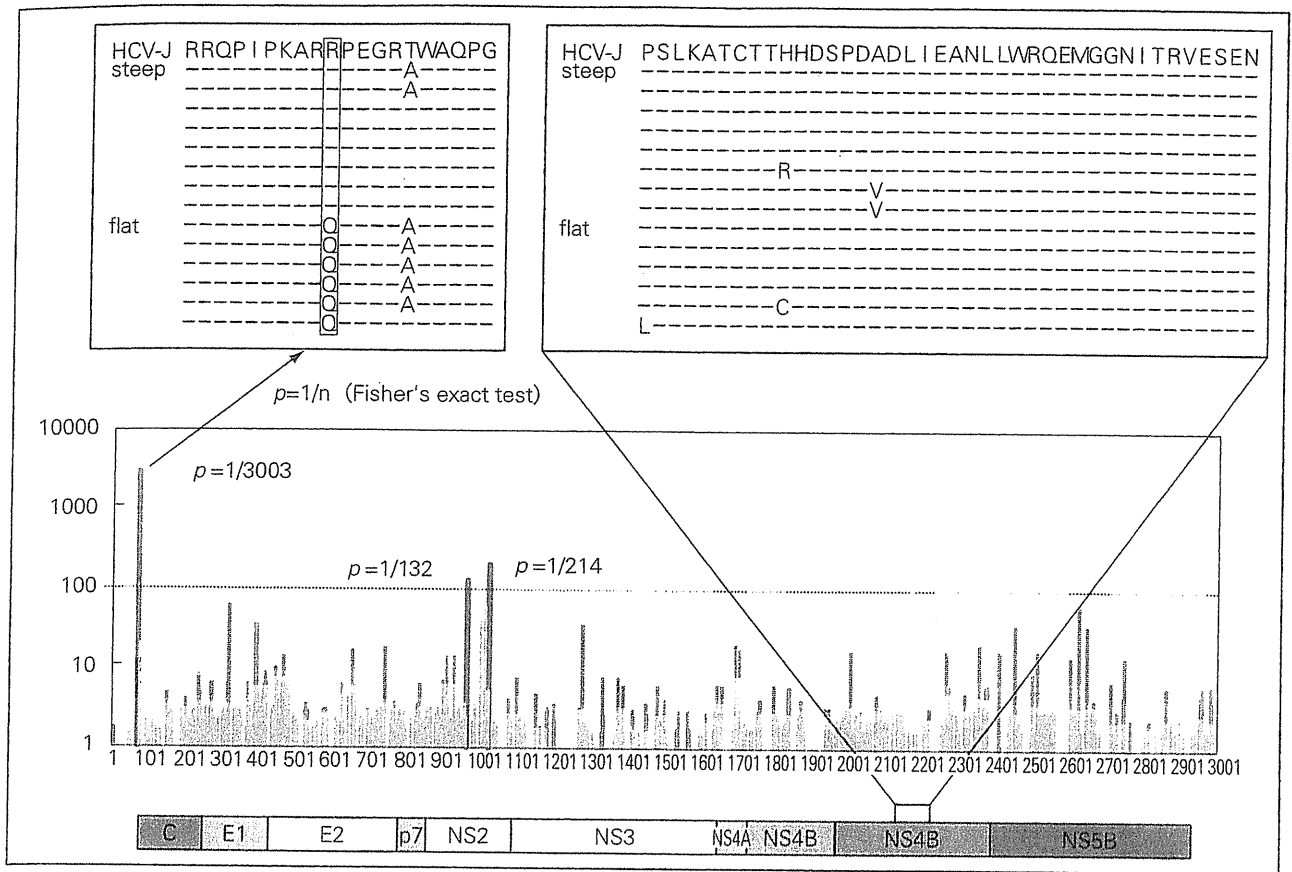


図2 ISDR0~1症例のHCV全長解析：各アミノ酸部位での反応の差
steep viral responder ($n=8$) vs. flat viral responder ($n=6$)

が1 log未満の平坦反応群と、4週投与でウイルス量が2 log以上減少する急峻反応群について、HCVの全遺伝子配列を決定し、HCV蛋白のすべてのアミノ酸部位についてその残基の相違を解析した。その結果、両者に相違がみられたのは、コア領域とNS2領域のアミノ酸であり、統計学的に有意な差がみられたのはコア領域の70番目のアミノ酸のみであった(図2)。すなわち急峻反応群では、この領域はすべての症例でアルギニン(R)であるのに対して、平坦反応群ではすべてグルタミン(Q)であった。さらにこの領域に注目してretrospectiveに、インターフェロン治療効果とこのアミノ酸変異との関連を検討すると、ISDRが0ないしは1の難治が予測される症例であっても、このアミノ酸がRであれば高率にSVRが期待できるものの、Qに変異しているとインターフェロン治療反応性が極めて悪いため治療中断例や、治療完遂してもSVRにならない症例が多数を占めていた。すなわち、ISDR変異

数0.1かつコア70番がQでは18例全例で治療効果が不良のため治療中止されており、最終的に1例もSVRが得られなかった。一方、ISDR 0.1でコア70番がRであれば63%がSVRとなっていた。とくに、治療4週までにウイルス消失したrapid viral response(RVR)の症例では14例全例、12週までにウイルス消失したearly viral response(EVR)の症例16例中13例(81%)でSVRとなっていた(図3)。一方、コア70番がQの難治例であっても、治療早期にウイルスが消失した症例では、治療期間を72週に延長することでSVRが得られており、ウイルス学的に難治例であっても、治療法の工夫をすればウイルス排除が可能であった。また、ISDR変異が2個以上あるインターフェロン感受性HCVでは、コア70番がRの場合とQの場合があるが、これにかかわらず高い頻度で著効となる。しかし、まれにISDR変異型でもペグインターフェロン+リバビリン併用療法で著効とならない症例があるがこの

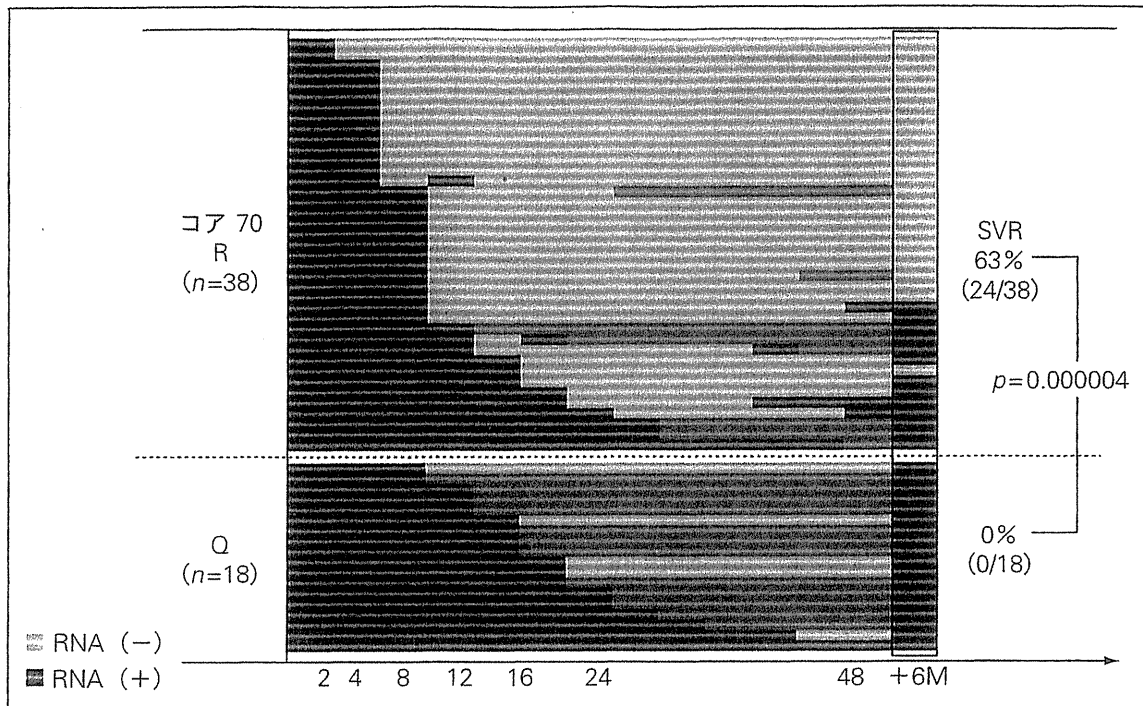


図3 コア蛋白変異とウイルス消失時期, SVR(1b-ISDR 0・1)

場合コア70番はQである。コア領域のアミノ酸置換がインターフェロン+リバビリン療法の治療効果と関連するとの報告はDonlinよりなされており³⁾、また、Akutaらも、コア領域の70番目と91番目のアミノ酸に変異がみられるとインターフェロン治療効果が劣り、とくに50歳以上の女性ではその傾向が顕著であることを報告している⁴⁾。コア蛋白70番のアミノ酸変異がペグインターフェロン+リバビリン併用療法の効果に影響を与える機序は今のところまったくわかっていない。しかし、コア蛋白の機能解析により、SOCS活性化によるSTATおよびIRS分解からインターフェロン抵抗性およびインスリン抵抗性を惹起するという仮説が提唱されている。コア70番変異によりこれらのコア蛋白機能が変化すれば、この仮説が裏づけられることとなり今後の研究の焦点となっている。

果は、遺伝子型、ISDR、コア70番変異の3つの遺伝子因子によって規定されることが明らかになり、これらの遺伝子解析により治療効果を事前に予測することはもはや不可能ではなくなった。今後、ウイルスの感受性を分析したうえで、宿主因子も加えて個々に治療方針を決定する、個別化医療の実現する日も近いと考えられる。

文献

- 1) 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
- 2) 坂本 穰, 榎本信幸: ウイルス性慢性肝炎—診断と治療の進歩. *日内会誌* 97: 57-63, 2008
- 3) Donlin M 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
- 4) 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

N HCV 遺伝子解析と個別化医療の可能性

C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療効

最新医学・別冊 新しい診断と治療の ABC 62 (別刷)

アルコール性肝障害

第4章 アルコール性肝障害の診断と治療

ウイルス性肝炎へのアルコールの影響

井上泰輔 坂本 穰 榎本信幸

最新医学社

第4章 アルコール性肝障害の診断と治療

ウイルス性肝炎へのアルコールの影響

要旨

飲酒の影響によりウイルス性肝炎の進行は速められ、予後は短縮する。しかし、禁酒が徹底されれば、C型慢性肝炎に対する Peg-IFN α 2b-リバビリン併用療法で非飲酒者と比較し遜色ない治療効果が期待できる。そのため、ウイルス性肝炎患者での常習飲酒者へは適切な禁酒指導が必要で、禁酒可能な症例では積極的なインターフェロン (IFN) 治療が勧められる。

はじめに

我が国の慢性肝疾患患者はウイルス性、特にC型肝炎ウイルス感染によるものが最多を占めるが、これらウイルス性肝炎患者群においても常習飲酒者が存在する。そして、両者の合併により慢性肝疾患の進行は速められ、また抗ウイルス治療に対してのウイルス学的効果や治療への受け入れ、継続に対しての問題などが予想される。本稿ではウイルス性肝炎への飲酒によるアルコールの影響を、C型肝炎ウイルス (HCV) 感染例を中心に山梨大学医学部附属病院消化器内科における経験を含めて述べる。

ウイルス性肝炎合併アルコール性肝障害患者の疫学

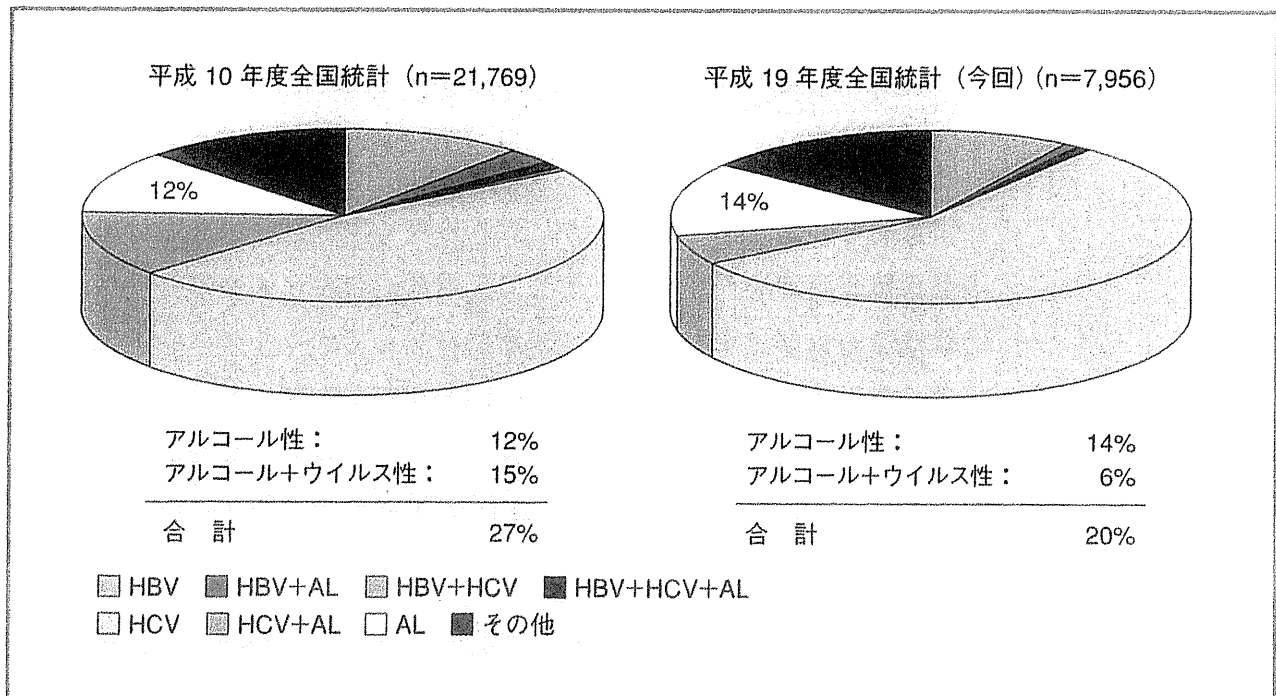
平成 19 年度に報告された、全国の日本消化器病学会認定施設、関連施設を対象としたアルコール性肝障害患者のアンケート調査において、アルコール性肝障害患者の肝硬変患者に占める割合は 20.1% であり、このうちアルコール単独によるものは 13.9%、B型肝炎ウイルス (HBV) との合併例は 0.9%、HCV との合併は 5.2%、HBV と HCV を加えたウイルス性肝炎合併例は 6.2% であった (表1)¹⁾。これをウイルス性肝炎側からみると、HBV 患者に占めるアルコール例

● キーワード

ウイルス性肝炎
アルコール
C型慢性肝炎
B型慢性肝炎
インターフェロン療法

表1 我が国における肝硬変の成因（文献¹⁾より引用）

	総数 (%)	男 (%)	女 (%)
B 型肝炎	756 (9.5 %)	586 (11.5 %)	170 (5.9 %)
うちアルコール性	72 (0.9 %)	69 (1.4 %)	3 (0.1 %)
C 型肝炎	4,835 (61.4 %)	2,941 (57.8 %)	1,894 (65.9 %)
うちアルコール性	414 (5.2 %)	364 (7.2 %)	50 (1.7 %)
B+C 型肝炎	82 (1.0 %)	55 (1.1 %)	27 (0.9 %)
うちアルコール性	11 (0.1 %)	11 (0.2 %)	0 (0 %)
アルコール性	1,106 (13.9 %)	984 (19.3 %)	122 (4.2 %)
その他	1,177 (14.7 %)	518 (10.2 %)	659 (22.9 %)
合計	7,956	5,084	2,872
うちアルコール性	1,603 (20.1 %)	1,428 (28.1 %)	175 (6.1 %)

図1 肝硬変の成因（全国調査）（文献¹⁾より引用）

は 9.5%，HCV では 8.6%，両者を加えるとウイルス性肝硬変患者の 8.8% にアルコール性肝障害を合併していた。この結果を平成 10 年度における同様の検討と比較すると、アルコール単独例は 12.1% から 14% へと増加しており、ウイルス性肝炎合併例は 15% から 6.2% へと減少していた（図 1）。この変化の要因としては、インターフェロン（IFN）治療を中心としたウイルス性肝炎への治療法の進歩に

よりウイルス性肝炎由来の肝硬変例の割合が減少したことや、肝炎ウイルス感染者での医療機関従事者からの節酒、禁酒指導の効果により合併例における常習飲酒者が減少したためと推察される。しかし、アルコール性肝障害の疫学には国内においても、地域や病院規模、大学病院と市中病院での違いなどが大きく関与しており、依然として合併例の多い施設も存在し、今後とも医療機関受診や禁酒指導の徹底は重要と思われる。

アルコールによるウイルス性肝炎の進行

ウイルス性肝炎での免疫応答による肝細胞障害とアルコールによる肝障害は、それぞれ慢性肝疾患を進行させる要因であるが、両者の合併により進行速度が速められ、結果としてより若年で肝硬変、肝癌へ進行すると考えられている。Otani ら²⁾は HCV コアタンパクとアルコール代謝酵素であるシトクロム P450 2E1 の共存により、ミトコンドリアにおいて活性酸素が産生され、肝細胞障害が亢進するとしている。また、飲酒によりウイルス性肝炎の線維化の進行や肝硬変完成までの期間、さらには生命予後が早められるという報告が数多くなされている。Poynard ら³⁾は 1,157 例の C 型慢性肝炎症例を 1 日飲酒量で 50 g 以上、50 g 未満、0 g と 3 群に分けて年率の肝組織線維化進行速度を検討したところ、F0 線維化なしから F4 肝硬変までの進行はそれぞれ 1 年で 0.167 単位、0.143 単位、0.125 単位と飲酒量に応じて速まり、この速度から推定される肝硬変完成までの期間はそれぞれ平均 24 年、28 年、32 年と飲酒量が増えるに従って短期間であると報告している。Marcellin らの報告⁴⁾では 331 例の HCV 関連死亡例中、週 350g 以上の飲酒例は 35% 存在し、飲酒例と非飲酒例での平均死亡時年齢は 58 歳と 70 歳であり飲酒例で有意に若年であった。同論文での 86 例の HBV 関連死亡例でも同様に 52 歳と 64 歳で、飲酒例において有意に若年であった。

アルコールによるウイルス性肝疾患の進行への影響を検討するため、当科での肝硬変患者における入院時年齢を飲酒歴に応じて分類し比較した。1997～2007 年の間に当科に入院した肝硬変患者 583 例を成因別に分類すると、C 型 368 例 (63.2%) 平均 66.8 ± 9.7 歳、B 型 68 例 (11.7%) 平均 54.3 ± 11.6 歳、アルコール性 48 例 (8.2%) 平

表2 肝硬変患者の入院時年齢

	飲酒群	少量群	非飲酒群
C型肝硬変 (n=368)	61.3 ± 10.7 (n=57)	65.7 ± 8.0 (n=104)	69.1 ± 8.8 (n=207)
B型肝硬変 (n=68)	52.0 ± 9.6 (n=10)	51.5 ± 12.3 (n=25)	57.4 ± 11.8 (n=33)
アルコール性肝硬変 (n=48)	61.0 ± 12.5 (n=48)	—	—

* P<0.01

(山梨大学第一内科 1997 ~ 2007 年)

均 61.0 ± 12.5 歳であった⁵⁾。C型肝硬変 368 例を 1 日飲酒量で 3 合以上の飲酒群 57 例，3 合未満の少量群 104 例，非飲酒群 207 例に分類し入院時年齢を比較すると，それぞれ 61.3 ± 10.7 歳，65.7 ± 8.0 歳，69.1 ± 8.8 歳と，飲酒量が多いほど若年であり，それぞれに統計学的有意差を認めた (p<0.01, Kruskal-Wallis-H-test, Mann-Whitney-U-test with Bonferroni Correction) (表2)。大学病院である当科へ入院する肝硬変患者の多くは肝細胞癌を始めとする合併症などへの積極治療が必要な症例であり，入院時年齢の差はこうした積極治療を要する状態へ進行する期間の違いを表すと考えられる。今回の検討では，飲酒者でC型肝硬変は早期に完成し合併症を来し，飲酒量の程度によっても進行速度に違いがあると推測される。B型肝硬変 68 例では飲酒群 10 例，少量群 25 例，無飲酒群 33 例での平均入院時年齢はそれぞれ 52.0 ± 9.6 歳，51.5 ± 12.3 歳，57.4 ± 11.8 歳であった (表2)。B型肝硬変はC型と比較し若年で肝硬変となるため差が出にくく，また今回は少数例での検討であったため統計学的有意差は認めなかったが，飲酒群，少量群は無飲酒群に比較し若年であった。

アルコールによるC型肝炎ウイルス (HCV) 増殖の促進

C型慢性肝炎患者での飲酒，あるいは HCV レプリコン発現細胞へのアルコール投与により HCV の増殖は促進されるとの報告が多い。Pession ら⁶⁾のC型慢性肝炎患者 233 例中 110 例の飲酒群 (191 g/週)

では血中 HCV-RNA 量は平均 $41 \text{ meq} \cdot 10^{-5}$ であり、非飲酒群 123 例での平均 $24 \text{ meq} \cdot 10^{-5}$ と比較し有意に高値であった。Romero-Gomez ら⁷⁾ は 50 例の C 型慢性肝炎患者において、肝組織中の HCV-RNA 量を測定し飲酒量との間に正の相関を認めている。McCartney ら⁸⁾ および Zhang ら⁹⁾ は HCV レプリコン細胞へのアルコール投与によりレプリコン RNA は濃度依存性に増殖が増強され、このアルコールの作用には前者ではシトクロム P450 2E1 が、後者では NF- κ B と内因性オピオイドの活性化が必要であるとしている。こうしたアルコールによる HCV の増殖に対するメカニズムの検討はまだまだ十分とは言えないが、免疫抑制作用が 1 つの可能性として考えられている。Norkina ら¹⁰⁾ は JAK/STAT 経路を抑制する SOCS1/SOCS3 の発現がアルコール摂取により増強されることを報告している。また、Szabo ら¹¹⁾ はアルコール摂取後、単球や樹状細胞などの抗原提示細胞機能低下を介した抗原特異的 T 細胞の活性低下と、IFN γ の産生低下、インターロイキン (IL)-10, IL-13 の増加を報告している。

C 型慢性肝炎に対する IFN 治療へのアルコールの影響

C 型慢性肝炎患者に対し IFN 治療の適応を検討する際には、性、年齢、組織学的進行度、活動性、ウイルス型、ウイルス量、IFN 感受性決定領域 (ISDR) やコアタンパク変異、合併症などを総合的に評価することとなるが、常習飲酒者へは禁酒を指導し、もしも禁酒が徹底できなければ導入は見合わせるというのが一般的な対応と思われる。現在進行形での飲酒者へは通常治療を行なわないため、IFN 治療と飲酒の関連についての文献も過去の飲酒量や禁酒期間の治療効果への影響についての検討がほとんどである。IFN 単独療法での報告の多くは、過去の飲酒者では非飲酒者と比較し著効率が低いと結論している¹²⁻¹⁴⁾。Anand ら¹⁵⁾ による IFN α 2b-リバビリン併用療法での報告では、406 例の多量飲酒群 (6 杯以上/日) での著効率は 19% で、142 例の非飲酒群での著効率 20% と差を認めなかったが、早期脱落率を禁酒期間 12 ヶ月未満と 12 ヶ月以上とに分けて検討すると、前者では 40%、後者で 26% と有意差を認めている。Chang ら¹⁶⁾ による Peg-IFN α 2b-リバビリン併用療法での検討では、34 例の著効群の過去の飲酒量は平均 10 g/日、81 例の非著効群では 62 g/日であり有

表3 PEG-IFN, リバビリン併用療法における飲酒量別の治療効果と背景因子

	飲酒群 (n=15)	少量群 (n=44)	非飲酒群 (n=70)
SVR 率 (%)	46.7 %	50.0 %	57.1 %
年齢	52.4 ± 8.6	55.5 ± 7.7	54.6 ± 10.9
男:女	14:1	38:6	26:44
ウイルス量 (KIU/ml)	1682 ± 1457	1598 ± 1211	1628 ± 1253
γ-GTP (IU/L)	104.7 ± 74.2	58.7 ± 36.2	48.0 ± 34.3
ALT (IU/L)	99.5 ± 58.4	86.1 ± 65.1	87.7 ± 60.5
Plt (10 ⁹ /ml)	14.5 ± 5.0	14.3 ± 4.7	15.0 ± 4.9

* P<0.01

(山梨大学第一内科 2004 ~ 2008 年)

略語: 巻末の略語集参照

意差を認めている。しかし, intention-to-treat 解析では差を認めた
が, 脱落例を除いた per-protocol 解析では有意差なしと考察してい
る。これら2つの報告から, リバビリン併用療法では, 治療が完遂で
きれば過去の飲酒例においても非飲酒例と遜色ない治療効果が期待で
きるが, 飲酒歴は脱落率と相関すると考えられた。

飲酒による IFN 治療効果への影響の評価のため, 2004 ~ 2008 年
の間に当科にて1型高ウイルス量のC型慢性肝炎に対して Peg-
IFN α 2b-リバビリン併用療法を導入した129例を, 過去の飲酒量別
に1日3合以上の飲酒群, 3合未満の少量群, 非飲酒群の3群に分類
し検討した。全例で治療期間中の禁酒は徹底された。飲酒群15例で
の著効率は46.7%, 少量群44例では50%, 非飲酒群70例では
57.1%であり, 3群間に有意差は認めなかった(表3)。飲酒群と少
量群では非飲酒群と比較し有意に男性が多く, γ -グルタミルトラン
スフェラーゼ(γ -GT)値は飲酒群で少量群と非飲酒群に比較し有意
に高値であった。年齢, ウイルス量, アラニンアミノトランスフェラ
ーゼ(ALT)値, 血小板数では3群間に有意差を認めなかった。こ
の結果から, 治療期間中の禁酒が徹底されていれば過去の飲酒量にか

かわらず抗ウイルス効果が期待できるため、常習飲酒者へは禁酒指導を行い、受け入れがよければ積極的に抗ウイルス療法を検討すべきと考える。

おわりに

ウイルス性肝炎患者では飲酒により慢性肝疾患の進行が速められ、合併症の発症や死亡までの期間が短縮されると考えられる。また、C型慢性肝炎における Peg-IFN α 2b-リバビリン併用療法では禁酒の徹底により非飲酒者と変わらない抗ウイルス効果が期待できる。そのため、すべてのステージの慢性ウイルス性肝炎患者で禁酒、節酒の指導を徹底するべきで、禁酒可能なC型慢性肝炎例においては積極的なIFN治療の導入が望ましい。

井上 泰輔・坂本 穰・榎本 信幸

文献

- 1) 堀江義則: アルコール性肝硬変の実態と性差についての研究 平成 19 年度厚生労働科学研究費報告書. わが国における飲酒の実態ならびに飲酒に関連する生活習慣病, 公衆衛生上の諸問題とその対策に関する総合的研究. p121, 2008.
- 2) Otani K, et al: Hepatitis C virus core protein, cytochrome P450 2E1, and alcohol produce combined mitochondrial injury and cytotoxicity in hepatoma cells. *Gastroenterology* 128: 96-107, 2005.
- 3) Poynard T, et al: Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 349: 825-832, 1997.
- 4) Marcellin P, et al: Mortality related to chronic hepatitis B and chronic hepatitis C in France: Evidence for the role of HIV coinfection and alcohol consumption. *J hepatol* 48: 200-207, 2008.
- 5) 門倉 信, 他: 肝硬変の成因別実態. 肝硬変の成因別実態 2008 (恩地森一 監), p161. 中外医学社, 東京, 2008.
- 6) Pessione F, et al: Effect of alcohol consumption on serum hepatitis C virus RNA and histological lesions in chronic hepatitis C. *Hepatology* 27: 1717-1722, 1998.
- 7) Romero-Gomez M, et al: Intrahepatic hepatitis C virus replication is increased in patients with regular alcohol consumption. *Dig Liver Dis* 33: 698-702, 2001.
- 8) McCartney EM, et al: Alcohol metabolism increases the replication of hepatitis C virus and attenuates the antiviral action of interferon. *J Infect Dis* 198: 1766-1775, 2008.
- 9) Zang T, et al: Alcohol potentiates hepatitis C virus replicon expression. *Hepatology* 38: 57-65, 2003.
- 10) Norkina O, et al: Acute alcohol intake induces SOCS1 and SOCS3 and inhibits cy-

21 肝炎ウイルスマーカー

Don't Forget!

- B型肝炎の診断には、HBs抗原とHBc抗体が重要である。
- HBs抗体陽性であっても、免疫抑制・化学療法によりB型肝炎の再活性化により致死的な重症B型肝炎が発症することがある。
- HCV抗体は現在のC型肝炎ウイルス(HCV)感染と過去の感染の両方で陽性になるため、現在の感染の診断にはHCVRNA検査が必要である。

肝炎ウイルスには、主に経口感染するA型肝炎ウイルス(HAV)、E型肝炎ウイルス(HEV)と、主に血液感染するB型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、D型肝炎ウイルス(HDV)がある。これら肝炎ウイルスは、いずれも急性肝炎を発症するため、急性ウイルス性肝炎を疑う場合にはいずれの肝炎も念頭に置く必要がある。このうち、A型肝炎やE型肝炎は急性肝炎で終焉し、慢性化することがない。一方、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎は慢性化し、肝硬変や肝癌へと進展することがあるので注意が必要である。特に、B型肝炎は乳幼児期に感染すると持続感染し、ウイルスが排除されることはまれであるのに対し、成人期での感染では急性肝炎を発症し、ウイルス排除がなされる。また、HDVはHBVと同時に感染するか、HBVキャリアに重複感染するのみでHBVの存在なしに単独では感染しない。またC型肝炎には、いわゆるALT持続正常の慢性肝炎(PNALT)が存在するものの、多くは慢性肝炎を発症する。しかし、HBV、HCVいずれも肝癌と密接に関連していることから、慢性肝炎の原因として、HBVおよびHCVを診断することは極めて重要である。急性ウイルス肝炎と慢性肝炎のウイルスマーカーによる診断を表に示す(表1, 2)。

1 A型肝炎

A型肝炎はHAVの経口感染で起こり、通常2～6週間の潜伏期の後急性肝炎を発症する。小児では肝炎を発症しない不顕性感染もみられるが、成人では60～70%が典型的な肝炎を発症する。このうち1%未満が劇症化するが、多くは一過性感染で終焉し、慢性化することはない。急性A型肝炎の血清学的診断には、IgM-HA抗体の検出が最も重要で、治癒すると中和抗体であるHA抗体が陽性となる。HA抗体にはIgM型、IgA型、IgG型が含まれるが、通常検出されるのはIgG型のHA抗体である。

2 B型肝炎

HBVは感染時期により病態が異なる。すなわち、幼少期に感染すると持続感染しウイルスキャリアとなる。この多くは母児間感染によるものと考えられ、1986年6月からは、公費による妊婦のHBs抗原検査と、HBe抗原陽性者より出生した児に対するHBワクチンとHBIG投与による母児間感染予防事業が行われ、事業開始以降の世代でのHBVキャリア率は激減した。一方、成人期の感染の多くは性行為による水平感染であり、急性肝炎ないしは劇症肝炎などの一過性感染を惹起し、わが国では慢性化することはまれである。しかし、最近遺伝

表1 急性ウイルス肝炎の診断

IgM-HA 抗体	IgM-HBc 抗体	HBs 抗原	HBc 抗体	HCV 抗体	HCV RNA	
+	-	-	-	-	-	A 型急性肝炎
+	-	+	+	-	-	HBV キャリアの急性 A 型肝炎
+	-	-	-	+	+	HCV キャリアの急性 A 型肝炎
-	+	+または-	-	-	-	B 型急性肝炎
-	-または+	+	+	-	-	HBV キャリアからの急性発症または急性増悪
-	-	-	-	+または-	+	C 型急性肝炎
-	+	+または-	-	+	+	HCV キャリアの急性 B 型肝炎
-	-	+	+	+または-	+	HBV キャリアの急性 C 型肝炎
-	-	+	+	+	+	HBV および HCV キャリアからの B 型肝炎発症ないしは急性増悪
-	-	-	-	-	-	非 A 非 B 非 C 型急性肝炎

表2 慢性肝炎の診断

HBs 抗原	HBc 抗体	HCV 抗体	
+	高力価+	-	B 型慢性肝炎
+	+	+	B 型肝炎・C 型肝炎重複感染
-	+	-	B 型慢性肝炎(潜在性)
-	低力価+	-	非 B 非 C 型慢性肝炎
-	-	+	C 型慢性肝炎

子型 A による慢性化例が急増しており、社会問題となっている。

a HBs 抗原, HBs 抗体……………

HBs 抗原は HBV の表面(surface)に存在する蛋白で、この存在は現在の HBV 感染を意味し、これに対する HBs 抗体は HBV 感染の感染防御抗体として働くため、過去の HBV の感染と治癒を意味する。

b HBe 抗原, HBe 抗体……………

HBe 抗原は、HBV の増殖の際に血中に分泌される可溶性蛋白で、HBe 抗原量は HBV の増殖能やウイルス量を反映する。すなわち、HBe 抗原陽性の場合には HBV 量が多く、感染性が高く、肝炎の活動性が高い。一方、これに対する HBe 抗体は、HBV DNA 量の減少や肝炎の沈静化に伴い出現し、この HBe 抗原の seroconversion

は治療の目標とされてきた。しかし、この現象はウイルス学的には年余にわたる持続感染の結果、HBV の core-promoter(CP) ないしは pre-core(Pre-C)に変異が生じ、HBe 抗原の産生が低下するためにみられる現象であり、必ずしも肝炎の沈静化を意味するものではないことが明らかになっている。現在は、CP 変異・Pre-C 変異の検査は保険適用となっている。

c HBc 抗原(コア関連抗原), HBc 抗体……………

HBc(コア)抗原は HBV に内包される蛋白で、従来は測定困難であったが、最近、コア関連抗原量として測定できる検出系が開発された¹⁾。これは逆転写酵素阻害薬を用いた治療中でも治療に阻害されないウイルス増殖を反映するため、治療効果のモニ

ターに有用である。また、HBc 抗原に対する HBc 抗体は、感染早期から検出され血中に長期間存在することから、HBV 感染のマーカーとして用いられる。特に、HBc 抗体が高力価陽性の場合にはたとえ HBs 抗原陰性であっても HBV キャリアの可能性を意味する。また低力価陽性の場合には、HBV 感染既往を意味する。最近、免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策として、厚生労働省研究班からガイドラインが示されている。HBs 抗原陰性でも HBs 抗体陽性または HBc 抗体陽性の場合には、免疫抑制・化学療法により HBV の再活性化が起こり、致死的な重症 B 型肝炎が発症する可能性があることから、HBV DNA が検出感度以上の場合は核酸アナログ製剤による抗 HBV 療法を行うことが推奨されている²⁾。

d IgM-HBc 抗体

IgM-HBc 抗体は、急性 B 型肝炎の感染初期に一過性に血中に出現する。このため B 型急性肝炎の診断に必須の検査として用いられる。HBV キャリアからの B 型肝炎の急性発症や急性増悪の場合にも、陽性化することがあるが、この場合の抗体価は一般に低く、かつ HBc 抗体が高力価陽性を示すことから鑑別可能である。

e HBV DNA 量

HBV DNA 量が B 型肝炎の病態や予後、治療効果予測に重要であることが近年明らかになり、この測定は重要性を増している。特に ALT 正常の非肝硬変患者の追跡で HBV DNA 量は肝発癌の独立した危険因子であり、HBV DNA 5 log copies/mL 以上では相対危険度が 10 倍以上となることが報告されており³⁾、治療ガイドラインでもウイルス量別の治療方針が示されている。すなわち、B 型肝炎の治療適応は、ALT 31 以上で、HBe 抗原陽性例は 5 log copies/mL 以上、HBe 抗原陰性例では 4 log copies/mL 以上、肝硬変例では 3 log copies/mL 以上

である。

f その他の検査

上述の検査のほか、現在は保険適用ではないが、HBV 遺伝子型と HBV ラミブジン耐性変異が測定可能である。すなわち、HBV の遺伝子型は少なくとも A～H の 8 種に分類され、わが国では遺伝子型 B が約 10%、C が 85% 存在することが知られている。遺伝子型 B の B 型肝炎は、HBe 抗原の seroconversion が遺伝子型 C よりも早くみられ予後がよい。また、核酸アナログであるラミブジンに対する耐性変異である HBV の YMDD 変異を直接検出することも可能である。

3 C 型肝炎

a HCV 抗体

HCV 抗体は HCV の非構造蛋白に対する抗体で、複数の蛋白を抗原とし、感染後約 2 か月で陽性化し、その後持続する。しかし、この抗体は感染防御抗体ではなく、現在の HCV の感染と過去の感染既往の両方で陽性になる。通常は前者では高力価、後者では低力価を示すことが多いが、両者の鑑別には HCV RNA 検査が必要である。

b HCV RNA 量

HCV RNA の測定には、現在 real-time PCR 法と HCV コア蛋白量の測定法が用いられている。ウイルス量の測定は、C 型肝炎の治療法決定と治療効果判定に重要である。特に real-time PCR 法で 5 log IU/mL ないしは、HCV コア蛋白 300 fmol/L 以上は高ウイルス量とされ、C 型慢性肝炎の初回治療としてインターフェロン治療を行う際にリバビリン併用が認められている。また、real-time PCR 法の検出感度は 1.2 log IU/mL とされ、現在の測定法では最も高感度である。

c HCV セログループ、遺伝子型

HCV は遺伝子変異に富むウイルスであるため、多くの遺伝子型が存在する。わが

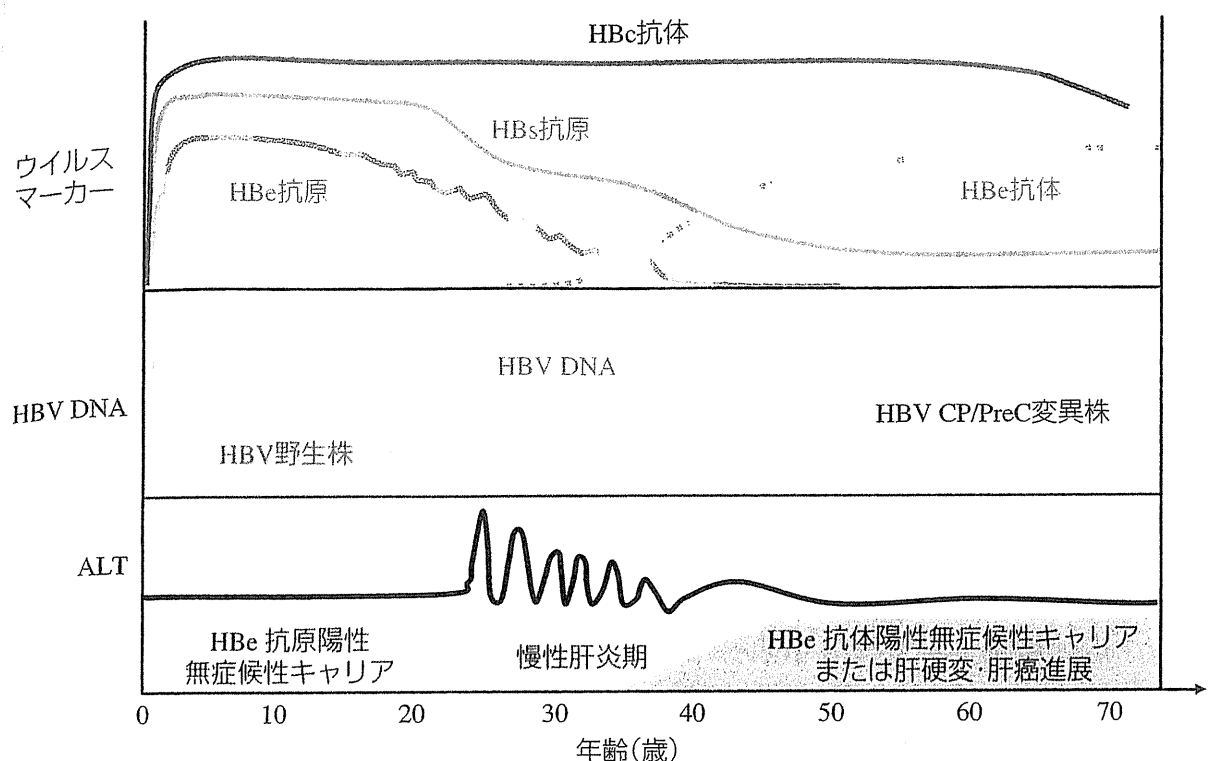


図1 B型肝炎ウイルスキャリアの自然経過

国では、1b, 2a, 2b型が存在し、1b型はセログループ1、2a/2b型はセログループ2に相当する。インターフェロン治療効果は遺伝子型により異なり、2a/2b型では治療効果が高く、1b型では低い。このため、治療方針決定や治療効果予測には極めて重要であるが、現在健康保険で測定できるのはHCVセログループ(群別判定)のみである。

d その他の検査

その他の検査として、HCV 1b NS5A (ISDR)とHCV 1b-IFN/リバビリン変異(コアアミノ酸変異)がある。このうち、ISDRは、HCVの非構造領域(NS)5Aに存在する40アミノ酸からなる領域で1b型のHCVのインターフェロン効果と密接に関連した遺伝子領域である⁴⁾。この領域に4個以上のアミノ酸変異があればIFN単独療法(24~48週)でも治療効果が高く、2個以上ではIFN+リバビリン併用療法48週間で治癒が望めることが明らかになっており、臨床的に有用であるが、現在のところ保険適用ではない。一方、HCVのコア

70番と91番目のアミノ酸変異がIFN+リバビリン併用療法の治療効果に関連することが示されており、ISDRが0ないし1個変異の難治例であっても、コア70番のアミノ酸が野生型(R:アルギニン)であると、治療効果が得られることが明らかになっている⁵⁾。

4 その他の肝炎ウイルスマーカー

このほか、D型肝炎の診断にはHDV抗体、E型肝炎の診断にはHEV抗体、HEV RNAを測定する。HDVはHBVをhelperウイルスとするため、単独では感染せずHBVの存在下でのみ感染する。HDVが重複感染するとB型肝炎が劇症化することが報告されており、B型劇症肝炎の原因検索に必要な場合がある。また、HEVは急性肝炎の原因として最近注目されており、国内での感染例や、人獣共通感染症として急性肝炎の原因の1つと考えられている。しかし、E型肝炎は不顕性感染が存在することやHEV抗体が持続することからE型

肝炎の診断には IgM-HEV 抗体や HEV RNA が用いられる。

文献

- 1) Kimura T, *et al*: *J Clin Microbiol* 2003 ; **41** (5) : 1901-1906
 - 2) 坪内博仁, ほか : *肝臓* 2009 ; **50**(1) : 38-42
 - 3) Chen, CJ, *et al*: *JAMA* 2006 ; **295**(1) : 65-73
 - 4) Enomoto N, *et al*: *N Engl J Med* 1996 ; **334** : 77-81
 - 5) 坂本穰, ほか : *日本消化器病学会雑誌* 2009 ; **106** : 485-492,
-

山梨大学大学院肝疾患地域先端医療システム学 坂本 穰
山梨大学医学部内科学講座第 1 教室(消化器内科) 榎本信幸

トピックス

ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルス研究

今村道雄*

茶山一彰**

はじめに

近年、ウイルス性肝炎に対する治療は飛躍的に進歩し、その治療成績は向上しつつある。しかし、耐性株の出現やインターフェロン (IFN) 療法の限界など、大きな問題点が残されている。これらの問題を克服するためには、肝炎ウイルスが有効に感染する動物モデルを用いた基礎的研究が必要である。しかし有効な動物モデルはいまだ確立されておらず、その原因として肝炎ウイルスがヒトとチンパンジーにしか感染しないことがある。チンパンジーは優れた肝炎ウイルス感染モデルになりうるが、倫理的・経済的に大きな問題を抱えている。よって、チンパンジーに代わるマウスなどの小動物を用いたより実践的な感染モデルが必要である。肝炎ウイルスはヒト肝細胞に発現している受容体を介して感染すると考えられており、通常のマウスに肝炎ウイルスを投与しても感染は認められない。一方、ヒト肝細胞キメラマウスは肝臓が高度にヒト肝細胞に置換されたマウスであり、肝炎ウイルスの投与により、置換されたヒト肝細胞への感染が可能である。ここでは、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルスの生物学的研究および今後の展望について述べる。

ヒト肝細胞キメラマウスの作製

ヒト肝細胞キメラマウスは肝臓がヒトの肝細胞で置換されたマウスであり、マウスにヒト肝細胞を移植して作製する。このマウスは、移植したヒト肝細胞が免疫反応によって拒絶されず

に肝臓中で増殖可能である必要があり、またマウス自身の肝細胞は徐々に死滅する必要がある。そこで、免疫不全の SCID マウスと肝不全を有する uPA トランスジェニックマウスを掛け合わせて uPA/SCID マウスが作製された。この uPA/SCID マウスの脾臓にヒト肝細胞を注入することで、ヒト肝細胞キメラマウスを作製した (図1)。キメラマウスの肝臓のヒト肝細胞への置換率は、ヒト肝細胞に特異的な抗体であるヒトアルブミン抗体による免疫染色、およびマウス血中ヒトアルブミン濃度により算出した。その結果、90% 以上がヒト肝細胞で置換されたキメラマウスが作製された¹⁾。

B型肝炎ウイルス (HBV) 感染マウス

ヒト肝細胞キメラマウスにB型肝炎患者血清を静脈内投与すると、投与2週間よりマウス血中 HBV DNA は陽性となる。その後、血中 HBV DNA は次第に上昇し、高 titer のウイルス血症が長期間にわたり認められる (図2)²⁾。HBV 感染マウスの肝組織を免疫染色にて検討すると、ヒトアルブミン陽性のヒト肝細胞は HBc 抗原陽性であった。一方、マウス肝細胞は HBc 抗原陰性であり、置換されたヒト肝細胞に特異的に HBV が感染していることが確認された (図3)²⁾。HBV 感染マウスに核酸アナログを経口投与すると、血中 HBV DNA の著明な低下が認められ (図2)、HBV 感染マウスが抗ウイルス薬の評価に有用であることが確認された。

B型肝炎患者では核酸アナログ投与中、変異株の出現による薬剤耐性獲得が問題となっている。これらの問題を解決するためには、人工的に種々の変異を組み込んだウイルスに感染す

* 広島大学大学院医歯薬学総合研究科
分子病態制御内科学

** 同 教授

図1 uPA/SCID マウスおよびヒト肝細胞を用いたキメラマウスの作製法 (Hepatoday 10:3, 2005 より改変引用)

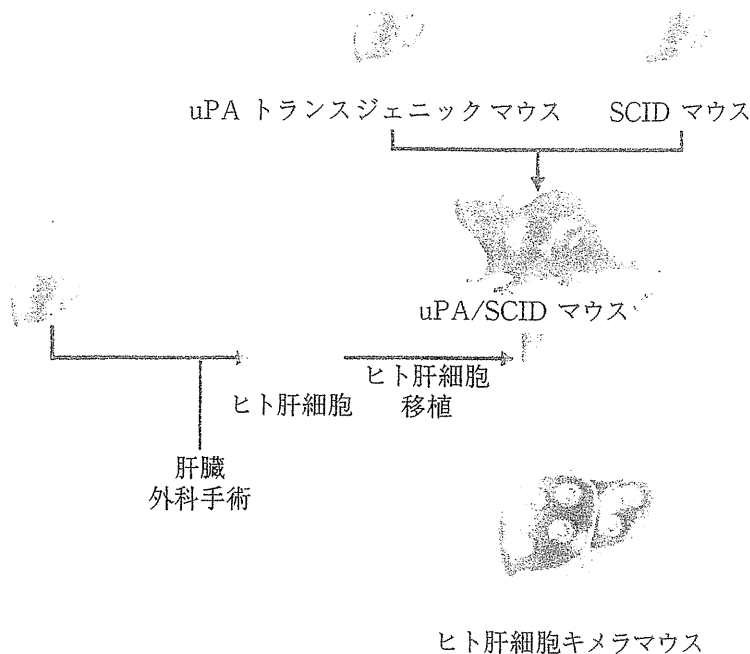
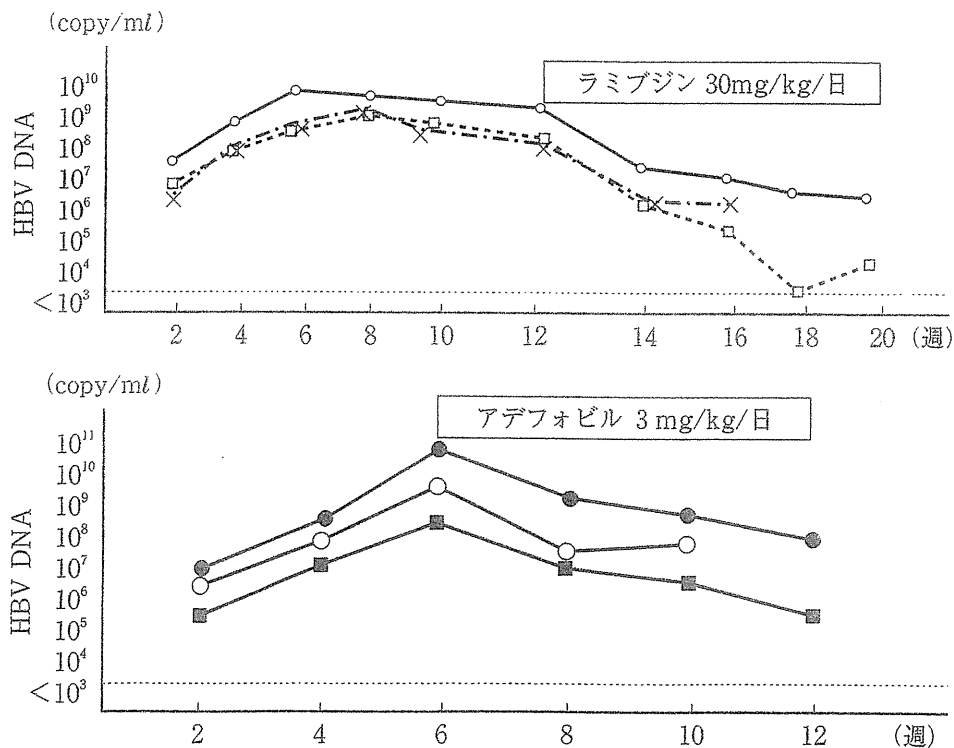


図2 血清を用いたマウスへのHBV感染



るマウスが必要である。このため、14 倍長の HBV ゲノムを組み込んだプラスミドを作製し、HepG2 細胞に恒常発現させ、上清中に HBV を

恒常的に産出する細胞を作製した。野生型の YMDD 株と同時に、ラミブジン耐性である YVDD 株を恒常的に産出する細胞も作製した。