

- 77-81, 1996.
- 6) Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, 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, Suzuki F, Sezaki H, et al : Predictive factors of virological non-response to onterferon-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, 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.
 - 9) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al : Prediction of response to pegylated intrerferon and ribavirin in hepatitis C by polymorphisms in the viral core proteun and very early dynamics of viremia. *Intervirolgy* 50 : 361-368, 2007.
 - 10) Donlin MJ, Cannon NA, Yao E, 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, Nagano-Fijii M, Sasase N, 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 稜, 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.
 - 13) Prouski V, Holmes EC : SWAN : sliding window analysis of nucleotide sequence variability. *Bioinformatics* 14 : 467-468, 1998.
 - 14) Tajima F : Determination of window size for analysing DNA sequences. *J. Mol. Evol* 33 : 170-173, 1991.
 - 15) Tanaka Y, Sakamoto N, Nakagawa, 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, Fellay J, Thompson AJ, et al : Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 461 : 399-401, 2009.
 - 17) Suppiah V, Moldvan M, Ahlenstiel, 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, von Wager M, Nasser D, et al : Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1 : comparing 48 versus 72 weeks of peginterferonpalfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 130 : 1086-1097, 2006.
 - 19) Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P, 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, Everson GT, Gorden SC, et al : Telaprevir with Peginterferon and Ribavirin for Chronic HCV Genotype 1 Infection. *New Engl J Med* 360 : 1827-1838, 2009.
 - 21) Hezode C, Forestier N, Dusheiko G, et al : Telaprevir and Peginterferon with or without Ribavirin for Chronic HCV Infection. *New Engl J Med* 360 : 1839-1850, 2009.

肝発癌に関連するC型肝炎ウイルス遺伝子領域と*IL28B* SNPの解析

三浦 美香* 前川 伸哉* 門倉 信* 末木 良太* 小馬瀬一樹*
 進藤 浩子* 進藤 邦明* 雨宮 史武* 中山 康弘* 植竹 智義*
 井上 泰輔* 坂本 穰* 榎本 信幸*

研究の目的

C型肝炎ウイルス(HCV)感染は肝発癌のハイリスクである。従来、ウイルス側因子と肝病態の関連は、インターフェロン治療反応性においてさまざまな解析がなされているが¹⁻³⁾、肝発癌との関連においては十分な検討がなされていない。また、近年ホストの因子として*IL28B*がインターフェロン治療効果を規定することが発見された⁴⁻⁶⁾が発癌との関連は不明である。本研究ではHCVゲノムの網羅的解析を行い、背景因子を含めて肝発癌に関連するウイルス遺伝子領域を明らかにするとともに、*IL28B*とウイルス側因子の肝発癌の関連について検討した。さらに、次世代シーケンサーを用いて肝発癌に関連するHCV遺伝子変異について解析を行った。

方法

(1)長期経過観察が可能であったgenotype1bインターフェロン無効症例43例を対象とした。経過中に肝発癌したHCC群20例、非HCC群23例におけるインターフェロン開始前とHCC群の肝発癌発症時、非HCC群は観察最終時点の各症例2時点について、全アミノ酸配列を決定、経時的変化を検討した。(2)上記の検討で肝発癌と関連が示唆されたコア領域とNS5A領域に着目し、検証群230症例(HCC群65例、非HCC群165例)を用いて同領域のアミノ酸配列を検討した。(3)長期

経過観察が可能であった98例についてコア領域の経時変化を検討した。(4)また、228例については*IL28B* SNPを検討した。(5)さらに先に解析をおこなった83症例については次世代シーケンサーを用いてコア領域の検討を行った。

結果

(1) HCC群と非HCC群の経時変化(平均観察期間HCC群10.9年、非HCC群11.1年)を全長で比較すると、HCC群では最も高率に変化していたのは、コア領域のaa 70 (20例中1例でR→Q)、NS5A-ISDR aa 2220 (20例中4例でD→non D)を含む3アミノ酸であった(図1A、B)。(2)新たな230例における検討において、コア領域のaa70Q/Hは70Rに比してHCC群で有意に高率であった(Q/H:R, HCC群43:22 vs. 非HCC群66:99; p=0.001)(図2A)。また、慢性肝炎、肝硬変、肝癌へと病期が進行するにつれてコア aa Q/HはRに比較して高率となった(図2B)。(3)コア aa 70の経時変化ではHCC群ではnon-HCC群に比較してQ/Hの比率が多く、経過中R70Qへの変化は17%認められた。これに対し、non-HCC群にのみQ70Rを6%に認められた(図3)。経時変化別に背景因子を比較すると、R70R群では経時的な肝病態の悪化はみられなかったのに対し、Q70Q群ではPLT、Alb値が有意に低下がみられた。また、R70Q群もQ70Q群と同様にPLT、Alb値で有意に低下が認められた。しかし、初めQであってもRに変化した場合もR70R群と同様に肝病態の悪化は認められた。(4) *IL28B* SNPの解析を行った228例の検討では162

*山梨大学医学部第一内科

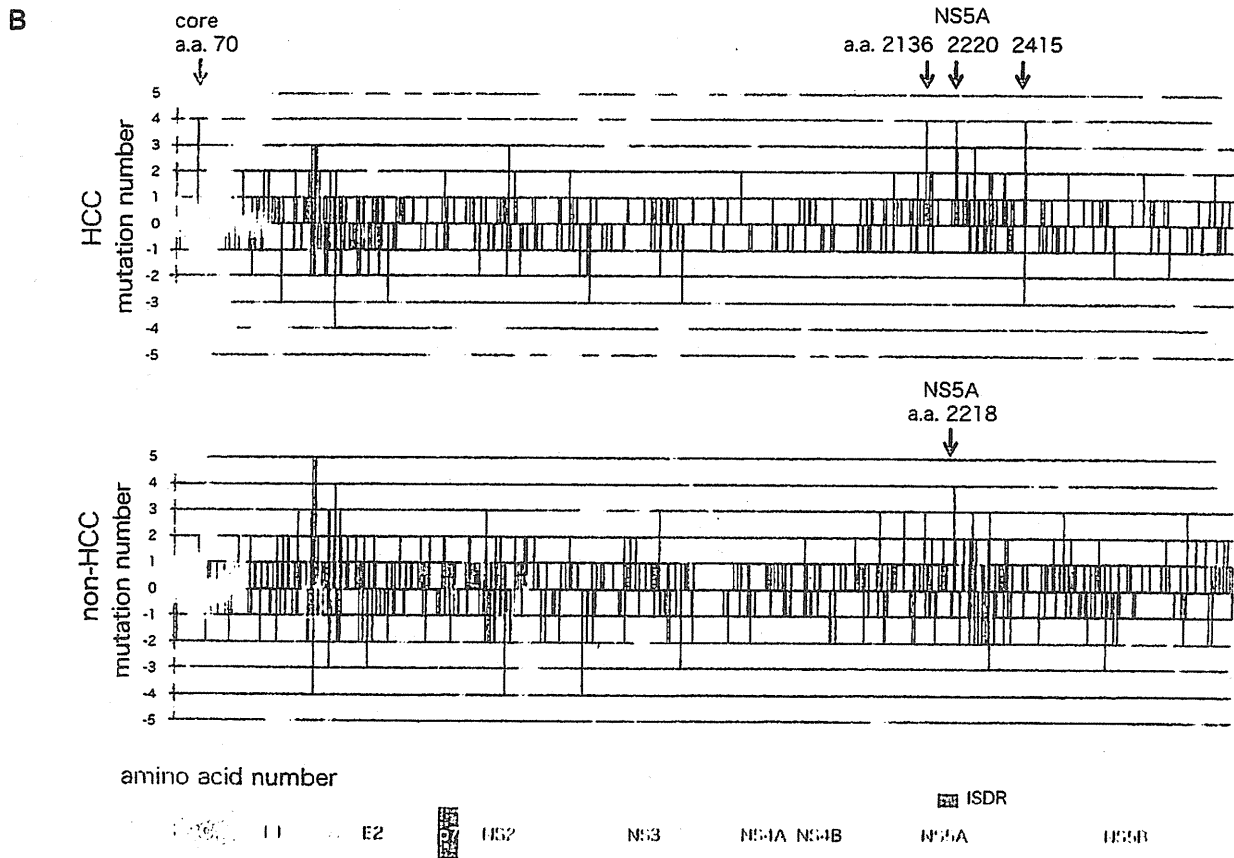
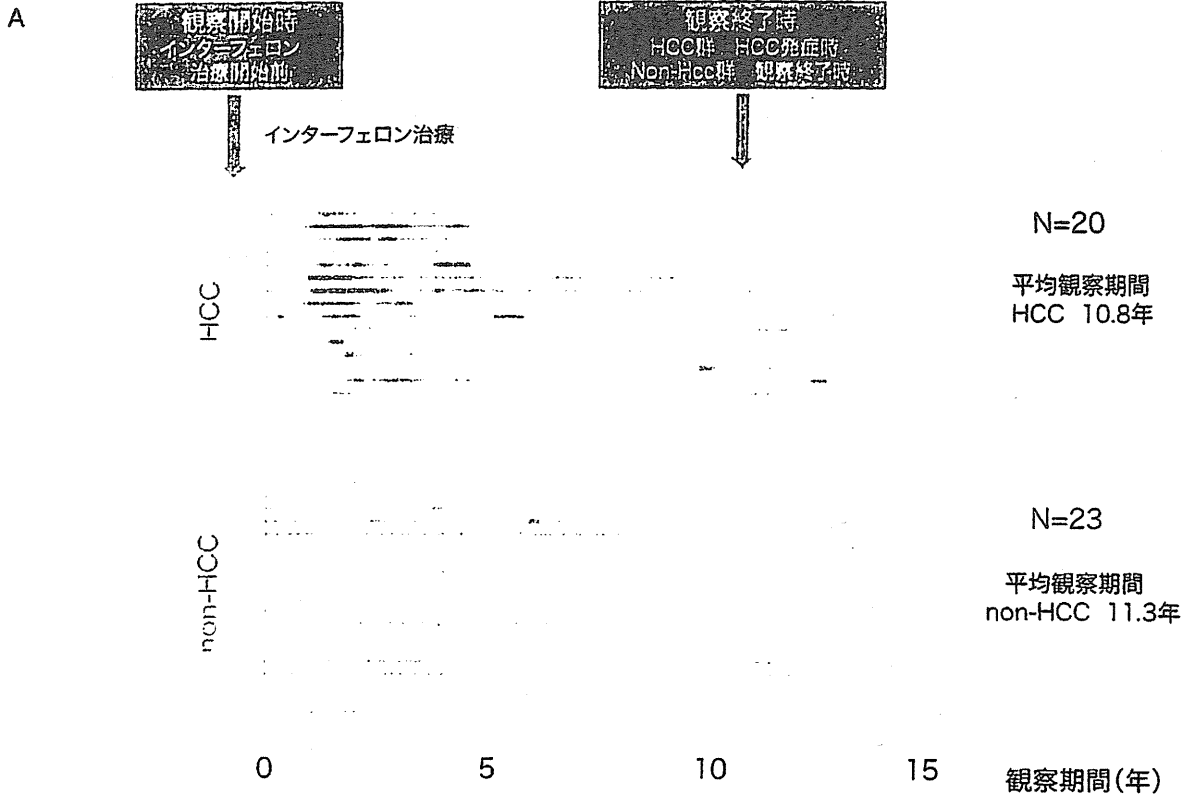


図1

A: 解析対象症例, B: HCV全長における経時変化

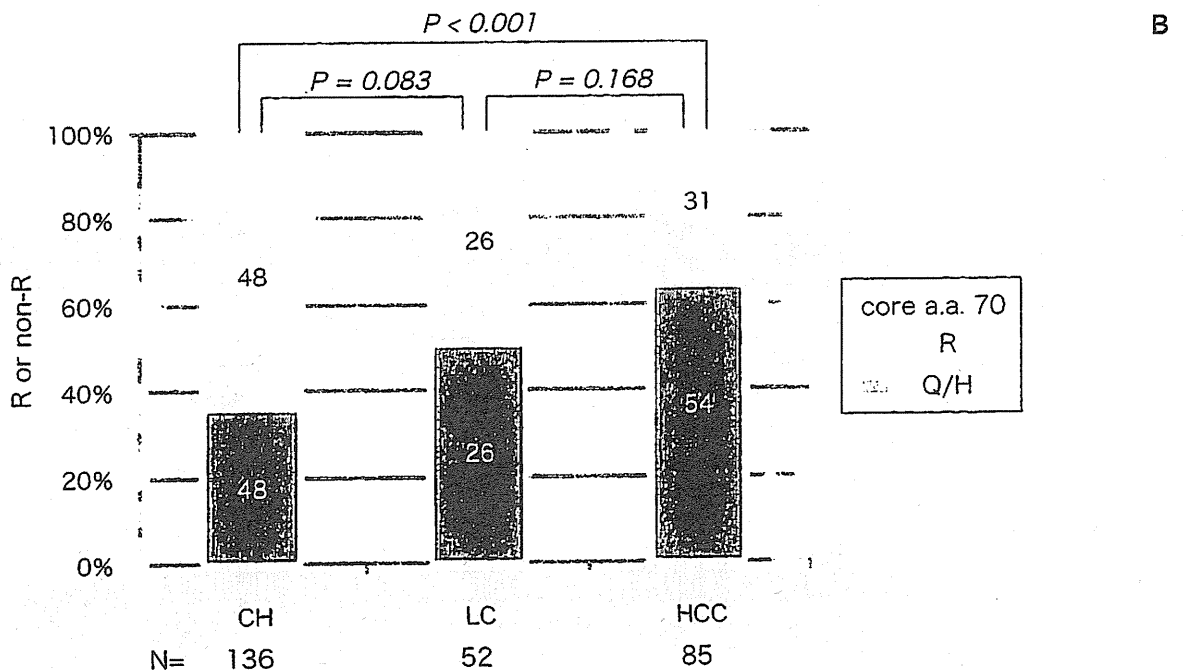
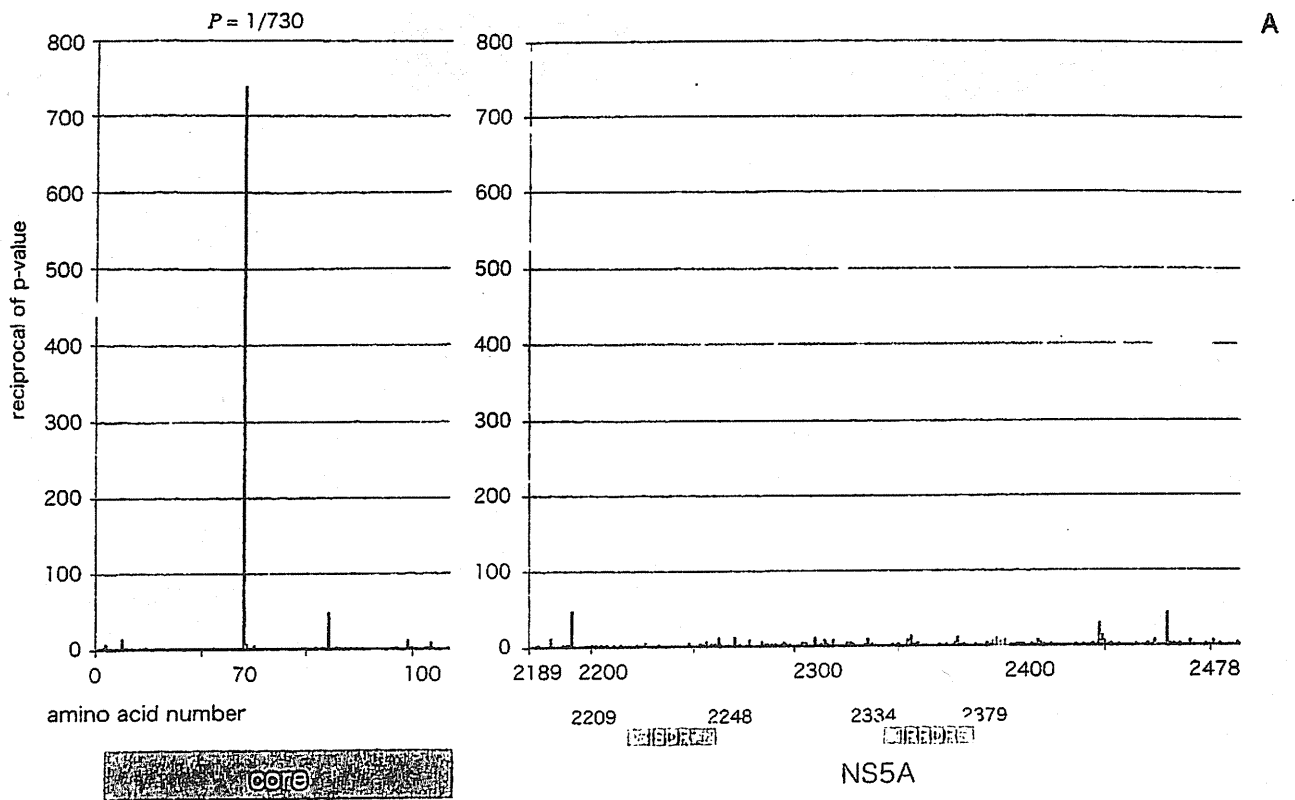


図2

A: コア, NS5A領域のアミノ酸変異, B: コア70アミノ酸変異, 病期進行別

例(71%)がTTで66例(29%)がGG/TGであった。
IL28B SNP別の患者背景を比較すると, TG/GG
 群で γ GTP値が有意の高値であった($p = 0.02$).
 またコア aa 70のQ/H:R率がTG/TT群で有意に

高率($p < 0.001$)であった。肝発癌に関する臨床因
 子を多変量解析を行うと, 年齢, PLT, Albのこ
 れまで肝発癌の原因として既知の因子は独立に
 core aa 70が抽出された(表1)。 (5) 世代ノック

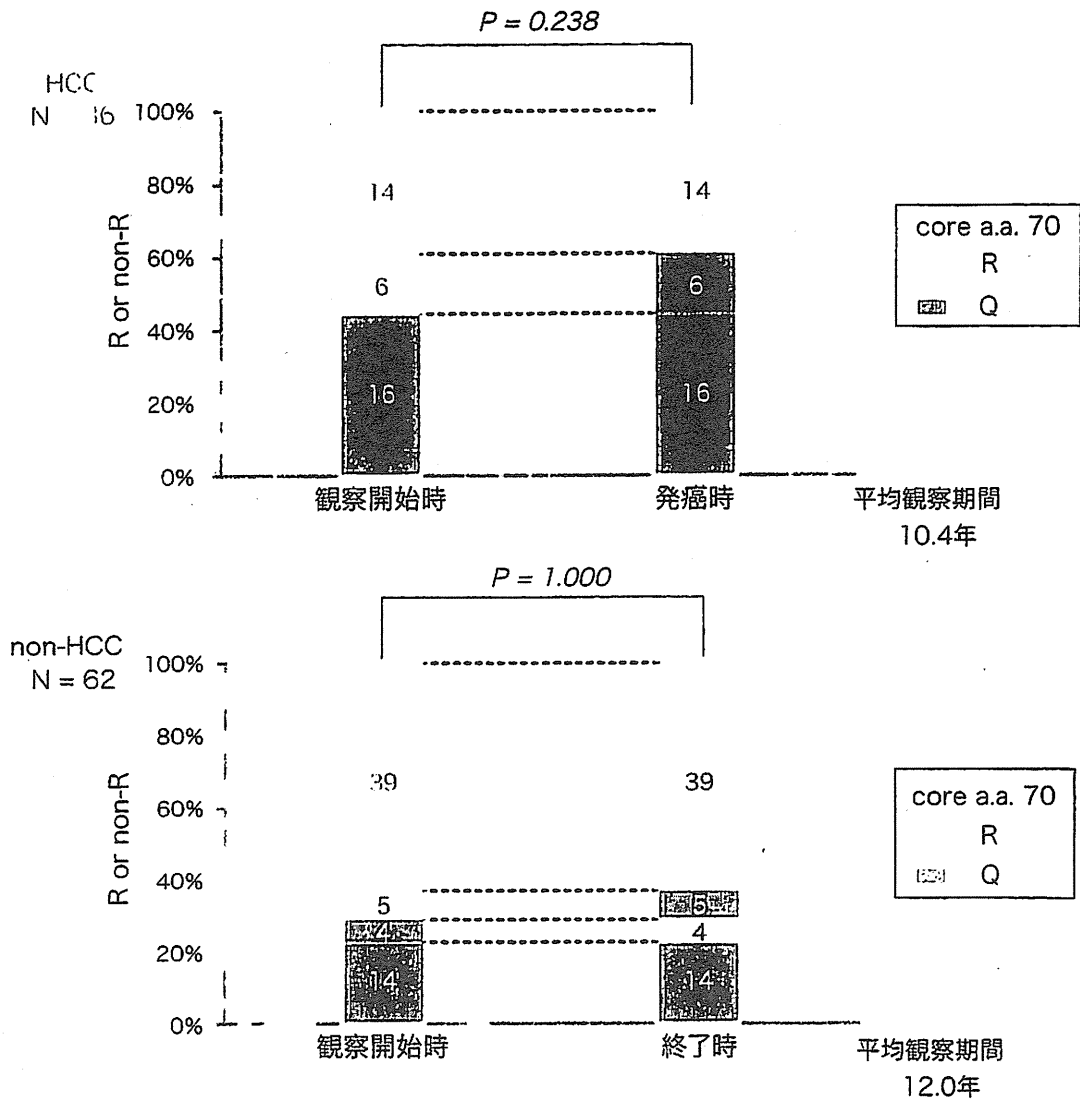


図3
コア70アミノ酸変異，経時変化

エンサーでは83種類のバーコードプライマーを使用しコア領域について同時解析を行った。プラスミドをコントロールとして解析すると1/500程度の変異であり，これがPCRによる変異のバックグラウンドと思われた。コアaa70に着目し得られた83症例のRとQ/Hの混在比率を病期別に比較するとやはり病期の進行につれQ/Hの比率が高くなり，全体の13.3%に5%以上の混在を認めた。混在比率の高い症例は，混合比50%で切ると全例で先のダイレクトシーケンスの結果と一致していた(図4A)。次にIL28B別に見ると，TT群に比較しTG/GG群ではQ/Hの比率が高かった。また，5%以上の混在比の群で比較するとTT群ではRが優勢なのに対し，TG/GG群では

Q/Hが優勢であった(図4B)。

4 考察

近年，コアaa70が肝発癌に関与するとの報告があるが^{7,8)}，これらの研究結果はインターフェロン治療の感受性を反映した可能性がある。本研究においてはインターフェロン著効例を除いた(インターフェロン無治療例と無効例のみで行った)症例のみでの解析であり，やはりcore aa70Q/Hは肝炎の進行や発癌に関与を示す結果であった。

これまでコア70の経時変化と肝病態の進行との関連は明らかになっていない。約10年間の観察期間中，15%(15/98)がコアaa70の変化を認め、

表1 肝発癌に関連する臨床因子

Variables	Multivariate Analysis (N 228)	
	Odds Ratio (95% CI)	p Value
Sex		
female	1	0.190
Male	1.69 (0.77~3.70)	
Age (years)		
< 65	1	0.004
≥ 65	3.26 (1.47~7.25)	
Platelets (10 ⁴ /mm ³)		
> 12	1	0.021
≤ 12	2.59 (1.26~5.82)	
Albumin (g/dL)		
> 4	1	< 0.001
≤ 4	7.73 (3.53~16.9)	
γ GTP (IU/L)		
< 41	1	0.129
≥ 41	1.87 (0.85~4.13)	
ALT (IU/L)		
< 41	1	0.109
≥ 41	1.98 (0.86~4.56)	
<i>IL28B</i>		
TT	1	0.290
TG or GG	0.63 (0.27~1.49)	
Core aa 70		
R	1	0.003
Q/H	2.44 (1.09~5.44)	
previous IFN therapy		
-	1	0.331
+	1.46 (0.68~3.16)	

R70Qが11例に対しQ70Rが4例であった。このうち、R70Q群は病期進行や肝発癌に関与を示したのに対し、Q70R群では病態は安定していた。

また、近年*IL28B* SNPはHCV感染でのペグインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果との相関が示され、非常に重要な結果として注目されているがまだその機序の解明はなされていない。本研究では病期の進行や肝発癌と*IL28B*との関連について、インターフェロン治療効果とは別に解析を行った。この結果、*IL28B* SNPとコア aa 70多型は相関がみられ(p<0.001)、これはホストとウイルス間の複雑な相互作用があることが

示唆された。この分子学的な機序は不明であるが、ホストの*IL28B* SNPは生涯変化しないため、*IL28B* SNPがウイルスのコア領域の遺伝子配列に影響を与えている可能性が考えられた。

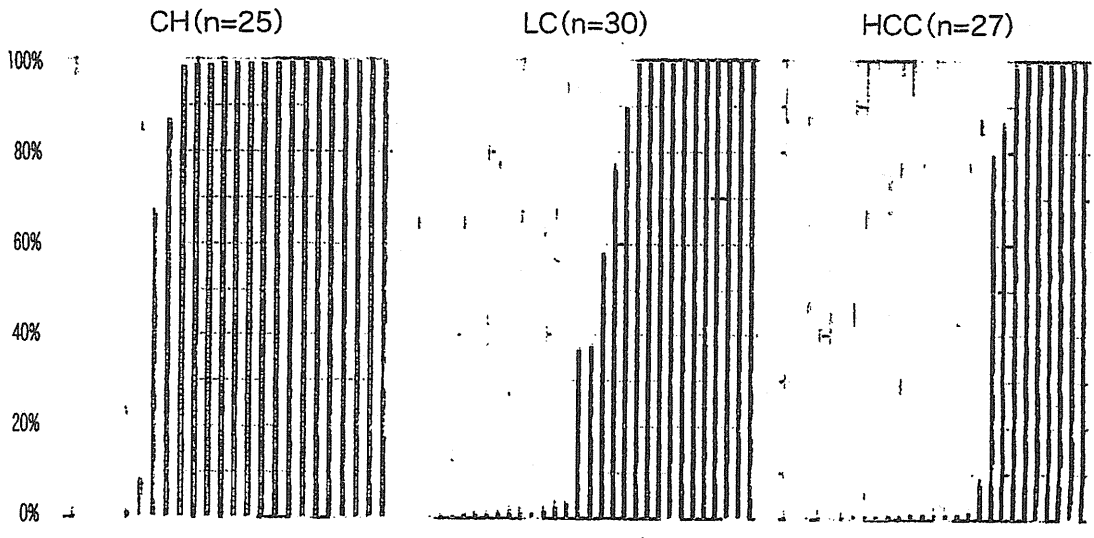
一方、*IL28B* SNPと病期進行や肝発癌との関連はコア aa 70に比較して弱かったことは、*IL28B* SNPとコア aa 70は相関を認めていたため意外な結果だった。この結果からは、肝発癌には、他の未知の要因がコア aa 70変異と関連して作用していると考えられた。

今回体内でのウイルスの動態を調べる新しい手法として次世代シーケンサーを用いた解析を

A

解析対象 83検体82症例(1検体はPCR産物)
 CH 25症例, LC 30 症例, HCC 27症例
 core aa70 R 41症例, Q/H 41症例
 IL28B TT 52症例, TG/GG 20症例

R □ Q/H



B

R □ Q/H

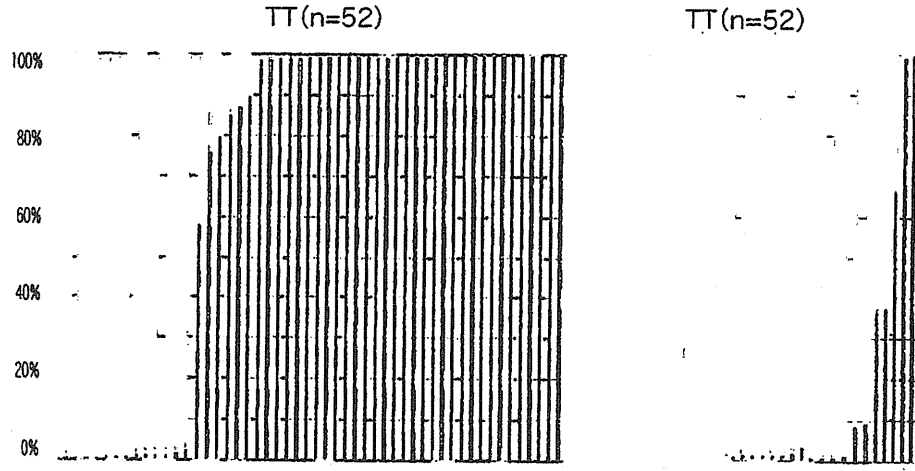


図4 次世代シーケンサーを用いたコア70アミノ酸混在比率
 A: 病期進行別 B: IL28B別

行った。次世代シーケンサーを用いるとこれまでのキャピラリーシーケンサーの1,000倍の処理速度で解析が可能となる。次世代シーケンスによっても core aa 70 変異は病期の進行に伴い Q/H が増加していることが確認できた。また IL28B メジャーアレル症例においては core aa 70 変異は R 優位に混在しているのに対し、マイナーアレル症例では Q/H 優位に混在しており、IL28B SNP により core aa 70 の変異パターンが誘導され

ている可能性が示唆された。このコア aa 70 変異のメカニズムは、宿主とウイルスの間の密接な関連が予想され、臨床的に最も重要な点であると考えられた。

5 結論

肝病期の進行や肝発癌には、HCV コア aa 70 変異が関与しており、IL28B SNP と密接に関連しながら経時的に変化していることが考えられた。今後

は次世代シーケンサーを用いることで肝発癌に関連するHCV遺伝子変異について詳細な解析が期待される。

文献

- 1) Enomoto N, Sakuma 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* 11 : 334 : 77-81, 1996
- 2) Akuta N, Suzuki F, Sezaki H et al : Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype 1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy. *Intervirology* 48 : 372-380, 2005
- 3) El-Shamy A, Nagano-Fujii M, Sasase N 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
- 4) 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
- 5) 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
- 6) Ge D, Fellay J, Thompson AJ et al : Genetic variation in *IL28B* predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 461 : 399-401, 2009
- 7) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y et al : Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 46 : 1357-1364, 2007
- 8) Nakamoto S, Imazeki F, Fukai K et al : Association between mutations in the core region of hepatitis C virus genotype 1 and hepatocellular carcinoma development. *J Hepatol* 52 : 72-78, 2010

*

*

*

【横須賀(座長)】りがとうございました。コアの70と、HCCが多少関係するだろうということですが、それを変化させている可能性があるIL-28とは有意差がみられなかったということですが、何でみられなかったのか、おしえがありますか。

【演者】その理由についてはわかりませんが普通に考えるとコアの70がIL-28に規定されていて、しかも、コアの70が発癌に関連しているとなると、IL-28が発癌に関連しているのではないかと最初思いましたが、症例数を増やしてもそのような結果にはならず、実際にコアの70 Rであっても発癌している症例もありますし、IL-28のマイナーと、メジャーのコアが一般的の逆のパターンもありますので、そのへんにはまだわからないものが存在していると思います。

【竹原(大阪大学・消化器内科)】私もそこが少し不思議だと思いました。コアの70の変異が肝臓に関係していて、IL-28Bは関係していない。しかも、IL-28Bがコアの変化に関係しているというデータでしたが、そのように考えると、最初先生が示されたHCC群でのみコアの変異が蓄積していきまね。非HCC群ではそういうことがあまりなかったということですが、HCC群でコアの変異が蓄積した症例というのはIL-28Bがマイナーなものが極端に多いということがあるのでしょうか。

【演者】経時的に変化していく症例は症例数が少ないですが、R→Qになった症例にはIL-28はマイナーなものが多いですが、そうではない逆の場合もありますので混在はしています。

【竹原】マイナーなものは何パーセントぐらいですか。

【演者】先ほど出したR→Qになった症例は解析した98例のうち、11例のみでしたが、TTのものの方が8例ほどで、そうでない症例もあります。

【竹原】ということは結構メジャーが多いということですね。

【演者】はい。

【田中(名古屋市立大学・ウイルス学)】今回、IFN治療例も含まれていると思います。IL-28BというのはIFNの感受性を規定していると思います。IFNを行っていない症例で経時的にみた場合、発癌になる症例と、ならない症例があると思います。次世代という

のは私も非常に興味がありまして、治療を行っていない症例でもコアの70が本当にみられるのかどうか。自然経過でもそういったことが起こるのかというのを是非みていただきたいですが、もしデータがありましたら教えていただきたいと思います。

【演者】今までもコアの70が発癌に関連しているという報告がありまして、それはIFN治療症例を含んでいますので、SVRになった症例からの発癌は減るわけですのでそれもカウントしていますが、今回私どもで全長解析を行ったのは全員IFN治療無効例です。あとの解析は228例が無治療症例と、IFN無効例の半分ずつで解析を行っても同様の結果が得られたということです。

【田中】観察期間中は治療を全く行っていないということですか。自然経過で変化したということでしょうか。

【演者】はい。そういうことです。ウイルスが残存したままということですよ。

【横須賀】無効例を入れてというふうにするとバイアスがかかるということはないでしょうか。

【演者】無効例を入れますと、コアの70はmutantのタイプが若干増えてくるというのはあると思います。今回、無治療症例の全くIFN治療を行っていない症例を100人以上に行っていますが、解析の結果では同等の結果が得られています。

【永山(東京医科歯科大学・消化器内科)】特にダイレクトシーケンスの限界のところに着目されて次世代シーケンサーでクローニングで同様の結果を得られたのは素晴らしいことだと思います。私も以前やっていたときの印象として、ウイルスの感染年数が高くなるだけでR70は混在比が変わる印象があります。例えばGPTがずっと20台で血小板が正常という、asymptomatic carrier といっはいけないですが、それに近いような症例で経時的に混在比をみられた症例がもしありましたら結果を教えてくださいませんか。

【演者】次世代シーケンサーは導入したばかりですので、先ほど出した症例のみを解析しています。そのへんはこれからさらに詳細に検討していきたいと思っています。

【本多(金沢大学・消化器内科)】私たちのところも確かにIL-28のメジャーと、マイナーで発癌率に差がないのは同じだと思います。コアのmutantがあると発

癌しやすいというのが多くの施設からでてきますね。そのへんの discrepancyがよくわからないところで。メジャーで発癌した症例で、メジャーとマイナーで分けてみて、コアの mutant のあるなしで、発癌した、しないでクリニカルな他のファクターとして何か上がってくるものはないでしょうか。

【演者】私たちもそこを着目しています、コアと IL-28 が逆転している症例での解析は途中なのですが、これから症例を増やしてやっていくことでその謎が解けるのではないかと思います。

【小俣(山梨県立病院機構理事長)】 quasispecies 検索の際のダイレクトシーケンスではせいぜい 20% 程度にならないとみつからないので、全配列をチェッ

クして欲しいのです。動的にみられる。その結果、感染から例えば 30 年、quasispecies が 1 つに変わって nucleotide も変わっているけど、癌になった群だけ specific にコアの 70 番目が移っていった。こうしたら素晴らしいと思います。そういうデータはありますか。

【演者】いいえ。まだこれからです。

【小俣】輸血歴を聞くだけだからすぐできますね。それをやって、コアだけでなく全長の中で 70 番目だけが動いている。癌に associate している。そうしたら素晴らしいと思います。

【演者】ありがとうございます。

【横須賀】ありがとうございました。では終わります。

*

*

*

第2章 慢性肝炎の治療

9) 硬変化したC型肝炎の治療をどう考えるか

坂本 穰, 榎本信幸

C型肝炎は、線維化の進展とともに肝発癌率が上昇することが知られており、肝線維化を抑制し肝発癌を抑止することが究極の治療目標である。しかし、多くの場合、肝線維化進展に伴いインターフェロン療法の治療効果は減弱し、血球減少などの副作用のために治療完遂が困難となる場合が多い。したがって肝線維化進展例こそが治療の優先例であるが、治療効果や副作用を見極め治療方針を決定することが重要である。

1 肝線維化、血小板数と発癌率との関連

C型肝炎からの発癌は、F1では年率0.5%と低率であるが、肝線維化の進展に伴い、F2では2%、F3では5.3%、肝硬変であるF4に至っては7.9%と高率に発癌することが報告されている¹⁾(図1)。

一方、血小板数は、肝線維化の代用マーカーとして頻用されている。これは肝線維化に伴い、門脈圧が亢進し脾機能が亢進することが最も大きい要因と考えられている。すなわち血小板数は肝線維化が進行とともに減少し、F3では12万以下、F4では10万以下となり、血小板数が肝線維化の指標とともに「発癌しやすさ」の指標となる。

また、最近では、肝線維化を肝硬度として測定するFibroScan[®]などの機器が開発されている。これによれば、肝硬度はkPa(キロパスカル)という単位で表示され、肝硬変は概ね12kPa以上となる。この数値が10kPa以下ではほとんど発癌しないが、10kPa以上では、3年間の累積発癌率にほぼ一致し、10~15kPaでは約15%、15~20kPaでは約20%、20~25では約25%、25kPa以上では約

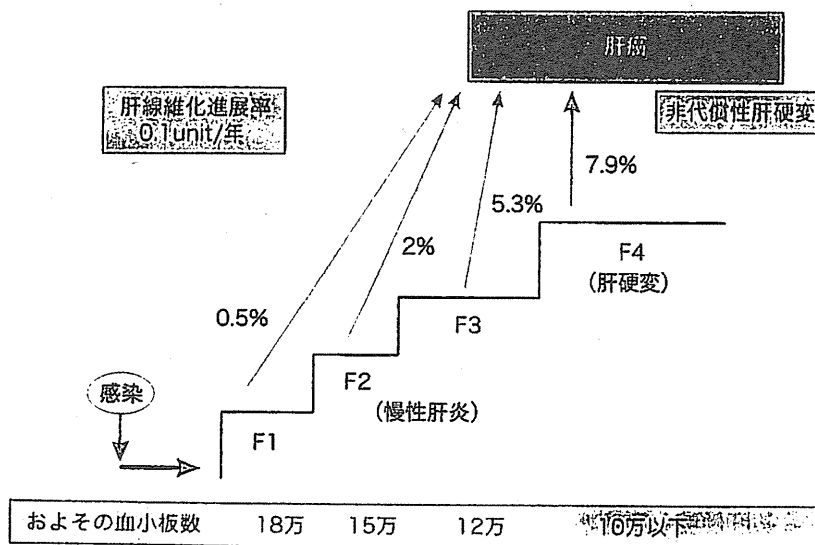


図1 ◆ C型肝炎の進展度と血小板数、発癌率

35%が3年間に発癌することが報告されている²⁾(図2)。

memo 肝硬度の非観血的な測定

最近、肝硬度を非観血的に測定する機器が開発されている。可聴振動波が肝臓内を伝播する振動速度を超音波でとらえるのがtranscient elastgraophaphy (FibroScan[®])であり、この他にも音響放射圧を超音波で測定するacoustic radiation force impulse (ARFI)やMRIを用いたMRI elastographyなどが研究開発されており、実用可能な段階にきている。

2 インターフェロン治療と血小板

C型肝炎に伴う肝発癌の抑止には、インターフェロン (IFN) 治療によりC型肝炎ウイルスを排除する (sustained viral response : SVR) ことが最も有効で、高危険群である肝線維化進展例こそ、発癌までの時間的余裕がないため早期に治療導入することが必要である。その一方、IFNには血小板減少の副作用があり、このためにIFN投与量の減量や中止が余儀なくされることも多い。特に肝線維化進展例では、治療開始前の血小板数が低く十分な投与量が確保できないことが多い。

1) 血小板数と治療効果

実際にわれわれの症例で、遺伝子型 (genotype) 1b型高ウイルス症例でペグインターフェロン (PEG-IFN) +リバビリン (RBV) 療法の標準治療期間の投与を完了した245例の検討では、血小板数と治療効果は相関し、治療開始前の血小板数が10万未満では1例もSVRにならなかったのに対し、14万以上では54%がSVRとなった。これは、肝線維化が進展すると治療効果が減弱するという事実を反映しているとともに、血小板数が少ないために薬剤投与量が確保できないことにも起因していると考えられる (図3)。

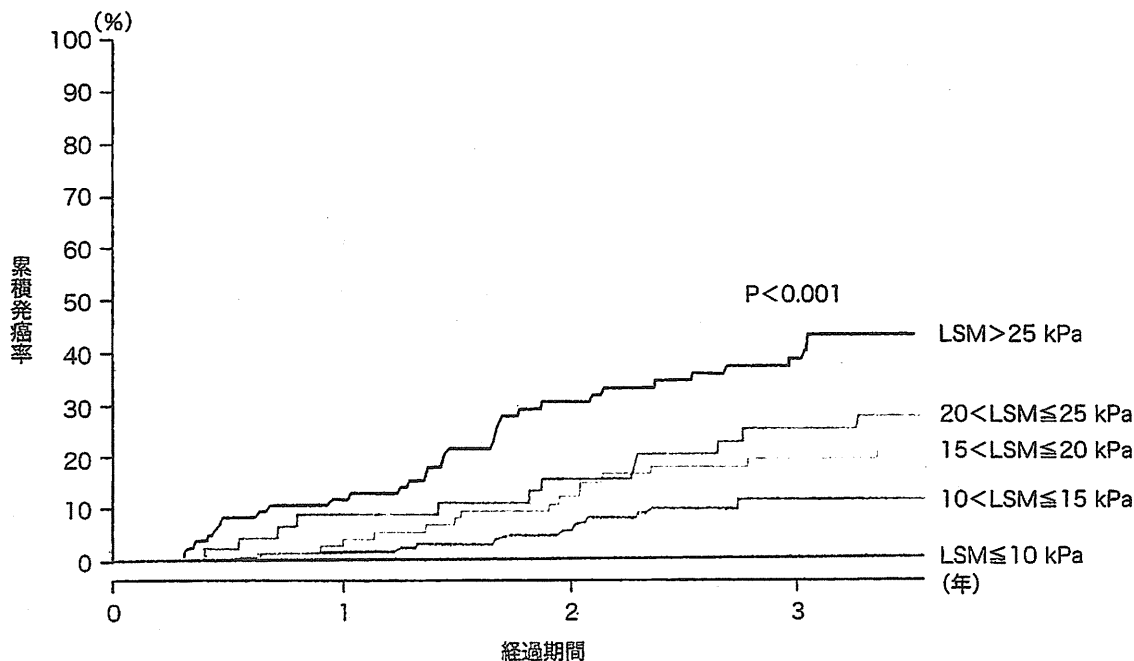


図2 ◆ FibroScan[®] による肝硬度と発癌率
文献2から引用

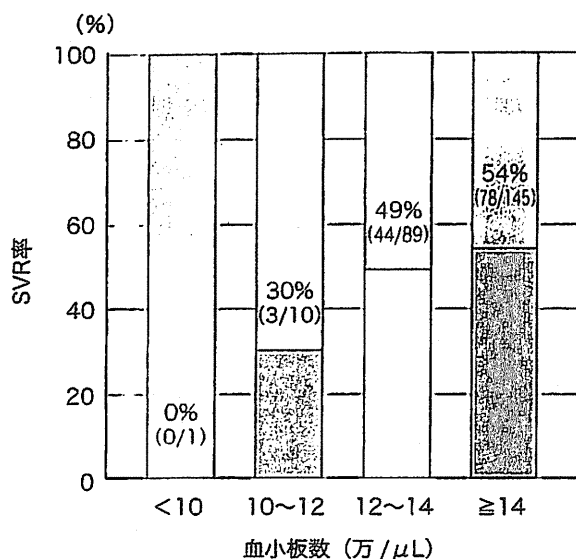


図3◆ PEG-IFN + RBV療法におけるSVR率と血小板数
genotype 1b型高ウイルス症例
(投与期間≤52週, N=245)

2) 血小板数の投与基準 (減量・中止)

IFN投与による血小板減少により出血の危険があるため、投与基準、薬剤の減量・中止基準に血小板数が明記されている。すなわち、高ウイルス量症例の標準治療であるPEG-IFN α -2b (ペグイントロン[®]) + RBV (レベトール[®]) 併用療法では10万以上、PEG-IFN α -2a (ペガシス[®]) + RBV (コペガス[®]) 併用療法では9万以上が望ましい投与開始基準であり、PEG-IFN α -2bでは血小板数8万で減量、PEG-IFN α -2b、PEG-IFN α -2a両者とも血小板数5万以下が中止基準である。一方、PEG-IFN α -2a単独療法の場合は、血小板数9万が開始基準であり、5万・2.5万でそれぞれ減量・中止となる。

3 肝線維化進展例に対するIFN治療

1) 治療効果とその予測

a. ウイルス学的治療効果

C型肝炎に対するウイルス学的なIFN効果 (SVR) 規定因子には、宿主因子として年齢・性別のほかに肝線維化が含まれることが報告されており、高齢者・女性・肝線維化進展例では治療効果が劣り、特に肝線維化進展例、肝硬変例ではSVR率が低いことが知られている。

一方、ウイルス側の要因としては、ウイルス量やgenotypeが治療効果に関連し、ウイルス量が多い場合やgenotypeが1型の場合は2型に比較して治療効果が低い。さらにgenotype 1b型ではC型肝炎ウイルス (HCV) 遺伝子の非構造領域 (nonstructural region: NS) 5A領域内のIFN感受性領域 (interferon sensitivity determining region: ISDR) の変異数³⁾が関連し、PEG-IFN + RBV療法では、2個以上ある場合には高ウイルス症例でも高いSVR率となることが判明している⁴⁾ (図4)。

また、最近では、宿主 (ヒト) の9番染色体上のIFN- λ 遺伝子近傍のIL28B領域の1塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) が治療効果と関係することが報告されている。すなわちIL-28B遺伝子座の代表的SNPであるrs8099917のminor allele (TG/GG) をもつ症例では、major allele (TT) をもつ症例に比較して、約38倍無効となりやすいことが示されている⁵⁾。

しかしいずれの場合も、肝硬変の場合は、慢性肝炎よりもさらに条件が悪くないとウイルス学的な治療は期待できず、同じ条件の場合のSVR率は劣る。

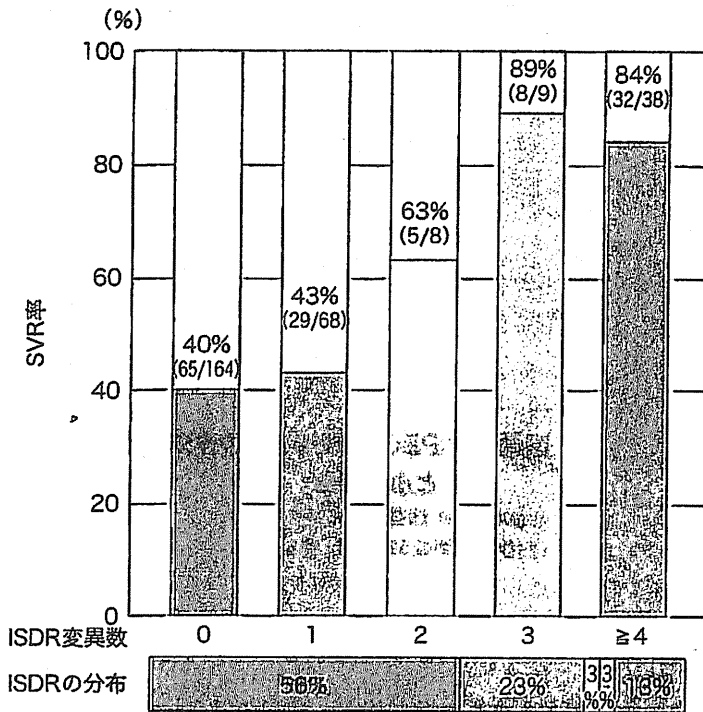


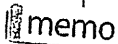
図4◇ PEG-IFN + RBV療法におけるISDR変異数別SVR率
genotype 1b型高ウイルス症例
(投与期間：52週，N = 292)

このため，1b型症例や高ウイルス量症例の場合（初回治療例）はPEG-IFN + RBV療法が標準治療法となり，治療期間は1b型で48週，それ以外は24週投与である。また低ウイルス量症例ではRBVの併用が認められていないため単独療法の適応となる。また，現在わが国では，代償性肝硬変に対する保険適応があるのは，2型あるいは低ウイルス量（1型かつ高ウイルス量症例を除く）症例に対するIFNβ（フェロン®）と天然型IFNα（スミフェロン®）のみである。



ウイルス要因をつきとめる

IFNの治療効果を規定する因子にISDRやコアアミノ酸変異などが報告されており，一般検査からは治療困難例であっても，これら因子を考慮するとウイルス排除可能な場合があり，できる限り検査を行うことが望ましい。これら検査は外注検査会社が受託できる場合がある。



1塩基多型（SNP）

ヒトゲノム解析の進歩により，IFN効果に関係する1塩基多型（SNP）が報告された。SNPとは，ゲノムの塩基配列のなかで1%程度にみられる相違のことで，体質や遺伝病や疾患感受性・薬剤感受性などに関係するものが同定されている。

b. 肝線維化抑制と発癌抑止効果

C型慢性肝炎に対するIFNによる肝線維化改善効果は複数報告されており，肝硬変例でもウイルス排除がなされた場合に肝組織像が改善することが報告されている。

また，国内の多施設共同研究として行われたIHIT（inhibition of hepatocellular carcinogenesis by interferon therapy）studyでは，SVRとなった症例ではいずれの肝線維化ステージでも肝発癌率も低下することが報告されている。

たとえば，ウイルス排除ができない場合でもIFNを少量長期に投与することで，ALT値が正常化すれば肝病変の進展阻止があることも報告されている⁶⁾。その一方，海外では肝硬変を含めた肝線維化進展例に対するPEG-IFNの大規模臨床試験（HALT-C）が行われたが，PEG-IFNα-2aと無治療群で

の比較では肝不全や肝癌の発生には差がなかったと報告されている⁷⁾。しかしこの報告は観察期間が4～6年と短いことや、発癌数が少なく、もともと発癌率が低い集団を対象としていることから、必ずしもわが国の現状には一致していないとの見方もある。

2) 肝線維化進展例に対するIFN治療の実際

a. IFNの投与法の工夫

上述のように、ウイルス量が少ない場合、genotypeが2型の場合や1b型かつ高ウイルス量であってもISDRに2個以上の変異がある場合には、高い抗ウイルス効果が得られるため、たとえIFNを減量してもSVRになる可能性が高い。したがって肝線維化進展例であっても、宿主要因やウイルス要因が良い場合には、ウイルス排除をめざして積極的にIFN導入すべきである。

また、IFN治療効果は、治療早期のウイルス排除に関連し、治療開始早期にウイルスが検出感度以下になった場合(early viral response: EVR)には最終的なウイルス排除が得られる可能性が高い⁸⁾。したがって、早期にウイルス排除が得られない場合には治療効果を延長することや、ウイルス排除をあきらめ、肝線維化進展予防や肝発癌抑制の観点からの治療に変更することも考慮される。



pitfall 抗ウイルス効果が得られない場合

1b型かつ高ウイルス量に対するPEG-IFN + RBV療法の場合は、ウイルス排除には1回当たり十分量のIFNが必要なため、IFNの投与量を減量すると抗ウイルス効果が得られないことがある。

b. 血小板数増加のための方策

一方、血小板数のみが治療の障害になる場合には、血小板数を増加させる方策をとることが考えられる。すなわち、血小板は脾臓で消費されるため、肝線維化に伴い門脈圧が亢進した結果、脾機能亢進が進んだ症例では、脾臓を部分的に塞栓する方法(部分脾塞栓術, partial splenic embolization: PSE)や脾摘による血小板数の増加が見込まれる。

PSEは、interventional radiologyの技術により、脾動脈を70～80%塞栓することで、長期間の血小板数の増加を期待するものである。開発当初は脾腫瘍、敗血症などの合併症も多かったが、梗塞範囲を限定することで安全性が向上し臨床でも広く用いられるようになった。特に、IFN前に行うことで血小板数を増加させ、安全にIFN治療を行うことが可能となり、SVR率が改善するとの報告がなされている。しかし、PSEの適応や塞栓方法には一定の見解がなく、施設による技術の差が大きいと考えられている。

一方、脾摘は、技術の差は如述には現れないが、開腹による手術侵襲があることから、Child Aなど肝機能が比較的良く、若年者に選択される傾向がある。また、最近では腹腔鏡を用いた低侵襲術式も開発されている。

c. 血小板増加薬

近年、血小板増加薬としてトロンボポエチン受容体作動薬の開発が進んでいる。特に血小板増加作用を有する経口薬のEltrombopagの肝硬変への応用が海外から報告されている。これは、難治性の特発性血小板減少性紫斑病(idiopathic thrombocytopenic purpura: ITP)に対して承認されているが、ITP以外でも化学療法やIFN治療による血小板減少に対する治療薬としても期待されている。特に肝硬変例では4週間の投与により3/4以上の症例で血小板数が10万以上に増加しIFN治療が可能となったとされている⁹⁾。

d. 新規治療薬への期待

肝線維化が進展した症例の場合は、抗ウイルス療法導入までの猶予がないのが現状であるが、ウイルス排除をめざした場合では上記のような工夫をしても治療効果には限界がある。その一方で、C型肝炎に対する新規治療薬が開発されており、特に、ウイルスタンパクを直接標的としたSTAT-C (specifically targeted antiviral therapy for hepatitis C) またはDAA (direct antiviral agents) と呼ばれる薬剤の臨床試験が進行している。

特にHCVのNS3 protease阻害薬であるTelaprevirは、近い将来(2011年1月現在、申請中)国内でも使用可能となると推測される。この薬剤は6カ月間の治療でも70%程度のきわめて高いSVR率が得られることが海外から報告されており¹⁰⁾、国内でも有望な治療薬として期待される。しかし、皮疹や貧血などの副作用があること、国内では当面1b型のみに限定される可能性であることから、現時点ではすべての症例に適応されるわけではない。したがって、肝線維化の進行した例では現在可能な治療を選択しつつ、肝線維化の進展と肝発癌を予防し、新規治療法に期待することが望ましい。

4 肝庇護療法

IFN療法に反応しなかった場合や導入不能な場合は肝庇護療法を行う。さらに効果が不十分な場合には瀉血療法を考慮する。

具体的には、ウルソデオキシコール酸(UDCA, ウルソ[®])を1回量200~300mg, 1日3回内服を行い、ALTが正常化しない場合にはグリチルリチン製剤(SNMC, 強力ネオミノファーゲンシー[®])を1回量40~60mL, 1日1回を週3~7回静注または点滴静注する。さらにALTが正常化しない場合には、1~2週ごとに200~400mLの瀉血を、血清フェリチン値が10ng/mLないしはHb値が11g/dL以下になるまでくり返す。いずれの場合も抗ウイルス効果はないが、ALTの正常化により肝線維化抑止効果が期待できる。

Point

- ▶ C型肝炎の肝線維化進展例に対する治療は、ウイルス排除をめざした治療が基本であるが、治療効果が乏しいことや血球減少などの副作用のために治療適応は慎重に決定する必要がある。このためには、治療効果予測を行うとともに、副作用に対する対処可能かどうかを慎重に見極める必要がある
- ▶ ただし、治療法の工夫やさまざまな方策により、肝線維化進展例でも抗ウイルス療法が可能となる場合がある

文献

- 1) Yoshida, H., et al.: Ann. Intern. Med., 131: 174-181, 1999
⇒ C型肝炎の肝線維化と発癌との関係を明らかにした。
- 2) Masuzaki, R., et al.: Hepatology, 49: 1954-1961, 2009
⇒ FibroScan[®]による肝硬度と肝発癌率との関係を明らかにした。
- 3) Enomoto, N., et al.: N. Engl. J. Med., 334: 77-81, 1996
⇒ 1b型のC型肝炎のIFN単独療法では、HCVのNS5A領域の40アミノ酸が治療効果と関係することを明らかにし、ISDRと命名した。
- 4) 坂本 穂・榎本信幸: 日本消化器病学会雑誌, 106: 485-492, 2009
⇒ ISDRは、PEG-IFN + RBV療法でも治療効果に関連することを報告した。
- 5) Tanaka, Y., et al.: Nat. Genet., 41: 1105-1109, 2009
⇒ C型肝炎に対するPEG-IFN + RBV療法において、ゲノムワイド関連解析の結果IL-28B近傍のSNPが治療効果と関連することを日本人でも明らかにした。

- 6) Arase, Y., et al. : J. Med. Virol., 79 : 1095-1102, 2007
 ⇒ C型慢性肝炎患者にIFNを長期に使用することで、肝硬変への進展防止効果があることを示した。
- 7) Di, Bisceglie, A. M., et al. : N. Engl. J. Med., 359 : 2429-2441, 2008
 ⇒ 肝硬変を含めた肝線維化進展例にPEG-IFN療法を行った結果、肝不全や肝癌の発生には差がなかったとの報告であるが、観察期間が3.5年と短いことから、この結果には疑問がもたれている。
- 8) Berg, T., et al. : Gastroenterology, 130 : 1086-1097, 2006
 ⇒ IFN療法では早期のウイルス排除が治療効果と関連することを明らかにした。
- 9) McHutchison, J. G., et al. : N. Engl. J. Med., 357 : 2227-2236, 2007
 ⇒ 血小板減少例に対するIFN治療を、トロンボポエチン作動薬により行うことが可能とした報告である。
- 10) McHutchison, J. G., et al. : N. Engl. J. Med., 360 : 1827-1838, 2009
 ⇒ Telaprevirによる治療効果を示した。

Profile 坂本 穰 (Minoru Sakamoto)

山梨大学准教授・医学部附属病院肝疾患センター長

1990年 山梨医科大学 (現山梨大学医学部) 卒業, 第1内科 (鈴木宏教授) 入局, 自治医科大学予防生態学教室 (真弓真教授) に国内留学, '94年大学院修了, 医学博士, 2010年から現職

榎本 偲幸 (Nobuyuki Enomoto)

山梨大学教授・大学院医学工学総合研究部・医学部内科学講座第1教室

1984年 東京医科歯科大学医学部卒業, 医学博士, 2003年から現職

▶ Guideline / Guidance ガイドラインの考え方

(1) 治療の目的

- ▶ 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起こるとされています。また、慢性炎症の持続により慢性肝炎は肝硬変へと進展し、これに伴い肝細胞癌が合併することが知られています。
- ▶ C型慢性肝炎の治療の第1の目標は「HCVを排除する」ことですが、現在のところ、これを可能とするのはインターフェロン (IFN) を用いる抗ウイルス療法しかありません。治療の最終ゴールは「肝機能を正常化し、肝硬変への進展および肝発癌を阻止し、生命予後を改善すること」です。
- ▶ IFNの治療成績は、ウイルス量とウイルス型 (genotype) によってある程度規定されます。治療ガイドラインでは、ウイルス量とウイルス型により、第1選択とすべき治療法と期間が示されています。

(2) IFN療法の適応

- ▶ IFN治療は、HCV感染を認めるすべての症例が適応となります。従来は肝機能 [ALT (GPT)] 異常者のみに適応がありましたが、最近ではALT正常であっても肝線維化進展例がみられることや、経過中に肝機能異常が出現する例があることからALT値にかかわらず治療適応があるとされています。
- ▶ IFN療法には、多くの副作用がみられ、生命を脅かす副作用として、自殺企図・間質性肺炎・脳出血などがあります。特に高齢者では間質性肺炎の発症率と死亡リスクが高く、糖尿病や高血圧の合併症を持つ患者では脳出血のリスクが高まるとされています。
- ▶ 治療年齢の上限は特にありませんが、高齢者では、全身的な健康状態や合併症の有無、肝病変進展度 (発癌リスク) により治療適応を総合的に判断すべきと考えられています。

(3) IFN療法の効果判定

- ▶ ウイルス学的な治療効果判定は、持続的ウイルス陰性化 (sustained virological response: SVR) で行い、通常治療終了24週後に、リアルタイムPCR法で判定します。
- ▶ 無効例は、治療期間中に1度もウイルス陰性化が得られない無反応 (non-response または null-response: NR) と1度はウイルス陰性化

したものの治療後に再度ウイルスが出現した再燃 (relapse) とに分類します。これは再治療の際に後者のほうが治療成績が良いので、参考にするためです。

- ▶ 治療開始12週後のHCV陰性化はcomplete early virological response (cEVR), 治療開始12週後にHCV RNA量が治療開始前より2 log (100倍) 以下に低下したものはpartial early virological response (pEVR) として評価し, 治療効果予測ないしは治療期間決定の参考にします。

(4) IFNの種類と治療法

- ▶ IFNには連日ないしは週3回投与が必要な通常型と, 通常型のIFNにポリエチレングリコール (PEG) を結合させ週1回投与で持続的な効果を発揮することが可能となったペグインターフェロン (PEG-IFN) があり, PEG-IFN α 2a (ペガシス[®]) とPEG-IFN α 2b (ペグイントロン[®]) とがあります。
- ▶ 通常型のIFNには天然型の α 型と β 型 (フェロン[®]) があり, 前者は筋注, 後者は静注で投与されますが, 後者は「うつ」の副作用が出ていくことが知られています。
- ▶ また, リバビリン (RBV) を併用することで効果が各段に高まることが明らかになり, PEG-IFN α 2aではコペガス[®]が, PEG-IFN α 2bではレベトール[®]との併用が認められています。

▶ Case/Variation: 臨床でしばしば遭遇する状況

- ▶ IFN治療反応性を予測するために, ウイルス量とgenotypeを把握する必要があります。ウイルス量は, リアルタイムPCR法で 5.0×10^6 log IU/mL以上, コア蛋白定量法で300 fmol/L以上, b-DNA法で1Meq/mL以上が高ウイルス量とされ, これ未満の症例よりも治療効果が劣ります。ウイルス量測定法はリアルタイムPCR法が最も高感度なため, ウイルス陰性化の判定にはこの方法での検出感度以下 (検出せず) を用いるのが一般的です。
- ▶ genotype 1は難治であり, genotype 1かつ高ウイルス量症例最も難治とされています。このため, ガイドラインでは治療成績に基づきウイルス量とgenotypeにより推奨される治療法と治療期間が示されています。

<p>▶最近では、年齢、性別、肝線維化の宿主因子、HCVのISDR (IFN感受性決定領域、interferon sensitivity determining region) や、コア70番や91番のアミノ酸置換、宿主SNPのIL28Bなども治療効果と密接に関連することが明らかになっています。</p>	<p>⑧ ウイルス変異や宿主SNPを応用した個別化医療</p>
<p>▶RBVが使用できない場合もあります。RBVには溶血性貧血の副作用があるほか、妊婦、授乳中またはパートナーが妊娠する可能性がある男性では禁忌です。また、IFNの副作用を増強させる可能性があり、RBV非適応例となります。</p>	<p>⑨ リバビリンが使用できない場合</p>
<p>▶α型のIFNは、うつを誘発することが知られており、うつ病を併せている場合やうつ状態が危惧される場合には、α型IFNの不適応例となります。</p>	<p>⑩ うつ、もしくはうつ状態の合併がある場合</p>
<p>▶現在の治療法でもウイルス排除が期待できない場合で、治療の時間的猶予がある場合は、近い将来使用可能となる新規治療法を行うことも検討されます。</p>	<p>⑪ 新規治療法への期待</p>

Method/Approach 解法・診療の進め方

⑥ ウイルス量とgenotypeから治療方針を考える (図1)

① genotype 1 かつ高ウイルス量の場合

▶最も難治のgenotype 1 かつ高ウイルス症例では最も治療効果が高いPEG-IFN+RBV併用療法が推奨されます。この際の標準治療期間は48週で、12週までにウイルス陰性化した場合(cEVR)、SVR率は70%程度と推測されます。一方、治療開始12週後にHCV RNAが治療開始前値の1/100に低下しない場合の48週間治療のSVR率は20%程度にすぎません。しかし、36週までにリアルタイムPCR法でウイルス陰性化した場合は治療期間を72週に延長すれば40%のSVR率が期待できるため、ガイドライン(補足)で治療期間が示されています(図2)。

② genotype 2 かつ高ウイルス量の場合

▶genotype 2 かつ高ウイルス量例ではPEG-IFN+RBV併用療法を24週間行えば80~90%の高いSVRが期待できます。しかし、初回治療の場合、現在保険適用があるのはPEG-IFN α 2b+レボトル®のみで、PEG-IFN α 2a+コベガス®には適用がないことには注意が必要です。

③ 低ウイルス量の場合

▶初回治療では、低ウイルス量症例では、PEG-IFN+RBV併用療法は保険適用がないので、通常型IFNないしは、単独で使用が認められているPEG-IFN α 2aを用いることとなります。この場合での治療期間は24週ですが、きわめて早期にウイルスが陰性化した場合には治療期間の短縮も考慮されます。