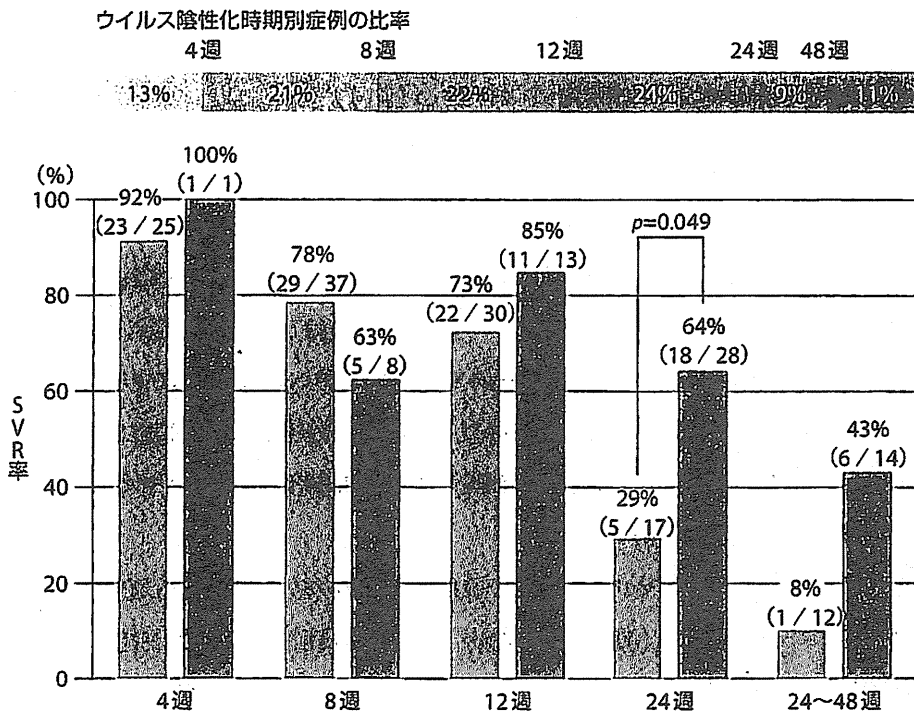
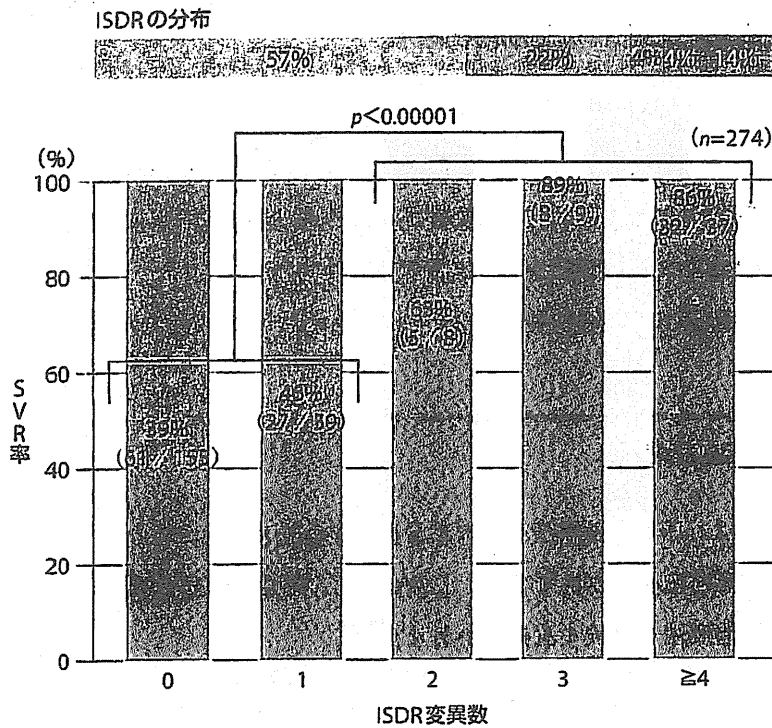


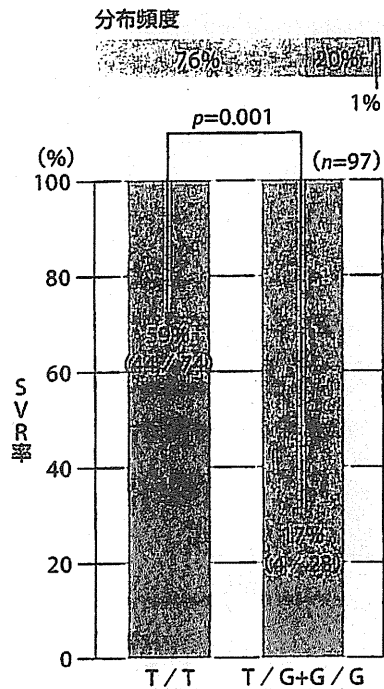
① ペグインターフェロン+リバビリン療法(高ウイルス量)の治療成績



② genotype1かつ高ウイルス量例のPEG-IFN+RBV療法のウイルス陰性化時期別治療成績



③ genotype1かつ高ウイルス量例のペグインターフェロン+リバビリン療法のISDR変異数別SVR率(1b)



④ genotype 1かつ高ウイルス量例のペグインターフェロン+リバビリン療法のIL28B SNP(rs8099917)別SVR率(1b)

② ウイルス変異や宿主SNPを応用した個別化医療

- ▶ さらに詳細に治療効果を予測する場合には、ウイルス変異やIL28BのSNP (single nucleotide polymorphism) を考慮する必要があります。特にgenotype 1では、ISDR領域内のアミノ酸変異数が多いほど治療成績は高く、2個以上の変異があると90%程度がSVRとなります。また、コア領域70番・91番のアミノ酸置換があると治療成績が劣ります。
- ▶ 最近、宿主SNPのIL28BがIFNの感受性を規定していることも明らかになっています(図3・4)。

③ リバビリリンが使用できない場合

- ▶ リバビリリンの非適応例では、IFN単独療法を選択する必要があります。ただし、その場合には治療効果が劣ることに注意する必要があります。したがって、予測される治療効果と発癌リスクを考慮し、治療時期や治療法を選択する必要があります。

④ うつ、もしくはうつ状態の合併がある場合

- ▶ α 型のIFNにはうつの副作用があります。 β 型のIFNはこの副作用が起こりにくいため、IFN α 製剤(PEG-IFN α を含む)によるうつなど副作用に対する恐怖感がある場合や、基礎疾患としてうつがある場合には、IFN β (フェロン[®]) + RBV療法が適応となります。ただし、週3回の注射が必要なことや、製剤が高価であることには注意が必要です。

⑤ 新規治療法への期待

- ▶ 現在、最も難治であるgenotype 1かつ高ウイルス量症例であって、さらに難治の要素を持っている場合、新規治療法に期待が持たれます。具体的には、PEG-IFN + RBVにHCVのプロテアーゼ阻害薬のtelaprevir : TPVを加えた3者併用療法が近い将来施行可能となると考えられます。初回治療例でPEG-IFN + RBV + TPVの3者併用療法を3カ月間行った後、PEG-IFN + RBV療法を3カ月追加した検討では、genotype 1かつ高ウイルス量の症例でも70%以上のSVRが期待されており、今後の治療の主流となると考えられています。

↳ 坂本 穂, 櫻本信幸

編者紹介

泉 並木 (いずみ なみき)

武蔵野赤十字病院 副院長, 消化器科部長

1978年 東京医科歯科大学医学部卒
同年 東京医科歯科大学第二内科
1986年 武蔵野赤十字病院内科勤務, 副部長
1995年 武蔵野赤十字病院消化器科部長
2003年 近畿大学医学部客員教授併任
2006年 東京医科歯科大学臨床教授併任
1999年 マイアミ大学にて米国第1例目の肝臓マイクロ波治療のライブデモ
2006年 山梨大学医学部非常勤講師
2010年 日本肝臓学会理事
2008年より現職

[資格等]

日本消化器病学会評議員・指導医
日本内科学会認定内科指導医
日本肝臓学会評議員・指導医・演題選定委員・広報担当委員
日本消化器内視鏡学会評議員・指導医
日本医師会認定産業医
日本肝臓研究会幹事
厚生労働省 B 型・C 型肝炎治療標準化研究班委員
近畿大学医学部客員教授
東京医科歯科大学臨床教授
山梨大学医学部非常勤講師

ガイドライン/ガイドンス

慢性肝炎 こう診る・こう考える

定価(本体 2,500円+税)

2011年2月25日 第1版

編者 泉 並木

発行者 梅澤俊彦

発行所 日本医事新報社 www.jmedj.co.jp

〒101-8718 東京都千代田区神田駿河台2-9
電話(販売)03-3292-1555 (編集)03-3292-1557
振替口座 00100-3-25171

印刷 ラン印刷社

© 泉 並木 2011 Printed in Japan
ISBN978-4-7849-5580-0 C3047 ¥2500E

JCOPY <(社)出版者著作権管理機構 委託出版物>

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。
複写される場合は、そのつど事前に、(社)出版者著作権管理機構
(電話 03-3513-6969、FAX 03-3513-6979、e-mail:info@jcopy.
or.jp)の許諾を得てください。

ウイルス変異からみたPEG-IFN+RBV療法の治療効果予測

坂本 穰* 榎本 信幸**

索引用語：HCVゲノム解析，ISDR（Interferon sensitivity determining region），
IRRDR（IFN/RBV resistance-determining region），*IL28B* SNP，
オーダーメイド（個別化）医療

1 はじめに

C型慢性肝炎に対するインターフェロン（IFN）治療は，ペグインターフェロン（PEG-IFN）+リバビリン（Ribavirin: RBV）併用療法により，最も難治とされる遺伝子型（genotype）1bかつ高ウイルス量症例でも，1年間の治療によって約半数の症例でウイルス排除（ウイルス持続陰性化：sustained viral response: SVR）が可能となった^{1,2)}。また，genotype 2aないしは2bでは，6カ月間の治療により90%近いウイルス排除が可能である。しかし，その半面，強力な抗ウイルス療法であるが故の副作用も多く，貧血や鬱症状，間質性肺炎，脳出血など，生命予後に関わる有害事象も報告され，副作用による薬剤の中止・減量が治療成績を著しく減弱させている。したがって，インターフェロン療法においては，

治療開始前の効果予測が，適応症例の選択や治療期間を含めた治療法の決定に必要不可欠であることはもちろん，治療効果と副作用とのrisk-benefit比較や，不要な治療を抑止するうえで非常に重要である。また，近い将来protease阻害剤を含めた新規治療薬も使用可能となるため，現行治療の適応症例を見極めることはますます重要になると考えられる。これまで，PEG-IFN+RBV併用療法の治療効果予測因子としては年齢，性別，肝線維化・脂肪化，インスリン抵抗性などの宿主因子，また最近ではインターフェロン感受性を規定する宿主ゲノムの1塩基多型（SNPs: single nucleotide polymorphism），遺伝子型やウイルス量を含めたウイルス側の因子が明らかされている。さらに治療因子としては薬剤の中止・減量，治療期間や薬剤adherenceなどが明らかになっている。このうち，ウイルス側

Minoru SAKAMOTO et al : Response to peginterferon and ribavirin combination therapy using mutations in the HCV genome

*山梨大学医学部附属病院肝疾患センター [〒409-3898 山梨県中央市下河東 1110]

**山梨大学大学院医学工学総合研究部・内科学講座第1教室（消化器内科）

Genotype 2a > 2b >> 1b

HCV-1b: PEG-IFN+RBV

治療早期の良好な反応性

- ・ RVR (HCV-RNA negative at week 4)
- ・ complete EVR-8w (HCV-RNA negative at week 8)

NS5 2209-2248 (Interferon Sensitivity Determining Region)



Core R70Q

NS5 2334-2379 (IFN/RBV resistance-determining region)

治療抵抗性

- ・ no EVR (under 2 log drop at week 12)

最終治療効果

- ・ SVR
- ・ Relapser

図1 インターフェロン効果を規定するHCV遺伝子領域

因子は最も重要で、C型肝炎ウイルス(HCV)の遺伝子型(genotype)やウイルス量は、治療法選択の基本情報であり、厚生労働省の治療標準化に関する研究班から出されている治療ガイドライン⁴⁾でもこれに応じた場合分けがなされている。さらに、1b型のHCVにおいては、HCVの非構造領域(Nonstructural region: NS) 5A内のインターフェロン感受性領域(Interferon sensitivity determining region: ISDR)^{5,6)}、IFN/RBV抵抗性領域(IFN/RBV resistance-determining region: IRRDR)⁷⁾コアアミノ酸変異(図1)^{8~11)}がIFNの感受性に関連することが明らかになっている。

2 ゲノムワイド研究とIFN感受性

Genotype 1型に対するPEG-IFN+RBV療法のSVR率は50%程度に過ぎず、治療効果を規定するウイルス側因子について、これまでに多くの検討がなされてきた。われわれは、1b型かつ高ウイルス量の症例で、これまでにPEG-IFN+RBV標準治療を行った症例

で、HCVゲノムの全アミノ酸配列を決定し、SVRと非SVR症例での相違を検討した。この結果、1アミノ酸の相違として抽出されたのはコア70アミノ酸置換のみであり、他の領域は検出されなかった。一方、これまで、ISDRのアミノ酸変異数が治療成績に関連することが報告されてきたが、治療効果と関わるのは、この領域内の特定部位のアミノ酸ではなく、変異の集積であるために、1アミノ酸の相違としては抽出されない可能性が考えられた。そこで、ISDRやIRRDR内の野生株もしくはコンセンサス配列に対するアミノ酸変異の個数を評価するため、連続する1から数十個のアミノ酸の相違を、出現確率のp値の逆数で評価するsliding window analysisの手法^{12,13)}を用いて解析した。この結果、SVR例と非SVR例で相違がみられたのは、NS5A領域のN末端よりの領域でISDRやEl-Shamyらにより報告されたIRRDRと一致していた。

そこで、ISDR変異数、IRRDR変異数別

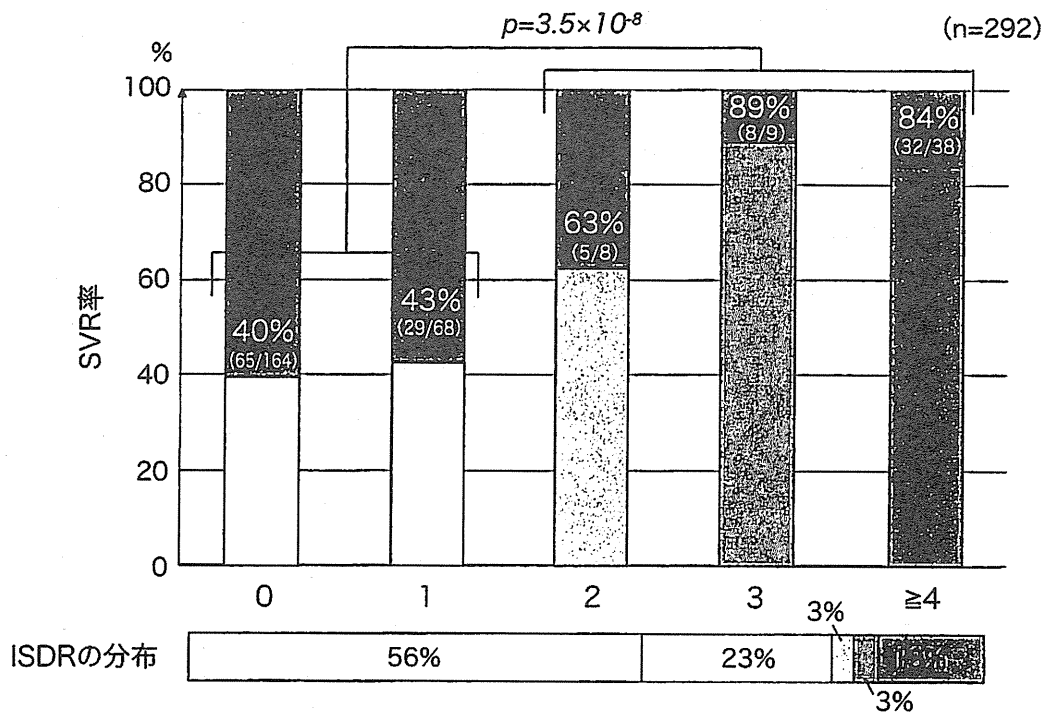


図2 ISDR変異数別SVR率

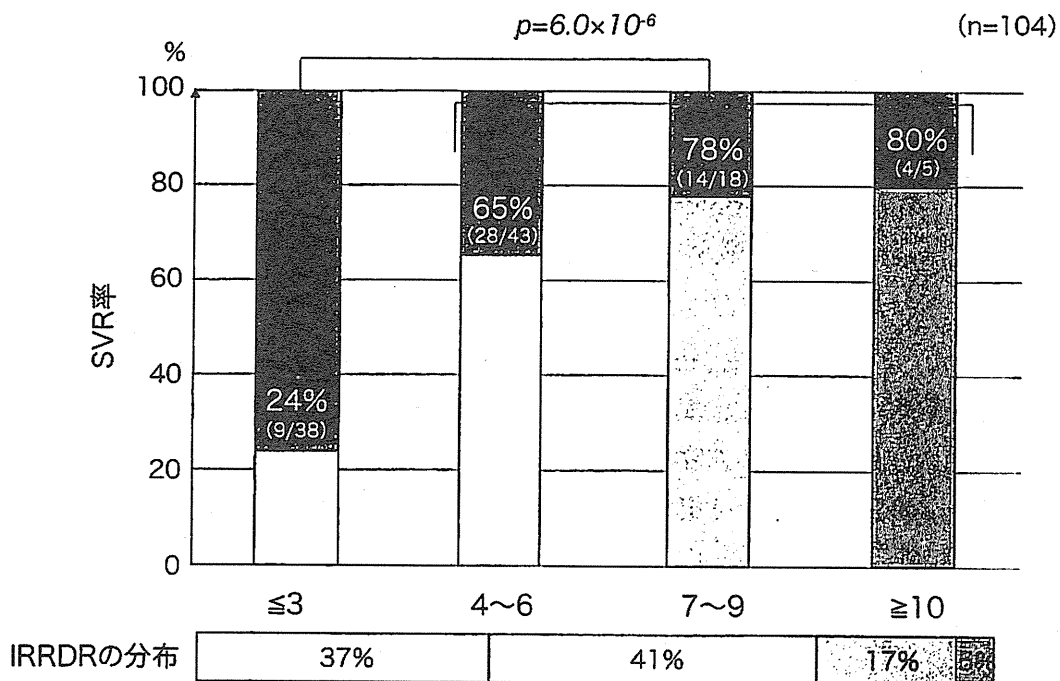


図3 IRRDR変異数別SVR率

に、治療成績を検討するとISDR変異数が0ないし1個の症例と2個以上の症例では有意差($p=3.5 \times 10^{-8}$)を持って治療成績は異なることが明らかになり、IRRDR変異数では0から3個の症例と4個以上の症例で、有意差($p=6.0$

$\times 10^{-6}$)をもって治療成績が異なることが明らかになった(図2, 図3)。また、コアアミノ酸変異は、70番のアミノ酸がアルギニン(R)かこれ以外では治療成績に傾向差がみられるものの91番アミノ酸の変異は有意な差

表1 PEG-IFN+RBV療法(12カ月)のSVRに寄与する因子(n=294)

		odds比	95% CI	p
年齢	< 60/≥ 60	0.0890	0.019-0.411	0.0020
ISDR変異数	0/1-	11.800	2.728-51.052	0.0010
IRRDR変異数	≤ 3/≥ 4	20.049	3.714-108.218	0.0005
<i>IL28B</i> (rs8099917)	GG+TG/TT	14.049	2.807-75.104	0.0014

多変量ロジスティック回帰分析

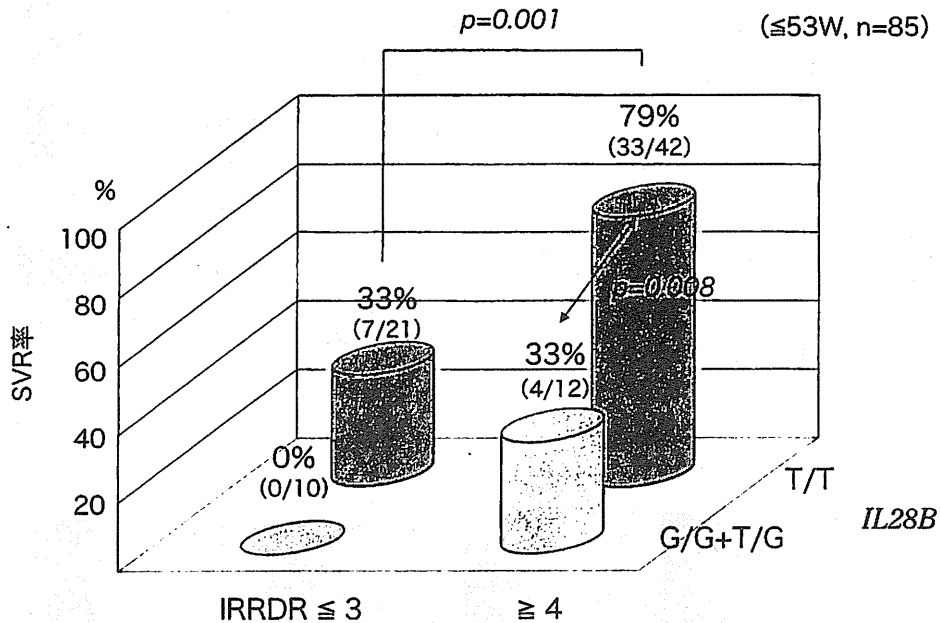


図4 *IL28B* SNP (rs8099917)とIRRDR変異別SVR率

としてはみられなかった。しかし、ISDRが0ないし1個変異の難治例に限ると、コアアミノ酸変異が治療効果に関連し、コア70番がRであれば治療効果が期待できるがR以外では治療効果が乏しかった¹⁴⁾。

3 遺伝子変異と宿主因子からみた治療効果予測

一方、PEG-IFN+RBV療法の治療効果に関連するゲノムワイド関連解析によって、19番染色体上のIFNラムダ遺伝子近傍の*IL28B*領域の1塩基多型(SNP)が同定された。すなわち*IL28B*遺伝子座の代表的SNPであるrs8099917のminor allele (TG/GG)を持つ症

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た^{15~17)}。そこで、*IL28B*遺伝子多型を含めて、年齢・性別・肝線維化、肝機能検査値などとともにウイルス側因子である、ISDR、IRRDR、コアアミノ酸変異を含めて治療効果規定を因子する因子の多変量解析を行った。この結果、有意な因子は年齢(60歳未満)、IRRDR変異数(≥ 4)、ISDR変異数(≥ 1)、*IL28B* SNP (T/T)のみであり、ウイルス側因子であるISDRやIRRDRと、宿主因子である*IL28B*は独立して治療効果を規定する因子であることが明らかになった(表1)。

そこで、ウイルス側因子と*IL28B*とを組合

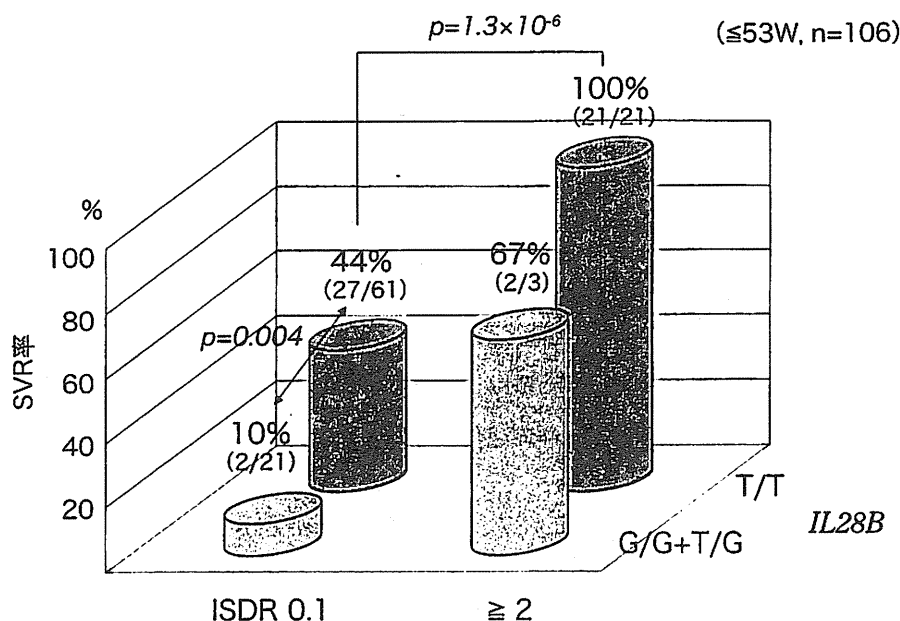


図5 *IL28B* SNP (rs8099917)とISDR変異別SVR率

せ検討すると、*IL28B*多型がmajor allele (TT)の場合、IRRDR変異数4個以上の症例ではSVR率は79% (33/42)であるのに対しIRRDR変異数3個以下の症例では33% (7/21)であり有意差を認めた($p=0.001$)。一方*IL28B*がminor allele (TG+GG)の場合は全般にSVR率は低下するが、IRRDR変異数4個以上では33% (4/12)であるのに対しIRRDR変異数3個以下では1例もSVRはみられなかった(図4)。また、IRRDR変異数が同じであっても、*IL28B*のgenotypeによって治療効果が異なり、これらは独立した治療効果規定因子であることが示された。同様の結果はISDRでも見られており(図5)、詳細な検討にはIRRDRが有用であるが、コマーシャルベースでも測定可能であるISDRを用いても、治療効果予測には十分有用であることが示唆された。一方、コアアミノ酸変異と*IL28B*変異には相関があり、*IL28B* majorでは74%の症例でコア70番アミノ酸がRであり、*IL28B* minorでは73%がR以外であり、*IL28B*の多型により存在するHCV株が異なり、コアアミノ酸変異

は、*IL28B*によるIFN感受性の表現系として観察されている可能性が示唆された。

4 オーダーメイド治療への応用

以上より、ウイルス側因子、とくにgenotypeやISDR/IRRDRなどと宿主因子である*IL28B*を組合せることで、PEG-IFN+RBV療法の治療効果予測が可能となることが予想される。すなわち、genotype 1では、ISDRに2個以上もしくはIRRDRに4個以上の変異があれば現行治療でも高い治療効果が期待できるため、治療効果が減弱しない年齢、とくに女性では50歳にならないうちの治療開始が望まれる。また、ISDR0.1変異ないしIRRDR3個以下変異症例では、*IL28B*がmajor (T/T)の場合は標準治療でもある程度の治療効果が期待できるが、HCVRNAが遅れて陰性化した(LVR: late viral response)例では治療期間を延長しないと治療効果を向上させることができない可能性がある^{18,19)}。また、*IL28B*がmajor alleleの場合は、基本的にIFNには感受性のため、近い将来使用可能となるprotease阻害

HCV genotype	1b		2a/2b
IRRDRまたはISDR	IRRDR \leq 3 (IRRDR)またはISDR \leq 1	左以外	
IL28B SNP	T/G+G/G	T/T	
治療方針	IFN単独療法		
	PEG-IFN+RBV併用療法		
	P+R併用(延長)療法		
	NS3 protease阻害剤		
	新規治療に期待	総合的判断により治療導入	積極的に治療導入

図6 ウイルス変異と宿主変異からみたC型慢性肝炎に対するインターフェロン治療方針

剤の併用による，3者併用療法が選択肢の一つになると期待される^{20,21)}。しかもこの治療法の治療期間は6カ月間に短縮できることが見込まれており，治療法の大きな転換期になる可能性がある。しかしprotease阻害剤は貧血や皮疹などの副作用もみられることから，現行治療で治癒可能な症例や，肝線維化進展例で肝発癌までの時間的猶予がない症例ではprotease阻害剤の上市まで待つことなく現行治療を開始したほうが良い場合もありうる。さらにIL28Bがminor allele (T/G+G/G)の症例では，IFNには抵抗性であるため，protease阻害剤を併用しても治療に抵抗する可能性もある。とくに過去のIFN療法に対してほとんど感受性を示さないnull responderに対しては，protease阻害剤を併用しても治療効果が期待できないことが報告されており，IFNを併用しない新規STAT-Cの組合せによる治療を期待することになる。

したがってC型慢性肝炎のインターフェロン治療にあたっては，ウイルス変異・宿主変異を考慮することが，オーダーメイド治療への大きな道となることが予測される。すなわち，現時点で治癒可能な症例，近い将来使用可能となる，PEG-IFN+RBV+protease阻害剤の3者併用療法で治癒可能な症例を高い予測

確率で選択することが可能であり，治療導入時期の決定が可能となる。しかし，難治が予測される症例では現時点での治療必要性を考慮し，時間的余裕がある場合には将来の新規治療法に期待すべきであるし，肝線維化進展例や肝発癌危険群では現時点での治癒可能性を考慮しつつ治療法検討する必要がある。(図6)。

文 献

- 1) Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC et al : Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. Lancet 358 : 958-965, 2001
- 2) Fried NW, Schffman ML, Reddy KR et al : Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med. 347 : 975-982 : 2002
- 3) Zeuzem S, Hultcratz R, Bourliere M et al : Peginterfeeron alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with 2 or 3. J Hepatol 40 : 993-999, 2004
- 4) 平成21年度厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業(肝炎分野)，B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究. 総括分担報告書
- 5) Enomoto N, Sukuma I, Asahina Y et al : Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with

- chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 334 : 77-81, 1996
- 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) 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
 - 8) 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
 - 9) 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
 - 10) 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. *Intervirology* 50 : 361-368, 2007
 - 11) 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
 - 12) Prouski V, Holmes EC : SWAN: sliding window analysis of nucleotide sequence variability. *Bioinformatics* 14 : 467-468, 1998
 - 13) Tajima F : Determination of window size for analysing DNA sequences. *J Mol Evol* 33 : 470-473, 1991
 - 14) 坂本 穰, 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
 - 15) Tanaka Y, Sakamoto N, Nakagawa M et al : Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- 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 G et al : IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon- 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-alfa-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

* * *

肝炎診療に必要な遺伝子検査

C型肝炎の遺伝子解析と診療への応用

坂本 穰・榎本信幸*

山梨大学医学部附属病院肝疾患センター・*山梨大学大学院医学工学総合研究部・内科学講座第1教室(消化器内科) / さかもと・みのる えのもと・のぶゆき

はじめに◎

C型肝炎は、年余にわたるC型肝炎ウイルス hepatitis C virus (HCV)の感染の結果、慢性肝炎・肝硬変・肝癌へと進展することから、大きな社会問題となっている。しかも、わが国の男性の第4位、女性の第6位を占める肝臓癌の原因の70%あまりがHCVの関連していることが明らかになっている。そこで、肝線維化を抑制し肝発癌を抑止することがC型肝炎治療の究極の治療目標であり、このためにはHCV排除が最も重要である。HCVは、一旦感染すると自然排除は困難で、排除することができるのはインターフェロン(IFN)を用いる抗ウイルス療法のみである。特に、現在の標準治療であるペグインターフェロン(PEG-IFN) + リバビリン(ribavirin: RBV)併用療法は、最も難治とされる遺伝子型(genotype) 1bかつ高ウイルス量症例でも、1年間の治療によって約半数の症例でウイルス排除(ウイルス持続陰性化 sustained viral response: SVR)が可能となった。また、genotype 2aないしは2bでは、6ヵ月間の治療により90%近いウイルス排除が可能である。しかし、その半面、強力な抗ウイルス療法であるがゆえの副作用も多く、貧血やうつ症状、間質性肺炎、脳出血など、生命予後にかかわる有害事象も報告され、副作用による薬剤の中止・減量が治療成績を著しく減弱させている。したがって、IFN療法においては、治療開始前の効果予測が、適応症例の選択や治療期間を含めた治療法の決定に必要不可欠であることはもちろん、治療効果と副作用とのrisk-benefit比較や、不要な治療を抑止するうえで非常に重要である。また、近い将来 protease 阻害薬を含めた新規治療薬も使用可能となるため、現行治療の適応症例を見極めることはますます重要になると考えられる。

PEG-IFN + RBV 併用療法の
治療効果予測因子◎

これまで、PEG-IFN + RBV 併用療法の治療効果予測因子としては年齢、性別、肝線維化・脂肪化、インスリン抵抗性などの宿主因子、また最近ではIFN感受性を規定する宿主ゲノムの1塩基多型 single nucleotide polymorphism (SNPs), genotype やウイルス量を含めたウイルス側の因子が明らかにされている。さらに治療因子としては薬剤の中止・減量、治療期間や薬剤 adherenceなどが明らかになっている。このうち、ウイルス側因子は最も重要で、HCVのgenotype やウイルス量は、治療法選択の基本情報であり、厚生労働省の治療標準化に関する研究班から出されている治療ガイドライン¹⁾でもこれに応じた場合分けがなされている。

HCVの遺伝子構造と治療効果に関連する

遺伝子変異◎

HCVは9,600塩基対からなる+一本鎖のRNAウイルスであり、ゲノムの両端に非翻訳領域が存在し、中央部には約3,010個のアミノ酸からなる1本のポリ蛋白前駆体をコードするopen reading frameが存在する。この領域にはHCVの構造蛋白(コア、エンベロープ蛋白)とウイルス増殖に必要な種々の酵素をコードする非構造領域 non-structural region (NS)が存在する。このうち、現在までにIFN感受性との関連が指摘されているのは、genotypeはもちろんのこと、1b型のHCVではコア70番・91番アミノ酸変異、E2/NS1に存在する超可変領域 hypervariable region (HVR)、HCVの非構造領域 nonstructural region (NS) 5A内のIFN感受性領域 interferon sensitivity determining region (ISDR)²⁾、IFN/RBV抵抗性領域 IFN/RBV resistance-determining region (IRRDR)³⁾ コアア

C型慢性肝炎の究極の治療目標は肝線維化を抑制し肝発癌を抑止することである。
C型肝炎ウイルスは一旦感染すると自然排除は困難で、排除することができるのは
インターフェロンのみである。

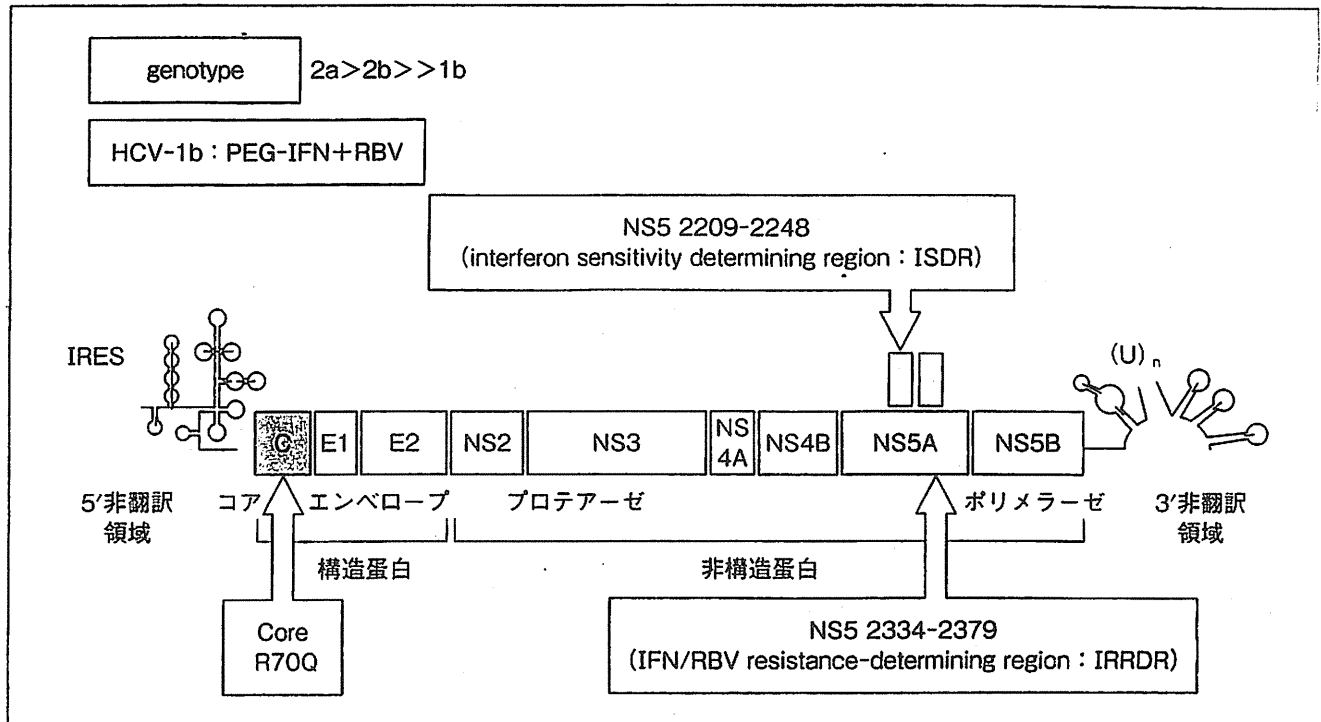


図1 インターフェロン効果を規定する HCV 遺伝子領域

ミノ酸変異⁴⁾が IFN の感受性に関連することが明らかになっている(図1)。特に NS5A 領域は 450 アミノ酸残基からなるリン酸化蛋白で、RNA-dependent RNA polymerase と結合し、その活性を制御していると考えられており、この領域から翻訳される蛋白は、種々の tyrosine kinase 活性を調節していることが推測されている。このため、この領域内のアミノ酸変異は HCV-RNA の複製効率に影響すると考えられ、レプリコンによる検討でもこの領域内の変異が HCV-RNA の複製効率に影響を及ぼすことが報告されている。

1. genotype

HCV は、遺伝子の修復機構を持たないため、約 20% の塩基配列が異なる genotype が存在する。世界では少なくとも 1~6 の 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% を占めている。genotype 測定は、現在健康保険は適応ではないため、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。

genotype ごとの IFN 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。しかし、2a 型と 2b 型の感受性の差は小さくなく、臨床的には、グループ 2 は経じて治療効果が高いと考えてよい。一方、IFN 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ほど治療効果が高く、最も治療効果の高い 2a 型かつ低ウイルス量症例では、従来の IFN 単独 6 ヶ月間の SVR 率は 90% であり、IFN 単独療法でも十分高い効果が得られている。

ペグインターフェロン+リバビリン療法の治療効果を規定するのは、宿主因子と、HCVのウイルス側因子である。
 ウイルス側因子では、genotypeが最も重要である。
 1b型のHCVでは、ウイルス側因子としてISDRやコアアミノ酸変異が治療効果に関連する。

また、初回治療の場合、高ウイルス量症例のみPEG-IFN+RBV併用療法が認められており、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週間が標準である。当科および関連施設で組織する共同研究Y-PERS(Yamanashi-PEG-interferon α 2b-Ribavirin Study)で集積された症例の検討では、PEG-IFN+RBV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50% (210/418)、86% (88/102)、80% (61/76)であった(図2)。

2. genotype 1型での遺伝子変異とIFN感受性 genotype 1型に対するPEG-IFN+RBV療法

の治療効果を規定するウイルス側因子について、われわれは、1b型かつ高ウイルス量の症例で、これまでにPEG-IFN+RBV標準治療を行った症例で、HCVゲノムの全アミノ酸配列を決定し、SVRと非SVR症例での相違を検討した。この結果、1アミノ酸の相違として抽出されたのはコア70アミノ酸置換のみであり、他の領域は検出されなかった。一方、これまで、ISDRのアミノ酸変異数が治療成績に関連することが報告されてきたが、治療効果とかわるものは、この領域内の特定部位のアミノ酸ではなく、変異の集積であるために、1アミノ酸の相違としては抽出されない可能性が考えられた。そこで、ISDRやIRRDR内の野生株もしくはコンセンサス配列に対するアミノ酸変異の個数を評価するため、連続する1から数十個のアミノ酸の相違を、出現確率のp値の逆数で評価するsliding window analysisの手法を用いて解析した。この結果、SVR例と非SVR例で相違がみられたのは、NS5A領域のN末端よりの領域でISDRやEl-Shamyらにより報告されたIRRDRと一致していた。

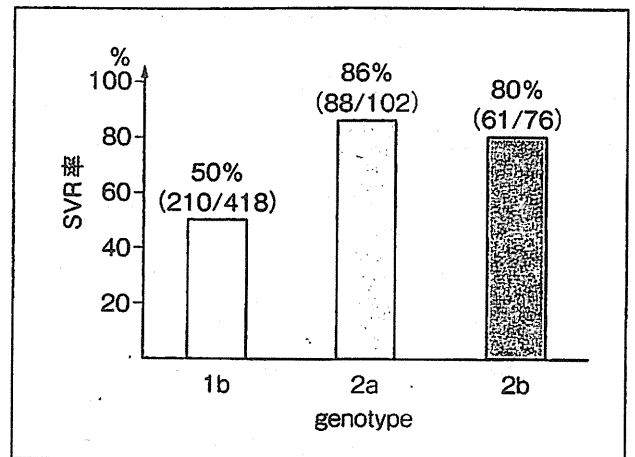


図2 genotypeによるPEG-IFN+RBV療法の治療成績(n=596)

a. コアアミノ酸変異

コアアミノ酸変異により、PEG-IFN+RBV併用療法の治療効果が異なることはAkutaらにより報告された。これによれば、コア70アミノ酸はもともとアルギニン(R)であるがこれがグルタミン(Q)やヒスチジン(H)に置換していると治療効果が劣り、91番アミノ酸がロイシン(L)からメチオニン(M)に置換していると治療効果が劣り、特に両者が変異しているdouble mutant例では著しく治療効果が劣ることが示されている。もともとコア蛋白質は肝細胞の脂肪化と関連し、コアアミノ酸変異が、脂質代謝に影響を及ぼす可能性やインスリン抵抗性の発現に関与し治療効果を修飾する可能性が示されている。

b. ISDR・IRRDR

ISDRは1b型のHCVのIFN単独療法の治療効果と関連するNS5A内の40アミノ酸(aa2209-2248)として発見された。すなわち、genotype 1bのHCVの標準株であるHCV-Jと比較して、変異のない野生型(wild type)ではIFN単独療法ではウイルス排除される可能性はきわめて低いのに対し、4個以上の変異がある変異型(mutant type)

宿主因子としては年齢、性、肝線維化などが重要である。

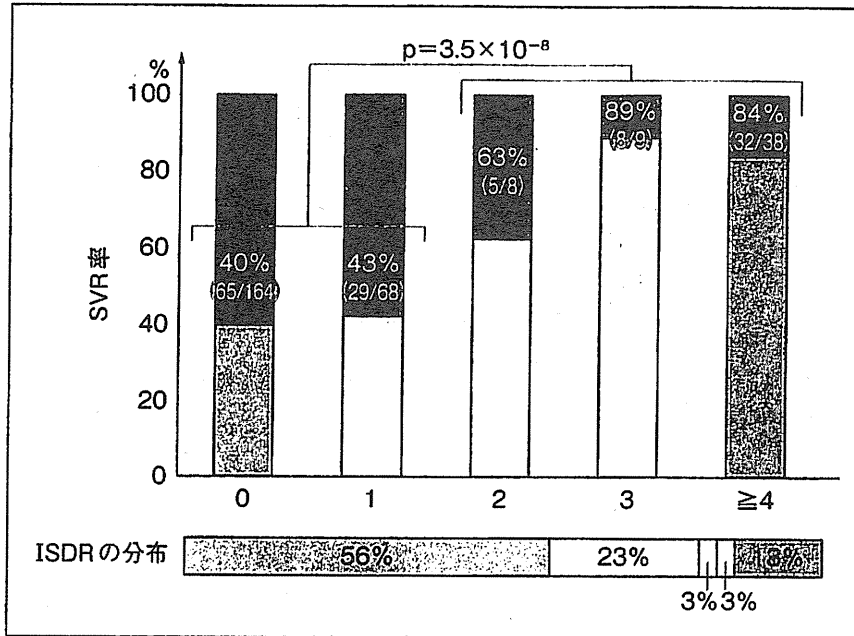


図3 ISDR変異数別PEG-IFN+RBV療法の治療成績(n=292)

では高い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。PEG-IFN+RBV併用療法ではISDR変異数が0ないし1個の症例と2個以上の症例で有意差($p = 1.3 \times 10^{-6}$)を持って治療成績が異なることが明らかになっている⁵⁾(図3)。

一方、IRRDRはISDRの下流の領域で、従来からIFN治療効果と関連するといわれてきたvariable 3(V3)regionを含む46アミノ酸(aa2334-2379)の領域で、アミノ酸変異数の増加により治療効果が高まることが報告されている。われわれの検討では、アミノ酸置換数が4個以上ある症例では、0から3個変異の症例に比較して、有意差($p = 6.0 \times 10^{-6}$)をもって治療成績が高いことが明らかになった。

遺伝子変異と宿主因子からみた治療効果予測●

一方、PEG-IFN+RBV療法の治療効果に関連するゲノムワイド関連解析によって、19番染色

体上のIFNラムダ遺伝子近傍の*IL28B*領域のSNPsが同定された。すなわち*IL28B*遺伝子座の代表的SNPsであるrs8099917のminor allele(TC+GG)を持つ症例では、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た⁶⁾。そこで、*IL28B*遺伝子多型を含めて、年齢・性別・肝線維化、肝機能検査値などとともにウイルス側因子である、ISDR、IRRDR、コアアミノ酸変異を含めて治療効果を規定する因子の多変量解析を行った。この結果、有意な因子は年齢(60歳未満)、IRRDR変異数(≥ 4)、ISDR変異数(≥ 1)、*IL28B*SNPs(TT)のみであり、ウイルス側因子であるISDRやIRRDRと、宿主因子である*IL28B*は独立して治療効果を規定する因子であることが明らかになった(表1)。

そこで、ウイルス側因子と*IL28B*とを組み合わせて検討すると、*IL28B*多型がmajor allele(TT)の場合、ISDR変異数2個以上の症例ではSVR率は100%(21/21)であるのに対しISDR変

最近、宿主因子として *IL28B* の SNPs 遺伝子変異が明らかになった。
HCV の遺伝子変異と宿主因子によりインターフェロン治療効果が予測可能である。

表1 PEG-IFN + RBV 療法(12ヵ月)の SVR に寄与する因子

		odds 比	95% CI	p
年齢	< 60/≥ 60	0.0890	0.019~0.411	0.0020
ISDR 変異数	0/1~	11.800	2.728~51.052	0.0010
IRRDR 変異数	≤ 3/≥ 4	20.049	3.714~108.218	0.0005
<i>IL28B</i> (rs8099917)	TG + GG/TT	14.049	2.807~75.104	0.0014

多変量ロジスティック回帰分析

異数1個以下の症例では44% (27/61)であり有意差を認めた($p = 1.3 \times 10^{-6}$)。一方 *IL28B* が minor allele (TG + GG)の場合は全般にSVR率は低下するが、IRRDR 変異数2個以上では67% (2/3)であるのに対しISDR 変異数1個以下では10% (2/21)であった(図4)。また、ISDR 変異数が同じであっても、*IL28B* の genotype によって治療効果が異なり、これらは独立した治療効果規定因子であることが示された。同様の結果はIRRDRでもみられており、IRRDRでもISDRでも、治療効果予測には十分有用であることが示唆された。一方、コアアミノ酸変異と *IL28B* 変異には相関があり、*IL28B* major allele では74%の症例でコア70番アミノ酸がRであり、*IL28B* minor allele では73%がR以外であり、*IL28B* の多型により存在するHCV株が異なり、コアアミノ酸変異は、*IL28B* によるIFN感受性の表現系として観察されている可能性が示唆された。

遺伝子解析の臨床への応用と個別化医療●

以上より、ウイルス側因子、特に genotype や ISDR/IRRDR などと宿主因子である *IL28B* を組み合わせることで、PEG-IFN + RBV 療法の治療効果予測が可能となることが予想される。すなわち、genotype 1では、ISDRに2個以上もしくはIRRDRに4個以上の変異があれば現行治療でも高い治療効果が期待できるため、治療効果が減弱しない60歳未満での治療開始が望まれる。また、

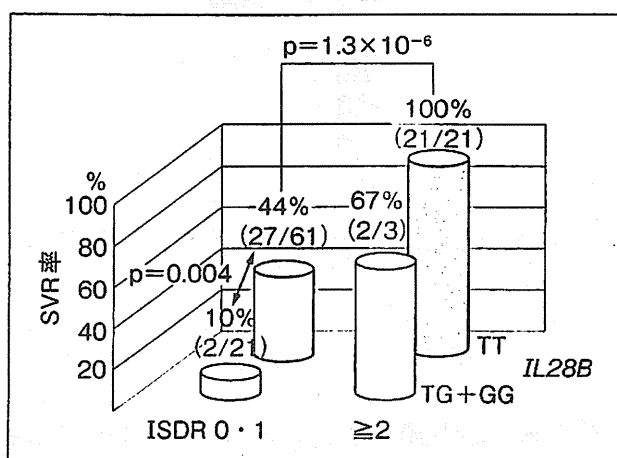


図4 *IL28B* SNPs (rs8099917) と ISDR 変異別 SVR 率 (≤ 53W, n = 106)

ISDR 0-1 個変異ないし IRRDR 3 個以下変異症例では、*IL28B* が major allele (TT) の場合は標準治療でも、ある程度の治療効果が期待できるが、HCV-RNA が遅れて陰性化した late viral response (LVR) 例では治療期間を延長しないと治療効果を向上させることができない可能性がある。また、*IL28B* が major allele の場合は、基本的に IFN には感受性のため、近い将来使用可能となる protease 阻害薬の併用による、3 剤併用療法が選択肢の一つになると期待される⁷⁾。しかもこの治療法は治療期間を 6 ヶ月間に短縮できることが見込まれており、治療法の大きな転換期になる可能性がある。しかし protease 阻害薬は貧血や皮疹などの副作用もみられることから、現行治療で治癒可能な症例や、肝線維化進展例で肝発癌までの時

HCV の遺伝子変異と宿主 SNP の遺伝子変異を考慮することで個別化医療が可能となる。

HCV genotype	1b		2a/2b
IRRD _R または ISDR	IRRD _R ≤ 3 (IRRD _R) または ISDR ≤ 1	左以外	
<i>IL28B</i> SNPs	TG+GG	TT	
治療方針	IFN 単独療法		
	PEG-IFN+RBV 併用療法		
	P+R 併用 (延長) 療法		
	NS3 protease 阻害薬		
	新規 IFN 製剤		
新規治療に期待	総合的判断により治療導入	積極的に治療導入	

図5 ウイルス変異と宿主変異からみたC型慢性肝炎に対するインターフェロン治療方針

間的猶予がない症例では protease 阻害薬の上市まで待つことなく現行治療を開始したほうが良い場合もありうる。さらに *IL28B* が minor allele (TG + GG) の症例では、IFN には抵抗性であるため、protease 阻害薬を併用しても治療に抵抗する可能性もある。特に過去の IFN 療法に対してほとんど感受性を示さない null responder に対しては、protease 阻害薬を併用しても治療効果が期待できないことが報告されており、IFN を併用しない新規 STAT-C の組み合わせによる治療を期待することになる。

したがってC型慢性肝炎のIFN治療にあたっては、ウイルス変異・宿主変異を考慮することが、個別化治療への大きな道となることが予測される。すなわち、現時点で治療可能な症例、近い将来使用可能となる、PEG-IFN + RBV + protease 阻害薬の3剤併用療法で治療可能な症例を高い予測確率で選択することが可能であり、治療導入時期の決定が可能となる。しかし、難治が予測される症例では現時点での治療必要性を考慮し、時間的余裕がある場合には将来の新規治療法に期待すべきであるし、肝線維化進展例や肝発癌危険群では現時点での治療可能性を考慮しつつ治療法検討する必要がある(図5)。

文 献

- 1) 平成22年度厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業(肝炎分野), B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究. 総括分担報告書
- 2) 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
- 3) El-Shamy, A. et al.: Sequence variation in hepatitis C virus nonstructural protein 5A predicts clinical outcome of pegylated interferon/ribavirin combination therapy. *Hepatology* 48: 38-47, 2008
- 4) Akuta, N. et al.: Predictive factors of virological non-response to interferon-ribavirin combination therapy for patients infected with hepatitis C virus of genotype 1b and high viral load. *J Med Virol* 78: 83-90, 2006
- 5) 坂本 穰ほか: 遺伝子変異からみたC型慢性肝炎に対するIFN治療効果予測. *日消誌* 106: 485-492, 2009
- 6) Tanaka, Y. et al.: Genome-wide association of *IL28B* with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 41: 1105-1109, 2009
- 7) McHutchison, J.G. et al.: Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *New Engl J Med* 360: 1827-1838, 2009

II. C 型肝炎

C 型肝炎に対する治療学の進歩

C 型肝炎に対する抗ウイルス療法反応性因子とその効果予測

HCV の NS5A 遺伝子変異 (ISDR・IRRDR) と インターフェロン治療反応性

Response to interferon therapy using mutations in the HCV-NS5A

坂本 穰¹ 榎本信幸²

Key words: C 型肝炎, ペグインターフェロン+リバビリン療法, ISDR, IRRDR, IL28B

はじめに

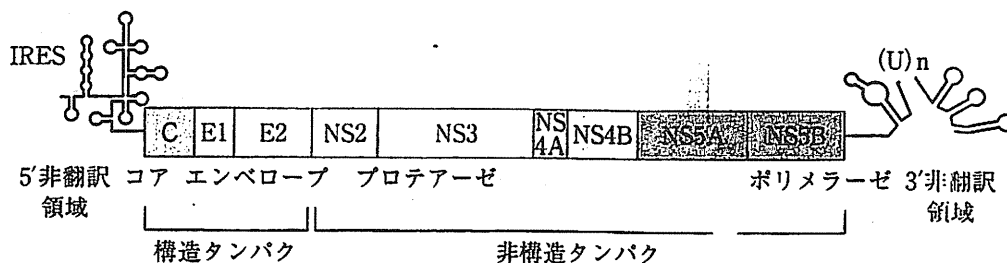
C 型肝炎に対する従来のインターフェロン単独療法の, ウイルス排除 (sustained virological response: SVR) 率は 30% 程度にすぎなかったが, ペグインターフェロンとリバビリン併用療法が行われるようになり, 約 70% でウイルス排除が可能となった。しかし, 難治とされる genotype 1b かつ高ウイルス量の慢性肝炎では, 併用療法を 48 週間行っても, 約半数でのみウイルス排除可能であるにすぎない。このインターフェロン治療反応性の違いについては, 種々の検討がなされてきたが, ウイルス側の要因として, C 型肝炎ウイルス (HCV) の遺伝子型 (genotype) をはじめとする, 様々な遺伝子変異の存在が明らかになってきた。特に, HCV の非構造領域 (nonstructural region: NS) 5A に存在するインターフェロン感受性領域 (interferon sensitivity determining region: ISDR)^{1,2)} や IFN/RBV 抵抗性領域 (IFN/RBV resistance-determining region: IRRDR, a.a.2334-2379)³⁾ のアミノ酸変異は, 治療効果予測因子として臨床応用可能であることが見いだされている。

1. C 型肝炎ウイルス (HCV) の遺伝子構造と NS5A 領域

HCV は +1 本鎖の RNA ウイルスであり, ゲノムの両端に非翻訳領域が存在し, 中央部には約 3,010 個のアミノ酸からなる 1 本のポリタンパク前駆体をコードする open reading frame が存在する。この領域には HCV の構造タンパク (コア, エンベロープタンパク) とウイルス増殖に必要な種々の酵素をコードする NS が存在する。このうち NS5A 領域は 450 アミノ酸残基からなるリン酸化タンパクで, RNA-dependent RNA polymerase と結合し, その活性を制御していると考えられており, この領域から翻訳されるタンパクは, 種々の tyrosine kinase 活性を調節していることが推測されている⁴⁾。このため, この領域内のアミノ酸変異は HCV の RNA の複製効率に影響すると考えられ, レプリコンによる検討でもこの領域内の変異が HCV RNA の複製効率に影響を及ぼすことが報告されている⁵⁾。このうちインターフェロン治療と最も強く関連する領域が ISDR や IRRDR として報告されており, 臨床応用されている (図 1)。

¹Minoru Sakamoto: Director, Center for Liver Disease, University of Yamanashi Hospital 山梨大学医学部附属病院 肝疾患センター長 ²Nobuyuki Enomoto: First Department of Internal Medicine, University of Yamanashi 山梨大学医学部 内科学講座 第 1 教室 (消化器内科)

NS5 2209-2248 (interferon sensitivity determining region: ISDR)



NS5 2334-2379 (IFN/RBV resistance-determining region: IRRDR)

図1 C型肝炎ウイルスの遺伝子構造

2. インターフェロン単独療法と ISDR

もともと、ISDRはインターフェロン単独療法の時代に見いだされたもので、genotype 1bのC型慢性肝炎に対するインターフェロン単独6カ月間の治療の著効症例と無効症例の全塩基配列の比較検討から、治療効果に関連した遺伝子領域として見いだされたものである。すなわち、genotype 1bのHCVの標準株であるHCV-Jと比較して、変異のない野生型(wild type)ではインターフェロン単独療法ではウイルスが排除(SVR)される可能性は極めて低いのにに対し、4個以上の変異がある変異型(mutant type)では高い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。また、臨床的には、野生型ではウイルス量が多く、変異型ではウイルス量は低く、ISDRの変異数が増すほどウイルス量は減少することが明らかになっている(図2)。著者らの検討ではwild type, intermediate type, mutant typeのSVR率はそれぞれ6%, 10%, 64%であり、ISDRにおけるアミノ酸変異数の増加に伴い、著効率は上昇するもののISDR変異数4個以上が重要であることが明らかにされている(図3)⁶⁾。インターフェロン単独療法では、治療効果はウイルス量と相関し、HCV RNA量が高いほど治療効果が劣るが、ISDR変異とHCV RNA量は相関することから、ISDR変異は単にウイルス量を反映したにすぎないとの指摘もある。

しかし、多変量解析では、ISDRはウイルス量とは関係なく、SVRに寄与する独立した因子として認められ、ウイルス量が同等であれば、ISDR変異数が多いほど治療効果は高い。一方、genotype 2aないしは2bにおいては、総じて治療効果が高いため、ISDRはgenotype 1bほど有意な治療効果規定因子とはなりえないが、ISDRのアミノ酸変異数が多いほど治療効果が高い傾向がある。

3. ペグインターフェロン+リバビリン療法と NS5A 変異 (IRRDR 変異)

現在、genotype 1bのHCVに対する標準治療は、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法であり、難治であるgenotype 1bかつ高ウイルス量症例の治療成績を大きく向上させた。しかしSVR率は50%程度にすぎず、著者らは、genotype 1bかつ高ウイルス量の症例で、これまでにペグインターフェロン+リバビリン標準治療を行った症例で、HCVゲノムの全アミノ酸配列を決定し、SVRと非SVR症例での異なる遺伝子部位を検討した。この結果、連続する1から数十個のアミノ酸の相違をsliding window analysis⁷⁾の手法を用いて検討すると、SVR例と非SVR例で相違がみられたのは、NS5A領域のN末端よりの領域でISDRやEl-Shamyらにより報告されたIRRDRと一致していた。

そこで、ISDR変異数、IRRDR変異数別に、治療成績を検討すると、ISDR変異数が0ない

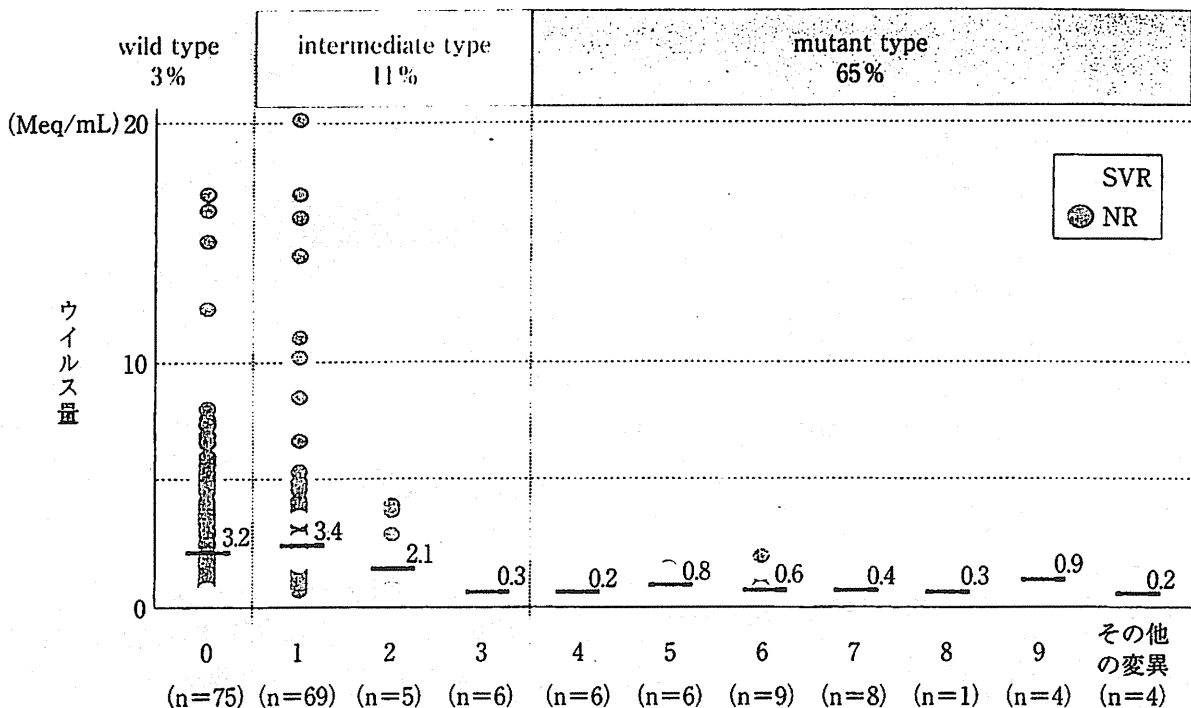


図2 IFN 単独療法の治療成績(1b)－ISDR 変異数と効果：bDNA (Ver. 2) での検討
山梨大学医学部第1内科 1988～(n=209)

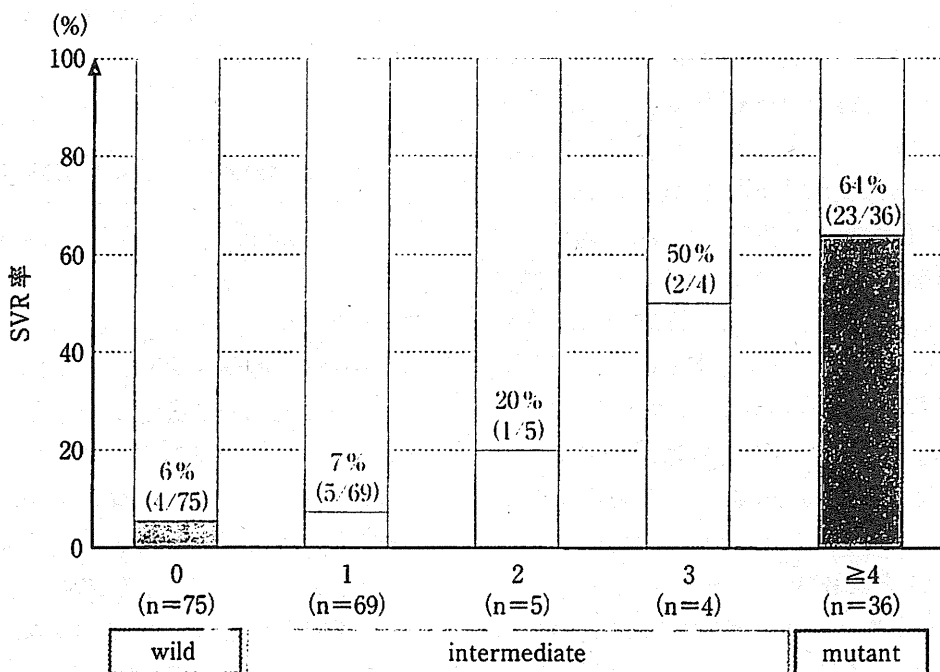


図3 IFN 単独療法(6カ月)の ISDR 別 SVR 率(n=194)

し1個の症例と2個以上の症例では有意差(p<0.0001)をもって治療成績は異なることが明らかになり(図4)^{8,9)}、IRRDR 変異数では0-3個の症例と4個以上の症例で、有意差(p=6.0×

10⁻⁶)がみられた(図5)。これらの因子について多変量解析を行うと、治療効果に最も強く関連するのは、IRRDR であり NS5A の遺伝子変異が IFN の感受性を規定しているものと考えられた。