

HBx was also shown to transactivate MMP9 through ERKs and PI-3K-AKT/PKB pathway and suppress TIMP1 and TIMP3 activities [36,37]. The activation of metalloproteinases would induce the shedding of mMICA into sMICA, which promotes the tumor formation through the inhibitory effect of sMICA on NK cells. This can explain why high sMICA expression is a marker of poor prognosis for HBV-induced HCC. On the other hand, HCV infection was not associated with metalloproteinases activation, although the expression of sMICA was shown to be proportional to mMICA level. Therefore individuals with high MICA expression are likely to activate natural killer cells and CD8+ T cells to eliminate virus infected cells.

SP1 was previously identified as a transcriptional regulator of both *MICA* and *MICB* [7,9,38]. A polymorphism in the *MICB* promoter region was found to be associated with *MICB* transcription level [7]. To our knowledge, this is the first report showing that *MICA* transcription is directly influenced by functional variant. Moreover, this functional SNP is significantly associated with HCV-induced HCC. Our findings provide an insight that *MICA* genetic variation is a promising prognostic biomarker for CHC patients.

Acknowledgements

This work was conducted as a part of the BioBank Japan Project that was supported by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of the Japanese government. This work was also supported by the grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, and Ministry of Health, Labour, and Welfare of the Japanese government.

References:

1. Umemura T, Ichijo T, Yoshizawa K, Tanaka E, Kiyosawa K (2009) Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Japan. *J Gastroenterol* 44 Suppl 19: 102-107.
2. Fassio E (2010) Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Ann Hepatol* 9 Suppl: 119-122.
3. Mbarek H, Ochi H, Urabe Y, Kumar V, Kubo M, et al. (2011) A genome-wide association study of chronic hepatitis B identified novel risk locus in a Japanese population. *Hum Mol Genet* 20: 3884-3892.
4. Kamatani Y, Wattanapokayakit S, Ochi H, Kawaguchi T, Takahashi A, et al. (2009) A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians. *Nat Genet* 41: 591-595.
5. Zhang H, Zhai Y, Hu Z, Wu C, Qian J, et al. (2010) Genome-wide association study identifies 1p36.22 as a new susceptibility locus for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus carriers. *Nat Genet* 42: 755-758.
6. Kumar V, Kato N, Urabe Y, Takahashi A, Muroyama R, et al. (2011) Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 43: 455-458.
7. Rodríguez-Rodero S, González S, Rodrigo L, Fernández-Morera JL, Martínez-Borra J, et al. (2007) Transcriptional regulation of MICA and MICB: a novel polymorphism in MICB promoter alters transcriptional regulation by Sp1. *Eur J Immunol* 37: 1938-1953.
8. Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, et al. (1999) Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science* 285: 727-729.
9. Zhang C, Wang Y, Zhou Z, Zhang J, Tian Z (2009) Sodium butyrate upregulates expression of NKG2D ligand MICA/B in HeLa and HepG2 cell lines and increases their susceptibility to NK lysis. *Cancer Immunol Immunother* 58: 1275-1285.
10. Sun D, Wang X, Zhang H, Deng L, Zhang Y (2011) MMP9 mediates MICA shedding in human osteosarcomas. *Cell Biol Int* 35: 569-574.
11. Waldhauer I, Goehlsdorf D, Gieseke F, Weinschenk T, Wittenbrink M, et al. (2008) Tumor-associated MICA is shed by ADAM proteases. *Cancer Res* 68: 6368-6376.
12. Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, Kanto T, Groh V, et al. (2003) Expression and role of MICA and MICB in human hepatocellular carcinomas and their regulation by retinoic acid. *Int J Cancer* 104: 354-361.
13. Kohga K, Takehara T, Tatsumi T, Ohkawa K, Miyagi T, et al. (2008) Serum levels of soluble major histocompatibility complex (MHC) class I-related chain A in patients with chronic liver diseases and changes during transcatheter arterial embolization

- for hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 99: 1643-1649.
14. Ota M, Katsuyama Y, Mizuki N, Ando H, Furihata K, et al. (1997) Trinucleotide repeat polymorphism within exon 5 of the MICA gene (MHC class I chain-related gene A): allele frequency data in the nine population groups Japanese, Northern Han, Hui, Uygur, Kazakhstan, Iranian, Saudi Arabian, Greek and Italian. *Tissue Antigens* 49: 448-454.
 15. Nakamura Y (2007) The BioBank Japan Project. *Clin Adv Hematol Oncol* 5: 696-697.
 16. Tanikawa C, Urabe Y, Matsuo K, Kubo M, Takahashi A, et al. (2012) A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for duodenal ulcer in the Japanese population. *Nat Genet* 44: 430-434, S431-432.
 17. Miki D, Ochi H, Hayes CN, Abe H, Yoshima T, et al. (2011) Variation in the DEPDC5 locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers. *Nat Genet* 43: 797-800.
 18. Urabe Y, Ochi H, Kato N, Kumar V, Takahashi A, et al. (2013) A genome-wide association study of HCV induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at MHC region. *J Hepatol*.
 19. Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, et al. (2007) A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 316: 1341-1345.
 20. Consortium GP (2010) A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 467: 1061-1073.
 21. Venkataraman GM, Suci D, Groh V, Boss JM, Spies T (2007) Promoter region architecture and transcriptional regulation of the genes for the MHC class I-related chain A and B ligands of NKG2D. *J Immunol* 178: 961-969.
 22. Andrews NC, Faller DV (1991) A rapid micropreparation technique for extraction of DNA-binding proteins from limiting numbers of mammalian cells. *Nucleic Acids Res* 19: 2499.
 23. Hata J, Matsuda K, Ninomiya T, Yonemoto K, Matsushita T, et al. (2007) Functional SNP in an Sp1-binding site of AGTRL1 gene is associated with susceptibility to brain infarction. *Hum Mol Genet* 16: 630-639.
 24. Barrett JC (2009) Haploview: Visualization and analysis of SNP genotype data. *Cold Spring Harb Protoc* 2009: pdb.ip71.
 25. Komatsu-Wakui M, Tokunaga K, Ishikawa Y, Leelayuwat C, Kashiwase K, et al. (2001) Wide distribution of the MICA-MICB null haplotype in East Asians. *Tissue Antigens* 57: 1-8.
 26. Tse KP, Su WH, Yang ML, Cheng HY, Tsang NM, et al. (2011) A gender-specific

- association of CNV at 6p21.3 with NPC susceptibility. *Hum Mol Genet* 20: 2889-2896.
27. Negro F, Alberti A (2011) The global health burden of hepatitis C virus infection. *Liver Int* 31 Suppl 2: 1-3.
 28. Cabibbo G, Craxi A (2010) Epidemiology, risk factors and surveillance of hepatocellular carcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 14: 352-355.
 29. McGlynn KA, London WT (2011) The global epidemiology of hepatocellular carcinoma: present and future. *Clin Liver Dis* 15: 223-243.
 30. Kadonaga JT, Tjian R (1986) Affinity purification of sequence-specific DNA binding proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83: 5889-5893.
 31. Suske G (1999) The Sp-family of transcription factors. *Gene* 238: 291-300.
 32. Lee S, Park U, Lee YI (2001) Hepatitis C virus core protein transactivates insulin-like growth factor II gene transcription through acting concurrently on Egr1 and Sp1 sites. *Virology* 283: 167-177.
 33. Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, Kato N, Takahashi A, et al. (2012) Soluble MICA and a MICA Variation as Possible Prognostic Biomarkers for HBV-Induced Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 7: e44743.
 34. Ou DP, Tao YM, Tang FQ, Yang LY (2007) The hepatitis B virus X protein promotes hepatocellular carcinoma metastasis by upregulation of matrix metalloproteinases. *Int J Cancer* 120: 1208-1214.
 35. Yu FL, Liu HJ, Lee JW, Liao MH, Shih WL (2005) Hepatitis B virus X protein promotes cell migration by inducing matrix metalloproteinase-3. *J Hepatol* 42: 520-527.
 36. Chung TW, Lee YC, Kim CH (2004) Hepatitis B viral HBx induces matrix metalloproteinase-9 gene expression through activation of ERK and PI-3K/AKT pathways: involvement of invasive potential. *FASEB J* 18: 1123-1125.
 37. Kim JR, Kim CH (2004) Association of a high activity of matrix metalloproteinase-9 to low levels of tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -3 in human hepatitis B-viral hepatoma cells. *Int J Biochem Cell Biol* 36: 2293-2306.
 38. Andresen L, Jensen H, Pedersen MT, Hansen KA, Skov S (2007) Molecular regulation of MHC class I chain-related protein A expression after HDAC-inhibitor treatment of Jurkat T cells. *J Immunol* 179: 8235-8242.

Figure legends

Fig. 1. SNP rs2596538 affects the binding affinity of nuclear proteins. (A) Real-time quantitative PCR (upper) and Western blotting (lower) of MICA before and after heat shock treatment in HLE cells. *B2M* and β -actin are served as internal and protein loading control. (B) EMSA using 31 bp labeled probes flanking each SNP located within the 4.8 kb region upstream of *MICA* transcription start site. A black arrow indicates the shifted band specific to G allele of SNP rs2596538. (C) EMSA using the labeled G allele of SNP rs2596538 and nuclear extract from heat treated HLE cells. Non-labeled A or G allele of SNP rs2596538 at different concentrations are used as competitors. Pointed arrow indicates shifted band. * $P < 0.05$ by Student's *t*-test.

Fig. 2. Binding of transcription factor SP1 to G allele of SNP rs2596538. (A) Multiple alignment of a GC box and DNA sequence of A or G probe of rs2596538 used in EMSA. (B) EMSA using the labeled G allele of SNP rs2596538 and nuclear extract from heat treated HLE cells. Non-labeled consensus oligonucleotides of seven transcription factors are used as competitors. Pointed arrow indicates shifted band. (C) EMSA using the labeled G allele of SNP rs2596538 and nuclear extract from heat shock treated HLE cells in the presence of anti-SP1 antibody or normal rabbit IgG. Asterisks

on the left side indicate the shifted (*) and super-shifted bands (**). Normal rabbit IgG serves as a negative control. (D) ChIP assay using HepG2 and HLE cell lines were ectopically expressed with SP1 protein. DNA-protein complex was immunoprecipitated with anti-SP1 antibody followed by PCR amplification using a primer pair flanking SNP rs2596538. DNAs precipitated without antibody are served as a negative control. PCR primers flanking the 3' UTR region of *MICA* are served as a negative control. (E) Genotype distribution at SNP rs2596538 in PCR fragment amplified from the input genomic DNA and DNA-protein complex immunopurified from HepG2 cells by using anti-SP1 antibody. * $P < 0.05$ by Student's *t*-test.

Fig. 3. Transcriptional regulation of MICA by SP1 through genomic region including SNP rs2596538. (A) Reporter assay using constructs including 3 copies of 31 bp DNA fragment flanking SNP rs2596538. Reporter constructs are transfected into HLE cells with pRL-TK and pCAGGS or pCAGGS-SP1-HA vector. The value of relative luciferase activity was calculated as the firefly luciferase intensity divided by the renilla luciferase intensity. The data represent the mean \pm SD value of 4 independent studies. (* $P < 0.05$, Student's *t*-test) (B) *MICA* expression in HLE cells after

transfection with pCAGGS or pCAGGS-SP1 vector. β -actin is served as a protein loading control.

Fig. 4. Association between the soluble MICA levels and rs2596538 genotype. The samples were classified into 3 groups according to rs2596538 genotype. The sMICA levels measured by ELISA are indicated in y-axis. The numbers of samples and the proportion of sMICA positive subjects from each group are shown in x-axis. The percentage of the positive sMICA expression in each group are AA = 10%, AG = 39%, and GG = 42%. Statistical significance was determined by Kruskal-Wallis test.

Supplementary Fig. 1. Pairwise LD map between marker SNP and 11 candidates SNP. Black color boxes represent regions of high pairwise r^2 value. The LD was determined by direct DNA sequencing of *MICA* promoter region from 50 randomly selected HCV-HCC patients.

Table 1 Association of rs2596542 with the progression from CHC to LC and HCC

	Case MAF	Control MAF	<i>P</i> *	OR	95% C.I.
LC vs CHC	0.3797	0.3442	0.04842	1.166	1.01-1.35
HCC vs LC	0.4012	0.3797	0.20296	1.094	0.95-1.26

MAF, minor allele frequency; OR, odds ratio for minor allele. C.I., confidence interval.

SNP rs2596542 was analyzed in 1043 chronic hepatitis C (CHC), 586 liver cirrhosis without hepatocellular carcinoma (LC) and 1629 HCV-induced hepatocellular carcinoma patients (HCC). * calculated by Armitage trend test.

Table 2 Linkage disequilibrium between 11 candidate SNPs and SNP rs2596542

SNP ID	Relative position ^a	A1	A1 frequency	D'	r^2
rs2596542	-4815	A	0.36		
rs2428475	-4788	G	0.36	1	1
rs28366144	-4586	T	0.36	1	1
rs2428474	-4387	G	0.39	1	0.88
rs2251731	-4045	A	0.39	1	0.88
rs2844526	-3703	C	0.38	1	0.918
rs2596541	-3572	A	0.38	1	0.918
rs2523453	-3285	G	0.38	1	0.918
rs2544525	-3259	C	0.38	1	0.918
rs2523452	-2870	G	0.34	0.953	0.832
rs2596538	-2778	A	0.34	0.953	0.832
rs2844522	-2710	C	0.34	0.953	0.832

Note: Direct DNA sequence of 5-kb promoter region of MICA from 50 HCV-HCC subjects. D' and r^2 were calculated by comparing the genotypes of these SNPs to the marker SNP rs2596542 by Haploview. A1, minor allele; ^a Relative position to exon 1 of the *MICA* gene.

Table 3 Association of SNP rs2596542 and SNP rs2596538 with HCV-induced HCC

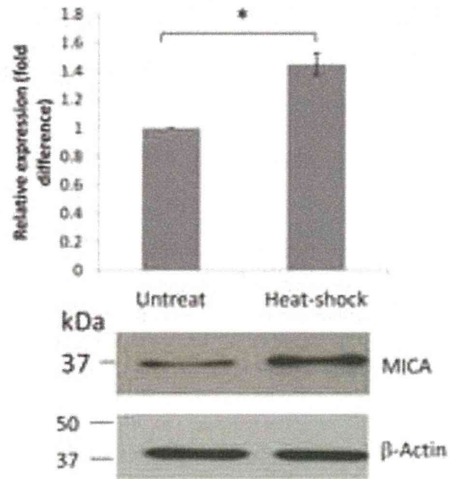
SNP ID	Relative position ^a	A1	OR	<i>P</i> value
rs2596542	-4815	A	1.339	2.46 x10 ⁻⁵
rs2596538	-2778	A	1.343	1.82 x10 ⁻⁵

Note: Genotype data of 721 HCV-HCC cases and 5,486 HCV-negative controls were imputed using 1000 genomes as reference. A1, risk allele; OR, odds ratio for the risk allele calculated by considering the protective allele as a reference.^a Relative position to exon 1 of the *MICA* gene.

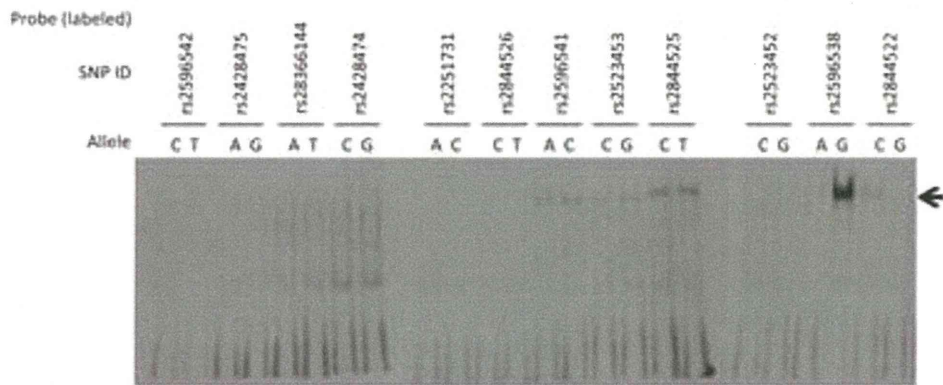
Figure 1
[Click here to download high resolution image](#)

Figure 1

a



b



c

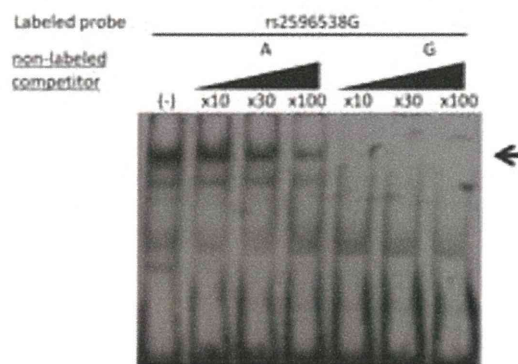
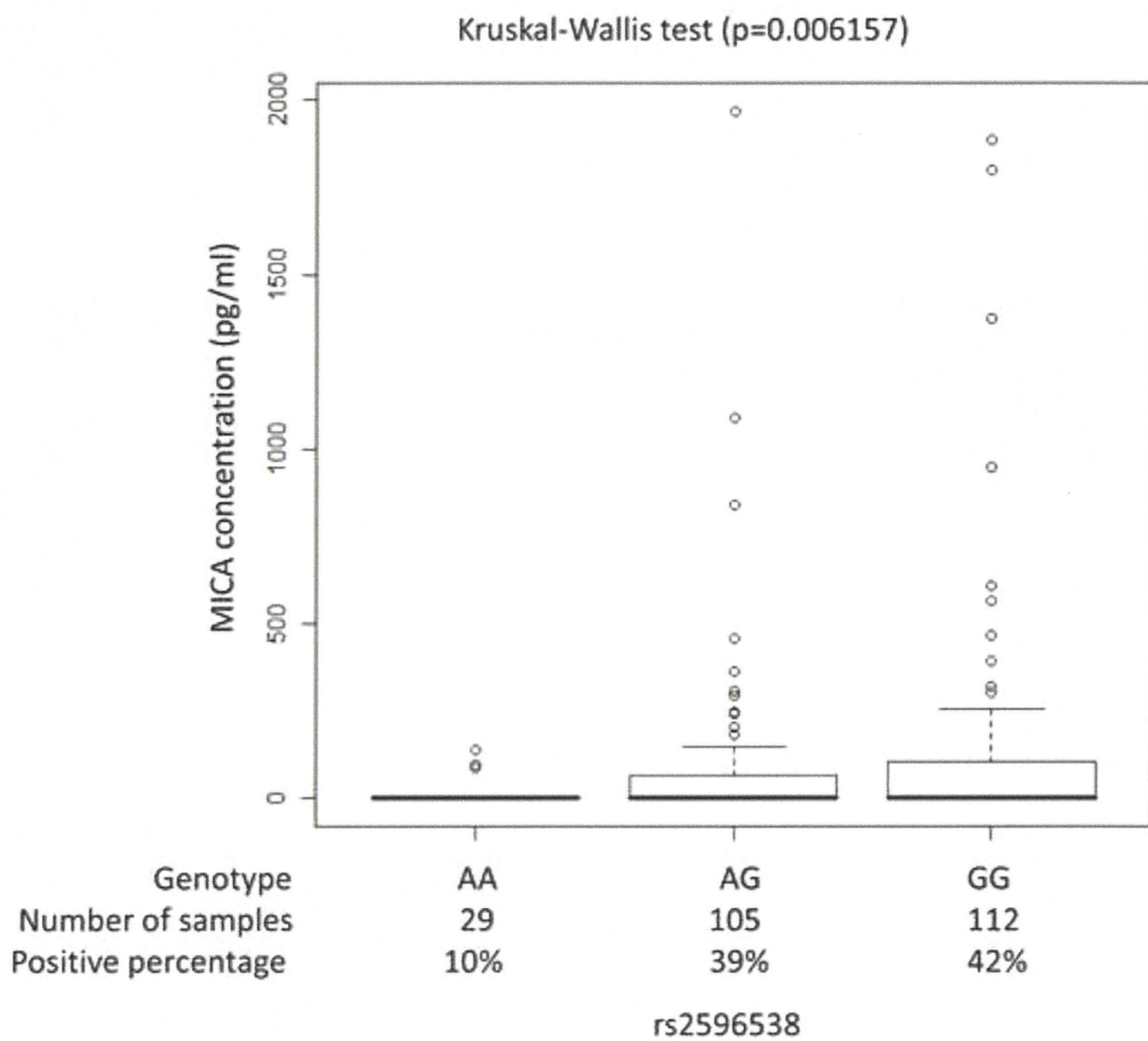


Figure 4
Click here to download high resolution image

Figure 4



日本臨牀 第70巻・第4号（平成24年4月号）別刷

特集：抗ウイルス薬

新規抗HCV薬

加藤直也 室山良介 後藤 覚

III. 新規抗ウイルス薬の開発動向と展望 新規抗肝炎ウイルス薬

新規抗HCV薬

加藤直也 室山良介 後藤 覚

New antivirals against hepatitis C virus

Naoya Kato, Ryosuke Muroyama, Kaku Goto

Unit of Disease Control Genome Medicine, The Institute of Medical Science,
The University of Tokyo

Abstract

Recently, first direct acting antiviral (DAA) against hepatitis C virus (HCV) has just approved in Japan. It is a first generation protease inhibitor, telaprevir. Telaprevir inhibits HCV NS3 & 4A serine protease, and combination with pegylated-interferon and ribavirin has now become a standard of care (SOC) for patients with genotype 1 high viral load hepatitis C. Fortunately, more than 50 new antivirals against HCV are under development including antivirals in preclinical trials. New antivirals are classified into several categories; ① NS3 & 4A protease inhibitor, ② NS5B polymerase inhibitor, ③ NS5A inhibitor, ④ host factor targeting antivirals, ⑤ interferon-related antivirals, and others. Combination of different classes of antivirals without interferon is expected to become a future SOC for hepatitis C.

Key words: direct acting antiviral (DAA), protease inhibitor, polymerase inhibitor, NS5A inhibitor, cyclophilin inhibitor

はじめに

世界中では1億7千万人ものが肝硬変・肝癌を引き起こすC型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) に感染している。治療に対するニーズは高い。また、最近のHCV研究の進歩により、HCVのライフサイクルが明らかになりつつある。増殖に必須のHCV機能タンパクであるNS3/NS4AプロテアーゼやNS5B RNA依存のRNAポリメラーゼについては、その構造についても明らかになった。このような状況を踏まえ、メガファーマやベンチャーによるC型肝炎

炎に対する新たな薬剤の開発が進んでいる(表1)。

HCVの機能タンパクを標的としたプロテアーゼ阻害薬やポリメラーゼ阻害薬などの薬剤はdirect acting antiviral (DAA)と呼ばれる。NS5AはHCV増殖に重要だが機能の明らかでないウイルスタンパクである。このNS5Aを標的とするNS5A阻害薬も開発されつつある。また、HCV増殖に関連する宿主因子を標的とする宿主細胞標的薬も開発されつつある。本稿では、主に臨床第II相試験あるいは第III相試験が行われている有望な新規抗HCV薬につき概説する。

表1 新たな抗C型肝炎ウイルス薬

薬 剤	臨床試験	製薬会社	備 考
プロテアーゼ阻害薬			
boceprevir (SCH503034)	III	- MSD	linear
telaprevir (VX-950, MP-424)	III	Vertex/田辺三菱	linear
ABT450	II	ABT	
BI201335	II	Boehringer Ingelheim	macrocyclic
BMS-650032	II	Bristol-Myers Squibb	macrocyclic
danoprevir (RG7227)	II	Roche	macrocyclic
MK-7009	II	MSD	macrocyclic
narlaprevir (SCH900518)	II	MSD	linear
TMC435	II	Tibotec	macrocyclic
ポリメラーゼ阻害薬			
RG7128	II	Roche	NI
ABT-333	II	Abbott	NNI
BI 207127	II	Boehringer Ingelheim	NNI
ABT-072	II	Abbott	NNI
PSI-7977	II	Pharmasset	NI
ANA598	II	Anadys Pharma.	NNI
IDX184	II	Idenix	NI
filibuvir (PF-00868554)	II	Pfizer	NI
その他			
silibinin	III		botanical medicine
taribavirin	III	Valeant	ribavirin prodrug
amantadine	III		
thymosin alfa-1	III		
nitazoxanide	II	Romark Laboratories	thiazolide
IPH1101	II	Innate Pharma	

NI: nucleoside inhibitor, NNI: non-nucleoside inhibitor.

1. プロテアーゼ阻害薬

HCVは2つのプロテアーゼを有している。1つはNS2/NS3金属プロテアーゼであり、NS2とNS3の間を切断する。もう1つはNS3/NS4Aセリンプロテアーゼであり、NS3とNS4Aの間、NS4AとNS4Bの間、NS4BとNS5Aの間、NS5AとNS5Bの間を切断する。NS3がセリンプロテアーゼであり、NS4Aはそのコファクターとして機能している。

現在、開発が進んでいるのは、NS3/NS4Aセリンプロテアーゼ阻害薬である。NS3/NS4Aプロテアーゼ阻害薬は、構造上、基質であるペプチド類似の非環状(linear)の第一世代プロテアーゼ阻害薬と、環状(macrocylic)の第二世代プ

ロテアーゼ阻害薬の2種に分類される(表2)。多くのプロテアーゼ阻害薬が開発中であるが、今までに世界で承認されたものは、linear型の第一世代プロテアーゼ阻害薬と呼ばれるテラプレビル(telaprevir, 商品名テラビック)とboceprevirの2種である。

プロテアーゼ阻害薬の単独治療では、HCVは治療早期に耐性変異を獲得するため、単剤でのHCV駆除は期待できない。したがって、ペグインターフェロン(pegylated-interferon: PEG-IFN)+リバビリン(ribavirin: RBV)をはじめとした薬剤との併用が必須である。薬剤耐性に関する一番の問題点は、各プロテアーゼ阻害薬間に交差耐性が認められることである。

表 2 第一世代プロテアーゼ阻害薬と第二世代プロテアーゼ阻害薬の比較

	第一世代 プロテアーゼ阻害薬	第二世代 プロテアーゼ阻害薬
構造	非環状	環状
1日の投与回数	3回	1回
1日のcap数	9	1-2
genotype	1a/b	1a/b
副作用	皮膚症状, 貧血	皮膚症状, 消化器症状 肝障害
SVR(初回)	約70%	80-90%
NVR(non responders)	約30%	約40%

1) BILN2061 (ciluprevir, ベーリンガーインゲルハイム)

最初に開発されたプロテアーゼ阻害薬は BILN2061 である。プロテアーゼの基質ペプチドの構造アナログとしてデザインされ、臨床第 II 相試験において、2 日間の内服投与によって HCV RNA が 1/100-1/1,000 に減少するなど劇的な効果を示した。しかしながら、BILN2061 を 4 週間投与したサルに心毒性が出現し、その後の開発が中止された。それでも、本薬剤は、理論に基づいてデザインされたプロテアーゼ阻害薬が実際に極めて有効であることを証明した点で、その後のプロテアーゼ阻害薬開発にとって大きな意義があった。

2) テラプレビル

テラプレビルは我が国で初めて承認された DAA で、1 回 750 mg, 1 日 3 回の投与が必要な linear 型の第一世代プロテアーゼ阻害薬である。詳しくは他稿に譲るが、我が国での臨床第 III 相試験の genotype 1, 高ウイルス量患者に対する成績を示す。

① PR48(標準治療 standard of care: SOC):

PEG-IFN α 2b+RBV, 48 週の標準治療で SVR(sustained viral response)は 49% (31/63)

② PRT12/PR12: PEG-IFN α 2b+RBV+テラプレビルを 12 週に引き続き PEG-IFN α 2b+RBV を 12 週の治療で SVR は 73% (92/126)

標準治療より約 20% 治療効果が改善し、現時点での新たな標準治療となっている。

3) Boceprevir (SCH503034, MSD)

boceprevir は linear 型のプロテアーゼ阻害薬で、1 回 800 mg, 1 日 3 回の投与が必要な第一世代のプロテアーゼ阻害薬である。プロテアーゼ阻害薬としての抗ウイルス効果はテラプレビルに劣るものの、副作用が少ないため、PEG-IFN+RBV 療法と長期の併用が可能であり、テラプレビルに匹敵する治療効果が得られている。boceprevir は米国で 2011 年 5 月 23 日に承認、欧州でも 2011 年 7 月 18 日に承認されている。しかしながら、我が国では PEG-IFN α 2b (MSD) はテラプレビルとの併用療法があるためと思われるが、臨床試験の計画はいまだない。

SPRINT-1 試験では、genotype 1 の未治療 C 型慢性肝炎患者に対し、

① PR48(SOC): PEG-IFN α 2b+RBV, 48 週の標準治療で SVR は 38% (39/104)

② PRB28: PEG-IFN α 2b+RBV+boceprevir (2,400 mg/日), 28 週の治療で SVR は 54% (58/107)

③ PR4/PRB24: PEG-IFN α 2b+RBV を 4 週に引き続き PEG-IFN α 2b+RBV+boceprevir を 24 週の治療で SVR は 56% (58/103)

④ PRB48: PEG-IFN α 2b+RBV+boceprevir を 48 週の治療で SVR は 67% (69/103)

⑤ PR4/PRB44: PEG-IFN α 2b+RBV を 4 週に引き続き PEG-IFN α 2b+RBV+boceprevir を 44 週の治療で SVR は 75% (77/103)

⑥ Low-dose PRB48: PEG-IFN α 2b+少量

RBV+boceprevirを48週の治療でSVRは36% (21/59)

という成績であった¹⁾。すなわち、boceprevirを含んだプロトコールは、少量リバビリンのプロトコールを除き、すべて標準治療を有意に上回る成績であった。約30%の上乗せ効果が認められた。また、リバビリンが必須であることも明らかになった。本試験では、4週間のPEG-IFN+RBVのlead-inを行うことにより、標準治療の約2倍のSVRが得られており、本プロトコールがboceprevirの標準使用法となった。また、boceprevirによる有害事象は少なく、貧血と味覚異常が多い以外は標準治療と同等であった。

米国での最新の処方データから、プロテアーゼ阻害薬のマーケットシェアは、テラプレビルが80%、boceprevirが20%と伝えられたが、テラプレビルの皮膚障害の副作用から、boceprevirに切り替えるなど、boceprevirの処方が増えつつあるという報告もある。

4) TMC435 (Tibotec)

TMC435はmacrocytic型で1日1回75-150mgの投与でよい第二世代のプロテアーゼ阻害薬である。臨床第II相試験であるPILLAR試験結果が報告された。副作用は少なく、テラプレビルやboceprevirを上回る治療効果が得られており、非常に期待されている。genotype 1の未治療C型慢性肝炎に対するPILLAR試験の成績を示す。

- ① PRT(75mg)12/PR12: SVRは83.6%
- ② PRT(75mg)24: SVRは76.1%
- ③ PRT(150mg)12/PR12: SVRは83.1%
- ④ PRT(150mg)24: SVRは84.4%

TMC435投与群とプラセボ群に副作用の差は認められていない。また、TMC435群の治療中止率は低く、プラセボ群と同程度であった。本臨床試験の結果にて、PRT(150mg)24が臨床第III相試験として行われた。我が国でも同様に臨床第III相試験が行われており、2-3年後に市場に登場することが期待されている。

5) Danoprevir (RG7227, ロシユ)

genotype 1, 未治療C型慢性肝炎患者に対す

る臨床第II相のATLAS試験では、900-1,800mg/日のdanoprevirを服用した。

- ① PR48(SOC): complete early virological response (cEVR)は43%

- ② PRD12/PR12-36: cEVRは88-92%

との結果であった。

6) Vaniprevir (MK-7009, MSD)

genotype 1, 未治療C型慢性肝炎患者に対する臨床第II相試験では、600-1,200mg/日のvaniprevirを服用した。

- ① PR48(SOC): SVRは63%

- ② PRV4/PR44: SVRは78-84%

との結果が得られている。

7) BI201335 (ベーリンガーインゲルハイム)

genotype 1, 未治療C型慢性肝炎患者に対する臨床第II相試験(SILEN-C1試験)では、120-240mg/日のBI201335を服用した。

- ① PR48(SOC): SVRは56%

- ② PRB24±PR24: SVRは71-83%

との結果が得られている。

8) ACH-806/GS-9132 (Acillion Pharmaceutical)

ACH-806/GS-9132は、NS3プロテアーゼのコファクターであるNS4AのNS3への結合をブロックするというユニークな作用機序を有する薬剤である。腎毒性にて現在、開発が中止されているが、新たなプロテアーゼ阻害薬の形を示した点で意義があった。なお、現在NS4Aを標的とする新薬の開発も行われている。

2. ポリメラーゼ阻害薬

ポリメラーゼ阻害薬には、ポリメラーゼの基質アナログとして働き、RNA鎖伸長反応を阻害してターミネーターとして作用する核酸系ポリメラーゼ阻害薬(nucleoside inhibitor: NI)と、ポリメラーゼの活性中心とは異なるサイトに作用して阻害効果を及ぼす非核酸系ポリメラーゼ阻害薬(non-nucleoside inhibitor: NNI)の2種がある。ポリメラーゼ阻害薬には、幾つかの有望な薬剤が含まれるのみならず、PEG-IFNを使わない経口薬のみによる治療に用いられている。

1) RG7128 (mericitabine, ロシユ)

ヌクレオシドアナログである mericitabine の genotype 1 あるいは 4, 未治療の C 型慢性肝炎患者に対するの臨床第 II 相試験 (PROPEL study) が行われている。RG7128 は 500 mg あるいは 1,000 mg を 1 日 2 回服用した。

① PR48 (SOC): cEVR は 49 %

② PRR12/PR12-36: cEVR は 80-88 %

との結果が得られている²⁾。

2) PSI-7977 (Pharmasset)

2011 年に行われた米国肝臓学会での最大のトピックの一つである。たった 40 人の genotype 2 および 3 での試験ながら, PEG-IFN の投与の有無にかかわらず, RBV 併用にて, 治療後 24 週間の経過観察を行い得た症例全例でのウイルス駆除が達成されていた。

genotype 2 および 3 の未治療の C 型慢性肝炎患者 40 例に, 400 mg の PSI-7977 と体重に応じた RBV を 12 週間投与する試験である。また, PEG-IFN は投与しない群, 4 週投与群, 8 週投与群, 12 週投与群の 4 群であった。ウイルス学的ブレイクスルー (耐性ウイルス出現) は認められず, PSI-7977 が高い genetic barrier を有していることが証明された。genotype 1 でも同様の試験が行われており, こちらも良好な成績であることが紹介された。

本試験の結果を受け, Pharmasset 社は, PEG-IFN なしの PSI-7977+RBV の経口 2 剤併用療法の第 III 相試験を開始することを発表した。

3. NS5A 阻害薬

NS5A は, HCV 複製や IFN 感受性との関連が示唆されているが, その機能はいまだ明らかではない。しかしながら, NS5A は宿主タンパク質に類似のものがなく, 宿主タンパク質とのアミノ酸配列の相同性も低く, NS5A の機能を阻害することにより, 特異性の高い薬剤の開発が期待される。

1) AZD2836 (A-831, アストラゼネカ)

AZD2836 は, アストラゼネカに買収された Arrow Therapeutics が開発した初の NS5A 阻害薬で, IRES 依存性の翻訳反応を阻害する。

しかしながら, その後の開発は中止されている。現在, 同社開発のもう一つの NS5A 阻害薬, AZD7295 (A-689) の臨床第 II 相試験が行われている。

2) BMS-790052 (ブリストルマイヤーズ・スクイブ)

BMS-790052 は今までで最も強力といわれるほどの HCV 増殖阻害効果を有する。すなわち, ピコモルレベルでの強力な抗 HCV 活性をもち, かつ, 薬理動態から 1 日 1 回投与でよい³⁾。genotype 1 および 4, 未治療の C 型慢性肝炎に対する臨床第 II 相試験では,

① PR48 (SOC): cEVR は 43 % (31/72)

② PRB (20 mg) 24/48: cEVR は 78 % (114/147)

③ PRB (60 mg) 24/48: cEVR は 75 % (110/146)

との成績が報告されている。目立った副作用は報告されていない。

4. DAA 併用療法

DAA の併用療法は, PEG-IFN を必要としない経口薬での C 型肝炎治療を可能にするかもしれないと期待されている。経口 2 剤を有しているロシユ, ブリストルマイヤーズ・スクイブ, Vertex, Gilead の 4 社による臨床試験が開始されている。

1) RG7128 (ポリメラーゼ阻害薬) + danoprevir (プロテアーゼ阻害薬) (ロシユ)

INFORM-1 試験では, genotype 1 の未治療の C 型肝炎患者 73 例に対し, RG7128 (1,000-2,000 mg/日) + danoprevir (300-1,800 mg/日) の 13 日間投与で, HCV RNA は 3.7-5.2 log₁₀ IU/mL 低下が認められている⁴⁾。また, 前治療無効の患者でも HCV RNA は 4.9 log₁₀ IU/mL 低下が認められている。特別な有害事象は認められておらず, ウイルス学的リバウンドは 1 例に認められたのみであった。本試験では, 引き続き PEG-IFN+RBV 治療が行われているため, PEG-IFN なしでのウイルス駆除が可能かどうかは将来的な試験により確かめられなければならない。