

C型肝炎治療

~DAAsで広がる治療対象~
Direct Acting Antivirals

编者

熊田 博光

国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 分院長

茶山 一彰

広島大学病院 病院長

豊田 成司

北海道厚生農業共同組合連合会 札幌厚生病院 院長

C型肝炎治療～ DAAs で広がる治療対象～
Direct Acting Antivirals

定価 (本体 4,800 円 + 税)

2014年12月15日初版発行

編者 熊田 博光
茶山 一彰
豊田 成司
発行者 沼田 稔

発行所 株式会社 医薬ジャーナル社
〒541-0047 大阪市中央区淡路町3丁目1番5号・淡路町ビル21
TEL 06-6202-7280
〒101-0061 東京都千代田区三崎町3丁目3番1号・TKiビル
TEL 03-3265-7681
<http://www.iyaku-j.com/>
振替口座 00910-1-33353

乱丁、落丁本はお取りかえいたします。
ISBN978-4-7532-2710-5 C3047 ¥4800E

本書に掲載された著作物の翻訳・複写・転載・データベースへの取り込みおよび送信に関する著作権は、小社が保有します。

・JCOPY<(社)出版者著作権管理機構 委託出版物>

小社の全雑誌、書籍の複写は、著作権法上の例外を除き禁じられています。小社の出版物の複写管理は、(社)出版者著作権管理機構(JCOPY)に委託しております。以前に発行された書籍には、「本書の複写に関する許諾権は外部機関に委託しておりません。」あるいは、「(株)日本著作出版権管理システム(JCLS)に委託しております。」と記載しておりますが、今後においては、それら旧出版物を含めた全てについて、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)の許諾を得てください。

本書を無断で複製する行為(コピー、スキャン、デジタルデータ化など)は、著作権法上での限られた例外(「私的使用のための複製」など)を除き禁じられています。大学、病院、企業などにおいて、業務上使用する目的(診療、研究活動を含む)で上記の行為を行うことは、その使用範囲が内部的であっても、私的使用には該当せず、違法です。また私的使用に該当する場合であっても、代行業者等の第三者に依頼して上記の行為を行うことは違法となります。

本書の内容については、最新・正確であることを期しておりますが、薬剤の使用等、実際の医療に当たっては、添付文書でのご確認など、十分にご注意をお願い致します。 株式会社 医薬ジャーナル社

第2章 C型肝炎の治療

4

DAAによるIFNフリー療法 (IFN free regimen)

ポイント

- プロテアーゼ阻害薬(アスナプレビル)は、セリンプロテアーゼを直接阻害することにより、ウイルスゲノムの複製やウイルス粒子形成に必要なウイルス蛋白の産生を抑制し、ウイルス増殖を強力に阻害する。
- NS5A 阻害薬(ダクラタスビル)は、NS5A 蛋白を標的とする低分子阻害薬であり、ウイルス増殖抑制に大きな効果が期待されている DAA (direct acting antiviral) 製剤のひとつである。
- NS5A 阻害薬であるダクラタスビルとプロテアーゼ阻害薬であるアスナプレビル併用療法 24 週間投与の国内第Ⅲ相試験では、Genotype 1 型高ウイルス量症例に対して 85%の SVR(sustained virological response) 率であった。
- ダクラタスビルとアスナプレビル併用療法は、前治療 non-responder や Peg-IFN と RBV 併用療法不適格または不耐容例に同等の治療効果を認めていた。また IL28B の遺伝子多型には、関係なく高い効果を認め、さらに副作用は少なく、高い忍容性を認めていた。
- 将来的には、ポリメラーゼ阻害薬を含めた新たな治療薬も使用できる可能性があり、その効果が期待されている。

はじめに

C型肝炎ウイルスに対する治療薬は、近年飛躍的に進歩してきている。特にウイルス蛋白を直接標的に開発された direct acting antivirals (DAAs) の登場により、C型肝炎の治療は高い効果とともに、より副作用が少ない治療へと変化してきている。

米国の臨床試験登録ウェブサイトである clinicaltrials.gov には、多数の DAA 製剤および関連す

る薬剤による臨床試験が登録されている。多種類の候補薬剤が開発され臨床試験が進んでいるが、図 1 に示す如く (NS3) プロテアーゼ阻害薬, NS5A 阻害薬, (NS5B) ポリメラーゼ阻害薬が治療の中心となっている。表 1 に現在の主な薬剤を提示している。臨床使用が可能になった第一世代のプロテアーゼ阻害薬 (Telaprevir, Boceprevir) に続き、副作用が少ない第二世代のプロテアーゼ阻害薬 (Simeprevir, Vaniprevir, Faldaprevir, Asunaprevir, ABT-450 など) の臨床試験が進行し、日本ではテラプレビル, シメプレビル, アスナプレビル, バニプレビルが保険適用となっている。さらに NS5A 領域への低分子阻害剤やポリメラーゼ阻害薬も開発され、その強力な抗ウイルス効果が注目されている。これらの DAA 製剤は、単剤では十分な効果が得られなかったが^{1, 2)}、異なる作用機序の DAA 製剤を併用することにより、インターフェロン (IFN) の効果が低い Genotype 1 型や前治療無効例に対しても高い効果が認められている。

本稿では、これら DAA 製剤のうち IFN フリー療法について、現在までの治療成績を踏まえ述べる。

I

新規 DAAs の作用機序

1

プロテアーゼ阻害薬

DAA は、HCV の蛋白を標的とした治療薬であり、その強力な抗ウイルス作用から現在 C 型肝炎治療の重要な治療薬となっている。中でもウイルス増殖に必要な酵素を活性化するカスケードの反応に必要なプロテアーゼの活性化を抑制するプロテアーゼ阻害薬は重要な治療薬である。HCV の非構造蛋白領域 NS3-4A 蛋白は、NS3 とその補因子である NS4A より構成される非共有結合複合体である。NS3 は 70KDa の多機能蛋白であり、その N 末端 3 分の 1 (アミノ酸 [aa] 1-180) にセリンプロテアーゼ領域を含んでいる。セリンプロテアーゼは、非構造蛋白領域 NS3-5 蛋白間の切断を順序立てて行っている蛋白質分解酵素である。プロテアーゼ阻害薬は、このセリンプロテアーゼを直接阻害することにより、ウイルスゲノムの複製やウイルス粒子形成に必要なウイルス蛋白の産生を抑制し、ウイルス増殖を強力に阻害する。

プロテアーゼ阻害薬はその構造と耐性変異のパターンから 2 群に分けられている。分岐のない直鎖状の分子構造をとる第一世代のプロテアーゼ阻害薬と、分子内に環状構造 (macrocylic) または分岐構造をもつ第二世代のプロテアーゼ阻害薬である。第二世代のプロテアーゼ阻害薬は貧血や皮疹などの副作用が少なく、1 日 1 ~ 2 回の経口投与で効果が認められる。現在日本では、第一世代のテラプレビルと第二世代のシメプレビルとバニプレビルがペグインターフェロン (Peg-IFN) とリバビリン (RBV) との併用療法で保険適用となっている (別章参照)。さらにアスナプレビルはダクラタスビルとの併用療法で保険適用になった。また faldaprevir, ABT-450 の 2 剤は国内外で IFN 併用または非併用で治療が行われている。

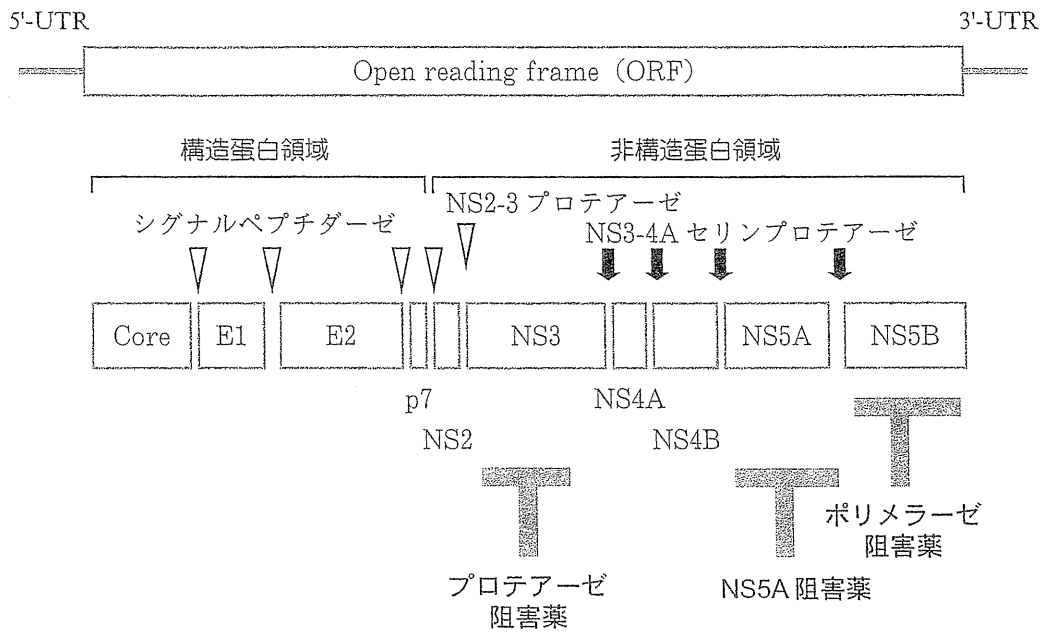


図 HCV ゲノムの構造と DAAs (direct acting antivirals)
DAAs の作用する場所を示す。

(筆者提供)

表 C型肝炎に対する新たな治療薬 (direct acting antivirals ; DAAs)

プロテアーゼ阻害薬		ポリメラーゼ阻害薬	
Linear	Telaprevir (承認) Boceprevir	核酸型	GS-7977 (Sofosbuvir) RG7128 (Mericitabine) IDX-184 PSI-938
Macrocyclic	Simeprevir (承認) Asunaprevir (承認) MK7009 (Vaniprevir) (承認) BI201335 (Faldaprevir) ABT-450 GS-9451, GS-9256 MK5172		
NS5A 阻害薬			
第一世代	Daclatasvir (承認) ABT-267 GS-5885 (Ledipasvir) BMS824393 AZD7295 PPI-461, PPI-668		
第二世代	ACH-3102, MK8742, GS-5816, EDP239		

プロテアーゼ阻害薬, NS5A 阻害薬, ポリメラーゼ阻害薬が治療の中心である。

(筆者提供)

2 NS5A 阻害薬

HCV の非構造蛋白領域 NS5A は、447 アミノ酸残基からなるリン酸化蛋白をコードする領域である。この領域には、N 末端寄り 1/3 の Domain 1 に陽性荷電した RNA 結合領域が存在していることや、IFN 治療の効果に関係する Interferon sensitivity determining region (ISDR; aa2209-2248) や IFN と RBV の効果に関係する IFN/RBV resistance-determining region (IRRDR; aa2334-2379) が存在している。NS5A の機能については十分に判明されていないが、ウイルス RNA 複製に重要な役割を果たしているものと考えられている。とくに HCV の粒子形成においてコア蛋白と NS5A 蛋白が相互作用することが推定されている。

NS5A 阻害薬は低分子阻害薬であり、ウイルス増殖抑制に大きな効果が期待されている。ダクラタスビルは、クラス初の高選択性の NS5A 複製複合体阻害薬であり、ピコモル濃度で効力を示すほか、種々の Genotype に対して作用を示す。このダクラタスビルは健常人と HCV 感染者での血中薬物動態の検討から 1 日 1 回 10 mg 以上の内服にて十分な抗ウイルス効果を得られる薬物濃度を維持できることが示されている⁹⁾。この領域の薬剤の開発も進み、現在日本では、ダクラタスビル、ABT-267、Ledipasvir の治験が IFN 併用または非併用で行われている。さらに NS5A 阻害薬の耐性変異である L31V、Y93H を認めるウイルス株にも効果を保持する第二世代の NS5A 阻害薬の臨床開発も進んでいる。

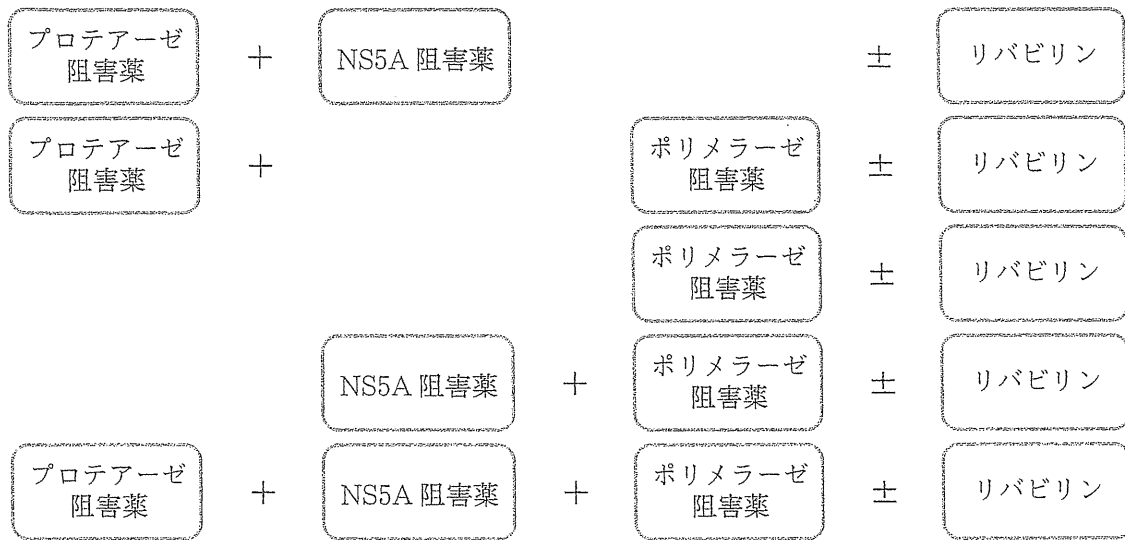
3 ポリメラーゼ阻害薬

NS5B-RNA 依存性 RNA ポリメラーゼを標的とした薬剤で、核酸型と非核酸型に分けられる。核酸型はウイルス RNA 合成の基質として NS5B ポリメラーゼに取り込まれ、chain termination をおこし、ウイルスの増殖を阻害する。核酸型ポリメラーゼ阻害薬は耐性変異を生じにくく、複数の Genotype に対して効果が認められる。一方、非核酸型は、NS5B の触媒ドメインに結合しポリメラーゼ活性を阻害する。この非核酸型ポリメラーゼ阻害薬はそれぞれポリメラーゼの異なるエピトープを標的としている。このため薬剤耐性も固有の耐性を認めている。非核酸型は主として Genotype 1 型を標的に開発されている。現在日本では、核酸型の sofosbuvir の治験が行われているが、海外では非核酸型の治療薬の治験も行われている。

II

国内外での治療成績

現在は IFN 非併用下で作用部位の異なる複数の DAAs を組み合わせる臨床試験が行われている (IFN フリー DAA 併用療法)。この際、DAAs と RBV を併用する臨床試験も行われている。世界的には 図 2 に示すような組合せで IFN フリー DAA 併用療法が行われている。このような IFN フリー DAA 併用療法の優れている点は、IFN/RBV の併用療法での無効例 (non-responder)、高齢



DAAs を用いた治療プロトコル（インターフェロン非併用）

プロテアーゼ阻害薬，NS5A 阻害薬，ポリメラーゼ阻害薬のリバビリン併用または非併用での治療が行われている。

（筆者提供）

者や合併症があるために IFN の使用できない不適格例さらに IFN の不耐容例に対しても使用できるとともに，高い有効率を認め副作用が少ないことである。

1 米国でのアスナプレビル / ダクラタスビル併用療法

他の DAAs と同様にアスナプレビル単剤またはダクラタスビル単剤での効果は十分でないため，併用療法が行われている。Lok A らは，米国において前治療 Peg-IFN / RBV 治療で null responder であった Genotype 1 型の 21 例に対してダクラタスビル / アスナプレビル併用療法を行った 11 例 (group A) とダクラタスビルとアスナプレビルに Peg-IFN / RBV 治療を併用した 10 例 (group B) の成績を報告している⁴⁾。治療期間はいずれも 24 週間であった。Group A では，11 例中 4 例が sustained virological response (SVR) になった。Genotype 別では Genotype 1a では 9 例中 2 例の SVR であったが，Genotype 1b では 2 例とも SVR になった。一方，group B では，10 例中 9 例が SVR になった。この結果から，Genotype 1b は，Genotype 1a よりもダクラタスビル / アスナプレビル併用療法が有効な治療になることが示された。

2 日本でのアスナプレビル / ダクラタスビル併用療法

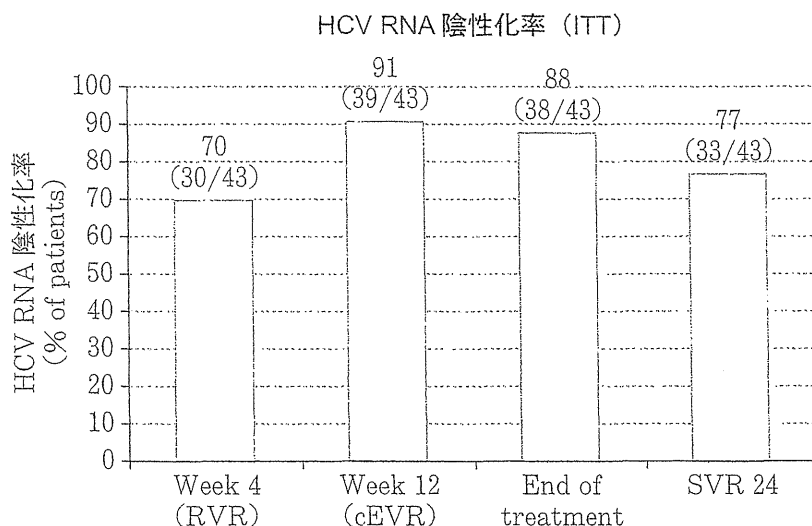
日本では，第Ⅱ相の治験としてダクラタスビル / アスナプレビル併用療法 24 週間投与の治験が行われた⁵⁻⁷⁾。この治験ではまず，前治療無効例 (IFN / RBV 用療法) の null responder 10 例で安全性評価の試験を行い，続いて前治療無効例で追加試験 11 例および Peg-IFN / RBV 併用療法不適格

表2 ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法施行例の背景 (第II相試験)

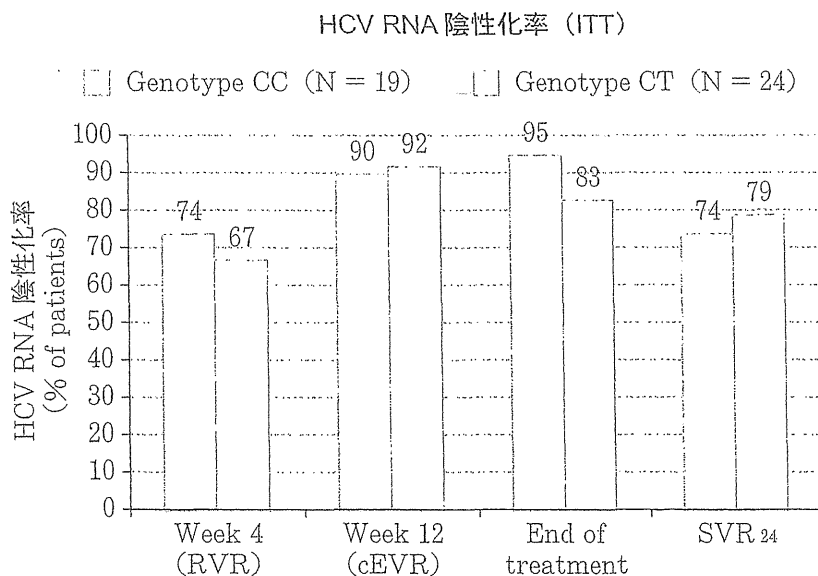
	Null responders	Peg-IFN/RBV 不適格, 不耐容例
症例数	21	22
年齢, 中央値 (レンジ)	61 (31-70)	58 (45-75)
性別, 男 / 女	8/13	6/16
HCV genotype 1b	21	22
IL28B genotype (rs 12979860)		
CC	3	16
CT	18	6
HCV RNA, 中央値 (SD)	6.8 (0.47)	6.6 (0.64)
ALT, 中央値 (SD)	57.9 (24.86)	45.7 (25.79)
Peg-IFN/RBV ineligible		18
Peg-IFN/RBV intolerant		4

Null-responder 群と Peg-IFN/RBV 不適格, 不耐容例の背景を示す。

または不耐容 22 例での試験を行った。投与量は、ダクラタスビル 60 mg を 1 日 1 回、アスナプレビル 200 mg を 1 日 2 回 24 週間投与した。対象症例の背景は、null responder 群 21 例、IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例群 22 例でそれぞれ年齢 61 歳, 68 歳, 性別 (男 / 女) 8/13, 6/16, IL28B genotype (rs12979860) (CC/CT) 3/18, 16/6, HCV RNA 量 (Log IU/mL) 6.8, 6.6 であった (表 2)。全症例の抗ウイルス効果では、治療開始後の陰性化率は 4 週目 (RVR) 70%, 12 週目 (cEVR) 91%, 24 週目または治療終了時 (EOT) 88%, 治療終了後 4 週目 (SVR4) 81%, 治療終了後 12 週目 (SVR12) 77%, 治療終了後 24 週目 (SVR24) 77% であった (図 3)。治療中に陰性化したウイルスの再上昇を認めた症例 (ウイルス学的 breakthrough) は 3 例, 治療終了後にウイルスの再燃を認めた症例は 4 例であった。Null responder 群, IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例群では、治療開始後の陰性化率はそれぞれ 4 週目 (RVR) 52%, 86%, 12 週目 (cEVR) 91%, 91%, 24 週目または治療終了時 (EOT) 91%, 86%, 治療終了後 12 週目 (SVR12) 91%, 64%, 治療終了後 24 週目 (SVR24) 91%, 64% であった。Null responder 群, IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例群では SVR 率が null responder 群で高かったが、統計学的な差は認めなかった。また IFN の治療効果に関係する IL28B の Genotype 別では、CC 群と CT 群で治療開始後の陰性化率はそれぞれ 4 週目 (RVR) 74%, 67%, 12 週目 (cEVR) 90%, 92%, 24 週目または治療終了時 (EOT) 95%, 83%, 治療終了後 12 週目 (SVR12) 74%, 79%, 治療終了後 24 週目 (SVR24) 74%, 79% であった (図 4)。IL28B の Genotype 別では、両群間に差を認めなかった。このようにダクラタス




ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の抗ウイルス効果 (第Ⅱ相試験) (1)
 HCV RNA 陰性化率を ITT で示した。
 End of treatment : 24 週間治療終了時および中止時
 ITT : intention to treat analysis, SVR : sustained virological response



ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の抗ウイルス効果 (第Ⅱ相試験) (2)
 HCV RNA 陰性化率 : IL28B Genotype 別で陰性化率に差を認めなかった。

ビル/アスナプレビル併用療法は、IFN/RBV 併用療法の治療困難例である null responder 症例やインターフェロンの使用できない不耐容または不適格例にも高い効果を認めていた。さらにインターフェロンの治療効果に関係する IL28B の Genotype にも関係なく高い効果を認めた。一方ダク


 ダクラタスビル / アスナプレビル併用療法施行例の背景 (第Ⅲ相試験)

	non-responders	Peg-IFN/RBV 不適格, 不耐容例
症例数	87	135
年齢, 中央値 (レンジ)	60 (40-74)	64 (24-75)
性別, 男 / 女	39/48	38/97
肝硬変例	11	11
IL28B Genotype (rs12979860)		
CC	16	94
CT	66	40
TT	5	1
HCV RNA, 中央値 (SD)	6.8 (0.47)	6.6 (0.58)
Peg-IFN/RBV ineligible		100
Peg-IFN/RBV intolerant		35

Non-responder 群と Peg-IFN/RBV 併用療法不適格, 不耐容例の背景を示す。

(文献 8 より)

ラタスビル / アスナプレビル併用療法の中止例は 3 例 (ビリルビン上昇, ALT 値上昇)であったが, そのほかの副作用は軽微なものが大半であり, 両薬剤の忍容性は保たれていた^{5,7)}。

一方, ダクラタスビル / アスナプレビル併用療法の治療不成功例では, 治療後の HCV 遺伝子解析で両剤に対する耐性ウイルスの出現が報告されている^{6,7)}。プロテアーゼ阻害薬であるアスナプレビルの耐性変異としては D168A/E/V が認められ, NS5A 阻害薬であるダクラタスビルの耐性変異として L31M/V と Y93H が認められている。治療不成功例 7 例中 5 例で治療開始前にダクラタスビルの耐性変異を認めていた。しかし同様の変異を開始前に認めていたが SVR になった症例は 5 例認められた。また, 治療不成功例 7 例では, 治療中のダクラタスビルとアスナプレビルの血漿中のトラフ値が低かったが, 他の SVR 症例でもトラフ値の低い症例が多く認められていた⁶⁾。

さらに日本では, ダクラタスビル / アスナプレビル併用療法の第Ⅲ相の治験が行われた⁸⁾。対象症例の背景は, non-responder 群 87 例, IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例群 135 例でそれぞれ年齢 60 歳, 64 歳, 性別 (男 / 女) 39/48, 38/97, IL28B Genotype (rs12979860) (CC/CT, TT) 16/71, 94/41, HCV RNA 量 (Log IU/mL) 6.8, 6.6 であった (表 3)。全症例の抗ウイルス効果では, 治療開始後の陰性化率は 4 週目 (RVR) 75.2%, 12 週目 (cEVR) 91.0%, 24 週目または治療終了時 (EOT) 92.3%, 治療終了後 4 週目 (SVR4) 88.7%, 治療終了後 12 週目 (SVR12) 85.1%, 治療終了後 24 週目 (SVR24) 84.7% であった (図 5)。Non-responder 群, IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例群での治療終了後 24 週目陰性化率 (SVR24) は, それぞれ 80.5%, 87.4% であっ

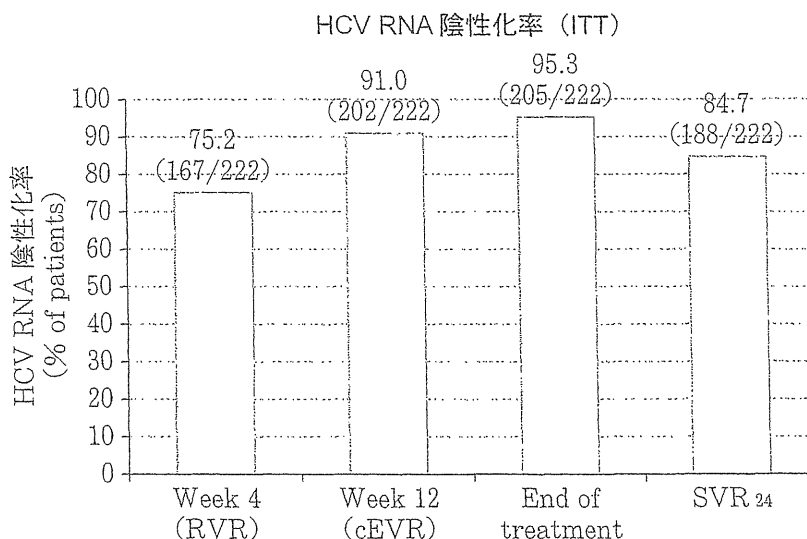


図8 ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の抗ウイルス効果 (第Ⅲ相試験)

HCV RNA 陰性化率を ITT で示した。

End of treatment : 24 週間治療終了時および中止時

ITT : intention to treat analysis, SVR : sustained virological response

(文献 8 より)

た。さらに肝硬変症例では、90.9% (20/22) の SVR 24 であった。また IL28B の Genotype 別では、CC 群と CT, TT 群で治療終了後 24 週目 (SVR 24) はそれぞれ 84.5%, 84.8% であった。そのほか、年齢、性別、開始時の HCV RNA 量で治療効果に差を認めなかった。治療終了後にウイルスの再燃を認めた症例は non-responder 群, IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群で、それぞれ 6 例 (7.9%), 11 例 (8.5%) であった。治療中に陰性化したウイルスの再上昇を認めた症例 (ウイルス学的 breakthrough) は non responder 群, IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群でそれぞれ 10 例 (11.5%), 4 例 (3.0%) であった。また治療終了時 HCV RNA 陽性例がそれぞれ 1 例, 2 例であった。一方、ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の中止例は 11 例 (5.0%) で AST, ALT 値上昇が 10 例, 重症筋無力症 1 例であった。Grade 3/4 の有害事象は 13 例 (5.9%) で認められたが、鼻咽頭炎, 頭痛, 発熱などが主であった。Grade 3/4 の ALT 値の上昇例では治療後速やかに ALT 値は改善していた。

ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法の第Ⅲ相試験での 34 例の治療不成功例中 29 例で、治療開始前に NS5A 領域の L31M/V または Y93H のアミノ酸変異が認められていた。また治療前に NS5A 領域の L31M/V または Y93H のアミノ酸変異が認められていた 37 例では、non-responder 群 14 例中 4 例が SVR24 になり、IFN/RBV 併用療法不耐容または不適格例群 23 例では 11 例が SVR24 になった。治療開始時 NS3 領域の D168E のアミノ酸変異を認めた症例は 2 例であったが、1 例が SVR になった。一方、治療薬のコンプライアンスの検討では、95% 以上のコンプライアンスで SVR24 は 92.7% (179/193) であったが、95% 未満では 31.0% (9/29) であった。しかし 95%

未満のコンプライアンスであった 29 例中 15 例は効果不十分での中止例であった。

さらに最近欧米、アジア (台湾, 韓国), オーストラリアなどを中心に行われたダクラタスビル / アスナプレビル併用療法第Ⅲ相試験の成績が報告された⁹⁾。Genotype 1b 型の C 型慢性肝炎および肝硬変症例を対象として行われたこの臨床研究では, naive 例で 90% (182/205), 前治療 Peg-IFN / RBV の non-responder 例で 82% (168/205), IFN / RBV 併用療法不耐容または不適格例で 82% (192/235) の SVR 率であったと報告されている。AST・ALT 値上昇による副作用中止例は, 各群でそれぞれ 3%, 1%, 1% であり安全性, 忍容性が保たれていたと報告されている。

3) その他の IFN フリー療法

NS5B の核酸アナログ型のポリメラーゼ阻害薬である sofosbuvir と NS5A 阻害薬である ledipasvir やリバビリンを併用した治験の成績も海外から報告されている。Genotype 1 型の naive の C 型慢性肝炎症例に sofosbuvir と ledipasvir をリバビリン併用または非併用で 12 週間または 24 週間投与した成績が報告されている¹⁰⁾。Sofosbuvir と ledipasvir 投与 12 週間群で 99%, リバビリン併用 12 週間群で 97%, sofosbuvir と ledipasvir 投与 24 週間群で 98%, リバビリン併用 24 週間群で 99% の SVR12 率であった。また同様に Genotype 1 型で前治療 Peg-IFN とリバビリン併用療法 (プロテアーゼ阻害薬併用ありの症例も含む) での非著効例に対する sofosbuvir と ledipasvir の治療成績も報告されている¹¹⁾。Sofosbuvir と ledipasvir 投与 12 週間群で 94%, リバビリン併用 12 週間群で 96%, sofosbuvir と ledipasvir 投与 24 週間群で 99%, リバビリン併用 24 週間群で 99% の SVR12 率であった。いずれも重篤な副作用は認めなかったと報告されている。また Genotype 2 型, 3 型に対する sofosbuvir/リバビリンの併用療法では, 12 週間の投与で Genotype 2 型で 93%, 24 週間投与の Genotype 3 型で 85% が SVR12 に達したと報告されている¹¹⁾。

さらに海外ではプロテアーゼ阻害薬である ABT-450, NS5A 阻害薬である ABT-267, 非核酸型 NS5B ポリメラーゼ阻害薬である ABT-333 とリトナビル(r)およびリバビリン併用療法の第Ⅱ相試験^{12) 15)}が行われた。ABT-450/r, ABT-333, ABT-267 とリバビリン併用療法 (Aviator study) の成績を示す。Genotype 1 型の naive と前治療 Peg-IFN とリバビリン併用療法での null response の慢性肝炎症例を対象とした ABT-450/r, ABT-267, ABT-333 とリバビリン併用療法 8 週間, 12 週間, 24 週間投与の治療が行われた^{12) 15)} (Phase II b)。すべての治療群では, ABT-450/r が含まれているが, ABT-267, ABT-333 とリバビリン併用群では, naive 例の 8 週間投与で 88%, 12 週間投与で 96%, 24 週間投与で 90% と高い SVR 率が示されている。同様に前治療 Peg-IFN とリバビリン併用療法での null response の症例でも, ABT-450/r, ABT-267, ABT-333 とリバビリン併用群 12 週間投与で 93%, 24 週間投与で 95% と高い SVR 率であった。また ABT-267, ABT-333 とリバビリンの 3 剤のうち 2 剤と ABT-450 を併用した群においても 83 ~ 89% の SVR 率を認めていた。この臨床試験においても副作用の多くは倦怠感と頭痛であった。このように naive 例, null responder 症例いずれにおいても 12 週間投与で高い SVR 率を認めている。これらの治療薬での日本

での臨床試験が始まっており、今後の成績が期待されている。

III

今後の IFN フリー DAA 併用療法

日本のC型肝炎患者は高齢化してきていることを考えると、将来的にはIFNを使用しない副作用が少なくかつ効果の高いDAAsの併用療法がC型肝炎治療の中心になると予測される。ダクラタスビル/アスナプレビル併用療法は、日本肝臓学会と厚労省のガイドラインにも記載されている^{16,17)}プロテアーゼ阻害薬、NS5A阻害薬とポリメラーゼ阻害薬は今後治療の中心的な薬剤になる可能性が高い薬剤であり、今後の臨床試験成績が注目されている。C型肝炎の治療は、その時にできる最善の治療を行っていくことが大切なことである。

(鈴木 文孝)

文 献

- 1) Yamada I, Suzuki F, Kamiya N, et al : Safety, pharmacokinetics and resistant variants of telaprevir alone for 12 weeks in hepatitis C virus genotype 1b infection. *J Viral Hepat* 19 : e112-119, 2012.
- 2) Toyota J, Ozeki I, Karino Y, et al : Virological response and safety of 24-week telaprevir alone in Japanese patients infected with hepatitis C virus subtype 1b. *J Viral Hepat* 20 : 167-173, 2013.
- 3) Gao M, Nettles RE, Belema M, et al : Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature* 465 : 96-100, 2010.
- 4) Lok AS, Gardiner DF, Lawitz E, et al : Preliminary study of two antiviral agents for hepatitis C genotype 1. *N Engl J Med* 366 : 216-224, 2012.
- 5) Chayama K, Takahashi S, Toyota J, et al : Dual therapy with the nonstructural protein 5A inhibitor, daclatasvir, and the nonstructural protein 3 protease inhibitor, asunaprevir, in hepatitis C virus genotype 1b-infected null responders. *Hepatology* 55 : 742-748, 2012.
- 6) Suzuki Y, Ikeda K, Suzuki F, et al : Dual oral therapy with daclatasvir and asunaprevir for patients with HCV genotype 1b infection and limited treatment options. *J Hepatol* 58 : 655-662, 2013.
- 7) Karino Y, Toyota J, Ikeda K, et al : Characterization of virologic escape in hepatitis C virus genotype 1b patients treated with the direct-acting antivirals daclatasvir and asunaprevir. *J Hepatol* 58 : 646-654, 2013.
- 8) Kumada H, Suzuki Y, Ikeda K, et al : Daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection. *Hepatology* 59 : 2083-2091, 2014.
- 9) Manns M, Pol S, Jacobson IM, et al : All-oral daclatasvir plus asunaprevir for hepatitis C virus genotype 1b : a multinational, phase 3, multicohort study. *Lancet* 28 July 2014 doi : 10.1016/S0140-6736 (14) 61059-X.
- 10) Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, et al : Ledipasvir and Sofosbuvir for Untreated HCV Genotype 1 Infection. *N Engl J Med* 370 : 1889-1898, 2014.
- 11) Afdhal N, Reddy RK, Nelson DR, et al : Ledipasvir and Sofosbuvir for Previously Treated HCV Genotype 1 Infection. *N Engl J Med* 370 : 1483-1493, 2014.
- 12) Zeuzem S, Dusheiko GM, Salupere R, et al : Sofosbuvir and Ribavirin in HCV Genotypes 2 and 3. *N Engl J Med* 370 : 1993-2001, 2014.
- 13) Poordad F, Lawitz E, Kowdley KV, et al : Exploratory study of oral combination antiviral therapy for hepatitis C. *N Engl J Med* 368 : 45-53, 2013.
- 14) Asselah T : ABT-450 combined with ritonavir, in addition to ABT-333 and ribavirin : A race for an

- interferon-free regimen to cure HCV infection. *J Hepatol* 59 : 885-888, 2013.
- 15) Kowdley KV, Lawitz E, Poordad F, Cohen DE, Nelson D, Zeuzem S, et al : Safety and efficacy of interferon-free regimens of ABT-450/R, ABT-267, ABT- 333 ± ribavirin in patients with chronic HCV GT1 infection : results from the aviator study. *J Hepatol* 58 : A3, 2013.
 - 16) 平成 25 年度厚生労働省厚生科学研究費肝炎等克服緊急対策研究事業(肝炎分野)科学的根拠に基づくウイルス性肝炎診療ガイドラインの構築に関する研究班「平成 26 年 B 型 C 型慢性肝炎・肝硬変治療のガイドライン」. www.vhfj.or.jp/04.support/pdfdir/h26guideline.pdf
 - 17) 日本肝臓学会編 : C 型肝炎治療ガイドライン (第 3 版). 2014 年 9 月.
http://www.jsh.or.jp/medical/guidelines/jsh_guidlines/hepatitis_c

第1章 C型肝炎の病態・診断

2

HCVのウイルス学的特徴

ポイント

- C型肝炎ウイルス（HCV）は約 9,600 塩基長の一本鎖プラス鎖 RNA ウイルスである。
- HCV は一度感染すると約 70%は慢性化し，20～30年の年月を経て肝硬変，肝細胞癌へと進展する。
- HCV はゲノムの塩基配列の多様性を認め，quasispecies といわれる。
- HCV 持続感染には，HCV 由来蛋白質が宿主免疫応答に対し抑制的に作用していることが関連する。
- HCV 由来蛋白質は酸化ストレスやインスリン抵抗性などを惹起し，肝発癌に寄与している。

はじめに

C型肝炎は慢性肝炎から肝硬変，肝細胞癌に進展する，肝臓病の中心となる疾患で，肝細胞癌の6～7割がC型肝炎由来である。近年，C型肝炎ウイルス（hepatitis C virus；HCV）選択的抗ウイルス剤（direct acting antivirals；DAAs）が開発され，1型高ウイルス量の難治例において，DAAsを用いた治療の完全ウイルス消失（sustained viral response；SVR）率は8割を超える。ウイルスの増殖や複製といったHCVのライフサイクルの過程において，DAAsはウイルス蛋白質に直接作用し，高い抗ウイルス効果を示しているが，これらの開発にはHCVのレプリコン細胞や感染細胞株などが樹立されたことが大きく寄与している。また，HCV蛋白質発現トランスジェニックマウスやヒト肝細胞キメラマウスなどを用いた研究により，薬剤の抗ウイルス活性の評価だけでなく，肝発癌とHCVとの関連についても解明されつつある。

以上のことを踏まえて，本稿では，HCVのウイルス学的特徴について概説する。

I

HCV のゲノムの構造と機能

HCV はフラビウイルス科に属する、約 9,600 塩基長の一本鎖プラス鎖 RNA ウィルスで、1989 年に米国カイロン社のグループによって発見された¹⁾。HCV は主に血液を介して感染し、一度感染すると約 70% は慢性化し、20 年から 30 年の歳月をかけて、慢性肝炎から肝硬変、肝細胞癌へと進展する。このウィルスゲノムは、5' 末端の非翻訳領域 (5'-non-coding region ; 5' NCR) と、構造蛋白や非構造蛋白をエンコードしているオープンリーディングフレーム (open reading frame ; ORF), 3' NCR からなる。ORF から約 3,000 アミノ酸の一本のポリプロテインが合成され、このポリプロテインは宿主やウィルスのプロテアーゼによって、コア (Core), エンベロープ (E1, E2) という 3 つの構造蛋白と、p7, nonstructural (NS) 2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B という 7 つの非構造蛋白質に切断される²⁾ (図 1)。

ウィルスゲノムの 5' NCR は、キャップ非依存的な翻訳に関わる internal ribosomal entry site (IRES) を有し³⁾、ウィルスの効率的な複製に関与している。micro RNA (miRNA) は細胞内に存在する 20 塩基程度の RNA で、通常、メッセンジャー RNA (mRNA) の 3' 末端に結合し、遺伝子の発現を制御しているが、肝臓特異的な miRNA である miR-122 は HCV の 5' NCR に結合し、ウィルスの複製を増強させていることが報告されている⁴⁾。

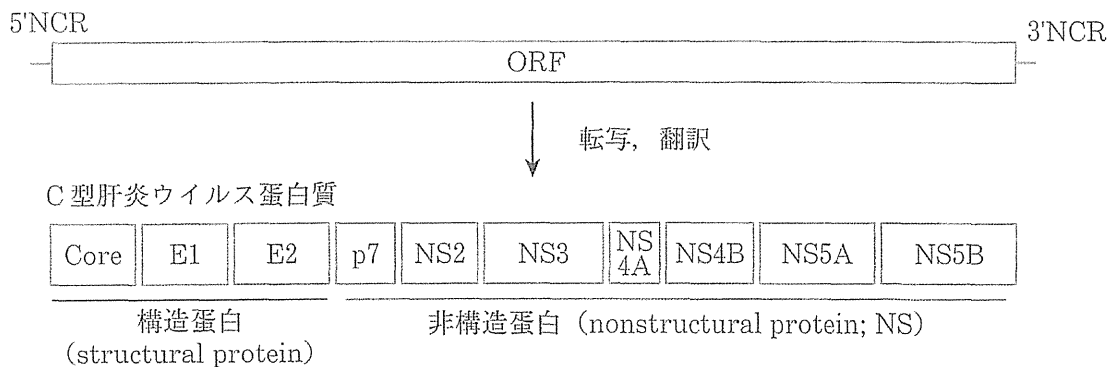


図 1 ウィルス蛋白質の構造と機能

ウィルスゲノムは、5' 末端の非翻訳領域 (5'-non-coding region ; 5' NCR) と、構造蛋白や非構造蛋白をエンコードしているオープンリーディングフレーム (Open Reading Frame ; ORF), 3' NCR からなる。ORF から約 3,000 アミノ酸の一本のポリプロテインが合成され、このポリプロテインは宿主やウィルスのプロテアーゼによって、core, E1, E2 という 3 つの構造蛋白と、p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B という 7 つの非構造蛋白質に切断される。

Core : コア蛋白質, E1, E2 : エンベロープ蛋白質, P7 : イオンチャンネル, NS2 : プロテアーゼ

NS3 : セリンプロテアーゼ, ヘリカーゼ, NS4A : セリンプロテアーゼの補因子

NS4B : Membranous web の形成, NS5A : リン酸化蛋白, 宿主蛋白と相互作用

NS5B : RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ

(著者作成)

II

ウイルス蛋白質の機能 (図1)

コア蛋白質はウイルス粒子の内部(ヌクレオカプシド)を形成し、ウイルス粒子の産生や病原性発現に関わるとされる²⁾。エンベロープ (E1, E2) 蛋白質はウイルス粒子の外被を構成し、細胞内への侵入に関わる³⁾。P7 蛋白質はイオンチャンネルとして機能する³⁾。NS2 はプロテアーゼ活性を有し、NS2-3 間を切断する²⁾。NS3 はN末端 1/3 にセリンプロテアーゼ活性を持ち、C末端 2/3 にヌクレオチド 3 リン酸分解酵素 (nucleoside triphosphatases ; NTPase) /RNA ヘリカーゼを含有し、非構造蛋白質間を切断する²⁾。NS4A は NS3 セリンプロテアーゼの補因子として機能し、そのN末端で膜に固定され、NS3-4A 複合体を形成している⁶⁾。NS4B は膜貫通蛋白質で、membranous web と呼ばれる HCV 複製複合体の足場となる膜構造を作る⁷⁾。NS5A は膜に結合するリン酸化蛋白質で、宿主蛋白質と相互作用し、ウイルス粒子形成に重要な役割を果たしている²⁾。NS5B は RNA 依存性 RNA ポリメラーゼとして機能し、ゲノム RNA の合成に重要である²⁾。

III

HCV のライフサイクル (図2)

HCV が生体に感染すると、ウイルス粒子は標的となる肝細胞表面に結合し、肝細胞内に侵入する。その際、CD81 や scavenger receptor class B type I (SR-BI), claudin-1, occludin などの宿主因子を介する^{2, 3)}。細胞内に侵入した HCV は、脱核してウイルスゲノムを細胞質に放出し、その mRNA からポリプロテインが翻訳され、プロテアーゼによりそれぞれの蛋白質に切断される。ウイルス蛋白質や複製複合体の働きによりウイルスゲノムが複製され、最終的にウイルス蛋白質とゲノムが会合しパッケージングされ、ウイルス粒子となり細胞外に放出される。

HCV はヒトとチンパンジーにしか感染せず、また、*in vitro* ではヒト肝細胞への感染はほとんど起こらないため、HCV の持続感染機序については不明な点が多かった。1999年にドイツの研究グループにより HCV RNA レプリコン細胞株が構築され⁹⁾、蛋白質レベルでウイルスの複製・増殖を解析できる系が確立された。このレプリコン細胞はウイルス粒子の構造領域を含まないため、感染性の粒子は産生しないが、抗 HCV 活性を評価できるようになった。さらに、2005年にC型劇症肝炎患者から単離された遺伝子型 2a の JFH-1 株を用いて、感染性ウイルス粒子を培養細胞で作製可能となり¹⁰⁾、HCV のライフサイクル(感染、翻訳、複製、ウイルス粒子形成・放出)の解明が進歩した。

現在、ウイルス蛋白質を直接標的とした薬剤(DAAs)が開発され、C型慢性肝炎患者において高い抗ウイルス効果を示しているが、これらは、培養細胞上で抗 HCV 活性を評価できるようになったことが大きく寄与している。また、ウイルス複製に必要な宿主因子(蛋白質、miRNA など)をターゲットにした薬剤(host targeted antivirals ; HTA)も開発中である。最近では HCV が効率よく感染するヒト肝細胞キメラマウスなどの動物モデルも開発され、DAAsや HTA などの治療薬の効

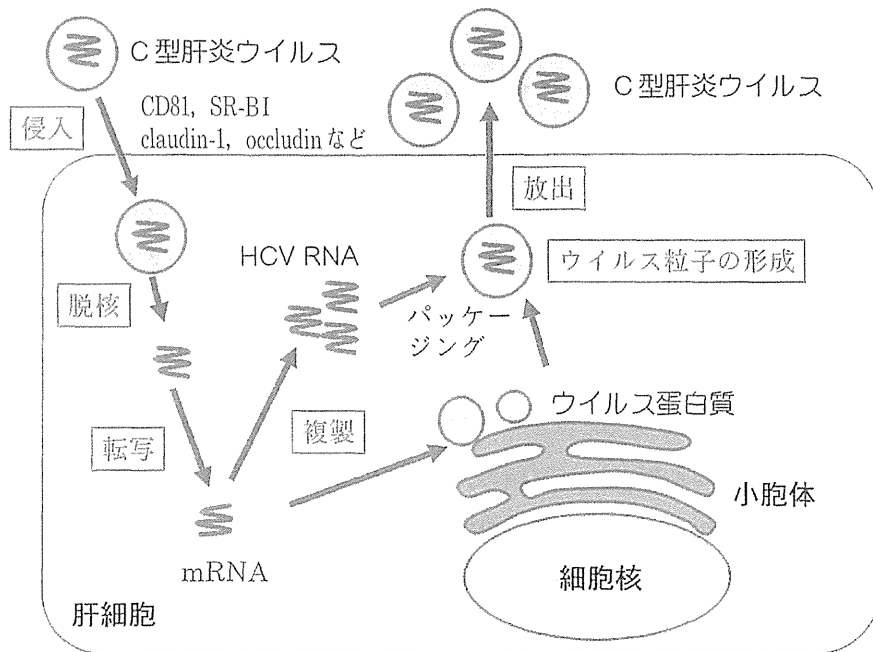


図2 HCVのライフサイクル

HCVがCD81やscavenger receptor class B type I (SR-BI), claudin (CLDN)-1, occludinなどの宿主因子を介して生体内に侵入し、脱核してウイルスゲノムを細胞質に放出して、そのmRNAからポリプロテインが翻訳され、プロテアーゼによりそれぞれの蛋白質に切断される。ウイルス蛋白質や複製複合体の働きによりウイルスゲノムが複製され、最終的にウイルス蛋白質とゲノムが会合しパッケージングされ、ウイルス粒子となり細胞外に放出される。(著者作成)

果判定に有用と報告されている^{11, 12)}。

IV

HCVの持続感染のしくみ

1

quasispecies

HCVは一度感染すると約70%は慢性化し、20年から30年の歳月をかけて、肝硬変、肝細胞癌へと進展する。この持続感染の一因として、HCVゲノムの塩基配列の多様性が挙げられる。一感染個体中に、配列の異なるゲノムが複数混在し、「quasispecies」と呼ばれている¹³⁾。特にE2蛋白質の塩基配列のN末端側に、高い多様性を示す超可変領域(hypervariable region; HVR) 1が存在し¹⁴⁾、NS5BのRNA依存性RNAポリメラーゼの機能の不正確さが寄与していると考えられている。その不正確さは、1ゲノム複製、1ヌクレオチドあたり約 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ の変異率と報告されている¹⁵⁾。また、HCVは代謝回転が速く、半減期は2～5時間と推定され、感染患者において1日に $10^{10} \sim 10^{12}$ のウイルス粒子が産生、排除される¹⁵⁾。以上のようにHCVの高い複製能と変異率により、quasispeciesが形成され、HCVはゲノム配列を変化させることで宿主からの免疫逃避を図っており、ワクチンの

開発を困難にしている一因にもなっている。

2 ウイルス蛋白質と自然免疫応答 (図3)

HCVにより産生されるウイルス蛋白質が、HCV感染に対する宿主免疫応答に対し抑制的に働いていることが報告されている。retinoic acid-inducible gene (RIG)-I や toll-like receptor (TLR) 3 は細胞内外の2本鎖RNAを認識する。HCVが細胞内に侵入すると、そのRNAをRIG-IやTLR3が感知し、IRF3のリン酸化を介してインターフェロン(interferon; IFN) β やそれに続くIFN誘導遺伝子群(IFN stimulated genes; ISGs)が誘導され、抗ウイルス状態が惹起される^{8, 16, 17)}。NS3/4Aプロテアーゼは、RIG-Iに結合しているIFN β promoter stimulator-1 (IPS-1) (別名MAVS/VISA/cardif)^{18, 19)} およびTLR3のアダプター分子であるToll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN β (TRIF)²⁰⁾を切断してIFNシグナル伝達を阻害している。さらに、NS3/4AプロテアーゼはT cell protein tyrosine phosphatase (TC-PTP)²¹⁾やglutathione peroxidase (GPx) 8²²⁾を切断し、ウイルス複製の促進やウイルス粒子の産生に寄与していることも報告さ

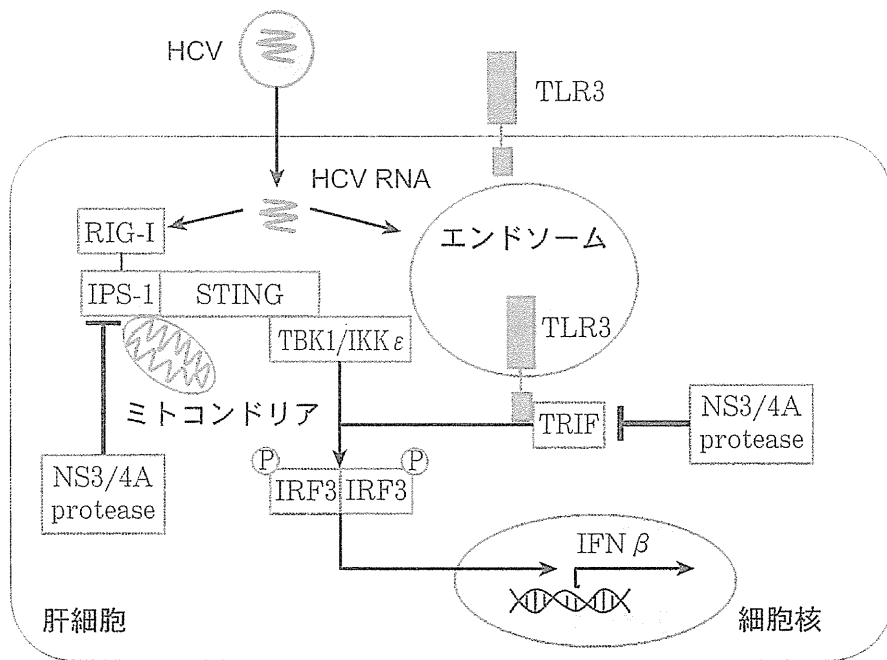


図3 HCV蛋白質による自然免疫逃避機構

retinoic acid-inducible gene (RIG)-I や toll-like receptor (TLR) 3 は細胞内外の2本鎖RNAを認識する。HCVが細胞内に侵入すると、そのRNAをRIG-IやTLR3が感知し、インターフェロン(interferon; IFN) β やそれに続くIFN誘導遺伝子群(IFN stimulated genes; ISGs)が誘導され、抗ウイルス状態が惹起される。NS3/4AプロテアーゼはRIG-Iに結合したIFN β promoter stimulator-1 (IPS-1) やToll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN β (TRIF)を切断することで、IFNシグナル伝達を阻害している。NS4B蛋白はstimulator of IFN genes (STING)を標的とし、IFN依存性の自然免疫を抑制している。

TKK1/IKK ϵ : TANK-binding kinase 1 and I kappaB kinase epsilon

IRF3 : Interferon regulatory factor 3

(文献8, 16, 17, 23を参考に著者作成)

れている。最近、IFN 遺伝子の刺激因子 (stimulator of IFN genes; STING) が RIG-I シグナリングの活性化因子として同定され、NS4B 蛋白は STING を標的とし、RIG-I 誘導性の 1 型 IFN 依存性の自然免疫を抑制していることが報告された²³⁾。

HCV と補体との関連についても複数報告されている。補体 (complement component) は、感染に対する防御を補助する蛋白であり、大きく 9 つの補体成分 C1 ~ C9 に分けられ、補体系にはその他いくつかの蛋白が含まれる。補体系は、抗体反応および免疫記憶の増強、異種細胞の溶解、免疫複合体およびアポトーシス細胞の除去などを介して、自然免疫と獲得免疫に寄与している。HCV コア蛋白は T 細胞表面に発現している補体 (gC1q) レセプターに結合し、T 細胞の増殖やインターロイキン (interleukin ; IL)-2, IFN- γ の産生を阻害する²⁴⁾。また、コア蛋白や NS5A が補体 C4 や C3 プロモーター活性を阻害し、補体の合成や活性を阻害していることや^{25,26)}、補体の活性化を阻止する補体調節蛋白の CD59 と HCV との関連も報告されている²⁷⁾。我々も、NS3/4A プロテアーゼが補体 C4 を切断し、補体の活性化を阻害することを報告した²⁸⁾。このように、HCV 由来蛋白質は宿主のさまざまな免疫反応を阻害することで、持続感染に関与していることが示唆される。

V

HCV の遺伝子型

HCV は 6 つの遺伝子型と 100 以上のサブタイプがあるとされ、同じ HCV であっても塩基配列が、遺伝子型間で 31 ~ 33%、サブタイプ間で 20 ~ 25% 異なる^{15, 29)}。わが国においては、約 70% が 1b 型、約 20% が 2a 型、10% が 2b 型であり、IFN の効果は、2 型と 3 型は高く、1 型と 4 型は低い。また、DAA の治療効果も遺伝子型やサブタイプの違いにより異なるとされ、海外における sofosbuvir (SOF) とリバビリン (RBV) 併用療法では、SVR 率は 2 型 97%、3 型 56% と報告されている^{30, 31)}。また、3 型では脂肪肝が多いことが報告されている³²⁾。

VI

HCV と代謝障害、肝発癌

1 HCV 蛋白質と酸化ストレス、肝発癌

HCV による肝硬変ではその他の肝硬変と比較し肝細胞癌の発生頻度が高く、HCV 自体に発癌性を有する可能性が考えられている。NS3 は癌抑制蛋白である p53 に会合して、その活性を抑制している³³⁾。NS5A は、spleen tyrosine kinase (Syk) による癌抑制シグナル伝達機構を阻害することで肝発癌に関連する可能性が報告されている³⁴⁾。コア蛋白質を発現するトランスジェニックマウスでは肝細胞癌が発生し³⁵⁾、肝細胞癌発生以前の早期から正常マウスと比較し強い酸化ストレスが誘導され、活性酸素 (reactive oxygen species ; ROS) が後期週令で増加していた³⁶⁾。また、鉄代謝異常も酸化ストレス発生の一因となっており、コア蛋白質がミトコンドリア由来の活性酸素を上昇さ