

—Reviews—

C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリン併用療法： 抗ウイルス効果判定の指標としての2-5AS活性測定の意義

金 啓二

2'-, 5'-oligoadenylate synthetase response ratio predicting virological response to PEG-interferon- α 2b plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C

Ke-Ih KIM

Department of Pharmacy, Kobe Asahi Hospital, 3-5-25, Bououji-cho, Nagata-ku, Kobe 653-0801 Hyogo, Japan

(Received October 3, 2007; Accepted November 19, 2007)

Although the mechanisms for the elimination of the hepatitis C virus (HCV) by Interferon (IFN) have not been fully elucidated, the 2'-5'-oligoadenylate (2-5A) system is one of the mechanisms for the anti-viral effects of IFN. Consequently, measurements of 2'-5'-oligoadenylate synthetase (2-5AS) activity could be useful for the evaluation of IFN treatment. This retrospective study was aimed at assessing whether measurements of 2-5AS activity function as a clinical yardstick of virological response to PEG-interferon- α 2b (PEG-IFN) plus ribavirin (RBV) therapy for chronic hepatitis C. The 32 patients included in this study demonstrated high viral loads of serum HCV-RNA of genotype 1b with chronic hepatitis C. All patients received a regimen of PEG-IFN plus RBV for 48 weeks, and were divided into two groups as follows: one group (effective group) with undetectable serum HCV-RNA levels at 24 weeks (n=22) of therapy, the other group (ineffective group) with persistent presence of HCV-RNA in serum at 24 weeks (n=10). 2-5AS activity in serum was measured before initiation of therapy and at 2, 8 and 12 weeks after therapy. 2-5AS response ratio (2-5AS value in indicated time/2-5AS value at baseline) at 2, 8 and 12 weeks after the administration was significantly higher in the effective group than in the ineffective group. Results suggest that the ratio of 2-5AS for pre- to post-treatment is closely related to the anti-viral effect, and that the measurement of 2-5AS response ratio might be a useful clinical parameter of virological response to PEG-IFN plus RBV therapy for chronic hepatitis C.

Key words—2'-, 5'-oligoadenylate synthetase; chronic hepatitis C; PEG-IFN; ribavirin

1. はじめに

C型慢性肝炎に対する治療としてインターフェロン (IFN) にポリエチレングリコール (PEG) を修飾した PEG-IFN- α 2b と RBV の 48 週併用療法が 2004 年 12 月から保険適応となり、著効率が有意に上昇したと報告されている¹⁾。血液中の C 型肝炎ウイルス (HCV) の陰性化をもって肝炎治癒とされ

るが、陰性化の時期には個人差があり、治療の継続あるいは中断の判断は困難な場合が多い。IFN の抗ウイルス作用として IFN が細胞表面上の IFN レセプターと結合した後、細胞内に入り、主として 3 つの酵素、2'-,5'-oligoadenylate synthetase (2-5AS)、プロテインキナーゼ、2'-ホスホジエステラーゼを誘導することによりウイルスを排除すると考えられている。なかでも 2-5AS が IFN の

抗ウイルス作用機構の中でのその主たる担い手と考えられている。²⁻⁵⁾ また、ウイルス感染症の持続は、ウイルス側ならびに宿主側因子の相互関係により決定される。

そこで、今回我々はこの宿主側因子の 2-5AS 活性に着目し、2-5AS 活性が PEG-IFN- α 2b と RBV 併用療法時の抗ウイルス効果の指標となるかどうかについて検討を行った。

2. 対象と方法

1. 対象

2004 年 12 月から 2005 年 5 月までに神戸朝日病院で治療が開始された C 型慢性肝炎 32 例、HCV genotype 1b で、かつ高ウイルス量(HCV-RNA 量(ウイルス量) 100 KIU/mL 以上を示す症例を対象とした。

なお、本研究はヘルシンキ宣言の精神を遵守し、神戸朝日病院倫理委員会にて承認が得られている。

2. 治療方法

全例に PEG-IFN- α 2b 1.5 μ g/kg, 週 1 回 48 週間皮下投与し、同時に体重に応じて RBV を 48 週

間併用して内服投与を行った。RBV は、60kg 以下の場合 1 日投与量 600mg, 60kg を超え 80kg 以下の場合 1 日投与量 800mg, 80kg を超える場合 1 日投与量 1,000mg とした。

3. 調査内容

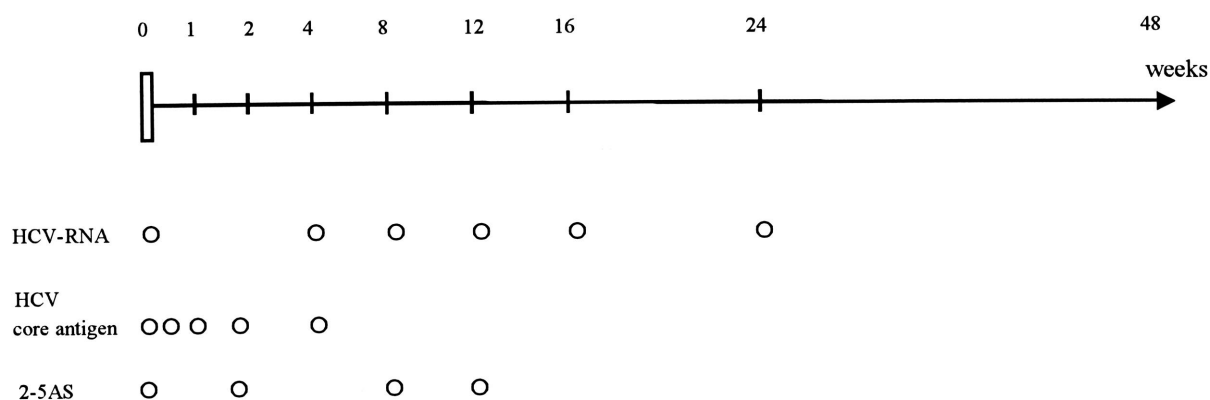
3-1. HCV のウイルス学的検査 (Table 1)

HCV genotype の検出は、Okamoto らの方法⁶⁾ に準じて行った。HCV の定量および定性は、Ampricor HCV Monitor 法 (Roche Diagnostics 社)⁷⁾ にて測定した。HCV の定量は IFN 投与前に、HCV の定性は IFN 投与 4 週後、投与 8 週後、投与 12 週後、投与 16 週後、投与 24 週後に、Amplior HCV Monitor ver 2.0 assay (Roche Molecular Systems 社)⁸⁾ を用いて測定した。HCV コア抗原は IFN 投与前と投与 24 時間後、投与 1 週後、投与 2 週後、投与 4 週後に immuno-radiometric assay (IRMA) 法 (Ortho 社)⁹⁾ で測定した。

3-2. 2-5AS 活性の測定 (Table 1)

2-5AS 活性は、RIA kit (栄研化学)^{10,11)} を用いて IFN 投与前と投与 2 週後、投与 8 週後、投与 12 週後に測定した。2-5AS 活性の反応性は、IFN 投与前値に対する測定時の比で表した。

Table 1. Laboratory schedule



3-3. 治療の評価方法

治療効果は、IFN 投与 24 週後における HCV の定量によって有効群と無効群の 2 群に分けて検討した。有効群は IFN 投与 24 週後に HCV が陰性となった群で、無効群は IFN 投与 24 週後に HCV が陽性を持続した群とした。

3-4. 統計解析

統計解析には、 χ^2 -test, Spearman's correlation, Student's t-test, Welch's t-test また Mann-Whitney test を用いた。有意水準は、5%未満とした。

3. 結果

1. 治療成績と患者背景 (Table 2)

有効群 (治療後 HCV 陰性化群) は 22 例で、男性 12 例、女性 10 例であった。無効群 (治療後も HCV 陽性群) は 10 例で男性 7 例、女性 3 例であった。両群間で IFN 投与前において、年齢、性別、平均体重、治療歴、HCV ウイルス量、2-5AS 活性に有意差はなかった。

Table 2. Clinical characteristics of the patients

	Effective group	Ineffective group	<i>P</i>
Gender			
Male	12	7	
Female	10	3	NS
Age (years)	54.4 ± 11.1	61.0 ± 8.3	NS
Body weight (kg)	58.0 ± 10.5	62.5 ± 11.3	NS
Treatment-naïve	8	3	
Retreatment	14	7	NS
HCV-RNA level (KIU/mL)	1417.7 ± 1156.7	1647.0 ± 1623.7	NS
HCV core antigen (fmol/L)	6025 ± 4954	13735 ± 18062	NS
2- 5 AS (pmol/dL)	73.4 ± 42.6	135.3 ± 85.5	NS

HCV, Hepatitis C virus; IFN, Interferon; 2-5AS, 2'-5'-oligoadenylate synthetase. Data are given as mean ±SD.

2. 2-5AS 活性の測定

2-1. 2-5AS 活性の反応性 (Fig. 1)

2-5AS 活性の反応性は、投与 2 週後 ($P < 0.05$), 投与 8 週後 ($P < 0.005$), 投与 12 週後 ($P < 0.005$) において、どの時点においても有効群と無効群間で有意差がみられた。

3. 2-5AS 活性の測定

3-1. HCV のウイルス学的検査 (Fig. 2)

HCV コア抗原の log 減少率は、投与 24 時間後

($P < 0.01$), 投与 1 週後 ($P < 0.005$), 投与 2 週後 ($P < 0.001$), 投与 4 週後 ($P < 0.001$) において、どの時点においても有意差がみられた。

3-2. HCV 陰性化時期 (Fig. 3)

有効群での HCV 陰性化時期は、投与 4 週後で 2 例 (9.1%), 投与 8 週後で 5 例 (22.7%), 投与 12 週後で 12 例 (54.5%), 投与 16 週後で 19 例 (86.4%), 投与 24 週後で 22 例 (100.0%) であった。

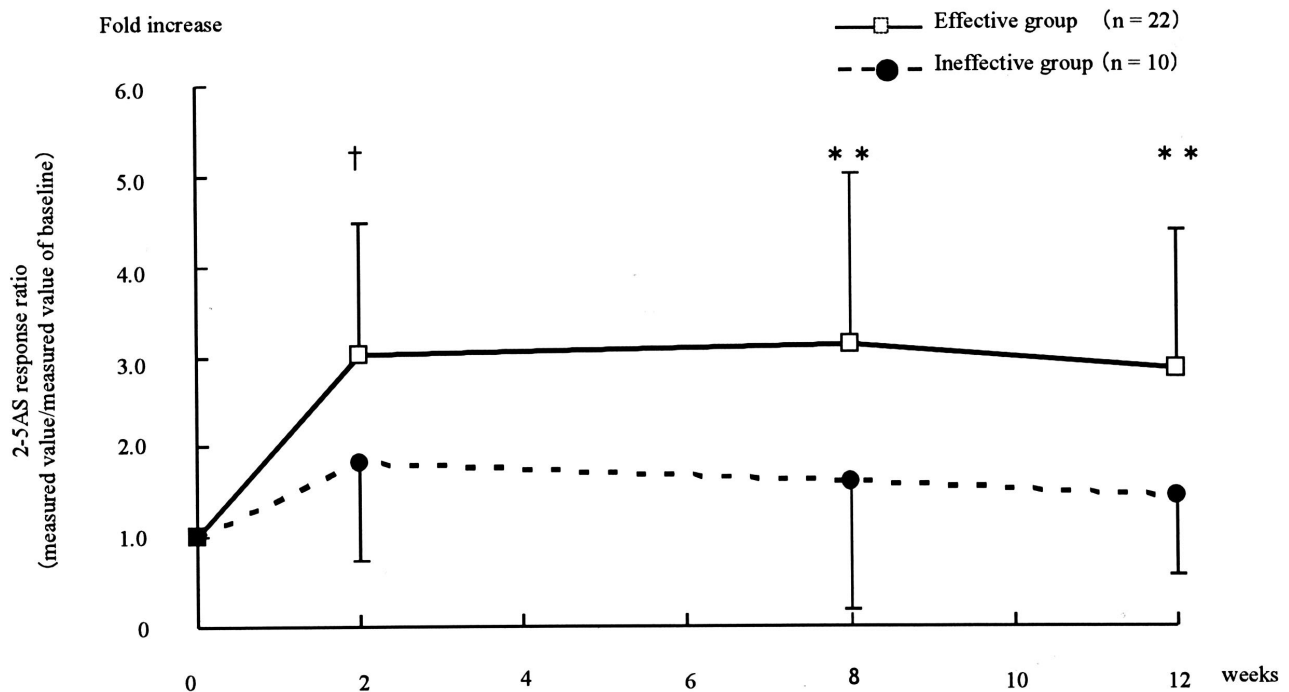


Fig. 1. Changes in 2-5AS response ratio (measured value/measured value of baseline) in chronic hepatitis C patients treated with PEG interferon- α 2b plus ribavirin therapy at 12 weeks. 2-5AS response ratio in the effective group (open square) and in the ineffective group (solid circle). 2-5AS, 2'-5'-oligoadenylate synthetase. Data are given as mean \pm SD. † $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, compared with ineffective group.

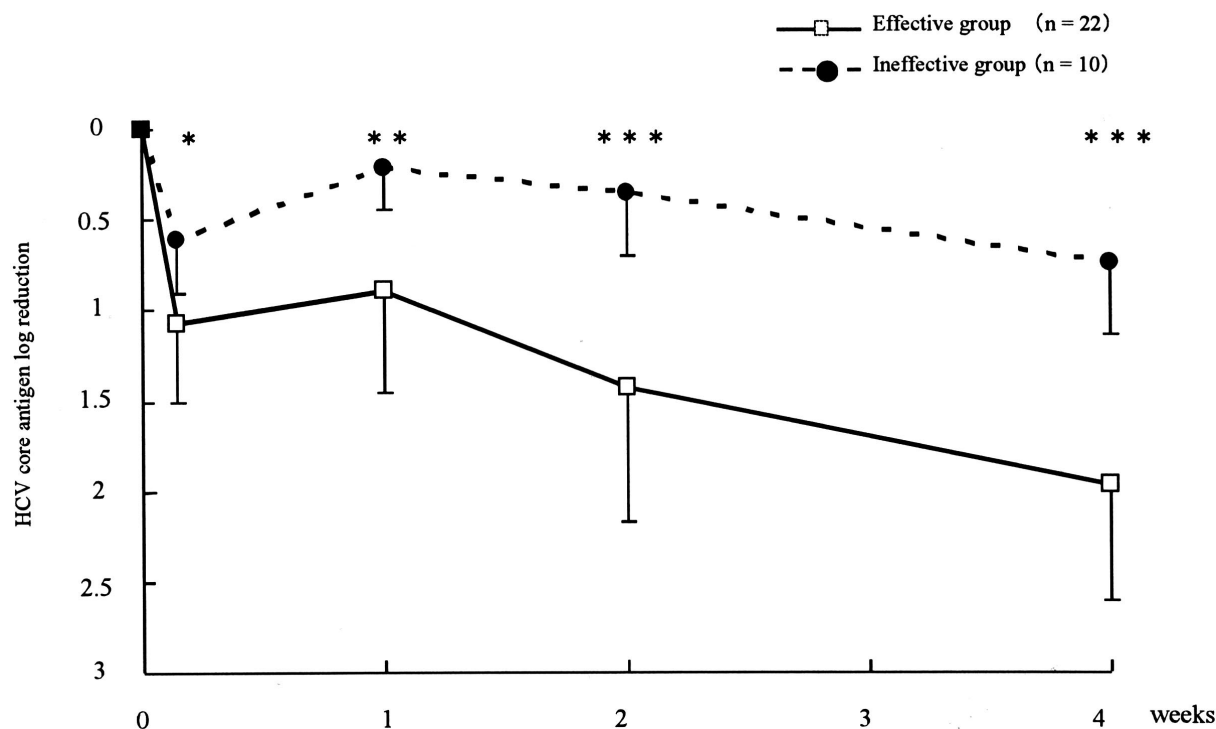


Fig. 2. Changes in HCV core antigen expressed as log reduction in chronic hepatitis C patients treated with PEG-interferon- α 2b plus ribavirin therapy for 4 weeks. HCV core antigen log reduction in the effective group (open square) and in the ineffective group (solid circle). HCV, Hepatitis C virus; IFN, Interferon. Data are given as mean \pm SD. * $P < 0.01$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.001$, compared with the ineffective group.

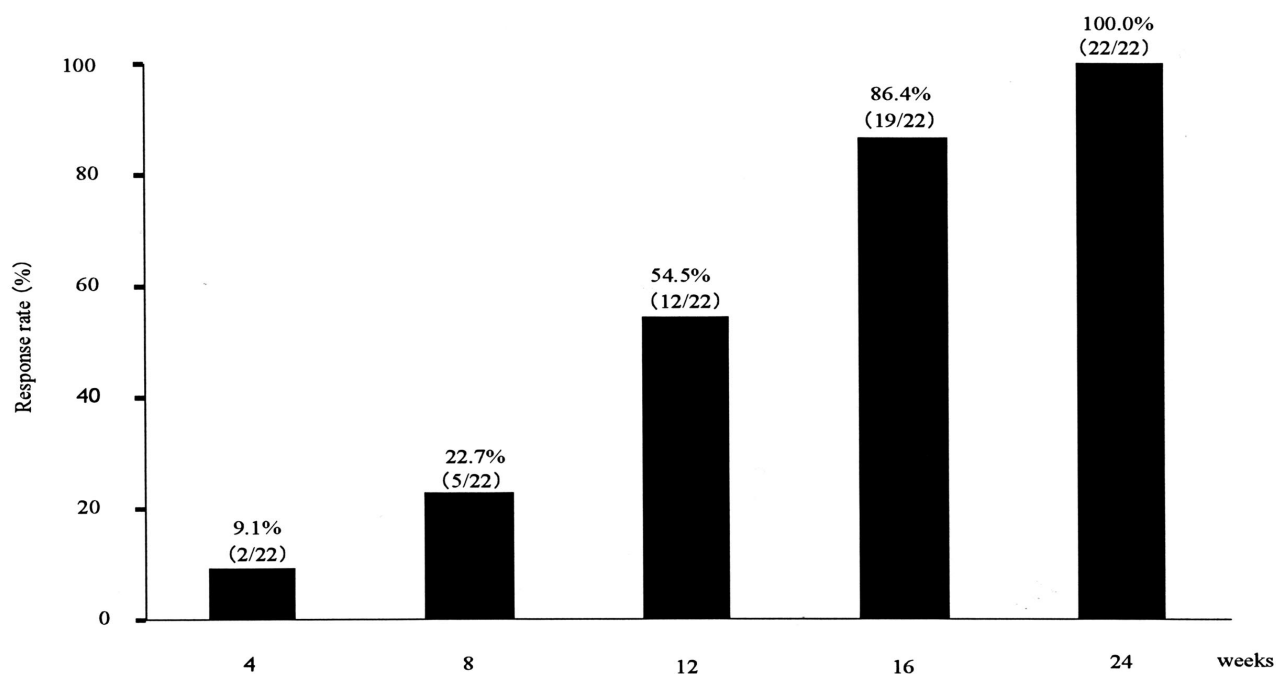


Fig. 3. The response ratio from 4 weeks to 24 weeks maintained during therapy in the ineffective group (n = 22).

4. 考察

IFNの抗ウイルス作用としてIFNが細胞表面上のIFNレセプターと結合した後、細胞内に入り、主として3つの酵素を誘導することによりウイルスを排除すると考えられているが、なかでも2-5ASがIFNの抗ウイルス作用機構の中でのその主たる担い手と考えられている。²⁻⁵⁾ 2-5AS活性は外因性のIFN投与により上昇するとされるがその誘導率は個人差が著しいため、IFNの治療効果を評価するためには、IFN投与前値との比すなわち2-5AS活性の反応性で比較することがよいとされている。¹²⁾ そこで2-5AS活性の反応性で見ると、有効群では2-5AS活性の反応性が投与2週後、投与8週後において3倍以上の反応性を示し、投与12週後においても2.8倍以上の高い反応性を示した。しかし、無効群では2-5AS活性の反応性は投与2週後、投与8週後、投与12週後において2倍を超えることはなく、IFNに対する2-5AS活性の反応性が悪かった(Fig. 1)。すなわち、無効群では外因性のIFN投与に対して反応が鈍く、2-5AS活性の誘導が十分でなく、ウイルス増殖抑制まで至らなかったのではないかと推察された。一方、有効群ではIFN治療前に無効群に比べてウイルス量が低い傾向にあったが、外因性のIFN投与に対して2-5AS活性が高度に誘導され、ウイルス増殖を抑制しIFN投与24週後にHCVが陰性となったものと考えられる。

1986年にHoofnagleらが、非A非B型肝炎に対しIFNを投与することにより肝機能が正常化し、肝組織像も改善したことを報告し、¹³⁾ わが国においては、1992年1月にC型慢性肝炎に対するIFN単独療法、2001年12月からはIFN- α 2bとRBVの24週併用療法、2004年12月からPEG-IFN- α 2bとRBVの48週併用療法が保険適応となり、多くの施設でIFN治療が施行されてきた。日本人に最も多く存在し、難治性と言われるHCV genotype 1bで、かつ高ウイルス量(ウイルス量

100 KIU/mL以上)のC型慢性肝炎患者に対して、IFN単独療法の著効率は2.3～4.9%、IFN- α 2bとRBV併用療法においては17.4～20.2%であるのに対し、PEG-IFN- α 2bとRBV48週併用療法は47.6%と著効率が有意に上昇した。^{1,14-17)}

一方、C型慢性肝炎に対するIFN治療効果に影響を及ぼす因子は、ウイルス側因子(投与前のHCVウイルス量、ウイルスのHCV genotype)と宿主側因子(肝線維化の程度、患者の年齢、性別)の2つに分類される。¹⁸⁾ 上記のいずれもがIFN投与前の治療効果予測因子で、IFN投与後においてはHCV陰性化の時期が唯一の治療効果予測因子となっている。^{19,20)} 従来のIFN- α 2bとRBVの併用療法ではIFN投与12週以内にHCVの陰性化が得られなかった症例からは著効例が見られないが、PEG-IFN- α 2bとRBVの併用療法ではIFN投与24週までにHCVウイルスが陰性化すれば、著効が期待できるとしている。²¹⁾ そこで、IFN投与24週後におけるHCVの有無によって有効群と無効群の2群に分けて検討した。

簡便、迅速かつ安価にHCVの定量が行えるHCVコア抗原を用いて血中ウイルス動態を検したところ、IFN投与24時間後($P < 0.01$)、投与1週後($P < 0.005$)、投与2週後($P < 0.001$)、投与4週後($P < 0.001$)において、どの時点においても両群間で有意差がみられた(Fig. 2)。IFN投与24時間後において、有効群は平均で1/10以上のウイルス量の減少を示したのに対し、無効群では1/10未満の減少しか示さなかった。IFN投与4週後では、有効群では平均で1/100以上の減少を示したのに対し、無効群では1/10未満の減少しか示さなかった(Fig. 2)。しかし、IFN投与24週後にHCVが陰性化した有効群においても、IFN投与4週後にHCVが陰性化したのは9.1%(22例中2例)であった(Fig. 3)。その理由としては、PEG-IFN- α 2bとRBV併用療法におけるHCVの血中ウイルス動態と関連している可能性が示唆された。

C型慢性肝炎に対してIFNとRBVの併用療法を行うと、24時間以内に急峻なウイルス量が減少する第1相と、それに引き続くその後の2週間程度までの緩徐な減少の第2相、そして3～4週間以降の第3相に分類される。^{18,19)} 第1相はIFNの直接的な抗ウイルス効果を反映し、第2相はIFNによって、第3相はRBVによって惹起された免疫担当細胞による感染細胞の排除機構とされる。この第3相の消失曲線の効果が、IFN単独療法のみではウイルス排除が困難であった難治性のC型慢性肝炎患者へのPEG-IFN- α 2bとRBV併用療法によるHCVの陰性化率の上昇に寄与したのではないかと考えられている。²²⁾ 従来のIFN治療の投与方法や投与量の決定は主としてウイルス側因子のみから検討されてきた。しかし、IFNの治療効果をさらに向上させるためにはIFNの生体内動態を考慮した投与方法の検討が必要である。そのためには宿主側因子である2-5AS活性を測定し、反応性をみることは極めて有用な手段と考えられる。

C型慢性肝炎治療の最大の目標は、肝細胞癌の発生を抑制し生命予後を改善することである。日本人に多いとされる難治性のHCV genotype 1bで、かつ高ウイルス量の患者に対して、強力かつ安全なIFN投与は肝細胞癌の発生の抑制に不可欠である。しかし、現在最も強力な治療と言われるPEG-IFN- α 2bとRBV併用療法においても、HCVが完全排除できるのは約50%に留まっている。一方、HCVの完全排除に至らなくてもAST、ALTといった肝機能の正常化によって、肝細胞癌抑制や生命予後の改善が期待できる。²³⁾ 従って、肝機能の正常化を目的としたIFNの少量長期投与も積極的に行っていく必要があると考えられる。従来のIFN治療の治療方針は、主としてIFN投与前のウイルス側因子（HCVウイルス量、HCV genotype）、宿主側因子（肝線維化の程度、患者の年齢、性別）から検討されてきた。しかし、IFNの治療効果をさらに向上させるためには、これに加えてIFN投与後の宿主側因子である2-5AS

活性の反応性を積極的に活用する必要がある。高齢化するC型慢性肝炎患者におけるPEG-IFN- α 2bとRBV併用療法においては、2-5AS活性の反応性を観察しながら強力なIFN治療法をそのまま継続するのか、肝機能の正常化を目的としたIFNの少量長期投与に切り替えるのかを判断し、個々の患者に即した適切な治療法を選択することが、肝細胞癌発生抑制、生命予後改善の観点また治療継続による副作用や治療費の軽減の観点からも重要であると考えられる。

REFERENCES

- 1) 飯野四郎, 沖田極, 小俣政男, 熊田博光, 林紀夫, 谷川久一, 肝胆膵, **49**, 1099-1121 (2004).
- 2) Nilsen TW., Baglioni C., *Proc Natl Acad Sci USA*, **76**, 2600-2604(1979).
- 3) Karino Y., Hige S., Matsushima M., Miyazaki T., Toyota J., *Hokkaido Igaku Zasshi*, **69**, 1354-1359 (1994).
- 4) Toda K., Kumagai N., Iwabuchi N., Suzuki T., Saito H., Morizane T., Hibi T., Ishii H., Tsuchimoto K., *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, **20**, 428-436 (1997).
- 5) Tong WB., Zhang CY., Feng BF., Tao QM., *World J Gastroenterol*, **4**, 70-73 (1998).
- 6) Okamoto H., Sugiyama Y., Okada S., Kurai K., Akahane Y., Sugai Y., Tanaka T., Sato K., Tsuda F., Miyakawa Y., Mayumi M., *J Gen Virol*, **73**, 673-679 (1992).
- 7) 田原和子, 出口松夫, 中野卓, 鍵田正智, 森恵子, 市後香織, 浅利誠志, 柳原武彦, 日本臨床検査自動化学会誌, **25**, 178-183 (2000).
- 8) 市村尊士, 磯智子, 石橋裕子, 菊池みゆき, 渡辺正一, 医学と薬学, **47**, 961-969 (2002).
- 9) 玉造滋, 林邦彦, Wolfe L, 医学と薬学, **32**, 1341-1347 (1994).
- 10) Sawai H., Ishibashi K., Itoh M., Watanabe S., *Biochem Biophys Res Commun*, **125**, 1061-1066 (1984).

- 11) Sawai H., Ishibashi K., Itoh M., Watanabe S., *J Biochem*, **98**, 999-1005 (1985).
- 12) 大東恭子, 周防武昭, 川崎寛中, 日本臨床, **53**, 981-985 (1995).
- 13) Hoofnagle JH., Mullen KD., Jones DB., Rustgi V., Bisceglie AD., Peters M., Waggoner JG., Park Y., Jones EA., *N Engl J Med*, **315**, 1575-1578 (1986).
- 14) 飯野四郎, 平成 13 年度厚生科学研究補助金新興・再燃感染症研究事業報告書, (2002).
- 15) 飯野四郎, 松嶋喬, 熊田博光, 清澤研道, 各務伸一, 溝上雅史, 林紀夫, 佐田通夫, 溝口秀昭, 楠正, 臨床医薬, **18**, 565-591 (2000).
- 16) 田原和子, 出口松夫, 中野卓, 鍵田正智, 森恵子, 市後香織, 浅利誠志, 柳原武彦, 日本臨床検査自動化学会会誌, **25**, 178-183(2000).
- 17) 市村尊士, 磯智子, 石橋裕子, 菊池みゆき, 渡辺正一, 医学と薬学, **47**, 961-969(2002).
- 18) 八橋弘, 肝臓, **46**, 599-603(2005)
- 19) 各務伸一, 肝胆膵, **52**, 47-55(2006).
- 20) 岩崎良章, 坂口孝作, 白鳥康史, インターフェロン・リバビリン併用, **49**, 967-974(2004).
- 21) Manns MP., McHutchison JG., Gordon SC., Rustgi VK., Shiffman M., Reindollar R., Goodman ZD., Koury K., Ling M., Albrecht JK., *Lancet*, **358**, 958-965 (2001).
- 22) Herrmann E., Lee JH., Marinos G., Modi M., Zeuzem S., *Hepatology*, **37**, 1351-1358 (2003).
- 23) 林紀夫編集, 最新医学社, 171-176 (2005).