



Usefulness of a New Immunoradiometric Assay of HCV Core Antigen to Predict Virological Response during PEG-IFN/RBV Combination Therapy for Chronic Hepatitis with High Viral Load of...

笹瀬, 典子

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2010-10-12

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙3133

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2003133>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名	笹瀬 典子
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学 位 記 番 号	博ろ第 3133 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位授与の 日 付	2010 年 10 月 12 日

【 学位論文題目 】

Usefulness of a New Immunoradiometric Assay of HCV Core Antigen to Predict Virological Response during PEG-IFN/RBV Combination Therapy for Chronic Hepatitis with High Viral Load of Serum HCV RNA Genotype 1b (ジェノタイプ 1 b 型高ウィルス量の C 型慢性肝炎患者の PEG-IFN/RBV 治療によるウィルス学的

審 査 委 員

主 査 教 授 平井 みどり
教授 川端 真人
教 授 西尾 久英

学位論文の内容要旨

Usefulness of a New Immunoradiometric Assay of HCV Core Antigen to Predict Virological Response during PEG-IFN/RBV Combination Therapy for Chronic Hepatitis with High Viral Load of Serum HCV RNA Genotype 1b

ジェノタイプ1b型高ウィルス量のC型慢性肝炎患者の
PEG-IFN/RBV治療によるウィルス学的反応の予測における
HCVコア抗原測定法の有用性

(指導教員：神戸大学大学院医学研究科 林 祥剛 教授)

笹瀬 典子

【序論】

難治性のジェノタイプ1b型高ウィルス量C型慢性肝炎の治療は48週間のペグインターフェロンとリバビリン併用療法（PEG-IFN/RBV）が標準治療となっている。しかし、この治療法を施行しても治療終了後6ヶ月時点でウィルスが検出されない持続的ウィルス陰性化（sustained virological response : SVR）を達成するのは約50%である。従って、治療前もしくは治療中に治療効果を予測することは、経済的にも、重篤な副作用への対処、治療中止の判断などにおいても重要である。

予測因子に関しては宿主因子とウィルス側因子があげられている。宿主因子には年齢、性、肥満、アルコール摂取量、肝臓への鉄負荷、線維化、免疫反応、他のウィルスとの共感染などがあげられる。また最近ではIL-28が有効な宿主因子として報告されている。ウィルス側因子としては、ジェノタイプ、ISDRやIRRDRなどのNS5A領域のアミノ酸変異、ウィルス量などがある。さらに、治療中の因子として治療開始早期のウィルスダイナミクスも重要であると報告されている。

RT-PCR法を用いたHCV RNA定量法による早期のウィルス動態を用いた治療効果予測に関する研究がいくつか報告されている。その検査法は高価であるため頻回の検査は難しく、標準的ではない。HCV RNA定量法にかわる方法として、enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA法）によるHCVコア抗原定量法が開発されたが、初期のEIA法での測定では、HCV RNA量が少ない場合には検出できないなどの制限があった。従って、抗ウィルス治療によりHCV RNA量が減少する治療の後半と治療後のウィルスモニターには向かなかった。EIA法の改良、すなわち簡便かつ高感度な第二世代EIA法は慢性あるいは急性C型肝炎の診断およびIFN治療効果予測とウィルス量モニターに有用となった。さらに、最近第二世代EIA法を改良した新しい免疫放射定量測定法（IRM法）に基づいたHCVコア抗原の検出法（栄研）が開発され、その感度と特異性は 96.4%と100%である。そのコストはRT-PCR法によるHCV RNA定量法の3分の1である。この新しいIRM法は、経済的観点からもC型慢性肝炎患者のIFN治療中のウィルス量のモニターに利用できる選択肢として登場してきた。

そこで、我々はIRM法を用いたC型肝炎ウィルス（HCV）コア抗原量を指標とする早期ウィルス動態の検討が、ジェノタイプ1b型かつウィルス量100KIU/ml以上の高ウィルス量のC型慢性肝炎患者におけるペグインターフェロンとリバビリン併用療法（PEG-IFN/RBV）中のウィルス学的反応を予測する上で、臨床的に有用であるかを検討した。

【方法・結果】

ジェノタイプ1b型高ウイルス量のC型慢性肝炎患者でペグインターフェロンα-2b (1.5μg/kg/週、皮下注射) とリバビリン (600-1000mg/日) 48週間の併用療法を受けた39人で検討を行った。RT-PCR定量でのHCV RNA量 (KIU/ml) とIRM法でのHCVコア抗原量 (fmol/l) との間に相関がみられた ($R^2=0.648$)。ウイルス量はIRM法によるHCVコア抗原量を指標として用い、治療開始時および開始後1、7、14、28日に測定した。

対象の39人のうち、18人 (46.2%) は治療終了後6ヶ月後もHCV RNAが陰性化しているSVR (SVR群)、11人 (28.2%) は治療終了時にHCV RNAが検出されなかったが、治療中止後24週で再陽性となったpartial response (PR群)、10人 (25.6%) は治療中を通じてHCV RNAが検出されたno response (NR群) であった。それぞれの群間の背景として、年齢、性、HCV RNA量、治療歴には有意差はなく、線維化の程度のみ有意差が見られた。

我々の検討では、HCV RNAの消失時期に関してはPR群とSVR群間で有意差は見られなかった。

開始時のウイルス量 (fmol/l) はNR群で 12781 ± 18444 、PR群で 7875 ± 3418 、SVR群で 5809 ± 5919 と3群間に有意差はみられなかった。1日後はNR群で 3382 ± 4903 、PR群で 681 ± 721 、SVR群で 426 ± 698 であり、7日後はNR群で 6177 ± 6682 、PR群で 1540 ± 2376 、SVR群で 393 ± 469 であり、14日後はNR群で 7048 ± 10323 、PR群で 525 ± 953 、SVR群で 135 ± 166 であり、28日後はNR群で 3543 ± 5363 、PR群で 168 ± 395 、SVR群で 29 ± 19 であった。HCVコア抗原量は、治療開始後1日と7日目でSVR群とPR群間に有意差があり (1日目では $p=0.027$ 、7日目では $p=0.045$)、NR群とSVR群とでは全ての測定したポイントで有意差があった (1日目では $p=0.0009$ 、7日目では $p=0.0001$ 、14日目では $p=0.00003$ 、28日目では $p=0.000004$)。PR群とNR群間には治療開始後7日と14日と28日目で有意差があった (7日目では $p=0.017$ 、14日目では $p=0.0025$ 、28日目では $p=0.0009$)。

治療開始後4週で、コア抗原量の1log減少が見られたのは、NR群で20% (2/10)、PR群で91% (10/11)、SVR群で88.9% (16/18) であり (PR群とNR群間の有意差は $p=0.001$ 、SVR群とNR群間の有意差は $p=0.0003$)、2log減少が見られたのは、NR群で0% (0/10)、PR群で63.6% (7/11)、SVR群で55.6% (10/18) であった (PR群とNR群間の有意差は $p=0.002$ 、SVR群とNR群間の有意差は $p=0.008$)。

治療開始後4週での1log減少と2log減少はPR群とSVR群で有意差はなかった。

【考察】

PEG-IFN/RBV療法の治療早期 (12週後) でのウイルス学効果 (early virological response : EVR) によって、治療に反応しない患者を予想できるとされている。EVRのうち、c-EVRは治療開始後12週後にHCV RNAが陰性化していると定義され、p-EVRは治療開始前に比べて治療開始後12週後のウイルス量の2log以上の減少と定義されている。C-EVRとp-EVRを含むEVRの臨床的意義が欧米から報告され、EVRに達しない患者は更なる治療でもSVRは困難であり、EVRに達しない患者の治療中止により薬物コストを20%以上減らせるとされている。ただ日本で行われたPEG-IFN/RBV療法の臨床薬理試験の結果では、全患者の57%でc-EVRに達し、このうち82%でSVRとなったが、c-EVRが得られなかった患者のSVR率は27%であった。

IFN治療によりHCV RNA量は2相性に減少することが報告されている。第1相の減少は通常24-48時間以内に観察され、HCV感染細胞でのウイルス産生と放出が直接抑制されたことが反映され、第2相の減少は24-48時間経ってから始まり2週間位までの時期をさし、第1相よりゆっくり、より変化しやすく、複製の持続的な抑制とウイルスに感染細胞を排除する効果を反映していると考えられている。第1相でのHCVウイルス量の減少は第2相でのHCVウイルス量の減少に影響を及ぼすと考えられている。それゆえ、IFN治療開始後24-48時間以内のウイルス量の減少は、抗ウイルス効果評価において重要な意味をもつ。

我々の結果では、1日目、7日目、14日目、28日目の全ての時点でSVRとNRの間のHCVコア抗原量には有意差が観察された。従って、IRM法によるコア抗原量の違いによってSVRは治療中NRと容易に区別できる。

我々の検討ではHCV RNA消失の時期に関してはPRとSVRの間に違いは見られず、治療開始後4週でのコア抗原の1 logと2 log減少でもPRとSVRとの差を明らかにできなかった。ただ、治療開始後1日目と7日目においてSVRとPRの間にHCVコア抗原量に有意差が見られた。C型肝炎の治療に関わる臨床医にとって、PR患者はSVRへの可能性を最大限にするために72週までの治療をすべきとされているため、我々の見いだした第1相と第2相におけるIRM法によるコア抗原量の違いはSVRとPRを見分けるために非常に役立つと思われる。これらの結果より、PEG-IFN/RBV治療中の第1相、第2相および治療開始4週後においてIRM法により検出されたHCVコア抗原を用いた早期ウイルス動態がSVRとNRだけでなく、SVRとPRの治療結果を予測しえることを示した。我々の研究では患者数が少ないため、IRM法の有用性を確認するためには、もっと多数の患者によるコホート研究が必要である。また、早期ウイルス動態

だけでなくISDRやIRRDRなどのNS5A領域のアミノ酸変異など他の因子とも組み合わせた検討も必要である。

結論として、このIRM法によるHCVコア抗原測定法は早期ウィルス動態をモニターする上で役立ち、ジェノタイプ1b型高ウィルス量の慢性C型肝炎患者におけるPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果を予測するために有用であると考えた。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	乙 第 2090号	氏 名	笹瀬 典子
論文題目 Title of Dissertation	<p>Usefulness of a New Immunoradiometric Assay of HCV Core Antigen to Predict Virological Response during PEG-IFN/RBV Combination Therapy for Chronic Hepatitis with High Viral Load of Serum HCV RNA Genotype 1b</p> <p>ジェノタイプ1b型高ウィルス量のC型慢性肝炎患者のPEG-IFN/RBV治療によるウィルス学的反応の予測におけるHCVコア抗原測定法の有用性</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 平井 みどり Chief Examiner 副 査 川端 聖人 Vice-examiner 副 査 西尾 久英 Vice-examiner</p>		

（要旨は1,000字～2,000字程度）

【背景】

難治性のジェノタイプ1b型高ウィルス量C型慢性肝炎の治療は48週間のペグインターフェロンとリバビリン併用療法（PEG-IFN/RBV）が標準治療となっている。しかし、この治療法を施行しても治療終了後6ヶ月時点でウィルスが検出されない持続的ウィルス陰性化（sustained virological response：SVR）を達成するのは約50%である。従って、治療前もしくは治療中に治療効果を予測することは、経済的にも、重篤な副作用への対処、治療中止の判断などにおいても重要である。

予測因子に関しては宿主因子とウィルス側因子があげられる。さらに、治療中の因子として治療開始早期のウィルス動態も重要であると報告されている。

RT-PCR法を用いたHCV RNA定量法による早期のウィルス動態を用いた治療効果予測に関する研究が報告されているが、高価であるため頻回の検査は難しく、標準的ではない。

最近EIA法を改良した新しい免疫放射定量測定法（IRM法）に基づいたHCVコア抗原の検出法（栄研）が開発され、そのコストはRT-PCR法の3分の1であるため、経済的観点からもIFN治療中のウィルス量のモニターに利用できる選択肢である。

【方法・結果】

ジェノタイプ1b型高ウィルス量のC型慢性肝炎患者でペグインターフェロン α -2bとリバビリン48週間の併用療法を受けた39人で検討を行った。RT-PCR定量でのHCV RNA量（KIU/ml）とIRM法でのHCVコア抗原量（fmol/l）との間に相関がみられた（ $R^2=0.648$ ）。ウィルス量はIRM法によるHCVコア抗原量を指標として用い、治療開始時および開始後1、7、14、28日に測定した。

対象の39人のうち、18人はSVR（SVR群）、11人は治療終了時にHCV RNAが検出されなかったが、治療中止後24週で再陽性となったpartial response（PR群）、10人は治療中を通じてHCV RNAが検出されたno response（NR群）であった。申請者の検討では、HCV RNAの消失時期に関してはPR群とSVR群間で有意差は見られなかった。HCVコア抗原量は、治療開始後1日と7日目でSVR群とPR群間に有意差があり、NR群とSVR群とでは全ての測定したポイントで有意差があった。PR群とNR群間には治療開始後7日と14日と28日目で有意差があった。

治療開始後4週で、コア抗原量の1log減少が見られたのは、NR群で20%（2/10）、PR群で91%（10/11）、SVR群で88.9%（16/18）であり、2log減少が見られたのは、NR群で0%（0/10）、PR群で63.6%（7/11）、SVR群で55.6%（10/18）であった。治療開始後4週での1log減少と2log減少はPR群とSVR群で有意差はなかった。

【考察】

IFN治療によりウィルス量は、通常24-48時間以内の第1相、2週間位までの第2相の2相性に減少し、第1相でのウィルス量の減少は第2相に影響を及ぼすと考えられている。それゆえ、IFN治療開始後24-48時間以内のウィルス量の減少は、抗ウィルス効果評価において重要な意味をもつ。申請者の結果では、1、7、14、28日目の全ての時点でSVRとNRの間のHCVコア抗原量には有意差が観察された。従って、IRM法によるコア抗原量の違いによってSVRは治療中NRと容易に区別できる。

申請者の検討では、治療開始後1日目と7日目においてSVRとPRの間にHCVコア抗原量に有意差が見られた。C型肝炎の治療に関わる臨床医にとって、PR患者はSVRへの可能性を最大限にするために72週までの治療をすべきとされているため、申請者の見いだした第1相と第2相におけるIRM法によるコア抗原量の違いはSVRとPRを見分けるために役立つと思われる。

これらの結果より、PEG-IFN/RBV治療中の第1相、第2相および治療開始4週後においてIRM法により検出されたHCVコア抗原を用いた早期ウィルス動態がSVRとNRだ

けでなく、SVR と PR の治療結果を予測しえることを示した。

本研究は、難治性 C 型慢性肝炎の標準治療である 48 週間のペグインターフェロンとリバビリン併用療法の効果予測に、従来行われてきた RT-PCR 法に匹敵する感度を示すにもかかわらず、はるかに安価にウィルス量の検出が可能な HCV コア抗原の免疫放射定量測定法（IRM 法）の有用性を示したものである。申請者らの抗ウィルス効果予測は、ジェノタイプ 1b 型高ウィルス量 C 型慢性肝炎の治療における重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。