

主論文の要旨

**Substitutions in interferon sensitivity  
determining region and hepatocarcinogenesis  
after hepatitis C virus eradication**

C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療後の  
SVR患者における、インターフェロン感受性決定領域の  
アミノ酸変異と肝細胞癌発生との関連

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
病態内科学講座 消化器内科学分野

(指導：廣岡 芳樹 准教授)

安田 諭

## 【緒言】

C型肝炎ウイルス(HCV)は、持続感染により慢性肝炎から肝硬変を来し、肝細胞癌(HCC)発生の原因となりうる。インターフェロン(IFN)をベースとした抗ウイルス治療は炎症、肝硬変への進展、肝細胞癌の発生を抑制することが知られている。しかし、抗ウイルス治療によりウイルスが陰性化(sustained virological response; SVR)した後も発癌する可能性があり経過観察が必要である。

HCV ゲノムは構造タンパク質(コアタンパク質、E1、E2、p7)と非構造タンパク質(NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B)が形成されるポリプロテインをコードしている。それらのタンパク質のうち、コアタンパク質、NS3、NS5A、NS5Bは発癌との関連が報告されている。なかでも慢性C型肝炎患者においてNS5A領域内にあるインターフェロン感受性決定領域(interferon sensitivity determining region; ISDR)におけるアミノ酸変異は、IFN治療に対する反応性と関連するのみならず肝細胞癌発生との関連も示唆されている。

SVR後の患者においても様々な発癌に関する因子の報告を認めるが、ISDRのアミノ酸変異とSVR後の肝細胞癌発生の関連は現在の所不明であり、今回この領域とSVR後発癌の関連について検討を行った。

## 【材料と方法】

慢性C型肝炎に対してIFNをベースとした治療を行った1586例の患者のうち以下の除外項目を満たさない475例を対象とした。本研究は本学生命倫理委員会の承認後、同意を得られた患者を対象とした(2016-0148)。

除外項目としては、(1)IFN治療前に発癌を認める。(2)HBs抗原陽性である。(3)自己免疫性肝疾患、代謝性肝疾患を認める。(4)経過観察期間が1年未満である。(5)治療前にウイルス解析を行っていない、とした。

SVRはIFN投与終了後6か月後まで持続的にウイルスが陰性であることと定義した。SVR後の経過観察はAFP、PIVKA-IIなどの腫瘍マーカー、および腹部超音波検査やCTなどの画像検査を半年毎に行い、HCCの存在診断を行った。肝線維化の評価は、肝生検が可能であった69.9%の症例はMETAVIRスコアで判定した。肝生検を行えなかった症例はaspartate transaminase (AST) to platelet ratio index (APRI)を使用し、APRI1.5以上を線維化進展例とした。

ISDRの塩基配列はダイレクトシーケンス法を用いて決定した。コンセンサスシーケンスは、遺伝子型1bでHCV-J、2aでHC-J6、2bでHC-J8、3aでNZL1と定義し、ISDRは各遺伝子型のコンセンサスシーケンスと比較してアミノ酸変異数をカウントした。

## 【結果】

SVR後のフォローアップ率は5年で82.5%、10年で62.3%であった(figure 1)。観察期間中央値は6.1年であり、19例(4.0%)の発癌症例を認めた。累積発癌率は5年で

2.1%、10年で15.9%であった(figure 2)。

男性、高齢者、alanine aminotransferase (ALT) 高値、 $\gamma$ -glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GTP) 高値、血小板低値、血糖高値例に発癌が有意に多かった。線維化進展例(F3、F4)の割合は、発癌例で42.1%(8/19)と非発癌例の12.2%(56/456)と比較して有意に多かった。また、ISDR 変異数3個以上の症例は、発癌例では57.9%(11/19)とISDR 変異数3個未満(108/456)の23.7%と比較して有意に多かった (table 1)。

SVR 後の発癌に関連する因子を多変量解析にて検討すると、年齢60歳以上[ハザード比(HR), 3.23; 95% 信頼区間(CI), 1.269–8.203;  $P=0.014$ ]、 $\gamma$ -GTP 50IU/L 以上(HR, 8.42; 95%CI, 2.755–25.710;  $P<0.001$ )、及び ISDR 変異数3個以上(HR, 3.24; 95%CI, 1.246–8.440;  $P=0.016$ ) が独立した因子として選択された (table 2)。

遺伝子型 1b の症例 307 例(64.6%)においてのみ検討を行うと、多変量解析で  $\gamma$ -GTP 50IU/L 以上(HR, 7.26; 95% CI, 2.354-22.392  $P=0.001$ ) と血小板 15 万/mm<sup>3</sup> 未満(HR, 3.80; 95%CI, 1.274-11.349  $P=0.017$ ) のみ有意差を認めた。ISDR 変異数3個以上は単変量解析では有意差を認めるものの、多変量解析では有意差を認めなかった (table 3)。

全症例における多変量解析で独立した因子であった年齢、 $\gamma$ -GTP、ISDR を用いた累積発癌率を figure 3 に示す。ISDR 変異数3個以上の群で5年発癌率5.9%、10年発癌率22.8%、ISDR 変異数3未満の群で5年発癌率0.8%、10年発癌率12.7%と有意差を認め ( $P=0.001$ )、年齢 (60歳、 $P=0.025$ )、 $\gamma$ -GTP (50IU/L、 $P<0.001$ )についても有意差を認めた。

ISDR 別の患者背景を比較すると、ISDR 変異数3個以上の群は男性、線維化進展例、ALT 高値例、 $\gamma$ -GTP 高値例、血小板低値例、低ウイルス量症例が多い傾向にあり、その他の因子は有意差を認めなかった(table 4)。

## 【考察】

C 型肝炎ウイルスが IFN により陰性化した後でも発癌する症例は実際に存在するにも関わらず、本検討ではフォローアップ率は経年的に低下していることが明らかになった。受診中断した症例から発癌する可能性もあることから、SVR 後の発癌リスク因子を決定し適切な肝細胞癌のサーベイランスの方法や間隔を決定することは重要であると考え、本検討を行った。

ISDR は HCV の遺伝子型 1a、1b、2a、2b などで IFN 感受性と関連し、一方で ISDR 変異数3個以上であることは遺伝子型 1b の慢性 C 型肝炎患者において発癌と関連することが報告されている。つまり、ISDR は IFN 感受性のみならず発癌とも関連する可能性があるが、SVR 後の患者における ISDR と発癌の関連は報告がない。本研究では多変量解析において、 $\gamma$ -GTP、年齢とともに ISDR 変異数3個以上であることは SVR 後の発癌と関連することが見いだされた。遺伝子型 1b の症例のみでは、ISDR は単変量解析で発癌と関連したものの、多変量解析では関連は認めなかった。遺伝子型 1b の症例のみにおける ISDR を含む各因子と SVR 後の発癌に関する既報では、ISDR

と発癌の関連は指摘されておらず、本検討も遺伝子型 1b のみでは同様であった。

NS5A 領域の変異が肝発癌に直接関連するメカニズムはまだ証明されていないが、基礎研究においては Protein kinase R (PKR) 経路を介した NS5A 領域の発癌への関連が示されている。NS5A 領域は PKR に PKR-binding domain (PKR-bd) を介して結合し、PKR 機能を阻害する。PKR-bd 内部に存在する ISDR のアミノ酸変異が存在すると、この PKR への結合がみられなくなり PKR が活性化する。PKR は細胞増殖に関連する p38 MAPK や NF- $\kappa$ B を介して発癌に影響し、Erk1/2 や JNK1 を介して肝細胞癌の細胞増殖につながる c-Fos、c-Jun 活性を増加する。これらから、ISDR の変異が存在すると、HCV は PKR への結合が低下し PKR 機能が抑制できず、活性化した PKR から発癌が促進される可能性がある。

しかし、ISDR 変異が存在する症例では、線維化進展例や血小板低値例などの IFN が効きにくい症例も ISDR 変異の影響で IFN が効きやすく SVR を得やすい可能性があり、ISDR 変異のある症例は肝発癌のリスクが多い状態であった可能性がある。IFN 感受性に関する因子が今回の結果につながった可能性もあるため、IFN 感受性に強く影響する因子である IL28B についても検討したが、有意な因子とはならず、多変量解析では ISDR のみが有意な因子として見いだされた。今後は、ISDR 変異の有無に関わらず高い SVR 率を達成できる direct-acting antiviral agents (DAAs) 治療例において ISDR 変異が SVR 後発癌と関係するかどうか、さらなる検討を行うことが望まれる。

#### 【結論】

ISDR のアミノ酸変異は IFN 療法における治療への反応性だけでなく、SVR 後発癌に関連する予測因子として有用である可能性が示された。治療前の ISDR 変異数 3 以上であった患者は、SVR 後も注意深くサーベイランスを行っていく必要がある。