高齢Ｃ型慢性肝炎患者に対する標準的抗ウイルス療法における治療効果減弱の要因解明と血中薬剤モニタリング法の改良

慶應義塾大学薬学部　薬物治療学
教授　齋藤英胤

（共同研究者）
慶應義塾大学医学部　消化器内科　講師　海老沼 浩利
慶應義塾大学薬学部　薬物治療学　　講師　木村 真規

はじめに

C型慢性肝炎ウイルス（HCV）感染者の多くはウイルス排除が完全に行われず、慢性肝炎に移行するものが多い。C型慢性肝炎（CHC）は、炎症の程度が強ければ早く、弱ければゆっくりと、次第に肝硬変へと進行する。肝硬変は肝発癌の危険因子であり、わが国ではHCV感染が肝細胞がんの成因の７割を占めている(1)。こうした進行を食い止める唯一根本的な方法は、抗ウイルス治療であり、1992年にインターフェロンが臨床的に使用されて以来、治療法に多くの改良がなされ、急速に治療効果が向上してきた。わが国では、当初、HCV遺伝子型1bが感染者の7割、2a型が2割、2b型が1割を占めていたが、最も感染者の多い1b型では、比較的治療効果が低い。この1b型HCVの駆除（sustained virological response; SVR）率は当初5%であったが、最近のペグインターフェロン(PEG-IFN)＋リバビリン（RVB）併用治療によって45%まで上昇した。近年の研究によりこの治療効果（SVR率）を規定する大きな因子は、HCV core遺伝子の変異(2)や、宿主のIL-28B遺伝子多型(3)であることが明らかとなった。さらに昨年承認されたテラプレビル（TPV）を加えた３者併用治療でもこれらの因子が治療効果と相関すると報告された(4)。

しかし高齢化の進んだわが国の治療で最も問題であるのは、年齢による治療効果の低下であり(5)、国民のHCV感染率のピークが遅れて招来する外国では、今後重要な問題点に発展すると予想される。そこで、われわれは、高齢者、特に女性でのSVR率低下について、propensity score（PS）matching法にて様々な交絡因子を除外して解析し、高齢、特に女性のSVR率が下がるのは本当かどうか？さらにその低下する原因因子を探ることを目的に後ろ向きのコホート研究を行った。また、RBVは溶血を起こし、貧血を生じて薬剤のアドヒアランスを低下させるため(6)、RBV血中濃度の簡便なモニタリングができないかを探索した。

方　法

調査研究

2004年から2008年の間に、HCV 1b型感染高ウイルス量（6 logcopies/mL以上）のCHC患者327名にPEG-IFN+RBV 48週間治療を行い、治療効果を検討した。SVR率を60歳以上と未満で比較検討した。これらの患者背景には、様々な交絡因子があるため、60歳以上の高齢者（n=102）と未満の非高齢者（n=102）を対象に、性別、体重、血小板（PLT）数、赤血球（RBC）数をPS法にてマッチングさせて両者のSVR率を検討した。

さらに高齢女性でSVR率が低下するかを年齢と性別で４群に分けて、PS法にてマッチングさせて比較検討した。

実験的研究

RBVの濃度を測定する方法を確立するために、種々の溶媒、pH環境下での溶解度、HPLCによる想定に及ぼす影響を検討した。ラットに空腹時、RBVをチューブにて強制的に経口投与して、その後の血中濃度をHPLCにて解析測定してモニタリングし、様々な検査値との相関を求める計画を立てた。

結　果

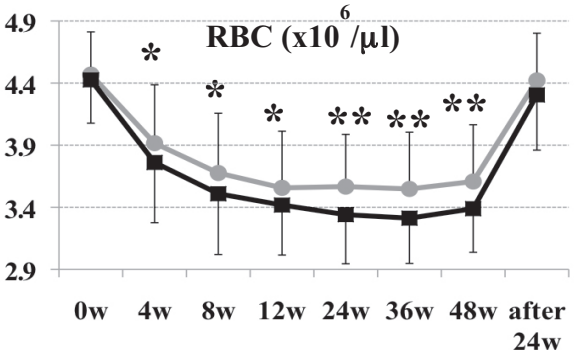
調査研究

327名のCHC患者に標準的な48週間のPEG-IFN+RBV治療を行った結果、SVR率は42.9%(161/327)であった。これは当薬剤の全国治験の成績とほぼ同じであった。このSVR率は60歳未満では54.3%、60歳以上では41.5%と年齢により低下した（P=0.0245）。さらに低年齢では治療効果が高かった。

PS法にて、性別、体重、PLT数、RBC数をマッチングさせたところ、60歳未満でのSVR率は57.8%、60歳以上では43.1%で、高齢者では有意（p=0.0497）に治療効果が低かった。

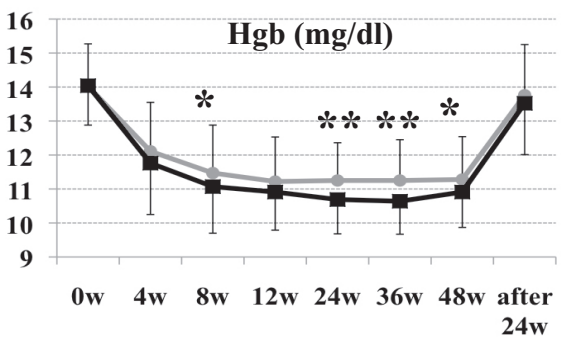
PS法にてマッチングさせたため、治療前のRBC数、ヘモグロビン値は高齢、非高齢群で全く差がなかったが、治療後、高齢者群では、非高齢者に比較して有意に低下し（図1，2）、

図1



*p<0.05, **p<0.01 by Wilcoxon test

図2



*p<0.05, **p<0.01 by Wilcoxon test

RBVのアドヒアランスが低下した。PLT数、白血球数に関しては、前値、治療後の値とも高齢者と非高齢者で差は認められなかった。すなわち、高齢者では、RBC数やヘモグロビン値が同じでも、非高齢者に比べ、RBVのアドヒアランスが低下することが治療効果を減弱させる要因であることが明らかとなった。

次に高齢男性（60歳以上)、高齢女性（60歳以上)、非高齢男性（60歳未満)、非高齢女性（60歳未満）の４群に分けて、PS法にてマッチングして高齢女性の治療効果が低いかを検討した。上記症例におけるSVR率は、非高齢男性群48.1%（99/206)、非高齢女性群49.0%（48/98)、高齢男性群38.0%（38/100)、高齢女性群29.3%（34/116)であり、高齢女性で特に治療効果の低下が認められた（Fisher’s Exact testにてp=0.0036)。

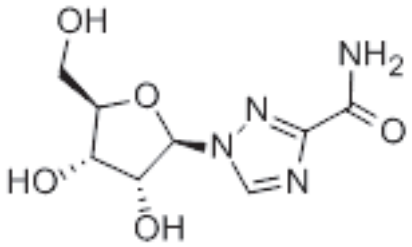
高齢女性群では、投与前因子として体重、RBC数、ヘモグロビン値、WBC数、PLT数、総コレステロール値で差が認められた。そこで血球系のdisadvantageを除外するために、すべての検査値などの得られる症例各群60例ずつを抽出してヘモグロビン値、PLT数をPS法にてマッチングし、比較検討を行った。その結果、SVR率は、非高齢男性群56.7%、非高齢女性群46.7%、高齢男性群38.0%、高齢女性群33.3%であり、高齢群では男性に比べ女性でSVR率の低下が認められたが、層別解析ではANOVA検定にてp=0.1276、Breslow Day検定ではp=0.9427と統計学的な有意差は認められなかった。

治療後の経過を見ると、高齢群で男性と女性で差がみられたのは、PEG-IFNのアドヒアランスであった。

そこで、PSのinverted probability of treatment weighted estimation（IPTW)法にてPEG-IFN/RBVの総投与量に及ぼす因子を解析した。その結果、性別、年齢ともPEG-IFN/RBV総投与量に影響することが判明した。そこでIPTW法にてPEG-IFNとRBV総投与量を男性、女性で比較検討した。その結果、60歳以上の女性では、男性に比較してIPTW法補正前後で、PEG-IFNの総投与量（p=0.1823 > 0.0719)、RBVの総投与量（p=0.6791 > 0.1578）ともに差が大きくなり、とりわけ女性ではPEG-IFNの投与量の変化が大きかった。

実験的研究

RBVの化学名は、1-β-D-Ribofuranosyl-1H -1,2,4-triazole-3-carboxamideであり、図の構造式を呈している。RBVは細胞内でRTP（RBV三リン酸）に代謝され、①HCV 及びBVDV（ウシウイルス性下痢症ウイルス）由来RdRp（RNA 依存性RNA ポリメラーゼ）によるRNA へのGTP の取込みを抑制し、②HCV 由来RdRpの基質として認識されRNA に誤って取り込まれることが示されている。また、③RBVは同じRNA ウイルスであるポリオウイルスに対してゲノムのRNA に突然変異を誘導することが報告されている。これらの成績から、RBVはHCV のゲノムに突然変異を誘導し、ゲノムを不安定にすることにより抗ウイルス作用を示すと考えられた。



RBVは、血漿からヌクレオシドトランスポータを経由して別の細胞系列中に速やかに吸収され、そこで種々のキナーゼによって、それぞれ5'-一リン酸、5'-二リン酸、そして最終的に5'-RTPへ変換される。このリン酸化反応カスケードは、有核細胞中では可逆であるが、細胞分裂に必要なホスホリラーゼを欠いている赤血球など無核細胞中では不可逆となり、RBVは赤血球内に蓄積され、溶血性貧血の原因となる。

今回高齢者でのRBVアドヒアレンスの低下が女性の治療効果減弱の一つの誘因と考えられ、RBC中や血漿中のRBV濃度が簡便に測定できることは臨床的な有用性が高いと考えられた。

われわれの検討では、RBV 1gは蒸留水8mLに容易に溶解でき、RBVは水に容易に溶解できると考えられた。また、胃内での溶解について考察する意味でpH 2での溶解をみたが、これも容易に溶解した。現状では、RBVの定量は液体クロマトグラフィーHPLCを使用しないと測定できない。また、赤血球中の濃度を赤血球の比色などを応用して測定できないか調べたが、今回の検討では現状、溶血後、HPLCによる定量を行う他なく、現状の測定法を凌ぐ方法は見いだすことができなかった。

考　察

われわれは、CHCに対するPEG-IFN+RBV治療における治療効果を、簡単な臨床検査値の幾つかで予測する試みをし[7]、また、Artificial neural network systemにても予測できることを報告してきた[8]。しかし、これらの予測は、高齢者、特に高齢女性では予測値が大きくずれることに気づいた。すなわち、高齢女性では、予測されるよりも有効性が低くなることが多々認められた。今回、高齢者で実際にSVR率が低下するのかを交絡因子を排除するためにPS法を用いて、高齢者（60歳以上）と非高齢者（60歳未満）で比較検討したところ、高齢者では、有意に治療効果が減弱することがわかった[9]。この要因として、治療前値（ヘモグロビン値）が同じであっても、治療開始後に溶血性貧血を起こしやすく、高齢になるとRBVのアドヒアランスが低下することが考えられた。

同様に、国内外の多くの報告では、高齢者の治療効果が減弱するとされている。一方、HCV感染にてウイルスが自然にクリアーされる率は、女性で有意に高いとの報告がある[10]。閉経が早く起こるとSVR率は下がるとの報告があるように[11]、女性ホルモンの影響で、抗ウイルス作用に違いがあることが考えられる。Sinnらは[12]、高齢でSVR率が下がることはなく、線維化の進んだ症例での低下が問題としており、副作用の出現により治療を断念するケースが高齢に多いからと報告している。

高齢でも、男女差があることに関しての議論について、Sezakiらは[13]上記と同様に、50歳以上の高齢者では、女性の治癒率が減弱しており、これはコンプライアンスの影響ではなく、女性ホルモンが低下したことによるのではないかとしている。しかし、これだけでは、男女間の違いについて説明が不十分である。われわれの今回の検討では、高齢者では、非高齢者に比べて溶血が起こりやすいことがわかったが、男女間の差については、明らかな有意

差は認められなかった。すなわち、Nishikawaらの言うように[14]、男女間の差よりも治療後の早期のウイルス排除が最も大きな因子であることが考えられ、その差は、今回の結果を考えると、女性における早期のPEG-IFNの減量が影響している可能性が考えられる。すなわち、女性は男性よりもIFNに対して不耐であることが大きな原因ではないかと思われる。この成績に関しては、現在投稿準備中である。

われわれは、RBCに取り込まれたRBVのために、血漿中のRBV量が見かけ上、低下することを報告したが[6]、治療直後の状況では、RBV血中濃度がなかなか上昇しない症例では、RBCがリザーバーとして働き、治療効果を減弱する一つの要因と考えられる。今回、高齢者では溶血が起こりやすいとの成績が出たが、高齢者では細胞膜の脆弱性が生じてくるのではないかと考察するが、この問題はさらにin vitroで検討する必要がある。そのためにもRBVやそのリン酸化体の簡易な定量法ができれば便利だと考えており、今後さらに測定法の検討を加えていかなければならない。

要　約

C型慢性肝炎患者の中で、高齢女性はペグインターフェロン＋リバビリン標準治療に対して、ウイルス排除率が低下することを検証した。Propensity score法を用いて交絡因子を排除しながら、高齢女性の治療効果（SVR率）を検討した結果、高齢男性との間に有意な差は認められなかった。

一方、高齢者は非高齢者に比較して治療効果が減弱したが、この原因として、高齢者ではRBVによる溶血が起こりやすいことが考えられた。また加えて、女性では、治療早期のIFNのアドヒアランスが男性に比べて悪いことが判明し、これが高齢女性でのSVR率低下の要因ではないかと考察した。

文　献

1. Kiyosawa K, Uemura T, Ichijo T, et al. Hepatocellular carcinoma: recent trends in Japan. Gastroenterology 2004;127(Suppl 1):S17-26.
2. Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, et al. Association of Amino Acid Substitution Pattern in Core Protein of Hepatitis C Virus Genotype 1b High Viral Load and Non-Virological Response to Interferon-Ribavirin Combination Therapy. Intervirology 2005;48:372-80.
3. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. Nat Genet 2009;41:1105-09.
4. Tanaka Y, Nishida N, Hirakawa M, et al. Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin. Hepatology 2010;52:421-9.

5. Antonucci G, Longo MA, Angeletti C, et al. The effect of age on response to therapy with peginterferon alpha plus ribavirin in a cohort of patients with chronic HCV hepatitis including subjects older than 65 yr. Am J Gastroenterol102:1383-91.
6. Saito H, Tada S, Ebinuma H, et al. Role of erythrocytes as a reservoir for ribavirin and relationship with adverse reactions in the early phase of interferon combination therapy for chronic hepatitis C virus infections. J Clin Microbiol 2006;44:3562-8.
7. Saito H, Ebinuma H, Ojiro K, et al. On-treatment predictions of success in peg-interferon/ ribavirin treatment using a novel formula. World J Gastroenterol 2010;16:89-97.
8. Takayama T, Ebinuma H, Tada, S, et al. Prediction of effect of pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C infection. PLos One 2011;6:e27223.
9. Ebinuma H, Saito H, Tada S, et al. Disadvantages of peginterferon and ribavirin treatment in older patients with chronic hepatitis C: an analysis using propensity score. Liver Int 2012; in press
10. Bakr I, Rekacewicz C, El Hosselny M, et al. Higher clearance of hepatitis C virus infection in femalescompared with male. Gut 2006;55:1183-7.
11. Villa E, Karampatou A, Camma G, et al. Early menopause is associated with lack of response to antiviral therapy in women with chronic hepatitis C. Gastroenterology 2011;140:818-29.
12. Sinn D-H, Shin S-R, Kil J-S, et al. Efficacy of peg-interferon-α2b lus ribavirin for patients aged 60 years and older with chronic hepatitis C in Korea. J Gastroenterol Hepatol 2011;26:469-76.
13. Sezaki H, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Poor response to pegylated interferon and ribavirin in older women infected with hepatitis C cirus of genotype 1b in high viral loads. Dig Dis Sci 2009;54:1317-24.
14. Nishikawa H, Iguchi E, Koshikawa Y, et al. The effect of pegylated interferon-alpha2band ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C infection in elderly patients. BMC Res Notes 2012;5:135.