



XIII. 肝炎ウイルス研究のこれまでと今後の展開

すぎ やま まさ や みぞ かみ まさ し
 杉 山 真 也 : 溝 上 雅 史
 Masaya SUGIYAMA Masashi MIZOKAMI

はじめに

ヒポクラテス全集の第二巻には、黄疸という症状を記した項目があり、古来より黄疸という症状が疾患として認識されていた。これは肝炎を記したものと推定される(図1)。その後、黄疸に関しては、20世紀の初頭に至るまでに著名な医学研究者らが記述しており、現在での急性肝炎や劇症肝炎に当たるものを黄疸の分類という形で行われてきた。当然ながら、この中には、A～E型肝炎ウイルス等を原因とする様々なウイルス性肝炎が含まれていたと考えられる。当時は、慢性肝炎、肝硬変、肝癌に進展するのに数十年を要するため、肝炎関連死よりも寿命が先に尽きる時代であったため、大きな問題としては認識されなかったと考えられる。

一方で、Edward Jennerの天然痘ワクチンから始

まったワクチン研究が19世紀に入り本格化し、ワクチンが予防医学として重要な位置を占め、人々を感染症から守ってきた。一方で、その負の側面として、血液由来成分を原料にしたワクチン注射は、黄疸を拡散させることとなった。中でも第2次世界大戦では、医療行為によって大量の黄疸患者が生まれ、軍人が頻繁に戦線を離脱した。感染予防のための滅菌技術やディスポーザブル製品という概念は、つい最近のものであり、かつては汚染された医療器具や不衛生な飲食物の摂食で各種肝炎を罹患していた。こうした国家として無視できない状況が生まれたため、黄疸に対する本格的な研究が各国でスタートすることになった。

本稿では、ウイルス性肝炎で重要な位置を占めるB型肝炎とC型肝炎を取り上げて、これまでの研究の経緯と今後について概説することにする。図2では、PubMedでhepatitis Bもしくはhepatitis Cで検索した結果を示した。いずれも現在までに右肩上がりであり、引き続き、活発な研究が進められている分野である。

I. B型肝炎

B型肝炎に関して、Baruch Samuel Blumberg博士は最も重要な人物である。彼は、1976年にノーベル医学生理学賞「感染症の起源及び伝播の新たな機構に関する発見」を受賞した(図1)。Blumberg博士は、B型肝炎ウイルス(Hepatitis B Virus: HBV)の抗原として、オーストラリア抗原を発見し、輸血後肝炎の発見と予防に貢献した。彼の発見以前から、黄疸は感染症であることが推測されており、多数の

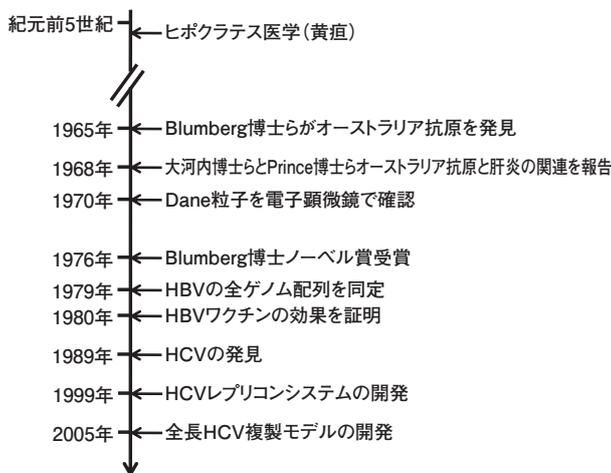


図1 HBV、HCV 肝炎研究の歴史

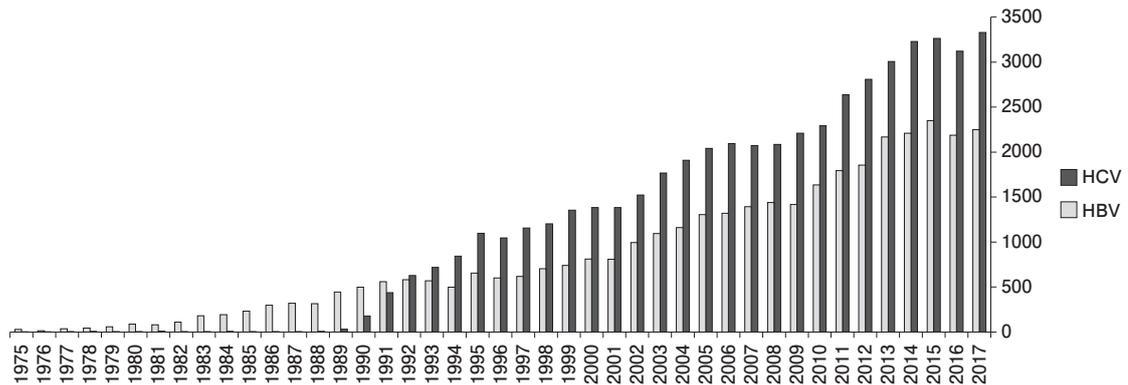


図2 PubMedでのヒット数
Hepatitis BもしくはHepatitis Cで検索 (2017年11月末時点)

ウイルスハンターが同定を試みたが失敗に終わっていた。Blumberg博士は、いくつもの研究室を歩き歩く中で、人類学、遺伝学、疫学の知識を持っていた。当時、彼は血清型の研究を進めており、ベータリポ蛋白質をターゲットとしていたが、その過程で、ベータリポ蛋白質が示す沈降線よりもより鋭利な沈降線が生じることを確認した。そのサンプルが、オーストラリア原住民のアボリジニー由来であったために、その抗原をオーストラリア抗原と命名した。Blumberg博士は、世界各国の様々な人種の血清を用いて確認を行ったところ、その分布に地域差があることがわかった。オーストラリアを含めたアジアや地中海沿岸では検出される割合が高いが、アメリカではその頻度が低かった。このことは、現在のB型肝炎の世界分布と類似している。アメリカ国内での検討は、急性白血病を罹患した人で高い割合(25%)で検出されたことから、オーストラリア抗原に関する第一報では“A New Antigen in Leukemia Sera”として1965年に発表している¹⁾。

一方、日本の大河内らは、オーストラリア抗原の報告を受けて、サンプル収集と実験の速さを活かし、1968年に輸血後肝炎とオーストラリア抗原の関連について先んじて報告した²⁾。同時期にニューヨーク血液銀行のPrinceらも、施設のメリットを生かして、肝炎とオーストラリア抗原の関連を示す結果を報告した³⁾。大河内らは、経過観察をしていくうちに輸血後肝炎とオーストラリア抗原の関連に確信をもち、同年に輸血前のオーストラリア抗原のスクリーニングを行うことを決定した。これがおそらく世界で一番早いHBVのスクリーニングである。

Blumberg博士により発見されたオーストラリア抗原によりB型肝炎研究は一気に加速した。1970年には電子顕微鏡によるHBV粒子の撮影に成功した⁴⁾。その後、1979年にはHBVの全ゲノム配列が決定された^{5,6)}。その翌年、ハイリスク群に対する検討で、ワクチンの効果が実証された⁷⁾。

II. HBV 遺伝子型

HBVのゲノム配列が決定され、そのゲノムサイズは約3kbと小さいことが明らかとなった。しかしながら、ゲノム複製の過程で逆転写の過程を有するため他のDNAウイルスよりも変異が入りやすく、ゲノム配列にはバリエーションが存在することも知られることとなった。HBVの感染経路は母子感染が主体であるために、同じ系統のウイルスが、同一家族、同一地域で代々受け継がれていく。そのため、HBVの遺伝子配列には、ある程度の地域特異性がある。われわれは、国立遺伝学研究所の五條堀孝らと共同で、HBVゲノムの進化的解析を行った。筆者らは、HBVゲノム配列と変異の速度を計算し、それを利用した進化的な解析(分子系統学)を行うことで、各地域のHBVゲノム配列が、それぞれにクラスターを形成することを報告した^{8,9)}。この2000年前後の時期は、同様の分子系統解析の論文が複数報告された。遺伝子型は、系統樹で一定の基準を満たしたクラスターで定義された。筆者を含めた専門家会議が適宜開催され、遺伝子型の分類や標記等について、国際会議で決定された。この時期は、遺伝子型研究の黎明期であったといえる。

Ⅲ. HBV 遺伝子型と臨床的意義

現在、HBV 遺伝子型は、アルファベット標記で A から J 型までの 10 個に分類されており (図 3)、さらに数字を用いた標記を加えた亜型 (subgenotypes) へと細分化されている (A1、A2 等)。前述のように、ウイルスを分子系統解析で遺伝子型に分類すると地域特異性が明らかとなるが、筆者らは、遺伝子型の分類には臨床的意義が伴うことが望ましいと考えていた。つまり、遺伝子型を調べることで予後を予測できる、もしくは治療反応性が予測できることが意義ある分類であると考えた。

例えば、インターフェロン治療の反応性では、HBV/A よりも D が抵抗性であり¹⁰⁾、HBV/B よりも C が抵抗性であるといった報告が有名である¹¹⁾。また、予後については、われわれの報告では、B1、B2、C の順に発がんリスクが高いことを明らかとした¹²⁾。

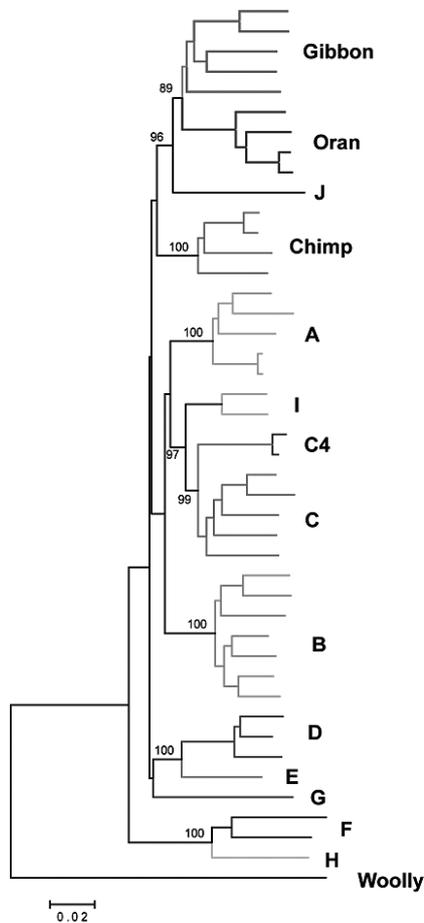


図 3 HBV ゲノムを用いた分子系統解析と遺伝子型

Ⅳ. 最近の B 型急性肝炎と遺伝子型

近年、B 型急性肝炎に以前の知見とは異なる事象が観察されている。以前、われわれの研究班で、献血者や DPC データから国内の B 型急性肝炎の発生を推定したところ、年間約 8000 例の新規発症があると考えられた。これは、そのほとんどが成人の水平感染によって新規感染が生じていると推定された。また、その遺伝子型が、日本に多い HBV/C ではなく、欧米に多く観察される HBV/A であったことから、新たな問題点として浮上してきた¹³⁾。

従来の成人での急性肝炎は一過性の肝炎で収束し、慢性化することは珍しく、急性肝炎全体の 1% 前後であると考えられていた。しかしながら、近年、国内で観察される HBV/A 感染では、急性肝炎後の遷延化が認められ、肝炎が 6 ヶ月以上続くことが珍しくない。HBV/A の水平感染者では、約 10% が慢性肝炎と考えられる病態となっており、従来の肝炎像とは異なる様相を呈している。

ここで興味深いのは、欧米と日本の肝臓病に関する教科書の記載の違いである。欧米の教科書では、B 型肝炎は約 10% が慢性化すると古くから記載されているが、日本では約 1% が慢性化するという記載である。この違いを疑問に思っていた研究者は少なからずいたかと思う。日本国内に欧米型の HBV/A が多数流入したことで、この違いが遺伝子型の違いによるものであったと考えられた。

Ⅴ. HB ワクチン

HBV 感染が母子感染に由来することが明らかであったため、1986 年に母子感染予防対策事業が始まった。HBe 抗原陽性の母から生まれる新生児は、出産時に HBV 感染する可能性が高いため、HBIG 投与と HB ワクチン接種という予防対策を施している。この政策は、現在においても十分な機能を果たしている。一方で、近年の水平感染の増加が、大きな問題として認識されるようになり、HB ワクチンの定期接種化へと移行することとなった。前述のような、水平感染の拡大は、日本がユニバーサルワクチン政策を取っていなかったことにその一因があるが、本邦では、2016 年 10 月から新生児はユニバー

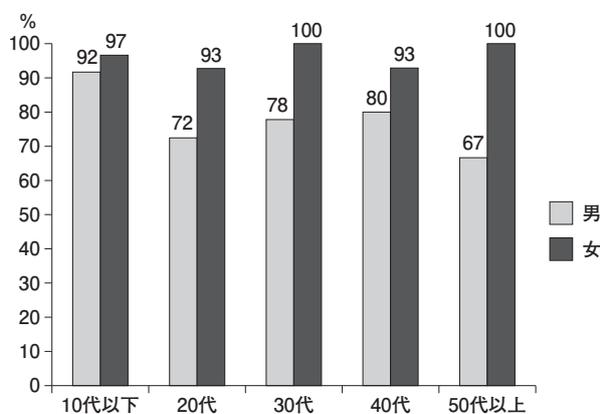
サルワクチンとなった。英国でも 2017 年 8 月からユニバーサルワクチンが始まり、これで先進国の全てがユニバーサルワクチンを実施することとなった。

VI. B 型肝炎研究の今後

ワクチン政策については、現在進められているユニバーサルワクチン政策の有効性を、長期にわたって観察することが極めて重要である。一方で、定期接種の対象となっていない世代が現在は大多数である。そのため、ほとんどの国民は、まだ現在も HBV 感染が容易に成立しうる状態にある。この未防御の集団をいかにするか、今後対策が必要な部分である。

HB ワクチンへの応答性は、10%前後のヒトでは認められず(図4)、また、抗体獲得が成功しても抗体価が十分に上昇しないヒトが散見される。抗原に対する反応性には、個人差が大きく、現在の HB ワクチン製剤では、感染予防に十分な効果が得られないヒトがいる。今後の課題としては、HB ワクチン製剤の改良、または製剤数の増加による選択肢の拡大を行うことで、個人に合わせた形でのワクチン選択を行い、効果の最大化を狙えることが望ましい。その指標としては、個人のゲノム配列が適している。現在のわれわれの研究では、HLA 型がワクチンの応答性に関連していることを突き止めており、個人に合わせた製剤選択が出来る時代が近く訪れるだろう。

B 型肝炎の新規治療法の開発は、患者の期待がか



奥瀬千見ほか、肝臓、2011; 52(2): 87-93.

図4 HB ワクチン接種による世代、性別間の抗体獲得率

かっている分野である。現行の核酸アナログ製剤は優秀で、ウイルス複製を適切に抑制するが、一旦感染した HBV は、一生排除されることがない。そのため、患者が安心して一生を過ごせる状態となるような、新しい視点に立った薬剤開発が求められている。現在、その研究(B型肝炎創薬実用化等研究事業)は二期目に入っており、幾つかの有望な薬剤が生まれることが期待される。

VII. C 型肝炎

C型肝炎ウイルス(HCV)は、1989年に Houghton らが HCV に感染したチンパンジーの血液から HCV の遺伝子断片を発見したところから始まった^{14,15)}(図1)。それ以前は、非 A 非 B 型肝炎として認識されており、感染症であることは予想されていたが、誰もその原因ウイルスを突き止めることはできなかった。このウイルス断片を発見したチームは、「偶然にも」HBV を発見した Blumberg 博士の弟子たちである。

HCV 感染者は日本で約 200 万人、世界中で 1 億 7000 万人にのぼるとされ、その多くが 10-30 年という長期間を経て慢性肝炎から肝硬変へと進行し、高率に肝細胞癌を発症する。現在の先進国においては、HCV 汚染された血液は、高感度なスクリーニング系の導入により排除されるため、輸血による新規感染はほぼゼロとなった。医療器具の使い捨て利用が一般化した現在では、医療行為による感染もほぼゼロである。一方で、ハイリスク行為(違法薬物注射、出血を伴うような性行為等)実施者らの間では、新規感染が生じている。

VIII. HCV 研究の経緯

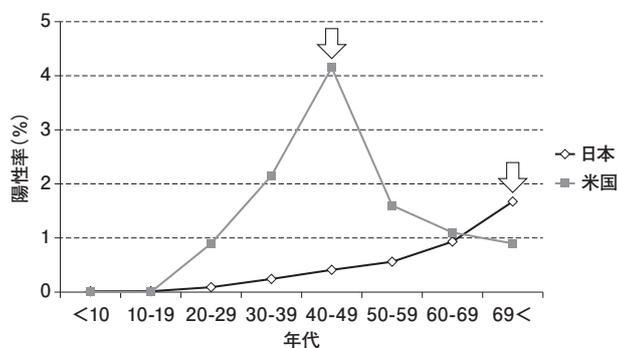
HCV の複製を細胞や動物で再現することは困難を極めた。ウイルス学者らのこれまでの知見を集めても、容易に複製モデルを確立できずに基礎研究や薬剤開発が進まない状態があった。そのような中で、1999 年に Lohmann らは、培養細胞で自律的に複製する HCV システムを発表した¹⁶⁾。これは、レプリコンと呼ばれるもので、ウイルスの構造領域の遺伝子を除いたものであった。その後、2005 年に Wakita らが、劇症肝炎患者から単離された JFH-1 株を利用

することで、細胞で自律的に全複製経路を再現することに成功した¹⁷⁾。その結果、急速に薬剤開発研究が進み、現在では90%以上の患者でHCVを完全排除するに至っている(後述)。

IX. C型肝炎の病態

各種議論はあるが、HCVそのものには発がん性があるとは考えられていない。HCV感染の結果、各種代謝異常や炎症の持続によるゲノム異常が積み重なることで、肝線維化から肝硬変に至り、その結果として発がんするとされている。つまり、時間軸と病態の進展にはきれいな比例関係がある疾患である。

C型肝炎患者の年齢層は、世界的にも日本は高い部類にあるが、HCVの感染率は、他の先進国と比べても特別高くない。しかしながら、C型肝炎由来の肝がん発症率が高いことがわかっている¹⁸⁾。日本でC型肝炎患者がピークを迎えていた2000年頃では、米国と日本のHCV感染率は、いずれも平均1.7%程度と同等であった(図5)。一方で、C型肝炎由来の肝がんの死亡者数は米国で約4,000人、日本では約36,000人と約9倍であった。米国の人口は日本の2倍であることから推定すると、日本は約18倍の肝がん発症率となる。この差の原因としては、患者集団の年齢の違いがもっとも関連していると考えられている。米国では40代がピークであるが、日本では60代以降が患者の中心であったことが指摘されている。その他の違いとして、人種の違い、ウイルスの違い、といったものが考えられているが、今後の米国等の動向を注視する必要がある。



Armstrong et al. Ann Intern Med 2006
Tanaka et al. Intervirology 2011より引用改変

図5 日米のHCV抗体陽性率(概算)
日本は2005年、米国は2002年時点の年齢

X. C型慢性肝炎の治療

C型慢性肝炎の治療は、インターフェロン(IFN)単独投与による治療から、PEG化したPEG-IFNとRibavirin併用療法の登場で、飛躍的な進歩を遂げた。しかしながら、遺伝子型1型で高ウイルス量を示す症例では、難治性であり、約半数はウイルス排除ができなかった。このPEG-IFNの治療効果を事前に予測できれば、患者も無駄に副作用に苦しむことなく、費用対効果も高いと考えられた。われわれは、2009年にヒトゲノムの一塩基多型(SNPs)を利用した解析を実施し、IL-28B周囲のSNPsの違いが、治療効果と関連することを報告した¹⁹⁾。同時に米国と豪州からも同じ内容が報告され、世界的にこの遺伝子の重要性が認知された。その関係もあり、このSNPsの遺伝子検査は高度先進医療として採択されるに至った。

ちょうどその頃、C型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法は、従来のIFNをベースとした治療から著しく変貌しつつあった。それは、HCV蛋白の機能を直接阻害する薬剤で、直接作用型抗ウイルス薬(Direct Acting Antivirals : DAAs)と呼ばれている。この登場によりウイルス排除率の向上と副作用の軽減が飛躍的に進んだ。DAAの紹介は他誌に譲るが、現在も新しいDAA剤の治験が進んでおり、多種多様なものが登場している。そのいずれもがウイルス排除率で90%以上を示すという驚異的なものである。従来のDAAでは、HCV遺伝子型に依存した治療効果があったが、その問題も克服されつつあり、全遺伝子型に効果を示すものが登場している。DAA治療では、IFN治療と比べて、ウイルス排除後の発がん率が高まるという報告があるが、一方で関連はないという報告もあり、混沌とした状態である。予後については、今後の研究が期待されている。

XI. C型肝炎研究の今後

このようにDAA治療全盛の時代で、完全なウイルス排除が可能な時代となったが、残された問題はまだまだ多く存在している。ここでは、主な2点を紹介することとする。その課題の1つは、非代償性肝硬変患者への対応である。前述のように高齢者が多い

日本では、非代償性肝硬変患者が大きな問題として残っている。DAA 治療期間中に肝不全が進行する可能性があり、現時点では、その際の内科的レスキューの手法が確立していないこともあり、欧米では肝移植が推奨されている。本邦においては、肝移植が現実的でないため、内科的治療が望まれている。その治験は現在進行中であり、その結果が期待される。予後に関しては、代償期の肝臓を持つ患者に対する研究結果では、ウイルス排除群と非排除群では、治療後の2年前後は発がん率に差がないことが報告されており、より発がん素地が整っている非代償性肝硬変では、その予後の管理も重要となるといえる。

もう一つは、HC ワクチンの開発である。DAA 治療によって、90%以上の確率でウイルス排除が出来る時代になったが、高額な医療費を鑑みると費用対効果は悪く、感染を予防することが一番である。HCV は一旦感染すると70%以上が持続感染となることから、体内で産生された抗体は十分な中和能を持っていないとされている。また、HCV を治療によって一度排除しても、再度別のHCV 株が感染することが知られている。これらの点は、ワクチン開発の難しさを示しているといえる。現在のところ、有望なワクチンは開発されていないが、HCV が自然排除されるヒトがいることを考えると、HCV の感染予防は可能であり、ワクチンもしくはその他の安価な方法でHCV を排除できると期待している。

文 献

- 1) Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A "New" Antigen in Leukemia Sera. *JAMA* 1965 ; 191 : 541-6.
- 2) Okochi K, Murakami S. Observations on Australia antigen in Japanese. *Vox Sang* 1968 ; 15(5) : 374-85.
- 3) Prince AM. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1968 ; 60(3) : 814-21.
- 4) Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970 ; 1(7649) : 695-8.
- 5) Galibert F, Mandart E, Fitoussi F, Tiollais P, Charnay P. Nucleotide sequence of the hepatitis B virus genome (subtype ayw) cloned in *E. coli*. *Nature* 1979 ; 281 (5733) : 646-50.
- 6) Valenzuela P, Gray P, Quiroga M, Zaldivar J, Goodman HM, Rutter WJ. Nucleotide sequence of the gene coding for the major protein of hepatitis B virus surface antigen. *Nature* 1979 ; 280 (5725) : 815-9.
- 7) Szmuness W, Stevens CE, Harley EJ, et al. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high-risk population in the United States. *N Engl J Med* 1980 ; 303(15) : 833-41.
- 8) Mizokami M, Nakano T, Orito E, et al. Hepatitis B virus genotype assignment using restriction fragment length polymorphism patterns. *FEBS Lett* 1999 ; 450(1-2) : 66-71.
- 9) Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology* 2003 ; 46(6) : 329-38.
- 10) Erhardt A, Reineke U, Blondin D, et al. Mutations of the core promoter and response to interferon treatment in chronic replicative hepatitis B. *Hepatology* 2000 ; 31(3) : 716-25.
- 11) Kao JH, Wu NH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy. *J Hepatol* 2000 ; 33(6) : 998-1002.
- 12) Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, et al. A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Japan HBV Genotype Research Group. *Hepatology* 2001 ; 33(1) : 218-23.
- 13) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsuhashi H, et al. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology* 2014 ; 59(1) : 89-97.
- 14) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989 ; 244(4902) : 359-62.
- 15) Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989 ; 244(4902) : 362-4.
- 16) Lohmann V, Korner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999 ; 285 (5424) : 110-3.
- 17) Wakita T, Pietschmann T, Kato T, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 2005 ; 11(7) : 791-6.
- 18) Yuen MF, Hou JL, Chutaputti A, Asia Pacific Working Party on Prevention of Hepatocellular C. Hepatocellular carcinoma in the Asia pacific region. *J Gastroenterol Hepatol* 2009 ; 24(3) : 346-53.
- 19) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009 ; 41(10) : 1105-9.