

〔最終講義〕

肝疾患診療のこれまで・これから

横須賀 収

(2016年8月18日受付)

はじめに

消化器・腎臓内科は旧第一内科から、腫瘍内科へ、さらに消化器・腎臓内科へと名称の変遷を経てきた教室で、私達が入局した頃には三輪清三教授が退官され、奥田邦雄教授が主宰されておられたが、大藤正雄教授、税所宏光教授に引き継がれ、その後、私が教授に就任させていただいた。

私達の教室では、最近では肝胆膵・消化管・腎臓を中心に仕事をしてきたが、私自身は肝疾患を中心に臨床・教育・研究をおこなってきたので、ここでは肝臓病疾患の「これまで」と「これから」について、教室の仕事を交えて概説してみたい。

肝疾患は主としてB型肝炎ウイルス (HBV) やC型肝炎ウイルス (HCV) 感染により、肝臓の細胞に壊死炎症が起こることにより引き起こされる。本邦の肝疾患の約6割がC型肝炎、約2割がB型肝炎、残りがアルコールや脂肪性肝疾患 (NASH, NAFLD) などにより引き起こされる。肝臓は沈黙の臓器ともいわれるように、病気が進行しないとあまり症状が出ずに気づかれないことが多く、そのまま放置すると、徐々に肝炎が進行して、肝硬変に進展し、肝がんの発生がみられる。本稿では、初めにB型肝炎、続いてC型肝炎、その他の肝炎などについて、最後に肝がんについて述べたい。

I. B型肝炎

B型肝炎ウイルス (HBV) の発見は1965年に遡り、抗原抗体反応を用いて、Blumberg博士が、HBVの表面抗原をAustralia抗原として発見したことに始まる。1970年には、DaneがB型肝炎ウイルスの本体である42nmの粒子を見出した。Dane粒子はエンベロープとコアの二重構造となっている。エンベロープは蛋白、脂質から構成され、脂質膜の一部に糖蛋白が付着している。コアはHBc抗原、ウイルス遺伝子、DNAポリメラーゼ/逆転写酵素などより成り立つ。ウイルス遺伝子 (HBV DNA) は、一部に一本鎖DNAをもつ約3,200塩基対からなる環状二本鎖DNAであり、エンベロープ蛋白をコードするpre-S/S遺伝子、コア蛋白 (HBc抗原) とHBe抗原をコードするpre-C/C遺伝子、DNAポリメラーゼ/逆転写酵素などをコードするP遺伝子、X蛋白をコードするX遺伝子の4種類のopen reading frameが存在する。

HBVは肝細胞内に取り込まれる際エンベロープが外れ、さらにコア粒子は核内へ移行する。その際DNAは閉環状完全二本鎖DNA (cccDNA) となり、これを鋳型としてRNAが合成される。このうちのプレゲノムRNAは逆転写されることによりDNAを合成し、HBVを複製する (図1) [1,2]。急性肝炎の治癒後やキャリアの回復期においては、血中にはHBs抗原や血中HBV DNAは検出されないが、肝細胞の核内にはcccDNAの形でHBV DNAが残存するので、HBVは完全に排除されたことにはならない [3]。すなわち、HBVは一度感

ど悪くないと考えられることを示してきた（投稿中）。「非活動性キャリア期」を経過した後、一部ではHBs抗原も陰性化し、「回復期」となる。HBs抗原消失率は年率1－2％とされる。この時期は、肝炎はなく肝発癌率も低いとされている。しかし、高齢者や肝硬変においてはHBs抗原消失例であっても肝発癌に対する注意が必要である。また、HBs抗原が陰性化しても肝細胞の核内にcccDNAの形でHBVは残存するので、HBVが完全に排除されたことにはならないことに注意したい。

また、高度な免疫抑制を伴う治療による「回復期」からの再活性化、すなわちDe novo肝炎が最近問題となっている。De novo肝炎の発症率は免疫抑制剤により異なり、抑制作用が強いほど起こりやすい。特に、リツキシマブなどの使用が肝炎の再活性化と有意に関連している。De novo肝炎は免疫抑制により、HBV DNA量の増加が起こり、免疫反応の増強により、増殖したHBVが免疫機構により強く認識され、激しい肝炎が起こるものである。

B型慢性肝炎の治療の目標は、HBVの完全排除が困難な現時点では、ウイルス増殖を抑制し、HBV DNA量を一定量以下に抑制することにより、B型肝炎を寛解状態に導き、肝硬変・肝不全への進展や肝癌の発生を抑制し、良好なQOLのもとでの生存期間を延長させることである。肝硬変、特に非代償性肝硬変においては、肝不全への進展を抑制するために、検出感度以上あれば抗ウイルス治療の導入が望ましいと考えられる。

本邦では1986年よりインターフェロン（IFN）療法が導入された。IFNには抗ウイルス作用のほか免疫賦活作用もあり、HBe抗原陽性慢性肝炎に対してseroconversionを目標に用いられたのが最初である。以後、4週間の短期投与が行われてきたが、投与期間が短いことから期待されたほどの効果は得られなかった。2000年からは24週間投与が保険適応となり、また週一回の注射で良いPEG-IFN α 製剤が認可され、治療成績も向上しているが、それでもseroconversion率は2－3割にすぎない。

B型肝炎の増殖経路には逆転写のステップがあることから逆転写酵素の阻害剤である核酸アナロ

日本におけるB型慢性肝炎治療の歴史

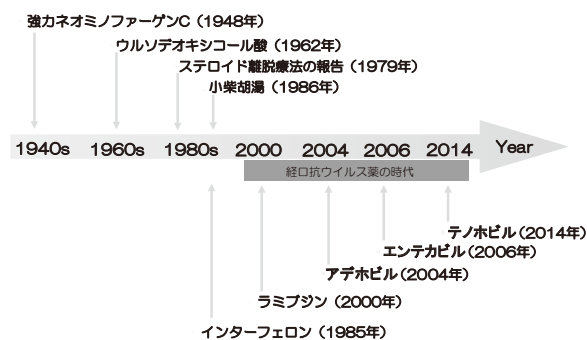


図 4

グ製剤としてはラミブジン（LAM）、アデホビル（ADV）、エンテカビル（ETV）、テノホビル（TDF）の有用性が示されてきた（図4）。

2000年からはLAMが使用可能となり、B型肝炎治療は大きく変化した。核酸アナログ製剤は投与が簡単で、比較的副作用も少なく、IFNに比べて普遍的に使用できる。しかし、LAMは耐性株出現頻度が5年で60－70%と高く、また、中止後のリバウンドの問題などがあり、さらに、一度LAM耐性株になると、他の薬剤に対しても耐性を獲得しやすくなるため、本邦では新規導入されることはあまり無くなった。

2004年からはLAM耐性株に対してADVが併用可能となった。ADVはLAM耐性株に対する交叉耐性がないため、LAM耐性株に対しても治療効果があり、LAMとADVの併用療法が推奨されている。ADVの主な副作用として腎毒性があるため、現在認可されている投与量では十分とはいえない欠点がある。

2006年からは新たな核酸アナログ製剤としてETVが認可された。ETVはLAMに比べ優れた抗ウイルス効果を示し、耐性株の出現頻度も5年で約2－3%未満と極めて低率であることから、現時点では広く用いられている[4]。

また、ETVと並んで第一選択薬に位置付けられているのがTDFである。2014年からB型肝炎に保険認可されたTDFはADVに似た構造を有しているが、腎毒性が少ないため、十分な投与量が可能であり、高い抗HBV効果が期待できる。

核酸アナログ製剤は簡便に投与でき、副作用も少ない、良い治療法であるが、長期間にわたり

投与を持続しなければいけないという問題がある。投与をやめるために、核酸アナログ投与後にIFN治療を加えるなどの工夫がなされているが、cccDNAを減少させるような新しい製剤の開発が望まれる。

II. C型肝炎

C型肝炎は当初、非A非B型肝炎として検討されてきた肝炎である。このC型肝炎ウイルス(HCV)は、肝炎の感染源と考えられる血液を濃縮して、核酸を抽出し、その核酸をウイルスベクターに組み込んで、蛋白を発現させ、発現した蛋白と患者血液とで抗原抗体反応をさせ遺伝子断片を見つけるという、遺伝子学的な手法で発見された初めてのウイルスである。HCVは約60nm, 10kbのRNAウイルスである。HCVのN端には構造タンパクが、C端寄りには非構造タンパクが位置している。その後、その遺伝子断片から作成された抗原抗体系を用いてHCV抗体の検出が可能となったが、ほぼ相前後してPCR法でウイルスのHCV RNAを高感度に検出、また定量することが可能になった[5]。

全世界には1.7億人のC型肝炎患者が、日本には約100–200万人のC型肝炎患者がいると推定されている。日本ではGenotype 1bが約7割を占め、1aは少数であり、Genotype 2aが20–25%, 2bは5–10%を占めると推定される。C型肝炎はウイルスに汚染された血液を介して感染するが、違法な薬物の回し打ちや刺青などによる血液汚染に気を付けることで感染を防ぐことができる。

我々は急性肝炎ではIFNの有用性が高いこと[6]、2型あるいは低ウイルス量の場合、IFNは有効であることを示してきた[7]。しかしながら、Genotype 1かつ高ウイルス量の症例ではIFN単独では約6%と有効率が低かった。その後、抗ウイルス剤のリバビリンを使うことで、また48週の長期治療を行うことで、約50%の著効が得られることが示されてきた。その後、ヒトのIL28B遺伝子(IFNλ関連遺伝子)の変異がこの治療法の効果に関わることが明らかとなった。また、この間、培養細胞にHCVを感染させることで、ウイルスの増殖経路が明らかになり、ウイルスの増殖に必

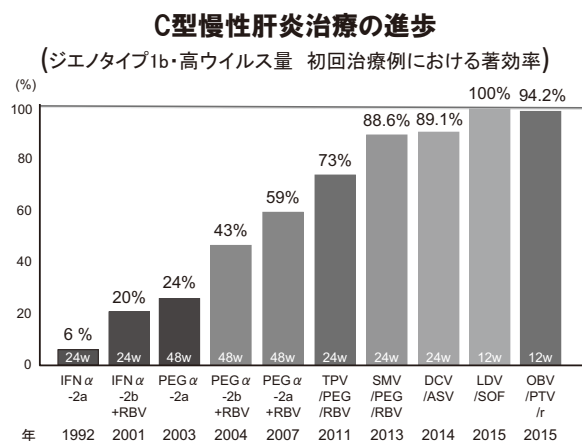


図5

要なプロテアーゼ、ポリメラーゼ、NS5A蛋白の阻害剤が開発されてきた。これらのプロテアーゼ蛋白阻害剤をIFNやリバビリンと併用することで、より短期間で、より高い抗ウイルス効果が得られることが分かってきた。すなわち、テラプレビル、シメプレビル、バニプレビルといった薬剤をIFNとリバビリンと一緒に使うことで、約70%の著効率が得られることが明らかになった(図5)[8]。

その後、このようなウイルス増殖阻害剤(Directly Antiviral Agents-DAA製剤)を組み合わせることで、IFNを使わなくとも(IFNフリー治療でも)HCVを消失しうることが明らかになった。NS5A阻害剤とプロテアーゼ阻害剤の組み合わせを使うことで、約80%の症例で有効であるが、治療抵抗性のウイルス変異株が存在する場合、その効果が弱いことが問題であった。

その後、NS5Bポリメラーゼ阻害剤ソフォスブビルが開発され、HCV Genotype 1型にはソフォスブビルとレヂパスビルの併用療法により、12週間の治療で、例外的な症例を除きほぼ全例で著効が得られることが明らかとなった[9]。また、HCV Genotype 2型を対象としたソフォスブビルとリバビリン(SOF+RBV)併用療法の有効性も明らかにされた[10]。初回治療例での著効率は、全体で98%、前治療無効例に対しても、慢性肝炎で96%、代償性肝硬変で89%であり、高い奏効率である。SOFに対する耐性変異としては、NS5B蛋白のS282T変異が知られているが、これまで治験例では治療不成功例でこの変異は検出されて

いない。このように、Genotype 1 型や 2 型に対する IFN フリーの治療は高い効果がみられるが、腎障害患者や進行した非代償性肝硬変患者への治療が今後の課題である。

Ⅲ. 自己免疫性肝炎・NASH・門脈圧亢進症

我々は、急性肝障害のうちでも予後の悪い、劇症肝炎の原因についても、検討を行っているが、特にこれまで原因不明であった劇症肝炎の多くに自己免疫性肝炎の関与があることや診断における AIH score の有用性を明らかにしてきた (図 6) [11]。また、自己免疫性肝炎では組織学的に不規則性がみられることが、画像所見の不規則性の原因であることが推測され、診断に有用であることを示してきた。肝再生の在り方が、予後を示すものと考えられ、CK7 などの染色の有用性についても検討している。

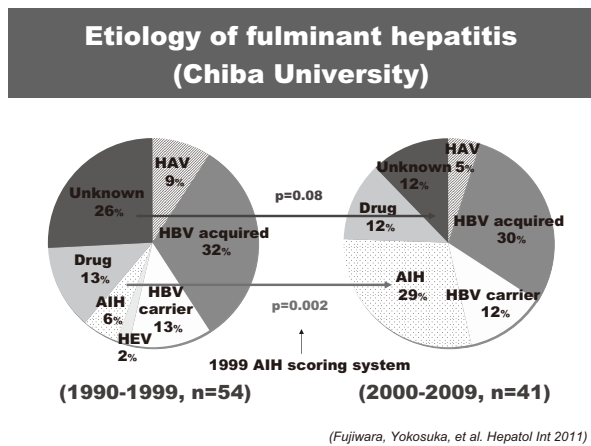


図 6

近年、栄養の過剰によるメタボリック症候群、糖尿病などによる、脂肪肝・脂肪肝炎が問題であり、日本人の人口の約 2 割が脂肪肝ともいわれている。今後も多くの患者が脂肪肝から脂肪肝炎へ、さらには肝硬変へと進展し、肝がんの発症が問題になると考えられるが、肝がんを発症する患者の囲い込みが難しいなどの問題が残されている。

また、我々は門脈圧亢進症に関しても、画像やドップラーを用いた血流計測の面から多くの研究を行ってきたが、本稿では紙面の都合上割愛させていただく。

Ⅳ. 肝がん

このように C 型肝炎の大多数の症例で HCV が排除可能になり、また、B 型肝炎においても、HBV のコントロールが可能となり、肝炎の鎮静化が可能となった。我々はウイルス著効後には、肝がんの発生は低下することを示しているが、皆無ではなく今後も発生することが想定される (図 7) [12]。患者が高齢化することで、遺伝子に異常が蓄積して癌化した細胞が増加し、また免疫機能の低下のために、これらの癌化細胞が排除しがたくなり、肝発がんに至る可能性が考えられる。近年、非 B 非 C 肝癌が増加しており、メタボリック症候群や糖尿病、アルコール性肝障害の増加と相まって、今後も増加傾向が続くと考えられる。

肝癌の予後に関しては、恩師である奥田邦雄教授が肝機能と肝がんの進展度の双方によることを示して以来、世界的にも同様の趣旨の分類に基づいて治療法が選択されている。比較的小さな肝癌

ウイルス駆除による肝癌リスクの減少

- 慢性肝炎により、肝線維化が進行すると、肝癌のリスクが高まる。
しかし、肝線維化が進んだ場合でも、ウイルス駆除により肝癌のリスクは低下します。

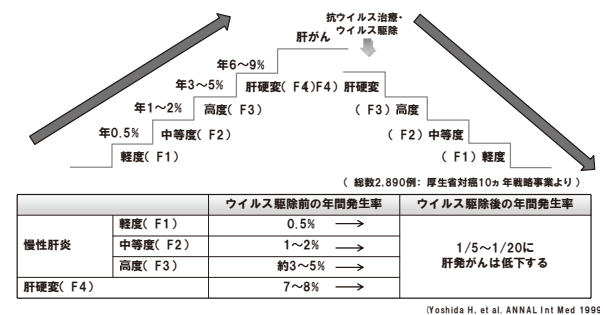


図 7

肝細胞癌の経皮的治療件数 (2006~2014年) 肝細胞癌の経血管治療件数 (2006~2014年)

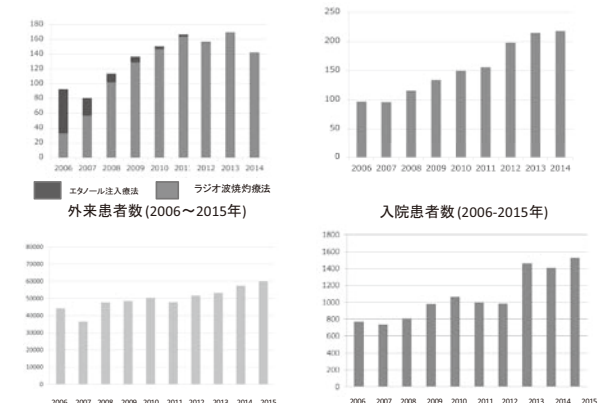


図 8

は肝切除やラジオ波焼灼治療（RFA）により治療が行われているが、中等度の肝癌は経血管的化学塞栓療法（TACE）による治療が主流になっているものの、治療法の選択に難渋することが多く、今後の問題である。教室ではRFAやTACEを行い肝がんの治療に努め（図8）、ある程度の成績を修めてきたが、肝炎という発がんの母地が残されていたために、長期の成績が不良であったと考える。今後は、C型肝炎、B型肝炎の治療により、肝機能は改善がみられるであろうが、問題は進行した肝がんの治療を如何にすべきかである。

VEGF, RAFの阻害薬であるソラフェニブが2008年に認可されて以来、スニチニブなど肝がんに対する新しい抗ガン剤の開発はことごとく失敗に終わっていたが、最近我々もglobal治験に加わった新しい抗ガン剤が有効であるというデータが示された（投稿中）。また、レチノイドや免疫チェックポイント薬である抗PD-1抗体や抗CTLA4薬の有効性が示されてきており、今後さらに肝がんの治療効果は改善すると思われる。

肝癌は多種多様な遺伝子異常が関与し多段階の発癌プロセスを経て形成される癌である。長期に持続する炎症と線維化の進展が肝発癌において中心的な役割を果たす。肝の炎症と再生の繰り返しは酸化ストレスを誘導し、細胞周期を促進させ、DNA損傷を生じやすくすると考えられる。近年、肝がん組織などを用いて、遺伝子発現プロファイリングや全ゲノムシーケンスなどによる網羅的な遺伝子解析が行われている。 β カテニンなどの遺伝子異常に加えて、ARIDファミリー遺伝子やMLLなどのクロマチン制御に関連する遺伝子の異常、h-TERTの異常が多くの症例で見られるなど、肝がんの遺伝子異常の特徴が明らかになりつつある。その結果、肝癌の原因（ウイルス性/非ウイルス性など）の違いや共通性、癌部と非癌部の比較、経時的な検討ができるようになった。教室においてもエビジェネテックな変化や癌幹細胞の検討を行っており、いろいろな薬剤の治療応用について検討しているが、まだ克服すべき道は遠いと言わざるを得ない[13,14]。しかしながら、今後個々の肝がんの遺伝子異常に応じたテーラーメイドの分子標的治療法が開発されてくるものと確信している。

B型肝炎と肝発がんについても、我々は検討してきたので、その関連に触れてみたい。B型肝炎ウイルスは東南アジアを中心に広く感染がみられ、感染多発地域と肝癌発生地域が重なることから肝癌の主要な原因であることは疫学的に示されているが、その発癌機序の全容は未だ解明されていない。台湾における疫学的な検討からHBV DNA量が多いほど累積発癌率は高く、肝癌の危険因子であることが示されている。ウイルス量が少ない場合でもHBs抗原量が高い場合は肝癌の危険が増加することが示されている。我々の検討では、ジェノタイプCはBよりも肝癌の危険が高く、ジェノタイプCで高頻度にみられるコアプロモーター領域のA1762T/G1764Aの変異は肝癌例で多くみられる[15]。1762/1764変異はプロモーター活性へ影響しHBe抗原の産生低下やウイルス複製と関連することがわかっている。さらに同部位はHBxとオーバーラップしており130/131番アミノ酸の変異を起こす。またT1753変異やエンハンサーII領域のC1653Tが肝癌と関連することを示してきた。

HBV DNAがヒトゲノムに組み込まれることはよく知られており肝癌では90%程度で組み込みが認められる。組み込みにより宿主染色体の不安定性が増加し、遺伝子の重複や欠失、転位などを生じやすくなると考えられている。また組み込み近傍の遺伝子の発現を変えたり、近傍の遺伝子と融合タンパクを形成し機能異常を引き起こしたりすることが確認されている。hTERTへの組み込みによりテロメア活性が亢進し細胞増殖が促進されることなどが報告されている。

ウイルス側の組み込み端としてはHBx末端やpreC領域に多くみられている。組み込まれているウイルスの配列はHBx領域やpreS2/S領域が報告され[16]、これらはいずれも発癌との関連が指摘されているウイルス蛋白である。

HBVと発がんの関連についての検討から想定されるHBVの発癌機序を図9に示す。B型肝炎はC型肝炎と同様にその原因として炎症が重要な役割を果たしている。しかしながら、HBVではヒトゲノムへの組み込みやHBxタンパクなどが肝発癌の病態に関与する結果、他の原因による肝癌と遺伝的に異なる特徴を形成すると考えられる。

B型肝炎からの肝発がん

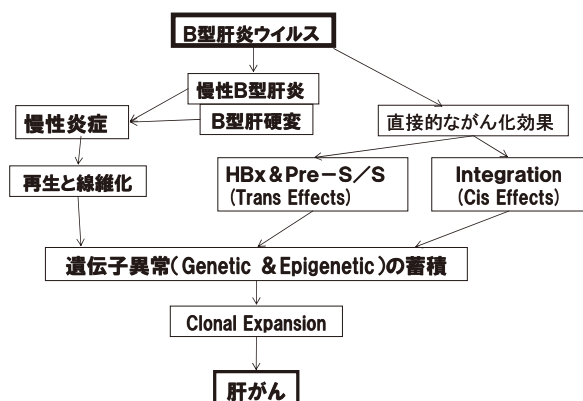


図 9

終わりに

以上、これまでの肝疾患の研究の流れについて述べてきたが、C型肝炎は今後殆どの症例が治癒されてくるものと考えられ、B型肝炎は殆どの症例がコントロール可能となるが根治には今後のさらなる検討が必要である。肝がんはウイルスを抑え込むことが出来ても、高齢化や非B非CのNASH, NAFLDにより今後も当分の間、発症予防や治療が困難な時期が続くと考えられる。

教授就任以来、千葉大学安全衛生機構長今関文夫教授、教室の講師の先生方を中心とした若い先生方の努力により、また看護師長はじめ、多くの医療スタッフに支えられて、外来患者数、入院患者数共にこれまでより増やすことが可能であり、研究でも多くの論文を出すことが可能であった(図8)。教育では露口利夫、丸山紀史、神田達郎、新井誠人、千葉哲博講師のもとに、多くの多士済々な若い先生方が育ちつつあるものと考えている。稿を終えるに当たり、記して感謝したい。

文 献

- 1) Yokosuka O, Omata M, Imazeki F, Okuda K. Active and inactive replication of hepatitis B virus deoxyribonucleic acid in chronic liver disease. *Gastroenterology* 1985; 89: 610-6.
- 2) Yokosuka O, Omata M, Imazeki F, Ito Y, Okuda K. Hepatitis B virus RNA transcripts and DNA in chronic liver disease. *N Engl J Med* 1986; 315: 1187-92.
- 3) Yokosuka O, Omata M, Imazeki F, Okuda K, Summers J. Changes of hepatitis B virus DNA

in liver and serum caused by recombinant leukocyte interferon treatment: analysis of intrahepatic replicative hepatitis B virus DNA. *Hepatology* 1985; 5: 728-34.

- 4) Yokosuka O, Takaguchi K, Fujioka S, Shindo M, Chayama K, Kobashi H, et al. Long-term use of entecavir in nucleoside-naïve Japanese patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 2010; 52: 791-9.
- 5) Kato N, Yokosuka O, Hosoda K, Ito Y, Ohto M, Omata M. Quantification of hepatitis C virus by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction: increase of the virus in advanced liver disease. *Hepatology* 1993; 18: 16-20.
- 6) Omata M, Yokosuka O, Takano S, Kato N, Hosoda K, Imazeki F, et al. Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural beta interferon. *Lancet* 1991; 338: 914-5.
- 7) Yokosuka O, Iwama S, Suzuki N, Takashi M, Hirai Y, Uchiumi K, et al. High sustained virologic response rate after interferon monotherapy in Japanese hepatitis C patients with a low HCV RNA titer and/or HCV genotype 2. A prospective study. *Intervirology* 2004; 47: 328-34.
- 8) Izumi N, Yokosuka O, Kawada N, Osaki Y, Yamamoto K, Sata M, Ishikawa H, et al. Daclatasvir combined with peginterferon alfa-2a and ribavirin in Japanese patients infected with hepatitis C genotype 1. *Antivir Ther* 2014; 19: 501-10.
- 9) Mizokami M, Yokosuka O, Takehara T, Sakamoto N, Korenaga M, Mochizuki H, et al. Ledipasvir and sofosbuvir fixed-dose combination with and without ribavirin for 12 weeks in treatment-naïve and previously treated Japanese patients with genotype 1 hepatitis C: an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 645-53.
- 10) Omata M, Nishiguchi S, Ueno Y, Mochizuki H, Izumi N, Ikeda F, et al. Sofosbuvir plus ribavirin in Japanese patients with chronic genotype 2 HCV infection: an open-label, phase 3 trial. *J Viral Hepat* 2014; 21: 762-8.
- 11) Fujiwara K, Yasui S, Yokosuka O. Efforts at making the diagnosis of acute-onset autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2011; 54: 371-2.
- 12) Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, Arakawa Y, Ide T, Sata M, et al. Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. IHIT Study Group. Inhibition of Hepatocarcinogenesis by Interferon Therapy. *Ann Intern Med* 1999; 131: 174-81.
- 13) Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology* 2006; 44: 240-51.

- 14) Chiba T, Zheng YW, Kita K, Yokosuka O, Saisho H, Onodera M, et al. Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation. *Gastroenterology* 2007; 133: 937-50.
 - 15) Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai M, Imazeki F, Kurihara T, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology* 2003; 37: 19-26.
 - 16) Zhang KY, Imazeki F, Fukai K, Arai M, Kanda T, Mikata R, Yokosuka O. Analysis of the complete hepatitis B virus genome in patients with genotype C chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2007; 98: 1921-9.
-