

# 厚生労働科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

## 分担研究報告書

### 肝発癌率からみた ALT 基準値内 C 型肝炎キャリアの 抗ウイルス治療ガイドラインの検証

分担研究者 泉 並木 武蔵野赤十字病院 消化器科部長

研究要旨：C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリン併用治療が行われ、ウイルス排除が得られる症例が増加している。この研究班で ALT 基準値内の C 型肝炎ウイルスキャリアについて抗ウイルス療法を行うガイドラインが提示された。われわれの施設でこの基準に合致する症例の経過観察を行い、肝発癌率からガイドラインの妥当性を検証した。血小板  $15 \text{ 万/mm}^3$  未満では 15 万以上の症例に比較して肝発癌が有意に多く、同じ血小板の基準内では血清 ALT 値が 31 IU/L 以上の例で肝発癌が多かった。ガイドラインが実態に即したものであると考えられた。

#### 共同研究者

黒崎雅之 武蔵野赤十字病院消化器科副部長

#### A. 研究目的

C 型慢性肝炎では長期経過の中で肝発癌がみられる点が予後に最も影響をおよぼす。難治性 C 型慢性肝炎に対してペグインターフェロンとリバビリン併用治療が行われ、ウイルス排除率の向上が得られている。肝癌で死亡する症例を減少させるためには、抗ウイルス療法を施行する症例を適切に選択する必要がある。平成 18 年度厚生労働省研究班では ALT 基準値内の C 型肝炎ウイルスキャリアに対する治療のガイドラインが提示された。この基準が妥当であるか否かを検証することが、わが国の肝癌撲滅および医療経済学的に重要である。そこで、われわれの施設において経過観察された C 型肝炎陽性者について、ガイドラインの各項目に合致する例の肝発癌率を解析し、ガイドラインの妥当性を検証した。

#### B. 研究方法

1994 年から 2005 年まで武蔵野赤十字病院においてインターフェロン治療を施行した C 型慢性肝炎のうち、治療後経過観察期間が 1 年以上の 1332 例を対象とした。観察期間は 1.0 から 11.0 年（平均 3.9 年）である。インターフェロン治療前 6 ヶ月間の ALT と血小板の平均値を算出しガイドラインにあてはめた。また、インターフェロ

ン治療後全経過の平均値を計算し、肝発癌例では 6 ヶ月前までの平均値を算出し、非発癌例では観察終了時までの平均値を算出した。それぞれの値からガイドラインに当てはめて肝発癌率を解析した。経過観察は肝細胞癌の早期発見のため、腹部超音波を 3 ヶ月から 6 ヶ月に 1 回、 $\alpha$ フェトプロテイン(AFP)や PIVKA II などの腫瘍マーカーを 2 ヶ月に 1 回は測定し、1 年に 1 回造影 CT スキャンを行うことを原則にした。肝細胞癌の診断は、腹部血管造影下 CT スキャンで、動脈濃染が得られ門脈血流が欠損していることを診断根拠としたが、非典型的な所見の場合には超磁酸化鉄 (SPIO) 造影下 CT スキャンによって T2\*強調画像で高信号を呈する場合、あるいは腫瘍生検にて肝細胞癌に合致する所見が得られた場合に肝細胞癌の診断をした。解析は SPSS 社 Clementine software を用いた。

(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した（新 GCP に遵守）。既に医療保険が認められている治療法においても上記に準じて書面の同意書を得ている。

### C. 研究結果

インターフェロンでウイルスが消失しなかった全症例で肝発癌率を解析すると、血小板数が10万/mm<sup>3</sup>未満では5年間で11.0%に発癌がみられ血小板数10から14万では5年肝発癌率は9.1%であった。血小板数10万/mm<sup>3</sup>未満の症例ではインターフェロンでウイルス排除が得られても5年間の肝発癌率は11.2%であり、ウイルス排除が得られなかった例とほぼ同じであった。血小板数が15から19万と20万以上では5年間発癌率はそれぞれ6.9%と0.9%であった。

インターフェロンによってウイルス排除ができなかった症例において、血小板数が15万/mm<sup>3</sup>以上の例において、平均ALT値ごとに肝発癌率を解析するとALT値が81以上の症例では5年肝発癌率が18.7%、でありALT値が41から80の症例では6.8%であった。さらにALT値が31から40の例では5年肝発癌率は1.0%、10年発癌率は5.0%であったのに対し、ALT値が平均30以下では血小板数が15万/mm<sup>3</sup>以上の例では肝発癌は0%であった。

次に血小板数が15万/mm<sup>3</sup>以下の症例で解析した。平均ALT値が81以上、41から80の症例では5年肝発癌率はそれぞれ25.4%と14.5%であった。平均ALT値が31から40の症例では5年肝発癌率は6.2%であったのに対し、30未満の症例では0%であったが10年では18%であった。Cox比例ハザードモデルで解析したところ、平均ALT値が40以上では、その後の肝発癌率は40未満と比較して有意に高かった(p=0.018)が、31以上と30以下では有意差はみられなかった。

平均ALT値が31以上の症例についてインターフェロン治療を行うことにより血小板数15万以上の39例中15例でALT値が30未満となり、血小板数15万未満の例では27例中11例がALT値30未満が達成された。

### D. 考察

C型肝炎ウイルスキャリアのどの症例に対してインターフェロン治療を行うのかについてのガイドラインは極めて重要な問題である。平成18年度の厚生労働省研究班でALT基準値内のC型肝炎キャリアに対する抗ウイルス療法のガイドラインが作成された。そこで、このガイドラインをC型肝炎キャリアの自然経過で最も重要である肝発癌の面から、その妥当性を解析した。その結果、血小

板数15万/mm<sup>3</sup>と血清ALT値30IU/Lで分けたALT基準値内のC型肝炎キャリアに対するガイドラインが、極めて妥当なものであることが検証できた。今後、このガイドラインをウイルス肝炎検診事業や、その後の経過観察を行っている非専門医に周知していくことが重要と思われる。

### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Asahina Y et al. J Viral Hepat 2006, in press.. 2) Sugiyama M et al. Hepatology 2006; 44:915. 3) Sugauchi F et al. Hepatol Res 2006;36:107. 4) Tanaka Y et al. J Hepatol 2006;45:646. 5) Ogata H et al. Jpn J Ophthalmol 2006;50:293. 6) Ito K et al. Clin Infect Dis 2006;42:1. 7) Kurosaki M et al. Hepatol Res 2006;34:1. 8) Nakanishi H et al. Intervirology 2005 ;48:381. 9) Izumi N et al. Intervirology 2005 ;48:59. 10) Kurosaki M et al. Hepatol Res 2005; 34: 1. 11) Hamano K et al. J Gastroenterol Hepatol 2005;20:1401. 12) Kurosaki M et al. Hepatol Res 2005;29: 13) Asahina Y et al. J Hepatol 2005;43:553. 14) Tanabe Y et al. J Viral Hepat 2005;12:251.

#### 2. 学会発表

- 1) 朝比奈靖浩他第92回日本消化器病学会総会 2006.4.22. 2) 黒崎雅之他 第92回日本消化器病学会総会 2006.4.21. 3) 泉並木他 第92回日本消化器病学会総会 2006.4.20. 4) 土谷薫他 第92回日本消化器病学会総会 2006.4.20. 5) 朝比奈靖浩他第42回日本肝臓学会総会 2006.5.25. 6) 土谷薫他 第42回日本肝臓学会総会 2006.5.26. 7) 黒崎雅之他第42回日本肝臓学会総会 2006.5.26. 8) 梅田尚季他第42回日本肝臓学会総会 2006.5.26. 9) 朝比奈靖浩他第10回日本肝臓学会大会 2006.10.12. 10) 黒崎雅之他第10回日本肝臓学会大会 2006.10.11. 11) 泉並木他 第10回日本肝臓学会大会 2006.10.11.

### H. 知的財産権の出願・登録状況

#### 1. 特許取得

今回の研究内容については特になし。

#### 2. 実用新案登録

今回の研究内容については特になし。

# 厚生労働科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

## 分担研究報告書

### 60歳以上の高齢 C 型慢性肝炎に対する治療導入時から リバビリンを減量する併用療法の治療効果の検討

分担研究者 恩地森一 愛媛大学大学院先端病態制御内科学講座 教授

研究要旨：若年者に比べて 60 歳以上の比較的高齢の C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン  $\alpha$ -2b+リバビリン併用療法では、貧血を主体とする副作用による投与中止率が高いことが問題となる。そこで、投与完遂率を上げて副作用を軽減するために、治療導入時からリバビリンを減量する治療法を試みた。リバビリン減量群では非減量群と比較して貧血を有意に軽減することができた。リバビリン減量群において現時点での貧血による投与中止例はない。また、リバビリン減量群では HCV-RNA 陰性化時期が遅い傾向があり、最終的な治療効果の向上のために投与期間の延長などを考慮する必要がある。

#### 共同研究者

日浅陽一 愛媛大学 特任講師  
小西一郎 愛媛大学 特任講師

#### A. 研究目的

近年、C 型慢性肝炎の抗ウイルス治療の対象者が高齢化し、副作用の出現頻度が増加している。特に難治性の 1 型高ウイルス例に対して first choice であるペグインターフェロン  $\alpha$ -2b (Peg-IFN  $\alpha$ -2b)+リバビリン併用療法において、リバビリン内服に伴う貧血を主体とする副作用が治療上の問題となっている。この結果、治療中止率の増加、著効率の低下をまねいている。我々は投与完遂率を上げて副作用を軽減するために、60 才以上の比較的高齢である C 型慢性肝炎患者に対して治療開始時からリバビリン減量を行い、その治療効果について検討した。

#### B. 研究方法

高齢 C 型慢性肝炎患者に対する Peg-IFN  $\alpha$ -2b +リバビリン併用療法（リバビリン減量投与）の検討

対象は 2005 年 1 月から 2006 年 6 月の間に当科及び関連施設にて Peg-IFN  $\alpha$ -2b+リバビリン併用療

法を施行した C 型慢性肝炎患者 76 例のうち、60 歳以上の 33 例。体重あたりのリバビリン投与量から規定通り開始した 21 例と規定量から 1 カプセル (200mg)減量し開始した 12 例。Peg-IFN  $\alpha$ -2b は 48 週間、週 1 回の投与を行い、全例でリバビリン (400~800mg/day)を併用した。減量基準はヘモグロビン値が 10 g/dL 未満でリバビリン 200 mg 減量、8.5 g/dL 未満で投与中止とした。対象者の背景は、リバビリン減量群：年齢 67 歳 (61-72)、男性:女性=5:7、治療前ヘモグロビン濃度 13.4 g/dl (11.4-15.1)、治療前血清 HCV RNA 量 1550 KIU/ml (120-5000)。リバビリン非減量群：年齢 65 歳 (中央値)、男性:女性=10:11、治療前ヘモグロビン濃度 13.7 g/dl (11.7-15.4)、治療前血清 HCV RNA 量 1000 KIU/ml (68-5100)であった。以上を対象者として HCV-RNA の陰性化時期、ヘモグロビン値の経過、治療の中止率、中止理由について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は当院の臨床倫理委員会において承認されている。臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報、守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考する

に十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した（新 GCP に遵守）。既に医療保険が認められている治療法においても上記に準じて書面の同意書を得ている。

### C. 研究結果

高齢 C 型慢性肝炎患者に対する Peg-IFN  $\alpha$ -2b + リバビリン併用療法（リバビリン減量投与）の検討

患者背景についてはリバビリン減量群、非減量群間で肝機能検査、末梢血、HCV-RNA 量に有意な差はみられなかった。リバビリン導入量は減量群で、400mg が 8 人、600mg が 4 人と低用量であった。投与開始後のヘモグロビン値の経過は、投与開始 2 週目よりリバビリン減量群で高いヘモグロビン値を示し、投与開始 12, 16, 20, 36, 40, 44, 48 週においてリバビリン減量群で有意に高値を示した。投与期間ほぼ全体を通じてヘモグロビン値 1 g/dl 程度の差がみられた。次に、HCV-RNA 陰性化時期については、投与開始 4 週目の HCV-RNA 陰性化率がそれぞれ 19%、10%、8 週目 29%、11%、12 週目 35%、25%、16 週目 50%、25%、20 週目 47%、57%、24 週目 61%、67%（非減量群、減量群）であり、投与初期においてリバビリン減量群の HCV-RNA 陰性化率に有意差はないものの、非減量群に比べ遅い傾向がみられた（図 1）。一方、投与開始 20 週、24 週の時点では HCV-RNA 陰性化率がリバビリンの減量の有無にかかわらず同程度に追いついていた。以上の結果から、リバビリン減量投与により投与経過中のヘモグロビンの低下を有意に軽減することができた。治療の中止例は途中経過であるが、高齢者（60 歳以上）全体で 24%（8/33）であった。リバビリン減量群では 33%（4/12）、リバビリン非減量群では 19%（4/21）であった。治療の中止率は

減量群で高いが、統計学的な有意差はみられな

かった。治療中止の内訳は自殺企図 1 例、全身倦怠感 1 例、HCC 合併 1 例、貧血進行 1 例、歯肉出血 1 例、投与 24 週目の HCV-RNA(+) 3 例であった。貧血の進行で中止となった 1 例はリバビリン非減量群の症例であった。

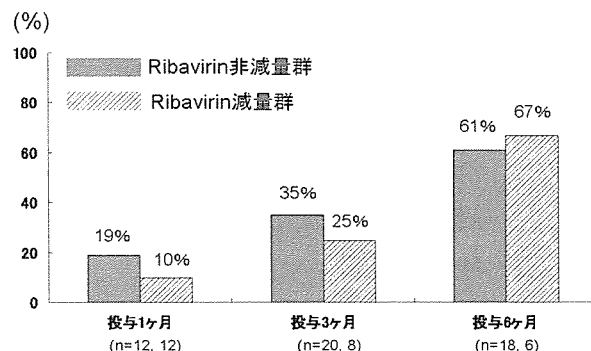


図1 HCV-RNA陰性化時期の比較  
（Ribavirin減量、非減量群別）

### D. 考察

高齢 C 型慢性肝炎患者に対してリバビリンの初期投与量を減量することにより、貧血の進行を軽減することができた。また、貧血による治療の中止も回避することができた。治療効果の面ではリバビリン減量に伴い HCV-RNA 量の陰性化時期が遅れる傾向があるが、投与を継続するうちに HCV-RNA 陰性化率は非高齢者に追いついてくる。このことから、リバビリン減量により HCV-RNA 陰性化の速度は低下するが HCV-RNA が一旦陰性化する割合は同程度になると期待できる。最終的なウイルス学的著効が得られる割合については現時点で評価できないが、HCV-RNA の陰性化時期が遅れることから推測すると、現在行われている 48 週投与ではウイルス学的著効率が低下することが予想される。最近、投与開始 16 週以降に HCV-RNA が陰性化した症例に対し、投与期間の延長がウイルス学的著効率を上げることが報告されている。また、海外の臨床試験では投与期間の延長が治療効果を上げる有効な方法であることが示されている。以上より、リバビリン減量開始後 HCV-RNA 陰性化が遅れた症例については投与期間の延長、すなわち 72 週投与

や HCV-RNA 陰性化時期を一定期間 (48 週間以上)確保するように投与期間を延長することなどの工夫が必要であると考えられる。

#### E. 結論

リバビリン減量投与により投与経過中のヘモグロビンの低下を有意に軽減することができた。一方、統計学的な有意差はみられなかったが HCV-RNA の陰性化時期を遅らせる可能性があるため、投与期間の延長などの治療法の工夫が必要であると考えられる。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表

- 1) 小西一郎、野中卓、日浅陽一 副作用軽減に配慮した高齢者(60 歳以上)に対する抗 HCV 療法の工夫 第 10 回 日本肝臓学会大会 2006. 10 札幌
- 2) 小西一郎、日浅陽一、野中卓、上甲康二、山下省吾、山下善正、伊藤嘉信、道堯浩二郎、

堀池典生、恩地森一 高齢者(60 歳以上) に対するペグインターフェロン  $\alpha$ -2b+リバビリン併用療法の検討 第 9 回 日本高齢消化器医学会 2006. 7 東京

##### 2. 論文発表

- 1) Ichiro Konishi, Norio Horiike, Yoichi Hiasa, Yoshio Tokumoto, Toshie Mashiba, Kojiro Michitaka, Yasuyuki Miyake, Suguru Nonaka, Kouji Joukou, Bunzo Matsuura and Morikazu Onji. Diabetes mellitus reduces the therapeutic effectiveness of interferon- $\alpha$ 2b plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* (in press)
- 2) Hiasa Y, Blackard JT, Lin W, Kamegaya Y, Horiike N, Onji M, Schmidt EV, Chung RT. Cell-based models of sustained, interferon-sensitive hepatitis C virus genotype 1 replication. *J Virol Methods.* 2006; 132: 195-203.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

# 厚生労働科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

## 分担研究報告書

### 難治性 C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/Ribavirin 併用治療の 治療効果と副作用出現

分担研究者： 竹原徹郎 大阪大学大学院医学系研究科・助教授

研究要旨：難治性 C 型慢性肝炎に対する標準的な治療法は PEG-IFN/リバビリン併用 48 週間投与であり、開発試験の結果から 48%の症例において SVR が得られることが示されている。本治療法が通常医療としてどの程度の効果と副作用出現があるかを明らかにするために、大阪大学とその関連施設で治療開始登録された 1378 例のうち治療後 48 週以上経過した 555 例の臨床経過を解析した。治療開始 48 週時点での HCV RNA 陰性化率は 69%であり、高齢者および血小板低値例で陰性化率が低かった。48 週で治療を終了しその後 12 週以上経過を観察した 96 例についての再燃率は 31%であり、再燃に寄与する因子として線維化が進行していることと治療開始 12 週目の HCV RNA の陰性化（EVR）が達成されていないことが選択された。13.6%の症例に副作用中止を認め、これは高齢者で有意に高率であった。

#### 共同研究者：

林 紀夫 大阪大学大学院医学系研究科・教授,  
平松直樹 大阪大学大学院医学系研究科・助手

プロトコルに従った（Peg-IFN  $\alpha$  2b : 1.5  $\mu$ g/kg・  
Ribavirin : 40-60kg, 600mg; 60-80kg, 800mg;  
80-100kg, 1000mg）。

検討項目：1) 経時的 HCV RNA 陰性化率、2) 治療後再燃に関与する因子、3) HCV RNA 陰性化予測に寄与する因子、4) 副作用による薬剤中止率

解析方法：Logistic 回帰分析

#### A. 研究目的

難治性 C 型慢性肝炎（1 型高ウイルス量例）に対して PEG-IFN/リバビリン併用治療が 2004 年 12 月に認可され約 2 年が経過した。開発試験の成績では 48%の症例で SVR が達成されているが、高齢化していく日本の患者背景の中で通常医療としてどの程度の治療効果が達成されるのかは明らかではない。そこで、大阪大学とその関連施設（OLF 関連施設）で登録された症例についての臨床経過について解析を行った。

#### B. 研究方法

対象：OLF 関連施設において、Peg-IFN  $\alpha$  2b/Ribavirin 併用療法を開始登録された C 型慢性肝炎 1378 例のうち、治療開始後 48 週以上経過した Genotype1 型高ウイルス量の 555 例を対象とした。

方法：Peg-IFN  $\alpha$  2b/Ribavirin 併用療法は通常の

#### C. 研究成果

今回検討した 555 例は平均年齢が  $55.5 \pm 10.4$  歳であり、先行する開発試験あるいは臨床薬理試験に比し約 5 歳高齢であったが、その他の背景因子には大きな差を認めなかった。

治療開始後の経時的な HCV RNA 消失率は 12 週で 48%、24 週で 67%、48 週で 69%であり、48 週での開発試験の 80%、臨床薬理試験の 78%と比較すると約 10 ポイント低下していた。HCV RNA の消失は女性でやや立ち上がりが遅かったが 48 週時点では女性 70%、男性 68%と同等であった。48 週時点での消失率は 60 歳未満で 73%、60~64 歳で 73%、65 歳以上で 54%であり、高齢になるほど低下した。また、IFN 治療歴については、初回治療

例で70%、再燃例で84%、不応例で57%であった。また血小板数については12万以上の症例で72%の消失率であったが、12万未満では58%であった。48週でのHCV RNA消失に寄与する因子について検討すると単変量解析では、年齢(65歳区分)、白血球数、血小板数が有意であり、Stepwise法にて多変量解析を行うと年齢と血小板数が独立因子として選択された。

治療終了後の再燃について検討するために、48週時点でHCV RNAが陰性化していた338例のなかで72週投与に移行した76例を除外した258例について検討した。このなかで、治療終了後12週以上経過している症例は96例であり、これらについて再燃率は31%(30/96)であった。治療終了後12週の時点のHCV RNA持続陰性化率は治療開始後12週の陰性化で判定したEVR例で76%(57/75)、LVR例で47%(8/17)であった。治療終了後再燃に寄与する因子について検討したところ、肝線維化の程度とEVRの有無が有意な因子として抽出された。

副作用中止率は13.7%(67/490)であり、年齢別では60歳未満で9%、60歳以上で21%であった。このうち貧血の占める割合は60歳未満では12%であったが、60歳以上では46%と高率であった。

#### D. 結論

1. HCV RNA 陰性化率 (ITT) : 1型高ウイルス量群555例(OLF)におけるHCV RNA陰性化率は、治療後12週48%、48週69%であり、高齢者(65才以上)、血小板低値例、前回治療無効例で低率であった。

2. 48週投与終了後再燃(+12週経過例) : 48週投与終了時にHCV RNAが陰性で、48週で投与を終了し、その後12週間経過をみた症例における再燃率は31%(30/96)であり、EVR症例で76%

(57/75)、LVR症例で47%(8/17)にHCV RNA陰性化が持続した。多変量解析では、EVR例、線維化軽度例で治療後再燃率が低いと考えられた。

3. 副作用による薬剤中止率 : 1型高ウイルス量群に対する48週投与で13.7%(67/490)に副作用中止を認めた。高齢者(60才以上)では中止率が高く(21%)、なかでも貧血による中止が約半数(46%)を占めた。

#### E. 研究発表

##### 論文発表

1. Hiramatsu N, Oze T, Tsuda N, Kurashige N, Koga K, Toyama T, Yasumaru M, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Kato M, Yoshihara H, Katayama K, Hijioka T, Hagiwara H, Kubota S, Oshita M, Haruna Y, Mita E, Suzuki K, Ishibashi K, Hayashi N. Should aged patients with chronic hepatitis C be treated with interferon and ribavirin combination therapy? **Hepatol Res 35: 185-189, 2006.**
2. Oze T, Hiramatsu N, Kurashige N, Tsuda N, Yakushijin T, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Kato M, Yoshihara H, Katayama K, Kubota S, Hijioka T, Ishibashi K, Oshita M, Hagiwara H, Haruna Y, Mita E, Tamura S, Hayashi N. Early decline of hemoglobin correlates with progression of ribavirin-induced hemolytic anemia during interferon plus ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. **J Gastroenterol 41: 862-872, 2006.**

#### F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 : なし
  2. 実用新案登録 : なし
- その他 : なし

# 厚生労働科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

## 分担研究報告書

### HCV RNA 陰性化時期に応じた PEG IFN リバビリン延長投与の検討

分担研究者 佐田通夫 久留米大学医学部内科学講座 消化器内科部門 教授

研究要旨：Genotype 1b 高ウイルス量の C 型慢性肝疾患例に PEG IFN リバビリン併用療法を行った患者において、48 週投与群(標準群)と HCV RNA 定性が陰性化してから 44 週間治療を行う群(延長群)に無作為に振り分け、prospective randomized control trial をおこなった。効果判定が可能な例は、標準群 33 例、延長群 34 例であり、治療開始後 5-12 週目で RNA が陰性化した例の著効率は、標準群、延長群それぞれ 88.9%, 86.7%であった。治療開始後 13-24 週目までに RNA が陰性化した例の著効率は、標準群、延長群それぞれ 22.2%, 75.0%であった。PEG IFN リバビリン併用療法の延長投与は、治療開始後 13-24 週目までに RNA が陰性化した例で著効率を上昇させ、無駄のないすぐれた治療法と考えられた。

#### 共同研究者

井出達也 久留米大学医学部内科学講座  
消化器内科部門 医員

#### A 研究目的

Genotype 1b 高ウイルス量の C 型慢性肝疾患への PEG IFN リバビリン併用療法(PEG IFN/Rib)の著効率は 50%前後でありさらなる治療法の工夫が必要である。一方、PEG IFN/Rib 開始後の HCV RNA 陰性化時期は治療効果の予測に最も重要であり、治療開始後 4 週目で HCV RNA 定性が陰性化した例はほぼ全例著効となることが判明したが、このような例ではその後の治療中の HCV RNA 陰性持続期間が 44 週であることがわかる。5-12 週目で RNA が陰性化した例では、70%の著効は得られるものの、さらなる著効率の上昇が必要である。さらに 13-24 週で RNA が陰性化した例は、著効率は 30%と低く、その対策が必要である。そこで我々は治療中に HCV RNA が陰性化してから 44 週間治療を行う PEG IFN/Rib の治療延長を prospective randomized control trial にて検討した。

#### B 研究方法

まず Genotype 1b 高ウイルス量例の患者を治療開始前に標準群 (48 週投与群)と延長群 (HCV RNA 定性が陰性化してから 44 週間治療を行う群)に

無作為に振り分けた。PEG IFN とリバビリンの投与量は通常の推奨量にて開始し、4 週毎に HCV RNA を測定した。標準群では 48 週間の治療を行い、延長群では HCV RNA 定性が陰性化してから 44 週間そのまま治療を継続した。なお治療開始後 24 週目で HCV RNA 陰性化が得られなかった症例ではこの trial から drop out とした。治療終了後 3 ヶ月目の HCV RNA 定性が陰性の症例を著効とした。

#### C 研究結果

2006.10 月末までに、126 例を登録し、治療開始した。現在、治療終了後の効果判定が可能な例は、標準群 33 例、延長群 34 例であった。両群間で年齢、性、体重、線維化ステージ、HCV RNA 量など背景因子に差は認められなかった。これらのうち、治療開始後 4 週目までに RNA が陰性化した例は、標準群、延長群(4 週目で陰性化しているので実際には延長投与は無し)それぞれ 4, 2 例で、うち著効は 4, 2 例(いずれも 100%)であった。治療開始後 5-12 週目で RNA が陰性化した例は、標準群、延長群それぞれ 9, 15 例で、うち著効は 8, 13 例(88.9%, 86.7%)であった。治療開始後 13-24 週目までに RNA が陰性化した例は、標準群、延長群それぞれ 9, 4 例で、うち著効は 2, 3 例(22.2%, 75.0%)であった。RNA が陰性化せず drop out となった例はそれぞれ 7, 7 例、副作用中止例は 4, 5 例であった。延長群の 1 例で投与



延長を拒否された。標準群、延長群の ITT 解析による著効率は、42.4%(14/33)、53.0%(18/34)で、per protocol 解析では、63.6%(14/22)、85.7%(18/21)であった。

#### D. 考察

今回の研究によって、治療中の HCV RNA の陰性化が遅い例（13-24週）では、治療を延長することにより高い著効率を得られる可能性のあることが示唆された。まだ中間成績のため症例数が少ないことから症例を増やし詳細を検討する必要がある。HCV RNA の陰性化が5-12週の例では、標準群と延長群の間に差は認められなかった。ただ標準群の治療成績が著効率88.9%とこれまでの治験成績よりもかなり高く、さらに症例を増やして検討する必要があると考えられた。これまでの延長投与の報告は12-24週目でRNAが陰性化した例を画一的に72週投与するものが多かったが、画一的な治療では無駄な投与を行っている可能性もある。我々の治療は各個人で治療期間を設定するため無駄のない治療法と考えられる。今後はさらに延長したにもかかわらず無効となった症例の解析をすすめ、さらに高い治療効果を考案していくべきと考えられた。

#### E. 結論

PEG IFN/Rib の延長投与は、治療開始後13-24週目までにRNAが陰性化した例で著効率を上昇させ、無駄のないすぐれた治療法と考えられた。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

井出達也、西田秀美、矢野淳子、田中英明、奥田誠也、佐田通夫

C型慢性肝炎へのIFN $\alpha$ -2b・リバビリン療法における二重濾過血漿交換併用療法の臨床的検討  
日本アフェレシス学会雑誌 2006, 25: 233-239,

K Ogata, T Ide, R Kumashiro, H Kumada, H Yotsuyanagi, K Okita, Y Akahane, S Kaneko, H Tsubouchi, E Tanaka, H Moriwaki, S Nishiguchi, S

Kakumu, M Mizokami, S Iino, M Sata  
Timing of interferon therapy and sources of infection in patients with acute hepatitis C. *Hepatology* 2006, 34:35-40.

K Tanaka, Y Nagao, T Ide, R Kumashiro, M Sata  
Antibody to hepatitis B core antigen is associated with the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-infected persons: a 12-year prospective study. *Int J Mol Med* 2006, 17: 827-832.

S Murashima, M Tanaka, M Haramaki, S Yutani, Y Nakashima, K Harada, T Ide, R Kumashiro, M Sata.  
A decrease in AFP level related to administration of interferon in patients with chronic hepatitis C and a high level of AFP. *Dig Dis Sci* 2006, 51: 808-812.

M Ikeda, S Fujiyama, M Tanaka, M Sata, T Ide, H Yatsushashi, H Watanabe.

Clinical features of hepatocellular carcinoma that occur after sustained virological response to interferon for chronic hepatitis C.  
*J Gastroenterol Hepatol* 2006, 21: 122-128.

Y Wang, Y Takao, M Harada, S Yutani, T Ide, M Sata, K Itoh, A Yamada. New Epitope Peptides Derived from Hepatitis C Virus (HCV) 2a Which Have the Capacity to Induce Cytotoxic T Lymphocytes in HLA-A2(+) HCV-Infected Patients *Microbiol Immunol.* 2006 50: 857-865.

R Kumashiro, Y Koga, R Kuwahara, T Ide, T Hino, K Tanaka, A Hisamochi, K Ogata, Y Takao, H Koga, H Nishida, S Okuda, T Sakamoto, M Sata.  
Granulocytapheresis (GCAP) for severe alcoholic hepatitis-A preliminary report. *Hepatology* 2006, 36: 229-236.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
今回の研究内容については特になし。

分担研究報告書

治療抵抗例に対する IFN-β + リバビリン併用療法の治療成績

分担研究者 西口修平 兵庫医科大学内科学 肝胆膵科 教授

研究要旨：PEG-IFN-α + RBV 併用治療にて初期のウイルス減少効果の乏しい C 型慢性肝炎に対して IFN-β 投与へ変更し抗ウイルス効果を評価した。Peg-IFN + RBV 併用治療抵抗例に対して治療開始 24 週以降 Peg-IFN 継続群と IFN-β 変更群を無作為に割り付け、臨床的効果を比較した。現時点の登録症例は 40 例であり、IFN-β への切り替え群 23 例、PEG-IFN 続行群 17 例である。IFN-β への切り替えによって、24 週以降 HCV RNA の 2log 以上の減少例が多く認められたが、ETR 率は変わりなかった。副作用に関しては、IFN-β への切り替え時点で再度発熱が見られた。しかし、全般的には PEG-IFN 続行群に比べて副作用の程度は軽度であった。特に、血小板数は IFN-β への切り替え後、PEG-IFN 投与時期に比べ増加した。IFN-β とリバビリン併用療法は Peg-IFN + RBV 併用療法と同等の抗ウイルス効果を有し、Peg-IFN の無効例や副作用で継続困難な症例において有用な治療法と考えられた。

共同研究者  
 垣内雅彦 三重大学消化器肝臓内科 助教授  
 田守昭博 大阪市立大学肝胆膵病態内科 講師  
 河田則文 大阪市立大学肝胆膵病態内科 教授

、20 週目でウイルスが陰性化しない症例を対象とした。本研究は、三重大学、大阪市立大学、兵庫医科大学の共同研究である。投与 20 週の時点で IFN-β 変更群（A 群）と Peg-IFN 継続群（B 群）とに無作為に割り付け、治療開始 24 週以降それぞれの治療を行った。IFN-β 変更群では兵庫医科大学が購入したリバビリンを、各施設の患者に供与した（図 1）。ヒト検体の取り扱いには、ヘルシンキ宣言とそれぞれの大学の倫理規定を遵守した。

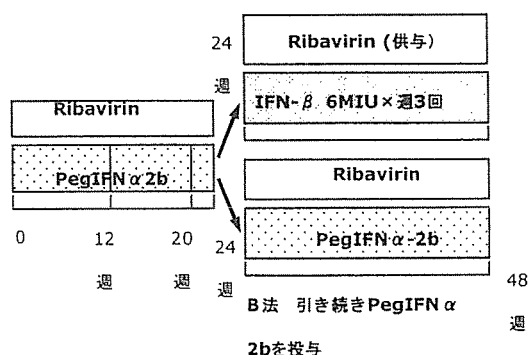
A. 研究目的

わが国では平成 16 年 12 月よりペグイントロンとリバビリン (RBV) の併用療法が認可されセログループ 1 かつ高ウイルス量を有する C 型慢性肝炎においても著効率（ウイルス消失率）は 50% を越えている。しかし本治療法でも、約 20% の患者では治療期間中一度もウイルス消失に至らない超難治例が存在する。今後、このようなペグイントロンとリバビリン (RBV) の併用療法の無効例に対する対策が重要である。今年度の臨床研究として PEG-IFN + RBV 併用治療に抵抗性の慢性肝炎患者に対する治療法を検討した。

B. 研究方法

C 型慢性肝炎 (1b, 高ウイルス量) を対象に Peg-IFN + RBV 併用療法を行い、治療開始後 12 週目でウイルス量が 2 log 以上減少しないか

図1 臨床研究のプロトコール



### C. 研究結果

現時点の登録症例数は、IFN-β 変更群が 23 例、Peg-IFN 継続群が 17 例である。患者背景については性別、年齢、体重、ヘモグロビン値、血小板値、ALT 値、過去の IFN 治療歴の有無、投与前の HCV-RNA 量（アンプリコア定量値；ハイレンジ法）に有意差がなかったが、IFN-β 切り替え群の方がやや若年でウイルス量が多い傾向にあった（表 1）。A 群では 19 例、B 群では 12 例において肝生検を行った。新犬山分類による組織学的評価は、活動性（A1/A2/A3）は、A 群では 3/15/1、B 群では 4/7/1 であり、線維化（F1/F2/F3/F4）は、A 群では 7/7/3/2、B 群では 2/4/4/2 であった。どちらの所見も両群間で有意差はなかった。

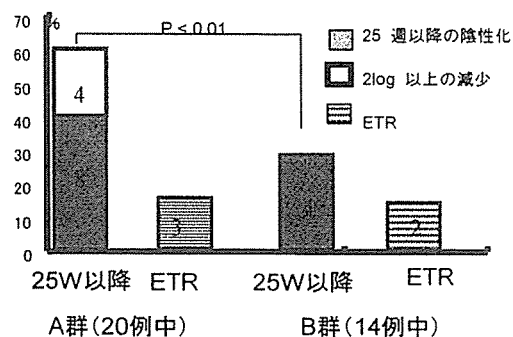
表 1 治療開始前の背景因子の比較

	A 群 (n=23)	B 群 (n=17)
男/女	12/11	9/8
年齢 (歳)	57.2 ± 8.8	60.5 ± 8.0
体重 (kg)	59.4 ± 9.9	60.5 ± 11.2
Hb (g/dL)	14.5 ± 1.4	13.6 ± 1.3
PLT (×10 <sup>4</sup> /μL)	15.2 ± 4.3	13.9 ± 4.2
ALT (IU/L)	60.7 ± 31.3	67.2 ± 39.0
IFN 治療歴	10/12	11/5
投与前 HCV-RNA 量	2410 ± 1280	2085 ± 1627
活動性 A1/A2/A3	3/15/1	4/7/1
線維化 F1/F2/F3/F4	7/7/3/2	2/4/4/2

投与 24 週目と 28 週目に血清を採取し、ウイルス量をリアルタイム PCR にて測定した。1log 以上の変動は、A 群では 15 例中上昇が 2 例、減少が 2 例であり、B 群では 12 例中 1 例が減少した。48 週の治療終了した症例は、現時点で A 群が 20 例、B 群が 14 例であり、25 週以降に 2log 以上 HCV RNA が減少した症例は A 群では 12 例であり、うち一度でも陰性化した症例は 8 例、投与終了時点の陰性化 (ETR) は 3 例であった。B 群では 25 週以降に

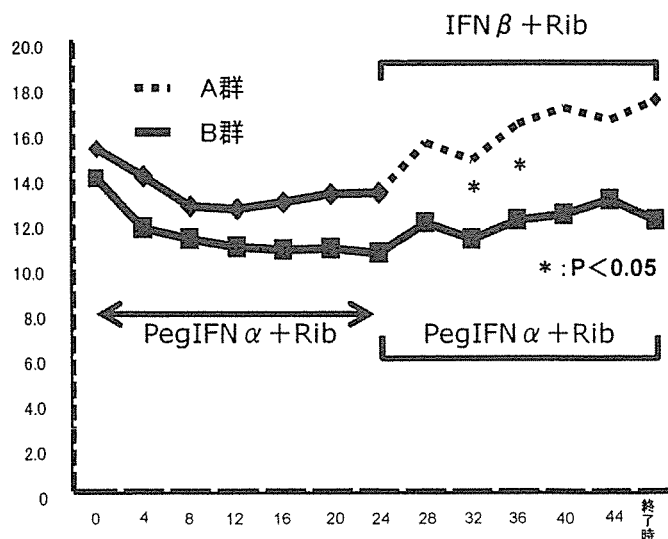
2log 以上 HCV RNA が減少した症例は 4 例であり、4 例全例が陰性化しており、そのうち治療終了時点の ETR は 2 例であった（図 2）。両群ともそれぞれ 1 例が治療終了後も HCV RNA が陰性を維持しているが、現時点ではともに終了後 6 ヶ月に至っておらず SVR とは判定でき

図 2 切り替え時点以降の HCV RNA の動態



副作用に関しては、IFN-βへの切り替え時点で再度発熱が見られた以外は、全般的には切り替え群は PEG-IFN 続行群に比べて副作用は軽度であった。特に、血小板数は IFN-βへの切り替え後、PEG-IFN 投与時期に比べ有意に増加した（図 3）。

図 3 投与中の血小板数の推移



治療の中断は、A群では23例中2例にみられた。B群では17例中3例が中断し、それ以外にリバビリンの減量が2例、IFNとリバビリンの両者減量が1例に認められた。

IFN-βとリバビリン併用療法はPeg-IFN+RBV併用療法と同等の抗ウイルス効果を有し、Peg-IFNの無効例や副作用で継続困難な症例において有用な治療法と考えられた。

#### D. 考察

PEG-IFNとリバビリンの併用療法に反応しない超難治例を対象に設定し、この臨床研究を行った。このような症例では、IFN-αに対する反応性が低いことが推定される。その原因の一つとして、抗IFN-α抗体が考えられ、このような場合はIFN-βへの切り替えが有効とされている。しかし、今回の参加症例では抗IFN-α抗体は1例も検出されていない。次に、IFN-αとIFN-βの作用の違いとして、投与経路に違いがあること、共通のレセプターに結合し抗ウイルス活性を発揮するが、両者のシグナル伝達における遺伝子発現パターンの差異が報告されている。このため、C型肝炎患者に対する抗ウイルス作用が両者のIFNで同等ではない可能性が示唆される。今回、IFN-αに低反応性であった肝炎患者ではIFN-βへの変更がHCV排除に繋がる可能性を期待して本研究を開始した。最終的な結論ではないが、現時点の成績では投与期間中のHCV量の減少は高率であったが、最終的なSVR率の向上は認められなかった。しかし、IFN-βとリバビリン併用への切り替えの安全性が明らかとなったことは臨床的に重要である。現在、標準的治療とされているPeg-IFN+RBV併用治療で抗IFN-α抗体が出現した場合や、副作用で中断を余儀なくされた場合には、IFN-βへの切り替えを治療の選択肢の一つとして考慮すべきである。

#### E. 結論

PEG-IFN-α+RBV低反応例の中にはIFN-βへの変更にてより良い抗ウイルス効果を示す例

が一部に存在するが、最終的なSVRには持ち込めなかった。しかし、IFN-βとリバビリン併用療法の安全性が実証された。今後、Peg-IFNに抵抗性を示す難治性C型肝炎例に対する対策として治療プロトコールについてさらに検討を加える必要がある。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Enomoto M, Tamori A, Nishiguchi S. et al.  
Interferon-beta plus ribavirin for patients with hepatitis C virus genotype 1: a randomised pilot trial.  
*Gut* 2006, 55:139-140.

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容に関しては特になし。

B型急性肝炎例におけるS領域のアミノ酸変異について

分担研究者 四柳宏 東京大学医学部附属病院感染制御部特任講師

研究要旨：B型肝炎ワクチンの有効性について検証すべく、B型急性肝炎症例と現行のワクチン3種類に用いられている株について、S領域のアミノ酸配列を検討した。対象44例のGenotypeの内訳はGenotype A 11例、Genotype B 11例、Genotype C 22例であった。ワクチンに用いられている3株中、ヘプタックスに用いられている株とビームゲンに用いられている株間ではS領域のアミノ酸が7個異なっていた。Genotype Aの11株間、Genotype Bの11株間でのアミノ酸配列はよく保存されていたが、Genotype Cの症例中4例には”a determinant”領域内の131番目のアミノ酸に立体構造を変えるアミノ酸置換が認められた。

結論として、①現行のワクチンの感染防御能は概ね良好であると考えられる。②異なるGenotype間では防御能力が落ちる可能性がある。③Genotype Cの一部の症例にワクチン防御能力が落ちる例がある可能性がある。

A. 研究目的

B型急性肝炎の患者総数は、定点観察や国立病院研究班の成績からは近年増加傾向にある。これは、日本人のウイルスキャリアからの感染に加え、主にCommercial Sex Workerからの感染例、さらには同性間での性交渉が原因と考えられている。こうした場合のHBV Genotypeは本邦にかねてから分布しているGenotype B及びCだけではなく、Genotype Aなど他のGenotypeの場合があることが既に示されている。

現在本邦には3種類のHBワクチン（ヘプタックス®、沈降B型肝炎ワクチン「明乳」®、ビームゲン®）がある。ヘプタックス®はGenotype Aのウイルス株から、沈降B型肝炎ワクチン「明乳」®及びビームゲン®はGenotype Cのウイルス株から作られたワクチンであり、本邦では後二者が主として用いられている。これらのワクチンで、急性肝炎の3割を占めるGenotype Aの感染が防御できるかどうか一定の見解がない。また、ワクチンからのエスケープ

変異株が急性肝炎の原因になっているかどうかも現在のところ不明である。

今回、以上の点に関し、B型急性肝炎症例と現行のワクチン3種類に用いられている株について、S領域のアミノ酸配列を調べることで検討を行った。

B. 研究方法

1992年から2005年にB型急性肝炎と診断された症例で、血清が保存されていた48例（男性34例、女性14例）について検討を行った。臨床像については、年齢・性・ALT最高値・HBV-DNA・HBV Genotypeについて検討した。HBV Genotypeは、A、B、C各Genotypeに対してS領域の全体を増幅できるプライマーを用いてNested PCRを行い、決定した。

Nested PCRで増幅したサンプルを用いてDirect Sequencingを行い、S領域のアミノ酸配列を決定し、CLUSTALWを用いて分子系統樹を作成した。

一部の症例に関し、GENETYX-MACを用いてa

determinant region の Hydrophobicity Plot を作成した。同部位のアミノ酸二次構造に関しても検討を行った。

## C. 研究結果

### (1) 臨床像

検討した 44 例中の Genotype 分布は、Genotype A 11 例 (男性 11 例)、Genotype B 11 例 (男性 8 例・女性 3 例)、Genotype C 26 例 (男性 15 例・女性 11 例) であり、Genotype A は Genotype C に比較して男性が多かった。

平均年齢は Genotype A  $30.6 \pm 7.5$  歳、Genotype B  $28.1 \pm 5.1$  歳、Genotype C  $31.1 \pm 9.1$  歳であり、Genotype 間に差異を認めなかった。

ALT 最高値は Genotype A  $1646 \pm 1123$  IU/L、Genotype B  $3085 \pm 1119$  IU/L、Genotype C  $2545 \pm 981$  IU/L であり、Genotype A は Genotype B 及び C に比較して ALT が低値であった。

HBV DNA 最高値は Genotype A  $6.8 \pm 1.7$  LGE/mL、Genotype B  $6.6 \pm 2.1$  LGE/mL、Genotype C  $5.2 \pm 1.2$  LGE/mL、であり、有意差を認めなかった。

### (2) 分子系統樹に関して

Genotype A の 11 例間、Genotype B の 1 例間では S 領域のアミノ酸配列の相同性は高かった。Genotype C の 26 例はいくつかのサブグループに分けることが可能であった。

(3) a determinant region のアミノ酸配列に関して

ワクチン製造に用いられる 3 株 (J02205 -Genotype A に属し、ヘプタバックス®の製造に用いられる、X01587 -Genotype C に属し、ビームゲン®の製造に用いられる、huGK-14 -Genotype C に属し、沈降 B 型肝炎ワクチン「明乳」®の製造に用いられる) のアミノ酸配列を (図 1) に示す。J02205 と X01587 との間はアミノ酸配列が 8 箇所 (110 番、113 番、114 番、126 番、131 番、143 番、160 番、161 番) 異な

っていた。

図 2 に J02205 と X01587 における a determinant region の Hydrophobicity Plot、図 3 にこれらワクチン製造株 2 株のアミノ酸二次構造を示す。2 株の Hydrophobicity 及びアミノ酸二次構造は互いに異なっていた。

Genotype A の 11 例中 9 例は、J02205 株と同一の配列を有していた。残る 2 株も 161 番目のアミノ酸置換 (チロシン→フェニルアラニン) を認めるのみであった。

Genotype B の 11 例中 10 例は、Genotype B 株である D00300 株と同一のアミノ酸配列を有していた。D00300 株は J02205 株との相同性が高く、114 番 (スレオニン→セリン)、131 番 (アスパラギン→スレオニン) のアミノ酸置換が認められるのみであった。

Genotype C の 26 例中 22 例は、X01587 株と同一の配列を有していた。残る 4 株は 131 番のアミノ酸置換 (スレオニン→プロリン 3 例、スレオニン→アラニン 1 例) が認められた。

スレオニン→プロリン及びスレオニン→アラニンのアミノ酸置換が起きた場合の Hydrophobicity Plot 及びアミノ酸二次構造は大きく異なっていた。

## D. 考察

母子感染事業が功を奏し、垂直感染による新規 HBV キャリアの発生は激減した。しかしながら、Genotype A という慢性肝炎への移行が起こりやすいウイルスの感染が広がってきている。B 型肝炎は肝硬変・肝細胞癌へ移行する危険性のある疾患であり、感染予防は非常に大切である。

現行の HB ワクチン製造株のうち、ヘプタバックス®と他の 2 株の間では a determinant 領域のアミノ酸配列が大きく異なっていた。8 箇所のうち、126 番と 145 番は Vaccine induced escape mutant でアミノ酸置換の認められる部位である。無論こうしたエスケープ変異株にお

けるアミノ酸配列とワクチン製造株間のアミノ酸配列は異なっている。しかしながら、エステープ変異株で変異の認められる部位は、免疫学的圧力の加わる部位であり、この部位のアミノ酸置換はHBs抗体との結合性を変える可能性がある。

Genotype C の症例のうち4例では131番のアミノ酸置換が認められた。この部位の変異の報告は少ない。特にアラニンへのアミノ酸置換は我々の調べ得た限り報告がない。131番目のアミノ酸はA determinantの作るループのほぼ中央に位置している。Hydrophobicity Plot 及びアミノ酸二次構造を変える変異が起こった場合、HBs抗体との結合性を変える可能性がある。

今後はGenotypeの異なる株、131番のアミノ酸置換の認められる株と各種のワクチンで作られるHBs抗体との結合性を調べる必要があるものと考えられた。

#### E. 結論

①Genotype A のB型急性肝炎は男性に多く、ALTの上昇が軽い。

②A determinant region のアミノ酸配列はGenotype間で最高8個異なる。これらの違いにより、アミノ酸の疎水性・親水性は異なる。また、アミノ酸の2次構造も異なる。アミノ酸置換のいくつかはVaccine induced Escape Mutantで認められるものと同じ部位のものである。

③Genotype C の131番の変異はアミノ酸の疎水性・親水性に加え、2次構造も変えるものと考えられる。

現行のワクチン1種類だけでは十分に感染防御ができない場合がある可能性がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 山田典栄, 四柳宏. ウイルス感染症 UPDATE 肝炎ウイルス わが国におけるB型急性肝炎の現状. 医学のあゆみ 2006:218;895-898.

2) Yotsuyanagi H, Koike K. Mechanisms underlying drug resistance in antiviral treatment for infections with hepatitis B and C viruses. J Gastroenterol 2007 in press.

##### 2. 学会発表

1) 四柳宏, 鈴木由佳, 小池和彦. B型肝炎に対する抗ウイルス療法(年齢等の背景因子と治療選択) HBV-DNA塩基配列に基づいたインターフェロン(IFN)療法の効果予測に関する検討: 第92回日本消化器病学会、小倉、2006.

2) 四柳宏, 新谷良澄, 小池和彦. 若年者におけるB型急性肝炎の実態: 第80回日本感染症学会、東京、2006.

3) 四柳宏, 青野淳子, 三好秀征, 藤江肇, 新谷良澄, 森屋恭爾, 奥瀬千晃, 鈴木通博, 安田清美, 飯野四郎, 小池和彦. B型肝炎の症例におけるB型肝炎ウイルスS領域の変異に関する検討 第10回日本肝臓学会大会 2006年 札幌

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

図 1: ワクチン製造株 3 種のアミノ酸配列 (a determinant 領域)

J02205 QGMLPVCPLIPGSTITTSTGPCKTCTTPAQGNSMFPSGCCTKPTDGNCTCIPSSWAFKYLW  
 X01587 -----L--TS-----I---T-----S-----RF--  
 huGK-14 -----L--T-----T-----S-----RF--

図 2 : J02205 (左図) と X01587 (右図) の Hydrophobicity Plot

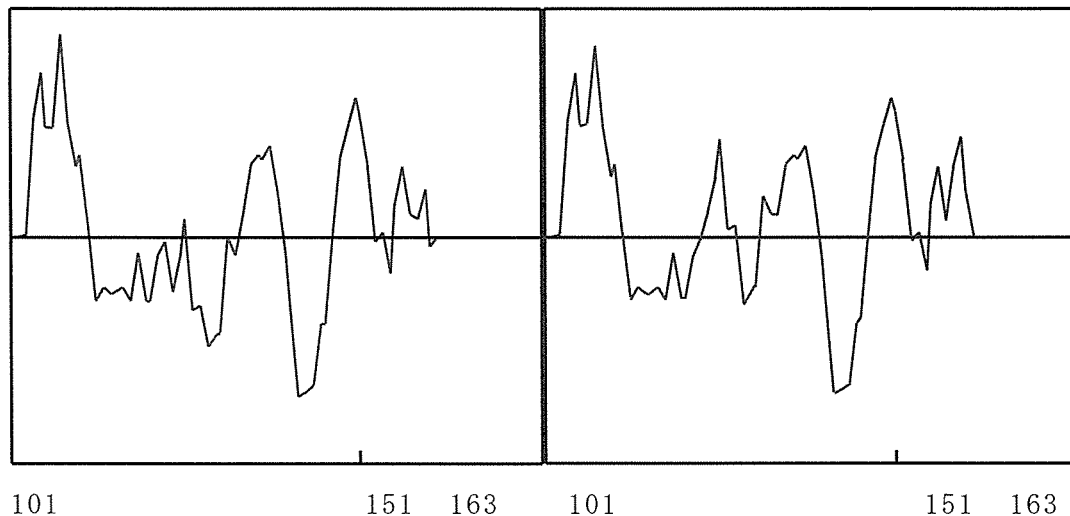
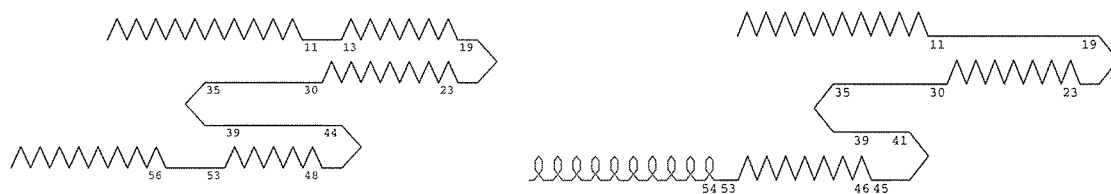


図 3 J02205 (左図) と X01587 (右図) のアミノ酸二次構造 (Chou-Fasman モデル)





B型慢性肝炎に対するラミブジン治療の有効性および薬剤耐性化と  
HBV genotype との関連性についての検討

分担研究者 折戸悦朗 名古屋市立大学大学院臨床機能内科 助教授

研究要旨：B型慢性肝炎に対し、核酸アナログ製剤であるラミブジンが広く使用されているが、長期に投与すると容易に薬剤耐性株が出現し、その有効性が低下する。今回、ラミブジンの治療効果とHBV genotype との関連の有無について検討した。年齢・性別をマッチさせた genotype Bj 型、Ba 型およびC型患者に対しラミブジンを2年間投与した。その結果治療有効性については、genotype B型とC型に差は見られなかったが、薬剤耐性化率は genotype C型が有意に高率であった。以上からラミブジン治療を行う際には、あらかじめHBV genotype を測定して治療の予後を予測し、その適応性を考慮していくことが重要であると考えられた。

共同研究者

菅内文中 名市大臨床機能内科 助手  
溝上雅史 名市大臨床分子情報医学 教授

歳と有意差はない。しかし、年齢性別をマッチさせても、それぞれの群の間では、HBe 抗原陽性率は16.7%、80.0%、79.4%と genotype Bj 型で有意にHBe 抗原陽性率は低率であった。

A. 研究目的

B型慢性肝炎に対する抗ウイルス治療として、核酸アナログ製剤であるラミブジンが広く使用されている。ラミブジンは強いウイルス増殖抑制効果を発揮するが、残念ながら長期投与を行うと高率に薬剤耐性化を起こしてくる。そこで、今回はラミブジン治療を行ったB型慢性肝炎症例について、その治療有効率と薬剤耐性化率がHBV genotype と関連するかどうかについて検討した。

B. 研究方法

(1) 対象症例

ラミブジンを継続的に2年間投与したB型慢性肝炎症例計67例を対象とした。内訳は年齢・性別をマッチさせたHBV genotype Bj型患者18例と、genotype Ba型患者15例、genotype C型患者34例を対象としてケースコントロールスタディを行った。人種は日本人47例で、中国人20例である。各 genotype 群の性別はすべて男性であり、平均年齢はそれぞれ43.4歳、40.5歳、43.2

(2) 方法

全例ラミブジン投与前に、ALT、HBV DNA 量、Pre-C 変異、Core promoter 変異、肝組織を検討し、その後2年間ラミブジンを継続投与した時点でのそれぞれのマーカーの変化とYMDD変異株を測定した。治療有効性の基準は、HBe 抗原陽性例では、ALTの正常化、HBV DNAの検出感度以下、セロコンバージョンがみられた場合を有効とし、HBe 抗原陰性例では、ALTの正常化、HBV DNAの検出感度以下がみられた場合を有効とした。全体としては、ALT正常化およびHBV DNA検出感度以下になった例を有効例とした。

また、HBV genotype については、restriction enzyme fragment length polymorphism 法にて検出した。また血中HBV DNA量はreal-time PCR法にて、YMDD変異株、Pre-C変異株、およびCore promoter 変異株はdirect sequence 法にて検出した。

## (倫理面への配慮)

臨床研究の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床研究を遂行した（新 GCP に遵守）。

## C. 研究結果

### (1) 治療有効性

3つの genotype Bj、Ba、C 型のそれぞれの群において、治療有効率は、61.0%、40.0%、38.2%であり、Bj 群にやや有効率が高い傾向が認められたが、統計学的には有意差は見られなかった。一方、HBe 抗原陽性例のみで比較すると、有効率は Bj 群では 66.7%、Ba 群は 33.3%、C 群では 29.6%で Bj 群が有意ではないが有効性が高率であった。しかし HBe 抗原陰性群で見ると、それぞれ 60.0%、66.7%、57.1%とまったく同率であった。genotype と関係なく HBe 抗原陽性例と陰性例で比較するとそれぞれ 33.3%、60.0%と有意に HBe 抗原陽性患者の方が有効率が低かった。

### (2) YMDD 変異株出現率

一方、ラミブジンを投与して2年経過後の血清中の YMDD 変異株の出現の有無を PCR 法にて検討したところ、genotype Bj 型では 27.8%、Ba 型では 13.3%であったのに対し、C 型では 50.0%と有意に高率に YMDD 変異株の出現が見られた。また、特に HBe 抗原陽性例での genotype 間の比較を行うと、Bj 型、Ba 型、C 型のそれぞれ 33.3%、8.3%、51.9%と genotype C 型できわめて高頻度に YMDD 変異株が出現することが示された。さらに、YMDD 変異株出現に有意に関連する因子を検討したところ、単変量解析では、年齢、血中 HBV DNA 量、Pre-C 変異の有無などが有意となったが、多変量解析を行うと genotype C 型であることのみが有意な因子として抽出された。

## D. 考察

ラミブジンの長期投与における治療有効率と耐性変異株出現率について、HBV genotype の違いによる影響の有無について検討した。その結果治療有効率については、各 genotype 間で有意差は見られなかったが、薬剤耐性変化である YMDD 変異株の出現率は HBV genotype C 型の群で有意に高率に出現した。したがって、genotype C 型ではラミブジンを長期に投与すると、高率に薬剤耐性化となり、またその結果としてその後治療有効性も低下してくると考えられた。genotype による薬剤耐性化の違いのメカニズムについては、まだ十分には検討されておらず不明であるが、逆転写酵素活性部位付近のアミノ酸配列の genotype による違いが見られるため、特定の genotype で容易に変異株が出現しやすくなる可能性も考えられたが、詳細については今後さらに検討を要すると考えられた。

また、現在その後に認可されたアデフォビル、エンテカビルなどのその他の核酸アナログ製剤についてもラミブジンよりは耐性化の頻度自体が低いが、同様に HBV genotype による薬剤耐性化の影響についても検討中である。

## E. 結論

B 型慢性肝炎患者に対し、ラミブジンを長期投与する場合は、HBV genotype による違いによって薬剤耐性化などの頻度が異なってくるため、genotype によっては、その適応や治療期間などを十分考慮して投与していくことが重要であることが考えられた。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Ito K, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Fujiwara K, Sugauchi F, Kato T, Tokita H, Izumi N, Kato M,

Yuen MF, Lai CL, Gish RG, Ueda R, Mizokami M. T1653 mutation in the box alpha increases the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus genotype C infection. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1-7.

2) Orito E, Fujiwara K, Tanaka Y, Yuen MF, Lai CL, Kato T, Sugauchi F, Kusakabe A, Kumada H, Sata M, Okanoue T, Niitsuma H, Sakugawa H, Hasegawa I, Mizokami M. A case-control study of response to lamivudine therapy for two years in Japanese and Chinese patients chronically infected with hepatitis B virus of genotypes Bj, Ba and C.

*Hepatology* 2006; 35: 127-134.

3) Ozasa A, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Kang JH, Hige S, Kuramitsu T, Suzuki K, Tanaka E, Okada S, Tokita H, Asahina Y, Inoue K, Kakumu S, Okanoue T, Murawaki Y, Hino K, Onji M, Yatsuhashi H, Sakugawa H, Miyakawa Y, Ueda R, Mizokami M. Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2006; 44: 326-334.

4) Sugauchi F, Orito E, Ohno T, Tanaka Y, Ozasa A, Kang JH, Toyoda J, Kuramitsu T, Suzuki K, Tanaka E, Akahane Y, Ichida F, Izumi N, Inoue K, Hoshino H, Iino S, Yotsuyanagi H, Kakumu S, Tomita E, Okanoue T, Nishiguchi S, Murawaki Y, Hino K, Onji M, Yatsuhashi H, Sata M, Miyakawa Y, Ueda R, Mizokami M. Spatial and chronological differences in hepatitis B virus genotypes from patients with acute hepatitis B in Japan. *Hepatology* 2006; 36: 107-114.

5) Sugiyama M, Tanaka Y, Kato T, Orito E, Ito K, Acharya SK, Gish R, Kramvis A, Shimada T, Izumi N, Kaito M, Miyakawa Y, Mizokami M. Influence of hepatitis B virus genotypes on the intra- and extracellular expression of viral DNA. *Hepatology* 2006; 44: 915-924.

6) Shinkai N, Tanaka Y, Orito E, Ito K, Ohno T, Hirashima N, Hasegawa I, Sugauchi F, Ueda R, Mizokami M. Measurement of hepatitis B virus

core-related antigen as predicting factor for relapse after cessation of lamivudine therapy for chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2006; 36: 272-276.

## 2. 学会発表

1) 折戸悦朗、田中靖人、溝上雅史. シンポジウム: B型慢性肝疾患に対するラミブジン治療反応性とHBV genotypeとの関連について. 第92回日本消化器病学会総会、2006年4月、小倉

2) 新海登、田中靖人、折戸悦朗、坂本知行、菅内文中、日下部篤宣、伊藤清顕、上田龍三、溝上雅史. B型慢性肝炎患者のラミブジン治療とHBV コア関連抗原の動態~Breakthrough とラミブジン中止後の non-relapse の予測~. 第92回日本消化器病学会総会、2006年4月、小倉

3) Orito E, Tanaka Y, Sugauchi F, Ito K, Mizokami M. Symposium: Epidemiology and Clinical Differences of Hepatitis B Virus Genotypes Worldwide: Difference of HBV genotypes and hepatocellular carcinoma in Asian countries.

International Symposium on HBV, 2006, Kyoto.

4) 坂本知行、田中靖人、Kurbanov Fuat、日下部篤宣、新海登、菅内文中、折戸悦朗、上田龍三、溝上雅史. B型肝炎ウイルス genotype B の分布とその起源. 第42回日本肝臓学会総会、2006年5月、京都

5) 小笹貴士、田中靖人、坂本知行、新海登、伊藤清顕、菅内文中、折戸悦朗、上田龍三、溝上雅史. B型急性肝炎における劇症化とHBV genotype, core promoter~precore 領域の変異の関連性. 第42回日本肝臓学会総会、2006年5月、京都

6) 菅内文中、折戸悦朗、伊藤清顕、坂本知行、新海登、日下部篤宣、杉山真也、Kurbanov Fuat、田中靖人、上田龍三、溝上雅史. 40歳以下の慢性B型肝炎ウイルス(HBV)キャリアから発症した肝細胞癌におけるHBV ウイルス全塩基配列の検討. 第42回日本肝臓学会総会、2006年5月、京都

7) 田中靖人、折戸悦朗、溝上雅史. シンポジウム：ウイルス肝炎進展因子の解明 HBV genotype によるウイルス増殖効率及び蛋白合成能の違い—複製モデルを用いて. 第10回日本肝臓学会大会、平成18年10月、札幌

8) 折戸悦朗、菅内文中、溝上雅史. パネルディスカッション：コンセンサスメーティング B型肝炎の治療. HBV genotype はB型肝炎患者に対するラミブジン治療に影響を与えるか. 第10回日本肝臓学会大会、平成18年10月、札幌

9) 坂本知行、田中靖人、杉山真也、日下部篤宣、新海登、菅内文中、折戸悦朗、上田龍三、溝上雅史. B型肝炎ウイルス genotype G の複製メカニズムの解明—キメラマウスを用いて. 第10回日本肝臓学会大会、平成18年10月、札幌

10) Sugauchi F, Orito E, Tanaka Y, Ozasa A, Kang JH, Toyoda J, Yotsuyanagi H, Iino S, Kuramitsu S, Akahane Y, Izumi N, Inoue K, Kakumu S, Tomitra E, Murawaki Y, Hino K, Onji M, Yatsushashi H, Sata M, Okanoue T, Nishiguchi S, Miyakawa Y, Mizokami M. Influence of hepatitis B virus genotypes as well as

precore and core promoter mutations on fulminant outcome of acute infection. The 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Oct, 2006, Boston, USA.

11) Sugiyama M, Tanaka Y, Takahashi S, Kato T, Ito K, Sakamoto T, Orito E, Mizokami M. Influence of hepatitis B virus genotypes on liver injury in vitro and in vivo. The 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Oct, 2006, Boston, USA.

12) Sakamoto T, Tanaka Y, Sugiyama M, Ito K, Sugauchi F, Orito E, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Replication of hepatitis B virus genotypes G requires co-infection with other genotypes in UPA/SCID mice carrying human hepatocytes. The 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Oct, 2006, Boston, USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。