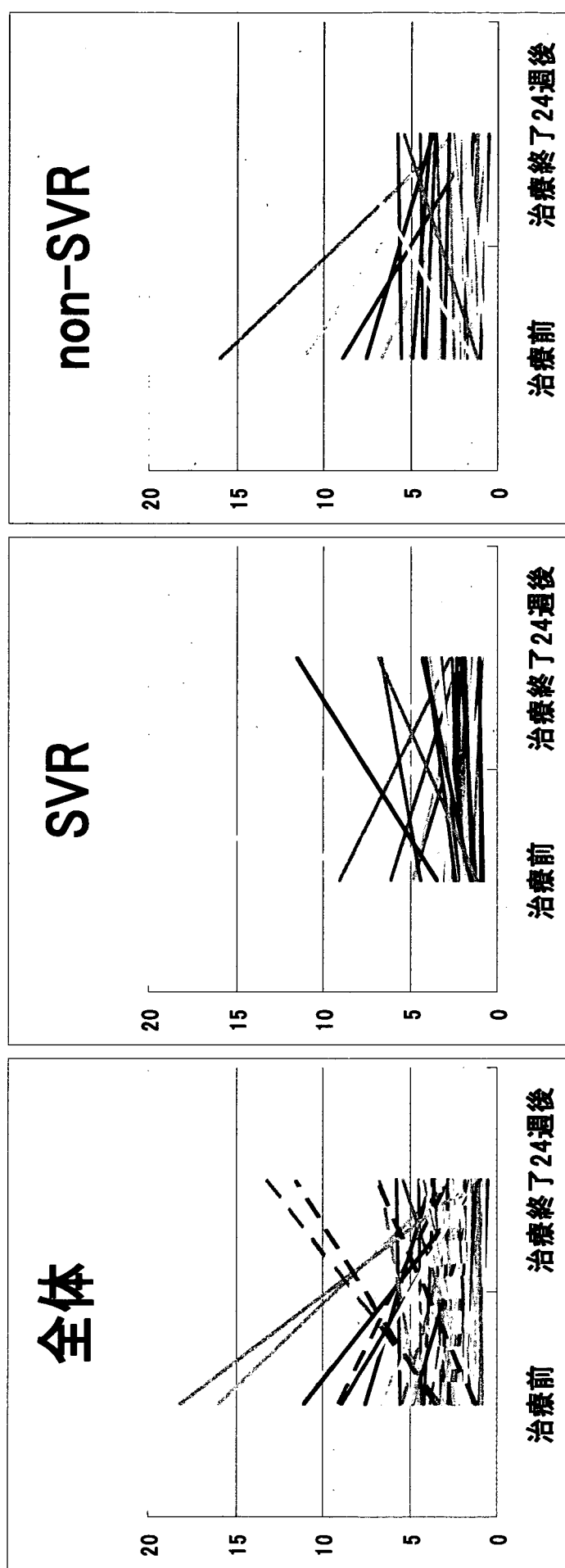


図3 治療前後のHOMA-IRの変化



$p = 0.022$

$p = 0.138$

$p = 0.083$

肝炎ウイルス感染の肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究
分担研究報告書C型肝炎の肝外病変(悪性リンパ腫・肺線維症・脂質/糖代謝)の
検討と対策

分担研究者 熊田 博光 国家公務員共済組合連合会虎の門病院分院長

研究要旨：HCV 感染と肺線維症・悪性リンパ腫・脂質/糖代謝について検討した。HCV はHBV よりも肺線維症の出現頻度が高く、年齢・Smoking index・肝線維化がHCV の肺線維症出現に寄与する独立要因であった。また肺線維症の早期診断にKL-6が有用であった。HCV でIFN 治療群は無治療群よりも悪性リンパ腫の出現頻度が低く、特にHCV 排除群では出現頻度が低下した。この様に肺線維症・悪性リンパ腫は肝外病変として重要で、抗HCV 療法を含めた対策が必要である。HCV core aa70・91置換を有する症例(non double wild type)は無い症例よりもHOMA-IRは高値で、累積肝発癌率も高率であった。更に、PEG-IFN/RBV 併用療法NVRに寄与する独立要因で、Core aa70・91置換・AFP・LDL-Cは重要な要因であった。PEG-IFN/RBV 併用療法無効要因と肝病態進行メカニズムの間には糖・脂質代謝要因が重要な位置を占めており代謝要因をターゲットとした抗HCV 療法の重要性が示唆される。

A. 研究目的

HCV に由来する種々の病変としては肝硬変・肝癌以外に、肺・腎臓・リンパ系といった肝外病変が存在する。今回はHCV の肝外病変と脂質/糖代謝への影響を抗HCV 療法に及ぼす影響も含めて検討する。特に、HCV 感染と肺線維症・悪性リンパ腫・脂質/糖代謝について詳細に検討した。

B. 研究方法

(検討1)HCV と肺線維症の検討。HBV 2050例:HCV 6150例(計8200例)の1:3で対象を選択した。年齢・性別をmatchingさせてHCV とHBV の肺線維症の累積出現率を比較検討する(Log-rank test)。HCV で肺線維症出現

に寄与する独立要因を多変量解析で求める(Cox proportional hazard model)。肺線維症の早期診断の為に血清LDH, CRP, KL-6の推移を評価する。

(検討2)HCV と悪性リンパ腫の検討。対象はHCV 3209例(IFN 治療歴の無い501例と治療歴の有る2708例)。IFN 治療歴の有無別、又はHCV 排除の有無別に悪性リンパ腫の累積出現率を比較検討する(Log-rank test)。

(検討3)HCV と脂質/糖代謝(抗HCV 療法に及ぼす影響)の検討。対象はPEG-IFN/RBV 併用療法48週間(PEG-IFN α 2b 1.5 μ g/kg/週, RBV 11.0mg/kg/日の投与量中央値)を施行した genotype 1b・高ウイルス量(≥ 100 KIU/mL)の292例と、genotype 1bでIFN

単独療法導入後 15 年以上の長期経過観察された 313 例。HCV core aa70・91 置換の糖代謝 (HOMA-IR) と累積肝発癌率 (Log-rank test) への影響の検討と、代謝要因を含めた PEG-IFN/RBV 併用療法効果予測因子を検討する。

上記施設において各テーマごとの成績の集積と解析を行った。これらの治療法、各種代謝要因として、糖代謝要因としては空腹時血糖、空腹時インスリン、HOMA-IR を検討。脂質代謝要因としては Total cholesterol(TC), HDL-C, LDL-C, 中性脂肪, body mass index(BMI), 肝細胞脂肪化, Adipocytokine(adiponectin・leptin・resistin) を検討。その他、鉄代謝要因の血清鉄、血清フェリチンと尿酸も検討。HOMA-IR・Adipocytokine は評価可能な連続 75 例を検討する。治療効果判定は治療中に HCV RNA が陰性化しない症例を Non virological responder (NVR) として、治療前 31 要因を用いて多変量解析 (Logistic regression analysis) を行い NVR に寄与する独立要因を多方面から検討した。Core region はダイレクトシーケンス法でアミノ酸配列を決定し、double wild type (aa70:arginine かつ aa91:leucine) とそれ以外に分類して解析を行った。

(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

(検討 1) HCV の累積肺線維症出現率は観察開始後 10 年 0.2%, 20 年 0.6% に対して、HBV は 20 年まで 0% であった ($p=0.024$)。HCV 由来の肺線維症出現に寄与する独立因子は年齢 55 歳以上 ($p<0.001$)、Smoking index 20 以上 ($p=0.003$)、肝硬変 ($p=0.023$) の 3 因子であった。

肺線維症診断以前の各種マーカーの異常率は、肺線維症診断の 2 年前で LDH 13%, CRP 0%, KL-6 63%、診断時には LDH 75%, CRP 63%, KL-6 100% であった。

(検討 2) HCV で IFN 無治療群の累積悪性リンパ腫出現率は 0.23%/年であり、これは健常人の 0.008%/年という報告よりも高率であった。また、IFN 治療群では 0.06%/年であり無治療群と比較して低率であった。特に、HCV 排除群では 15 年まで 0% と有意に低率であった ($p=0.0159$)。

(検討 3) HCV core aa70・91 置換を有する症例 (non double wild type) は無い症例よりも有意に HOMA-IR が高値であり (Mann-Whitny U test; $p=0.007$)、累積肝発癌率も non double wild type で有意に高率であった ($p=0.036$)。更に、PEG-IFN/RBV 併用における NVR は 29%。NVR に寄与する独立要因は、Core aa70・91 置換 (non double wild type) ($p=0.001$)、AFP ($>10 \mu\text{g/L}$) ($p=0.002$)、ALT ($<100 \text{ IU/L}$) ($p=0.021$)、LDL-C ($<100 \text{ mg/dL}$) ($p=0.026$)、 γ GTP ($>109 \text{ IU/L}$) ($p=0.027$)、性別 (女性) ($p=0.045$) の 6 因

子であった。

D. 考察

肺線維症・悪性リンパ腫は HCV 肝外病変として重要であり、抗 HCV 療法を含めた対策が必要である。また、PEG-IFN/RBV 併用療法無効要因と肝病態進行メカニズムとの間には糖・脂質代謝要因が重要な位置を占めておりこれら代謝要因をターゲットとした治療の重要性が示唆される。

E. 結論

(検討 1) C 型肝炎は B 型肝炎と比較して肺線維症の合併頻度が高く、KL-6 は早期診断に有用である。(検討 2) C 型肝炎は悪性リンパ腫の合併頻度が高く、HCV 排除は悪性リンパ腫の頻度を減少させる。(検討 3) HCV core aa70・91 置換はインスリン抵抗性、肝発癌に影響する可能性が示唆された。更に、PEG-IFN/RBV 併用療法の無効要因として Core aa70・91 置換と脂質要因は重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Arase Y, Ikeda K, Suzuki Y, Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Sezaki H, Hosaka T, Yatsuji H, Kawamura Y, Kobayashi M, Kumada H. Serum KL-6 level is elevated in chronic hepatitis C patients with combination therapy of pegylated interferon and ribavirin. Intern Med 2007;46:1155-1160.
- 2) Kawamura Y, Ikeda K, Arase Y, Yatsuji H, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki F, Suzuki Y, Kumada H. Viral elimination reduces incidence of malignant lymphoma in

patients with hepatitis C. Am J 2007;120:1034-1041.

- 3) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Miyakawa Y, Kumada H. Prediction of response to pegylated interferon and ribavirin in hepatitis C by polymorphisms in the viral core protein and very early dynamics of viremia. Intervirology 2007;50:361-368.
- 4) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Predictive factors of early and sustained responses to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b: Amino acid substitutions in the core region and low-density lipoprotein cholesterol levels. J Hepatol 2007;46:403-410.
- 5) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Predictors of viral kinetics to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. J Med Virol 2007;79:1686-1695.
- 6) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are the important predictor of hepatocarcinogenesis. Hepatology 2007;46:1357-1364.
- 7) Okamoto K, Akuta N, Kumada H, Kobayashi M, Matsuo Y, Tazawa H. A nucleotide

sequence variation detection system for the core region of hepatitis C virus-1b. J Virol Methods 2007;141:1-6.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

今回の研究内容については特になし。

肝炎ウイルス感染の肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究
分担研究報告書

慢性肝炎、インスリン抵抗性、慢性腎臓病に関する研究

分担研究者 石坂 信和 東京大学医学部附属病院・特任講師

研究要旨

人間ドック受診症例のデータを検討し、慢性肝炎ウイルス感染と、慢性腎臓病の関連について、インスリン抵抗性も考慮して検討した。2004年から2006年までの間に受診した12535症例(男性8054、女性4481)を対象とした。HBsAg陽性、HcAg陽性を、130症例(1.0%)、72症例(0.6%)に認めたが、腹部超音波上、肝硬変の所見を有するものは存在しなかった。肝炎陰性症例に比較して、HcAg陽性症例は、アルブミン尿、推定糸球体ろ過率(eGFR)の低下の頻度が高く、年齢、性別を調整因子としたロジスティック回帰分析ではHcAg陽性のアルブミン尿に対するオッズ比は1.86(95%CI 1.02-3.37, P<0.05)、eGFR低下に対するオッズ比は1.64(95%CI 0.96-2.82, P<0.1)であり、HcAg陽性はアルブミン尿、eGFRの低下のいずれの頻度も増加する可能性が示された。また、HOMA-IRを調整因子を加えた検討においても、統計的には弱くなるものの、基本的には、同様の傾向が認められた。一方、HBsAg陽性は、アルブミン尿、eGFRの低下のいずれの頻度も増加していなかった。慢性C型肝炎と、慢性B型肝炎感染症では、慢性腎臓病に対するリスクが異なる可能性があると考えられる。

A.研究目的

以前われわれは、人間ドック受診症例のデータを検討し、慢性肝炎ウイルス感染が、インスリン抵抗性や動脈硬化のリスクを上昇する可能性について示してきた。今回われわれは、B型、C型慢性肝炎感染と慢性腎臓病の関連について検討した。

B.研究方法

(1) 三井記念病院総合健診センターを受診し、アルブミン尿定量を含む健康評価を行った症例を対象とした。

(2) 推定GFR(eGFR)が60 mL/min/1.73m²または、アルブミン尿量

が、30 mg/[1gの尿クレアチニン]以上場合に慢性腎臓病(Chronic kidney disease, CKD)あり、と判断した。実際には、eGFRの低下と、アルブミン尿は別の現象であるため、慢性肝炎との関連においては個別に解析した。

(3) また、CKDと動脈硬化の関連も並行して検討し、慢性肝炎→CKD→動脈硬化性疾患という関連が存在するかどうかについて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究の疫学的検討では、個人情報を取り

扱いがあるため、健診が施行されている三井記念病院、およびデータ解析がなされる東京大学医学部において同内容について申請し、倫理審査委員会を通過している。

また、健診受診者に対して、データ解析をさせていただきと、非同意の場合にはエントリーしない条件を担保しており、インフォームドコンセントの観点からも十分な対応をするように配慮している。

C. 研究結果

(1) 2004年から2006年までの間に受診した12535症例(男性8054、女性4481)を対象とした。このうち、HBsAg陽性、HCcAg陽性を、それぞれ130症例(1.0%)、72症例(0.6%)に認めた。両者が陽性の症例は存在しなかった。

(2) HCcAg陽性症例では、肝炎陰性症例に比較して、血小板数が有意に低下していた。本検討では、1例を除き、すべての肝炎陽性症例は腹部超音波を施行されており、肝硬変は指摘されていない。また、腹部超音波を施行されなかった症例の血小板数は25400であり、肝硬変を合併しているとは考えにくいと判断された。

(3) 対象群のうち、アルブミン尿を1179症例(9.4%)に、また、eGFRの低下を1922症例(15.3%)に認めた。

(4) 肝炎陰性症例に比較して、HCcAg陽性症例は、アルブミン尿、eGFRの低下の頻度が高かった。年齢、性別を調整因子としたロジスティック回帰分析を行った。

HCcAg陽性の各従属因子に対するオッズ比は

アルブミン尿 1.86 (95% CI 1.02-3.37, $p<0.05$)

eGFR低下 1.64 (95% CI 0.96-2.82, $p<0.1$)であった。

一方、HBsAg陽性は、アルブミン尿/eGFR低下のリスクを上昇しているとはいえなかった。

(5) インスリン抵抗性亢進は、アルブミン尿の危険因子であることが知られている。そこで、HCcAg陽性、および、HBsAg陽性のインスリン抵抗性に対するリスクを解析しなおした。

インスリン抵抗性亢進は、HOMA-IRが最高の四分位に属している場合としたが、四分位は、男女別に判断した。インスリン抵抗性亢進(=最高のHOMA-IR四分位)は男性でHOMA-IR 2.06以上、女性で1.39以上であった。性別、年齢補正後のHCcAg陽性、および、HBsAg陽性のインスリン抵抗性亢進に対するオッズ比は、それぞれ、3.18 (95% CI 1.99-5.05, $P<0.001$)、1.57 (1.09-2.26, $P<0.05$)と有意であった。

一方、HCcAg陽性、および、HBsAg陽性のメタボリックシンドロームに対するオッズ比は、0.23 (95% CI 0.06-0.95 $P<0.05$)、1.09 (0.34-1.86, $P=0.75$)であった。よって、HCcAg陽性は、インスリン抵抗性を亢進する一方、糖・脂質代謝異常などのメタボリックシンドロームの表現型はむしろとりにくいということが明らかになった。

(6) (4)で行ったロジスティック回帰分析に

対し、交絡因子として作用する可能性のある、血圧、血糖、HOMA-IR を調整因子として加えて、検討しなおした。その結果、HCcAg 陽性の各従属因子に対するオッズ比は

アルブミン尿 1.67 (95% CI 0.88-3.19, P=0.12)

eGFR 低下 1.58 (95% CI 0.92-2.72, P<0.1)

と統計的には関連が弱くなっていたものの、HOMA-IR 調整前と基本的には同様の傾向を認めた。

一方、同様の調整因子を用いた検討においても、HBsAg 陽性は、アルブミン尿/eGFR 低下のリスクを上昇しているとはいえなかった。

D. 考察

今回の検討では、人間ドック受診症例において、HCcAg 陽性は、アルブミン尿や、eGFR 低下のリスクを上昇させる可能性が示唆された。また、特にアルブミン尿に関しては、HCV 感染によるインスリン抵抗性の増大が背景因子と指定存在している可能性が示唆された。インスリン抵抗性は、HOMA-IR の増加、すなわち、高インスリン血症として認識されるが、HCcAg 陽性症例では、インスリン抵抗性が亢進していながら、メタボリックシンドロームの表現型をとることは、むしろ少ない、という点には症例の管理上注意を要するものと考えられた。

すなわち、このことは糖・脂質代謝関連データがメタボリックシンドロームのレンジにない症例でも、インスリン抵抗性増加が

CKD の増悪因子となっている可能性があることを意味している。そのような症例に対しどのようにアプローチをしていくのかについては、今後の検討を要するだろう。

一方HCcAg 陽性と異なり、HBsAg 陽性は、アルブミン尿/eGFR 低下のリスクを上昇していないことが明らかになった。HCcAg 陽性症例の方がより高齢であり、また、ALT 値が高かったことなども影響している可能性がある。しかしながら、性別、年齢、ALT 値や、HOMA-IR などを調整因子として検討した後においても、HCcAg 陽性とHBsAg 陽性とCKDのコンポーネントの関連が異なっているように観察される。

E. 結論

人間ドック受診症例において、(肝硬変を伴わない)HCcAg 陽性は、アルブミン尿、eGFR の低下のリスクを増大する可能性がある。一方、HBsAg 陽性には、そのような関連は認められない。

HCcAg 陽性は、インスリン抵抗性を亢進するが、メタボリックシンドロームの表現型はむしろ減少する。

F. 研究発表

【論文発表】

1. Nobukazu Ishizaka, Kan Saito, Kyoko Furuta, Gen Matsuzaki, Kazuhiko Koike, Eisei Noiri, Ryozo Nagai. Angiotensin II-induced regulation of the expression and localization of iron metabolism--Related genes in the rat kidney. Hypertension Res

- 2007;30(2):195-202.
2. Nobukazu Ishizaka. Carotid ultrasonography in general health screening : Noninvasive assessment of early atherosclerosis. Ningen Dock 2007; 21(6):41-49.
 3. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Hideki Hashimoto, Ryozo Nagai, Minoru Yamakado. Higher serum uric acid is associated with increased arterial stiffness in Japanese individuals. Atherosclerosis 2007;192(1):131-137.
 4. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ryozo Nagai, Ei-ichi Toda, Hideki Hashimoto, Minoru Yamakado. Association between serum albumin, carotid atherosclerosis, and metabolic syndrome in Japanese individuals. Atherosclerosis 2007; 193(2):373-379.
 5. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-ichi Toda, Ryozo Nagai, Minoru Yamakado. Is metabolic syndrome a risk factor for carotid atherosclerosis in normotensive and prehypertensive individuals? Journal of Atherosclerosis and Thrombosis 2007;14(2):72-77.
 6. Yuko Ishizaka, Nobukazu Ishizaka, Minoru Yamakado. Albuminuria in general health screening in Japan --- Relationship with insulin resistance and atherosclerosis. Ningen Dock 2007;21(6):51-55.
 7. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Ryozo Nagai, Minoru Yamakado. Association between cigarette smoking and white blood cell count, and metabolic syndrome defined by Japan criteria in Japanese men. Internal Medicine 2007;46(15): 1167-1170.
 8. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Ryozo Nagai, Kazuhiko Koike, Hideki Hashimoto, Minoru Yamakado. Relationship between smoking, white blood cell count and metabolic syndrome in Japanese women. Diabetes Res Clin Pract 2007;78(1):72-76.
 9. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Ryozo Nagai, Hideki Hashimoto, Minoru Yamakado. Comparison of several metabolic syndrome definitions with relation to early carotid atherosclerosis in Japanese men. Atherosclerosis 2007;195(2):e216-217.
 10. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Kazuhiko Koike, George Seki, Ryozo Nagai, Minoru Yamakado. Association between chronic kidney disease and carotid intima-media thickening in individuals with hypertension and impaired glucose metabolism. Hypertension Res 2007;30(11):1035-1041.

11. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Kazuhiko Koike, George Seki, Ryozo Nagai, Minoru Yamakado. Association between obesity and chronic kidney disease in Japanese: Difference in gender and hypertensive status? *Hypertension Res* 2007;30(11):1059-1064.
 12. Nobukazu Ishizaka, Gen Matsuzaki, Kan Saito, Kyoko Furuta, Ichiro Mori, Ryozo Nagai. Downregulation of klotho gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Geriatrics & Gerontology International* 2007; 7: 221-228.
 13. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Kazuhiko Koike, Minoru Yamakado, Ryozo Nagai. Are serum carcinoembryonic antigen levels associated with carotid atherosclerosis in Japanese men? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28(1):160-165.
 14. Daiju Fukuda, Masataka Sata, Nobukazu Ishizaka, Ryozo Nagai. Critical role of bone marrow angiotensin II type 1 receptor in the pathogenesis of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(1):90-96.
 15. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, Ei-Ichi Toda, Hiroji Shimomura, Kazuhiko Koike, George Seki, Ryozo Nagai, Minoru Yamakado. Association of cigarette smoking with chronic kidney disease in Japanese men. *Hypertension Res* 2008 in press.
 16. Nobukazu Ishizaka, Yuko Ishizaka, George Seki, Ryozo Nagai, Minoru Yamakado, Kazuhiko Koike. Association between hepatitis B/C viral infection, chronic kidney disease and insulin resistance in individuals undergoing general health screening. *Hepatology Research* 2008 in press.
 17. 石坂信和、山門実. 至適、正常、正常高値血圧者のメタボリックシンドロームと頸動脈硬化. *血圧* 2007;14(2): 24-25.
 18. 石坂信和、石坂裕子、遠田栄一、橋本秀樹、永井良三、山門実. 日本人において血清尿酸値の上昇は動脈スティフネスの亢進と関連している. *Arterial Stiffness* 2007;12:100-101.
 19. 石坂信和. メタボリックシンドロームの診断基準と頸動脈肥厚の関連について. *血圧* 2007;14(9): 35-38.
 20. 石坂信和. 肥満がひき起こすメタボリックシンドローム. *現代化学* 2007;440(11): 12-17.
- 【学会発表】
1. Nobukazu Ishizaka, Kan Saito, Kyoko Furuta, Gen Matsuzaki, Ryozo Nagai. Altered iron homeostasis as an underlying

- mechanism of Angiotensin II-induced cardiovascular damage. 2nd Congress of International BioIron Society (BioIron 2007), 2007.
2. Nobukazu Ishizaka, Kan Saito, Kyoko Furuta, Gen Matsuzaki, Ryozo Nagai. Regulation of iron metabolism-related genes in the kidney by angiotensin II. 2nd Congress of International BioIron Society (BioIron 2007), 2007.
 3. Nobukazu Ishizaka, Toru Aizawa, Kan Saito, Kyoko Furuta, Gen Matsuzaki, Ryozo Nagai. Angiotensin II induces upregulation of heme oxygenase-1 and deposition of iron in the kidney of rat---possible link to oxidative stress and cellular apoptosis. 2nd Congress of International BioIron Society (BioIron 2007), 2007.
 4. 石坂信和, 坂本愛子, 齋藤 幹, 武田憲文, 平田泰信, 永井良三. FDG-PET が診断、治療効果判定に有用であった後腹膜線維症の一例. 第 17 回日本心血管画像動態学会、東京、2007.
 5. Kan Saito, Nobukazu Ishizaka, Ryozo Nagai. Upregulation of PDGF and its receptor in renal cells containing lipid deposits in Angiotensin II-infused rats. 第 71 回日本循環器学会総会・学術集会、神戸、2007.
 6. 石坂信和, 永井良三. アンジオテンシン II 投与動物モデルにおける脂質代謝障害と臓器障害について. 第 8 回 Aging Science Forum、大阪、2007.
 7. 石坂信和, 石坂裕子, 山門 実, 永井良三. 慢性腎臓病は頸動脈硬化の危険因子か. 第 55 回日本心臓病学会学術集会、浦安、2007.
 8. 石坂裕子, 石坂信和, 山門 実. アルブミン尿は早期動脈硬化病変の危険因子か. 第 55 回日本心臓病学会学術集会、浦安、2007.
 9. 石坂信和, 石坂裕子, 永井良三, 山門実. 慢性腎臓病が高血圧と頸動脈壁肥厚の関連におよぼす影響の検討. 第 30 回日本高血圧学会、沖縄、2007.
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)
1. 特許取得 現時点では、なし
 2. 実用新案登録 現時点では、なし
 3. その他 現時点では、なし

肝炎ウイルス感染の肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究
分担研究報告書

C型慢性肝炎に対する
ペグインターフェロン(Peg-IFN)- α 2b・リバビリン(RBV)併用療法と
耐糖能異常の関連について

分担研究者	林 純	九州大学病院	総合診療部(感染環境医学)	教授
研究協力者	古庄 憲浩	九州大学病院	総合診療部	
	澤山 泰典	九州大学病院	総合診療部	
	村田 昌之	九州大学病院	総合診療部	
	前田 晋至	九州大学病院	総合診療部	
	武岡 宏明	九州大学病院	総合診療部	
	豊田 一弘	九州大学病院	総合診療部	
	大西 八郎	九州大学病院	総合診療部	

九州大学関連肝疾患研究会 (Kyushu University Liver Disease Study, KULDS)

研究要旨 C型慢性肝炎に対する Peg-IFN- α 2b・RBV 併用療法において、ウイルス血症消失(SVR)と耐糖能異常との関連について検討した。対象は、2004年12月より2007年2月までに登録され、同併用48週間療法を導入され、治療開始後24週間以上経過したC型慢性肝炎で、治療終了後6ヶ月以上経過した147例(HCV 1型103例、HCV 2型44例)である。治療前に空腹時の血糖、インスリン値、HOMA-IRにより耐糖能異常を評価し、前向きにSVR(Intention-To-Treat 解析)との関係を検討した。HCV 1型103例中のSVR率は62例、60.2%で、2型44例中の37例、84.1%であった。HCV genotype 1において、治療前HOMA-IR 異常(>2.5)を有する47例の治療中血清HCV RNA 消失率85.1%およびSVR率38.3%は、HOMA-IR 正常(<2.5)56例の96.4%および78.6%と比べ、治療中HCV 消失率に差はないが、SVR率において有意に低率であった。HCV genotype 2において、治療前HOMA-IR 異常(>2.5)を有する11例の治療中血清HCV RNA 消失率90.9%およびSVR率63.6%は、HOMA-IR 正常(<2.5)33例の100%および90.9%と比べ、有意差はないが、治療中HCV 消失率およびSVR率いずれも低率であった。C型慢性肝炎に対するPeg-IFN・RBV 併用療法において、特にgenotype 1型においてインスリン抵抗性が治療効果に関与することが示唆された。

A. 目的

C型肝炎ウイルス (HCV) 持続感染によりC

型慢性肝炎は引き起こされ、緩徐に進行して肝硬変、肝臓癌に至る。一方、HCV持続感染により、クリオグロブリン血症、慢性甲状腺炎、膜性増殖性糸球体腎炎、口腔扁平苔癬などの肝外病変も生じうる。

肝外病変のなかでも糖尿病・耐糖能異常は、疫学、臨床、基礎研究においてHCV持続感染との関連が解明されており、その原因として、HCV感染そのものに伴うインスリン抵抗性の増大が報告されている。

HCV が発見された 1989 年以降、多くの基礎および臨床研究により、C型肝炎に対する抗ウイルス療法の進歩について年々知見が広がっている。抗ウイルス療法として、インターフェロン(IFN)製剤の単独療法はHCV排除には限界があったが、その後研究された、広い抗ウイルス作用をもつリバビリン(RBV)をIFNと併用することにより、HCV排除(sustained virological response: SVR)率は高まった。C型肝炎から肝硬変への進行の抑制および肝臓癌発症予防するために、HCV血症の消失ーウイルス排除(SVR)ーは究極の目的である。現在、最も有効な抗ウイルス療法として、ペグインターフェロン(Peg-IFN)とRBVを併用する治療で、本併用治療により、HCV genotype 1型感染例のSVR率は、以前のIFN単独の約5%から40-60%へ、HCV genotype 2型感染例において、IFN単独の約40%から60-90%へと飛躍的に上

昇した。しかし、本治療には、1型かつ高HCV RNA量HCV感染のSVR率が低く、その効果は満足するものではない。

今回、C型肝炎に対するPeg-IFN- α 2b・RBV併用療法において、SVRと耐糖能異常との関連について検討した。

B. 方法

対象は、九州大学関連肝疾患研究会(Kyushu University Liver Disease Study, KULDS)において2005年1月から2006年12月までの間に、Peg-IFN α 2b・RBV併用療法を導入され、治療終了24週間を経過しSVRを判定できたC型肝炎147例(HCV 1型 103例、2型 44例)で、男性 101例、女性 46例、平均年齢 52.0 ± 11.3 才であった。Peg-IFN α 2b・RBV併用療法の治療期間は、HCV 1型で48週間、2型で24週間であった。ただし、治療によるSVRへの影響を排除するため、Peg-IFN- α 2b規定投与量80%以上かつRBV規定投与量60%以上の十分な投与量が、治療初期の12週間および全週間いずれにおいても実現できた例を解析対象とした。

飲酒によるアルコール性肝障害や肥満による非アルコール性脂肪肝炎の影響を排除し、HCV感染による直接的な関与と耐糖能、インスリン抵抗性との関連を評価するために、常時飲酒(日本酒換算2合/日以上)例やBMI 28以上の肥満例は、対象から除外した。

血清HCV RNA量(kIU/ml)はアンプリコアPCR法(COBAS v2.0®, Roche

Diagnostics Systems)で測定した。

耐糖能異常の評価には、空腹時空腹時血糖(PG)値(mg/dl)、空腹時インスリン(IRI)値(μ U/ml)、およびHOMA-IR (mg/dl \cdot μ U/ml) (空腹時PG X 空腹時インスリン \div 405)を用いた。HOMA-IR $>$ 2.5を異常値とした。

全対象147例中、負荷試験により食後耐糖能異常を評価できた77例(HCV 1型 51例、2型 26例)に対して、クッキーテスト(糖質 75g、脂質 24g、たんぱく質 6gを含む8.5本の553 kcalのクッキー、ABILIT社、大阪)による食餌負荷試験を用いた。著者らは既に、本試験が実際の食生活を反映し、高IRI血症、耐糖能異常、糖尿病のみならず、食後高脂血症を検出するために脂肪を負荷し、生活習慣病に関与する要因を明らかにすることができることを報告している(J Atheroscler Thromb 2005)。

クッキーテストにおけるクッキーは、お茶または水を飲用し10-15分以内で摂取し、50%摂取の時点を負荷スタートとした。負荷前および負荷後60, 120分後に採血し、PG、インスリン値を測定し、その血中値より下の部分と時間との間の面積を計算した。インスリン面積 AUC-IR (μ U/ml \cdot 時)、AUC-IR X AUC-PG (μ U/ml \cdot 時 \cdot mg/ml \cdot 時)、により食餌負荷後のインスリン抵抗性を評価した。

本研究の遂行にあたっては患者のプライバシーを厳守し、患者に不利益が生じないよう細心の注意を払った。各患者にインフォームドコンセントを行ない、書面での同意を得、九州大学倫理委員会の承認を得た。

統計学的有意差を $P<0.05$ とした。

C. 結果

(1) SVR率について

対象147例において、HCV genotype 1型 103例中のSVR率は62例、60.2%で、genotype 2型 44例中の37例、84.1%で、1型のSVR率は2型に比べ有意に低率であった($P<0.0001$)。

対象例のgGTP中央値は42 IU/Lであったため、投与前gGTP値別でSVR率を解析した。HCV genotype 1型において、42未満の50例でのSVR率72.0%は、43以上の53例での49.1%に比べ有意に高率で、genotype 2型においても、42未満の24例でのSVR率 95.8%は、43以上の20例、70%に比べ有意に高率であった(ともに $P<0.05$)。gGTP値にgenotype間差はなかった。

同様に、BMI値(中央値23.4 kg/m²)別でも検討した。HCV genotype 1型において、23.4未満の51例でのSVR率72.0%は、23.4以上の52例での49.1%に比べ高率であったが有意差はなく、genotype 2型においても、23.4未満の22例でのSVR率95.5%は、43以上の22例、72.7%に比べ高率であったが有意差はなかった。BMI値にgenotype間差はなかった。

以上より、高gGTP値がSVRへの負の因子であった。

(2) 治療前インスリン抵抗性とSVRの関連について

HCV genotype 1型において(図1)、SVR例の治療前の平均空腹時PG値 93.4 mg/dlは、非SVR例の101.1 mg/dlに比べ有意に低値であった($P<0.05$)。HCV

genotype 2型において(図2)、SVR例の平均空腹時PG値 88.6 mg/dlは、非SVR例の99.0 mg/dlに比べ低値であったが有意差はなかった(P=0.1230)。

HCV genotype 1型において(図1)、SVR例の治療前の平均空腹時IRI値 9.5 mU/mlは、非SVR例の13.8 mU/mlに比べ有意に低値であった(P<0.0001)。HCV genotype 2型において(図2)、SVR例の治療前の平均空腹時IRI値 8.4 mU/mlは、非SVR例の12.2 mU/mlに比べ有意に低値であったが有意差はなかった(P=0.0561)。

った(P<0.0001)。HCV genotype 2型において(図2)、SVR例の治療前の平均空腹時HOMA-IR値 1.8 は、非SVR例の3.2 に比べ有意に低値であったが有意差はなかった(P=0.0776)。

以上より、特にHCV genotype 1型において、耐糖能異常がSVRへ影響を及ぼした。

図2. An association of SVR, glucose, and insulin secretion in genotyp e 2

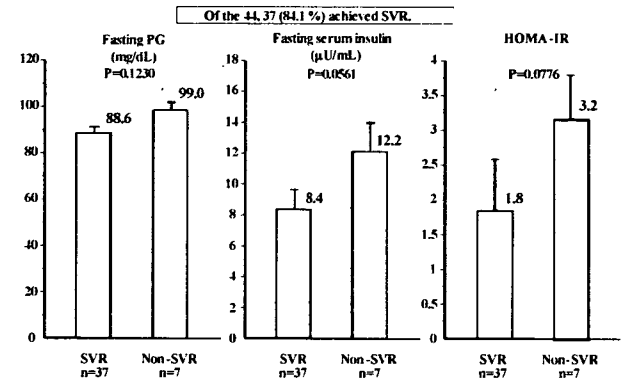
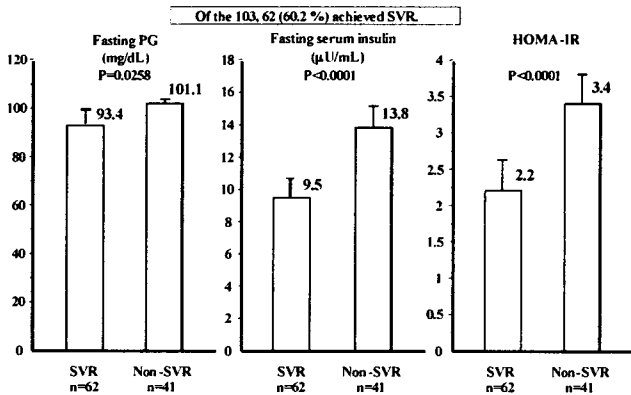


図1. An association of SVR, glucose, and insulin secretion in genotyp e 1



HCV genotype 1型のHOMA-IR>2.5の異常率 47例、45.6%は、genotype 2型の11例、25.0%に比べ有意に高率であった。

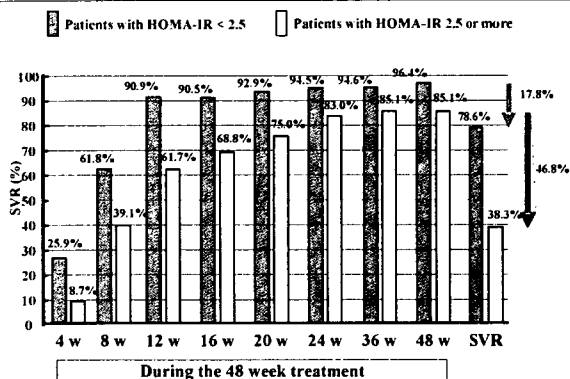
全対象においても、genotype別においてもHOMA-IR値は、gGTP値と有意な正の相関を認めた(全対象、r=0.324、P<0.0001)。

HCV genotype 1型において(図)1、SVR例の治療前の平均空腹時HOMA-IR値 2.2 は、非SVR例の3.4 に比べ有意に低値であ

(3) 治療前インスリン抵抗性と治療中HCV血症消失率の関連について

HCV genotype 1型において(図3)、治療前HOMA-IR 異常 (> 2.5) を有する47例の治療中血清HCV RNA消失率 85.1%は、HOMA-IR正常 (<2.5) 56例の96.4 %と比べ低率であったが有意差はなかった。しかし、HOMA-IR異常例のHCV血症再燃率(治療中HCV RNA率-SVR率) 46.8 %は、HOMA-IR正常例の 17.8 %に比べ有意に高率であった。

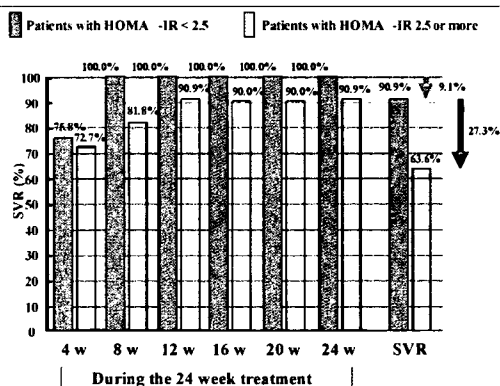
図3. Serum HCV RNA negativity during peg-IFN plus RBV treatment and SVR in genotype 1 (classified by HOMA-IR)



HCV genotype 2型において(図4)、治療前HOMA-IR 異常 (> 2.5) を有する11例の治療中血清HCV RNA消失率 90.9%は、HOMA-IR正常 (<2.5) 33例の100 %と比べ低率であったが有意差はなかった。しかし、HOMA-IR異常例のHCV血症再燃率(治療中HCV RNA率-SVR率) 27.3%は、HOMA-IR正常例の 9.1%に比べ有意に高率であった。

以上より、特にHCV genotype 1型において、耐糖能異常が治療中のHCV血症消失およびSVRへ影響を及ぼした。

図4. Serum HCV RNA negativity during peg-IFN plus RBV treatment and SVR in genotype 2 (classified by HOMA-IR)



(4) 治療前負荷インスリン抵抗性とSVRの関連について

クッキーテストにより食餌負荷インスリ

ン抵抗性評価による解析を行った。

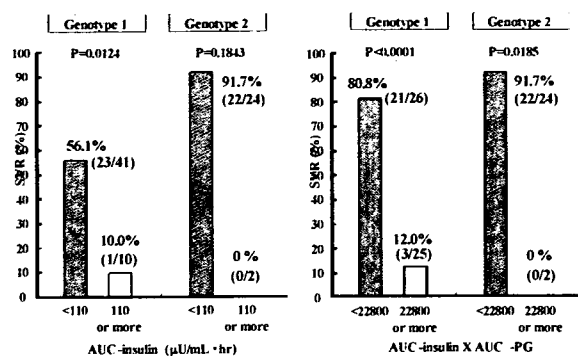
HCV genotype 1型において(図5)、治療前AUC-IRI(インスリン面積)値 ≥ 110 mU/ml・時のSVR率 10.0%は、AUC-IRI値 < 110 mU/ml・時のSVR率 56.1%に比べ有意に低率であった($P < 0.05$)。HCV genotype 2型において(図5)、治療前AUC-IRI値 ≥ 110 mU/ml・時のSVR率 0%は、AUC-IRI値 < 110 mU/ml・時のSVR率 91.7%に比べ低率であったが有意差はなかった($P = 0.1843$)。

HCV genotype 1型において(図5)、治療前AUC-IRI値 X AUC-PG(インスリン面積と血糖面積の積) ≥ 22800 mU/ml・時・mg/ml・時のSVR率 12.0%は、AUC-IRI値 X AUC-PG < 22800 mU/ml・時・mg/ml・時のSVR率 80.8%に比べ有意に低率であった($P < 0.0001$)。

HCV genotype 2型において(図5)、治療前AUC-IRI値 X AUC-PG ≥ 22800 mU/ml・時・mg/ml・時のSVR率 0%は、AUC-IRI値 X AUC-PG < 22800 mU/ml・時・mg/ml・時のSVR率 91.7%に比べ有意に低率であった($P < 0.05$)。

以上より、食餌負荷試験によるインスリン抵抗は空腹時解析に比べ顕著にSVRへ影響を及ぼした。

図5. An association between insulin resistance (AUC-IR and AUC-PG) and SVR in genotypes 1 and 2



D. 考察

私共は、C型慢性肝炎において空腹時PGが正常であっても、食後のPGおよびIRI分泌の糖尿病型の推移を示す例が多いことをすでに報告した(Furusyo N, Hayashi J, et al. Hepatol Res 2007)。本研究は、治療によるSVRへの影響を排除するため、Peg-IFN- α 2b規定投与量80%以上かつRBV規定投与量60%以上の十分な投与量が、治療初期の12週間および全週間いずれにおいても実現できた例を解析対象とした。実際、私共の研究グループKULDSでの586例での検討において、上記治療期間と治療量は有意にSVR率への影響を与えた(Furusyo N, Hayashi J, et al. J Gastroenterol Hepatol in press)。

Peg-IFN- α 2b・RBV併用療法において、投与前gGTP高値例のSVR率は低値例に比べ有意に低率であった。実際、上記のKULDSでの解析でgGTP値は独立した負のSVR因子であった。本研究で、gGTP値はHOMA-IR値とよく相関し、インスリン抵抗性がSVRを妨げる要因と考えられた。特にHCV genotype 1型において、インス

リン抵抗性(HOMA-IR>2.5)の例は、治療中のHCV RNA陰性率は低率で、治療後のHCV血症再発率も高率であった。なお、HCV genotype 1型と2型は治療期間の差があるにも関わらず、そのSVRの差は著しい。本研究での症例数は少ないものの、genotype間でインスリン抵抗の出現率に差があり、genotypeによってインスリン抵抗性を惹起させる差があるのかもしれない。

私共は、食餌負荷によるインスリン抵抗性の評価も合わせて行ったが、クッキーテストによる食餌負荷で評価する食後インスリン抵抗性(AUC-IR・AUC-PG高値)例において、SVR率は極めて低率で、食後のインスリン分泌異常も治療による抗ウイルス効果を妨げていた。この解析はユニークであり、インスリン抵抗性改善薬などによる介入による治療効果の改善の可能性を示唆する。

HCV感染モデルにて、HCVコア蛋白がインスリン抵抗性を惹起しているとの報告もあり、HCV感染による二次的な感染抗原による何らかの反応がC型慢性肝炎のインスリン抵抗性に関与するのかもしれない。しかし、個人差があるため、宿主内での各々の反応の差がインスリン抵抗性の差として現れる可能性はある。

E. 結論

C型慢性肝炎におけるインスリン抵抗性(食前および食後)は、Peg-IFNa2b・RBV療法の効果を左右する。よって、その治療効果を上げるために、治療前の減量、運動療法、他危険因子の改善、インスリン抵抗

性改善薬などによる介入の必要性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Du XM, Sun NY, Furusho N, Hayashi J, Shoyama Y. Effect of in vitro cultured *Anoectochilus formosanus* on lipid metabolism in clinical uses. *Am J Chin Med* 2007;35(5):735-41.
2. Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Takeoka H, Otaguro S, Hamada M, Murata M, Sawayama Y, Hayashi J. Transient elastography for patients with chronic hepatitis B and C virus infection: Non-invasive, quantitative assessment of liver fibrosis *Hepatol Res* 2007;37 (12):
5. Furusyo N, Kajiwarra E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Masumoto A, Maruyama T, Nakamuta M, Enjoji M, Azuma K, Shimono J, Sakai H, Shimoda S, Hayashi J. An association between the treatment length and cumulative dose of pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin and their effectiveness as a combination treatment for Japanese chronic hepatitis C patients: A project of the Kyushu University Liver Disease Study Group. *J Gastroenterol Hepatol* (in press)

1002-1010.

3. Furusyo N, Sawayama Y, Maeda S, Toyoda K, Takeoka H, Murata M, Ohnishi H, Hayashi J. High molecular weight form of adiponectin levels of Japanese patients with chronic hepatitis C virus infection *Hepatol Res* 2007;37 (12): 1052-1061.
4. Takeoka H, Furusyo N, Toyoda K, Murata M, Sagara Y, Kashiwagi S, Hayashi J. Antibody to the Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) Envelop Protein Gp46 Patients Co-infected with HCV and HTLV-1 *Am Trop Med Hyg* 2007;77(1):192-196.

[総説]

1. 林 純. ウイルス遺伝子型の違いによる治療法の実際-トライアルの結果をもとに- 難治性C型慢性肝炎に対するウイルスの早期陰性化率-九州大学関連肝疾患研究会 (KLUDS) の中間成績から- 肝胆膵 2007;53:33-34.
2. 林 純、古庄 憲浩、澤山 泰典. C型肝炎ウイルス感染症-肝癌発症と生活習慣病- MINOPHAGEN MEDICAL

REVIEW 52 (1) ; 48-54,2007.

3. 林 純、古庄 憲浩、澤山 泰典、村田 昌之. 性感染症-診断・治療 肝炎 臨床と研究84 (5) ; 34-40,2007.

[著書]

1. 野村 秀幸、林 純. 高齢者 C 型肝炎に対する Peg-IFN/ribavirin の併用療法 コンセンサス肝疾患-B 型肝炎・C 型肝炎の治療- 2007;116-119.
2. Furusyo N, Murata M, Hayashi J. Interferon Treatment of Hepatitis C Virus Infection:From Basic Biology to Clinical Application. Hepatitis C Virus Disease Immunobiology and Clinical Applications. 2007;149-167.

2. 学会発表

1. 澤山 泰典. C 型慢性肝炎における動脈硬化についての検討 第 81 回日本感染症学会学術総会 京都、2007.
2. 古庄 憲浩. C 型肝炎ウイルス (HCV 持続感染における血清アディポネクチン値の意義 第 81 回日本感染症学会学術総会 京都、2007.
3. 古庄憲浩、梶原英二、高橋和弘、野村秀幸、田邊雄一、増本陽秀、佐藤丈顕、丸山俊博、中牟田 誠、遠城寺宗近、東 晃一、下野淳哉、酒井浩徳、下田 慎治、林 純.九州大学関連肝疾患研究

会 (KULDS) HCV 1型高ウイルス量C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン α 2b・リバビリン併用療法のSVR に関与する因子の検討 第43回日本肝臓学会総会 東京、2007.

4. Ogawa E. A noninvasive and quantitative assessment of liver fibrosis by using transient elastography for patients with chronic hepatitis B and hepatitis C virus infection The 3rd European Congress of Virology Germany、2007.
5. Toyoda K. Efficacy of angiotensin-II receptor blocker administration combined with pegylated interferon-alpha plus ribavirin treatment for patients with chronic hepatitis C virus infection The 3rd European Congress of Virology Germany、2007.
6. Murata M. Pegylated interferon-alpha plus ribavirin treatment of Japanese patients with chronic hepatitis C virus infection The 3rd European Congress of Virology Germany、2007.
7. Furusyo N. Association between insulin resistance and efficacy of

pegylated interferon- α plus
ribavirin combination treatment for
patients with chronic hepatitis C
virus infection The 3rd European
Congress of Virology Germany,
2007.

8. 古庄憲浩. C型慢性肝炎に対するペグ
インターフェロン α 2b・リバビリン併
用療法と耐糖能異常 九州大学関連肝
疾患研究会 (KULDS) 日本消化器関
連学会週間Japan Digestive Disease
Week 2007 神戸、2007.
9. 古庄憲浩. C型肝炎ウイルス(HCV) 1
型高HCV量C型慢性肝炎に対するペグ
インターフェロン α 2b・リバビリン併
用療法 第77回日本感染症学会西日本
地方会 佐賀、2007.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。