

表 5 SVR に寄与する因子の検討 (48w 投与)

|                                     | P      | Odds比 | 95 % Confidential interval |
|-------------------------------------|--------|-------|----------------------------|
| 性 (女性→男性)                           | 0.005  | 13.09 | 2.04 - 60.67               |
| 年齢                                  | 0.424  | 1.02  | 0.96 - 1.09                |
| stage (F2-4→F0-1)                   | 0.009  | 7.75  | 1.48 - 16.10               |
| Hb                                  | 0.571  | 1.15  | 0.71 - 1.84                |
| Plt ( $\times 10^4 / \mu\text{L}$ ) | 0.700  | 0.98  | 0.86 - 1.11                |
| アディポネクチン (ug/ml)                    | 0.980  | 1.00  | 0.92 - 1.10                |
| HCV-RNA (KIU/ml)                    | 0.127  | 1.00  | 1.00 - 1.00                |
| response (EVR → non EVR)            | <0.001 | 55.29 | 14.26 - 262.40             |

表 6 肝脂肪化の有無による比較

| Factors.                                      | No steatosis (n = 126) | Steatosis (n = 171) | P       |
|---|------------------------|---------------------|---------|
| Age*  | 56 (20-78)             | 59 (27-75)          | 0.019   |
| Male gender (%)                               | 56 (20-78)             | 87 (50.9%)          | 0.007   |
| BMI*  | 21.8 (16.5-30.7)       | 23.9 (15.6-35.1)    | <0.0001 |
| Alcohol intake (%)                            | 29 (23.0%)             | 38 (22.2%)          | 0.89    |
| Diabetes (%)                                  | 4 (3.2%)               | 5 (2.9%)            | 1.00    |
| HCV genotype (%)                              |                        |                     |         |
| 1   | 91 (72.2%)             | 121 (70.8%)         |         |
| 2   | 31 (24.6%)             | 45 (26.3%)          |         |
| 3   | 1 (0.8%)               | 1 (0.9%)            |         |
| unknown                                       | 3 (2.4%)               | 4 (2.4%)            | 0.78    |
| HCV RNA level (KIU/ml)*                       | 1257 (1-7030)          | 1063 (5-9400)       | 0.14    |
| Platelet count ( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )* | 18.4 (5.9-32.7)        | 17.4 (5.3-37.4)     | 0.19    |
| AST (IU/L)*                                   | 36 (15-413)            | 58 (14-339)         | <0.0001 |
| ALT (IU/L)*                                   | 40 (9-537)             | 73 (12-509)         | <0.0001 |
| $\gamma$ -GTP (IU/L)*                         | 25 (10-298)            | 56 (12-490)         | <0.0001 |
| Fasting glucose (mg/dL)*                      | 95 (68-207)            | 97 (77-223)         | 0.002   |
| Total cholesterol (mg/dL)*                    | 179 (109-285)          | 171 (104-318)       | 0.13    |
| Triglyceride (mg/dL)*                         | 83 (26-214)            | 96 (32-930)         | <0.0001 |
| Histological activity (%)                     |                        |                     |         |
| 0   | 2 (1.6%)               | 1 (0.6%)            |         |
| 1   | 72 (57.1%)             | 55 (32.2%)          |         |
| 2   | 42 (33.3%)             | 78 (45.6%)          |         |
| 3   | 10 (7.9%)              | 37 (21.6%)          | <0.0001 |
| Fibrosis (%)                                  |                        |                     |         |
| 0   | 3 (2.4%)               | 1 (0.6%)            |         |
| 1   | 62 (49.2%)             | 38 (22.2%)          |         |
| 2   | 47 (37.3%)             | 73 (42.7%)          |         |
| 3   | 11 (8.7%)              | 51 (29.8%)          |         |
| 4   | 3 (2.4%)               | 8 (4.7%)            | 0.001   |

\*Median (range)

表 7 脂肪化に関する因子 (多変量解析)

| Factors                 | Odds ratio | 95% confidence interval | P     |
|-------------------------|------------|-------------------------|-------|
| Age                     | 1.02       | 1.00-1.05               | 0.11  |
| Male gender             | 0.78       | 0.42-1.46               | 0.44  |
| BMI                     | 1.20       | 1.07-1.33               | 0.001 |
| Fasting glucose         | 1.00       | 0.98-1.02               | 0.90  |
| Triglyceride            | 1.01       | 1.01-1.02               | 0.001 |
| Activity grade A2 or A3 | 2.18       | 1.15-4.13               | 0.02  |
| Fibrosis stage F3 or F4 | 2.53       | 1.15-5.59               | 0.02  |

表 8 肝脂肪化の有無による比較 (肥満・糖尿病・糖尿病・飲酒歴を除く)

| Factors.                                      | No steatosis (n = 55) | Steatosis (n = 45) | P     |
|---|-----------------------|--------------------|-------|
| Age*  | 56 (30.77)            | 60 (27.73)         | 0.69  |
| Male gender (%)                               | 13 (23.6%)            | 14 (31.1%)         | 0.50  |
| BMI*  | 21.4 (17.0-24.8)      | 22.2 (17.8-24.9)   | 0.10  |
| HCV genotype (%)                              |                       |                    |       |
| 1   | 39 (70.9%)            | 30 (66.7%)         |       |
| 2   | 16 (29.1%)            | 15 (33.3%)         |       |
| 3   | 0 (0%)                | 0 (0%)             |       |
| unknown                                       | 0 (0%)                | 0 (0%)             | 0.65  |
| HCV RNA level (KIU/ml)*                       | 1800 (1-7030)         | 1110 (5-5190)      | 0.33  |
| Platelet count ( $\times 10^4/\mu\text{L}$ )* | 19.5 (8-33)           | 17.5 (6-31)        | 0.27  |
| AST (IU/L)*                                   | 31 (15-138)           | 50 (14-138)        | 0.001 |
| ALT (IU/L)*                                   | 34 (12-217)           | 62 (12-290)        | 0.003 |
| $\gamma$ -GTP (IU/L)*                         | 23 (10-134)           | 38 (12-151)        | 0.006 |
| Fasting glucose (mg/dL)*                      | 96 (75-116)           | 96 (78-121)        | 0.38  |
| Total cholesterol (mg/dL)*                    | 178 (117-281)         | 177 (119-300)      | 0.64  |
| Triglyceride (mg/dL)*                         | 81 (26-209)           | 88 (40-178)        | 0.24  |
| Histological activity (%)                     |                       |                    |       |
| 0   | 1 (1.8%)              | 1 (2.2%)           |       |
| 1   | 31 (56.4%)            | 16 (35.6%)         |       |
| 2   | 19 (34.5%)            | 20 (44.4%)         |       |
| 3   | 4 (7.3%)              | 8 (17.8%)          | 0.033 |
| Fibrosis (%)                                  |                       |                    |       |
| 0   | 1 (1.8%)              | 1 (2.2%)           |       |
| 1   | 30 (54.5%)            | 12 (26.7%)         |       |
| 2   | 19 (34.5%)            | 18 (40.0%)         |       |
| 3   | 5 (9.1%)              | 13 (28.9%)         |       |
| 4   | 0 (0%)                | 1 (2.2%)           | 0.002 |

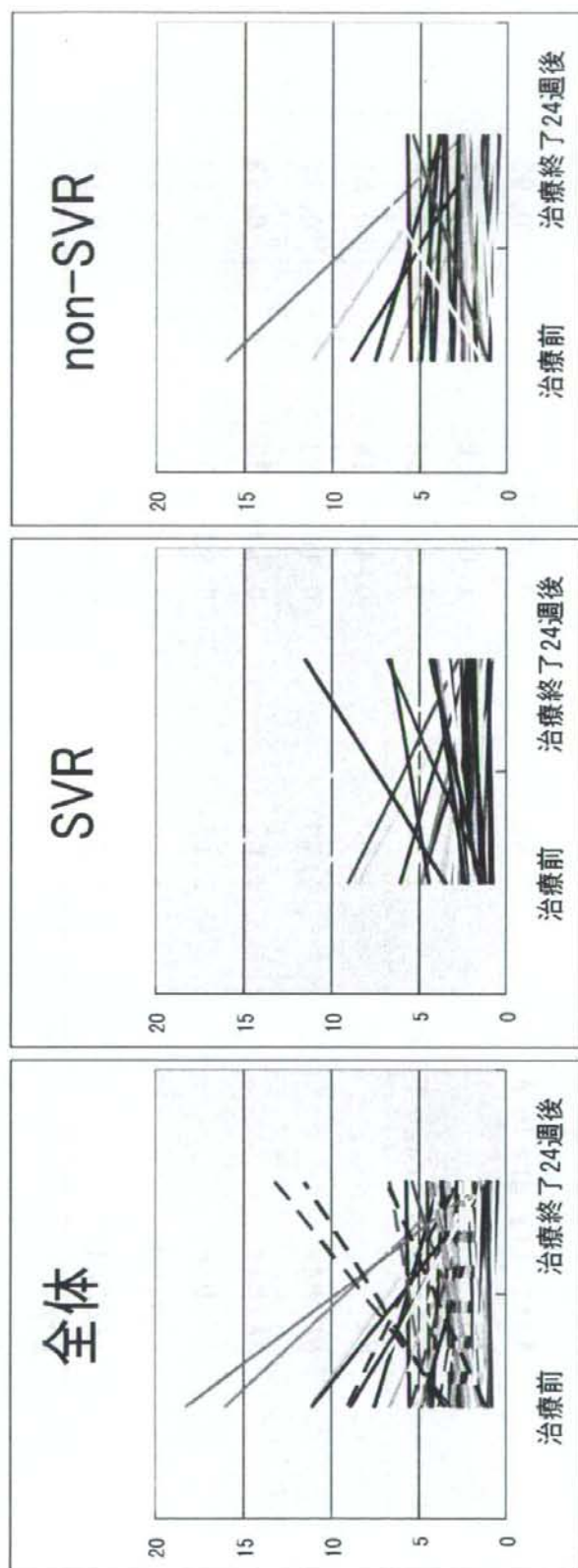
\*Median (range)

表 9 脂肪化に関する因子 (多変量解析)

| Factors                    | Odds ratio   | 95% confidence interval | P            |
|----------------------------|--------------|-------------------------|--------------|
| Activity grade A2 or<br>A3 | 0.96<br>4.05 | 0.33-2.79<br>1.05-15.6  | 0.93<br>0.04 |
| Fibrosis stage F3 or<br>F4 | 1.53<br>1.52 | 0.37-6.36<br>0.44-5.18  | 0.56<br>0.51 |
| PPARA*                     | 0.79         | 0.16-3.83               | 0.77         |
| NR1H3*                     | 0.67         | 0.19-2.36               | 0.53         |
| ACADS*                     | 2.15         | 0.83-5.59               | 0.12         |
| EHHADH*                    | 1.55         | 0.46-5.22               | 0.48         |
| SLC27A5*                   | 2.29         | 0.78-6.68               | 0.13         |
| MTP*                       |              |                         |              |
| ACACA*                     |              |                         |              |

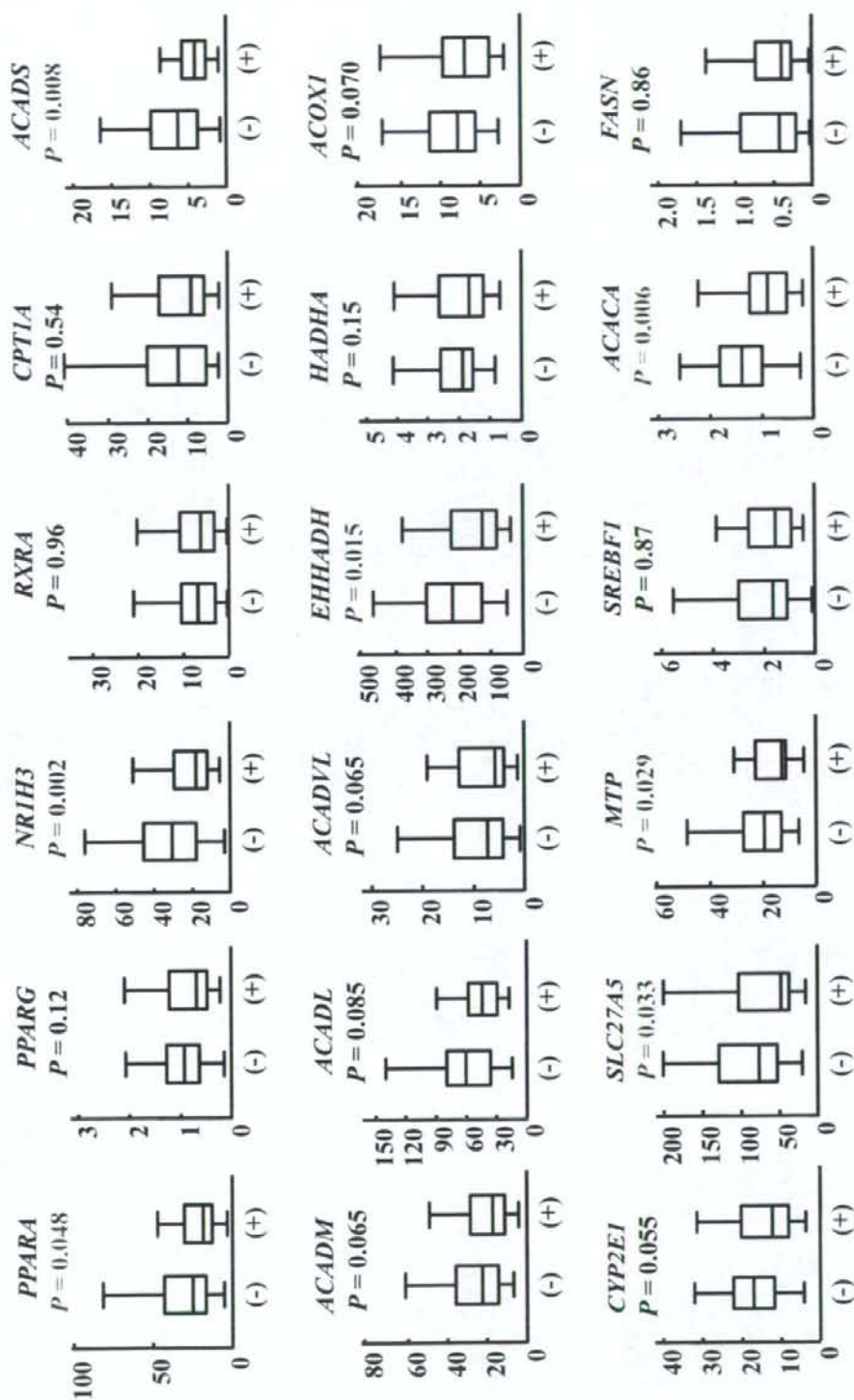
図1 肝臓組織のHOMV-150染色

図1 治療前後のHOMA-IRの変化



$p = 0.022$

図2 脂質代謝遺伝子発現の比較 (n=100)



## 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

## HCV-1b core aa70/91置換の肝病態・抗ウイルス療法における臨床的意義

研究分担者 熊田 博光 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 分院長

研究協力者 芥田 憲夫 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院肝臓センター

研究要旨：HCV 感染、特に HCV-1b core aa70/91 置換の肝病態・抗ウイルス療法における臨床的意義を検討した。Core aa70/91 置換は PEG-IFN/RBV 併用療法効果予測因子として重要であるだけでなくインスリン抵抗性(IR)・肝発癌を含む肝病態にも影響する可能性が示唆された。更に、HCV 感染は糖尿病・悪性リンパ腫・間質性肺炎を含む肝外病変にも影響することが確認された。肝発癌・糖尿病発症に寄与する要因として肝線維化進行度と独立してウイルス要因が得られたことは HCV の病態進行への直接的な関与を示唆する重要な成績である。トランスジェニック・マウスによる動物実験では HCV core 蛋白による IR・肝発癌への直接作用が従来報告されていたが、当施設の検討はこの様な基礎的検討を臨床面から支持する成績であるといえる。

## A. 研究目的

当院では HCV-1b core aa70/91 置換[aa70 の arginine(Arg70)から glutamine(Gln70)もしくは histidine(His70)への置換と、aa91 の leucine(Leu91)から methionine(Met91)への置換]が

Peginterferon/Ribavirin(PEG-IFN/RBV)併用療法難治要因であることを報告してきた。また Core region のインスリン抵抗性(IR)・肝発癌を含む肝病態における重要性も報告されている。今回は HCV 感染、特に Core aa70/91 置換の肝病態・抗ウイルス療法における臨床的意義を検討した。

## B. 研究方法

[検討 A：HCV 感染と病態]

Core aa70/91 置換の肝発癌・IR を含む肝病態への影響を検討。更に、HCV 感染の糖尿病・悪性リンパ腫・間質性肺炎を含む肝

外病変への影響を検討した。

A-①：Core aa70/91 置換の肝発癌への影響に関する検討では、IFN 単独療法導入後 15 年以上の長期経過観察された HCV-1b 313 例を対象に肝発癌に寄与する要因を検討した。

A-②：Core aa70/91 置換の IR への影響に関する検討では、HCV-1b 慢性肝炎 123 例を対象に HOMA-IR の分布と HOMA-IR 上昇に寄与する要因を検討した。

A-③：HCV 感染における IFN 関連療法後の糖尿病発症に関する検討では、IFN 関連療法を施行された HCV 2842 例から糖尿病発症に寄与する要因を検討した。

A-④：HCV 感染における肺線維症発症に関する検討では、HBV 2050 例と HCV 6150 例から年齢・性別を matching させて HCV と HBV の肺線維症の累積出現率を検討した。



A-⑤: HCV 感染における悪性リンパ腫発症に関する検討では、HCV 3209 例で IFN 治療歴・HCV 排除の有無別に悪性リンパ腫の累積出現率を検討した。

#### [検討 B: HCV 感染と抗ウイルス療法]

Core aa70/91 置換・IR の

Peginterferon/Ribavirin 併用治療成績への影響を検討した。

B-①: IR の PEG-IFN/RBV 併用療法への影響の検討では、肝硬変・糖尿病を除外した HCV-1b・high 72 例を対象に HOMA-IR から見た 48 週併用治療成績を検討した。

B-②: PEG-IFN/RBV 48 週併用療法を施行した HCV-1b・high 292 例を対象に SVR・NVR に寄与する独立要因を多変量解析で検討した。検討項目としては糖・脂質代謝の各種代謝要因や、Core aa70/91 置換・NS5A-ISDR 変異数のウイルス要因も含めて検討。Core region と NS5A-ISDR はダイレクトシーケンシング法でアミノ酸配列を決定。HOMA-IR の  $\geq 2.5$  を IR 群、 $\geq 3.5$  を高度 IR 群と定義。治療効果判定は治療終了後 24 週経過時点で HCV RNA 陰性が持続している症例を Sustained virological response (SVR)、治療中に HCV RNA が陰性化しない症例を Non virological response (NVR) と定義した。

B-③: HCV-1b・high で年齢・性別・ウイルス陰性化期間を一致させた 48 週群 130 例・72 週群 65 例との matched case-control study を施行して SVR に寄与する独立要因を多変量解析で検討した。

(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 A: HCV 感染と病態]

A-①: Core aa70/91 置換の肝発癌への影響に関する検討では、HCV-1b で IFN 単独療法導入後 15 年以上の長期経過観察された慢性肝炎症例における累積肝発癌率は Gln70(His70) and/or Met91 の置換を有する症例では Arg70 and Leu91 の症例よりも累積肝発癌率が高率であり(Log rank test;  $p=0.036$ )、多変量解析(Cox proportional hazard model)でも Core aa70/91 置換(Gln70(His70) and/or Met91)( $p=0.008$ )は肝線維化進行度(F3)( $p<0.001$ )から独立した肝発癌に寄与する要因であった。以上から、Core aa70/91 置換は肝組織進行度とは独立して肝発癌に関与する可能性が示唆された。

A-②: Core aa70/91 置換の IR への影響に関する検討では、肝硬変・糖尿病を除外した HCV-1b 慢性肝炎症例における HOMA-IR は 52%が IR 群、28%が高度 IR 群であった。Core aa70/91 置換から見た HOMA-IR の分布は、Gln70(His70) and/or Met91 の置換を有する症例では Arg70 and Leu91 の症例よりも HOMA-IR が高値であり(Mann-Whitney U test;  $p=0.022$ )、多変量解析(Logistic regression analysis)でも Core

aa70/91 置換 (Gln70(His70) and/or Met91)( $p=0.021$ )は高度 IR に寄与する独立要因であった。以上から、HCV-1b の慢性肝炎の約半数が IR を示し、Core aa70/91 置換は IR に関与する可能性が示唆された。

A-③: HCV 感染における IFN 関連療法後の糖尿病発症に関する検討では、多変量解析(Cox proportional hazard model)で IFN 治療効果(non-SVR)( $p<0.001$ )は肝線維化進行度(肝硬変)( $p<0.001$ )から独立した糖尿病発症に寄与する要因であった。以上から、HCV の排除は肝線維化進行度とは独立して糖尿病発症の risk を減少させる可能性が示唆された。

A-④: HCV 感染における肺線維症発症に関する検討では、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(Log rank test;  $p=0.024$ )。肺線維症診断の 2 年前に KL-6 63%で異常値を示した。以上から、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ことが確認された。

A-⑤: HCV 感染における悪性リンパ腫発症に関する検討では、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(Log rank test;  $p=0.016$ )。この様に、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ことが確認された。

#### [検討 B: HCV 感染と抗ウイルス療法]

B-①: IR に影響する糖尿病・肝硬変を除外した HCV-1b 慢性肝炎症例に対する PEG-IFN/RBV 併用 48 週療法では、SVR・NVR 含む治療成績に HOMA-IR が影響しないことが確認された。

B-②: PEG-IFN/RBV 併用 48 週療法における SVR に寄与する独立要因は多変量解析(Logistic regression analysis)で、Core aa70/91 置換(Arg70 and Leu91), LDL-C( $\geq 86$  mg/dl), 性別(男性), ICG15( $< 10\%$ ),  $\gamma$ GTP( $< 109$  IU/l), RBV 投与量( $\geq 11.0$  mg/kg)の 6 因子( $p<0.05$ )。NVR に寄与する独立要因は多変量解析(Logistic regression analysis)で、Core aa70/91 置換(Gln70(His70) and/or Met91), AFP( $> 10 \mu$  g/l), ALT( $< 100$  IU/l), LDL-C( $< 100$  mg/dl),  $\gamma$  GTP( $> 109$  IU/l), 性別(女性)の 6 因子であった( $p<0.05$ )。以上から、併用療法治療効果はウイルス・宿主・治療要因が絡み合って決定されており、Core aa70/91 置換と脂質要因は各種治療効果判定に共通した重要な治療効果予測因子であることが確認された。

B-③: PEG-IFN/RBV 併用 48 週・72 週の matched case-control study においても多変量解析(Logistic regression analysis)で、Core aa70/91 置換(Arg70 and/or Leu91)( $p=0.015$ )は SVR に寄与する独立要因であることが確認された。

#### D. 考察

トランスジェニック・マウスによる動物実験では HCV core 蛋白による IR・肝発癌への直接作用が報告されてきた。当施設の

検討は、この様な基礎的な検討を臨床面から支持する成績であるといえる。特に、肝発癌・糖尿病発症に寄与する要因として肝線維化進行度と独立してウイルス要因が得られたことは HCV の病態への直接的な関与を示唆する重要な成績である。また、HCV 感染は糖尿病・悪性リンパ腫・間質性肺炎を含む肝外病変にも影響していることが確認されたことから抗ウイルス療法を含めた対策が必要である。

IR と病態・抗ウイルス効果について検討する時に重要なのは、IR に影響する要因を除外することである。当施設の検討は IR に影響を与える肝硬変・糖尿病の症例を除外した HCV-1b 症例に絞り込んだことが特徴である。今後は HCV の IR への直接的な影響と、IR の抗ウイルス効果への影響をより正確に検討するためにも症例を絞り込んだ検討が必要である。

## E. 結論

HCV-1b core aa70/91 置換は PEG-IFN/RBV 併用療法効果予測因子として重要であるだけでなく IR・肝発癌を含む肝病態にも影響する可能性が示唆された。HCV 感染は糖尿病・悪性リンパ腫・間質性肺炎を含む肝外病変にも影響することが確認された。トランスジェニック・マウスによる動物実験では HCV core 蛋白による IR への直接作用が従来報告されてきたが、当施設の検討はこの様な基礎的検討を臨床面から支持する成績であるといえる。

## F. 研究発表

### 1. 学会発表

- 1) 芥田憲夫他: LDL cholesterol と HCV core region は C 型肝炎の PEG-IFN/RBV 療法における治療前 EVR 予測因子である。第 36 回日本肝臓学会東部会 東京 2006. 12
- 2) 川村祐介他: C 型肝炎症例における悪性リンパ腫発症率の検討 第 36 回日本肝臓学会東部会 2006、東京
- 3) 川村祐介他: 長期経過からみた非アルコール性脂肪性肝障害の実態 第 43 回日本肝臓学会総会 2007、東京
- 4) 鈴木義之他: 非アルコール性脂肪性肝炎の病態と治療効果 2007、神戸
- 5) 芥田憲夫他: HCV core aa 70/91 置換の抗ウイルス療法・肝病態における臨床的意義 第 12 回日本肝臓学会大会 2008、東京

### 2. 論文発表

- 1) Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Watahiki S, Sato J, Matsuda M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Predictive factors of virological non-response to interferon-ribavirin combination therapy for patients infected with hepatitis C virus of genotype 1b and high viral load. *J Med Virol* 2006;78:83-90.
- 2) 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.
- 3) 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.
  - 4) 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 Med* 2007;120:1034-1041.
  - 5) 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. *Intervirolgy* 2007;50:361-368.
  - 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. 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.
  - 7) 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.
  - 8) 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.
  - 9) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Substitution of amino acid 70 in the hepatitis C virus core region of genotype 1b is an important predictor of elevated alpha-fetoprotein in patients without hepatocellular carcinoma. *J Med Virol* 2008;80:1354-1362.
  - 10) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Efficacy of low-dose intermittent interferon-alpha monotherapy in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b who were predicted or failed to respond to pegylated interferon plus ribavirin combination therapy. *J Med Virol* 2008;80:1363-1369.
  - 11) Arase Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Hosaka T, Hirakawa M, Ikeda K, Kumada H. Sustained virological response reduces incidence of onset of type 2 diabetes in chronic hepatitis C. *Hepatology* (in press).
  - 12) Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M,

Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. A matched case-controlled study of 48 and 72 weeks of peginterferon plus ribavirin combination therapy in patients infected with HCV genotype 1b in Japan: Amino acid substitutions in HCV core region as predictor of sustained virological response. J Med Virol 2009;81:452-458.

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

## C型慢性肝炎におけるインスリン抵抗性

研究分担者 林 純 九州大学病院 総合診療科(感染環境医学) 教授

**研究要旨** C型肝炎ウイルス(HCV)感染者におけるインスリン抵抗性を臨床的に検討した。HCV感染者はB型肝炎ウイルス(HBV)感染者、対照と比較して、空腹時インスリン、HOMA-IRが有意に高値であり、対照と比較しインスリン面も有意に高値であった。HCV感染者では、インスリン抵抗性の有無に関わらず、HBV感染者と比較してLDL-Cが有意に低値であった。Peg-IFN $\alpha$ 2b・RBV併用療法によるgenotype 1型のウイルス持続陰性化率は、治療前HOMA-IR異常例では38.3%と、正常例の78.6%と比較して有意に低率であった。genotype 2でも同様の傾向がみられた。LDLコレステロールはHCV感染者では、HBV感染者および対照と比較し有意に低い値を示した。頸動脈超音波装置およびPWVで診断した動脈硬化に関しては、HCV感染は負の因子ではなかった。

HCV感染は動脈硬化の進展に関して、影響を認めなかった。

**A. 目的**

C型肝炎ウイルス(HCV)トランジェニック・マウスでは、インスリン抵抗性がみられ、また、高カロリー食を与えると糖尿病を発症することが証明されている。著者らもHCV感染者ではインスリン感染者ではインスリン抵抗性がみられ、HCVRNA量がインスリン受容体作動サイトカインであるアディポネクチンと、緩やかではあるが逆相関を示していることを報告した(Hepato Res 2007)。また、現在、HCV感染者に対してはインターフェロン(IFN)療法として、pegIFN $\alpha$  + リバビリン(RBV)併用療法が主として行われており、従来のIFN療法に比較して高い有効性を示して

いるが、genotype 1での有効性は未だ満足すべきものではない。

以上の観点から、著者らはインスリン抵抗性がHCV感染者におけるpegIFN $\alpha$  + リバビリン(RBV)併用療法の効果(HCV排除 sustained virological response:SVR)に影響を及ぼすのかどうか、また、B型肝炎ウイルス(HBV)感染者との違いについて、食餌負荷試験を用いて詳細に検討した。また、一般住民においてHCV感染者は動脈硬化の進展が促進されているのかどうかについても検討した。

**B. 方法**

対象は、第1群：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 $\alpha$ 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HCV感染者147例(HCV genotype 1型 103例、2型 44例、男性 101例、女性 46例)(ただし、治療によるSVRへの影響を排除するため、Peg-IFN $\alpha$ 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である)。

第2群：2004年4月から2008年5月までの間に、抗ウイルス療法導入前の評価で九州大学病院に入院したHCV感染者224例(男性 130例、女性 94例)およびHBV感染者38例(男性 19例、女性 19例)。また、HCVあるいはHBVの非感染者113例(男性 53例、女性 54例)を対照とした。

第3群：2005年に長崎県壱岐市のHCV感染者98例で、一般住民検診を受けHCVあるいはHBVの非感染者1250例(男性 502例、女性 748例)を対照とした。

方法は、糖代謝の評価には、空腹時空腹時血糖(PG)値(mg/dl)、空腹時インスリン(IRI)値( $\mu$ U/ml)、およびHOMA-IR(mg/dl $\cdot$  $\mu$ U/ml)(空腹時PG X 空腹時インスリン $\div$ 405)を用いた(>2.5を異常値とした)。第1群のHCV感染者147例中77例および第2群全例に食後耐糖能異常を評価した。食餌負荷試験はクッキーテスト(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)を用いた。私どもは既に、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、生活習慣病に關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)。

第3群には、受診時に、血清総コレステロール(TC)、低比重リポ蛋白コレステロール(LDL-C)、中性脂肪(TG)、HDLコレステロール(HDL-C)、AST、ALT、 $\gamma$ GTP、高感度CRPなどを測定し、合わせて、動脈硬化症の評価として、頸動脈内膜肥厚(Intima-Media Thickness, IMT値)および脈波伝搬速度(Pulse Wave Velocity, PWV)も測定した。IMT値(mm)の測定には、頸動脈超音波検査にて行い、標準的な5 MHzのプロベを用いたBモード超音波を使用し、内頸・外頸・頸動脈洞・総頸動脈の内膜中膜の厚さを測定した。プラーク中で最大値を最大IMT値とし、その値が1.1以上を動脈硬化症と判定した。PWV(cm/秒)の測定はform PWV/ABI:BP-203 RPE(日本コーリン)を用い、四肢(両上腕、両足首)に巻いた血圧測定カフの容積脈波からABI(Ankle Brachial Index)とともに算出した。

### C. 結果

第1群については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。Peg-IFN $\alpha$ 2b・RBV併用療法によるSVR率はGenotype 1型 103例中62例、60.2%で、2型 44例中の37例、84.1%であった。HCV genotype 1型において、

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。第 2 群では年齢調整後に比較すると、HCV 感染者は HBV 感染者、対照と比較して、空腹時インスリン (HCV:  $9.1 \pm 0.3$ , HBV:  $7.2 \pm 0.8$ , 対照:  $6.3 \pm 0.4$ , HCV vs. HBV:  $p=0.02$ , HCV vs. 対照:  $p<.0001$ )、HOMA-IR (HCV:  $2.1 \pm 0.1$ , HBV:  $1.7 \pm 0.2$ , 対照:  $1.5 \pm 0.1$ , HCV vs. HBV:  $p=0.03$ , HCV vs. 対照:  $p<.0001$ ) が有意に高値だった。また、HCV 感染者は対照に比べ、インスリン面積 (HCV:  $96.6 \pm 3.1$ , HBV:  $85.0 \pm 7.6$ , 対照:  $68.9 \pm 4.5$ , HCV vs. HBV:  $p=0.16$ , HCV vs. 対照:  $p<.0001$ ) が、有意に高値だった。HCV 感染者では、インスリン抵抗性の有無に拘らず、HBV 感染者と比べ、LDL-C が有意に低値だった。インスリン分泌に関わる因子として、HCV 感染者においては高 BMI、高 ALT、負荷後 2 時間の高 TG が抽出されたが、HBV 感染者では LDL-C が抽出された。HCV 感

染では、HBV 感染と比べ、有意に高いインスリン抵抗性を認め、脂質代謝が異なることが示唆された。

第 3 群では TC 値 (mg/dl) (以下平均) は HCV 感染者では 176.3 で、対照では 208.0、LDL-C 値 (mg/dl) は、感染者で 100.8、対照で 124.0 であり、感染者の TC と LDL-C は対照に比べ有意に低値であった。PWV 値 (m/s) は HCV 感染者で 1610.7、対照で 1643.9、最大 IMT 値 (mm) は感染者で 1.08、対照で 1.14 であり、感染者と対照の間に有意な差はみられなかった。HCV 感染は動脈硬化の進展に関して、影響を認めなかった。

#### D. 考察

HCV 感染者では HOMA-IR が対照に比較して有意に高値である。これは空腹時の IRI が高く、食餌負荷試験によるインスリン面積も高値を示すことから、HCV 感染者では膵臓の  $\beta$  細胞からのインスリン分泌を促しているとも考えられる。しかし、著者らが既に報告したように HCVRNA 量がインスリン受容体作動サイトカインであるアディポネクチンと、緩やかではあるが逆相関を示していることから (Hepatol Res 2007)、HCV が肥満細胞からのアディポネクチンの誘導を抑制しているため、血液中にインスリンが高濃度になりインスリン抵抗性を示していることも考えられる。また、この現象は HBV 感染者の糖・インスリン代謝との比較からみると、HCV 感染に特異的なものと考えられた。

さらに、インスリン抵抗性は pegIFN  $\alpha$  + リバビリン (RBV) 併用療法の効果に対し



でも影響を及ぼしていた。すなわち、インスリン抵抗性が存在する例ではその効果が有意に低く、特にインスリン分泌の高い例で顕著にみられた。これはHCVのレプリコンを用いた実験で、インスリン存在下ではIFNのウイルス効果が低下することが示されており、今回の著者らの成績もこのことを指示するものであった。今回の研究成果では報告していないが、pegIFN $\alpha$  + リバビリン(RBV)併用療法によりSVRとなった例では、インスリン抵抗性が改善していた。以上のことから、HCV感染はインスリン抵抗性に直接関連していると考えられる。

また、HCV感染者では生活習慣病の指標であるインスリン抵抗性が存在するにもかかわらず、コレステロールなどの脂質はむしろ低い値を示していた。著者らの疫学的研究から、頸動脈のIMT値に最も影響を及ぼすのはコレステロールであった(Atherosclerosis 2004)。したがって、HCV感染者はインスリン抵抗性が存在してもコレステロールが低値のため、動脈硬化の進展が抑制されていると考えられた。

## E. 結論

HCV感染者はインスリン抵抗性がみられ、このような現象はHBV感染者では明らかでなく、HCV感染に特異的なものと思われる。また、インスリン抵抗性が高い例ではIFN療法の効果が低い。しかし、HCV感染者では動脈硬化進展の促進はみられなかった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 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): 1002-1010.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Masumoto A, Maruyama T, Nakamura 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

[総説]

1. 林 純 血液由来ウイルス感染症  
日常外来で遭遇する感染症診療ガイド  
2006;123-132
2. 林 純、古庄 憲浩 肝炎ウイルスマーカー  
ー 臨牀と研究 2006;83(2) : 188-192
3. 林 純、古庄 憲浩、村田 昌之 C型慢性  
肝炎に対するインターフェロンβの意  
義臨牀と研究 2006;83(5) : 770-777
4. 林 純、古庄 憲浩、村田 昌之、貝沼 茂  
三郎 インターフェロンの副作用とその  
対策 臨牀と研究 2006;83(9)1301-1305
5. 林 純 ウイルス遺伝子型の違いによる  
治療法の実験・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.
6. 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 2007 ; 52 (1) : 48-54.
7. 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  
牀と研究2007 ; 84 (5) : 34-40.
8. 林純、古庄憲浩、村田昌之、貝沼茂三郎、  
梶原英二. インターフェロン無効のC  
型慢性肝炎に対する治療 学療法領域  
2008;24(2):80 - 85
9. 林純、古庄憲浩、澤山泰典、村田昌之. 消  
化器病と動脈硬化症の病因としての感

10. 林純、古庄憲浩、梶原英二、中牟田誠、  
野村秀幸、高橋和弘、丸山俊博、増本陽  
秀、田邊雄一、遠城寺宗近. C型慢性肝  
炎に対するインターフェロン療法 臨  
牀と研究 2008;85(7):56 - 62
11. 林 純、古庄憲浩. ウイルス感染症の現  
況と対策 HCV 臨牀と研究  
2008;85(5):695 - 700
12. 林純、古庄憲浩、小川栄一. FibroScan  
の臨床的有用性について 臨牀と研究  
2008;85(10):148 - 152
13. 林純. 性感染症としての肝炎 Medical  
ASAHI 2008;37(11):78 - 80

[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  
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) 村田 昌之: 一般住民におけるC型肝炎  
ウイルス(HCV)感染自然経過の長期大  
規模疫学研究 第14回日本総合診療医  
学会学術集会 山口、2006
- 2) 古庄 憲浩: 九州大学関連肝疾患研究会  
におけるペグ IFNα-2b・リバビリン併用

- 療法(Peg-IFN/RIB)の臨床成績 第80回日本感染症学会総会 東京、2006
- 3) 武岡 宏明: C型肝炎ウイルス(HCV)・成人T細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)重複感染肝臓癌におけるHTLV-1外被蛋白抗体(抗gp46・197抗体)の推移 第80回日本感染症学会総会 東京、2006
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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 $\alpha$ 2b・リバビリン併用療法のSVRに関する因子の検討 第43回日本肝臓学会総会 東京、2007
- 7) 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
- 8) 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
- 9) Furusyo N. Association between insulin resistance and efficacy of pegylated interferon-alpha plus ribavirin combination treatment for patients with chronic hepatitis C virus infection The 3rd European Congress of Virology Germany、2007
- 10) 古庄憲浩. 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
- 11) 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 $\alpha$ 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
- 12) 古庄憲浩、村田昌之、大田黒 滋、貝沼茂三郎、小川栄一、草椰はる、永楽訓三、海野麻美、澤山泰典、林純. 慢性肝炎に対するペグインターフェロン(PEG-IFN)・リバビリン(RBV)併用療法における初期ウイルス減衰について. 第82回日本感染症学会総会、松江、2008
- 13) 古庄憲浩、村田昌之、大田黒 滋、貝沼茂三郎、小川栄一、草椰はる、武岡宏明、豊田一弘、前田晋至、大西八郎、澤山泰典、野村秀幸、林純. 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と耐糖能異常. 第82回日本感染症学会総会、松江、2008

- 14) 古庄憲浩、小川栄一、豊田一弘、武岡宏明、前田晋至、大西八郎、村田昌之、貝沼茂三郎、澤山泰典、林純。C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療における経時的インスリン抵抗性の推移。第82回日本感染症学会総会、松江、2008
- 15) 古庄憲浩、小川栄一、林純。C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法における経時的非侵襲的肝線維化評価。第44回日本肝臓学会総会 ワークショップ、松江、2008
- 16) 古庄憲浩、梶原英二、高橋和弘、野村秀幸、田邊雄一、増本陽秀、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。65歳以上の Genotype1 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 alpha-2b・リバビリン併用療法の臨床成績。第44回日本肝臓学会総会、松江、2008
- 17) 吉本剛志、中牟田 誠、古庄憲浩、梶原英二、高橋和弘、野村秀幸、田邊雄一、増本陽秀、丸山俊博、遠城寺宗近、東 晃一、下野淳哉、酒井浩徳、下田慎治、林純。ALT 値 30 IU/mL 未満の Genotype1 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 alpha-2b・リバビリン併用療法の臨床成績。第44回日本肝臓学会総会、松江、2008
- 18) 酒井健司、下田慎治、古庄憲浩、梶原英二、高橋和弘、野村秀幸、田邊雄一、増本陽秀、丸山俊博、中牟田 誠、遠城寺宗近、東 晃一、下野淳哉、酒井浩徳、林純。Genotype1 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 alpha-2b・リバビリン併用療法の規定総投与量による臨床成績。第44回日本肝臓学会総会、松江、2008
- 19) 古庄憲浩、村田昌之、小川栄一、林純。C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン a2b・リバビリン併用療法と耐糖能異常。第91回日本消化器病学会九州支部例会 パネルディスカッション2、福岡、2008
- 20) 多田靖哉、古庄憲浩、梶原英二、中牟田誠、野村秀幸、高橋和弘、丸山俊博、佐藤丈顕、田邊雄一、遠城寺宗近、東晃一、下田慎治、下野淳哉、酒井浩徳、林純。C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン a2b・リバビリン併用療法における長期投与のウイルス学的効果の検討。日本消化器関連学会週間 Japan Digestive Disease Week 2008、東京、2008
- 21) 古庄憲浩、貝沼茂三郎、小川栄一、豊田一弘、谷合啓明、大田黒 滋、村田昌之、澤山泰典、野村秀幸、林純。高齢者 C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン a・リバビリン併用療法の臨床成績。第78回日本感染症学会西日本地方会、広島、2008

#### G. 知的所有権の取得状況

なし。