

平成20年度中間報告研究会 虎の門病院 熊田博光  
肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究  
平成20年度共同研究テーマ

**C型肝炎**

1. Peg-IFN/Ribavirin併用療法48週vs72週の治療効果の比較
2. 肝硬変のRibavirin併用療法とIFN単独療法の治療効果の比較
3. C型肝炎の治療法のクアテリカルバスの作成

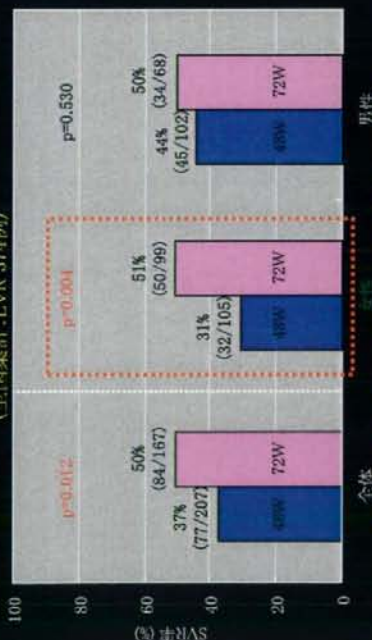
**B型肝炎**

1. HBV Genotype別に応じたIFN治療効果の検討
2. B型肝炎の各種基礎アログ製剤使用中の発症例の検討
3. B型肝炎の各種基礎アログ製剤中止例の予後
4. de novo B型肝炎の臨床学的特徴および発症後の予後(継続)

1. Peg-IFN+Ribavirin併用療法48週vs72週の治療効果の比較  
PEG-IFN/RBV併用療法48週・72週完遂例 (全国集計:1460例)

Demographic data		18週投与群	32週投与群	
性別		1167	293	
年齢(平均/SD)		684 / 503	124 / 169	<0.001
年齢(歳)*		37 (15-77)	58 (19-75)	0.009
Ann Arbor 分期(%)		54 / 5-12 / 13-24 / 35-51	76 / 513 / 207 / 231	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )*		23.1 (14.0-37.0)	22.7 (15.6-36.0)	0.017
IFN治療歴		492 (42.4%)	131 (45.0%)	NS
Laboratory data				
ALT (U/L)		59 (11-636)	53 (14-430)	0.007
ビリルビン (mg/dl)		16.2 (4.2-11.8)	15.1 (5.9-38.2)	0.005
HCV RNA量 (IU/ml)		1,500 (5-5,000)	2,100 (77-5,000)	<0.001
起病からIFN (mg/d)		171 (16-297)	174 (78-276)	NS
LDL-C (mg/dl)		96 (25-196)	102 (36-205)	NS
血清トリアシジン (mg/dl)		95 (39-172)	97 (35-218)	NS
IFN治療歴 (mg/d)		2.1 (0.2-41.2)	2.1 (0.6-23.2)	NS
IFN治療歴 (mg/d)		127 (5-1389)	132 (10-625)	NS
IFN治療歴 (mg/d)		10 / 171 / 312 / 146 / 233 / 112 / 77 / 51 / 8	0 / 19 / 8 / 0 / 19	0.019
IFN治療歴 (mg/d)		151 / 231 / 384 / 32	3 / 127 / 101 / 22	0.012
IFN治療歴 (mg/d)		530 / 36 / 3	127 / 6 / 0	NS
IFN治療歴 (mg/d)		510 / 217	109 / 65	NS
IFN治療歴 (mg/d)		486 / 329	112 / 81	NS
IFN治療歴 (mg/d)		615 / 180	142 / 33	NS

1. Peg-IFN+Ribavirin併用療法48週vs72週の治療効果の比較  
LVRに対するPEG-IFN/RBV併用療法48週・72週投与の治療成績比較  
(全国集計:LVR 374例)



\*LVRは13週から24週の間でAmplicon定性法が陰性化した症例

C型肝炎研究-2 肝硬変のRibavirin併用療法とIFN単独療法の治療効果の比較

C型肝炎研究-2 肝硬変のRibavirin併用療法とIFN単独療法の治療効果の比較

解析例全体 SVR 26.9%(68/253)

Genotype	SVR
Genotype 1b	40.0% (44/110)
Genotype 2a, 2b	27.9% (19/68)
高ウイルス血症	18.8% (29/154)
低ウイルス血症	31.7% (13/41)
低ウイルス血症	43.4% (36/83)

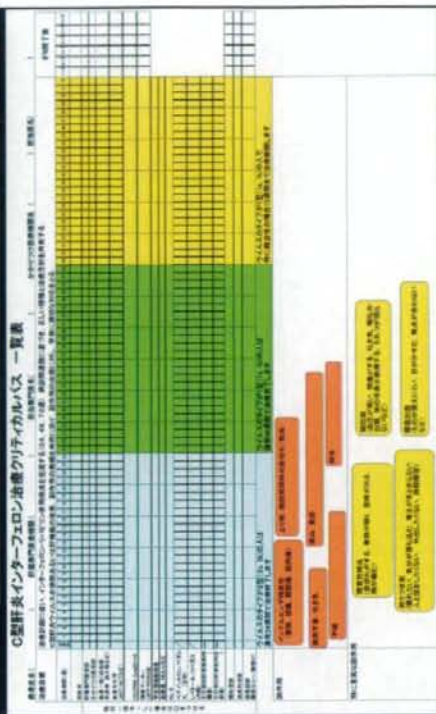
\*S<5.0Log, <1Meq, M<5.1-6.0Log, 1-4Meq, L<6.1Log, 4-1Meq  
9/988症例にみたHCV RNA陰性化率 S 39.1% M 20.4% L 10.1%

### C型肝炎IFN + ribavirin併用療法 HCV RNA陰性化率

解析例全体 SVR 35.4% (108/305)

	Genotype 1b 28.5% (87/272)	Genotype 2a, 2b 63.6% (21/33)
高ウイルス量 33.0% (91/276)	30.2% (76/251)	60.0% (15/25)
低ウイルス量 53.9% (14/26)	50.0% (10/20)	66.7% (4/6)

\*S:5.0Log, <1Meq, M: 5.1-6.0Log, I-4Meq, L: 6.1-7Log, 4.1-5Meq  
 G/G:4.4以上にみたHCV RNA陰性化率 S 50.0% M 40.1% L 24.1%



### クリティカルパスの現状と問題点

- クリティカルパスは、ある程度作成されているが運用はあまり進んでいない。  
 (特に病診間連携パス)
- 一人ひとりが異なるので、バリエーションが多岐にわたり、画一化したパスが作りにくい。
- 医師が、検査データをパスに書き込むのに時間がかかる。  
 (実際、血液検査データは、プリントアウトして渡している。)
- かかりつけ医とのやりとりは、パスでは伝わりにくい。

### C型肝炎に対する初回治療ガイドライン

	Genotype 1	Genotype 2
高ウイルス量 1 Meq/ml, 5.0 Log IU/ml, 300 fmol/L 以上	Peg-IFN α 2b; Peg-intron + Ribavirin; Rebetol (18-72週間) Peg-IFN α 2a; Pegasys + Ribavirin; Copegus (18-72週間)	Peg-IFN α 2b; Peg-intron + Ribavirin; Rebetol (24週間)
低ウイルス量 1 Meq/ml, 5.0 Log IU/ml, 300 fmol/L 未満	IFN (24週間) Peg-IFN α 2a; Pegasys (24-48週間)	IFN (8-24週間) Peg-IFN α 2a; Pegasys (24-48週間)

注) Genotype1, 高ウイルス量例へのPeg-IFN+Ribavirin併用療法の治療期間延長(72週間投与)の基準: 投与開始12週後にHCV RNA量が前療の1/100以下に低下するがHCV RNAの陽性(Real time PCR法)で36週までに陰性化した例では、ブラス24週(トータル72週間)の投与期間を延長する。

肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究  
平成30年度共同研究テーマ

C型肝炎

1. Peg-IFN+Ribavirin併用療法48週vs72週の治療効果の比較
2. 肝硬変のRibavirin併用療法とIFN単独療法の治療効果の比較
3. C型肝炎の治療法のガイドラインの作成

B型肝炎

1. HBV Genotype別に見たIFN治療効果の検討
2. B型肝炎の各種核酸アナログ製剤使用中の発症例の検討
3. B型肝炎の各種核酸アナログ製剤中止例の予後
4. de novo B型肝炎の臨床学的特徴および発症後の予後(継続)

B型肝炎共同研究-1 HBV Genotype別に見たIFN治療効果の検討

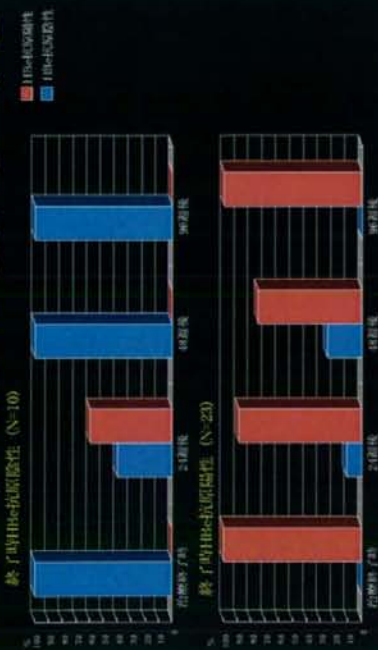
- HBV Genotype別に見たIFN治療効果の検討-

HBs抗原の陰性化率

Genotype	HBsAg (+)	HBsAg (-)	Total
A	24% (4/17)	0% (0/2)	21% (4/19)
B	6% (1/18)	13% (3/23)	10% (4/41)
C	3% (11/382)	11% (19/167)	5% (30/549)
	4% (16/417)	11% (22/192)	6% (38/609)

\*IFN終了後の経過観察期間6.5年

B型肝炎共同研究-3 B型肝炎の各種核酸アナログ製剤中止例の予後  
HBs抗原陽性例Sequential療法(LAM & IFN)治療中止後のHBsAgの経過



35歳未満B型慢性肝炎の治療ガイドライン

治療対象は、ALT  $\geq$  3IU/Lで:

HBs抗原陽性は、HBV DNA量 5 log copies/mL以上、  
HBs抗原陰性は、4 log copies/mL以上  
肝硬変症例では3 log copies/mL以上

HBV DNA/B HBs抗原	$\geq$ 7 log copies/mL	< 7 log copies/mL
e抗原陽性	① IFN長期投与(24-48週) ② Entecavir	① IFN長期投与(24-48週) ② Entecavir
e抗原陰性	① Sequential療法 (Entecavir; IFN 継続療法) ② Entecavir	① 経過観察 ② IFN長期投与(24週)

血小板15万未満またはIFN2以上の進行例には最初からEntecavir

## 35歳以上B型慢性肝炎の治療ガイドライン

治療対象は、ALT  $\geq$  3IU/Lで、

HBs抗原陽性は、HBV DNA量 5 log copies/mL以上、

HBs抗原陰性は、4 log copies/mL以上

肝硬変症例では3 log copies/mL以上

HBV DNA量	$\geq$ 7 log copies/mL	< 7 log copies/mL
HBs抗原陽性	① Entecavir ② Entecavir + IFN療法 (24-48週)	① Entecavir ② IFN長期投与 (24-48週)
e抗原陰性	Entecavir	Entecavir

## ウイルス性肝硬変に対する包括的治療のガイドライン

代償性肝硬変は、IFN+entecavirを主体とした治療でウイルス排除を目指す。  
非代償性肝硬変は、代償性肝硬変への改善を原則とし重症予防を目指す治療法を選択すべきである。

1. 原因ウイルスの駆除及びウイルスの減少によりAST・ALT値の正常化を目指す。

- a) C型代償性肝硬変
- 1b-高ウイルス量以外 ..... IFN  $\beta$  + Pegon
  - 1b-高ウイルス量 ..... IFN  $\alpha$  + Sofosbuvir
- b) B型肝硬変 ..... Entecavir

2. 肝機能の維持 (AST・ALT値、アルブミン値を改善)し肝硬変の抑制を目指す。

- a) 肝症薬剤 ..... SMMC, UDCA, 等
- b) 分岐鎖アミノ酸製剤 ..... L-valact
- c) 胆汁酸法

3. 栄養補助療法 (非代償性肝硬変) 補助により肝機能の安定化を目指す。

## B型慢性肝炎の治療 (ガイドラインの補足-1)

1. B型慢性肝炎の治療は、若年(35歳未満)者ではdrug freeを目指してIFNを基本とする。中高年(35歳以上)者は、HBV DNAの持続的陰性化を目指して初回核酸アナログ製剤は entecavirとする。一方、lamivudine及びentecavir耐性株に対しては、lamivudine+adefovir併用療法を基本とする。

2. B型肝炎は、HBV genotypeにより治療効果が異なりgenotypeを測定して治療法を決定することが望ましい。特に、genotype A, Bは、35歳以上でもIFNの効果が高率であることから、第一選択はIFN投与が望ましい。

3. IFNの投与期間は、24週間を原則とするが、有効症例 (HBV DNA低下、ALT値正常化)は、48週間投与が望ましい。

## 肝硬変に対するガイドライン補足

1. C型代償性肝硬変に対するIFNの投与法は、初回投与量600万国際単位をできる限り速目投与(2-8週間)し、その後慢性肝炎同様48週以上の長期投与が望ましい。

2. C型代償性肝硬変に対するIFN投与で、12週以上経過してもHCV RNAが陰性化しない症例は重症予防を目指した300万国際単位による長期投与を行うべきである。

3. 血小板が5万以下のC型肝硬変ではIFNの治療効果を十分検討の上、脾臓切除あるいは脾動脈血栓形成を行ってIFN治療を行うのが望ましい。

4. C型代償性肝硬変で発癌予防を必ずする場合にはAST・ALT値、AFP値の改善を目指し、IFNのみでなく肝症薬剤(SMMC, UDCA)、胆汁酸法、分岐鎖アミノ酸製剤を併用するが、は組み合わせて治療する。

## 平成20年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：テラーメイド治療を目指した肝炎ウイルスデータベース構築に関する研究課題番号：H19-肝炎一般-013研究代表者：田中 靖人**I. 研究の意義**

(1) 従来、ヒト側要因 (SNPs) もしくはウイルス側要因 (ゲノム配列) のいずれか一方を用いた肝炎ウイルス研究が主体であった。(2) 90万種ヒトSNPsを用いたゲノムワイド関連研究は世界的にも始まったばかりであり、肝炎に関する研究は前例がない。(3) ヒト及びウイルスゲノム解析に基づいた統合型肝炎ウイルスデータベースの構築により、肝炎テラーメイド治療の確立を目指す。

**II. 研究の目的、期待される成果**

(1) 肝炎ウイルス感染に対する応答性 (発症感受性及び病態進展) や薬剤応答性の個人差に関わるヒト及びウイルス両方の遺伝子要因を同一個体内で解析。(2) 各種データを統括する組織作り→統合的にデータベース化・解析→ヒト及びウイルス側要因の両方を考慮した知見を得る。(3) 病態進展の予測 (ハイリスク群の囲い込み) 及び適切な薬剤の選択が可能となり、テラーメイド治療への展開が期待される。(4) 統合型データベース (DB) をすべて公開し、一般臨床にも活用されたい。

**III. 2年間の研究成果**

1) 研究代表者 (田中) ; 検体及び付帯情報の収集 : 研究協力施設 (15 施設) においてヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理委員会の審査で承認を得て、慢性肝疾患 440 例の検体及び付帯情報を収集 (H20 年 12 月現在)。2) 研究分担者 (徳永) ; ヒト SNPs を用いたゲノムワイド関連研究 : 健常対照者 200 検体及び肝疾患群 396 検体について 90 万種の SNP タイピングを終了し、得られたデータの質のチェック後、各検体の遺伝子型を決定。現在、ゲノムワイド関連分析を展開中。3) 研究代表者・研究分担者 (田中・溝上) ; 肝炎ウイルス遺伝子解析 : HBV→肝癌に関連している X~コア領域、HCV→IFN 感受性に寄与するコア領域及び NS5A 領域の遺伝子配列を決定。4) 研究分担者 (五條堀) ; 肝炎ウイルス統合データベースの構築 : 肝炎 DB として、70,000 件の HCV 配列、19,600 件の HBV 配列を登録。ヒトゲノムワイドに解析された健常者及び患者の SNPs 情報や関連解析結果の登録追加。5) 肝炎テラーメイド治療を目指した重点研究 : a) PEG-IFN/RBV 併用療法の治療抵抗性因子の解明 : HCV 1 型高ウイルス量の難治例を対象とし (269 例+検証群 43 例)、データマイニング解析を行い、治療効果判別アルゴリズムを構築 (黒崎)。さらに、50 症例について治療前の肝組織の遺伝子発現プロファイリングを解析 (本多)。b) HBV・HCV 関連肝癌発症に寄与するウイルス変異と SNPs 同定 (約 400 例)。c) HBV/HCV 関連の肝外病変 (扁平苔癬など) 合併患者 (22 例) の検体及び付帯情報を収集、SNPs タイピング (長尾)。

## IV. 21年度の課題

- (1) 検体及び付帯情報の収集を継続 (400例目標に追加)。
- (2) ヒトSNPsを用いたゲノムワイド関連研究: 90万種のSNPタイピングの継続、関連分析を実施。
- (3) 肝炎ウイルス遺伝子解析: 病態進展及び薬剤応答性・耐性に関連するウイルス変異の同定。
- (4) 肝炎ウイルス統合データベースの構築: ヒト側・ウイルス側の両要因を基にした相関解析を実行し、ウイルス性肝炎の詳細なプロファイリングを行い、統合型データベースを構築する。
- (5) 肝炎テラーメイド治療を目指した重点研究: a) 本研究班で得られた各種因子をデータマイニングにより統合解析→C型慢性肝炎・PEG-IFN/RBV併用療法の治療抵抗性予測アルゴリズム確立。b) 肝癌発症に寄与するウイルス・宿主因子。c) HBV/HCV関連の肝外病変に寄与するウイルス・宿主因子の同定。

## V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 統合型肝炎ウイルスデータベースを構築→肝炎ウイルス感染に対する応答性や薬剤応答性の個人差の解明→個々に応じたテラーメイド治療を確立・公開。(2) 肝硬変及び肝癌という高度な医療が必要な疾患の患者数を減らすことにより、結果的に医療費の低減に繋がり、社会福祉に寄与。

## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

田中 靖人

1. Sugiyama M, Tanaka Y, Kurbanov F, Maruyama I, Shimada T, Takahashi S, Shirai T, Hino K, Sakaida I, Mizokami M. Direct Cytopathic Effects of Particular Hepatitis B Virus Genotypes in uPA/SCID Mouse with Human Hepatocytes. Gastroenterology. 2008 in press.
2. Shinkai N, Tanaka Y, Ito K, Mukaide M, Hasegawa I, Asahina Y, Izumi N, Yatsushashi H, Orito E, Joh T, Mizokami M. Influence of hepatitis B virus X, core promote mutations on hepatocellular carcinoma among patients with subgenotype C. J Clin Microbiol. 2007. 45(10):3191-3197.

特許: HBV感染症を治療または予防するための医薬組成物

溝上雅史、田中靖人、杉山真也、須藤正幸。2008年6月19日。特願2008-160601。  
出願中。公立大学法人名古屋市立大学、中外製薬株式会社。肝炎ウイルスの生体外増殖方法およびその用途

肝炎ウイルスデータベース公開: <http://s2as02.genes.nig.ac.jp>

徳永 勝士

Nishida N, Koike A, Tajima A, Ogasawara Y, Ishibashi Y, Uehara Y, Inoue I, Tokunaga K. Evaluating the performance of Affymetrix SNP Array 6.0 platform with 400 Japanese individuals. BMC Genomics. 2008 in press.

五條堀 孝

Howe D, Costanzo M, Fey P, Gojobori T, Hannick L, Hide W, Hill DP, Kania R, Schaeffer M, St Pierre S, Twigger S, White O, Yon Rhee S. Big data: The future of biocuration. Nature. 2008. 455(7209): 47-50.

溝上 雅史

Shin-i T, Tanaka Y, Tateno Y, Mizokami M. Development and Public Release of Comprehensive Hepatitis Virus Database. Hepatol Res. 2008. 38(3):234-243.

本多 政夫

Ura S, Honda M, Yamashita T, Ueda T, Takatori H, Nishino R, Sunagozaka H, Sakai Y, Horimoto K, Kaneko S. Differential miRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to HCC. Hepatology. 2008 in press.

黒崎 雅之

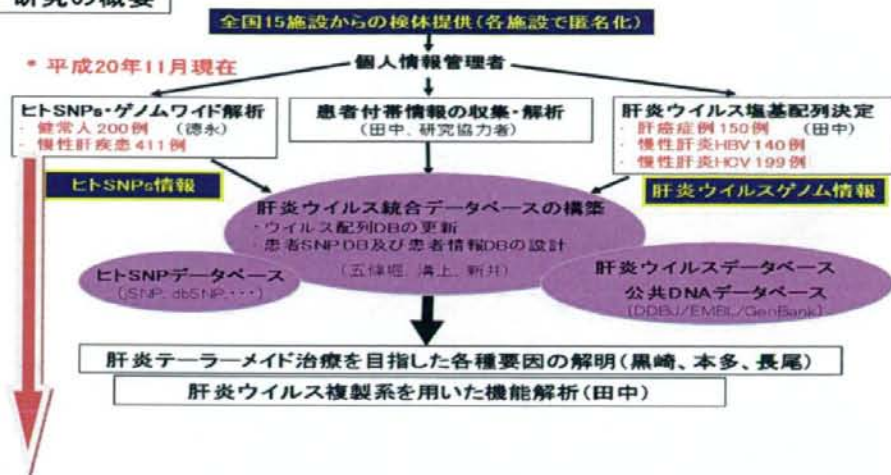
Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Asahina Y, Miyake S, Enomoto N, Izumi N. The presence of steatosis and elevation of alanine aminotransferase level are associated with fibrosis progression in chronic hepatitis C with non-response to interferon therapy. J Hepatol. 2008. 48:736-742.

長尾 由美子

Nagao Y, Kawasaki K, Sata M. Insulin resistance and lichen planus in patients with HCV-infectious liver diseases. J Gastroenterol Hepatol. 2008. 23:580-585.

## VII. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

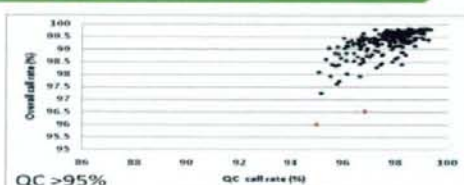
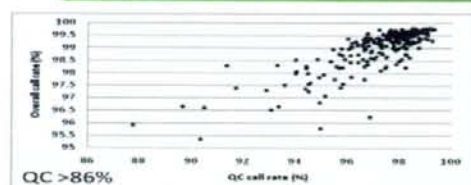
## 研究の概要



## ゲノムワイド関連解析の結果(1)

健常群(184) vs. HCV感染(262)

不良データの除去: QC Call Rateの閾値を86%から95%へ引き上げる



QC	Overall (平均)	サンプル数
> 86%	99.05%	262
> 95%	99.30%	238

Overall Call Rateが97%を下回った2検体を取り除く

Overall (平均) サンプル数  
99.34% 236

## ゲノムワイド関連解析の結果(2)

健康者(184) vs. HCV感染(262)		
SNP call rate	>95%	Case, Control
HWE	>0.1%	Control
MAF	>1%	Case, Control

HCV感染(100) vs. HCV感染(238)		
SNP call rate	>95%	Case, Control
HWE	なし	Case, Control
MAF	>1%	Case, Control

健康者(184) vs. HCV感染(238)		
Filter passed: 623,063 SNPs		
Avg B p-value	#remaining SNP	observed/expected
<0.05	33,433	1.072
<0.01	6,905	1.107
<10 <sup>-3</sup>	762	1.221
<10 <sup>-4</sup>	73	1.170
<10 <sup>-5</sup>	7	1.122
<10 <sup>-6</sup>	0	0.000

HCV感染(100) vs. HCV感染(238)		
Filter passed: 620,401 SNPs		
Avg B p-value	#remaining SNP	observed/expected
<0.05	32,069	1.021
<0.01	6,471	1.030
<10 <sup>-3</sup>	636	1.012
<10 <sup>-4</sup>	65	1.034
<10 <sup>-5</sup>	11	1.750
<10 <sup>-6</sup>	4	6.365

健康者(184) vs. HBV感染(140)		
Filter passed: 619,340 SNPs		
Avg B p-value	#remaining SNP	observed/expected
<0.05	33,238	1.073
<0.01	6,961	1.124
<10 <sup>-3</sup>	793	1.280
<10 <sup>-4</sup>	91	1.469
<10 <sup>-5</sup>	21	3.391
<10 <sup>-6</sup>	15	24.219

HCV感染(100) vs. HBV感染(140)		
Filter passed: 621,624 SNPs		
Avg B p-value	#remaining SNP	observed/expected
<0.05	31,656	1.015
<0.01	6,225	1.001
<10 <sup>-3</sup>	615	0.989
<10 <sup>-4</sup>	46	0.740
<10 <sup>-5</sup>	4	0.643
<10 <sup>-6</sup>	2	3.216

健康者200検体および肝炎患者396検体について90万種SNPタイピングを終了し、各検体の遺伝子型を決定  
健康者群、患者群、肝炎亜型患者群の間でゲノムワイド関連分析の結果、有意なSNPsを複数同定

## ○研究代表者の研究歴等

## ・過去に所属した研究機関の履歴

1991年5月～2001年7月	名古屋市立大学医学部第二内科 研究員
1997年4月～2001年3月	名古屋市立大学大学院医学研究科 医学博士
1999年11月～2001年7月	米国立保健研究所 (NIH) 留学 (Harvey J Alter)
2001年8月～現在	名古屋市立大学大学院医学研究科 臨床分子情報医学
2006年6月～現在	国立感染症研究所ウイルス第二部 客員研究員

## ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1991年5月～1997年3月	名古屋市立大学医学部第二内科 山本正彦、溝上雅史
1997年4月～2001年3月	名古屋市立大学大学院医学研究科 上田龍三、溝上雅史
1997年4月～現在	国立遺伝学研究所 五條堀孝
1999年～2001年	米国立保健研究所 (NIH) Visiting fellow, Harvey J Alter
2006年6月～現在	国立感染症研究所ウイルス第二部 脇田隆宇

## ・主な研究課題

- 1) HBVの基礎的・臨床的研究 (HBV複製モデルを用いた検討)
- 2) 世界各国における肝炎ウイルスの分子疫学 (感染ルートの解明及び拡散時期の推定)
- 3) ウイルス性肝炎における SNPs 解析

## ・これまでの研究実績

1. Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M. et al. Direct Cytopathic Effects of Particular Hepatitis B Virus Genotypes in uPA/SCID Mouse with Human Hepatocytes. *Gastroenterology* 2008, in press.
2. Tanaka Y, Mizokami M. Genetic diversity of hepatitis B virus as an important factor associated with differences in clinical outcomes. *J Infect Dis.* 2007. 195(1):1-4.
3. Tanaka Y, Mukaide M, Mizokami M. et al. Specific Mutations in Enhancer II/Core Promoter of Hepatitis B Virus Subgenotypes C1/C2 Increase the Risk of Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatol.* 2006. 45(5):646-653.
4. Tanaka Y, Kurbanov F, Mizokami M. et al. Molecular Tracing of Global Hepatitis C Virus Epidemic Predicts Regional Patterns of Hepatocellular Carcinoma Mortality. *Gastroenterology.* 2006. 130(3):703-714.
5. Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M. et al. Influences of Hepatitis B Virus Genotypes on the Intra- and Extracellular Expression of Viral DNA and Antigens. *Hepatology.* 2006. 44(4):915-924.
6. Ozasa A, Tanaka Y, Mizokami M. Influence of Genotypes and Precore Mutations on Fulminant or Chronic Outcome of Acute Hepatitis B Virus Infection. *Hepatology.* 44(2):326-34. 2006.
7. Tanaka Y, Hasegawa I, Mizokami M. et al. A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology.* 2004. 40:747-755.
8. Tanaka Y, Furuta T, Mizokami M. et al. Impact of interleukin-1 beta genetic polymorphism on development of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma in Japan. *J Infect Dis.* 2003. 187(11):1822-1825.
9. Tanaka Y, Mizokami M, Alter HJ. et al. A comparison of molecular clock of hepatitis C virus in the United States and Japan predicts that hepatocellular carcinoma incidence in the US will increase over the next two decades. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002. 99(24):15584-15589.

## 特許

1. HBV感染症を治療または予防するための医薬組成物  
溝上雅史、田中靖人、杉山真也、須藤正幸。2008年6月19日。特願2008-160601。出願中。公立大学法人名古屋市立大学、中外製薬株式会社。
2. 肝炎ウイルスの生体外増殖方法およびその用途  
山口達哉、瀬川昌也、溝上雅史、田中靖人。2006年10月4日。特願2006-260088。出願中。東洋紡績株式会社。



(課題番号: H19-肝炎-一般-013)

研究課題名:

テララメド治療を目指した  
肝炎ウイルスデータベース構築

に関する研究

名古屋国立大学 田中晴人

目的: 肝炎ウイルス感染に対する応答性(病態進展)や薬剤応答性の個人差に関わるヒト及びウイルス両方の遺伝子要因を同一個体内で明らかにする

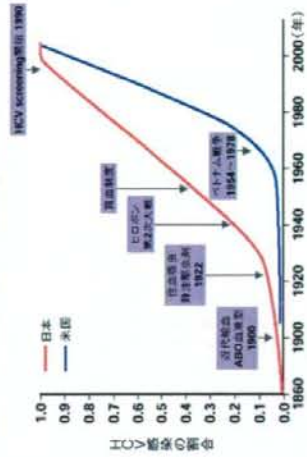
宿主要因と外的要因の病態関与をどの様に考えるか?



### Clinical Course of HCV Infection

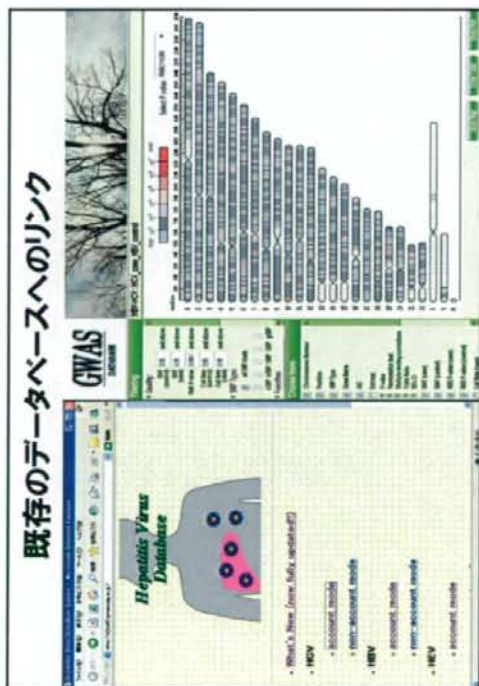


### 日本と米国におけるHCV感染の拡がり



西暦2000年のHCV感染者を1.0として、日本と米国のHCV感染率を示した。  
(Tanaka Y, et al. PNAS 2002)





### 肝炎テラーメド治療を目指した各種要因の解明

a) ペグインターフェロン・リビリン併用療法の治療抵抗性因子の解明  
 ・ウイルス因子、SNPsデータを含む宿主因子を統合したデータマイニング解析(黒崎)  
 ・肝組織の遺伝子発現プロファイリング、ウイルス因子及びSNPsデータを統合(本多)

b) ペグインターフェロン・リビリン併用療法の副作用に寄与する要因

c) HBV・HCV関連肝癌進展に寄与する因子  
 ⇒ 肝癌発症に寄与するウイルス変異とSNPsを同定し、統合解析(田中、溝上)

d) HBV・HCV関連の肝外病変とくに粘膜炎(扁平苔癬、シエーグレン症候群)に寄与するSNPsの同定(長尾)

e) HBV・HCV持続感染に寄与するSNPsの同定

### 肝炎ウイルス複製系を用いた機能解析

・ウイルス複製メカニズムの解明  
 ・薬剤感受性試験  
 ・肝線維化・発癌メカニズムの解明

**Lok A. Koshy R: 日米肝炎ハネル〜世界基準のHBV薬耐性データベース**

### ヒトゲノム倫理委員会承認状況(21年度~19施設)

代表	ヒトゲノム倫理委員長	田舎者
名古屋国立大	田中博人	田中博人
東大	西田宗夫, 上原博知	
北大	新藤平	
追分医大	鈴木一孝	
埼玉医大	神田智	
山梨大	榎本俊彦	
山梨大	新川伸哉	
武蔵野赤十字病院	黒崎智之	
香沢大	酒井幸人	
信州大	松本昌博	
京都府立医大	伊藤麗人	
国立大飯塚センター	三田東治	
鳥取大	大山賢治	
山口大	是永正樹	
慶応大	岩崎謙一	
久慈医大	長尾由美子	
国立国際医療センター	溝上豊史	伊藤中
東京医科歯科大	宮本直哉	
兵庫医大	西口修平	伊藤中
川崎医大	日野啓輔	伊藤中

### SNPセンターに届いたサンプル数: 620検体 (H21.1.22 現在)

北大医学部付属	81	信州大学	11	大阪医歯センター	10
京都府立医科大学	36	金沢大学	37	埼玉医科大学	16
久慈医科大学	37	名古屋国立大	35	東京医科歯科大学	152
武蔵野赤十字病院	104	愛媛大学	21		
鳥取大学	90	山口大学	90		

### タイピング実施数: 396検体

北大医学部付属	35	信州大学	11	大阪医歯センター	9
京都府立医科大学	34	金沢大学	34	埼玉医科大学	16
久慈医科大学	32	名古屋国立大	24		
武蔵野赤十字病院	101	愛媛大学	21		
鳥取大学	46	山口大学	32		

サブグループ間のゲノムワイド関連解析結果

<サブグループの内訳>

1. HCV感染 (262) vs. HBV感染 (113) vs. 健常群 (200)
2. HCV-HCC (75) vs. HCV-CH (187)
3. HBV-HCC (71) vs. HCV-HCC (75)
4. Subgroup 1 (85) vs. Subgroup 2 (76)

HCV感染 (236) vs. 健常群 (184)

Filter passed: 623,863 SNPs

A vs B p-value	# remaining SNP	observed / expected
< 0.05	33,433	1,071
< 0.01	8,005	1,107
< 10 <sup>-3</sup>	762	1,221
< 10 <sup>-4</sup>	73	1,170
< 10 <sup>-5</sup>	7	1,122
< 10 <sup>-6</sup>	0	0.000

HBV感染 (100) vs. 健常群 (184)

Filter passed: 619,340 SNPs

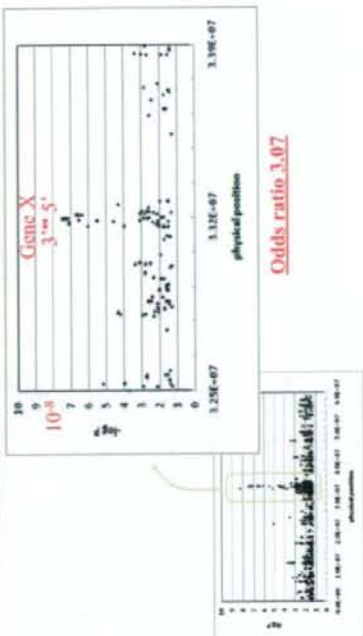
A vs B p-value	# remaining SNP	observed / expected
< 0.05	33,238	1,073
< 0.01	6,661	1,124
< 10 <sup>-3</sup>	703	1,280
< 10 <sup>-4</sup>	91	1,469
< 10 <sup>-5</sup>	21	3,281
< 10 <sup>-6</sup>	15	24,219

SNP filtering parameter: SNP call rate > 95%, HWE (ctrl) > 0.001, MAF > 1%

ゲノムワイド有意水準 (5 x 10<sup>-7</sup>)に達する遺伝子領域を検出

HBV (100) vs. 健常群 (184)

HBV持続感染を規定する因子



サブグループ間のゲノムワイド関連解析結果

HBV感染 (100) vs. HCV感染 (236)

Filter passed: 628,481 SNPs

A vs B p-value	# remaining SNP	observed / expected
< 0.05	32,069	1,021
< 0.01	6,471	1,030
< 10 <sup>-3</sup>	636	1,012
< 10 <sup>-4</sup>	65	1,034
< 10 <sup>-5</sup>	11	1,759
< 10 <sup>-6</sup>	4	6,365

HCV-HCC (184) vs. HCV-HCC (67)

Filter passed: 618,669 SNPs

A vs B p-value	# remaining SNP	observed / expected
< 0.05	30,024	0.971
< 0.01	5,825	0.842
< 10 <sup>-3</sup>	597	0.949
< 10 <sup>-4</sup>	44	0.711
< 10 <sup>-5</sup>	0	0.000
< 10 <sup>-6</sup>	0	0.000

Subgroup 1 (79) vs. Subgroup 2 (68)

Filter passed: 621,824 SNPs

A vs B p-value	# remaining SNP	observed / expected
< 0.05	31,568	1,015
< 0.01	6,225	1,001
< 10 <sup>-3</sup>	615	0.989
< 10 <sup>-4</sup>	48	0.740
< 10 <sup>-5</sup>	4	0.643
< 10 <sup>-6</sup>	2	3,216

HBV-HCC (63) vs. HCV-HCC (67)

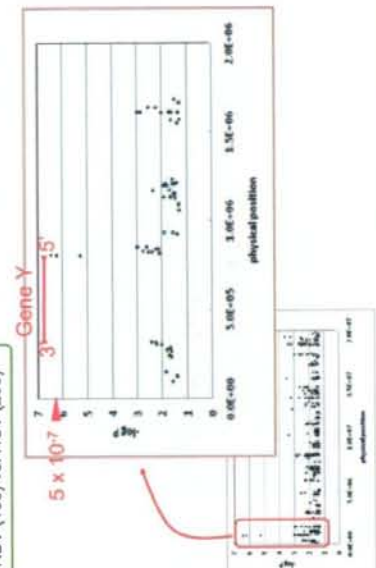
Filter passed: 605,666 SNPs

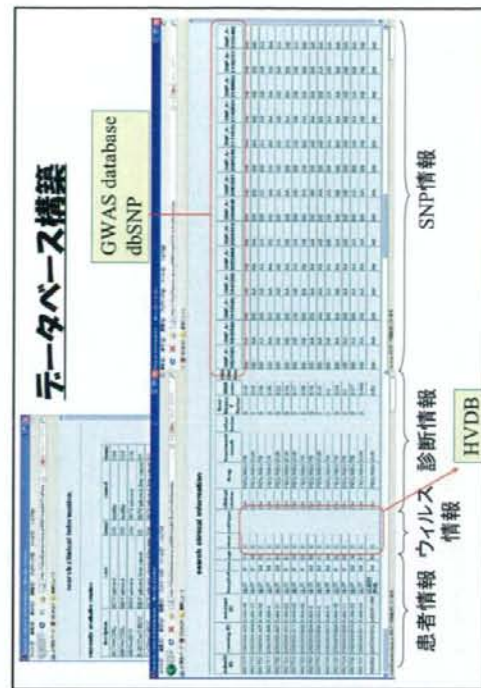
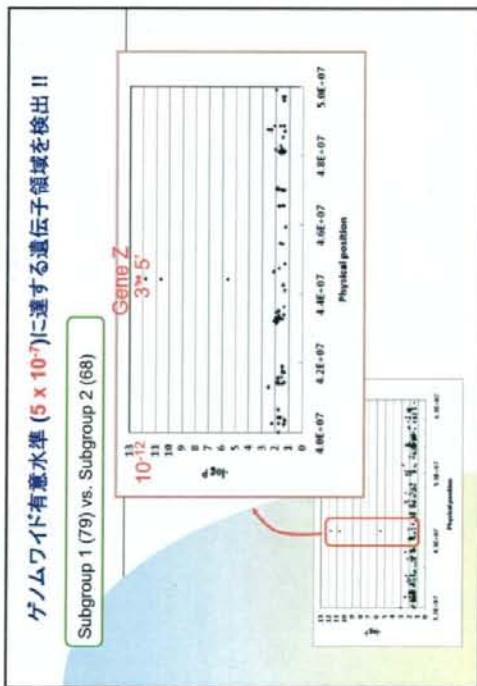
A vs B p-value	# remaining SNP	observed / expected
< 0.05	28,120	0.952
< 0.01	5,796	0.842
< 10 <sup>-3</sup>	564	0.931
< 10 <sup>-4</sup>	57	0.941
< 10 <sup>-5</sup>	11	1.616
< 10 <sup>-6</sup>	0	0.000

SNP filtering: SNP call rate > 95%, MAF > 1%, HWE 制御なし

ゲノムワイド有意水準 (5 x 10<sup>-7</sup>)に達する遺伝子領域を検出 !!

HBV (100) vs. HCV (236)







## 3 年目研究課題

## 平成20年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題: E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・感染防止・診断・治療に関する研究課題番号: H18-肝炎一般-001代表研究者: 矢野公士**I. 研究の意義**

- (1) 国内発生E型肝炎の過半数が感染経路不明のままである。実態解明は急務である。
- (2) 約3割が動物由来感染と考えられている。reservoir controlにより感染を予防できると考えられる。また、食品ワクチンの開発、ブタに対する応用も有望な手段である。
- (3) 臨床像の詳細な検討、治療法の確立により重症化、劇症化、死亡の阻止が期待される。

**II. 研究の目的、期待される成果**

感染経路の全解明、診断・治療・予防法の確立を目標とする。その結果、

- (1) 診断系が確立・普及し、診断不明となっている多くの急性肝炎中のE型肝炎が浮かび上がる。
- (2) 輸血血液の安全性、食の安全性が担保される。ことが期待される。

**III. 3年間の研究成果**

## ・研究代表者

- (1) 全国急性肝炎研究班のE型肝炎について解析を行い、本邦の非ABC型肝炎の中に約4%のE型急性肝炎があることを確認した。
- (2) 長崎地方の野生イノシシ、養ブタから得られたHEVを解析し、近縁関係であることを見出した。
- (3) 肝移植後症例について多数例の検討を行うも、E型慢性肝炎の存在は今までのところ確認されていない。(班友:島村剛)

## ・研究分担者 (三代俊治)

- (1) 西日本に広域に分布し且つ重症肝炎との関連が濃厚な genotype 3 の一系統を發掘した。感染母地は宮崎県内の pig farm と推定された。
- (2) 高感度・高特異性 HEV RNA & antibodies 検出系を開発した。これを用いて E 型肝炎症例發掘と野生動物感染実態調査を行なった。

## ・研究分担者 (岡本宏明)

- (1) HEV の感染頻度は過去 20~30 年、ほとんど変化がないことを明らかにした。
- (2) E 型肝炎患者の糞便由来 3 型 HEV 株 (JE03-1760F) を用い、HEV の効率的で継代可能な培養系を世界で初めて確立することに成功した。4 型 HEV 株の培養系も確立することができた。

## ・研究分担者 (日野学)

- (1) 北海道内献血者 1,075,793 を対象に HEV NAT 調査を実施し、陽性頻度毎年約 1.0 人/1 万人、9 割以上が G3、G3 分離株は遺伝的多様性を示し、G4 分離株は北海道土着株と考えられるクラスターに収束、また一部の株はブタ由来 HEV 株と高い相同性を示す、等が判明した。

## ・研究分担者 (姜貞憲)

- (1) 43 施設からなる「北海道 E 型肝炎研究会 (道 E 研)」発足。2007 年 1 月北海道 E 型肝炎研究会を設立した。さらに、献血 donor screening で診断された HEV 感染者を、各地域の「道 E 研」参加施設へ紹介し診療するシステムを構築した。

## ・研究分担者 (田中靖人)

- (1) 中国における genotype 4 の拡散時期は 1920 年頃と推定された。北海道 genotype 4 の起源は中国である可能性が示唆された。
- (2) HEV 抗体測定系の検証: 抗体測定系 (IgA, IgM) を組み合わせることで感度・特異度が向上した。

## ・研究分担者 (李天成)

- (1) シジミから HEV-RNA の検出 この結果により一部の河川水が HEV によって汚染されている可能性が示唆された。
- (2) キメラマウスにおける E 型肝炎ウイルスの複製 キメラマウスの体内で HEV が持続感染していることが



確認された。肝組織染色、免疫染色からも HEV のターゲットは肝実質細胞であることが示された。

・研究分担者 (桶谷真)

- (1) 劇症肝炎・LOHF 全国調査における過去 3 年間の E 型劇症肝炎症例は 3 例。除外症例も含めると 4 例の劇症肝炎を収集できた。

・研究分担者 (津田新哉)

- (1) HEV のキャプシドタンパク質遺伝子を発現する形質転換レタスの開発に成功した。本年は収穫したレタス葉をマウスに経口投与した。今後、抗体産生を調べる予定である。

**IV. 今後考えられる新たな課題**

- (1) これまでの研究成果により、HEV 感染にはブタやイノシシが重要な役割を持っていることが明らかとなった。しかしなお、感染経路不明とされる E 型肝炎症例の報告が過半数である。実態解明を急ぐ必要がある。
- (2) 診断系の開発と普及が急務である。その結果、臨床像の詳細な検討、治療法の確立により重症化、劇症化、死亡の阻止が可能となる。

**V. 行政施策への貢献の可能性**

- (1) 本邦における E 型肝炎の罹患率、死亡率が減少する。
- (2) この研究の推進により輸血血液の安全性、食の安全性が担保される。

**VI. 本研究の成果 (発表論文・ガイドライン・マニュアル等)**

研究代表者

- (1) Yano K・Wild boar as an important reservoir of hepatitis E virus in western Japan・Hepatol Res・2007・37(3)、167-9.

三代俊治

- (2) Toyoda H, Honda T, Hayashi K, Katano Y, Goto H, Kumada T, Takahashi K, Abe N, Mishiro S, Takamatsu J. Prevalence of hepatitis E virus IgG antibody in Japanese patients with hemophilia. Intervirology・2008・51(1)、21-5
- (3) Michitaka K, Takahashi K, Furukawa S, Inoue G, Hiasa Y, Horiike N, Onji M, Abe N, Mishiro S. Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan. Hepatol Res. 2007 37(3):214-20.
- (4) Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, Kuroda K, Arakawa Y, Takahashi K, Mishiro S, Shimizu K, Moriyama M. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. Hepatol Res. 2007 37(2):113-20

岡本宏明

- (5) Inoue J, Nishizawa T, Takahashi M, Aikawa T, Mizuo H, Suzuki K, Shimosegawa T, Okamoto H: Analysis of the full-length genome of genotype 4 hepatitis E virus isolates from patients with fulminant or acute self-limited hepatitis E. J Med Virol 78:476-484, 2006
- (6) Okamoto H: Genetic variability and evolution of hepatitis E virus. Virus Res 127(2):216-228, 2007
- (7) Yamada K, Takahashi M, Hoshino Y, Takahashi H, Ichiyama K, Tanaka T, Okamoto H: Construction of an infectious cDNA clone of hepatitis E virus strain JE03-1760F that can propagate efficiently in cultured cells. J Gen Virol 90:457-462, 2009

日野学

- (8) A nationwide survey for hepatitis E virus prevalence in Japanese blood donors with elevated alanine aminotransferase. Sakata H, Matsubayashi K, Takeda H, Sato S, Kato T, Hino S, Tadokoro K, Ikeda H. Transfusion. 2008 48(12):2568-76

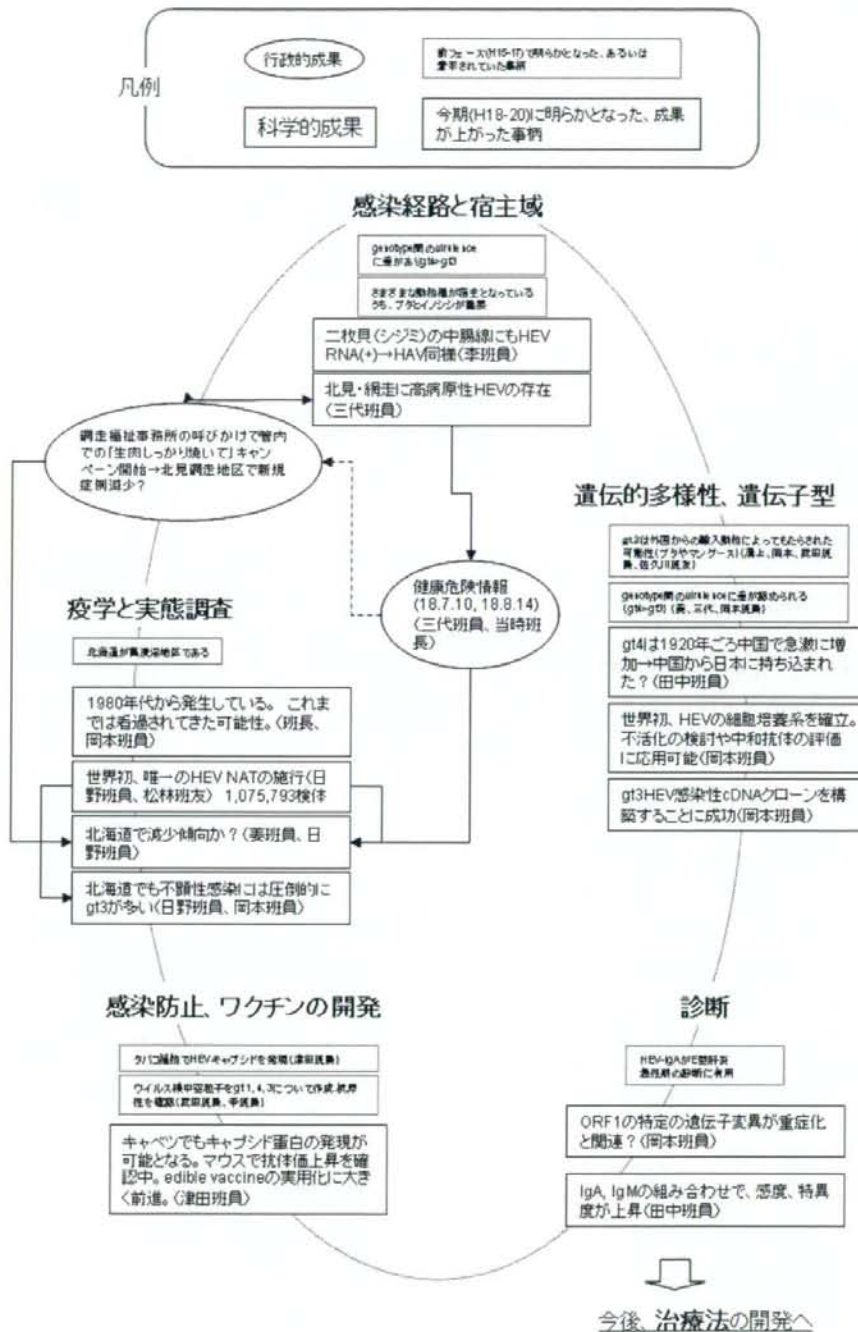
姜貞憲

- (9) Ohnishi S, Kang JH, Maekubo H, Arakawa T, Karino Y, Toyoda J, Takahashi K, Mishiro S Comparison of clinical features of acute hepatitis caused by hepatitis E virus (HEV) genotype 3 and 4 in Sapporo, Japan Hepatology Res 2006, 36, 301-307

李天成

- (10) Li T.C., Scotti P.D., Miyamura T. and Takeda N. Latent infection of a new alphavirus in an insect cell line. J Virol. 2007, 81: 10890-10896
- (11) Matsuura Y, Suzuki M, Kosuge M, Tsunemitsu H, Koshimoto C, Sakae K, Chikahira M, Ogawa S, Miyamura T, Takeda N, Li TC: Prevalence of antibody to hepatitis E virus among wild sika deer, Cervus nippon, in Japan. Arch Virol 2007; 152(7): 1375-81

Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等



○研究代表者の研究歴等・過去に所属した研究機関の履歴

平成6年4月～平成10年3月 長崎大学第一内科 大学院  
 平成6年9月～平成8年9月 Harvard 大学 Beth Israel 病院 免疫病理学フェロー  
 平成13年6月～ 国立病院機構長崎医療センター、臨床研究センター 研究室長

・主な共同研究者（又は指導を受けた研究者）

三代俊治東芝病院研究部長、石橋大海長崎大学肝臓病学講座教授、八橋弘肝臓病学講座教授、SJ Galli ハーバード大学（現スタンフォード大）教授、長滝重信長崎大学名誉教授、江口勝美長崎大学第一内科教授、中尾一彦長崎大学第一内科准教授

・主な研究課題

ウイルス性肝炎の分子疫学  
 急性肝炎の疫学調査  
 C型肝炎に対するインターフェロン療法の最適化  
 渡航医学とA型肝炎、B型肝炎ワクチン

・これまでの研究実績

- (1) *Wild boar as an important reservoir of hepatitis E virus in western Japan* Yano K. *Hepatology Res.* 2007; 37(3):167-9.
- (2) Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan. Masuda JI, Yano K., Tamada Y, Takii Y, Ito M, Omagari K, Kohno S. *Hepatology Res.* 2005 Mar; 31(3):178-183.
- (3) Serum levels of interleukin-6 and its soluble receptors in patients with hepatitis C virus infection. Migita K, Abiru S, Maeda Y, Daikoku M, Ohata K, Nakamura M, Komori A, Yano K. Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. *Hum Immunol.* 2006 67 :27-32.
- (4) Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. Abiru S, Migita K, Maeda Y, Daikoku M, Ito M, Ohata K, Nagaoka S, Matsumoto T, Takii Y, Kusumoto K, Nakamura M, Komori A, Yano K. Yatsushashi H, Eguchi K, Ishibashi H. *Liver Int.* 2006;26(1):39-45.
- (5) Enhanced expression of type I interferon and toll-like receptor-3 in primary biliary cirrhosis. Takii Y, Nakamura M, Ito M, Yokoyama T, Komori A, Nagaoka S, Yano K. Abiru S, Ueki T, Matsumoto T, Daikoku M, Taniguchi K, Fujioka H, Migita K, Yatsushashi H, Nakashima M, Harada M, Ishibashi H. *Lab Invest.* 2005 Jul;85(7):908-20.
- (6) Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E Tamada Y, Yano K. Yatsushashi H, Inoue O, Mawatari F and Ishibashi H *J Hepatol*; 2004, May; 40(5) :869-70.

・平成21年度 肝炎等克服緊急対策研究事業への新規研究課題の応募状況

経口感染する肝炎ウイルス（A型、E型）の感染防止、遺伝的多様性、および治療に関する研究  
 （21281201）

平成20年度 肝次等克服緊急対策 研究事業 研究発表会  
平成21年2月12日

## E型肝炎の感染経路・宿主域・遺伝的多様性・ 感染防止・診断・治療に関する研究

主任研究者  
国立病院長崎医療センター  
矢野公士

分担研究者: 三代俊治、岡本宏明、姜貞壽、田中靖人、橋谷真、日野学、李天成、津田新哉

班長協力者: 松林圭二、狩野吉康、水原仁志、矢崎康彦、鈴木一俊、北嶋直人、依田 広、川上万里、文西幸代、吉川亮、清水裕子、佐次川 廣、嶋村剛、宮川清三

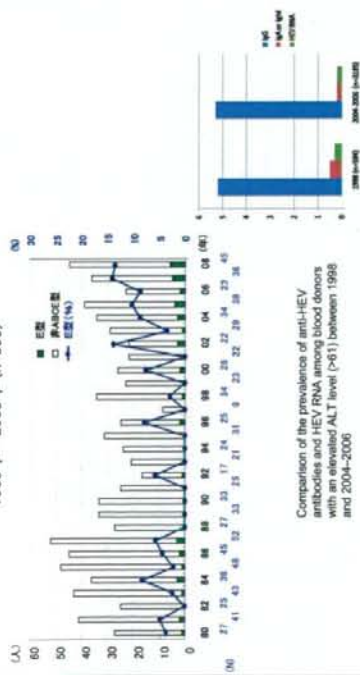
## E型班の背景

•平成15年-17年  
本邦におけるE型肝炎の診断・予防・疫学に関する研究  
(第1次E型班)

- 北海道が高発症地区である
- E型肝炎は人獣共通感染症である。
  - さまざまな動物種が宿主となっている。うち、ブタとイノシシが重要
- HEVには4つの遺伝子型(G1-G4)あり。日本土着株はG3およびG4。
- genotype間のvirulenceに差がありG4>G3
- G3は外国からの輸入動物によってもたらされた可能性(ブタやマンガース)
- 輸血後E型肝炎の存在

①疫学と基礎調査

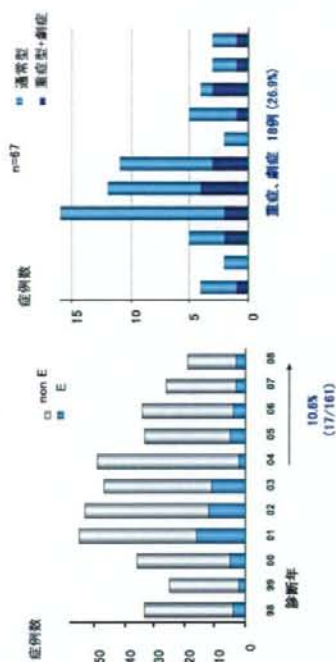
非ABC型急性肝炎の年次推移(国立病院急性肝炎集計)  
1980年～2008年 (n=895)



Arch Virol (2007) 152: 1623-1628. S. Fukuda, H. Okamoto et al.

①疫学と基礎調査

## 札幌3施設におけるE型肝炎



新井 班員