

われた患者は 102 例であった。平均年齢は 55.3 歳 (19-76 歳)、男性 52、女性 50 例であった。治療前血小板数の平均値は 15.2 万 (6.0-29.1 万)、ウイルス量は 2039.5 KIU/ml (100-5000 以上) であった、治療前に肝生検が施行された症例は 84 例であり、線維化ステージはそれぞれ、F0=2、F1=32、F2=29、F3=12、F4=9 であり、F2 以上が 50 例 (59.5%) と比較的線維化進展例が多かった。SVR は 38 例 (37.3%)、non SVR は 49 例 (48.0%)、中止、脱落は 15 例 (14.7%) であった。単変量解析による SVR に寄与する因子の検討では、男性 ($p=0.020$)、年齢が若年 ($p=0.043$)、血小板数の高値 ($p=0.002$)、治療前 HCV コア抗原低値 ($p=0.038$) であった。多重ロジスティック回帰分析による多変量解析では、SVR に寄与する因子は、治療開始後 4 週目のコア抗原陰性化 (Odds ratio 14.9, 95%CI 1.7-253, $p=0.028$) と治療開始後 8 週目の HCV RNA アンプリコア定性陰性化 (Odds ratio 14.3, 95%CI 1.8-195, $p=0.020$) であった。また、治療開始 4 週目の HCV コア抗原陰性の SVR 予測は、陽性的中率 (PPV) は 91.3%、陰性的中率 (NPV) は 62.5% であり、治療開始後 8 週目の HCV RNA 定性陰性の SVR 予測は、陽性的中率 (PPV) 60.5%、陰性的中率 (NPV) 95.0% であった。

次に、性と年齢で詳細に検討した。男性の SVR は 46.2% であるのに対し、女性の SVR は 28.0% と有意に低かった ($p=0.020$)。年齢を 50 歳未満と 50 歳以上の 2 群に分けると、50 歳未満の男性と 50 歳未満の女性の SVR には有意差は認めなかったが、50 歳以上の男性の SVR が 39.5% であるのに対して 50 歳以上の女性の SVR は 20.0% であった。50 歳以上の女性の SVR は有意に低かった ($p=0.038$)。ジェノタイプ 1 型、高ウイルス量の高齢、女性患者ではペグインターフェロンとリバビリン併用療法の SVR は、男性より明らかに低いことが明らかになった。そこで、高齢、女性の SVR が低い要因としては、貧血によるリバビリンの薬剤減量のため十分な薬剤投与が行われていない可能性が考えられた。そこで、薬剤 adherence の影響を除くため、ペグインターフェロン、リバビリン共に、体重で

規定された予定総投与量の 80% 以上が投与された症例で同様の検討を行った。その結果、50 歳未満の男性、女性の SVR はそれぞれ 80%、60% であった。50 歳以上では男性、女性の SVR はそれぞれ 85.7% と 40% であった。症例数が少なく統計学的有意差は認められなかった ($p=0.084$) が、高齢女性では男性より SVR が低かった。さらに、薬剤 adherence 以外の要因を明らかにするため、女性患者を閉経前後で 2 群に分けて SVR の検討を行った。閉経前女性と閉経後女性の SVR は、それぞれ、50.0% と 16.7% であり、有意差を認めた ($p=0.008$)。

D 考察

1 型、高ウイルス量の C 型慢性肝炎患者に対する、ペグインターフェロンとリバビリン併用療法において、高齢女性患者の SVR が低いことには、閉経の前後に差があることから、性ホルモンが関与する可能性が示唆された。よって、高齢女性患者の SVR を向上させるためには、ペグインターフェロンとリバビリン併用療法を行う際に、女性ホルモンあるいは女性ホルモン様物質を併用することで治療効果が高まる可能性が示唆された。

E 結論

ジェノタイプ 1 型、高ウイルス量の高齢女性 C 型慢性肝炎患者の治療効果を低下させている要因として閉経が考えられた。よって、治療効果を高めるためにはホルモン補充療法の応用を検討する必要が考えられた。

F 健康器具情報

特記すべきことなし。

G 研究発表

学会発表

1、The efficacy of Pegylated interferon alpha-2a mono therapy for the Japanese patients with chronic hepatitis C

T. Tanaka, S. Shakado, S. Inomata, G. Hirano, T. Hanano, S. Ueda, D. Morihara, S. Nishizawa,

T. Matsumoto, A. Anan, Y. Takeyama, M. Yokoyama,
M. Irie, K. Iwata, T. Shoda, and S. Sakisaka
APASL 2007/3/27-30 Kyoto

2、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の治療効果と治療効果予測因
子の検討

釈迦堂敏、田中崇、猪俣慎二郎、松本照雄、平野
玄竜、花野貴幸、上田秀一、西澤新也、阿南章、
竹山康章、横山昌典、入江真、岩田郁、早田哲郎、
向坂彰太郎

第 43 回日本肝臓学会総会 2007/5/31-6/1 東
京

3、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の治療効果と治療効果予測因
子の検討

釈迦堂敏、田中崇、猪俣慎二郎、松本照雄、平野
玄竜、花野貴幸、上田秀一、西澤新也、阿南章、
竹山康章、横山昌典、入江真、岩田郁、早田哲郎、
向坂彰太郎

JDDW 2007/10/18-10/21 神戸

4、The level of pretreatment HCV core antigen
is a new and useful predictor for the efficacy
of peginterferon alpha-2b and ribavirin in
patients with chronic hepatitis C

S. Shakado, D. Morihara, S. Nishizawa, A. Anan,
T. Tanaka, S. Inomata, S. Ueda, T. Matsumoto,
Y. Takeyama, M. Irie, K. Iwata, T. Shoda, and
S. Sakisaka

AASLD 2007/11/2-11/6 Boston

5、シンポジウム 3 九州のB型肝炎-その実態と
今後の対策-

当院におけるB型肝炎の現状 -潜在性HBVキ
ャリアの検討およびHCV共感染の影響-

西澤新也、釈迦堂敏、田中崇、猪俣慎二郎、上田
秀一、森原大輔、松本照雄、阿南章、竹山康章、
入江真、岩田郁、早田哲郎、向坂彰太郎

第 90 回日本消化器病学会九州支部例会
2007/11/30-12/1 佐世保市

論文発表

1、The efficacy of Pegylated interferon
alpha-2a mono therapy for the Japanese patients
with chronic hepatitis C

T. Tanaka, S. Shakado, S. Inomata, G. Hirano,
T. Hanano, S. Ueda, D. Morihara, S. Nishizawa,
T. Matsumoto, A. Anan, Y. Takeyama, M. Yokoyama,
M. Irie, K. Iwata, T. Shoda, and S. Sakisaka
Hep Intl 1(1)p156, 2007

2、The level of pretreatment HCV core antigen
is a new and useful predictor for the efficacy
of peginterferon alpha-2b and ribavirin in
patients with chronic hepatitis C

S. Shakado, D. Morihara, S. Nishizawa, A. Anan,
T. Tanaka, S. Inomata, S. Ueda, T. Matsumoto,
Y. Takeyama, M. Irie, K. Iwata, T. Shoda, and
S. Sakisaka

Hepatology, vol. 46, No. 4, Suppl. 1, 2007 p381A

H 知的財産の権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生労働省科学研究費 肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/RBV 治療効果と薬剤 adherence

分担研究者 竹原徹郎 大阪大学大学院医学系研究科 准教授

研究要旨：1 型高ウイルス量の C 型肝炎に対する PEG-IFN/RBV 治療効果は LVR 症例に比し EVR 症例では高いことが知られているが、このような例からも約 4 分の 3 の症例で治療終了後に再燃をきたすことが知られている。良好な治療効果を得るためには EVR を得ることとともに、治療終了後の再燃をきたさないことが重要であると考えられる。Osaka Liver Forum にて治療開始登録され、投与終了後の経過観察がなされた C 型慢性肝炎患者 886 例について、EVR および EVR 後の再燃に治療前のウイルス・宿主因子と治療中の PEG-IFN/RBV 別薬剤遵守がどのような意義をもつかについて後向きに解析した。多変量解析の結果、EVR に寄与する因子として年齢、血小板数、血清クレアチニン値といった宿主因子とともに治療因子として投与開始後 12 週間の PEG-IFN の投与量が選択された。良好な EVR を得るためには PEG-IFN の投与量が 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}$ 以上であることが重要であり、これには RBV の投与量は影響しなかった。一方、EVR を達成した症例の投与後の再燃に関与する因子は肝臓の線維化とともに RBV の 48 週間の投与量が選択された。再燃率を低下させるためには、RBV が 10 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ 以上投与されていることが重要であり、これには PEG-IFN の投与量は影響しなかった。PEG-IFN/RBV 治療については、一般に PEG-IFN と RBV の総投与量がそれぞれ予定投与量の 80% 以上であり、さらに 80% 以上の投与期間が確保されていることが重要であることが指摘されている。本研究により、投与後早期においては RBV の投与量よりは PEG-IFN の投与量が重要であり、また RBV の投与については投与期間全般にわたる遵守が重要であることが明らかとなった。

共同研究者

林 紀夫 大阪大学消化器内科学 教授
平松直樹 大阪大学消化器内科学 助教
小瀬嗣子 大阪大学消化器内科学

A. 研究目的

日本で行われた 1 型高ウイルス量症例に対する PEG-IFN α 2b/RBV48 週投与の開発試験の結果によると、約 60% の症例で EVR（投与開始 12 週以内のウイルス陰性化）が得られ、このような患者群での最終の SVR 率は 75.7% であり、全症例の SVR 率 57.6% を上回ることが示されている。このようなことから、同治療においては投与

初期に EVR を得ることが、良好な治療効果を得るために重要であることが認識されている。一方で、このような患者群からも 48 週の投与終了後に約 4 分の 1 の確率で再燃をみることから、再燃を抑止するという視点も重要であると考えられる。そこで、本研究では EVR を達成し、さらに投与終了後の再燃を抑止するために重要な臨床因子を薬剤遵守を含めて検討することを目的に解析を行った。

B. 研究方法

Osaka Liver Forum において PEG-IFN α 2b/RBV 治療を開始登録された

2,465 例のなかから、1 型高ウイルス量症例に対して 48 週間の標準治療を行い、投与終了後 24 週の経過観察が終了した 886 例を抽出し、今回の解析対象とした。薬剤投与量は PEG-IFN は体重当たりの 1 週間投与量、RBV は体重当たりの 1 日与量で評価した。

C. 研究成果

HCV-RNA 陰性化時期別の SVR 率は、4 週までの消失例は 100%、8 週の消失例で 78%、12 週までの消失例で 64%で、EVR 例全体では 75%であった。一方、LVR 例での SVR 率は 28%と低率であった。EVR を達成する症例は全症例の 49%であり、LVR 例は 24%、ウイルスの消失がみられない症例は 21%であった。EVR に寄与する因子を単変量で解析すると、年齢、性別、治療前の白血球数、Hb 値、血小板数、クレアチニン値が抽出された。また、投与開始後 12 週以内の PEG-IFN と RBV の投与量について解析すると両者ともに抽出されたが、前者でより強い傾向が認められた。そこで、これらの因子を用いて多変量解析を行ったところ、最終的に選択された因子は年齢、血小板数、クレアチニン値、PEG-IFN の投与量であった。12 週間の PEG-IFN の投与量と RBV の投与量に基づいて層別化して解析すると、EVR の達成には RBV の投与量にかかわらず、PEG-IFN の投与量が 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}$ 以上であることが重要であり、このような症例での EVR 達成率は 50%前後であった。

一方、EVR を達成した症例について 48 週投与後の再燃に関与する因子を単変量で解析したところ、肝臓の線維化ステージ

と 48 週間の RBV の投与量が選択された。多変量解析においても両者は有意な因子であった。48 週間の PEG-IFN の投与量と RBV の投与量に基づいて層別化して解析すると、PEG-IFN の用量に関わらず、RBV の用量依存的に再燃率が低下し、標準投与量である 10 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ 以上、特に 12 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ 以上では再燃率はわずか 3%と非常に低率であった。

D. 考察と結論

1 型高ウイルス量症例に対する PEG-IFN/RBV 治療 (48 週) において、EVR の達成には宿主因子 (年齢、血小板、Cr) 以外に治療因子として投与開始後 12 週間の PEG-IFN 投与量が関与していた。EVR を達成した患者からの治療終了後の再発には肝臓の線維化ステージとともに 48 週までの RBV 投与量が関与していた。

PEG-IFN/RBV 治療については、一般に PEG-IFN と RBV の総投与量がそれぞれ予定投与量の 80%以上であり、さらに 80% 以上の投与期間が確保されていることが重要であることが指摘されている。本研究により、投与後早期においては RBV の投与量よりは PEG-IFN の投与量が重要であり、また RBV の投与については投与期間全般にわたる遵守が重要であることが明らかとなった。

E. 研究発表

論文発表

1. Itose I, Kanto T, Inoue M, Miyazaki M, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Oze T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Katayama K, Kato M,

- Hayashi N. Involvement of dendritic cell frequency and function in virological relapse in pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients. **J Med Virol** 79: 511-521, 2007.
2. Hiramatsu N, Kurashige N, Oze T, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Oshita M, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Kato M, Kawata S, Tsubocuhi H, Kumada H, Okanoue T, Kakumu S, Hayashi N. Early decline of hemoglobin can predict progression of hemolytic anemia during pegylated interferon and ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. **Hepatol Res** 38: 52-59, 2008.
 3. Okanoue T, Itoh Y, Minami M, Hashimoto H, Yasui K, Yotsuyanagi H, Takehara T, Kumada T, Tanaka E, Nishiguchi S, Izumi N, Sata M, Onji M, Yamada G, Okita K, Kumada H. Guidelines for the antiviral therapy of hepatitis C virus carriers with normal serum aminotransferase based on platelet counts. **Hepatol Res** 38: 27-36, 2008.
- N, Kurokawa M, Yakushijin T, Igura T, Imanaka K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Hijioka T, Yoshihara H, Imai Y, Hayashi E, Kato M, Minami Y, Ohkawa K, Kiso S, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Tamura S, Hayashi N.
- #309 Impact of reducing peginterferon alfa-2b and ribavirin on early viral response in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. Oze T, Hiramatsu N, Inoue Y, Kurashige N, Kurokawa M, Yakushijin T, Igura T, Imanaka K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Katayama K, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Hayashi E, Kato M, Nishikawa M, Minami Y, Tatsumi T, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, Tamura S, Hayashi N.
 - #1380 Dendritic cells and regulatory T cells as decision markers for the duration of pegylated interferon- α and ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. Kanto T, Itose I, Inoue M, Kakita N, Miyazaki M, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.

学会発表

The American Association for the Study of Liver Diseases
58th Annual Meeting AASLD
November 2-6, 2007, Boston

- #308 High predictive value of early viral kinetics in peginterferon plus ribavirin combination therapy of genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. Oze T, Hiramatsu N, Inoue Y, Kurashige

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
3. その他：なし

厚生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 genotype 2 かつ低ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する Interferon β 治療の 治療期間の検討

分担研究者 野村秀幸 国家公務員共済組合連合会 新小倉病院 診療部長

研究要旨：HCV genotype 2 型でかつ低ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する Interferon (IFN) β の治療効果と治療期間について検討した。治療開始 1 週目に HCV-RNA が陰性化した症例へは、IFN β の 8 週間治療でも高い著効率が得られたが、2 週目以降に HCV-RNA が陰性化した症例では、HCV-RNA が陰性化してから 8 週間の追加治療期間が必要であった。治療期間が短いと再燃率が高かった。今後安全性などについてのさらなる検討が必要である。

共同研究者

谷本 新小倉病院 肝臓内科 医長

A. 研究目的

Interferon (IFN) 治療効果が高い 2 型・低ウイルス量症例へは、IFN 単独治療が第一選択である。2 型・低ウイルス量症例へは、IFN α よりうつ状態の出現頻度がより低く、より治療期間が短い IFN β 治療が推奨されている。しかし、IFN β 治療の最適な治療期間についての検討の報告はない。そこで、今回我々は、IFN β 治療の最適の治療期間を決定するために、治療中の HCV-RNA 陰性化時期別に治療期間を延長し、より高い SVR 率を得たので報告する。

B. 研究方法

患者は genotype 2 型・低ウイルス量 (200KIU/ml 以下) の IFN 治療初回の 90 例の C 型慢性肝炎患者とした。全例 naïve 患者であった。全症例には、IFN β (6MIU/day) (Feron, Toray Industries Inc., Tokyo, Japan) を用いて、1 日 1 回の連日静注を行った。登録時の血清は、 -20°C で保存された。治療期間別に以下の 2 群に分けた。2002 年 2 月から 2007 年 2 月までに治療を行った 45 例を Group A とした。Group A の治療期間は、HCV-RNA の陰性化時期により以下のように決定された。治療期間は、1 週目の HCV-RNA が陰性の場合には 8 週間、2 週目に陰性化した場合は 10 週間、3 週目で陰性化した場合は 11 週間、4 週目で陰性化した場合は 12 週間とした。HCV-RNA が陰性化してから 8 週間の治療を行った。1996 年 1 月から 2002 年 1 月までに治療を行った 87 症例のうち、年齢、性別、血小板値、ウイルス量をマッチさせた 45 例を Group B とした。Group B の全患者への治療期間は 6 週間であった。全例の対象者は治療 6 ヶ月以内に肝生検を行った。

治療開始から週 1 回、血計 (白血球数、赤血球数、血小板数)、生化学検査 (総蛋白、アルブミン、AST、ALT、BUN、Creat)、検尿検査を行った。治療前に

COBAS Amplicor HCV Monitor Test v2.0 を用いて、ウイルス量を測定した。治療開始 1 週目、2 週目、3 週目、4 週目、治療終了時、終了 6 ヶ月後の 6 回、HCV-RNA 定性検査を行った。治療終了 6 ヶ月まで HCV-RNA が陰性化した症例を sustained virologic response (SVR) とした。終了後 HCV-RNA が再陽性化した症例を transient response (TR) とした。治療終了時まで HCV-RNA が陰性しなかった症例を non response (NR) とした。

(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、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

(1) 治療前の患者背景

Group B の患者は Group A の患者にマッチされているので、年齢、性差、治療前の検査値などは、いずれも有意差はなかった。特に HCV-RNA 量も両群間で差はみられなかった。

(2) Group 別、HCV-RNA 陰性化時期別の SVR 率

Group A と Group B の SVR 率は、それぞれ 80.0%、60.0% で、Group A の SVR 率が Group B に比べ高かったが有意ではなかった。Group A と Group B の治療終了時の HCV-RNA 陰性化率 (ETR) は、それぞれ 97.7% と 93.3% で差はなかった。Group A と Group B の 1 週目に HCV-RNA が陰性化したのはそれぞれ、26 例と 27 例であった。これら患者からの SVR 率はそれぞれ 92.3%、85.2% で Group A の方が Group B に比べ高かったが、有意差は無かった。2 週目に陰性化した患者からの SVR 率は、それぞれ 80.0%、44.4% で、Group A の SVR 率が Group B に比べ高かったが有意ではなかった。Group A では、3 週目、4 週目に陰性化した症例からの SVR 率は、それぞれ 50%、50% であったが、

Group B からは、SVR はみられなかった。

(3) ウイルス量別の HCV-RNA 陰性化時期別の SVR 率

HCV-RNA 量が 100KIU/ml 未満では、Group A および Group B では、1 週目までに陰性化したのは、それぞれ 14 例と 15 例であった。2 週目までには、それぞれ 19 例全例の HCV-RNA は陰性化した。Group A と Group B の SVR 率は、それぞれ 94.7% であった。Group A の 1 例はたんぱく尿の出現で 4 週目に治療中止となり、中止後再燃した。完遂症例からの SVR 率は 100% であった。HCV-RNA 量が 100-200KIU/ml の患者の Group A と Group B の SVR 率は、それぞれ 69.2% と 34.6% で、有意に Group A の SVR 率が Group B に比べ高かった ($p < 0.01$)。3 週目、4 週目に HCV-RNA が陰性化したのは、すべて 100-200KIU/ml の患者であった。Group B からの SVR は 1 例もみられなかった。

1 週目に陰性化した症例では、Group A と Group B の SVR 率に差はみられなかったが、2 週目以降に HCV-RNA が陰性化した症例では、Group A の SVR 率 (63.2%) は Group B (22.2%) に比べ有意に高かった ($p < 0.01$)。

ウイルス量 200KIU/ml 以下の genotype 2 型の IFN β 治療では、1 週目に HCV-RNA が陰性化した場合、8 週間の治療期間で高い SVR 率が得れた。しかし、2 週目以降に HCV-RNA が陰性化した場合は、陰性化から 8 週間の治療期間が必要であった。

D. 考察

(1) 1 週目までに HCV-RNA が陰性化したのは全症例中約 60% の症例であり、これらの症例では、group A と B 間では、SVR に有意差はなかったが、8 週間投与群の SVR 率が高かったため、できれば 8 週間投与が必要であった。

(2) 2 週目以降に HCV-RNA が陰性化した症例では、追加治療群の SVR 率が高かった。特に、HCV 量が 200KIU/ml 以上では、6 週間治療では SVR を認めなかった。6 週間治療期間では再燃率が高く、再燃を防ぐために、HCV-RNA が陰性化してから 8 週間の IFN 治療期間が必要であった。

E. 結論

Interferon (IFN) の治療効果が高いウイルス量 200KIU/ml 以下の genotype 2 型の IFN β 治療では、1 週目に HCV-RNA が陰性化した場合、8 週間の治療期間で高い SVR 率が得れた。しかし、2 週目以降に HCV-RNA が陰性化した場合は、陰性化から 8 週間の追加治療期間が必要であった。今後は安全性について適応症例も含め詳細な検討が必要である。

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

1) Furusyo N, Nomura H, et al. Interferon alpha plus ribavirin combination treatment of Japanese chronic hepatitis C patients with HCV genotype 2: a project of the Kyushu University Liver Disease Study Group. World J Gastroenterol. 12: 784-790, 2006.

2) Nomura H, et al. Efficacy of Early Retreatment with Interferon β for Relapse in Patients with Genotype 1b Chronic Hepatitis C. Hepatol Res 28: 36-40, 2004.

3) Nomura H, Tanimoto H, et al. (in submission).

4) Nomura H, Tanimoto H, et al. (in submission).

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研究事業

分担研究報告書

B 型慢性肝疾患における B 型肝炎ウイルスコアプロモーター領域、 プレコア領域およびコア領域の変異に関する検討

分担研究者 四柳宏 東京大学医学部付属病院感染制御部 特任講師

研究要旨：B 型慢性肝疾患の HBe seroconversion 後の最終転帰を決定するウイルス側要因について検討した。HBe 抗体陽性、Genotype C の慢性肝疾患 90 例を対象とした。無症候性キャリア (AsC)、慢性肝炎 (CH)、肝硬変/肝細胞癌 (LC/HCC) の 3 群について Precore-Core 領域のアミノ酸配列および、BCP 領域の塩基配列について検討した。BCP 領域 nt.1762 の A から T への変異は AsC と比較し CH、LC/HCC に有意に多く認められた。また、Precore 領域 1899 の G から A への変異は AsC、CH と比較し、LC/HCC に多く認められた。また、Core 領域のアミノ酸変異は、CD4 epitope 部位、CD8 epitope 部位において肝病型の進行に従いアミノ酸変異が少ない傾向が認められた。

結論として、genotype C の B 型慢性肝疾患における HBe seroconversion 後の最終転帰は、BCP、PreC 領域の塩基変異に加え、コア領域のアミノ酸変異により影響を受ける。

A. 研究目的

B 型慢性肝疾患の seroconversion 後の最終転帰は無症候性キャリアから肝硬変/肝細胞癌まで様々であるが、その要因、特にウイルス側因子が最終転帰に及ぼす影響については明らかにされていない。また、genotype により最終転帰には違いがあるとされている。そこで、genotype C、HBe 抗原陰性/HBe 抗体陽性の症例に限定し、Basic Core Promoter 領域から Core 領域にかけての塩基/アミノ酸配列と最終転帰との関連について検討した。

B. 研究方法

genotype C、HBe 抗原陰性/HBe 抗体陽性の B 型慢性肝疾患で IFN、抗ウイルス薬等の治療歴のない症例 90 例

を対象とした。内訳は AsC (無症候性キャリア) 30 例、CH (慢性肝炎) 30 例、LC (肝硬変)/HCC (肝細胞癌) 30 例である。AsC の定義は 12 ヶ月以上の観察機関の間 ALT が正常を持続していることとした。CH と LC との判別は臨床血液検査成績及び画像診断に基づいて行った。HCC の診断は画像診断に基づいて行った。また、Genotype の決定は genotype 判定キット (ゲノムサイエンス社) を用いて行った。

年齢の平均値は LC/HCC が AsC、CH と比較し有意に高齢であった (58.4 ± 11.0 vs. 44.8 ± 14.2 , 40.5 ± 9.3)。また、ALT 値は CH が最も高く (130.5 ± 151.5)、次いで LC (73.9 ± 80.5)、AsC (21.7 ± 6.3) であり、各群間に有意差を認めた。血小板値は病型の進展に従い有意に低下した

(21.5 ± 5.0 , 19.2 ± 4.8 , 10.5 ± 3.5 s)。

DNA を血清 $200 \mu\text{L}$ から抽出し、Basic core promoter (BCP) 領域の nt. 1674 から、Core 領域下流の nt. 2660 までを 2 領域に分けて primer を設定し nested PCR にて増幅を行った。その後ダイレクトシーケンスを行い塩基配列および PreCore (PreC) および Core 領域のアミノ酸配列を決定した。

C. 研究結果

(1) BCP, PreC 領域 (表 1)

BCP 領域 1762 番の変異 (A→T) は AsC と比較し CH、LC/HCC に有意に多く認められた。また、PreC 領域 1899 番の変異 (G→A) は AsC、CH と比較し LC/HCC に多く認められた。BCP 領域 1764 番の変異 (G→A)、PreC 領域 1896 番の変異 (G→A) は病型間で有意な差を認めなかった。

(2) Core 領域 (表 2)

Core 領域全体のアミノ酸変異総数の平均は AsC 9.0、CH 6.5、LC 5.2 であり肝病型の進展に伴い減少した。CD4 epitope 部位、CD8 epitope 部位のアミノ酸変異数もいずれも肝病型の進展に伴い減少した。しかしながら、Core 領域の AA 84-101 (hypervariable region) におけるアミノ酸変異数は病型間で有意な差を認めなかった。

D. 考察

B 型慢性肝炎は T cell 及び B cell epitope に対する免疫応答が本態と考えられる。そしてこれらのエピトープは主に Core 領域に存在する。従って、Core 領域の変異は免疫応答を変化させ、慢性肝炎の臨床経過を変えるものと想定される。

本検討では、CH、LC/HCC 群に比較して、AsC 群で Core 領域のアミノ酸変異が多いという結果が得られた。B 型慢性肝炎の症例が HBe seroconversion を起こした後の経過は、ウイルスと免疫応答の結果、コア遺伝子の T cell epitope を中心に多数の変異を生じた場合、病勢が治まり AsC となりやすく、コア遺伝子の変異が少ない場合、肝炎が鎮静化せず、CH さらに LC と進行していく、と考えられる。

他方、BCP 領域の nt 1762、PreC 領域の nt 1899 の変異はこれまでの報告同様、進行した病態に多く認めるものの、これだけでは HBe seroconversion 後の最終転帰を予測するのには不十分であると考えられる。BCP 領域の塩基配列の変異は、肝炎の発症時期に既に認められる症例も多い。また、PreC 領域の塩基配列の変異が肝炎の臨床経過をどのように修飾しているかに関しては定説がない。従って BCP 及び PreC の塩基/アミノ酸配列に加えて Core 領域のアミノ酸変異を検討することが有用であると考えられる。なお、BCP 領域の nt. 1764、PreC 領域の

nt 1896 の変異の病型毎における頻度は、症例を増やして検討することで差が出てくるものと思われる。

今後、経時的な検討により、これらの変異が肝炎の臨床経過に及ぼす影響を明らかにすることができるものと期待される。

E. 結論

genotype C の B 型慢性肝疾患における HBe seroconversion 後の最終転帰は、BCP、PreC 領域の塩基変異に加え、コア領域のアミノ酸変異により影響を受ける。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Aono J, Yotsuyanagi H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Moriya K, Okuse C, Suzuki M, Yasuda K, Iino S, Koike K. Amino acid substitutions in the S region of hepatitis B virus in sera from patients with acute hepatitis. *Hepatol Res.* 2007;37:731-9.

2. 学会発表

- 1) 四柳宏, 新谷良澄, 小池和彦. 諸感染症に対するワクチン B 型肝炎ウイルス S 領域のアミノ酸変異に関する検討: 第 81 回日本感染症学会、京都、2007.
- 2) 山田典栄, 四柳宏, 三好秀征, 堤

武也, 藤江肇, 新谷良澄, 森屋恭爾, 奥瀬千晃, 安田清美, 鈴木通博, 伊東文生, 飯野四郎, 小池和彦. B 型慢性肝疾患における B 型肝炎ウイルスコアプロモーター領域、プレコア領域およびコア領域の変異に関する検討 第 43 回日本肝臓学会総会、東京、2007.

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。

表 1 臨床病型毎の BCP、PreC 領域の変異（カッコ内は%）

	nt	1753	1762	1764	1766	1768	1858	1896	1899
	No.	T→C	A→T	G→A	C→T	T→A	T→C	G→A	G→A
AsC	30	8 (27)	19 (63)	25 (83)	7 (23)	5 (17)	3 (10)	21 (70)	5 (17)
CH	30	12 (40)	28 (93)	28 (93)	3 (10)	3 (10)	2 (7)	24 (80)	3 (10)
LC/HCC	30	12 (40)	28 (93)	27 (90)	1 (3)	1 (3)	1 (3)	18 (60)	11 (37)

表 2 臨床病型毎の Core 領域のアミノ酸変異数（平均）

	core 領域 total	CD4 epitope	CD8 epitope	Hypervariable region
AsC	9	4.4	0.8	1.7
CH	6.5	2.7	0.4	1.5
LC (HCC)	5.2	2.1b	0.3	1.3

厚生科学研究費補助金 肝炎当克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

B 型慢性肝炎の治療における新たな問題点

分担研究者 茶山一彰 広島大学医歯薬学総合研究科

研究要旨：核酸アナログや生体肝移植術後の HBIG および HB ワクチンなどの抗 HBV 療法中、HBV マーカーが示唆に富む 3 症例を経験し、これらの臨床経過およびアミノ酸解析を検討した。また核酸アナログ療法中、血中に増加する HBV RNA の意義について検討したところ、血中 HBV RNA 量はラミブジン耐性株出現の早期予測に有用であることが示唆された。

共同研究者

高橋祥一 広島大学医歯薬学総合研究科

A. 研究目的

近年、B 型慢性肝疾患に対し、核酸アナログや生体肝移植術後の HBIG および HB ワクチンなどの抗ウイルス療法が多岐におよび施行されている。このため、HBV マーカーの推移が複雑となり、治療方針の判断に苦渋する症例に遭遇する機会が増えている。これら HBV のアミノ酸解析を行い、HBV マーカーの変化と病態の関連を検討する。

また核酸アナログ療法中に TMA 法と PCR 法で血中 HBV DNA が乖離する症例が存在することをしばしば経験する。この乖離の原因およびその意義を解明する。

B. 研究方法

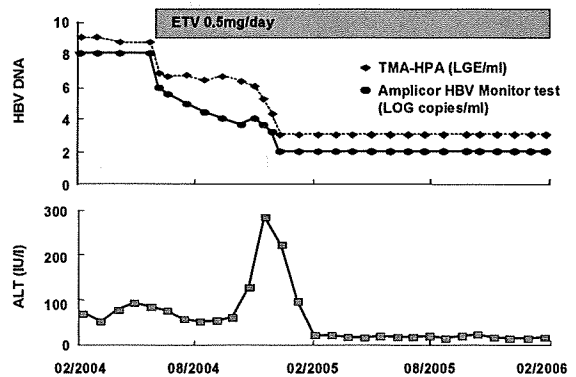
HBV マーカーとアミノ酸配列の検討

ラミブジン投与中止後、HBs 抗原が持続陰性であったにも関わらず、HBV DNA が陽性化し、肝炎が再燃した 1 症例（症例 1）および生体肝移植後、核酸アナログ、HBIG および HB ワクチン投与し、HBs 抗体価が十分に高値であったにも関わらず、HBV DNA が陽性となった 2 症例（症例 2, 3）の PreS 領域および S 領域のアミノ酸解析を行った。

核酸アナログ内服中の HBV RNA の検討

B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ投与中下図のごとく TMA 法と PCR 法で HBV DNA が乖離する症例が存在し、TMA 法では HBV DNA に加え HBV RNA も測定していることが判明した。これら HBV RNA とラミブジン耐性株出現の関係について検討した。

ETV 投与中の HBV DNA 量と ALT 値の推移



C. 研究結果

HBV マーカーとアミノ酸配列の検討

（症例 1）68 歳、男性、B 型慢性肝炎急性増悪に対して、ラミブジン開始。投与 14 ヶ月で、HBs 抗原陰性化し、HBs 抗体陽性となったため（CLEIA 法）、ラミブジンを中止した。HBs 抗原は陰性を持続していたが、中止 4 ヶ月後に肝炎の再燃を認め、当科紹介受診した。保存血清を用いた検討では、HBs 抗原はラミブジン開始時 26.0 C.0. I（CLEIA 法）、28.9 IU/ml（CLIA 法）とともに陽性であった。しかしラミブジン中止 1 年後、0.1 C.0. I（CLEIA 法）、43.7 IU/ml（CLIA 法）と乖離を認めた。S 領域のアミノ酸配列を解析したところ、ラミブジン開始時に比べ、中止 1 年後、T113N 変異を認め、このアミノ酸変異が CLEIA 法と CLIA 法における HBs 抗原値の乖離に関与していることが示唆された。

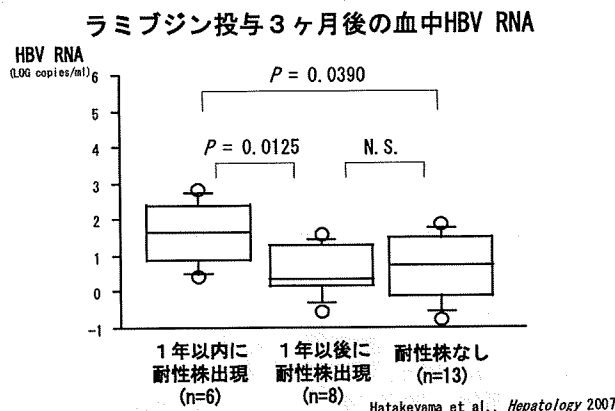
（症例 2）53 歳、男性。B 型肝硬変に対し、ラミブジン開始。10 ヶ月目に HCC を合併し、生体肝移植術を施行した。術後、ラミブジンの継続、HBIG の投与を継続し、HBs 抗原陰性、HBV DNA 陰性、HBs 抗体高値（100 IU/mL 以上）が継続していた。しかし移植 18 ヶ月後に HBV DNA が 4.0 log copy/mL と再陽性化、翌月には 5.7 log copy/mL に増加し、HBs 抗体は 68 IU/mL に低下した。アミノ酸解析にて S 領域に 10 カ所のアミノ酸変異を認め、内 1 カ所は escape mutant が報告されている G145R であり、かつ YIDD 変異も有していた。

（症例 3）58 歳、男性。B 型肝硬変に対しラミブジン内

服中、breakthrough hepatitis を発症し、アデフォビルを併用投与するも肝不全が増悪し、生体肝移植を施行した。移植後、HBIG、HB ワクチンを併用し、両者を中止後も HBs 抗体高値が維持されたため、術後 30 ヶ月目にラミブジンを、32 ヶ月目にアデフォビルも中止した。以後、HBs 抗原陰性、HBV DNA 陰性、HBs 抗体高値 (200 IU/mL 以上) であったが、術後 40 ヶ月後に HBV DNA が 3.4 log copy/mL と再陽性化し、HBs 抗体は 775.0 IU/mL に増加した。S 領域のアミノ酸解析をしたところ、8 カ所のアミノ酸変異を認めた。今後、これらのアミノ酸変異と HBV DNA 陽性化の関連を検討していく。

核酸アナログ内服中の HBV RNA の検討

エンテカビル投与中の患者血清から HBV DNA を抽出し、逆転写反応の有無で real time PCR を行った。逆転写反応を加えることにより、HBV DNA 量は高値となり、これらの結果から、核酸アナログ内服中に血中に HBV RNA が出現するものと考えられた。ラミブジン内服患者 36 名で血中 HBV RNA を測定したところ、ラミブジン投与 1 年以内の早期に耐性株が出現した群では、投与 1 年以後に耐性株が出現した群、耐性株が出現していない群に比較し、ラミブジン投与 3 ヶ月後の HBV RNA 量は有意に高値であった (下図)。これらの結果からラミブジン投与後、血中 HBV RNA が高い症例ほど早期に耐性株が出現しやすいことが示唆された。



D. 考察

B 型慢性肝疾患に対し、抗ウイルス療法後、HBs 抗原および HBs 抗体が示唆に富む推移をした 3 症例を経験した。今後、このような症例を経験した場合、アミノ酸配列を解析し、HBV 変異とこれらの関係を解明する必要がある。

核酸アナログ投与早期の患者血清には HBV RNA 粒子が存在し、HBV RNA 量が多い症例では早期にラミブジン耐性株出現を認めた。これらの結果から、肝内で HBV RNA の転写が盛んな症例では耐性株が出現しやすいと推定された。またラミブジン投与中の血清中 HBV RNA 測定が、YMDD 変異出現早期予測に有用であることが示唆された。

E. 結論

- ・ B 型慢性肝疾患患者において、HBV マーカーが判断に苦渋しゆる症例では、アミノ酸配列を解析する必要がある。
- ・ 核酸アナログ投与中の患者では血中に HBV RNA が出現し、この HBV RNA の測定は耐性株早期出現予測に有用である。

G. 研究発表

論文発表

1. Utoh R, Tateno C, Yamasaki C, Hiraga N, Kataoka M, Shimada T, Chayama K. Hepatitis B Virus-Infectibility of Chimeric Mice with Liver Repopulated by Serially Subcultured Human Hepatocytes. Hepatology 2008 in press
2. Uka K, Aikata H, Takaki S, Miki D, Kawaoka T, Jeong SC, Takahashi S, Toyota N, Ito K, Chayama K. Pretreatment predictor of response, time to progression, and survival to intraarterial 5-fluorouracil/interferon combination therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol. 2007 ;42(10):845-53. 2007 .
3. Yatsuji H, Hiraga N, Mori N, Hatakeyama T, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Suzuki F, Kumada H, Chayama K. Successful treatment of an entecavir-resistant hepatitis B virus variant. J Med Virol. 2007 Dec;79(12):1811-7.
4. Uka K, Aikata H, Takaki S, Miki D, Jeong SC, Hiramatsu A, Kodama H, Shirakawa H, Kawakami Y, Takahashi S, Toyota N, Ito K, Chayama K. Similar effects of recombinant interferon-alpha-2b and natural interferon-alpha when combined with intra-arterial 5-fluorouracil for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. Liver Int. 2007 Nov;27(9):1209-16.
5. Tashiro H, Itamoto T, Sasaki T, Ohdan H, Fudaba Y, Amano H, Fukuda S, Nakahara H, Ishiyama K, Ohshita A, Kohashi T, Mitsuta H, Chayama K, Asahara T. Biliary Complications after Duct-to-duct Biliary Reconstruction in Living-donor Liver Transplantation: Causes and Treatment. World J Surg. 2007 Nov;31(11):2222-9.
6. Jeong SC, Aikata H, Katamura Y, Azakami T, Kawaoka T, Saneto H, Uka K, Mori N, Takaki S, Kodama H, Waki K, Imamura M, Shirakawa H, Kawakami Y, Takahashi S, Chayama K. Effects of a 24-week course of interferon-alpha therapy after curative treatment of hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2007 Oct 28;13(40):5343-50.
7. Jeong S, Aikata H, Katamura Y, Azakami T, Kawaoka T, Saneto H, Uka K, Mori N, Takaki S, Kodama H, Waki K, Imamura M, Shirakawa H, Kawakami Y, Takahashi S, Chayama K. Low-dose intermittent interferon-alpha therapy for HCV-related liver cirrhosis after curative treatment of hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2007 Oct 21;13(39):5188-95.
8. Hiraga N, Aikata H, Takaki S, Kodama H, Shirakawa H, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Toyota N, Ito K, Tanaka S, Kitamoto M, Chayama K. The long-term outcome of patients with bleeding gastric varices after balloon-occluded retrograde transvenous obliteration. J Gastroenterol. 2007 Aug;42(8):663-72.
9. Hatakeyama T, Noguchi C, Hiraga N, Moril N, Tsuge M, Imamura M , Takahashi S, Kawakami Y, Fujimoto

- Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Kawakami H, Yatsuji H, Aisaka Y, Kohno H, Aimitsu S, Chayama K. Serum HBV-RNA is a Predictor of Early Emergence of YMDD Mutant in Patients Treated with Lamivudine. *Hepatology* 45:1179-1186, 2007.
10. Noguchi C, Hiraga N, Mori N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Yatsuji H, Shirakawa K, Takaori-Kondo A, Chayama K. Dual effect of APOBEC3G on Hepatitis B virus. *J Gen Virol.* 2007 ;88(Pt 2):432-40.
11. Uka K, Aikata H, Takaki S, Shirakawa H, Jeong SC, Yamashina K, Hiramatsu A, Kodama H, Takahashi S, Chayama K. Clinical features and prognosis of patients with extrahepatic metastases from hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2007 21;13(3):414-20.
12. Hiraga M, Imamura M, Tsuge M, Noguchi C, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Abe H, Maekawa T, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Sakai A, Sakai Y, Honda M, Kaneko S, Wakita T and Chayama K. Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis C virus and its susceptibility to interferon. *FEBS Letts.* 2007;581:1983-1987
13. Yatsuji H, Hiraga N, Mori N, Hatakeyama T, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Suzuki F, Kumada H, Chayama K. Successful treatment of an entecavir-resistant hepatitis B virus variant. *J Med Virol.* 2007;79:1811-7.
14. Ohishi W, Fujiwara S, Zuzuki G and Chayama K. Validation of the use of freeze-dried sera for the diagnosis of hepatitis B and C virus infections in a longitudinal study cohort. *Res. Adv. In Microbiology* 2007;7:1-9.

H. 知的財産権の出願・登録情報
今回の研究内容については特になし。

厚生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

B型非代償性肝硬変に対する抗ウイルス療法の有用性

分担研究者 森脇久隆 岐阜大学大学院医学研究科 消化器病態学

研究要旨：B型非代償性肝硬変に対し抗ウイルス療法を施行し、その安全性と有効性を検討した。当院において8例の非代償性肝硬変に投与し、平均使用期間は19ヶ月（4-43ヶ月）であった。開始時に全例中等度以上の腹水があり、肝性脳症の合併例は1例に認め、肝癌合併は3例認めている。経過は6例の生存と2例の死亡（癌死および門脈血栓症）であった。使用中に明らかな副作用は認めず、安全性は確認された。ウイルスはほぼ基準以下まで減少し、抗ウイルス効果も十分であると考えられた。開始時のChild-Pughスコアリングでは平均10.8点（10-13点）であり、投与後は平均7.7点まで改善を認めている。症例数が少ない検討ではあるが、非代償性肝硬変においても抗ウイルス療法が有効であると考えられた。

共同研究者

永木正仁 岐阜大学消化器病態学 準教授
内木隆文 岐阜大学消化器病態学 助教

A. 研究目的

近年、ラミブジンおよびエンテカビルを初めとした核酸アナログ製剤によりB型肝炎キャリアのHBV量をコントロールすることが可能になってきている。慢性B型肝炎や肝細胞癌の予防においてはその有効性が明らかにされつつあるが、慢性肝不全、特に非代償性肝硬変においては有効性が必ずしも明らかではない。本研究により抗ウイルス療法が非代償性肝硬変の状態においても有効であり、さらにその予後の改善や肝再生の有無を検証する。

B. 研究方法

(1) すでに当院ならびに当科関連施設にて、非代償性肝硬変において抗ウイルス療法を施行された症例においてレトロスペクティブに解析しその有効例と、無効例の治療効果の差異を検討する。

(2) 当院ならびに当科関連施設においてB型非代償性肝硬変症例（目標20-30症例）に対し、文書による同意を取得した上で、下記の諸検査を施行し、抗ウイルス療法内服治療を開始する（エンテカビル）。ただし、原疾患が生命的に危機的な状態と考えられるため、今回の検討ではRCTによる対照群は設定できず、過去における症例の検討をもって対照とする。

投与方法は腎障害度に応じて検討されるが、通常はエンテカビル0.5mg/dにて連日投与を基本とする。耐性ウイルスにより治療効果不十分である症例は、さらに抗ウイルス薬（アデホビル）の追加を原則とする。

【検討項目】非代償性肝硬変（黄疸・腹水・肝性脳症のいずれかを認める症例）における抗ウイルス療法の検討

○抗ウイルス療法の安全性と効果

○開始前の下記項目の評価

・生化学的マーカー

・ウイルスマーカー

・線維化マーカー

・生検（可能例）

・画像診断（肝の容量）

・栄養学的評価（筋肉量、脂肪量、その他）

○有効性および安全性を1ヶ月単位で検討する。

○有効性の総合評価を6ヶ月経過した時点で初期検討とする。

○有効例と無効例の治療効果の差異を検討する

（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への守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、書面による同意を得たうえで臨床研究を遂行する。

C. 研究結果

現時点においてはレトロスペクティブな検討により非代償性肝硬変における抗ウイルス療法の有効性を

検討した。平成 16 年から 19 年まで当院にて加療した B 型非代償性肝硬変症例 8 例（男性 5 例，女性 3 例，平均年齢 55 歳）。抗ウイルス剤はラミブジン 4 例，エンテカビル 4 例を使用し，2 例は経過中の break through hepatitis のためアデホビルを併用した。慢性肝炎急性増悪による肝不全は今回の検討では除外している。今回の平均使用期間は 19 ヶ月（4 - 43 ヶ月）である。開始時に全例中等度以上の腹水があり，肝性脳症の併発は 1 例に認めた。投与時において肝癌合併は 3 例認めている。投与開始時（平均）は Alb 2.8g/dl, PT 52%, T.Bili 3.5mg/dl, AST 83.0IU/dl, ALT 90.5IU/dl, plt 5.1 万/ul, HBV-DNA 6.5Log copy/ml, HBe 抗原陽性例は 4 例，HBe 抗体陽性例 4 例であり，genotype C を 5 例に認めた。肝予備能の評価としては全例 Child-Pugh C, 平均 10.8 点（10-13 点）であった。平成 19 年 10 月までの検討では 6 例生存し，2 例の死亡を認めている。1 例は門脈血栓症による肝不全死であり，もう 1 例はコントロール不良の肝癌死であった。生存例のうち腹水は 5 例で消失し 1 例は投与 1 年以上にもかかわらず現在も残存している。投与 6 ヶ月での治療効果（平均）は Alb 3.1g/dl, PT 58.0%, T.Bili 3.2mg/dl, AST 53.3IU/dl, ALT 35.9IU/dl, plt 6.6 万/ul, HBV-DNA 3.4Log copy/ml, Child-Pugh B 7.7 点まで改善を認めた。ウイルスはほぼ基準以下まで減少し，腹水およびアルブミン，蛋白合成能の改善を認めた。

D. 考察

- (1) 今回までに集積されている症例においては，抗ウイルス療法による副作用を初めとした問題は認められず，非代償性肝硬変症例においても安全に投与できることが確認された。
- (2) すべての投与症例においてウイルスは基準以下まで改善しており，抗ウイルス効果は慢性肝炎と比し遜色はなかった。
- (3) 今回の検討では 6 例の生存例のうち 5 例に改善を認めたものの，1 例が無効であった。現時点では症例の蓄積が少ないために有効性の差異の検討は難しいと考えられたが，ヒアルロン酸など若干高値であり肝硬変の組織的進行度が一つの因子と考えられた。

E. 結論

症例数が少ない検討ではあるが，非代償性肝硬変においても抗ウイルス療法が有効であると考えられた。

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
別紙参照

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。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ogiso, T. Nagaki, M. et al	Granulocyte colony-stimulating factor impairs liver regeneration in mice through the up-regulation of interleukin-1beta	J Hepatol	47	816-25	2007
Takai, S. Nagaki, M. et al	Intrinsic resistance to TNF-alpha-induced hepatocyte apoptosis in ICR mice correlates with expression of a short form of c-FLIP	Lab Invest	87	572-81	2007
Satake, S. Nagaki, M. et al	Significant effect of hepatitis C virus specific CTLs on viral clearance in patients with type C chronic hepatitis treated with antiviral agents	Hepatol Res	37	524-530	2007
Kuriyama, S. Miwa, Y. et al	Prevalence of diabetes and incidence of angiopathy in patients with chronic viral liver disease	J Clin Biochem Nutr	40	116-122	2007
Suetsugu, A. Nagaki, M. et al	Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells	Biochem Biophys Res Commun	351	820	2006
Ando, N. Shimizu, M. et al	Expression of retinoid X receptor alpha is decreased in 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene-induced hepatocellular carcinoma in rats	Oncol Rep	18	879-84	2007
Kanamori, T. Shimizu, M. et al	Synergistic growth inhibition by acyclic retinoid and vitamin K2 in human hepatocellular carcinoma cells	Cancer Sci	98	431-7	2007
Fukushima, H. Miwa, Y. et al	Oral branched-chain amino acid supplementation improves the oxidized/reduced albumin ratio in patients with liver cirrhosis	Hepatol Res	37	765-70	2007
Wakahara, T. Shiraki, M. et al	Nutritional screening with Subjective Global Assessment predicts hospital stay in patients with digestive diseases	Nutrition	23	634-9	2007
Nakaya, Y. Okita, K. et al	BCAA-enriched snack improves nutritional state of cirrhosis	Nutrition	23	113-20	2007

厚生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

分岐鎖アミノ酸による肝における脂質代謝改善効果の解析

分担研究者 清家正隆 大分大学医学部消化器内科 診療准教授

研究要旨：分岐鎖アミノ酸（BCAA）は肝硬変症において用いられている治療薬であるが、最近では BCAA によるインスリン抵抗性改善効果や BMI が 25 kg/m² 以上の肥満を合併した肝細胞癌では肝癌の再発抑止効果が報告されている。C 型肝炎では肝の脂肪化と発癌の関連性ととも、様々な代謝異常を伴うこと知られており、その是正は C 型肝炎の治療では重要である。そこで今回、BCAA の脂質改善効果に注目し、肝・骨格筋・脂肪組織での脂肪酸の動態について検討した。その結果、肝では脂肪酸の取り込みが減少しており、脂肪酸の uncoupling protein (UCP-2) を介して脂肪酸の酸化が促進され、肝における脂肪蓄積が減少していることが示唆された。

A. 研究目的

分岐鎖アミノ酸の脂質代謝改善効果について、肝・骨格筋・白色脂肪組織の各臓器における動態を解析する。

B. 研究方法

(1)8 週齢の C57BL/6J を用い、45%HFD (high fat diet) を 4 週間摂食させたのち、4%BCAA を加え、2 週間自由に摂食させた。BCAA 添加群と非添加群において以下の項目で比較検討した。

評価項目：投与終了後の血清グルコース (BS)、インスリン値 (IRI)、血清中性脂肪 (TG)、遊離脂肪酸 (FFA)、組織中の脂肪酸合成・酸化マーカーとして CD36、uncoupling protein (UCP1-3)、PPAR- α 、Carnitine palmitoyl transferase I (CPT1) の評価を western blot 法により行った。

(倫理面への配慮)

実験は大分大学医学部動物実験指針に基づいて行われた。

C. 研究結果

(1)両群における体重と摂食量

両群で摂食量に有意差はなかった。体重は BCAA 投与群で有意に低下していた。

(2)肝組織中の脂肪は、病理組織学的な検討で肝細胞内の脂肪的は明らかに改善し、組織含有中性脂肪量も BCAA 投与群で明らかに減少していた。

(3)血清 BS、IRI、TG、FFA

血糖、TG、FFA は両群に有意な差はなかった。しかし、血清 IRI は BCAA 投与群で有意に減少していた。

(3)血清 adiponectine、leptin は両群で有意な差はなかった。

(4)各組織における CD36、UCP、PPAR α 、CPT1

肝では CD36 の発現が減少していた。CPT1 に両群で有意な差はなかった。一方、PPAR α 、UCP2 は有意に発現が増加していた。

骨格筋では BCAA 投与群で、組織中の TG 量は減少し

ていた。また、CD36 は BCAA 投与群で発現が増強しており、PPAR α 、UCP3 の発現も同様に増加していた。CPT1 に両群で有意な差はなかった。

白色脂肪組織においても TG 量は BCAA 投与群で減少していた。CD36 や UCP2 では有意な差はなかったが PPAR α は BCAA 群で発現が増加していた。

D. 考察

(1)今回用いたモデルマウスでは、BCAA 投与により体重の減少が見られ、血清中の IRI の低下が得られ、インスリン抵抗性改善が示された。

(2)肝では BCAA 投与群食で FFA transporter である CD36 の発現が抑制されていたため、FFA の取り込みが減少していることが示唆された。一方 CPT1 は変化なく、PPAR α や UCP2 が発現していたことから、FFA の酸化は UCP を介して促進されていることが示唆された。その結果、肝の中性脂肪量減少していたものと考えられた。

骨格筋では肝での作用に加え、CD36 の発現が亢進していたことから、FFA の取り込みが促進していることが示唆された。

脂肪組織で肝・骨格筋と異なって PPAR α の発現がみられたのみであった。

E. 結論

BCAA は肝硬変患者の血清アルブミン値を保ち、予後を改善することが知られている。最近ではインスリン抵抗性改善作用も報告されている。今回 BCAA による肝での脂質代謝改善作用を有することが示唆された。機序として BCAA は FFA の肝への取り込みを抑制し、UCP2 を介し脂肪酸の酸化を促進していた。C 型肝炎ウイルスが肝の脂肪化を惹起し、肝発癌に関与していることが知られており、BCAA が肝脂肪化を抑制したことから、肝発癌の抑止にも有用であることが示唆された。

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) 清家正隆、吉松博信. プライマリ・ケア医のための
NAFLD の診かた-非アルコール性肝疾患への対応-
肝底護剤. 治療 ; 1685-1690. 2007

2) Mizuki Endo, Takayuki Masaki, Masataka Seike
and Hironobu Yoshimatsu, TNF- α Induces Hepatic
Steatosis in Mice by Enhancing Gene Expression of
Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c
(SREBP-1c). Exp Biol Med. 232(5):614-21. 2007

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

分担研究報告書

慢性 B 型肝炎に対する核酸アナログ治療における薬剤耐性に関する臨床研究

分担研究者 上野義之 東北大学病院消化器内科 講師

研究要旨:慢性 B 型肝炎に対する治療として、核酸アナログ製剤が本邦においても導入されており、治療法の選択肢が広がったが、同時に薬剤耐性の問題が新たに生じた。今回ラミブジンに対する耐性ウイルスの治療としてエンテカビルを投与された 4 名の患者に対する長期観察を行い、その結果ラミブジン耐性が確認された後に投与された場合は、高率にエンテカビル耐性が誘導される(4 例中 3 例 75%)ことを経験した。したがって、ラミブジン耐性ウイルスの治療としてはアデフォビルのほうが優れていた。

A. 研究目的

多剤薬剤耐性を生じない B 型肝炎ウイルスの治療法を確立するため、ラミブジン耐性ウイルスに対してエンテカビルを長期間投与し、その長期にわたる有効性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

2003 年 9 月から 2006 年 9 月の間に Lamivudine 耐性が認められた B 型慢性肝炎または肝硬変の症例に対し、Adefovir 併用もしくは Entecavir への切り替えを行なった 23 例のうち、治療法変更後 12 ヶ月以上経過観察し得た 16 例を対象とした。

Adefovir の併用を行なった症例を ADV 群とし、Entecavir へ切り替えた症例を ETV 群とした。

研究結果

1. Lamivudine 耐性 B 型肝炎に対する Adefovir の併用と Entecavir への切り替えについて比較すると、HBV DNA 陰性化率、ALT 正常化率、HBeAg 陰性化率のいずれにおいても Adefovir 併用の方が優れた治療効果を示した。
2. 現時点では Adefovir 併用群での耐性出現は 2 例に認められ(2/12, 16.7%)、Entecavir 投与群では平均 3 年 6 ヶ月の観察期間で 75% (3/4) に Entecavir 耐性が認められた。
3. Lamivudine 耐性例における Entecavir 耐性の出現率は 2 年間で 9%と報告されているが、それ以上の長期投与により高率に耐性が出現する可能性が示唆された。
4. Adefovir 投与にても長期においては薬剤耐性が誘導される可能性があり、生涯にわたり核酸アナログ製剤による治療が必要な場合には AIDS における HAART 療法のようなカクテル療法が必要である可能性がある。

C. 考察

Entecavir は未治療例に対しては優れた抗ウイルス作用と低い耐性ウイルス出現率が報告されているが、Lamivudine 耐性例に対する長期投与においては Adefovir 併用のほうが薬剤耐性は少ないと考えられた。

結論

D. 健康危険情報
特になし

E. 研究発表

英語論文

1. Nagasaki F, Niitsuma H, Ueno Y, Inoue J, Kogure T, Fukushima K, Shimosegawa T. The high incidence of the emergence of entecavir-resistant mutants among patients infected with lamivudine-resistant hepatitis B virus. *Tohoku J Exp Med* 2007;213:181-6.
2. Kogure T, Ueno Y, Fukushima K, Nagasaki F, Inoue J, Kakazu E, Matsuda Y, Kido O, Nakagome Y, Kimura O, Obara N, Wakui Y, Iwasaki T, Shimosegawa T. Fulminant hepatic failure in a case of autoimmune hepatitis in hepatitis C during peg-interferon-alpha 2b plus ribavirin treatment. *World J Gastroenterol* 2007;13:4394-7.
3. Kakazu E, Kanno N, Ueno Y, Shimosegawa T. Extracellular branched-chain amino acids, especially valine, regulate maturation and function of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2007;179:7137-46.
4. Mikami E, Kanno N, Ueno Y, Shimosegawa T. Retrospective evaluation of tumor-mass-reduction therapy for the prognosis of recurrent hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int* 2007;1:460-469.