

図1. 治療終了時のHBcrAg量別HBeAgの経過

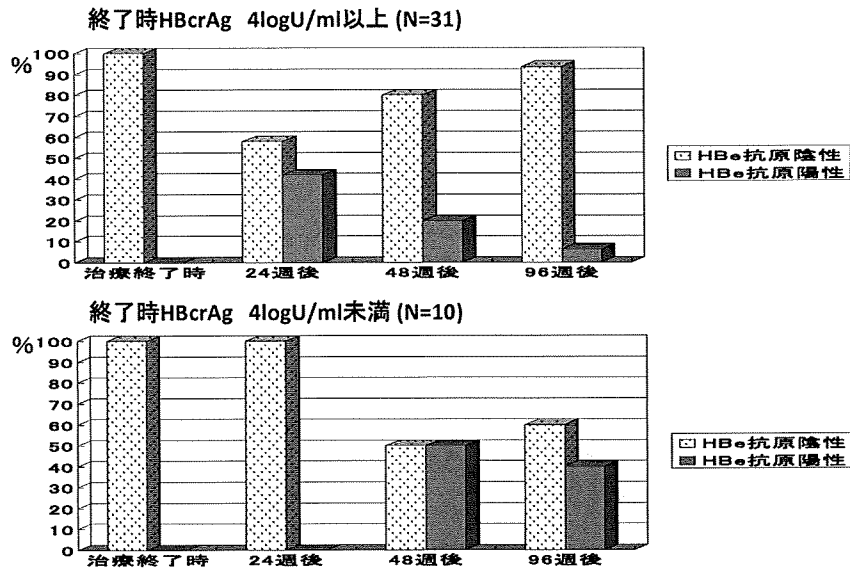


図2. HBe抗原陽性例LAM & IFN治療中止後のHBeAgの経過

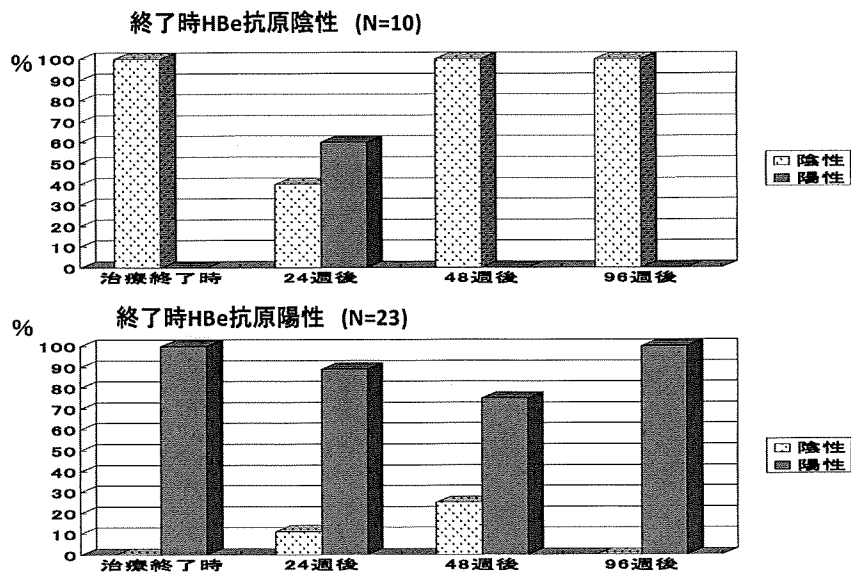
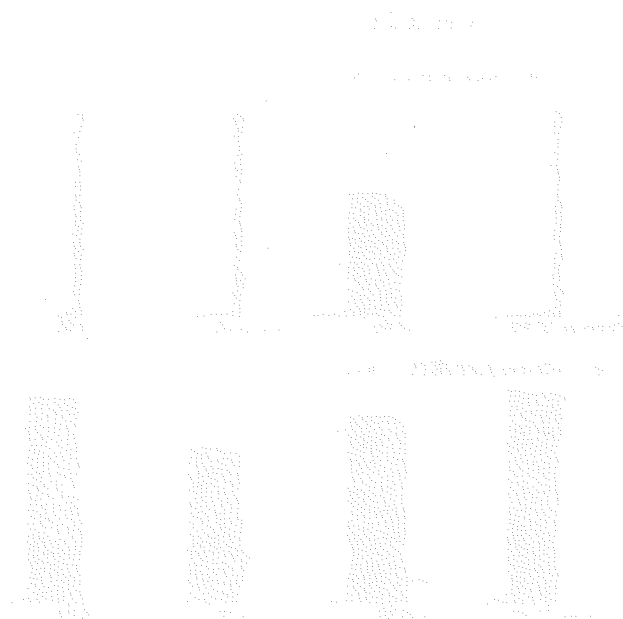


表3. 施設別症例数(合計 284例)

虎ノ門病院:	90
京都府立医科大:	59
札幌厚生年金病院:	34
広島大学:	27
武蔵野赤十字病院:	26
信州大学:	21
東京大学:	10
済生会吹田病院:	6
東北大学:	5
愛媛大学:	3
福岡大学:	2
藤田保健衛生大学:	1



# 平成 20 年度厚生労働省厚生科学研究費肝炎等克服緊急対策研究事業 (肝炎分野)

## 共同研究報告書

「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」班  
共同研究 B 型肝硬変の各種核酸アナログ製剤使用中の発癌例の検討

福岡大学消化器内科 向坂彰太郎、釈迦堂敏

### 研究要旨

核酸アナログ治療により B 型慢性肝疾患患者の肝機能、肝予備能の改善が報告されているが、肝発癌を抑制するかどうかは不明である。今回、共同研究参加 15 施設より、B 型肝硬変症例に対して、核酸アナログ治療が行われた症例の臨床データを集計し、肝発癌例と非発癌例の検討を行った。解析対象症例は、発癌症例 107 例、非発癌症例が 417 例であった。B 型肝硬変患者への核酸アナログ治療では、多くの症例で血清 AFP 値は低下した。核酸アナログ治療開始時の血小板数低値例、Child C 症例では、HBV DNA 陰性化、ALT 正常化が得られても肝発癌リスクが高いと考えられた。また、耐性ウイルス出現例や、治療後も血清 AFP が上昇する例では肝発癌リスクが高いと考えられた。核酸アナログ治療による、B 型肝硬変の肝発癌抑止効果の検討には、さらなる症例の追加と、長期的な経過観察が必要である。

#### 共同研究施設 (50 音順)

愛媛大学 先端病態制御内科	恩地森一
大分大学 消化器内科	清家正隆
大阪大学 消化器内科	竹原徹郎
鹿児島大学 消化器疾患・生活習慣病学	桶谷 眞
岐阜大学 消化器病態学	森脇久隆
札幌厚生病院 消化器科	豊田成司
新小倉病院 肝臓病センター	野村秀幸
信州大学 消化器内科	田中榮次
東京大学 感染症内科	四柳 宏
東北大学 消化器内科	上野義之
虎ノ門病院 肝臓センター	熊田博光
広島大学 分子病態制御内科	茶山一彰
福岡大学 消化器内科	向坂彰太郎
藤田保健衛生大学 肝胆臓内科	吉岡健太郎
武蔵野赤十字病院 消化器科	泉 並木

### A 研究目的

B 型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法としては、インターフェロンと核酸アナログがある。インターフェロンは短期的な使用であるが、核酸アナログは長期的な投与となる。核酸アナログ治療により B 型慢性肝疾患患者の肝機能、肝予備能の改善が報告されているが、肝発癌を抑制するかどうかは不明である。今回、多施設共同で、B 型肝硬変患者に対する各種核酸アナログ治療開始後の肝発癌例の検討を行い、核酸アナログが

肝発癌を抑制するかどうかの検討を行った。

### B 研究方法

共同研究参加 15 施設より、B 型肝硬変症例に対して、核酸アナログ治療が行われた症例の臨床データを集計し、肝発癌例と非発癌例に分けて臨床背景、核酸アナログ治療効果の検討を行う。

### C 研究結果

共同研究施設より合計 688 症例の臨床データが集計された。そのうち、同一症例を省いた 527 例を対象とした。症例が 417 例であった。肝発癌 110 このうち肝発癌症例は 110 例、非発癌例のうち、ラミブジン開始後の発癌が 87 例、ラミブジン+アデフォビル開始後が 12 例、エンテカビル開始後が 11 例であった。この 110 例のうち、3 例は核酸アナログ開始時の血清 AFP 値が 1,000ng/ml 以上であり、核酸アナログ開始後 2-12 ヶ月で肝発癌を認めた症例であった。したがって、この 3 症例は核酸アナログ開始

前より肝発癌をきたしていた可能性が高いと考えられた。このため、この3症例を除いた107例で以下の検討を行った。

表1に核酸アナログ開始後に肝発癌を認めた107例の患者背景と核酸アナログ開始後の治療経過を示す。平均観察期間は $4.5 \pm 2.5$ 年であり、核酸アナログ開始後から肝発癌までの平均期間は $2.3 \pm 1.8$ 年と、比較的早期に肝発癌が認められた。肝癌発見時の平均腫瘍個数は $1.5 \pm 1.4$ 個、平均腫瘍径は $21.7 \pm 13.3$ mmであり、早期に発見される症例が多かった。表2に、107例の核酸アナログ開始時と肝発癌時の生化学検査の比較を示す。核酸アナログ投与により、血清HBV DNA量やALT値は低下し、さらに、血清アルブミン値や血小板数の改善が認められていたにもかかわらず肝発癌を認めた。非発癌417例の核酸アナログ開始時の臨床データと治療効果を表3に示す。核酸アナログ開始時の発癌例と非発癌例の臨床所見の比較を表4に示す。発癌例は、有意に治療開始時年齢が高く、血清アルブミン値と血小板数は有意に低値であり、Child-Pugh B、C症例が多かった。核酸アナログの治療効果は、発癌例と非発癌例に差はみられなかった(表5)。しかしながら、耐性ウイルスの出現頻度は発癌例で有意に高率であった。治療開始後の血清AFP値の変動を図1に示す。非発癌例では、ほとんどの症例でAFP値の低下が認められたが、発癌例では多くの症例でAFP値の上昇がみられた。非発癌例の平均AFP値は、核酸アナログ開始前の54.5 ng/mlから5.7 ng/mlへと低下した。一方、発癌例では平均AFP値は51.2 ng/mlから1258 ng/mlへと上昇した(図2)。核酸アナログ開始後に血清AFP値が上昇した症例を発癌例と非発癌例で比較した。非発癌例では18.9%が治療開始後に血清AFP値の上昇が見られたが、発癌例では47.6%に血清AFPの上昇を認めた。多変量解析による肝発癌に影響を及ぼす因子の解析では、核酸アナログ開始時の血小板数低値とChild Cが抽出された。また、核酸アナログ治療開始後の因子としては、核酸アナログ耐性ウイルス(全例ラミブジン耐性ウイルス)出現と血清AFP上昇が抽出された(表6)。

#### D 考察

肝硬変を含むB型慢性肝疾患患者への核酸アナログ

治療により肝予備能が改善することは、すでに多くの報告がある。今回の共同研究でも、B型肝炎硬変症例への核酸アナログ投与により、肝予備能が改善することが示された。さらに、今回の研究では、B型肝炎硬変患者への核酸アナログ投与により血清AFP値が低下することが明らかになった。したがって、B型肝炎硬変患者への核酸アナログ投与によって、肝予備能が改善するばかりでなくAFP値が低下することから、長期的には、肝予備能改善と発癌抑止効果によってB型肝炎硬変患者の予後改善が期待できる可能性が考えられた。

肝発癌例の検討では、非発癌例に比較して、核酸アナログ治療開始時の年齢が有意に高く、血清アルブミン値や血小板数が有意に低かった。これは、発癌例では、核酸アナログによる治療開始時において、すでに進行した肝硬変が多かったことを示している。多変量解析でも、血小板数低値とChild-Pugh Cが発癌のリスクファクターとして抽出された。肝発癌抑止目的に核酸アナログを投与する場合には、肝硬変の早期から治療開始することが重要と考えられた。また、発癌症例においても核酸アナログ投与により肝予備能の改善は認められていることから、多変量解析では、肝予備能改善は発癌抑止に影響はなかった。しかしながら、今後さらに長期的に観察することで、肝予備能の改善が発癌抑止につながる事が示されると期待され、長期的に経過を追っていく必要がある。

今回の共同研究の目的は、B型肝炎硬変患者に対する核酸アナログ治療が肝発癌を抑制し、B型肝炎硬変患者の予後改善をもたらすかどうかである。しかしながら、我が国において核酸アナログが使用可能となったのは2000年11月からであるため、今回の共同研究施設からの症例の平均観察期間はわずか4.5年である。この期間で肝癌発見までの平均期間が2.3年であることを考えると、核酸アナログ開始時に微小肝癌が発症していた可能性は非常に高いと考えられる。したがって、核酸アナログによる肝発癌抑止、予後改善効果については、さらに長期的な観察を行って結論をだす必要がある。今回の共同研究では、共同研究施設から多くのデータが集計されたが、今後も、これらの症例の経過を詳細に追跡調査していくことで、本邦におけるB型肝炎硬変症例に核酸アナログ治療の有用性が明らかになってく

るものと思われる。

## E 結論

B型肝硬変患者への核酸アナログ治療では、

- 1、肝発癌のない多くの症例で血清 AFP 値は低下する。
- 2、治療開始時の血小板数低値例、Child C 症例では、HBV DNA 陰性化、ALT 正常化が得られても肝発癌リスクが高い。
- 3、耐性ウイルス出現例や、治療後も血清 AFP が上昇する例では肝発癌リスクが高い。

核酸アナログ治療による、B型肝硬変の肝発癌抑止効果の検討には、さらなる症例の追加と、長期的な経過観察が必要である。

## F 健康危険情報

特記事項無し。

## G 研究発表

### 1 論文

- 1 : Combination therapy of lamivudine and adefovir in Japanese patients with chronic hepatitis B  
Satoshi SHAKADO, Hiroshi WATANABE, Takashi TANAKA, Daisuke MORIHARA, Shinya NISHIZAWA, Shinjiro INOMATA, Syuichi UEDA, Teruo MATSUMOTO, Akira ANAN, Yasuaki TAKEYAMA, Makoto IRIE, Kaoru IWATA, Tetsuro SOHDA, and Shotaro SAKISAKA  
Hepatology International 2008, vol. 2, no. 3, pp. 361-369
- 2 : C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン $\alpha$ -2a 単独療法の治療効果と治療効果予測因子の検討  
田中崇、釈迦堂敏、森原大輔、西澤新也、櫻井邦俊、猪俣慎二郎、花野貴幸、平野玄竜、上田秀一、松本照雄、吉兼誠、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、早田哲郎、渡邊洋、向坂彰太郎  
肝臓 49 卷 9 号 417-425 (2008)
- 3 : 肝硬変に対する瀉血療法による血清 AFP 値の低下  
早田哲郎、岩田郁、平野玄竜、阿南章、竹山康章、入江真、釈迦堂敏、向坂彰太郎

肝臓 (速報) 49 卷 11 号 524-525 (2008)

### 2 学会発表

- 1 : The loss of the HCV core antigen after one month of treatment is a predictor for the efficacy of the combination therapy with peginterferon alpha-2b and ribavirin for the patients with chronic hepatitis C  
S. Shakado, T. Tanaka, D. Morihara, S. Nishizawa, A. Anan, S. Inomata, S. Ueda, D. T. Matsumoto, Y. K. Yokoyama, Takeyama, M. Irie, K. Iwata, T. Shoda, and S. Sakisaka  
APASL2008 2008/3/23-26 Soul
- 2 : Hepatitis C Virus Carriers with Serum Alanine Aminotransferase Levels More than 20 IU/l are in a Progressive Histological Stage.  
T. TANAKA, S. SHAKADO, S. INOMATA, K. TAKATA, S. UEDA, D. MORIHARA, K. YOKOYAMA, S. NISHIZAWA, T. MATSUMOTO, A. ANAN, Y. TAKEYAMA, M. IRIE, K. IWATA, T. SOHDA, and S. SAKISAKA  
APASL2008 2008/3/23-26 Soul
- 3 : Impact of anti-HBc positivity and diabetes in the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with serologically non-B non-C  
T. Sohda, Y. Kitamura, S. Nishizawa, D. Morihara, K. Iwata, T. Matsumoto, S. Ueda, A. Anan, M. Irie, Y. Takeyama, S. Shakado, and S. Sakisaka  
APASL2008 2008/3/23-26 Soul
- 4 : 高齢者 (65 歳以上) 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の検討—インターフェロン単独治療との比較—  
釈迦堂敏、田中崇、森原大輔、阿南章、西澤新也、高田和英、上田秀一、猪俣慎二郎、横山圭二、松本照雄、竹山康章、入江真、岩田郁、早田徹郎、向坂彰太郎  
日本肝臓学会総会 2008/6/5-6/6 愛媛
- 5 : ALT 低値 C型慢性肝炎患者におけるペグインターフェロン $\alpha$ -2b とリバビリン併用療法治療適応の検討  
田中崇、田中崇、高田和英、猪俣慎二郎、上田秀一、森原大輔、横山圭二、松本照雄、西澤新也、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、早田徹郎、向坂彰太郎

日本肝臓学会総会 2008/6/5-6/6 愛媛

6：潜在性 HBV 感染が C 型肝炎の線維化と抗ウイルス療法に及ぼす影響

西澤新也、釈迦堂敏、田中崇、高田和英、猪俣慎二郎、上田秀一、横山圭二、森原大輔、松本照雄、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、早田徹郎、向坂彰太郎

日本肝臓学会総会 2008/6/5-6/6 愛媛

7：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では、高血小板数で adherence が高ければ高齢者でも SVR が期待できる

森原大輔、釈迦堂敏、阿南章、西澤新也、田中崇、高田和英、上田秀一、猪俣慎二郎、横山圭二、松本照雄、竹山康章、入江真、岩田郁、早田徹郎、向坂彰太郎

日本肝臓学会総会 2008/6/5-6/6 愛媛

8：ワークショップ C 型肝炎治療成績向上のための工夫と現状

当科におけるペグインターフェロン+リバビリン併用療法の現状-SVR 予測のための HCV core 遺伝子変異と SVR 向上のための薬剤 adherence についての検討

森原大輔、釈迦堂敏、西中村瞳、西澤新也、坂本雅晴、田中崇、高田和英、上田秀一、猪俣慎二郎、横山圭二、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、早田哲郎、向坂彰太郎

第 92 回日本消化器病学会九州支部例会 2008/11/21-22 大分市

9：潜在性 HBV 感染に伴う C 型肝炎患者の HCV アミノ酸変異 (Core 領域・ISDR 領域) の解析

西澤新也、釈迦堂敏、森原大輔、西中村瞳、田中崇、高田和英、上田秀一、横山圭二、阿南章、坂本雅晴、竹山康章、入江真、岩田郁、早田哲郎、向坂彰太郎

第 92 回日本消化器病学会九州支部例会 2008/11/21-22 大分市

H 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

B 型肝炎硬変の各種核酸アナログ製剤使用あ中の発癌例の検討

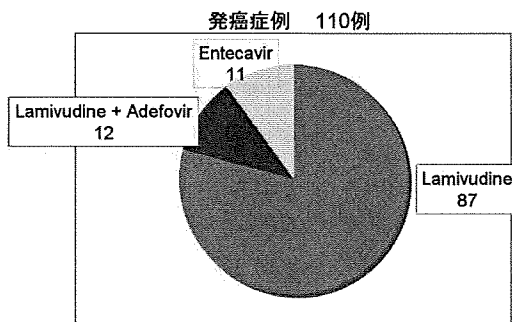


表 1 核酸アナログ開始後に発癌した B 型肝炎硬変 107 例

核酸アナログ開始時疫学データ	
性別	男性 81 (75.7%), 女性 26
年齢 (歳)	64.9 ± 10.2
ALT (IU/l)	116.8 ± 249.7
アルブミン (g/dl)	3.5 ± 0.6
血小板数 (×10 <sup>4</sup> /μl)	9.3 ± 3.9
AFP (ng/ml)	49.7 ± 99.0
Child-Pugh	A=53, B=18, C=11
ジェノタイプ判別	C=78 (88.8%), B=1
HBs抗原陽性	53 (51.4%), 陰性 50, 不明 4
HBV DNA 量	
TMA (LGE/ml)	6.8 ± 1.4
Ampicor (Log copy/ml)	6.4 ± 1.1
治療効果	
ALT 正常化	84/104 (80.8%)
DNA 陰性化	85/105 (80.9%)
HBs抗原陽性化	27/53 (50.9%)
持続ウイルス出現率	60/107 (56.1%)
Breakthrough hepatitis 出現	41/107 (38.3%)
平均観察期間	4.5 ± 2.5 年
発癌までの期間	27.8 ± 21.4 (月) (2.3 年)
平均腫瘍径	21.7 ± 13.3 mm
平均腫瘍数	1.5 ± 1.4 個
予後	死亡 11, 生存 80, 不明 28
死亡	肝癌死 9, 肝不全 3

表 2 核酸アナログ開始後に発癌した B 型肝炎硬変 107 例  
核酸アナログ開始時と肝発癌時の比較検討

	核酸アナログ開始時	発癌時	p
年齢 (歳)	64.9 ± 10.2	66.5 ± 9.6	
HBs抗原陽性	53 例	33 例	
ALT (IU/l)	116.8 ± 249.7	39.6 ± 22.9	0.001
アルブミン (g/dl)	3.5 ± 0.6	3.7 ± 0.5	0.000
血小板数 (×10 <sup>4</sup> /μl)	9.3 ± 3.9	10.4 ± 4.5	0.023
AFP (ng/ml)	51.2 ± 97.4	1258.0 ± 7970.0	0.091
HBV DNA			
TMA (LGE/ml)	6.8 ± 1.4	5.0 ± 1.6	0.021
Ampicor (Log copy/ml)	6.4 ± 1.1	3.2 ± 1.2	0.000

表 3 核酸アナログ治療後の非発癌 417 例

核酸アナログ開始時疫学データ	
性別	男性 310 (74.3%), 女性 107
年齢 (歳)	51.5 ± 11.1
ALT (IU/l)	132.8 ± 197.3
アルブミン (g/dl)	3.7 ± 0.8
血小板数 (×10 <sup>4</sup> /μl)	12.7 ± 5.6
AFP (ng/ml)	54.5 ± 188.4
Child-Pugh	A 270, B 41, C 11
ジェノタイプ判別	C=334 (80.8%), B=36, A=6, D=1, F=1
HBs抗原陽性	197 (47.2%), 陰性 215, 不明 4
HBV DNA 量	
TMA (LGE/ml)	6.8 ± 1.4
Ampicor (Log copy/ml)	6.1 ± 1.4
治療効果	
ALT 正常化	353/402 (87.8%)
DNA 陰性化	332/401 (82.8%)
HBs抗原陽性化	92/198 (47.5%)
持続ウイルス出現率	151/199 (76.9%)
Breakthrough hepatitis 出現	108/224 (48.2%)
平均観察期間	3.4 ± 2.4 年
予後	死亡 10
死亡	肝不全 7, 食道静脈瘤破裂 1, 胃癌 1, 食道癌 1

表、4 核酸アナログ治療を受けたB型肝炎硬変の発癌例と非発癌例における治療開始時臨床所見の比較

	非発癌(417)	発癌(107)	P
男性:女性	310(74.3%):107	81(75.7%):26	0.5361
年齢(歳)	51.5±11.1	54.9±10.2	0.0015
ALT(IU/l)	132.6±187.3	116.8±249.7	0.2114
アルブミン(g/dl)	3.7±0.6	3.5±0.6	0.0001
血小板数(×10 <sup>3</sup> μl)	12.7±5.6	9.3±3.9	0.0102
AFP(ng/ml)	54.5±186.4	51.2±97.4	0.4193
Child-Pugh	A=270 B=41, C=11	A=59 B=18, C=17	0.0001
ジェノタイプ	C=334(88.6%) A=5, B=36, D=1, F=1	C=78(98.7%) B=1	
HBe抗原陽性	197(47.2%)	54(50.5%)	0.3415
HBV DNA			
TMA	6.8±1.4	6.8±1.4	0.4513
Amplifire	6.1±1.4	6.4±1.1	0.056

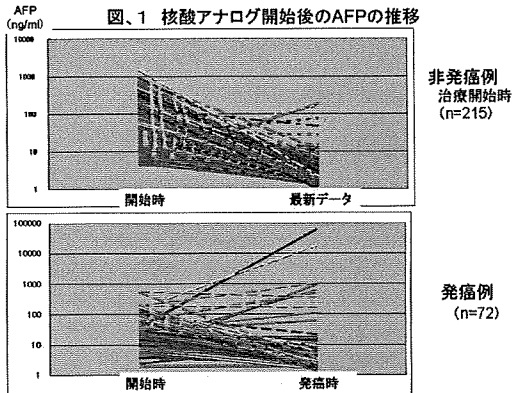
表、6 B型肝炎硬変の各種核酸アナログ製剤使用中の発癌に寄与する因子(多重ロジスティック回帰分析)

	オッズ比	95% CI	p
年齢			0.0909
血小板数	58.235	5.488 - 734.902	0.0011
Child Pugh C	3.358	1.782 - 6.382	0.0002
耐性ウイルス出現	2.864	1.515 - 5.551	0.0014
AFP上昇	3.964	1.086 - 15.055	0.0376

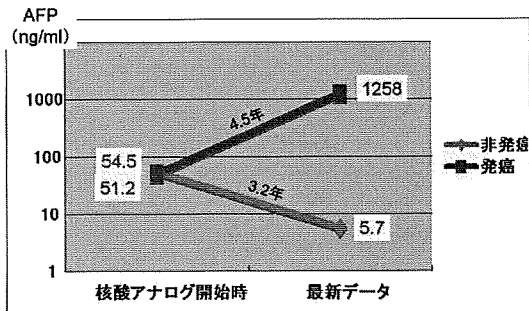
表、5 核酸アナログ治療を受けたB型肝炎硬変の発癌例と非発癌例の治療経過の比較

	非発癌(417)	発癌(107)	p
ALT正常化	353/402(87.8%)	87/107(81.3%)	0.0595
HBV DNA陰性化	332/401(82.8%)	87/108(80.1%)	0.3396
HBe抗原陰性化	93/196(47.5%)	29/58(50.0%)	0.4235
耐性ウイルス出現率	151/409(36.9%)	60/107(56.1%)	0.0003
Breakthrough hepatitis出現率	108/224(48.2%)	43/110(39.1%)	0.0722
AFP上昇	60/316(18.9%)	40/84(47.6%)	0.0000
死亡(肝癌、肝不全死)	10例(2.3%) (0:8)	11例(10.3%) (8:3)	0.0009

図、1 核酸アナログ開始後のAFPの推移



図、2 非発癌症例と発癌症例のAFPの推移



## II. 分担研究報告



# 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

### 抗 HCV 薬における内因性 IFN-β の誘導と抗ウイルス作用

分担研究者 恩地森一 愛媛大学大学院先端病態制御内科学講座 教授

研究要旨：C 型慢性肝炎に対する抗 C 型肝炎ウイルス(HCV)治療としてペグインターフェロン (Peg-IFN-α) とリバビリン(RBV)併用療法が標準的治療法である。RBV の抗 HCV 作用機序について、IFN-α の抗 HCV 作用を修飾していると想定されるが不明確である。我々は IFN-α と RBV の併用例では投与初期における末梢血 T リンパ球の IFN 誘導遺伝子(ISG)が、非併用例に比べて高くなることを見いだした。RBV による ISG 増強効果は *in vitro* の HCV 発現系においても確認され、RBV の内因性 IFN-β の誘導効果に関連していると考えられた。RBV と同様に内因性 IFN-β を誘導した薬物では IFN-α との併用治療により強い抗 HCV 作用が得られ、抗ウイルス治療効果が期待される。

#### 共同研究者

日浅陽一 愛媛大学 講師  
徳本良雄 愛媛大学 特任講師  
小西一郎 愛媛大学 特任講師

#### A. 研究目的

C 型慢性肝炎 (CH-C) に対してペグインターフェロン (Peg-IFN-α) とリバビリン(RBV)併用療法が標準的治療法である。とりわけ RBV の抗 HCV 作用機序について、複数の機序が想定されているが、依然不明確なところが多い。RBV は単独療法では効かず、IFN との併用により抗 HCV 作用を持つことから、IFN の抗ウイルス作用を増強している機序が想定される。その機序としてインターフェロン誘導遺伝子(ISG)への修飾作用に注目し、*in vivo*, *in vitro* の両面から解析して、その修飾作用の有無を明らかにすることを目的とした。

#### B. 研究方法

まず、*in vivo* の検討として、RBV 併用例と非併用例における ISG 修飾の有無について比較検討した。対象は過去に IFN-α 単独治療をした 12 例および、IFN-α +RBV 併用療法をした 53 例。対象症例の治療開始時における背景因子は、IFN 単独治療群で HCV serotype 2 型が多かったが、年齢、性別など他の背景因子に差は見られなかった(表 1)。これらの症例から末梢血リンパ球を同意を得て採取し、MACS による positive selection で T リンパ球を単離、同細胞より RNA を抽出して代表的な IFN 誘導遺伝子(ISG)である PKR, MxA, 2'5'-OAS, IL-8 の mRNA 量について real-time RT-PCR 法で測定した。

#### 患者背景

	IFN+RBV (n=53)	IFN only (n=12)	P値
性別(男/女)	33/20	11/1	0.085
年齢(歳)	57 (35-70)	55 (37-74)	0.793
HCV serotype (I/II)	45/8	3/9	0.001
HCV-RNA量 (high/low)	48/5	8/4	0.052
肝組織F (1/2/3/4)	20/11/12/9	2/3/1/6	0.087
肝組織A (0/1/2/3)	4/27/21/1	3/3/6/0	0.377
AST	57 (26-315)	53 (40-65)	0.571
ALT	71 (27-287)	77 (39-128)	0.767
Albumin (g/dl)	3.8 (2.9-5.1)	3.9 (2.8-4.4)	0.872
γ-GTP (IU/L)	36 (12-194)	46 (17-106)	0.826
血小板数(万/mm <sup>2</sup> )	13.9 (6.4-27.1)	13.0 (8.2-25.8)	0.654

次に、*in vitro* の検討として HCV genotype 1a を発現する HepG2 および Huh7 細胞株を用いて、IFN のみ、あるいは IFN と RBV を添加して培養し、細胞を回収した。RNA を抽出して RBV 添加に伴う HCV-RNA, PKR, MxA, 2'5'-OAS, IL-8, IFN-β の mRNA 量の変化について定量し、比較検討した。

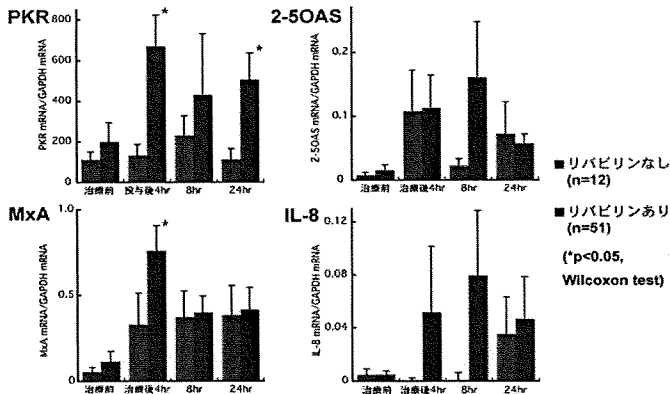
#### (倫理面への配慮)

本研究において、検体採取の際に臨床研究の目的・方法、患者に関する個人情報等の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、文書による同意を得た上で遂行した。検体採取については当院臨床研究倫理委員会にて承認されている。

### C. 研究結果

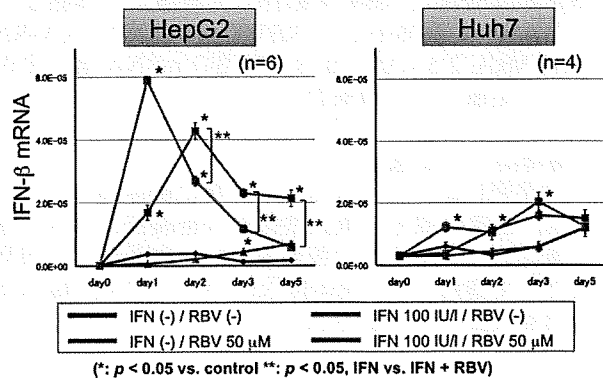
患者末梢血 T リンパ球より抽出した RNA を用いた検討では、RBV 併用群において、RBV 非併用群と比較して投与後 4 時間から 24 時間における PKR, MxA, IL-8 mRNA の有意な増加がみられた(図 1)。

図1. リバビリン併用によるインターフェロン誘導遺伝子(ISG)増強効果  
-リバビリン併用投与後の末梢血T細胞におけるISG mRNAの変化



これら RBV による ISG 増強効果を検証するため in vitro の実験系を用いて検討した。HCV genotype 1a 全長遺伝子を肝細胞由来株である Huh7, HepG2 の2つの細胞株で発現させ、IFN, RBV 単独あるいは両方を添加し、ISG mRNA の変化を経時的に観察した。その結果、HepG2 細胞株において RBV による PKR, MxA, IL-8 mRNA の増強効果がみられた。しかしながら内因性 IFN-β 産生が阻害されている Huh7 細胞株では RBV による ISG mRNA 増強効果はみられなかった。そのことより、RBV により増強される ISG は RBV による内因性 IFN-β 産生増強に伴う効果であることが推定され、IFN-β mRNA 量を定量したところ、HepG2 で同様の RBV による誘導増強効果が観察された(図 2)。一方、Huh7 では RBV による産生増加は見られなかった。これらの検討より、RBV が細胞内の内因性 IFN-β 誘導作用を有し、IFN で誘導され抗 HCV 作用を有する PKR, MxA などの ISG をさらに増強することにより抗 HCV 作用を持つことが推定された。

図2. リバビリンによる内因性 IFN-β mRNA 増強効果



内因性 IFN-β の誘導は IFN-α との併用により、強い抗 HCV 効果を来しうる可能性がある。

我々は、大豆の抽出物に含まれる soyasapogenol B の誘導体である 22β-methoxyolean-12-ene-3β, 24(4β)-diol (ME3738) に肝細胞株において内因性 IFN-β

を強く誘導し、抗 HCV 効果がみられることを見いだした。

この薬物は in vitro において HCV genotype 1a を発現させた HepG2 細胞株で、HCV 複製を用量依存性に抑制した。また内因性 IFN-β mRNA 量の増加とそれに伴う MxA, 2'5'-OAS の ISG mRNA の増加がみられた。さらに、IFN-α と ME3738 の併用により相乗的な抗 HCV 作用が認められた(Hepatology 2008;72:867-872)。

### D. 考察

リバビリン(RBV)の抗 HCV 作用機序として、細胞性免疫誘導作用、核酸代謝への影響、RNA dependent RNA polymerase の活性阻害、mutagen としての HCV 複製および粒子産生障害などが既に報告されている。特に RBV の mutagen としての抗ウイルス効果は、我々が in vitro の実験系において証明し (J Virol 2002;76:8505-8517.)、朝比奈らが臨床検体を用いて実証した(J Hepatol 2005;43:623-629)。これらは RBV のいわゆる第 III 相における抗ウイルス効果に大きく寄与している可能性がある。一方で、RBV は単剤ではあまり抗ウイルス効果がなく、IFN との併用で IFN の抗ウイルス効果を増強する薬物であり、IFN の抗 HCV 作用を修飾していることが推定される。今回我々の検討で、RBV の抗 HCV 作用機序として、内因性 IFN-β 増強効果に伴う IFN の ISG による抗 HCV 作用増強効果が明らかになった。

内因性 IFN-β の作用については in vitro の HCV モデルに頻用されている Huh7 細胞株ではその産生が障害されている。今回我々は内因性 IFN-β の産生が障害されていない HepG2 細胞を用いた HCV 発現システムを使用することで、その変化を同定した。RBV のみならず、内因性 IFN-β を増強する薬物は IFN-α と併用することにより相乗的な抗 HCV 効果を発揮する可能性があると考えられる。

### E. 結論

リバビリン(RBV)の抗 HCV 作用機序の一つとして内因性 IFN-β の増加とそれに伴う IFN 誘導遺伝子 (ISG) 増強作用が考えられた。また、内因性 IFN-β 増強作用を持つ薬物は IFN-α との併用により、相乗的な抗 HCV 作用を期待できる可能性があり、今後の HCV に対する創薬の一つのヒントになる可能性がある。

### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

### G. 研究発表

#### 1. 学会発表

- 1) 徳本良雄、日浅陽一、恩地森一 リバビリンによるインターフェロン誘導遺伝子の修飾と治療効果への役割 第 44 回日本肝臓学会総会 2008.6 松山
- 2) 日浅陽一、徳本良雄、小西一郎、道堯浩二郎、恩地森一 HepG2 細胞における ME3738 による内因性 IFN-β の増加とその抗 HCV 効果 第 50 回日本消化器病学会大会 2008.10 東京
- 3) Tokumoto Y, Hiasa Y, Konishi I, et al. Ribavirin upregulates autocrine interferon-β and interferon stimulated genes in the early phase of the combination

treatment with interferon- $\alpha$ . AASLD 2008.11 San Francisco, USA.

4) Hiasa Y, Tokumoto Y, Konishi I, et al. The enhancement of autocrine interferon- $\beta$  and the decrease of SOCS-3 by ME3738 would contribute the synergistic anti-HCV effects combined with interferon- $\alpha$ . AASLD 2008.11 San Francisco, USA.

## 2. 論文発表

Hiasa Y, Kuzuhara H, Tokumoto Y, Konishi I, Yamashita N, Matsuura B, Michitaka K, Chung RT, Onji M. Hepatitis C virus replication is inhibited by  $22\beta$ -methoxyolean-12-ene-3 $\beta$ , 24(4 $\beta$ )-diol (ME3738) through enhancing IFN- $\beta$ . Hepatology 2008;72:867-872.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

本研究に関して特記すべきことなし。

# 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

### 1 型高ウイルス量症例に対する PEG-IFN/RBV の長期投与

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 型肝炎に対する標準的な治療は PEG-IFN と RBV の 48 週投与である。しかし、このような治療法をもってしても過半数の症例でウイルス排除の達成が得られないことが問題である。同治療を 72 週に延長することにより著効率が改善するかどうかを、OLF で開始登録をした 3,000 例以上の症例の治療成績から解析を行った。EVR 症例では 72 週投与の有用性はなかったが、LVR 症例では 72 週投与の著効率は 48 週投与のそれに比し有意に優れていた。このような治療効果の改善は 48 週投与の難治群である高齢者、肝線維化進展例でも確認された。薬剤遵守率との関係では、48 週投与、72 週投与のいずれにおいても、RBV の総投与量が 4,000 mg/kg 以上を達成することが重要であり、これは 48 週投与では 12 mg/kg/day 以上に相当するが、72 週投与では 8 mg/kg/day に相当し、長期投与することにより 1 日当たりの RBV 投与量を減量できる可能性が示唆された。

#### 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 講師  
小瀬嗣子 大阪大学消化器内科学

後 24 週の経過観察が終了した 1,435 例を抽出し、今回の解析対象とした。48 週投与あるいは 72 週投与のいずれを選択するかは主治医の判断によるものとした。HCV-RNA の消失についてはアンプリコア定性法で検討した。

#### A. 研究目的

1 型高ウイルス量の C 型慢性肝炎患者に対する標準的な抗ウイルス治療は PEG-IFN $\alpha$  と Ribavirin の 48 週間投与である。本治療における一般的な著効率は 40%代にとどまっており、過半数の患者においてウイルス排除を達成することができない。特に投与開始後のウイルス低下が緩徐な症例ほど著効率が低いことが知られている。日本人を対象とした併用治療において 48 週以上の長期投与が有用であるかどうかを検討するために後向き解析を行った。

#### B. 研究方法

Osaka Liver Forum において PEG-IFN $\alpha$ 2b/RBV 治療を開始登録された 3,064 例のなかから、1 型高ウイルス量症例に対して治療を行い、投与終了

#### C. 研究成果

投与開始後の HCV-RNA 消失時期別の著効率は 0-12 週消失例で 48 週投与 79% (358/443) vs. 72 週投与 61% (14/23)、13-24 週消失例で 48 週投与 34% (35/102) vs. 72 週投与 61% (62/101)、25-48 週消失例で 48 週投与 6% (1/18) vs. 72 週投与 30% (6/20) であった。EVR 例では長期投与は有効ではなかったが、LVR 例では 72 週投与群が有意に著効率が高かった。さらに、LVR 例の 72 週投与における著効率は、16 週までの陰性化例では 82%、20 週までの陰性化例では 52%、24 週までの陰性化例では 21% であり、陰性化時期が早い症例においてより著効が得られやすかった。

次に、標準治療である 48 週投与において、治療効果が不十分である高齢者や肝線維化進展例につ

いて層別解析を行った。年齢 65 歳区分では、65 歳未満で 48 週投与 39% (31/79) vs. 72 週投与 66% (43/65)、65 歳以上で 48 週投与 17% (4/23) vs. 72 週投与 53% (19/36) であり、65 歳以上の症例でも 72 週投与での著効率の改善が得られた。肝線維化進展度別に F0-2、F3-4 を区分すると、F0-2 症例では 48 週群で 35%、72 週群では 58%と 72 週群で有意に著効率が向上していた。F3-4 症例では、有意差はないものの、F0-2 症例の著効率とほぼ同様に、48 週群の 30%に比し、72 週群では 62%と高率となっていた。血小板数についても、血小板値で 12 万以上、12 万未満に区分すると、血小板 12 万未満群においても 48 週群の 17%に比し、72 週群では 59%と有意に著効率が向上していた。

最後に薬剤遵守率との関係を解析した。Ribavirin について治療終了までの体重あたりの Ribavirin 総投与量別にそれぞれの著効率をみると、48 週群、72 週投与群ともに Ribavirin の用量依存的に著効率向上がみられ、特に 4,000 mg/kg 以上の投与によって著効率が 70%まで向上していた。一方、治療終了までの体重あたりの Peg-IFN 総投与量別にそれぞれの著効率をみてみると、48 週群では投与量に関わらずほぼ 30%であるのに対し、72 週群では、72  $\mu$ g/kg 以上の投与によって著効率が 70%まで向上していた。

#### D. 考察と結論

1 型高ウイルス量症例に対する 72 週長期投与は投与 12 週目に HCV-RNA 陽性であるが、24 週後に HCV-RNA < 50 IU/mL となる LVR 症例の著効率を改善した。特にこの改善効果は 48 週投与における難治群である高齢者、線維化進展症例に対しても観察された。72 週治療の抗ウイルス効果を十分得るためには、PEG-IFN $\alpha$ 2b の投与量 1 $\mu$ g /kg/week 以上を維持するとともに、Ribavirin の総投与量 4,000 mg/kg 以上を達成することが重要であると考えられた。これを 1 日あたりの平均投与量としてみると、4,000 mg/kg は、48 週治療では平均 12 mg/kg/day に相当し、72 週治療では平均 8 mg/kg/day に相当する。よって、Ribavirin の 1 日投与量は長

期投与することにより、減量できる可能性が示唆された。

#### E. 研究発表

##### 論文発表

1. 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. **Hepatology Res 38: 52-59, 2008.**
2. Tanaka H, Imai Y, Hiramatsu N, Ito Y, Imanaka K, Oshita M, Hijioka T, Katayama K, Yabuuchi I, Yoshihara H, Inoue A, Kato M, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Hayashi N, Tsukuma H. Declining incidence of hepatocellular carcinoma in Osaka, Japan, from 1990 to 2003. **Ann Intern Med 148: 820-826, 2008.**

##### 学会発表

**The 59<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases**  
**October 31-November 4, 2008 San Francisco, Moscone West Convention Center**

- EXTENDED TREATMENT WITH PEGINTERFERON ALFA2B AND RIBAVIRIN COMBINATION THERAPY CAN SUPPRESS THE RELAPSE RATE AFTER TREATMENT OF CHRONIC HEPATITIS C GENOTYPE 1 PATIENTS WITH LATE VIRAL RESPONSE. Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Kurokawa M, Igura T, Mochizuki K, Imanaka K, Yamada A, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Hijioka T, Yoshihara H, Hayashi E, Inoue A, Imai Y, Kato M, Yoshida Y, Tatsumi T, Ohkawa K, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Tamura S, Takehara T, Hayashi N.

- RIBAVIRIN DOSE REDUCTION RAISES RELAPSE RATE DOSE-DEPENDENTLY IN GENOTYPE 1 PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C RESPONDING TO PEGYLATED INTERFERON ALFA-2B PLUS RIBAVIRIN. Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Inoue Y, Igura T, Mochizuki K, Imanaka K, Kaneko A, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Nagase T, Ito T, Inui Y, Hijioka T, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Kato M, Yoshida Y, Tatsumi T, Okawa K, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Tamura S, Takehara T, Hayashi N.
- EFFECT OF INTERFERON ALFA-2B PLUS RIBAVIRIN THERAPY ON INCIDENCE OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS. Kurokawa M, Hiramatsu N, Takehara T, Oze T, Yakushijin T, Igura T, Mochizuki K, Imanaka K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Hijioka T, Inui Y, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Kato M, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Hayashi N.

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし
  2. 実用新案登録：なし
- その他：なし

# 厚生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

### C型慢性肝炎 1b型高ウイルス量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の治療効果に与える宿主およびウイルス因子の検討

分担研究者 田中榮司 信州大学 消化器科内科 教授

研究要旨：C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリンの併用療法では、1b型高ウイルス量群において約50%の著効率が得られる。現在、治療開始後の血清中HCV RNA陰性化が広く治療効果予測因子として用いられている。治療開始前の治療効果予測因子としてHCV NS5A変異の有無、Th1/Th2、HCVコア70番アミノ酸変異、IP-10、体重、好中球数を用いると、治療に反応しやすい群と反応しにくい群に分けることができる。治療に反応しやすい群では実際に90%以上の著効率が得られたが、反応しにくい群では10%以下の著効率が得られなかった。これらの因子を組み合わせることで、効率の良い治療前効果予測が可能であった。

#### 共同研究者

清澤研道 長野市民病院 院長  
松本晶博 信州大学 消化器内科 委嘱講師

- A. 研究目的 C型慢性肝炎 1b型高ウイルス量患者に対するペグインターフェロン(Peg-IFN)とリバビリン(RBV)併用療法の著効率は約50%である。治療効果に寄与する治療開始前のウイルス因子および宿主因子を解析し、効果予測モデルを作成することで、患者個人個人の治療効果に合わせた治療法を選択することができるようになり、テーラーメイド医療を構築できる。
- B. 研究方法 2004～2005年の間に、当科および関連病院にてPeg-IFNとRBV併用療法を行った103例(男性56例、年齢中央値61歳)を対象とした。治療開始前の効果予測因子の候補としてHCV RNA量(AMPLICOR法)、ISDR変異、Th1/Th2比、コアAA70変異、コアAA91変異、IP-10、IL-4などを測定した。多変量解析法を用いて治療効果予測モデルを作成した。
- C. 研究結果 総対象103例中48例(47%)でSVRが得られた。SVRと有意に相関した治療開始前の因子は、性別(P<0.001)、年齢(P=0.033)、体重(P<0.001)、身長(P=0.003)、WBC(P=0.001)、Hb(P<0.001)、血小板(P=0.0027)、

好中球数(P=0.017)、Th1/Th2(P<0.001)、IP-10(P=0.048)、HCV Amplicor(P<0.007)、ISDR変異(P<0.001)、コアAA70変異(P<0.001)であった。LDL-chol、AA91変異、BMI、IL-4は有意でなかった。有意な因子について多変量解析を行いSVRに寄与する因子を抽出すると、体重 $\geq 59\text{kg}$ (OR 27, p<0.001)、ISDR mutant(OR 35, p<0.001)、AA70 wild(OR 20, p=0.001)、好中球数 $\geq 2300/\mu\text{l}$ (OR 8.3, p=0.010)、Th1/Th2 $\leq 15.5$ (OR 11, p=0.001)、IP-10 <180pg/ml(OR 4.4, p=0.065)が抽出された。これらを用いて予測SVR率を求め、低、中、高反応の3群に分けたところ各群の実際のSVR率はそれぞれ5%、39%、93%であった。ISDR変異およびAA70変異はHCV RNAの早期減少と強い関連を示したが、Th1/Th2およびIP-10は関連が弱かった。ROC解析を用いてSVRに対するAUCを求めたところ、RNA消失週は0.905、治療前6因子による予測SVR率は0.941であり、治療前に治療中のウイルス変化によるSVR予測と同等またはそれ以上の予測が可能であることがわかった。

- D. 考察 ウイルスおよび宿主の治療前因子を用いてペグインターフェロンとリバビリン併用

療法における治療効果予測モデルを作成した。このモデルは現在用いられているウイルスの反応性による治療効果予測と同等かまたはそれ以上の予測能を持ち、患者さんの約80%の症例で90%以上の正診率で効果予測が可能であり、テーラーメイド医療に応用可能であると思われた。

- E. 結論 C型慢性肝炎1b型高ウイルス量患者に対するPeg-IFNとRBVの併用療法において、ISDR変異、AA70変異、体重、好中球数、Th1/Th2およびIP-10を用いて効率的な治療開始前効果予測が可能であった。治療効果予測にはウイルス因子に加え、免疫状態を含めた宿主因子も重要である可能性が示唆された。
- 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) Shirakawa H, Matsumoto A, Joshita M, Umemura T, Komatsu M, Tanaka N, Ichijo T, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Tanaka E, and the Nagano Interferon Treatment Research Group. Pretreatment prediction of virologic response to pegylated interferon alpha-2b and ribavirin combination therapy using viral and host factors in chronic hepatitis C patients with genotype 1b and high viral load. *Hepatology* 2008; 48: 1753-1760.
    - 2) Tanaka N, Nagaya T, Komatsu M, Horiuchi A, Tsuruta G, Shirakawa H, Umemura T, Ichijo T, Matsumoto A, Yoshizawa K, Aoyama T, Kiyosawa K, Tanaka E. Insulin resistance and hepatitis C virus: a case-control study of non-obese, non-alcoholic and non-steatotic hepatitis virus carriers with persistently normal serum aminotransferase. *Liver Int.* 2008; 28: 1104-1111.
    - 3) Tanaka E, Matsumoto A, Yoshizawa K, Maki N. Hepatitis B core-related antigen assay is

useful for monitoring the antiviral effects of nucleoside analogue therapy. *Intervirology.* 2008; 51 Suppl 1: 3-6.

## 2)学会発表

- 1) Akihiro Matsumoto, Noboru Maki, Kaname Yoshizawa, Tetsuya Ichijo, Takeji Umemura, Naoki Tanaka, Michiharu Komatsu, Satoru Joshita, Eiji Tanaka. Simultaneous measurement of HBV DNA and HBcrAg is useful for identifying timing of hepatitis reactivation which occur following reactivation of HBV replication in patients with chronic hepatitis B treated with lamivudine. 18<sup>th</sup> APASL 2008 in Seoul O-075
- 2) 松本晶博, 榎 昇, 田中榮司: B型慢性肝炎に対する抗ウイルス剤治療のHBVコア関連抗原測定法によるコントロール. *肝臓* 2008; 49 Supple 2: A442.
- 3) 松本晶博, 吉澤 要, 田中榮司: C型慢性肝炎高齢者に対するペグインターフェロン $\alpha$ -2bとリバビリン併用療法における治療前効果予測の意義 *肝臓* 2008; 49 Supple 2: A543.
- 4) 城下 智, 松本晶博, 角田 浩一, 吉澤 要, 一條哲也, 梅村武司, 田中直樹, 小松通治, 清澤研道, 田中榮司. HBe抗原陰性B型肝炎患者に対する抗ウイルス剤治療における高感度HBs抗原測定法の有用性の検討 *肝臓* 2008; 49 Supple 2, A442
- 5) Akihiro Matsumoto, Tetsuya Ichijo, Naoki Tanaka, Atsushi Kamijo, Satoru Joshita, Michiharu Komatsu, Takeji Umemura, Kaname Yoshizawa, Kendo Kiyosawa, Eiji Tanaka. Interferon treatment after splenectomy or PSE for the chronic hepatitis type C patients with the thrombocytopenia by portal hypertension. *JSH Single Topic Conference* 2008: 7<sup>th</sup>: A43.
- 6) 松本晶博, 吉澤 要, 田中榮司. C型慢性



肝炎 1b 型高ウイルス量患者に対する Peginterferon+Ribavirin 併用療法における治療前効果予測. 肝臓; 49 Supple 1: A320.

7) 松本晶博、槇 昇、田中榮司. コア関連抗原による B 型肝炎に対する抗ウイルス療法の選択および中止基準. 肝臓 2008; 49 Supple 1: A43.

8) 松本晶博、槇 昇、田中榮司. B 型肝炎に対する核酸アナログ治療中止時の HB コア関連抗原および HBV RNA 量と肝炎再燃との関係. 日本消化器病学会雑誌 2008 105(臨増総会): A411

9) 松本晶博、吉澤 要 , 田中榮司. C 型慢性肝炎 1b 型高ウイルス量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けるプロトコールの問題点 肝臓 2008; 49 suppl 3: A619.

10) 上條 敦, 松本晶博, 城下 智, 小松通治, 田中直樹, 梅村武司, 一條哲也, 吉澤要, 清澤研道, 田中榮司門脈圧亢進症を伴う血小板減少 C 型慢性肝炎患者に対する脾摘および PSE 後の IFN 療法 肝臓 2008; 49 suppl 3: A653.

11) 白川晴章, 松本晶博, 吉澤要, 一條哲也, 梅村武司, 田中直樹, 新井薫, 小松通治, 城下智, 田中榮司. 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予測におけるウイルス量測定法の比較 AMPLICOR monitor vs 高感度コア抗原測定法 vs Taqman PCR 法の比較. 日本消化器病学会雑誌 2008; 105(臨増総会): A309

#### 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

ペグインターフェロン(PEG-IFN)とリバビリン(RBV)併用療法における再燃関連因子の検討

分担研究者 泉 並木 武蔵野赤十字病院 副院長・消化器科部長

研究要旨：ゲノタイプ 1b 型・高 HCVRNA 量の難治例に対して PEG-IFN  $\alpha$  2b とリバビリン(RBV)併用療法が行われているが、ウイルス排除は約半数である。治療効果改善のためには再燃を減らすことが重要であるため、その関与因子を解析した。治療開始 9 から 12 週に HCVRNA が陰性化したものの再燃した例は 60 歳以上の高齢者であることと ISDR 変異が野生(wild)型のみであった。また 13~24 週の後期陰性化例も同様であるが、PEG-IFN  $\alpha$  2b の総投与量が 80%以下あるいは RBV の総投与量が 80%以下の例で再燃が多かった。後期陰性化例では 72 週間の延長治療によって再燃が減少していた。高齢者や ISDR 野生型では薬剤投与量の確保と延長投与による治癒率向上をめざす必要がある。

### 共同研究者

朝比奈靖弘 武蔵野赤十字病院消化器科 副部長  
黒崎雅之 武蔵野赤十字病院消化器科 副部長

### A. 研究目的

わが国のC型慢性肝炎の7割がゲノタイプ1b型・高HCVRNA量の難治例であるが、PEG-IFNとRBV併用療法を行った場合に、48週間の治療で40~50%にウイルス排除が得られる。治療効果を向上させるためには、治療中にHCVRNAが陰性となっているものの、終了後に再出現する再燃例を減らすことが重要な課題である。そこで再燃に関与する因子を明らかにすることを目的とした。この再燃を正確に予測するためには、最近導入されたreal-time PCR法を用いてHCVRNA陰性化時期を把握し、さらにHCVウイルス変異の関与を検討するために治療前のHCV変異を詳細に解析した。

また治療中の薬剤投与量や治療期間が再燃に与える影響を解析し、薬剤総投与量の確保や治療期間延長によって治療効果改善が得られるか否かについて検討した。

### B. 研究方法

(1) ゲノタイプ1b型・高HCVRNA量症例に対するPEG-IFN・RBV併用治療前のコアaa70とaa91およびNS5A(ISDR)変異の解析

PEG-IFN  $\alpha$  2b (1.5  $\mu$ g/kg) とRBV内服併用療法を行った難治性C型慢性肝炎患者473例について、治療前の肝生検組織所見、HCVのコアaa70と91変異、およびNS5AのISDR領域遺伝子変異を解析した。

(2) HCVRNA陰性化時期と再燃の関連

HCVRNAが治療開始後初めて陰性化した時期と、再燃の関連が重要であるため、従来のアンプリコアによるHCVRNA定性と、可能な症例については最近導入された高感度のreal-time PCR法を用いたHCVRNA陰性化時期を比較して、再燃率の違いを解析した。

(3) 薬剤投与量(PEG-IFN  $\alpha$  2bとRBV)と投与期間と再

### 燃率の関連の検討

投与開始からのPEG-IFN  $\alpha$  2bとRBVの予定投与量と実際に投与された量を比較して、総投与量がどの程度確保できたかと再燃率の関連を調べた。また、HCVRNAが治療開始13週から24週に陰性化した後期陰性化(late responder)症例で72週間の延長治療を行った症例の再燃抑止率について解析した。

(4) 治療前のウイルス側因子だけでなく、性、年齢、体重、肝生検による肝線維化と脂肪化、血小板数、ヘモグロビン値、などの宿主因子と再燃の関連についても解析した。

### (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

(1) ゲノタイプ 1b 型かつ高 HCVRNA 量例に対して PEG-IFN  $\alpha$  2b と RBV 併用療法を 473 例に対して行い、ウイルス学的効果が判定できている 292 例について検討した。全症例でのウイルス排除率(ITT 解析)は 37%であったが、予定投与量の 80%以上が確保された症例に限る(PP 解析)と 60%のウイルス排除率であった。再燃は 38%にみられた。再燃に関与する因子を解析したところ、単変量解析で高年齢、女性、前回の IFN 治療が反応なし、ヘモグロビン低値、血小板数低値、肝脂肪化高度、ISDR 変異が野生(wild)型が有意差がみられた。多変量解析すると、高年齢と ISDR 変異が野生(wild)型のみが有意な因子であった。コア aa70 と aa91 変異は再燃には関与していなかった。

(2) 従来のアンプリコア法を用いた HCVRNA 陰性化時期と再燃の関連を解析すると、4 週目の陰性ではいずれの方法を用いても 48 週間の治療で再燃はなかった。しかし 8 週目にアンプリコア法で陰性化例では 19%に再燃がみられたのに対し、real-time 法で 8 週目に陰性化した例では 48 週間治療による再燃はなかった。12 週目の陰性化ではアンプリコア法で 36%、real-time PCR 法で 25%に再燃がみられた。さらに 13 週から 24 週間目までの後期陰性化(late responder)ではアンプリコア法で 68%、real-time PCR 法で 53%の症例で 48 週間の治療で再燃が認められた。

9 から 12 週目に real-time PCR 法で HCVRNA 陰性が得られた例で検討すると、60 歳未満では 48 週間治療での再燃はみられなかったが、60 歳以上で 40%が再燃していた。さらに ISDR 変異との関連を検討すると、非野生(non-wild)型では再燃例はなかったのに対し、野生(wild)型では 33%の例で再燃が認められた。13 週から 24 週目の後期陰性化(late responder)例でみると、48 週間の治療で 60 歳未満でも ISDR が野生(wild)型では 56%が再燃していたのに対し、60 歳未満の非野生(non-wild)型では再燃はなかった。late responder でも 60 歳以上の高齢者においては ISDR 変異にかかわらず 60%以上に再燃が認められた。

(3) 再燃と PEG-IFN  $\alpha$  2b と RBV の薬剤総投与量との関連について解析した。real-time PCR 法で 9 から 12 週目に陰性となった例では RBV の総投与量が予定投与の 80%以下になった場合に 33%が再燃となっていた。また 13 週から 24 週の late responder では RBV の投与量が予定の 80%以下の場合に 86%が再燃していた。そこで late responder に対して 72 週間の延長投与を行った例で解析すると 48 週間の治療では 68%が再燃していたのに対して、72 週間の治療では 52%であり再燃抑止効果が認められた。

(4) 再燃に関与する因子を懐石した。単変量解析では年齢、性、前回の IFN の反応性、ヘモグロビン値、血小板数、肝脂肪化が有意な因子であった。多変量解析では年齢のみが有意であり、高齢者では同じ時期に HCVRNA が陰性化しても再燃率が高いと考えられた。

#### D. 考察

(1) 難治性 C 型慢性肝炎に対して PEG-IFN  $\alpha$  2b と RBV 併用療法を行ったところ、予定投与量の 80%が投与できた症例に限っても 38%が再燃していた。

(2) HCVRNA 陰性化時期が再燃に密接に関与しており、real-time PCR 法を用いて高感度に測定することによって、より正確に再燃を予測可能であった。早期に HCVRNA が陰性化した例であっても 60 歳以上の高齢者と HCV の ISDR が野生(wild)型では再燃が多く、こ

れらの例では投与期間を延長するなどの対策を講じる必要があると考えられる。late responder では 48 週間治療では、年齢や ISDR 変異にかかわらず再燃が多いことが確認された。

(3) 薬剤総投与量と再燃の関係を調べると、RBV の投与量が予定の 80%以下になった場合に再燃率が高くなることが判明した。したがって、HCVRNA 陰性化後は RBV の投与量を確保することによって再燃を減らし治癒率を向上させることができると期待される。さらに、13 週から 24 週に始めて HCVRNA が陰性化する late responder について解析すると、72 週間の延長投与をすることによって再燃率を低下させ治癒率が向上することが認められた。

(4) 高齢者や血小板低値例では再燃が多く、治療期間延長を考慮する必要があると考えられた。

#### E. 結論

高感度 HCVRNA 測定系である real-time PCR 法を用いることによって、陰性化時期を性格に判定し再燃予測をたてることが可能である。同じ時期に HCVRNA が陰性化していても、60 歳以上の高齢者や HCV の ISDR が野生(wild)型の場合には再燃率が高く、延長治療を考慮する必要があると考えられた。再燃の抑制には RBV の投与量を確保することが大切であり、HCVRNA 陰性化が遅延する例では 72 週間の延長投与を行うことによって再燃を減らすことが可能と考えられた。

#### 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

- 1) Asahina Y, Izumi N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Doi F, Thuchiya K, Nakanishi H, Matsunaga K, Kitamura T, Kurosaki M, Uchihara M, Higaki M, Miyake S. Pharmacokinetics and enhanced PKR response in patients with chronic hepatotos C treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin/ J Viral Hepat 2007;14,396-403. 2) 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;48:736-42..3) Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Kurosaki M, Enoto N, Tasaka M, Sakamoto N, Miyake S. Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulators involving innate immunity in antiviral response. *Gastroenterology* 2008; 134:1396-405.

## 2.学会発表

1) 黒崎雅之他,第44回日本肝臓学会総会一般演題(優秀演題)長期予後改善を目標としたB型慢性肝炎の治療:発癌リスク因子のデータマイニング解析および核酸アナログ治療効果の検討 2008. 2) 朝比奈靖浩他,第44回日本肝臓学会総会シンポジウム C型慢性肝炎に対するPEG-IFN/Ribavirin併用療法における治療成績と難治の要因の検討 2008.3) 朝比奈靖浩他,第43回日本肝臓学会総会シンポジウム C型慢性肝炎に対するPEG-IFN/Ribavirin併用療法における難治要因の検討とその対策 2007. 4) 平山慈子他. リアルタイムPCR法とアンプリコア法によるウイルス陰性化時期の差異と治療効果予測. 第44回日本肝臓学会総会一般演題. 2008.

## 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。