

概して不良であった。ETV 耐性変異に対する治療はLAM+ADV治療が最も多かったが、治療効果は概して不良であった。

C. 考察と結論

ADV・ETV 耐性変異の出現は YMDD 変異株の ETV への切替以外は比較的低率である。変異株が出現した場合の治療効果は不良であり、さらなる対策が望まれる (図 14)。

施設別登録症例

<施設名>		ETV	ADV
愛媛大学	34	22	12
大分大学	141	75	66
大阪大学	62	50	12
済生会吹田病院	33	25	8
札幌厚生病院	289	186	103
新小倉病院	31	31	0
信州大学	3	0	3
東京大学	48	48	0
東北大学	51	51	0
虎の門病院	224	13	211
福岡大学	2	2	0
藤田保健衛生大学	2	0	2

(50音順)

図 1

検討項目

B型慢性肝疾患に対するADV/ETV投与例における

1. ADV/ETV耐性変異株の出現頻度
2. 耐性株出現に関与する因子の検討
3. ADV/ETV耐性変異株に対する治療法

図 2

対象・方法

■ 対象：

1. ADV投与398例の登録のうち、解析対象343例.
2. ETV投与503例の登録のうち、解析対象427例.
(解析から除外)
 - # 治療前より変異を認めた症例
 - # データ不十分

■ 方法：

耐性変異株出現率は、Kaplan-Meier法 (log-rank test) を用いて解析

図 3

治療効果判定

<IVR>

24週時HBV-DNA4log未満

<最終治療効果判定>

- 1 : SR; HBeAg陰性, ALT正常化かつHBV-DNA陰性化
- 2 : VR, HBeAgの陰性化かつHBV-DNAの陰性化
- 3 : BR, 血清ALTのみ正常化
- 4 : NR, 1 - 3 以外

図 4

患者背景

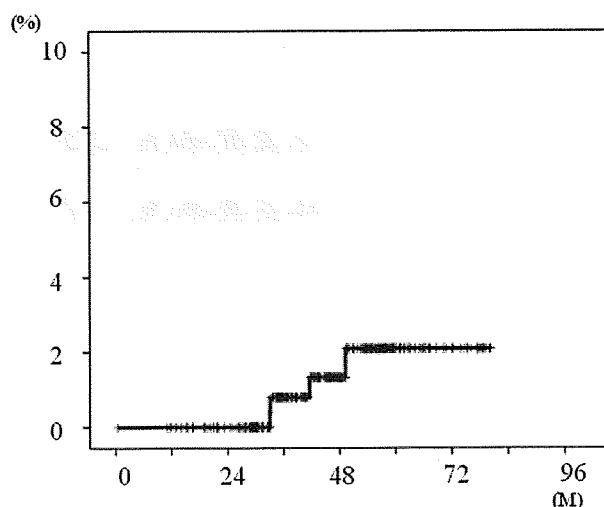
	ADV投与例 343例	ETV投与例 427例
性別 (M/F)	264/77	284/143
年齢 (歳)	50.2 ± 10.8	51.9 ± 12.1
前治療 (naive/LAM 追加・切替)	0/343	275/130
CH/LC	200/95	258/75
genotype (A/B/C)	6/15/296	11/41/247
HBeAg (+ / -)	195/142	152/254
HBV DNA median (LC/ml)	7.1 (2.6-7.6<)	6.1 (2.6-7.6<)
HBV DNA (<2.6/2.6-5/5-7.6/7.6<)	4/40/176/120	84/63/190/82
ALT (IU/l)	175 ± 220	138 ± 229
PLT (× 10 ⁴ /mm ³)	15.0 ± 11.8	16.5 ± 8.8
肝組織所見 F (0/1/2/3/4)	1/49/39/66/21	5/50/39/38/17
肝組織所見 A (0/1/2/3/4)	3/62/89/14/51	2/36/83/23/1
IVR (+ / -)	84/33	234/13
最終効果(1/2/3/4)	114/20/154/40	232/21/107/61
平均観察期間(M)	44.0 ± 15.8	26.0 ± 10.2

IVR：治療開始24週時点でHBV DNA 4 LC/ml未満

最終効果：1.HBeA g陰性でHBVDNA陰性かつALT正常 2.HBVDNA陰性 3.ALT正常 4.1,2,3以外

図 5

ADV耐性変異率(全症例)



1年変異率(%) 0

3年変異率(%) 0.6

5年変異率(%) 2.0

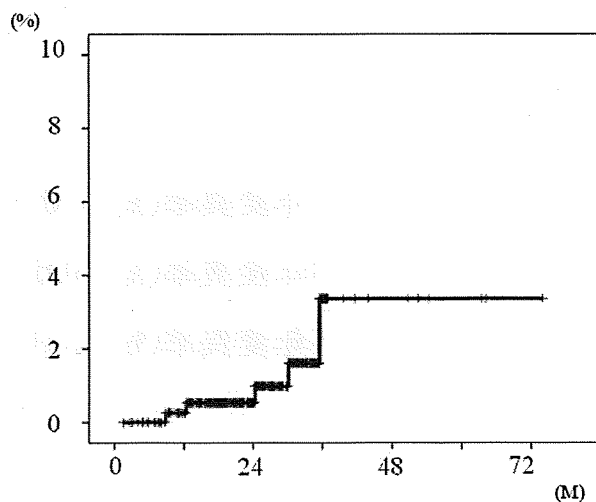
図 6

ADV耐性変異に関する因子 (単変量解析)

	耐性変異有	耐性変異無	p
	9例	334例	
性別 (M/F)	6/1	258/76	0.575
年齢 (50歳未満/以上)	3/6	150/178	0.389
CH/LC	5/2	195/93	0.830
genotype (A/B/C)	0/0/3	6/15/288	0.897
HBeAg (+ / -)	7/1	188/141	0.105
HBV DNA median (LC/ml) (<2.6/2.6-5/5-7.6/7.6<)	0/0/3/1	4/40/171/116	0.827
PLT 15未満/以上($\times 10^4/\text{mm}^3$)	5/4	190/144	0.916
F (0-2/3-4)	2/2	87/85	0.990
A (0-2/3-4)	1/1	64/151	0.497
IVR (- / +)	2/1	31/83	0.228
最終効果(1/2/3/4)	1/1/3/4	113/19/151/36	0.004

図 7

ETV耐性変異率(全症例)

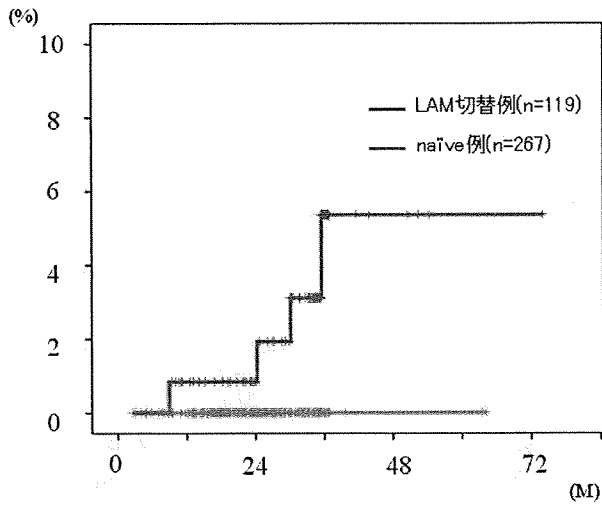


1年変異率(%) 0.5

3年変異率(%) 1.2

図 8

ETV耐性変異率<前治療別>



<LAMからの切替例>

1年変異率(%) 0.8

3年変異率(%) 3.4

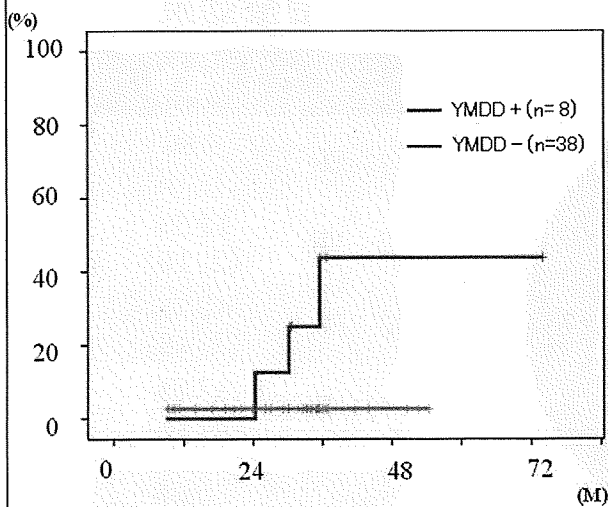
<naïve例>

1年変異率(%) 0.0

3年変異率(%) 0.0

図 9

LAMからの切替例における ETV耐性変異率<YMDD変異別>



<YMDD変異> 有 無

1年変異率(%) 0 2.6

3年変異率(%) 37.5 2.6

図 10

ETV耐性変異に関する因子 (単変量解析)

	耐性変異有	耐性変異無	p
	20例	403例	
性別 M/F	18/2	261/137	0.116
年齢 (50歳未満/以上)	15/4	149/249	0.021
前治療 naive/LAM切り替え	3/15	267/115	0.021
CH/LC	17/0	238/75	0.082
genotype (A/B/C)	3/0/16	8/39/226	0.228
HBeAg + / -	19/0	129/251	0.0001
HBV DNA median (LC/ml) (<2.6/2.6-5/5-7.6/7.6 <)	0/1/5/14	82/62/179/67	0.0001
PLT 15	7/13	187/208	0.413
肝組織所見F (0-2/3-4)	12/7	83/54	0.709
肝組織所見A (0-1/2-4)	10/8	27/95	0.080
IVR- / +	6/6	7/227	0.0001
最終効果(1/2/3/4)	1/0/14/5	228/32/91/56	0.0001

図 1 1

ADV耐性株に対する治療

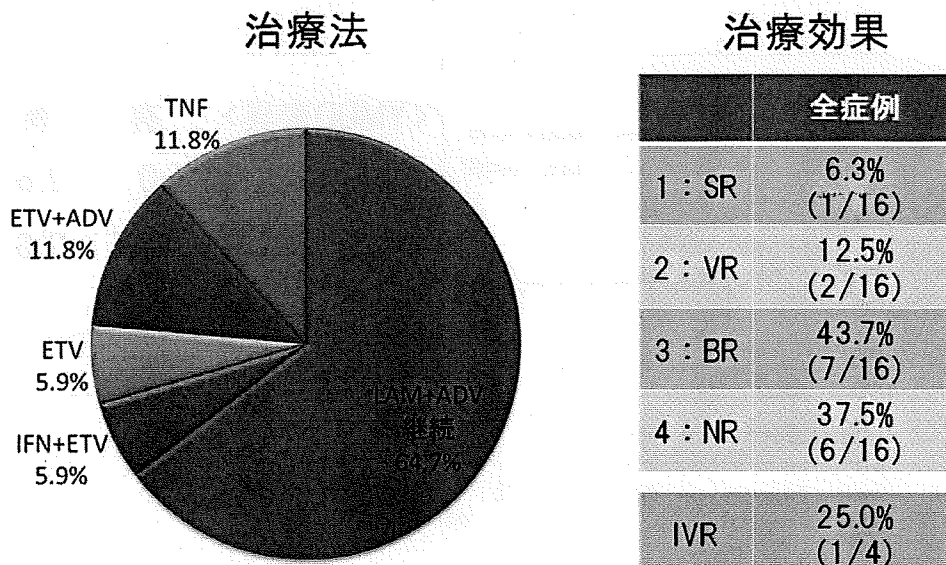


図 1 2

ETV耐性株に対する治療

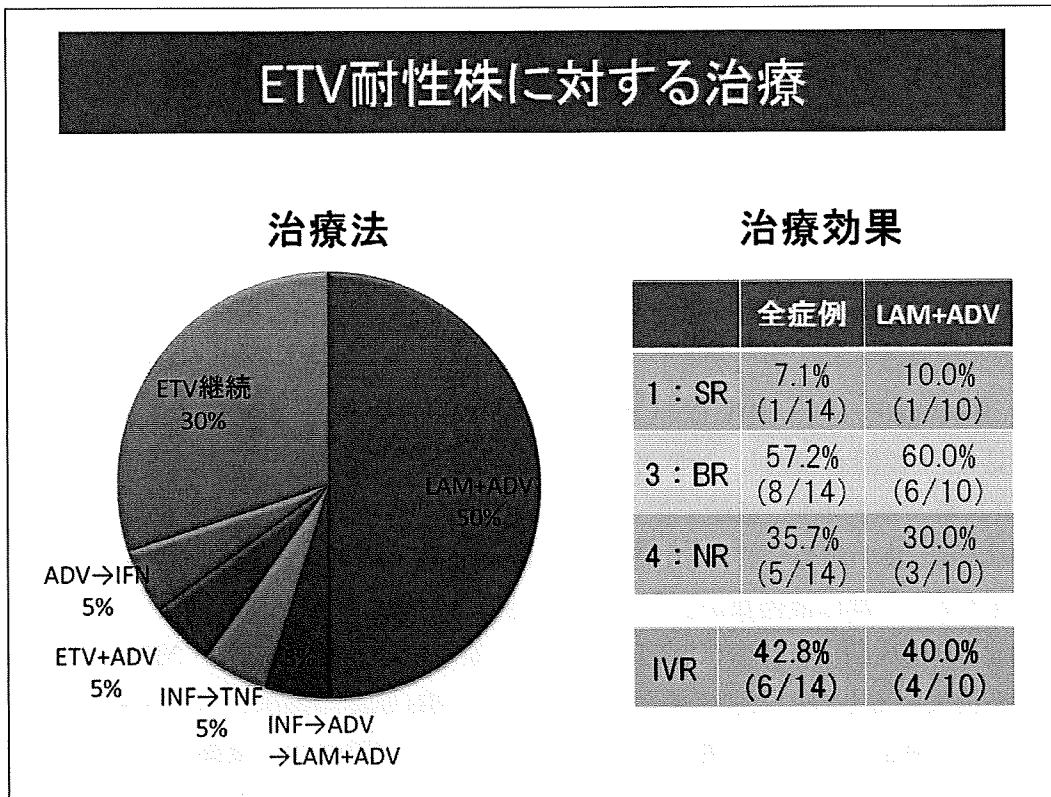


図 1 3

まとめ

- ADV投与例におけるADV耐性変異株出現率は、1年 0%、3年 0.6%、5年 2.0%であった。
- ADV耐性変異に関与する因子は最終治療効果で、HBVDNA陰性化もしくはALT正常化を認めなかった例で高率に出現した。
- ETV投与例におけるETV耐性変異株出現率は、1年 0.5%、3年 1.2%であり、LAM切替例での変異株出現率は、1年 0.8%、3年 3.4%であった。初回投与例からは耐性変異を認めなかった。
- ETV耐性変異に関与する因子は50歳未満、LAMからの切替例、HBeAg陽性、HBVDNA量が多く、IVRや最終治療効果でHBVDNA陰性化が得られない症例で高率に出現した。
- ADV/ETV耐性変異に対する治療効果は不良であり、最終治療効果判定でのHBV DNA陰性化例は1 - 2割であった。

図 1 4

厚生労働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）

共同研究報告書

抗ウイルス療法で HBs 抗原が消失した B 型慢性肝炎の背景因子の検討

研究分担者 岡上 武 大阪府済生会吹田病院 院長

研究協力者 南 祐仁先生 京都府立医科大学消化器内科 講師

研究要旨：IFN あるいは核酸アナログ製剤による抗ウイルス療法後 HBs 抗原が消失した B 型慢性肝炎に関する多施設共同試験を行った。対象は IFN 投与群 57 例、核酸アナログ群 20 群で、家族歴、年齢、性、感染経路、HBV 遺伝子型、HBV DNA 量、HBe 抗原、HBe 抗体、肝機能検査、投与期間などにつき、HBs 抗原消失との相関を検討し、 $p < 0.05$ 未満の相関を示す因子を分析し背景因子の抽出を試みた。両群比較では IFN 群で水平感染、遺伝子型 B が多く、核酸アナログ群で A が多かった。因子分析では、IFN 群は治療反応性が良い組み合わせ、治療反応性の悪い組み合わせ、遺伝子型 C の 3 因子により説明された。核酸アナログ群は症例数が少なく、治療反応性の悪い因子があるかどうかの 2 群にのみ分類された。HBs 抗原消失例は、治療に反応して消失するものと、治療に不応で肝炎が持続し長期観察後に HBs 抗原が消失するものに大別できた。IFN による HBs 抗原の消失には、治療の好反応に関連する因子、治療不応に関連する因子、遺伝子型 C の 3 因子がほぼ同程度に重要である。核酸アナログ投与による HBs 抗原消失には、治療不応因子のあるなしが重要で、遺伝子型は IFN 治療ほど重要な因子とならない。

A. 研究目的

IFN あるいは核酸アナログ製剤による抗ウイルス療法後に HBs 抗原が消失した B 型慢性肝炎において、HBs 抗原消失に関与する因子を明らかにする事を目的に多施設共同試験を行った。

B. 研究方法

対象は IFN 群 57 例、核酸アナログ群 20 群で、家族歴、年齢、性、感染経路、HBV 遺伝子型、HBV DNA 量、HBe 抗原、HBe 抗体、肝機能検査、投与期間などにつき、HBs 抗原消失との相関を検討し、 $p < 0.05$ 以上の相関を示す因子を分析し、背景因子の抽出を試みた。患者背景は表 1,2,3 に示した。

(倫理面への配慮)

Retrospective study であり、患者への事前説明や同意取得はないが、個人情報外部に漏れる可能性はゼロであり、倫理的に問題はないと判断している。

C. 研究結果

IFN 群の相関分析結果：治療前の HBe 抗原陰性と男性、水平感染、HBV DNA 低値、Alb 高値、AFP 低値が正の相関を示した。投与期間は男性、母子感染例で長かった。治療開始

時 HBV DNA 量は遺伝子型 B、Alb 高値例で少なかった。HBs 抗原消失までの期間は HBV DNA 量、Alb 低値例で短かった。治療終了時の HBe 抗原陰性化例は、女性、Alb 低値、ALT 高値、HBV DNA 高値、短い治療期間と正の相関を示した。

IFN 群の因子分析結果：17 の背景因子を説明する 3 つの因子が計算された。因子 1 は男性、水平感染、HBe 抗原陰性、Alb 高値、長い治療期間、治療開始時 HBV DNA 低値をよく反映し、比較的感染期間が短く治療を十分に行い、治療に良く反応した群を表す。因子 2 は母子感染、短期の治療期間、再治療あり、IFN 後長期経過後の HBs 抗原消失、治療終了時の HBV DNA 陽性、治療終了時の ALT 高値をよく反映し、治療は不十分で治療後長期経過した後に HBe 抗原が陰性化した群を示す。因子 3 は遺伝子型をよく反映する。因子 1,2,3 の寄与率はそれぞれ 11%,10%,10% であった。

核酸アナログ群の相関分析結果：男性と HBe 抗原陽性、HBV DNA 高値、ALT 低値が相関。開始時 HBV DNA 高値と HBe 抗原陽性が相関。遺伝子型 C と血小板数低値が相関。AFP 高値と Alb 低値が相関。HBV DNA 高値と投与期間、HBs 抗原消失までの期間が正に相関。

終了時の ALT 高値が開始時 HBV DNA 高値、長い治療期間と相関した。

核酸アナログ群の因子分析結果:16 の背景因子を説明する 2 つの因子が計算された。因子 1 は遺伝子型 C、HBe 抗原陽性、治療開始時 HBV DNA 高値、Alb 低値、治療終了時 ALT 異常値をよく反映した。因子 2 は、男性、治療開始時 Alb 高値、HBs 抗原消失までの期間、再治療あり、治療終了時の HBV DNA 高値を反映した。いずれの因子も治療不応性の因子を反映しており、治療への反応が悪くて長期経過後に HBs 抗原が消失したグループと治療への反応の良く HBs 抗原が消失したグループに大別できることを示唆した。各因子の寄与率は 10%、9%であった。

全症例の因子分析結果: 因子は長い治療期間、治療終了時の ALT 値異常、血小板数低値、男性、遺伝子型 C、治療開始時の HBV DNA 高値を良く反映し、治療不応性を示す因子と思われる。すなわち、遺伝子型 C で治療開始時に HBV DNA 高値で、血小板数が低く治療にあまり反応せずに治療終了後 HBs 抗原が消失したグループと、遺伝子型 A で治療開始時に HBV DNA 低値で治療によく反応したグループに大別される。因子の寄与率は 21%であった。

D. 考察

今回の解析は抗ウイルス療法を受け、その後 HBs 抗原が消失した B 型慢性肝炎患者を解析したもので、抗ウイルス療法を受け長期フォローしているにもかかわらず HBs 抗原が消失していない患者に関する解析は残念ながら行っていない。治療にかかわらず HBs 抗原が消失しない例がはるかに多いことから、治療による HBs 抗原消失に関連する因子の検討には、当然 HBs 抗原非消失例と消失例での比較検討が必須である。

今回 HBs 抗原例は IFN 群 57 例、核酸アナログ群 20 例と少数で、かつ上記のような制約の中での解析での結果であることを了解して頂きたい。

E. 結語

HBs 抗原の消失例は治療に反応して消失するものと、治療に不応で肝炎が持続し長期経過後に HBs 抗原が消失するものに大別できる。

IFN による HBs 抗原の消失には、治療好反応に関連する因子、治療不応に関連する因子、遺伝子型 C の 3 つがほぼ同程度に重要であったが、遺伝子型に関しては遺伝子型 C が対象症例数として圧倒的に多かったことを反映している可能性が高い。

核酸アナログによる HBs 抗原消失には、治療不応因子のあるなしが重要で、今回の解析では遺伝子型は重要な因子とならなかった。

1. 論文発表

- 1) Yasui K, Harano Y, Mitsuyoshi H, Tsuji K, Endo M, Nakajima T, Minami M, Itoh Y, Zen Y, Nakanuma Y, Yoshikawa T, Okanoue T. Steatosis and hepatic expression of genes regulating lipid metabolism in Japanese patients infected with hepatitis C virus. *J Gastroenterol in press*
- 2) Park H, Ishigami A, Shima T, Mizuno M, Maruyama N, Yamaguchi K, Mitsuyoshi H, Minami M, Yasui K, Itoh Y, Yoshikawa T, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, Ohta M, Obayashi H, Okanoue T. Hepatic senescence marker protein-30 is involved in the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol in press*
- 3) Okanoue T, Itoh Y, Hashimoto H, Yasui K, Minami M, Takehara T, Tanaka E, Onji M, Toyota J, Chayama K, Yoshioka K, Izumi N, Akuta N, Kumada H. Predictive value of amino acid sequences of the core and NS5A regions in antiviral therapy for hepatitis C: a Japanese multi-center study. *J Gastroenterol* 44: 952-963, 2009
- 4) Gen Y, Yasui K, Zen K, Nakajima T, Tsuji K, Endo M, Mitsuyoshi H, Minami M, Itoh Y, Tanaka S, Taniwaki M, Arii S, Okanoue T, Yoshikawa T. A novel amplification target, ARHGAP5, promotes cell spreading and migration by negatively regulating RhoA in Huh-7 hepatocellular carcinoma cells. *Cancer lett* 275: 27-34, 2009
- 5) Matsuura K, Tanaka Y, Hige S, Yamada G, Murawaki Y, Komatsu M, Kuramitsu T, Kawata S, Tanaka E, Izumi N, Okuse C, Kakumu S, Okanoue T, Hino K, Hiasa Y, Sata M, Maeshiro T, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Miyakawa Y, Mizokami M. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection in Japan shifting toward an increase of genotype

- A. J Clin Microbiol. 47: 1476-1483, 2009
- 6) Kobashi H, Fujioka S, Kawaguchi M, Kumada H, Yokosuka O, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Sata M, Tsubouchi H, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Seriu T, Ishikawa H, Takaki A, Iwasaki Y, Osawa T, Takaki T, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K, Tenney DJ, Omata M. Two cases of development of entecavir resistance during entecavir treatment for nucleoside-naive chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 3: 403-410, 2009
 - 7) Nishikawa T, Nakajima T, Katagishi T, Okada Y, Jo M, Kagawa K, Okanoue T, Itoh Y, Yoshikawa T. Oxidative stress may enhance the malignant potential of human hepatocellular carcinoma by telomerase activation. *Liver Int* 29: 846-856, 2009
 - 8) Shindo M, Chayama K, Mochida S, Toyota J, Tomita E, Kumada H, Yokosuka O, Sata M, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Tsubouchi H, Kobashi H, Fujioka S, Kawaguchi M, Kumada H, Yokosuka O, Hayashi N, Suzuki K, Okanoue T, Sata M, Tsubouchi H, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Seriu T, Ishikawa H, Takaki A, Iwasaki Y, Osawa T, Takaki T, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K, Tenney DJ, Omata M. Antiviral activity, dose-response relationship, and safety of entecavir following 24-week oral dosing in nucleoside-naive Japanese adult patients with chronic hepatitis B: a randomized, double-blind, phase II clinical trial. *Hepatol Int* 3: 445-452, 2009
 - 9) 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 count. *Hepatol Res* 38: 27-36, 2008
 - 10) Hiramatsu N, Kurashige N, Oze T, Takeraha T, Tamura S, Kasaraha A, Oshita M, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Kato M, Kawata S, Tsubouchi 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
 - 11) Mitsuyoshi H, Itoh Y, Sumida Y, Minami M, Yasui K, Nakashima T, Okanoue T. Evidence of oxidative stress as a cofactor in the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 38:348-353,2008
 - 12) Umemura A, Itoh Y, Itoh Y, Yamaguchi K, Nakajima T, Higashitsuji H, Onoue H, Fukumoto M, Okanoue T, Fujita J. Association of gankyrin protein expression with early clinical stages and insulin-like growth factor-binding protein 5 expression in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 47: 493-502, 2008
 - 13) Zen K, Yasui K, Nakajima T, Zen Y, Zen K, Gen Y, Mitsuyoshi H, Minami M, Mitsufuji S, Tanaka S, Itoh Y, Nakamura Y, Taniwaki M, Arii S, Okanoue T, Yoshikawa T. ERK5 is a target for gene amplification at 17p11 and promotes cell growth in hepatocellular carcinoma by regulation mitotic entry. *Genes Chromosomes Cancer* 48: 109-120, 2008
 - 14) Miyagawa M, Minami M, Fujii K, Sendo R, Mori K, Shimizu D, Nakajima T, Yasui K, Itoh Y, Taniwaki M, Okanoue T, Yoshikawa T. Molecular characterization of a variant virus that caused de novo hepatitis B without elevation of hepatitis B surface antigen after chemotherapy with rituximab. *J Med Virol* 80: 2069-2078, 2008

2. 学会発表

1) Okanoue T, Itoh Y, Tanaka E, Yoshioka K, Izumi N, Kumada H. Insulin Resistance and Amino Acid Substitution of HCV Core Amino Acid 70 are Important Factors of Non-Response in Peginterferon Alfa-2b Plus Ribavirin in Chronic Hepatitis C with Genotype 1b. 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2009 Nov 2; Boston, USA

2) Okanoue T, Park H, Toshihide Shima, Mizuno M, Umemura A, Nakayama M, Ishigami A, Ohta M, Maruyama N, Obayashi H. Senescence Marker Protein-30 is Involved in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and It Might Become a Potential Marker for Diagnosis and Staging of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2009 Nov 2; Boston, USA

3) Umemura A, Park Y, Nakayama M, Nakajima Y, Mori H, Mizuno M, Hsima T, Okanoue T. Clinico-pathological analysis of liver injury in 2045 Japanese type 2 Diabetes mellitus patients in one big diabetic clinic. 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2009 Nov 2; Boston, USA

4) Hashimoto H, Itoh Y, Nishimura K, Minami M, Yasui K, Mitsuyoshi H, Yamaguchi K, Iwai M, Okanoue T, Yoshikawa T. Rapid prediction of non-virological response to PEG-IFN α 2b/RIB combination therapy for chronic hepatitis C by combination of HCV dynamics and amino acid substitutions in the core region. 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2009 Nov 2; Boston, USA

5) Yamaguchi K, Itoh Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Blockade of interleukin 6 trans-signaling enhanced hepatic steatosis but improved liver injury in methionine choline deficiency mice. 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2009 Nov 3; Boston, USA

表 1. インターフェロン群 (n=57)

	m±SD	range
性別(男:女)	54:3	
年齢	42±11	23-66 歳
ジェノタイプ(A:B:C)	5:7:45	
家族歴(母 : その他 : なし)	12:15:30	
HBe 抗原(陽性:陰性)	25:32	
投与期間(週)	93±156	4-980 週
開始時 の HBV DNA 量	6.6±1.6	1.7-9logIU/ml
開始時 の ALT 値	135±153	20-753 IU/ml
開始時 の血小板数	17.3±4.7	5.9-31.1 × 10 ⁴ /ml ³
開始時 のアルブミン値	4.1±0.4	2.9-4.9 g/dl
治療終了から HBs 抗原 陰性化 までの期間(週)	264±254	0-895 週

表 2. 核酸アナログ群 (n=20)

	m±SD	range
性別(男:女)	17:3	
年齢	44±13	23-67 歳
ジェノタイプ(A:C:その他)	6:12:2	
家族歴(母 : その他 : なし)	7:12:1	
HBe 抗原(陽性:陰性)	9:11	
投与期間(週)	223±199	1-724 週
開始時 の HBV DNA 量	6.2±2.3	2.5-8.8logIU/ml
開始時 の ALT 値	479±690	9-2875 IU/ml
開始時 の血小板数	19.6±35.1	9.4-32.0 × 10 ⁴ /ml ³
開始時 のアルブミン値	3.9±0.5	2.7-4.7 g/dl
治療終了から HBs 抗原陰性化 までの期間(週)	209±191	0-679 (週)

表 3. 両者の比較

	IFN	核酸アナログ	
	n=57	n=20	
性別(男:女)	54:3	17:3	NS
年齢	42±11	44±13	NS
ジェノタイプ(A:B:C,その他)	5:7:45:0	6:0:12:2	p<0.01
家族歴 (母: その他 : なし)	12:15:30	7:12:1	p<0.001
HBe 抗原(陽性:陰性)	25:32	9:11	NS
投与期間(週)	93±156	223±199	p<0.001
開始時 の HBV DNA 量	6.6±1.6	6.2±2.3	NS
開始時 の ALT 値	135±153	479±690	p<0.05
開始時 の血小板数	17.3±4.7	19.6±35.1	NS
開始時 のアルブミン値	4.1±0.4	3.9±0.5	NS

厚生労働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）

共同研究報告書

HCV ジェノタイプ 2 のインターフェロン+リバビリン併用無効例の遺伝子変異を含めた検討

研究分担者 向坂彰太郎 福岡大学医学部消化器内科教授

ジェノタイプ 2 型の C 型肝炎に対するインターフェロン+リバビリンの治療効果に HCV コア領域アミノ酸 4 番変異が影響するかどうかを検証した。対象は、ジェノタイプ 2 型、高ウイルス量の C 型肝炎患者に、ペグインターフェロン α -2b+リバビリン併用療法を 24 週施行された 396 例（男性 193、女性 203、平均年齢 51.3 ± 13.0 ）である。治療後 HCV 持続陰性（sustained virological response : SVR）は全体で 81.1%、男性 83.9%、女性 77.9%であり、ジェノタイプ 2a の SVR は 82.6%、2b は 73.5%であった。治療開始 4 週以内に血清 HCV RNA の陰性化が得られた RVR（rapid virological response）例の SVR は 89.8%と高率であった。HCV コア領域アミノ酸 4 番が N（アスパラギン）をワイルドタイプとし、N 以外をミュータントと定義し、194 例で検討した。ワイルドタイプの SVR は 72.1%、ミュータントタイプの SVR は 81.8%であった。ジェノタイプ 2a 型の RVR 症例のみでの検討では、HCV コア領域アミノ酸 4 番がミュータントタイプでは、ワイルドタイプに比較して、有意に SVR が高かった（ $p < 0.05$ ）。Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析では、ジェノタイプ 2 型、高ウイルス量の C 型肝炎治療におけるペグインターフェロン α -2b+リバビリン併用療法の SVR に寄与する因子は RVR であった（オッズ比 3.224、95%CI 1.279-8.600、 $p = 0.0151$ ）。この対象群の RVR に最も寄与する因子を多変量解析すると HCV コア領域アミノ酸 4 番のミュータントであった（オッズ比 3.362、95%CI 1.109-10.357、 $p = 0.0309$ ）。HCV コア領域アミノ酸 4 番のワイルドタイプが 2 型の難治例である可能性が強く示唆された。

共同研究者

愛媛大学第 3 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
鹿児島大学消化器内科 桶谷真
札幌厚生病院肝臓科 豊田成司
新小倉病院肝臓病センター 野村秀幸
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
虎の門病院肝臓センター 熊田博光
藤田保健衛生大学消化器内科 吉岡健太郎
福岡大学医学部消化器内科 釈迦堂敏

A. 研究目的

ジェノタイプ 2 型の C 型慢性肝炎に対するインターフェロン+リバビリン併用療法では、治療完遂例においては高率にウイルス駆除が可能である。しかしながら、ジェノタイプ 2 型であっても、インターフェロン治療後に再燃する症例は 10-20%存在する。ジェノタイプ 2 型の難治の要因を明らかにすることで、無駄なインターフェロン治療を回避できる可能性がある。また、2 型に対しては通常は 24 週治療を行うが、難治群には延長投与が有用な可能性もある。我々ならびに虎ノ門病院より、ジェノタイプ 2 型では、C 型肝炎ウイルス（HCV）のコア領域アミノ酸 4 番の変異が治療効果に影響を与えることが報告されている（Akuta N et.al.

Intervirolgy 2009;52(6):301-309)。そこで、厚生労働省共同研究「肝硬変を含むウイルス性肝炎の治療の標準化研究班」の多施設共同研究として、ジェノタイプ2型のC型肝炎に対するインターフェロン+リバビリン治療症例の治療効果にHCVコア領域アミノ酸4番の変異が影響するかどうかを検証した。

B. 研究方法

共同研究施設より提供された、ジェノタイプ2型に対するインターフェロン+リバビリン併用療法の登録症例において、治療後HCV持続陰性(sustained virological response: SVR)に寄与する治療前因子について多変量解析した。次に、既報のようにHCVコア領域アミノ酸4番がN(アスパラギン)をワイルドタイプとし、N以外をミュータントと定義した。このHCVコア領域アミノ酸4番のワイルドとミュータントがSVRに影響を及ぼすかどうか検討した。

C. 研究結果

共同研究施設より提供された登録症例は618例であった。このうち、治療効果を判定できた症例は567例であった。治療薬剤のうちわけは、インターフェロン α -2b+リバビリンが58例、ペグインターフェロン α -2b+リバビリンが506例、ペグインターフェロン α -2a+リバビリンが2例、インターフェロン β が1例であった。治療期間は4週から70週、平均24.2週 \pm 5.9週であった。この567例全体のSVRは442例(78.0%)であった。ジェノタイプが判明している症例では、ジェノタイプ2aのSVRは180/228(79.0%)、ジェノタイプ2bのSVRは55/74(74.3%)であった。

最も症例数の多かったペグインターフェロン α -2b+リバビリン治療症例のうち、2型であっても難治と考えられる高ウイルス量の症例を検討対象とした。治療期間は24週 \pm 1週(23週-25週)を標準治療期間とし、この期間で治療が行われた症例のみを対象症例として解析を行った。このため、最終的に、本研究の解析対象症例は396例となった。表

1に396例の患者背景を示す。男性193例、女性203例、平均年齢は51.3 \pm 13.0歳であった。SVRは全体で81.1%、男性83.9%、女性77.9%と男性が高い傾向であったが統計学的有意差は無かった(図1)。ジェノタイプ測定症例では、ジェノタイプ2aのSVRは82.6%、2bのSVRは73.5%であった。ジェノタイプ2aのSVRが高い傾向にあったが、統計学的有意差は無かった。肝生検が施行された症例において、肝線維化別のSVRをみると、線維化が進展するにしたがってSVRは低下していった(図2)。治療開始後の血清HCV RNA陰性化時期をSVR群と非SVR群で比較した(図3)。SVR群では、非SVR群より早期に血清HCV RNAの陰性化が得られた。ウイルス陰性化時期別の治療効果をみると、治療開始4週以内に血清HCV RNAの陰性化が得られたRVR(rapid virological response)例のSVRは89.8%と高率であった。しかし、治療後9週以後に血清HCV RNAが陰性化した症例のSVRは極めて低率であった(図4)。比較のために、今回の共同研究に登録された症例の中で、25週を超えて治療が行われた延長投与群における、ウイルス陰性化時期別のSVR率を示す(図4)。延長投与期間は30-48週であった。9週以降に血清HCV RNAが陰性化した群では、通常の24週治療群に比較して、有意差はないものの延長投与群で高いSVRが得られた。

SVRに寄与する因子の検討では、慢性肝炎>肝硬変、インターフェロン治療歴なし>治療歴有り、年齢が低い、血小板数が高い、血清ALT値が高い、血清アルブミン値が高い、TaqMan法でのHCV RNA量が低い、リバビリン adherenceが高い、治療開始4週以内に血清HCV RNA陰性化が得られた症例(RVR)で有意にSVRが高かった(表2)。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析を行うと、SVRに寄与する因子はRVRであった(オッズ比3.224、95%CI 1.279-8.600、 $p=0.0151$) (表3)。

次に、HCVコア領域アミノ酸の変異とSVRの検討を行った。HCVコア領域アミノ酸4番測定症例は194例であった。HCVコア領域アミノ酸4番のワイルドタイプのSVRは72.1%、ミュータントタイプのSVR

は 81.8%であり、ミュータントタイプで SVR が高かったが、統計学的有意差は認めなかった。ジェノタイプ別の検討では、ジェノタイプ 2a では、HCV コア領域アミノ酸 4 番ミュータント群で高い SVR (87.5%) が得られたが、統計学的有意差は無かった (図 5)。しかし、ジェノタイプ 2a 型の RVR 症例のみでの検討では、HCV コア領域アミノ酸 4 番ミュータントタイプでは、ワイルドタイプに比較して、有意に SVR が高かった ($p < 0.05$) (図 6)。多変量解析では、HCV コア領域アミノ酸 4 番の変異の有無は SVR に寄与する因子としては抽出されなかった。ジェノタイプ 2 型、高ウイルス量の C 型肝炎治療におけるペグインターフェロン α -2b+リバビリン併用療法の SVR に寄与する因子は RVR であることから、この対象群において、RVR に最も寄与する因子を多変量解析すると、HCV コア領域アミノ酸 4 番ミュータントのみが抽出された (オッズ比 3.362、95%CI 1.109-10.357、 $p = 0.0309$) (表 4)。

D. 考察

C 型肝炎患者はインターフェロン治療で HCV が駆除できれば、肝硬変への進展阻止、肝関連死亡の減少、さらには肝癌発症抑制も期待できる。難治群であるジェノタイプ 1 型かつ高ウイルス量症例では、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法により約 50%が治癒可能となった。一方、ジェノタイプ 2 型においては、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法により 80%以上が治癒可能となってきた。しかしながら、ジェノタイプ 2 型であっても、再燃例や無効例は存在する。本邦における肝癌死亡を減少させるためにはジェノタイプ 2 型においても、さらなる治療効果の向上が望まれる。今回の多数例の共同研究では、ジェノタイプ 2 型に対するペグインターフェロン+リバビリン治療の治療効果は、これまでに報告されているように良好であった (SVR 81.1%)。ジェノタイプ 2a と 2b の治療効果も、両群間に差はなかった。ジェノタイプ 2b 型では 2a に比較して、治療効果が低いという報告もあったが、ペグインターフェロン+リバビリン併

用療法では、両ジェノタイプとも良好な治療効果が得られることが明らかとなった。単変量解析では、SVR に寄与する因子が多数抽出されたが、それは、ジェノタイプ 1 型の治療効果に影響を及ぼす因子と類似していた。したがって、ジェノタイプ 2 型であっても、1 型と同様に、若年で肝線維化進展が軽度のうちに治療を行うほうが、より高い治療効果が期待できると考えられた。TaqMan PCR 法による治療前 HCV RNA 量が、治療効果に影響を及ぼすことも明らかとなった。すなわち、HCV RNA 量が低いほど高い SVR が得られる。したがって、ウイルス量高値も 2 型の難治の要因であると考えられた。

2 型、高ウイルス量の C 型肝炎治療では、RVR が最も強い SVR 予測因子であり、RVR が得られない症例が難治であることが明らかとなった。一方、今回の共同研究の登録症例の中には、24 週の標準治療期間を超えた治療期間延長投与の症例が含まれていた。症例数が少ないため、有意差は得られなかったが、治療開始 9 週目以後に血清 HCV RNA が陰性化した症例では、延長投与により高い SVR が得られた。したがって、2 型のインターフェロン治療反応遅延例では、1 型と同様に治療期間を延長することで高い SVR が得られる可能性が示唆された。

ジェノタイプ 2 型では、HCV コア領域アミノ酸 4 番に変異があると、高い SVR が得られると報告されており、HCV コア領域アミノ酸 4 番のワイルドタイプが難治例である可能性が考えられている。今回の共同研究では、2 型全体の検討では、コア領域アミノ酸 4 番の変異は SVR には寄与していなかった。しかし、ジェノタイプ 2a かつインターフェロン治療で RVR が得られた、比較的治癒しやすいと考えられる症例群においては、HCV コア領域アミノ酸 4 番変異が SVR に寄与するという結果が得られた。また、本領域の測定可能施設においても、全症例のコア領域アミノ酸変異が解析されたものではなかった。HCV コア領域のアミノ酸変異測定検査が保険適応になっていないため、2 型であっても難治と考えられる症例に対してのみ、コア領域アミノ酸変異検査が行われた可能性がある。したがって、共同研究の

対象症例の患者背景には、大きなバイアスがかかっていることも充分考えられる。しかしながら、今回の検討では、HCV コア領域アミノ酸4番のミュータントはSVRには寄与しないが、RVRに最も寄与する因子であった。したがって、HCV コア領域アミノ酸4番のワイルドタイプが2型の難治例である可能性が強く示唆された。

E. 結論

①、ジェノタイプ2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 α -2b+リバビリン併用療法の治療効果（SVR）に寄与する最も強い因子は、治療開始4週以内の血清HCV RNA陰性化（RVR）である。

②、2型、高ウイルス量の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RVRに最も強く寄与する因子は、HCV コア領域アミノ酸4番の変異である。

③、HCV コア領域アミノ酸4番の変異は、ジェノタイプ2型の難治例である可能性が強く示唆された。

F. 研究発表

論文発表

1、釈迦堂敏、向坂彰太郎：合併症のある症例 5-3 循環器疾患

そこが知りたいC型肝炎のベスト治療 インターフェロンを中心に

p 92-93；医学書院 2009年1月15日、編集：銭谷幹男、八橋弘、柴田実

2、免疫抑制・化学療法によるB型肝炎ウイルス再活性化とその対策

早田哲郎、西澤新也、森原大輔、横山圭二、櫻井邦俊、上田秀一、坂本雅晴、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、釈迦堂敏、佐々木秀法、高松泰、向坂彰太郎

福岡大学医学紀要 第36巻第4号 平成21年12月

学会発表

1、潜在性HBV感染を伴うC型肝炎患者のHCV遺伝子置換とSVR率の解析

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

第95回日本消化器病学会総会 2009/5/7-5/9 札幌

2、B型慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療とその耐性出現の検討

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

第45回日本肝臓学会総会 2009/6/4-6/5 神戸

3、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法のインターフェロン網膜症に関する検討

西澤新也、釈迦堂敏、森原大輔、櫻井邦俊、田中崇、猪俣慎二郎、上田秀一、横山圭二、坂本雅晴、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、早田哲郎、内尾英一、向坂彰太郎

第45回日本肝臓学会総会 2009/6/4-6/5 神戸

4、肝硬変合併肝癌患者に対する経皮的ラジオ波焼灼術後のBCAA含有経腸栄養剤は有意にアルブミン値を改善する（無作為化試験の検討）

森原大輔、岩田郁、花野貴幸、櫻井邦俊、田中崇、上田秀一、猪俣慎二郎、横山圭二、西澤新也、坂本雅晴、阿南章、竹山康章、入江真、釈迦堂敏、早田哲郎、向坂彰太郎

第45回日本肝臓学会総会 2009/6/4-6/5 神戸

5、肝硬変症例に対する瀉血療法の有用性と位置づけ

櫻井邦俊、早田哲郎、岩田郁、上田秀一、平野玄竜、田中崇、横山圭二、森原大輔、西澤新也、坂本雅晴、阿南章、竹山康章、入江真、釈迦堂敏、向坂彰太郎
第45回日本肝臓学会総会 2009/6/4-6/5 神戸

6、ワークショップ2 慢性肝疾患に対する最新の治療

核酸アナログ治療後3年以上経過した症例の解析
积迦堂敏、櫻井邦俊、猪俣慎二郎、上田秀一、森原大輔、横山圭二、西澤新也、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、坂本雅晴、早田哲郎、向坂彰太郎
第93回日本消化病学会九州支部例会
2009/6/19-6/20 福岡市

7、慢性肝疾患における鉄過剰は血清AFP値を上昇させる

早田哲郎、上田秀一、岩田郁、櫻井邦俊、平野玄竜、田中崇、横山圭二、森原大輔、西澤新也、坂本雅晴、阿南章、竹山康章、入江真、积迦堂敏、向坂彰太郎
JDDW2009 第13回日本肝臓学会大会
2009/10/14-16 京都

8、ワークショップ2 ウイルス性肝炎に対する最新の治療

B型肝炎硬変症例への各種核酸アナログ製剤使用中の発癌例の検討

积迦堂敏、向坂彰太郎、熊田博光

第94回日本消化器病学会九州支部例会
2009/11/27-28 熊本

G. 知的所有権の取得状況

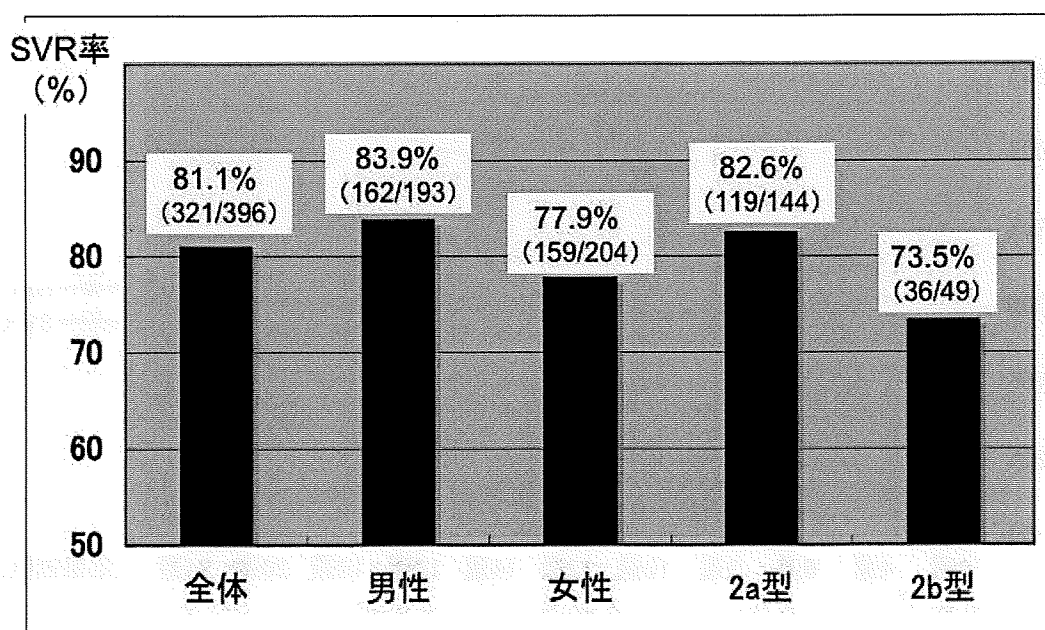
1. 特許取得

今回の研究内容については特になし。

表 1
 ジェノタイプ2型、高ウイルス量のC型肝炎に対する
 ペグインターフェロン α2b + リバビリン併用療法396例の患者背景

男性:女性	193:203	
慢性肝炎:肝硬変	352:17	
ジェノタイプ2a:2b	144(75%):48(25%)	
平均年齢(歳)	51.3±13.0	(18-78)
平均BMI (Kg/m ²)	24.3±4.4	(16.3-47.5)
ALT (IU/l)	88.0±86.8	(8-701)
血小板数 (x10 ⁴ /mm ³)	18.4±5.6	(5.3-41.5)
HCV RNA量		
Amp (KIU/ml)	1667.8±1429.5	(100-7500)
TaqMan (logIU/ml)	6.2±0.6	(5.0-7.4)
治療期間(週)	24.0±0.3	(23~25)
Null responder	22(5.5%)	

図 1
 ジェノタイプ2型、高ウイルス量のC型肝炎に対する、ペグインターフェロン +
 リバビリン併用24週治療における治療効果 (n=396)



SVR: sustained virological response