

201030015A

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）

C型肝炎における新規治療法に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鈴木 文孝

平成23（2011）年3月

C型肝炎における新規治療法に関する研究

班員名簿

代表	鈴木文孝	国家公務員共済組合連合会 虎の門病院肝臓センター	医長
分担	豊田成司	J A北海道厚生連札幌厚生病院	院長
〃	考藤達哉	大阪大学大学院医学系研究科樹状細胞制御治療学	准教授
〃	朝比奈靖浩	武蔵野赤十字病院消化器科	部長
〃	森屋恭爾	東京大学医学部附属病院感染制御部	教授
〃	坂本 穰	山梨大学医学部附属病院肝疾患センター	センター長
〃	酒井明人	金沢大学付属病院消化器内科学	准教授
〃	谷口雅彦	旭川医科大学外科学講座消化器病態外科学	講師
〃	梅村武司	信州大学医学部消化器内科学	講師
〃	今村道雄	広島大学病院 消化器・代謝内科	助教
〃	瀬崎ひとみ	国家公務員共済組合連合会 虎の門病院肝臓センター	医員
協力者	井上和明	昭和大学消化器内科	准教授
〃	岩崎良章	岡山大学保健管理センター	准教授
〃	斉藤 聡	横浜市立大学大学院医学研究科 分子消化管内科	准教授

[事務局]

虎の門病院 肝臓研究室

〒213-8587 神奈川県川崎市高津区梶ヶ谷1-3-1

TEL: 044-857-9333

FAX: 044-860-1623

目 次

I. 総括研究報告

- C 型肝炎における新規治療法に関する研究 1
鈴木 文孝

II. 分担研究報告

1. PEG / RBV / Telaprevir 三剤併用療法の抗ウイルス効果17
豊田 成人
2. C 型慢性肝炎の新規治療法の治療成績22
瀬崎ひとみ
3. 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
併用療法におけるテプレノン併用に関する研究28
岩崎 良章
4. マウスモデルを用いた C 型肝炎に対する新規治療法に関する研究30
今村 道雄
5. Statin による HCV 脂質代謝異常の改善に関する研究32
森屋 恭爾
6. HCV レプリコン細胞をつかった CETP、HTGL の解析34
斉藤 聡
7. C 型慢性肝炎に対する抗ウイルス治療における免疫細胞機能に関する研究38
考藤 達哉
8. C 型肝炎における新規治療法に関する研究41
朝比奈靖浩
9. ウイルス変異と宿主因子から見た C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN+RBV 療法と
NS3 protease 阻害剤を含めた新規治療法の検討44
坂本 穰
10. C 型慢性肝炎における PEG-IFN/RBV 併用療法の治療効果とサイトカインの関連51
梅村 武司
11. サイクロフィリンインヒビターを用いた慢性 C 型肝炎治療に関する研究54
井上 和明
12. 二重濾過血漿交換療法 (DFPP) 併用 Peg-IFN・Ribavirin 併用療法の現況56
酒井 明人
13. 肝移植症例における抗 HCV 治療抵抗因子の解明—オーダーメイド治療の
確立に向けて61
谷口 雅彦

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	65
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷	81

I. 総括研究報告

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）

総括研究報告書

C型肝炎における新規治療法に関する研究

主任研究者 鈴木文孝 国家公務員共済組合連合会虎の門病院 肝臓センター 医長

研究要旨：C型慢性肝炎の genotype1 型、高ウイルス量の症例では持続型インターフェロン(PEG-IFN)とリバビリン (RBV) 併用療法が施行されているが、現在の完全著効(SVR)率は約 40-50%であり、十分な効果が得られていない。特に 50 歳以上の女性での効果は 20-30%と低率である。このため新規治療薬や治療法の開発がなされてきているが、日本での治療成績は明らかになっていない。C型肝炎に対する新規治療薬、治療法の効果と効果予測因子について基礎的、臨床的に研究を行い、臨床的に有用な新規治療薬、治療法の確立を目指すことが目的である。

現在最も治験が進行している新規治療薬はTelaprevir (MP-424)である。TelaprevirとPEG-IFN+RBV併用療法12週間投与(T12PR12)を施行した20例と24週間投与(T12PR24)を施行した61例の治療成績と効果に関係する生体側およびウイルス側因子について検討した。T12PR24のSVR率は、naïve 76%、relapser 90%、PEG-IFN/RBVの無効例27%であった。治療効果に関係する因子を多変量解析にて検討すると、*IL28B*のSNP(rs8099917)とHCV Core領域の70番目のアミノ酸置換の有無が重要な因子であった。また*ITPA* geneのSNP(rs1127354)は、投与初期(2、4週目)のHb値の低下に関係していた。PEG-IFN+RBVとNS5A阻害剤の3者併用療法の治験(第Ⅱ相試験)も行われている。Naïve例のNS5A 60mg群では、24週目投与終了時4例中4例(100%)、投与終了12週目でも、4例中4例(100%)でHCV RNAの陰性化が得られている。前治療無効例のNS5A 60mg群では、24週目の投与終了時3例中2例(67%)、投与終了12週目では、4例中2例(50%)でRNAの陰性化が得られている。またTelaprevir24週間単独投与したGenotype 1b型、ウイルス量3.9 Log IU/mLの症例でSVRが得られ、治療効果に関係するNS3領域の遺伝子配列を明らかにした。しかし内服薬単剤では効果が低いためプロテアーゼ阻害剤(BMS-650032)+NS5A阻害剤(BMS-790052)併用療法(内服薬2剤;24週間投与)の治験が日本にて開始されている。前治療無効例での24週間投与終了時および終了後8週目の時点では9例中9例(100%)でHCV RNAの陰性化が得られている。PEG-IFN+RBV(SOC)不適格未治療/不耐用例においても投与12週目5例中5例(100%)で陰性化が得られているため、今後の治療成績に期待がもたれる。PEG-IFN+RBV+Fluvastatin併用療法48週間投与を施行した21例のSVR率は、67%と高率であり、さらに高齢女性でもSVR率の上昇(40%)が認められた。さらに72週間投与例でのSVR率は全例で68%、50歳以上の女性で71%と高く、Fluvastatinの併用療法は治療効果を改善していた。また現在PEG-IFN+RBV+Teprenone併用療法や二重濾過血漿交換療法(DFPP)併用PEG-IFN+RBV併用療法などの新規治療法が施行中であり、これらの治療効果も期待されている。さらに肝移植症例に対する新規治療薬の効果も効果に関係する因子を含め検討中である。一方基礎的検討としてTelaprevir投与での生体側反応として宿主遺伝子の発現増強が認められた。またC型肝炎ウイルスの感染培養系や感染マウスを用いた研究の新規治療薬の基礎的検討からstatin製剤の抗HCV増殖抑制作用が明らかになった。さらにHCV感染マウスを用いてプロテアーゼ阻害剤とポリメラーゼ阻害剤の併用投与を行うとHCVの消失が得られ、内服2剤による治療法の基礎データとして有用な結果であった。日本ではC型肝炎患者

の高齢化が進んでおり、また合併症のある症例も多いため IFN を使用できない患者さんが増加している。したがって将来的には内服薬のみで効果の高い治療法が求められており、現時点で高い治療効果が期待されている。今後はこれら新規薬剤の治療の効果と効果に関係する因子や安全性を明らかにしていく必要がある。

A. 研究目的

C型慢性肝炎の genotype1 型、高ウイルス量症例では持続型インターフェロン (PEG-IFN) とリバビリン (RBV) 併用療法が施行されているが、現在の完全著効 (SVR) 率は約 40-50% であり、十分な効果が得られていない。特に 50 歳以上の女性での効果は 20-30% と低率である。このため新規治療薬 (プロテアーゼ阻害剤、NS5A 阻害剤など) や治療法 (Fluvastatin+PEG-IFN+RBV など) の開発がなされてきているが、本邦での治療成績は明らかになっていない。また C 型肝炎による肝移植後症例に対する効果的な治療法が確立されていない。このような背景から C 型肝炎に対する新規治療薬、治療法の効果と効果予測因子について基礎的、臨床的に研究を行い、臨床的に有用な新規治療薬、治療法の確立を目指すことが目的である。

B. 研究方法

(1) PEG-IFN+RBV+Telaprevir 併用療法

Genotype 1 型、高ウイルス量症例に対する PEG-IFN+RBV+Telaprevir (MP-424) 併用療法 (12 週および 24 週間投与) の治療成績と効果に関係する生体側因子、ウイルス側因子を検討した。

(2) PEG-IFN+RBV+NS5A 阻害剤併用療法

Genotype 1 型、高ウイルス量症例の naive 例と NVR (前治療 PEG-IFN+RBV 併用療法無効例 ; null responder) 例に対する PEG-IFN+RBV+NS5A (BMS790052) 阻害剤併用療法 (24 週) の治療成績について検討した。

(3) プロテアーゼ阻害剤である Telaprevir (MP-424) 単独療法

Telaprevir の単独 12 週及び 24 週間の投与が行われた。治療効果が得られた症例の臨床的、ウイルス学的検討を行った。

(4) プロテアーゼ阻害剤+NS5A 阻害剤併用療法

Genotype 1 型、高ウイルス量症例の naive 例と NVR 例に対するプロテアーゼ阻害剤 (BMS-650032)+NS5A 阻害剤 (BMS790052) 併用療法 (24 週) の治療成績について検討した。

(5) PEG-IFN+RBV+Fluvastatin 併用療法

Fluvastatin をはじめとする Statin 製剤では、*in vitro* の実験データより HCV の増殖抑制作用があることが明らかになっている。(Ikeda M, et al. Hepatology 2006) Fluvastatin を現在の標準治療である PEG-IFN+RBV 併用療法に追加した場合の治療効果について検討した。

(6) PEG-IFN+RBV+Teprenone 併用療法

胃炎の治療薬として使用されている Teprenone には HCV の増殖抑制作用があることが、*in vitro* の実験にて示されている。Teprenone を併用した 3 者併用療法の臨床成績を解析した。

(7) 二重濾過血漿交換療法 (DFPP) 併用 PEG-IFN+RBV 併用療法の現況

2008 年より保険適応となっている DFPP 併用 PEG-IFN+RBV 併用療法の現在までの治療成績を解析した。

(8) C 型慢性肝炎患者における Peg-IFN/RBV 併用療法の治療効果と効果に関係する因子

Genotype 1 型高ウイルス量症例において治療開始時のサイトカインである血清 IL-10 と IL-12 値および *IL28B* の SNP を含めた治

療効果に関する検討を行った。

また宿主側因子(*IL28B*, *ITPA* gene)とウイルス側因子(*ISDR/IRRDR/* Core aa70 の変異)について検討を行った。

(9) C 型肝炎ウイルスの感染培養系や感染マウスを用いた新規治療薬の効果

新規治療薬の効果や耐性ウイルスに関する研究を行った。

(10) C 型慢性患者の治療前及びプロテアーゼ阻害剤等を使用した際の生体側反応

PRG-IFN+RBV 及びプロテアーゼ阻害剤使用時の免疫反応や宿主遺伝子発現について検討した。

(11) 肝移植例での C 型肝炎に対する治療成績

肝移植後の抗 HCV 療法に対するウイルス側、宿主 (生体) 側の治療効果に関係する要因について検討した。

C. 研究結果

(1) PEG-IFN+RBV+Telaprevir 併用療法

Telaprevir (MP-424) と PEG-IFN+RBV 併用療法 12 週間投与 (T12PR12) を施行した 20 例 (naïve 10 例、IFN 無効例 6 例、PEG-IFN/RBV の無効例 [NVR] 4 例) と 24 週間投与 (T12PR24; Telaprevir と PEG-IFN+RBV 併用療法 12 週間投与しその後 PEG-IFN+RBV 併用療法 12 週間を継続) を施行した 61 例 (naïve 17 例、前治療 relapser 29 例、前治療無効例 [NVR] 15 例) の治療成績と効果に関係する生体側およびウイルス側因子について検討した。

T12PR12 の SVR 率は、naïve 70%、IFN 無効例 33%、PEG-IFN/RBV の無効例 0% であった。T12PR24 の SVR 率は、naïve 76%、relapser 90%、PEG-IFN/RBV の無効例 27% と良好であった。(全国成績はそれぞれ 73%、88%、35% であった。; 図 1) 治療効果に関係する因子を多変量解析にて検討すると、生体側因子である *IL28B* の

SNP (rs8099917) とウイルス側因子である HCV Core 領域の 70 番目 (Core aa70) のアミノ酸置換の有無 (wild, mutant) が重要な因子であった。*IL28B* の genotype が TT (Major type) の症例の SVR 率は 85%、TG/GG (Minor allele あり) の症例では 34% であった ($P < 1.0 \times 10^{-4}$)。一方、Core aa70 は、*IL28B* が TT genotype では差を認めなかったが、TG/GG genotype では Core aa70 が wild で SVR 率 57%、mutant で 17% であり有意差 ($P = 0.027$) が認められた。(Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, et al, *Hepatology*, 2010) (図 2) (瀬崎、鈴木、豊田)

さらに 3 者併用療法において認められる貧血と *ITPA* gene の SNP (rs1127354) について検討した。CC genotype の症例では、CA/AA genotype の症例よりも投与初期 (2 週目および 4 週目) の Hb 値の低下が有意に大きかった ($P = 0.001$)。また治療 4 週目に Hb 値が 11 g/dL 未満に低下することに寄与する因子を多変量解析にて検討すると、女性、BMI (<23)、年齢 (51 歳以上) とともに *ITPA* gene の SNP (CC) が重要な因子であった。(Suzuki F, Sezaki H, et al, *Hepatology*, 2011) (鈴木)

(2) PEG-IFN+RBV+NS5A 阻害剤併用療法
NS5A 阻害剤である BMS-790052 は単剤にても HCV に対して抗ウイルス作用があることが明らかになっている。日本では、PEG-IFN+RBV と NS5A 阻害剤の 3 者併用療法の治験が行われている。(第 II 相試験) 対象は genotype 1 型の高ウイルス量症例で naïve 症例、前治療無効例 (Non-responder) で施行されている。投与法は naïve 症例が NS5A [60mg 又は 10mg] + PEG-IFN α 2b + RBV の 24 週間と placebo + PEG-IFN α 2b + RBV の 48 週間の比較試験、前治療無効例 (Non-responder) は NS5A [60mg 又は 10mg] + PEG-IFN α 2b + RBV の 24 週間の比較試験である。Naïve 例; placebo + PEG-IFN

α 2b+RBV 群は現在も投与継続中である。NS5A+PEG-IFN α 2b+RBV の60mg群では、24週目の投与終了時4例中4例(100%)、10mg群の4例中3例(75%)でHCV RNAの陰性化が得られた。さらに投与終了12週目では、60mg群では、4例中4例(100%)、10mg群では5例中2例(40%)でHCV RNAの陰性化が得られている。Non-responder ; NS5A+PEG-IFN α 2b+RBV の60mg群では、24週目の投与終了時3例中2例(67%)、10mg群の4例中3例(75%)でHCV RNAの陰性化が得られた。さらに投与終了12週目では、60mg群では、4例中2例(50%)、10mg群では4例中1例(25%)でHCV RNAの陰性化が得られている。(瀬崎、鈴木)

(3) プロテアーゼ阻害剤である Telaprevir (MP-424)単独療法

新規治療薬である Telaprevir を24週間投与単独投与した Genotype 1b 型の症例でSVRが得られた。この症例は、59歳男性、ウイルス量3.9 Log IU/mLでTelaprevir開始1週目にHCV RNAが陰性化しその後投与中から投与終了後まで陰性化が持続した上にSVRとなった。Telaprevirが作用するNS3領域のアミノ酸配列を検討すると、consensus sequenceと比較してR130K, Q195Kという特徴的な配列が認められた。さらに32 clones中1 cloneでTelaprevir耐性であるT54Aが治療前から認められていたが、SVRとなった。(Suzuki F, Sezaki H, et al, J Clin Virol, 2010) (鈴木)

(4) プロテアーゼ阻害剤+NS5A阻害剤併用療法

プロテアーゼ阻害剤(BMS-650032)+NS5A阻害剤(BMS-790052)併用療法(内服薬2剤)が日本にて第II相試験として開始されている。対象はgenotype 1型の高ウイルス量症例でPEG-IFN+RBV(SOC)不適格未治療/不耐用例、前治療無効例(Non-responder)で施行

されている。投与法はSOC不適格未治療/不耐用例、non-responderともにプロテアーゼ阻害剤とNS5A阻害剤を24週間投与する試験である。Non-responder群10例での安全性試験が終了後non-responder10例とSOC不適格未治療/不耐用例20例に試験は進行している。Non-responder群で24週間投与終了時9例中9例(100%)でHCV RNAの陰性化が得られた。さらに終了後8週目の時点でも全例陰性化が維持されている。(図3) PEG-IFN+RBV(SOC)不適格未治療/不耐用例においても現在投与中であるが、投与12週目5例中5例(100%)で陰性化が得られている。(図4)さらにnaïve群(6例)とnon-responder群(5例)でRNAの減少量に差を認めていない。(瀬崎、鈴木)

(5) PEG-IFN+RBV+Fluvastatin 併用療法

2005年から2006年に3者併用療法48週間投与を施行した21例を解析した。SVR率は、67%と高率であり、さらに難治例といわれている高齢女性でもSVR率の上昇(40%)が認められ治療の有効性が示された。(Sezaki H., et al, Intervirology, 2009)さらにその後real-time PCR法にて測定可能であった122例を解析した。投与中48週間目の時点でのHCV RNA陰性化率は、全例で87%、50歳以上の女性だけでも86%と高率であった。さらに72週間投与例でのSVR率は、全例で68%、50歳以上の女性で71%と高かった。このようにFluvastatinの併用療法は治療成績を向上させている。(瀬崎)

(6) PEG-IFN+RBV+Teprenone 併用療法

Teprenoneは、コレステロール生合成経路におけるグラニルグラニルピロリン酸を阻害するグラニル化合物の1つである。In vitroの実験系でTeprenoneにはHCVの増殖抑制作用があることが明らかになった。現在岡山大学関連施設にて

PEG-IFN+RBV+Teprenone 併用療法の効果についてランダム化比較試験 (teprenone+PEG-IFN/RBV [I 群] vs. PEG-IFN/RBV [II 群]) が開始されている。Teprenone 投与群は慢性胃炎を合併している症例である。I 群、II 群ともに 76 例ずつ登録された。投与開始後 24 週目までの HCV RNA の陰性化率は、I 群 75%、II 群 79% であり差を認めていない。さらに今後最終的な SVR 率を検討する予定である。(岩崎)

(7) 二重濾過血漿交換療法 (DFPP) 併用 PEG-IFN+RBV 併用療法の現況

多施設による 269 症例の検討を行った。対象は Naïve 118 例、前治療再燃 48 例、前治療無効 82 例、前治療効果不明 21 例であった。DFPP 併用 PEG-IFN α ・RBV 併用療法の SVR 率は全体 45.9% (56/122)、naïve 症例 54% (27/50)、前治療 PEG-IFN/RBV 以外の症例 55.9% (19/34)、前治療 PEG-IFN/RBV 症例 26.3% (10/38) であった。また Naïve 例では、cEVR が 50% の症例で得られ、このうち再燃は 2 例のみであった。また前治療 PEG-IFN/RBV 以外の症例では、55.9% の SVR が得られた。前治療 PEG-IFN/RBV 症例では、cEVR 症例 (10 例) でも 4 例が再燃し 72 週間が必要と考えられた。(酒井)

(8) C 型慢性肝炎患者における PEG-IFN+RBV 併用療法の治療効果と効果に関係する因子

サイトカインとの関連 ; Genotype 1 型高ウイルス量の 79 例を対象とした。SVR 例 31 例、non-SVR 例 48 例であった。治療開始前の血清 IL-10 値は SVR 例で有意に低値 ($P = 0.002$) であり、IL-12 値は有意に高値 ($P = 0.003$) であった。(Yoneda, Umemura, et al. JID, 2011 in press) PEG-IFN/RBV 併用療法の効果に関係する HCV Core aa70 と *IL28B* の SNP (rs8099917) との関係を検討すると、IL-10 値は Core aa70 wild で

有意に低値 ($P = 0.045$) であった。また *IL28B* の SNP との関係を検討すると、major allele では IL-10 値は有意に低値 ($P = 0.010$) であり、IL-12 値は有意に高値 ($P = 0.006$) であった。さらに IL-10 値と *IL28B* の SNP から無効率を検討すると、*IL28B* の SNP が major allele 例、minor allele を持つ例いずれでも IL-10 値が高値の症例では高率であった。(Major allele; $P = 0.003$, minor allele あり ; $P = 0.001$) (梅村)

宿主側因子とウイルス側因子 ; Genotype 1 型高ウイルス量の 294 例を対象とした。SVR に寄与する因子を宿主側因子 (*IL28B*, *ITPA* gene)、ウイルス側因子 (ISDR/IRRDR/Core aa70 の変異) も含めて解析した。年齢 (60 歳未満)、ISDR (1 以上)、IRRDR (4 以上)、*IL28B* SNP (TT) が重要な因子として抽出された。さらに *IL28B* SNP (TT) では、IRDDR 変異数 4 以上の症例では 3 以下の症例よりも有意に SVR 率が高かった。(79% vs 33%; $P = 0.001$) (坂本)

また *ITPA* gene の major type では、治療 4 週目の Hb 値が有意に低く ($P = 0.02$)、血小板数が有意に高い ($P = 0.0127$) ことが示された。(朝比奈)

(9) C 型肝炎ウイルスの感染培養系や感染マウスを用いた新規治療薬の効果

マウスモデルも用いてスタチン製剤の効果を検討した。HCV core gene transgenic mice (Tg) と nontransgenic littermate (NTg) において 3 ヶ月間 Fluvastatin 投与群と非投与群で検討した。Fluvastatin 投与により肝臓組織中の HMG CoA reductase 蛋白発現は低下した (Western blotting)。さらに肝臓組織中の脂質含有量は、Tg 群で NTg 群よりも有意に多かったが、Fluvastatin 投与によって有意に減少していた。Tg 群で Fluvastatin 投与によってコレステロール、FAS 蛋白量、特に SCD1 蛋白

量を有意に低下させていた。さらに HCV core 蛋白によって抑制されていた GPAM (glycerol phosphate acyltransferase mitochondria) 発現を改善し、TCA 回路の各酵素発現を mRNA 蛋白レベルで改善した。また GP x1 GS、MnSOD などの抗酸化系蛋白発現は core 蛋白によって亢進していたが、statin 投与によって蛋白発現レベルが低下した。(森屋)

HCV 感染キメラマウスを用いてプロテアーゼ阻害剤、ポリメラーゼ阻害剤の効果とウイルス耐性変異について検討した。プロテアーゼ阻害剤である telaprevir を単独投与した場合は、ウイルス量が低下するものの陰性化は得られず、耐性ウイルスの出現を認めた。ポリメラーゼ阻害剤である MK-0608 投与でも同様の結果であった。しかし telaprevir と MK-0608 の併用投与を行うと HCV の消失が得られた (Ohara E, Imamura M, et al., J Hepatol, 2011, in press)。次に telaprevir 耐性変異 (A156F) をもつウイルスをキメラマウスに感染させると野生型のウイルスよりも増殖力は弱く IFN への感受性は高かった。さらに HCV KT9 のクローンに NS3 領域の aa156 に人工的に変異を入れたクローン (KT9-NS3-A156S) を作成し、キメラマウスの肝臓内に注入しその後の血中 RNA 量を測定すると変異型クローンでは野生型よりも増殖力が低かった。(今村)

リポ蛋白をその粒子の大きさ毎に脂質成分の濃度を測定することができる装置である LipoSEARCH (High-sensitivity Lipoprotein Profiling System) を用いてリポたんぱく質の測定を行った。レプリコン細胞である OR6 (HCV genotype 1b Full Length Replicon cell) を用いて、IFN を添加してウイルス遺伝子を除去した細胞の上清 (HCV が除去されている) と IFN を加えていない control 群において、リポ蛋

白粒子中の脂質成分を測定した。HCV 蛋白発現群では、VLDL がトリグリセリドを失いコレステロールの比率が増え LDL に変質していく中間段階であるレムナントリポタンパク (IDL) が増加し、その中性脂肪の分解が低下していた。さらに HTGL の遺伝子発現が低下していた。(斉藤)

(10) C 型慢性患者の治療前及びプロテアーゼ阻害剤等を使用した際の生体側反応

C 型慢性肝炎患者の肝組織内の宿主遺伝子発現を検討した報告では、PEG-IFN/RBV 併用療法において NVR 例で RIG-I/IPS-1 比が有意に高いことを報告した。(Asahina Y, et al. Gastroenterol 2008) そこで Telaprevir を単独投与した症例において末梢血の単核球を用いて投与開始時と 3 日目でマイクロアレイ解析を行った。hsa04621 (Antigen processing and presentation) 、 hsa04620 (Toll-like receptor signaling pathway) 、 hsa04650 (Natural killer cell mediated cytotoxicity) などの宿主免疫系遺伝子の変動が認められた。(朝比奈)

C 型慢性肝炎患者における骨髄性樹状細胞 (MDC) と形質細胞様樹状細胞 (PDC) での IL28B 発現量について検討した。C 型慢性肝炎患者では、非感染者よりも PDC において IL28B 発現は低値であった。この発現量は rs8099917 SNP (TT/GT) に関わらず同等であった。また治療前の Treg/CD4 は rs8099917 の TT 群で TG 群に比較して有意に低値であった。(P = 0.020) (考藤)

(10) 肝移植例での C 型肝炎に対する治療成績

肝移植後に IFN 治療を施行した症例 21 例を対象とし、genotype、ウイルス量、コアアミノ酸置換 (aa70/aa91)、ISDR 変異数、IL28B の SNP (recipient) と治療効果の関連を検討した。SVR 例ではコアアミノ酸 aa70 の wild が有意に多く (P = 0.029)、ウイルス

量が有意に低かった($P = 0.031$)。ISDR と IL28B の SNP には差を認めなかった。(谷口)

D. 考察

C型慢性肝炎の genotype 1型、高ウイルス量の症例での PEG-IFN+RBV 併用療法 48 週間投与の SVR 率は約 40-50%であり十分な効果が得られていない。特に 50 歳以上の女性での効果は 20-30%と低率である。このため投与期間の延長が行われているが、経済的または身体的負担も大きい。さらに現在の併用療法では投与中にウイルスの陰性化しない症例も約 25%存在する。このような現実を踏まえ、新規治療薬や治療法の効果が期待されている。

現在 Telaprevir (MP-424) と PEG-IFN+RBV 併用療法 (24 週間投与) は国内第Ⅲ相試験が終了し保険申請がなされている。naive 例への 12 週間および 24 週間の投与成績では 70%、76%と従来の治療法よりも高い SVR 率を認めた。しかも効果が低いと考えられている 50 歳以上の女性においても高い SVR 率を認めた。また 3 者併用 24 週間投与の relapser 群の SVR 率は 90%と高率であり、PEG-IFN/RBV の無効例では 27%であった。さらに治療効果には IL28B の SNP と Core 領域の aa70 のアミノ酸置換が関与していることが示された。従って今後 3 者併用療法を施行する際には、これらの因子を測定することは治療効果に関して、有用な情報を得られる。また副作用としての Hb 低下にも注意が必要である。Hb の低下には ITPA gene の SNP が重要であり、major type である場合は Hb 低下に注意しながら RBV の減量を行う必要がある。一方新規治療薬使用時の生体側反応についての研究も進行している。これらの生体側反応の違いは、ウイルス排除に重要な影響を及ぼす可能性がある。さらに今後は Telaprevir 以外のプロテアーゼ阻害剤と PEG-IFN+RBV の 3 者併用療法の効果と副作用についても検討する予定である。

PEG-IFN+RBV+NS5A 阻害剤併用療法の治療も進行している。NS5A 阻害剤(BMS-790052)の 60mg 投与群では、naive 例、NVR 例で終了後 12 週目のデータではあるが、Telaprevir+PEG-IFN+RBV の 3 者併用療法と同等以上の効果が期待されている。さらに貧血や皮疹などの副作用が少なく今後有用な治療となる可能性がある。最終的な SVR 率の検討と効果に関するウイルス側因子、生体側因子の検討も進めていく予定である。

Telaprevir 単独療法は、本邦では 12 週間と 24 週間投与試験が行われた。Genotype 1 型の高ウイルス量症例に対しては耐性ウイルス出現の問題点がある。しかし投与中 HCV RNA が持続的に陰性化する症例が認められそのうち 1 例で SVR が得られた。この症例の NS3 領域の遺伝子配列を検討し効果に関する配列を示した。しかしこの症例以外は、Telaprevir 耐性ウイルスが出現しウイルスの再上昇を認めた。そこで作用機序の違う 2 剤の内服薬での治療 (治験) が開始されている。

プロテアーゼ阻害剤(BMS-650032)+NS5A 阻害剤(BMS-790052)併用療法の治験が行われている。安全性を考慮しながらまず PEG-IFN+RBV の NVR 症例で治験が開始され投与終了 8 週目まで治験が進行している症例では高い陰性化率を認めている。また naive 例は投与中のデータであるが、やはり高率に投与中の陰性化を認めている。日本では高齢の C 型肝炎患者も多く、また精神疾患や循環器、呼吸器疾患の合併で IFN 療法の施行できない症例も多く存在する。IFN を使用しない内服薬の併用療法は、今後画期的な治療法となる可能性が高い。最終的な SVR 率とともに治療効果に関する因子についても検討していく予定である。

PEG-IFN+RBV+Fluvastatin 併用療法は、投与中の HCV RNA 陰性化率が従来の PEG-IFN+RBV 併用療法を上回っている。このことは 3 者併用療法にて陰性化が得られた症

例（特に 50 歳以上の女性）では、72 週間の長期投与が可能となり最終的な SVR 率の改善を得られる可能性が高い。今後 3 者併用療法 72 週間投与の治療成績を検討する予定である。

PEG-IFN+RBV+Teprenone 併用療法のランダム化比較試験も現在施行されている。この最終的な治療成績を今後解析する予定である。

DFPP 併用 PEG-IFN+RBV 併用療法も全国的に施行されてきている。前治療 PEG-IFN+RBV 再燃例で、ウイルスの陰性化した症例では 72 週間投与も考慮した治療により治療効果を高める可能性が示唆されている。生体側因子やウイルス側因子についても検討する必要がある。

PEG-IFN+RBV 併用療法の治療効果と効果に関係する因子としてサイトカインやウイルス側因子(IRDDR 変異数など)が重要であることが明らかになってきている。これらの因子に関しても今後 Telaprevir+PEG-IFN+RBV の 3 者併用療法で検討し、治療効果との関係を明らかにする必要がある。

新規治療薬の開発や効果を明らかにするために C 型肝炎ウイルスの感染培養系や感染マウスを用いた研究が必要である。当研究班では、レプリコンやマウスモデルを用いて新規治療薬の開発や効果の判定を行っている。マウスモデルも用いてスタチン製剤の効果を検討したところ、HCV によって惹起させる肝脂肪化改善し、SCD-1 の発現亢進を抑制し GPAM、TCA 回路各酵素の発現低下を改善した。また抗酸化系酵素の発現低下も認められ直接的なミトコンドリア機能の改善をもたらすことが示唆された。このようにスタチン製剤の新たな作用機序が明らかになってきている。またキメラマウスを用いた実験で 2 種類の DAAs (Directly-acting Antiviral Agents) を使用することによって HCV の持続感性マウスからウイルスの消失が可能であった。このデータは現在行われている内服薬 2 剤の治療効果を実験的に証明したものである。さらに変異型ウイルスクローンを作成することによって増

殖力を検討することが可能となった。一方 HCV 1b 型レプリコン細胞において HTGL の発現低下が認められた。HCV 感染において、LPL や HTGL の活性抑制により感染性が増加するといった報告 (*Virology* 2010:152-159.) などから、肝細胞の HTGL 発現抑制により、ウイルスが肝細胞に感染しやすい環境を形成していると予測される。HTGL の発現には性ホルモンの関与も示唆されている。HTGL の活性を上昇させるような薬剤が治療効果を上げる可能性があるかどうか今後の検討が必要である。

新規治療薬(telaprevir)を投与した際の宿主免疫系遺伝子群の変動が認められた。また C 型慢性肝炎患者では、治療前の Treg/CD4 値が *IL28B* の genotype で違いが認められた。これらに関しては今後治療効果との関係を検討する必要がある。

肝移植例での C 型肝炎に対する治療成績は、不十分な成績である。移植後の IFN 療法の成績に関与する因子としては、ウイルス変異、ウイルス量、genotype、生体側因子として *IL28B* SNPs (ドナー、レシピエントともに)、免疫抑制剤の量、IFN や RBV の投与量なども解析する予定である。さらに今後は新規治療薬、治療法での成績を集積する必要がある。

E. 結論

現在の C 型慢性肝炎治療の成績をさらに向上させる新たな治療薬、治療法として PEG-IFN+RBV+Telaprevir 併用療法の効果が明らかになり、申請が行われている。さらに PEG-IFN+RBV+NS5A 阻害剤併用療法や Telaprevir 以外のプロテアーゼ阻害剤との併用療法が次の治療法として期待されている。さらに将来的には IFN を使用しない内服薬のみでの高い治療効果が期待されている。日本では C 型肝炎患者の高齢化が進んでおり、今後内服薬のみの治療の安全性と効果を明らかにしていく意味は非常に大きい。また C 型肝炎ウイルスの感染培養系や感染マウスを用いた

研究を用いて上記の新規治療薬の基礎的検討も進めていく予定である。

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. Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to Telaprevir with peginterferon and ribavirin. *Hepatology*. 2010;52:421-9.
2. Kawamura Y, Arase Y, Ikeda K, Hirakawa M, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Yatsuji H, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Kumada H. Diabetes enhances hepatocarcinogenesis in noncirrhotic, interferon-treated hepatitis C patients. *Am J Med*. 2010 ;123:951-956.
3. Kawamura Y, Ikeda K, Hirakawa M, Yatsuji H, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. New classification of dynamic computed tomography images predictive of malignant characteristics of hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*. 2010;40:1006-14.
4. Ikeda K, Kobayashi M, Seko Y, Imai N, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada

H. Administration of interferon for two or more years decreases early stage hepatocellular carcinoma recurrence rate after radical ablation: A retrospective study of hepatitis C virus-related liver cancer. *Hepatol Res*. 2010 ;40:1168-75.

5. Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. HBcrAg is a predictor of post-treatment recurrence of hepatocellular carcinoma during antiviral therapy. *Liver Int*. 2010;30:1461-70.
6. Suzuki F, Akuta N, Suzuki Y, Yatsuji H, Sezaki H, Arase Y, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Kumada H. Efficacy of switching to entecavir monotherapy in Japanese lamivudine-pretreated patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25:892-8.
7. Arase Y, Suzuki F, Akuta N, Sezaki H, Suzuki Y, Kawamura Y, Kobayashi M, Hosaka T, Yatsuji H, Hirakawa M, Matsumoto N, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. Efficacy and safety of combination therapy of natural human interferon beta and ribavirin in chronic hepatitis C patients with genotype 2 and high virus load. *Intern Med*. 2010;49:965-70.
8. Arase Y, Suzuki F, Akuta N, Sezaki H, Suzuki Y, Kawamura Y, Kobayashi M, Hosaka T, Yatsuji H, Hirakawa M, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M,

- Kumada H. Efficacy and safety of combination therapy of natural human interferon beta and ribavirin in chronic hepatitis C patients with genotype 1b and high virus load. *Intern Med.* 2010;49:957-63.
9. Namiki I, Nishiguchi S, Hino K, Suzuki F, Kumada H, Itoh Y, Asahina Y, Tamori A, Hiramatsu N, Hayashi N, Kudo M. Management of hepatitis C; Report of the Consensus Meeting at the 45th Annual Meeting of the Japan Society of Hepatology (2009). *Hepatol Res.* 2010;40:347-68.
 10. Akuta N, Suzuki F, Arase Y, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Extending combination therapy with peginterferon plus ribavirin for genotype 2 chronic hepatitis C virological responders: a pilot study of 7 cases. *Intervirol.* 2010;53:188-92.
 11. Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region of genotype 1b affect very early viral dynamics during treatment with telaprevir, peginterferon, and ribavirin. *J Med Virol.* 2010;82:575-82.
 12. Hashimoto Y, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Saito S, Suzuki Y, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Clinical and virological effects of long-term (over 5 years) lamivudine therapy. *J Med Virol.* 2010;82:684-91.
 13. Kumada H, Okanoue T, Onji M, Moriwaki H, Izumi N, Tanaka E, Chayama K, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Suzuki F, Toyota J, Nomura H, Yoshioka K, Seike M, Yotsuyanagi H, Ueno Y; The Study Group for the Standardization of Treatment of Viral Hepatitis Including Cirrhosis, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Guidelines for the treatment of chronic hepatitis and cirrhosis due to hepatitis C virus infection for the fiscal year 2008 in Japan. *Hepatol Res.* 2010;40:8-13.
 14. Kumada H, Okanoue T, Onji M, Moriwaki H, Izumi N, Tanaka E, Chayama K, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Suzuki F, Toyota J, Nomura H, Yoshioka K, Seike M, Yotsuyanagi H, Ueno Y; The Study Group for the Standardization of Treatment of Viral Hepatitis Including Cirrhosis, Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan. Guidelines for the treatment of chronic hepatitis and cirrhosis due to hepatitis B virus infection for the fiscal year 2008 in Japan. *Hepatol Res.* 2010;40:1-7. Suzuki Y, Ikeda K, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki F, Saitoh S, Arase Y, Kobayashi M, Miyakawa Y, Kumada H. Association of HLA-DR14 with the treatment response in Japanese patients with autoimmune hepatitis.

- Dig Dis Sci. 2010;55:2070-6.
15. Arase Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Sezaki H, Hosaka T, Kawamura Y, Yatsuji H, Hirakawa M, Ikeda K, Hsieh SD, Oomoto Y, Amakawa K, Kato H, Kazawa T, Tsuji H, Kobayashi T, Kumada H. Virus clearance reduces bone fracture in postmenopausal women with osteoporosis and chronic liver disease caused by hepatitis C virus. *J Med Virol.* 2010;82:390-5.
 16. Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Hosaka T, Sezaki H, Kobayashi M, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Watahiki S, Mineta R, Iwasaki S, Miyakawa Y, Kumada H. Influence of amino-acid polymorphism in the core protein on progression of liver disease in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol.* 2010 ;82:41-8.
 17. Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Yatsuji H, Arase Y, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Mineta R, Iwasaki S, Kumada H. Sustained virological response in a patient with chronic hepatitis C treated by monotherapy with the NS3-4A protease inhibitor telaprevir. *J Clin Virol.* 2010;47:76-8.
 18. Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Yatsuji H, Hosaka T, Sezaki H, Kobayashi M, Kawamura Y, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Mineta R, Iwasaki S, Watahiki S, Kumada H. Correlation of YMDD mutation and breakthrough hepatitis with hepatitis B virus DNA and serum ALT during lamivudine treatment. *Hepatol Res.* 2010;40:125-34.
 19. Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Hirakawa M, Kawamura Y, Yastuji H, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Miyakawa Y, Kumada H. Development of HCC in patients receiving adefovir dipivoxil for lamivudine-resistant hepatitis B virus mutants. *Hepatol Res.* 2010;40:145-52.
 20. Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Chayama K, Kamatani N, Nakamura Y, Miyakawa Y, Kumada H. Influence of *ITPA* Polymorphism on Decreases of Hemoglobin during Treatment with Pegylated IFN, Ribavirin and Telaprevir. *Hepatology.* 2011;53:415-21.
 21. 八辻寛美、鈴木文孝、平川美晴、川村祐介、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、小林正宏、鈴木義之、斉藤 聡、荒瀬康司、池田健次、岩崎里美、峰田理恵、綿引祥予、小林万利子、熊田博光. 核酸アナログ未使用の B 型慢性肝炎症例へのエンテカビル治療中に rtA181T 変異ウイルスが増殖した 1 症例. *肝臓* 2010; 51: 196-198.
 22. 小林 万利子、鈴木文孝、芥田憲夫、鈴木義之、瀬崎ひとみ、八辻寛美、保坂哲也、小林正宏、川村祐介、平川美晴、荒瀬康司、池田健次、峰田理恵、岩崎里美、綿引祥予、中村祐輔、茶山一彰、熊田博光. *IL28B* と HCV Core aa70 置換との関係。 *肝臓* 2010; 51:

322-323.

23. 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、芥田憲夫、平川美晴、川村祐介、八辻寛美、保坂哲也、小林正宏、鈴木義之、斉藤 聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光。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併用療法における NS3-4A プロテアーゼ阻害剤(Telaprevir)併用 12 週間治療のウイルス学的効の検討。肝臓 2010; 51: 394-396.

2.学会発表

1. 鈴木文孝、芥田憲夫、熊田博光。シンポジウム 1: C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN+RBV+Telaprevir (MP-424) の治療成績及び PEG-IFN+RBV 併用療法における IL28B 遺伝子多型と効果の関係、第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.27.
2. 鈴木文孝、鈴木義之、熊田博光。ワークショップ 8: B 型慢性肝炎に対するエンテカビル治療の効果と耐性ウイルスの検討、第 46 回日本肝臓学会総会、山形、2010.5.28.
3. 鈴木文孝、鈴木義之、熊田博光。ワークショップ 19:C 型慢性肝炎の治療効果に関するウイルス側、生体側因子の検討、第 52 回日本消化器病学会大会、JDDW、横浜、2010.10.15.
4. 芥田憲夫、鈴木文孝、熊田博光、平川美晴、川村祐介、八辻寛美、瀬崎ひとみ、鈴木義之、保坂哲也、小林正宏、小林万利子、斉藤 聡、荒瀬康司、池田健次.HCV core アミノ酸置換の新規抗 HCV 療法・肝発癌に及ぼす影響、第 96 回日本消化器病学会総会、新潟、2010.4.24.
5. 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、平川美晴、川村祐介、八辻寛美、保坂哲也、芥

田憲夫、小林正宏、鈴木義之、斉藤聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光.HCV 陽性慢性肝機能障害に対するペグインターフェロンとリバビリン少量併用療法の治療成績、第 96 回日本消化器病学会総会、新潟、2010.4.22.

6. 鈴木義之、鈴木文孝、熊田博光。パネルディスカッション 6:ウイルス性肝疾患治療ガイドラインの妥当性、第 96 回日本消化器病学会総会、新潟、2010.4.23.
7. 保坂哲也、鈴木文孝、熊田博光。シンポジウム 3:B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ治療の治療成績と薬剤耐性に対する対策、第 96 回日本消化器病学会総会、新潟、2010.4.22.
8. 芥田憲夫、鈴木文孝、熊田博光。パネルディスカッション 6: PEG-IFN/RBV/Telaprevir 併用療法における Core aa70 置換と IL28B 遺伝子多型の有用性、第 52 回日本消化器病学会大会、JDDW、横浜、2010.10.14.
9. 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、平川美晴、川村祐介、保坂哲也、芥田憲夫、小林正宏、鈴木義之、斉藤 聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光.C 型慢性肝炎に対する NA5A 阻害剤と NS3-4A プロテアーゼ阻害剤のペグインターフェロン-リバビリンとの 3 者併用療法におけるウイルス動態の比較検討、第 14 回日本肝臓学会大会、JDDW、横浜、2010.10.14.
10. 保坂哲也、鈴木文孝、熊田博光。シンポジウム 3:B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ投与の長期成績(HBs 抗原消失例を中心に)、第 52 回日本消化器病学会大会、JDDW、横浜、2010.10.15.
11. 芥田憲夫、鈴木文孝、熊田博光。シ

ンポジウム 2: Core アミノ酸置換と
IL28B 遺 伝 子 多 型 の
PEG-IFN/RBV/Telaprevir 併用療法に
おける有用性、第 38 回日本日本肝臓
学会東部会、東京、2010.12.2.

12. 保坂哲也、鈴木文孝、熊田博光。パ
ネルディスカッション 1: B 型慢性肝炎に
対する核酸アナログ製剤の治療効果と
問題点、第 38 回日本日本肝臓学会東
部会、東京、2010.12.2.
13. 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、熊田博光。C
型慢性肝炎に対するリバビリンおよ
び Telaprevir 併用療法におけるウイル
ス要因、宿主因子と治療効果との関係、
第 38 回日本日本肝臓学会東部会、東
京、2010.12.3.

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。

図1. Peg-IFN+Ribavirin+Telaprevir3者併用療法(24週間投与)の全国成績

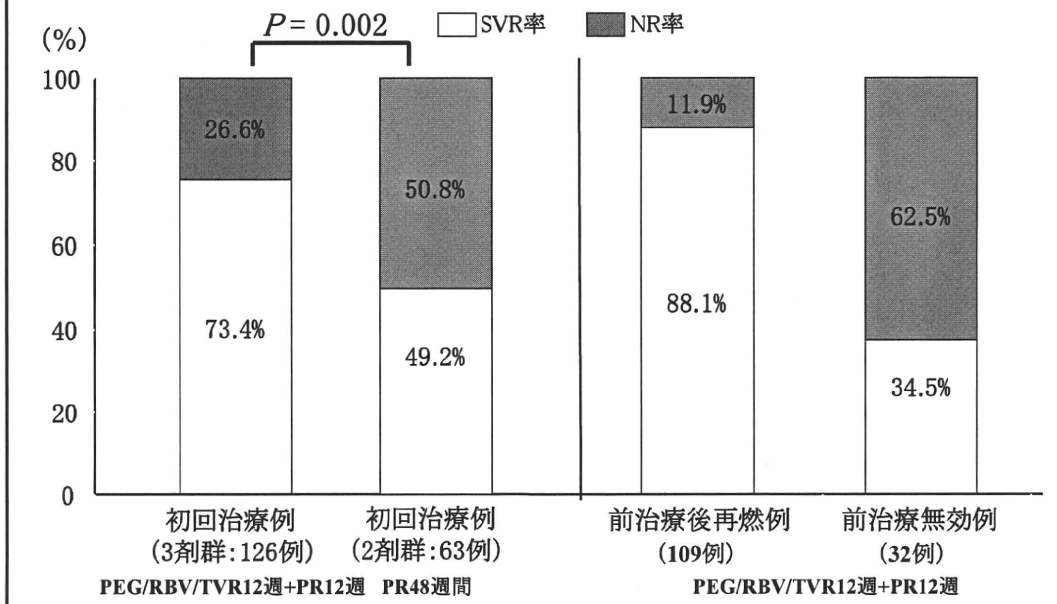


図2. PEG/RBV+Telaprevir(MP-424)併用療法の成績

SVRに寄与する因子

HCV Core aa70 (ウイルス側因子)

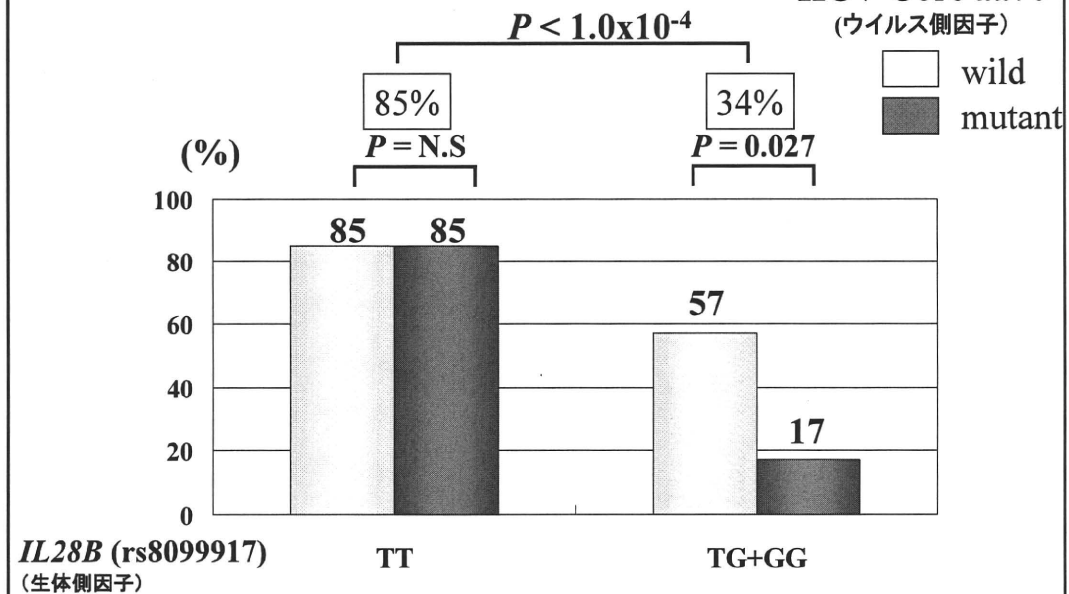


図3.前治療Null-responder例にNS5A阻害薬 (BMS-790052)及びNS3阻害薬 (BMS-650032)の前期第2相併用療法試験を開始した症例の治療経過

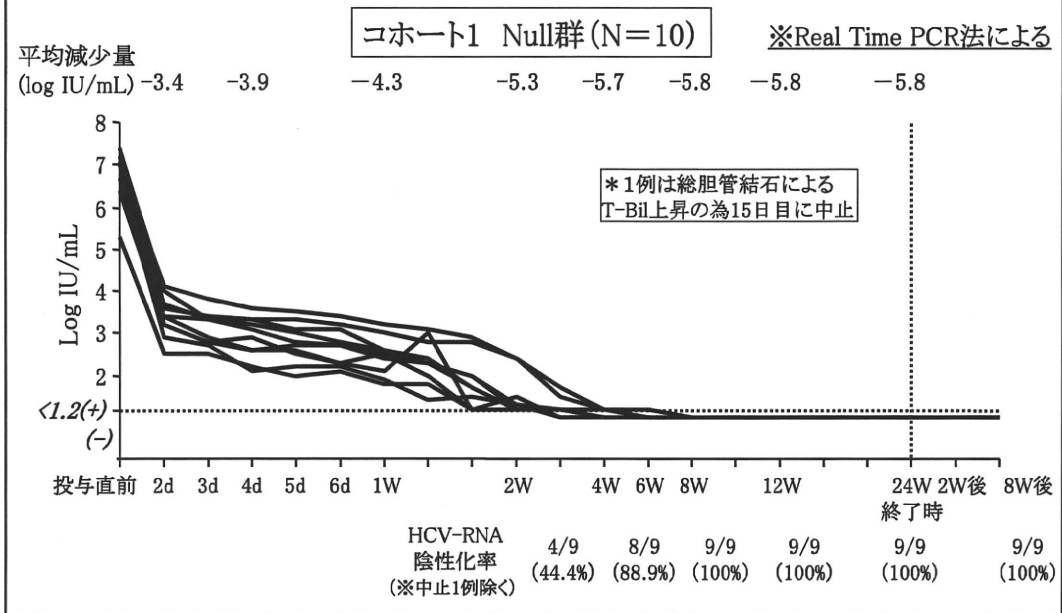


図4.NS5A阻害薬 (BMS-790052)及びNS3阻害薬 (BMS-650032)の前期第2相併用療法試験を開始した症例の治療経過

