

## II. 分担研究報告

# 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）

## 分担研究報告書

### PEG / RBV / Telaprevir 三剤併用療法の抗ウイルス効果

研究分担者 豊田成人 札幌厚生病院 院長

**研究要旨：**1b 高ウイルス C 型慢性肝炎 17 例に対し PEG / RBV / TVR 三剤併用療法をおこない、その抗ウイルス効果について検討した。本三剤併用療法の効果は極めて強力で、17 例中 13 例（76.5 %）で SVR が得られ、特に PEG / RBV 再燃例では 8 例全例 SVR となった。一方、PEG / RBV 無効例は全例 IL28B が minor SNP であり、2 例で SVR が得られたものの投与中に VBT を起こした症例も一例認められた。この三剤併用療法は今後 C 型肝炎に対する抗ウイルス療法の中心的な治療となると考えられるが、投与にあたっては Hb 低下や皮疹に対する十分な配慮も必要と考えられた。

#### A. 研究目的

Genotype 1b 高ウイルス C 型慢性肝炎症例に対するペグインターフェロン (PEG) / リバビリン (RBV) / テラプレビル (TVR) 三剤併用療法の抗ウイルス効果および副作用について検討した。

#### B. 研究方法

1b 高ウイルス症例 17 例を対象とした。患者背景は男性 8 例、女性 9 例、平均年齢は 54.2 ± 8.6 歳、HCV RNA 量は 6.7 ± 0.4 log IU/ml であり、PEG/RBV 前治療歴では未治療例 4 例、再燃例 8 例、無効例 5 例であった。また、HCV Core 領域の 70/91 番アミノ酸は double wild 6 例、non double wild 11 例であり、患者の遺伝子多型では IL28B (rs 8099917) が TT の major が 10 例、TG の minor hetero が 7 例であった（表—1）。投与方法は PEG / RBV / TVR 三剤を 12 週投与後継続して PEG / RBV を 12 週投与する計 24 週投与である。それぞれの薬剤投与量は、TVR は一日 2, 250mg を三分割で、PEG および RBV は body weight base で投与した。

（倫理面の配慮）

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）。

#### C. 研究結果

投与初期の抗ウイルス効果は極めて強力で、RNA 量は平均で前値の 6.7 log から 24 時間後には 3.4 log, 48 時間後には 2.9 log となり、一週後では 1.7 log まで減衰した。また、RNA も 2 週で 4 例、4 週で 10 例、6 週で 2 例、残りの 1 例も 8 週で陰性化し、17 例全例陰性化が得られた。これを PEG / RBV 前治療歴別にみると、未治療の 4 例では 2 週で 1 例、4 週で 3 例陰性化し、3 例がそのまま SVR となった。残りの 1 例は Hb 低下により休薬後 PEG / RBV 再開したが、RNA は再陽性化し投与終了時も陽性のままであった。本症例の背景因子をみると、Core 領域の 70/91 番アミノ酸は double mutant であり IL28B も TG でさらに HOMA-IR も 3.04 と高く難治要因が重複した症例であった（表—2）。再燃例の 8 例では、2 例が 2 週で RNA が陰性化しその他の 6 例も 4 週で陰性化したが、1 例は Hb 低下により 12 週で中止となった。8 例中 4 例で Core 70 番に変異を認め、IL28B が TG である症例も 1 例みられたが、貧血中止例も含め全例

SVRとなった(表-3)。無効例の5例では2週と4週に1例ずつRNAが陰性化し、6週で2例、8週で残りの1例も陰性化したが、食欲不振、全身倦怠感などにより1例が6週で中止となった。この中止例を含めて3例が再燃し、うち1例は投与20週でviral breakthrough(VBT)を起こした。この前治療無効例の背景因子をみると、3例がCore70番変異例でありさらにIL28Bは全例TGのminor SNPであった。また、VBTを起こした症例ではHOMA-IRも5.51と高度のインスリン抵抗性を有していた(表-4)。三剤併用療法の副作用として特徴的なものはHb低下と皮疹であった。Hb低下に関しては6週までに全例RBVの減量が必要となり、1例で三剤中止、2例でTVRが中止となった。また、17例中13例(76.5%)に丘疹紅斑型薬疹などが出現しうち1例はその範囲からGrade IIIと判断されたが、いずれの症例でもステロイド外用剤などにて対処が可能であり、この皮疹による中止例は認められなかった。

#### D. 考察

Genotype 1b高ウイルス症例に対する抗ウイルス療法としてはPEG/RBV 48週投与が標準的な治療法とされており、response guideに72週の延長投与もおこなわれている。今回の三剤併用療法では、24週という短期間の治療で高いSVR率が得られ、今後はC型肝炎の抗ウイルス療法として広く選択されていくものと思われる。しかし、Hb低下や皮疹といった副作用もPEG/RBV二剤より強く発現することが予想され、投与にあたってはこれらに対して十分に配慮すべきである。

したがって、これからの抗ウイルス療法の際にはIL28B SNPやHCV Core領域のアミノ酸変異などの患者背景因子を考慮した一層のテーラーメイド治療が必要と考えられる。

#### E. 結論

PEG/RBV/TVR三剤併用療法の抗ウイルス

効果は極めて強力であり、今後C型肝炎に対する抗ウイルス療法の第一選択薬となっていくと思われた。

#### F. 健康危険情報

今回の研究内容については特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文

1) 小関 至、狩野吉康、赤池 淳、木村睦海、荒川智宏、中島知明、桑田靖昭、大村卓味、佐藤隆啓、豊田成司. アデホビルによる腎障害の検討 肝臓 in press

##### 2. 学会発表

1. Outcome of peginterferon alfa-2b and ribavirin therapy following MP-424(Telaprevir) monotherapy for 24 weeks in Japanese patient with chronic hepatitis C virus genotype 1b infection Ozeki, I., Karino, Y., Arakawa, T., Kuwata, Y., Akaike, J., Ohmura, T., Toyata, J., Kamiya, N., Yamada, I. 55<sup>th</sup> Annual Meeting of the EASL
2. C型肝炎の標準療法(SOC)とプロテアーゼ阻害剤併用療法の難治要因の検討 狩野吉康、赤池 淳、豊田成司 第38回日本肝臓学会東部会2010/12/2-12/3 東京
3. C型慢性肝炎症例におけるペグインターフェロン・リバビリン・MP-424併用療法の治療成績 赤池 淳、狩野吉康、豊田成司、木村睦海、荒川智宏、中島知明、桑田靖昭、小関 至、佐藤隆啓、大村卓味、茶山一彰 第38回日本肝臓学会東部会2010/12/2-12/3 東京

#### H. 知的所有権の出願・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。

2. 実用新案登録

今回の研究内容については特になし。

3. その他

今回の研究内容については特になし。

表一1 PEG/RBV/TVR 3剤併用例の背景因子

男;8例, 女;9例

n=17

平均年齢 : 54.2±8.6歳 (27~63)

HCV RNA : 6.7±0.4 log IU/ml

Core 70aa : Wild/Mutant=7:10

IL28B(8099917) : TT/TG=10 : 7

naïve 4例

relapser 8例

non-responder 5例

表一2 Naïve 症例の背景因子と抗ウイルス効果

	Age	Gend.	RNA	Core aa	ISDR	HOMA	IL28B	Effect
1.	54	M	7.0	W / W	0	—	TT / CC	SVR
2.	59	F	6.7	M / W	0	0.99	TT / CC	SVR
3.	27	M	6.7	M / M	0	0.88	TT / CC	SVR
4.	56	F	6.0	M / M	0	3.04	TG / CT	TVR

表一3 PEG/RBV 再燃例 の背景因子と抗ウイルス効果

	Age	Gend.	RNA	Core aa	ISDR	HOMA	IL28B	Effect
1.	61	M	6.3	W / W	0	1.47	TT / CC	SVR
2.	61	M	6.4	W / W	0	0.65	TT / CC	SVR
3.	47	F	6.9	W / W	1	1.23	TT / CC	SVR
4.	61	F	7.0	W / W	0	2.65	TT / CC	SVR
5.	59	F	6.7	M / W	2	2.18	TT / CC	SVR
6.	53	M	6.0	M / W	1	2.52	TG / CT	SVR
7.	47	M	6.5	M / M	1	0.81	TT / CC	SVR
8.	51	F	7.6	M / M	0	0.84	TT / CC	SVR

表一4 PEG/RBV null responder の背景因子と抗ウイルス効果

	Age	Gend.	RNA	Core aa	ISDR	HOMA	IL28B	Effect
1.	63	F	6.3	W / W	4	1.75	TG / CT	SVR
2.	51	M	6.8	M / W	0	1.34	TG / CT	SVR
3.	54	F	7.1	M / W	2	0.93	TG / CT	TVR
4.	59	F	7.0	W / M	0	3.10	TG / CT	TVR
5.	59	M	7.3	M / W	1	5.51	TG / CT	VTR



分担研究報告書

C型慢性肝炎の新規治療法の治療成績

研究分担者 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

**研究要旨：** Genotype 1b、高ウイルス量の C 型慢性肝炎症例に対する Pegylated Interferon (PEG-IFN) と Ribavirin (RBV) 併用療法にフルバスタチンナトリウム(ローコール®)を併用した 3 者併用療法は、NVR 例が減少したことにより 72 週投与の SVR 率は、全体で 68%、50 歳以上の女性でも 71% と高率となった。新規治療薬である Telaprevir と PEG-IFN+RBV の 3 者併用 24 週治療の SVR 率は、初回治療例では 76%、PEG-IFN+RBV 再燃例では 90%、無効例は 27% と著明に向上したが、IL28B が TG/GG であると、HCV core 70 番のアミノ酸置換の有無により治療成績に有意差を認める点が今後の治療の課題となってくるものと思われる。同様に NS5A 阻害剤(BMS-790052)と PEG-IFN+RBV 24 週併用療法では、終了後 12 週までの SVR 率は、60mg 群では初回投与例では 100%、前治療無効例は 50% であり、Telaprevir とほぼ同等の治療効果が期待される。さらに NS5A 阻害剤(BMS-790052)+NS3 阻害剤(BMS-650032) 24 週併用療法では、IL28B と core70 番のアミノ酸変異の有無に関わらず HCV RNA の減少率に差は認めず、現在まで治療効果は極めて良好であり、将来的には IFN を用いず HCV の排除が可能となるかもしれない。

A. 研究目的

現在標準治療となっている Pegylated Interferon (PEG-IFN) と Ribavirin (RBV) 併用療法の治療成績を向上させるための試みとして、HMG-CoA 還元酵素阻害剤の併用を行ってきた。さらに、ウイルスタンパクをターゲットとした NS3-4A protease 阻害剤および NS5A 阻害剤を併用するという試みも並行して進んでいる。そこでこれら HMG-CoA 還元酵素阻害剤および新規治療薬併用療法の現段階での治療成績を検討することを目的とした。

B. 研究方法

虎の門病院において、PEG-IFN と RBV の 48 週間の併用療法にローコール®を併用し、治療開始後 48 週以上経過した Genotype 1b 型、高ウイルス量の C 型慢性肝炎 122 例を対象とした。これらの症例で 3 者併用療法中の治療時期別陰性化率および 48 週治療、72 週治療の SVR 率を検討

した。

また、Telaprevir (MP-424) と PEG-IFN+RBV 併用療法 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 例において効果とウイルス側および宿主側の因子について検討した。

さらに、NS5A 阻害剤 (BMS-790052) と PEG-IFN+RBV 24 週併用療法を施行中の 20 例および NS5A 阻害剤(BMS-790052)+NS3 阻害剤 (BMS-650032) 24 週併用療法施行中の 17 例におけるウイルス動態とウイルス因子および宿主因子について検討した。

(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、副作用、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説明し同意を文章または口頭にて取得し研究を行った。

## C. 研究結果

### (1) PEG-IFN+RBV とローコール®併用治療の治療成績

対象 122 例のうち 50 歳以上の女性は 47 例であった。全例と 50 歳以上の女性で治療時期別の HCV RNA 陰性化率をみると、12 週 43%と 35%、24 週 75%と 66%、48 週目は 87%と 86%であり、また、治療中ウイルスが陰性化しない NVR 例は、全体で 17%、50 歳以上の女性で 21%まで減少した。最終的な SVR 率は、48w 治療は 48%と 36%、72 週治療は 68%と 71%となり高率であった。

### (2) Telaprevir (MP-424)と PEG-IFN+RBV 併用 24 週の治療成績

61 例の内訳は初回治療例 17 例、PEG-IFN+RBV 再燃例 29 例、無効例(null)15 例であった。これらの SVR 率は、初回治療例では 76%、PEG-IFN+RBV 再燃例では 90%、無効例は 27%であった。宿主因子である *IL28B* とウイルス因子である core70 番のアミノ酸変異の組み合わせから SVR 率をみると、*IL28B* が TT の場合は core の変異の有無により治療効果に差は認めず、core70 番が wild で 92%、mutant で 100%と高率であったが、TG/GG となると core70 番が wild の場合は 64%であるのに対し、mutant の場合は 21%と治療効果に有意差を認めた。

### (3) NS5A 阻害剤 (BMS-790052) と PEG-IFN+RBV 24 週併用療法の治療経過

20 例の内男性 7 例、女性 13 例、年齢中央値 57 歳、初回治療例 12 例、PEG-IFN+RBV 無効例 8 例であった。まず、naïve 症例 12 例の HCV RNA の経過をみると、60mg 群 4 例は全例 *IL28B* が TT、10mg 群 5 例は 1 例のみが TT、その他 4 例は TG であったが、4 週目に HCV RNA が陰性化した症例が 7/9 例と高率であり、60mg 群では治療終了後 12 週目まで 4 例中 4 例陰性を持続していた。PEG-IFN+RBV 無効例は 60mg 群の 1 例を除いて全例が *IL28B* が TG であったが、4 週目で 4 例 50%に RNA の陰性化を認めた。60mg 群では治療終了後 12 週目まで 4 例中 2 例陰性を持続していた。

### (4) NS5A 阻害剤 (BMS-790052)+NS3 阻害剤 (BMS-650032) 24 週併用療法の治療経過

PEG-IFN+RBV 無効例は 11 例、男性 4 例、女性 7 例、年齢中央値 59 歳、初回治療例の PEG-IFN+RBV 不適格例は 6 例、男性 3 例、女性 3 例、年齢中央値 66 歳であった。PEG-IFN+RBV 不適格の理由は、高齢であること、喘息、うつ病、脳梗塞、結節性多発動脈炎の既往であった。まず PEG-IFN+RBV 無効例の HCV RNA の経過をみると、11 例中 8 例が *IL28B* TG であったが、4 週目で 10 例中 5 例陰性化し、8 週目で全例が陰性化した。治療を終了した症例も、1 例は 2 週目で総胆管結石により中止となったにもかかわらず SVR となったほか、終了後 8 週目まで 3 例とも陰性を維持している。初回治療例は 12 週目までの経過であるが、2 週目より陰性化する症例を認め、4 週目で 6 例中 5 例 83%陰性化した。

## D. 考察

Genotype 1b 型、高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN+RBV とローコール®併用療法は、治療中の HCV RNA の陰性化率を上げ、48 週から 72 週へ治療期間を延長することにより最終的な SVR 率を改善することが可能であった。

また、新規治療薬である Telaprevir (MP-424) と PEG-IFN+RBV 併用療法 24 週間投与の抗ウイルス効果は非常に高く、特に初回治療例や PEG-IFN+RBV 再燃例では高率に SVR を得た。*IL28B* と core70 番のアミノ酸変異が治療効果に関与しており、*IL28B* が TG/GG であると core70 番の変異の有無により SVR 率に有意差を認めた。

NS5A 阻害剤 (BMS-790052) と PEG-IFN+RBV 24 週併用療法は用量比較を行ったが、最終的な治療効果は 60mg 群が高いものと考えられ、終了後 12 週までの SVR 率は、60mg 群では初回投与例では 4 例中 4 例 100%、前治療無効例は 4 例中 2 例 50%であった。

NS5A 阻害剤 (BMS-790052)+NS3 阻害剤 (BMS-650032) 24 週併用療法は治療の途中経過



ではあるが、PEG-IFN+RBV無効例と初回治療例いずれも、*IL28B*とcore70番のアミノ酸変異の有無に関わらずHCV RNAの減少率に差は認めず、現在まで治療効果は極めて良好であると考えられる。

#### E. 結論

標準治療にスタチン製剤を併用することは治療効果か前に有用であった。しかしながら、TelaprevirやNS5A阻害剤など新規治療薬の出現により、短期間で治療効果は飛躍的に向上することが期待される。さらに将来的には、内服のみでHCVを制御可能となるかもしれない。

#### 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. 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. *Intervirology.* 2010;53:188-92.
  10. 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.
  11. 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.
  12. 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.
  13. 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.
  14. 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.
  15. 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.
16. 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.
  17. Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji 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.
  18. 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.
  19. 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、齊藤 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.
  20. 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.
  21. 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、齊藤 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. 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、齊藤 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.
  2. 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、齊藤 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.

3. 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.
4. 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。

# 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）

## 分担研究報告書

### 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

研究協力者 岩崎 良章 岡山大学保健管理センター 准教授

**研究要旨：**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の追加併用投与の有用性について、無作為化比較試験を開始した。現在までに152例が登録され、コアのアミノ酸 aa70 の置換型以外の治療前背景は、テプレノン併用・非併用群間で差を認めていない。重篤な有害事象および治療24週までのウイルス陰性化率の両群間での有意な差は、現在のところ認めていない。今後、主要評価項目である治療終了24週のHCV RNA 陰性率および安全性の評価を含めて検討すべく、試験を継続中である。

#### 共同研究者

池田房雄 岡山大学大学院 分子肝臓病学  
山本和秀 岡山大学大学院 消化器・肝臓病学

#### A. 研究目的

C型慢性肝炎に対する標準療法はペグインターフェロンとリバビリン併用療法であるが、依然として難治例が存在すること副作用を伴うことより、より有効かつ安全な治療法が求められている。C型肝炎ウイルス（HCV）レプリコン細胞を用いた系において、テプレノンによるHCVレプリコンの増殖抑制効果が報告されている。そこで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の有効性と安全性をランダム化比較試験により検討することを目的とした。

#### B. 研究方法

慢性胃炎を合併し、セログループ1かつ血中HCV RNA 量が高値（5.0 Log IU/mL以上）で、肝硬変、肝細胞癌を認めないC型慢性肝炎患者を対象とした。デザインは、中央登録方式による多施設共同、並行群間比較、オープンラベル、無作為化試験であり、同意が得られ

た患者を、ペグインターフェロン  $\alpha$ -2b+リバビリン群（I群）とペグインターフェロン  $\alpha$ -2b+リバビリン+テプレノン群（II群）に無作為に割付けた。テプレノンは、150 mg を1日3回に分けて、食後に48週間または72週間経口投与した。

主要評価項目は、ウイルス学的効果：投与終了後24週時のウイルス学的効果（HCV RNA 陰性率）であり、副次的評価項目は各測定時点におけるウイルス学的効果（HCV RNA 陰性化率）、投与状況、肝機能（ALT）改善度とした。

（倫理面の配慮）

当該施設のIRBの承認を得た。

#### C. 研究結果

現在、152例（I群76例、II群76例）が登録されている。治療開始前の背景として性別、年齢、体重、治療歴、血液細胞数、ALT値、 $\gamma$ -GT値、ウイルス量、*IL28B* 遺伝子多型（rs8099917）に両群間で有意差を認めていない。一方、コアのアミノ酸 aa70の置換型はI群に比較してII群で多い傾向にあった（ $P=0.091$ ）。現在までに、重篤な有害事象の発生は認めていない。現時点で判明している治療24週までのウイル

ス陰性化率は、両群間で有意な差を認めていない。

#### D. 考察

テプレノンの抗HCV作用は、HCVレプリコン細胞で認められてはいるが、C型肝炎患者では確認されていない。テプレノンは既に慢性胃炎治療薬として広く用いられており安全性も確認されていることより、抗HCV作用の有無の検証は、臨床的に重要な課題である。

#### E. 結論

標準治療であ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追加併用の有用性について無作為化比較試験が進行中である。

#### F. 健康危険情報

特記すべき事なし。

#### G. 研究発表

##### 1.論文発表

なし

##### 2.学会発表

なし

#### H.知的所有権の出願・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）

## 分担研究報告書

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

研究分担者 今村 道雄 広島大学病院消化器・代謝内科 助教

**研究要旨：** HCV 蛋白を標的とした薬剤(Direct-acting Antiviral Agent, DAA)は、強力な抗 HCV 効果を持つが、耐性ウイルスの出現が問題である。われわれは HCV 感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いて、DAA の治療効果、耐性ウイルスの出現、治療法の開発を行った。HCV 感染マウスへのプロテアーゼ阻害剤(テラプレビル)あるいはポリメラーゼ阻害剤(MK-6008)の単独投与により、耐性株出現による breakthrough が発症した。しかし両剤を併用投与することにより、マウス肝臓内から HCV は完全に排除された。テラプレビルの投与中、ウイルス量が再上昇した HCV 感染患者血清あるいは耐性変異(A156S 変異)を挿入した合成 HCV クローンを感染させたマウスは、野生型 HCV 感染マウスに比べ、血中 HCV RNA は低く、IFN- $\alpha$ による抗 HCV 効果が著明であった。変異型クローン感染マウスは薬剤耐性を示し、これらのシステムを用いることにより、患者血中に出現した変異株の増殖能および薬剤耐性能の評価が可能になると思われた。

### A. 研究目的

ヒト肝細胞キメラマウスを用いて Direct-acting Antiviral Agent (DAA)の抗 HCV 効果、耐性株出現を検討し、より有効な治療法を開発するとともに、薬剤耐性ウイルスの分子生物学的検討あるいはこれらに対する治療法の開発に有用な動物モデルシステムを開発する。

### B. 研究方法

1) Genotype 1b型のHCV感染ヒト肝細胞キメラマウスにプロテアーゼ阻害剤(テラプレビル, 200 mg/kg, 1日2-3回, 連日経口投与)あるいはポリメラーゼ阻害剤(MK-0609, 3 mg/kg, 1日2回, 連日経口投与)を単独あるいは併用投与し、マウス血中HCV RNA量の測定およびNS3, NS5B領域のアミノ酸配列を解析した。  
2) テラプレビル内服中に出現した耐性HCVあるいは合成したHCV全長RNA感染させたマウスにIFNあるいはテラプレビルを投与し、マウス血中HCV RNAの測定およびNS3領域のアミノ酸配列を解析した。

### C. 結果

1) テラプレビルおよびMK0609投与により、マウス血中HCV RNAは著明に低下したが、両薬剤とも投与中、耐性株(NS3領域のV36A変異, NS5B領域のS282T変異)が出現し、HCV RNAは再上昇した。テラプレビルとMK-0609を併用投与すると、さらに強力な抗HCV効果を認め、すべてのマウスにおいてウイルスは投与1週後に検出感度以下に低下した。4週間の投与中、HCV RNAの再上昇を認めず、観察した投与終了18週後まで血中ウイルス陰性が持続し、PCRにより肝臓内にもHCVは検出されず、おそらく完全排除されたものと思われた。  
2) テラプレビル投与中、HCV RNAが再上昇した患者血清(A156F変異ウイルス)をマウスに投与した。マウス血中HCVは陽性化しA156F変異が検出された。A156F変異HCV感染マウスは野生型HCV感染マウスに比べ、血中HCV RNAは低値であった。テラプレビルを投与したが、血中ウイルス量の低下を認めず、A156F変異がテラプレビル耐性であることが確認された。一方、IFN- $\alpha$ の投与により、野生型に比べ、血中ウイルス量はより低下し、変異型ウイルスの複製能は低いものと思われ

た。野生型(KT9)あるいは変異型HCVクローン(KT9-NS3-A156S)を肝臓内注入することによりマウス血中HCV RNAは陽性となり、HCV感染が確認された。これらの感染マウスにテラプレビルを投与したところ、血中HCV RNAの低下はわずかのみであった。これらの結果からNS3領域のA156S変異は明らかにテラプレビル耐性であり、これらのシステムを用いて、種々の変異HCVの複製能および薬剤耐性能の検討が可能になると思われる。

#### D. 考察

HCV感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いて、DAAの抗ウイルス効果や耐性株出現の評価が可能であり、異なる薬剤を併用することでIFN製剤を使用せずともウイルスの排除が可能であることを見出した。構築したHCVクローンをマウスに投与するシステムにより、生体内における変異株の増殖能および薬剤耐性能の検討が可能であった。

#### E. 結論

異なるHCV蛋白を標的としたDAAを併用投与することにより、IFN製剤を使用せずともHCVの排除が可能である。合成HCVクローンおよびヒト肝細胞キメラマウスを用いて変異型HCVの増殖能および薬剤耐性能を検討するシステムを構築した。

#### F.健康危機情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Kamiya N, Iwao E, Hiraga N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Miyoshi S, Tateno C, Yoshizato K, Chayama K. Practical Evaluation of a Mouse with Chimeric Human Liver Model for Hepatitis C Virus Infection Using an NS3-4A Protease Inhibitor. *J Gen Virol* 2010;91:1668-7
- Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y,

Nakagawa M, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Kiyohashi K, Kitazume A, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Wakita T, Watanabe M. Cell culture and in vivo analyses of cytopathic hepatitis C virus mutants. *Virology* 2010;405:361-9.

- Suda G, Sakamoto N, Itsui Y, Nakagawa M, Tasaka-Fujita M, Funaoka Y, Watanabe T, Nitta S, Kiyohashi K, Azuma S, Kakinuma S, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Watanabe M. IL-6-mediated intersubgenotypic variation of interferon sensitivity in hepatitis C virus genotype 2a/2b chimeric clones. *Virology* 2010;407:80-90
- Ohara E, Hiraga N, Imamura M, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Kono T, Onishi M, Hirata D, Mitsui F, Kawaoka T, Tsuge M, Takahashi S, Abe H, Hayes CN, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Tanaka S, Chayama K. Elimination of Hepatitis C Virus by Short Term NS3-4A and NS5B Inhibitor Combination Therapy in Human Hepatocyte Chimeric Mice. *J Hepatol*, in press
- Abe H, Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Mitsui F, Kawaoka T, Takahashi S, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tateno C, Yoshizato K, Murakami S, Yamashita N, Matsuhira T, Asai K, Chayama K. ME3738 enhances the effect of interferon and inhibits hepatitis C virus replication both in vitro and in vivo. *J Hepatol*, in press
- Chayama K, Hayes CN, Hiraga N, Abe H, Tsuge M, Imamura M. Animal model for study of human hepatitis viruses. *J Gastroenterol Hepatol*.26:13-18,2011.

#### 2. 学会発表

- 今村道雄, 平賀信彦, 茶山一彰. HCV 感染マウスを用いた NS3/4A protease 阻害剤および NS5B polymerase 阻害剤併用療法の有用性の検討. 第14回日本肝臓学会大会 横浜 平成22年10月14日.
- Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Takahashi S, Abe H, Hayes CN, Ochi H and Chayama K. The influences of viral mutations on HCV infectivity, replication ability and the susceptibility to interferon in human hepatocyte chimeric mice. The 7th APASL Single Topic Conference, Chiba, December 17-18, 2010

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

# 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）

## 分担研究報告書

### Statin による HCV 脂質代謝異常の改善に関する研究

研究分担者 森屋恭爾 東京大学 医学部附属病院感染制御部 教授

研究要旨：statin 投与によって HCVIFN 治療の成功率を高めることが報告されている。今回 statin 投与によって肝臓脂肪化、インスリン抵抗性、酸化ストレス増大が認められる HCV core 蛋白発現マウスにおける脂肪化の改善、抗酸化酵素の発現低下が確認された。HCV core 蛋白発現マウスにおける SCDF-1, GPAM 発現抑制が statin によって改善されていた。

#### A. 研究目的

statin投与によってHCVIFN治療の成功率を高めることが報告されている。特にメバロン酸代謝経路に対してのゲラニルゲラニル化阻害によるHCV複製阻害が報告されているが、HCV病態改善の可能性を検討し新薬開発の基礎的データを入手する

#### B. 研究方法

HCV core gene transgenic mice 3ヶ月齢 オス各6匹およびnontransgenic littermate 3ヶ月齢 オス各6匹に対し3ヶ月連続statin (Fluvastatin) 含有餌 (4mg/Kg) 投与群と非投群(通常食)を投与し sacrificeした。

肝臓組織 Western blotting による蛋白量変化を検討した。

(倫理面の配慮)

マウスに対しては実験時苦痛を与えることなく処理を行った

#### C. 研究結果

Statin投与によってHCV core遺伝子発現トランスジェニックマウスにおける肝臓脂肪化改善が認められた。

またHMGCoA reductase蛋白量は低下した。

またStatinはHCV core 蛋白によって亢進されていた肝臓脂肪化、FAS蛋白量、SCD1蛋白量、

glycerol phosphate acyltransferase mitochondria (GPAM)蛋白量を有意に低下させた。またGPx1 GST、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。

#### D. 考察

HCV core遺伝子発現トランスジェニックマウスにおいて、core蛋白による脂質代謝異常が軽減されたことより、HCV増殖にとって好適な肝臓の脂質環境変化を正常に改善することによりstatinによるHCV増殖抑制機構に関与している可能性がある。また酸化ストレス軽減作用がstatinがHCVによる酸化ストレスを軽減していることもあわせて知見が得られ statinが直接ミトコンドリア機能を改善している可能性も示された。

#### E. 結論

Statinはメバロン酸代謝経路に対してのゲラニルゲラニル化阻害によるHCV複製阻害のほかに、直接的なHCVによる肝臓脂肪化軽減作用、酸化ストレス軽減作用を有することが今回のマウスの検討より初めて示された。今後いかなる抗ウイルス剤のもとにおいてもHCV感染治療にstatinが補助薬として機能する可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Evaluation of a chromogenic agar medium for the detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae.

Saito R, Koyano S, Nagai R, Okamura N, Moriya K, Koike K.

Lett Appl Microbiol. 2010 Dec;51(6):704-6.

2) Pathogenesis of lipid metabolism disorder in hepatitis C: Polyunsaturated fatty acids counteract lipid alterations induced by the core protein.

Miyoshi H, Moriya K, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Fujinaga H, Goto K, Todoroki T, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y, Yotsuyanagi H, Koike K.

J Hepatol. 2010 Sep 22.

3) Lipid metabolism and liver disease in hepatitis C viral infection.

Koike K, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K.

Oncology. 2010 Jul;78 Suppl 1:24-30.

4) Hepatitis C virus core protein compromises iron-induced activation of antioxidants in mice and HepG2 cells.

Moriya K, Miyoshi H, Shinzawa S, Tsutsumi T, Fujie H, Goto K, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Koike K.

J Med Virol. 2010 May;82(5):776-92.

5) Animal models for hepatitis C and related liver disease.

Koike K, Moriya K, Matsuura Y.

Hepatol Res. 2010 Jan;40(1):69-82.

6) Tacrolimus ameliorates metabolic disturbance and oxidative stress caused by hepatitis C virus core protein: analysis using mouse model and cultured cells.

Moriya K, Miyoshi H, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriishi K, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Koike K.

Am J Pathol. 2009 Oct;175(4):1515-24.

2. 学会発表

Kyoji Moriya HCV and hepatic steatosis The JSH single topic conference. Tokyo Japan. 2010

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記なし

# 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）

## 分担研究報告書

### HCV レプリコン細胞をつかった CETP, HTGL の解析

研究協力者 齊藤 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

**研究要旨：**これまで我々は血清中の総コレステロール，トリグリセリド，遊離コレステロールのサブクラス解析を行い，C型肝炎ウイルス（HCV）(遺伝子型 1b) 感染に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法において，治療前のこれらの測定値と，治療効果の間に関係があることを報告してきた．本研究では HCV 遺伝子型 1b の全長が組み込まれた HCV レプリコン細胞である OR6 細胞と，インターフェロン処理した OR6c 細胞を用いてその脂質プロファイルの違いを比較検討した．その結果 HCV 蛋白が発現している OR6 細胞では培養上清中で IDL が有意に増加していることが明らかとなった．そこで IDL の代謝に関与する CETP や HTGL の発現レベルを比較したところ，HCV 蛋白を発現している細胞では HTGL の低下を認めた．HTGL の発現はウイルスの増殖には直接影響を及ぼしてはいなかったが，HCV の感染性をコントロールしていることが予測され，新たな抗ウイルス薬のターゲットになる可能性を含んでいる．

#### A. 研究目的

近年C型肝炎ウイルス（HCV）の増殖や慢性肝炎患者の治療効果と脂質代謝の関係について，様々な報告が散見される．これまで我々も血清中の総コレステロール，トリグリセリド，遊離コレステロールのサブクラス解析を行い，HCV（遺伝子型1b）感染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前測定値と，治療効果の間に関係があることを報告してきた．その結果，C型慢性肝炎患者では中性脂肪に富んだ中間比重リポ蛋白（IDL）が増加していることが認められた．IDLが増加する機序としてコレステロールエステル転送蛋白（CETP）や肝性トリグリセリドリパーゼ（HTGL）の関与が予測された．本研究では，HCVレプリコン細胞であるOR6細胞を用いて，培養細胞上清中のリポ蛋白プロファイルの変化を比較し，これに関わるCETPやHTGLの発現状況について検討した．これらの蛋白や酵素がウイルスのライフサイクルにどのように影響するかを明らかにし，新たな治療ターゲ

ットを見出すことを目的としている．

#### B. 研究方法

今回用いたレプリコン細胞OR6はHCV遺伝子型1bの全長が組み込まれたHuh7由来の細胞である（岡山大学・加藤先生、池田先生より供与）．対照はOR6細胞にインターフェロン $\alpha$ （500 IU/ml）を添加し，HCV遺伝子を除去したOR6 cured細胞（OR6c）を4日間培養し，上清のリポ蛋白質を（1）ゲルろ過クロマトグラフィー(Liposerch Inc:スカイライトバイオテック)を用いて解析した．この方法は，自動化された高速ゲルろ過クロマトグラフィー（HPLC）システムで，培養上清中のリポ蛋白構成脂質をリポ蛋白の粒子径別に20のサブクラスに分けて測定（サブクラス解析）している．（2）患者血清から得られた結果をもとに，脂質代謝に関与するCETPとHTGLのレプリコン細胞における発現状態をOR6細胞とOR6c細胞の間で酵素活性法，リアルタイムPCR法，およびWestern Blotting法によって比較検討した．（3）OR6細胞にHTGLの発現ベク

ター (pHTGL-FL) を遺伝子導入しHCVの複製に影響を及ぼすかを検討した。

#### (倫理面の配慮)

本研究で用いている材料は培養細胞のみであり、患者検体などの使用もない。このため倫理面に関しては問題ないと考える。

### C. 研究結果

(1) 培養上清中リポ蛋白の脂質プロファイルを解析した結果、OR6c細胞では23.0–28.6 nmの大きさでLDL中の中性脂肪 (TG) が多かった。一方、OR6細胞の培養上清中では23.0–28.6 nmでLDL中の総コレステロール (TC) と遊離コレステロール (FC) が多かった。以上から、OR6細胞ではウイルス遺伝子を除去したOR6c細胞に比較して、低比重リポ蛋白(LDL)の低下や超低比重リポ蛋白(VLDL)とLDLの中間代謝産物であるIDLが増加していることが示唆された。(2) 培養液中のCETPの活性はOR6細胞とOR6c細胞との間では、有意な差を認めなかった。一方、HTGLはHCV蛋白を発現しているOR6細胞でmRNA、蛋白質レベルが有意に低下していることが認められた。(3) OR6細胞に遺伝子導入を行いHTGLを強発現した後にWestern Blottingを行ったところHCVの構造蛋白、非構造蛋白の発現量に有意差は認めなかった。またOR6細胞はHCVの複製効率が簡便に測定できるようにLuciferaseが組み込まれているが、これを利用したLuciferaseアッセイの結果から、HTGLの発現程度に関係なくHCVの複製は変化しないことを確認した。

### D. 考察

本研究の結果からHCV感染によりリポ蛋白の脂質プロファイルが変化することが示された。特にVLDLからLDLに分解される経路の中で、レムナントリポ蛋白の一部であるIDLが増加していた。この要因としてHTGLの発現が肝細胞で低下していることが原因と考えられた。HTGLの発現プラスミドを肝細胞に

導入し、HCV構造蛋白、非構造蛋白の発現状態を確認したところ、HTGLの発現レベルに関わらずHCVの複製に影響を与えていなかった。最近、抗HTGL抗体を細胞培養液中に投与することで、HCVの感染性が低下したことが報告されている(Hishiki T. 2010 J Virol)。以上から、HCV感染により肝細胞でHTGLの発現を低下させることは、HCVの複製には影響を与えないが、感染性に影響を与える可能性が考えられた。

### E. 結論

HCV感染は培養液中のリポ蛋白の脂質プロファイルに影響を与えていた。これは肝細胞におけるHTGLの発現を低下させ、HCVの感染に影響を与えていることが予測された。今後HTGLをターゲットとし、新たな抗ウイルス薬につながる可能性を検討する。

### F. 健康危険情報

本研究は培養細胞を用いた研究であり、健康に害を及ぼす可能性は全くない。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Mawatari H, Yoneda M, Fujita K, Nozaki Y, Shinohara Y, Sasaki H, Iida H, Takahashi H, Inamori M, Abe Y, Kobayashi N, Kubota K, Kirikoshi H, Nakajima A, Saito S. Association between phospholipids and free cholesterol in high-density lipoprotein and the response to hepatitis C treatment in Japanese with genotype 1b. J Viral Hepat 2010; 17(12): 859-865
- 2) Mawatari H, Yoneda M, Fujita K, Nozaki Y, Shinohara Y, Sasaki H, Iida H, Takahashi H, Inamori M, Abe Y, Kobayashi N, Kubota K, Kirikoshi H, Nakajima A, Saito S. Association between lipoprotein subfraction profile and the response to hepatitis C treatment in Japanese patients with genotype 1b. J Viral Hepat 2010;