

hepatitis C. 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2010 Nov 3; Boston, USA

3) Chihiro Yokomizo, Yoshito Itoh, Kanji Yamaguchi, Takeshi Nishimura, Takeshi Okanoue, Toshikazu Yoshikawa. High expression of a transcriptional cofactor p300 in HCC downregulates E-cadherin, promotes tumor invasion, and predicts shortened overall survival of HCC patients. 62th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2010 Nov 3; Boston, USA

4) 南 祐仁、岡上 武、吉川敏一。エンテカビルとインターフェロンの sequential 併用投与、エンテカビル単剤投与の検討。パネルディスカッション 14 B型肝炎に対する新たな治療戦略。第 回日本消化器病学会大会。2010.1015 (横浜)

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

表1. 参加施設名

- 虎ノ門病院 肝臓内科(熊田博光班長)
- 藤田保健衛生大学 肝胆臓内科(吉岡健太郎班員)
- 広島大学 分子病態制御内科学(茶山一彰班員)
- 東北大学 消化器病態学(上野義之班員)
- 信州大学 消化器内科(田中栄司班員)
- 東京大学 感染症内科学(四柳 宏班員)
- 大阪府済生会吹田病院 消化器内科(岡上 武班員)
- 京都府立医科大学 消化器内科学(南 祐仁研究協力者)

表2. 核酸アナログとIFNのsequential療法患者背景
(n=31)

	m±SD	range
性別(男:女)	25:6	
年齢	43±10	median 40, 29-64
	2:29	ジェノタイプ(B:C)
e抗原(陽性:陰性)	15:11	
種類(LAM:ETV)	16:15	
NA投与期間(months)	24±25	median 17, 4-103
IFN投与期間(days)	176±11	median 175, 161-216
開始時のHBV DNA量 (logIU/ml)	7.2±2.0	median 7.7, <2.0->9.0
開始時のALT (IU/l)	267±326	median 192, 11-1664
開始時の血小板数 (x10 ⁴ /ml ³)	17.1±5.0	median 16.9, 9.0-29.8

表3. 核酸アナログとIFNのsequential療法の効果
(治療終了6か月後)

	n	BR %	VR %	SC %
e抗原陽性	15	53	60	36
e抗原陰性	11	64	73	
LAM	16	56	75	0
ETV	15	60	60	50
すべて	31	58	68	36

表4. 投与終了24週のBRかつVRに寄与する因子
(単変量解析)

	有意確率		有意確率
性別	.533	IFN開始時BR (ALT < 35)	.006
Genotype	.892	IFN開始時DNA 3.7以下	.448
開始時年齢	.169	IFN開始時セロネガティブ	.435
開始時HBe抗原	.954	IFN開始時HBe抗原	.377
開始時HBe抗体	.341	IFN開始時HBe抗体	.449
開始時ALT	.698	IFN開始時DNA値	.452
開始時DNA	.656	IFN開始時HBcr抗原値	.003
開始時PLT	.520	IFN終了時セロネガティブ	.626
precore変異	.710	IFN終了時HBe抗原	.492
CP変異	.851	IFN終了時HBe抗体	.833
核酸アナログの種類	.876	IFN終了時DNA値	.026
核酸アナログ投与期間	.039	IFN終了時HBcr抗原値	.073

図1. 単変量解析

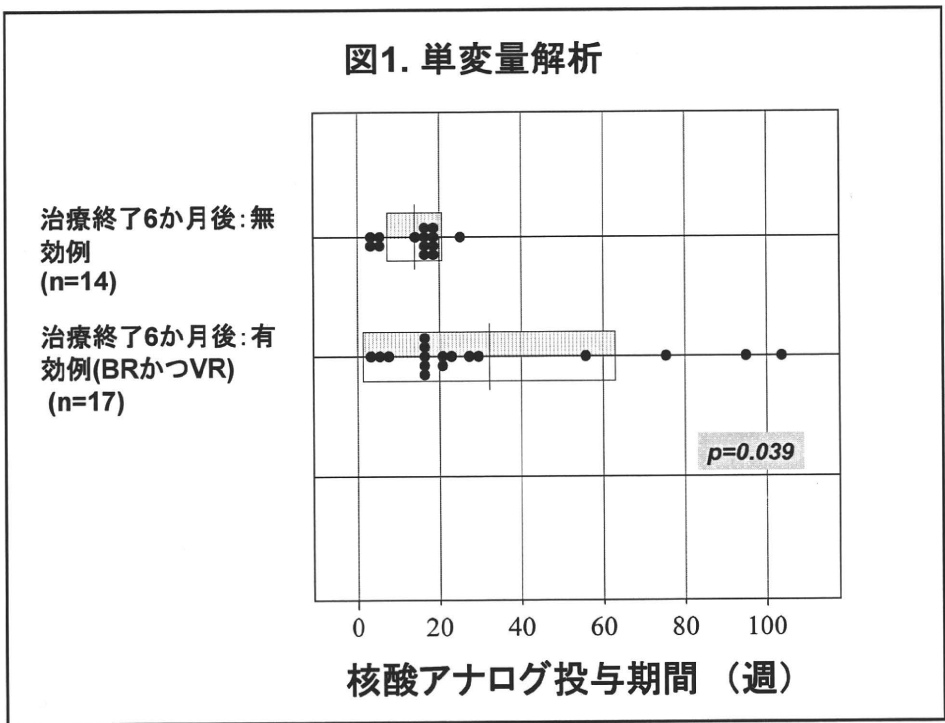


図2. 単変量解析

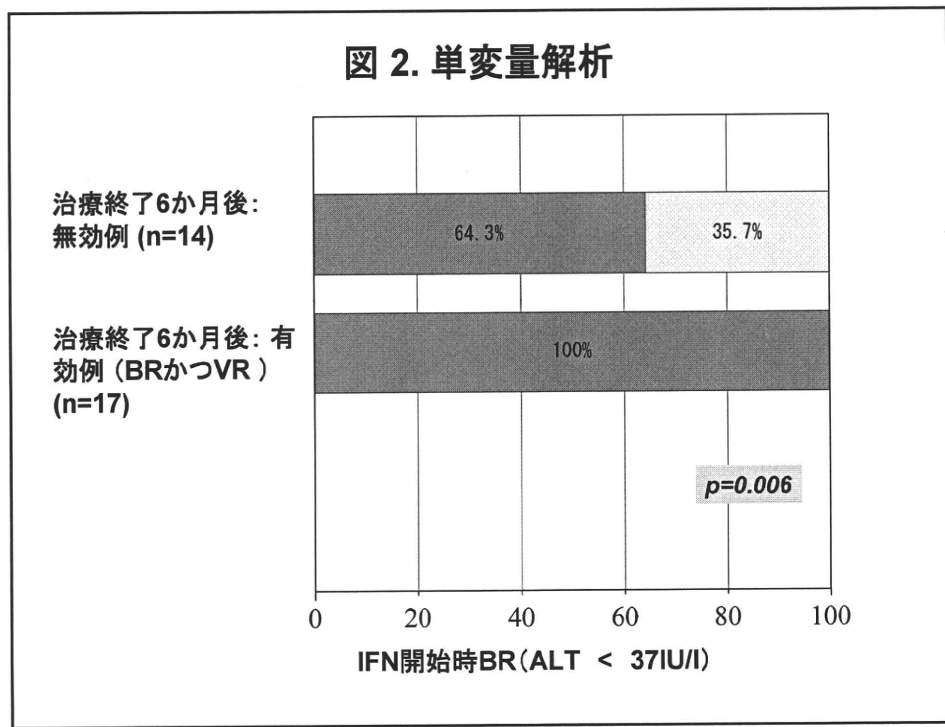


図 3. 単変量解析

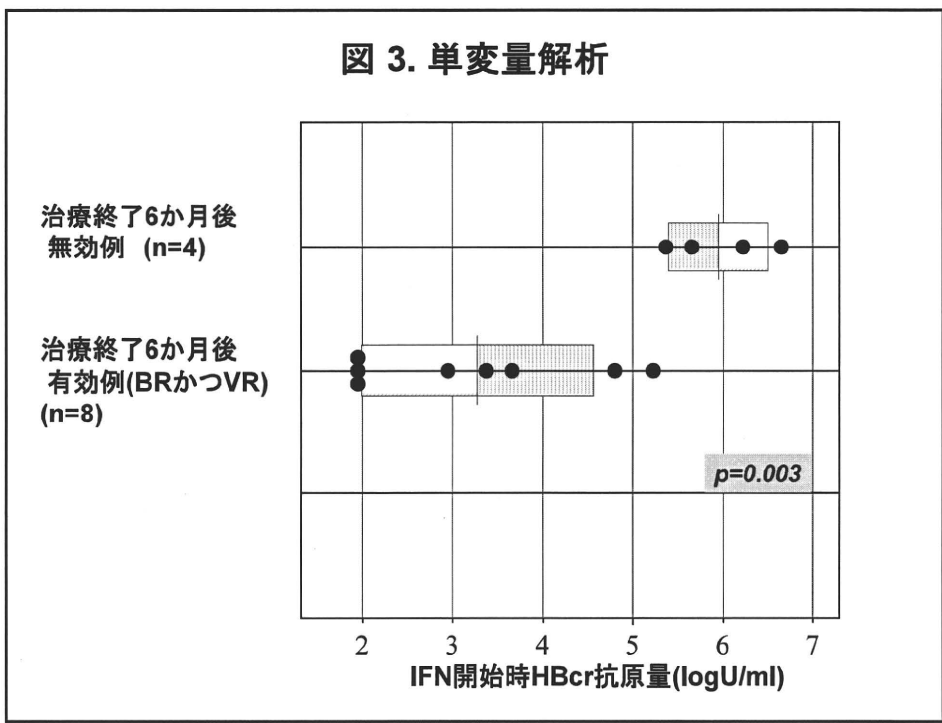
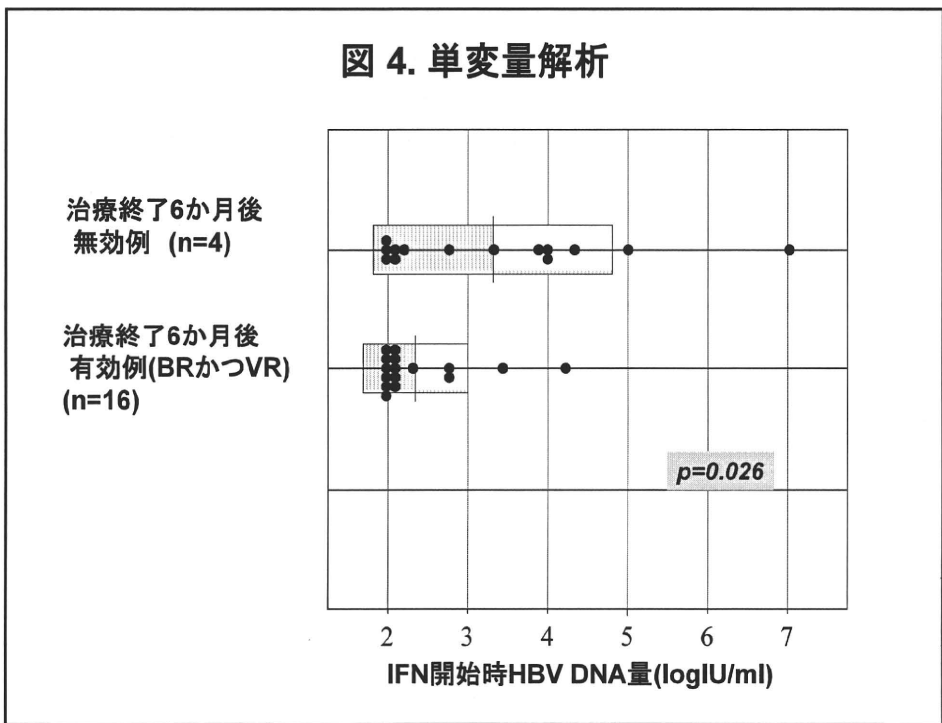


図 4. 単変量解析



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

De novo B 型肝炎に関する研究

研究分担者 田中榮司 信州大学医学部内科学第二 教授

研究要旨：HBs 抗原陰性、HBc 抗体陽性/HBs 抗体陽性者で免疫抑制剤、抗腫瘍化学療法を施行中・後に急性 B 型肝炎を発症するものを de novo B 型肝炎という。劇症化症例は死亡率が高いため、「免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策」としてガイドラインが発表された。本年度も引き続き疫学調査を施行したところ 4 例の発症例が登録された。背景疾患として関節リウマチ、Wegener 肉芽腫の症例からの発症報告が初めてされた。平成 12 年度からの調査とまとめると 39 例の de novo B 型肝炎が登録されており 11 例が劇症化していた。劇症化症例は核酸アナログを投与されているにも関わらず全例死亡しており救命がきわめて困難である。今後、ガイドラインの啓発活動を積極的に行う事と検証のために全国調査が必要と考えられる。

共同研究者

信州大学医学部 内科学第二 梅村武司

信州大学医学部 内科学第二 松本晶博

A. 研究目的

HBs 抗原陰性、HBc 抗体陽性/HBs 抗体陽性者で免疫抑制剤、抗腫瘍化学療法を施行中・後に B 型肝炎を発症するものを de novo B 型肝炎という。平成 12 年から 16 年における本疾患の病態を明らかにする全国調査を行い、発症すると重症・劇症肝炎となり死に至ることが多く注意を要する病態である事を明らかにした。その結果をもとに厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班 劇症肝炎分科会と「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」班合同報告と共同で「免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策」を発表した。そこで本年は引き続き de novo AHB の発生数とその背景因子について全国調査を継続した。平成 19 年から本年度までの de novo AHB 症例と以前の症例とを比較して劇症化の要因や予後などについて検討を加えた。

B. 研究方法

本研究班の分担研究者・協力者の施設に平成 22 年度に発症した de novo AHB の症例数、臨床背景、肝機能検査、ウイルス学的検査について調査を依頼した。平成 19 年から 22 年度までに登録された症例が臨床的にどのような特徴をもつか、また、平成 12 年から 16 年に施行した全国調査のデータと比較検討を行った。

（倫理面の配慮）

本研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を受け、患者さんに不利益が無いよう配慮を行った。

C. 研究結果

平成 19 年から 22 年度に発症した de novo B 型肝炎は 16 例であった。特に平成 22 年度は 4 例の発症を認めた。患者背景では年齢の中央値は 66 歳であり、男性が 56%、非ホジキンリンパ腫が 69% を占めていた（表 1）。以前の報告同様 リツキシマブを含む化学療法が 63% に施行されていた。しかし、今までの報告にない関節リウマチと固形癌の症例、Wegener 肉芽腫の症例からの発症が報告された。経過中劇症肝

炎となった症例は38% (6/16)であり、全例が死亡した (表2)。いずれも平成12年から16年に発症した23例と有意な差は認めなかった。肝機能・ウイルス検査ではピーク ALT、PT (%)が低い傾向であったがウイルス量、genotype、プレコア、コアプロモーター変異の陽性率に違いは認めなかった。全39例について劇症肝炎症例11例とそれ以外の28症例について比較検討したところ劇症化症例では非ホジキンリンパ腫の割合 (91% vs. 50%; P = 0.028)、リツキシマブを含む化学療法を施行した割合

表1: De novo B型肝炎の背景

	Total (n=39)	H12-16 (n=23)	H19-22 (n=16)	P
年齢中央値 (歳)	64	63	66	0.091
男性	23 (59%)	14 (61%)	9 (56%)	>0.2
非ホジキンリンパ腫	24 (62%)	13 (57%)	11 (69%)	>0.2
リツキシマブを含む	19 (49%)	9 (39%)	10 (63%)	0.133
劇症化した症例	11 (28%)	5 (22%)	6 (38%)	>0.2
HBV genotype	(n=29)	(n=19)	(n=10)	
B	34%	42%	20%	>0.2
C	66%	58%	80%	

(82% vs. 36%; P = 0.012) と有意に高率であった。劇症化症例は核酸アナログを投与されているにも関わらず全例で死亡していた。

表2: 劇症肝不全症例の特徴

	劇症化 (N=11)	非劇症化 (N=28)	P
年齢中央値 (歳)	63	64	>0.2
男性	6 (55%)	17 (61%)	>0.2
非ホジキンリンパ腫	10 (91%)	14 (50%)	0.028
リツキシマブを含む	9 (82%)	10 (36%)	0.012
肝不全による死亡	11 (100%)	6 (4%)	<0.001

D. 考察

平成19年度以降も de novo B型肝炎の発症は継続している。背景疾患では、以前と同様、リツキシマブを含む治療を行った非ホジキンリンパ腫が多い。しかし、本年度は関節リウマチ、Wegener 肉芽腫などが新しく報告され、免疫抑制剤や分子標的治療薬の進歩により原因疾患が多様化している可能性が示唆された。劇症化症例はこれまでと同様リツキシマブ使

用例が多くを占めた。また、死亡率100%であり、一度発症すると核酸アナログ薬を使用しても救命できない。このため、de novo B型肝炎では発症予防や早期発見が重要であり、今後、ガイドラインの啓発活動を行うとともに、de novo B型肝炎を早期に発見するためのHBV DNA検査が保健診療で認められる必要がある。

E. 結論

本邦では依然として de novo B型肝炎の発症が続いており、劇症化症例の死亡率は極めて高い。このため、今後も症例の調査と啓発活動を行っていく必要がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

- 1) 梅村武司、清澤研道、田中榮司、de novo B型肝炎におけるHBV遺伝子型および遺伝子変異と予後の関連、第46回日本肝臓学会総会、山形、2010
- 2) Umemura T, Kiyosawa K, Tanaka E, and the Japan de novo hepatitis B Group, Clinical and Virological Features of Patients with Fulminant Hepatic Failure Due to Hepatitis B Virus Reactivation from HBsAg-negative Status 46th Annual Meeting of the European association for the Study of the Liver, Vienna, Austria

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）

共同研究報告書

IL28B, ITPA 遺伝子の多型から PEG-IFN/RBV の治療効果に関する研究

研究分担者 茶山一彰 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨：C型慢性肝炎に対する治療法としては、ペグインターフェロン+リバビリン併用療法が標準的な治療として行われている。この治療の治療効果を予測する因子に関しては、これまでにウイルスサブタイプ、性、年齢、組織学的進行度の宿主側の要因、Interferon sensitivity determining region (ISDR; NS5A 領域)のアミノ酸変異、core 領域のアミノ酸変異などがあげられてきた。最近 IL28B 遺伝子近傍の single nucleotide polymorphism (SNP)がペグインターフェロン+リバビリン併用療法の治療効果と密接な関連を有する報告がなされた。また、inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA)遺伝子の SNP により、リバビリンによる貧血の起こりやすさが異なることも明らかにされた。本研究では特に genotype 1B、高ウイルス量の難治例に関してこれら新たに発見された因子も勘案して治療効果の予測を行うことが可能かどうかに関して検討を行った。その結果、ウイルス量、性、年齢、組織学的進行度、core 領域のアミノ酸変異、IL28B の遺伝子多型が有意に治療硬貨に寄与する因子であることが明らかとなった。一方 ITPA 遺伝子の多型に関しては、治療中のリバビリンの減量を適切に行うことにより、治療効果に対する影響は排除されていることが明らかになった。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルスに対するインターフェロン治療は、1991年に6ヶ月間一回のみの単独療法が認可されて以来改善が重ねられ、現在はペグインターフェロン+リバビリンの併用療法が主として行われるようになった。この治療の治療効果を予測する因子に関しては、これまでにウイルスサブタイプ、性、年齢、組織学的進行度の宿主側の要因、Interferon sensitivity determining region (ISDR; NS5A 領域)のアミノ酸変異、core 領域のアミノ酸変異などがあげられてきた。最近 IL28B 遺伝子近傍の single nucleotide polymorphism (SNP)がペグインターフェロン+リバビリン併用療法の治療効果と密接な関連を有する報告がなされた。また、最近我々は inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA)遺伝子の SNP により、リバビリンによる貧血の起こりやすさが異なることを見いだした。本研究ではこれら新たに発見された因子も勘案して治療効果の予測を行うことが可

能かどうかに関して検討を行った。

厚生労働省厚生労働科学研究費補助金による肝炎等克服緊急対策研究事業、ウイルス性肝炎における最新の治療法の標準化を目指す研究の研究班の班員の協力を得て解析を行った。(倫理面の配慮)

ヒト血清の提供については広島大学の倫理委員会で承認を得た手続きを経てインフォームドコンセントを取得した。ヒトゲノムに関する研究では法律に基づいてヒトゲノム倫理審査委員会の審査を受け、インフォームドコンセントを取得した

C. 研究結果

genotype 1B、高ウイルス量のC型慢性肝炎症例1031例に関して解析を行った。標準的な投与期間である症例では、SVRに寄与する要因として、simple logistic regression では、「性別」「年齢」「体重」「糖尿病の有無」「Fibrosis」「WBC」「Plt」「AST」「 γ GTP」「Alb」「FBS」「HCV-RNA」

「TaqMan PCR」 「ISDR」 「Core70」 「Core91」 「PegIFN α 2b 量」 「Rib 量」 「Rib 量/kg」 「IL28」 「ITPA」 が挙げられた。また、単回帰で得られた要因を用いステップワイズ法 (Wald 変数減少法) を利用した multiple logistic regression (多重ロジスティック回帰分析) をしたところ、「性別」 「年齢」 「糖尿病の有無」 「ISDR」 「Core70」 「Rib 量」 「IL28」 が有意に差のある ($P<0.05$) 結果となった。NVR に寄与する要因として、simple logistic regression では、「性別」 「年齢」 「体重」 「糖尿病の有無」 「Fibrosis」 「WBC」 「Hb」 「Plt」 「 γ GTP」 「Alb」 「T-cho」 「HCV-RNA」 「TaqMan PCR」 「ISDR」 「Core70」 「Core91」 「PegIFN α 2b 量」 「PegIFN α 2b 量/kg」 「Rib 量」 「Rib 量/kg」 「IL28」 が挙げられた。また、単回帰で得られた要因を用いステップワイズ法 (Wald 変数減少法) を利用した multiple logistic regression (多重ロジスティック回帰分析) をしたところ、「WBC」 「Alb」 「Core70」 「Rib 量/kg」 「IL28」 が有意に差のある ($P<0.05$) 結果となった。さらに、長期投与を行った症例も加えた 1436 例についても同様の解析を行った。これらの症例の SVR に寄与する要因として、simple logistic regression では、「性別」 「年齢」 「体重」 「BMI」 「糖尿病の有無」 「Fibrosis」 「WBC」 「Plt」 「Alb」 「FBS」 「HCV-RNA」 「TaqMan PCR」 「ISDR」 「Core70」 「Core91」 「PegIFN α 2b 量」 「Rib 量」 「Rib 量/kg」 「IL28」 が挙げられた。また、単回帰で得られた要因を用いステップワイズ法 (Wald 変数減少法) を利用した multiple logistic regression (多重ロジスティック回帰分析) をしたところ、「性別」 「年齢」 「IL28」 が有意に差のある ($P<0.05$) 結果となった。同様に、NVR に寄与する要因として、simple logistic regression では、「性別」 「年齢」 「糖尿病の有無」 「Fibrosis」

「WBC」 「Hb」 「Plt」 「 γ GTP」 「Alb」 「T-cho」 「HCV-RNA」 「TaqMan PCR」 「ISDR」 「Core70」 「Core91」 「PegIFN α 2b 量」 「PegIFN α 2b 量/kg」 「Rib 量」 「Rib 量/kg」 「IL28」 が挙げられた。単回帰で得られた要因を用いステップワイズ法 (Wald 変数減少法) を利用した multiple logistic regression (多重ロジスティック回帰分析) をしたところ、「年齢」 「WBC」 「Alb」 「Core70」 「IL28」 が有意に差のある ($P<0.05$) 結果となった。ITPA の多型は、リバビリン誘起性の貧血に有意に関連していたが、いずれの解析においても、治療硬貨との間に有意な関連は見いだされなかった。

D. 考察

ITPA の多型はリバビリン誘起性の貧血と有意な関連がみられたが、治療効果との関連は認められなかった。これは、この治療を行っている医師が、治療に習熟し、リバビリンの減量を貧血の程度にあわせて適切に行っており、治療効果との関連が現れないという結果に結びついたと考えられる。近々認可されると考えられている Telaprevir も併用した 3 者併用の治療では、リバビリンによる貧血がさらに強くなり、治療中止になる症例も多いことが予想されている。ITPA 遺伝子の多型の調査はこのような意味から、将来的には治療を行う上で参考となる検査になることが予測された。

E. 結論

本研究により、ペグインターフェロン+リバビリン治療の治療効果を予測する因子をより明確に示すことができた。これらの因子は今後ペグインターフェロン+リバビリンによる治療のみならず、プロテアーゼインヒビターを用いた治療などにも応用可能であることが期待される。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chayama K., Hayes CN, Hiraga N, Abe H, Tsuge M, Imamura M. Animal model for study of human hepatitis viruses. *J Gastroenterol Hepatol*2010;26(1):13-8
- 2) 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*2010
- 3) 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*2010
- 4) 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(2):361-9
- 5) Tsuge M, Hiraga N, Akiyama R, Tanaka S, Matsushita M, Mitsui F, Abe H, Kitamura S, Hatakeyama T, Kimura T, Miki D, Mori N, Imamura M, Takahashi S, Hayes CN, Chayama K. HBx protein is indispensable for development of viraemia in human hepatocyte chimeric mice. *J Gen Virol*2010;91(Pt 7):1854-64
- 6) 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(Pt 7):1668-77

2. 学会発表

- 1) 茶山一彰. B型慢性肝炎の治療, 第96回日本消化器病学会総会, 新潟, 2010
- 2) 今村道雄, 越智秀典, 茶山一彰. C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療における ILB28 多型と Core 領域変異の影響, 第96回日本消化器病学会総会, 新潟, 2010
- 3) 茶山一彰. C型肝炎の最新情報, 第46回日本肝臓学会総会 ランチョンセミナー1, 山形, 2010
- 4) 今村道雄, 越智秀典, 茶山一彰. C型慢性肝炎患者における ILB28 多型とウイルス側および宿主側因子との関連, 第46回日本肝臓学会総会 山形, 2010
- 5) 河岡友和, 高橋祥一, 田代裕尊, 大段秀樹, 茶山一彰. 肝移植後 C型肝炎再燃に対する IFN 治療の現況と SVR 率改善のための検討, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 6) 石田友希, 兵庫秀幸, 石飛朋和, 鍋島由宝, 長沖祐子, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 川上由育, 相方 浩, 高橋祥一, 茶山一彰. 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) における肝線維化と糖代謝異常の関連性について, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 7) 阿部弘美, 越智秀典, 柘植雅貴, 三木大樹, 光井富貴子, 平賀伸彦, 今村道雄, 高橋祥一, 茶山一彰. C型慢性肝炎患者に対する PegIFN/RBV 療法の治療効果と IL28locus の SNP および肝内 IFN 誘導遺伝子発現量の関連, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 8) 阿部弘美, 越智秀典, 柘植雅貴, 三木大

- 樹, 光井富貴子, 平賀伸彦, 今村道雄, 高橋祥一, 茶山一彰. IL28 の多型と C 型慢性肝炎の炎症、繊維化、 γ GTP との関連, 第 46 回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 9) 北本幹也, 井川 敦, 松本陽子, 山田博康, 川上由育, 茶山一彰. Genotype1b・高ウイルス量以外の C 型慢性肝炎に対する Response-guided therapy, 第 46 回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 10) 大石和佳, 吉田健吾, 林 奉権, 楠洋一郎, 藤原佐枝子, 柘植雅貴, 茶山一彰. C 型肝炎ウイルス感染における HLA DR B 1 と NK G 2D 遺伝子多型の影響, 第 46 回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 11) 茶山一彰. C 型肝炎の治療の予測因子, 第 28 回犬山シンポジウム, 愛知, 2010
- 12) Chayama K. Personalized Medicine in Chronic Hepatitis B, TAsL 2010 Single Topic Conference, 台北, 2010
- 13) 茶山一彰. B 型・C 型肝炎合併 CKD 患者におけるステロイド薬、免疫抑制薬使用に関する考え方, 第 40 回日本腎臓学会西部学術大会, 広島, 2010
- 14) 茶山一彰. C 型肝炎の最新の治療, 第 239 回世羅郡医師会学術講演会, 広島, 2010
- 15) 茶山一彰. Hepatitis C Virus Replication and Response to Antiviral Drugs in Human Hepatocyte Chimeric Mice, 第 7 回アジア太平洋肝臓病学会議 (APASL) シングルトピックカンファレンス, 千葉, 2010
- 16) 柘植雅貴, 今村道雄, 茶山一彰. B 型肝炎における核酸アナログ治療中止例の検討, 第 14 回日本肝臓学会大会 第 52 回日本消化器病学会, 横浜, 2010
- 17) 越智秀典, 今村道雄, 茶山一彰. C 型肝炎肝炎治療効果に対するゲノムワイド SNP 関連解析-IL28B 遺伝子多型と HCV ウィルスゲノム変異に関連して, 第 14 回日本肝臓学会大会 第 52 回日本消化器病学会, 横浜, 2010
- 18) 長沖祐子, 相方 浩, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. C 型肝炎に対する IFN SVR 後肝発癌に対する局所治療後の再発, 予後の検討, 横浜, 2010
- 19) 相方 浩, 長沖祐子, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. C 型肝炎 IFN SVR 後の肝癌サーベイランスについての検討, 第 14 回日本肝臓学会大会, 横浜, 2010
- 20) Tsuge M, Kohno T, Abe H, Miki D, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Ochi H, Chayama K. Identification of Novel Hepatitis C Virus Deletion Mutants in Chronic Hepatitis C Patients, THE 61TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES, Boston, 2010
- H. 知的所有権の出願・取得状況
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
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）

共同研究報告書

C型慢性肝炎における PEGIFN α 2a 少量長期投与による肝発癌抑止効果

武蔵野赤十字病院消化器科 泉 並木

研究要旨：C型慢性肝炎ではインターフェロン投与によってSVRが得られなかった場合に肝発癌率が高い。日本の多施設共同でretrospectiveにC型慢性肝炎症例を集計し、ペグインターフェロン(PEGIFN) α 2aの少量を長期間投与されていた症例の肝発癌率を解析した。PEGIFN α 2a単独投与を1年以上受けていた慢性肝炎と肝硬変594例が集計され、そのうち49例に肝発癌がみられた。肝発癌リスクを解析するとHCVRNA陰性化例、ALT値40IU/L以下、alpha-fetoprotein (AFP)値10ng/ml以下になった場合に発癌が低下していた。同じcohortでPEGIFN α 2a非投与の症例99例を解析した。3.8年の経過観察中16例に肝発癌がみられた。propensity matched control studyを行ない、コントロール群に比較してPEGIFN α 2a投与群で肝発癌が有意に低く、とくにF3とF4の肝線維化進展例のみで解析すると、PEGIFN α 2a投与例で有意に肝発癌が抑制されていた。

A. 研究目的

C型慢性肝炎では詳細な解析によって65歳以上の高齢者での肝発癌が高くなり、肝線維化をそろえても同様の結果が得られた¹⁾。しかし、高齢者ではリバビリンを減量することが多くSVR率が低下するため、肝発癌を防止する対策を講じることが重要である。欧米ではPEGIFN α 2aとリバビリン併用による無効例に対して、90 μ gのPEGIFN α 2a単独を週1回投与すると、8.5年間経過観察したところ肝硬変例でPEGIFN α 2a投与群での肝発癌低下が認められた。そこで、わが国で同様のPEGIFN α 2a少量長期治療によって、肝発癌が低下しているか否かについて、多施設共同でretrospectiveに解析した。

B. 研究方法

2003年12月以降に、1年間以上のPEGIFN α 2a単独治療をうけたC型慢性肝炎を、全国21施設からretrospectiveに集計して、肝発癌についての解析を行った。全体でPEGIFN α 2aの投与を受けていた743例が集計された。このうち、治療開始前のHCCの既往がある例と治療期間が48週間未満の例を除外して、PEGIFN α 2aの長期投与をうけていた594

例を解析した。肝発癌に關与する因子を単変量とLogistic回帰分析による多変量解析で検討した。さらに治療開始24週目の血清ALT値、AFP値、HCVRNA別に肝発癌率をKaplan Meier法で解析した。また、ウルソデオキシコール酸(UDCA)やグリチルリチン(GRN)製剤などの肝底護薬によって治療された、あるいは未治療で1年以上経過観察されたコントロール群99例が集計された。欠損のない例が59例あった。これを対象にして、年齢・性・BMI・HCVRNA量・肝線維化によってpropensity score matched control studyによってPEGIFN α 2a群から59例を選び、control studyを行った。このpropensity matched control studyではそれぞれの肝発癌率をKaplan Meier法で解析した。また、F3・F4の肝線維化進展例のみで肝発癌リスクを比較した。(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) 90 μ g の PEGIFN α 2a 単独を 1 週から 2 週に 1 回の投与を 1 年以上うけた症例で肝発癌に關与する因子を解析した。単変量解析では肝発癌例と非発癌例で、性、年齢、Staging (肝線維化)、Grading (肝炎活動性)、血小板数、アルブミン値、総ビリルビン値に有意差がみられた。これを多変量解析すると、性、年齢、Staging、血小板数、総ビリルビン値が独立で肝発癌に關与していた。経過観察開始 24 週間目の ALT 値が 40 IU/L 以下であった場合には、41 IU/L 以上の場合よりも有意に肝発癌が低く、同様に 24 週間目の AFP 値が 10 ng/mL 未満であった例では、10 ng/mL 以上の例よりも有意に肝発癌が低値であった。

(2) matched pair 試験では、コントロール群 59 例と PEGIFN α 2a 群から 59 例で、両群の患者背景は肝組織所見が Grading A2-3 が PEGIFN α 2a 群で多く、IFN 投与歴が PEGIFN α 2a 群で多く、白血球数が PEGIFN α 2a 群で少なかったが、それ以外には差がみられなかった。それぞれの肝発癌率を Kaplan Meier 法によって比較したところ、PEGIFN α 2a 群で有意に低いことが認められた。とくに F3, F4 の advanced fibrosis of the liver の症例だけに限定すると、PEGIFN α 2a 群で肝発癌が低いことが認められた。Stepwise Cox proportional hazard model によって肝発癌 risk factor を解析すると、PEGIFN α 2a の投与をうけたことと、年齢のみが有意な肝発癌 risk factor であった。

D. 考察

日本では高齢者の C 型肝炎が増加しているが、高齢者では肝発癌リスクが高いことが証明されている(1)。高齢者では PEGIFN と RBV 併用治療の完遂率が低いため、効果がでにくい。そこで、高齢者での肝発癌防止は解決すべき重要な課題である。PEGIFN α 2a と RBV 併用療法で無効であった症例に対して、PEGIFN α 2a 単独で治療した場合に、肝発癌が防止できるか否かについて、大規模無作為比較試験 (HALT-C study) が行われた。より長期間経過観察す

ることによって肝硬変例で肝発癌が低下することが報告された。したがって、欧米では少量の PEGIFN α 2a の maintenance 投与が肝発癌の抑制に寄与することが証明されている。今回の日本での多施設共同の retrospective 解析では、90 μ g の PEGIFN α 2a 単独を 1 週間から 2 週間に 1 回投与した例で、治療開始 24 週目の AFP 値が 10ng/ml 以下になるか ALT 値が 40 IU/L 未満になっていた場合に、肝発癌が少ないことが認められた。IFN 非投与のコントロール群との matched case-control study では F3, F4 の肝線維化進展例で、肝発癌が有意に少なかった。

したがって、日本において HALT-C study の肝線維化進展例における PEGIFN α 2a の肝発癌抑制効果が再確認されたと考えられる。

C 型慢性肝炎症例において、肝内脂肪化が肝発癌に關与する(3)。また糖尿病を合併することが肝発癌のリスクになる。肝発癌防止対策を行うことが、C 型肝炎患者の生命予後改善のために重要である。

E. 結論

肝線維化が進展した C 型慢性肝炎に対して PEGIFN α 2a の maintenance 投与によって、血清 ALT と AFP 値を参考にして、肝発癌防止対策を行うことが重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Asahina Y, Izumi N. et al. Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus infection. Hepatology 2010;52:518-27. (2) Kurosaki M, Izumi N, et al. Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. J Hepatol 2010 in press. (3) Kurosaki M, Izumi N. et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C is a significant risk factor for developing hepatocellular carcinoma independent of age, sex, obesity, fibrosis stage and response to interferon therapy. Hepatol Res 2010;40:870-7.

2. 学会発表

1. 朝比奈靖浩他.第46回日本肝臓学会総会シンポジウム、平成22年5月27日、山形. 2.黒崎雅之他. 第46回日本肝臓学会総会ワークショップ
山形、3. 朝比奈靖浩他 第14回日本肝臓学会大会パネルディスカッション 平成22年10月15日 横浜. 4. 黒崎雅之他 第14回日本肝臓学会大会 平成22年10月14日 横浜. 5加藤知爾他 第37回日本肝臓学会総会シンポジウム 平成22年12月4日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

今回の研究については予定なし。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

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

急性肝炎及びエンテカビル投与慢性肝症例におけるHBマーカーの推移の検討

研究分担者 四柳 宏 東京大学大学院医学系研究科 生体防御感染症学 准教授

研究要旨：B型急性肝炎におけるウイルスマーカーの推移をB型慢性肝炎に対してエンテカビルを投与した症例と比較した。急性肝炎119例の臨床経過は、発症から3ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの（Group A）60例、3ヶ月以降6ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの（Group B）42例、6ヶ月以降にHBs抗原が陰性化したもの（Group C）11例、慢性化したもの（Group D）6例に分かれた。HBs抗原、HBV DNA、HBcrAgの減衰速度はGroup A、B、Cの順に緩やかになった。Group Dでは、減衰したこれらのウイルスマーカーが4週時点で再上昇する傾向が認められた。また、エンテカビルを投与した慢性肝炎例では、HBV DNAの減衰はGroup Bとほぼ同様の結果であったが、HBcrAgの減衰は認められなかった。なお、慢性化例ではHBcrAgは増加した。以上の結果からエンテカビル投与はHBVの増殖を急性肝炎の治癒例同様抑制できるものの、肝細胞内のHBVプールを減らすことはできないことが確認された。また、急性肝炎例におけるウイルス排除は10%以上の症例で6ヶ月以上に及び、症例によって大きな差があることが確認された。

共同研究者

山田典栄 東京大学大学院医学系研究科
生体防御感染症学

A. 研究目的

本邦のB型肝炎の遺伝子型分布は大きく変化してきている。特に急性肝炎の症例では、半数以上の症例が従来本邦に見られなかった遺伝子型Aに感染している。持続感染（慢性肝炎）例に関しても遺伝子型Aの症例が急速に増加していることが報告されている。

遺伝子型Aの症例の増加に伴い、肝炎が遷延化、慢性化する症例が目立ってきた。遺伝子型Aの症例の約10%が急性肝炎から持続感染へと以降することが報告されており、大きな問題となりつつある。

急性肝炎から持続感染へ移行する症例は、ウイルス排除が遅れるか、ウイルス排除が十分におこらない症例と考えられる。こうした病態を理解し、十分な対策をとるためには、

多数の急性肝炎例を対象にしたウイルスマーカーの推移の検討が必要である。

今回我々はB型急性肝炎の症例を主な対象としてウイルスマーカーの推移を検討した。今後の遷延化例に対するエンテカビル投与の適応を考えるため、エンテカビル投与を行った慢性肝炎例も対象の一部に含めた。

B. 研究方法

2001年12月から2010年3月に当院及び関連病院に入院し、抗ウイルス療法を受けていないB型急性肝炎133例を対象とした（男：女=104：29、平均32.8±10.0歳）。遺伝子型の判定は118例で可能で、A：65例、B：16例、C：37例であった。

ウイルスマーカーはHBs抗原（CLEIA法：log IU/ml）、HBV DNA（RTD-PCR法：log copies/ml）、HBcrAg（LUMIPULS

E法：log IU/ml) を保存血清を用いて経時的に測定した。

C. 研究結果

1. 対象症例の背景因子

急性肝炎の背景因子を(表1)に示す。慢性化例は104例中6例(6%)であった。遺伝子型Aの症例は、遺伝子型Cの症例に比べて男性の割合が多かった($p=0.009$)。

2. HBs抗原の推移

症例をHBs抗原の陰性化の時期によりGroup A(発症から3ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの)、Group B(発症から3ヶ月以降6ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの)、Group C(発症から6ヶ月以降にHBs抗原が陰性化したもの)、Group D(慢性化したもの)に分けた。Group Aは60例、Group Bは42例、Group Cは11例、Group Dは6例であった。

各グループについて来院時、2週間後、4週間後、8週間後、12週間後のHBs抗原量を示したものを(表2)に示す。Group A、B、Cの順にHBs抗原の減衰はなだらかになった。Group Dでは2週間後に減少したHBs抗原が4週間後に再上昇する傾向が認められた。

3. HBV DNAの推移

2同様、症例をHBs抗原の陰性化の時期によりGroup A、B、C、D(慢性化したもの)に分けた。

各グループについて来院時、2週間後、4週間後、8週間後、12週間後のHBV DNA量を示したものを(表3)に示す。Group A、B、Cの順にHBV DNAの減衰はなだらかになった。Group Dでは2週間後に減少したHBV DNAが4週間後に再上昇する傾向が認められた。

慢性肝炎の症例にエンテカビルを投与した際との対比では、HBV DNAの減衰曲線

はGroup Bとほぼ同一の変化を示した。

4. HBcrAg(コア関連抗原)の推移

2同様、症例をHBs抗原の陰性化の時期によりGroup A、B、C、D(慢性化したもの)に分けた。

各グループについて来院時、2週間後、4週間後、8週間後、12週間後のHBcrAg量を示したものを(表4)に示す。Group A、B、Cの順にHBcrAgの減衰はなだらかになった。Group Dでは2週間後に減少したHBcrAgが4週間後に再上昇し、以後上昇を続ける傾向が認められた。

慢性肝炎の症例にエンテカビルを投与した際には、HBcrAgはほとんど変化を認めなかった。

D. 考察

B型急性肝炎は自然治癒傾向の強い疾患である。“治癒”とは一般にHBs抗原が陰性化することを指すが、B型急性肝炎の治癒した状態では、肝組織中では低レベルのウイルス増殖が持続しており、それが主として細胞性免疫応答により一定のレベルに抑えられている。このように考えると、急性肝炎の慢性化する機序は、ウイルスの増殖中が強い、あるいは宿主の免疫応答が弱いことにより、ウイルスを抑え込むことができないことにあると考えられる。

今回の検討結果から、慢性化した症例では、4週時点でHBs抗原、HBV DNAのいずれもが再上昇しており、ウイルスの活発な増殖が続いていることが確認された。この機序は不明であるが、いずれにしても、ウイルスマーカーの再上昇を認めることは慢性化を疑う所見である。

このような症例に対しては、現在エンテカビルの投与が行われることがある。しかしながらその効果は不明である。今回慢性肝炎に対するエンテカビル投与の結果からわかった

ことは、HBV DNAの減衰は急性肝炎と慢性肝炎の間で差はないが、HBc r Agの減衰は慢性肝炎ではほとんど認められないことである。この知見から考えると、急性肝炎が遷延化して、肝内のウイルスを排除するのに必要な免疫応答が十分に誘導されなければ、急性肝炎の状態でエンテカビルを投与しても治癒させることができないと考えられる。従ってエンテカビルの投与はHBc r Agの再上昇が認められた時点で行うのが理にかなっていると思われる。今後一層の検討が必要である。

本邦でも遺伝子型Aの肝炎例が増えており、今後は肝炎の予後を正確に推定することが重要になってくる。各種ウイルスマーカーのダイナミクスを調べることにより、少なくとも急性肝炎の慢性化に関しては予測が可能であり、特に4週後のウイルスマーカーの再上昇は大切であると考えられた。

E. 結論

1. B型急性肝炎の10%以上で、ウイルスが発症6ヶ月後でも排除されない。慢性肝炎への移行例も1割弱の症例で見られる。
2. 急性肝炎では、ウイルスマーカーの減衰速度により、ウイルスの排除される時期が推定可能である。
3. 発症4週後の時点でウイルスの再増殖が認められる症例は慢性肝炎に移行する可能性が高い。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 山田典栄, 四柳宏, 奥瀬千晃, 安田清美, 鈴木通博, 小池和彦. B型急性肝炎におけるHBs抗原陽性持続期間の検討. 肝臓51 : 534-535, 2010.

2. 学会発表

1) 四柳宏, 菊池嘉, 塚田訓久, 高松純樹, 森屋恭爾, 小池和彦, 加藤道夫, 髭修平, 茶山一彰. 本邦におけるHIV感染症に合併したHBV感染の実態 全国調査の結果から. 第84回日本感染症学会. 京都市, 2010年.

2) 高橋秀明, 奥瀬千晃, 四柳宏. B型肝炎診療の現在・未来 B型急性肝炎におけるHBsAg定量の臨床的意義. 第38回日本肝臓学会東部会. 東京, 2010年.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

表1 急性肝炎の患者背景

	年齢	性別 (男:女)	慢性化例 (男:女)
	32.8 ±		
全体	10.0	104 : 29	6 (5 : 1)
Genotype A	31.5 ± 9.6	60 : 4	5 (4 : 1)
Genotype B	29.2 ± 6.6	16 : 1	1 (1 : 0)
Genotype C	34.6 ± 9.0	27 : 10	0

表2 HBs抗原量の推移

	0W	2W	1M	2M	3M
group A	3.71 ± 0.99	1.48 ± 2.30	1.26 ± 1.94	-0.62 ± 1.69	-1.75 ± 0.70
group B	4.17 ± 0.47	3.46 ± 0.44	2.94 ± 0.54	1.58 ± 1.07	-0.38 ± 1.16
group C	4.56 ± 0.44	4.10 ± 1.03	4.06 ± 0.62	2.89 ± 0.90	2.03 ± 0.51
group D	4.31 ± 1.17	4.09 ± 1.34	4.13 ± 1.30	4.35 ± 1.08	4.03 ± 1.12

表3 HBV DNAの推移

	0W	2W	1M	2M	3M
group A	6.21 ± 1.92	4.16 ± 1.57	2.77 ± 0.94	2.17 ± 0.73	1.88 ± 0.48
group B	6.11 ± 1.15	4.58 ± 1.11	3.43 ± 0.74	2.86 ± 0.70	2.53 ± 0.52
group C	6.80 ± 0.95	5.83 ± 1.23	4.37 ± 1.68	4.50 ± 1.27	4.2
group D	7.58 ± 2.06	6.60 ± 2.44	8.25 ± 0.50	8.20 ± 0.52	8.20 ± 0.96

表4 HBcr抗原量の推移

	0W	2W	1M	2M	3M
group A	6.70 ± 0.89	5.13 ± 0.94	4.64 ± 0.53	3.93 ± 0.89	3.6 ± 0.49
group B	6.78 ± 0.56	5.98 ± 0.85	5.23 ± 0.30	4.60 ± 0.52	4.03 ± 0.30
group C	7.23 ± 0.40	6.23 ± 0.68	5.73 ± 1.01	5.10 ± 0.78	5.1
group D	7.56 ± 0.77	6.33 ± 0.90	7.73 ± 0.84	7.63 ± 0.90	7.60 ± 0.88