

OR6細胞とOR6c細胞と比較検討した。

2) 肝切除検体を用いて免疫染色を行いHTGLの発現レベルを3名の医師で比較検討した。対象は肝炎のない転移性肝がんの標本4例, C型慢性肝炎の肝細胞がんの標本4例, 非B非C肝炎の肝細胞がんの標本4例の検体を先の抗体を用いて免疫染色を行い, 染色の程度を2段階に分けて比較検討した。

(倫理面の配慮)

本研究で用いた患者検体はインフォームド・コンセントを得たものである。また検体はインターネットなどにつながらない独立したコンピューターで, 連結可能な匿名化によって情報を管理している。以上の配慮により倫理面に関しては問題ないとする。

C. 研究結果

1) 培養細胞を用いた免疫染色では, HCV タンパクが発現しているOR6細胞に比較してOR6c細胞における細胞質の染色レベルが有意に高かった (Fig.1)。

2) 症例は男女それぞれ6例, 平均年齢は72.6歳 (62-83歳)であった。12症例のうち11例でHBe抗体は陰性であった (1例は検査結果なし)。転移性肝がん4症例のうちHTGLの強発現が2例, 弱発現が2例であった。C型肝炎患者の検体では強発現が1例, 弱発現が3例, 非B非C型肝炎患者の検体では強発現が3例, 弱発現が1例であった (Table.1)

以上からHCV陽性患者の3/4例でHTGLの発現は弱かった。一方, 非HCV患者では5/8例でHTGLの発現が強かった。

D. 考察

患者における HTGL の発現を検討するには血中の HTGL の活性を測定することが簡便である。しかしながら HTGL は, 通常血中にごく微量の酵素活性のない不活性型酵素として認められるのみである。そのためヘパリンを静脈内投与することにより細胞表面にヘパリン硫酸様糖鎖を介して係留していた活性型 HTGL を流血中に遊離させることで測定可能となる。このヘパリン化採血をためには, 前段階として HTGL の測定が HCV の治療や感染予測に有用である可能性を示す必要があると考える。

今回はヘパリン採血による検討前に, 実際の肝細胞での HTGL の発現状態を検討するために行ったものである。3名の医師が個別に HTGL の発現程度をブラインドで2段階に分類した。現段階では患者検体でも C 型肝炎ウイルスに感染している肝組織で HTGL の発現が低下している傾向にあった。C 型肝炎の患者検体でも HTGL の発現が弱い傾向のものもあったが, これが抗ウイルス治療に対する反応性などに関連については不明である。Hishiki T.らは, 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を報告している (2010 J Virol) が, このことから HTGL の発現の変化はウイルスの増殖ではなく感染性に関与している可能性がある。今後は HTGL の発現や活性を客観的な数値化することで評価する必要がある。

E. 結論

HCV 感染は肝細胞における HTGL の発現を低下させていた。培養細胞を用いた検討と同様に, 肝切除検体を用いた検討でも HCV 感染患者の検体では HTGL の発現が低下している傾向を認めた。今後 HTGL の発現をターゲットとすることで新たな抗ウイルス薬につながる可能性が考えられる。

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

1) Serum nitric oxide metabolite as a biomarker of visceral fat accumulation: clinical significance of measurement for nitrate/nitrite. Fujita K, Wada K, Nozaki Y, Yoneda M, Endo H, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Saito S, Nakajima A. Med Sci Monit 2011; 17(3): CR123-31

2) Novel findings for the development of drug therapy for various liver diseases: Liver microsomal triglyceride transfer protein activator may be a possible therapeutic agent in non-alcoholic steatohepatitis. Fujita K, Imajo K, Shinohara Y, Nozaki Y, Wada K, Yoneda M, Endo H, Takahashi H, Abe Y, Inamori M, Shimamura T,

Kobayashi N, Kirikoshi H, Kubota K, Saito S, Nakajima A. J Pharmacol Sci 2011; 115(3) : 270-3

2. 学会発表

1) Shinohara Y, Fujita K, Imajo K, Mawatari H, Yoneda M, Shibata A, Kirikoshi H, Funakoshi K, Ikeda M, Kato N, Maeda S, Nakajima A, and Saitou S: Autophagy regulates Hepatitis C Virus replication. The 62nd AASLD, San Francisco, USA, 2011.

2) Shinohara Y, Fujita K, Imajo K, Mawatari H, Yoneda M, Shibata A, Kirikoshi H, Funakoshi K, Ikeda M, Kato N, Maeda S, Nakajima A, and Saitou S: HCV proteins are involved in selective autophagy. The 62nd AASLD, San Francisco, USA, 2011.

3) 篠原義康, 加藤真吾, 池田正徳, 加藤宣之, 前田慎, 中島淳, 斉藤聡: Hepatitis C Virus induces aggregation of p62. 第70回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2011年

4) 篠原義康, 馬渡弘典, 藤田浩司, 米田正人, 今城健人, 芝田渉, 桐越博之, 船越健悟, 池田正徳, 加藤宣之, 前田慎, 中島淳, 斉藤聡: HCVレプリコン細胞におけるVLDL, LDLreceptorの検討. 第23回日本肝臓学会西部会, 岡山, 2011年

5) Shinohara Y, Fujita K, Imajo K, Mawatari H, Yoneda M, Shibata A, Kirikoshi H, Funakoshi K, Ikeda M, Kato N, Maeda S, Nakajima A, and Saitou S: Hepatitis C Virus regulates p62 metabolism. International Union of Microbiological Societies 2011 Sapporo, Japan, 2011.

H.知的所有権の出願・取得状況

1.特許取得

なし

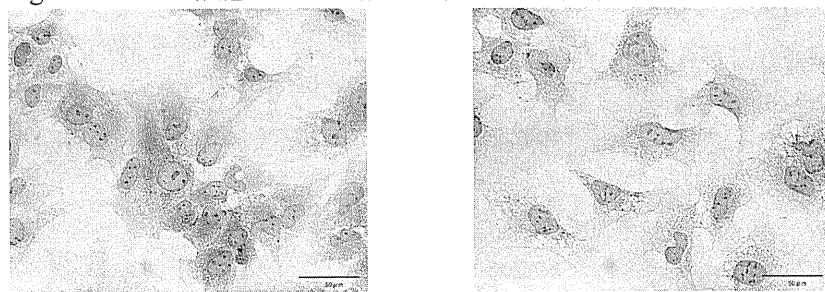
2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

Figure.1 : OR6 細胞と OR6c 細胞の抗 HTGL 抗体による免疫染色



OR6c 細胞(IFN-α 500U)

OR6c 細胞

Table.1 : 患者検体における HTGL 発現レベルの免疫染色による検討

肝 炎	年 齢	性 別	HBc 抗体	染色レベル
肝炎なし (転移性肝がん)	78	M	negative	2
肝炎なし (転移性肝がん)	62	F	negative	1
肝炎なし (転移性肝がん)	65	M	negative	2
肝炎なし (転移性肝がん)	83	F	negative	1
C 型肝炎	82	F	negative	1
C 型肝炎	63	M	negative	1
C 型肝炎	72	M	negative	1
C 型肝炎	67	F	NP	2
非 B 非 C 肝炎	74	F	negative	2
非 B 非 C 肝炎	75	M	negative	2
非 B 非 C 肝炎	76	M	negative	1
非 B 非 C 肝炎	74	F	negative	2

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 C 型肝炎治療の研究

研究分担者 森屋恭爾 所属機関 東京大学 職名 教授

研究要旨：HCV 感染において脂質代謝異常が惹起されることを我々はマウスおよびヒトで示し肝発癌との関連を示してきた。今回 C 型肝炎ウイルス治療に対し IFN と併用することにより SVR 率が高まる statin に注目し、HCV core 遺伝子により発現変化がみられる脂質代謝関連遺伝子が statin 投与により改善すること、またその機序の中で直接的な mitochondria 機能の改善、apoptosis の誘導の結果をマウスモデルで得た。これらは HCV のみならず HBV,NASH においても statin が発癌抑制作用を有するか検討する価値があることを示唆している。

A. 研究目的

肝臓発癌において肝臓の脂質代謝変化、および mitochondria を中心とした酸化ストレスが病態の中心であることを C 型肝炎マウスモデルで我々は示してきた。HBV,NASH（非アルコール性脂肪肝）における肝細胞発癌においても共通の病態が存在している報告が積み重ねられつつある。①今回 HCV core 蛋白発現マウスモデルにたいし statin（weak statin）を投与し特に apoptosis 誘導がもたらされるか検討した。

B. 研究方法

HCV core 遺伝子発現マウス、コントロールマウスそれぞれに statin 投与群、非投与群を設定し western blotting, real time PCR によって肝臓の脂質代謝遺伝子群とともに apoptosis 関連蛋白について検討した。

（倫理面の配慮）

マウスに対し苦痛を与えることなく処理し倫理面の配慮を行った。

C. 研究結果

HCV core 蛋白による脂質不飽和酵素、脂肪酸合成酵素の発現亢進が低下するとともに抑制されていた GPAM（mitochondria 内への脂質取り込み）発現改善を認めた。

HCV core 遺伝子発現マウスにおいてのみ statin は apoptosis signal を誘導し caspase3 の切断をマウス肝臓で確認した。

D. 考察

臨床的に示唆された statin による HCV 治療効果は今回直接的な HCV 脂質代謝改善と apoptosis 誘導である可能性が示された。statin による apoptosis 誘導は HCV 増殖系において statin 投与が有効性を有する基礎的データのの一つとなることが示された。

E. 結論

C 型肝炎マウスモデルにおいて statin が HCV に起因する脂質代謝異常の改善と apoptosis 誘導という直接的な働きを有することが示された。今回のデータから HBV, における肝細胞発癌においても statin が増殖抑制効果を有するか検討する必要性が認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hepatocarcinogenesis in hepatitis C: HCV shrewdly exacerbates oxidative stress by modulating both production and scavenging of reactive oxygen species. Fujinaga H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K. *Oncology*. 2011;81 Suppl 1:11-7. Epub 2011 Dec 22.

2) LXR agonist increases apoE secretion from HepG2 spheroid, together with an increased production of VLDL and apoE-rich large HDL. Kurano M, Iso-O N, Hara M, Ishizaka N, Moriya K, Koike K, Tsukamoto K.

3) Liquid chromatographic separation of proteins derivatized with a fluorogenic reagent at cysteinyl residues on a non-porous column for differential proteomics analysis. Koshiyama A, Ichibangase T, Moriya K, Koike K, Yazawa I, Imai K.

J Chromatogr A. 2011 Jun 3;1218(22):3447-52. Epub 2011 Apr 4.

Lipids Health Dis. 2011 Aug 5;10:134.

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

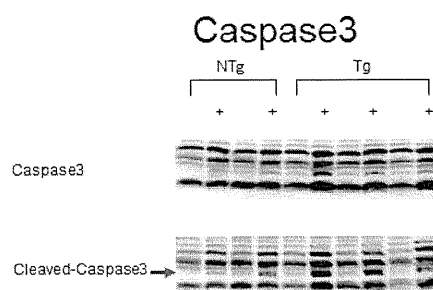
2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記なし

statin による apoptosis 誘導



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: C 型肝炎ウイルス(HCV)の感染・複製には脂質代謝が重要な役割を担っている。また小腸粘膜に存在するコレステロールトランスポーターである Niemann-Pick C1-like 1(NPC1L1)は肝細胞表面にも発現している。本研究においてわれわれは米国イリノイ大学との共同により、NPC1L1 が HCV 感染にどのような役割を果たしているのかを検討した。肝癌細胞株において siRNA や抗体を用いて NPC1L1 の発現を抑制すると JFH-1 の感染が抑制された。NPC1L1 の拮抗薬であるエゼチミブは、HCV 侵入を強力に阻害し、この阻害は、いずれの HCV genotype においても確認された。ヒト肝細胞キメラマウスにエゼチミブを 2 週間連日投与後、genotype 1b 型 HCV を投与したところ、コントロール投与群に比べ、HCV 感染が有意に抑制された。これらの結果は、NPC1L1 は HCV のレセプターであり、ウイルスの entry に重要な役割を働いており、拮抗薬であるエゼチミブが HCV の感染阻害剤となる可能性を示すものである。

A. 研究目的

小腸粘膜に存在するコレステロールトランスポーターである Niemann-Pick C1-like 1(NPC1L1)は、肝細胞にも発現していることが報告されている。C 型肝炎ウイルス(HCV)の感染・増殖において脂質代謝は重要な役割を担っており、NPC1L1 が HCV の感染・増殖に何らかの影響を及ぼしている可能性があると考え、細胞および動物モデルを用いて NPC1L1 の役割を解析した。

B. 研究方法

- ・細胞実験(主に米国イリノイ大学にて施行)：Huh7細胞にJFH-1クローンをtransfection後、培養上清をnaïveなHuh7細胞に添加してHCVを感染させた。その際、siRNA、抗体あるいはエゼチミブを用いてNPC1L1を阻害し、感染性を検討した。
- ・動物実験(主に当研究室にて施行)：ヒト

肝細胞キメラマウスに10 mg/kg/BWのエゼチミブあるいはControlとして非活性型の薬剤を2週間連日経口投与後、 10^5 copyのHCVを静脈内投与した。投与1週後にマウス血液を採取し、血中HCV RNA量をreal-time PCRにて測定した。

C. 結果

Huh7細胞にJFH-1培養上清を感染させたところ、細胞内のNPC1L1の発現が低下した。このことよりNPC1L1はHCV感染と何らかの関わりがあるものと思われた。JFH-1の感染前にHuh7細胞にsiRNAあるいは抗体を用いてNPC1L1を阻害したところ、HCV感染は抑制され、その程度は既存のHCV receptorであるCD81, OCLN, CLDN1を阻害した場合と同程度であった。一方、HCVレプリコン細胞においてNPC1L1を阻害してもHCVは抑制されず、これらの結果は、

NPC1L1はHCVの感染には必須であるが、複製には影響していないことを示すものである。Huh7細胞にエゼチミブを添加後、JFH-1を感染させたところ、エゼチミブの用量依存性に感染が抑制された。JFH-1を用いた種々のHCV genotypeにおいてもエゼチミブによる感染抑制効果を認めた。

ヒト肝細胞キメラマウスにおいて、非活性型薬剤投与群ではHCV投与1週後、血中HCVは5頭すべて（100%）が陽性になったのに対し、エゼチミブ投与群では7頭中2頭（29%）のみが陽性となった（ $p=0.013$ ）。

D. 考察

肝癌細胞株およびヒト肝細胞キメラマウスを用いてNPC1L1がHCVのレセプターであること、エゼチミブはNPC1L1をブロックすることによりHCVの感染が抑制されることを見いだした。

E. 結論

エゼチミブはHCVの感染予防薬となり得る可能性がある。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sainz B Jr, Barretto N, Martin DN, Hiraga N, Imamura M, Hussain S, Marsh KA, Yu X, Chayama K, Alrefai WA, Uprichard SL. Identification of the Niemann-Pick C1-like 1 cholesterol absorption receptor as a new hepatitis C virus entry factor. Nat Med 18; 281-5, 2012.

2. 学会発表

・ Hiraga N, Imamura M, Abe H, Hayes CN, Tsuge M, Takahashi T, Ochi H, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Tateno C, Yoshizato K, Matsui H, Kanai A, Inaba T, Chayama K. Rapid Emergence of Telaprevir Resistant Hepatitis C Virus Strain From Wild Type Clone in Vivo. 12th AASLD, San Francisco. November 4, 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

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・リバビリン併用療法における テプレノン併用効果の無作為化比較試験による検討に関する研究

研究分担者 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症例の組入れを継続した。背景因子の解析として、コアアミノ酸の変異の解析に加えて、IL28B 遺伝子近傍の遺伝子多型の解析を行った。現在までに 156 例が登録され、治療前の背景はコアのアミノ酸 aa70 の置換を含めてテプレノン併用・非併用群間に有意な差を認めていない。現在のところテプレノンの併用との因果関係が疑われるものも含めて重篤な有害事象は認めないが、テプレノン併用群で中止率が高く($P=0.032$)完遂率が低い傾向であった($P=0.070$)。有効性に関しては、治療中および治療終了時のウイルス陰性率は両群間に有意な差は認めていない。一方、治療終了後 24 週のウイルス陰性率は、PP 解析においてテプレノン併用群で高い傾向であった($P=0.093$)。今後、試験の最終結果とともに、安全性も含めた詳細な解析が必要である。

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・肝臓内科学

共同研究施設

岡山大学病院
広島市民病院
岡山済生会総合病院
福山市民病院
香川県立中央病院
三原赤十字病院
津山中央病院
岡山市民病院

A. 研究目的

1 型高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対してペグインターフェロンとリバビリン併用療法が行われてきたが、依然としてウイルス排除率は約 50%にすぎない。より有効性が高い新規の抗ウイルス剤である第一世代のプロテアーゼ阻害剤の使用も可能となったが、副作用の増強がことに高齢者や合併症を有する例では懸念されている。

したがって、より有効かつ安全な治療法が求められている。

最近、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、スタチンに続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。テプレノンは慢性胃炎に対する治療薬として広く用いられており、その安全性は確立している。そこで、1 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無作為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、多施設共同、並行群間比較、オープンラベル、中央登録方式による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 α -2b+リバビリン群 (I 群) とペグインターフェロン α -2b+リバビリン+テプレノン群 (II 群) に無作為に割付けた。ペグインターフェロンとリバビリン併用治療は原則として添付文書に基づく標準投与

量にて開始し、ガイドラインに従い適応の症例には48週から72週を目標として期間を延長して治療した。ペグインターフェロン α -2b とリバビリンの減量・中止基準は原則として各薬剤の添付文書に従った。II群については、48ないし72週間のペグインターフェロン α -2b とリバビリン併用療法中に、テプレノン 150 mg を1日3回に分けて食後に経口投与した。

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、HCV コアのアミノ酸配列とウイルス学的効果の関連、有害事象発現状況とした。同意が得られた患者について、*IL28B*近傍遺伝子多型(rs8099917)を解析した。HCV コアのアミノ酸配列は、血清より抽出したRNAを逆転写酵素によりcDNAに変換し、PCRにより増幅したのち、直接シーケンスにてaa70およびaa91のアミノ酸を決定した。*IL28B*近傍の遺伝子多型(rs8099917)については、末梢白血球よりゲノムDNAを抽出し、PCR法にて増幅したのち、直接シーケンス法あるいはTaqMan法にて解析した。

(倫理面の配慮)

当該施設のIRB(倫理委員会、ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会)の承認を得た。

C. 研究結果

平成23年12月末の時点で、156例(I群78例、II群78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、 γ -GT値、ウイルス量、HCV コアのアミノ酸(aa70、aa91)、*IL28B*近傍の遺伝子多型(rs8099917)に両群間で有意差を認めない(表)。

安全性に関しては、I群、II群それぞれ中止率26.0%、43.9%、完遂率28.0%、14.0%と、II群で中止率が高く($P=0.032$)、完遂率が低い($P=0.072$)傾向であった。現在までに、重篤な有害事象はみられず、テプレノン併用との因果関係が疑われる有害事象も認めない。

治療開始後のウイルス陰性化率は治療終了時も含めて、ITTおよびPP解析のいずれにおいても両群間で明らかな差は認めない(図1)。一方、投与終了後24週のウイルス陰性率は、ITT解析にてI群42%、II群

50%であり($P=0.269$)、PP解析ではI群63%、II群81%と($P=0.093$)、II群でやや高い傾向であった(図2)。

D. 考察

現在のところ両群間の背景因子に差を認めず、無作為化割り付けは問題なく行われている。ウイルス因子のHCV コアのアミノ酸変異ならびに、*IL28B* 遺伝子近傍の遺伝子多型のいずれも、わが国における既報の頻度とほぼ同等と言える。

安全性に関する成績では、テプレノン併用群で中止率が高く、完遂率が低い傾向にあったが、テプレノンは慢性胃炎の治療薬として広く用いられており、治療の中止に結びつくような有害事象の発生は考えにくいと思われる。今後、詳細な検討が必要である。

治療中および治療終了時のウイルス陰性率は両群間で明らかな差は認めないが、治療終了後24週のウイルス陰性率は、PP解析ではテプレノン併用群で高い傾向であった。したがって、テプレノン併用ではスタチンで報告されているような比較的治療早期の抗ウイルス効果の増強は認められない。一方、治療終了後のウイルス再燃が抑制される可能性が示唆された。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いるが、C型肝炎患者では確認されていない。その作用機序も含めて、今後の検討が必要である。

E. 結論

現在までに2群間の背景に差を認めず、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により、治療終了後のウイルス再燃が抑制される可能性が示唆された。試験の最終的な結果とともに、安全性も含めて今後の解析が必要である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

なし

2. 論文発表

なし

H.知的所有権の出願・取得状況

1.特許取得

なし

表

対象背景

	全症例 (n=156)	I群 (n=78)	II群 (n=78)	P
性別(男/女)	75 / 81	39 / 39	36 / 42	0.749
年齢(歳)	58.0±10.3	58.4±10.3	57.6±10.4	0.692
体重(kg)	59.4±11.1	59.5±10.6	58.7±11.1	0.641
IFN治療歴(無/有)	124 / 32	61 / 17	63 / 15	0.843
好中球数(/ μ L)	2673±1230	2671±1215	2675±1252	0.984
ヘモグロビン(g/dL)	14.1±1.5	14.0±1.3	14.2±1.6	0.454
血小板数($\times 10^4$ / μ L)	17.8±5.4	17.8±5.4	17.8±5.4	0.999
ALT(IU/L)	52±39	54±41	50±37	0.612
γ -GT(IU/L)	44±50	40±33	49±61	0.242
HCV RNA(LogIU/mL)	6.5±0.5	6.5±0.5	6.5±0.6	0.730
Core aa70(野生型/置換型)	69/29	35/12	34/17	0.398
Core aa91(野生型/置換型)	67/32	33/14	34/18	0.608
ISDR(野生型/変異型)	77/20	38/11	39/9	0.422
<i>IL28B</i> rs8099917(TT/TG+GG)	59/20	27/10	32/10	0.799

図2

治療開始後の経時的ウイルス陰性率

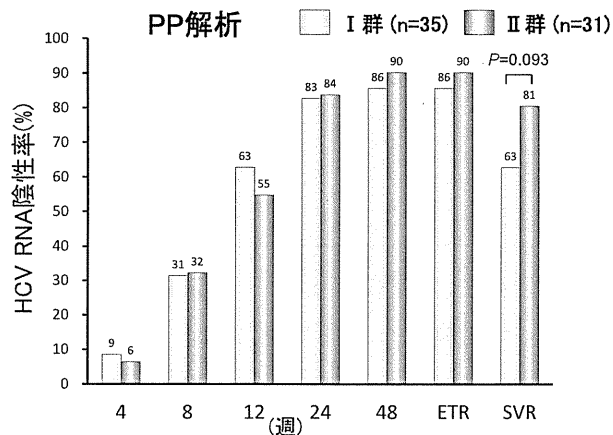
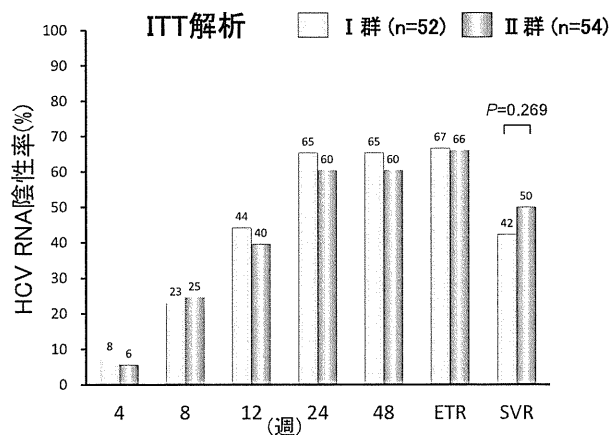


図1

治療開始後の経時的ウイルス陰性率



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 三剤併用療法における薬剤投与率の抗ウイルス効果におよぼす影響

研究分担者 豊田成司 札幌厚生病院 院長

研究要旨:1型高ウイルスC型慢性肝炎94例を対象とし三剤併用療法の抗ウイルス効果と各薬剤投与率との関連について検討した。IL28B SNP(rs 8099917)がTT症例では極めて抗ウイルス効果が高く、投与率の改善によりほとんどの症例でSVRが得られると考えられた。TG/GG症例においても前治療再燃例では高率にSVRとなったが、初回治療例および前治療無効例の効果をさらに向上させるためには薬剤投与量を工夫して投与完遂を目指すべきであり、今後延長投与も含めて投与総量を増加させることも選択肢となると推察された。

A. 研究目的

Genotype 1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(Telaprevir)三剤併用療法における各薬剤の予定投与量に対する投与率と抗ウイルス効果との関連について検討した。

B. 研究方法

三剤併用療法を施行された1型高ウイルス症例94例を解析対象とした。患者背景は男性52例、女性42例、平均年齢は 54.9 ± 8.0 歳、投与前Hb値は 14.4 ± 1.2 g/dl、HCV RNA量は 6.7 ± 0.5 logIU/mlであり、前治療歴は初回治療例25例、再燃例44例、無効例25例であった。また、45例(47.9%)にHCV Core領域の70番アミノ酸変異を認め、IL28B遺伝子多型(rs 8099917)はTT50例、TG/GG44例であった(表-1)。

薬剤投与量はPEGおよびRBVはbody weight baseで投与量を設定したが投与前Hb値が12g台の低値例にはRBVを規定量より200mg減じて投与し、Telaprevirは2,250mgを三分割で投与した。投与期間は三剤併用し

て12週投与したのちさらにPEG/RBVを12週投与する計24週を基本とし、その予定投与総量に対する投与率を個々の症例ごとに算出した。

(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

94例の抗ウイルス効果はSVR 69例(73.4%),TVR19例(20.2%),NVR 2例(2.1%)viral breakthrough(VBT)4例(4.3%)であった。また、24週投与完遂例は82例(87.2%)であり、各薬剤の投与率はPEG 84.1 \pm 23.4%、Telaprevir 96.4 \pm 8.4%、RBV49.9 \pm 17.5%であった(表-2)。

PEGの投与量別にSVR率をみると、投与率が80%未満ではSVRが57.7%(15/26)であ

ったのに対し 80%以上では 79.4%(54/68)と高率に SVR が得られていた($p<0.05$)(図—1)。Telaprevir は投与率が 90%以上の症例が 80例と大多数を占めこれらでは 77.5%が SVR となったが、90%未満の 14 例では 50%と SVR 率が低下した(図—2)。RBV の投与率は広く分散しており投与率が増加するにつれて SVR 率が向上する傾向がみられたが、40%以上投与された症例では 79.7%(53/67)が SVR となった(図—3)。

また、IL28B SNP 別に SVR 率をみると TT 症例では 94%,TG/GG 症例では 50%と大きな差を認めたため、以後の解析は SNP 別におこなった。

TT 症例 50 例中 42 例で 24 週投与が完遂されており、途中中止となった 8 例からも 6 例が SVR となった。PEG の投与率は 14.6~100%であったが、36 例が 80%以上投与されておりうち 26 例と全体の半数以上が投与率 100%であった。Telaprevir はさらに投与率が良好で最低でも 67.9%投与されており、45 例で 100%投与されていた。RBV の投与率は 14.2~91.5%と広く分布し、平均では $48.9\pm 18.1\%$ と予定投与量の半分程度であった(図—4)。しかし、TT 症例で non SVR となったのは 3 例のみで、このうち VBT を起こした 1 例は PEG および TVR は 100%投与されており RBV も 62.7%と投与率が比較的良好な症例であった。一方、再燃した 2 例は 2 週および 4 週で RNA が陰性となったが貧血のため 11 週と 12 週で投与中止となっていた。そのため薬剤投与率も Telaprevir は 90%前後と良好であったが、PEG は 45.8%と 29.2%と低率で RBV は 29.2%と 25.3%とさらに低い投与率であった(表—3)。

TG/GG 症例では 44 例中 23 例と半数以上が前治療無効例であり、Core70 番アミノ酸変異率も 67.4%と高率であった。これらでの 24 週投与完遂率は 90.9%(40/44)と高かったが、その抗ウイルス効果は前治療歴によって大きな

差がみられた。すなわち、初回治療例では 50%(5/10)の SVR 率であったが、前治療再燃例では 90.9%(10/11)と高率に SVR が得られ途中中止となった 1 例も SVR となっていた。一方、前治療無効例では SVR 率が 30.4%(7/23)と低率で途中で治療を中止した 3 例はいずれも再燃した(表—4)。さらに NVR および VBT 症例もそれぞれ 2 例と 3 例認めたが、これらの症例では 1 例が Genotype 1a であったため同定不能であったが、残りの 4 例はいずれも Core70 番が変異型であった。

初回治療 10 例の各薬剤投与率は、PEG 56.3~100%、Telaprevir は 2 例を除いて 100%投与されていた。RBV の投与率は 33.3~56.0%であったが、とくに再燃した 5 例では平均で $39.7\pm 6.8\%$ と低い投与率であった(図—5)。前治療再燃例での PEG の投与率は再燃した 1 例を含めた 2 例のみが 70%未満であったが、残りの 9 例はいずれも 90%以上の高い投与率であり TVR は全例でほぼ予定投与量を満たしていた。RBV の投与率も $62.5\pm 17.2\%$ と比較的高く再燃した 1 例でも 77.4%と高い投与率であった(図—6)。前治療無効例 23 例の PEG 投与率は 20.8~100%であったが、SVR 例では 7 例中 6 例で 100%投与されており残りの 1 例も 81.3%と高い投与率を示していた。一方、再燃した 11 例中 5 例および NVR の 2 例では 80%未満と低率であったが VBT の 3 例はいずれも 80%以上の投与率であった。また、Telaprevir は NVR、VBT の 5 例を含め 16 例(69.6%)で 100%投与されており、投与率が最低であった症例でも 67.9%投与されていた。RBV の投与率は 12.8~92.6%と症例間で大きな差がみられたが、SVR となった 7 例は全例 24 週投与完遂例であり RBV 投与率も 48.5~92.6%と比較的良好な投与率であった。これに対し、再燃した 11 例の投与率は 12.8~59.1%と低く平均でも $38.6\pm 15.2\%$ と SVR 例に比べて有意に低率であった($p<0.01$)。しかし、NVR および VBT の 5 例

では 54.2±11.6%と再燃例のような投与率の低下はみられなかった (図一7)。

D. 考察

C 型肝炎の抗ウイルス療法に際しては血球系などに対する副作用による薬剤の減量・中止が抗ウイルス効果に強く影響することが知られている。本三剤併用療法においても予定どおり 24 週投与された症例では 75.6%が SVR となり投与完遂の重要性が示唆されたが、副作用中止例でも 58.3%と高い SVR 率が得られ本療法が従来の治療法と比較して極めて強力であることが示された。

各薬剤の投与率と抗ウイルス効果の関連をみると、PEG/RBV 療法に際して PEG の投与量は予定投与量の 80%以上が望ましいとされているが、三剤併用療法でも同様に 80%以上の投与例では高い SVR 率が得られていた。RBV および Telaprevir の重要な副作用として Hb 低下が指摘されておりこの二剤を併用することでより一層強く発現すると予測されるが、今回の臨床試験では Telaprevir の減量は不可と規定されておりこの Hb 低下に対してはもっぱら RBV の減量で対処されていた。さらに、Telaprevir の投与期間は前半の 12 週であるためその投与率は極めて高率であった。一方、RBV の投与量は減量の影響で広汎に分布し投与総量の増加にともなって SVR 率が向上する傾向がみられたが、高率に SVR を得るためには少なくとも 40%以上が必要と推察された。

また、IL28B SNP の違いにより臨床効果は大きく異なり、TT 症例では 94%と極めて高い SVR 率となっていた。SVR が得られなかった 3 例のうち 2 例では早期に RNA が陰性化したものの貧血の増強により 11~12 週で投与中止となっており、したがってこれら 2 例の PEG および RBV の投与量は極めて低率であった。これらの症例では Hb 低下に対して RBV のみならず Telaprevir の減量を含めて迅速かつ

適切に対処し投与完遂を目指していれば SVR となった可能性が高いと考えられ、TT 症例では投与量を工夫するなどすればほとんどの症例で SVR が得られるものと推察される。一方、TG/GG 症例では前治療の効果が三剤併用療法の効果に大きく影響していた。前治療再燃例では高率に SVR が得られ、RBV が予定量の 25.4%しか投与出来なかった症例も SVR となった。また、もつとも SVR 率が低かったのが前治療無効例であった。23 例中 7 例のみが SVR となったが、これらは全て投与完遂例であり各薬剤の投与量をみてもいずれも高い投与率であった。これに比べ再燃した 11 例では PEG,RBV のいずれも SVR 例の投与率より低く、また途中で中止となった 3 例はいずれも再燃した。したがって、これらの再燃に対しては薬剤の用量調節により投与を完遂させる、あるいは投与期間を延長して予定投与量に近づけることにより効果を改善出来るのではないかと推察される。また、NVR あるいは VBT 症例も 2 例と 3 例認めたが、これら 5 例はいずれも投与を完遂しており各薬剤の投与率も高率であった。したがって、これらの 5 例については強力な三剤併用療法をもってしても SVR を得るのは困難な症例と考えられた。

この三剤併用療法がこれから C 型肝炎治療の第一選択薬となっていく可能性が高いと考えられるが、今後は投与量や投与期間を検討しさらに効果を向上させるようにしていくことが重要と思われた。

E. 結論

PEG / RBV / Telaprevir 三剤併用療法の抗ウイルス効果は極めて強力であり、PEG / RBV 二剤併用療法同様に投与法を工夫して投与完遂を目指すことにより一層高い効果を得ることが出来ると推察された。

F. 研究発表

1. Antiviral effects of peginterferon

alpha-2b and ribavirin following 24-week monotherapy of telaprevir in Japanese hepatitis C patients. Ozeki I, Akaike J, Karino Y, Arakawa T, Kuwata Y, Ohmura T, Sato T, Kamiya N, Yamada I, Chayama K, Kumada H, Toyota J. J Gastroenterol 2011 ;46: 929-937

2. 小関 至、狩野吉康、豊田成司、高橋祥一、川上由育、茶山一彰、芥田憲夫、鈴木文孝、熊田博光.

PEG-IFN/Ribavirin/Telaprevir 三剤併用療法における薬剤投与率の抗ウイルス効果に及ぼす影響. 肝臓 in press

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

ウイルス因子および宿主因子からみた、NS5A 阻害剤を用いた治療の治療成績

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

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 NS5A 阻害剤(BMS-790052)と Pegylated Interferon (PEG-IFN)-Ribavirin (RBV)24 週間併用療法は、SVR 率は初回治療例が 67%(6/9)、前治療無効例が 25%(2/8)であった。それぞれ NS5A 阻害剤の用量比較を行ったが、全体の SVR 率は 60mg 群が 63%(5/8)、10mg 群が 33%(3/9)であり、60mg 群が高いものと考えられた。また HCV core 70 番が wild か mutant かによっては治療効果に差は認めず、*IL28B*が TG の症例は治療中に HCV RNA が再燃する例があり、SVR 率が低率となるものと考えられた。NS5A 阻害剤(BMS-790052)+NS3 阻害剤(BMS-650032)24 週間併用療法は、SVR 率は初回治療例が 58%(7/12)、前治療無効例が 91%(10/11)であった。NS5 領域に治療開始前より耐性変異を有していた症例 3 例中 2 例が治療中に breakthrough を生じ、1 例は治療終了後再燃した。*IL28B* genotype、HCV core70 番の変異の有無によっては、最終的な SVR 率に差は認めず、TT/wild 88%、TT/mutant 50%、TG/wild 50%、TG/mutant でも 100%の SVR を達成した。より副作用の少ない抗 HCV 薬の出現が望まれており、さらには内服のみで HCV を制御可能となれば、より多くの症例に治療の機会が与えられるものと期待される。

A. 研究目的

従来難治性とされてきた genotype1 型症例の治療として Telaprevir が認可されたことにより、治療成績は飛躍的に向上することが期待される。しかしながら、Telaprevir を用いた 3 剤併用療法は副作用も多く、使用可能な症例も限られたものとなることも予想される。したがって、より副作用の少ない治療法として NS5A 阻害剤を用いた治療法の有用性をウイルス要因および宿主要因から検討し、明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

虎の門病院において、genotype 1 型、高ウイルス量症例に対し、NS5A 阻害剤(BMS-790052)と PEG-IFN+RBV24 週間併用療法を施行した 17 例および NS5A 阻害剤(BMS-790052)+NS3 阻害剤(BMS-650032)24 週間併用療法を施行された 23 例における治療中のウイルス動態と最終的な治療

効果について、ウイルス因子(HCV core 領域の 70 番目のアミノ酸変異の有無)および宿主因子(*IL28B* genotype;rs8099917)との関係を検討した。

(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、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) NS5A 阻害剤 (BMS-790052) と PEG-IFN+RBV24 週間併用療法の治療経過と成績
17 例の内男性 7 例、女性 10 例、年齢中央値 61 歳、初回治療例 9 例、PEG-IFN+RBV 無効例 8 例であった。前治療の有無によりそれぞれ NS5A 阻害剤は 60mg/日と 10mg/日の比較を行った。まず、naïve 症例 9 例でその治療経過をみ

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。HCV core 70 番は 10mg 群の 3 例が mutant であった。10mg 群の 1 例が 12 週目に HCV RNA が 2 \log_{10} 低下に至らなかった(NVR)ため治療中止となったほかは、いずれも 6 週以内に HCV RNA の陰性化を認めた。10mg 群の中で RBV を減量し、RBV adherence が 50% 台であった症例が 2 例あり、この症例は治療終了後再燃したが、その他の 6 例(67%)は治療終了 24 週目も HCV RNA の陰性化を維持(SVR)していた。PEG-IFN+RBV 無効例は、60mg 群の 1 例を除いて全例が *IL28B* TG であり、HCV core 70 番は 60mg 群の 4 例中 3 例、10mg 群の 4 例中 2 例が mutant であった。また、前治療で 2 \log_{10} も低下を認めなかった症例は 4 例とも 60mg 群であった。各群の 1 例ずつが NVR であった他は、治療開始前に NS5A の耐性変異を有していた症例も含め 6 週以内に HCV RNA は陰性化を認めたが、治療中 breakthrough および治療後再燃を来し、SVR に至ったのは、各群 *IL28B* TG、HCV core mutant の 1 例ずつのみ(25%)であった。全例で HCV core 70 番のアミノ酸変異および *IL28B* genotype 別に RNA の推移および治療効果をみてみると、SVR 率は core70 番が wild は 56%、mutant は 38% で有意差には至らなかった。さらに TT/wild の 6 症例は治療終了時 HCV RNA は 100% 陰性化しており、SVR 率も 83% と高率であったが、TG/wild 3 例、TG/mutant の 8 症例は、治療中 breakthrough を来したり、治療後再燃することにより、SVR 率はそれぞれ 0%、38% と低率であった。

(2) NS5A 阻害剤(BMS-790052)+NS3 阻害剤(BMS-650032)24 週併用療法の治療経過と成績

23 例中男性 7 例、女性 16 例、年齢中央値 61 歳、初回治療例(SOC 不適格例)12 例、PEG-IFN+RBV 無効例 11 例であった。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 例陰性化した。4 週目で 1.2logIU/ml 未満とならなかったために SOC を併用し、48 週治療を行った症例が 1 例あったが、この症例も終了後後 12 週目まで RNA の陰性化を維持している。最終的な治療効果は SVR91%(10/11)であった。初回治療例は、*IL28B* は 11 例が TT、core70 番は 5 例が mutant type であった。6 週までに全例 RNA の陰性化を認めた。NS5 領域に治療開始前より耐性変異を有していた症例 3 例中 2 例が治療中に breakthrough を生じ、1 例は治療終了後再燃した。その他 1 例再燃し、最終的な SVR 率は 58%(7/12)であった。全例で HCV core 70 番のアミノ酸変異および *IL28B* genotype 別に RNA の推移および治療効果をみてみると、いずれのタイプにも関わらず 4 週目より 50-60% 代の RNA 陰性化を認めており、治療終了後も TT/wild 88%、TT/mutant 50%、TG/wild 50%、TG/mutant でも 100% の SVR を達成した。

D. 考察

Genotype 1b 型、高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する 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 SVR 率は 60mg 群が 63%(5/8)、10mg 群が 33%(3/9)であり、60mg 群が高いものと考えられた。また HCV core 70 番が wild か mutant かによっては治療効果に差は認めず、*IL28B* が TG の症例は治療中に HCV RNA が再燃する例があり、SVR 率が低率となるものと考えられた。

NS5A 阻害剤(BMS-790052)+NS3 阻害剤(BMS-650032)24 週併用療法は *IL28B* genotype、HCV core70 番の変異の有無によっても、最終的な SVR 率に差は認めず、治療効果は良好であったが、治療開始前の NS3 または NS5A 領域に薬剤耐性変異を持つウイルスを認める症例があり、その治療効果に関しては今後の検討が必要と考えられた。

E. 結論

Telaprevir が使用可能となり、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。しかしながら、高齢者の多い本邦では、より副作用の少ない NS5A 阻害剤などの併用療法が望まれており、さらには内服のみで HCV を制御可能となれば、より多くの症例に治療の機会が与えられ、ひいては肝硬変への進展、発癌を抑制できるものと期待される。

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. Arase Y, Suzuki F, Kawamura Y, Suzuki Y, Kobayashi M, Matsumoto N, Akuta N, Sezaki H, Hosaka T, Ogawa K, Imai N, Seko Y, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. Development rate of chronic kidney disease in hepatitis C virus patients with advanced fibrosis after interferon therapy. *Hepatol Res.* 41:946-954,2011.
2. Imai N, Ikeda K, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. Previous chemoembolization response after transcatheter arterial chemoembolization (TACE) can predict the anti-tumor effect of subsequent TACE with miriplatin in patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 80:188-194,2011.
3. Chayama K, Hayes CN, Abe H, Miki D, Ochi H, Karino Y, Toyota J, Nakamura Y, Kamatani N, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H. IL28B But Not ITPA Polymorphism Is Predictive of Response to Pegylated Interferon, Ribavirin, and Telaprevir Triple Therapy in Patients With Genotype 1 Hepatitis C. *J Infect Dis.* 204:84-93,2011.
4. Arase Y, Suzuki F, Kobayashi M, Suzuki Y, Kawamura Y, Matsumoto N, Akuta N, Kobayashi M, Sezaki H, Saito S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuji H, Hsieh SD, Kato K, Tanabe M, Ogawa K, Hara S, Kobayashi T. The Development of Chronic Kidney Disease in Japanese Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Intern Med.* 50:1081-1087,2011.
5. Azakami T, Hayes CN, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H, Abe H, Miki D, Tsuge M, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Ochi H, Nakamura Y, Kamatani N, Chayama K. Common genetic polymorphism of ITPA gene affects ribavirin-induced anemia and effect of peg-interferon plus ribavirin therapy. *J Med Virol.* 83:1048-1057,2011.
6. Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Amino acid substitutions in hepatitis C virus core region predict hepatocarcinogenesis following eradication of HCV RNA by antiviral therapy. *J Med Virol.* 83:1016-1022,2011.
7. Ikeda K, Kobayashi M, Kawamura Y, Imai N, Seko Y, Hirakawa M, Hosaka T, Sezaki H, Akuta N, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. Stage progression of small hepatocellular carcinoma after radical therapy: comparisons of radiofrequency ablation and surgery using the Markov model. *Liver Int.* 31:692-699,2011.
8. Arase Y, Suzuki F, Kobayashi M, Suzuki Y, Kawamura Y, Matsumoto N, Akuta N, Imai N, Kobayashi M, Sezaki H, Saito S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuji H, Hsieh SD, Kobayashi T. Efficacy and

safety in sitagliptin therapy for diabetes complicated by chronic liver disease caused by hepatitis C virus. *Hepatol Res.* 41:524-529,2011.

9. 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.* 53;415-421,2011.
10. 鈴木義之、瀬崎ひとみ、芥田憲夫、鈴木文孝、今井則博、平川美晴、川村祐介、保坂哲也、小林正宏、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、小林万利子、熊田博光。NS5A 阻害剤と NS3 プロテアーゼ阻害剤併用投与における早期抗ウイルス効果。肝臓 2011 ; 67 : 147-149。
11. 保坂哲也、鈴木文孝、小林正宏、瀬古裕也、今井則博、平川美晴、川村祐介、瀬崎ひとみ、芥田憲夫、鈴木義之、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、小林万利子、熊田博光。B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ療法による HBs 抗原消失とその関連因子の検討。肝臓 2011 ; 52(4) : 255-257。
12. 小林万利子、鈴木文孝、鈴木義之、芥田憲夫、瀬崎ひとみ、川村祐介、瀬古裕也、保坂哲也、小林正宏、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光。コバス TaqManHBV「オート」v2.0 における同一時の血清検体と血漿検体の HBVDNA 検出率の検討。肝臓 2011 ; 52(11) : 756-757。

2.学会発表

1. 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、熊田博光. C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロンーリバビリンおよび新規抗 HCV 薬との併用療法の治療成績、第 47 回日本肝臓学会総会、

東京、2011.6.3.

2. 鈴木文孝、瀬崎ひとみ、熊田博光。シンポジウム 10: C 型肝炎に対する新規薬剤(プロテアーゼ阻害剤、NS5A 阻害剤)の治療効果、第 15 回日本肝臓学会大会、福岡、2011.10.21.

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

肝移植症例における治療抵抗因子の検討に関する研究

研究分担者 谷口雅彦 旭川医科大学外科学講座 消化器病態外科学分野 講師

研究要旨；生体肝移植後の成績はSVRが30%未満と低く、治療抵抗性を示す症例は急速に肝硬変→肝不全になる現状がある。これらの成績を向上させるためには、治療抵抗性を示す症例に対する治療法を検討する必要がある。治療抵抗性を示した症例7例に対してFluvastatin併用療法を施行した。3例でウイルス量の低下傾向を示し、うち1例がPeg IFN+RBV療法中止後もウイルス量は現在検出限界以下であった。またFluvastatinの効果を認めなかった4例のうち、2例はPeg IFNをalpha-2bから2aに変更し、現在までウイルス量は検出限界以下となっている。同様に1例はPeg IFN alpha-2aからIFN-beta+DFPP療法に変更し、ウイルス量の漸減を認めた。以上の結果、ならびに昨年度の研究結果から、宿主側、ウイルス側の因子が移植後の抗HCV療法に影響を与えることを考慮し、①移植前にウイルス量を減少させる対策を講じ、②移植後にはドナーとレシピエントの宿主側・ウイルス側因子の組み合わせから抗HCV療法の効果を予測し、③治療抵抗性である症例に対しては積極的にDFPP、Fluvastatin等の併用療法や、IFNの変更等の多角的治療戦略を講ずることにより、成績向上が期待できる。これらを加味したテーラーメイド治療は有効性が期待でき、今後症例を蓄積して検討すべきであると思われた。

A. 研究目的

C型肝硬変に対する肝移植では、その再発は急速かつ重篤であり、5年生存率は非C型肝硬変症例と比し有意に不良である(Forman LM Gastroenterology 2002)。Peg-Interferon (Peg-IFN) +Ribavirin (Rib)療法のSVRも一般的に30%前後と低く、さらに中止率も30%前後と高い。これらを克服すべく北海道大学では昨年度までに、移植後早期からの再発予防療法、Double filtration plasma pheresis (DFPP)併用療法、さらには免疫抑制剤としてより抗HCV効果を示すサイクロスポリンへの変更療法を行ってきた。さらに宿主側、ウイルス側因子の検討を通して肝移植症例における抗HCV治療抵抗因子の解明を行ってきた。これらの結果を元に、本年度は難治性症例に対する新たな抗HCV療法の試み、さらには新規抗HCV薬剤併用を念頭においたオーダーメイド

治療の確立を目的とする。

B. 研究方法

1997年11月から2010年4月までに北海道大学にて生体肝移植を施行した209例中、C型肝硬変症例23例に対して移植後抗HCV療法を施行した。うち、2010年2月時点でSVRが得られなかった症例6例、それ以降の治療抵抗症例1例を対象とし、2012年2月までの2年間、interferon (IFN) + Ribavirin (RBV)療法にFluvastatinを併用した。また、従来のIFN alpha-2bに抵抗性を示した症例に対してalpha-2a、あるいはDFPP+beta療法を施行した。移植後の免疫抑制療法はBasiliximabによるinduction therapyにmaintenance therapyとしてtacrolimus, MMF, steroids (1 month taper)の3剤併用療法を行った。抗HCV療法は術後全身状態が安定、WBC >3000 cells/mm³,

platelet >50,000 /mm³, Hb >9.0 g/dl を適応基準とした。

【検討 1】

全 23 例の現在までの成績を検討した。

【検討 2】

IFN+ RBV+Fluvastatin 併用療法を施行した 7 例、さらには IFN 変更症例の成績を検討した。

【検討 3】

昨年度、本年度の結果を基に、C 型肝炎に対する移植前後のテーラーメイド治療の確立を検討した。

(倫理面の配慮)

患者の保護:本研究はヘルシンキ宣言に従って実施している。

インフォームド・コンセント:本件旧に先立ち、遺伝子解析を含めた患者のデータに関しては、事前に患者への説明を行い、人権の保護、プライバシーの保護と患者の識別を十分に行うことを説明の上、患者の同意を得ている。

C. 研究結果

【検討 1】

C 型肝炎硬変症例の累積 5 年生存率は 60.2% であり、非 C 型肝炎硬変症例の 76.1% と比し、有意差はないものの低い傾向にあった。23 例中、C 型肝炎関連死を 4 例(肝硬変 3 例、fibrosing cholestatic hepatitis 1 例)、他病死を 5 例に認めた。SVR は 6 例、26.1% に認められた。治療抵抗性にて現在まで治療継続した症例は 7 例(30.4%)存在した。

【検討 2】

これまでの抗 HCV 療法治療抵抗性症例 7 例に対して Fluvastatin 併用療法を施行した。7 例中 3 例において、HCV-RNA の低下を認めた(Case1, 3, 7)。

Case1 は Peg IFN alfa-2b+RBV 療法にて

HCV-RNA が 3log 低下したが、それ以降の低下を認めなかったため、Fluvastatin を併用し、HCV-RNA 量は検出限界以下となった。その後 IFN+RBV 療法中止し、現在まで HCV-RNA は検出限界以下のままである。

Case3 は Peg IFN alfa-2a+RBV 療法施行下に Fluvastatin 投与し、HCV-RNA 量の低下を認めていたが、薬剤性肝障害のために Fluvastatin 投与を中止、これにて一旦ウイルス量の再上昇を認めたが、その後現在まで低下傾向を示している。

Case7 は Peg IFN alfa-2a+RBV 療法施行下に Fluvastatin 投与し、HCV-RNA 量の低下(2log)を認めた。しかしその後低下しないため、IFN-beta+DFPP 療法を施行し、現在までウイルス量の漸減を認めている。

Case4, Case5 は Peg IFN alfa-2b+RBV 療法下の Fluvastatin 投与にてウイルス量に変化はなかった。その後 Peg IFN alfa-2a に変更したところ、現在まで HCV-RNA 量は漸減し、検出限界以下となった。

Case2, Case6 は Fluvastatin 投与前後にてウイルス量の変化は認めなかった。

上記 7 例の経過中、Fluvastatin 投与前、ならびに投与後(1 年、2 年)にて肝生検を施行し、炎症の程度(A 因子)、線維化(F 因子)を検討したところ、いずれの症例も組織学的な変化は認めなかった(表 1)。

【検討 3】

昨年度のウイルス側因子の研究結果にて、移植前の HCV-RNA が低値であるもの、aa 70 番のコアアミノ酸置換が wild type であるものが SVR を得られやすいとの結果を得た。この結果から、特に HCV-RNA 量が移植後の治療成績に影響を及ぼすことを考慮すると、移植後の治療のみでは不十分であり、移植前から

HCV-RNA 量を低下させる治療が必要である。移植後に関してはウイルス側因子としてコアアミノ酸置換子等を考慮すべきであり、また宿主側因子として IL28B 遺伝子多型に関しては、最近の報告にも見られるようにレシピエント側因子と共にドナー側の因子も考慮すべきである。さらに治療抵抗性を示す症例に対しては、Fluvastatin 併用、あるいは IFN 変更療法を積極的に行っていくべきである。

上記の結果に基づき、移植前後のテーラーメイド治療の模式図を作成した(図 1)。

D. 考察

【検討 1】

我々の生体肝移植後の成績は SVR、5 年生存率ともに従来の報告に比し同様のものであった。生存率に関しては、他施設同様、初期の症例と最近の症例を比較すると、近年その成績は向上している。しかし依然として SVR が低く、治療抵抗性を示す症例は肝硬変→肝不全になる現状がある。これらの成績を今後向上させるためには、治療抵抗性を示す症例に対する治療法を検討する必要があると思われた。

【検討 2】

治療抵抗性を示した症例 7 例に対して Fluvastatin 併用療法を施行した。3 例でウイルス量の低下傾向を示し、うち 1 例が Peg IFN+RBV 療法中止後もウイルス量は現在検出限界以下であり、将来 SVR が期待できる。これらの結果は移植後の免疫抑制状態下でも Fluvastatin が慢性肝炎症例同様に効果を示すことを示唆しており、今後症例を増やしてさらに検討するべきであると思われた。また Fluvastatin の効果を認めなかった 4 例のうち、2 例は Peg IFN を alfa-2b から 2a に変更し、現在までウイルス量は検出限界以下の状態を維

持できている。同様に 1 例は Peg IFN alfa-2a から IFN-beta+DFPP 療法に変更し、ウイルス量の減少を認めている。これらから移植後の抗 HCV 療法に対し抵抗性を示す症例に対しては積極的に IFN を変更すべきであり、治療抵抗性な症例でも抗 HCV 療法を組み合わせることにより、ウイルスを排除することが可能となり、結果的に予後の改善にも繋がることが期待された。

【検討 3】

宿主側、ウイルス側の因子が移植後の抗 HCV 療法に影響を与えることを考慮し、①移植前にウイルス量を減少させる対策を講ずるべきであり、②移植後にはドナーとレシピエントの組み合わせから抗 HCV 療法の効果を予測し、③治療抵抗性である症例に対しては積極的に Fluvastatin, DFPP 等の併用療法や、IFN の変更を検討すべきである。これらを加味したテーラーメイド治療は有効性が期待でき、今後症例を蓄積して検討するべきであると思われた。

E. 結論

【検討 1】

我々の C 型肝硬変症例の治療成績は従来の C 型肝硬変症例の成績と同等であり、治療抵抗性を示す症例に対する対策が必要であった。

【検討 2】

治療抵抗性を示す症例に対して、Fluvastatin 併用療法、あるいは Peg IFN alfa-2、IFN-beta+DFPP 療法への変更が有効であった。

【検討 3】

上記結果を加味したテーラーメイド治療は有効性が期待でき、今後症例を蓄積して検討すべきである。

F. 健康危険情報