

201125004B (1/2)

分冊1

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21～23年度 総合研究報告書

研究代表者 鈴木 文孝

平成24（2012）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	部長
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. 総合研究報告

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. 総合分担研究報告

1. C型肝炎における新規治療法に関する研究	19
	豊田 成司
2. 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	25
	考藤 達哉
3. C型肝炎における新規治療法に関する研究に関する研究	30
	朝比奈靖浩
4. StatinによるC型肝炎治療の研究に関する研究	36
	森屋 恭爾
5. 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に関する研究	38
	坂本 穰
6. 二重濾過血漿交換療法(DFPP)併用Peg-IFN・Ribavirin併用療法の現況 に関する研究	51
	酒井 明人
7. C型肝炎に対する生体肝移植に関する研究に関する研究	56
	谷口 雅彦
8. C型肝炎における新規治療法に関する研究に関する研究	61
	梅村 武司
9. 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	64
	今村 道雄
10. C型慢性肝炎に対する新規治療薬の治療成績に関する研究に関する研究	68
	瀬崎ひとみ
11. C型肝炎における新規治療法に関する研究	76
	井上 和明
12. C型肝炎における新規治療法に関する研究	83
	岩崎 良章
13. HCVレプリコン細胞をつかったC型肝炎ウイルスのリポタンパクへの影響 の解析	86
	斉藤 聡

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表91

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷131

I. 総合研究報告

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）

総合研究報告書

C型肝炎における新規治療法に関する研究

研究代表者 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 部長

研究要旨；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きたが、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かった。特に 50 歳以上の女性での効果は 20-30%と低率であった。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。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。

新規治療薬である Protease 阻害剤の Telaprevir 24 週間単独投与した Genotype 1b 型の症例で SVR が得られた。この症例は、ウイルス量 3.9 Log IU/mL であり治療効果に関する NS3 領域の遺伝子配列を明らかにした。次に 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 者併用では、NS5A 阻害剤(BMS790052)の投与量は 1 日 60mg 群と 10mg 群の 2 群比較にて行われ、naïve 例では、9 例中 6 例が SVR となった。前治療 non-responder 例では、8 例中 2 例が SVR となった。プロテアーゼ阻害剤(BMS-650032)+NS5A 阻害剤併用療法（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。Phase IIa 試験全体では、前治療 null responder 群の SVR 率 91%(19/21)、標準治療(SOC)不適格例、不耐用例では 64%(14/22)であり、高い有効率を認めた。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%)が認められた。また PEG-IFN+RBV+Teprenone 併用療法のランダム化比較試験では、ITT 解析での SVR 率は差を認めなかったが、投与期間延長例では Teprenone 併用群で有意に高かった ($P=0.040$)。二重濾過血漿交換療法(DFPP)併用 PEG-IFN+RBV 併用療法では、SVR 率は全体 44%(88/200)、naïve 症例 51%(45/89)、前治療 PEG-IFN/RBV 以外の症例 53%(27/51)、前治療 PEG-IFN/RBV 症例 27%(16/59)であった。さらに肝移植症例に対する治療薬では、治療抵抗性を示した症例で Fluvastatin 併用療法が有効な症例を認めた。一方基礎的検討として Telaprevir 投与にて効果が得られた症例では生体側反応として RIG-I,ISG15 などの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を用いて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（ヒト肝細胞キメラマウス）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。またヒト肝細胞キメラマウスの実験で、高脂血症の治療薬であるエゼチミブは、NPC1L1 と拮抗し HCV 感染を抑制する

ことを示した。C型肝炎ウイルスの脂質への影響や樹状細胞への作用、HCV core 遺伝子発現マウスにおける statin の作用を明らかにした。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きたが、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かった。特に 50 歳以上の女性での効果は 20-30% と低率であった。最近新規治療薬であるプロテアーゼ阻害剤の telaprevir と PEG-IFN+RBV 併用療法が保険適応となり、治療が開始されている。この 3 者併用療法の治療効果と効果に関係する因子を検討した。しかし telaprevir と PEG-IFN+RBV 併用療法では貧血や皮膚症状などの副作用が認められることや効果が十分でない症例も認められる。このため副作用が少なく、より効果が高い新規治療薬の出現が期待されている。現在新規治療薬 (telaprevir 以外のプロテアーゼ阻害剤、NS5A 阻害剤、ポリメラーゼ阻害剤など) の開発と臨床試験が開始されている。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は依然確立されていない。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) プロテアーゼ阻害剤である Telaprevir (MP-424) 単独療法

本邦にて 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。

(2) 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 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因子を検討した。

(3) 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。

(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

いくつかの 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) このうち 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 者併用療法のランダム化比較試験の成績を解析した。

(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) サイクロフィリンインヒビターの治療成績

HCV が増殖に必要とするサイクロフィリンをターゲットにしたサイクロスポリン A 骨格を化学修飾することにより作られた alisporivir の効果を検討した。

(9) 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する因子

Genotype 1 型高ウイルス量症例において PEG-IFN/RBV 治療での non-responder 症例の宿主側因子 (*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。また *IL28B* の遺伝子多型と治療早期のウイルス動態について検討した。

(10) 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

新たな培養系の確立やマウスを用いた抗 HCV 作用のある治療薬に関する研究を行った。

(11) C 型慢性患者の治療前及び PEG-IFN/RBV 併用療法時の生体側反応

C 型慢性肝炎患者、非感染者の末梢血から MDC、PDC、IFN- λ 高産生 DC (MDC2) を分離し、TLR リガンドで刺激して、IFN- β 、IFN- λ の発現を検討した。

(12) プロテアーゼ阻害剤等を使用した際の生体側反応

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。

(13) C 型肝炎ウイルスによる脂質への影響

リポタンパク質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) を用いてリポタンパク質の測定を行った。さらに HCV レプリコン細胞 (OR6 細胞) を用いた検討で、HCV タンパクを発現している細胞では肝性リパーゼ (HTGL) の発現が低下していた。そこで患者の肝組織で抗 HTGL (肝性リパーゼ) 抗体を用いた免疫染色により HTGL の発現を検討した。

(14) 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 療法に対する新規治療法の効果について検討した。

(倫理面への配慮)

臨床試験ではその目的・方法、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) 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 12 または 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。(鈴木)

(2) 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。さらに T12PR24 を施行した genotype 1 型高ウイルス量 94 例 (naïve 25 例、前治療再燃 44 例、前治療無効 [NVR] 25 例) で各薬剤の予定投与量に対する投与量と抗ウイルス効果との関連を検討した。PEG-IFN の投与量別 SVR 率は 80% 未満で 58%、80% 以上で 79% であった。Telaprevir は投与量 90% 以上で 78%、90% 未満で 50% であった。RBV は投与量 40% 以上で 80% が SVR となった。*IL28B* の SNP 別では、TT 症例で 94%、TG/GG 症例で 50% の SVR 率であった。TG/GG 症例の SVR 率は、naïve

例 50%、前治療再燃例 91%、前治療無効例 30% であった。(豊田、瀬崎、今村、鈴木)

次世代シーケンサーを用いて HCV の NS3 領域のプロテアーゼ阻害剤の耐性ウイルスの変化について検討した。V36A, T54A, A156T などの耐性変異は治療開始前に少数ながら存在する症例があった。しかし 3 者併用療法の治療過程において消失していた。(坂本)

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。(鈴木)

(3) 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; naïve 例 9 例、PEG-IFN/RBV の non-responder 8 例に対して治療が行われた。NS5A 阻害剤 (BMS790052) の投与量は 1 日 60mg 群と 10mg 群の 2 群比較にて行われた。naïve 例では、9

例中6例がSVRとなった。このうち60mg群では4例全例がSVRとなった。開始時のNS5A領域の遺伝子配列を検討(PCR-direct sequence法)するとBMS790052に対する耐性変異は検出されなかった。non-responder例では、8例中2例がSVRとなった。SVRの2例はいずれもIL28B TTでCore aa70がmutantであった。治療開始時BMS790052に対する耐性変異が認められた1例は、relapseした。(瀬崎、鈴木)

(4) プロテアーゼ阻害剤+NS5A 阻害剤併用療法

虎の門病院では、前治療 null responderの11例と、標準治療(SOC)不適格例、不耐用例12例で行われた。前治療 null responder群では、1例がBil上昇で中止(最終的にはSVR)、1例が4週目にウイルスが陰性化しなかったためにSOC併用に移行したが、残りの9症例はSVRとなった。IL28BやCoreのaa70番に関しては、治療効果と関係なかった。標準治療(SOC)不適格例、不耐用例12例では、7例がSVRとなった。治療開始時BMS790052に対する耐性変異が認められた3例は、relapseまたは投与中にvirological breakthroughをおこした。さらにPhase IIa試験全体では、前治療 null responder群のSVR率91%(19/21)、標準治療(SOC)不適格例、不耐用例では64%(14/22)であり、高い有効率を認めた。(瀬崎、豊田、今村、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。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ゲラニルゲラニルピロリン酸を阻害するゲラニル化合物の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。PEG-IFN+RBV+teprenone 併用療法の効果についてランダム化比較試験(PEG-IFN/RBV [I群;n=52] vs. teprenone+PEG-IFN/RBV [II群;n=54])が行われた。Teprenone投与群は慢性胃炎を合併している症例である。ITT解析でのSVR率は、I群42%、II群50%であった。(P=0.269)さらに投与期間延長例でのSVR率はI群(n=15)47%、II群(n=10)90%であった。(P=0.040) (岩崎)

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

多施設による200症例の検討を行った。前治療別に未治療79例、前治療PEG-IFN/RBV療法以外47例、PEG-IFN/RBV療法54例であった。DFPP併用PEG-IFN α ・RBV併用療法のSVR率は全体44%(88/200)、naïve症例51%(45/89)、前治療PEG-IFN/RBV以外の症例53%(27/51)、前治療PEG-IFN/RBV症例27%(16/59)であった。またNaïve例では、cEVRが53%の症例で得られ、このうち再燃は6例(20%)であった。また前治療PEG-IFN/RBV症例では、cEVRの5例中1例のみが48週間投与でSVRとなった。65歳以上の症例では59例中16例(27%)で中止になったが、完遂例では56%がSVRとなった。(酒井)

(8) サイクロフィリンインヒビターの治療成績

Alisporivir+PEG-IFN+RBV 3者併用療法の治療成績について検討した(EUの成績)。SVR率はそれぞれ標準治療群で55%、三者併用群で76%と、三者併用-response guided therapy (RGT)群で69%、三者併用24週群で53%であった。三者併用群48週群ではSVRが標準治療群に比して有意に高かった($P = 0.008$)。(井上)

(9) 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

PEG-IFN+RBV併用療法($n=229$)においてNVR(non-responder)に関係する因子を解析すると、AFP, IRRDR, IL28Bが重要であった。さらにIL28BがTG/GGでIRRDRの変異数が2以下の場合には54%でNVRになり、IL28BがTG/GGでCore aa70がmutantの場合には67%がNVRとなった。(坂本)

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)

PEG-IFN+RBV併用療法開始時のウイルスの

減少量を1st phase, 2nd phaseで検討するとIL28BがTT型症例いずれのphaseにおいてもウイルスの減少量が多かった。ペグインターフェロン+リバビリン2剤併用投与後の早期HCV減少量からnonTTを予測するcutoff値をROC解析で求めると、1、2、4週においてHCV減少量がそれぞれ0.5 log、0.9 log、1.7log未満の症例は、感度89%・特異度87%でnon-TTであることが多かった。また、IL28B遺伝子多型と実際の治療効果が解離した症例におけるインターフェロン応答性の予測にも早期HCV動態を解析することが有用で、感度87%、特異度81%、PPV65%、NPV94%でIL28B遺伝子多型による予測に比し良好であった。このため初期のウイルス動態からIL28BのSNPsがある程度予測可能であった。(朝比奈)

(10) 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
線維性胆汁うっ滞性肝炎を発症し、IFN治療に無反応であった患者から採取された全長HCV RNAを用いcDNAコンストラクトを作成し、T7 RNAポリメラーゼで全長HCV RNAを合成した。HCV RNAのNS2に1カ所とNS4Bに2カ所変異を導入し、さらにHuh7細胞を用いて樹立したCure化細胞にて培養したところ、約20倍に感染効率が向上した。改良した培養系を用いて、IFN- α とSimvastatinによる抗ウイルス効果を測定すると、IFNによる抗HCV効果を明確に確認することが可能であった。(梅村)

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。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。

Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) は肝臓に発現しているコレステロールのトランスポーターである。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。また高脂血症の治療薬であるエゼチミブは、NPC1L1 と拮抗することが明らかになっている。ヒト肝細胞キメラマウスの実験を行いエゼチミブによる HCV 感染抑制を証明した。NPC1L1 は HCV の replication ではなく、entry に関与していることを明らかにした。(今村)

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。さらに 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。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 caspase 3 の切断をマウス肝臓で確認した。(森屋)

(11) C 型慢性患者の治療前及び PEG-IFN/RBV 併用療法時の生体側反応 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。 $(P = 0.020)$ C 型肝炎患者 PDC においては、IFN- β の発現は非感染者 DC より低下していたが、MDC、MDC2 では IFN- β に差を認めなかった。MDC、PDC ともに IFN- λ の発現は両群で差を認めなかったが、MDC2 では IL-28B の産生能は C 型慢性肝炎患者群では著明に低下していた。IL-28B SNP major/minor 間では、各 DC における IFN- β 、IFN- λ の発現に差を認めなかった。以上の結果より、C 型慢性肝炎患者 MDC2 では IFN- λ 産生能は低下しており、免疫病態への関与が示唆された。(考藤)

(12) 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. Gastroentrol 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)

(13)C型肝炎ウイルスによる脂質への影響

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。また患者の肝組織で抗HTGL(肝性リパーゼ)抗体を用いた免疫染色によりHTGLの発現検討を行った。この結果患者検体でもHCV感染によりHTGLの発現が低下している傾向を認めた。(斉藤)

(14) 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。さらに肝移植後に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の効果は認めなかった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となっている。同様に1例はPEG-IFN alfa-2aからIFN-beta+DFPP療法に変更し、ウイルス量の漸減を認めた。(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%と低率であった。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2011年11月に薬事承認された。治験の行われた94例での薬剤投与量と抗ウイルス効果を検討した。PEG-IFNでは80%以上、telaprevirでは90%以上、RBVでは40%以上でSVR率が高率であった。このように副作用の状況を

判断しながら、adherence の向上を目指すことも必要である。また次世代シーケンサーを用いて HCV の NS3 領域のプロテアーゼ阻害剤の耐性ウイルスの変化について検討では、耐性ウイルスが投与前に少数存在している症例でも SVR 例になっていた。耐性ウイルスと効果に関しては、さらに今後の検討が必要である。

PEG-IFN+RBV+NS5A 阻害剤併用療法の治験も進行している。NS5A 阻害剤(BMS-790052)の 60mg 投与群、naive 例では、高率に SVR になった。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。

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係する配列を示した。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。Null responder では高率に SVR を得られている。また naive 例においても高い有効性を認めている。安全性に関しては、中止例が認められたものの、中止後改善を認めている。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。現在多施設での Phase III 試験が開始されている。今後は治療効果に関係する因子についての検討も必要である。

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。

PEG-IFN+RBV+teprenone 併用療法のランダム化比較試験が行われた。投与期間延長にて teprenone 併用療法の効果が示された。慢性胃炎合併例での teprenone 投与は、効果を高める可能性がある。

DFPP 併用 PEG-IFN+RBV 併用療法も全国的に施行されてきている。Naive 例では、cEVR が半数以上の症例で得られた。生体側因子やウイルス側因子についての検討を行いどのような症例で効果が高いか検討する必要がある。

サイクロフィリンインヒビターである alisporivir と PEG-IFN+RBV 3 者併用療法の治療成績（EU の成績）が明らかになってきている。DAAs との成績の比較や副作用についての検討が今後必要である。

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、治療開始初期のウイルス動態など)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 などの新規治療薬で検討し、治療効果との関係を明らかにする必要がある。また新規治療薬(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、このような側面からも今後の検討が必要である。

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。新規に作成したレプリコンも用いて IFN とスタチン製剤の効果が確認された。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。さらにヒト肝細胞キメラマウスを用いた実験でエゼチミブによる HCV 感染抑制が証明された。エゼチミブの HCV に対して新たな作用機序が示され、臨床への応用の可能性も考えられている。スタチン製剤は、GPAM の発現改善を認めるとともに apoptosis への関与が示唆されている。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。

C 型慢性肝炎患者における免疫学的検討では、HCV 感染症の免疫病態において、DC 機能の低下が関与する可能性が示唆された。IL28B SNP との関係は他の因子を含めさらなる検討が必要である。

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。さらに免疫染色により HTGL の発現検討を行い、患者検体でも HCV 感染により HTGL の発現が低下している傾向を認めた。脂質と HCV との関係を詳細に検討することは将来的に新規治療薬の開発に繋がる可能性がある。

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 併用療法が、2011 年に保険適応となり多くの症例で治療が開始されている。この際の効果に関係する因子を当研究班では明らかにした。今後 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 PEG-IFN+RBV 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での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からも新たな治療薬が開発される可能性がある。

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. Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kawamura Y, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Miyakawa Y, Kumada H. Association of two polymorphisms of the IL28B gene with viral factors and treatment response in 1,518 patients infected with hepatitis C virus. *J Gastroenterol.* 2012 in press.
2. Mori N, Suzuki F, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Saito S, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M,

- Kumada H. Determinants of the clinical outcome of patients with severe acute exacerbation of chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol*. 2012 in press.
3. Suzuki F, Arase Y, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Seko Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. Long-term efficacy of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection in Japan. *J Gastroenterol*. 2012 in press.
 4. Yamada I, Suzuki F, Kamiya N, Aoki K, Sakurai Y, Kano M, Matsui H, Kumada H. Safety, pharmacokinetics and resistant variants of telaprevir alone for 12 weeks in hepatitis C virus genotype 1b infection. *J Viral Hepat*. 2012 Feb;19(2):e112-9.
 5. Matsumoto N, Arase Y, Seko Y, Imai N, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Kobayashi M, Suzuki Y, Saito S, Suzuki F, Ikeda K, Kumada H, Aida K, Kobayashi T. Prevalence and predictive factors of diabetes in hepatitis virus positive liver cirrhosis with fasting plasma glucose level of <126 mg/dL. *Hepatol Res*. 2012 in press.
 6. Arase Y, Kobayashi M, Suzuki F, Suzuki Y, Kawamura Y, Akuta N, Imai N, Kobayashi M, Sezaki H, Matsumoto N, Saito S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Ohmoto Y, Amakawa K, Hsieh SD, Ogawa K, Tanabe M, Tsuji H, Kobayashi T. Difference in malignancies of chronic liver disease due to non-alcoholic fatty liver disease or hepatitis C in Japanese elderly patients. *Hepatol Res*. 2012 in press.
 7. Hanada K, Nakai K, Tanaka H, Suzuki F, Kumada H, Ohno Y, Ozawa S, Ogata H. Effect of nuclear receptor downregulation on hepatic expression of cytochrome P450 and transporters in chronic hepatitis C in association with fibrosis development. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2012 in press.
 8. Kawamura Y, Arase Y, Ikeda K, Seko Y, Imai N, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Ohmoto Y, Amakawa K, Tsuji H, Kumada H. Large-scale long-term follow-up study of Japanese patients with non-alcoholic Fatty liver disease for the onset of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 2012 Feb;107(2):253-61.
 9. Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Chayama K, Nakamura Y, Kumada H. Amino Acid Substitution in HCV Core/NS5A Region and Genetic Variation Near IL28B Gene Affect Treatment Efficacy to Interferon plus Ribavirin Combination Therapy. *Intervirology*. 2012;55(3):231-41.
 10. Arase Y, Suzuki Y, Suzuki F, Matsumoto N, Akuta N, Imai N, Seko Y, Sezaki H, Kawamura Y, Kobayashi M, Hosaka T, 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. *Intern Med*. 2011;50(19):2083-8.
 11. 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*. 2011;80(3-4):188-94.
12. Kobayashi M, Hosaka T, Ikeda K, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Kumada H. Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre- and postoperatively. *Hepatol Res*. 2011 Nov;41(11):1036-45.
 13. 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*. 2011 Jul;204(1):84-93.
 14. 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*. 2011;50(10):1081-7.
 15. 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*. 2011 Jun;83(6):1048-57.
 16. 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*. 2011 Jun;83(6):1016-22.
 17. 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*. 2011 May;31(5):692-9.
 18. 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*. 2011 Jun;41(6):524-9.
 19. 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;415-421.
 20. Hayes CN, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H, Abe H, Miki D,

- Imamura M, Ochi H, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. HCV substitutions and IL28B polymorphisms on outcome of peg-interferon plus ribavirin combination therapy. *Gut*. 2011 Feb;60(2):261-7.
21. Tadokoro K, Suzuki F, Kobayashi M, Yamaguchi T, Nagano M, Egashira T, Kumada H. Rapid detection of drug-resistant mutations in hepatitis B virus by the PCR-Invader assay. *J Virol Methods*. 2011 Jan;171(1):67-73.
22. 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* 52: 255-257, 2011.
23. 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* 52: 147-149, 2011.
24. 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* 52: 756-757, 2011.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
 32. 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.
 33. 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.
 34. 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.
 35. 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.
 36. 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.
 37. 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.
 38. 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.

39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. 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. *Hepato Res.* 2010;40:125-34.
43. 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. *Hepato Res.* 2010;40:145-52.
44. 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.
45. 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.
46. 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.
47. 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peg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.
48. 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. Rapid loss of hepatitis C virus genotype 1b from serum in patients receiving a triple treatment with telaprevir (MP-424), pegylated