

少例でも高率に SVR が期待でき、また、HCV 1 型で IL28B 遺伝子 TT 型にも高率に SVR が期待できる。

本研究では、宿主の貧血遺伝子である ITPA 別での治療中の血球動態に差は認められなかった。しかし、2011 年未導入された新薬のプロテアーゼ阻害剤併用の PEG-IFN/RBV 療法による血球減少、特に貧血への影響については研究が必要である。

#### E. 結論

血小板数低値であっても、HCV 2 型および IL28B TT 例の HCV 1b 型の C 型慢性肝炎に対しては PEG-IFNα2b・RBV 治療を考慮すべきである。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. **Furusyo N**, Murata M, Ogawa E, Toyoda K, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Koga T, Kainuma M, Hayashi J. Ribavirin concentration in the later stages of 48-week pegylated interferon-alfa 2b plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C is useful for predicting virological response. *J Antimicrob Chemother* 66: 1127-1139, 2011.
2. Ikezaki H, **Furusyo N**, Ihara T, Hayashi T, Ogawa E, Toyoda K, Taniai H, Kainuma M, Murata M, Hayashi J. Abbott RealTime PCR Assay is useful for evaluating virological response to antiviral treatment for Chronic Hepatitis C. *J Infect*

*Chemother* 17: 737-743, 2011.

3. **Furusyo N**, Walaa AH, Eiraku K, Toyoda K, Ogawa E, Ikezaki H, Ihara T, Hayashi T, Kainuma M, Murata M, Hayashi J. Eradication treatment of *Helicobacter pylori* infection for chronic hepatitis C patients. *Gut and Liver* 5: 447-453, 2011.
  4. Ogawa E, **Furusyo N**, Murata M, Ohnishi H, Kazuhiro T, Tania H, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Kainuma M, Hayashi J. Longitudinal assessment of liver stiffness by transient elastography for chronic hepatitis B patients treated with nucleoside analog. *Hepatol Res* 41: 1178-1188, 2011.
  5. Ogawa E, **Furusyo N**, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamuta M, Kotoh K, Azuma K, Dohmen K, Shimoda S, Hayashi J. The Kyushu University Liver Disease Study Group. An evaluation of the adverse effect of premature discontinuation of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin treatment for chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* (in press)
- ##### 2. 学会発表
1. 総合診療医が必要とするウイルス性肝炎の臨床について **古庄憲浩**、林 純 第2回日本病院総合診療医学会総会 教育講演、2011年2月、仙台市
  2. Selective estrogen receptor modulator enhances the efficacy of pegylated interferon alpha plus ribavirin treatment for menopausal women with chronic

hepatitis C. Furusyo N, Murata M, Ogawa E, Toyoda K, Hiramane S, Ikezaki H, Ihara T, Hayashi T, Okada K, Kainuma M, Kajiwara E, Hayashi J. The 62nd Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases (Late Breaking Abstract), San Francisco, USA, November, 2011.

3. C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンα・リバビリン併用療法における後期リバビリン血中濃度と抗ウイルス効果 古庄憲造、村田昌之、小川栄一、大西八郎、古賀恒久、池崎裕昭、居原 毅、林 武生、平峯 智、竹嶋功人、谷合啓明、貝沼茂三郎、澤山泰典、林 純 第85回日本感染症学会総会、2011年4月、東京都
4. C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンα・リバビリン併用療法における後期リバビリン血中濃度と抗ウイルス効果 古庄憲造、小川栄一、林 純 第47回日本肝臓学会総会、2011年6月、東京都
5. C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンα・リバビリン併用療法における後期リバビリン血中濃度と抗ウイルス効果 古庄憲造、小川栄一、村田昌之、谷合啓明、林 純 第59回日本化学療法学会総会、2011年6月、札幌市
6. 多施設共同研究におけるHb低値C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンα2b(PEG-IFNα2b)・リバビリン(RBV)併用療法の効果 古庄憲造、小川栄一、野村秀幸、林 純 第81回日本感染症学会西日本地方会、2011年10月、北九州市

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

#### H.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

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）  
分研究報告書

C 型慢性肝疾患における血小板減少の病態解析

研究分担者 富山 佳昭（大阪大学医学部 講師）

研究要旨 C 型慢性肝疾患に合併する血小板減少機序に関しては、脾機能亢進による血小板分布異常とされているがその病態は未だ不明である。本研究では、C 型慢性肝炎例において、PAIgG、網状血小板比率、血漿トロンボポエチン、さらには血小板に対する自己抗体である抗 GPIIb-IIIa 抗体を解析し、その病態を明らかにすることを目的とした。

研究協力者

柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科 助教

A. 研究目的

C 型慢性肝疾患においてはしばしば血小板減少を伴うことがあり、この病態が肝炎のインターフェロン治療の障害となっている。血小板減少機序に関しては、その多くが脾腫に伴う脾機能亢進に伴う血小板分布異常と考えられるが、脾腫を合併していない例においても血小板減少を合併しており、その病態は未だ不明である。

血小板減少機序としては、脾機能亢進に加え、血小板自己抗体の存在、肝機能低下に伴う血漿トロンボポエチン (TPO) 濃度の低下、などが示唆されているが、その詳細は明らかではない。

本研究では、未だ不明である C 型慢性肝炎に合併する血小板減少の機序を解析し、インターフェロン療法の対象患者の拡大に寄与することを目指す。

B. 研究方法

1. 対象

C 型慢性肝炎患者（血小板減少を合併している患者およびインターフェロン治療予定患者を含む）68 例。また疾患対照として特発性血小板減少性紫斑病患者を解析した。

2. 測定項目

PAIgG、網状血小板比率、血漿 TPO 濃度を測定。網状血小板比率はフローサイトメーターを用いた方法 (FCM 法) を用いた。さらに血小板より抗体をエーテルにて解離し、GPIIb-IIIa 発現 CHO 細胞への反応性を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は臨床研究倫理委員会の承認を受け、対象者からは書面にてインフォームド・コンセントを得た。

C. 研究結果

慢性肝炎患者 68 例の血小板数は  $8.2 \pm 3.2$  万 / $\mu\text{l}$  (mean  $\pm$  SD) であった。網状血小板比率は全例で検討したが、すべて正常範囲内であり、血小板の破壊亢進が示唆された例は認めなかった。一方、ITP55 例では 45 例 (82%) において網状血

血小板比率が増加していた。血漿 TPO 濃度測定は現在までに 68 例を解析したが、3 例を除きすべて正常範囲 (<106pg/ml) であった。1 例では TPO が 1200pg/ml と著増しており、再生不良性貧血などの疾患の合併が考えられた。もう 2 例はインターフェロン後の血小板減少出現時における測定であった。

PAIgG の測定はフローサイトメーターを用いて行なった。正常コントロール 7 名の PAIgG の MFI(mean fluorescent intensity)の mean および SD は 2.46 および 0.22 であり mean+3SD (3.13) 以上を陽性とした。その結果、慢性肝炎患者 68 例中 39 例 (57%) が陽性であった。また血小板解離液中の GPIIb-IIIa に対する抗体は 65 例中 13 例(20%)が陽性であったが、その活性は弱く、明らかな陽性は 6 例(9%)においてのみであった。

#### D. 考察

C 型慢性肝炎 68 例に関して網状血小板比率、血漿 TPO 濃度、PAIgG の測定を行なった。血小板回転率の指標になる網状血小板比率において、その増加例は観察されず、C 型慢性肝炎においては血小板の破壊亢進とのデータは、現在までのところ得られていない。また、血漿 TPO 濃度に関しては著増していた 3 例を除き正常範囲であった。また 57%で PAIgG の上昇、6 例(9%)において血小板関連抗 GPIIb-IIIa 抗体の明らかな存在を認めたが、免疫性血小板減少である ITP に較べて、網状血小板比率が正常であるなど、その病態は異なると考えられた。

#### E. 結論

C 型慢性肝炎に伴う血小板減少機序において網状血小板比率、血漿 TPO 濃度、PAIgG および抗 GPIIb-IIIa 抗体を測定した。C 型慢性肝炎に

おいて、網状血小板比率の増加例は現在までの解析では認めなかった。免疫機序の関与はいまだ不明である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kurata Y, Fujimura K, Kuwana M, Tomiyama Y, Murata M. Epidemiology of primary immune thrombocytopenia in children and adults in Japan: a population-based study and literature review. *Int J Hematol* 93(3):329-335, 2011
2. Kunishima S, Kashiwagi H, Otsu M, Takayama N, Eto K, Onodera M, Miyajima Y, Takamatsu Y, Suzumiya J, Matsubara K, Tomiyama Y, Saito H. Heterozygous ITGA2B R995W mutation inducing constitutive activation of the  $\alpha_{IIb}\beta_3$  receptor affects proplatelet formation and causes congenital macrothrombocytopenia. *Blood* 117(20):5479-5484, 2011
3. 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 - 最近の話題. *細胞* 43(2):18-21, 2011
4. 西山美保, 林 悟, 兜森 修, 山西八郎, 末久悦次, 倉田義之, 柏木浩和, 富山佳昭. 多項目自動血球分析装置 XE-5000 を用いた幼若血小板比率 (IPF%) 測定における抗凝固剤と保存温度の影響 - 抗凝固剤 CTAD と室温保存の有用性 -. *臨床病理* 59(5): 452-458, 2011
5. 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病(ITP) の治療戦略と血小板増加薬の適応. *血液フロンティア* 21(7):997-1003, 2011
6. 富山佳昭. トロンボポエチン受容体作動薬による難治性 ITP の治療. *臨床血液* 52(8):627-632, 2011

2. 学会発表
1. Tomiyama Y (Oral) Where are we now?: Biology and development of ITP treatment. Symposium "For Better Life of Adult Chronic ITP" (2011.9.30, Seoul, Korea)
  2. Nakazawa T, Tadokoro S, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Honda S, Tomiyama Y, Kanakura Y. (Poster) Agonist stimulation, talin-1, and kindlin-3 are crucial for  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  activation in a human megakaryoblastic cell line, CMK. The 53rd Annual Meeting of the American Society of Hematology (2011.12.10-13, San Diego, USA, J. Evan Sadler)
  3. Kiyomizu K, Kashiwagi H, Nakazawa T, Kamae T, Tadokoro S, Honda S, Tomiyama Y, Kanakura Y. (Poster) Identification of epitopes and critical residues for binding of platelet-associated anti-GPIIb/IIIa autoantibodies in patients with chronic immune thrombocytopenia. XXIII Congress of the international Society on Thrombosis and Haemostasis. 2011.7.23-28, Kyoto, Japan, Hidehiko Saito)
  4. Kiyomizu K, Kashiwagi H, Nakazawa T, Kamae T, Tadokoro S, Honda S, Tomiyama Y, Kanakura Y. (Poster) Identification of epitopes and critical residues for binding of PA anti-GPIIb/IIIa Abs in chronic ITP. 第 73 回日本血液学会学術集会. (2011.10.14-16, 名古屋, 直江知樹)
  5. 宮川義隆、藤村欣吾、富山佳昭、倉田義之、岡本真一郎、桑名正隆、菊池佳代子、阿部貴行、佐藤裕史、村田 満、金倉 讓、池田康夫. (口演) 特発性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブの医師主導治験の研究計画 第 73 回日本血液学会学術集会. (2011.10.14-16, 名古屋, 直江知樹)
  6. Katsutani S, Tomiyama Y, Kimura A, Miyakawa Y, Okamoto S, Okoshi Y, Ninomiya H, Kosugi H, Ishii K, Ikeda Y, Hattori T, Katsura K, Kanakura Y. (口演) Long-term safety and efficacy of eltrombopag in patients with previously treated chronic ITP. 第 73 回日本血液学会学術集会. (2011.10.14-16, 名古屋, 直江知樹)
  7. 富山佳昭. ITP における TPO 受容体作動薬の治療選択 (コーポレートセミナー)第 73 回日本血液学会学術集会. (2011.10.14-16, 名古屋, 直江知樹)
  8. 富山佳昭. 血小板減少/機能異常症治療の最近の話題 (シンポジウム) 第 18 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム (2011.10.21, 埼玉、藤井寿一)
  9. 富山佳昭. (教育講演) ITP 治療におけるトロンボポエチン受容体作動薬の位置付け. 第 96 回近畿血液学会地方会 (2011.11.12, 大阪、通堂 満)
- G. 知的財産権の出願・登録状況
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）  
分研究報告書

IFN 投与による副作用発現の PET および SPECT による臨床的検討

研究分担者 柏木 徹（兵庫医科大学 核医学・PET センター センター長）

研究要旨 放射性コロイドによる SPECT 画像の脾臓の容積および放射能を測定するためにトルソファントムを用いて SPECT 画像における臓器輪郭線自動抽出ソフトウェアを開発した。

#### A. 研究目的

放射性コロイドの脾臓への集積程度を把握するために SPECT 画像における脾臓部分を抽出する必要がある。そのための臓器輪郭線の自動抽出ソフトウェアの開発を目的とした。

#### B. 研究方法

トルソファントム SPECT 画像をソフトウェア開発の対象画像とした。トルソファントムに脾臓がないため肝臓部分に RI(<sup>99m</sup>Tc)溶液を満たして SPECT を行い、これを臓器輪郭抽出のコンピュータ処理対象画像とした。臓器輪郭線抽出のアルゴリズムはまず SPECT 横断面像の 2 次元放射能分布に対して 2 次元微分処理を行い、次にこの画像に対し細線化処理を行うソフトウェア開発を試みた。

#### C. 研究結果

トルソファントム SPECT 画像に対し作成した 2 次元微分処理ソフトウェアによりまず肝臓部分の臓器輪が領域として画像上表示することができた。この画像に対して次に細線化処理ソフトウェアを作成し、画像処理することによって輪郭領域を輪郭線として画像化できた。

#### D. 考察

PET や SPECT などの核医学画像の臓器、病巣の輪郭は CT や MRI 画像に比べて明瞭ではない。そのため核医学画像から臓器容積を求めるために面内の最高カウンターの一定%以上の部分を対象領域とする(Cut-Off 法)が一般的に行われている。この方法の欠点は対象面の最高カウントによって領域が決定されてしまうことにある。

今回の方法は画像上で急速にカウントが上昇する領域を 2 次元微分処理によってまず抽出し、次に細線化処理を行うことによって領域を線として抽出することである。この線は臓器輪郭線であるので内部領域の面積を 3 次元的に積分すれば容積になる。この方法は最高カウントに全く影響されない新しい容積測定法で、C 型慢性肝疾患患者の脾臓容積や放射能の測定に応用できると期待される。

#### E. 結論

トルソファントムを用いて SPECT 画像の 2 次元微分処理と細線化処理による臓器輪郭線の自動抽出ソフトウェアを開発した。この方法は C 型慢性肝疾患に行う脾機能亢進判定のための放射性コロイド SPECT における脾臓の容積や放射能の測定に応用できると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

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）  
分研究報告書

脾臓摘出術前後のサイトカインの分子イメージングによる検討

研究分担者 渡辺 恭良

（独立行政法人理化学研究所分子イメージング科学研究センター センター長）

研究要旨 肝炎の治療に用いられるインターフェロンの脾臓摘出術前後での体内動態変化を PET で解析することを目的に、インターフェロンの PET プローブ化研究を行った。インターフェロン製剤の活性評価法開発に成功し、標識インターフェロンが強い活性を有することを明らかにできた。

A. 研究目的

インターフェロンを PET プローブ化するために研究を行った。ポジトロン標識したインターフェロン製剤の活性を評価するためのシステムを構築した。

B. 研究方法

分子間相互作用解析装置（QCM）で活性を確認した。まず、センサーの表面にインターフェロン受容体を結合させて、そのセンサー上にインターフェロン及び NOTA 修飾インターフェロンを作用させて、受容体に結合した重量により親和性を評価するシステムを構築した。

（倫理面への配慮）

この研究はすべて本研究所の動物実験倫理委員会の承認を得て行われている。

C. 研究結果

インターフェロン製剤、および NOTA 修飾インターフェロンの活性を評価した結果、NOTA で修飾してもインターフェロン受容体への親和性は強く維持していた。

D. 考察

インターフェロン製剤にキレーターを修飾しても、受容体へ強い親和性を維持していることが確認できた。また PET 撮像においても炎症部位への集積を確認した。よってこのプローブはインターフェロン受容体イメージングに用いることができると考えられる。次の段階として、現在用いているキレーターNOTA は世界でまだヒト投与に用いられたことが無いので、臨床試験前にキレーターの毒性試験を行う必要があると考えられる。

E. 結論

活性を維持したままインターフェロン製剤へ標識することに成功し、また PET 撮像においても炎症部位への集積を確認した。あとはキレーターの毒性試験を行えば、臨床試験を行うことが可能である。

F. 研究発表

1. 論文発表

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス  
2012年2月号（Vol.43 No.2）



2. 学会発表

特になし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

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）  
分研究報告書

脾臓摘出による感染免疫防御に関する研究

研究分担者 筒井 ひろ子（兵庫医科大学 病原微生物学 教授）

研究要旨 脾摘後の生体防御機構の破綻メカニズムの解明と、破綻回避を目指したワクチンプロトコール作製を目的とする。今年度は、肺炎球菌莢膜多糖体ワクチン（Pneumovax®）の効果に、内因性のタイプ I IFN が重要であることを明らかにした。

A. 研究目的

莢膜多糖は、肺炎球菌、髄膜炎菌を含む特定の病原細菌の重要な病原因子である。

莢膜多糖に対する抗体産生能力は感染症の予後を規定する。この抗体は、脾臓の辺縁帯に定在する特殊な B 細胞が産生する。脾摘は、従って、これらの細菌に対し易感染性となる。当該年度では、肺炎球菌ワクチン（Pneumovax®）に対する抗体産生に必要な宿主因子の解明を試みた。

B. 研究方法

C57BL/6 マウスと I 型 IFN の受容体である IFNRA を欠損したマウスに肺炎球菌多価莢膜多糖 Pneumovax®を投与し、抗 Pneumovax®IgM 量を ELISA で測定した。

（倫理面への配慮）

兵庫医科大学動物実験規程に基づき、動物実験計画書を担当委員会に提出して審査を受け、実験の承認を得た（A11-042, A11-043）。感染実験については、学内の病原体等安全管理規定を遵守してきた。

C. 研究結果

野生型マウスに Pneumovax®を投与すると抗

Pneumovax® IgM が顕著に増加するが、Ifnra-/-マウスに投与しても、その増加は認められなかった。

D. 考察

内因性のタイプ I IFN が Pneumovax®必須でのワクチン効果には、重要であることがわかった。

E. 結論

Pneumovax®のワクチン効果には、内因性のタイプ I IFN が必須であることが判明した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimoyama A, et al. Chemical synthesis of *Heicobacter pylori* lipopolysaccharide partial structures and their selective proinflammatory responses. *Chemistry* 2011; 51:14464-14474.
- 2) Kawashima T, et al. *Lactobacillus plantarum* strain YU from fermented foods activates Th1 and protective immune responses. *Int Immunopharmacol.* 2011;12:2017-2024.

3) Tsutsui H, et al. Contribution of interleukin 18 to the development of infection-associated atopic dermatitis. *Curr Probl Dermatol* 2011;41:93-103.

2. 学会発表

1) Uchiyama R, et al. Protective effect of polysaccharide vaccine in splenectomized mice against infection of *Streptococcus pneumoniae*. IUMS 2011, Sapporo 他1件

G. 知的財産権の出願・登録状況

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）  
分研究報告書

肝障害モデルにおける脾臓摘出の有無によるマイクロ RNA の発現変動についての解析

研究分担者 池田 一雄（大阪市立大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨 本研究において、マウス肝障害モデルにおける脾臓摘出の有無によるマイクロ RNA の発現変動について、マイクロ RNA アレイおよび Taqman MicroRNA Assay による定量解析をおこない、それらを英国サンガー研究所のデータベースを用いて検索した。変動が認められたマイクロ RNA のうち、TGFbeta シグナルと関連するものとして miR17-92, miR200b がみつき、miR17-92 は TGFbeta の pseud-receptor である BAMBI の発現を抑制し、miR200b は上皮間葉系移行と深く関連する SIP1 の発現を抑制させることが明らかとなった。

#### A. 研究目的

慢性肝障害、特に肝硬変時には、しばしば脾臓が腫大し、脾機能亢進症を合併し、この脾機能亢進による血小板減少をはじめとする汎血球減少症のため、抗ウイルス療法が困難な症例が少なくない。このようなウイルス性肝硬変患者に対しては、摘脾術や部分脾動脈塞栓術が施行されている。そこで、本研究においては、基礎的に摘脾術の意義を検討するため、摘脾術の肝障害への影響に関しマイクロ RNA 発現の変化とそれによる遺伝子発現制御に注目し、検討をおこなった。

マイクロ RNA は、タンパク質をコードしていないと考えられる非翻訳性 RNA のひとつで、21 から 25 塩基程度の大きさで存在し、転写・翻訳レベルで遺伝子発現を制御していることがわかってきた。このマイクロ RNA は、相補性のある数百のターゲットとなる mRNA に結合し、機能を発揮すると考えられている。

そこで、我々は、肝障害時の肝線維化に対する脾臓の役割に関して、脾臓摘出の有無によるマイクロ RNA の発現およびその機能について検討した。

#### B. 研究方法

8 週齢 C57BL/6 マウスを左肋弓下線に沿って切開し、脾臓を摘出した。対照群は、左肋弓下線に沿って切開のみ施行した。施術後、チオアセトアミド 200 mg/kg body を週 2 回腹腔内投与して実験的肝障害モデルを作製した。1, 2, 4, 8 週後にマウス肝を摘出し、small RNA を抽出した。マイクロ RNA アレイおよびアプライドバイオシステムズ社の TaqMan MicroRNA Assay にて定量的解析をおこなった。これらのデータをサンガー研究所の Web site で、In silico 解析をおこなった。さらに、4 週、8 週の脾摘により発現に変化のみられた microRNA を肝細胞癌の cell lines に lipofectamin2000 をもちいて強制発現させ、線維化に関連する因子の発現を検討した。

#### C. D. 研究結果と考察

TGFbeta1 刺激下に miR200b を強制発現させた細胞では、TGFbeta1 の発現を増強させた。また、TGFbeta1 刺激により内因性の miR200b の発現は低下した。

上皮間葉系移行 (epithelium mesenchymal transition:EMT) に強く関連する SIP1 が miR200b の低下によりその発現が増強することを昨年までに明らかにしたが、さらに TGFbeta 刺激により SIP1 発現が増強すること、miR200b 発現は TGFbeta 刺激により低下すること、miR200b の発現低下により TGFbeta 発現が増強することが判り、TGFbeta, miR200b, SIP1 の発現相関があきらかとなった。

一方、oncomiR (miR17-92)に関連するとされる In silico での解析で、肝線維化と深くかかわりのある因子 HIF1 (hypoxia- inducible factor1), ID2 (inhibitor of DNA binding2), BAMBI (bmp and activin membrane-bound inhibitor) の発現が、実際その制御を受けているかどうか検討してみたところ、miR17-20 が BAMBI の 3' UTR に結合し、その発現を抑制することが明らかとなった。HIF1, ID2 については有意な変化は認められなかった。BAMBI は TGFbeta の pseudo-receptor で TGFbeta シグナルと深くかかわっており、さらに今後の検討を続けたい。

#### E. 結論

肝障害時、摘脾の有無により、マイクロ RNA の発現の変化が確認された。その中で miR17-92, miR200b は、TGFbeta シグナルと深く関連するものであった。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Sekiya Y, Ogawa T, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. Suppression of hepatic stellate cell activation by microRNA-29b. *Biochem Biophys*

*Res Commun.* 2011;412(1):74-79.

##### 2. その他の発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。

### Ⅲ. 診療ガイドラインの試案

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）

研究代表者研究報告書

血小板低値例へのインターフェロン治療：診療ガイドライン

研究代表者 西口 修平（兵庫医科大学 内科学 肝胆膵科 教授）

研究要旨 C型慢性肝疾患患者における血小板数低値例の病態や治療法に関しては不明な点が多い。当研究班でのアンケート調査による全国集計や班員からの治療成績データを踏まえて、文献検索を行い血小板低値例に対する診療ガイドラインと治療のディシジョンツリーを作成した。ガイドラインでは Clinical question : CQ を大きく 9 分野に設定しそれぞれを担当の班員がステートメントと解説を作成した。その後パブリックコメントを求め、それをもとにさらにブラッシュアップを行った。どの分野においても十分なエビデンスが示されている文献は少なく、ガイドラインは未だ試作的なものではあるが、現時点のエビデンスをもとに推奨できる一定の見解を示した。

研究協力者：

兵庫医科大学

飯室 勇二 外科学 肝胆膵外科 教授

山本 聡 放射線科 助教

今西 宏安 内科学 肝胆膵科 准教授

池田 直人 内科学 肝胆膵科 助教

論文の網羅的検索法としては Pub-Med、医中誌を中心に 2000 年以降の論文を中心に key-word をそれぞれの CQ ごとに設定し、文献を検索した。また、指定年代以外の文献や、書物、WHO などのホームページなどは必要に応じて追加を行った。

暫定ガイドラインに対し肝臓学会評議員・理事・名誉会員 257 名にパブリックコメントを求め、73 名から回答を得、それをもとにさらにブラッシュアップを行った。

推奨グレードは Minds 推奨グレード、引用文献のエビデンスレベルは Oxford Centre for Evidence-based Medicine Level of Evidence をそれぞれ準拠した。

A. 研究目的

わが国の C 型慢性肝疾患は、汎血球減少例が多く、IFN 治療が困難な症例が多い。これに対して脾臓摘出術や部分的脾動脈塞栓術などの処置が IFN 治療前に行なわれている。しかし、C 型慢性肝疾患患者における血小板数低値例の病態や治療法に関しては不明な点が多く十分なエビデンスが示されているわけではない。

そこで当研究班の今までのデータと文献をもとに血小板数低値例に対する診療ガイドラインおよび治療のディシジョンツリーを作成する事を目的とした。

B. 研究方法

診療ガイドライン（小児例は除く）は Clinical question : CQ（大項目 9，小項目 23）に対し 18 人の班員が分担し回答した。

引用文献のエビデンスレベル

I	システマティック・レビュー/RCT のメタアナリシス
II	1 つ以上のランダム化比較試験による
III	非ランダム化比較試験による
IVa	分析疫学的研究（コホート研究）
IVb	分析疫学的研究（症例対照研究，横断研究）
V	記述研究（症例検討やケース・シリーズ）
VI	患者データに基づかない，専門委員会や専門家個人の意見

推奨グレード

推奨 グレード	内容
A	強い科学的根拠があり、行うよう強く勧められる。
B	科学的根拠があり、行うよう勧められる。
C1	科学的根拠はないが、行うよう勧められる。
C2	科学的根拠がなく、行わないよう勧められる。
D	無効性あるいは害を示す科学的根拠があり、行わないよう勧められる。

Minds 推奨グレードによる

C. 研究結果

1. 診療ガイドライン：別紙 1 に示す
2. デイジジョンツリーの作成：別紙 2 に示す

D. 考察

C 型慢性肝疾患患者が血小板低値を呈する機序は、脾機能亢進症だけではないと考えられるが、脾機能亢進症以外の機序が占める割合やその診断方法に関して十分なエビデンスが示されている文献はほとんどない。例えば ITP やピロリ菌の関与についてもそれらを検討した論文は極めて少ない。脾機能亢進症に限っても脾摘や PSE が血小板数を増加させることは事実だが IFN 療法における SVR 率に対する効果について詳細を論じた論文は少ない。班員の検討成績からは Ib 高ウイルス量症例に関しては、これらの処置はアドヒアランスを高めるものの、SVR 率の向上に結び付かない。このため、Ib 高ウイルス量症例

では少なくとも「HCV コア 70 が Wild type で IL28B が Major type の症例」に限定すべきと考え、ガイドラインにした。

脾摘後の肺炎球菌ワクチン接種に関してはある程度のエビデンスが示されており、行うことが勧められている。当研究班で行った調査でも処置後の感染症による死亡率は看過できないものであり、このステートメントは妥当なものと考えられる。

ガイドラインは、根拠とした論文のエビデンスレベルが十分ではなく、未だ試作的なものではあるが、班員全員の合議も行い、現時点での一定の見解を示した。

E. 結論

C 型慢性肝疾患患者における血小板低値例の診療に関して文献検索を行い血小板低値例に対する診療ガイドラインと、さらに班員からのデータを踏まえて治療のディジジョンツリーを作成した。

F. 研究発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。



## 【別紙 1】

- CQ-1-1. 血小板低値例では高値例に比べ、治療中の副作用発現率は高いのか？
- CQ-1-2. 血小板低値例では高値例に比べ、IFN やリバビリン投与量は標準投与量より低いのか？
- CQ-1-3. 血小板低値例では高値例に比べ、IFN やリバビリン投与時の副作用の発現率が高いのか？  
○うつ症状の発現について
- CQ-1-4. 血小板低値例では高値例に比べ、SVR 率が低値なのか？
- CQ-2-1. 血小板数低値の C 型慢性肝疾患において、脾機能亢進症以外の症例はどの程度含まれているか？ また、どのような病態が考えられるのか？
- CQ-2-2. 血小板減少の原因が、脾機能亢進症か否かを如何に診断するのか？  
①血液学的な検査  
②画像診断
- CQ-2-3. 脾機能亢進症以外の症例では、どのような治療を行えば血小板低値を改善できるのか？  
①H. ピロリ菌陽性例への除菌  
②ITP 合併例への治療
- CQ-3-1. 脾機能亢進症合併 C 型慢性肝疾患に対して脾摘、PSE を行うと、IFN (+RBV) の adherence は向上するのか？
- CQ-3-2. 脾機能亢進症合併 C 型慢性肝疾患に対して脾摘、PSE を行うと、IFN (+RBV) 治療した場合と比して SVR 率は上昇するのか？
- CQ-4-1. IFN 治療を前提とした脾摘の対象患者は？
- CQ-4-2. 脾摘の標準術式と合併症(死亡含む)は？
- CQ-4-3. 成人脾摘並びに PSE 例に対する肺炎球菌ワクチンの投与はどうすべきか？
- CQ-4-4. 脾摘例に対する門脈血栓予防対策は？
- CQ-5-1. IFN 治療を前提とした PSE の対象患者は？
- CQ-5-2. PSE の標準術式と合併症(死亡含む)は？  
①脾容量による術式の選択  
②梗塞範囲の設定
- CQ-5-3. PSE 例に対する血栓予防対策は？
- CQ-6-1. 血小板低値の C 型慢性肝疾患に対する肝移植後に IFN 治療を行うことは可能か?: 肝移植と適応
- CQ-6-2. 肝移植後の最適な IFN 治療法は？  
①治療開始時期  
②治療法と効果
- CQ-7-1. 血小板数低値の C 型慢性肝疾患に対して IFN 少量長期投与の有効性は？
- CQ-7-2. IFN 少量長期投与の対象は？
- CQ-8. 血小板低値の C 型慢性肝疾患に対して、IFN 以外の治療法として肝庇護療法および線維化抑制療法の有効性および対象は？
- CQ-9-1. 血小板数低値の C 型慢性肝疾患に対して、IFN 以外の治療法として瀉血療法の有効性は？
- CQ-9-2. 瀉血療法の対象は？

CQ-1-1: 血小板低値例では高値例に比べ、治療中の副作用発現率は高いのか？

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓内科 山本和秀

ステートメント	グレード	エビデンスレベル		保険適用
		海外	日本	
<b>CQ-1-1：血小板低値例では高値例に比べ、治療中の副作用発現率は高いのか？</b>				
血小板低値による副作用発現率の増加は、血球系への影響以外は必ずしも明確ではない。しかし、血小板低値例は高齢で組織学的な進行例が多くを占めるため、副作用に留意すべきである。		II	IVa	有

解説：インターフェロン治療について、治療効果寄与因子として血小板数で解析を行った報告はあるものの、治療中の副作用発現率を血小板低値例と高値例と比較した報告は見当たらない。血小板低値例は高齢であることが多く、組織学的に bridging fibrosis や肝硬変に進行した例が多いので、高齢者や肝硬変症例における副作用発現率から類推することになる。欧米における bridging fibrosis や肝硬変の症例に対するペグインターフェロン単独療法やリバビリン併用療法の治療成績について RCT による研究(1-4)、コホート研究(5, 6)が報告されている。肝硬変例では汎血球減少をきたしている例が多く、顆粒球減少や血小板減少を来し易い。HALT-C ではペグインターフェロンの 2 割以上の減量が 27%の症例で、リバビリンの 2 割以上の減量が 30%の症例で必要であったと報告している。肝不全や脳出血、細菌性腹膜炎など重篤な合併症も報告されているが、必ずしも慢性肝炎と比して高頻度または重篤であるとは言えない。これらの報告に含まれる肝硬変症例は代償性肝硬変症例が大部分で、血小板数も平均では 10 万を越えている。Marco ら(7) は同じ肝硬変でも門脈圧亢進症（食道静脈瘤合併、血小板数 10 万以下、脾腫のいずれか）を伴う肝硬変症例を対象に検討している。血小板数は平均 8~9 万で、高血圧や糖尿病を 3 割の症例が合併していたが、糖尿病増悪と肝不全をそれぞれ 1 例認めたのみで、副作用発現率の増加は明確でなかった。また、本邦で比較的多い高齢者のインターフェロン治療についての報告(8, 9) では、もともと合併症を高率に有しており、薬剤の減量・中止をせざるをえない症例も多いが、それ以外の副作用発現率の頻度は慢性肝炎と変わらない。また、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法における副作用発現をまとめたコホート研究(10) では、65 歳以上の高年齢や糖尿病の合併が治療中止へ影響する因子であり、血小板低値は有意な影響を認めないと報告している。したがって、血小板低値例ではインターフェロン治療中に薬剤の減量・中止に陥る可能性は高いが、副作用発現率が有意に高いとは言えない。

参考文献：(1-10)

CQ-1-2: 血小板低値例では高値例に比べ、IFN やリバビリン投与量は標準投与量より低いのか？

久留米大学医学部 内科学講座 消化器内科 井出達也

ステートメント	グレード	エビデンスレベル		保険適用
		海外	日本	
<b>CQ-1-2：血小板低値例では高値例に比べ、IFN やリバビリンの adherence が低いのか？</b>				
血小板数低値例では、高値例に比べ治療の adherence は低い。ペグインターフェロン治療開始時の推奨血小板数は、9～12 万/mm <sup>2</sup> 以上である。血小板数低値例では、インターフェロンの adherence は低下するので治療効果に悪影響を及ぼす。脾機能亢進症では、血小板数低値に加え、貧血も合併するので、リバビリンの adherence が下がると考えられる。		IVb	IVb	有

解説：血小板低値例への IFN,リバビリン治療という視点での論文は抽出できなかった。血小板数低値例、すなわち肝硬変として検索しても、多くの海外の論文は肝硬変例を慢性肝炎と区別せずに検討しているため、投与量を肝硬変で検討することは困難であった。さらに Di Marco ら(7)のように、肝硬変例の検討では最初から投与量を減量して開始しており、このような報告では慢性肝炎と比較する場合に、真の adherence を検討することは難しい。最近 CM Fernandez-Rodrigues ら(11)は、568 例の肝硬変患者にペグインターフェロン・リバビリン併用療法の full doze の報告をしている。治療前の血小板数は平均 12.9 万/mm<sup>2</sup> であり、血小板数が低値でない症例も存在するとおもわれるが、ペグインターフェロンは 19.2%の患者で、リバビリンは 17.4%の患者で減量が必要であった。また 80/80/80 ルール（80%以上のペグインターフェロン/80%以上のリバビリン/80%以上の投与期間）を満たすのは 21.5%であり、通常の慢性肝炎を主体とする報告(12)での約 50%に比べ明らかに低い。したがって肝硬変例・血小板低値例では adherence は低下すると考えられる。我が国からは、肝硬変例にペグインターフェロン・リバビリン療法が 2011 年まで認可されておらず、血小板低値例へのペグインターフェロン・リバビリンの報告はほとんどなく、比較的症例の多い報告でも肝硬変例は少数例しか含まれず検討が困難である。

正常時では脾内の血液量は 120 mL 前後と少ないが、脾腫を伴う状態ではその 3 倍以上となり、肝硬変などのうっ血した状態では体内の全赤血球の 10～25%が脾内に存在するとされる。このうっ血した状態で脾臓特有の循環構造に赤血球が捕捉され、溶血が生じると考えられている(13)。肝硬変患者における脾機能亢進の程度とヘモグロビン値低下、好中球数低下に相関が認められる(14)ことがわかっている。一方、リバビリン投与時の貧血に、ITPA 遺伝子の一塩基多型が関与することが報告された。(15) (16)、貧血を来しやすい遺伝子を持った患者は、ペグインターフェロン・リバビリン療法により 4 週目で Hb 値が 2.8g/dl、8 週目で 3.2g/dl 減少したのに対し、そうでない患者の Hb 値の減少はそれぞれ 1.1g/dl、1.9g/dl であった。血小板数低値例では肝疾患進展例が多いので、貧血を来しやすい ITPA 遺伝子を持った患者は、脾機能亢進と相まって貧血が進行し、リバビリンの adherence は低下すると考えられる。

参考文献：(7, 11-16)

[PubMed]

#1 :cirrhosis : Limits, English, Japanese, Humans · #2 :peginterferon · #3 :ribavirin · #4 :HCV  
#5 #1 AND #2 AND #3 AND #4 AND #5 : 検索論文 426 採用論文 2

[PubMed]

#1 :adherence : Limits, English, Japanese, Humans · #2 :HCV · #3 :genotype-1  
#4 #1 AND #2 AND #3 : 検索論文 38 採用論文 1

[医中誌Web]

(脾機能亢進/TH or 脾機能亢進/AL) : 検索論文 791 採用論文 1

[PubMed]

#1 :hemodynamics · #2 :hypersplenismで検索  
#3 #1 AND #2 : 検索論文 102 採用論文 1

[PubMed]

#1 ITPA : Limits, English, Japanese, Humans · #2 HCV  
#3 #1 AND #2 : 検索論文 8 採用論文 1

CQ-1-3: 血小板低値例では高値例に比べ、IFN やリバビリン投与時の副作用の発現率が高いのか？  
うつ症状の発現について

久留米大学医学部 精神医学 内村直尚

ステートメント	グレード	エビデンスレベル		保険適用
		海外	日本	
<b>CQ-1-3: 血小板低値例では高値例に比べ、IFN やリバビリン投与時の副作用の発現率が高いのか？ うつ症状の発現について</b>				
血小板低値例では高値例に比べ、IFN およびリバビリン投与時のうつ状態の発現率に有意差はない。血小板数とうつ状態発現との間に相関はみられない。	B	IV	IV	有

解説：久留米大学病院および関連施設 6 施設においてペグインターフェロン（PEG-IFN）およびリバビリン（RBV）療法を施行した 514 例中とうつ状態が出現した例は 27 例（5.3%）であった(17)。うつ状態発現群と非発現群の間に有意差は認めず、また、血小板数とうつ状態発現との間に相関はみられなかった。本邦および海外における血小板低値例と高値例においてうつ状態の発現率を比較した論文は抽出できなかった。

IFN 投与によるうつ状態発現の危険因子としては、IFN による直接的な副作用の要因と思われる一次性と心理・環境的要因と思われる二次性に大別される。一次性因子としては、①肝硬変から肝癌へ移行するのではないかと不安、②IFN 投与による精神科的副作用への不安、③精神科的遺伝負因、④精