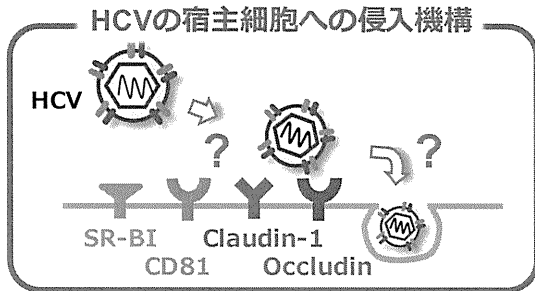


- biomarker proteins., *Biomaterials*, 2011, 32(1):162-169.
3. Nomura T, Abe Y, Kamada H, Inoue M, Kawara T, Arita S, Furuya T, Minowa K, Yoshioka Y, Shibata H, Kayamuro H, Yamashita T, Nagano K, Yoshikawa T, Mukai Y, Nakagawa S, Tsunoda S, Tsutsumi Y. Creation of an improved mutant TNF with TNFR1-selectivity and antagonistic activity by phage display technology, *Pharmazie*, 2010, 65(2):93-96.
  4. Abe Y. Development of novel DDS technologies for optimized protein therapy by creating functional mutant proteins with antagonistic activity. *Yakugaku Zasshi*, 2009, 129:933-939.
  5. Nomura T, Abe Y, Kamada H, Inoue M, Kawara T, Arita S, Furuya T, Yoshioka Y, Shibata H, Kayamuro H, Yamashita T, Nagano K, Yoshikawa T, Mukai Y, Nakagawa S, Taniai M, Ohta T, Tsunoda S, Tsutsumi Y. Novel protein engineering strategy for creating highly receptor-selective mutant TNFs. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388:667-71.
- ・研究分担者 (近藤昌夫)
1. Kondoh M, Takahashi A, Yagi K. Spiral progression in the development of absorption enhancers based on the biology of tight junctions. *Adv Drug Deliv Rev*, in press.
  2. Yoshida T, Takayama K, Kondoh M, Sakurai F, Tani H, Sakamoto N, Matsuura Y, Mizuguchi H, Yagi K. Use of human hepatocyte-like cells derived from induced pluripotent stem cells as a model for hepatocytes in hepatitis C virus infection. *Biochem Biophys Res Commun*, in press.
  3. Takahashi A, Kondoh M, Yagi K. A Non-invasive Drug Delivery System Using Claudin Binder. *Yakugaku Zasshi*, 2011, 131, 1583-1587.
  4. Takahashi A, Kondoh M, Uchida H, Kakamu Y, Hamakubo T, Yagi K. Mutated C-terminal fragments of *Clostridium perfringens* enterotoxin have increased affinity to claudin-4 and reversibly modulate tight junctions in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 410, 466-470.
  5. Kodaka M, Takahashi A, Yamaura T, Kakamu Y, Matsuhisa K, Matsushita K, Hamakubo T, Watari A, Kondoh M, Yagi K. A simple screening system for claudin binders using an scFv library derived from claudin-immunized mice. *FASEB J*, 2011, 25, 620.12.
  6. Takahashi A, Kondoh M, Kakutani H, Sakihama T, Hamakubo T, Watari A, Yagi K. A novel screening system for claudin binder using baculoviral display. *FASEB J*, 2010, 24, 773.3.
  7. Kondoh M, Saeki R, Kakutani H, Hamakubo T, Watari A, Yagi K. Preparation of a claudin-4-targeted anti-tumor molecule. *FASEB J*, 2010, 24, 964.3.
  8. Saeki R, Kondoh M, Kakutani H, Matsuhisa K, Takahashi A, Suzuki H, Kakamu Y, Watari A, Yagi K. A claudin-targeting molecule as an inhibitor of tumor metastasis. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 334, 576-582.
  9. Uchida H, Kondoh M, Hanada T, Takahashi A, Hamakubo T, Yagi K. A claudin-4 modulator enhances the mucosal absorption of a biologically active peptide. *Biochem Pharmacol*, 2010, 79, 1437-1444.
  10. Kondoh M. Drug development based on epithelial barrier. *Yakugaku-zasshi*, 2010, 70, 309-313.
  11. Suzuki H, Kakutani H, Kondoh M, Watari A, Yagi K. The safety of a mucosal vaccine using the C-terminal fragment of *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Pharmazie*, 2010, 10, 766-769.
  12. Saeki R, Kondoh M, Uchida H, Yagi K. Potency of claudin-targeting as antitumor therapy. *Mol Cell Pharmacol*, 2010, 2, 47-51.
  13. Kakutani H, Kondoh M, Fukasaka M, Suzuki H, Hamakubo T, Yagi K. Mucosal vaccination using claudin-4-targeting. *Biomaterials*, 2010, 31, 5463-5471.
  14. Kakutani H, Kondoh M, Saeki R, Fujii M, Watanabe Y, Mizuguchi H, Yagi K. Claudin-4-targeting of diphtheria toxin fragment A using a C-terminal fragment of *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 75, 213-217.
  15. 八木清仁、近藤昌夫、発明の名称：新規クローデイン分子およびその利用,出願番号：特願 2010-25259.

## VII. III (3年間の研究成果)の概要図等

### 研究の背景・目的

- ・C型肝炎ウイルス (HCV) 感染者数：世界中で2億人、日本で200万人
  - ・C型肝炎治療法：インターフェロン、リバビリン療法のみ（感染阻害薬は皆無）
- 問題点：奏効率50%、耐性ウイルスの出現、副作用 → 新たな抗HCV薬の開発が求められている。**



#### HCV感染阻害剤開発における問題点

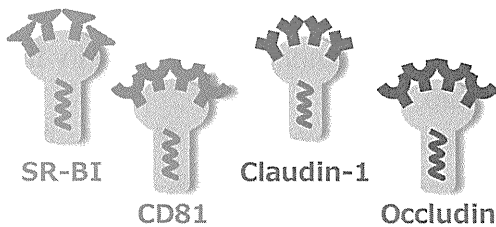
- ・HCV感染受容体の蛋白質精製が困難
- ・HCV感染受容体の抗原性が低い

→ HCV感染機構の生化学的解析が皆無であるため、HCV感染受容体の重要度、受容体同士の相互作用については不明。

**目的：本邦独自の膜蛋白質発現系出芽バキュロウイルス (BV) を用いたHCV感染機構の生化学的解析を出発点とした、HCV感染阻害分子の創出および感染受容体発現とC型肝炎との関連解析を目指す**

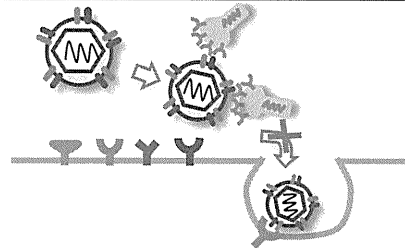
### H21～23年度の成果

#### ①HCV感染受容体発現BVの作製



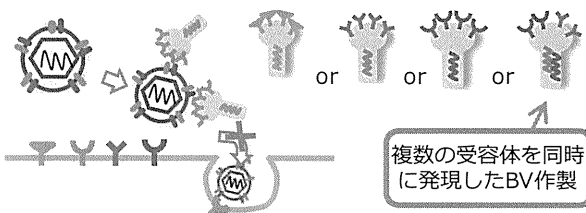
HCV感染受容体として同定されているSR-BI, CD81, Claudin-1, Occludinを提示した各種single感染受容体提示バキュロウイルス(BV)の作製に成功した。

#### ②BVを用いたHCV感染機構解析系の構築



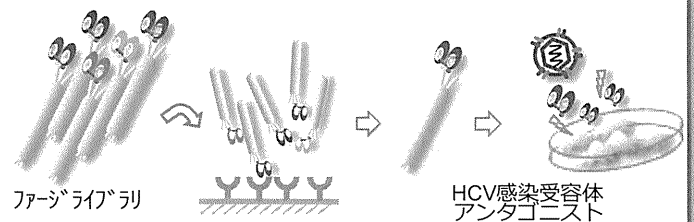
受容体発現BVによるウイルス感染阻害効果の解析系を構築した。HCVの感染阻害活性は、HCVpp(ルシフェラーゼ発現)により解析した。

#### ③HCV感染受容体群のバリデーション



H23年度までに作製したHCV感染受容体BVを用いて、HCV感染受容体群の解析を行った。ヒトiPS由来肝様細胞を用いた解析から、HCV感染にはCL-1が重要な役割を担っている可能性が示された。

#### ④HCV感染受容体に対するscFvの創出



HCV感染受容体発現BVを免疫した自己免疫疾患マウスの脾臓を用いて、一本鎖抗体(scFv)提示ファージライブラリを構築した。さらに、CL-1結合性scFvの取得に成功した。

## ●研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

平成 16 年～平成 18 年 : 大阪大学大学院薬学研究科 修士課程修了

平成 18 年～平成 20 年 : 大阪大学大学院薬学研究科 博士後期課程中退

平成 20 年～現在 : 独立行政法人医薬基盤研究所・プロジェクト研究員

この間、

平成 17 年～平成 20 年 : 独立行政法人医薬基盤研究所・研修生

平成 18 年～平成 20 年 : 日本学術振興会特別研究員(DC1)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

眞弓忠範 : 神戸学院大学薬学部 教授 (大阪大学名誉教授)

中川晋作 : 大阪大学大学院薬学研究科 教授

堤 康央 : 独立行政法人医薬基盤研究所 チーフプロジェクトリーダー (兼 大阪大学大学院薬学研究科 教授)

角田慎一 : 独立行政法人医薬基盤研究所 プロジェクトリーダー

永田諭志 : Cancer Biology Research Center, Sanford Research/USD

### ・主な研究課題

ファージ表面提示法を駆使した医薬価値に優れたバイオ医薬の開発

抗体プロテオミクス技術を活用した創薬ターゲットの探索基盤技術の開発

### ・これまでの研究実績

1. Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Mimura K., Morishita Y., Nozaki M., Yoshida T., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Monobe Y., Imazawa T., Aoshima H., Shishido K., Kawai Y., Mayumi T., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Yanagihara I., Saito S., Tsutsumi Y. : Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice., *Nat. Nanotechnol.*, 6(5):321-328, 2011.
2. Abe Y., Yoshikawa T., Inoue M., Nomura T., Furuya T., Yamashita T., Nagano K., Nabeshi H., Yoshioka Y., Mukai Y., Nakagawa S., Kamada H., Tsutsumi Y., Tsunoda S. : Fine tuning of receptor-selectivity using a phage display system with one-step competitive panning., *Biomaterials*, 32(23):5498-504, 2011.
3. Nabeshi H., Yoshikawa T., Arimori A., Yoshida T., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshioka Y., Tsutsumi Y. : Effect of surface properties of silica nanoparticles on their cytotoxicity and cellular distribution in murine macrophages. *Nanoscale Res. Lett.*, 6(1):93, 2011.
4. Imai S., Nagano K., Yoshida Y., Okamura T., Yamashita T., Abe Y., Yoshikawa T., Yoshioka Y., Kamada H., Mukai Y., Nakagawa S., Tsutsumi Y., Tsunoda S. : Development of a novel antibody proteomics system using a phage antibody library for efficient screening of tumor-related biomarker proteins., *Biomaterials.*, in press.
5. Nomura T., Abe Y., Kamada H., Shibata H., Kayamuro H., Inoue M., Kawara T., Arita S., Furuya T., Yamashita T., Nagano K., Yoshikawa T., Yoshioka Y., Mukai Y., Nakagawa S., Taniai M., Ohta T., Serada S., Naka T., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Therapeutic effect of PEGylated TNFR1-selective antagonistic mutant TNF in experimental autoimmune encephalomyelitis mice., *J. Control. Release*, 149(1):8-14, 2011.
6. Kayamuro H., Yoshioka Y., Abe Y., Arita S., Katayama K., , Nomura T., Yoshikawa T., Kubota-Koketsu R., Ikuta K., Okamoto S., Mori Y., Kunisawa J., Kiyono H., Itoh N., Nagano K., Kamada H., Tsutsumi Y.,

- Tsunoda S. : The IL-1 family cytokines as mucosal vaccine adjuvant for the induction of protective immunity against influenza virus., *J Virol.*, 84(24):12703-12, 2010.
7. Nomura T, Abe Y., Kamada H., Inoue M., Kawara T., Arita S., Furuya T., Minowa K., Yoshioka Y., Shibata H., Kayamuro H., Yamashita T., Nagano K., Yoshikawa T., Mukai Y., Nakagawa S., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Creation of an improved mutant TNF with TNFR1-selectivity and antagonistic activity by phage display technology, *Pharmazie.*, 65(2):93-96, 2010.
  8. Shibata H., Abe Y., Yoshioka Y., Nomura T., Sato M., Kayamuro H., Kawara T., Arita S., Furuya T., Nagano K., Yoshikawa T., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Generation of mouse macrophages expressing membrane-bound TNF variants with selectivity for TNFR1- or TNFR2, *Cytokine.*, 50(1):75-83, 2010.
  9. Kayamuro H., Abe Y., Yoshioka Y., Katayama K., Yoshida T., Yamashita K., Yoshikawa T., Kawai Y., Mayumi T., Hiroi T., Itoh N., Nagano K., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Mutant TNF-alpha, mTNF-K90R, is a novel mucosal vaccine adjuvant candidate against HIV., *Pharmazie.*, 65(4):254-6, 2010.
  10. Nabeshi H., Yoshikawa T., Kamada H., Shibata H., Sugita T., Abe Y., Nagano K., Nomura T., Minowa K., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Arsenic trioxide alters expression and oxidative modification of the proteome in leukemic cells., *Pharmazie.*, 65:702-707, 2010.
  11. Kayamuro H., Abe Y., Yoshioka Y., Katayama K., Yoshida T., Yamashita K., Yoshikawa T., Hiroi T., Itoh N., Kawai Y., Kamada H., Nagano K., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : The use of a mutant TNF-alpha as a vaccine adjuvant for the induction of mucosal immune responses., *Biomaterials.*, 29:5869-76, 2009.
  12. Abe Y. : Development of novel DDS technologies for optimized protein therapy by creating functional mutant proteins with antagonistic activity., *Yakugaku Zasshi*, 129(8):933-939, 2009.
  13. Nomura T, Abe Y., Kamada H., Inoue M., Kawara T., Arita S., Furuya T., Yoshioka Y., Shibata H., Kayamuro H., Yamashita T., Nagano K., Yoshikawa T., Mukai Y., Nakagawa S., Taniai M., Ohta T., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Novel protein engineering strategy for creating highly receptor-selective mutant TNFs., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 30:388(4):667-71, 2009.
  14. Shibata H., Yoshioka Y., Abe Y., Ohkawa A., Nomura T., Minowa K., Mukai Y., Nakagawa S., Taniai M., Ohta T., Tsunoda S., Kamada H., Tsutsumi Y. : The treatment of established murine collagen-induced arthritis with a TNFR1-selective antagonistic mutant TNF., *Biomaterials*, 30(34):6638-6647, 2009.
  15. Kayamuro H., Yoshioka Y., Abe Y., Katayama K., Yoshida T., Yamashita K., Yoshikawa T., Hiroi T., Itoh N., Kawai Y., Mayumi T., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : TNF superfamily member, TL1A, is a potential mucosal vaccine adjuvant., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 384(3):296-300, 2009.
  16. Nabeshi H., Yoshikawa T., Kamada H., Shibata H., Sugita T., Abe Y., Nagano K., Nomura T., Minowa K., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Arsenic trioxide has the inhibitory effect on transmission of human T-cell leukemia virus type 1., *Biol. Pharm. Bull.*, 32(7):1286-8, 2009.
  17. Mukai Y., Shibata H., Nakamura T., Yoshioka Y., Abe Y., Nomura T., Taniai M., Ohta T., Ikemizu S., Nakagawa S., Tsunoda S., Kamada H., Yamagata Y., Tsutsumi Y. : Structure-function relationship of tumor necrosis factor (TNF) and its receptor interaction based on 3D structural analysis of a fully active TNFR1-selective TNF mutant., *J. Mol. Biol.*, 385:1221-1229, 2009.
  18. Imai S., Yoshida Y., Okamura T., Nagano K., Abe Y., Yoshikawa T., Kamada H., Nakagawa S., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : The specific effect of 2-Methoxyestradiol on lymphatic vascular endothelial cells., *Pharmazie.*, 64(3):214-6, 2009.
  19. Nagano K., Imai S., Mukai Y., Nakagawa S., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Rapid isolation of intrabody candidates by using an optimized non-immune phage antibody library., *Pharmazie.*, 64(4):238-41, 2009.
  20. Yoshikawa T., Sugita T., Mukai Y., Abe Y., Nakagawa S., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : The augmentation of intracellular delivery of peptide therapeutics by artificial protein transduction domains., *Biomaterials*, 30(19):3318-23, 2009.
  21. Mukai Y., Nakamura T., Yoshioka Y., Shibata H., Abe Y., Nomura T., Taniai M., Ohta T., Nakagawa S.,

- Tsunoda S., Kamada H., Yamagata Y., Tsutsumi Y. : Fast binding kinetics and conserved 3D structure underlie the antagonistic activity of mutant TNF: useful information for designing artificial proteo-antagonists., *J. Biochem.*, 146(2):167-72, 2009.
22. Shibata H., Yoshioka Y., Ohkawa A., Minowa K., Mukai Y., Abe Y., Taniai M., Nomura T., Kayamuro H., Nabeshi H., Sugita T., Imai S., Nagano K., Yoshikawa T., Fujita T., Nakagawa S., Yamamoto A., Ohta T., Hayakawa T., Mayumi T., Vandeenabeele P., Aggarwal BB., Yamagata Y., Tsunoda S., Kamada H., Tsutsumi Y. : Creation and X-ray structure analysis of the tumor necrosis factor receptor-1-selective mutant of a tumor necrosis factor-alpha antagonist., *J. Biol. Chem.*, 283:998-1007, 2008.
  23. Abe Y., Yoshikawa T., Kamada H., Shibata H., Nomura T., Minowa K., Kayamuro H., Katayama K., Miyoshi H., Mukai Y., Yoshioka Y., Nakagawa S., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Simple and highly sensitive assay system for TNFR2-mediated soluble- and transmembrane-TNF activity., *J. Immunol. Methods.*, 335(1-2):71-8, 2008.
  24. Yoshikawa T., Sugita T., Mukai Y., Yamanada N., Nagano K., Nabeshi H., Yoshioka Y., Nakagawa S., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Organelle-targeted delivery of biological macromolecules using the protein transduction domain: Potential applications for peptide aptamer delivery into the nucleus., *J. Mol. Biol.*, 380(5):777-782, 2008.
  25. Shibata H., Yoshioka Y., Ohkawa A., Abe Y., Nomura T., Mukai Y., Nakagawa S., Taniai M., Ohta T., Mayumi T., Kamada H., Tsutsumi Y. : The therapeutic effect of TNFR1-selective antagonistic mutant TNF- $\alpha$  in murine hepatitis models., *Cytokine*, 44(2):229-233, 2008.
  26. Kamada H., Okamoto T., Kawamura M., Shibata H., Abe Y., Ohkawa A., Nomura T., Sato M., Mukai Y., Sugita T., Imai S., Nagano K., Tsutsumi Y., Nakagawa S., Mayumi T., Tsunoda S. : Creation of novel cell-penetrating peptides for intracellular drug delivery using systematic phage display technology originated from Tat transduction domain., *Biol. Pharm. Bull.*, 30(2):218-223, 2007.
  27. Shibata H., Kamada H., Nishibata K., Yoshioka Y., Nishibata T., Abe Y., Nomura T., Nabeshi H., Minowa K., Mukai Y., Nakagawa S., Mayumi T., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Role of amino acid residue 90 in bioactivity and receptor binding capacity of tumor necrosis factor mutants., *BBA-Proteins and Proteomics.*, 1774(8):1029-1035, 2007.
  28. Nomura T., Kawamura M., Shibata H., Abe Y., Ohkawa A., Mukai Y., Sugita T., Imai S., Nagano K., Okamoto T., Tsutsumi Y., Kamada H., Nakagawa S., Tsunoda S. : Creation of novel cell penetrating peptide, using random 18mer peptides library., *Pharmazie*, 62(8):569-573, 2007.
  29. Abe Y., Shibata H., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Nakagawa S. : Promotion of optimized protein therapy by bioconjugation as a polymeric DDS., *Anticancer Agents Med Chem.*, 6(3):251-8; 2006.
  30. Kawamura M., Shibata H., Kamada H., Okamoto T., Mukai Y., Sugita T., Abe Y., Imai S., Nomura T., Nagano K., Mayumi T., Nakagawa S., Tsutsumi Y., Tsunoda S. : A novel method for constructing of gene fragment library to searching epitopes., *Biochem Biophys Res Commun.*, 346(1):198-201; 2006.
  31. Mukai Y., Sugita T., Yamato T., Yamanada N. , Shibata H., Imai S., Abe Y., Nagano K., Nomura T., Kamada H., Nakagawa S., Tsutsumi Y., Tsunoda S. : Creation of novel protein transduction domains (PTDs) under phage display system-based high-throughput screening methods., *Biol Pharm Bull.*, 29(8):1570-4; 2006.
  32. Mukai Y., Okamoto T., Kawamura M., Shibata H., Sugita T., Imai S., Abe Y., Nagano K., Nomura T., Kamada H., Tsutsumi Y., Mayumi T., Nakagawa S., Tsunoda S. : Optimization of anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  single chain Fv displayed on phages for creation of functional antibodies., *Pharmazie.*, 61(10):889-90; 2006.
  33. Imai S., Mukai Y., Nagano K., Shibata H., Sugita T., Abe Y., Nomura T., Tsutsumi Y., Kamada H., Nakagawa S., Tsunoda S. : Quality enhancement of the non-immune phage scFv library to isolate effective antibodies., *Biol Pharm Bull.*, 29(7):1325-30; 2006.

・平成 24 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業への新規研究課題の応募状況

該当なし

平成24年1月26日

平成23年度厚生労働省科学研究費補助金  
肝炎等克服緊急対策研究事業  
研究発表会

### 膜蛋白質発現系を利用したC型肝炎ウイルス感染受容体の 生化学的・疫学的解析及び感染阻害剤の開発 (H21-肝炎-若手-016)

研究代表者：阿部 康弘（独立行政法人医薬基盤研究所）

研究分担者：近藤 昌夫（大阪大学大学院薬学研究所）

### 研究背景

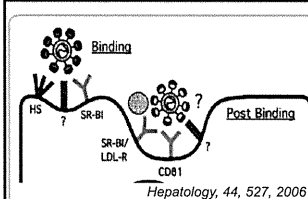
- ・年間3万5千人が肝がんで死亡
- ・肝移植は肝がん患者に対して臨床的意義が極めて大きい
- ・肝がん患者の約70%がC型肝炎ウイルス（HCV）陽性

### 肝移植患者のC型肝炎動向



HCV感染阻害剤の開発が最重要課題の1つ

### HCV感染受容体



◆ The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus.  
*EMBO J., 21, 5017, 2002.*

◆ Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry.  
*Nature, 446, 801, 2007.*

◆ Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells.  
*Nature, 457, 882, 2009.*

### HCV感染阻害剤開発における問題点

- ・ HCV感染受容体の膜蛋白質精製が困難
- ・ HCV感染受容体の抗原性が低い → 抗体の作製が困難

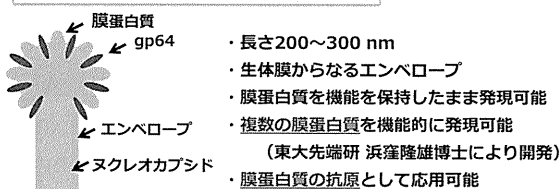
HCV感染機構の生化学的解析の遅れ

### 当研究グループの基本戦略

バキュロウイルス(BV)発現系を用いることで、

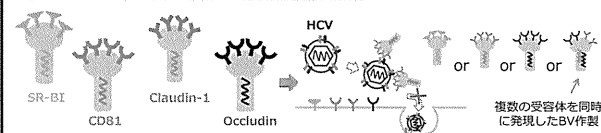
- ① HCV感染機構の生化学的解析
- ② 生化学的情報を基にしたHCV感染阻害分子の創出

### 発芽バキュロウイルス(BV)発現系の特徴



### 本研究の概要

#### ① HCV感染受容体の生化学的解析



#### ② HCV感染受容体アンタゴニストの創出

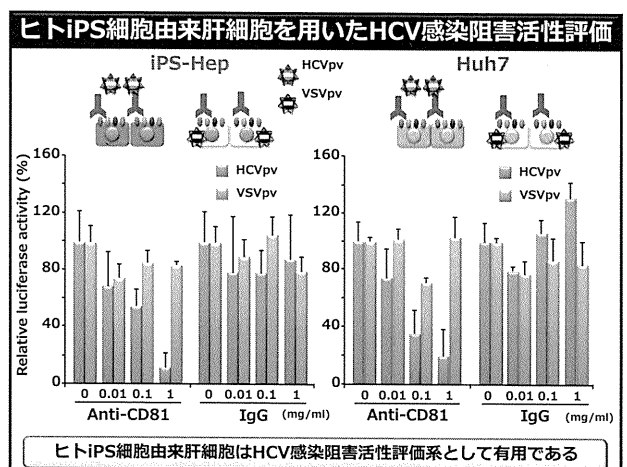
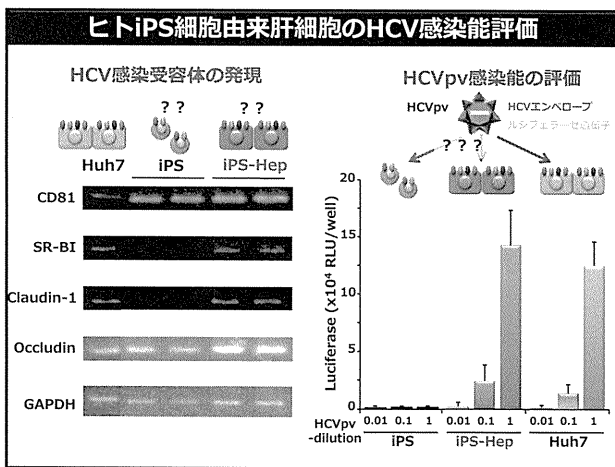
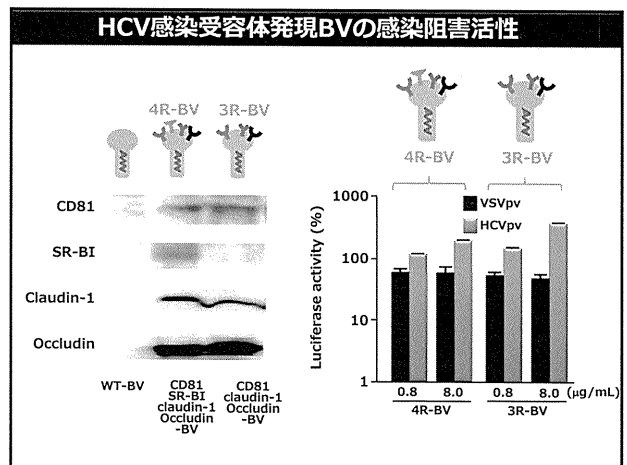
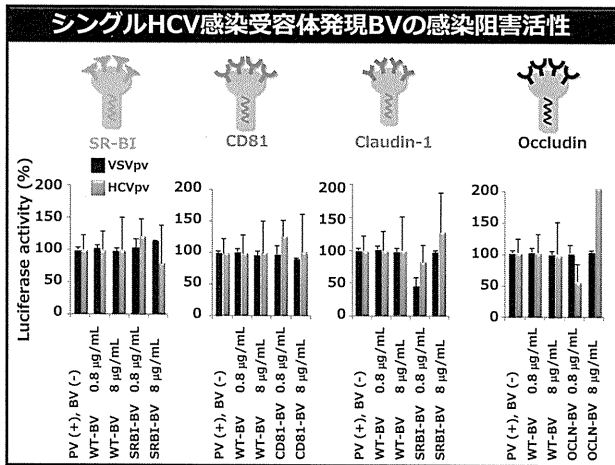
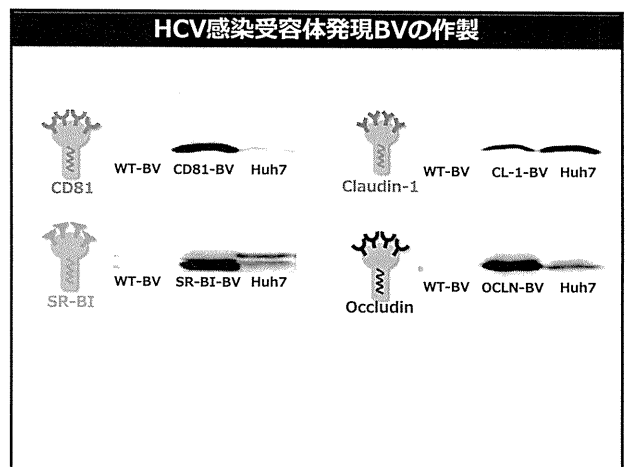
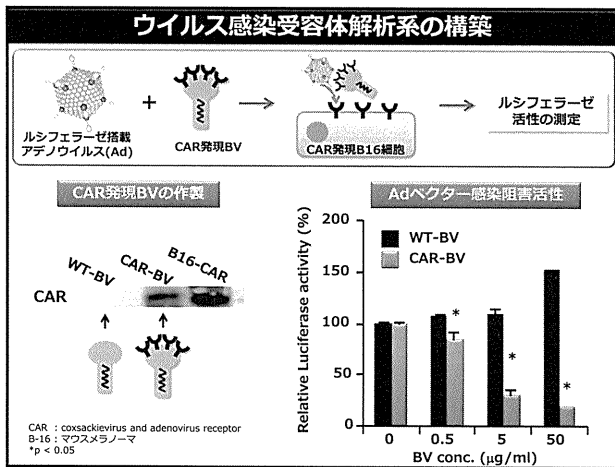


### 本研究事業の実施内容

#### ① HCV感染受容体の生化学的解析

1. BVを用いたウイルス感染評価系の可否を検証
2. 各種HCV感染受容体発現BVの作製
3. HCV感染受容体発現BVを用いた感染機構の解析
4. ヒトiPS細胞由来肝細胞を用いたHCV感染機構の解析

1. 免疫ライブラリの作製および結合性分子の創製



## 本研究事業の実施内容

1. BVを用いたウイルス感染評価系の可否を検証
2. 各種HCV感染受容体発現BVの作製
3. HCV感染受容体発現BVを用いた感染機構の解析
4. ヒトiPS細胞由来肝細胞を用いたHCV感染機構の解析

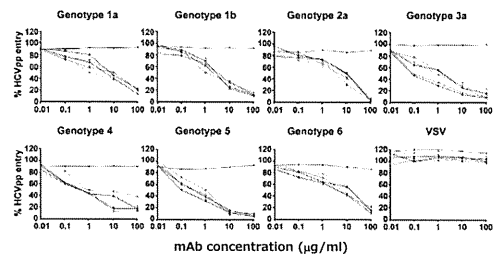
### ② HCV感染受容体アンタゴニストの創出

1. 免疫ライブラリの作製および結合性分子の創製

## Claudin-1 binderによるHCV感染阻害

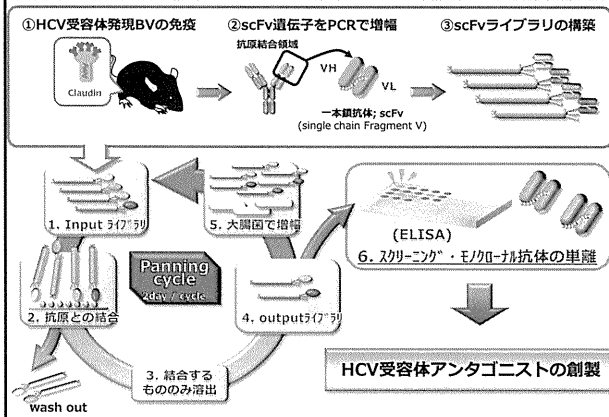
Monoclonal Anti-Claudin 1 Antibodies Prevent Hepatitis C Virus Infection of Primary Human Hepatocytes  
Gastroenterology, 2010

IGABEL ROFANA<sup>1,2</sup>, SOPHE E. KRISER<sup>1,2</sup>, FRITZ BRUNERT<sup>1</sup>, SANDRA GAUBEN<sup>1</sup>, FEI MAO<sup>1,2</sup>, SAMIRA FAR-KREMER<sup>1,2</sup>, ERIC SOULIER<sup>1,2</sup>, CATRYN ROYER<sup>1,2</sup>, CHRISTINE THUMANN<sup>1,2</sup>, CHRISTOPHER J. WEE<sup>1</sup>, JANE A. MCKEATING<sup>1</sup>, TATJANA DRAGIC<sup>1</sup>, PATRICK PESSALUX<sup>1</sup>, FRANCOISE STOLL-KELLER<sup>1,2</sup>, CATHERINE SCHUSTER<sup>1,2</sup>, JOHN THOMPSON<sup>1</sup> and THOMAS F. BAUVERT<sup>1,2\*</sup>

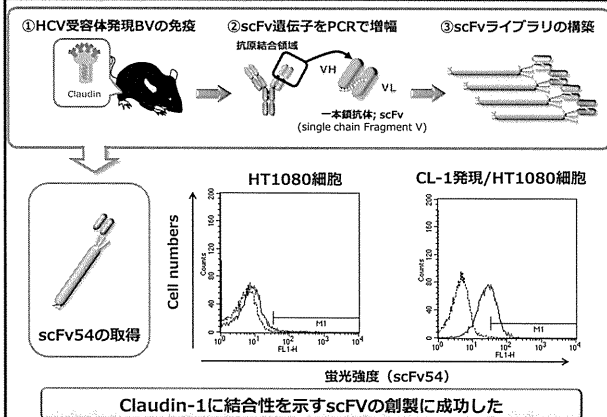


Claudin-1を標的としたC型肝炎ウイルス感染阻害薬の開発

## HCV受容体 (Claudin-1) アンタゴニストの創製



## HCV受容体 (Claudin-1) アンタゴニストの創製



Claudin-1に結合性を示すscFVの創製に成功した

## 今後の予定

### ① HCV感染受容体の生化学的解析

1. BVを用いたウイルス感染評価系の可否を検証
2. 各種HCV感染受容体発現BVの作製
3. HCV感染受容体発現BVを用いた感染機構の解析
4. ヒトiPS細胞由来肝細胞を用いたHCV感染機構の解析

➡ HCV感染受容体の生化学的解析

### ② HCV感染受容体アンタゴニストの創出

1. 免疫ライブラリの作製および結合性分子の創製

➡ HCV感染阻害分子の創出



## 平成 23 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業『成果概要』

研究課題：リツキシマブ併用悪性リンパ腫治療中のB型肝炎ウイルス再活性化への標準的対策法の確立及びリスク因子の解明に関する研究

課題番号：H23-肝炎-若手-008

予定期間：H23 年度からH23 年度まで

研究代表者：楠本 茂

所属研究機関：公立大学法人名古屋市立大学

所属部局：大学院医学研究科 腫瘍・免疫内科学

職名：講師

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 9,880,000 円 計 9,880,000 円

### I. 研究の意義

(1) 本研究が対象とする、HBV 既往感染例 (HBs 抗原陰性例のうち、HBc 抗体陽性 and/or HBs 抗体陽性) は、本邦において、がん化学療法を受ける方の 20~25% を占め、その B 型肝炎ウイルス (HBV) 再活性化は劇症化率・死亡率ともに高く、その対策方法は確立されていない。

(2) 本研究は HBV 再活性化の高リスクであるリツキシマブ+ステロイド併用治療を行う悪性リンパ腫を対象とした、他に類をみない大規模な多施設共同前方視的臨床研究である。本研究を通して HBV-DNA モニタリングによる preemptive therapy の標準化が確立されれば、より安全な抗がん剤治療が可能となり、抗ウイルス薬予防投与による対策と比較し、医療経済への負担が大幅に軽減できる。

(3) HBV 再活性化リスク因子が解明されれば、より効率的な対策法の確立が可能となる。

### II. 研究の目的、期待される成果

<研究の目的>

(1) HBV-DNA モニタリングによる多施設共同前方視的研究 (UMIN000001299) では、HBV 既往感染の悪性リンパ腫に対するリツキシマブ+ステロイド併用化学療法治療中の HBV 再活性化の頻度を明らかにすることおよび HBV-DNA を早期に検出し抗ウイルス薬を投与する対策法 (“preemptive therapy”) を確立するためのデータを集積する。

(2) 上記前方視的研究にて収集した、保存検体を用いた付随研究においては、HBV 再活性化に関与するリスク因子の同定を行う。

<期待される成果>

(1) HBV-DNA モニタリングによる HBV 再活性化対策が確立できれば、肝炎・肝障害による入院、劇症肝炎による死亡、リンパ腫治療中止による再発・再燃を最小化することができる。また、ウイルス耐性化や医療経済への負担を軽減できる。

(2) HBV 再活性化の問題は、リツキシマブ+ステロイド併用化学療法だけでなく、免疫抑制効果

を有する抗がん剤を使用する他のがん腫や他の長期の免疫抑制を要する自己免疫疾患例や臓器移植の領域など幅広い分野において問題となっており、本研究における対策は“モデルケース”となることが期待できる。

### **Ⅲ. 1年間の研究成果**

リツキシマブ＋ステロイド併用化学療法中の悪性リンパ腫を対象とした、多施設共同前方視的研究（全国68施設が参加、UMIN000001299）においては、平成20年8月11日より平成23年8月10日までに275例の最終症例登録（3年4カ月経過、平成23年12月5日現在）を得て、うち21例の再活性化例を認めているが、全例肝炎・肝障害を認めない時点で抗ウイルス薬の開始が可能であった（200例に対する中間解析結果をNEJM投稿準備中（H20-肝炎-若手-014、H23-肝炎-若手-008））。

- ・研究代表者
  - (1) 研究事務局（参加施設およびデータセンターとの連絡、試験進捗状況の把握）
  - (2) 症例登録
  - (3) HBV再活性化に関連する因子の検討（臨床経過のデータ集積・解析・発表）
  
- ・研究分担者(上田龍三)：多施設共同臨床研究の計画・立案、実行にいたる全過程のマネジメント
- ・研究分担者(溝上雅史、田中靖人)：HBV再活性化に関連する因子の検討（保存検体を用いた genotype, gene mutation の測定）
- ・研究分担者(小椋美知則・木下朝博・鈴木孝世・渡辺隆)：症例登録
- ・研究分担者(鈴木律朗)：データセンターの統括（症例登録、HBV-DNA モニタリングの精度管理、HBV-DNA 測定結果の管理など）

### **Ⅳ. 今後考えられる新たな課題**

- (1) HBV-DNA モニタリング期間および追跡期間あわせて2.5年間（各症例あたり）のフォローアップを完了し、大規模コホートにおける質の高い臨床データを収集し、解析する。
- (2) 上記前方視的研究にて収集した保存検体を用いて、HBV再活性化に関与するリスク因子（ウイルスおよび宿主側）の同定を行う。
- (3) HBV再活性化予測モデルを構築し、より効率的な、より医療経済に貢献できる対策を確立する。

### **Ⅴ. 行政施策への貢献の可能性**

- (1) HBV 既往感染例（全体の20-25%を占める）における、がん化学療法後のHBV再活性化の劇症化率・死亡率は高く、予後不良であり、HBV-DNA モニタリングによる preemptive therapy の標準化は、より安全な抗がん剤治療につながる。さらに、抗ウイルス薬の予防投与による対策と比較して、医療経済への負担を大幅に軽減できる（概算すると約10分の1の費用負担で済む）。
- (2) 化学療法・免疫抑制に伴うHBV再活性化は、悪性リンパ腫治療例だけでなく、免疫抑制効果を有する抗がん剤や分子標的治療を行う他のがん腫および自己免疫疾患治療例など幅広い分野にお

いて注目されており、本研究における対策は“モデルケース”として応用されることが期待できる。  
(3)HBV 再活性化予測モデルが構築できれば、より効率的な対策法が確立できる。

## **VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)**

(1) Sugauchi F, Tanaka Y, Kusumoto S, Matsuura K, Sugiyama M, Kurbanov F, Ueda R, Mizokami M. Virological and clinical characteristics on reactivation of occult hepatitis B in patients with hematological malignancy. J Med Virol. 2011 Mar;83(3):412-8.

(2) Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. Clinical significance of hepatitis B virus (HBV)-DNA monitoring to detect HBV reactivation after systemic chemotherapy. J Clin Oncol. 2011 Feb 1;29(4):e100

(3) Kusumoto S, Tanaka Y, Ueda R, Mizokami M. Reactivation of hepatitis B virus following rituximab-plus-steroid combination chemotherapy. J Gastroenterol. 2011 Jan;46(1):9-16.

## Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

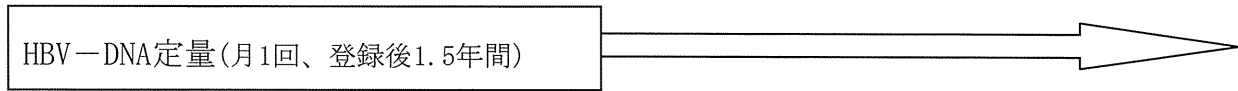
(1) HBV-DNA モニタリングに関する多施設共同臨床試験の症例登録完了

平成20年8月11日より症例登録開始し、平成23年8月10日までに275例の最終症例登録を得た(3年間の症例登録期間)。現在、各症例あたり2.5年間のモニタリングおよび追跡期間フォローアップ中であり、全症例のフォロー完了は平成26年2月予定である。

HBV-DNA モニタリング (多施設共同前方視的臨床研究、全国68施設、UMIN000001299)

リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中

治療後



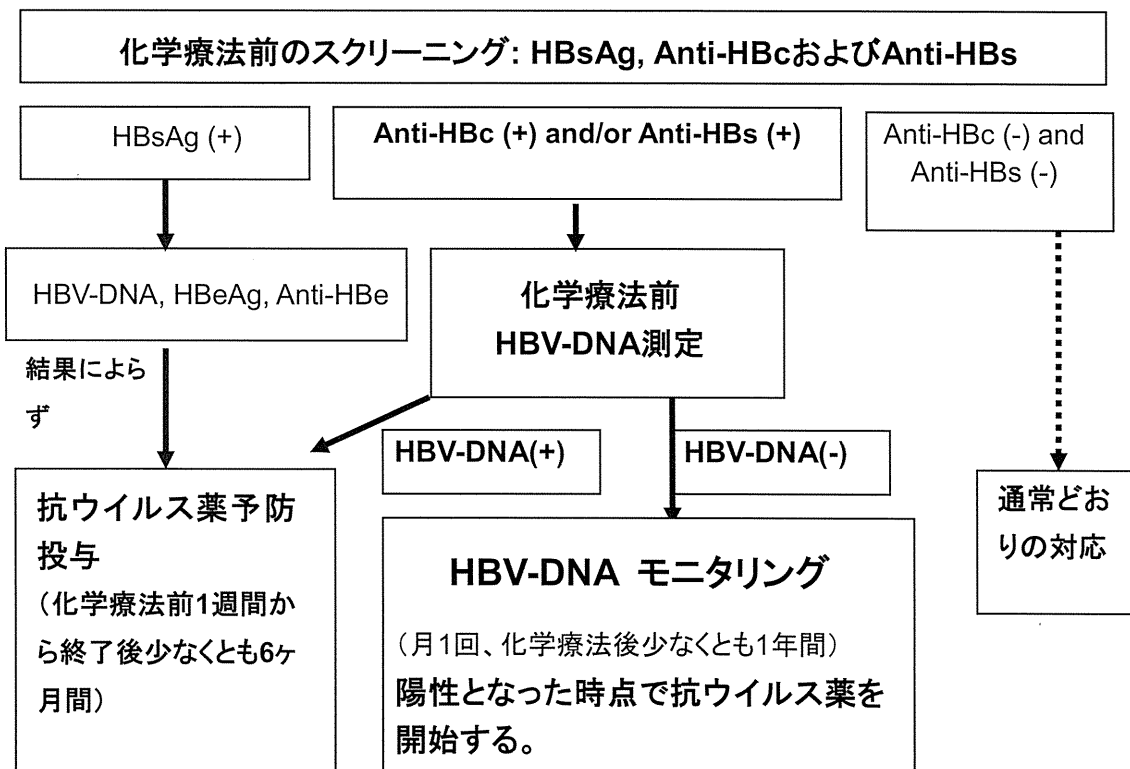
(2) HBV-DNA モニタリングによる preemptive therapy の有用性の検証

平成23年12月5日時点で、症例登録275例中21例(7.6%)でHBV再活性化を認め、全例で肝炎・肝障害を認めない時点で抗ウイルス薬の開始が可能であり、世界に先駆けてHBV-DNAモニタリングによるpreemptive therapyの有用性を検証してきた(200例に対する中間解析結果をNEJMに投稿準備中)。

(3) HBV 再活性化例の臨床経過および関連する因子の検討 (genotype, gene mutation)

HBV再活性化16例の保存検体を用い、治療前HBc抗体、HBs抗体および再活性化時のHBV-DNA、genotypeおよびgene mutationを評価し、HBV再活性化リスク因子の同定を行い、平成23年度班会議(平成23年6月11日)および日本肝臓学会総会(平成23年6月2日)にて発表した(NEJM投稿準備中)。

本研究では下記フローチャートの黄色部分(HBV-DNA モニタリングの有効性・安全性)につき、プロスペクティブに検証している。



## ●研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

平成9年4月から平成11年3月まで：名古屋市立大学病院臨床研修医

平成11年4月から平成14年5月まで：静岡済生会総合病院血液内科医

平成14年6月から平成17年3月まで：国立がんセンター中央病院内科レジデント

平成17年4月から平成18年3月まで：名古屋市立大学病院 血液・膠原病内科 臨床研究医

平成18年4月から平成19年6月まで：

名古屋市立大学病院 血液・膠原病内科 チーフレジデント

平成19年7月から平成22年1月まで：

名古屋市立大学大学院医学研究科 腫瘍・免疫内科学 助教

平成22年2月から現在：

名古屋市立大学大学院医学研究科 腫瘍・免疫内科学 講師

名古屋市立大学病院 血液・膠原病内科副部長

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

○上田龍三 (名古屋市立大学大学院医学研究科 特任教授)

○溝上雅史 (独立行政法人国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター長)

○田中靖人 (名古屋市立大学大学院医学研究科 病態医科学 (ウイルス学) 教授)

○飛内賢正 (国立がんセンター中央病院 副院長、血液腫瘍科・造血幹細胞移植科科長)

### ・主な研究課題

○全身化学療法および免疫抑制療法中のB型肝炎ウイルス再活性化への対策の確立

○悪性リンパ腫および多発性骨髄腫の新規分子標的治療の開発

### ・これまでの研究実績

1. *Sugauchi F, Tanaka Y, Kusumoto S, Matsuura K, Sugiyama M, Kurbanov F, Ueda R, Mizokami M. Virological and clinical characteristics on reactivation of occult hepatitis B in patients with hematological malignancy. J Med Virol. 2011 Mar;83(3):412-8.*
2. *Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. Clinical significance of hepatitis B virus (HBV)-DNA monitoring to detect HBV reactivation after systemic chemotherapy. J Clin Oncol. 2011 Feb 1;29(4):e100*
3. Nagai H, Ogura M, Kusumoto S, Takahashi N, Yamaguchi M, Takayama N, Kinoshita T, Motoji T, Ohyashiki K, Kosugi H, Matsuda S, Ohnishi K, Omachi K, Hotta T. Cladribine combined with rituximab (R-2-CdA) therapy is an effective salvage therapy in relapsed or refractory indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Eur J Haematol.* 2011 Feb;86(2):117-23.
4. *Kusumoto S, Tanaka Y, Ueda R, Mizokami M. Reactivation of hepatitis B virus following rituximab-plus-steroid combination chemotherapy. J Gastroenterol.* 2011 Jan;46(1):9-16.

5. Ennishi D, Maeda Y, Niitsu N, Kojima M, Izutsu K, Takizawa J, Kusumoto S, Okamoto M, Yokoyama M, Takamatsu Y, Sunami K, Miyata A, Murayama K, Sakai A, Matsumoto M, Shinagawa K, Takaki A, Matsuo K, Kinoshita T, Tanimoto M. Hepatic toxicity and prognosis in hepatitis C virus-infected patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-containing chemotherapy regimens: a Japanese multicenter analysis. *Blood*. 2010 Dec 9;116(24):5119-25.
6. Sato F, Ito A, Ishida T, Mori F, Takino H, Inagaki A, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Okada N, Inagaki H, Ueda R. A complement-dependent cytotoxicity-enhancing anti-CD20 antibody mediating potent antitumor activity in the humanized NOD/Shi-scid, IL-2R $\gamma$  (null) mouse lymphoma model. *Cancer Immunol Immunother*. 2010 Dec;59(12):1791-800.
7. *Yoshida T, Kusumoto S, Inagaki A, Mori F, Ito A, Ri M, Ishida T, Komatsu H, Iida S, Sugauchi F, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. Reactivation of hepatitis B virus in HBsAg-negative patients with multiple myeloma: two case reports. *Int J Hematol*. 2010 Jun;91(5):844-9.*
8. Ito A, Ishida T, Utsunomiya A, Sato F, Mori F, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exerts potent ADCC against primary ATLL cells mediated by autologous human immune cells in NOD/Shi-scid, IL-2R gamma(null) mice in vivo. *J Immunol*. 2009 Oct 1;183(7):4782-91.
9. Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma. *Int J Hematol*. 2009 Jul;90(1):13-23.
10. Ding J, Komatsu H, Iida S, Yano H, Kusumoto S, Inagaki A, Mori F, Ri M, Ito A, Wakita A, Ishida T, Nitta M, Ueda R. The Asn505 mutation of the c-MPL gene, which causes familial essential thrombocythemia, induces autonomous homodimerization of the c-Mpl protein due to strong amino acid polarity. *Blood*. 2009 Oct 8;114(15):3325-8. Epub 2009 May 29.
11. Inagaki A, Ishida T, Yano H, Ishii T, Kusumoto S, Ito A, Ri M, Mori F, Ding J, Komatsu H, Iida S, Ueda R. Expression of the ULBP ligands for NKG2D by B-NHL cells plays an important role in determining their susceptibility to rituximab-induced ADCC. *Int J Cancer*. 2009 Jul 1;125(1):212-21.
12. Ri M, Iida S, Ishida T, Ito A, Yano H, Inagaki A, Ding J, Kusumoto S, Komatsu H, Utsunomiya A, Ueda R. Bortezomib-induced apoptosis in mature T-cell lymphoma cells partially depends on upregulation of Noxa and functional repression of Mcl-1. *Cancer Sci*. 2008 Dec 4. [Epub ahead of print]
13. Ito A, Ishida T, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Sato F, Takino H, Mori F, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exercises potent ADCC-mediated antitumor effect in the novel tumor-bearing humanized NOD/Shi-scid, IL-2R gamma(null) mouse model. *Cancer Immunol Immunother*. 2009 Aug;58(8):1195-206.

14. Yano H, Kayukawa S, Iida S, Nakagawa C, Oguri T, Sanda T, Ding J, Mori F, Ito A, Ri M, Inagaki A, **Kusumoto S**, Ishida T, Komatsu H, Inagaki H, Suzuki A, Ueda R. Overexpression of carboxylesterase-2 results in enhanced efficacy of topoisomerase I inhibitor, irinotecan (CPT-11), for multiple myeloma. *Cancer Sci.* 2008 Nov;99(11):2309-14.
15. Yano H, Ishida T, Inagaki A, Ishii T, Ding J, **Kusumoto S**, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. Defucosylated Anti CC Chemokine Receptor 4 Monoclonal Antibody Combined with Immunomodulatory Cytokines: A Novel Immunotherapy for Aggressive/Refractory Mycosis Fungoides and Sezary Syndrome. *Clin Cancer Res.* 2007;13(21):6494-500.
16. **Kusumoto S**, Mori S, Nosaka K, Morita-Hoshi Y, Onishi Y, Kim SW, Watanabe T, Heike Y, Tanosaki R, Takaue Y, Tobinai K. T-cell large granular lymphocyte leukemia of donor origin after cord blood transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma.* 2007;7(7):475-9.
17. Onishi Y, Mori S, **Kusumoto S**, Sugimoto K, Akahane D, Morita-Hoshi Y, Kim SW, Fukuda T, Heike Y, Tanosaki R, Tobinai K, Takaue Y. Unrelated-donor bone marrow transplantation with a conditioning regimen including fludarabine, busulfan, and 4 Gy total body irradiation. *Int J Hematol.* 2007;85(3):256-63.
18. Yano H, Ishida T, Inagaki A, Ishii T, **Kusumoto S**, Komatsu H, Iida S, Utsunomiya A, Ueda R. Regulatory T-cell function of adult T-cell leukemia/lymphoma cells. *Int J Cancer.* 2007 ;120(9):2052-7.
19. Ishida T, Ishii T, Inagaki A, Yano H, **Kusumoto S**, Ri M, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. The CCR4 as a novel-specific molecular target for immunotherapy in Hodgkin lymphoma. *Leukemia.* 2006;20(12):2162-8.
20. Watanabe T, Terui S, Itoh K, Terauchi T, Igarashi T, Usubuchi N, Nakata M, Nawano S, Sekiguchi N, **Kusumoto S**, Tanimoto K, Kobayashi Y, Endo K, Seriu T, Hayashi M, Tobinai K. Phase I study of radioimmunotherapy with an anti-CD20 murine radioimmunoconjugate ((90)Y-ibritumomab tiuxetan) in relapsed or refractory indolent B-cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2005;96(12):903-10.
21. **Kusumoto S**, Kobayashi Y, Sekiguchi N, Tanimoto K, Onishi Y, Yokota Y, Watanabe T, Maeshima A, Ishida T, Inagaki H, Matsuno Y, Ueda R, Tobinai K. Diffuse Large B-Cell Lymphoma With Extra Bcl-2 Gene Signals Detected by FISH Analysis Is Associated With a "Non-Germinal Center Phenotype". *Am J Surg Pathol.* 2005;29(8):1067-73.
22. Ishida T, Inagaki H, **Kusumoto S**, Inagaki A, Komatsu H, Iida S, Harada S, Takeuchi G, Ueda R. CC chemokine receptor 4-positive diffuse large B-cell lymphoma involving the skin: a case report. *Int J Hematol.* 2005;82(2):148-51.
23. Sekiguchi N, Kobayashi Y, Yokota Y, **Kusumoto S**, Tanimoto K, Watanabe T, Matsuno Y, Tobinai K. Follicular lymphoma subgrouping by fluorescence in situ hybridization analysis. *Cancer Sci.* 2005;96(2):77-82.
24. **Kusumoto S**, Kobayashi Y, Tanimoto TE, Hasegawa T, Yokota Y, Tanimoto K, Sekiguchi N, Narabayashi M, Watanabe T, Matsuno Y, Tobinai K. T(11;18)-bearing pulmonary

mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma responding to cladribine. Int J Hematol. 2004 ;(80):70-4.

- ・ 平成 24 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業への新規研究課題の応募状況  
該当ございません



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  
平成23年度研究報告書資料

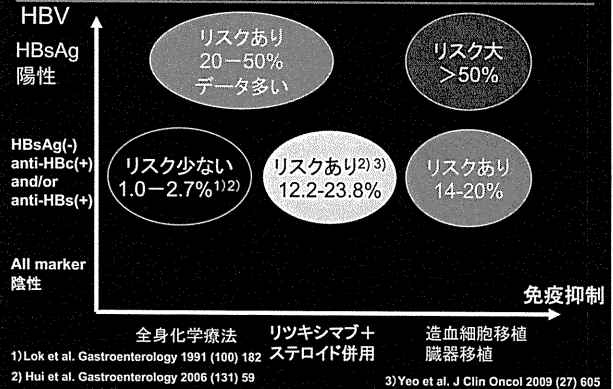
リツキシマブ併用悪性リンパ腫治療中のB型肝炎ウイルス再活性化への標準的対策法の確立及びリスク因子の解明に関する研究  
(H23-肝炎-若手-008)

研究代表者 楠本茂

名古屋市立大学大学院医学研究科 腫瘍・免疫内科学

HBV再活性化の頻度とリスク

Kusumoto et al. Int J Hematol 2009 (90) 13



リツキシマブ投与例におけるB型肝炎発症176例  
2001年9月から2011年6月まで

HBsAg	再燃例	回復・軽快	未回復	死亡	不明
(+)	62(14)	35(1)	7	19(13)	1
(-)	87(28)	37(1)	4	43(26)	3(1)
未測定	1	1	0	0	0
N.I.	26(7)	13	2(1)	10(5)	1(1)

( )は再燃例の内、劇症肝炎となった症例

HBsAg	劇症化割合	死亡割合
陽性62例	14/62 22.6%	19/62 30.6%
陰性87例	28/87 32.2%	43/87 49.4%

2011年06月19日時点

がん化学療法後のHBV再活性化に関連するリスク因子

Kusumoto et al. J Gastroenterol. 2011 (46):9-16.

ウイルス因子

宿主因子

HBsAg	ステロイド併用化学療法
HBeAg	リツキシマブ+ステロイド併用化学療法
HBc抗体	悪性リンパ腫
HBs抗体	
HBV-DNA量	男性
cccDNA	
Occult infection	
Genotype non-A (especially, genotype B)	治療前HBs抗体陰性
Gene mutation of precore and/or core promoter	治療中、治療後のHBs抗体価の低下 (治療前HBs抗体陽性例)

HBV再活性化におけるHBs抗原陽性および陰性例における臨床経過の特徴

Kusumoto et al. J Gastroenterol. 2011 (46):9-16.

リスク群	HBs抗原陽性	HBs抗原陰性/ハイリスク群 (HBc抗体陽性 and/or HBs抗体陽性)
頻度	Japan (Nagoya): 1.5% Hong Kong: 23.2% USA (MDACC): 0.1%	Japan (Nagoya): 23.2% Hong Kong: 44.2~62.0% USA (MDACC): 4.6%
再活性化の診断	HBV-DNAの10倍以上の上昇を伴う肝炎	HBs抗原の陽性化 HBV-DNAの陽性化
再活性化の発症頻度	全身化学療法: 20-50% リツキシマブ併用: 80% 造血細胞移植: >50%	全身化学療法: 1.0-2.7% リツキシマブ+ステロイド併用: 12.2-23.8% 造血細胞移植: 14-20%
治療前リスク因子	HBV-DNA量 HBe抗原 肝硬変・肝癌の合併	HBs抗体陰性
時期	多くは化学療法終了後であるが、治療開始早期の場合もある。リツキシマブ併用下では、早期(50%が1コース目)の再活性化	最終化学療法終了と肝炎発症までの期間中央値は2カ月である。また、発症例は化学療法後1年の報告がある。なお、造血細胞移植例では移植後数年後の発症例がある。
先行するHBV-DNA上昇	異なるパターンがある	肝炎に先行するHBV-DNAの上昇は18.5週 (range 12-28)

分子標的治療薬とde novo B型肝炎

医薬品	対象	承認取得日
リツキシマブ	リツキシマブとHBV再活性化との関連報告 Dervite et al. N Engl J Med 2001 Hui et al. Gastroenterology 2006 Yeo et al. J Clin Oncol 2009 Kusumoto et al. Int J Hematol 2009 など多数	2001年6月
インフリキシマブ	関節リウマチ 抗ヒトTNF $\alpha$ モノクローナル抗体	2002年7月
エタネルセプト	関節リウマチ ボルテゾミブとHBV再活性化との関連報告 ベルケイト適正使用ガイド	2005年3月
ボルテゾミブ	骨髄腫 ナント融合タンパク プロテオソーム阻害剤	2006年10月
アダリムマブ	関節リウマチ 抗ヒトTNF $\alpha$ モノクローナル抗体	2008年6月

抗TNF $\alpha$ 製剤(インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ)とHBV再活性化との関連報告  
Matsumoto et al. Liver Int. 2010  
Uraita et al. Mod Rheumatol. 2011  
Tamori et al. J Gastroenterol. 2011

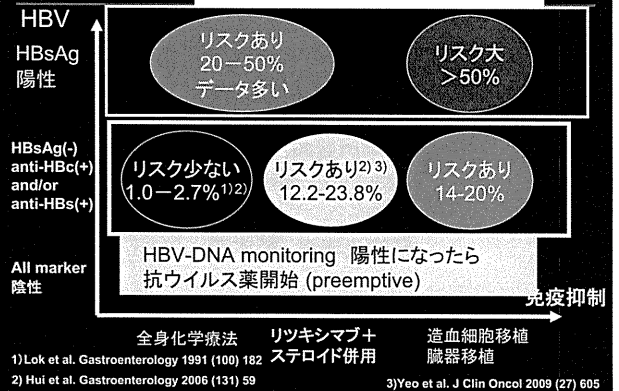
## HBV再活性化への対策

HBV再活性化による肝炎に対して、抗ウイルス薬を投与した場合には治療が間に合わない可能性がある。

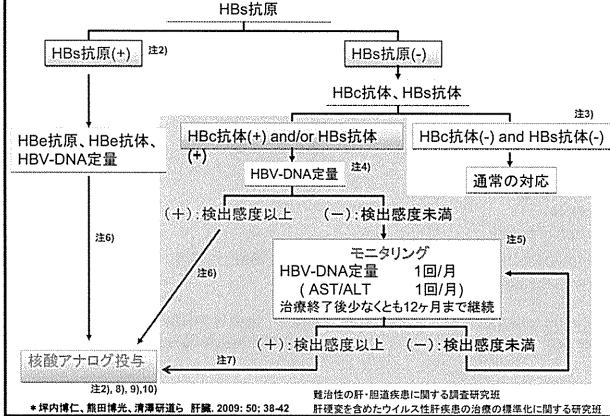
・Yeoらは、32例のHBV再活性化肝炎に対してラミブジン投与を行ったところ、5例(16%)は死亡、22例(69%)は全身化学療法を中止もしくは中断せざるを得なかったことを報告。  
(J Clin Oncol 2004 (22) 927)

・本邦においても、Umemuraらは通常の急性B型肝炎と比較して、HBV再活性化による肝炎では劇症化率(27%vs 7%)および劇症肝炎死亡率(100%vs 44%)が高いことを報告。  
(Intern Med 2006 (45) 747)

## HBV再活性化の頻度とリスク



## 免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドライン(改訂版)・スクリーニング(全例) 注1)



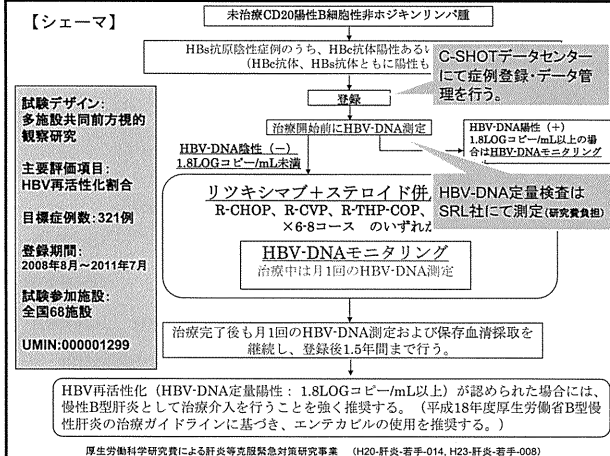
## 厚生労働科学研究費による肝炎等克服緊急対策研究事業 (H20-肝炎-若手-014, H23-肝炎-若手-008)

## リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中のB型肝炎ウイルス再活性化への対策に関する多施設共同臨床研究

~HBV-DNAモニタリング~

C-SHOT 0802  
UMIN000001299

## 【シエマ】



## 付随研究の概要

HBV-DNAモニタリング中の保存血清(一部血漿)を用いて、下記の検査を行う。

・治療経過中のHBV-DNA定量 (超高感度real-time detection PCR)

・治療経過中のHBV関連マーカー (HBs抗原定量、HBコア関連抗原定量、HBe抗体、HBs抗体)

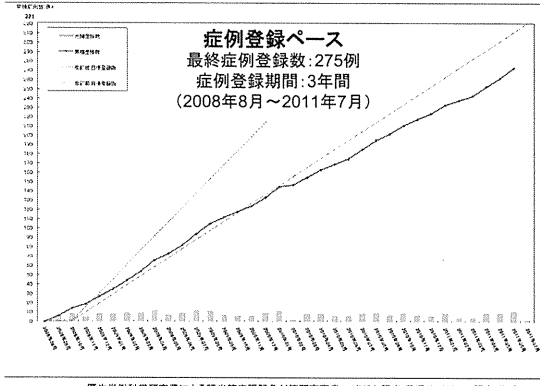
以下、再活性化症例のみ対象

・B型肝炎ウイルスの塩基配列解析

・劇症肝炎に寄与するB型肝炎ウイルスの遺伝子変異

厚生労働科学研究費による肝炎等克服緊急対策研究事業 (H20-肝炎-若手-014, H23-肝炎-若手-008)

リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中のB型肝炎ウイルス再活性化への対策に関する多施設共同臨床研究 (C-SHOT 0802, UMIN00001299)



厚生労働科学研究費による肝炎等克服緊急対策研究事業 (H20-肝炎-若手-014, H23-肝炎-若手-008)

HBV-DNAモニタリング試験進捗状況

2012年1月13日時点：試験開始41か月経過

最終症例登録数：275例

登録275例中21例においてHBV再活性化を認め、全例肝障害・肝炎を認めない時点で抗ウイルス薬投与開始。

⇒⇒⇒HBV再活性化ハイリスク群であるリツキシマブ+ステロイド併用例に対し、本試験のHBV-DNAモニタリングによるpreemptive therapyで対策を講じることが可能であった。(Kusumoto S et al., manuscript submitted to NEJM)

厚生労働科学研究費による肝炎等克服緊急対策研究事業 (H20-肝炎-若手-014, H23-肝炎-若手-008)

謝辞

プロトコル検討小委員会

- 上田龍三 名古屋市立大学大学院医学研究科
- 溝上雅史 国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター
- 小椋美知則 名古屋第二赤十字病院 血液・腫瘍内科
- 木下朝博 愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部
- 鈴木律朗 名古屋大学医学部 造血細胞移植情報管理学
- 鈴木孝世 滋賀県立成人病センター 血液・腫瘍内科/化学療法部
- 渡辺隆 国立がん研究センター中央病院 血液腫瘍科
- 田中榮司 信州大学医学部 内科学第二
- 田中靖人 名古屋市立大学大学院 病態医科学・肝疾患センター

効果安全性評価委員

- 脇田隆字 国立感染症研究所 ウイルス第二部
- 高本滋 愛知医科大学 医学部 輸血部
- 松尾恵太郎 愛知県がんセンター研究所疫学予防部 (2008/4~2011/3)
- 宮脇修一 東京都立大塚病院 (2011/3~)

データセンター

C-SHOTデータセンター(NPO法人 血液疾患臨床研究サポートセンター)

代表者: 恵美宣彦

担当者: 倉田美穂、兵理絵、熱田由子、鈴木律朗

試験参加施設

医療機関名	科名	医療機関名	科名
北海道大学病院	血液内科	愛知県生達 瀬戸病院	血液内科
国立病院機構 北海道がんセンター	血液内科	山田赤十字病院	内科
宇都宮中央病院	消化器科	国立病院機構 名古屋医療センター	血液内科
特養医療法人多岐舎 札幌北進病院	内科	名古屋大学大学院医学系研究科	血液・腫瘍内科学
東北大学病院	血液・免疫科	法政医科大学医学部附属病院	血液内科
利根大学医学部附属病院	内科	愛知県生達 愛知生協病院	血液内科
千葉がんセンター	腫瘍血液内科	名古屋総合病院	血液・腫瘍内科
国立病院機構 千葉東病院	消化器科	三重大学医学部附属病院	血液内科
国立がん研究センター中央病院	血液内科	愛知医科大学付属病院	血液内科
国立がん研究センター東病院	化学療法科	名古屋市立東区医療センター-東市民病院	第一内科
埼玉医科大学国際医療センター	造血腫瘍科	藤田保健衛生大学病院	血液内科・化学療法科
北里大学病院	血液内科	信州大学医学部	内科学第二
神奈川県がんセンター	化学療法科	福井大学医学部附属病院	血液・腫瘍内科
横浜国立大学附属市民総合医療センター	血液内科	滋賀医科大学病院	血液・リウマチ膠原病科
聖隷聖大学医学部附属病院	血液・腫瘍科	滋賀県立済生会センター	血液・腫瘍内科
NTT西日本 岐阜病院	血液内科	京都府立医科大学附属病院	血液・腫瘍内科
藤沢市立病院	血液腫瘍科	大阪府立大学病院	腫瘍内科
東京農業大学附属病院	腫瘍・血液内科	兵庫県立がんセンター	血液内科
徳の門病院	血液内科	徳島中央病院	血液内科
大和赤十字病院	血液内科	岡山大学病院	血液・腫瘍内科
国立病院機構 災害医療センター	血液内科	鳥取大学医学部附属病院	腫瘍センター・血液内科
岡山大学医学部附属岡山赤十字病院	血液内科	愛媛大学医学部附属病院	第一内科
東京慈恵会医科大学附属第三病院	腫瘍・血液内科	国立病院機構 九州がんセンター	血液内科
東京慈恵会医科大学附属病院	化学療法科	大分県立病院	血液内科
埼玉がんセンター	血液内科	佐賀大学医学部附属病院	血液内科
横浜市立大学附属病院	リウマチ・血液・感染症内科	NTT西日本九州病院	血液免疫内科
名古屋第二赤十字病院	血液・腫瘍内科	熊本大学医学部	血液内科
愛知県がんセンター中央病院	血液・腫瘍内科	国立病院機構 熊本医療センター	内科
長瀬市立病院	血液・腫瘍内科	佐世世帯立総合病院	内科
大塚市立病院	血液内科	大崎大学医学部・南学部附属病院	血液内科
名古屋市立大学病院	血液・腫瘍内科	国立病院機構 長崎医療センター	内科
名古屋第二赤十字病院	血液内科	福岡法人慈愛会 今村病院分院	血液内科
豊田生協病院	血液内科	熊本赤十字病院	血液・腫瘍内科

平成 23 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業『成果概要』

研究課題：肝炎による肝未分化細胞の発生とその発癌への影響に関する研究

課題番号：H22-肝炎-若手-014

予定期間：H22 年度から H23 年度まで

研究代表者：鈴木 淳史

所属研究機関：九州大学

所属部局：生体防御医学研究所

職名：准教授

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 6,500,000 円 2 年目 6,175,000 円 計 12,675,000 円

### I. 研究の意義

- (1) 肝炎における肝未分化細胞（オーバル細胞）の発生機序は不明である。
- (2) 肝癌に対するオーバル細胞の役割は不明である。

### II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 肝炎におけるオーバル細胞の発生機序の解明。
- (2) 肝癌に対するオーバル細胞の役割の解明。

### III. 2 年間の研究成果

・ 研究代表者

- (1) ほとんどのオーバル細胞が肝細胞から生じることを明らかにした。
- (2) 胆管上皮細胞由来のオーバル細胞は少数しか存在しないことを明らかにした。
- (3) Notch シグナルの活性化によってオーバル細胞の発生が促進されることを明らかにした。
- (4) Notch シグナルの抑制によってオーバル細胞の発生が抑制されることを明らかにした。
- (5) オーバル細胞の機能異常を誘導可能な遺伝子改変マウスを作製した。

・ 研究分担者なし

### IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) オーバル細胞の機能異常が肝癌に発展するか否かの解明
- (2) オーバル細胞の機能異常が誘導されるメカニズムの解明

### V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 肝炎からの発癌を予見して抑えるためのガイドラインの作成