

行われるものであるため、侵襲性はない。

C. 研究結果

1. HBsAg陽性例のGT頻度と治療内訳

GTが測定可能であった359人のGTの内訳は、GT-Bが194人(54%)、GT-Cが150人(42%)、GT-Aが11人(3%)、GT-Dが4人(1%)であった。このうち全体の65%が抗ウイルス治療無治療であり、NA投与例は20%、IFN投与例は15%であった。NAの種類はEntecavirが55%、Lamivudine単独が34%、LamivudineとAdefovir併用が11%であったが、2008年以降の導入例はほとんどがEntecavirであった。

2. NA長期投与による治療効果

NA2年以上投与例57例をGT別にみると、GT-Bが27例、-Cが30例であった。臨床背景は、年齢、性別、肝線維化程度、肝機能に差を認めなかったが、GT-C症例ではNA開始時年齢がより若年(50.5歳 vs. 56.3歳)であった。またGT-CではHBeAg陽性例が多く、HBV DNA量、HBcrAg量は有意に高値であった。NA内服期間はGT-Cで有意に長期間であった。

NA投与後のALT値の推移をみると、GTにかかわらず治療開始6か月後にはALT値はほぼ正常化した。HBeAb陽性例に限ってみると、6か月後のALT正常化率は、GT-B感染例において高かった(76% vs. 45.5% ; $P < 0.05$)。

HBV DNA量については、GT-B、GT-Cいずれの群でもその低下は良好であったが、HBsAg量の低下は緩徐であり、今回の解析対象例中のHBsAg消失例は1例のみであった。

HBcrAg量はGT-B症例がGT-C症例に比べ速やかに低下し、HBcrAg < 3.0 LogU/mLとなった頻度は、GT-Bで有意に高率であった(GT-B vs. GT-C; 44% vs. 8%, $P < 0.01$)。

3. NA長期投与例における投与中止可能例の検討

NA中止に伴うリスク回避のための指針2012に基づき、HBsAg量とHBcrAg量をスコア化し、経時的に比較した。

総スコアは、GT-B感染例でGT-C感染例に比し早期に低下したが($P < 0.07$)、低再燃リスク群に至る症例はごく少数であった。中再燃リスク群となった症例を含めた

場合、GT-Bで有意にその頻度が高かった(GT-B vs. GT-C; 53% vs. 10%, $P < 0.01$)。

4. NA長期内服例からの発癌

NA開始後に発癌した症例は、GT-B 4例、GT-C 1例であった。年齢中央値は59歳(56~78歳)、すべて男性、背景肝は肝硬変が2例、慢性肝炎が3例であった。発癌までの内服期間の中央値は11か月(8~83か月)であった。

発癌時のHBV DNA量は未検出が3例であり、HBsAg量はいずれも300 IU/mL以上の高値であったが、HBcrAg量は2例で3.0 LogU/mL未満だった。

D. 考察

当施設ではHBsAg陽性例の54%がGT-Bを占めるGT-B高浸淫地域であることより、NA2年以上投与例の治療効果とウイルス抗原量の推移を、GTの視点から検討した。

HBeAb陽性例ではNA投与によりHBcrAg陰性化が高率に認められた。GT-B症例はNA開始6か月後のALT値正常化率が高く(HBeAb陽性例)、HBcrAg量 < 3.0 LogU/mL達成率も高かった。NA投与後2年の期間では、当施設ではNA中止に伴う肝炎低再燃リスク群に至る例は少なかったが、GT-Bではスコア化による中~低再燃リスク群に至る例が有意に多く、NA治療への反応性がGT-Cに比し良好であると思われた。

一方GT-C症例では、HBcrAg量の低下はGT-B症例に比べ緩徐であったが、HBsAg量はNA開始後2年目以降に低下する例がみられ、より長期間のウイルスマーカーの推移を評価する必要があると思われた。

これまでの報告からは、GT-B感染例はGT-C感染例に比し、自然経過でも肝炎の沈静化が得られやすいことが知られており、GTのNA治療効果に及ぼす影響の評価には、無治療経過観察例におけるGT別のHBV関連マーカーの推移との比較検討が必要と考えられた。

肝発癌例は2例と少なかったものの、HBcrAg量低値例からも発癌を認めており、今後より多数例での検討が必要と考えられた。

E. 結論

B型肝炎のNA治療効果とGTの関連が示唆された。

GT-B 症例では GT-C 症例に比し、NA 中止を考慮できる可能性が高く、HBsAg 陰性化も視野に入れた、GT に応じた抗ウイルス治療の標準化が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 学会発表

1) Watanabe H, Saito T, Tomita K, Sato C, Ishii R, Haga H, Okumoto K, Nishise Y, Ueno Y and Kawata S. Transition in hepatitis B virus genotypes responsible for acute hepatitis B in a hyperendemic area for genotype B infection – 20 years follow-up study in Japan. DDW2012, San Diego, USA, May 20, 2012

2. 論文発表

(1) Ninomiya M, Ueno Y, Funayama R, Nagashima T, Nishida Y, Kondo Y, Inoue J, Kakazu E, Kimura O, Nakayama K, Shimosegawa T. Use of illumina deep sequencing technology to differentiate hepatitis C virus variants. J Clin Microbiol. 2012;50(3):857-66.

(2) Kondo Y, Ueno Y, Ninomiya M, Tamai K, Tanaka Y, Inoue J, Kakazu E, Kobayashi K, Kimura O, Miura M, Yamamoto T, Kobayashi T, Igarashi T, Shimosegawa T. Sequential immunological analysis of HBV/HCV co-infected patients during Peg-IFN/RBV therapy. J Gastroenterol. 2012;47(12):1323-35.

(3) Inoue J, Ueno Y, Kawamura K, Yamamoto T, Mano Y, Miura M, Kobayashi T, Niitsuma H, Kondo Y, Kakazu E, Ninomiya M, Kimura O, Obara N, Kawagishi N, Kinouchi Y, Shimosegawa T. Association between S21 substitution in the core protein of hepatitis B virus and fulminant hepatitis. J Clinical Virol 2012;55(2):147-52.

H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

1. 特許取得

なし

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

HBe 抗原のセロコンバージョンからみた HBe 抗原陰性慢性肝炎の発症

研究分担者 田中榮司 信州大学医学部消化器内科 教授
研究協力者 松本晶博 信州大学医学部消化器内科 講師

研究要旨；

HBe 抗原陰性慢性肝炎は肝硬変に進行しやすく肝細胞癌も合併しやすいことが知られており、HBe 抗原 SC 症例におけるこの肝炎の発症予測は臨床的に重要である。今回、HBe 抗原陰性慢性肝炎の特徴とその発症を予測する因子について検討したので報告する。

対象は HBe 抗原 SC の前 3 年から後 3 年以上経過観察可能であった B 型慢性肝炎例 36 例である。SC は HBe 抗原が消失後に HBe 抗体陽性となった時点と定義した。SC 前後に 1 年間以上 ALT 値が正常化 (< 30 IU/L) した場合は肝炎の終息と定義し、正常化の最初の時点を肝炎終息点とした。肝炎が終息後に再燃した場合に、その最初の時点を再燃時とした。また、SC 後の肝炎の評価は ALT 値の平均 AUC で行った。

ALT 非正常化率は SC 後 2 年までは急速に低下したが、その後はなだらかに推移した。このため、SC 後 2 年以降の ALT 値の異常が HBe 抗原陰性慢性肝炎と関連すると判断し、この期間の ALT 値を平均 AUC で評価した。HBe 抗原陰性慢性肝炎発症群 20 例と非発症群 16 例の背景因子の比較では年齢、性別に有意差はなかったが、SC 後の経過では核酸アナログ薬治療を受けた症例が発症群で有意に多かった。ALT 値は SC 時点から SC 後 3 年の時点まで発症群で有意に高い傾向がみられた。HBV DNA 量は両群間で有意の差はなかった。HBs 抗原量は非発症群でやや高い時点があったが、その減少傾向は両群間で差はなかった。HBcr 抗原は SC 後、非発症群では急速に低下したのに対し発症群での低下は軽度であった。この結果、SC 後 1、2、3 年の時点で、発症群で有意に高い傾向がみられた。多変量解析では SC 後 2 年目の ALT 値が 30 IU/L 以上であることが唯一の有意な因子であった。次に、SC 後 2 年目の時点で ALT 値が 30 IU/L 未満であった 19 例について HBe 抗原陰性慢性肝炎発症例と非発症例を比較したところ、SC 後 2 年目の HBV DNA 量と HBcr 抗原量が有意な因子として算出された。

今回の検討から以下のことが明らかになった。HBe 抗原の SC に伴う肝炎の沈静化は主に SC 後 2 年目までに起こり、これ以降に起こる肝炎を HBe 抗原陰性慢性肝炎と定義することが妥当と考えられた。HBe 抗原陰性慢性肝炎の発症予測には SC 後 2 年目の ALT 値の異常が有意な因子であった。しかし、ALT 値が正常であっても HBV DNA または HBcr 抗原が高値の症例では HBe 抗原陰性慢性肝炎を発症する可能性が高く注意が必要である。

A. 研究目的

HBV キャリアでは、通常、HBe 抗原から HBe 抗体へのセロコンバージョン(SC)に伴いウイルス量が低下し肝炎が沈静化する。しかし、一部の症例では肝炎が沈静化しないかまたは沈静化後に再燃し HBe 抗原陰性の慢性肝炎を発症する。こ

の肝炎は HBe 抗原の陽性の慢性肝炎に比較し肝硬変に進行しやすく肝細胞癌も合併しやすいことが知られている。このため、HBe 抗原の SC 例における HBe 抗原陰性慢性肝炎の発症予測は重要である。今回、SC の前 3 年から後 3 年以上経過観察可能であった B 型慢性肝炎例を対象に

肝炎やウイルスマーカーの推移と HBe 抗原陰性慢性肝炎発症との関連を検討した。

B. 研究方法

対象は HBe 抗原 SC の前 3 年から後 3 年以上経過観察可能であった B 型慢性肝炎例 36 例である。内訳は男性 26 例、女性 10 例で、年齢の中央値は 38 歳 (7~16 歳)、遺伝子型は全例 C 型であった。

SC は HBe 抗原が消失後に HBe 抗体陽性となった時点と定義した。SC 前後に 1 年間以上 ALT 値が正常化 (< 30 IU/L) した場合を肝炎の終息と定義し、正常化の最初の時点を経済終息点とした。肝炎が終息後に再燃した場合に、その最初の時点を経済再燃時とした。また、SC 後の肝炎の評価は ALT 値の平均 AUC で行った。

本研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果

図 1 に HBe 抗原 SC 前後での ALT 非正常化率の推移を示した。この非正常化率の推移は 2 相性の変化を示し、SC 後 2 年までは非正常化率が急速に低下したが、その後はなだらかに推移した。このため、SC 後 2 年以降の ALT 値の異常が HBe 抗原陰性慢性肝炎と関連すると判断し、この期間の ALT 値を平均 AUC で評価した。SC 後 2 年以降の ALT 値の平均 AUC の分布を図 2 に示すが、ALT 値 30 IU/L を境に 2 群に分かれて分布した。このため、平均 AUC 値が 30 IU/L 異常の症例を HBe 抗原陰性慢性肝炎発症群、未満の群を非発症群とした。

表 1 に HBe 抗原陰性慢性肝炎発症群 20 例と非発症群 16 例の背景因子を比較した。年齢、性別に有意差はなかった。総ビリルビン、血小板数に有意差はなかったが、アルブミン値は非発症群で軽度高い傾向がみられた。SC 後の経過では核酸アナログ薬治療を受けた症例が発症群で有意に多かった。

図 3 から図 6 に、ALT 値、HBV DNA 量、HBs

抗原量、HBcr 抗原量の SC 前後での推移を HBe 抗原陰性慢性肝炎発症群と非発症群で比較した。ALT 値 (図 3) は SC 時点から SC 後 3 年の時点まで発症群で有意に高い傾向がみられた。HBV DNA 量 (図 4) は両群間で有意の差はなかった。HBs 抗原量 (図 5) は非発症群でやや高い時点があったが、その減少傾向は両群間で差はなかった。HBcr 抗原 (図 6) は SC 後、非発症群では急速に低下したのに対し発症群での低下は軽度であった。この結果、SC 後 1、2、3 年の時点で、発症群で有意に高い傾向がみられた。

表 2 に多変量解析の結果を示す。通常解析で有意となった因子について多変量解析で検討した。この結果、SC 後 2 年目の ALT 値が 30 IU/L 以上であることが唯一の有意な因子であった。

次に、SC 後 2 年目の時点で ALT 値が 30 IU/L 未満であった 19 例について HBe 抗原陰性慢性肝炎発症例と非発症例を比較したところ、SC 後 2 年目の HBV DNA 量と HBcr 抗原量が有意な因子として算出された (図 7)。

D. 考察

HBe 抗原陰性慢性肝炎の存在は一般医認められているが、その定義や予測因子については必ずしも十分明らかにされていない。今回、HBe 抗原の SC に伴う肝炎の沈静化を 1 年以上の ALT 値正常化と定義したところ、SC 後 2 年目までは肝炎鎮静化例が多く、それ以後は少なくなることが明らかになった。この結果から、SC 後 2 年目以降の ALT 値の異常を HBe 抗原陰性慢性肝炎として定義するのが適切と考えられた。

HBe 抗原陰性慢性肝炎発症例と非発症例の比較ではアルブミン値が前者で有意に低い傾向がみられたが、中央値はそれぞれ 4.1 と 4.3 g/dl であり、臨床的意義は明らかではなかった。ALT 値の比較では、特に SC 後に両群間で差がみられ、発症群では SC 後も ALT 値の異常が持続する傾向にあった。HBV DNA 量の推移は両群間で有意差はなく意外な結果であったが、短期間で変動するマーカーであるので、その影響が出

た可能性は否定できない。HBs 抗原量は両群とも SC 前後で大きな変動はなく、一部両群間で有意の差がみられるポイントがあったがその意義は明らかではなかった。HBcr 抗原量は発症群と非発症群で SC 後に明らかな差がみられ、両群の鑑別に有用である可能性が示唆された。

SC 後 2 年経過しても ALT 値が正常化しない症例から HBe 抗原陰性慢性肝炎が有意に多く発症したことから、肝炎発症例では SC しても肝炎が沈静化しにくいことが示唆された。さらに、肝炎が一旦沈静化した症例での検討では、HBV DNA 量と HBcr 抗原量が高値の症例で HBe 抗原陰性慢性肝炎を発症しやすく、SC してもこれらのマーカーが高値を示す症例では HBe 抗原陰性慢性肝炎の発症に注意が必要であると言える。特に HBcr 抗原量は経過でみても両群間に有意の差があり、さらに、HBcr 抗原量の低値例ではその後慢性肝炎を発症した症例がないことから、臨床的に有用性が高い可能性が示唆された。

E. 結論

HBe 抗原の SC に伴う肝炎の沈静化は主に SC 後 2 年目までに起こり、これ以降に起こる肝炎を HBe 抗原陰性慢性肝炎と定義することが妥当と考えられた。HBe 抗原陰性慢性肝炎の発症予測には SC 後 2 年目の ALT 値の異常が有意な因子であった。しかし、ALT 値が正常であっても HBV DNA または HBcr 抗原が高値の症例では HBe 抗原陰性慢性肝炎を発症する可能性が高く注意が必要である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 森田進、他：HBe 抗原が陰性である慢性 B 型肝炎の発症の因子についての検討。第 48 回日本肝臓学会総会 オープンワークショップ 36 金沢市 2012.6

- 2) 梅村武司、他：B 型慢性肝炎患者における血中サイトカインの網羅的検討。第 16 回日本肝臓学会大会 神戸市 2012.10

2. 論文発表

- 1) Matsumoto A, Tanaka E, Morita S, Yoshizawa K, Umemura T, Joshita S: Changes in the serum level of hepatitis B virus (HBV) surface antigen over the natural course of HBV infection. J Gastroenterol 2012; 47: 1006-1013
- 2) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsushashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H: Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B. Hepatol Res 2012; 42: 139-149

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

今回の研究内容については特になし。

表1: HBe抗原発症例と非発症例の背景因子の比較

臨床事象	HBe抗原陰性慢性肝炎				P
	発症群 n = 20		非発症群 n = 16		
SC時データ					
年齢(歳)	40	23 - 64	38	24 - 65	>0.2
性別(男性数、%)	15	75%	9	56%	>0.2
アルブミン (g/dl)	4.1	3.6 - 4.6	4.3	3.7 - 4.8	0.030
総ビリルビン (mg/dl)	1.0	0.4 - 2.6	0.8	0.5 - 1.3	>0.2
血小板数 (/ μ l)	13.9	8.5 - 24.3	18.1	9.6 - 22.9	>0.2
SC後の経過					
観察期間(年)	10.6	3.8 - 26.0	12.4	3.2 - 23.1	>0.2
NA薬使用	12.0	60.0	2.0	12.5	0.006
肝細胞癌合併	2	10%	1	6%	>0.2

表2: HBe抗原陰性慢性肝炎発症と関連する因子の多変量解析
(通常解析で有意差ありの因子について解析)

因子	OR	95% C.I.	P
SC後2年目ALT値 \geq 30 IU/L	42	4.3 - 405.4	0.001
sensitivity	74%		
specificity	100%		
PPV	100%		
NPV	76%		

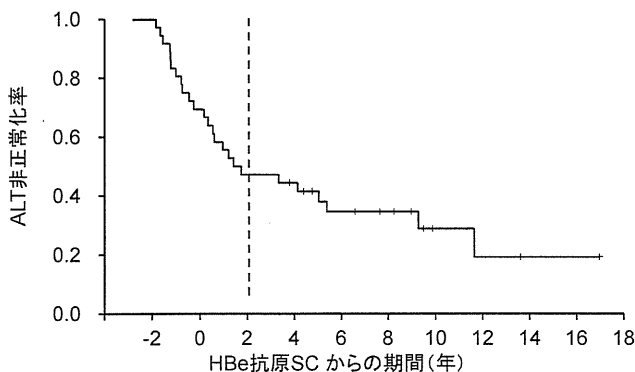


図1 HBe抗原SC前後でのALT非正常化率の推移

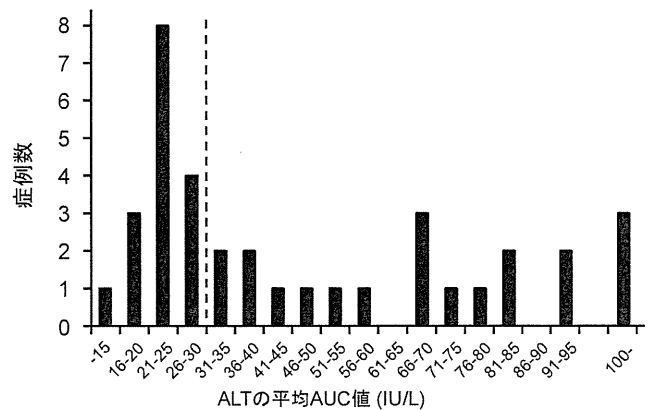


図2 HBe抗原SC後2年以降のALTの平均AUC値の分布

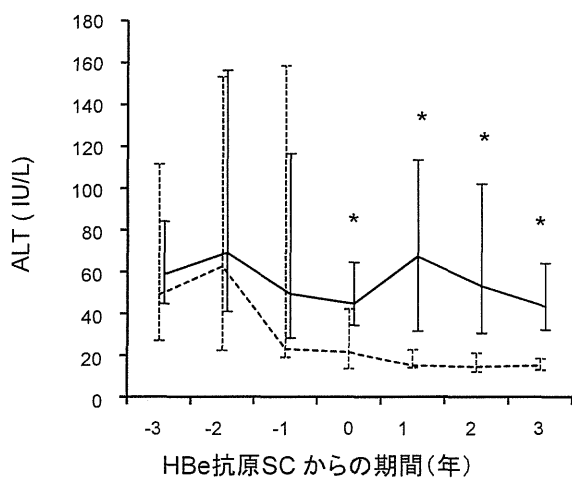


図3 HBe抗原SC 前後でのALT値の推移。HBe抗原陰性慢性肝炎の発症例(実線)と非発症例(破線)での比較。

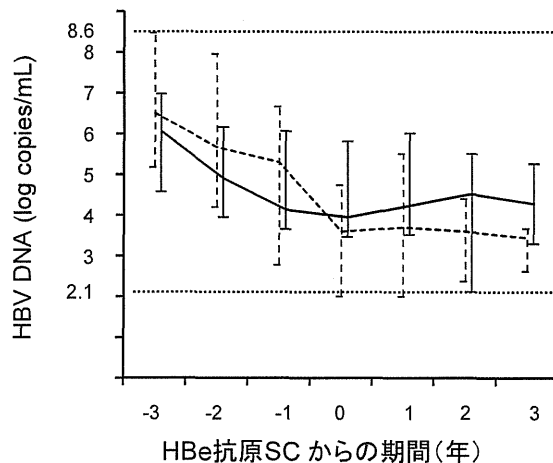


図4 HBe抗原SC 前後でのHBV DNA量の推移。HBe抗原陰性慢性肝炎の発症例(実線)と非発症例(破線)での比較。

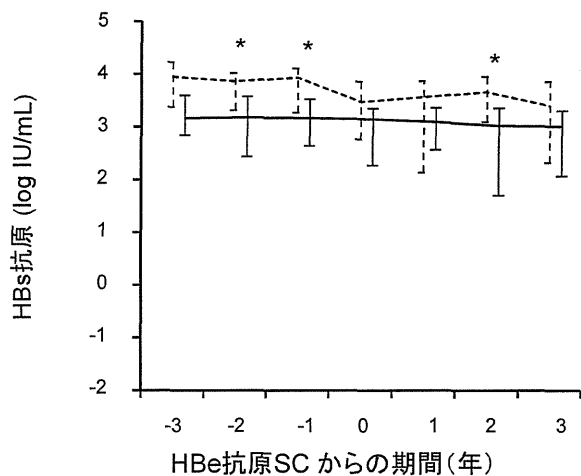


図5 HBe抗原SC 前後でのHBs抗原量の推移。HBe抗原陰性慢性肝炎の発症例(実線)と非発症例(破線)での比較。

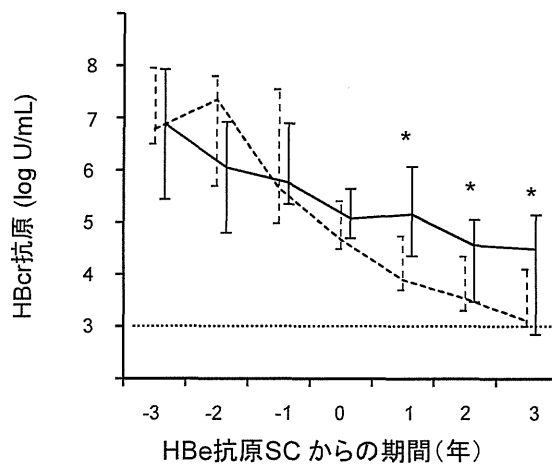


図6 HBe抗原SC 前後でのHBcr抗原量の推移。HBe抗原陰性慢性肝炎の発症例(実線)と非発症例(破線)での比較。

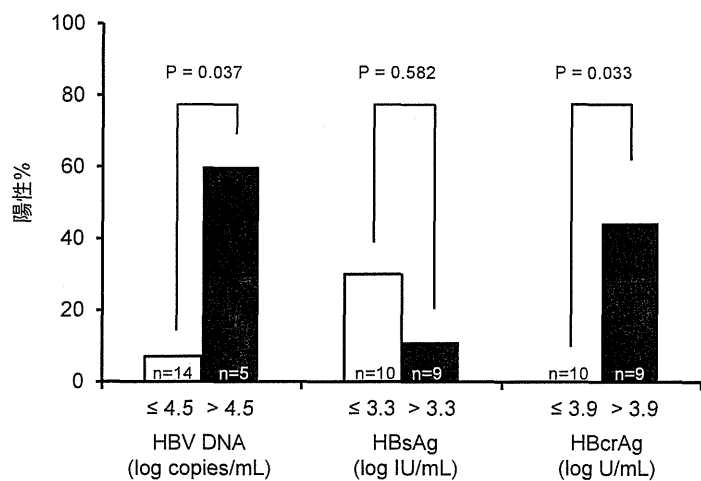


図7 HBe抗原SC後2年目の時点でALT値が正常であった19例を対象とした、HBe抗原陰性慢性肝炎発症例(黒棒)と非発症例(白棒)のウイルスマーカーの比較。

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

B 型非代償性肝硬変に対する核酸アナログの効果に及ぼす門脈-体循環シャントの影響

研究分担者 森脇久隆 岐阜大学大学院医学研究科 消化器病態学

研究要旨; 昨年当研究により B 型非代償性肝硬変に対する核酸アナログの有効性は静脈瘤の進行が影響することを明らかにした。今年度は引き続き門脈-体循環シャントの有無が核酸アナログの治療効果に与える影響を解析した。当院ならびに関連施設にて集積された核酸アナログ療法を施行した B 型非代償性肝硬変症例、Child-Pugh B 以上、AFP 値 1000 未満の 25 例を解析可能症例とした。平均使用期間は 36.1 ヶ月 (0.4 - 83.0 ヶ月)、開始時の 23 例に腹水を認め、治療後も含めた肝癌合併例は 10 例認めている。F0-1 の軽度静脈瘤症例は 8 例、F2-3 の高度静脈瘤症例は 15 例であった。6 ヶ月後の腹水消失をもって効果判定とし 14 例 (56.0%) が有効と判断された。開始時の Child-Pugh は 平均 10.0 ± 1.9 点であり、投与後は平均 7.8 ± 2.3 点まで改善を認めている。解析時の長期経過では 17 例の生存 (68.0%, 平均 44.5 ヶ月) であった。全体の長期予後としては 1 年生存率 91.8%, 3 年生存率 61.6% であった。大きな門脈-体循環シャントのある高度静脈瘤症例においては、ウイルス血症の改善効果が乏しく、アルブミン値などの回復も悪い傾向があった。長期予後は軽度静脈瘤症例の方が有意に良いことが確認された。非代償性肝硬変において抗ウイルス療法は安全かつ高い有効性を示すが、大きな門脈-体循環シャントが存在する場合には、ウイルスが抑制されても肝血流・肝予備能の回復と非代償症状の消失が遅れる症例がある。

調査協力施設

岐阜大学大学院医学研究科消化器病態学
岐阜市民病院消化器内科
岐阜県総合医療センター消化器科

の回復が遅く、非代償症状の消失が遅れるという仮説のもとに高度静脈瘤すなわち門脈-体循環シャントの有無が核酸アナログの治療効果に与える効果について検討した。

A. 研究目的

ラミブジンおよびエンテカビルを初めとした核酸アナログ製剤により B 型肝炎ウイルスキャリアの HBV 量をコントロールすることが可能になってきている。慢性 B 型肝炎や肝細胞癌の予防においてはその有効性が明らかにされているが、非代償性肝硬変における慢性肝不全に対する有効性は必ずしも明らかではない。昨年の検討では多施設でのレトロスペクティブな解析により抗ウイルス療法が非代償性肝硬変の状態においても有効であることを示し、その影響を与える因子として年齢、核酸アナログの反応性、発癌の有無とならんで高度静脈瘤の存在が示唆された。そのため今年度は大きなシャントを有する症例では、ウイルスが抑制されても肝血流・肝予備能

B. 研究方法

(1) これまでの検討により非代償性肝硬変症例に対する通常量の核酸アナログ投与の安全性は確立されている。当院ならびに関連施設にて集積された核酸アナログ療法を施行した B 型非代償性肝硬変症例、Child B 以上、AFP 値 1000 未満の 25 例を解析可能症例とした。平均使用期間は 36.1 ヶ月 (0.4 - 83.0 ヶ月)、核酸アナログの種類はラミブジン 7 例 (うち 2 例アデフォビル併用)、エンテカビル 18 例であった。開始時の 23 例に腹水を認め、治療後も含めた肝癌合併は 10 例認めている。F0-1 の軽度静脈瘤症例は 8 例、F2-3 の高度静脈瘤症例は 15 例であった。6 ヶ月後の腹水消失をもって効果判定とし 14 例 (56.0%) が有効と判断された。また解析時での転帰は

17例生存(68.0%)であった。

【検討項目】非代償性肝硬変(黄疸・腹水・肝性脳症のいずれかを認める症例)における抗ウイルス療法の検討

○開始前の下記項目の評価

- ・生化学的マーカー
- ・ウイルスマーカー
- ・線維化マーカー
- ・生検(可能例)
- ・画像診断(肝の容量, 静脈瘤の程度, 発癌の有無)
- ・栄養学的評価(筋肉量, 脂肪量, その他)

○有効性の総合評価を6ヶ月経過した時点で初期検討とする。

○有効例と無効例の治療効果の差異を検討する

○長期予後因子の検討

(倫理面への配慮)

臨床研究の目的・方法, 治療の副作用, 患者に関する個人情報, 守秘義務, 患者の権利保護等について十分な説明を行い, 書面による同意を得たうえで臨床研究を遂行する。

C. 研究結果

レトロスペクティブな検討により非代償性肝硬変における抗ウイルス療法の有効性を検討し静脈瘤の程度をもって門脈-体循環シャントが抗ウイルス療法の治療有効性に与える影響を検討した。当院ならびに関連施設にて集積された核酸アナログ療法を施行したB型非代償性肝硬変症例, 慢性肝炎急性増悪による肝不全は今回の検討では除外している。今回の平均使用期間は36.1ヶ月(0.4-83ヶ月)である。開始時の23例に中等度以上の腹水があり, 肝性脳症の併発は3例に認めた。開始時において肝癌合併は治療歴も含め10例に認めている。門脈塞栓症例に関しては今回は除外している。投与開始時(平均)はAlb 2.8g/dl, PT 54.2%, T.Bili 3.8mg/dl, AST 159.9IU/dl, ALT 153.6IU/dl, plt 7.4万/ul, HBV-DNA 6.4Log copy/ml。肝予備能の評価としてはChild-Pugh C 22例, B 3例, 平均10.1点(7-13点)であった。投与開始6ヶ月後を効果判定とし, 検討すると, 投与6ヶ月での治療効果(平均)はAlb 2.9g/dl, PT 59.8%, T.Bili 2.3mg/dl, AST 46.8IU/dl, ALT 32.7IU/dl,

plt 7.3万/ul, HBV-DNA 3.0Log copy/ml, Child-Pughスコアは平均7.3点へと改善を認めている。

治療効果 (全体)

	投与開始前	効果判定時	P
有効率	25例	24例	
Child-Pugh	10.1±1.5	8.4±2.0	.0005
TB	3.8±3.3 mg/dl	2.3±1.5 mg/dl	.058
Alb	2.8±0.4 g/dl	2.9±0.6 g/dl	N.S.
PT	54.2±13.9 %	59.8±12.8 %	.052
AST	159.9±291 IU/dL	46.8±19.4 IU/dL	.076
ALT	153.6±321 IU/dL	32.7±13.2 IU/dL	.082
Hb	11.4±2.6 g/dl	11.5±2.1 g/dl	N.S.
Plt	7.4±4.0万 /ul	7.3±3.8万 /ul	N.S.
HBV-DNA	6.4±2.0 Log	3.0±1.6 Log	<.0001

いずれの症例も安全に抗ウイルス剤の投与が施行できた。6ヶ月後の判定において, 有効と考えられた症例が14例, 未回復の症例が11例と考えられた。Child-Pughスコアの改善はアルブミンの増加, 腹水の消失と, 黄疸の改善が寄与していると考えられた。平成24年10月末までの最終転帰の検討では17例生存し, 8例の死亡を認めている。

全体の長期予後としては1年生存率は91.8%, 3年生存率は61.6%であり, 以前の当科におけるHCVも含めた非代償性肝硬変の予後の検討より長いと考えられた。予後に影響を与える因子を解析すると前回から指摘されているstage3以上の肝細胞癌の合併と, 著明なシャント(F2以上の食道静脈瘤やCT等で確認出来るもの)症例が予後を悪くする因子と考えられた。

静脈瘤症例比較 (時系列)

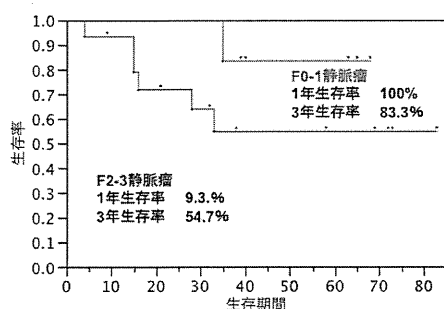
Child	開始時	6M時	最終確認時
軽度静脈瘤	10.4±0.6	9.1±0.7	5.8±0.6
高度静脈瘤	9.9±0.4	7.9±0.5	7.2±0.4
HBV-DNA	開始時	6M時	最終確認時
軽度静脈瘤	6.5±0.8 Log	2.8±0.6 Log	2.2±0.5 Log
高度静脈瘤	5.8±0.5 Log	3.2±0.4 Log	3.0±0.3 Log
ALB値	開始時	6M時	最終確認時
軽度静脈瘤	2.8±0.13 g/dL	3.0±0.19 g/dL	3.7±0.29 g/dL
高度静脈瘤	2.8±0.13 g/dL	3.0±0.14 g/dL	3.2±0.20 g/dL
Plt値	開始時	6M時	最終確認時
軽度静脈瘤	8.3±1.2 万/ul	6.6±1.2 万/ul	10.3±1.5 万/ul
高度静脈瘤	6.3±0.9 万/ul	7.0±0.9 万/ul	8.6±1.0 万/ul

静脈瘤の程度, すなわち門脈-体循環シャントによる核酸アナログの治療効果に与える影響を検討した。

ウイルス量のそのものは静脈瘤の程度に差はなかったが(高度静脈瘤症例 HBV-DNA 6.6Log copy/ml: 軽度

静脈瘤症例 (HBV-DNA 5.8Log copy/ml), 治療効果を現すウイルスの減少量は軽度静脈瘤症例において大きい傾向が認められた。また, Child-Pugh 値, アルブミン値, 血小板値など効果判定までの 6 ヶ月程度では有意差が見られないが, 長期間の経過では, いずれも有意差をもって軽度静脈瘤症例の方が改善が高いことが認められた。

長期予後 (非代償性肝硬変)



長期予後に対する影響では軽度静脈瘤症例では 3 年生存率 83.3% に対し, 高度静脈瘤症例では 54.7% と軽度静脈瘤症例では有意に良好と確認出来た。

D. 考察

前年までの多施設のレトロスペクティブな検討において, 非代償性肝硬変の抗ウイルス療法による治療効果における有用な因子として静脈瘤の程度が確認されている。今回の検討においても軽度静脈瘤症例の方が各種パラメータは改善を認めており, 特にウイルス量の改善はより良好であることが確認された。その直接的な要因は明らかではないが, 可能性としては静脈瘤の程度, 換言すれば肝線維化が軽度である症例の方がその経過においてウイルス量が多い可能性はあり, 今回でも有意差は無いもののその傾向認めている。さらに高度静脈瘤の症例において Child-Pugh を代表とする予備能の改善は高度静脈瘤症例の方が改善に乏しいことが認められた。Child 分類のパラメーター毎で評価すると, 腹水, 脳症の出現, およびアルブミン値が有意ではないものの軽度静脈瘤症例の方が長期間の加療において改善が得られやすい結果であった。このことは抗ウイルス剤によりウイルス量は十分改善し, 肝細胞レベルではある程度予備能は改善していると考えられるも, 非代償期での高度門脈-

体循環シャントを有する症例は肝内外での血流動態の改善までにさらに長期間を要する可能性が考えられた。

E. 結論

非代償性肝硬変において抗ウイルス療法は安全かつ高い有効性を示す。ただし大きな門脈-体循環シャントが存在する場合には, ウイルスが抑制されても肝血流・肝予備能の回復と非代償症状の消失が遅れる症例がある。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 内木隆文他: 新劇症肝炎肝移植ガイドラインを用いた治療効果判定への応用 第 48 回日本肝臓学会総会 ワークショップ 1 金沢 2012.6
- 2) 内木隆文他: 新劇症肝炎肝移植ガイドラインの治療効果判定への応用 JDDW2012 ワークショップ 4 神戸 2012.10

論文発表

- 1) Naiki T, Nakayama N, Mochida S, Oketani M, Takikawa Y, Suzuki K, Tada SI, Ichida T, Moriwaki H, Tsubouchi H; the Intractable Hepato-Biliary Disease Study Group supported by the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan. Novel scoring system as a useful model to predict the outcome of patients with acute liver failure: Application to indication criteria for liver transplantation. *Hepatology Res* 2012;42:68-75.
- 2) Shimizu M, Shirakami Y, Sakai H, Iwasa J, Shiraki M, Takai K, Naiki T, Moriwaki H. Combination of acyclic retinoid with branched-chain amino acids inhibits xenograft growth of human hepatoma cells in nude mice. *Hepatology Res* 2012; 42: 1241-1247
- 3) Terakura D, Shimizu M, Iwasa J, Baba A, Kochi T, Ohno T, Kubota M, Shirakami Y, Shiraki M, Takai K, Tsurumi H, Tanaka T, Moriwaki H. Preventive

- effects of branched-chain amino acid supplementation on the spontaneous development of hepatic preneoplastic lesions in C57BL/KsJ-*db/db* obese mice. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2499-2506.
- 4) Shimizu M, Imai K, Takai K, Moriwaki H. Role of acyclic retinoid in the chemoprevention of hepatocellular carcinoma: Basic aspects, clinical applications, and future prospects. *Curr Cancer Drug Targets* 2012;12:1119-1128.
 - 5) Shimizu M, Shirakami Y, Imai K, Takai K, Moriwaki H. Acyclic retinoid in chemoprevention of hepatocellular carcinoma: targeting phosphorylated retinoid X receptor- α for prevention of liver carcinogenesis. *J Carcinog* 2012;11:11.
 - 6) Shimizu M, Kubota M, Tanaka T, Moriwaki H. Nutraceutical approach for preventing obesity-related colorectal and liver carcinogenesis. *Int J Mol Sci* 2012;13:579-595.
 - 7) Ohno T, Shirakami Y, Shimizu M, Kubota M, Sakai H, Yasuda Y, Kochi T, Tsurumi H, Moriwaki H. Synergistic growth inhibition of human hepatocellular carcinoma cells by acyclic retinoid and GW4064, a farnesoid X receptor ligand. *Cancer Lett* 2012;323;215-222.
 - 8) Suzuki K, Endo R, Kohgo Y, Ohtake T, Ueno Y, Kato A, Suzuki K, Shiraki R, Moriwaki H, Habu D, Saito M, Nishiguchi S, Katayama K, Sakaida I; for the Japanese Nutritional Study Group for Liver Cirrhosis 2008. Guidelines on nutritional management in Japanese patients with liver cirrhosis from the perspective of preventing hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2012;42:621-626.
 - 9) Kaneko S, Furuse J, Kudo M, Ikeda K, Honda M, Nakamoto Y, Onchi M, Shiota G, Yokosuka O, Sakaida I, Takehara T, Ueno Y, Hiroishi K, Nishiguchi S, Moriwaki H, Yamamoto K, Sata M, Obi S, Miyayama S, Imai Y. Guideline on the use of new anticancer drugs for the treatment of Hepatocellular Carcinoma 2010 update. *Hepatol Res* 2012;42:523-542.
 - 10) Ninomiya S, Shimizu M, Imai K, Takai K, Shiraki M, Hara T, Tsurumi H, Ishizaki S, Moriwaki H. Possible role of visfatin in hepatoma progression and the effects of branched-chain amino acids on visfatin-induced proliferation in human hepatoma cells. *Cancer Prev Res* 2011;4:2092-2100.
 - 11) Watanabe N, Takai K, Imai K, Shimizu M, Naiki T, Nagaki M, Moriwaki H. Increased levels of serum leptin are a risk factor for the recurrence of stage I/II hepatocellular carcinoma after curative treatment. *J Clin Biochem Nutr* 2011;49:153-158.
 - 12) Chayama K, Hayes CN, Yoshioka K, Moriwaki H, Okanoue T, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Toyota J, Izumi N, Hiasa Y, Matsumoto A, Nomura H, Seike M, Ueno Y, Yotsuyanagi H, Kumada H. Factors predictive of sustained virological response following 72 weeks of combination therapy for genotype 1b hepatitis C. *J Gastroenterol* 2011;46:545-555.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
今回の研究内容については特になし。

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

HCV に対するインターフェロン治療効果と脂肪酸との関連

研究分担者 日浅陽一 愛媛大学大学院先端病態制御内科学講座 准教授

研究要旨: C 型肝炎ウイルス(HCV)は脂肪酸の合成に作用し、肝臓内での脂肪酸組成を変化させ、病態を進展させる。また、インターフェロン(IFN)治療効果と脂質との関連も報告されるが、脂肪酸との関連は不明である。我々は C 型肝炎患者における IFN 治療効果と血清中脂肪酸組成との関連について検討した。対象は IFN 治療を受けた C 型肝炎患者 55 人(平均年齢 53.6±11.2 歳、genotype 1/2 37/18 名)。患者背景、血液生化学検査、ウイルスマーカー及び血清脂肪酸分画と、RVR、EVR、SVR の関連について解析を行った。その結果、パルミチン酸低値は RVR、EVR、SVR の全てに寄与する因子であり、さらに多変量解析ではパルミチン酸低値と HCV genotype 2 型のみが IFN 治療効果に寄与する因子として抽出された。また *in vitro* の検討でも、パルミチン酸は、HCV genotype 1 型 2 型ともに IFN+リバビリン(RBV)の抗ウイルス効果を有意に減弱させた。パルミチン酸は IFN 治療効果を減弱させ、投与前の血清パルミチン酸値は治療効果予測に寄与する独立因子として臨床上有用な指標となり得ることが示唆された。

共同研究者

三宅映己 愛媛大学 特任講師
徳本良雄 愛媛大学 特任講師
恩地森一 愛媛大学 教授

A. 研究目的

脂質は C 型肝炎ウイルス(HCV)の増殖、細胞内移行に関連し、HCV は肝細胞において脂肪酸の合成、代謝を変化させる。さらに脂肪酸組成の変化が肝臓における病態の進展に関与していることが報告されている。またインターフェロン(IFN)の抗 HCV 治療効果に対して、血清中の総コレステロールや LDL-cholesterol が影響を及ぼすことが示されている。しかし、血清中の脂肪酸が IFN、リバビリン(RBV)の抗ウイルス効果に及ぼす影響は不明である。我々は C 型肝炎患者における血清脂肪酸分画と、IFN 治療効果との関連について検討を行った。

B. 研究方法

対象は当科で 2008 年 12 月より 2010 年 12 月までに IFN 治療を受けた C 型肝炎患者 55 人(平均年齢 53.6±11.2 歳、genotype 1/2 : 37/18 例、治療法: PEG-IFN α-2b+RBV 31 例、PEG-IFN α-2a+RBV 9 例、PEG-IFN α-2a 10 例、(4) IFN-β+RBV 5 例)。早朝空腹時に採血して全脂肪酸分画を測定し、患者背景、ウイルスマーカーとともに RVR、EVR、SVR との関連について単変量解析、および多変量解析を行った。また、得られた脂肪酸の結果から、治療効果を予測する血清濃度を ROC 解析し、IFN、RBV の高ウイルス効果への影響を HCV genotype 1a および 2a の HCV 複製細胞株を用いて、*in vitro* で確認した。(倫理面への配慮)

本研究において検体採取の際に臨床研究の目的・方法、患者に関する個人情報等の守秘義務、患者の権利保護などについて十分な説明を行い、書面による同意を得た上で行った。検体採取については当

院臨床研究倫理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

RVR、EVR、SVR を得られた患者はそれぞれ 35% (19/55)、64% (35/55)、69% (35/51)であった。単変量解析にて、RVR に中性脂肪低値、EVR に低 BMI、genotype 2 型、SVR に genotype 2 型、低コレステロール値が関与し、13 種類の血中脂肪酸値が寄与していた(表 1)。特に血中パルミチン酸低値は RVR、EVR、SVR すべてに有意な寄与因子であった。

表 1: 抗 HCV 治療効果に関連する脂肪酸

(単変量解析)

因子	RVR		EVR		SVR	
	OR (95% CI)	P 値	OR (95% CI)	P 値	OR (95% CI)	P 値
Saturated fatty acid						
Myristic acid	0.88 (0.79–0.96)	0.01	0.96 (0.902–1.002)	0.16	0.93 (0.86–0.99)	0.04
Palmitic acid	0.99 (0.983–0.996)	0.003	0.9956 (0.9909–0.9998)	0.049	0.995 (0.9899–0.9995)	0.04
Stearic acid	0.98 (0.96–0.99)	0.01	0.991 (0.978–1.004)	0.19	0.988 (0.973–1.002)	0.1
Monounsaturated fatty acid						
Palmitoleic acid	0.98 (0.95–0.9999)	0.07	0.99 (1.01)	0.97 (0.97–)	0.976 (0.953–0.998)	0.04
Oleic acid	0.993 (0.987–0.998)	0.004	0.9992 (0.9955–1.003)	0.68	0.998 (0.994–1.002)	0.376
Nervonic acid	0.96 (0.86–1.06)	0.41	0.9 (0.8–0.99)	0.04	0.85 (0.75–0.95)	0.01
Polyunsaturated fatty acid						
α-linolenic acid	0.86 (0.74–0.96)	0.02	0.98 (0.92–1.05)	0.6	0.97 (0.89–1.04)	0.38
Eicosadienoic acid	0.47 (0.25–0.78)	0.01	0.76 (0.5–1.09)	0.15	0.71 (0.45–1.05)	0.11
Mead acid	0.68 (0.37–1.13)	0.17	0.73 (0.44–1.17)	0.2	0.51 (0.27–0.86)	0.02
Dihomo-γ-linolenic acid	0.949 (0.898–0.998)	0.05	0.957 (0.908–1.004)	0.08	0.92 (0.86–0.97)	0.01
Adrenic acid	0.62 (0.38–0.93)	0.03	0.84 (0.58–1.2)	0.33	0.67 (0.43–0.98)	0.048
Docosapentaenoic acid	0.74 (0.59–0.88)	0.003	0.96 (0.88–1.04)	0.35	0.93 (0.82–1.03)	0.18
Docosahexaenoic acid	0.98 (0.95–0.99)	0.03	0.988 (0.972–1.001)	0.1	0.98 (0.959–0.997)	0.02

さらに、パルミチン酸低値と単変量解析で選出された臨床背景(年齢、性別、BMI、ALT、HCV genotype、ウイルス量、IFN 治療歴の有無)を用いて多変量解析した結果、パルミチン酸低値と、HCV genotype 2 型のみが RVR、EVR、SVR に寄与する因子として抽出された(表 2)。

表 2: 抗 HCV 治療効果への寄与因子 (多変量解析)

因子	RVR (n = 55)		EVR (n = 55)		SVR (n = 51)	
	OR (95% CI)	P値	OR (95% CI)	P値	OR (95% CI)	P値
Genotype 1b=1 2a,b=2	0.38 (0.16-0.8)	0.01	0.24 (0.008-0.57)	0.005	0.993 (0.987-0.998)	0.01
Palmitic acid (16:0)	0.988 (0.979-0.994)	0.001	0.993 (0.987-0.998)	0.01	0.993 (0.987-0.998)	0.01

また、パルミチン酸値と治療効果について ROC 解析したところ、パルミチン酸 569.1-587.7 mg/ml が、治療効果を予測する Cutoff 値であった (表 3)。

表 3: 治療前血清パルミチン酸値による抗 HCV 治療効果の予測: ROC 解析

	AUC (95% CI)	Cutoff 値 (μg/mL)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	Predictive Accuracy (%)
RVR (n=55)	0.79 (0.66-0.89)	569.1	73.68	77.78	63.64	84.85	76.36
EVR (n=55)	0.7 (0.56-0.82)	586.7	60	80	84	53.33	67.27
SVR (n=51)	0.7 (0.56-0.82)	587.7	63.64	77.78	84	53.84	68.63

HCV genotype 1 型症例では、パルミチン酸値と IL-28B SNPs、HCV コアアミノ酸変異との関連は見られなかった。HCV genotype 1a および 2a を用いた HCV 複製細胞株を用いた *in vitro* の検討では、パルミチン酸添加により、IFN と RBV の抗 HCV 効果の有意な減弱がみられた (図 1)。

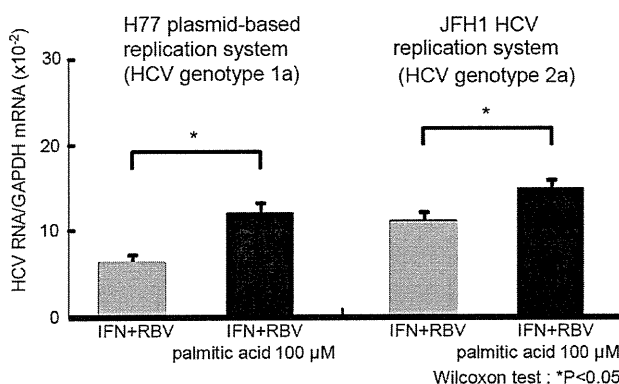


図 1: *in vitro* HCV 複製細胞株を用いたパルミチン酸による IFN、RBV の抗ウイルス効果への影響

D. 考察

今回の検討により、血清中の飽和脂肪酸であるパルミチン酸は、RVR、EVR、SVR 全てに寄与する、独立因子であった。また、HCV genotype 1b 型患者でパルミチン酸値と IL-28B SNPs、HCV コアアミノ酸変異との関連は見られず、治療効果に対する新たな寄与因子と考えられた。

パルミチン酸は中性脂肪の構成成分で、VLDL に多く含まれることが知られるが、リポたんぱく分画との関連は必ずしも明らかでない。今回の *in vitro* の検討から、パルミチン酸の増加は IFN、RBV の抗 HCV 効果を直接低下させる可能性があり、その機序の解析が課題となる。また、血清パルミチン酸濃度は、IFN、RBV 治療効果の予測因子となり得るだけでなく、同治療効果を増強するための治療標的となりうる可能性がある。今後パルミチン酸を低下させる治療を併用することで、IFN、RBV の抗 HCV 作用を増強するか検討し、より効果的な治療法の確立を目指したい。

E. 結論

治療前の血清パルミチン酸は、IFN、RBV 治療効果に寄与する独立因子であり、また IFN、RBV による治療効果予測因子の一つとなり得ると考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) Miyake T, Hiasa Y, et al. High serum palmitic acid levels are associated with the low antiviral effect of interferon-based therapy in patients infected with Hepatitis C virus. The 10th JSH Single Topic Conference. 2012.11. Tokyo, Japan.
- 2) Tokumoto Y, Hiasa Y, et al. Ribavirin regulates hepatitis C virus replication through enhancing interferon-stimulated genes and interleukin-8. The 10th JSH Single Topic Conference. 2012.11. Tokyo, Japan.

2. 論文発表

- 1) Miyake T, Hiasa Y, et al. High serum palmitic acid is associated with low antiviral effects of interferon-based therapy for hepatitis C virus. *Lipids*. 47: 1053-62, 2012.
- 2) Tokumoto Y, Hiasa Y, et al. Ribavirin regulates hepatitis C virus replication through enhancing interferon-stimulated genes and interleukin-8. *J Infect Dis*. 205: 1121-30, 2012.
- 3) Yamamoto Y, Hiasa Y, et al. Rapid alternative absorption of dietary long-chain fatty acids with upregulation of intestinal glycosylated CD36 in liver cirrhosis. *Am J Clin Nutr*. 96: 90-101, 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型慢性肝炎に対するペグインターフェロンリバビリン併用療法の治療効果に影響を及ぼす新たな因子に関する研究

研究分担者 四柳 宏 東京大学大学院生体防御感染症学 准教授

研究要旨;C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果を予測する新たなバイオマーカーの探索をプロテオミクスを用いて行った。SVR の得られた症例と NR であった症例で治療前の血清を用いた。ペプチドミクスの結果 SVR 症例と NR 症例との間では血清 C3f 値、殊に C3f-dR 値が前者で高いことが判明した。ペグリバ療法の NR 例では C3f-dR 値がほとんどの症例で低値であった。また、IL28B が minor allele であっても血清 C3f-dR 値が高値の場合は SVR になることが期待できると思われた。結論として血清 C3f-dR はC型慢性ウイルス性肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法の効果を予測する因子として有用であると思われた。殊に IL28B minor allele の患者で治療を行う際の指標として有用であることが示唆された。

A. 研究目的

ペグインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果は IL28B の遺伝子多型により最も大きな影響を受ける。IL28B のみでは完全な予測ができないこと、遺伝子検査であり日常臨床への導入に障壁があることから、IL28B 以外のバイオマーカーが求められる。今回プロテオミクスを用い、この点に関して検討した。

B. 研究対象と方法

I、対象

Genotype 1 でペグインターフェロン・リバビリン併用療法(ペグリバ療法)を受けた 107 例を対象とした。

II、方法

治療前の血清を陽イオンとの交換により血清からペプチドを抽出し、Mass Spectroscopy にかけた後網羅的に解析した。ペグリバ療法で SVR が得られた症例と得られなかった症例での差を検討した。検討により差の得られたペプチドの由来する蛋白質を MS/MS 解析で同定した。

C. 研究結果

I、治療効果と関連する可能性のあるペプチドの同定

15 例の SVR 例と 8 例の NR 例から得られた血清を用いてにペプチドミクスを行った。Mass/electric Charge 1349, 1450, 1691, 1779, 1866, 2862 (m/z)の部位に SVR 例でイオン強度の高いピークが認められた。これらのペプチドの由来する蛋白質を MS/MS 解析で同定したところ、2862 以外の5ピークは Complement 3fによるものであった。2862 は Fibrinogen - α chain であった。特に 1866 の部位 (Complement 3f の 1-16 の 16 アミノ酸、C3f-dR と呼称される)は SVR 例で NR 例の 10 倍以上のイオン強度であった。

II、C3f-dR を用いた治療効果予測

上記 23 例で治療効果を予測するのに最も効果的な C3f-dR レベル (cut off value) を求めたところ 36.0AU と算出された。NR8 例では C3f-dR は全例このレベル以下であった。一方 SVR15 例では 8 例が 36.0AU 以上であり、Negative Prediction Rate は 100%、Positive Prediction Rate は 53%であった。

ペグリバ療法無効の予測 (Negative Prediction) に C3f-dR が有効かどうかの検証 (Validation) を残りの症例

を用いて行った。NR17 例では 16 例で C3f-dR は全例 36.0AU 以下であり、Negative Prediction Rate は 94% であった。一方 SVR51 例では 18 例が 36.0AU 以上であり、Positive Prediction Rate は 35% であった。

III、C3f-dR と IL28B との関係

C3f-dR と IL28B との関係を調べたものが(図1)である。NR 例は C3f-dR は全例低値であったが、IL28B を調べることができた 10 例中 1 例は IL28B は Major であった。他方 C3f-dR が 36.0AU 以上の症例には NR 例は 1 例もなかった。また、IL28B が minor type であっても C3f-dR が高値の例は SVR を達成した。

D. 考察

Genotype 1 の症例に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果を規定する最大の因子が IL28B であることは論を待たない。しかしながら IL28B は遺伝子検査であり、現在も健康保険に記載されていない。これは IL28B による効果予測がまだ不十分だからであり、HCV のコアアミノ酸の変異を加えても完全な治療効果の予測はできない。従って治療効果に役立つバイオマーカーの探索が現在でもなお望まれている。

今回の検討では C3f、特に C3f-dR がペグリバ療法の効果予測に効果的であることが示された。C3f は 2007 年に肝細胞癌のバイオマーカーになり得るエジプトから報告された (Goldman R et al. *Carcinogenesis* 2007; 28: 2149-53.)。この論文の中では MALDI-TOF によって同定されたものはペプチドであり、その配列は C3f-dR と一致することが示されている。このコホートの 88% が HCV 抗体陽性であることから、C3f-dR は HCV 関連肝細胞癌と相関があるものと考えられる。また、本邦からも HCV 関連肝細胞癌のバイオマーカーとして C3a が報告されている (Kanmura S et al. *J Gastroenterol* 2010; 45: 459-467.)。

C3f は C3b から放出される蛋白であり、補体第二経路の活性化により起こる。補体第二経路は微生物の細胞膜上で起こる。細菌感染の際に起こることが多いが、EBV はじめウイルスでも起きることが確認されており、HCV の細胞膜上で同じことが起きる可能性もある。本検討結果からは、血中に存在する HCV の表面上で補体第二経路が活性化されることが血中からのウイルス排除

に重要なことが示唆される。C3f-dR 高値例には Relapser は含まれるが Non-Responder は含まれないことが今回の検討ではわかっており、興味深い。

C3f-dR は上述の通り肝細胞癌の合併時にも上昇する。これは末梢血中の腫瘍細胞あるいは腫瘍関連抗原産生細胞の表面で補体第二経路の活性化が起きていることを意味していると思われる。C3f-dR 高値の肝細胞癌の臨床像がどのようなものか興味を持たれる。

E. 結論

血清 C3f-dR は C 型慢性ウイルス性肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法の効果を予測する因子として有用であると思われる。IL28B minor allele の患者でも血清 C3f-dR 高値の場合は SVR が期待できるものと思われた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 学会発表

1) 奥瀬千晃他: ウイルス性肝炎と肝外病変 C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法と甲状腺機能障害 第 16 回日本肝臓学会大会 パネルディスカッション 12 神戸 2012.10

2. 論文発表

1) Okazaki T, Yamazaki K, Iwasaki T, Okano T, Kurosaki Y, Nakamura K, Fujioka T, Yotsuyanagi H. α 2-HS glycoprotein is an essential component of cryoglobulin associated with chronic hepatitis C. *Clin Chem Lab Med*. 2012 Jul 27. [Epub ahead of print]

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

C3f 分解産物血中濃度による C 型肝炎治療反応性予測法 (C 型肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法効果の予測方法およびそれに用いられる予測キット)

発明者: 加藤智啓 (聖マリアンナ医科大学) 他
特願 2010-240874

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

PPEG-IFN, RBV, TVR の 3 剤併用療法の治療開始早期の抗ウイルス効果と副作用に関する研究

研究分担者 岡上 武 大阪府済生会吹田病院 院長

研究要旨；2011年11月からC型慢性肝炎に使用可能となったPEG-IFN, RBV, TVRの3剤併用療法の治療開始早期の抗ウイルス効果と副作用を検討した。

対象：投与開始4週以上を経過した112例、うち100例は12週間以上投与例。男性57例、女性55例、平均年齢60歳(34-74歳)、平均HCV RNA量6.6logIU/ml、治療開始時のHCV RNA量が5.0logIU/ml以上は83例であった。肝線維化の程度はF1/F2/F3/F4がそれぞれ1/21/30/14/2例であった。TVR一日投与量2250mg/1500mgの割合は男性が42/15例、女性は20/35例で、女性は64%が1500mgで開始されていた。PEG-IFN, RBVの投与量は体重あたりの規定量で開始している。

結果：治療開始時HCV RNA5.0logIU/mlの83例中66例(79.5%)が治療開始4週以内にHCV RNAは陰性化、4週後に16例が1.2log以下、1例が1.4logであった。12週間には全例HCV RNAは陰性化し、極めて高い抗ウイルス効果が見られた。副作用による3剤投与中止例は1週以内5例、1-4週1例、4-8週6例、8-12週2例の15例と高率で、原因は皮疹6、腎障害2、食欲低下3、貧血2、鬱・不眠2例であった。12週までにTVRのみ投与中止が27例あった。皮疹は112例中78例(69.6%)にみられ、そのうちの6割以上が投与開始1週間以内に出現した。皮疹のgrade1:45例、grade 2:24例、grade 3:9例であった。Crの上昇、尿酸値の上昇も高頻度に見られたが、早期に減量あるいは一旦投与中止や、あるいは高尿酸血症に対する薬剤投与で、殆どの例は速やかに改善した。

考案および結語：PEG-IFN/RBV/TVR 3剤併用療法の早期の抗ウイルス効果と副作用を検討した。3剤併用療法はPEG-IFN/RBVの2剤併用療法に比して明らかに抗ウイルス効果が高く、早期のウイルス陰性化が得られた。ただし、皮疹、腎障害、高尿酸血症の出現頻度が高く、注意深いフォローと副作用に対する迅速な対応が必要である。欧米人に比して日本人の平均体重は10kg近く少なく、しかも高齢患者の頻度が高いことから、必要最小限の投与量で良好な治療効果を得るための検討が必要である。TVRは1500mgで十分な抗ウイルス効果が得られる可能性が高く、今後TVRはもとより、RBV, PEG-IFNの初期投与量や減量基準を詳細に検討する必要がある。

共同研究施設名

大阪府済生会吹田病院
京都府立医科大学消化器内科
近江八幡市立総合医療センター
大津市民病院
京都市立病院
東近江市立能登川病院

社会保険神戸中央病院
京都第二赤十字病院
西陣病院
市立福知山市民病院
社会保険京都病院
愛生会山科病院

A. 研究目的

平成 23 年 1 1 月に PEG-IFN/RBV/TVR の 3 剤併用療法が実施可能になった。この治療法は治験段階で極めて高い著効率が得られたが、従来の治療法に比して副作用の頻度や程度が高く、肝臓専門医と皮膚科専門医の連携の下でのみ投与可能である。今回、本治療法の早期の抗ウイルス効果と副作用につき検討した。

B. 対象

2012 年 8 月 15 日までに PEG-IFN/RBV/TVR 治療を開始した 142 例の C 型肝炎患者のうち、治療開始後 4 週以上経過している 112 例を対象にした。その患者背景は表 1 に示す如くである。HCV RNA 量の平均は 6.6logIU/ml で 1.6-7.6logIU/ml と一部血中ウイルス量が保険適応の 5.0logIU/ml 以下の症例が見られるが、これは外来で患者さんに説明した際には HCV RNA は 5.0log 以上であったが、治療のため入院し開始直前に採取した検体で 5.0log/ml 以下であったことが治療数日後に判明した結果である。

なお、IL28β の SNP や HCV core aa 70 のアミノ酸変異についても検討しているが、今回の解析に間に合わなかった。

C. 成績

治療開始時の HCV RNA 量が 5.0log/ml 以上で治療開始 4 週以上経過しているのは 83 例で、図 1 に示す如く 2 週以内に HCV RNA 陰性化する例が 20%近く見られ、66 例(79.5%)が投与開始 4 週までに HCV RNA は陰性化し、4 週の時点で 16 例は 1.2log 未満、1 例は 1.4log であった。12 週以上経過している例が 66 例あったが、全例 12 週までに HCV RNA は陰性化

していた。

副作用により治療を中止した例が 15 例あり、その内訳は表 2 に示す如くで、皮疹によるものが 6 例と最も多く、以下食欲不振 3 例、腎機能障害、貧血、鬱・不眠がそれぞれ 2 例であった。142 例中投与開始 4 週以内に治療中止になった例が 5 例ある。TVR のみ中止が 12 例あり、原因として皮疹と貧血の頻度が高かった。皮疹の程度は grade 1: 45, grade 2: 24, grade 3: 9 例で、多くは軽症で、皮疹の出現時期は 7 割前後が投与開始 1 週間以内であった。多くの例で血清クレアチニン値の上昇を認めたが、早期に TVR を減量することにより、速やかに改善した。また、尿酸値もほとんどの例で上昇したが、上昇の程度は 2.0mg/dl 前後が最も多く、最高は 6.0mg/dl の上昇であった(表 3)。高尿酸血症に対しても投薬で速やかに改善した。

D. 結論

PEG-IFN/RBV/TVR の 3 剤併用療法を 4 週以上投与した 112 例を対象に治療開始早期の抗ウイルス効果と副作用を検討した。約 8 割で投与開始 4 週までにウイルスは陰性化し、治療中止例を除いて全例 12 週までにウイルスは陰性化し、高い抗ウイルス効果が得られた。しかし、副作用の頻度は高く、特に皮疹、貧血、腎障害、高尿酸血症が高頻度に見られた。

E. 考察

PEG-IFN/RBV/TVR の 3 剤併用療法では早期のウイルス陰性化が高率にみられ、高い著効率が期待できる。しかし、副作用の頻度、程度ともに PEG-IFN/RBV 併用療法に比して顕著であり、日本人に適した投与量を検討し、安全で有効な投与方法を確立する必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 岡上 武。特別発言、B型慢性肝炎治療の問題点。ワークショップ 21。
B型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法の継続と終了を巡って。第48回日本肝臓学会総会。June 8, 2012(金沢)
- 2) Nishimura T, Yamaguchi K, Okada Y, Sumida Y, Minami M, Yasui K, Mitsuyoshi H, Iwai M, Okanoue T, Itoh Y. Factors that may enhance the prediction of non-virological response to PEG-IFN/RBV/TVR therapy by IL28 β SNP(rs8099917) for genotype 1 chronic hepatitis C. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). 2012 Nov 12; Boston, USA

2. 論文発表

- 1) Hayashi N, Okanoue T, Tsubouchi H, Toyota J, Chayama K, Kumada H. Efficacy and safety of Telaprevir, a new protease inhibitor, for difficult-to-treat patients with genotype 1 chronic hepatitis C. J Viral Hepat 2012;19: 134-142
- 2) Kumada H, Toyota J, Okanoue T, Chayama K, Tsubouchi H, Hayashi N. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for treatment-naïve chronically infected with HCV of genotype 1 in Japan. J Hepatol 2012; 56: 78-84
- 3) Imakiire K, Uto H, Sato Y, Sasaki F, Mawatari S, Ido S, Shimoda K, Hayashi K, Stuver SO,

Ito Y, Okanoue T, Tsubouchi H. Difference in serum complement component C4a levels between hepatitis C virus carriers with persistently normal alanine aminotransferase levels or chronic hepatitis C. Mol Med Report 2012; 6: 259-264

- 4) Fujii H, Itoh Y, Ohnishi N, Sakamoto M, Ohkawara T, Sawa Y, Nishida K, Ohkawara Y, Yamaguchi K, Minami M, Okanoue T. Factors associated with the overall survival of elderly patients with hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol 2012; 18: 1926-1932
- 5) Nishimura T, Yamaguchi K, Hashimoto H, Niimi T, Yokomizo C, Fujii H, Minami M, Sakamoto M, Ohnishi N, Nagao Y, Okita M, Umemura A, Shima T, Okanoue T. Treatment extension may benefit female genotype 1 chronic hepatitis C patients with complete early virological response to peginterferon alfa-2b and ribavirin combination therapy. Hepatol Res 2012; 42:966-973
- 6) Nishimura T, Yamaguchi K, Fujii H, Okada Y, Yokomizo C, Niimi T, Sumida Y, Yasui K, Mitsuyoshi H, Minami M, Umemura A, Shima T, Okanoue T, Itoh Y. Prediction of a favorable clinical course in hepatitis C virus carriers with persistently normal serum alanine aminotransferase levels: A long-term follow-up study. Hepatol Res 2012 (in press)

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

今回の研究内容については特になし。

表1. 患者背景

男/女	57/55
年齢 (歳)	60[34-74]
BMI (kg/m ²)	23.7[16.4-34.7]
HCVRNA (logIU/ml)	6.6[1.8-7.6]
WBC (/μl)	5,000[2,500-10,100]
Neu (/μl)	2,586[985-5,878]
ALT (IU/l)	55[15-924]
γ GTP (IU/l)	37[11-539]
Cre (mg/dl)	0.66[0.37-1.52]
UA (mg/dl)	5.6[2.7-9.9]
ヒアルロン酸 (ng/ml)	69[10-1100]
肝組織	
線維化 0/1/2/3/4	1/21/30/13/2
炎症 0/1/2/3	0/29/31/6
TVR減量開始率	
男/女	26%(15/57) / 64%(35/55)

表 2. 副作用中止例の中止時期と理由

		中止週数				計
		<1w	<4w	<8w	<12w	
3剤中止	皮疹	3		3		6
	腎機能障害	1			1	2
	食欲不振	1	1	1		3
	貧血			1	1	2
	うつ、不眠			2		2
TVRのみ中止	皮疹	2		2	1	5
	腎機能障害			1		1
	食欲不振			1	1	2
	貧血			2	2	4
	うつ、不眠					0
計		7	1	13	6	27

表 3. 副作用(高尿酸)

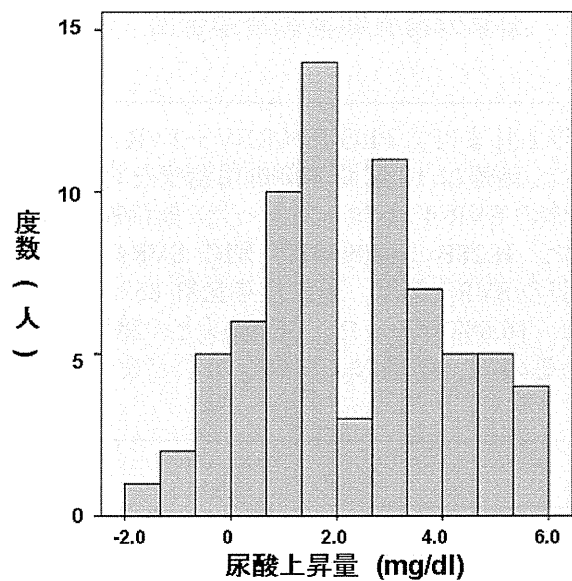


図 1. HCV-RNAの0~4週の変化

