

療法(DFPP)における治療中の HCV RNA 量の動態を解析した。

(倫理面の配慮)

鹿児島県の透析患者を対象にした肝炎ウイルス調査は、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科の倫理審査委員会の承認を得て実施した。透析中 C 型肝炎患者に対する PEG-IFN α 2a 治療のアンケート調査は班員施設を対象に実施し、調査内容には患者を特定できるような個人情報には含まれない。

C. 研究結果

(1) HCV 感染透析患者の実態と予後

2006 年の HCV 抗体陽性患者 250 人のうち、2009 年の調査で 237 人の予後が明らかになった。死亡者は男性 44 人、女性 28 人で、死亡率は 30.4% (72/237)、死亡時平均年齢は 71.2 \pm 11.3 歳、平均透析期間は 13.6 \pm 10.1 年であった。死因が明らかなのは全体の 51%で、心不全(10 人)、脳出血(7 人)、心筋梗塞(4 人)、敗血症(4 人)が多かった。肝不全死は 4 人で全体の 12%を占めた。TaqMan 法による HCV RNA 量の分布をみると、5.0 LogIU/ml 以上の高ウイルス量例が 1 型で 63.3% (62/98)、2 型で 18.4%(18/98)を占めた(図 1)。また、ヘモグロビン(Hb)値の分布をみると、男女とも 10g/dl 前後にピークをみとめ、10 g/dl 以上が 61.5% (88/143)、10 g/dl 未満が 38.5% (55/143)であった(図 2)。

(2) PEG-IFN α 2a 治療の実態と治療成績

PEG-IFN α 2a 治療を行った 29 例(DFPP 併用 6 例)の臨床背景を表 1 に示す。PEG-IFN α 2a の投与量は 90 μ g が 15 例、120 μ g が 3 例、135 μ g が 8 例、180 μ g が 3 例であった。高ウイルス量例に対しても 90 μ g の投与例がみられた。治療経過では、PEG-IFN α 2a の減量が 8 例(28%)、副作用による中止が 7 例(24%)であった。副作用の内容は貧血が 2 例、血球減少、多発性脳梗塞、眼底出血、うつ病が各 1 例であった。

PEG-IFN α 2a 治療の抗ウイルス効果をみると、低ウイルス量は全例 EVR であった。一方、高ウイルス量では、1 型の EVR 例はなかったが、2 型は 75%(3/4)が EVR であった(表 2)。治療が完遂し効果判定が可能であったのは 17 例で、低ウイルス量の全例が SVR になったが、高ウイルス量で SVR 例はなかった($P<0.0001$) (表 3)。

(3) PEG-IFN α 2a+DFPP 併用療法における HCV RNA の動態

当科で PEG-IFN α 2a+DFPP 併用療法を施行した 6 例の治療中の HCV RNA 動態を解析した。1b 型高ウイルス量の 4 例のうち EVR が 1 例 (IL28B SNPs/AA70 が major homo/野生型)、LVR が 1 例 (hetero/野生型)、無効中止が 1 例 (hetero/変異型)みられた。1b 型で高・低ウイルスの 1 例は SVR であった。2b 型高ウイルス 1 例は EVR 後に再燃した。DFPP 施行前後で、HCV-RNA 量は有意差をもって減少した($p<0.001$)。

D. 考察

HCV 抗体陽性透析患者の予後は一般の透析患者に比べ予後不良とされている。今回の鹿児島県下の主な透析施設における予後調査では、HCV 抗体陽性者の 3 年間の死亡率は約 30%と高率であった。死因の 12%は肝不全死が占めたが、全体では心不全や脳出血による死亡も多かった。糖尿病性腎症が原因の透析患者は、心血管合併症などによる死亡率が高いことが知られており、抗ウイルス療法の際には、患者背景や合併症を考慮して適応を判断する必要があると思われる。

今回の PEG-IFN α 2a 治療調査では、貧血のためガイドラインの推奨量以下で投与されている症例が多かった。また、治療中の PEG-IFN α 2a 減量例や副作用による中止例も多くみられた。透析患者の腎性貧血に対するエリスロポエチン治療の目標値は 11 g/dl 程度に設定されていることから、PEG-IFN α 2a 投与中は貧血に対する管理が重要と思われた。PEG-IFN α 2a 治療により低ウイルス量では全例が SVR となったものの、高ウイルス量では SVR 例はなかった。EVR となった 2 型高ウイルス量では全例が再燃していた。リバビリンは腎排泄で蓄積性が高いことより、透析患者への投与は推奨されていないが、高ウイルス量例に対してはリバビリン併用の必要性が示唆された。今後、低用量のリバビリンを間隔を空けて投与するなどの治療法の検討が必要と思われる。

1 型高ウイルス量に対する PEG-IFN+リバビリン+DFPP 併用療法は、PEG-IFN+リバビリン併用療法に比べ抗ウイルス効果が高いことが報告されている。透析患者では DFPP のアクセスが容易であり、その有用性が期待される。今回の検討では、HCV RNA は DFPP 後に 0.1

～2.9logIU/ml 減少し、ウイルス陰性化が得られた症例で HCV-RNA の減少幅が大きく、無効例では減少幅が小さかった。また、最終的なウイルス学的効果については、DFPP以降の Peg-IFN α 2a の反応性が影響していると考えられた。今後、DFPP 併用の治療効果についてさらなる検討が必要である。

E. 結論

HCV 抗体陽性透析患者の予後は不良であり、心臓血管合併症や肝不全による死亡が多かった。HCV 感染透析患者に対する Peg-IFN α 2a の治療継続には、貧血に対する管理が重要と思われた。高ウイルス量に対する PEG-IFN α 2a 治療の抗ウイルス効果は不良であり、リバビリン併用や DFPP 併用など、治療法の検討が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

最勝寺晶子、馬渡誠一、大野香織、小田耕平、今中大、呉 建、熊谷公太郎、米良久美子、玉井 努、野崎剛、森内昭博、宇都浩文、桶谷 眞、井戸章雄、坪内博仁。C 型慢性肝炎合併の透析患者に対する二重濾過血漿分離交換療法とペグインターフェロン α 2a 併用の治療経験 第 39 回日本肝臓学会西部会 岡山

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

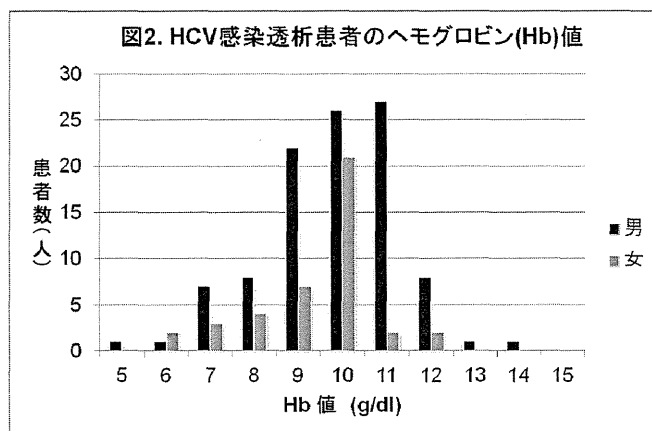
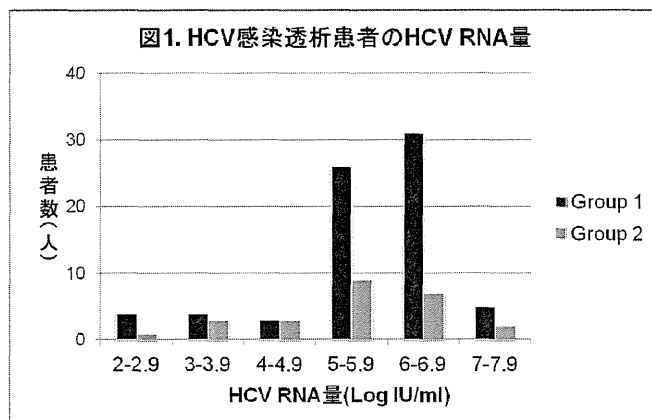


表1. 患者背景

男性/女性	26/3
年齢(歳)	57 (43-70)
透析期間(年)(~5/~15/16~)	18/4/6
糖尿病性腎症/慢性腎炎/その他	12/8/9
糖尿病(%)	55 % (16/29)
高血圧(%)	76 % (22/29)
慢性肝炎/肝硬変	25/4
IFN治療歴(有/無)	5/24
白血球数(/ μ L)	5300 \pm 1831
ヘモグロビン値(g/dl)	11.3 \pm 1.6
血小板数(万/ μ L)	15.6 \pm 4.9
ALT (IU/ml)	19 (6-61)
HCV serotype (1/2)	18/11
HCV RNA量 (5.0以上/5.0未満)	19/10

表2. Serotype/HCV RNA量別のEVR率

	Group 1	Group 2
5.0 Log以上	0 % (0/9)	75 % (3/4)
5.0 Log未満	100 % (4/4)	100 % (3/3)

表3. Serotype/HCV RNA量別のSVR率

	Group 1	Group 2
5.0 Log以上	0 % (0/8)	0 % (0/3)
5.0 Log未満	100 % (3/3)	100 % (3/3)

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

IFN β /RBV 治療時の ITPA genotype と血小板数変動についての検討に関する研究

研究分担者 野村秀幸 国家公務員共済組合連合会 新小倉病院 診療部長

研究要旨：ITPA genotype は PEG-IFN/RBV 治療中の RBV (ribavirin) 関連貧血や血小板数減少との関連がみられる。IFN β /RBV 治療中の血小板数減少が ITPA genotype と関連があるかどうかを明らかにするために、ITPA genotype 別に IFN β /RBV 治療中の血小板数減少量について調査した。45 例の C 型慢性肝炎に対して IFN β /RBV (FR) 治療を行った。ITPA genotype 別に、治療 24 週目までの hemoglobin (Hb) と血小板数の変化について検討した。IFN β /RBV 治療中の ITPA genotype CC 群の患者の血小板数減少量は、CA/AA 群に比べ有意に小さかった。IFN β /RBV 治療中の血小板数は、4 週目まで低下したが、以後増加し、8 週目以後は治療前の血小板数より増加した。IFN β /RBV 治療中 8 週目以後の血小板数は、治療前の血小板数に関わりなく、治療前値より増加した。治療前血小板数減少症例の ITPA 別の血小板数の推移では、CC 群は 4 週目までの血小板数減少量が CA/AA 群に比べ小さく、8 週目以後は治療前の血小板数より増加した。治療前の血小板数が低値でも、ITPA genotype CC 群の患者に対する IFN β /RBV 治療は有用であると思われた。

共同研究者

谷本博徳	新小倉病院肝臓内科	医長
山下信行	新小倉病院肝臓内科	部長
河野聡	北九州医療センター	医長
下田慎治	九州大学医学部修復内科学	

A. 研究目的

C 型慢性肝炎の IFN 治療では、PEG-IFN/RBV が主流であったが、現在は PEG-IFN/RBV/TVR3 剤併用治療となり、SVR 率は向上した。しかし、PEG-IFN α 製剤を使用するために、治療中は血小板数減少がみられるため、血小板数減少症例への導入が困難である。IFN β /RBV 治療中血小板数の再上昇がみられることは、報告されている。一方、RBV による貧血と ITPA との関連も報告されている。最近では、この ITPA と PEG-IFN/RBV 治療中の血小板数減少との関連も報告されている。今回我々は、

IFN β /RBV 治療中の血小板数減少と ITPA との関連について検討を行った。

B. 研究方法

2009 年 1 月から 2011 年 4 月までの間に、新小倉病院で 24 週間以上 IFN β /RBV 治療を受けた 45 例の C 型慢性肝炎患者を対象とした。IFN β は、Feron の 600 万単位を用い、最初の 4 週間は連日静脈内投与を行い、その後は、週 3 回へ減量し投与した。RBV は、体重あたりに、600mg から 1000mg まで使用した。対象者全例の ITPA (rs1127354)、IL28B (rs8099917) を測定した。治療前、1 週目、2 週目、4 週目、以後 4 週に 1 回、Hb、血小板数を測定した。本研究においては、新小倉病院の研究審査委員会、倫理委員会、ヒトゲノム遺伝子解析研究委員会の承認を得た。患者へは十分なインフォーム

ド・コンセントを行い、文書にて承諾を得た。

C. 研究結果

1) IFN β /RBV 治療中：前、1 週目、2 週目、4 週目、8 週目、12 週目、24 週目の ITPA (CC, CA/AA) 別の Hb 減少量 (g/dl) は、それぞれ、(0, 0)、(-0.1, 0)、(-1.1, -0.2)、(-2.2, -0.6)、(-2.5, -1.2)、(-2.7, -1.6)、(-2.7, -1.7)で、4 週目以降 CC 群の Hb 減少は、有意に大きかった(p<0.01)。

2) IFN β /RBV 治療中：前、1 週目、2 週目、4 週目、8 週目、12 週目、24 週目の ITPA (CC, CA/AA) 別の血小板数減少量 (万/ μ L) は、それぞれ、(0, 0)、(-4.3, -6.3)、(-3.2, -5.3)、(-3.8, -5.7)、(2.5, -0.4)、(2.5, -0.8)、(2.7, -0.8)で、8 週目以降 CC 群の血小板数減少量は、有意に小さかった(p<0.05)。8 週目以降血小板数は上昇したが、特に CC 群では、8 週目以降の血小板数は治療前値以上に上昇した。

3) IFN β /RBV 治療中：前、1 週目、2 週目、4 週目、8 週目、12 週目、24 週目の治療前の血小板数別 (≥ 15 万/ μ L, <15 万/ μ L) の血小板数減少量 (万/ μ L) は、それぞれ、(0, 0)、(-5.6, -2.7)、(-3.9, -2.4)、(-4.7, -3.2)、(2.2, 1.3)、(2.2, 1.1)、(2.3, 1.2)であった。治療前に血小板数減少症例 (<15 万/ μ L) でも、8 週目以降血小板数は上昇した。

4) IFN β /RBV 治療中：前、1 週目、2 週目、4 週目、8 週目、12 週目、24 週目の治療前の血小板数減少症例 (<15 万/ μ L) の ITPA (CC, CA/AA) 別の血小板数減少量 (万/ μ L) は、それぞれ、(0, 0)、(-2.2, -4.8)、(-2.8, -4.1)、(-2.9, -4.2)、(1.5, 0.7)、(1.6, 1.0)、(1.7, 1.1)であった。治療前に血小板数減少症例 (<15 万/ μ L) では、CC 群の 4 週目までの血小板数減少量は小さく、8 週目以降の血小板数は治療前値以上に上昇した。

D. 考察

IFN β /RBV 治療中の Hb 値の減少は、2 週目から治療中みられた。ITPA 別では、CC 群の Hb 減少量が、2 週目からみられ、4 週目から有意に大きかった。PEG-IFN/RBV 治療と同様の経過であった。IFN β /RBV 治療中の血小板数の推移は、以前の報告と同様で連日投与が終了した 4 週目以降血小板数が上昇し、8 週目には治療前より上昇した。ITPA 別では、CC 群の血小板数減少量は、CA/AA 群に比べ有意に小さく、8 週目以降は治療前値以上となった。治療前の血小板数に関係なく同様の結果であった。治療前の血小板数減少症例の ITPA 別の血小板数減少量は、CC 群では 4 週目までの血小板数減少量も CA/AA 群に比べ小さく、その後血小板数は治療前値以上になり、血小板数減少症例への IFN 治療としては、ITPA の CC 群への IFN β /RBV 治療は安全な治療と考えられる。

E. 結論

今回の検討では、IFN β /RBV 治療中に血小板数の再上昇が認められ、ITPA genotype CC 群では、より上昇が大きかった。血小板数減少症例に対しても、ITPA の CC 群へは IFN β /RBV 治療は安全な治療と考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kainuma M, Furusyo N, Azuma K, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamuta M, Kotoh K, Shimoda S, Hayashi J; the Kyushu University Liver Disease Study (KULDS) Group. Pegylated interferon α -2b plus ribavirin for Japanese

chronic hepatitis C patients with normal alanine aminotransferase. *Hepatol Res.* 2012, 42: 33-41.

- 2) Nomura H, Miyagi Y, Tanimoto H, Yamashita N, Oohashi S, Nishiura S. Occurrence of clinical depression during combination therapy with pegylated interferon alpha or natural human interferon beta plus ribavirin *Hepatol Res.* 2012, 42.
- 3) Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepatol Res.* 2011, 41: 505-511.
- 4) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, Hino K, Yatsushashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 2011, 49: 1853-1860.
- 5) 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.
- 6) 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 (KULDS) Group. An evaluation of the adverse effect of premature discontinuation of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin treatment for chronic hepatitis C virus infection: Results from Kyushu University Liver Disease Study (KULDS). *J Gastroenterol Hepatol.* 2011, 18.

2. 学会発表

- 1) Doumen K, Kawano A, Takahashi K, Shigematsu H, Tanaka H, Haruno M, Yanagita K, Ichiki Y, Mori T, Hayashida K, Shimoda S, Ishibashi H, Nomura H. : The incidence and risk factors for the development of hepatocellular carcinoma after peginterferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. AASLD (San Francisco) 2011.11.
- 2) Nakamuta M, Yoshimoto T, Kohjima M, Fukushima N, Fukuizumi K, Tada S, Higashi N, Kawabe K, Mizutani T, Harada N, Dohmen N, Nomura N, Enjoji M. : Add-on lipid modulators (statin and EPA) for peg-IFN and RBV increases SVR particularly in HCV patients with intractable IL-28B rs8099917 TG/GG allele.. AASLD (San Francisco) 2011.11.
- 3) Yoshimoto T, Kohjima M, Fukushima N, Fukuizumi K, Tada S, Higashi N, Kawabe K, Mizutani T, Harada N, Dohmen K, Nomura H, Enjoji M, Nakamuta N, : Role of Iron Metabolism during Treatment for Chronic Hepatitis C: Importance of Hepcidin Expression and Its Regulations. AASLD (San Francisco) 2011.11.

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

リバビリンによる抗 HCV 作用機序に関する研究

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型慢性肝炎のインターフェロン(IFN)治療において、リバビリン(RBV)はIFNの抗C型肝炎ウイルス(HCV)効果を増強し、ウイルス排除率を高める。RBVはプロテアーゼ阻害薬を用いた治療においても必須の薬剤とされる。しかし、RBVの抗HCV作用機序は明確ではない。我々はIFN- α による治療時にRBV併用により末梢血T細胞のIFN誘導遺伝子(ISG)がより増強されることを見だし、RBVにISG増強作用があることを想定した。*in vitro*のHCV複製系においてRBVによるISG増強作用が明らかとなり、その機序として、RBVによる内因性IFN- β の誘導が寄与していた。さらに、RBVは直接IL-8発現を増強し、その機序にAP-1を介したIL-8の誘導が関わっていた。内因性IFN- β の誘導は抗HCV治療の要となる可能性がある。また今後RBVが直接誘導するIL-8が、抗HCV治療に与える影響について明らかにしていく必要があると考えられる。

共同研究者
徳本良雄 愛媛大学 特任講師

A. 研究目的

C型慢性肝炎患者に対してインターフェロン(IFN)とリバビリン(RBV)の併用療法が行われ、プロテアーゼ阻害薬との併用による治療効果の向上が期待されている。しかし、プロテアーゼ阻害薬単剤でのウイルス排除は困難であり、IFNとRBVがC型肝炎ウイルス(HCV)排除に必須であることには変化がない。

RBVによる抗HCV作用機序は複数報告されている。しかし、臨床的にはRBVは単剤でHCVを排除できず、IFNと併用することで抗HCV作用を増強する。一方、IFNはPKR、MxA、OASなどのIFN誘導遺伝子(ISG)を介して抗ウイルス作用をもつ。我々はRBVがその抗HCV作用機序として、IFNにより誘導されるISGの作用を修飾している可能性を考えた。そこで、C型肝炎患者より採取した検体および、複数のC型肝炎複製系を用いて、RBVがIFNのISGを介した抗HCV作用を増強するかについて検討を行った。

B. 研究方法

まず、C型肝炎患者に対するpeg-IFN- α による治療時にリバビリン併用の有無によるISG誘導変化について検討した。対象は当院にて治療を行ったC型肝炎63例(Peg-IFN単独12例、peg-IFN+RBV51例)。

これらの症例から同意を得て末梢血単核球を採取し、T細胞を単離してmRNAを抽出した。代表的なISGであるPKR、MxA、OAS、IL-8のmRNAをreal-time RT-PCR法を用いて測定した。

次に*in vitro*の検討としてHCV genotype 1aを発現させたHepG2、Huh7細胞株にIFN- α 、RBVを添加し、経時的に細胞を回収してRNAおよび蛋白を抽出し

た。HCV-RNA、PKR、MxA、OAS、IL-8、IFN- β のmRNAを測定し、比較検討を行った。

RBV添加時の転写因子の変化についてPCRアレイで網羅的に検討した。さらにIL-8については、IL-8プロモーター発現プラスミドを用いてプロモーターアッセイを行った。

(倫理面への配慮)

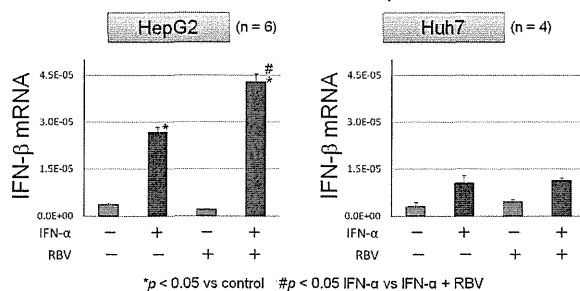
本研究において検体採取の際に臨床研究の目的・方法、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護などについて十分な説明を行い、書面による同意を得た上で行った。検体採取については当院臨床研究倫理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

患者より単離した末梢血T細胞より抽出したRNAの解析ではIFN単独に比べ、RBV併用群でPKR、MxAの誘導が強くみられ、RBVによるISG増強効果が示唆された。

RBVによるISG増強効果の検証、およびその機序を解析するために、*in vitro*のHCV複製系を用いて検討を行った。HCV genotype 1a全長遺伝子を発現させたHepG2、Huh7細胞にIFN- α 100 IU/ml、RBV 50 μ Mを単独、または混合して添加した。PKR、MxA、

図1:リバビリンによる内因性IFN- β mRNA増強効果

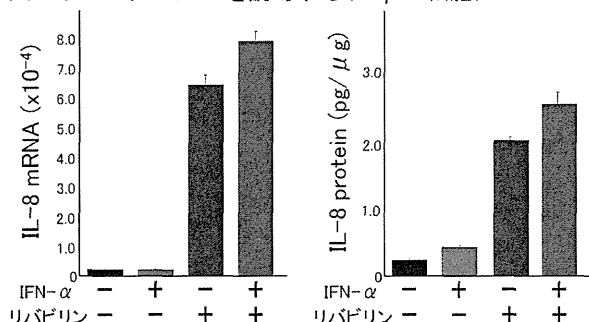


OAS ともに mRNA が IFN- α によって誘導され、RBV 単独では誘導されなかった。

RBV による ISG 増強効果として、HepG2 細胞では、RBV の併用により、IFN- α 単独よりも有意に強い PKR、MxA mRNA の誘導がみられた ($p < 0.05$)。しかし、内因性 IFN (IFN- β) 応答が不十分とされる Huh7 細胞では、RBV の併用による相加的な ISG 誘導作用はみられなかった。

そのため、RBV による ISG 増強作用に内因性 IFN- β が関与しているかについて検討した。内因性

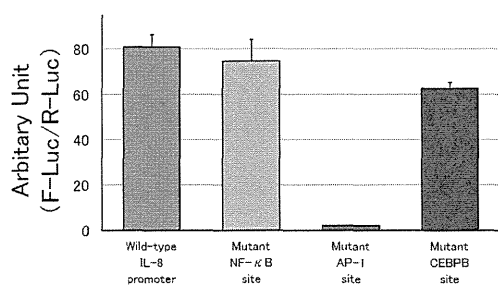
図2: リバビリンはIL-8を誘導する(HepG2細胞)



IFN- β 産生能が障害されている Huh7 細胞では IFN- α 、RBV による IFN- β mRNA は誘導されなかったが、内因性 IFN- β 産生能が保存されている HepG2 細胞では IFN- α 単独で IFN- β mRNA が誘導され、RBV との併用でさらに相加的に IFN- β mRNA が増強した(図 1)。これらの結果より RBV は内因性 IFN- β を誘導することで、IFN- α の抗 HCV 作用を増強していると考えられた。

また、ISG の中で、IL-8 mRNA は RBV 単剤によって誘導され、IFN- α ではむしろあまり誘導されず、PKR などみられた相加的増強効果もみられなかった。また IL-8 蛋白の発現も同様に RBV 単剤によって増強した(図 2)。この増強効果は、RBV の濃度依存性であり、RBV が直接 IL-8 を誘導することが想定さ

図3: リバビリンによるAP-1を介したIL-8プロモーター活性増加



れた。

この RBV による IL-8 誘導の機序を明らかにするために、PCR アレイを用いて IL-8 上流の転写因子の解析を行った。IL-8 プロモーターには AP-1、NF- κ B、CEBPB の結合領域がある。PCR アレイでは、c-Jun、c-Fos などの AP-1 関連遺伝子が強く誘導されていた。さらに、IL-8 プロモーターの各転写因子結合部位に変異を挿入したプラスミドを用いてレポーターアッセイを行ったところ、AP-1 結合領域に変異のある IL-8 プロモーターでは RBV による IL-8 プロモーター活性が消失していた(図 3)。これらの結果から RBV は

AP-1 を介して IL-8 を直接誘導することが明らかとなった。

D. 考察

今回の検討により、リバビリンによるインターフェロンの抗 HCV 作用増強機序に①内因性のインターフェロンである IFN- β の誘導、②それによる PKR、MxA などの ISG の相加的な発現増強が関与していることが明らかとなった。

さらに、リバビリンは単独で IL-8 の発現を直接増強する作用を持つ。IL-8 については、これまでにインターフェロンのシグナルを逆に阻害する可能性が報告されている。リバビリンによる IL-8 誘導が C 型肝炎治療に与える影響については更なる検討が必要である。

リバビリンは貧血、皮疹などの副作用があり、治療中止を余儀なくされる症例もある。そのため、リバビリンと同様に、効率的に内因性インターフェロンを誘導することが可能な薬物を同定することができれば、より効果的、かつ副作用の少ない C 型慢性肝炎の治療法を、今後確立できる可能性があると考えられる。

E. 結論

リバビリンは内因性インターフェロンを介して、インターフェロン誘導遺伝子を相加的に増強する。このことはリバビリンによる抗 HCV 作用機序の一つと考えられる。

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) Shigematsu S, Hiasa Y, et al. ZNF689 suppresses apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through the down-regulation of Bcl-2 family members. The 62nd annual meeting of the american association for the study of liver disease 2011.11 San Francisco, USA.

2) 廣岡昌史、平岡淳、日浅陽一他 当科における非 B 非 C 型肝炎の臨床的特徴の検討 第 47 回日本肝臓学会総会 2011.6 東京

3) 上杉和寛、廣岡昌史、日浅陽一 肝細胞癌で高発現し抗アポトーシス作用する Wilms' tumor 1 第 15 回日本肝臓学会大会 2011.10 福岡

2. 論文発表

1) Tokumoto Y, Hiasa Y, et al. Ribavirin regulates hepatitis C virus replication through enhancing interferon-stimulated genes and interleukin 8. Journal of Infectious diseases, in press.

2) Yamanishi H, Hiasa Y, et al. Regulatory Dendritic Cells Pulsed with Carbonic Anhydrase I Protect Mice from Colitis Induced by CD4+CD25- T Cells. Journal of Immunology Epub ahead of print.

3) Hirooka M, Hiasa Y, et al. Splenic Elasticity Measured with Real-Time Tissue Elastography Is a Marker of Portal Hypertension. Radiology 2011;261:960-968.

4) Konishi I, Hiasa Y, et al. Aerobic exercise improves insulin resistance and decreases body fat and serum levels of leptin in patients with hepatitis C virus. *Hepatology Research* 2011;41:928-935.

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

ALT持続正常1b型HCVキャリアーの病態とCore領域のアミノ酸置換に関する検討に関する研究

研究分担者 岡上 武 大阪府済生会吹田病院院長
共同研究者 島 俊英 大阪府済生会吹田病院消化器肝臓病センター
関 耕次郎 大阪府済生会吹田病院消化器肝臓病センター

研究要旨

背景:C型肝炎ウイルス(HCV)持続感染者の5-10%は肝機能持続正常のキャリア(HCV carrier with PNALT:以下PNALTと略す)と言われており、PNALTの大部分は極めて予後良好であるがフォロー中に肝機能異常を呈するようになる例(症候性慢性肝炎:以下慢性肝炎と略す)もある。2005年にPNALTの臨床病理学的特徴を報告したが(J Hepatol 2005)、PNALTでは当然のことながら炎症や線維化が見られない例やその程度が軽度(F1A1)の例が多く、慢性肝炎(CH)では高頻度にみられる脂肪蓄積や鉄蓄積の頻度も有意に低かった。最近C型肝炎への抗ウイルス療法の効果予測因子として宿主側因子のIL28 β のSNPが、またウイルス側因子のHCVコア蛋白70番のアミノ酸置換の有無が重要であることが明らかになっている。そしてHCVコアの70番目のアミノ酸はC型肝炎の病態の特徴であるインスリン抵抗性や肝発癌にも関与しているとの報告もあり、またHCV core aa 70番のアミノ酸置換の有無はIL28 β のSNPに関連していることが示唆されている。

研究の目的:PNALT(ALT 30IU/L以下が一年以上持続するHCV carrierと定義)におけるcore領域のアミノ酸置換やIL28 β のSNPがALT持続正常、インスリン抵抗性、肝臓への脂肪蓄積に関与しているか否かを明らかにすることとした。

対象と方法:肝生検で診断した1b高ウイルス量のPNALT 49例(男性12例、平均年齢62歳、女性37例、平均年齢56歳)、慢性肝炎142例(男性55例、平均年齢56歳、女性87例、平均年齢62歳)。

成績:PNALT vs CHではBMIはCHで有意に高く(21.1 vs 23.3), HOMA-IRもCHで有意に高かった(1.2 vs 2.1)。core aa 70 (w/m)の分布はPNALTで93%/7%, CHで61%/39%であり、PNALTでwild typeを示す例が有意に高頻度であった($p < 0.001$)が、core aa 91, IL28 β のアミノ酸置換やSNPの分布にはPNALTとCHの間に有意差はなかった。肝組織における脂肪蓄積の比較では、脂肪蓄積5%未満 vs 5%以上の頻度は、PNALTでは89% vs 11%, CHでは44% vs 58%で、PNALTに比してCHで有意に脂肪蓄積の頻度が高かった。次にALTの持続正常に寄与する因子を多変量解析すると、血清フェリチン低値($p = 0.0015$, OR=1.015), core aa 70がwild ($p = 0.019$, OR=18.193),脂肪蓄積が無い($p = 0.031$, OR=6.371)ことがALT持続正常に寄与していた。

次にHCV carrier(PNALT例とCH例を合わせて解析)における脂肪蓄積について検討した。対象は男性59例、女性61例で男女間にcore aa 70,91のアミノ酸置換の有無、IL28 β のSNP,脂肪蓄積の有無に有意差はなかった。そこで脂肪蓄積5%未満 vs 5%以上例で種々の因子を比較検討した。単変量解析ではBMI: 21.6 vs 24.0, ALT: 28 IU/L vs 67 IU/L, GGT: 22 IU/L vs 44 IU/L, HOMA-IR: 1.4 vs 2.3, ferritin: 75 ng/ml vs 159 ng/ml, core aa 70(w/m): (80%/20%) vs (57%/43%), IL28 β (major/minor): (75%/25%) vs (51% vs 49%)に有意差が見られたが、多変量解析ではIL28 β のみが脂肪蓄積に関与する因子として残った($p = 0.043$, OR=3.523)。

結論:HCV持続感染者におけるALT持続正常には、HCV core aa 70がwildで肝臓に脂肪蓄積がないことが独立した因子であり、また血清フェリチン低値も関与していた。また、IL28 β がmajor allele例ではがminor allele例に比して、肝臓への脂肪蓄積が有意に軽度であった。

A. 研究目的

C型肝炎患者における肝機能持続正常(ALT 30IU/L以下が一年以上持続する HCV carrier: HCV carrier with PNALTと定義, 以下 PNALTと略す)における HCV core領域のアミノ酸置換や宿主遺伝子 IL28 β の SNPが ALT 持続正常、肝臓への脂肪蓄積に関与しているか否かを明らかにすることとした。

B. 研究方法

対象は大阪府済生会吹田病院で 2007 年 4 月から 2010 年 12 月までに肝生検を施行した 1b 高ウイルス量の PNALT 49 例(男性 12 例、平均年齢 62 歳、女性 37 例、平均年齢 56 歳)(表 1)、慢性肝炎 142 例(男性 55 例、平均年齢 56 歳、女性 87 例、平均年齢 62 歳)である(表 2)。BMI、血液生化学所見、HOMA-IR、HCV RNA 量、肝組織所見、HCV core aa 70, 91 のアミノ酸置換の有無、IL28 β の SNP 解析を行った。

C. 研究結果

PNALT と慢性肝炎例の種々の解析結果はそれぞれ表 1, 表 2 に示すごとくで、PNALT は女性例が圧倒的に多く、男女間では GGT, T-Chol, ferritin 値と HCV core aa 70 アミノ酸置換の有無、IL28 β の SNP に有意差があった。一方慢性肝炎では、年齢、GGT、血小板数(PLT), ferritin 値、肝組織の炎症の程度に有意差を認められた。

次に肝機能持続正常に寄与する因子を解析するために、PNALT と慢性肝炎例を比較検討した。表 3 に示すように、PNALT は女性に多く、BMI, ALT, GGT, T-Chol, PLT, ferritin, HOMA-IR 値, HCV core aa 70 のアミノ酸置換の有無、脂肪蓄積の頻度、炎症、線維化の程度に有意差を認めた。それらの因子を多変量解析すると ALT の持続正常には血清フェリチン低値、HCV core aa 70 にアミノ酸置換がないこと(野生型であること)と肝組織に脂肪蓄積がないことが重要で、特に HCV core aa 70 が野生型であることが極めて重要であった($p=0.019$, OR=18.193)(表 4)。

次に脂肪蓄積に寄与する因子を解析した。対象は表 5 に示すように、男性 67 例、女性 124 例で、年齢、GGT, T-Chol にのみ男女間に有意差を認めた。脂肪蓄

積 5%未満と 5%以上の 2 群に分けて比較検討した。2 群の症例の内訳は表 6 に示すごとくで、BMI, ALT, GGT, HOMA-IR, ferritin, HCV core aa 70 のアミノ酸置換の有無、IL28 β の SNP に有意差を認め、多変量解析では IL28 β が minor allele であることが脂肪蓄積に寄与する因子として残った(表 7)。

D. 考察

HCV 持続感染者の一部に肝機能持続正常者(PNALT)が存在するが、このような例は女性に多く、非肥満、血清フェリチン低値で脂肪肝を伴わないことが多く、PNALT 例では HCV core aa 70 にアミノ酸置換が無い例が多く、また脂肪蓄積には IL28 β が minor allele であることが関与していた。すなわち、PNALT の成立にはウイルス側因子とともに宿主側因子が関与していた。

E. 結論

HCV core aa 70 が野生型で肝臓に脂肪蓄積がないことが HCV 持続感染者における肝機能持続正常に深く関与し、血清フェリチン低値も重要であった。IL28 β が major allele の例では minor allele 例に比して脂肪蓄積の頻度が有意に低かった。

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) Okanoue T, et al. Telaprevir in combination with peginterferon alfa 2b and ribavirin therapy for genotype 1 chronic HCV patients: phase 3 study in Japan. 63th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). San Francisco, USA, 2011 Nov 7

2) Tsubouchi H, et al. NA808, a first-class serine palmitoyl transferase inhibitor, demonstrates antiviral activity in Japanese patients with chronic hepatitis C virus infection. AASLD. San Francisco, USA, 2011 Nov 7;

3) Yokomizo C, et al. High expression of P300 in HCC is associated with EMT-like phenotypic change and cyclin D1/beta-catenin dependent growth of HCC cells which may underline poor prognosis of the patients. AASLD. San Francisco, USA.

2011 Nov 7

2. 論文発表

(1) Itoh Y, Nishimura T, Hashimoto H, Yamaguchi K, Niimi T, Yokomizo T, Fujii H, Minami M, Yasui K, Mitsuyoshi H, Okanoue T, Takehara T, Hiasa Y, Onji M, Yoshikawa T. Simple formula to predict response to peginterferon alpha 2b and ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C patients with high viral loads. Hepatol Res 41: 126-132, 2011

(2) Chayama K, Hayes CN, Yoshioka K, Moriwaki H, Okanoue T, Sakisaka S, Takehara T, Oketani M, Toyoto J, Izumi N, Hiasa Y, Matsumoto A, Nomura H, Seike H, 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 46: 545-555, 2011

(3) Yokomizo C, Yamaguchi K, Itoh Y, Nishimura T, Umemura A, Minami M, Yasui K, Mitsuyoshi H, Fujii H, Tochiki N, Nakajima T, Okanoue T, Yoshikawa T. High expression of p300 in HCC predicts shortened overall survival in association with enhanced epithelial mesenchymal transition of HCC cells. Cancer Lett 310: 140-147, 2011

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. PNALT患者背景(1) (median[range])

	male (n=12)	female (n=37)
age (y.o)	62[27-75]	56[38-75]
BMI (kg/m ²)	22.3[17.6-26.1]	20.8[16.6-26.7]
AST (IU/l)	23[16-29]	25[15-38]
ALT (IU/l)	26[16-28]	23[12-29]
γGTP (IU/l)	39[19-69]	17[7-50]
T-cho (mg/dl)	135[101-208]	193[140-276]
PLT (10 ⁴ /μl)	16.9[12.2-26.1]	18.4[8.9-29.0]
ferritin (ng/ml)	112[10-198]	48[3-145]
HOMA-IR	1.2[0.8-3.0]	1.1[0.2-3.0]
HCV-RNA (logU/ml)	6.3[5.1-6.9]	6.5[5.0-7.2]
core aa 70 (wild/mutant)	4(67%) / 2(33%)	24(100%) / 0(0%)
core aa 91 (wild/mutant)	2(100%) / 0(0%)	13(81%) / 3(19%)
IL28B (major/minor)	2(29%) / 5(71%)	21(84%) / 4(16%)
the degree of steatosis (fat; <5% / ≥5%)	10(91%) / 1(9%)	30(88%) / 4(12%)
fibrosis (FO-2/3-4)	11(100%) / 0(0%)	34(100%) / 0(0%)
activity (AO-1/2-3)	9(82%) / 2(18%)	26(76%) / 8(24%)

表2. CHC患者背景(1) (median[range])

	male (n=55)	female (n=87)
age (y.o)	56[31-78]	62[28-77]
BMI (kg/m ²)	24.0[18.2-29.8]	22.8[17.5-39.8]
AST (IU/l)	40[7-144]	54[21-144]
ALT (IU/l)	62[19-381]	52[22-248]
γGTP (IU/l)	48[12-540]	32[10-149]
T-cho (mg/dl)	164[108-254]	175[116-249]
PLT (10 ⁴ /μl)	14.7[9.0-25.0]	13.9[4.3-25.6]
ferritin (ng/ml)	171[10-1161]	111[5-631]
HOMA-IR	2.4[0.6-8.9]	2.0[0.3-8.7]
HCV-RNA (logU/ml)	6.4[4.2-7.6]	6.4[3.7-7.2]
core aa 70 (wild/mutant)	27(63%) / 16(37%)	42(60%) / 28(40%)
core aa 91 (wild/mutant)	23(68%) / 11(32%)	42(84%) / 8(16%)
IL28B (major/minor)	33(65%) / 18(35%)	52(63%) / 30(37%)
the degree of steatosis (fat; <5% / ≥5%)	15(38%) / 24(62%)	30(47%) / 34(53%)
fibrosis (FO-2/3-4)	34(77%) / 10(23%)	45(65%) / 24(35%)
activity (AO-1/2-3)	22(50%) / 22(50%)	18(73%) / 40(27%)

表3. PNALTと慢性肝炎の比較 (median[range])

	PNALT (n=49)	CHC (n=142)	P
sex (male/female)	12(24%) / 37(76%)	55(39%) / 87(61%)	0.072
age (y.o)	58[27-75]	60[28-78]	0.129
BMI (kg/m ²)	21.2[16.6-26.7]	23.3[17.5-39.8]	<0.001
ALT (IU/l)	23[12-29]	54[19-381]	<0.001
γGTP (IU/l)	19[7-69]	40[10-540]	<0.001
T-cho (mg/dl)	190[101-276]	172[108-254]	0.039
PLT (10 ⁴ /μl)	17.8[8.9-29.0]	14.3[4.3-25.6]	<0.001
ferritin (ng/ml)	54[3-198]	143[5-1161]	<0.001
HOMA-IR	1.1[0.2-3.0]	2.1[0.3-8.9]	<0.001
core aa 70 (w/m)	28(93%) / 2(7%)	69(61%) / 44(39%)	<0.001
core aa 91 (w/m)	15(83%) / 3(17%)	65(77%) / 19(23%)	0.577
IL28B (major/minor)	23(72%) / 9(28%)	85(64%) / 48(36%)	0.395
the degree of steatosis (fat; <5% / ≥5%)	40(89%) / 5(11%)	45(44%) / 58(56%)	<0.001
fibrosis (FO-2/3-4)	45(100%) / 0(0%)	79(70%) / 34(30%)	<0.001
activity (AO-1/2-3)	35(78%) / 10(22%)	40(36%) / 72(64%)	<0.001

表4.

ALTの持続正常に寄与する因子の検討

	P	OR	95% CI
sex	0.372	2.157	0.399-11.655
BMI	0.967	0.994	0.755-1.310
serum ferritin	0.015	1.015	1.003-1.027
HOMA-IR	0.465	1.333	0.616-2.885
HCV core aa 70	0.019	18.193	1.618-204.615
the degree of steatosis	0.031	6.371	1.187-34.197

表7.

脂肪蓄積に寄与する因子の検討

	P	OR	95% CI
BMI	0.621	1.058	0.847-1.320
ALT	0.248	1.010	0.993-1.028
HOMA-IR	0.406	1.255	0.734-2.146
ferritin	0.088	1.006	0.999-1.013
HCV core aa 70	0.615	1.374	0.398-4.742
IL28B	0.043	3.523	1.261-17.907

表5.

患者背景(1)

(median[range])

	male (n=67)	female (n=124)
age (y.o)	59[27-78]	61[28-77]
BMI (kg/m ²)	23.4[17.5-29.8]	22.1[16.6-39.8]
AST (IU/l)	34[7-144]	37[15-144]
ALT (IU/l)	42[16-381]	37[12-248]
γGTP (IU/l)	46[12-540]	27[7-149]
T-cho (mg/dl)	161[101-254]	180[116-276]
PLT (10 ⁴ /μl)	14.8[9-22.4]	15.8[15-144]
ferritin (ng/ml)	166[10-1161]	77[3-631]
HOMA-IR	2.1[0.6-8.9]	1.8[0.2-8.5]
HCV-RNA (logIU/ml)	6.3[4.2-7.6]	6.4[3.7-7.2]
core aa 70 (wild/mutant)	31(63%) / 18(37%)	66(70%) / 28(30%)
core aa 91 (wild/mutant)	25(69%) / 11(31%)	55(83%) / 11(17%)
IL28B (major/minor)	35(60%) / 23(40%)	73(68%) / 34(32%)
the degree of steatosis (fat; <5% / ≥5%)	25(50%) / 25(50%)	60(61%) / 38(39%)
fibrosis (F0-2/3-4)	45(82%) / 10(28%)	79(77%) / 24(23%)
activity (A0-1/2-3)	31(56%) / 24(44%)	44(43%) / 58(57%)

表6.

患者背景(2)

	male (n=67)	female (n=124)
core aa 70 (wild/mutant)	31(63%) / 18(37%)	66(70%) / 28(30%)
core aa 91 (wild/mutant)	25(69%) / 11(31%)	55(83%) / 11(17%)
IL28B (major/minor)	35(60%) / 23(40%)	73(68%) / 34(32%)
the degree of steatosis (fat; <5% / ≥5%)	25(50%) / 25(50%)	60(61%) / 38(39%)
fibrosis (F0-2/3-4)	45(82%) / 10(28%)	79(77%) / 24(23%)
activity (A0-1/2-3)	31(56%) / 24(44%)	44(43%) / 58(57%)

表1. 平成23年のC型慢性肝炎に対する初回治療ガイドライン

	Genotype 1	Genotype 2
高ウイルス量 5.0 Log IU/mL 300 fmol/L 1 Meq/mL 以上	Peg-IFN α 2b : Peg-Intron + Ribavirin : Rebeto (48-72週間) Peg-IFN α 2a : Pegasys + Ribavirin : Copegus (48-72週間) IFN β : Feron + Ribavirin : Rebeto (48-72週間)	Peg-IFN α 2b : Peg-Intron + Ribavirin : Rebeto (24週間) IFN β : Feron + Ribavirin : Rebeto (24週間)
低ウイルス量 5.0 Log IU/mL 300 fmol/L 1 Meq/mL未満	IFN (24週間) Peg-IFN α 2a : Pegasys (24-48週間)	IFN (8-24週間) Peg-IFN α 2a : Pegasys (24-48週間)

Genotype 1・高ウイルス量症例にRibavirin併用療法を行う場合は、より高い治療効果が得られるプロテアーゼ阻害剤の使用可能な時期を考慮し、また治療効果に寄与するホスト側の因子である*IL28B*の遺伝子およびウイルス側の因子である遺伝子変異(ISDR、Core領域aa70)などを参考にして、治療の開始を決定するのが望ましい。

表2. 平成23年のC型慢性肝炎に対する初回治療ガイドライン
(プロテアーゼ阻害剤使用可能後のガイドライン)

	Genotype 1	Genotype 2
高ウイルス量 5.0 Log IU/mL 300 fmol/L 1 Meq/mL以上	Peg-IFN α 2b : Peg-Intron + Ribavirin : Rebeto + Telaprevir (24週間)	Peg-IFN α 2b : Peg-Intron + Ribavirin : Rebeto (24週間) IFN β : Feron + Ribavirin : Rebeto (24週間)
低ウイルス量 5.0 Log IU/mL 300 fmol/L 1 Meq/mL未満	IFN (24週間) Peg-IFN α 2a : Pegasys (24-48週間)	IFN (8-24週間) Peg-IFN α 2a : Pegasys (24-48週間)

- ★ Hb値を考慮して、プロテアーゼ阻害剤を含む3者併用療法を行うことが困難と予測される場合は、IFN+ Ribavirin併用療法を選択する。
- ★ Genotype 1, 2ともにうつ病・うつ状態などの副作用の出現が予測される症例に対してはIFN β + Ribavirin併用療法を選択する。

表3. 平成23年のC型慢性肝炎に対する再治療ガイドライン

- A) 新規に治療目的の再治療を行う症例に対する治療法の選択**
- Genotype 1・高ウイルス量症例に対するIFN+ Ribavirin併用療法再燃例への再治療はPeg-IFN+ Ribavirin+ プロテアーゼ阻害剤併用療法(治療期間24週間)の治療効果が極めて高い(治療率88%)ことから、プロテアーゼ阻害剤が使用可能になるまでは、発症リスクの高い例(50歳以上F2以上の症例)は病期の進展を考慮し、発症予防を目的にALT値とAFP値の正常化を目指すIFN単独長期投与を選択することが望ましい。
 - 低ウイルス量症例や2型高ウイルス量症例でIFN再燃・無効例への再投与はIFN+ Ribavirin併用療法24~36週間投与が再治療の基本である。
 - うつ病・うつ状態などIFN α が不適応および、PEG-IFN α + Ribavirin併用療法でうつ状態が出現した症例に対してはIFN β + Ribavirin併用療法を選択する。
- B) 現在治療目的の再治療中の患者に対する治療法の選択**
- 初回1型高ウイルス量症例でIFN再燃・無効例への再投与はIFN (α または β) + Ribavirin併用療法48~72週間投与が、治療の基本である。
 - 初回1型高ウイルス量症例でIFN+ Ribavirin併用療法再燃(治療後36週までにHCV-RNA陰性化例)への再投与はIFN+ Ribavirin併用療法72週間投与が望ましい。
- C) 進展予防(発症予防)の治療**
- Ribavirin併用療法の非適応例あるいはRibavirin併用療法で無反応例の中で発症リスクの高い症例(50歳以上F2以上)では、IFNの副作用の発症を考慮し、発症予防目的のIFNの長期投与が選択肢となる。なお、IFN- α 製剤は300万単位/日を3回/週を原則とし、在宅自己注射(Peg製剤を除く)も可能である。またPeg-IFN α 2a製剤を使用する場合は90 μ g/日を1回/1~2週を使用する。なお、IFN製剤投与開始6か月以内にALT値 and/or AFP値の有意な低下が見られない場合は発症抑制効果が期待出来ないため治療を中止する。
 - IFN非適応例およびIFNでALT値、AFP値の改善が得られない症例は肝臓薬(SNNC、UDCA)、減血療法を単独あるいは組み合わせて治療する。
 - 進展予防(発症予防)を目指した治療のALT目標値はstage 1 (F1)では、持続的に基準値の1.5倍以下にcontrolする。stage 2-3 (F2~F3)では、極力正常値ALT \leq 30IU/Lにcontrolする。

表4. 1型高ウイルス量症例でIFN+ Ribavirin併用療法を開始にあたってのホスト側の因子 (*IL28B*) およびウイルス側の因子 (ISDR及びCore aa70) からみた治療適応

- IL28B*の遺伝子rs8099917がTTで、ISDRがMutant(\geq 2)、Core aa70がWildの症例は、IFN+ Ribavirin併用療法での治療効果が高いことからプロテアーゼ阻害剤の使用可能な時期まで治療を待つことなく早期にIFN+ Ribavirin併用療法を開始することも選択肢のひとつである。
- IL28B*の遺伝子rs8099917がTC、GGで、ISDRがWild(0-1)、Core aa70がMutantの症例は、IFN+ Ribavirin併用療法での治療効果が低いことからプロテアーゼ阻害剤の使用可能な時期まで治療を待つことも選択肢のひとつである。

表5. 肝炎の治療および・発症抑制を目指した血清ALT正常C型慢性肝炎例への抗ウイルス治療ガイドライン

血小板数 ALT値	$\geq 15 \times 10^4 / \mu L$	$< 15 \times 10^4 / \mu L$
$\leq 30IU/L$	2-4ヵ月毎に血清ALT値フォロー。ALT異常を呈した時点で完治の可能性、発症リスクを評価し、抗ウイルス療法を考慮。	線維化進展例がかなり存在する。可能なら肝生検を施行しF2以上の例に抗ウイルス療法を考慮。肝生検非施行例は2-4ヵ月毎に血清ALT値を測定し、異常を示した時点で抗ウイルス療法を考慮。
31-40IU/L	65歳以下は抗ウイルス療法を考慮。	慢性肝炎治療に準じる。※

※遺伝子型、ウイルス量、年齢などを考慮し、通常のC型慢性肝炎治療に準じて、治療法を選択する。

表6. 平成23年のC型慢性肝炎に対する治療の中止基準

- Peg-IFN α + Ribavirin併用療法を行っても投与開始12週後にHCV RNA量が前値の1/100以下に低下がなくHCV-RNAが陽性(Real time PCR法)で、36週までに陰性化がなく、かつALT・ASTが正常化しない症例は36週で治療目的の治療は中止する。
- 1型高ウイルス量症例へのPeg-IFN α + Ribavirin併用療法で、投与開始36週後にHCV RNAが陽性(Real time PCR法)でもALT値が正常化例は、48週まで継続治療を行い、治療終了後の長期ALT値正常化維持を目指す。
- 進展予防(発症予防)の治療で、IFN製剤投与開始6か月以内にALT値 and/or AFP値の有意な低下が見られない場合は発症抑制効果が期待出来ないため治療を中止する。

表7. 平成23年のC型慢性肝炎の治療(ガイドラインの補足)

- 1型高ウイルス量症例へのPeg-IFN α + Ribavirin併用療法の投与期間延長(72週間投与)の基準: 投与開始12週後にHCV RNA量が前値の1/100以下に低下するが、HCV RNAが陽性(Real time PCR法)で、36週までに陰性化した症例ではプラス24週(トータル72週間)に投与期間を延長する。(尚、50歳以上、血小板が13万以下の症例、または肝生検でF3の症例では投与開始9週目以降にHCV RNAが陰性化した症例では72週間投与も考慮する。)
- Peg-IFN α + Ribavirin 非適応例・無反応例に対するIFN単独長期療法は、最初の2週間は通常量の連日または週3回間歇投与とし、最大8週間でHCV RNAが陰性化しない症例は、発症リスクを考慮して通常量の半分を長期投与する。またはPeg-IFN α 2a製剤を使用する場合は、90 μ g/日を1回/1~2週使用する。

表8. 35歳未満B型慢性肝炎の治療ガイドライン

治療対象は、ALT \geq 31IU/Lで:

HBe抗原陽性例は、HBV DNA量 5 log copies/mL以上
HBe抗原陰性例は、4 log copies/mL以上
肝硬変では、3 log copies/mL以上

HBV DNA量 HBe抗原	≥ 7 log copies/mL	< 7 log copies/mL
e抗原陽性	① IFN長期投与(24~48週) ② Entecavir	① IFN長期投与(24~48週) ② Entecavir
e抗原陰性	① Sequential療法 (Entecavir + IFN 連続療法) ② Entecavir	① 経過観察またはEntecavir ② IFN長期投与(24週)
血小板15万未満またはF2以上の進行例には最初からEntecavir		

表9. 35歳以上B型慢性肝炎の治療ガイドライン

治療対象は、ALT \geq 3IU/Lで：

HBe抗原陽性例は、HBV DNA量 5 log copies/mL以上、
HBe抗原陰性例は、4 log copies/mL以上
肝硬変では、3 log copies/mL以上

HBe抗原	HBV DNA量	
	\geq 7 log copies/mL	< 7 log copies/mL
e抗原陽性	① Entecavir ② Sequential療法 (Entecavir + IFN 連続療法)	① Entecavir ② IFN長期投与(24~48週)
e抗原陰性	Entecavir	① Entecavir ② IFN長期投与(24~48週)

表10. Lamivudine投与中B型慢性肝炎患者に対する
核酸アナログ製剤治療ガイドライン

HBV DNA量	治療法
< 2.1 log copies/mL 持続	原則Entecavir 0.5mg/日 に切り替え
\geq 2.1 log copies/mL	* VBT なし Entecavir 0.5mg/日に 切り替え可
	* VBT あり Adefovir 10mg/日併用

* VBT: viral breakthrough

表11. B型慢性肝炎の治療（ガイドラインの補足）

- B型肝炎は、HBV genotypeにより治療効果が異なるため、genotypeを測定して治療法を決定する。特に、genotype A, Bは、35歳以上でもIFNの効果が高率であることから、可能な限りIFNを第一選択することが望ましい。
- IFNの投与期間は、24週間を原則とするが、有効症例(HBV DNA低下、ALT値正常化)は、48週間投与が望ましい。
- IFN在宅自己注射可能な症例は、QOLを考慮して在宅自己注射を推奨する。
- Lamivudine及び Entecavir耐性株に対しては、Lamivudine+Adefovir併用療法を基本とする。しかし、Lamivudine+Adefovir併用療法を行って3年以上経過してもHBV DNAが4 log copies/mL以上でかつALT値 \geq 3IU/Lの症例はEntecavir+Adefovir併用療法も選択肢のひとつとなる。
- Lamivudine、Adefovir、Entecavirのいずれの薬剤にも耐性株が出現した症例に対しては、Entecavir+Adefovir併用療法あるいはTenofovirも選択肢のひとつとなる。
- Sequential療法を行う場合は、核酸アナログ治療でHBe抗原が陰性化(または陰性)症例で核酸アナログを十分投与し、HBV DNAの陰性化期間が1年以上経過し、Core関連抗原(HBcrAg)も4.0 Log U/mL以下の症例に行うのが望ましい。
- Adefovir併用療法を長期に行い、腎機能が悪化する症例では、Adefovirは隔日投与にする。
- 抗ウイルス療法は、ALT値が \geq 3IU/Lの場合に考慮する。35歳以上でF2以上の進行例にはALT値 <3IU/Lでもウイルス増殖が持続する場合は抗ウイルス療法の対象となる。しかし、高齢者やHBe抗原陰性例、抗ウイルス剤の投与が難しい例では肝臓療法(SNMC、UDCA等)で経過をみることも可能である。
- Lamivudine投与中でHBV DNAが陰性化が持続する場合は原則 Entecavirに切り替える。またEntecavirに切り替える際はLamivudineの耐性変異がないことを確認することが望ましい。
- HIV合併症例は、Entecavirの使用によりHIV耐性ウイルスが出現する可能性があるため Entecavirは原則として使用すべきでない。従ってEntecavir開始時にインフォームドコンセントを取得した上でHIV抗体の測定を行うことが望ましい。

表12. 免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策

- HBV DNA量が低値・ALT値が正常であっても免疫抑制剤や抗がん剤投与時にはHBV DNA量が上昇して高度の肝障害をきたすことがあるため注意が必要である。
 - HBe抗原が陰性例でも、HBe抗体、あるいはHBe抗体陽性例に免疫抑制剤や抗がん剤投与中、あるいは投与終了後にHBV DNA量が上昇して高度の肝障害をきたすことがあるため経時的にHBV DNA量を測定し、HBV DNAが陽性化した症例には核酸アナログ製剤を早期に使用することが望ましい。
- (難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班の免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドラインの基準と同様とする。)

表13. ウイルス性肝硬変に対する包括的治療のガイドライン

A) 治療目的のIFN療法(C型肝炎)

- 1b・高ウイルス量以外のC型代償性肝硬変に対するIFN療法(IFN β : PeginonあるいはIFN α : Sumiferon)は治療率も比較的高いことから年齢、血小板値と副作用の素因などを考慮して積極的に行うのが望ましい。
2. 1b・高ウイルス量のC型代償性肝硬変に対するIFN療法(IFN α : Sumiferon)は治療率も低いことからIL28Bの遺伝子や ISDR、Core領域 aa70 の遺伝子変異を測定し、条件の良い症例を選択すべきである。

B) 治療目的の核酸アナログ治療(B型肝炎)

1. B型肝炎変(代償性・非代償性)症例への初回核酸アナログ製剤はEntecavirを、一方、LamivudineまたはEntecavir耐性株出現例ではLamivudine + Adefovir併用療法とする。
2. B型肝炎変(代償性・非代償性)症例への核酸アナログ投与は、HBe抗原が陰性化するまで長期投与とする。

C) 発癌予防および肝臓再発予防目的の治療

1. C型肝炎変で治療目的IFN無効例にはALT、AFP値の低下を目指しIFN(IFN α : Sumiferon)の少量長期療法を行う。または、ALT値改善を目指しSNMC、UDCAなどの肝臓療法を行う。
2. B型肝炎変および肝細胞癌治療後の症例でHBV DNA 4 log copies/mL以上を示す例では核酸アナログ製剤でHBV DNAを低下させ再発予防を目指す。
3. 肝硬変症例には血清アルブミン値を考慮して分岐鎖アミノ酸製剤(Livact)を使用して発癌抑制を目指す。

表14. 肝硬変に対するガイドライン補足

1. C型代償性肝硬変に対するIFNの投与法は、初回投与量 6MU/日のできる限り連日投与(2~4週間)し、HCV RNAが12週以内に陰性化した症例はその後慢性肝炎同様48週間~72週間の長期投与が望ましい。
2. C型代償性肝硬変に対するIFN投与で12週以上経過してもHCV RNAが陰性化しない症例は、発癌予防を目指した3MU/日、週3回投与の長期投与を行うが投与開始6か月以内にALT値やAFP値の有意な低下が見られない場合は発癌抑制効果が期待できないため、治療を中止する。
3. 血小板値が5万以下のC型肝炎変では、IFNの治療効果を十分検討の上、脾摘手術あるいは脾動脈塞栓術を施行後IFN治療を行うことが可能である。

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型肝炎からの肝発癌リスク因子の解析に関する研究

研究分担者 泉 並木 武蔵野赤十字病院副院長 消化器科部長

研究要旨; C型慢性肝炎や肝硬変から高率に肝発癌がみられるが、このリスク因子を解析し発癌防止につなげていくことが重要な課題である。当院でインターフェロン治療を行なった症例を長期経過観察し、肝発癌に関わるリスク因子を解析した。肝生検によって診断されたC型慢性肝炎と肝硬変2,168例を集計した。インターフェロン単独で治療を受けた例が758例、インターフェロンとリバビリン併用による24週間の治療が275例、ペグインターフェロン単独で治療されたのが307例、ペグインターフェロンとリバビリン併用治療を受けた例が828例である。ウイルス排除(sustained virological response; SVR)が得られたのが1,049例、得られなかったのが1,119例であり、0.51~19.0年(平均6.9年)経過観察を行なった。肝発癌はSVRから30例、非SVRから137例みられた。肝発癌に関与する因子について単変量解析を行ったところ、年齢が10歳きざみに高齢になること、肝生検の炎症活動性と線維化、ALT値が40 IU/L以上、血清AFP値が6.5 ng/mL以上であることが有意であり、HCVRNAは有意とはならなかった。ALTとAFPについて、肝発癌に関与する値のROC曲線で解析すると、ALT 40 IU/L以上とAFP 6.5 ng/mL以上が最も判別効率が高かった。インターフェロンを行ってALT値が40 IU/L未満に低下した例では、肝発癌率が低下していたが、正常値からインターフェロン治療後に40 IU/L以上に上昇した例では、もともと40 IU/L以上の例と同じ程度に肝発癌がみられた。また、AFP値がインターフェロン治療後に6.5 ng/mL未満に低下した場合には、肝発癌が低かったが、インターフェロン後に6.5 ng/mL以上に上昇した場合には、肝発癌率が高かった。宿主遺伝子のIL28BのSNP別に、肝発癌率を解析すると、SVRが得られた例ではIL28Bがminor alleleであっても肝発癌率が低かったが、SVRが得られなかった場合には、major alleleの症例よりもminor alleleの方が肝発癌率が高かった。以上より、インターフェロン投与によってSVRが得られなかった場合には、ALTを40 IU/L未満とAFPを6.5 ng/mL未満に低下させることが、肝発癌防止につながると考えられた。

研究協力者

武蔵野赤十字病院消化器科

朝比奈靖浩部長、黒崎雅之部長

型肝炎に感染している場合に効果的な肝癌の予防策をたてるために、肝発癌リスクを明らかにすることを目的とした。

A. 研究目的

C型慢性肝炎や肝硬変では、高率に肝癌を発症し、肝癌で死亡する患者数が年間3万人に達する。肝癌になりやすいリスク因子を解析し、適切に対処法をたて、肝癌による死亡者数を減少させる対策が重要な課題となっている。最近、ペグインターフェロンとリバビリン併用療法の効果に宿主遺伝子のIL28Bの遺伝子多型(SNP)が重要であることが報告された。しかし、IL28BとSNPと肝発癌の関連については十分あきらかにされていない。また、抗ウイルス薬の開発がめざましく、難治例であってもウイルス排除が得られる率が向上している。そこで、C

B. 研究方法

1992年より当院でC型慢性肝炎や肝硬変で、肝生検を受け、インターフェロンを中心とした抗ウイルス療法を受け、経過観察が行えている2,168例を対象とした。インターフェロン単独で治療を受けた例が758例、インターフェロンとリバビリン併用による24週間の治療が275例、ペグインターフェロン単独で治療されたのが307例、ペグインターフェロンとリバビリン併用治療を受けた例が828例である。治療後にウイルス排除(Sustained virological response; SVR)が得られた例が、1,049例(48.3%)であり、

SVR が得られなかった 1,119 例(51.6%)であった。これらの症例を、0.51 年から 19.0 年、平均 6.9 年経過観察し、肝発癌に関与する因子を解析した。SVR の 1,049 例中 30 例(2.9%)に肝発癌がみられた。一方、非 SVR の 1,119 例のうち、肝発癌がみられたのは 137 例(12.2%)であった。この症例について、性、年齢、BMI、肝生検の活動性(activity; A1, A2, A3)と線維化(F1, F2, F3 F4)、治療前 ALT 値、 γ GTP 値、AFP 値、C 型肝炎ウイルス(HCV)遺伝子型、HCVRNA 量について、肝発癌リスクとして解析した。これらを単変量で Kaplan-Meier 法で表示し Logrank test で検討した。また、有意な因子を解析するため、Cox 比例ハザードモデルによって多変量解析を行った。さらに、経過中の因子が重要と考えられるため、インターフェロン終了後の血中 ALT 値、AFP 値と HCVRNA 量について解析した。経過中の肝発癌を予測する目的で、ALT 値と AFP 値について、ROC 曲線を解析し、最も発癌を予測する確率が高い数値を求めた。

IL28B の遺伝子多型を rs8099917 について解析し、TT の例を major allele, TG または GG を minor allele として肝発癌との関連を解析した。

(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した(新 GCP に遵守)。既に医療保険が認められている治療法においても上記に準じて書面の同意書を得ている。

C. 研究結果

C 型慢性肝炎の肝発癌リスク因子

C 型慢性肝炎と肝硬変の症例では、単変量解析で年齢が 10 歳きざみで上昇すること、肝生検による炎症の活動性が A3 であることと肝線維化が F3/F4 に進展していることが有意な因子であった。多変量解析を行うと年齢が高齢であることと、肝線維化が進展していることが有意な因子として抽出された。さらに、経過観察中の因子を加えると、血清 ALT 値が、40 IU/L 以上であることと、AFP 値が 10 ng / mL 以上であることが独立で有意な因子として抽出された。

経過中の ALT 値と AFP 値の肝発癌を予測するのに重要なカットオフ値を解析すると、ALT 値が 40 IU/L 以上と AFP 値が 6.5 ng/mL 以上が ROC 曲線で最も有意であり、それぞれ negative predictive value が 0.967 と 0.963 と判別効率がよいことが判明した。経過中 ALT 値が 40 IU/L が持続した症例が肝発癌が低く、40 IU/L 以上が持続した例が肝発癌が高率にみられた。しかし、インターフェロン治療によって ALT 値が 40 IU/L 以上から 40 IU/L 未満に低下すると、もともと 40 IU/L 未満であった例と同程度に肝発癌率が低下したのに対し、ALT 値が 40 IU/L 未満であったのにインターフェロン治療後に 40 IU/L 以上に上昇すると、40 IU/L が持続した症例と同程度に肝発癌が高率にみられた。また、血清 AFP 値が 6.5 ng/mL が持続した症例では、肝発癌が低かったのに対して、6.5 ng/mL 以上が持続していた場合に肝発癌率が高かった。一方、AFP 値が 6.5 ng/mL 未満であった例がインターフェロン治療後に 6.5 ng/mL 以上に上昇した場合には、AFP 値が 6.5 ng/mL 以上が持続した症例と同じくらいに肝発癌が高率にみられたが、6.5 mg/mL 以上から 6.5 ng/mL 未満に低下した場合に肝発癌率が低下していた。

C 型慢性肝炎例で IL 28B の SNP と肝発癌率の関連

IL28B の SNP を解析できた症例について、肝発癌率との関連を解析した。IL 28B が TT の major allele の 574 例と minor allele の 199 例について、経過中の肝発癌率を解析した。10 年間の観察で、minor allele の例が、major allele の例に比較して有意に肝発癌が高率に認められた。そこで、SVR が得られたか否かを分けて解析した。SVR 381 例の中で、minor allele が 53 例みられたが、この症例では 1 例も経過中に肝発癌はみられなかった。しかし、major allele の 338 例では 5 年間で 4.1%に発癌がみられた。また、非 SVR 例では、IL 28B が major allele 236 例の経過観察を行い、5 年間で 8.6%の発癌率であったが、minor allele の 146 例では 5 年間に 12.1%と高率に発癌が認められた。非 SVR 例では、IL 28B が minor allele の例で、major allele に比較して有意に肝発癌が高率にみられた。

D. 考察

C型慢性肝炎と肝硬変では、SVRを得ることによって肝発癌率が低下することが認められている。今回の解析では、年齢が高齢になることと肝線維化が進展することが、肝発癌の有意な因子であり、従来の報告と合致する成績であった。さらに、経過中の因子を含めると、血中ALT値が40 IU/L以上になることと、AFP値が6.5 ng/mL以上の場合に肝発癌が高いことが認められた。インターフェロン治療によって、ALT値が40 IU/L未満になった場合やAFP値が6.5 ng/mL未満になった場合には、肝発癌が低下していたが、逆に正常であった例でも上昇した症例では、もともと高値であった例と同じくらいの肝発癌率になっていた。したがって、ALT値40 IU/LとAFP値6.5 ng/mLが肝発癌の予測に重要であることが確認された。また、ALT値とAFP値を低下させることが、肝発癌を防止するために重要であると考えられる。

IL28BのSNPと肝発癌の関連を解析したところ、全体ではIL28Bがminor alleleの例で肝癌が高率にみられた。しかし、minor alleleの例ではSVR率が低いことが関与している可能性があるため、SVRと非SVR例に分けて肝発癌を解析した。SVR例では、IL28Bがminor alleleの例での発癌がみられなかったが、これはminor alleleの症例は、肝線維化が軽度であり脂肪化が軽度であることや、若年者が多いという背景が関与していると考えられた。しかし、非SVR例に限ると、IL28Bがminor alleleの例のほうが肝発癌が高いという結果であった。これは、minor alleleの例ではインターフェロンが奏功しにくいことが関与していると思われるが、minor alleleであることが肝発癌に関与するか否かについてインターフェロンの影響を除いて詳細に解析する必要があると考えられた。

E. 結論

C型慢性肝炎と肝硬変症例で経過中に肝発癌するリスク因子を解析すると、年齢が高齢になることと肝線維化が進展することがリスク因子であった。さらに、経過中にALT値が40 IU/L以上とAFP値が6.5 ng/mL以上が高率に発癌する予測になると考えられた。IL28BのSNPと発癌を解析すると、非SVRの症例では、IL28Bのminor alleleの例の方が肝発癌率が高かった。

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) 中西裕之他：肝硬変も含めたC型肝炎の包括的ガイドラインの有用性の検討 第96回日本消化器病学会総会 パネルディスカッション6 新潟 2010.4
- 2) 泉並木、C型肝炎個別化医療のための宿主因子・ウイルス因子 第15回日本肝臓学会大会シンポジウム2 特別発言 東京 2011.
- 3) 泉並木、山田剛太郎、熊田博光. C型肝炎症例におけるPEG-IFN α 2a少量長期投与による肝発癌抑止効果の検討：全国多施設共同研究 第15回日本肝臓学会大会シンポジウム10. C型肝炎治療の新たな展開 S10-9 東京 2011.
- 4) 黒崎雅之、泉並木. C型肝炎個別化医療のための宿主因子・ウイルス因子 データマイニング解析に基づくC型肝炎の個別化医療 第15回日本肝臓学会大会シンポジウム2 東京 2011.

2. 論文発表

- (1) Asahina Y, Izumi N. et al. Association of gene expression involving innate immunity and genetic variation in IL28B with antiviral response. Hepatology 2011 in press.
- (2) Kuroski M, Izumi N., et al. Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphate gene and anemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. Antivir Ther 2011;16:685-94.
- (3) Izumi N. Asahina Y, Kuroski M. Predictors of virological response to a combination therapy with pegylated interferon plus ribavirin including virus and host factors. Hepat Res Treat 2010;2010:703602.

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。

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

DFPP 併用治療が免疫細胞に与える影響に関する研究

研究分担者 上野義之 国立大学法人山形大学医学部内科学第二講座 教授

研究要旨；

慢性 C 型肝炎のうち、ゲノタイプ 1 型高ウイル量のいわゆる難治性の症例に対しては、これまでの標準治療である PEG インターフェロンとリバビリンによる持続的なウイルス除去率は 40～55%程度にとどまっている。一方、この標準治療の効果を高めるために、治療導入早期に二重膜からなる濾過療法 (double filtration plasmapheresis、以下 DFPP) が使用されているが、その作用機序についてはまだ不明な点が多い。したがって、その治療効果改善に関わる機序を明らかにすることは、今後の難治例の治療効果を改善することにも貢献することが予想されるために、主に免疫学的機序についてその影響を検討した。12 人の DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法を行った患者で免疫学的パラメーターとウイルス、宿主因子との関係を検討した。IL28B の T/T アレルの 4 人の患者は全て早期のウイルス学的反応 (cEVR) を達成した。末梢血中の HCV コア抗原の量は、DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法を併用され EVR を達成した患者では、DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法を行い晩期ウイルス学的反応 (LVR) を達成した患者もしくは PEG インターフェロン・リバビリン療法で EVR を達成した患者より低値となっていた。

末梢血より産生されるインターフェロン γ (IFN γ) の量は徐々に増加した。一方 EVR 患者ではインターロイキン (IL) 10 の産生は徐々に低下した。DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法により EVR を達成した患者では HCV コアたんぱく結合 CD3 陽性 T リンパ球の頻度は急激に低下した。さらに、CD4 陽性および CD8 陽性の活性化 T 細胞、CD16-CD56 強陽性の NK 細胞の分布は DFPP 施行前後で有意に変化した。

以上より、HCV 抗原の急速な減少やリンパ球のプロファイルの変化は、DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン併用療法における免疫学的なパラメーターの改善に寄与していると考えられた。

A. 研究目的

平成 22 年度は、慢性 C 型肝炎のうち、特に難治と考えられるゲノタイプ 1 型高ウイル量の治療における免疫学的パラメーターを解析することにより、将来の治療効果の改善に役立つメカニズムの解明を、主に二重膜からなる濾過療法 (double filtration plasmapheresis、以下 DFPP) と標準治療である PEG インターフェロン・リバビリン療法の併用療法を行った患者の末梢血を用いて解析した。

B. 研究方法

12 例のゲノタイプ 1 型高ウイル量の患者で DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法を施行されたものを

対象とし、通常の PEG インターフェロン・リバビリン療法のみを施行された患者 12 名を対照とした。本研究の実施にあたり、東北大学医学部倫理委員会の審査を受け承認され (承認番号 2009-166)、参加した全ての患者から書面で同意を取得した。

解析は、治療の前後に採血を行い、主に末梢血単核球の CD マーカー染色、サイトカイン産生能 (IFN γ 、IL-10)、IL28B および ITPA 遺伝子多型の検討を行った。宿主遺伝子の解析は、東北大学医学部倫理委員会の審査を経て承認され (承認番号 2010-323)、参加患者からの書面による同意を取得した。

C. 研究結果

- ① IL28B の T/T アレルの 4 人の患者は全て早期のウイルス学的反応(cEVR)を達成した。末梢血中の HCV コア抗原の量は、DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法を併用され EVR を達成した患者では、DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法を行い晩期ウイルス学的反応(LVR)を達成した患者もしくは PEG インターフェロン・リバビリン療法で EVR を達成した患者より低値となっていた。
- ② 末梢血より産生されるインターフェロン γ (IFN γ)の量は徐々に増加した。一方 EVR 患者ではインターロイキン(IL)10 の産生は徐々に低下した。DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン療法により EVR を達成した患者では HCV コアたんぱく結合 CD3 陽性 Tリンパ球の頻度は急激に低下した。さらに、CD4 陽性および CD8 陽性の活性化 T 細胞、CD16-CD56 強陽性の NK 細胞の分布は DFPP 施行前後で有意に変化した。

D. 考察

HCV 抗原の急速な減少やリンパ球のプロファイルの変化は、DFPP と PEG インターフェロン・リバビリン併用療法における免疫学的なパラメーターの改善に寄与していると考えられた。今後 HCV 特異的な創薬が進み治療法が進化していくことが予想されるが、依然糟公立 100%に至るまでは難治例に対する、いわゆる難治性獲得のメカニズムの解明が望まれる。宿主の免疫学的解析は、これまで病態形成にいかに関わるか不明の点が多かったが、宿主の IL28B の多型など、近年は治療効果に大きく影響することが報告されており、この点の解明も急がれる。本研究は、治療効果に影響する免疫学的パラメーターを幾つか拾い上げてその解析が有効である点を示しており、今後新規の治療で同様の解析が可能かについてさらに検討が必要である。

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) Kondo, Y., Ueno, Y., Machida, K., Kimura, O., Kakazu, E., Inoue, J. & Shimosegawa, T. (2011) Hcv-Core Protein Could Induce Th17 Commitment by Enhancing the Stat-3 Signaling. AASLD Liver Meeting 2011, San Francisco, CA, USA, November 4-8, 2011
- 2) 近藤泰輝, 上野義之, 涌井祐太, 二宮匡史, 嘉数英二, 井上淳, 下瀬川徹 Vitamin D または DFPP 併用 Peg-IFN/RBV 治療は免疫細胞活性化を介して抗ウイルス効果を増強する. 第 15 回肝臓学会大会 福岡 10 月 21-22 日 2011 年

2. 論文発表

- 1) Kondo Y, Ueno Y, Wakui Y, Ninomiya M, Kakazu E, Inoue J, Kobayashi K, Obara N, Shimosegawa T. Rapid reduction of hepatitis C virus-Core protein in the peripheral blood improve the immunological response in chronic hepatitis C patients. Hepatology Research. 2011;41:1153-68..
- 2) Kondo Y, Ueno Y, Kakazu E, Kobayashi K, Shiina M, Tamai K, Machida K, Inoue J, Wakui Y, Fukushima K, Obara N, Kimura O, Shimosegawa T. Lymphotropic HCV strain can infect human primary naive CD4+ cells and affect their proliferation and IFN-gamma secretion activity. Journal of gastroenterology. 2011;46:232-41.
- 3) Inoue J, Ueno Y, Wakui Y, Niitsuma H, Fukushima K, Yamagiwa Y, Shiina M, Kondo Y, Kakazu E, Tamai K, Obara N, Iwasaki T, Shimosegawa T. Four-year study of lamivudine and adefovir combination therapy in lamivudine-resistant hepatitis B patients: influence of hepatitis B virus genotype and resistance mutation pattern. Journal of viral hepatitis. 2011;18:206-15.
- 4) Inoue J, Ueno Y, Wakui Y, Fukushima K, Kondo Y, Kakazu E, Ninomiya M, Niitsuma H, Shimosegawa T. Enhanced replication of hepatitis B virus with frameshift in the precore region found in fulminant hepatitis patients. The Journal of infectious diseases. 2011;204:1017-25.

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。