

# 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型慢性肝炎におけるARFIによる非侵襲的肝線維化評価に関する研究

研究分担者 吉岡健太郎 藤田保健衛生大学 肝胆膵内科 教授

研究要旨：C型慢性肝炎の肝線維化 stage 診断におけるARFIの有用性を明らかにするために、ARFIと肝組織線維化面積、肝線維化 Stage との関係を検討し、ARFIのstage診断能を各種肝線維化インデックスと比較検討した。ARFIの測定値は、肝線維化面積比と正の相関関係があり、肝の線維化を定量的に反映しているものと推察された。ARFIは肝線維化 Stage とも有意な正の相関関係が認められた。治療適応の基準であるF2以上の診断能については、従来から用いられている肝線維化の指標よりARFIが優れていた。F3以上とF4の診断能についてもARFIは高いAUROCを示した。以上よりARFIは、肝線維化 stage 診断に有用であることが示された。

#### A. 研究目的

C型慢性肝炎の治療の標準化において肝線維化進展度評価は重要である。治療開始の目安は肝線維化 stage F2とされている。また肝硬変では慢性肝炎と異なる治療法が選択される。肝線維化進展度は血液検査、画像検査、肝生検により、評価されているが、最近肝硬度を測定することにより肝線維化進展度を評価する装置としてフィブロスキャンが保険適応となった。

フィブロスキャンと同様に肝硬度から肝線維化を非侵襲的に評価する装置としてARFI (Acoustic Radiation Force Impulse)がある。ARFIは超音波診断装置(ACUSON S2000)を用い、収束超音波パルスによって生じたせん断弾性波の伝播速度(m/sec)を測定し肝硬度を評価する。本研究ではC型慢性肝炎の肝線維化 stage 診断におけるARFIの有用性を明らかにするために、ARFIと肝線維化面積比、肝線維化 Stage との関係を検討した。またARFIのstage診断能を各種肝線維化インデックスと比較検討した。

#### B. 研究方法

##### (1) 対象

2009年10月より2011年1月までに藤田保健衛生大学病院にて肝生検を施行したC型慢性肝炎患者49例を対象とした。男23例、女26例で、年齢は $57.5 \pm 11.9$ 歳であった。

##### (2) 方法

ACUSON S2000を使用し、Bモード画像上でROIを設定し、収束超音波パルスを照射し、肝内に発生したせん断弾性波を探索パルスで追跡し伝播速度を計測した。ARFIの測定は、計14回行い、中央値を測定値とした。

肝生検標本(Azan染色)をKEYENCE社製BZ-9000を用いてデジタル画像化し、画像解析ソフト(Image-Pro plus)を用いて線維化面積/組織面積(肝線維化面積比)を算出した。

##### (倫理面への配慮)

ACUSON S2000は非侵襲的に肝硬度を測定でき、患者に苦痛や健康被害をきたすものではない。肝生検は治療上必要な場合のみ施行した。また患者の個人情報の守秘については十分な注意を払った。

#### C. 研究結果

肝線維化面積比はARFIと正の相関関係

( $r=0.73$ 、 $P<0.0001$ )を認めた。ARFI と肝線維化 Stage との関係について検討すると、F0( $n=6$ )の  $1.15\pm 0.13\text{m/s}$ 、F1( $n=10$ )では  $1.13\pm 0.16\text{m/s}$ 、F2( $n=14$ )では  $1.37\pm 0.25\text{m/s}$ 、F3( $n=13$ )では  $1.73\pm 0.41\text{m/s}$ 、F4( $n=6$ )では  $2.25\pm 0.26\text{m/s}$  であり、F2 と F3、F3 と F4 の間に有意な差( $P<0.05$ )が認められた。血液生化学検査データを基にした肝線維化の指標である APRI、Forns index、FibroIndex および FIB-4 と ARFI について、F2 以上の診断能につき ROC 解析を用いて検討した。ARFI の曲線下面積 (AUROC) は 0.891、カットオフ値は  $1.23\text{m/s}$  であった。APRI、Forns Index、Fibro Index および FIB-4 の AUROC はそれぞれ 0.877、0.807、0.885、0.844 であり、ARFI の診断能が最も優れていた。F3 以上および F4 の診断能については AUROC はそれぞれ 0.904 と 0.957 であり、カットオフ値は  $1.46\text{m/s}$  と  $1.93\text{m/s}$  であった。

#### D. 考察

ARFI の測定値は、肝線維化面積比と正の相関関係があり、肝の線維化を定量的に反映しているものと推察された。

ARFI は肝線維化 Stage とも有意な正の相関関係が認められた。

治療開始の基準である F2 以上の診断能については、従来から用いられている肝線維化の指標より ARFI が優れていた。

F3 以上と F4 の診断能についても ARFI は高い AUROC を示した。

#### E. 結論

ARFI は、C 型慢性肝炎において肝線維化 stage 診断に有用であることが示された。

#### 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. 嶋崎宏明・橋本千樹・川部直人・原田雅生・新田佳史・村尾道人・中野卓二・有馬裕子・刑部恵介・市野直浩・西川徹・青山和佳奈・吉岡健太郎：NAFLD における Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) の有用性の検討 第 97 回日本消化器病学会総会・ミニシンポジウム 2011.5.13~15 東京
2. 川部直人・橋本千樹・西川徹・刑部恵介・市野直浩・嶋崎宏明・中野卓二・原田雅生・吉岡健太郎：Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) による非侵襲的肝線維化評価と肝発癌予測 JSUM2011 日本超音波医学会第 84 回学術集会・特別演題企画 2011.5.27~29 東京
3. 西川徹・吉岡健太郎・橋本千樹・川部直人・原田雅生・市野直浩・刑部恵介・杉山博子・青山和佳奈：肝臓における Virtual Touch Tissue Quantification のせん断波計測の検討 JSUM2011 日本超音波医学会第 84 回学術集会・一般口演 2011.5.27~29 東京
4. 村尾道人・橋本千樹・吉岡健太郎：C 型慢性肝炎に対する治療効果と IL28B・ITPA 遺伝子多型が及ぼす影響 第 47 回日本肝臓学会総会・ポスターセッション 2011.6.2~3 東京
5. 新田佳史・橋本千樹・川部直人・原田雅生・村尾道人・中野卓二・有馬裕子・嶋崎宏明・吉岡健太郎：自己免疫性肝炎における肝硬度測定 第 47 回日本肝臓学会総会・ポスターセッション 2011.6.2~3 東京
6. 川部直人・橋本千樹・西川徹・原田雅生・新田佳史・村尾道人・中野卓二・嶋崎宏明・有馬裕子・吉岡健太郎：肝がん検診における ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) 導入の有用性 第 53 回日本消化器病学会大会 (JDDW2011) 2011.10.20~23 福岡
7. 村尾道人・有馬裕子・嶋崎宏明・中野卓二・新田佳史・原田雅生・川部直人・橋本

千樹・吉岡健太郎：C型慢性肝炎に対する ISDR・コア領域の変異・IL28B 遺伝子多型と治療効果について 第 15 回日本肝臓学会大会(JDDW2011) 2011.10.20~23 福岡

8. Murao M, Yoshioka K, Nishikawa T, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Nakano T, Arima Y, Shimazaki H, Ichino N, Osakabe K. IL28B SNP, ITPA SNP and mutation of core region and interferon sensitivity determining region of HCV: their effects on the response to PEG-IFN/RBV therapy in patients with chronic HCV genotype 1 infection. The 62<sup>nd</sup> Annual Meeting of The American Association for The Study of Liver Diseases 2011.11.4-8 San Francisco.

9. Yoshioka K, Nishikawa T, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Arima Y, Shimazaki H, Ichino N, Osakabe K. Acoustic radiation force impulse elastography for evaluation of fibrosis stage and prediction of hepatocellular carcinoma in chronic HCV infection. The 62<sup>nd</sup> Annual Meeting of The American Association for The Study of Liver Diseases 2011.11.4-8 San Francisco.

## 2. 論文発表

(1) Hayashi K, Katano Y, Kuzuya T, Tachi Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Prevalence of hepatitis C virus genotype 1a in Japan and correlation of mutations in the NS5A region and single-nucleotide polymorphism of interleukin-28B with the response to combination therapy with pegylated-interferon-alpha 2b and ribavirin. *J Med Virol*. 2012;84(3):438-44

(2) Yoshioka K, Hashimoto S. Can non-invasive assessment of liver fibrosis replace liver biopsy? *Hepatol Res* 2011 (in press)

(3) Osakabe K, Ichino N, Nishikawa T, Sugiyama H, Kato M, Kitahara S, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Shimazaki H, Arima Y, Suzuki K, Yoshioka K. Reduction of liver stiffness by antiviral therapy in chronic hepatitis B. *J Gastroenterol* 2011; 46(11): 1324-34.

(4) 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(4): 545-555.

(5) Hayashi K, Katano Y, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Mutations in the core and NS5A region of hepatitis C virus genotype 1b and correlation with response to pegylated-interferon-alpha 2b and ribavirin combination therapy. *J Viral Hepat* 2011; 18(4): 280-286.

(6) Hayashi K, Katano Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Association of interleukin 28B and mutations in the core and NS5A region of hepatitis C virus with response to peg-interferon and ribavirin therapy. *Liver Int* 2011;31(9): 1359-65.

(7) Harata M, Hashimoto S, Kawabe N, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Arima Y, Shimazaki H,

Ishikawa T, Okumura A, Ichino N, Osakabe K, Nishikawa T, Yoshioka K. Liver stiffness in extrahepatic cholestasis correlates positively with bilirubin and negatively with alanine aminotransferase. *Hepatol Res* 2011; 41(5): 423-429.

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

### B型慢性肝炎のインターフェロン治療効果とウイルス因子に関する研究

研究分担者 四柳 宏 東京大学医学部大学院生体防御感染症学 准教授

研究要旨； 現在遺伝子型BのB型慢性肝炎に対する治療としては、インターフェロン治療が推奨されている。しかしながらインターフェロン治療により、寛解に持ち込むことのできない症例も存在する。今回こうした“インターフェロン治療で寛解に持ち込めない”遺伝子型BのB型慢性肝炎の特徴を明らかにすることを目的に解析を行った。

自然経過で肝炎の沈静化が見られた症例2例ではプレコア遺伝子 1896 番、1899 番は共に変異していた。また、コアアミノ酸置換が5箇所認められた。また、インターフェロン治療で肝炎が緩解した2例中1例でもプレコア遺伝子 1896 番、1899 番は共に変異していた。コアアミノ酸の置換は1箇所に認めるのみであった。コアプロモーター領域の変異は検討した5症例中1例に認めるのみであった。

遺伝子型BのB型慢性肝炎において自然緩解するためにはプレコア遺伝子 1896 番の変異に加えてコアアミノ酸の置換が多くの箇所にあることが重要である可能性が示唆された。また、こうした条件はそろわない場合にはインターフェロン治療が必要だが、その場合でも変異があることが治療効果に影響を及ぼす可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

現在遺伝子型BのB型慢性肝炎に対する治療としては、インターフェロン治療が推奨されている。これは遺伝子型Cの症例に比べて遺伝子型Bの症例は自然に緩解するケースが多く、インターフェロン治療効果も高いことが理由と考えられる。しかしながらインターフェロン治療を行っても寛解に持ち込むことのできない症例も存在する。

遺伝子型Cの症例を対象にした我々のこれまでの検討では、プレコア遺伝子 1896 番の変異に加えてコア領域のアミノ酸置換が認められる症例が多い。また、インターフェロン療法が効果的な症例にはコアプロモーター領域に1762番、1764番の置換の他に変異が多く入っている傾向が認められる。

今回遺伝子型Cの症例で観察されたのと同様の現象が遺伝子型Bの症例でも観察されるかということを含め、検討を行った。

#### B. 研究方法

自然経過で HBe 抗体陽性、ALT 持続正常となった2症例、24 週間の  $\alpha$  インターフェロン製剤による治療を行った3症例の計5症例の解析を行った。コアプロモーター領域からコア領域まで(nt. 1606 - nt. 2488)を2箇所に分けて PCR を行い、コアプロモーター及びプレコア領域はコンセンサス配列かたの塩基置換を、コア領域はコンセンサス配列からのアミノ酸置換を調べた。

#### C. 研究結果

自然経過例の結果を(表1)に示す。

(表1) 自然経過例の結果

1 49y male									
	ALT	HBeAg	HBV DNA	BCP			PreC		
nt.				1753	1762	1764	1896	1899	
				T→C	A→T	G→A	G→A	G→A	
2005	230	neg	6.8	Wild	Mutant	Mutant	Mutant	Mutant	
2006	35	neg	3.8	Wild	Mutant	Mutant	Mutant	Mutant	

  

2 53y male									
	ALT	HBeAg	HBV DNA	BCP			PreC		
nt.				1753	1762	1764	1896	1899	
				T→C	A→T	G→A	G→A	G→A	
2006	30	neg	4.4	Wild	Wild	Wild	Mutant	Mutant	
2011	19	neg	2.8	Wild	Wild	Wild	Mutant	Mutant	

2例とも35歳以上の男性で既にHBe抗原は陰性化していた。プレコア領域の nt. 1896, nt. 1899 は共に変異型となっていた。コアプロモーター領域の nt. 1762, nt. 1764 は症例1のみで変異型となっていた。症例1ではコアプロモーター領域の nt. 1775 も変異していた。症例2ではコア領域のアミノ酸配列の検討が可能であったが、aa55, aa70, aa74, aa77, aa87, aa113 の5箇所のアミノ酸置換が認められた。

インターフェロン投与例の結果を(表2)に示す。

(表2) インターフェロン投与例の結果

3 30y female Core AA27 に置換									
	ALT	HBeAg	HBV DNA	BCP			PreC		
nt.				1753	1762	1764	1896	1899	
				T→C	A→T	G→A	G→A	G→A	
pre	250	pos	8.6	Wild	Wild	Wild	Wild	Wild	
post	20	neg	4.4	Wild	Wild	Wild	Wild	Wild	

  

4 42y male Core AA113 に置換									
	ALT	HBeAg	HBV DNA	BCP			PreC		
nt.				1753	1762	1764	1896	1899	
				T→C	A→T	G→A	G→A	G→A	
pre	90	neg	7.8	Wild	Wild	Wild	Mutant	Mutant	
post	24	neg	3.4	Wild	Wild	Wild	Mutant	Mutant	

  

5 42y female Core AA174 に置換									
	ALT	HBeAg	HBV DNA	BCP			PreC		
nt.				1753	1762	1764	1896	1899	
				T→C	A→T	G→A	G→A	G→A	
pre	55	pos	8.8	Wild	Wild	Wild	Wild	Wild	
post	45	pos	8.9	Wild	Wild	Wild	Wild	Wild	

症例3、4は緩解例、症例5は無効例である。自然緩解例に比べるとコアプロモーター、プレコア領域の塩基置換、コア領域のアミノ酸置換が少ない。コアプロモーター、プレコア領域の塩基置換がなかった2症例のうち、肝炎の活動性の高い時期に治療を開始した“症例3”では緩解に持ち込むことができたが、肝炎の活動性の低い時期に治療を開始した“症例5”では無反応に近い状態であった。

#### D. 考察

本邦の遺伝子型B(亜遺伝子型 Bj)のB型慢性肝炎は早期に自然緩解しやすいことが知られている。このような症例ではプレコア領域の nt. 1896, nt. 1899 が早期に変異を獲得し、HBe抗原陰性となる。HBe抗原量の低下と共に免疫応答が賦活化され、ウイルス増殖が抑えられ、緩解に至りやすいと考えられる。症例1、2は両者ともプレコア領域の nt. 1896, nt. 1899 は変異型であり、この仮

説を指示する結果であった。

遺伝子型Bのかなりの症例がプレコア領域の nt. 1896, nt. 1899 が変異を獲得した後もコアプロモーター領域の nt. 1762, nt. 1764 が野生型のままである。この場合、ウイルスの増殖力が強くなり、さらに緩解に入りやすい。症例2はこのような症例である。53 歳という年齢でありながら緩解に至った要因であると考えられる。プレコア変異型、コアプロモーター野生型の遺伝子型Bの症例は経過観察だけで肝炎が緩解に至ることが期待できると考えられる。

症例4はこうした症例であるが、インターフェロンの投与が行われた。症例2よりも若年であり、経過観察により緩解に至った可能性もある。このような症例はインターフェロンの治療効果も良好であった。

症例3、5はプレコア野生型、コアプロモーター野生型であるが症例3のみが緩解に至った。症例3は肝炎の急性増悪の時期にインターフェロンを開始したため、より強い免疫応答を引き起こすことができ、緩解に至った可能性がある。若年女性であることも大きな要因であったと思われる。

遺伝子型Cの症例で緩解に至った症例ではコア領域のアミノ酸置換数が多いということをこれまで報告してきた。症例2はこの結果に合致している。今後症例を増やして検討していきたいと考えている。

## E. 結論

遺伝子型BのB型慢性肝炎の症例はプレコア領域の nt. 1896, nt. 1899 が変異型、コアプロモーター領域の nt. 1762, nt. 1764 が野生型の場合、自然緩解することが期待でき、インターフェロン治療効果も良好であると思われる。一方、プレコア領域の nt. 1896, nt. 1899 が野生型の場合、免疫応答の賦活化された時期を狙ってインターフェロン治療を開始すること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.学会発表

1) 山田典栄, 四柳宏他: B 型肝炎ウイルス遺伝子変異

の病態・治療に及ぼす影響 ウイルスゲノム中の欠失は B 型慢性肝疾患の経過に大きな影響を及ぼす 第 36 回日本肝臓学会総会 パネルディスカッション 山形 2010.6

2) 山田典栄, 四柳宏他: B 型急性肝炎における HBs 抗原持続期間と HBs 抗体出現頻度 第 15 回日本肝臓学会総会 福岡 2011.10

## 2. 論文発表

(1) Suzuki Y, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Okuse C, Moriya K, Suzuki M, Kato T, Iino S, Koike K, Itoh F. Nucleic acid substitutions and response to interferon in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with genotype C HBV infection. J St. Marianna Univ. 2, 31-38, 2011.

# 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

### ADV および ETV に対する耐性出現とその後の治療効果に関する研究

研究分担者 豊田成司 北海道厚生連 札幌厚生病院 院長

#### 〔要旨〕

核酸アナログを投与した B 型慢性肝疾患 446 例を対象として ADV および ETV に対する耐性出現について検索し、耐性出現後の核酸アナログの抗ウイルス効果を検討した。ADV 耐性を 6 例、ETV 耐性を 12 例認め、両剤耐性例も 1 例認められた。耐性出現後の抗ウイルス効果は、ADV 耐性出現例には LAM/ADV 併用から ETV/ADV 併用へ変更することで良好な抗ウイルス効果が得られていた。一方、ETV 耐性例では LAM あるいは ETV と ADV の併用療法では抗ウイルス効果が不十分な例が多く、今後 TDF など従来の核酸アナログとは耐性部位が異なった薬剤を導入する必要性が示唆された。

#### A. 研究目的

HBV に対する核酸アナログの抗ウイルス効果は極めて強力であるが、その一方でそれぞれの薬剤に一定の割合で耐性変異が出現することが知られている。現在、Lamivudine(LAM),Entecavir(ETV),Adefovir dipivoxil(ADV)の三種の核酸アナログが使用されているが、投与期間が長期に渡る症例が増加しており今後多剤耐性が増加すると予想される。

そこで、当科の核酸アナログ投与例における ADV および ETV に対する耐性出現の現状および耐性出現後の抗ウイルス効果について検討した。

#### B. 研究方法

一年以上核酸アナログを投与した B 型慢性肝疾患 446 例を対象として ADV および ETV に対する耐性出現例について耐性出現時の投与薬剤および出現頻度について解析し、耐性出現後の治療薬剤の抗ウイルス効果について検討した。

なお、耐性部位の検出には INNO-LiPA 法を用いておこなった。

#### C. 研究結果

446 例中 19 例( 4.3% )で ADV および ETV に対する耐性出現を認めたが 1 例を除いて二種類以上の核酸アナログ投与歴を有していた(表一1)。

LAM 耐性出現により ADV を併用投与した 122 例からは ADV 耐性を 6 例、ETV 耐性を 2 例認めたほか三剤耐性出現例も 1 例認めた。LAM/ADV 併用療法中に ADV 耐性が出現した 6 例は全例 Genotype C であり、うち 4 例は HBe-Ag 陽性、アナログの投与期間は 20～93 ヶ月であった。また、耐性変異部位は rt181 が 5 例、rt236 が 1 例であったがこのうち 1 例は rt181 の変異を認めた時点で LAM 耐性変異を INNO-LiPA 法では検出出来なかった(表一2)。残りの 5 例について多剤耐性出現後の治療に対する抗ウイルス効果をみると、LAM から ETV に切り替えて ADV を併用した 4 例ではいずれも HBV DNA の陰性化 (2.1 log 未満を含む) が得られていたが、LAM/ADV 併用療法を継続した 1 例では経過観察中に DNA の陰性化は認められなかった(表一3)。

ETV 投与後に ETV 耐性となった症例は 10 例でありうち 9 例は LAM から ETV への切り



替え例であったが、このうち 7 例は LAM 耐性出現が確認されたのちに切り替えられており、ETV 初回投与例 204 例からの耐性出現例はわずか 1 例のみであった。この 10 例に LAM/ADV 投与で ETV 耐性となった 2 例を加えた 12 例の ETV 耐性例の背景因子では、Genotype Bj 2 例、C 10 例であり HBe 抗原は半数の 6 例が陽性であった。耐性出現後の治療は、9 例が ETV/ADV で 3 例が LAM/ADV で経過観察されたが、HBV DNA の陰性化が得られたのは ETV/ADV で 4 例、LAM/ADV で 1 例の 5 例と半数以下の症例にしか陰性化が得られなかった（表—4）。

#### D. 考察

核酸アナログの投与が長期となるにしたがって、今後多剤耐性例が増加してくると予想され、そのなかには対処に難渋する症例も少なくないと思われる。

今回当科における ADV および ETV に対する耐性出現例について検討したが、ADV は LAM 耐性例に追加投与され、また ETV 耐性変異は LAM 耐性変異を伴っていることから、今回の検討例は即ち多剤耐性例と考えられる。ADV 耐性は、LAM/ADV 併用例から 6 例認められたが、これらに対する ETV/ADV 併用療法の抗ウイルス効果は良好であり ADV 耐性出現時には試みるべき治療法と考えられる。

ETV 耐性は 12 例で観察されたが、そのうち 2 例は LAM/ADV 併用例であった。しかし、この 2 例はその後の解析で LAM 耐性出現時には既に 1 例が rt202、もう 1 例も rt184 の ETV 耐性変異を獲得していたことが判明し、追加投与された ADV の ETV 耐性株に対する抗ウイルス効果が十分でなかったと推察される。また ETV 耐性例のうちもっとも多かったのが LAM から ETV への切り替え例（9 例）であった。このうち 7 例は LAM 耐性例に対する ETV の効果を検証する臨床試験に参加した 13 例から出現しており、耐性出現率は 53.8% と高率であった。他の 2 例は LAM から

ETV への切り替え後に ETV 耐性を認めたが、当科における LAM から ETV への切り替え例は 107 例であり薬剤変更時 HBV DNA が 4 log 未満であった 84 例からは 1 例も ETV 耐性が出現していない。しかし、この 2 例はいずれも 20 ヶ月以上の LAM 投与期間があったにもかかわらず薬剤変更時に 4 log 以上のウイルス量と抗ウイルス効果が不良の症例でありその後の追加検討から ETV への変更時既に LAM 耐性を獲得していたことが判明したことから、LAM から ETV への変更に際して抗ウイルス効果が不十分な症例については耐性変異の確認が必要と考えられた。初回投与の 204 例から ETV 耐性出現したのはわずか 1 例のみであったが、本症例は二度 ETV 投与を中断するなど特殊な症例であり ETV 初回投与例からの耐性出現は極めて低率と考えられた。

この ETV 耐性出現例 12 例は耐性出現後 LAM/ADV 併用 3 例、ETV/ADV 併用 9 例で経過観察されたが、その後の HBV DNA 陰性化率は 42% と十分な抗ウイルス効果とはいえ、ETV の耐性出現時には Tenofovir (TDF) のような従来の薬剤とは異なった耐性部位を持つ薬剤の導入が必要と考えられた。

#### D. 結論

B 型肝炎治療に核酸アナログが導入されて 10 年以上が経過し長期投与例が増加しており、今後これらの中から多剤耐性例が出現してくることが予想される。この多剤耐性例の治療に際し従来の核酸アナログだけではその対処に苦慮することも予想され、今後 TDF など従来の核酸アナログとは耐性部位が異なった薬剤の必要性が増してくるものと推察された。

#### E. 研究発表

1. 小関 至、木村陸海、荒川智宏、中島知明、桑田靖昭、赤池 淳、大村卓味、佐藤隆啓、狩野吉康、豊田成司. ラミブジンとアデホビル併用不応例に対するアデホビルとエンテカビル併用療法. 日消

誌 108 : 202-209、2011

2. 小関 至、狩野吉康、豊田成司.

Entecavir による抗ウイルス療法.

消化器内科 53 : 283-287、2011

3. 小関 至、木村睦海、荒川智宏、中島知明、桑田靖昭、赤池 淳、大村卓味、佐藤隆啓、狩野吉康、豊田成司. 当院における核酸アナログ多剤耐性例の頻度・特徴と治療内容の検討. 第 47 回肝臓学会総会

# 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 型肝炎の自然経過例における HBs 抗原消失の予測に関する研究

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：

【目的】 B 型慢性肝炎の治療では HBs 抗原消失が最終的な目標となるが、HBs 抗原は自然経過で消失する症例もあり、HBs 抗原の低下・消失に関する抗ウイルス薬の効果の評価にはまず自然経過での変化を知る必要がある。今回我々は、自然経過例における HBs 抗原消失予測モデルを作成し、HBs 抗原の自然消失が予測可能かどうかを検討した。

【方法】 抗ウイルス薬の投与なしに 10 年間経過観察した HBV キャリアの 74 例を対象に、HBs 抗原量変化の近似曲線を作成し、HBs 抗原の消失予測年齢を求めた。次に、HBs 抗原消失予測年齢が 90 歳以上と未満の群に分け、HBs 抗原の消失予測モデルをロジスティックモデルを用いて構築した。予測モデルによって予測された結果と、消失予測年齢を比較し、HBs 抗原の自然消失予測が各測定点において可能かどうか検討した。

【成績】 HBsAg 量変化の近似曲線を用いると、90 歳以前に HBsAg が消失または消失が予測されたのは 74 例中 38 例 (51%) であった。ロジスティックモデルにて HBs 抗原非消失予測モデルを作成し、自然経過観察中の各測定時点 (平均 7 時点) で HBs 抗原消失予測を行うと、HBe 抗原陰性時点では 70% が予測可能 (PPV 70%、NPV 93%、確診率 82%) であり、HBe 抗原陽性時点では 88% が予測可能 (PPV 88%、NPV 39%、確診率 62%) であった。

【結語】 年齢と HBsAg 量の変化から約 70% の精度で将来の HBsAg の消失を予測可能であった。今後、核酸アナログ治療群の治療前と治療開始後の消失予測確率の変化を解析し、核酸アナログ薬の HBs 抗原量減少効果について検討する予定である。

#### A. 研究目的

B 型慢性肝炎の治療では HBs 抗原消失が最終的な目標となる。しかし、自然経過で消失する症例もあり、治療薬の効果か否かの判断は容易ではない。今回我々は、自然経過例における HBs 抗原消失予測モデルを作成し、HBs 抗原の自然消失が予測可能かどうかを検討した。

#### B. 研究方法

前向きに自然経過を 10 年間経過観察した HBV キャリア 74 例 (男性 39 例、年齢中央値 53 歳) を対象として HBs 抗原量の変化の特徴を検討した。HBs 抗原量は保存血清を用い、経過観察中年 1 回測定した。測定は Sysmex 社 (神戸) 製キット HISCL (0.03~2,000 IU/ml) を用い、必要な場合は倦怠を希釈し end titer まで測定した。

HBs 抗原の変化を、[HBs 抗原量] = c-10

a(年齢+b) という曲線にて近似し、HBs 抗原の消失予測年齢を求めた。HBs 抗原消失予測年齢が 90 歳未満の群を HBs 抗原消失群、それ以上の群を HBs 抗原非消失群とした。次に各測定点における HBs 抗原の年間変化量を求め、各種臨床 DATA を併せて HBs 抗原の消失予測モデルをロジスティックモデルを用いて構築した。予測モデルによって予測された結果と、消失予測年齢を比較し、HBs 抗原の自然消失予測が各測定点において可能かどうかを検討した。

### C. 研究結果

HBsAg 量変化の近似曲線を用いると、90 歳以前に HBsAg が消失または消失が予測されるのは 38 例 (51%) であった。ロジスティックモデルにて HBsAg 非消失予測のモデルを作成すると、HBsAg 非消失予測確率 =  $1 / (1 + \exp(-1.8 * [\text{HBsAg (LIU/ml)}] - 0.2 * [\text{年齢}] + 4.5 * [\text{年齢} > 35 \text{ 歳}] + 3.5 * [\text{HBsAg 変化速度 (LIU/ml/年)}] - 1.3 * [\text{HBsAg 変化速度 (LIU/ml/年)}] + 8.7))$  が得られた。HBe 抗原陰性時では、このモデルにおける非消失予測確率が 9%未満を予測消失群、HBe 抗原陽性時点では非予測消失確率が 25%未満を予測消失群とした。予測消失群以外で予測消失確率が 40%以上である場合を予測非消失とし、それ以外を判定保留とした。平均 7 ポイント測定した自然経過群における HBs 抗原非消失予測では HBe 抗原陰性時点では、PPV (非消失予測) 96.3%、NPV (消失予測) 91.3%、確診率 88.1%であり、HBe 抗原陽性時点では、PPV 93.3%、NPV 55.6%、確診率 76.0%であり、HBe 抗原陽性時点の消失予測がやや悪いものの良好な結果を得た。また、

各測定点における HBs 抗原消失予測では、HBe 抗原陰性時点では予測が可能であったのは 70%であり、その予測率は PPV 70%、NPV 93%、確診率 82%であり、HBe 抗原陽性時点では、予測可能であったのは 88%であり、その予測率は PPV 88%、NPV 39%、確診率 62%と、HBe 抗原陽性時点での NPV が低値であるがそれ以外では良好な結果であった。

### D. 考察

B 型慢性肝炎の治療目標の一つである HBs 抗原の消失は、自然経過による消失と治療による消失を分けて評価することが重要である。今回の成績では、自然経過における HBs 抗原の消失について、HBs 抗原量、その年変化および年齢により HBe 抗原陰性例では 80%以上の確診率でこれを予測することが可能であった。治療介入前に HBs 抗原の将来の消失を予測することにより、治療介入による変化を定量的に比較検討することが可能であり、HBs 抗原量低下についての治療効果判定に役立つ可能性がある。

### E. 結論

年齢と HBsAg 量の変化から約 70%の精度で将来の HBsAg の消失を予測可能であった。今後、核酸アナログ治療群の治療前と治療開始後の消失予測確率の変化を解析し、核酸アナログ薬の HBs 抗原量を減少させる実際の効果について検討していく予定である。

### F.健康危険情報

特記すべきことなし

## G. 研究発表

### 1. 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 (in press)

(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.

### 2. 学会発表

1) 松本晶博、吉澤要、田中榮司：B型慢性肝炎核酸アナログ薬治療における中止基準についての検討。第15回日本肝臓学会大会、福岡、2011.10

2) 松本晶博、森田進、田中榮司：B型慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療時の耐性株出現および治療中止後の各種マーカーの推移とその臨床的意義。第108回日本内科学会総会、東京、2011.4

## 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

### HBV, 潜在性 HBV, HCV の相互影響の検討に関する研究

研究分担者 向坂彰太郎 福岡大学医学部消化器内科学講座 教授

#### 研究要旨:

HBV と HCV の共感染における相互の影響に着目し、増殖抑制や変異の条件を解析することで将来的な抗ウイルス療法の一助とするために検討を行った。ウイルスの量や遺伝子配列、抗原と抗体の産生には差異がみられ、相互に影響を与えている可能性が示唆された。特に HCV は HBV 増殖を抑制、HBV は HCV 変異に影響している可能性があると考えられた。

#### A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（HBV）とC型肝炎ウイルス（HCV）の活動の機序、特に増殖抑制や変異の条件が明らかとなれば、治療法の選択や抗ウイルス薬の開発に有用である。

一方、自然界の病原微生物がある環境下で複数存在する場合の相互影響は知られており、一部はペニシリンなどの形で治療にも応用されている。肝炎ウイルスは以前から議論が行われているが一定の見解がない。

我々はHBVとHCVの共感染に着目し検討を行った。

#### B. 研究方法

福岡大学病院臨床研究指針に基づき研究を行った。

当科に2002～2009年に入院した症例、また2004年と2007年に外来定期調査を行った症例で、HBs抗原、HBc抗体、HCV抗体の測定を行った1840例のうち、いずれかのマーカーが陽性であった1403例を対象とした。急性肝炎、自己免疫性疾患、代謝性疾患、先天性疾患、ワクチン接種例、移植例は除外した。

マーカーの結果からHBs抗原陽性・HBc抗体陽性をHBV感染、HBs抗原陰性・HBc抗体陽性を潜在性HBV感染（以下、潜在B）、HCV抗体陽性をHCV感染として定義し、以下の5群に分類した。

HBV単独：356例（25.1%）

HBV+HCV：14例（1.0%）

潜在B単独：186例（13.1%）

潜在B+HCV：393例（27.7%）

HCV単独：471例（33.2%）

5群間で以下の背景因子を比較した。

(1) 宿主因子：年齢、性別。(2) HBV因子：Genotype、プレコア変異、コアプロモーター変異、DNA定量、HBVコア関連抗原、HBs抗体、HBe抗原/抗体、HBc抗体200倍希釈。(3) HCV因子：Genotype、遺伝子配列（コア領域、ISDR領域）、RNA定量、コア抗原量、コア抗体価、HCV抗体価

統計は $\chi^2$ 検定、Fisher検定、Student t検定、Mann-Whitney U検定、Logistic回帰分析を用い、 $P<0.05$ を有意差ありとした。

#### C. 研究結果

(1) HBVに影響するHCV因子の検討

全 HCV 感染 878 例の中で潜在 B との共感染は 393 例存在するにもかかわらず HBV との共感染は 14 例しかみられなかった。

HBV-DNA の検出率 ( $\geq 2.6$  Log/ml を陽性) は、HBV 単独 90.4% > HBV + HCV 36.4% ( $P < 0.001$ )、潜在 B 単独 5.9% > 潜在 B + HCV 1.3% ( $P < 0.05$ ) であった。同様に HBs 抗原陽性率も HBV 単独 53.7% > HBV + HCV 0% ( $P < 0.001$ ) であった。HBe 抗体陽性率は HBV 単独 70.1% < HBV + HCV 100% であった ( $P < 0.005$ )。

HBs 抗体陽性率については、潜在 B 単独 61.2% > 潜在 B + HCV 44.6% ( $P < 0.05$ ) であった。Genotype 別では 1b (45.1%) と 2a (44.2%) よりも 2b (67.6%) で有意に高かった ( $P < 0.05$ )。コア領域の配列では aa110 が野生型 (49.1%) よりも変異型 (81.3%) で有意に高かった ( $P < 0.05$ )。

#### (2) HCV に影響する HBV 因子の検討

HBV + HCV、潜在 B + HCV、HCV 単独の比較では、HCV-RNA 定量などに有意差はなかった。コア領域の配列の変異は、HBV + HCV ( $7.1 \pm 3.3$  個) が潜在 B + HCV ( $3.6 \pm 3.1$  個) や HCV 単独 ( $3.3 \pm 2.6$  個) よりも有意に多かった ( $P < 0.01$ )。Genotype 1b に限れば aa70 の変異率は潜在 B + HCV 43.4% > HCV 単独 25.4% であった ( $P < 0.05$ )。

#### D. 考察

HCV 共感染の症例では HBV-DNA、HBs 抗原および HBe 抗原が陰性、また HBe 抗体が陽性であることが多かったため、HBV が抑制されている可能性が示唆された。このなかで潜在 B 症例では逆に HBs 抗体が陰

性であることが多かった。しかしこの状態で HBV-DNA 検出率が上昇するわけではなかったため、増殖抑制の結果として抗体産生が低下したとも考えられる。他に HCV の Genotype やコア領域の変異でも HBs 抗体が左右されたことから、いずれにしても HCV 共感染の影響が示唆された。

HCV コア領域は、HBV が共感染した症例で変異が多く、また潜在 B が共感染した症例で aa70 の変異が多かった。この結果からは共感染と HCV 変異の関連性が示唆された。

#### E. 結論

HBV と HCV は相互に影響を与えている可能性が示唆された。特に HCV は HBV 増殖を抑制、HBV は HCV 変異に影響している可能性がある。今後はこの結果をもとにこれらの現象の本体、免疫の変化や受容体の競合などを究明する必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) 松本照雄、早田哲郎、西澤新也、森原大輔、田中 崇、上田秀一、阿南 章、竹山康章、入江 真、岩田 郁、釈迦堂敏、向坂彰太郎、慢性肝疾患における肝線維化の非侵襲的評価 -FibroScanの使用経験から-、福岡大医紀、2011、38(1)、1-6

(2) 森原大輔、西澤新也、福永篤志、四本かおる、久能志津香、櫻井邦俊、平野玄竜、岩下英之、上田秀一、横山圭二、坂本雅晴、阿南 章、竹山康章、入江 真、岩田 郁、

釈迦堂敏、早田哲郎、向坂彰太郎、C型肝炎に対するインターフェロン療法における治療効果に影響する因子の検討-当院において10年間経験した331例の成績から-、福岡大医紀、2011、38(1)、17-25

(3) Satoshi Shakado, Yuko Akehi, Kaoru Yotsumoto, Atsushi Fukunaga, Shizuka Kuno, Takashi Tanaka, Kunitoshi Sakurai, Hideyuki Iwashita, Shuichi Ueda, Genryu Hirano, Keiji Yokoyama, Daisuke Morihara, Shinya Nishizawa, Masaharu Sakamoto, Akira Anan, Yasuaki Takeyama, Makoto Irie, Kaoru Iwata, Tetsuro Sohda, Shotaro Sakisaka, A case of hepatitis C-associated osteosclerosis that was improved with the combination therapy of peginterferon alfa-2b and ribavirin, *Clinical Journal of Gastroenterology*, 2011, 4, 255-261

(4) 釈迦堂敏、西澤新也、福永篤志、四本かおる、久能志津香、櫻井邦俊、岩下英之、平野玄竜、上田秀一、横山圭二、森原大輔、坂本雅晴、阿南 章、竹山康章、入江 真、岩田 郁、早田哲郎、向坂彰太郎、福岡大学消化器内科における10年間の急性肝障害患者の臨床的検討(2000-2009)、福岡大医紀、2011、38(1)、53-58

## 2. 学会発表

1) 田中崇、高田和英、吉兼誠、渡邊洋、向坂彰太郎: B型慢性肝炎に対するエンテカビル  
の長期治療成績 第39回日本肝臓学会西部  
会 岡山 2011.12

2) 渡邊洋、田中崇、吉兼誠、向坂彰太郎:  
Serotype1 かつ高ウイルス量の C 型慢性肝炎  
症例に対する PEG-IFN+RBV 治療の治療効  
果を規定する因子-特に IL28B 遺伝子多型と

HCV-Core70 変異-の解析 第 39 回日本肝  
臓学会西部会 岡山 2011.12

3) 渡邊洋、田中崇、吉兼誠、向坂彰太郎: C  
型慢性肝炎症例に対する Pegインターフェロ  
ン+リバビリン48週間治療効果規定因子とし  
ての IL28B 遺伝子多型と HCV-Core70変異  
の解析 第 98 回日本消化器病学会九州支部  
例会 長崎 2011.11

4) 森原大輔、西澤新也、釈迦堂敏、國本英  
雄、久能志津香、福永篤志、四本かおる、平  
野玄竜、岩下英之、櫻井邦俊、上田秀一、横  
山圭二、坂本雅晴、阿南章、竹山康章、入江  
真、岩田 郁、早田哲郎、向坂彰太郎: IL28B  
遺伝子多型と  $\gamma$  GTP の組み合わせは  
Null-virological response の最も有用な予測因  
子である 第 15 回日本肝臓学会大会 福岡  
2011.10

5) 釈迦堂敏、森原大輔、西澤新也、四本か  
おる、久能志津香、福永篤志、櫻井邦俊、岩  
下英之、平野玄竜、横山圭二、上田秀一、坂  
本雅晴、阿南章、竹山康章、入江真、岩田郁、  
早田哲郎、向坂彰太郎: C型慢性肝炎に対す  
る Pegインターフェロン、リバビリン治療効果に  
かかわる宿主側・ウイルス側因子の検討 第  
97 回日本消化器病学会九州支部例会 福岡  
2011.6

6) 坂本雅晴、釈迦堂敏、森原大輔、福永篤  
志、久能志津香、櫻井邦俊、上田秀一、岩下  
英之、平野玄竜、横山圭二、阿南 章、竹山  
康章、入江 真、岩田 郁、早田哲郎、向坂彰  
太郎: C 型肝硬変に対するインターフェロン治  
療後の AFP 値は肝発癌の予測因子となる 第  
47 回日本肝臓学会総会 東京 2011.6

7) 渡邊洋、向坂彰太郎: C 型慢性肝炎に対  
する Pegインターフェロン+リナビリン 48 週間治



療のSVRを規定する因子、特にIL28B遺伝子の解析 第47回日本肝臓学会総会 東京  
2011.6

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

研究実施者

西澤新也 福岡大学医学部消化器内科

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 書 籍

太字のみ研究成果の刊行物として収載

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
芥田憲夫 熊田博光	肝疾患治療薬	高久史麿	治療薬ハンドブック	じほう	東京	2011	524-529
熊田博光	B型慢性肝炎に対する治療	熊田博光	B型慢性肝炎のマネジメント	医薬ジャーナル社	大阪	2011	1-105
芥田憲夫 熊田博光	C型慢性肝炎の治療効果予測因子	井廻道夫	これでわかる慢性肝炎の治療戦略	羊土社	東京	2011	79-87
荒瀬康司 熊田博光	C型慢性肝炎に対する新しい治療法	菅野健太郎 上西紀夫 井廻道夫	消化器疾患最新の治療2011-2012	南江堂	東京	2011	25-28
熊田博光	これだけは知っておきたいB型慢性肝炎の診断と治療	熊田博光	これだけは知っておきたいB型慢性肝炎の診断と治療	医薬ジャーナル社	大阪	2011	1-107
岡上 武、 南 祐仁	B型慢性肝炎に対する治療学の進歩と展望		新時代のウイルス性肝炎	株式会社 日本臨床社	東京	2011	469-474
岡上 武	NAFLD	菅野健太郎、 上西紀夫、 井廻道夫	消化器疾患最新の治療2011-2012	南江堂	東京	2011	316-318
狩野吉康、 豊田成司	C型慢性肝炎 PEG-IFN/RBV 併用療法の再燃・無効例をいかに治療するか	嶋田達哉	消化器Book	羊土社	東京	2011	98-105
桶谷 眞、 坪内博仁	抗悪性腫瘍薬、免疫抑制薬によるHBV再活性化とその対応		日本臨床 新時代のウイルス性肝炎学:基礎・臨床研究の進歩	日本臨床社	大阪	2011	520-525
泉 並木	ウイルスおよび宿主因子に基づいたC型肝炎の治療	森正樹、 下瀬川徹、 金子周一、 松本俊治、 寺田弘司	消化器疾患の最新医療	先端医療技術 研究所	東京	2011	104-107
泉 並木	健康診断で肝臓の数値が気になるとき読む本	泉 並木	健康診断で肝臓の数値が気になるとき読む本	幻冬舎	東京	2011	全部
泉 並木	肝癌の治療	林紀夫、 日比紀文、 上西紀夫、 下瀬川徹	Annual Review 消化器2012	中外医学社	東京	2012	174-184
泉 並木	ウイルス肝炎の治療戦略 序文	工藤正俊、 泉 並木	ウイルス肝炎の治療戦略	診断と治療社	東京	2010	vii

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Arase Y, Hirakawa M, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kobayashi M, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K, <u>Kumada H.</u>	Influence of ITPA polymorphisms on decreases of hemoglobin during treatment with pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir.	Hepatology	53(2)	415-21	2011
C Nelson H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, <u>Kumada H.</u> , Abe H, Miki D, Imamura M, Ochi H, Katanamik N, Nakamura Y, Chayama K.	HCV substitutions and IL28B polymorphisms on outcome of peg-interferon plus ribavirin combination therapy.	Gut	60	261-7	2011
Kawaoka T, C Nelson H, Ohishi W, Maekawa T, Abe H, Tsuge M, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Kubo M, Tsunoda T, Nakamura Y, <u>Kumada H.</u> , Chayama K.	Predictive value of the IL28B polymorphism on the effect of interferon therapy in chronic hepatitis C patients with genotypes 2a and 2b.	J Hepatol	54	408-14	2011
Chayama K, C Nelson H, Abe H, Miki D, Ochi H, Karino Y, Toyota J, Nakamura Y, Kamatani N, Sezaki H, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, <u>Kumada H.</u>	IL28B but not ITPA polymorphism is predictive of response to pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir triple therapy in patients with genotype 1 hepatitis C.	J Infect Dis	204	84-93	2011
Miki D, Ochi H, C Nelson H, Abe H, Yashima T, Aikata H, Ikeda K, <u>Kumada H.</u> , Toyota J, Morizono T, Tsunoda T, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Chayama K.	Variation in the DEPDC5 locus is associated with progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus carriers.	Nat Genet	43(8)	797-800	2011
Arase Y, Suzuki Y, Suzuki F, Matsumoto N, Akuta N, Imai N, Seko Y, Sezaki H, Kawamura Y, Kobayashi M, Hosaka T, Saito S, Ikeda K, Kobayashi M, <u>Kumada H.</u>	Efficacy and safety of combination therapy of natural human interferon beta and ribavirin in chronic hepatitis C patients.	Internal Medicine	50	2083-2088	2011
Kobayashi M, Hosaka T, Ikeda K, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, <u>Kumada H.</u>	Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre- and postoperatively.	Hepatol Res.	41 (11)	1036-45	2011