

- におけるリンパ球クロスマッチの臨床的意義. 第48回日本移植学会総会, 2012/9, 愛知.
54. 濱直樹, 森正樹, 他. 生体部分肝移植における門脈圧亢進のおよぼす影響. 第19回日本門脈圧亢進症学会, 2012/9, 東京
 55. 濱直樹, 森正樹, 他. 肝肺症候群合併肝疾患に対する肝移植. 第14回日本肝不全治療研究会, 2012/9, 東京
 56. 和田浩志, 森正樹, 他. HCV 陽性肝移植症例に対する肝炎再発予防に対する取り組みと抗ウイルス治療効果. 第30回日本肝移植研究会, 2012/6, 福岡.
 57. 和田浩志, 森正樹, 他. IL28B 遺伝子多型による肝移植後 HCV 抗ウイルス治療の効果予測. 第48回日本移植学会総会, 2012/9, 愛知.
 58. 門田和之, 森正樹, 他. 抗HLA抗体陽性肝移植の1例. 第30回日本肝移植研究会, 2012/6, 福岡.
 59. 門田和之, 森正樹, 他. 脳死肝移植術を施行した肝肺症候群を伴った胆道閉鎖症の1例. 第48回日本移植学会総会, 2012/9, 愛知.
 60. 中島慎介, 森正樹, 他. 胆嚢管を利用し胆道再建した成人生体肝移植の1例. 第30回日本肝移植研究会, 2012/6, 福岡.
 61. 大久保恵太, 森正樹, 他. 教室におけるドナー肝容積に関する検討. 第30回日本肝移植研究会, 2012/6, 福岡.
 62. Tanaka Y, Ohdan H. Novel Immune Regulatory Strategy with Combined Anti-IL-2R α and Anti-IL-6R mAbs Therapy To Prevent T-Cell Alloimmune Responses. American Transplantation Congress, Boston, USA, 2012.6.2-6
 63. Matsuura T, Nishida S, Ohira M, Hibi T, Uchida K, Dohi T, Fan J, Tekin A, Selvaggi G, Levi D, Tryphonopoulos P, Ruiz P, Wepler D, Khan A, Linetsky E, Ricordi C, Ohdan H, Tzakis A.G. Liver Grafts Contain a Large Number of CD52 Negative Natural Killer Cells: Role for Infections after Liver Transplantation with Alemtuzumab Induction. 24th International congress of the transplantation society, Berlin, Germany, 2012.7.15-19
 64. 大段秀樹. 免疫モニタリングに基づく臓器移植後免疫抑制の最適化. 第48回日本移植学会総会, 名古屋, 2012.9.20-22
 65. 尾上隆司, 井手健太郎, 石山宏平, 小林剛, 天野尋暢, 田澤宏文, 田中友加, 五十嵐友香, 森涼子, 菅野啓子, 田代裕尊, 大段秀樹. 当院における臓器移植法改正後の脳死肝移植登録の状況と脳死肝移植

- の経験. 第48回日本移植学会総会, 名古屋, 2012.9.20-22
66. 寺岡義布史, 大段秀樹. Salvage transplantationの安全性と長期予後の検討. 第30回日本肝移植研究会, 福岡 2012.6.14-15
67. 森本博司, 大段秀樹. C型肝炎に対する肝移植における同時性脾摘術とその予後. 第30回日本肝移植研究会, 福岡, 2012.6.14-15
68. 大段秀樹. From Bed to Bench and Back:肝局在免疫細胞の特殊性の解明と臨床応用. 第97回日本消化器病学会中国支部例会, 広島, 2012.5.26
69. 朝長 毅:最近のプロテオミクス技術の進歩とがん研究への応用. 第112回日本外科学会定期学術集会, 千葉, 2012年4月14日
70. 朝長 毅:真のバイオマーカーの発見を目指して. 第10回日本プロテオーム学会2012年会, 東京, 2012年7月26-27日.
71. 朝長 毅:疾患プロテオミクスの基礎と Human Proteome Project. 第19回日本遺伝子診療学会, 千葉, 2012年7月26-28日.
72. 朝長 毅:プロテオミクスを用いた新規腫瘍マーカーの探索と実用化. 第32回日本分子腫瘍マーカー研究会, 札幌, 2012年9月18日.
73. 朝長 毅, 佐野聖三、渡邊史生、田上真次、大河内正康、武田雅俊、熊谷久美子、常見雅彦:アルツハイマー病サロゲートマーカーの定量系の確立と診断への応用. 第31回日本認知症学会, つくば, 2012年10月26-28日.
74. 足立 淳、久家貴寿、白水 崇、橋口一成、松本雅記、中山敬一、井倉正枝、井倉 毅、高田穰、朝長毅:リン酸化プロテオミクスを用いた新規DNA損傷初期応答キナーゼの探索. 日本放射線影響学会第55回大会, 仙台, 2012年9月6-9日
75. 久米秀明, 渡邊史生, 村岡 賢, 石濱 泰, 小寺義男, 松下一之, 松原久裕, 朝長 毅:大腸癌組織膜タンパク質の大規模プロテオーム解析によるバイオマーカー探索とその検証. 第10回日本プロテオーム学会, 東京, 2012年7月26-27日
76. 原 康洋, 宮本泰豪, 加藤菊也, 福岡順也, 朝長 毅:細気管支肺胞上皮癌のプロテオーム解析によるバイオマーカー探索.日本ヒトプロテオーム機構第10回大会, 東京, 2012年7月26-27日
77. 村岡 賢、久米秀明、渡邊史生、桑野晶喜、足立 淳、佐藤三佐子、川崎 直子、石濱 泰、石飛真人、稲治英生、小寺義男、宮本泰豪、加藤菊也、朝長 毅:乳癌膜タンパク質の大規模iTRAQ-shotgunとSRM解析によるバイオマーカータンパク質の検証 日本プロテオーム学

- 会 2012 年大会、東京、2012 年 7 月 26-27 日
78. 久家貴寿, 久米秀明, 川崎直子, 足立 淳, 星野 敢, 松原久裕, 朝長 毅:大腸癌手術標本の発現解析とインタラクトーム解析による新規癌関連タンパク質の同定.日本プロテオーム学会2012年会, 東京, 2012年7月26-27日
79. 足立 淳, 久家貴寿, 白水 崇, 久米秀明, 村岡 賢, 橋口一成, 鳴海良平, 渡邊史夫, 桑野晶喜, 松本雅記, 中山敬一, 井倉正枝, 井倉毅, 高田 穰, 朝長 毅:リン酸化プロテオミクスを用いた新規 DNA 損傷初期応答キナーゼの探索.日本プロテオーム学会2012年会, 東京, 2012年7月26-27日
80. 村上達夫, 久家貴寿, 足立 淳, 白水 崇, 宮本泰豪, 加藤菊也, 石飛真人, 稲治英生, 小寺義男, 朝長 毅:大規模リン酸化プロテオーム解析と SRM/MRM によるヒト乳癌組織の検証法.日本プロテオーム学会 2012 年会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
81. 佐野聖三, 田上信次, 大河内正康, 渡邊史生, 熊谷久美子, 常見雅彦, 朝長 毅: Immuno-SRM/MRM 法を用いた血漿中のアルツハイマー病サロゲートマーカーペプチド APL1 β 定量のための前処理法の検討. 第 10 回日本プロテオーム学会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
82. 白水 崇, 足立 淳, 朝長 毅: 同所性移植モデルによる大腸癌転移性株の定量的プロテオーム解析. 日本プロテオーム学会 2012 年大会, 東京, 2012 年 7 月 26-27 日
83. 川崎直子, 平野賢一, 原 康洋, 足立 淳, 渡邊史生, 朝長 毅: プロテオミクス、トランスクリプトミクスを用いた中性脂肪蓄積心筋血管症のバイオマーカー探索. 日本プロテオーム学会 2012 年大会, 東京, 2012 年 7 月 26 日-27 日
84. 小寺義男, 川島祐介, 斉藤達也, 佐藤 守, 曾川一幸, 朝長 毅, 前田忠計, 野村文夫: 血中診断マーカーペプチド獲得を目指した包括的なアプローチ. 日本プロテオーム学会 2012 年大会, 東京, 2012 年 7 月 26 日-27 日
85. 足立 淳、久家貴寿、白水 崇、久米秀明、村岡 賢、橋口一成、鳴海良平、渡邊史生、桑野晶喜、松本雅記、中山敬一、井倉正枝、井倉毅、高田 穰、朝長 毅: DNA 損傷初期応答シグナル解析から創薬標的の探索へ. 第 10 回北里疾患プロテオーム研究会, 神奈川, 2012 年 8 月 23 日
86. 久米秀明, 村岡 賢, 小寺義男, 松下一之, 松原久裕, 朝長 毅: 大規模プロテオーム解析による大腸癌バイオマーカーの探索とその検証.

- 第 71 回日本癌学会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
87. 村岡 賢, 久米秀明, 足立 淳, 宮本泰豪, 加藤菊也, 小寺義男, 朝長 毅: A strategy for validation of biomarker candidates combining iTRAQ and SRM/MRM assay in breast cancer tissue samples 第 71 回日本癌学会学術総会、札幌、2012 年 9 月 19-21 日
88. 久家貴寿, 久米秀明, 足立 淳, 星野 敢, 松原久裕, 朝長 毅: オミックス技術を駆使した新規大腸癌関連タンパク質の同定. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
89. 足立 淳, 久家貴寿, 白水 崇, 久米秀明, 村岡 賢, 中山敬一, 井倉毅, 高田 穰, 朝長毅: リン酸化プロテオミクスを用いた新規 DNA 損傷初期応答キナーゼの探索. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
90. 村上達夫, 久家貴寿, 足立 淳, 白水 崇, 中山敬一, 宮本泰豪, 加藤菊也, 小寺義男, 朝長 毅: ヒト乳がん組織の大規模リン酸化プロテオーム解析と SRM をベースにした検証法. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
91. 白水 崇, 足立 淳, 朝長 毅 “Proteomic analysis of highly metastatic colorectal cancer cells established from orthotopic metastatic mouse model.” 第 71 回日本癌学会学術総会, 北海道, 2012 年 9 月 19-21 日
92. 原 康洋, 宮本泰豪, 加藤菊也, 福岡順也, 朝長 毅: 細気管支肺胞上皮癌のプロテオーム解析によるバイオマーカー探索. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19-21 日
93. 松下一之, 石塚久子, 佐藤 守, 松原久裕, 島田英昭, 朝長 毅, 久保秀司, 吉田 稔, 野村文夫: c-myc 遺伝子転写抑制因子 FIR とスプライシング因子 SAP155 の結合による新規がん化メカニズムについて. 第 71 回日本癌学会学術総会, 北海道, 2012 年 9 月 19-21 日
94. 橋口一成, 足立 淳, 渡邊史生, 朝長 毅: Quantitative proteome and phosphoproteome analyses of chromatin proteins upon oxidative base damage. 第 36 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012 年 12 月 11-14 日
95. 渡部 亮介, 足立 淳, 朝長 毅: Global quantitative phospho-proteomic analysis on the mTOR-mediated signaling pathway. 第 35 回日本分子生物学会、福岡 2012 年 12 月 11-14 日
96. 原 康洋, 宮本泰豪, 加藤菊也, 福岡順也, 朝長 毅: 細気管支肺胞上

- 皮膚のプロテオーム解析によるバイオマーカー探索. 第35回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012年12月11-14日
97. 久保田 翔, 福本泰典, 青山和正, 石橋賢一, 盛永敬郎, 本田拓也, 久家貴寿, 朝長 毅, 山口直人:SrcによるKAP1のチロシンリン酸化を介したヘテロクロマチン構造変換. 第133回日本薬学会年会, 横浜, 2013年3月27-30日
98. Adachi J, Narumi R, Sano S, Kuga T, Shiromizu T, Matsumoto M, Nakayama KI, Ikura M, Ikura T, Takata M, Tomonaga T” Global phosphorylation and ubiquitination dynamics in DNA-damage response network” Asia Oceania Human Proteome Organization (AOHUPO) 6th congress, Beijing, China, 5-7 May, 2012.
99. Muraoka S, Kume H, Watanabe S, Kuwano M, Sato M, Kawasaki N, Adachi J, Ishitobi M, Inaji H, Miyamoto Y, Kato K, Kodera Y, Tomonaga T “A strategy for SRM-based large-scale validation of biomarker candidates discovered by iTRAQ method in limited breast cancer tissue samples.” Asia Oceania Human proteome organization 6th Congress, Beijing, China, May 5-7, 2012.
100. Adachi J, Kuga T, Shiromizu T, Kume H, Muraoka S, Hashiguchi K, Narumi R, Watanabe S, Kuwano M, Matsumoto M, Nakayama KI, Ikura M, Ikura T, Takata M Tomonaga T “Phosphorylation dynamics in an early response of DNA damage signaling” HUPO2012 11th World Congress, Boston, U.S.A., 9-13 September, 2012.
101. Muraoka S, Kume H, Watanabe S, Kuwano M, Sato M, Kawasaki N, Adachi J, Ishitobi M, Inaji H, Miyamoto Y, Kato K, Kodera Y, Tomonaga T ‘’ A strategy for SRM-based systematic validation of biomarker candidates discovered by iTRAQ method in breast cancer tissue samples.” HUPO2012 11th World Congress, Boston, USA, September 9-13, 2012.
102. Shiromizu T, Adachi J, Tomonaga T “Quantitative proteomic profiling of orthotopic xenograft mouse model of colorectal cancer metastasis.” HUPO2012 11th World Congress, Boston, USA, September 9-13, 2012.
103. Adachi J, Higo D, Watanabe S, Kuwano M, Hashimoto Y, Tomonaga T “ATP Accessibility Screening (AAS), a high-throughput and high-resolution

kinase analysis platform for
signaling research” 2nd
Copenhagen Bioscience Conference,
Copenhagen, Denmark, 2-5
December, 2012.

3. 発明の名称：「大腸がんの判定方法」
発明者：朝長 毅、久米秀明
出願日：2012年12月27日(国内出願)
出願番号：特願 2012-274638(国内出願)
出願人：独立行政法人医薬基盤研究所

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 発明の名称：

「乳がん治療の予後判定方法」

発明者：朝長 毅、村岡 賢、村上達夫、
加藤菊也、宮本泰豪

出願日：2012年5月23日(国内出願)
出願番号：特願 2012-117961(国内出願)
出願人：独立行政法人医薬基盤研究所

2. 発明の名称：「大腸癌治療剤」

発明者：朝長 毅、久家貴寿、久米秀明
出願日：2012年6月15日(国内出願)
出願番号：特願 2012-135619(国内出願)
出願人：独立行政法人医薬基盤研究所

4. 発明の名称：

「癌が疑われる患者または患者由来
の組織の癌部と非癌部との判別方
法およびそれに用いる判別試薬」

発明者：清宮正徳、朝長 毅、宮崎 勝、
野村文夫

出願日：2008年10月14日(国内出願)
出願番号：特願 2008-264794(国内出願)
出願人：国立大学法人千葉大学、日東紡
績株式会社

特許番号：特許第 5133842 号

登録日：2012年11月16日

II. 分担研究報告

肝移植後 C 型肝炎に対する治療法の標準化を目指した 臨床的ならびに基礎的研究

研究代表者 上本伸二 京都大学大学院医学研究科肝胆膵・移植外科学講座 教授
研究分担者 千葉 勉 京都大学大学院医学研究科消化器内科学講座 教授
研究分担者 上田佳秀 京都大学医学部附属病院臓器移植医療部 講師
研究分担者 丸澤宏之 京都大学大学院医学研究科消化器内科学講座 講師

研究要旨

肝移植後 C 型肝炎に対する最適な治療法を確立することを目的とし、京都大学にてこれまでに行われた 125 例の抗ウイルス治療症例について、有害事象の現状について解析を行った。その結果、21 例（17%）において、多様な重大な有害事象が生じていることが明らかとなった。中でも、肝移植症例特有の有害事象として慢性拒絶が 7 例（6%）に、de novo 自己免疫性肝炎が 4 例に生じていた。慢性拒絶の危険因子として、治療中の免疫抑制剤の減量と治療開始前の線維化が軽度であることの 2 点が同定された。

肝移植後 C 型肝炎症例 8 例に対してテラプレビル＋ペグインターフェロン＋リバビリン治療導入を行った。テラプレビルと免疫抑制剤との相互作用を克服するため、まず、タクロリムスからシクロスポリンへのコンバートを行い、その後、テラプレビル開始してシクロスポリンの血中濃度調節、安定してからペグインターフェロン＋リバビリン開始した。現在のところ重大な有害事象なく治療続行可能であった。

肝移植後 HBV 再発予防法を最適化することを目的とし、B 型肝炎ワクチンの効果について検討を行った。その結果、HBc 抗体陽性ドナーからの肝移植レシピエント、ならびに HBV による急性肝不全症例に対しては、短期間で高率に HBs 抗体の獲得が可能であり、HBIG の中止が可能であった。今後、B 型肝炎ワクチンを含めた肝移植後 HBV 対策法を確立する。

肝移植後 C 型肝炎の治療効果に関与するウイルス側因子の解析のため、肝移植前後の HCV の遺伝子配列を次世代ゲノムアナライザーにより解析した。血中と肝組織中の HCV の存在様式は同様であることが明らかとなった。さらに、肝移植後の HCV のダイナミックな変化の包括的解析から、肝移植後には特定の HCV クローンが増加していると考えられた。治療効果に関与する HCV 遺伝子配列の特徴については現在解析中であり、治療効果予測へとつなげていくことが期待できる。

A. 研究目的

1. C型肝炎ウイルス(HCV)による肝硬

変・肝細胞癌の治療法のひとつと

して肝移植が定着しつつある。し

かしながら、HCV陽性肝疾患の肝移植後は大部分の症例でC型肝炎が再発し、再発後は急速に進行するため、その長期予後は不良である。予後改善のために抗ウイルス治療が行われているが、治療効果は低く、有害事象が多いことが明らかとなっており、標準的治療は確立されていない。テラプレビルを含む3剤併用療法による治療効果向上が期待されていたが、代謝酵素が同じであるカルシニューリン阻害剤の血中濃度を顕著に上昇させることが問題となる。そのため、今回、臨床研究として以下の2点を解析することにより、最適な治療法を確立することを目的とした。

- 1-a. 肝移植後C型肝炎に対する抗ウイルス治療による有害事象、特に肝移植後特有の有害事象である慢性拒絶とde novo 自己免疫性肝炎についての現状を明らかにし、関与する因子を同定する。
- 1-b. 肝移植後C型肝炎に対するテラプレビル+ペグインターフェロン+リバビリン治療の安全な導入方法を明らかにする。
2. 肝移植後のB型肝炎ウイルス (HBV) 感染の問題として、異なる2つの病態が存在する。ひとつは、HBs抗原陽性レシピエントにおける肝移植

後のB型肝炎、もうひとつは、HBc抗体陽性ドナーからの肝移植後のレシピエントにおけるB型肝炎である。これらのレシピエントの肝移植後のB型肝炎再発を予防するために、現在は核酸アナログ製剤と高力価HBs抗体含有免疫グロブリン製剤 (HBIG) の併用または単独投与が生涯に渡り行われる。これらによりHBV再発予防が可能であるが、HBIGはヒト血液を原料とするため供給量に限界があり、医療費や安全性の面でも大きな問題を有している。この問題に対し、B型肝炎ワクチン投与により能動免疫を誘導することによりHBIGの減量や中止の試みを行っている。今回、最適な肝移植後HBV再発予防法を確立することを目的とし、B型肝炎ワクチンの有効性を明らかにした。

3. 次世代ゲノムアナライザーを用いることにより、多様なウイルス・クローンの集合体であるHCV感染の全体像の把握が可能であることを昨年度の研究により明らかにした。この手法を用いることにより、肝移植後のウイルス変異の多様性とそのダイナミズムを明らかにできると考えられる。今回、肝移植前後のHCVの変化を包括的に解析し、HCVの増殖能、重症化、治療効果に関連する

HCV配列の特徴を同定することを目的とした。

B. 研究方法

1-a. 京都大学にて2012年9月までに行われた肝移植後C型肝炎再発に対する抗ウイルス治療施行例125例に生じた重大な有害事象ならびにそれに関与する因子について解析を行った。

1-b. 肝移植後C型肝炎症例8例に対して以下の3段階の方法にてテラプレビル+ペグインターフェロン+リバビリン治療導入を行った。1. タクロリムスからシクロスポリンへのコンバート、2. テラプレビル開始とシクロスポリン血中濃度調節、3. ペグインターフェロン+リバビリン開始。これらの症例から、投与方法、薬物血中濃度の測定と解析、有害事象対策について解析を行った。

2. 京都大学にて2012年9月までにB型肝炎ワクチン投与を行った肝移植後症例55例（HBV陽性レシピエント36例、HBc抗体陽性ドナーからの肝移植後レシピエント19例）の効果について解析を行った。

3. HCV陽性肝移植症例の血中ならびに肝組織に存在するHCVクローンの多

様性の特徴ならびに肝移植後の変化を明らかにするため、HCVの次世代ゲノムアナライザー解析を行った。血中ならびに肝組織からRNAを抽出し、HCV-RNAをHCV特異的なプライマーを用いたRT-PCR法にて増幅後、次世代シーケンサーにて遺伝子配列を同定し、コンピューターソフトを用いてHCVの多様性や肝移植後の変化、治療効果との関連について解析を行った。

（倫理面への配慮）

当該施設における倫理委員会の承認の上で行った。

C. 研究結果

1-a. 肝移植後C型肝炎に対する抗ウイルス治療による有害事象と予測因子：

肝移植後C型肝炎再発に対する抗ウイルス治療施行例125例について、有害事象を解析した結果、21例（17%）において、多様な重大な有害事象が生じていることが明らかとなった。中でも、肝移植症例特有の有害事象として慢性拒絶が7例（6%）に、*de novo*自己免疫性肝炎が4例に生じていた。慢性拒絶例7例中6例が致死的であった。慢性拒絶を発症した7例と、抗ウイルス治療を1年以上行い慢性拒絶を認めなかった76例を比較した結果、治療

中の免疫抑制剤の減量と治療開始前の線維化が軽度であることの2点が危険因子として同定された。

1-b. 肝移植後C型肝炎に対するテラプレビル+ペグインターフェロン+リバビリン治療導入：

タクロリムスからシクロスポリンへのコンバートは、全例で拒絶反応を生じることなく、中央値9日（7-13日）で血中濃度の安定化が可能であった。テラプレビル導入によってシクロスポリンの血中濃度の上昇と半減期の延長を認めしたが、シクロスポリン内服量の減量と投与間隔の延長にて血中濃度安定化が可能であった。安定化までの期間は中央値8日（6-14日）であり、シクロスポリンの内服量は中央値でテラプレビル開始前の33%（25%-50%）に減少した。血中濃度安定化後にペグインターフェロンとリバビリンの導入を行った。全例で全身倦怠感、貧血、高尿酸血症、腎障害の有害事象を認めしたが、治療継続可能であった。有害事象はテラプレビル血中濃度が高い症例で強い傾向にあった。血中HCV-RNAは全例で7週以内に検出感度以下となった。以上より、薬物血中濃度モニタリングと投与量の調節により、肝移植後C型肝炎に対するテラプレビルを含む3剤併用

療法の安全かつ効果的な導入が可能であることが明らかとなった。

2. 肝移植後HBV再発予防としてのB型肝炎ワクチンの効果：

HBIGを中止する方法として、レシピエント自身の免疫反応によってHBs抗体の獲得することを目的に、B型肝炎ワクチン投与を行った。HBc抗体陽性ドナーから肝移植を受けたレシピエント19例、HBVによる急性肝不全レシピエント12例、ならびにHBVによる肝硬変レシピエント24例を対象とした。これらの症例に対して、B型肝炎ワクチン20 μ gを月1回投与し、HBs抗体価の推移を観察した。HBs抗体が200mIU/mL以上に上昇し、HBIGの投与を中止できた症例を成功例とした。その結果、B型肝炎ワクチン成功例は、HBc抗体陽性ドナーから肝移植を受けたレシピエント19例中14例（74%）、HBVによる急性肝不全レシピエント12例中10例（83%）、HBVによる肝硬変レシピエント24例中10例（42%）であった。HBs抗体獲得までのB型肝炎ワクチン投与回数の中央値は、HBc抗体陽性ドナーから肝移植を受けたレシピエントでは3回（2-5回）、HBVによる急性肝不全レシピエントでは3回（1-12回）、HBVによる肝硬変レシピエントでは10回（3-32回）であった。

3. HCVの次世代ゲノムアナライザー

解析：

HCV 陽性肝移植症例における血中ならびに摘出肝組織における次世代ゲノムアナライザー解析の結果、血中と肝組織に存在する HCV はいずれも多様性に富んでいるが、ウイルスの配列やその割合は血中と肝組織でほぼ同一であった。特に、薬剤耐性変異やインターフェロン効果を規定する HCV 遺伝子の変異部位においては、存在するウイルス株の比率は血中と肝組織でほぼ同一であった。Shannon entropy 値で計算される血中の HCV の genetic complexity について解析した結果、肝移植前と比較して肝移植後 4 週間では著明な genetic complexity の低下を認めることが明らかになった（下図）。すなわち、肝移植後の HCV 再感染ならびに複製過程においては特定の HCV クローンが増加していると考えられた。次に、再感染・複製能の強い HCV の遺伝子配列の特徴について解析を行ったが、多くの症例に共通する特定の配列の変化は同定できなかつた。一方、肝移植前にはすべての症例で HCV の構造蛋白質領域の遺伝子を欠く欠損 HCV が存在していたが、肝移植後の再感染・複製過程では欠損 HCV が検出されなくなり、全長配列の HCV が優位に増加することが明らかとなった。

D. 考察

肝移植後 C 型肝炎再発に対する治療によって多数の重篤な有害事象が生じることが明らかとなった。中でも、慢性拒絶反応と de novo 自己免疫性肝炎が肝移植症例に特異的な有害事象として生じることがわかった。慢性拒絶は発症すると致死的であるため、予防ならびに早期発見が重要である。今回、慢性拒絶例の特徴として、治療中の免疫抑制剤減量と治療開始前の線維化が軽度であることの 2 点が明らかとなった。このことから、慢性拒絶を予防するためには、抗 HCV 治療中の免疫抑制剤減量を避けること、線維化が進んでいない状態での容易な抗 HCV 治療導入は行わないことが重要と考えられた。

肝移植後 C 型肝炎再発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は低く、上記のように有害事象も多いことを明らかにしてきた。治療効果の改善のためには、新規治療薬であるテラプレビル[®]の導入が望ましいと考えられる。テラプレビルを加えることによって治療期間が短縮できることが予想され、長期治療後の生じる頻度が高い重篤な有害事象を回避できる可能性もある。今回、薬物相互作用を克服し、テラプレビル+ペグインターフェロン+リバビリン治療の導入が可能であることを明らかとした。テラプレビルとの相互作用の少ないシクロスポリン[®]への変更と薬物血中濃度の頻回の

モニタリングにより、肝移植後症例に対してもテラプレビルの安全な使用が可能であった。現在までの抗 HCV 効果は良好であるが、今後の最終判定ならびに有害事象の解析から、新規プロトコールの作成が可能であると期待できる。

肝移植後 HBV 活性化に対するより適切な対策法の確立のため、B 型肝炎ワクチンは非常に有効な方法であることが明らかとなった。特に、HBc 抗体陽性ドナーからの肝移植レシピエント、ならびに HBV による急性肝不全症例に対しては、短期間で高率に HBs 抗体の獲得が可能であり、今後、積極的に導入すべきである。一方で、HBV による肝硬変レシピエントに対する B 型肝炎ワクチンの効果は低く抗体獲得には長期間の投与を必要とするため、さらなる対策法が必要であると考えられる。

肝移植前後の HCV の次世代ゲノムアナライザーによる解析により、肝炎ウイルス遺伝子配列の包括的かつ大規模な解析が可能であった。まず、血中と肝組織中の HCV の存在様式は同様であることを明らかにし、血中での HCV 解析が有用であることが確認された。さらに、肝移植後の HCV のダイナミックな変化を詳細に解析し、肝移植後には特定の HCV クローンが増加していると考えられた。治療効果に関与する HCV 遺伝子配列については現在解析中であり、治療効果予測へとつなげていくことが期待できる。

E. 結論

肝移植後 C 型肝炎ならびに肝移植後 B 型肝炎対策の現状が明らかになり、HCV に対するテラプレビルの使用や HBV に対する B 型肝炎ウイルスワクチンの有効性など、新たな対策法の確立を行った。さらに、次世代ゲノムアナライザーを用いた HCV 研究により、肝移植後の HCV 変化の全体像が解析可能であった。今後、さらに臨床ならびに基礎の両面から包括的に研究を進め、有効で有害事象の少ない対策法の確立を目指す。

F. 研究発表

[論文発表]

1. Kaido T, Mori A, Ogura Y, Hata K, Yoshizawa A, Iida T, Yagi S, Uemoto S. Living donor liver transplantation for recurrence hepatocellular carcinoma after liver resection. *Surgery* 151(1): 55-60, 2012.
2. Kaido T, Mori A, Ogura Y, Ogawa K, Hata K, Yoshizawa A, Yagi S, Uemoto S. Pre- and perioperative factors affecting infection after living donor liver transplantation. *Nutrition* 28(11-12): 1104-8, 2012.
3. Kaido T, Ogura Y, Ogawa K, Hata K, Yoshizawa A, Yagi S, Uemoto S. Effects of post-transplant enteral nutrition with an immunomodulating diet containing hydrolyzed whey peptide after liver transplantation. *World J Surg* 36(7):

- 1666-71, 2012.
4. Mori A, Kaido T, Ogura Y, Ogawa K, Hata K, Yagi S, Yoshizawa A, Isoda H, Shibata T, Uemoto S. Standard of hepatic vein reconstruction with patch plasty using native portal vein in adult living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 18(5):602-607, 2012.
 5. Hori T, Uemoto S, Gardner LB, Sibulesky L, Ogura Y, Nguyen JH. Left-side grafts for living-donor liver transplantation and split grafts for deceased-donor liver transplantation: their impact on long-term survival. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 36(1): 47-52, 2012.
 6. Hori T, Egawa H, Uemoto S. Antibody-mediated rejection after adult living-donor liver transplantation triggered by positive lymphocyte cross-match combination. *Annals of Gastroenterology* 25 (1): 66-72, 2012.
 7. Hori T, Ogura Y, Ogawa K, Kaido T, Segawa H, Okajima H, Kogure T, Uemoto S. How transplant surgeons can overcome the inevitable insufficiency of allograft size during adult living-donor liver transplantation: strategy for donor safety with a smaller-size graft and excellent recipient results. *Clinical Transplantation* 26 (3): E324-34, 2012.
 8. Hori T, Kaido T, Tamaki N, Toshimitsu Y, Ogawa K, Uemoto S. An adult with primary hyperoxaluria type 1 regrets not receiving preemptive liver transplantation during childhood: report of a case. *Surgery Today*, Epub 2012 (in press)
 9. Yagi S, Uemoto S. Small-for-size syndrome in living donor liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 15;11(6) :570-6, 2012.
 10. Raut V, Mori A, Kaido T, Ogura Y, Iida T, Nagai K, Sasaki N, Endo K, Hata K, Yagi S, Egawa H, Uemoto S. Splenectomy does not offer immunological benefits in ABO-incompatible liver transplantation with a preoperative rituximab. *Transplantation* 93(1): 99-105, 2012.
 11. 海道利実、上本伸二 他. 【臓器移植における脳死ドナー評価と管理の現状と展望】 脳死肝移植におけるドナー評価・摘出の現状と今後の展望. *Organ Biology* 19(1): 59-63, 2012.
 12. 海道利実、上本伸二 他. 肝移植の適応拡大～Milan vs Kyoto～. *クリニシア* 59(11):31-38, 2012.
 13. 海道利実、上本伸二 他. 高齢化社会を迎えての臓器移植の展望：高齢ドナー移植の現状と問題～肝臓移植. *移植* 47(2,3):142-151, 2012.
 14. 海道利実、上本伸二 他. 生体肝移植及び脳死肝移植の成績. *肝疾患 Review* 2012-2013, 169-176, 2012.
 15. Ueda Y, Marusawa H, Kaido T, Ogura Y, Oike F, Mori A, Ogawa K, Yoshizawa A, Hatano E, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Egawa H, Takada Y, Uemoto S, Chiba

- T. Effect of maintenance therapy with low-dose peginterferon for recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation. *J Viral Hepat.* 2012; 19(1):32-38.
16. Takahashi K, Marusawa H, Chiba T: Large-scale identification of effector genes that mediate the type I interferon antiviral response (Selected Summary). *Gastroenterology* 142:178-180:2012.
17. Okuyama S, Marusawa H, Matsumoto T, Ueda Y, Matsumoto Y, Endo Y, Takai A, Chiba T. Excessive activity of apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide 2 (APOBEC2) contributes to liver and lung tumorigenesis. *Int J Cancer* 130:1294-1301:2012.
18. Nishijima N, Marusawa H, Ueda Y, Takahashi K, Nasu A, Osaki Y, Kou T, Yazumi S, Fujiwara T, Tsuchiya S, Shimizu K, Uemoto S, Chiba T. Dynamics of Hepatitis B Virus Quasispecies in Association with Nucleos(t)ide Analogue Treatment Determined by Ultra-Deep Sequencing. *PLoS One.* 2012;7(4):e35052.
19. Ueda Y, Kaido T, Ogura Y, Ogawa K, Yoshizawa A, Hata K, Fujimoto Y, Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Marusawa H, Teramukai S, Uemoto S, Chiba T: Pretransplant serum hepatitis C virus RNA levels predict response to antiviral treatment after living donor liver transplantation. *Plos One* 8:e58380:2013.
20. Ueda Y, Marusawa H, Kaido T, Ogura Y, Ogawa K, Yoshizawa A, Hata K, Fujimoto Y, Nishijima N, Chiba T, Uemoto S. Efficacy and safety of prophylaxis with entecavir and hepatitis B immunoglobulin in preventing hepatitis B recurrence after living donor liver transplantation. *Hepatol Res.* 43:67-71:2013.
21. Maruoka R, Aoki N, Kido M, Iwamoto S, Nishiura H, Ikeda A, Chiba T, Watanabe N: Splenectomy prolongs the effects of corticosteroids in mouse models of autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 2013 (in press) doi:10.1053/j.gastro.2013.03.11.
22. 上田 佳秀. 肝移植の適応と移植後の抗ウイルス療法. *医学のあゆみ*.2012:240(9): 799-803.
23. 上田 佳秀. 肝胆膵領域のEBM Update 2012 肝移植. *肝胆膵* 64(3): 367-371, 2012
24. 上田 佳秀. 臨床検査の分子生物学第14回 抗がん剤、免疫調節薬投与中の肝炎ウイルスマーカーの測定の意義. *分子消化器病* 9(2): 49-53, 2012
25. 上田 佳秀. ドナー拡大におけるHCV陽性ドナー 肝臓移植. *移植* 47(6): 356-360, 2012.

[学会発表]

1. Kaido T, Uemoto S, et al : LDLT for HCC: Validation of our expanded

- criteria. 10th IHPBA, July 4, 2012, Paris, France.
2. Kaido T, Uemoto S, et al : Our new perioperative nutritional therapy in liver transplantation. Annual Congress of Korea YeungNam Society for Parenteral and Enteral Nutrition, June 23, 2012, Busan, Korea.
 3. Ogura Y, Uemoto S, et al : Treatment of hepatic epithelioid hemangioendothelioma with extra-hepatic lesion by combination of living donor liver transplantation and early introduction of thalidomide and rapamycin. The ILTS 18th Annual International Congress, May 16-19, 2012, San Francisco, U.S.A.
 4. 小川晃平、上本伸二他：肝細胞癌治療における肝移植の現状と方向性. 第 112 回日本外科学会学術集会, 2012 年 4 月 11 日-13 日, 千葉.
 5. 八木眞太郎、上本伸二他：Small-for-size 肝移植に対する一酸化窒素を使った臓器保存の効果. 第 112 回日本外科学会学術集会, 2012.4.11-13, 千葉.
 6. 海道利実、上本伸二他：再発予防の観点から見た肝細胞癌集学的治療における肝移植の意義. 第 98 回日本消化器病学会, 2012.4.20, 東京.
 7. 海道利実、上本伸二他：肝癌治療における肝移植の意義. 第 24 回日本肝胆膵外科学会学術集会, 2012.5.30-6.1, 大阪.
 8. 海道利実、上本伸二他：臓器移植法改正後、脳死肝移植医療はどう変わったか? 第 24 回日本肝胆膵外科学会学術集会, 2012.5.30-6.1, 大阪.
 9. 中村育夫、上本伸二他：レシピエント肝内門脈、臍静脈による、生体肝移植右葉グラフト V5V8 の血管再建の工夫. 第 24 回日本肝胆膵外科学会学術集会, 2012.5.30-6.1, 大阪.
 10. 海道利実、上本伸二他：臓器移植法改正後の急性肝不全に対する移植 strategy の変化. 第 38 回日本急性肝不全研究会, 2012.6.6, 金沢.
 11. 海道利実、上本伸二他：ワークショップ肝細胞癌の個別化医療 腫瘍の個数とサイズを超えて 肝癌肝移植の個別化治療における腫瘍マーカーの意義. 第 48 回日本肝臓学会総会, 2012.6.7-6.8, 金沢.
 12. 海道利実、上本伸二他：ワークショップ脳死肝移植の現状と我が国における今後の肝移植の展開 法改正後の脳死肝移植医療の現状と変化. 第 48 回日本肝臓学会総会, 2012.6.7-6.8, 金沢.
 13. 海道利実、上本伸二他：シンポジ

- ウム 長期生存の観点から見た肝細胞癌治療戦略における肝移植の意義. 第 48 回日本肝臓学会総会, 2012.6.7-6.8, 金沢.
14. 小川晃平、上本伸二他：Rituximab 及び局所注入療法を用いた血液型不適合生体肝移植成績. 第 30 回日本肝移植研究会, 2012.6.14-6.15, 福岡.
 15. 海道利実、上本伸二他：シンポジウム 肝癌肝移植における Best criteria in Japan の確立に向けて. 第 30 回日本肝移植研究会, 2012.6.14-6.15, 福岡.
 16. 森章、上本伸二他：原発性胆汁性肝硬変に対する肝移植後の中長期成績. 第 30 回日本肝移植研究会, 2012.6.14, 福岡.
 17. 八木眞太郎、上本伸二他：Small-for-size 肝移植に対する一酸化窒素による臓器保存の効果. 第 30 回日本肝移植研究会, 2012.6.14, 福岡.
 18. 岡村裕輔、上本伸二他：生体肝移植後、カルシニューリン阻害剤が原因で発症し治療に難渋した血栓性微小血管障害症 (TMA) の 1 例. 第 67 回日本消化器外科学会総会, 2012.7.20, 富山.
 19. 小川晃平、上本伸二他：肝機能からみた肝細胞癌に対する治療戦略 肝細胞癌に対する肝移植治療成績. 第 67 回日本消化器外科学会総会, 2012.7.20, 富山.
 20. 海道利実、上本伸二他：肝細胞癌に対する肝移植の現状と問題点. 第 48 回日本肝癌研究会, 2012.7.21, 金沢.
 21. 海道利実、上本伸二他：シンポジウム 臓器移植法改正後の脳死肝移植症例の検証. 第 48 回日本移植学会総会, 2012.9.21, 名古屋.
 22. 小倉靖弘、上本伸二他：生体肝移植とサリドマイド、ラパマイシンの術後早期導入を行った肝外病変を有する肝類上皮血管内皮腫の一例. 第 48 回日本移植学会総会, 2012.9.21, 名古屋.
 23. 岩永康裕、上本伸二他：当院における膵島移植の現況と将来展望. 第 50 回日本人工臓器学会総会, 2012.11.24, 福岡.
 24. 海道利実、上本伸二他：シンポジウム Keynote lecture 肝移植における免疫抑制療法の現状と今後の展開. 第 39 回日本臓器保存生物医学会, 2012.11.16-17, 福島.
 25. 海道利実、上本伸二他：パネルディスカッション臓器移植後の感染症とその対策 肝移植後細菌感染症に対する予知・予防対策 早期経腸栄養と PCT 測定の有用性. 第 25 回日本外科感染症学会学術集会, 2012.11.21-22, 千葉.

26. 上田佳秀、丸澤宏之、上本伸二、千葉 勉: 肝移植後 C 型肝炎再発対策の現状と問題点. 第 109 回日本内科学会総会, 2012.4.14, 京都.
27. 渡部則彦、青木信裕、池田亜希: 新規疾患モデルによる自己免疫性肝炎 (AIH) の病態機構の解明. 第 98 回日本消化器病学会総会, 2012.4.20, 東京.
28. 恵荘裕嗣、金 秀基、丸澤宏之、大崎往夫、千葉 勉: 改良型 PIVKA-II 測定試薬「NX..PVKA..R」の肝細胞癌診断における有用性. 第 98 回日本消化器病学会総会, 2012.4.20, 東京.
29. 栗田 亮、児玉裕三、千葉 勉: 生体肝移植後胆管狭窄に対するチューブステントの胆管内留置法の成績. 第 83 回日本消化器内視鏡学会総会, 2012.5.14, 東京.
30. Ryutaro Maruoka, Nobuhiro Aoki, Masahiro Kido, Satoru Iwamoto, Hisayo Nishiura, Aki Ikeda, Tsutomu Chiba, Norihiko Watanabe: Splenectomy overcomes therapeutic insufficiency of corticosteroids and induces prolonged remission of autoimmune hepatitis in mice. DDW2012, 2012.5.21, San Diego, USA.
31. Takahiro Shimizu, Hiroyuki Marusawa, Tsutomu Chiba: Activation-induced cytidine deaminase links chronic inflammation to genetic instability leading to carcinogenesis. Keystone Symposia 2012, 2012.5.23, Dublin, Ireland.
32. 金 秀基、上田佳秀、丸澤宏之、羽賀博典、上本伸二、千葉 勉: 肝移植後 C 型肝炎治療の重大な有害事象—慢性拒絶と de novo 自己免疫性肝炎. 第 48 回日本肝臓学会総会・ワークショップ, 2012.6.8, 金沢.
33. 那須章洋、丸澤宏之、千葉 勉: 本邦における薬剤耐性 HCV クローンの潜在頻度の次世代シーケンサー解析. 第 48 回日本肝臓学会総会・ワークショップ, 2012.6.8, 金沢.
34. 恵荘裕嗣、金 秀基、丸澤宏之、千葉 勉、木村 達、大崎往夫: 新規 PIVKA-II 測定試薬”NX-PVKA-R”の肝細胞癌診断における有用性. 第 48 回日本肝臓学会総会・オープンワークショップ, 2012.6.7, 金沢.
35. 上田佳秀、丸澤宏之、羽賀博典、上本伸二、千葉 勉: 原因不明の肝硬変症例に対する肝移植後の NASH 発症. 第 48 回日本肝臓学会総会・ワークショップ, 2012.6.7, 金沢.
36. 金 秀基、上田 佳秀、海道 利実、小倉 靖弘、小川 晃平、吉澤 淳、秦 浩一郎、藤本 康弘、伊藤 孝司、丸澤 宏之、宮川 文、羽賀 博典、千葉 勉、上本 伸二: 肝移植後 C 型肝炎治療の現状と問題点. 第 30

- 回日本肝移植研究会・シンポジウム, 2012.6.14, 福岡.
37. 上田 佳秀、吉澤 淳、海道 利実、小倉 靖弘、岡本 晋弥、小川 晃平、秦 浩一郎、藤本 康弘、伊藤 孝司、丸澤 宏之、宮川 文、羽賀 博典、千葉 勉、上本 伸二：肝移植後 HBV 対策の現状と問題点. 第 30 回日本肝移植研究会・シンポジウム, 2012.6.14, 福岡.
38. 金 秀基、上田佳秀、上本伸二：肝移植後 C 型肝炎治療における脾摘の意義. JDDW2012 第 16 回日本肝臓学会大会・パネルディスカッション, 2012.10.10, 神戸.
39. 池田敦之、丸澤宏之、千葉 勉：次世代シーケンサーの肝疾患診療への応用～肝発癌のゲノム診断～. JDDW2012 第 16 回日本肝臓学会大会・シンポジウム, 2012.10.11, 神戸.
40. 高橋 健、那須章洋、丸澤宏之：C 型肝炎ウイルス薬剤耐性クロームの次世代ゲノムアナライザー解析. JDDW2012 第 54 回日本消化器病学会大会・シンポジウム, 2012.10.10, 神戸.
41. 荒澤壮一、上田佳秀、西島規浩、木村勇斗、米門秀行、上尾太郎、丸澤宏之、千葉 勉：HBs 抗原陰性を示し HBV-DNA 陽性肝細胞癌症例のウイルスゲノム解析. JDDW2012 第 16 回日本肝臓学会大会, 2012.10.10, 神戸.
42. 高橋 健、上田佳秀：B 型肝炎再活性化における HBs 抗体の意義と活性化ウイルスのゲノム解析. 第 99 回日本消化器病学会総会・ワークショップ, 2013.3.22, 鹿児島.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

該当なし

移植後ウイルス血漿を呈する宿主因子の探索とウイルス増殖予防法の開発

研究分担者 下遠野 邦忠 国立国際医療研究センター 特任部長

研究要旨

HCV の増殖はそれを制御する宿主因子により規定される。これまでに多くの宿主因子が HCV の増殖を正あるいは負に制御している事が明らかにされている。一方、感染細胞を取り巻く環境もウイルスの増殖を規定する要因のひとつである。本研究では HCV 感染肝細胞が取り巻く環境の変化がウイルス産生に影響を与えるかについて、培養細胞系を用いて解析した。その結果 HCV 感染細胞は肝星細胞とサイトカインを介したクロストークをしており、それが感染肝細胞の運命を決め、その結果ウイルスの産生に影響を与えると考えられる結果を得た。

A. 研究目的

C 型肝炎ウイルス（HCV）感染による肝疾患増悪の結果肝移植を受けた患者の中には移植後に HCV が再活性化され、慢性肝炎を再発するようになる場合が多い。免疫抑制剤投与によるために、ウイルス増殖が許容される環境に曝されたためと考えられ、ウイルス血症を呈するようになる。近年インターフェロン、リバビリン以外にウイルスタンパク質の機能を直接抑制する薬剤(DAA)が上市されてきており、インターフェロンが使用できない場合でもウイルス血症を抑える選択肢が増えつつある。しかし、これらの薬剤も副作用の問題があるために、全ての患者に有効とはいえないのが現状である。

HCV の感染、増殖には種々の宿主因

子が関与している。その中でもウイルスの複製を積極的に抑制する宿主因子が明らかになれば、その因子の活性化を通して、ウイルス血症に対処することができる可能性がある。一方、ウイルス感染細胞の肝組織内環境の変化もウイルス産生に影響を与える可能性が高い。そこで、HCV 感染肝細胞を取り巻く周辺細胞のうち特に肝星細胞との相互作用を、培養細胞の系を用いて解析し、HCV 産生にどのような効果を与えるかについて調べる事を目的とした。

B. 研究方法

肝星細胞は類洞と肝細胞の間に介在する間質細胞であり、肝細胞と密にクロストークがあると考えられる。HCV 感染肝細胞の障害等により星細胞は繊