

図1 Telaprevir開始用量別のHCV RNA陰性率

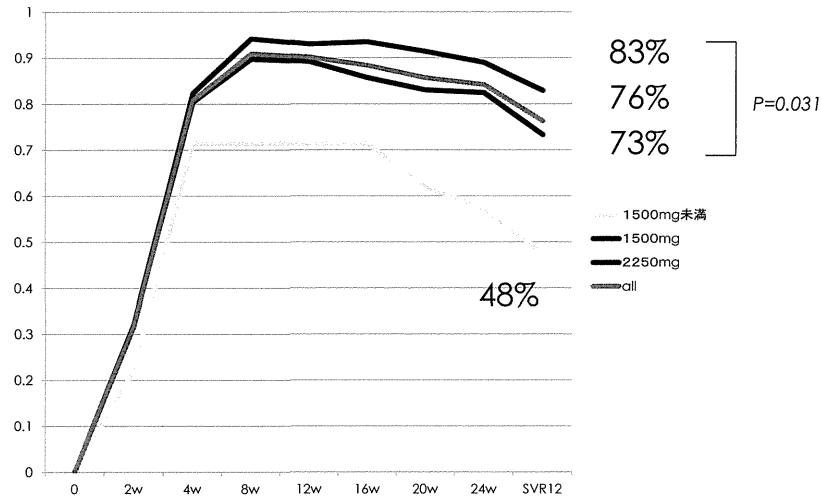


図2

治療状況別の治療効果

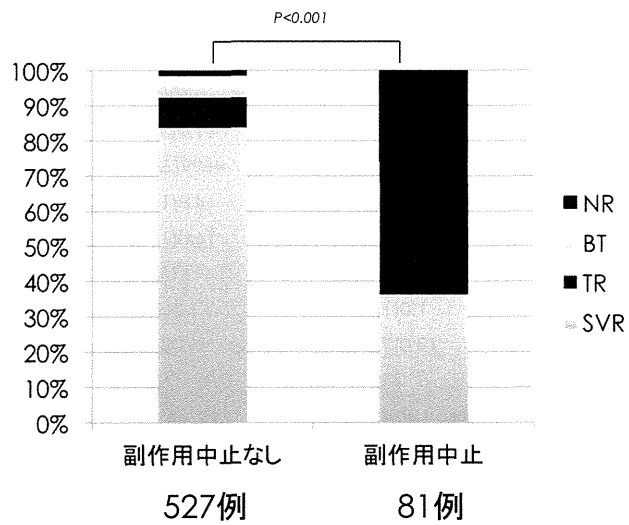


図3

副作用による3剤中止の理由

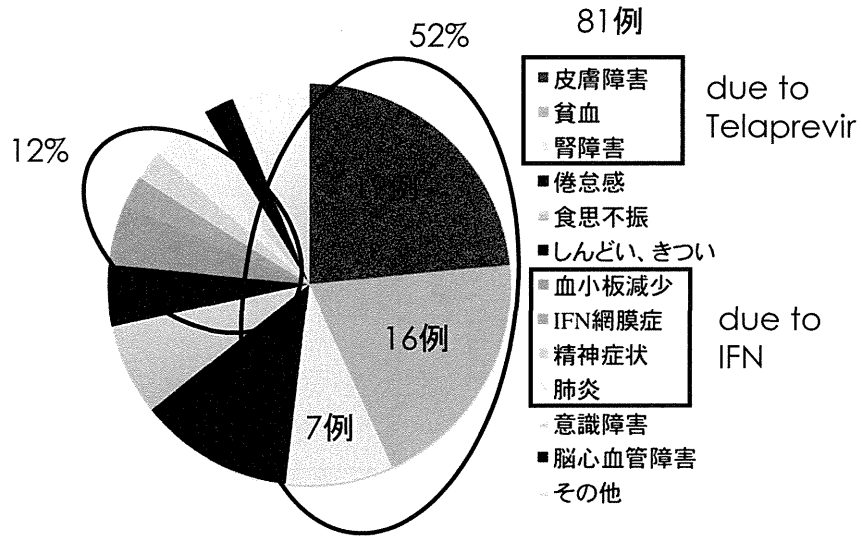


図4

pegIFNとRBVの投与率

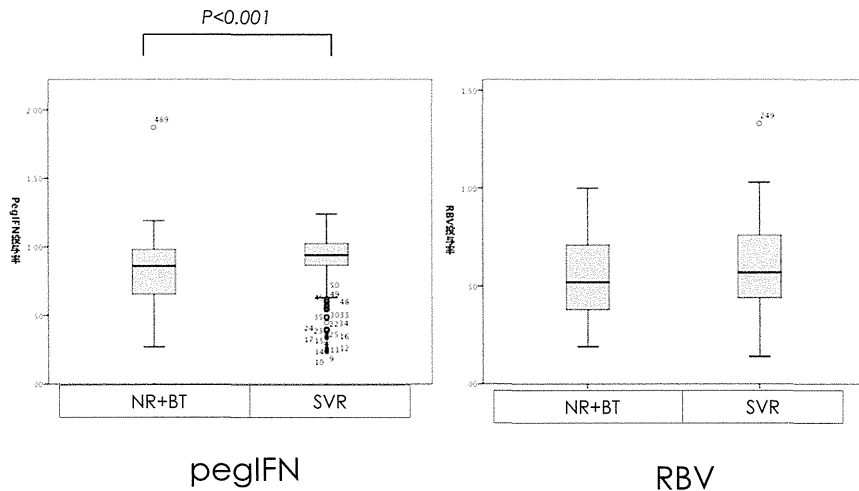


図5

AFP値のCut off

AFP :9 μ g/dl
 感度72%
 特異度80%

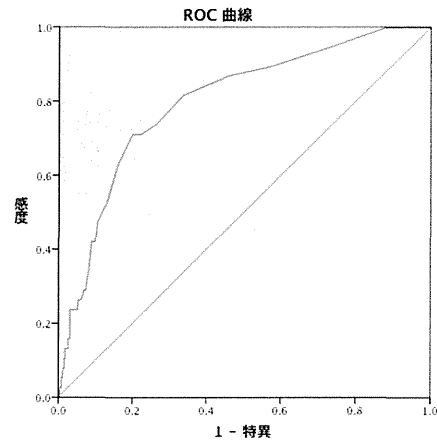
曲線下の領域積

検定結果変数: AFP(μ g/l)

面積	標準誤差 ^a	漸近有意確率 ^b	漸近 95% 信頼区間	
			下限	上限
.799	.037	.000	.725	.872

検定結果変数: AFP(μ g/l) は、正の実験の状態グループと負の実験の状態グループとの間に少なくとも1つの同一値を持ちます。統計量に偏りがあります。

- a. ノンパラメトリックの仮定のもとで
- b. 漸無仮説: 真の面積 = 0.5



対角セグメントは同一値により生成されます。

Ⅲ. 分担研究報告

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

肝線維化進展度評価における RTE（Real-time Tissue Elastography）

研究分担者 清家正隆 大分大学医学部肝疾患相談センター 診療教授

研究要旨：肝疾患の線維化評価は肝生検により行われるが、合併症やサンプリングエラーといった問題が認識されている。近年肝臓の硬さ、すなわち弾性度と線維化の相関性が示され、RTE や FibroScan など、エコーを用いた非侵襲的な方法や、血液検査の指標を用いた線維化評価が試みられている。今回肝線維化進展度評価を RTE を用いて LF Index を算出しその有用性について検討を行った。肝生検を行った 94 例に対して、肝線維化ステージ、肝組織の炎症、血清 AST/ALT、FIB-4、AST 血小板比 (APRI: aspartate aminotransferase to platelet ratio index)、および LF Index の相関を検討した。その結果 F3、F4 の評価に LF Index が最も優れていた。一方で肝組織の炎症と LF Index の相関はなかった。また、F0、F1 の同一ステージ内で、LF Index は BMI と相関するため、肥満者の場合その評価には十分留意する必要があることが示唆された。肝線維化の評価に肝の相対的なひずみを描出する Strain imaging 法による LTE を用いた LFX Index が有用であった。

共同研究者

遠藤美月 (大分大学医学部消化器内科)

本田浩一 (大分大学医学部消化器内科 助教)

A. 研究目的

肝疾患の治療において、肝線維化の程度を評価することは非常に重要である。確定診断は肝生検による診断がゴールドスタンダードであるが、侵襲的である。そのため、エコーを用いた非侵襲的な方法や、血液検査データを用いたスコアリングが注目されている。肝線維化進展度の非侵襲的な評価法として、肝の相対的なひずみを描出する Strain imaging 法である RTE の有用性について検討を行った。

B. 研究方法

対象は、当科にて 2010 年 9 月から 2013 年 8 月までに RTE を施行した 138 例中、同時期に肝生検を行なった 94 例 (表 1)。男性 44 例、女性 50 例、平均年齢は 53.5 ± 14.2 。BMI は $24.8 \pm 4.1 \text{ kg/m}^2$ 。AST、ALT の平均はそれぞれ $73.4 \pm 79.2 \text{ IU/L}$ 、 $106 \pm 143 \text{ IU/L}$ 、血小板数の平均は $19.2 \pm 8.0 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 。総ビリルビンは $0.78 \pm 0.42 \text{ mg/dl}$ 、Alb 値は $4.24 \pm 0.39 \text{ g/dl}$ 。肝生検による肝線維化および肝組織の炎症の評価は新犬山分類に従った。藤本ら (肝臓、59、539~541、2010) の方法を用い、RTE で得られた Liver Fibrosis Index (LF Index) および血液検査をベースとした線維化パラメーター (AST/ALT、FIB-4、APRI) の線維化診断能について検討を行った。また、肝線維化診断に寄与する因子の検討を行った。LF

Index は 4 回算出し、その平均値を求めた。解析ソフトは IBM SPSS Statistics ver. 21 を用いた。超音波装置は HI VISION Ascendus、HI VISION Preirus (日立アロカディカル、日本、東京) を用いた。

(倫理面への配慮)

肝生検は文書で同意を得て行った。RTE は口頭による同意を得て、通常 US の際に、併せて評価した。

C. 研究結果

1. 線維化ステージと LF Index の比較

線維化ステージが上昇するにつれて、LF Index も高値になり、特に F3、F4 では明らかに LF Index が高値であった。(図 1)

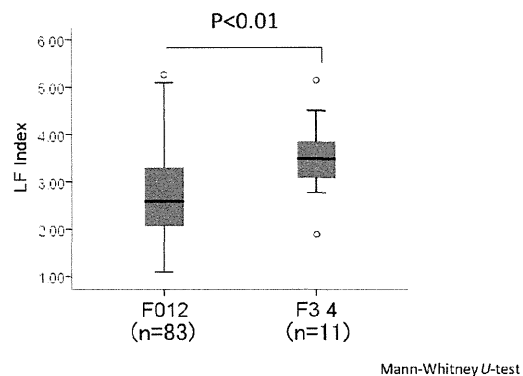


図1 線維化ステージとLF Index: F0-2 と F3-4における LF Indexの比較

2. 線維化と LF Index および血清マーカーとの相関 (表 1)

線維化と各種血清マーカーおよび LF Index を示す。単変量解析では Alb、PT、LF Index が抽出された、多変量解析では LF Index が有意に F3、4 の診断に寄与する因子であった。また、AUROC 解析では LF Index が最も線維化評価として優れていた。

表 1. advanced fibrosis(F3-4)の診断に寄与する因子の検討

	F0-2(n=83)	F3-4(n=11)	P-value (Univariate)	Odds ratio(95%CI) (Multivariate)
Age(years)	53.7±14.6	52.2±11.5	0.548	
BMI(kg/m ²)	24.7±4.2	26.1±3.4	0.174	
Plt	19.4±8.1	17.0±6.3	0.208	
TB	0.79±0.44	0.73±0.25	0.897	
Alb	4.27±0.38	4.02±0.44	0.035	
AST	71.8±81.5	84.9±60.6	0.087	
ALT	102.5±134.3	132.4±202.9	0.356	
PT	108.1±13.9	95.2±9.2	0.003	
LF index	2.68±0.89	3.49±0.88	0.005	2.151(1.018-4.544)
Fib4index	2.36±1.75	2.89±1.40	0.148	
AST/ALT	0.85±0.31	1.00±0.40	0.202	
APRI	1.26±1.94	1.57±1.31	0.053	

Multivariate analysis: Logistic regression

3. 肝組織の炎症と LF Index の相関

肝組織の炎症の程度 (A0-3) と LF Index には有意な相関はなかった。

4. LF Index における肥満の影響

F0、F1 の同一線維化ステージで、LF Index と肥満の影響を検討すると、BMI が高値になるにつれ LF Index は高くなり、相関が見られた。

	相関係数(r)	P値		相関係数(r)	P値
age	0.043	0.826	age	0.202	0.267
BMI	0.691	<0.001	BMI	0.736	<0.001
PLT	-0.248	0.194	PLT	-0.086	0.641
AST	-0.244	0.202	AST	-0.278	0.123
ALT	-0.210	0.275	ALT	-0.233	0.199
T-Bil	-0.174	0.366	T-Bil	0.066	0.722
Alb	-0.098	0.614	Alb	-0.012	0.948
PT	-0.278	0.153	PT	-0.032	0.863
F0			F1		

図2 F0(n=29)、F1(n=32)と診断された症例における検査データとLF Indexの相関

D. 考察

肝生検による線維化評価は gold standard であるが、①侵襲的であること、②サンプリングエラーがあることなどの問題点も指摘されている。そのため、肝生検の代替として、線維化を評価するため、非侵襲的なモダリティの開発が行われている。transient elastography (TE)、acoustic radiation force impulse (ARFI)や RTE がその代表的なもので、RTE は日本で開発された相対的なひずみを描出する Strain imaging を用いた非侵襲的かつリアルタイムに肝線維化を予測し得る検査法である。剪断波を用いた FibroScan に比し、炎症、黄疸、うっ血の影響を受けないとされ

る。今回の検討では炎症との相関はなかったが advanced fibrosis の鑑別に有用であった。一方 F0、F1 などの minimal fibrosis では、BMI が高値の例で LF Index が高くなる傾向が認められ、肥満者では肝線維化を過大評価する恐れがあり、注意が必要と考えられた。LF Index は血清学的なマーカーに比し有用であったが、肥満者での評価に限界がみられた。対象例に肝線維化進展例が少なかったため、今後は症例を増やして検討する必要である。また Transient elastography による評価との相違点など明らかにしそれぞれの評価法の特長と限界を認識し、肝線維化進展度を評価する必要があると考えられた。

E. 結論

RTE は相対的なひずみを描出する Strain imaging で比較的進行した線維化評価に有用である。肝組織の炎症の影響を受けないが、比較的線維化の進んでいない症例では肥満の影響を受け、評価に限界がみられた。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

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
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療による肝硬度の変化についての検討

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型慢性肝炎に対するIFN治療による肝線維化stageの改善を評価するために、IFN治療を施行した74例のC型慢性肝炎患者の肝硬度の変化をARFIを用いて検討した。測定はIFN治療前、治療終了時、治療後1年の3点で行った。治療前のVs値はSVR群ではNR群に比べて有意に低かった。IFN治療によるVs値の変化については、SVR群では治療終了時に有意に低下し、1年後にさらに有意に低下しており、肝線維化が改善していることが示唆された。一方Relapser群とNR群では、治療終了時、治療後1年までにVs値の有意な改善が認められなかった。

C型慢性肝炎に対するIFN治療による肝硬度の変化を評価することにより、治療効果の予測や効果判定（肝線維化進展度の改善）などについて有用な情報を提供できるものと考えられる。

A. 研究目的

C型慢性肝炎に対して、C型肝炎ウイルス(HCV)の除去を目的としてインターフェロン(IFN)治療が行われている。HCVの消失が効果判定の指標とされている。しかし治療の最終的な目標は肝硬変や肝癌への進展を防ぐことであり、治療後の肝線維化stageの改善を評価することが必要である。近年、開発されたARFI(Acoustic Radiation Force Impulse)を用いた肝硬度測定は、超音波により直接肝臓の硬さを評価する技術であり、肝線維化stageの評価に有用な方法として確立されつつある。そこで、C型慢性肝炎に対するIFN治療による肝線維化stageの改善を評価するために、ARFIを用いて肝硬度の変化を検討した。

B. 研究方法

藤田保健衛生大学病院肝胆膵内科にて2009年9月～2012年8月までにIFN治療を行ったC型慢性肝炎患者のうち、肝硬度測定を施行した74例（男性35例、女性39例、平均年齢57.1±12.0歳）を対象とした。

ARFIの測定は、シーメンス・ジャパン株式会社製超音波診断装置ACUSON S2000を用いて行っ

た。右肋間走査にて計10回行い、中央値を測定値(Vs; m/sec)として用いた。なお、測定はIFN治療前、治療終了時、治療後1年の3点で行った。IFNの治療効果により著効(SVR)群、再燃(Relapser)群、無効(NR)群に分け検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では医療保険の適応が認められている範囲で治療が行われた。ARFI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。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

①IFN治療前における検査値の比較(表1)：治療前のヒアルロン酸値は、SVR群ではNR群に比べ有意に低値を示した($p=0.0152$)。肝線維化stageはNR群、Relapser群、SVR群の順に高い傾向があった($p=0.0570$)

表1. 治療効果別の治療前の検査成績

	SVR群 (36)	Relapser群 (16)	NR群 (22)
性別 (女性/男性)	20/16	4/12	11/11
年齢 (year)	53.5(43.5-65.8)	62.5(54.0-66.8)	60.0(47.0-69.0)
AST (IU/L)	36.0(23.3-56.0)	45.5(37.8-76.5)	62.0(44.8-88.0)
ALT (IU/L)	42.5(25.0-62.3)	47.0(36.3-116.5)	58.0(34.8-95.0)
血小板数 ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	15.8(12.9-19.1)	15.4(12.6-20.6)	11.8(9.0-18.8)
ヒアルロン酸 (ng/mL)	50.0(34.5-78.0)*	132.0(60.5-185.3)	121.0(85.0-257.5)*
肝線維化stage (0/1/2/3/4)	3/9/7/4/1**	1/3/3/3/3**	1/1/1/7/3**
炎症 grade (0/1/2/3)	5/8/1/1/0	0/6/6/1	1/2/8/2

*: $p=0.0152$

** : $p=0.0570$

②IFN 治療前、治療終了時、治療後 1 年における治療効果別の Vs 値の比較 (表 2) : 治療前の Vs 値は、SVR 群では NR 群に比べ有意に低値を示した ($p = 0.0101$)。治療終了時の Vs 値は、SVR 群では NR 群に比べ有意に低値を示した ($p < 0.0001$)。治療後 1 年の Vs 値は、SVR 群では Relapser 群に比べ有意に低値を示し ($p = 0.0163$) SVR 群では NR 群に比べ有意に低値を示した ($p = 0.0003$)。

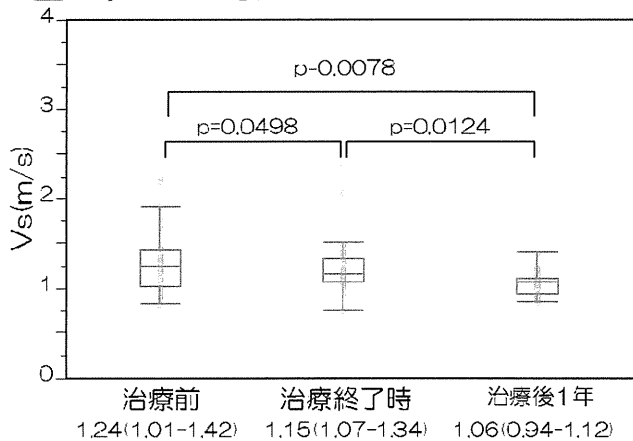
表2. 治療効果別のVs値の変化

	治療前	治療終了時	治療後 1 年
SVR群	1.24 (1.01-1.42)*	1.15 (1.07-1.34)**	1.06 (0.94-1.12)***, ****
Relapser群	1.34 (1.19-1.61)	1.27 (1.15-1.55)	1.20 (1.09-1.80)***
NR群	1.63 (1.21-1.96)*	1.54 (1.25-1.89)**	1.64 (1.16-1.81)****

* : $p=0.0101$ ** : $p<0.0001$ *** : $p=0.0163$ **** : $p=0.0003$

③IFN 治療経過における Vs 値の変化: SVR 群では、治療前と治療終了時 ($p=0.0498$)、治療前と治療後 1 年 ($p=0.0078$)、治療終了時と治療後 1 年 ($p=0.0124$) の間に有意差を認めた (図 1)。

図1. SVR群



一方、Relapser 群および NR 群では有意差は認められなかった (図 2、図 3)。

図2. Relapser群

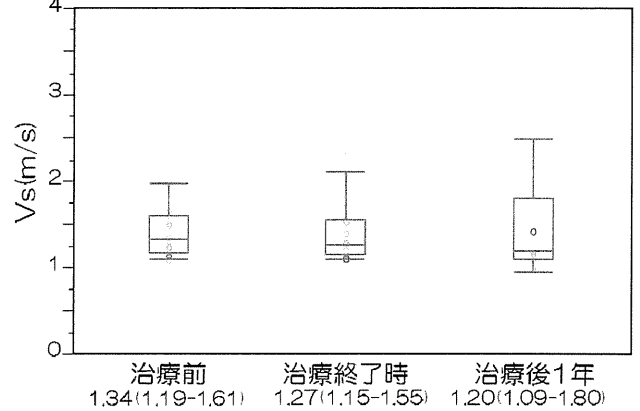
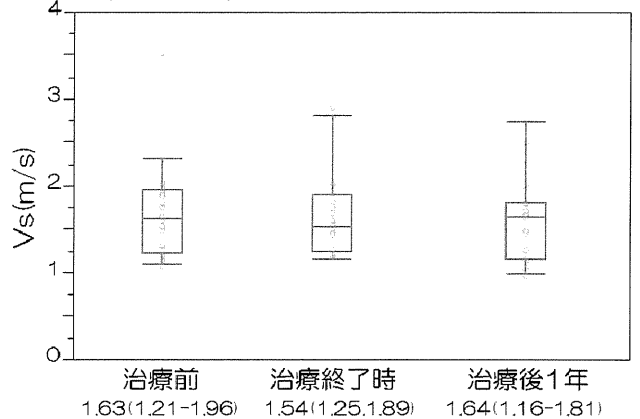


図3. NR群



D. 考察

治療前の Vs 値は SVR 群では NR 群に比べて有意に低かった。IFN 治療による Vs 値の変化については、SVR 群では治療終了時に有意に低下し、1 年後にさらに有意に低下しており、肝線維化が改善していることが示唆された。一方 Relapser 群と NR 群では、治療終了時、治療後 1 年までに Vs 値の有意な改善が認められなかった。SVR 群と Relapser 群では、治療終了時点でウイルスが消失している点では同様であるが、Relapser 群では Vs 値が改善しておらず、肝線維化の改善において差があることを示唆する所見であり、今後症例数を増やしてさらなる検討が必要と思われる。

E. 結論

C 型慢性肝炎に対する IFN 治療による肝硬度的変化を評価することは、治療効果の予測や効果判定 (肝線維化進展度の改善) などについて有用な情報を提供できるものと推測された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) T. Nishikawa, S. Hashimoto, N. Kawabe, M. Harata, Y. Nitta, M. Murao, T. Nakano, Y. Mizuno, H. Shimazaki, T. Kan, K. Nakaoka, Y. Takagawa, M. Ohki, N. Ichino, K. Osakabe, K. Yoshioka. Factors correlating with acoustic radiation force impulse elastography in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(5): 1289-1297.

2) Yoshioka K. What is the benefit of computer-assisted image analysis of liver fibrosis area? *J Gastroenterol* 2013; 48(8): 996-997

3) Yoshioka K. How to adjust the inflammation-induced overestimation of liver fibrosis using transient elastography? *Hepatol Res* 2013; 43(2): 182-184

4) Hayashi K, Katano Y, Masuda H, Ishizu Y, Kuzuya T, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Pegylated interferon monotherapy in patients with chronic hepatitis C with low viremia and its relationship to mutations in the NS5A region and the single nucleotide polymorphism of interleukin-28B. *Hepatol Res* 2013;43(6):580-8.

2. 学会発表

1) 兒玉俊彦・高川友花・大城昌史・中岡和徳・水野裕子・嶋崎宏明・中野卓二・新田佳史・村尾道人・原田雅生・川部直人・橋本千樹・吉岡健太郎：BおよびC型肝炎ウイルス検診陽性者に対するアンケート調査.第40回日本肝臓学会西部会一般演題 岐阜 2013.12.6

2) 嶋崎宏明・川部直人・吉岡健太郎：NAFLDにおけるPNPLA3のSNPとARFIによるVs値との関係.第40回日本肝臓学会西部会ワークショップ 岐

阜 2013.12.6

3) K. Yoshioka, H. Shimazaki, N. Kawabe, M. Harata, Y. Nitta, M. Murao, T. Nakano, Y. Arima, T. Kan, M. Ohki, K. Nakaoka, T. Yuka, T. Nishikawa, K. Osakabe, N. Ichino, S. Hashimoto. Genetic variant I148M in PNPLA3 is associated with acoustic radiation force impulse imaging in patients with NAFLD. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Washinton 2013.11.2.

4) N. Kawabe, S. Hashimoto, M. Harata, Y. Nitta, M. Murao, T. Nakano, H. Shimazaki, Y. Arima, T. Kan, N. Kazunori, M. Ohki, T. Yuka, T. Nishikawa, K. Osakabe, N. Ichino, K. Yoshioka. Impact of patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) polymorphism on steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon plus ribavirin. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Washinton 2013.11.4.

5) T. Kan, K. Osakabe, N. Kawabe, S. Hashimoto, M. Harata, Y. Nitta, M. Murao, T. Nakano, Y. Arima, H. Shimazaki, M. Ohki, K. Nakaoka, T. Yuka, T. Nishikawa, N. Ichino, K. Yoshioka, Acoustic radiation force impulse imaging for evaluation of antiviral treatment response in chronic hepatitis C. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Washinton 2013.11.5.

6) 菅敏樹・高川友花・大城昌史・中岡和徳・水野裕子・嶋崎宏明・中野卓二・新田佳史・村尾道人・原田雅生・川部直人・橋本千樹・吉岡健太郎：当院におけるC型慢性肝炎に対するTelaprevirを含む3剤併用療法の使用経験.第17回日本肝臓学会大会 ポスターセッション 東京 2013.10.9-10

7) 嶋崎宏明・川部直人・橋本千樹・原田雅生・村尾道人・新田佳史・中野卓二・水野裕子・菅敏樹・中

岡和徳・大城昌史・高川友花・青山和佳奈・西川徹・吉岡健太郎：NASH 診断における肝硬度測定の有
用性—ARFI による検討. 第 17 回日本肝臓学会大会
ポスターセッション 東京 2013.10.9-10

8) 川部直人・橋本千樹・原田雅生・村尾道人・新田
佳史・中野卓二・水野裕子・菅敏樹・中岡和徳・大
城昌史・高川友花・西川徹・刑部恵介・市野直浩・
吉岡健太郎：C 型慢性肝炎に対するインターフェロ
ン治療による肝硬度の変化—ARFI による検討—
第 17 回日本肝臓学会大会 ポスターセッション
東京 2013.10.9-10

9) 村尾道人・川部直人・橋本千樹・原田雅生・新田
佳史・中野卓二・嶋崎宏明・水野裕子・菅敏樹・中
岡和徳・大城昌史・高川友花・吉岡健太郎：C 型肝
炎に対するペグインターフェロン+リバビリン併用
療法後の発癌についての検討. 第 17 回日本肝臓学会
大会 ポスターセッション 東京 2013.10.9-10

10) 川部直人・橋本千樹・市野直浩・刑部恵介・西
川徹・大城昌史・菅敏樹・水野裕子・嶋崎宏明・中
野卓二・新田佳史・村尾道人・原田雅生・吉岡健太
郎：肝脂肪化と PNPLA3 遺伝子多型の関係—C 型慢
性肝炎における検討. 第 49 回日本肝臓学会総会 ポ
スターセッション 東京 2013.6.7

11) 菅敏樹・高川友花・大城昌史・中岡和徳・水野
裕子・嶋崎宏明・中野卓二・新田佳史・村尾道人・
原田雅生・川部直人・橋本千樹・吉岡健太郎：当院
における C 型慢性肝炎に対する 3 剤併用療法の使用
経験. 第 49 回日本肝臓学会総会 ポスターセッショ
ン 東京 2013.6.7

12) 菅敏樹・大城昌史・水野裕子・嶋崎宏明・中
野卓二・村尾道人・新田佳史・原田雅生・川部直人・
橋本千樹・吉岡健太郎：当院における C 型慢性肝炎
に対する Telaprevir を含む 3 剤併用療法の使用経験.
第 99 回日本消化器病学会総会 ポスターセッショ
ン 鹿児島 2013.3.21-23

13) 川部直人・橋本千樹・吉岡健太郎：C 型肝炎
治療困難例に対する瀉血、IFN - β 療法、脾摘/PSE
後の PEG-IFN 療法の検討. 第 99 回日本消化器病学
会総会 ワークショップ 鹿児島 2013.3.21-23

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
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

PNPLA3 遺伝子多型と C 型肝炎の病態についての検討

研究分担者 黒崎雅之 武蔵野赤十字病院 消化器科部長

研究要旨：

C 型慢性肝炎では高頻度に肝脂肪化がみられる。我々はこれまで、肝脂肪化の程度が肝線維化の進行や発癌と関連することを報告してきた (Kurosaki, Izumi et al. *Journal of Hepatology* 2008, Kurosaki, Izumi et al. *Hepatol Res* 2010)。近年 NAFLD の疾患感受性遺伝子として PNPLA3 が同定され、肝線維化や肝脂肪化の程度と関連することが示された。しかしながら同遺伝子と C 型慢性肝炎との関連性は不明である。そこで、これまでの我々の臨床的知見が PNPLA3 遺伝子から説明可能であるかを検証した。157 例の肝生検を施行した C 型慢性肝炎を対象として研究を行った。PNPLA3 遺伝子は、肝脂肪化の程度と相関し、また線維化のステージとも関連した。さらに IFN 治療が無効で経過観察した症例において、PNPLA3 遺伝子は発癌とも有意な関連を示した。PNPLA3 遺伝子は、年齢、肝線維化とは独立した発癌関連因子であった。

A. 研究目的

C 型慢性肝炎は、無治療で放置すると肝線維化が進行し、発癌をきたす疾患である。病期の進行を抑制するためには、原因である HCV 駆除を行うほかに、病期進行の感受性を決める宿主遺伝子を同定する新たな視点も重要である。今回、NAFLD において肝脂肪化と肝線維化と関連する PNPLA3 遺伝子に着目した。C 型肝炎に置いても高頻度に肝脂肪化がみられ、その程度と肝線維化の進行や発癌と関連することを我々は報告してきた (Kurosaki, Izumi et al. *Journal of Hepatology* 2008, Kurosaki, Izumi et al. *Hepatol Res* 2010)。この我々の臨床的知見が PNPLA3 遺伝子から説明可能であるかを検証した。

B. 研究方法

当院で肝生検を施行した 157 例の C 型慢性肝炎を対象として研究を行った。全例でインターフェロン治療を行い非 SVR であった。肝線維化ステージは新犬山分類で 4 段階に分類した。PNPLA3 遺伝子は Taqman 法で決定した。脂肪化の程度、肝線維化の程度と PNPLA3 遺伝子との関連性を比較した。また長期経過での発癌リスクについても検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析においては、当院の臨床研究委員会に置いて妥当性を審議し、承認を得ている。研究に当たっては、文書で説明し遺伝子解析研究の同意を取得している。試料は匿名化し、個人情報を実質的に保護している。

C. 研究結果

対象症例の年齢は平均で 57 歳、肝線維化のステージは F1、F2、F3、F4 がそれぞれ 34%、34%、22%、10% であった。肝脂肪化の程度が 0%、1-9%、10-29%、30% 以上がそれぞれ 31%、41%、16%、9% であった。PNPLA3 遺伝子は GG が 20%、CG/CC が 80% であった。PNPLA3 遺伝子と臨床背景 (年齢、性別、AST、ALT、血小板数、AFP) に差はなかった。

肝脂肪化の程度は、CC と比較し CG・GG で高い傾向にあり ($p=0.06$)、特に BMI < 2.5 の症例では CC では 80% が肝脂肪化 0% に対して、GG では 71% が肝脂肪化を有していた。性別ごとの比較では、女性では有意差はないものの、男性では有意な相関関係を認めた。

肝線維化との関連は、全体では有意差はないが、65 歳未満では GG に置いて有意に線維化進展例が多く、CC では F3/4 が 23% に対して、GG では 46% であった。

累積の発癌率を検討すると、GG は CG/CC と比較し、有意に発癌率が高く、ハザード比は 2.5 倍であった。特に、65 歳以下、女性での発癌と有意に関連した。

D. 考察

PNPLA3 遺伝子は、C 型慢性肝炎の肝脂肪化、線維化と関連し、さらに発癌とも関連した。その機序は不明であるが、C 型慢性肝炎の診療において重要な情報となる。

E. 結論

PNPLA3 遺伝子は、C 型慢性肝炎の病態進行と関連する重要な宿主因子である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tamaki N, **Kurosaki M**, Matsuda S, Muraoka M, Yasui Y, Suzuki S, et al. Non-invasive prediction of hepatocellular carcinoma development using serum fibrosis marker in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol.* 2013

2. 学会発表

- 1) Kurosaki M et al. Impact of genetic polymorphism in PNPLA3 gene in chronic hepatitis C. APASL 2014

(※発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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
3. その他
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

テラプレビルによる脂質代謝への影響

研究分担者 中牟田 誠 国立病院機構九州医療センター 肝臓センター部長

研究要旨：新規プロテアーゼ阻害剤であるテラプレビル（TVR）が登場し、大幅な治療期間の短縮と飛躍的な治療効果の向上がもたらされた。C型肝炎ウイルス（HCV）のライフサイクルは肝内の脂質代謝と密接な関連があり、その脂質合成抑制により HCV 増殖が抑制されることが知られている。今回、TVR が肝脂質代謝にどのような影響を与えるのかを検討したので報告する。臨床検討においては、TVR 投与期間中は有意に血中 LDL コレステロール値は上昇しており、著効例においては非著効例に比べてより高値である傾向を認めた。培養肝細胞（HepG2）を用いた基礎検討においては、TVR は HCV の侵入に必要な LDL レセプター、コレステロール合成酵素である HMG-CoA 還元酵素、脂肪酸合成酵素などの発現を著明に抑制した。これらのことにより、TVR はプロテアーゼを阻害するのみならず、脂質代謝を直接変化させることにより HCV 侵入や増殖を抑制し、その抗ウイルス効果を発揮している可能性が示唆された。

研究共同者

九州医療センター： 国府島庸之、中村吏、大橋朋子、吉本剛志、福泉公仁隆

A. 研究目的

本邦における C 型肝炎ウイルス（HCV）罹患者は 200 万と推測されており、HCV が主要な原因とされる肝細胞癌による死亡者は年 3 万人にも及ぶ。従って、HCV 感染を制圧することが極めて重要であり、2011 年 9 月に新規抗 HCV 治療薬であるテラプレビル（TVR）が認可された。現在までにすでに 1 万例を超える症例に TVR+ペグインターフェロン(pegIFN)+リバビリン（RBV）の 3 剤併用療法が施行され、著効率（SVR）80%を超える高い治療効果が得られている。九州大学関連肝疾患研究会（KULDS）の検討では、血中 LDL コレステロール（LDL-C）値が独立した治療効果規定因子のひとつとして抽出された（Ogawa E, et al. Antiviral Res. 2014 Jan 23）。血中 LDL-C 値はそのレセプターである LDL レセプター（LDLR）の発現に大きく左右される。また、HCV は LDLR を介して肝細胞に侵入する。さらに、TVR 治験データにおいては、TVR 投与期間中は LDL-C が上昇することが示されている。以上のことは、TVR が直接肝細胞内の脂質代謝に影響を与えている可能性を示唆しており、今回の研究の対象とした。

B. 研究方法

臨床研究：当院で TVR 3 剤併用療法を施行した 127 名の治療経過中の総コレステロール（TC）値と LDL-C の推移を検討した。また、SVR の有無による推移の比較を行った。

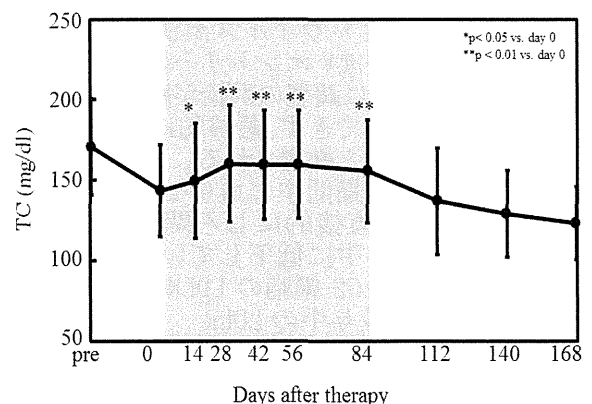
基礎研究：培養肝細胞（HepG2）に TVR を添加して、脂質代謝関連遺伝子である、LDLR、コレステロール合成酵素 HMG-CoA 還元酵素（HMG-CoAR）、

LDLR と HMG-CoAR の遺伝子発現を正に制御する転写因子 sterol regulatory element-binding protein (SREBP) 2、脂肪酸合成酵素（FAS と ACC1）、これらの遺伝子発現を正に制御する SREBP1c の遺伝子発現を real-time RT-PCR により解析を行った。

C. 研究結果

臨床研究：TVR 投与により有意に TC 値と LDL-C 値は上昇した。この上昇は TVR 投与中は継続し、投与終了に伴い低下し投与前値に戻った（図 1）。これらの推移は、SVR 症例では非 SVR に比べて有意ではなかったが高く推移する傾向にあった。

図 1 TVR 3 剤併用療法中の TC の推移



基礎研究:HepG2 に TVR を添加したが、服用後の肝組織中の濃度であると推測されている 20 μ M 濃度では、LDLR、HMG-CoAR、SREBP2、FAS、ACC1、SREBP1c の発現を有意に低下させた(図 2)。また、これらの抑制効果は、5~30 μ M の範囲において、濃度依存的であった。

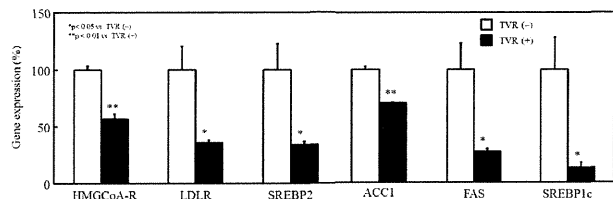


図 2 TVR の脂質代謝関連遺伝子の発現に対する影響 (HepG2 細胞)

D. 考察

KULDS の解析において治療効果規定因子のひとつとして LDL-C が抽出されているが、これは肝線維化の進行(肝硬変)に伴うコレステロール合成低下を反映しているものと思われる。しかしながら、F0~F2 症例においても、やはり高 LDL-C 高値症例が低値症例に比べて、有意に SVR が高値であることから、この LDL-C 値は線維化のみならず、その他の臨床的な意義を示唆しているものと推測される。

LDL-C は今回の TVR 3 剤併用療法のみならず、すでに pegIFN+RBV 2 剤併用療法においても、治療規定因子であることが報告されている(Akuta N, et al. J Hepatol. 2007;46(3):403-10)。脂質代謝学的には、一般に血中 LDL-C が低値であることは、それを取り込む LDLR の発現が少ないことを意味している。一方で、LDLR は HCV が肝細胞に侵入する際の第一ステップにもなっている(Ploss A, et al. Nature. 2009; 457:882-6)。従って、高 LDL-C は、LDLR の発現が低下していることと同時に、HCV の LDLR を介した肝細胞への侵入も少ないことを意味している。この HCV の侵入は、精密性にかける HCV の複製・増殖維持において、常に増殖・感染能力を有する野生型の鋳型(RNA)を感染細胞内に供給する点から重要と思われる。IFN が投与された場合に、細胞内の複製は抑制されるが、HCV エントリーの少ない高 LDL-C の場合には、鋳型の供給途絶により細胞内よりウイルスが消失してしまうことになる。一方、HCV エントリーの多い低 LDL-C の場合には、その逆に鋳型の供給が維持され、細胞内のウイルスが排除できず、最終的に非 SVR に至ってしまうのであろうと推測される。

従って、TVR 投与期間中に血中 LDL-C が上昇することは、TVR が直接的にしる関節的にしろ、LDLR の発現が投与中に低下していることが推測される。TVR が HepG2 細胞の LDLR の発現を抑制する結果は、TVR 投与中の LDLR の上昇は TVR による直接作用であることを意味しており、このことは同時に、TVR により HCV の肝細胞への侵入が抑制されていることを意味している。なお、第二世代のプロテアーゼ阻害剤であるシメプレビルには TVR のような LDL-C 増加作用はない(治験

データ)。

HCV の一日の産生量は 1 兆ウイルス粒子と言われており、それを維持するには大量の脂質(コレステロールや脂肪酸)が必要とされ、事実、感染細胞では HMG-CoAR や FAS の発現は亢進しており、コレステロール合成や脂肪酸合成が亢進している。TVR はこれらの脂質合成を直接抑制するので、プロテアーゼ阻害による HCV 増殖抑制に加えて、脂質合成を抑制することでの HCV 増殖抑制効果も期待される(図 3)。

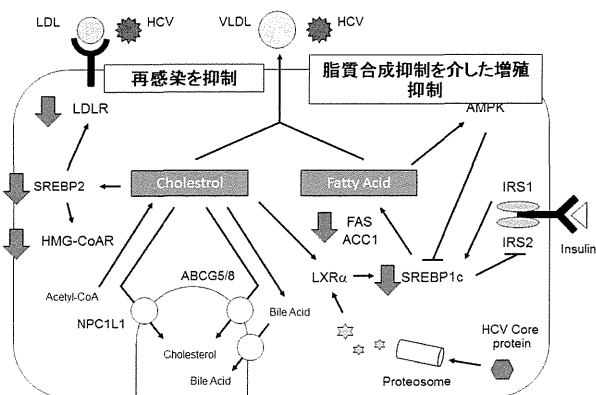


図 3 TVR の脂質代謝に対する影響

我々は、脂質合成抑制による HCV 増殖抑制効果を期待し、スタチン+EPA を pegIFN+RBV 併用療法に Add-on し治療効果を高めて来た(Kohjima M, et al. J Med Virol. 2013;85(2):250-60)。スタチンによりコレステロール合成が、EPA により脂肪酸合成が抑制されるが、さらに EPA はスタチン投与により増加した LDLR の発現を相殺する働きがある。テラプレビルによる脂質合成抑制作用はまさにスタチン+EPA による作用とほぼ同一であった。我々は、TVR 3 剤併用療法においても、スタチン+EPA の Add-on 療法を行っているが、現時点では 2 剤併用療法時のような大きな上乗せ効果は得られていないようである。そのひとつの要因として、TVR そのものに脂質合成抑制作用や LDLR を介した HCV 侵入抑制作用があるためである可能性がある。

E. 結論

TVR はプロテアーゼ阻害剤による HCV 増殖抑制作用以外にも、脂質合成抑制や LDLR を介した HCV 侵入抑制による HCV 増殖抑制作用が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型肝炎の治療法に関わる遺伝子変異の検討

研究分担者 坂本 穰 山梨大学医学部附属病院肝疾患センター センター長・准教授

研究要旨：C型肝炎に対する抗ウイルス療法は近年急速に進歩している。とくにNS3 protease阻害剤とNS5A阻害剤の経口2剤併用療法は、きわめて近い将来使用可能となり、治療ガイドラインに盛り込まれる可能性が高い。しかし、これらの薬剤未投与例であっても自然獲得薬剤耐性変異が一定の確率で存在することが明らかになり、しかもこれらは本来、IFN併用療法の有効性が高いと考えられる、PEG-IFN+RBV再燃例やIL28B TT症例に多い傾向にあった。一方、PEG-IFN+RBV+TVR治療失敗例で出現するTVR耐性変異は、少なくとも24週間持続する症例も存在し、今後の治療の支障になる可能性もあることから治療前にはこれら薬剤耐性変異を測定することが望ましいと考えられた。

A. 研究目的

C型肝炎に対する治療法は急速に進歩し、C型肝炎ウイルス（HCV）に直接作用する抗ウイルス剤（Direct acting antivirals: DAA）の開発が進んでいる。とくにNS3 protease阻害剤とNS5A阻害剤の組合せによる経口2剤併用治療法は極めて近い将来可能となり、わが国の治療ガイドラインに盛り込まれる可能性が高い。しかし、この治療法は極めて高い抗ウイルス効果を示す反面、薬剤耐性ウイルスの出現・誘導が問題となる。しかもこれら薬剤未使用例における、自然獲得耐性変異（naturally-occurring resistant HCV）の存在も知られている。そこで本研究では、これらの臨床的意義につき検討するとともに、治療による薬剤耐性変異につき検討し、新規治療法選択に必要な情報に資することを目的とする。

B. 研究方法

（検討1）NS3 Protease阻害剤およびNS5A阻害剤未投与例における、自然獲得NS3およびNS5A阻害剤耐性変異の検討

当科で経過観察中のHCV持続感染者110例（genotype1b、PEG-IFN+RBV未治療例59例、再燃30例、無効21例）を対象とし、Roche GS Juniorを用いて、既知のNS3 protease阻害剤およびNS5A阻害剤耐

性変異を含む領域のアミノ酸配列について検討し、臨床的因子との関連を検討した。

（検討2）PEG-IFN+RBV+Telaprevir（TVR）投与例における薬剤耐性変異の検討

2011年から当科で導入したPEG-IFN+RBV+TVR症例34例を対象とし、治療前および治療中のTVR耐性変異の出現を検討した。

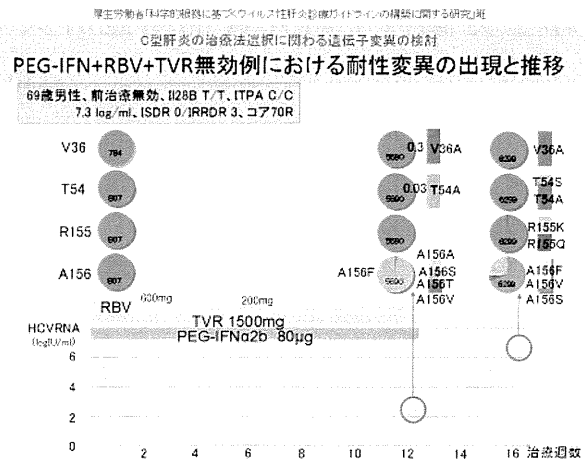
（倫理面の配慮）

研究については目的・方法・副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利・保護等に関し十分に説明し、文書で同意を取得し研究をおこなった。なお、これらの研究の実施計画については、山梨大学医学部倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

（検討1）NS3領域の耐性変異は、変異率0.1%を基準とし検討すると、110例中21例（19%）に認め、この内訳は未治療15例（25%）、再燃6（20%）であったが、無効例では1例も認めず、PEG-IFN+RBV無効例で有意にNS3耐性変異が少なかった（ $p < 0.05$ ）。また、IL28B別では、TTでは71例中17例（24%）で耐性変異を認めたのに対し、TG+GGでは39例中4例（10%）であった。

しかし、高度耐性変異として知られている R155Q、A156T、D168A/V/T/H、V170A の耐性変異は稀であった。一方、NS5A 阻害剤耐性変異は、Y93H を、未治療・再燃・無効例で、それぞれ 21 (36%)、10 (33%)、3 (14%) に認めた。同様に L31M/V/F 変異は、8 (14%)、4 (13%)、1 (5%) に認め、いずれも無効例に比して、未治療例や再燃例で葉変異が多い傾向にあった。とくに Y93H 変異に関連する因子につき検討すると、IL28B TG+GG、コア R70Q、IRRD R 変異数 ≥ 5 と関連した。

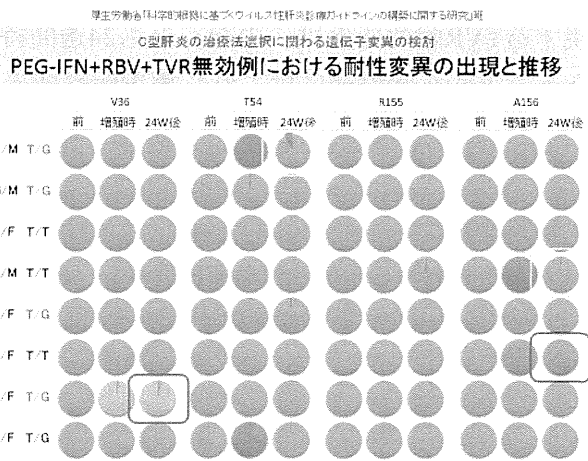


厚生労働省科学政策課に基づきウイルス型肝炎診療ガイドラインの構築に関する研究班
C型肝炎の治療法選択に関わる遺伝子変異の検討
PEG-IFN+RBV+TVR未投与例における耐性変異の割合

NS5A

PEG+R成績	Naïve	Relapse	Null	Total
N	59	30	21	110
L31M/V/F	8 (14%)	4 (13%)	1 (5%)	13 (12%)
P32L	0	0	0	0
Y93H	21 (36%)	10 (33%)	3 (14%)	34 (31%)
L93M/V/F-Y93H	4	0	0	4
Total	29 (49%)	14 (47%)	4 (19%)	47 (19%)

GS juniorを用いた検診で変異率0.1%以上の症例数の割合



(検討2) PEG-IFN+RBV (24W) +TVR (12W) の治療成績は、SVR 79% (30/38) であったが、非SVR 例 8 例 (副作用中止 3 例、再燃 2 例、breakthrough[BT] 1 例) の薬剤耐性変異につき検討した。BT 例は TVR 投与中にウイルスが再出現し、ウイルス増殖時には A156F/A/S/T/V 変異が出現していた。しかし時間とともに耐性ウイルスは減少し野生型の比率が増加した。このほか、ウイルス増殖時には V36A、T54A、A156V/T などの変異が出現したが、一定の傾向はなかったが治療 24 週後にも耐性変異が主体をなっている症例も存在していた。

E. 結論

Deep sequencerでの検討では、DAA未治療例においても一定頻度でNS3 protease阻害剤およびNS5A阻害剤耐性変異を認めた。しかも、PEG-IFN+RBV未治療例や再燃例に多く、IL28B TT例に多く認め、本来PEG-IFN+RBV療法で効果が高いと思われる症例に、自然獲得耐性変異が多い傾向にあった。また、TVRで一旦耐性変異が出現すると、少なくとも24週間、耐性変異が持続する症例が存在することが明らかになった。したがって、治療法選択とくにNS3protease阻害剤+NS5A阻害剤による治療を行う際には、これら薬剤耐性変異を測定することが重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1.論文発表

- 1) Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Tokunaga K, Mizokami M, Izumi N. Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C J Med Virol. 2013; 85(3): 449-58. Article first published online: 7 JAN 2013 | DOI: 10.1002/jmv.23497
- 2) Miura M, Maekawa S, Takano S, Komatsu N, Tatsumi A, Asakawa Y, Shindo K, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Yamashita A, Moriishi K, Enomoto N. Deep-Sequencing Analysis of the Association between the Quasispecies Nature of the Hepatitis C Virus Core Region and Disease Progression. J. Virol. 2013; 87: 12541-12551. Published ahead of print 14 August 2013, doi: 10.1128/JVI.00826-13
- 3) Miura M, Maekawa S, Sato M, Komatsu N, Tatsumi A, Takano S, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N. Deep sequencing analysis of variants resistant to the NS5A inhibitor daclatasvir in patients with genotype 1n hepatitis C virus infection. Hepatol Res 2014 in press.
- 4) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎治療における宿主因子とウイルス因子 - 実地診療での臨床応用のすすめかた -、Medical Practice 30 (2) ; 323 -328、2013
- 5) 坂本穰、榎本信幸、慢性肝炎・肝硬変 (C 型)、治療過程で一目でわかる消化器薬物療法 STEP 1・2・3 (一瀬雅夫、岡政志、持田智編集)、174-178、2013、メジカルビュー社、東京
- 6) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎硬変における抗ウイルス療法、Modern physician 33 (4) 454-458、2013
- 7) 辰巳明久、坂本穰、榎本信幸、メタボ肝癌とファイブロスキャン、メタボ肝癌 (小俣政男編集)、163-168、2013、アークメディア、東京
- 8) 坂本穰、榎本信幸、ウイルス変異と宿主ゲノムからみたインターフェロン療法の治療成績と発癌リスクを考慮した新規治療法への展望、消化器内科 56 (4)、437-442、2013
- 9) 小松信俊、坂本穰、榎本信幸、透析患者に対する薬の使い方—疾患別・病態別[消化器] 549-552
- 10) 坂本穰、榎本信幸、発癌リスクと治療反応性を考慮した C 型肝炎の最新治療、消化器内科 57 (3)、379-384、2013
- 11) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎診療 up-to-date、発癌リスクと新規治療法、診断と治療 101 (9)、1277-1282、2013
- 12) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎、カラー版消化器病学 基礎と臨床 (浅香正博、菅野健太郎、千葉勉編)、1177-1188、2013
- 13) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎の自然経過と発癌リスク、成人病と生活習慣病 43 (11)、1310-1315、2013
- 14) 坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎ウイルスと治療、HIV 感染症と AIDS の治療 4 (2)、55-59、2013
- 15) 坂本穰、榎本信幸、プロテアーゼ阻害剤に対する耐性変異と意義、肝胆膵 67 (6)、893-898、2013
- 16) 坂本穰、B 型肝炎のインターフェロン治療 : sequential thrapy を含めて、Phama Medica 31 (12)、49-52、2013

2.学会発表

- 1) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. 発癌リスクと治療反応性を考慮した C 型肝炎の最新治療、第 99 回日本消化器病学会総会 (シンポジウム)、2013.3.22、鹿児島
- 2) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. C 型慢性肝炎の病態における肝脂肪化と PNPLA3 および IL28B 遺伝子多型の意義の検討、第 99 回日本消化器病学会総会 (シンポジウム)、2013.3.22、鹿児島
- 3) 辰巳明久、進藤邦明、田中佳祐、津久井雄也、佐藤光明、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. 肝硬度における肝

- 線維化、発癌リスク評価、第 99 回日本消化器病学会総会、2013.3.22、鹿児島
- 4) Shinya Maekawa, Mika Miura, Nobutoshi Komatsu, Akihisa Tatsumi, Yukiko Asakawa, Shinichi Takano, Mitsuaki Sato, Kuniaki Shindo, Fimitake Amemiya, Yasuhiro Nakayama, Taisuke Inoue, Minoru Sakamoto, Nobuyuki Enomoto. An Association between Quasispecies Nature of Hapatitis C Virus Core Region and Disease Progression Analysis by Deep Sequencing. The 2nd JSGE International topic conference. 2013.3.23, Kagoshima
 - 5) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸. 発癌リスクと治療反応性を考慮した最新の C 型肝炎治療、第 49 回日本肝臓学会総会（シンポジウム）、2013.6.7、東京
 - 6) 小松信俊、坂本穰、榎本信幸、EOB-MRI 肝細胞相を用いた新しいサーベイランスの可能性～clean liver からの発癌経過、第 49 回日本肝臓学会総会（パネルディスカッション）、2013.6.7、東京
 - 7) 佐藤光明、坂本穰、榎本信幸、肝癌と鑑別が必要な肝良性腫瘍の画像診断の実際、第 49 回日本肝臓学会総会（ワークショップ）、2013.6.7、東京
 - 8) 前川伸哉、三浦美香、辰巳明久、小松信俊、佐藤光明、進藤邦明、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎の病態進展に対する MICA、DEPDC5 遺伝子多型の意義の検討、第 49 回日本肝臓学会総会（ワークショップ）、2013.6.7、東京
 - 9) 辰巳明久、進藤邦明、田中佳祐、津久井雄也、佐藤光明、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. 肝硬度における肝線維化、発癌リスク評価、第 49 回日本肝臓学会総会、2013.6.7、東京
 - 10) 三浦美香、前川伸哉、高野伸一、小松信俊、辰巳明久、進藤邦明、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸. 次世代シーケンサーを用いた NS5A 阻害剤耐性変異の検討、第 49 回日本肝臓学会総会、2013.6.7、東京
 - 11) 三浦美香、前川伸哉、高野伸一、小松信俊、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸. 次世代シーケンサーを用いた NS5A 阻害剤耐性変異の検討、第 23 回ウイルス療法研究会、2013.6.14、東京
 - 12) 辰巳明久、前川伸哉、三浦美香、小松信俊、田中佳祐、津久井雄也、佐藤光明、雨宮史武、進藤邦明、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸. 次世代 deep sequencer を用いた Telaprevir 耐性変異株の検討、第 23 回ウイルス療法研究会、2013.6.14、東京
 - 13) 坂本穰、発癌リスクと治療反応性からみた 3 剤併用療法 Y-PERS から、第 7 回東京肝疾患研究会（PERFECT）、2013.6.29、東京
 - 14) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、発癌リスクと宿主・ウイルス遺伝子からみた C 型肝炎治療、第 17 回日本肝臓学会大会（JDDW）（シンポジウム）、2013/10/10、東京
 - 15) 坂本穰、井上泰輔、榎本信幸、B 型肝炎治療における疾患進展と発癌に関わるウイルスマーカー、第 17 回日本肝臓学会大会（JDDW）（パネルディスカッション）、2013/10/10、東京
 - 16) 坂本穰、渡邊真里、柏木賢治、榎本信幸、肝疾患コーディネーターとインターネットを用いた診療支援システムの構築、第 17 回日本肝臓学会大会（JDDW）、2013/10/9、東京
 - 17) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、C 型肝炎発癌における MICA、DEPDC5、IL28B 遺伝子多型の意義の検討、第 17 回日本肝臓学会大会（JDDW）（ワークショップ）、2013/10/10、東京
 - 18) 三浦美香、前川伸哉、高野伸一、小松信俊、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、次世代シーケンサーを用いた HCV NS5A 阻害剤耐性変異の検討、第 17 回日本肝臓学会大会（JDDW）、2013/10/10、東京
 - 19) 雨宮史武、早川宏、津久井雄也、小林祥司、門倉信、山口達也、大塚博之、進藤邦明、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、初発肝細胞癌の臨床背景検討、第 17 回日本肝臓学会大会（JDDW）、2013/10/10、東京

20) 辰巳明久、進藤邦明、加藤亮、倉富夏彦、佐藤光明、小松信俊、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、肝硬度による慢性肝疾患の肝癌リスク評価、第 17 回日本肝臓学会大会 (JDDW)、2013/10/10、東京

21) 辰巳明久、佐藤光明、前川伸哉、鈴木雄一郎、広瀬純穂、小松信俊、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、次世代シークエンサーにて耐性変異を確認した telaprevir を含む 3 剤併用療法で breakthrough をおこした 1 例、第 53 回日本消化器病学会甲信越支部例会、2013/11/23

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

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型慢性肝炎の抗ウイルス治療効果と KIR、HLA、IL28B 遺伝子多型の関連

研究分担者 松本晶博 信州大学医学部消化器内科
研究協力者 梅村武司 信州大学医学部消化器内科
野沢祐一 信州大学医学部消化器内科
田中榮司 信州大学医学部消化器内科

研究要旨：

killer immunoglobulin-like receptor (KIR)は、そのリガンドである特定の HLA アリルを認識することでNK細胞の働きをコントロールしている。KIRとHLAの組み合わせが白人におけるHCVの治療効果や自然排除に関連しているとの報告があるが、日本人患者におけるその自然免疫遺伝子の働きは十分にわかっていない。本研究ではPEG-IFN/RBV併用療法を施行した genotype1型C型慢性肝炎患者115人を対象とし、16種類のKIR遺伝子およびHLA-B、C、およびIL28B SNP(rs8099917)を測定し、治療効果との関連性を検討した。HLA-Bw4がSVRと有意に関連していた($P=0.017$; $OR=2.50$)。KIR2DL2またはKIR2DS2遺伝子を持つ患者は有意にSVR率が低かった($P=0.015$; $OR=0.30$ 、 $P=0.025$; $OR=0.32$)。多変量解析では、IL28B TT genotype($P=0.00009$; $OR=6.87$)、KIR2DL2/HLA-C1($P=0.014$; $OR=0.24$)、KIR3DL1/HLA-Bw4($P=0.008$, $OR=3.32$)、白血球数($P=0.009$; $OR=3.32$)が独立したSVR予測因子であった。本検討では、IL28B TTとKIR3DL1-HLA-Bw4が治療反応患者と関連があり($P=0.0019$)、また一方でIL28B TTと同時にKIR2DL2-HLA-C1を持つ患者は治療抵抗性患者と関連していた($P=0.0067$)。日本人 genotype1型HCV患者において、KIR3DL1/HLA-Bw4、KIR2DL2/-HLA-C1はPEG-IFN/RBV併用療法に対する治療効果予測因子となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

C型慢性肝炎の治療効果予測因子として、これまでIL28B SNPs、ウイルス Genotype、core アミノ酸変異、ISDR 変異などが報告されている。killer immunoglobulin-like receptor (KIR)は、そのリガンドである特定の HLA アリルを認識することでNK細胞の働きをコントロールしている。KIRとHLAの組み合わせが白人におけるHCVに対する治療効果や自然排除に関連しているとの報告があるが、日本人でその検討はされていない。今回、我々はPEG-IFN/RBV併用療法を施行した日本人患者を対象にIL28B、HLA、KIRを測定し、治療効果に寄与する因子について検討した。

B. 研究方法

PEG-IFN/RBV48週間投与した genotype1型C型慢性肝炎患者115人を対象とした。患者DNAを抽出し、PCR-SSOP法でKIR、HLA-B

およびHLA-Cの遺伝子タイピングを行った。併せてIL28B SNPの測定も行い、SVRに寄与する因子の解析を行った。
(倫理面の配慮)本研究は信州大学医学部遺伝子倫理委員会で承認されており、倫理上の問題は無い。

C. 研究結果

1)HLA 単独についての検討

HLA-Bw およびHLA-CアリルについてSVR群とNon-SVR群で比較し、HLA-Bw4Bw6を持つ患者がSVR群で有意に高かった(55%vs36%, $P=0.033$)。HLA-Bw6ホモ接合体患者は、Non-SVR群で有意に高かった(32%vs54%, $P=0.017$)。HLA-Bw4を持つ患者がSVR群で有意に高かった(68%vs46%, $P=0.017$)。HLA-Cは両群間で有意差はなかった。

2)KIR、HLAでの検討

KIR3DL1とそのリガンドであるHLA-Bw4を