

## ▶ 病態のメカニズム

遺伝性ヘモクロマトーシスは複数の遺伝子異常で発症し、Type 1ヘモクロマトーシスはHFE遺伝子変異により、白人では250人に1人の高頻度で起こる。HFE遺伝子は6番染色体上にあり、HFE蛋白は腸管粘膜の上皮細胞内でトランスフェリン受容体と結合して鉄吸収を調節しているが、変異により十二指腸および小腸からの鉄吸収が増加する。282番目のチロシンがシステインに置換されていることが多い(C282Y)。Type 2Aはヘモジュベリンの変異、Type 2Bはヘプシジンの変異、Type 3はトランスフェリン受容体(TfR-2)の変異、Type 4がフェロポーチンの変異による。

わが国の遺伝子変異が判明した11例(7家系)の内訳は、Type 2Aが3例(2家系)、Type 3が6例(4家系)、Type 4が2例(1家系)であり、その他Type 1が2例報告されている<sup>1)</sup>。

## ▶ 分類

遺伝子異常の種類によりいくつかに分類される遺伝性ヘモクロマトーシスと後天性ヘモクロマトーシスがある。

## ▶ 症状

肝腫大、皮膚色素沈着、糖尿病、心筋障害、甲状腺機能低下症、性腺機能低下症、下垂体機能低下症、肝硬変、肝癌、腹痛、関節症などをきたす。

原発性肝癌が15~30%にみられる。

男性に多く、発症年齢は病型によるが、男性で50歳、女性では月経や出産で鉄を失うために10年遅い。

## ▶ 診断

無症状だが血液検査や家族歴からヘモクロマトーシスを疑う場合や、特異な症状からヘモクロマトーシスを疑う場合、非特異的全身症状(疲労感、倦怠感、無気力、体重減少など)からヘモクロマトーシスを疑う場合がある。

血清鉄上昇(180  $\mu$ g/dl以上)、トランスフェリン飽和率上昇(60%以上)、血清フェリチンの著明上昇(500 ng/ml以上)により疑い、肝や骨髄生検により鉄沈着を証明し診断する。

肝CT値上昇、MRIでは肝T1、T2強調像での信号強度の低下を認める。また腹部超音波検査で肝硬変、肝癌の有無を調べる。

血清鉄、トランスフェリン飽和度、血清フェリチンの上昇が認められなければヘモクロマトーシスは除外される。ただし病型によってはフェリチン値やトランスフェリン飽和度が正常のことがある。

## ▶ 治療

治療の第1選択は除鉄を目的とした瀉血である。週1~2回400gの瀉血(鉄200mg)をする。ヘモグロビン値は11g/dl、フェリチン値10ng/mlを目標とする。瀉血の目標が達成されたら、3か月に1回再診し、維持瀉血が2~4か月に1回必要である。

再生不良性貧血や骨髄異形成症候群など難治性貧血の治療のために赤血球輸血を繰り返すことでヘモクロマトーシスを発症した場合などでは瀉血が困難なので、キレート薬のデフェロキサミンを筋肉内投与する。瀉血が可能であれば、使用する必要はない。心不全などで瀉血ができない場合にも使用される。キレート薬を使用する前に、基礎疾患の予後とキレート剤投与のメリットを考慮しておくべきである<sup>2)</sup>。

デフェラシロクスは経口キレート薬なので、デフェロキサミンのように毎日注射をする必要がなく、利便性が高い。ただしデフェラシロクスが適用となるのは、血小板減少や白血球減少を併発していて注射による出血や感染の恐れがある場合、あるいは頻繁な通院治療が困難な場合などである。

## ▶ 予後

肝癌が15~30%にみられる。心筋障害により心不全をきたすことがある。

瀉血療法により大部分の患者で症状が改善す

る。肝酵素値は改善もしくは正常化する。肝腫大はしばしば消失する。しかし肝硬変では改善はみられず、肝細胞癌のリスクも不変である。右上腹部痛は改善もしくは消失する。関節痛は改善する。関節の変形の改善はまれで進行も時にみられる。性腺機能の低下の改善、糖尿病の改善、甲状腺機能低下の改善はまれである。色素沈着はたいてい改善する。心筋障害は時には改善する<sup>3)</sup>。

#### ◎文献

- 1) 川中美和：ヘモクロマトーシス。向坂彰太郎，孝田雅彦(編)：遺伝性肝疾患。中外医学社，pp45-52, 2010
- 2) Maggio A : Light and shadows in the iron chelation treatment of haematological diseases. Br J Haematol 138 : 407, 2007
- 3) Barton JC, McDonnell SM, Adams PC, et al : Management of hemochromatosis. Hemochromatosis Management Working Group. Ann Intern Med 129 : 932, 1998

(吉岡健太郎)

## 先天性代謝異常

### inborn errors of metabolism

遺伝性代謝異常は肝病変を引き起こすことはよく知られているが、疾患頻度が非常に低く、実臨床で遭遇する機会は少ないため、診断に難渋する場合が多い。なかには早期に診断、治療がなされない場合に重篤な経過をたどる疾患もあるため、詳細な病歴、家族歴の聴取が重要である。また徐々に原因遺伝子が解明され、遺伝子検査も診断の一助となることから、疑われた場合には専門施設との連携が重要である。

## 糖原病

### glycogenosis

#### ▶ 疾患概念

肝、筋でのグリコーゲンの代謝系の先天性酵素欠損により、組織にグリコーゲンが蓄積し、機能障害を起こす疾患群である。日本人で多いIa型はグルコース-6-リン酸フォスファターゼ(G6Pase)の遺伝子変異による。

#### ▶ 病態のメカニズム

G6Pase欠損によりグリコーゲンがグルコースへ代謝される経路が阻害され、グルコース供給に支障をきたす。その結果肝、腎にグリコーゲンが蓄積するとともに嫌気性解糖が亢進し、高乳酸血症、アシドーシスをきたす。

#### ▶ 分類

肝病変が主となる場合は肝型、骨格筋症状が主となる場合は筋型と分類する。その他、欠損する酵素によってI型からVII型まで分類される。

#### ▶ 症状

成長障害、低血糖、肝腫大、腎腫大、高脂血症、高乳酸血症、アシドーシス、痙攣など。肝線維腫、肝硬変、肝細胞癌、腎不全へ至る例もある。

#### ▶ 診断

酵素診断、遺伝子診断が可能であるが、実施施設は限られている。その他、経口グルコース負荷やグルカゴン負荷、肝生検、筋生検を病型によって組み合わせる。

## III 治療編

## 4. 薬物療法の基本方針

## B 薬物療法：インスリンセンシタイザー

## 要点

- NAFLD/NASH の治療の基本は生活習慣の改善である。特に食事療法と運動療法による減量が重要である。
- NAFLD/NASH の病態にインスリン抵抗性が深く関わっている。そのためインスリンセンシタイザーが期待される。
- NAFLD/NASH 治療薬として作用機序が異なる血糖降下薬であるチアゾリジン系薬とビグアナイド系薬の臨床応用が行われている。
- インスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン系薬は PPAR $\gamma$  アゴニストで脂肪分化や白色脂肪組織への脂肪蓄積を促進し、異所性脂肪(肝脂肪)蓄積を改善する。体重増加や浮腫をきたす。
- ビグアナイド系薬は肝での糖新生を抑制、骨格筋での糖の取り込みを促進し、インスリン様作用をきたす。AMPK 活性化により血糖降下作用とともに脂肪合成も抑制する。体重増加はきたしにくい。
- これまでの NAFLD/NASH に対する治療の臨床試験の結果をまとめると、チアゾリジン系薬は推奨されるが、ビグアナイド系薬は推奨されない。抗酸化薬との併用の効果に対するエビデンスは乏しい。

## はじめに

非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) では肥満や運動不足

により内臓脂肪と肝脂肪が蓄積し、インスリン抵抗性が惹起される。内臓脂肪からアディポカインが産生され、弱い炎症状態が惹起される。酸化ストレスも加わり、肝臓の炎症や線維化が進み、非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis : NASH) の病態となる。治療の基本は食事療法や運動療法であるが、長期に維持するのは困難であり、薬物療法が期待される。NAFLD の病態にはインスリン抵抗性が深く関わっており、そのためインスリンセンシタイザー (insulin sensitizer) の臨床応用が試みられている。インスリンセンシタイザーでは PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) アゴニストであるチアゾリジン誘導体とメトホルミンの NAFLD に対する臨床試験が行われている。すでに多くのランダム化比較試験 (randomized controlled trial : RCT) が報告され、メタ解析もみられ、NAFLD に対する治療薬としての効果と限界が明らかになってきた。

## I チアゾリジン誘導体

チアゾリジン系薬は核内受容体型転写因子 PPAR $\gamma$  に作用し、脂肪細胞の分化促進、骨格筋でのグルコース取り込みを促進し、インスリン抵抗性を改善し、血糖低下作用を有する。ただし、体重増加と浮腫、女性での骨折がみられる。トログリタゾン、ロシグリタゾン、ピオグリタゾンのうちトログリタゾンは重篤な肝障害で発売中止に

表1 NASH に対するチアゾリジン系薬の効果

著者	年	対象	薬物	n	年齢	性 (M/F)	期間	血液生化学	組織
1. Belfort, 他 <sup>2)</sup>	2006	糖尿病・耐糖能低下/NAFLD	プラセボ	21	51	7/14	6ヵ月	ピオグリタゾン群でALT, BS, インスリン感受性改善	脂肪・炎症・ballooning改善, 線維化の有意な改善はみられなかった
			ピオグリタゾン45mg	26	51	14/12			
2. Aithal, 他 <sup>3)</sup>	2008	非糖尿病/NASH	プラセボ	37	55	19/18	12ヵ月	血糖, C-ペプチド, ALT, $\gamma$ -GTP改善	線維化も含め改善
			ピオグリタゾン30mg	37	52	26/11			
3. Ratziu, 他 <sup>4)</sup>	2008	NASH	プラセボ	31	54.1	18/13	12ヵ月	ロシグリタゾン群でグルコース, HOMA, QUICKI, ALT改善	脂肪化のみ改善, NASの改善なし
			ロシグリタゾン4~8mg	32	53.1	19/13			
4. Gastaldelli, 他 <sup>5)</sup>	2009	糖尿病/耐糖能低下/NASH	プラセボ	47	51.1	21/26	6ヵ月	NASHではAdipo-IRでアディポネクチン低値, ピオグリタゾン群で改善	NAS改善, 線維化は改善したが有意ではなかった
			ピオグリタゾン45mg						
5. Lutchiman, 他 <sup>6)</sup>	2007	NASH	ピオグリタゾン30mg投与中止後48週	13	41.5	7/5	48週	ALT上昇, HOMA-R増悪, アディポネクチン低下	脂肪化, 炎症増悪, 線維化不変
6. Argo, 他 <sup>7)</sup>	2009	NASH	トログリタゾン400mg中止後	10	-	-	65ヵ月	ALT改善, BMI, fibrosis, NAS不変	改善している症例もあるが, 生活習慣は正ができていないのが重要
7. Ratziu, 他 <sup>8)</sup> (FLIRT 2)	2010	NASH	プラセボ-ロシグリタゾン8mg	28	55.7	57(M%)	24ヵ月	ALT, IRI, HOMA-R改善	NAS不変. 最初の1年は改善, その後の延長投与で不変(両群とも線維化不変)
			ロシグリタゾン-ロシグリタゾン8mg	25	53.1	68(M%)			

なった。日本ではロシグリタゾンは発売されていないので、ピオグリタゾンのみが投与可能である。

## II ビグアナイド薬

ビグアナイド系薬はマメ科の多年草であるガレンソウから抽出された物質である。フェンホルミン、ブホルミン、メトホルミンの3種類があり、日本ではブホルミン、メトホルミンの2製剤が投与可能である。抗糖尿病作用の機序は不明であったが、AMP活性化キナーゼ (AMP-activated protein kinase: AMPK) の活性化によることが明らかにされた<sup>1)</sup>。AMPK 活性により、肝臓での糖新生の抑制と骨格筋での糖取り込みや糖利用を促進し、血糖降下作用を発揮する。また, sterol

regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c), fatty acid synthase (FAS) などの発現を抑制し、肝内脂肪酸合成, 中性脂肪合成および超比重量リポ蛋白産生を抑制することによる脂肪肝改善作用が期待される。最近, 抗動脈硬化, 抗腫瘍効果, 骨代謝, 血液中の glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 増加作用, 終末糖化産物産生抑制作用などさまざまな作用が報告されている。頻度は少ないが, 乳酸アシドーシスについては注意が必要である。

## III NAFLD/NASH での臨床治験

これまで行われてきた治験はプラセボ・食事療法・運動療法とチアゾリジン誘導体, メトホルミ

表2/ NASHに対するメトホルミンの効果

著者	年	対象	薬物	n	年齢	性 (M/F)	期間(ヵ月)	血液生化学	組織
1. Uygun, 他 <sup>9)</sup>	2004	NASH	食事療法	17	41.5	10/7	6	両群とも改善しているがメトホルミン群で食事療法群に比し, BMI, AST/ALT, IRI, C-ペプチドが改善	両群とも壊死炎症は改善(両群で有意差はない, 線維化の改善はない)
			食事療法+メトホルミン	17	39.8	11/6			
2. Haukeland, 他 <sup>10)</sup>	2009	NASH	プラセボ	24	49.9	16/24	6	両群で有意差はない	両群で有意差はない
			メトホルミン 500~3,000mg	20	44.3	16/20			
3. Shields, 他 <sup>11)</sup>	2009	糖尿病でない NASH	プラセボ	10	44.4	5/5	12	両群で改善・有意差はない	両群で改善・有意差はない
			長時間作用型メトホルミン	9	50.2	8/1			
4. Nar, 他 <sup>12)</sup>	2009	NAFLD	生活指導	15	44.5	5/10	6	改善するが両群で差はない. LDLが投与群で低下, HDLが上昇	超音波での評価
			メトホルミン 1,700mg	19	49.4	4/15			

ンの2群,あるいは両薬物併用,または抗酸化薬と上乗せ効果の検討が多い。多くは6ヵ月から12ヵ月の短期間の臨床治験での報告が多い。最近のRCTを中心とした報告を解説する。

① チアゾリジン系薬単独治験 (表1)

4つのRCTが報告されている<sup>2-5)</sup>。また、投与中止後の効果の持続性についての報告もみられる<sup>6,7)</sup>。いずれも組織診による評価が行われている。プラセボ,食事療法群,運動療法群,低炭水化物食群に比し,投与群では血液生化学所見やインスリン抵抗性は改善する。組織所見では,脂肪化とNAS (NAFLD activity score)については改善しているとの報告が多い。しかし,線維化の改善は得られない。また,長期の投与例では,最初の1年間は改善がみられるが,次の1年間は血液所見,組織所見ともに変化がないとの報告がみられる<sup>8)</sup>。さらに1年間投与し,中止後,効果が継続するかどうかについての検討では,生活習慣の是正がうまくいかない場合は,効果は続かないとの報告がある<sup>6)</sup>。

以上をまとめると,チアゾリジン系の薬物では,インスリン抵抗性は改善し,肝脂肪も軽減するが,線維化の改善効果は乏しい。また,効果の持続に

ついてはエビデンスはなく,今後の課題である。副作用では体重増加がみられ,浮腫,骨折がみられるため,留意する必要がある。

② メトホルミン

単剤でのRCTによる検討を表2に示す<sup>9-12)</sup>。投与量や投与期間の違いがみられる。食事療法群とともに,血液生化学所見,脂肪化や炎症の組織所見が改善しているが,両群に有意差はない。現在,NASHにおけるメトホルミンの効果は明らかなエビデンスはない。

③ 併用による効果

メトホルミンにはチオグリタゾンでみられた体重増加はなく,作用機序も異なるため,両薬物との上乗せ効果が期待される(表3)<sup>13-15)</sup>。しかし,食事やピオグリタゾンにメトホルミンを加える上乗せ効果は明らかではない。また,抗酸化薬であるビタミンEやアンギオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)との併用についての治験の報告もみられる<sup>16-18)</sup>。併用により食事療法に比し組織学的改善がみられている。しかし,線維化についての効果は有意差はなく,併用については今後の課題である。

表3 NASHに対するチアゾリジン系薬、メトホルミン、ビタミンE併用による治療効果

著者	年	対象	薬物	n	年齢	性 (M/F) or M%	期間	血液生化学	組織
1. Idilman, 他 <sup>13)</sup>	2008	NASH	食事療法+運動療法	25	45.8	9/16	48週	ALT, AST 改善	不変
			食事療法+運動療法+メトホルミン 850mg	24	47.9	21/27		A S T, A L T, HOMA-IR 改善, 高 感度 CRP 改善	NAS 改善
			食事療法+運動療法+ロシグリタゾン 8mg	25					
2. Tikkanen, 他 <sup>14)</sup>	2004	糖尿病	ロシグリタゾン 8mg	9	50	3/6	16週	HbA1c, IRI, FFA 低下, 肝脂肪低下, インスリン感受性 改善, アディポネ クチン低下	脂肪化改善
			メトホルミン 2,000mg	11	46	4/7		BMI 低下, HbA1c, IRI, FFA 低下	脂肪化改善なし
3. Omez, 他 <sup>15)</sup>	2010	NASH・耐糖 能低下	メトホルミン 1,700mg	22	48.0	15/7	12ヵ月	食後血糖改善	NAS 改善せず, 線 維化改善せず
			ロシグリタゾン 4mg	20	49.3	9/11		ALT, 食後血糖, HOMA-IR 改善	NAS 改善・線維化 改善せず
			メトホルミン 1,700mg+ロシグ リタゾン 4mg	22	49.6	11/11		ALT 改善・食後血 糖, $\gamma$ -G T P, HOMA-IR 改善	
4. Sanyal 他 <sup>16)</sup>	2004	非糖尿病・ NASH 肝硬変	ビタミンE 400IU	10	46	4/6	6ヵ月	BS, FFA 不変	脂肪化は改善
			ビタミンE 400IU+ ピオグリタゾン 30mg	10	46	6/4		BS, FFA 低下, IRI	脂肪化, ballooning, 肝細胞周囲線維化改 善
5. Sanyal, 他 <sup>17)</sup> (PIVENS)	2010	非糖尿病・ NASH	プラセボ	83	45.4	42	96週	ビタミンE群は有意に改善, ピオグ リタゾン群はプラ セボ群を有意に上 回ることはできな かった。しかし NASなどは改善	線維化は改善しな かった
			ピオグリタゾン 30mg	80	47.0	41			
			ビタミンE 800IU	84	46.6	48			
6. Torres, 他 <sup>18)</sup>	2011	NASH	ロシグリタゾン 8mg	31	47.6	65	48週	ALT, HOMA-IR, グルコース, イン スリン改善, メト ホルミンの上乗せ 効果なし	3群間で差はない。 各群, NAS・線維化 改善。線維化は HOMA-R, HbA1c, 中性脂肪と相関
			ロシグリタゾン 8mg +メトホルミン 500mg	37	49.7	51			
			ロシグリタゾン 8mg +ロサルタン 50mg	40	50.6	75			

### まとめ

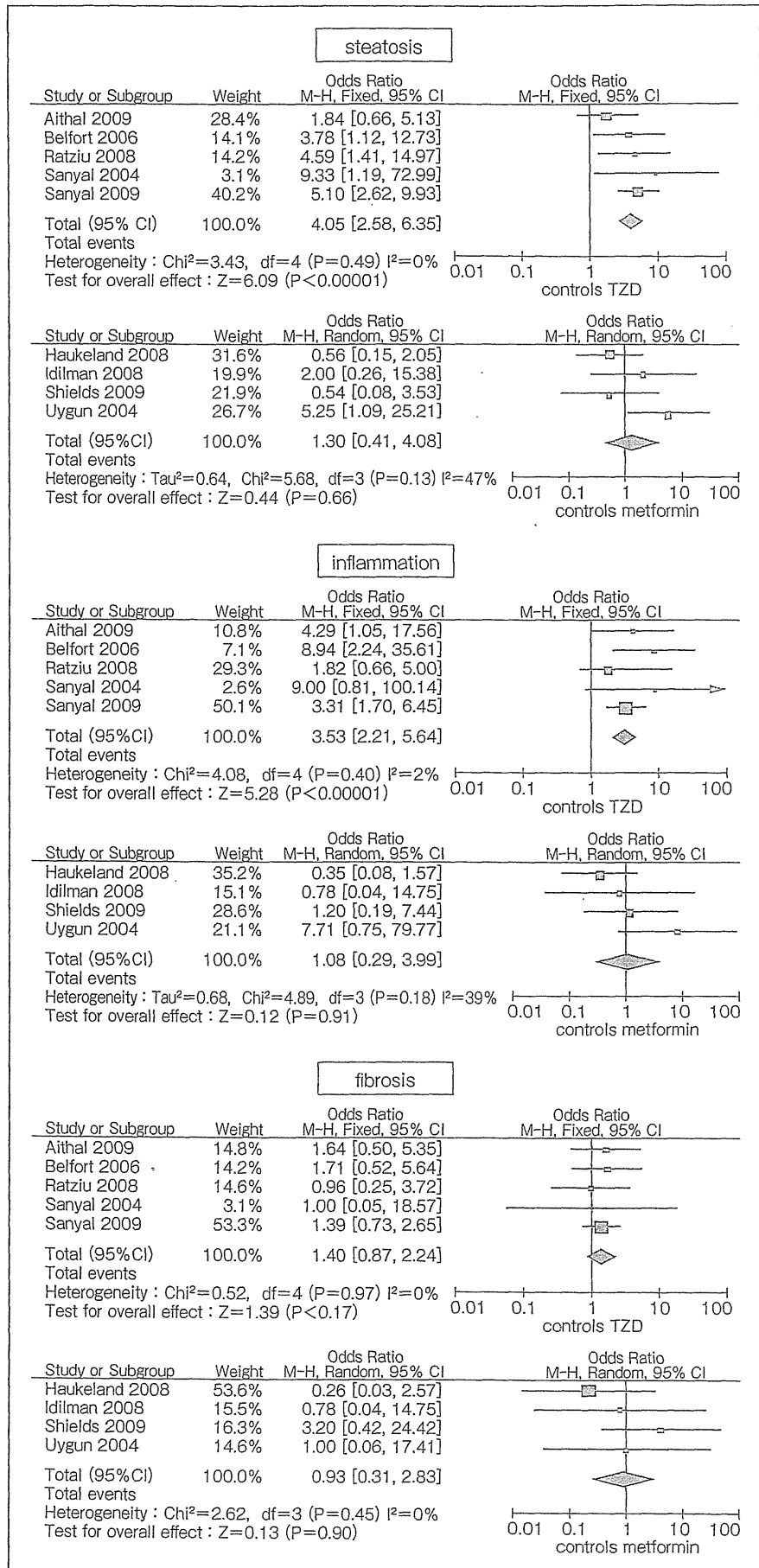
最近 NAFLD に対する治療におけるメタ解析が報告されている<sup>19)</sup>(図1)。チアゾリジンでは、脂肪化、炎症に対する明らかな効果が報告されて

いる。メトホルミンでは効果がないと報告されている。線維化はいずれの薬物においても効果は明らかではない。また、AASLDガイドラインでは、チアゾリジンはNASHの治療として可能性がある」と推奨されている(Strength-1, Evidence B)

**図1** NASHに対するチアゾリジンとメトホルミンの効果(メタ解析)

steatosis, inflammation, fibrosis に関するメタ解析。上段はチアゾリジン、下段はメトホルミンについての解析。

(文献 19 より引用)



III 治療編

が、メトホルミンはNASHの治療として推奨されていない(Strength-1, Evidence A)<sup>20)</sup>.

(清家正隆)

文献

- 1) Zhou G, Myers R, Li Y, et al. : Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 108 ; 1167-1174, 2001
- 2) Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. : A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 355 ; 2297-2307, 2006
- 3) Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, et al. : Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 135 ; 1176-1184, 2008
- 4) Ratziu V, Giral P, Jacqueminet S, et al. : Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis : one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial. *Gastroenterology* 135 ; 100-110, 2008
- 5) Gastaldelli A, Harrison SA, Belfort R, et al. : Importance of changes in adipose tissue insulin resistance to histological response during thiazolidinedione treatment of NASH patients. *Hepatology* 50 ; 1087-1093, 2009
- 6) Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, et al. : The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 46 ; 424-429, 2007
- 7) Argo CK, Iezzoni JC, Al-Osaimi AM, et al. : Thiazolidinediones in NASH : sustained benefit after drug discontinuation? *J Clin Gastroenterol* 43 ; 565-568, 2009
- 8) Ratziu V, Charlotte F, Bernhardt C, et al. : Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis : results of the FLIRT-2 extension trial. *Hepatology* 51 ; 445-453, 2010
- 9) Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, et al. : Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 19 ; 537-544, 2004
- 10) Haukeland JW, Konopski Z, Beate Eggesbø H, et al. : Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease : a randomized, controlled trial. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 44 ; 853-860, 2009
- 11) Shields WW, Thompson KE, Grice GA, et al. : The effect of metformin and standard therapy versus standard therapy alone in nondiabetic patients with insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) : a pilot trial. *Ther Adv Gastroenterology* 2 ; 157-163, 2009
- 12) Nar A, Gedik O : The effect of metformin on leptin in obese patients with type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Diabetol* 46 ; 113-118, 2009
- 13) Idilman R, Mizrak D, Corapcioglu D, et al. : Clinical trial : insulin-sensitizing agents may reduce consequences of insulin resistance in individuals with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 28 ; 200-208, 2008
- 14) Tiikkainen M, Häkkinen AM, Korsheninnikova E, et al. : Effects of rosiglitazone and metformin on liver fat content, hepatic insulin resistance, insulin clearance, and gene expression in adipose tissue in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 53 ; 2169-2176, 2004
- 15) Omer Z, Cetinkalp S, Akyildiz M, et al. : Efficacy of insulin-sensitizing agents in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 22 ; 18-23, 2010
- 16) Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, et al. : A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2 ; 1107-1115, 2004
- 17) Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, et al. : Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 362 ; 1675-1685, 2010
- 18) Torres DM, Jones FJ, Shaw JC, et al. : Rosiglitazone versus rosiglitazone and metformin versus rosiglitazone and losartan in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis in humans : a 12-month randomized, prospective, open-label trial. *Hepatology* 54 ; 1631-1639, 2011
- 19) Musso G, Gambino R, Cassader M, et al. : A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 52 ; 79-104, 2010
- 20) Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. : The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease : practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 55 ; 2005-2023, 2012



# C型肝炎硬変症に対するPSEと脾摘併用IFNの有用性

清家 正隆\*

## はじめに

肝硬変症は肝機能良好な代償性肝硬変症、合併症を有し高度に線維化の進んだ代償性肝硬変症、血小板数低値や好中球減少を伴う代償性肝硬変症、非代償性肝硬変症など疾患スペクトラムは広く、それぞれの病態に対応する治療が必要となる。血小板数や白血球数が保たれている代償性肝硬変症では、通常のガイドラインに沿った治療が行われていると考えられるが、血小板数低値のC型肝炎硬変症に対してはインターフェロン(IFN)治療の導入は困難で、部分的脾動脈塞栓療法(PSE)や脾臓摘出術(脾摘)などを行って血小板数を回復させた後にIFN治療を導入する必要がある<sup>1) - 3)</sup>。PSEや脾臓摘出術は肝機能亢進症状である門脈圧亢進症に対する治療として行われてきた。しかし、一方でPSEや脾摘後の合併症に対する留意も必要であるため、IFNの前処置あるいは支援治療としてのPSE・脾摘の是非については検討の余地が存在する。PSEや脾摘併用IFN療法の多数例での検討は少なく、安全性や効果、適応についての検討は十分でない。そこで、多施設での治療成績を示し、安全性と治療効果について報告する。また、脾臓の機能は不明な点も多いため、脾臓摘出による肝臓を中心とした他臓器への影響について、基礎的な実験データを示し、脂肪酸代謝の観点から脾摘の意義を考察する。

## 対象および検討項目:

1. 厚生労働省厚生科学研究費肝炎等克服緊急対策研究事業(肝炎分野)「ウイルス型肝炎における最新の治療法の標準化を目指す研究」(熊田班)で施行したPSE・脾摘併用IFN療法の症例を集積し、retrospectiveに解析した。PSE・脾摘併用IFN療法の臨床検査所見の特徴、治療成績・発癌率・生存率を示す。参加施設は広島大学、信州大学、愛媛大学、済生会吹田病院、虎の門病院、藤田保健衛生大学、鹿児島大学、新小倉病院、武蔵野赤十字病院、東京大学、福岡大学、岐阜大学、大分大学の13施設である。
2. 肥満モデル動物における脾摘による肝への影響を解析した。高脂肪食を摂食させた後、脾摘群とコントロール群の肝の組織像、脂肪酸酸化に関連する酵素群の解析を行った。

## 結果:

### 1. PSE・脾摘併用IFN療法の臨床背景および治療成績(表1)

PSE併用IFN療法群(PSE群)は93例、脾摘併用IFN療法群(脾摘群)は71例であった。平均年齢はPSE群で61.0±8.0歳、脾摘群は56.1±7.5歳で、後者において有意に若い症例を対象として治療を行っていた。男女比、BMIでは両群間で有意差はなかった。PSE・脾摘施行前の血小板数はそれぞれ6.2±1.8×10<sup>4</sup>/μL、6.0±3.1×10<sup>4</sup>/μLで両群間に有意差はなかった。生化学的

\*大分大学医学部附属病院 肝疾患相談センター [〒879-5593 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1-1]

表1 PSE/脾摘前の臨床背景

	PSE (n=93)	脾摘 (n=71)	p値
Age	61.0 ± 8.0	56.1 ± 7.5	0.000
gender (M/F)	45/48	37/34	0.753
BMI kg/m <sup>2</sup>	23.1 ± 3.0	23.9 ± 2.9	0.101
T. Bil mg/dL	1.00 ± 0.50	1.18 ± 0.36	0.012
Alb g/dL	3.58 ± 0.50	3.60 ± 0.45	0.818
AST IU/L	67.7 ± 33.5	62.3 ± 26.7	0.278
ALT IU/L	68.9 ± 43.5	56.9 ± 38.9	0.072
γ-GTP IU/L	50.6 ± 46.4	63.2 ± 60.6	0.139
PT %	79.3 ± 11.8	76.5 ± 15.3	0.193
WBC/μL	3,669 ± 1,261	3,324 ± 1,330	0.095
NEUT/μL	1,904 ± 933	1,720 ± 819	0.225
Hb g/dL	12.8 ± 1.8	12.7 ± 1.6	0.627
PLT 10 <sup>4</sup> /μL	6.2 ± 1.8	6.0 ± 3.1	0.182
DM (+/-)	26/67	18/47	1.000

表2 PSE/脾摘の全例の背景

		PSE (n=93)	脾摘 (n=71)	p値
	IFN投与までの期間 (日)	56 ± 63	96 ± 68	0.001
IFNの種類	PegIFN+RBV	60	61	0.016
	α or β IFN+RBV	11	3	
	IFN only	16	4	
	PegIFN only	6	3	
目的	根治/少量長期/unknown	87/2/4	68/3/0	0.177
	標準的根治療法	87	67	1.000
	非標準的根治療法	6	4	
ウイルス型・量	1high	64	39	0.038
	1low	10	10	
	2high	7	14	
	2low	12	4	
成績	全例SVR/nonSVR	28/55	21/42	1.000
	1high (SVR/nonSVR)	7/49	9/24	0.093
	1low (SVR/nonSVR)	7/2	3/7	0.070
	2high (SVR/nonSVR)	3/3	7/7	1.000
	2low (SVR/nonSVR)	11/1	0/2	0.033
	1high (SVR/nonSVR)	7/49	9/24	0.093
	others (SVR/nonSVR)	21/6	12/17	0.007
中止	完遂	61	54	0.490
	中止	25	13	
	投与中	2	2	
	詳細不明	5	2	

所見の比較では総ビリルビン(T. Bil)が脾摘群で高かったが、血清アルブミン(Alb)、AST、ALT、γ-GTP、白血球数(WBC)、プロトロンビン(PT)などは両群間に有意差はなかった。

PSEや脾摘施行後IFN導入までの期間は、PSE群で56 ± 63日、脾摘群で96 ± 68日で脾摘群の方が、IFN導入までの期間が長かった。IFN治療法は、脾摘群においてPegIFN+RBV

併用が有意に多く、ウイルス型および量については、脾摘群では2型高ウイルス量が、PSE群では2型低ウイルス量が多かった。完遂率はそれぞれ65.6%と76.0%であり、中止率はそれぞれ26.8%、18.3%で両群間に有意な差はなかった(表2)。

表3-1 PSE/脾摘・前後での血液生化学の推移

	PSE (n=93)		脾摘 (n=71)	
	前	後 (IFN前)	前	後 (IFN前)
T. Bil mg/dL	1.00 ± 0.50	0.93 ± 0.38	1.18 ± 0.36	1.12 ± 0.97
Alb g/dL	3.58 ± 0.50	3.32 ± 0.52	3.60 ± 0.45	3.59 ± 0.47
AST IU/L	67.7 ± 33.5	72.7 ± 38.6	62.3 ± 26.7	70.5 ± 55.0
ALT IU/L	68.9 ± 43.5	64.8 ± 38.2	56.9 ± 38.9	58.8 ± 62.6
γ-GTP IU/L	50.6 ± 46.4	44.6 ± 28.8	63.2 ± 60.6	54.4 ± 49.8
PT %	79.3 ± 11.8	81.0 ± 12.3	76.5 ± 15.3	81.3 ± 18.8
WBC/μL	3,669 ± 1,261	4,641 ± 1,769	3,324 ± 1,330	5,180 ± 1,511
NEUT/μL	1,904 ± 933	2,428 ± 1,378	1,720 ± 819	1,929 ± 910
Hb g/dL	12.8 ± 1.8	12.5 ± 1.7	12.7 ± 1.6	12.6 ± 1.9
PLT 10 <sup>4</sup> /μL	6.2 ± 1.8	12.2 ± 4.9	6.0 ± 3.1	16.4 ± 6.1

表3-2 PSE/脾摘・前後での血液生化学の変化率

	PSE (n=93)	脾摘 (n=71)	p値
T. Bil mg/dL	-0.07 ± 0.44	-0.07 ± 0.97	0.972
Alb g/dL	-0.24 ± 0.43	-0.01 ± 0.40	0.001
AST IU/L	5.0 ± 37.6	9.4 ± 48.9	0.524
ALT IU/L	-4.0 ± 34.9	3.1 ± 47.1	0.281
γ-GTP IU/L	-6.0 ± 27.9	-8.1 ± 51.5	0.764
PT %	0.10 ± 12.6	5.4 ± 21.7	0.164
WBC /μL	1,032 ± 1,652	1,812 ± 1,509	0.003
NEUT/μL	454 ± 1,407	244 ± 879	0.332
Hb g/dL	-0.23 ± 1.10	-0.15 ± 1.47	0.703
PLT 10 <sup>4</sup> /μL	5.98 ± 4.96	10.3 ± 6.20	0.000

## 2. PSE・脾摘前後の血液生化学所見の推移と変化率：

血小板数は脾摘群では $6.0 \pm 3.1 \times 10^4 / \mu\text{L}$ から $16.4 \pm 6.1 \times 10^4 / \mu\text{L}$ に上昇し、PSE群では $6.2 \pm 1.8 \times 10^4 / \mu\text{L}$ から $12.2 \pm 4.9 \times 10^4 / \mu\text{L}$ へ上昇していた。脾摘群で有意に血小板数は上昇していた(表3-1)。

PSE群では施行後に有意にAlbの低下が認められたが、脾摘群では低下はなかった。WBCは両群で上昇したが、脾摘群でPSE群に比し、有意に高値であった。T. Bil、AST、ALT、γ-GTP、PT、ヘモグロビン(Hb)では両群とも前後で有意な差はなかった(表3-2)。

## 3. 合併症：

PSE群で91例中11例(12%)に合併症を認めた。腹水・胸水が6例で最も多く、脾膿瘍が2例、播種性血管内凝固症候群(DIC)が1例、口内炎が1例であった。脾摘群では76例中10例(13%)で、イレウス3例、門脈圧亢進症性胃症(PHG)2例、胸水・腹水2例、発熱3例であった。

## 4. 完遂例の治療成績：

完遂例110例での治療成績を図1に示す。SVR率はI型高ウイルス量群では、PSE群が14%、脾摘群が32%であった。

一方で、I型高ウイルス量以外では、PSE群の方がSVR率が高値であった。

図1 完遂例でのIFN治療のSVR率

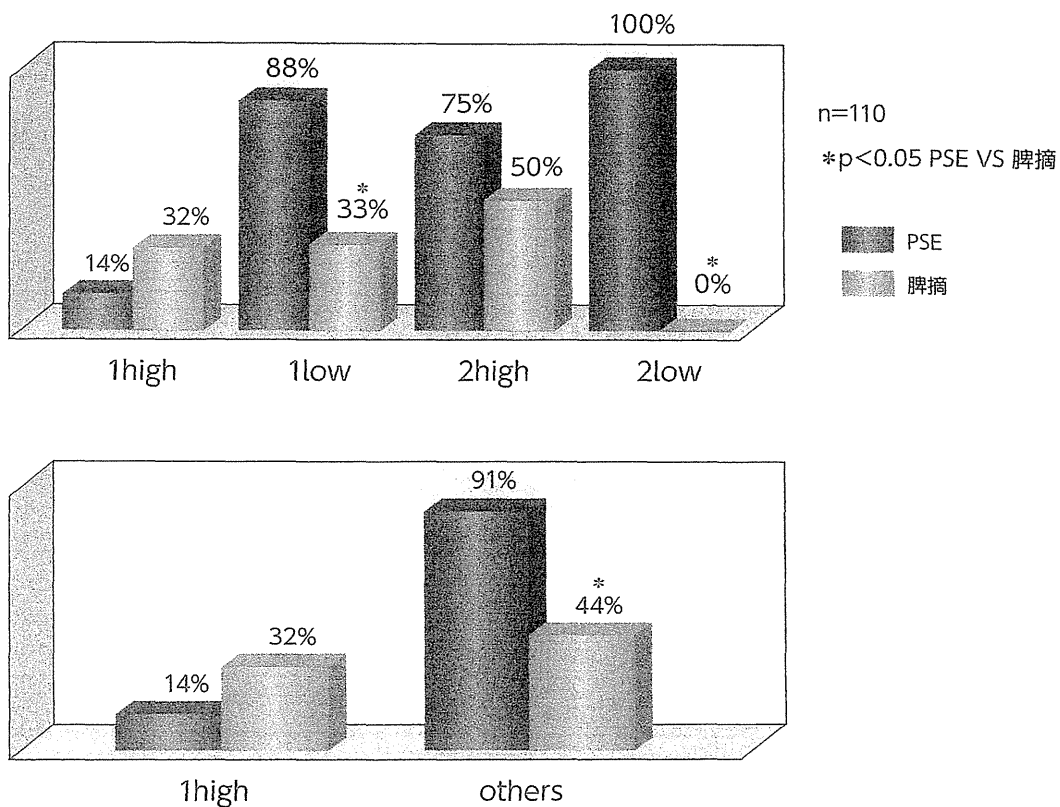


図2 PSE, 脾摘併用IFN療法後の累積発癌率

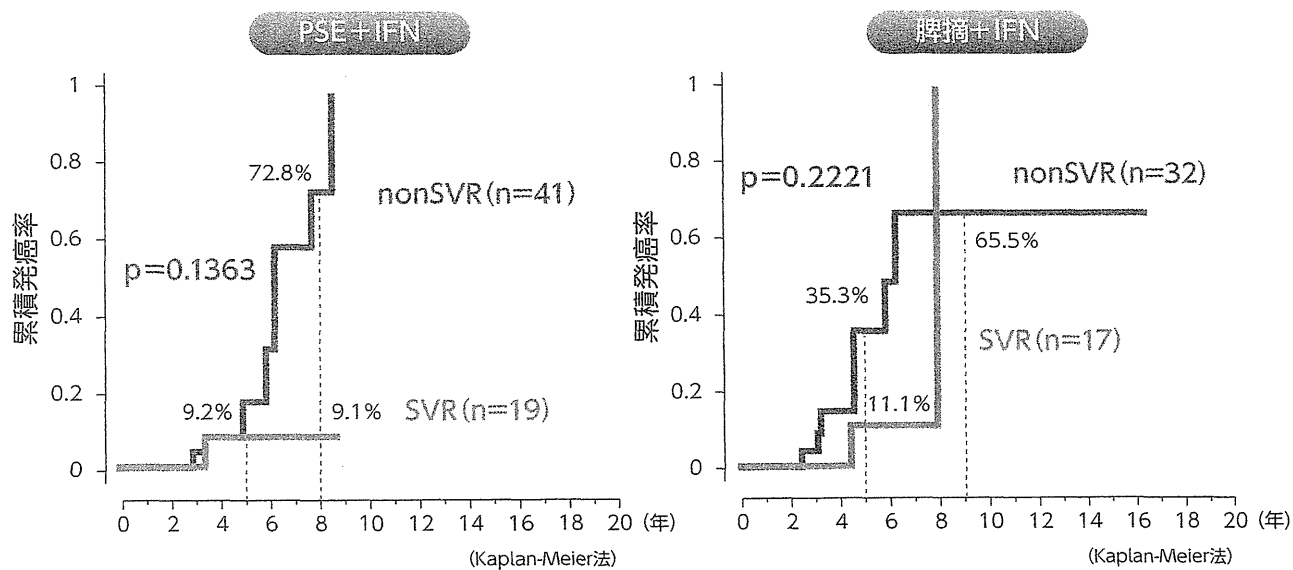
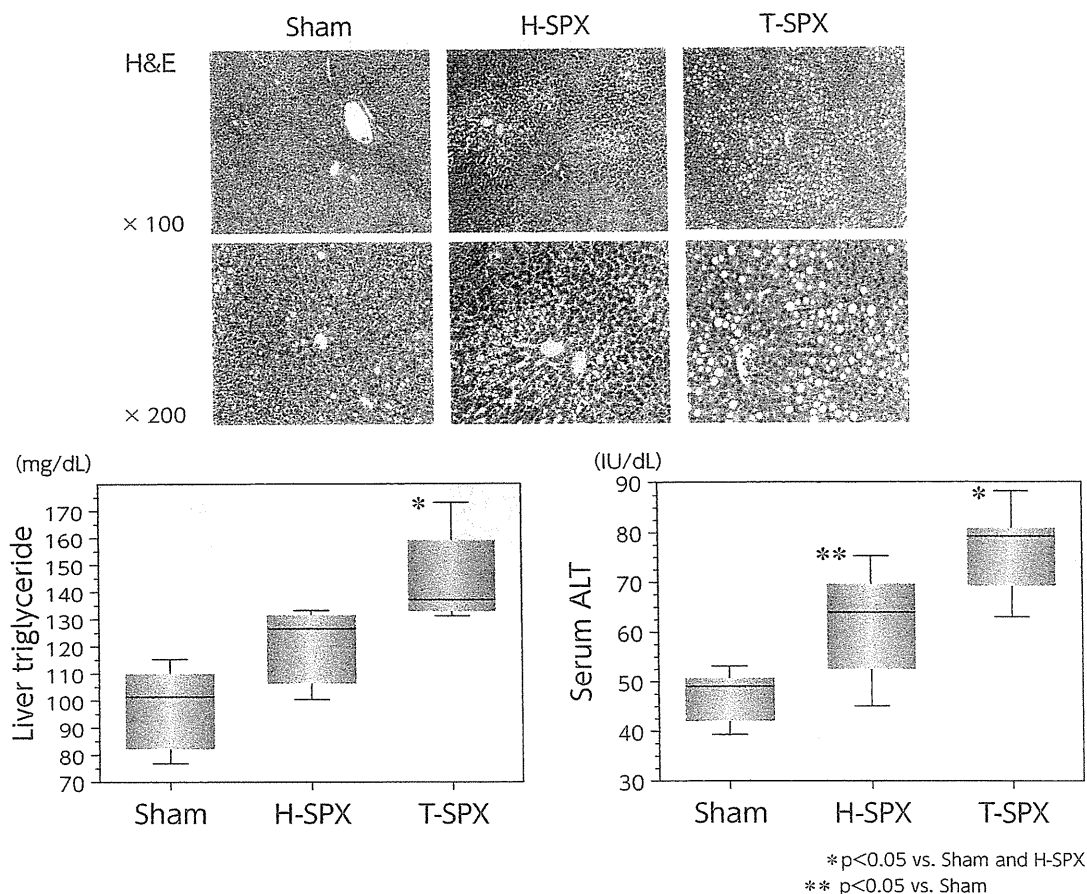


図3 脾臓摘出による肝組織、肝臓内TG含有量および血清ALTの変化

H-SPX (hemisplenectomy) : 脾臓半脾摘 T-SPX (total splenectomy) : 脾臓全摘



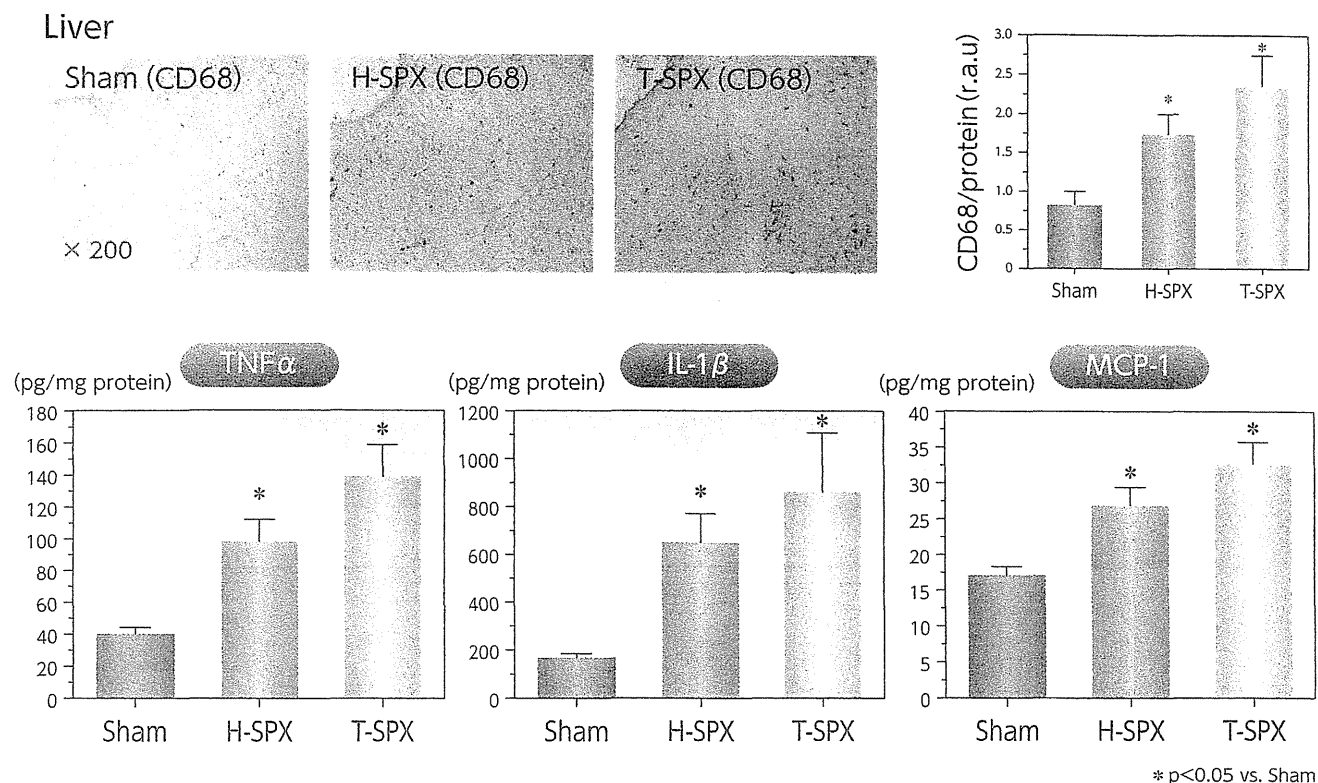
また、1b高ウイルス量でPegIFN施行群の治療成績は、PSE群、脾摘群でそれぞれEVR率15%、29%、SVR率19%と28%で有意差はなかった。

発癌後治療導入した症例を除く109例での、治療後の累積発癌率は両群とも高率であったが有意差はなかった。SVRが得られた症例からの発癌率は低い傾向であったが、症例数が少なく有意差はなかった(図2)。161例での生存率は、PSE群、脾摘群で有意差はなかった。さらに現時点ではSVR群、nonSVR群間においても有意差はなかった。

### 5. 肥満動物モデルにおける脾臓の役割:

8週齢のSprague-Dawleyラットに1ヵ月間60%高脂肪食を摂食させ、対照群、半脾摘(H-SPX)、全脾摘(T-SPX)の3群に群別し、3ヵ月間高脂肪食の摂食を継続させた。脾摘後3ヵ月経過後に行った糖負荷試験では、血中のインスリンは脾摘群で高値であり、インスリン抵抗性が惹起されていた。血清中のALTや中性脂肪は高値で、肝細胞内には脂肪が蓄積し、一部炎症細胞の浸潤がみられた。半脾摘より全脾摘で脂肪化が強く、脾機能低下による肝脂肪化への影響が示唆された(図3)。肝内の組織中の炎症性サイトカインであるTNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MCP-1の発現は、

図4 肝臓Kupffer細胞数および炎症性サイトカイン濃度の変化



半脾摘、全脾摘の順に発現が増強しており、CD68で染色したKupffer細胞の浸潤も顕著であった(図4)。脾摘後ラットでは、脂肪酸合成酵素遺伝子を制御するSREBP1cは低下しており、一方でCPT-1も低下していた。脂肪酸分解系酵素の相対的な低下により脂肪酸の肝内の蓄積が生じているものと考えられた。

## 考察

線維化高度進展例のC型肝硬変症は門脈圧亢進症状などの合併症を伴っており、近い将来肝不全への進展や肝細胞癌の発癌などのリスクが高い。そのため、IFNによるウイルス排除やALTの正常化による肝炎の進展の阻止がもっとも必要な集団であるが、難治性で治療成績も十分ではない。血小板数や白血球数が治療中に低下

して、十分な治療薬のアドヒアランスが得られないことや、最近では、アミノ酸のアンバランスによるIFNのシグナリングの阻害が、難治要因とされている<sup>4)</sup>。さらに線維化進展例では血小板数や白血球数が低下しており、IFN導入の困難な症例も存在する。このような症例に対して、PSEや脾摘を行い、血小板数や白血球数を回復させ、十分なアドヒアランスを確保し、IFNを導入する方法が行われている。今回の解析でPSE・脾摘前後の血液生化学的変化の特徴として、以下のことが明らかとなった。

1. 血小板数や好中球数の回復は期待でき、脾摘の方が十分な回復が得られる。
2. PSE群ではAlbの低下がみられる。
3. Hbの回復は期待できない。
4. PSE/脾摘の合併症では質的な差がみられた。

若年者で十分な治療を目指す場合や血小板数が $3.5 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 以下の場合では脾摘を選択して行っていることが報告されている<sup>2)</sup>。今回解析した集団では、PSE後の発熱、脾摘の血栓症についての解析が十分ではなかったが、従来より、脾摘では術後血栓症が高頻度に指摘されていることから注意が必要である。また、PSEでは梗塞率が高いと脾膿瘍の危険が存在する。このように両者で合併症の質的な差がみられるため留意が必要である。

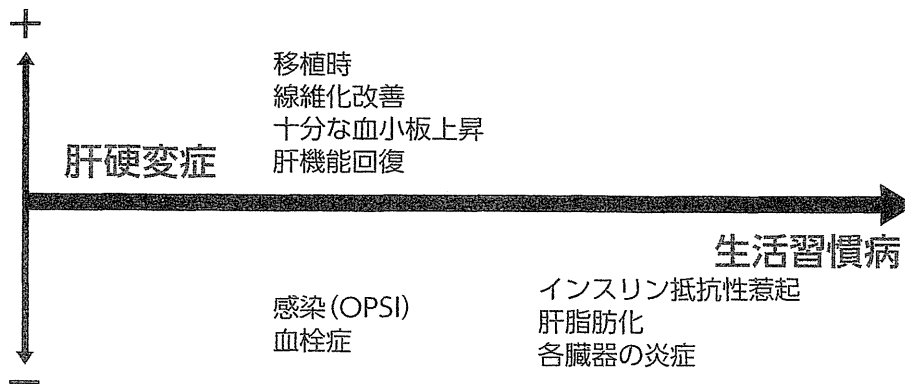
PSE・脾摘併用IFN療法の相違については、PSE/脾摘後IFN導入までの期間は脾摘が長く、中止率やアドヒアランスに差はない。低ウイルス量では高率にSVRに持ち込めるので勧められるが、1b高ウイルス量でのSVR率は低いため現在の標準治療では症例の状況に応じて選択するのが望ましい。症例数が少ないが、*IL28* SNP majorやCore70野生株においても十分なSVRが得られていないので、次世代の治療薬(DAAs)の登場までウイルス排除は先送りし、発癌予防やALTの安定化を目指すことも選択肢の一つである。また、PSEや脾摘を必要とする症例は高度線維化進展例であり、治療後の発癌率は高率であり、SVR症例であっても発癌には十分な注意が必要である。

脾機能については不明な点が多い。脾摘(脾機能低下)症例では感染症、血栓症、発癌への関与、肝移植時の有用性の有無が臨床的問題点として考えられる。感染症や血栓症については広く知られている。脾臓は免疫担当臓器の一つであり、門脈を介して肝臓と連結されている。脾臓では細菌をオプソニン化し排除する役割がある。脾摘後オプソニン化の機能が失われ、肺

炎球菌などによる重症感染症(OPSI)が生じる場合があり、脾摘前に肺炎球菌ワクチンを投与することが推奨されている。脾摘が発癌を促進するか否かについて、また、移植時の併用については現在様々な議論があり、今後の課題である。脾摘では腹腔鏡下脾臓摘出術の導入により安全で低侵襲的となったとはいえ、出血や臓器損傷などを回避するためには手技的な熟練も要求される。以上の問題点に加え、脾臓摘出(脾機能低下)が長期に、全身に対してどのような影響を及ぼすかについての検討も必要である。最近、筆者らは興味深い知見を得た。肥満ラットに脾摘を加えると、肝臓で脂肪蓄積が生じ、肝内の炎症も惹起することを報告した<sup>5)</sup>。肥満(生活習慣病)を合併した患者に脾機能低下(脾摘)が生じるとどのような病態になるかについては今日的な問題として解決すべき課題である<sup>6) 7)</sup>。

肥満モデルラットで脾臓を摘出すると、インスリン抵抗性を惹起する。また、肝内では脂肪が蓄積し、血清のALTは上昇し、組織ではballooningや炎症細胞も浸潤し、脂肪性肝炎の状態を呈することを報告した<sup>6) 7)</sup>。肝内にはKupffer細胞の浸潤がみられ、TNF- $\alpha$ やIL-1 $\beta$ 、MCP-1などの炎症性のサイトカインが上昇することを報告した。このような所見はNASHの病態にみられる現象である。脂肪酸蓄積については、SREBP1cの発現は減少するものの、ミトコンドリアにおける脂肪酸の $\beta$ 酸化酵素であるCPT1の低下がみられる。脂肪酸合成よりも分解の程度が低下し、肝内の脂肪酸が蓄積することが推定された<sup>6) 7)</sup>。最近Gotohらは、脾臓由来のIL10の低下が肝臓や膵臓をはじめ中枢を含め、炎症状態を惹起することを報告し<sup>8)</sup>、生活習慣病の病態における脾臓の役割が重要であることを明らかにした。従来

図5 脾摘の利点・欠点



より考えられている脾臓の機能 1. 免疫機能、2. 髄外造血、3. 血球の破壊 (filtration) に加え、脂肪肝における脂肪酸代謝の調整臓器としての機能が加えられる。

以上の観点から脾摘の利点・欠点について図5のように考える。肝硬変症の場合、利点として、線維化改善、十分な血小板上昇、肝機能回復、移植時の脾摘併用などが挙げられる。また不利益な点としては、OPSIなどの感染や血栓を生じやすいなどが挙げられる。しかし、脾摘後、インスリン抵抗性、肝脂肪化、臓器の炎症などを惹起し、生体に好ましくない環境になる可能性があるため、脾摘後の長期経過の評価については今後の検討課題である。

結語：

血小板数低値のC型肝炎に対するPSE・脾摘併用IFN療法はI型高ウイルス量群ではSVR率は低く、慎重に判断する必要がある。一方でI型高ウイルス量以外 (others) ではSVR率は良好で、推奨される。脾臓機能と他臓器の関連は不明な点が多く、脾摘については短期的判断に加え長期的な臨床経過を考慮し、慎重に判断する必要がある。



## 〈文献〉

- 1) Miyake Y, Ando M, Kaji E, et al : Partial splenic embolization prior to combination therapy of interferon and ribavirin in chronic hepatitis C patients with thrombocytopenia. *Hepatology Res* **38**: 980-986, 2008.
- 2) 森 哲、清家正隆、山下 勉、他: 肝硬変・肝細胞癌治療の補助的手段としての部分的脾動脈塞栓療法の有効性. *日本門脈圧亢進症学会雑誌* **15**: 337-343, 2009.
- 3) Akahoshi T, Tomikawa M, Kawanaka H, et al : Laparoscopic splenectomy with interferon therapy in 100 hepatitis-C-virus-cirrhotic patients with hypersplenism and thrombocytopenia. *J Gastroenterol Hepatol* **27**: 286-290, 2012.
- 4) Honda M, Takehana K, Sakai A, et al : Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* **141**: 128-140, 2011.
- 5) Gotoh K, Inoue M, Masaki T, et al : A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced hypothalamic inflammation. *J Neurochem* **120**: 752-764, 2012.
- 6) Inoue M, Gotoh K, Seike M, et al : Involvement of remnant spleen volume on the progression of steatohepatitis in diet-induced obese rats after a splenectomy. *Hepatol Res* **42**: 203-212, 2012.
- 7) Inoue M, Gotoh K, Seike M, et al : Role of the spleen in the development of steatohepatitis in high-fat-diet-induced obese rats. *Exp Biol Med (Maywood)* **237**: 461-470, 2012.
- 8) Gotoh K, Inoue M, Masaki T, et al : A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced inflammation in white adipose tissue and liver. *Diabetes* **61**: 1994-2003, 2012.

\* \* \*

## 討論

【熊田(博)】ありがとうございました。

【大崎】非常に詳細な検討で、興味深いお話を頂き、ありがとうございました。脾摘例には門脈血栓はありましたか。また、インターフェロン治療後の脾摘では、塞栓率も含めて発癌率が非常に高いですが、コントロールとの比較はされていますか。

【清家】今回の検討では門脈血栓は認めませんでした。また、コントロールについては集め方が非常に難しいため、今回は設定していません。

【大崎】他の理由で脾摘した症例やPSEした症例での発癌率というのはいかがでしょうか。

【清家】池田先生が生命予後に関する検討を行っていました。脾摘単独により生命予後の改善は得られないという報告はありますが、発癌率

が通常より高いという報告はありません。

【大崎】脂肪化が誘導されることは、発癌に関連していると考えられますか。

【清家】肝硬変の動物モデルで脾摘を行い、線維化の改善や、抗腫瘍効果について検討した報告が多いですが、今回の検討は肝硬変のモデルではなく、肥満ラットで行った検討であるため、そこまではいえないと思います。

【大崎】ありがとうございました。

【向坂】脾摘とエンボリゼーションに関して、以前TNFの由来は脾臓ではないかということでエンドトキシンを投与して肝障害を起こすモデルラットを作りました。その時の検討では、脾摘を行うことによって、肝臓に流入するTNFを抑制できるという印象でしたが、今回の検討ではい

かがですか。また、脾摘とエンボリゼーションで、脾摘を行うとインスリン抵抗性や脂肪化が高くなるといわれておりますが、エンボリゼーションを行ったデータはありますか。

**【清家】** ありません。エンボリゼーションの代わりに半脾摘のモデルを作成しました。ただ、NASHモデルで考えると脾臓の存在も重要ですから、安易に脾摘を行うべきではないと思っております。

**【日野】** 当院ではHCVトランスジェニックマウス

を使用して脾摘モデルを作って、鉄に関する検討を行いました。データはほぼ同じでした。異なるモデルでも、炎症性サイトカインが上がり、Kupffer細胞が非常に活性化されており、同じ結果であることに驚きました。脾摘は炎症性サイトカインを肝臓の中で限局して上昇させ、特にKupffer細胞を活性化するため、気を付ける必要があると思います。

**【熊田(博)】** ありがとうございます。

\* \* \*

# Dual oral therapy with daclatasvir and asunaprevir for patients with HCV genotype 1b infection and limited treatment options

Yoshiyuki Suzuki<sup>1,\*</sup>, Kenji Ikeda<sup>1</sup>, Fumitaka Suzuki<sup>1</sup>, Joji Toyota<sup>2</sup>, Yoshiyasu Karino<sup>2</sup>, Kazuaki Chayama<sup>3</sup>, Yoshiiku Kawakami<sup>3</sup>, Hiroki Ishikawa<sup>4</sup>, Hideaki Watanabe<sup>4</sup>, Wenhua Hu<sup>5</sup>, Timothy Eley<sup>6</sup>, Fiona McPhee<sup>5</sup>, Eric Hughes<sup>7</sup>, Hiromitsu Kumada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hepatology, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan; <sup>2</sup>Department of Hepatology, Sapporo Kosei General Hospital, Sapporo, Japan; <sup>3</sup>Department of Medicine and Molecular Science, Hiroshima University, Hiroshima, Japan; <sup>4</sup>Bristol-Myers KK, Tokyo, Japan; <sup>5</sup>Bristol-Myers Squibb Research and Development, Wallingford, CT, USA; <sup>6</sup>Bristol-Myers Squibb Research and Development, Hopewell, NJ, USA; <sup>7</sup>Bristol-Myers Squibb Research and Development, Princeton, NJ, USA

See Editorial, pages 643–645

**Background & Aims:** Improved therapeutic options for chronic hepatitis C virus (HCV) infection are needed for patients who are poor candidates for treatment with current regimens due to anticipated intolerability or low likelihood of response.

**Methods:** In this open-label, phase 2a study of Japanese patients with chronic HCV genotype 1b infection, 21 null responders ( $<2 \log_{10}$  HCV RNA reduction after 12 weeks of peginterferon/ribavirin) and 22 patients intolerant to or medically ineligible for peginterferon/ribavirin therapy received dual oral treatment for 24 weeks with the NS5A replication complex inhibitor daclatasvir (DCV) and the NS3 protease inhibitor asunaprevir (ASV). The primary efficacy end point was sustained virologic response at 12 weeks post-treatment (SVR<sub>12</sub>).

**Results:** Thirty-six of 43 enrolled patients completed 24 weeks of therapy. Serum HCV RNA levels declined rapidly, becoming undetectable in all patients on therapy by week 8. Overall, 76.7% of patients achieved SVR<sub>12</sub> and SVR<sub>24</sub>, including 90.5% of null responders and 63.6% of ineligible/intolerant patients. There were no virologic failures among null responders. Three ineligible/intolerant patients experienced viral breakthrough and four relapsed post-treatment. Diarrhea, nasopharyngitis, headache, and ALT/AST increases, generally mild, were the most common adverse events; three discontinuations before week 24 were due to adverse events that included hyperbilirubinemia and transaminase elevations (two patients).

**Conclusions:** Dual therapy with daclatasvir and asunaprevir, without peginterferon/ribavirin, was well tolerated and achieved high SVR rates in two groups of difficult-to-treat patients with hepatitis C virus genotype 1b infection.

© 2012 European Association for the Study of the Liver. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

## Introduction

Therapies for chronic hepatitis C virus (HCV) infection have improved markedly over the past decade. The recent approval of the first direct-acting antivirals (DAAs) was an important milestone in the evolution of HCV therapy, establishing that DAAs can enhance regimen efficacy and provide durable viral clearance. These new agents in combination with peginterferon and ribavirin (PegIFN- $\alpha$ /RBV) achieve overall sustained virologic response (SVR) rates of approximately 70% in treatment-naïve patients with HCV genotype 1 infection [1,2].

Despite these advances, current treatment options remain inadequate for some patients. Patients with prior null response to PegIFN- $\alpha$ /RBV ( $<2 \log_{10}$  decline in HCV RNA after 12 weeks) have a particularly acute need for further therapeutic improvements. Null responders generally respond poorly to retreatment with PegIFN- $\alpha$ /RBV; fewer than 10% achieve SVR [3]. Retreatment of null responders with PegIFN- $\alpha$ /RBV combined with telaprevir or boceprevir increases SVR rates to approximately 30–38%, suggesting that addition of a DAA to PegIFN- $\alpha$ /RBV increases efficacy, but that more potent regimens are still urgently needed [4,5]. There are also many patients who cannot be treated with current therapies; this group includes patients with prior intolerance to PegIFN- $\alpha$ /RBV and patients who are ineligible for PegIFN- $\alpha$ /RBV-containing therapy for medical reasons.

There is precedence for use of combination antiviral regimens to treat human immunodeficiency virus (HIV) infections;

**Keywords:** Daclatasvir; Asunaprevir; Hepatitis C; Antiviral.

Received 15 May 2012; received in revised form 5 September 2012; accepted 30 September 2012; available online 23 November 2012

\* DOI of original article: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2013.01.007>.

\* Corresponding author. Address: Department of Hepatology, Toranomon Hospital, 1-3-1 Kajigaya, Takatsu-ku, Kawasaki City 213-8587, Japan. Tel.: +81 44 877 5111; fax: +81 44 860 1623.

E-mail address: [suzunari@interlink.or.jp](mailto:suzunari@interlink.or.jp) (Y. Suzuki).

**Abbreviations:** HCV, hepatitis C virus; DAA, direct-acting antiviral; PegIFN- $\alpha$ /RBV, peginterferon alfa and ribavirin; SVR, sustained virologic response; HIV, human immunodeficiency virus; NS5A, non-structural protein 5A; NS3, non-structural protein 3; ALT, alanine aminotransferase; ULN, upper limit of the normal reference range; INR, international normalized ratio; CYP3A4, cytochrome P450 3A4.



## Research Article

evidence is mounting that DAA regimens can also provide durable clearance of HCV infections. Thus, there is a strong rationale for exploration of dual DAA regimens, without PegIFN- $\alpha$ /RBV. In combination, DAAs with different molecular targets can increase regimen potency and raise the barrier to resistance, potentially eliminating the need for PegIFN- $\alpha$ /RBV and providing a viable therapy for patients who are anticipated to be poorly responsive or intolerant to current PegIFN- $\alpha$ /RBV-containing regimens. The improved tolerability and convenience that can be anticipated with dual DAA regimens suggests that they may also benefit treatment-naïve patients and other groups. Previous studies of DAA-only regimens, or DAAs combined with RBV, have demonstrated marked antiviral effects in treatment-naïve and experienced patients, including null responders, supporting the further evaluation of dual DAA therapy reported here [6–10].

Daclatasvir (DCV; BMS-790052) is a first-in-class, highly selective NS5A replication complex inhibitor with picomolar potency and broad genotypic coverage; asunaprevir (ASV; BMS-650032) is a potent NS3 protease inhibitor active against genotypes 1 and 4. Daclatasvir and asunaprevir have different modes of action and resistance-associated variants, and in combination show increased antiviral potency *in vitro* and a high genetic barrier to resistance [11,12]. Daclatasvir and asunaprevir had no clinically meaningful pharmacokinetic interaction in healthy volunteers [13]. Initial efficacy evaluations of daclatasvir and asunaprevir (DUAL therapy) showed potent antiviral effects and SVR rates  $\geq 90\%$  in Japanese and US/European null responders with HCV genotype 1b infection [7,8].

We present final results of an open-label trial evaluating DUAL oral therapy with daclatasvir and asunaprevir in Japanese patients with chronic HCV genotype 1b infection. Initial results from a sentinel cohort of 10 patients with prior null response to PegIFN- $\alpha$ /RBV have been reported [7]. The present report combines these data with results for 11 additional null responders, together with results for 22 patients with prior intolerance to PegIFN- $\alpha$ /RBV or who were medically ineligible for PegIFN- $\alpha$ /RBV-containing therapy.

### Materials and methods

#### Study design

This open label, phase 2a study (A1447-017; clinicaltrials.gov identifier NCT01051414) was conducted in two populations of patients with HCV genotype 1 infection, including null responders ( $< 2 \log_{10}$  decline of serum HCV RNA levels after 12 weeks of prior PegIFN- $\alpha$ /RBV), and PegIFN- $\alpha$ /RBV ineligible/intolerant patients. The latter group discontinued prior therapy with PegIFN- $\alpha$ /RBV due to intolerance after  $< 12$  weeks, or patients were treatment-naïve but poor candidates for PegIFN- $\alpha$ /RBV for medical reasons such as advanced age or complications of depression, anemia, myelosuppression, diabetes, or cardiovascular or renal dysfunction.

Patients were enrolled in two cohorts of null responders and two cohorts of PegIFN- $\alpha$ /RBV ineligible/intolerant patients. One cohort of each population included intensive sampling for pharmacokinetic analyses; both cohorts of each population were combined for efficacy and safety assessments. The sentinel cohort of null responders, reported previously, provided 4-week safety data for review by the study Safety Committee, prior to initiation of the other cohorts [7]. The primary efficacy end point was the proportion of patients with undetectable HCV RNA at 12 weeks post-treatment (SVR<sub>12</sub>). Key secondary end points included the proportions of patients with HCV RNA undetectable at week 4, week 12, the end of treatment, and post-treatment week 24 (SVR<sub>24</sub>).

Written informed consent was obtained from all patients. The study was approved by institutional review boards at each site and was conducted in compliance with the Declaration of Helsinki, Good Clinical Practice Guidelines, and local regulatory requirements.

#### Patients

Eligible patients were men and women aged 20–75 years with HCV genotype 1 infection  $\geq 6$  months and HCV RNA  $\geq 10^3$  IU/ml. Women of childbearing potential were using adequate contraception. Patients were excluded if they had evidence of liver cirrhosis within 24 months of screening by laparoscopy, imaging studies, or liver biopsy; a history of hepatocellular carcinoma, other chronic liver disease, variceal bleeding, hepatic encephalopathy, or ascites requiring diuretics or paracentesis; co-infection with hepatitis B virus or HIV; other clinically significant medical conditions; exposure to any investigational drug or placebo within 4 weeks, or any previous exposure to NS5A or NS3 protease inhibitors.

Exclusionary laboratory findings included alanine aminotransferase (ALT)  $> 5 \times$  upper limit of normal (ULN), total bilirubin  $\geq 2$  mg/dl, direct bilirubin  $> 1.5 \times$  ULN, international normalized ratio (INR)  $\geq 1.7$ , albumin  $\leq 3.5$  g/dl, hemoglobin  $< 9.0$  g/dl, white blood cells  $< 1500/\text{mm}^3$ , absolute neutrophils  $< 750/\text{mm}^3$ , platelets  $< 50,000/\text{mm}^3$ , and creatinine  $> 1.8 \times$  ULN. Prohibited concomitant medications included CYP3A4 inducers or moderate/strong CYP3A4 inhibitors, non-study medications with anti-HCV activity, prescription or herbal products not prescribed for treatment of a specific condition, proton pump inhibitors, and erythropoiesis-stimulating agents. Prescribed H2 receptor antagonists were administered  $\geq 2$  h after and  $\geq 10$  h prior to daclatasvir; other acid modifying agents were administered  $\geq 2$  h prior and  $\geq 2$  h after daclatasvir.

#### Study drug dosing

Patients received 24 weeks of treatment with daclatasvir 60 mg once daily (two 30 mg tablets), combined with asunaprevir 200 mg twice daily, with 24 weeks of post-treatment follow-up. In the sentinel cohort of null responders, asunaprevir was initially administered as three 200 mg tablets twice daily (600 mg BID), subsequently reduced to 200 mg BID during treatment following reports from another study of greater and more frequent aminotransferase elevations with the higher dose [14].

Patients with HCV RNA  $< 15$  IU/ml on or after week 4 continued treatment to week 24; patients discontinued treatment if HCV RNA decreased  $< 2 \log_{10}$  IU/ml from baseline on or after week 2. Patients with viral breakthrough on or after week 2, or quantifiable HCV RNA ( $\geq 15$  IU/ml) on or after week 4, either discontinued treatment or weight-based PegIFN- $\alpha$ /RBV was added (null responders only), for up to 48 additional weeks, at the discretion of the investigator based on anticipated tolerability. Viral breakthrough was defined as confirmed  $\geq 1 \log_{10}$  IU/ml increase from nadir of HCV RNA, or HCV RNA  $\geq 15$  IU/ml after confirmed undetectable. Post-treatment relapse was defined as confirmed HCV RNA  $\geq 15$  IU/ml during follow-up in patients with undetectable HCV RNA at the end of treatment.

#### Safety and efficacy assessments

HCV RNA, physical examinations, adverse events, laboratory parameters, and concomitant medications were assessed at screening, study days 1 (baseline), weeks 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, and 24, and post-treatment weeks 4, 8, 12, and 24. Twelve-lead electrocardiograms were recorded at all visits except weeks 3 and 6.

Serum HCV RNA levels were determined at a central laboratory using the Roche COBAS® TaqMan® HCV Auto assay, (Roche Diagnostics KK, Tokyo, Japan), lower limit of quantitation 15 IU/ml. HCV genotype and subtype and *IL28B* genotype (rs12979860) were determined by PCR amplification and sequencing. Baseline liver fibrosis was assessed by serum blood markers (APRI; AST and Platelet Ratio Index) [15]. HCV resistance-associated polymorphisms were analyzed in stored baseline samples from all patients and post-failure samples from patients with viral breakthrough or post-treatment relapse. Polymorphisms were analyzed by PCR amplification and population sequencing of the HCV NS3 protease and NS5A domains.

#### Statistical analysis

Categorical variables were summarized using counts and percents; continuous variables were summarized with univariate statistics.