

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）

共同研究報告書

B 型慢性肝炎核酸アナログ治療例からの肝発がんリスク因子の検討

研究分担者 松本晶博 信州大学医学部附属病院 肝疾患診療相談センター 准教授
研究協力者 田中榮司 信州大学医学部消化器内科 教授

研究要旨：【目的】核酸アナログ治療例における治療中の肝発癌に関わる因子を検討した。【方法】アンケート調査では、核酸アナログ治療導入後の肝細胞癌発症例および肝細胞癌根治術後の再発例について年間発癌率を計算した。Case-control study では、治療開始後肝細胞癌発癌に関連する因子を検討した。【結果】アンケート調査では、核酸アナログ投与開始後初発肝細胞癌の年間発症率は 0.9%であった。肝細胞癌根治後再発については、年間発症率は 4.6%と初発群に比べて高率であった。Case-control については、共同研究施設より 196 例の発癌群と 416 例の非発癌 control 群が集積された。核酸アナログ開始時の DATA を用いた多変量解析では、血小板 14 万/ μ l 以上、肝硬変、BCP 変異、男性、開始時 AFP >6.0ng/ml および年齢が独立した有意な因子として抽出された。ロジスティックモデルによる検討では、感度 59.8%、特異度 89.4%、PPV 72.5%、NPV 82.7%であり、発癌の予測には因子が不足していることが示された。【考察】今回示された発癌率および発癌因子は、先行研究とほぼ一致していた。しかしながらこれらの因子で予測できない症例もあることがわかり、今後の検討が必要である。

A. 研究目的

B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ治療は肝発癌を抑制することが報告されている。しかしながら、肝硬変例では核酸アナログを投与しても年 2%の発癌がみられる。また、慢性肝炎例からの発癌もみられる。これらの症例のリスク因子を解析し、これらの症例を囲い込むことによって、核酸アナログ治療に加えて肝発癌抑制を目指す治療を開発する。

B. 研究方法

研究は、アンケート調査および Case-control study にて行った。アンケート調査では、各施設における核酸アナログ投与例数と観察期間を A-1 群 肝細胞癌非発症例、A-2 群 核酸アナログ導入後肝細胞癌発症例、B-1 群 肝細胞癌根治術後非発症例、B-2 群 肝細胞癌根治術後核酸アナログ導入後肝細胞癌発症例について、投与期間の平均値を調べ、年間発癌率を計算した。

Case-control study では、治療開始後肝細胞癌発症例と投与 3 年以上経過している非発症例について、背景因子、血液生化学検査 DATA および肝生検の結果より、発癌に関連する因子を比較検討した。

（倫理面への配慮）

各症例は各施設において連結可能匿名化を行っている。

C. 研究結果

アンケート結果では、DATA 取得可能であった 5 施設について検討した。核酸アナログ投与後初発肝細胞癌の検討については、A-1 群の非発症例は 44,988 人年であり、A-2 群の投与後発症例は 5,183 人年であり、年間発症率は 0.9%であった。肝細胞癌根治後再発については、B-1 非再発群 3,033 人年、B-2 再発群 3,681 人年であり、年間発症率は 4.6%と初発群に比べて高率であった。

Case-control については、共同研究施設より 196 例の発癌群と 416 例の非発癌 control 群が集積された。発癌群における発癌年齢の中央値は 60.3 歳(28.5-91.7 歳)であり、核酸アナログ投与開始から発癌までの期間の中央値は 2.5 年(0.1-12.6 年)であった。発癌群と非発癌群で比較すると、核酸アナログ開始年齢は、56.6 vs 46.9 歳であり、発癌群において有意に高齢であった ($p < 0.001$)。男性の割合(79.6 vs 70.0%, $p = 0.014$)、飲酒歴(5.6 vs 1.7%, $p < 0.001$)、糖尿病の割合(16.3 vs 9.9%, $p < 0.001$)は発癌群が有意に高率であった。経過観察期間(6.8 vs 7.8 年)、BMI (23.0 vs 22.4)、肝細胞癌家族歴(11.7 vs 8.2%)、IFN 治療歴(27.6 vs 22.8%)には有意差は見られなかった。死亡率(17.9 vs 0.7%, $p < 0.001$)は発癌群で有意に高率であった。核酸アナログ投与前の肝生検では、肝炎の活動性については両群間で有意さは見られなかったが、線維化について

は、F0:F1:F2:F3:F4 がそれぞれ、6:20:41:33:1% vs 33:32:27:6:0%であり、発癌群で有意に線維化の程度が進んでいた。重複を含むラミブジンの使用率(59.7 vs 59.1%)、アデホビルの使用率(33.7 vs 39.7%)およびエンテカビルの使用率(58.2 vs 53.1%)はいずれも有意差は見られず、核酸アナログとインターフェロンの併用率(5.1 vs 8.4%)も有意差は見られなかった。各核酸名ログの耐性出現率も有意差は無かった。HBeAg の陰性化率 (80.6 vs 79.3%) および HBV DNA の陰性化率(76.8 vs 74.8%)も有意差は見られなかった。ALT の正常化率 (ALT<30IU/L) (89.1 vs 94.2%, P=0.030) は発癌群が有意に低率であった。治療開始時の血液生化学検査については、Alb (3.8 vs 4.0, p<0.001)、血小板(11.4 vs 16.0, p<0.001)、ALT (62 vs 87 IU/L, p<0.001)、HBsAg (3.1 vs 3.3 logIU/ml, p=0.006)、HBcrAg (5.6 vs 6.4 log U/ml, p=0.004)、HBeAg 陽性率 (46.4 vs 51.9%, p<0.001) で発癌群が有意に低く、 γ -GTP (61 vs 47 IU/L, p<0.001)、AFP (10.0 vs 3.3 ng/ml, p=0.006) が有意に高値であった。発癌時と最終観察時の DATA の比較では、ALT (27 vs 19 IU/L, p<0.001)、HBV DNA (1.3 vs negative, p<0.001)、HBsAg (3.1 vs 2.7 logIU/ml, p=0.003)、HBcrAg(4.4 vs 3.7 logU/ml, p<0.001)が開始時と比べて逆転し、発癌群で有意に高値となっていた。Precore における野生株の割合(38.8 vs 26.0%, p=0.025)は発癌群で有意に高く、Basal core promotor 変異の割合(57.1 vs 36.5%, p<0.001)は有意に高率であった。核酸アナログ開始時の DATA を用いた多変量解析では、血小板 14 万 / μ l 以上 (OR 8.5, 95%CI 2.4 - 30.7, p=0.001)、肝硬変 (OR 5.4, 95%CI 2.1 - 11.8, p<0.001) BCP 変異 (OR 5.0, 95%CI 2.1 - 11.8, p<0.001)、男性 (OR 2.6, 95%CI 1.5 - 4.5, p<0.001)、開始時 AFP >6.0ng/ml (OR 2.1, 95%CI 1.3 - 3.6, p=0.005) および年齢 (OR 1.1, 95%CI 1.0 - 1.1, p<0.001) が独立した有意な因子として抽出された。ロジスティックモデルによる検討では、感度 59.8%、特異度 89.4%、PPV 72.5%、NPV 82.7%であり、発癌の予測には因子が不足していることが示された。

D. 考察

今回示された発癌率および発癌因子は、先行研究とほぼ一致していた。核酸アナログ治療中の発癌を規定するのは、大きく治療開始時の肝硬変の有無、男性であること、血小板低値、BCP 変異 AFP 高値が関与していた。しかしながらこれらの因子で予測できない症例もあることがわかった。

E. 結論

核酸アナログ治療における新規発癌率は 0.9%/年であった。

発癌に関連する因子は、開始時血小板 14 万未満、肝硬変、BCP 変異、男性、開始時 AFP 6.0ng/ μ l 以上、高齢であった。

上記因子を用いた多変量解析モデルの感度は

59.8%、特異度は 89.4%であり、より詳細な解析を必要とすると思われる。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsushashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2012; 42: 139-149.
- 2) Matsumoto A, Tanaka E, Morita S, Yoshizawa K, Umemura T, Joshita S. Changes in the serum level of hepatitis B virus (HBV) surface antigen over the natural course of HBV infection. *J Gastroenterol.* 2012; 47: 1006-1013.
- 3) Morita S, Matsumoto A, Umemura T, Shibata S, Kamijo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E. Characteristics and prediction of hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2013 Jul 16.

2. 学会発表

- 1) 松本 晶博, 吉澤 要, 田中 榮司. HBV ジェノタイプと B 型肝炎の病態 核酸アナログ中止後の肝炎再燃に対する HBV genotype の関与. 第 99 回日本消化器病学会総会 2013.
- 2) 松本 晶博, 森田 進, 田中 榮司. 高感度 HBV RNA 定量系による B 型慢性肝炎核酸アナログ治療例の病態解析. 第 49 回日本肝臓学会総会 2013.

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

実態調査協力施設

大阪府済生会吹田病院

武蔵野赤十字病院消化器科

山梨大学医学部肝疾患センター

東京大学医学部附属病院感染症内科

信州大学医学部附属病院 消化器内科

大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学

北海道厚生連札幌厚生病院

国家公務員共済組合連合会虎の門病院 肝臓センター

藤田保健衛生大学肝胆膵内科

山形大学医学部内科学第二 (消化器内科学)

大分大学医学部総合内科学第一

国立病院機構 九州医療センター消化器内科

広島大学病院消化器・代謝内科

解析協力施設

東京大学大学院医学系研究科生物統計学教室

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）

共同研究報告書

Telaprevir/PegIFN/RBV 併用療法における不適格基準についての検討

研究分担者 川上由育 広島大学 講師

研究要旨：Genotype 1b、高ウイルス量(G1H)のC型慢性肝疾患に対する Peginterferon 2b/Ribavirin(PEG-IFN 2b/RBV)+Telaprevir 併用の治療効果を検討する多施設共同の観察研究を行った。対象は601例でSVRに寄与する独立した背景要因はIL28B遺伝子(TT) ($p<0.001$)、前治療歴(NR以外) ($p<0.001$)、年齢(若い) ($p=0.003$)、性別(男性) ($p=0.012$)の4因子であり治療要因はリバビリンの完遂(あり) ($p<0.001$)であった。治療中断に寄与する独立した背景要因は糖尿病(あり) ($p=0.010$)、年齢(高い) ($p=0.023$)であった。治療が継続できた場合においてウイルス陰性化なし(NR)あるいはウイルス再上昇(BT)に寄与する独立した背景要因はIL28B遺伝子(TT以外) ($p<0.001$)、AFP($9\text{ng/ml}<$) ($p=0.002$)、前治療歴(再燃以外) ($p=0.007$)の3因子であり治療要因はIFN投与率(低い) ($p<0.001$)であった。今回の検討から、IL28B遺伝子(TT以外)、AFP($9\text{ng/ml}<$)、前治療歴(再燃以外)でIFNが十分投与できそうにない症例はウイルス陰性が得られない可能性が高い。また糖尿病合併、高齢者は治療継続困難が予測されるためこれらに当てはまる患者に対しての3剤併用療法は不適格と考える。

A. 研究目的

2011年11月に第一世代のProtease Inhibitor(PI)であるTelaprevirが市販された。TelaprevirはPegIFN/RBVとの併用により、治療期間の短縮および高い有効性をもたらしたが、安全性にいくつかの問題があった。特に重篤な皮膚疾患を認めたため皮膚科との連携が必要であり、また腎機能障害、高度貧血による中止症例を多く認めた。

2013年12月、第二世代のPIであるSimeprevirが市販された。SimeprevirはTelaprevirで認められた有害事象はなく、投与方法も1日1回と忍容性にも優れている。しかし、SimeprevirもPegIFN/RBVとの併用による治療であることから、適格および不適格基準に大きな違いはないと考えられる。

今回の研究目的は、3剤併用療法(Telaprevir/PegIFN/RBV)の治療成績から不適格、適格基準を

見いだすことである。

B. 研究方法

多施設共同の観察研究として行った。Telaprevir/PegIFN/RBVを開始して2013年10月時点で治療終了12週間以上経過している症例を収集した(24週以内の中止例は含むが治療延長例は除外した)。

背景要因(年齢、性、体重、白血球数、Hb値、血小板数、AST値、ALT値、GTP値、Cr値、AFP値、HCV-RNA量、Core aa70置換の有無、前治療反応、IL28B遺伝子、ITPA遺伝子、合併症(高血圧、糖尿病))および治療要因(治療薬剤の完遂の有無、投与率)を用いて下記の検討を行った。単変量解析はMann-Whitney's U test あるいはsquare test、多変量解析はLogistic

regression analysis を SPSS にて行った。

1. SVR に寄与する独立因子
2. 中止（薬剤副作用による治療中断）に寄与する独立因子
3. 治療無効（NR、BT）に寄与する独立因子

（倫理面への配慮）

データ収集は連結不可能匿名化において行うことにより被験者の個人情報の漏洩がないよう配慮した。

C. 研究結果

601 例の患者背景（中央値（IQR））は、年齢 61 歳（66 歳以上 140 例 23.3%）、男 329 例/女 272 例、体重 60kg(53-69)、WBC 4525/mm³(3800-5500)、Hb 14 g/dl (13-15)、PLT 16.1X10⁴/L(12.0-19.7)、AST 47 IU/L(30-65)、ALT 42 IU/L(30-76)、GTP 28 IU/L(18-45)、Cr 0.7 mg/dl (0.6-1.0)、AFP 6.0ng/ml(3.7-9.8)、HCV 量 7Log/ml(6-7)、HCVcore70aa(Wild 372 例 mutant173 例 mix 6 例 ND50 例)、前治療効果（初回 234 例 再燃 202 例 無効 131 例（BT30 例/PR49 例/NR52 例） 不明 34 例）、IL28B(rs8099917) (TT438 例 TG/GG153 例 ND10 例)、ITPA(rs1127354) (CC387 例 CA/AA 128 例 ND86 例)。Telaprevir 開始量(2250mg 246 例 /1500mg 334 例)。

1. SVR に寄与する独立因子の検討

（単変量（SVR あり、なし、P 値）、多変量(P 値、オッズ比、95%信頼区間)）

対象は 601 例(SVR あり 464 例、なし 137 例)。背景要因として単変量(表 1)にて年齢(60 歳、62 歳、P<0.001)、性(男性)(59%、40%、P<0.001)、Hb 値(14.0、13.8、P=0.012)、血小板数(15.9、12.7、P<0.001)、AST 値(41、47、P=0.020)、AFP 値(5.0、8.5、P<0.001)、Core aa70(wild)(71%、60%、P=0.041)、前治療反応(NR 以外)(79%、50%、

P<0.001)および IL28B 遺伝子(TT)(83%、45%、P<0.001)の 9 因子が抽出された。この 9 因子にて多変量を行った結果、年齢(P=0.003、0.950、0.920-0.982)、性（男性）(P=0.012、2.138、1.178-3.878)、前治療反応(NR 以外) (P=0.002、3.821、1.651-8.846) および IL28B 遺伝子(TT) (P<0.001、4.028、2.274-7.137)が独立因子として抽出された。治療要因としては*Telaprevir 開始量(2250mg) (45%、34%、P=0.031) (図 1)、Telaprevir 完遂（あり）(85%、61%、P<0.001)、PegIFN 完遂（あり）(94%、51%、P<0.001) および RBV 完遂（あり）(94%、45%、P<0.001) の 4 因子が抽出され、多変量にて RBV 完遂（あり）(P<0.001、10.212、3.310-31.511)のみが独立因子であった。

*Telaprevir 開始量(2250mg)については、治療バイアスあり（1500mg は高齢女性、Hb 低値症例に使用されていた）(表 2)。

2. 中止（薬剤副作用による治療中断）に寄与する独立因子の検討

（単変量（中止あり、なし、P 値）、多変量(P 値、オッズ比、95%信頼区間)）

対象は 601 例(中止あり 81 例、なし 527 例)。副作用による治療中止の SVR は 40%未満と低率であった（図 2）。副作用の理由の半数は Telaprevir によるものであった(図 3)。背景要因として単変量(表 3)にて年齢(63 歳、60 歳、P<0.001)、性(女性)(57%、44%、P=0.031)、体重(56kg、61kg、P=0.016)、Hb 値(13.8、14.0、P=0.036)、eGFR 値(77、84、P=0.029)、高血圧(あり)(40%、25%、P=0.006) および糖尿病（あり）(26%、11%、P=0.001)の 7 因子が抽出され多変量にて年齢(P=0.023、0.960、0.927-0.995)、糖尿病(あり) (P=0.010、2.205、1.206-4.032)のみが独立因子であった。

3. 治療無効（NR、BT）に寄与する独立因子の検討

(単変量(治療無効あり、なし、P値)、多変量(P値、オッズ比、95%信頼区間))

治療しても無効となる症例を抽出することが目的のため、薬剤副作用による治療中断および再燃例は対象より除外した。よって対象は SVR、NR および BT の 476 例(治療無効 41 例、なし 435 例)。背景要因として単変量(表 4)にて性(女性)(59%、40%、 $P=0.023$)、血小板数(12、16、 $P<0.001$)、AST 値(52、41、 $P=0.006$)、AFP 値(13.0、5.0、 $P<0.001$)、Core aa70(mutant)(47%、30%、 $P=0.015$)、前治療反応(NR)(53%、17%、 $P<0.001$)および IL28B 遺伝子(TT 以外)(85%、17%、 $P<0.001$)の 7 因子が抽出された。この 7 因子にて多変量を行った結果、AFP 値($P=0.002$ 、1.048、1.017-1.079)、前治療反応(NR) ($P=0.002$ 、3.821、1.651-8.846) および IL28B 遺伝子(TG) ($P<0.001$ 、4.028、2.274-7.137) が独立因子として抽出された。治療要因としては、Telaprevir 完遂(あり)(78%、87%、 $P=0.087$)、PegIFN 投与率(86%、94%、 $P=0.005$) および RBV 投与率(52%、57%、 $P=0.101$)と PegIFN 投与率が独立因子であった(図 4)。AFP については ROC 曲線にて cut off 値を設定し、9ng/ml を選択した。(感度 72%、特異度 80%、AUC 0.799)(図 5)。

D. 考察

Genotype 1b かつ高ウイルス量の C 型慢性肝疾患に対する Peginterferon 2b/Ribavirin (PEG-IFN 2b/RBV)+Telaprevir 併用の治療において適格基準といえる SVR に寄与する独立した背景要因は IL28B 遺伝子が TT であること、前治療歴が再燃あるいは初回治療であること、治療開始の年齢が若いことおよび男性であることであった。また治療要因としては薬剤を中止することなく投与することが重要であり、特に SVR を得るにはリバビリンの完遂が必要であった。治療中断しないことが重要であることから、治療中断に寄与する背景要因を同様に検討したところ糖尿病合併および高齢が独立因子であった。

最後に不適格基準といえる薬剤継続投与できたにも拘らずウイルス陰性化しない(NR)あるいはウイルス再上昇(BT)した患者に寄与する背景および治療要因の検討を行った。独立した背景要因は IL28B 遺伝子が TT 以外であること、AFP が 9ng/ml 以上であることおよび前治療歴が再燃以外であることであり、治療要因は IFN 投与率が低いことであった。

AFP 高値例は発癌率が高いことが予測されるため抗ウイルス治療が必要と考えられる。しかし今回の検討においては AFP が 9ng/ml 以上の患者はウイルス排除の可能性が低いことから 3 剤併用療法の不適格基準の 1 因子となった。AFP 値については SVR 後発癌にも関与しているとの報告もあることから AFP 高値例の場合、ウイルス排除と発癌の両方を視野に治療戦略をたてる必要があると思われる。

E. 結論

今回の検討から、IL28B 遺伝子(TT 以外)、AFP(9ng/ml<)、前治療歴(再燃以外)の背景因子をもち、RBV の継続困難かつ IFN が十分投与できそうにない症例はウイルス陰性が得られない可能性が高い。また糖尿病合併、高齢者は治療継続困難が予測されるためこれらに当てはまる患者に対しての Peginterferon 2b/Ribavirin (PEG-IFN 2b/RBV)+Telaprevir 療法は不適格と考える。

Genotype 1b かつ高ウイルス量の C 型慢性肝疾患に対する治療方針をたてる場合得られた 3 剤療法の知見(SVR が得られやすい症例、治療中断する症例、NR/BT になる可能性が高い症例)を参考に、次世代の経口剤を見据え決定することが重要である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

2. 論文発表

- 1) Fujino H, Imamura M, Nagaoki Y, Kawakami Y, Abe H, Hayes CN, Kan H, Fukuhara T, Kobayashi T, Masaki K, Ono A, Nakahara T, Honda Y, Naeshiro N, Urabe A, Yokoyama S, Miyaki D, Murakami E, Kawaoka T, Hiraga N, Tsuge M, Hiramatsu A, Hyogo H, Aikata H, Takahashi S, Miki D, Ochi H, Ohishi W, Chayama K; Hiroshima Liver Study Group. Predictive value of the IFNL4 polymorphism on outcome of telaprevir, peginterferon, and ribavirin therapy for older patients with genotype 1b chronic hepatitis C. J Gastroenterol. 2013
- 2) Kawakami Y, Suzuki F, Karino Y, Toyota J, Kumada H, Chayama K. Telaprevir is effective given every 12 hours at 750 mg with peginterferon-alfa-2b and ribavirin to Japanese patients with HCV-1b IL28B rs8099917 TT. Antivir Ther. 2013

3. 学会発表

- 3) 川上由育、今村道雄、茶山一彰、第 17 回 JDDW、東京、2013
- 4) 川上由育、今村道雄、茶山一彰、第 49 回肝臓学会、東京、2013
- 5) 川上由育、今村道雄、茶山一彰、第 99 回消化器病学会、鹿児島、2013

(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)

4. 特許取得
なし
5. 実用新案登録
なし
6. その他
なし

実態調査協力施設

大阪府済生会吹田病院
武蔵野赤十字病院消化器科
山梨大学医学部肝疾患センター
東京大学医学部附属病院感染症内科
信州大学医学部附属病院 消化器内科
大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学
北海道厚生連札幌厚生病院
国家公務員共済組合連合会虎の門病院 肝臓センター
藤田保健衛生大学肝胆膵内科
山形大学医学部内科学第二 (消化器内科学)
大分大学医学部総合内科学第一
国立病院機構 九州医療センター消化器内科
広島大学病院消化器・代謝内科
解析協力施設
東京大学大学院医学系研究科生物統計学教室