

surrogate marker である HBs 抗原消失を期待できる”ことが挙げられている。

テノホビルは、投与早期に HBs 抗原が減少する症例、さらに ALT flare の後に HBs 抗原が消失する症例があることが欧米から報告されている。しかしながら何故 HBs 抗原が減少するのか、どのような症例がそうした症例なのかなどはほとんどわかっていない。今回の検討はそうしたことを明らかにする一端として行われたものである。

HIV/HBV の重複感染例においては免疫応答の賦活化という意味では HBV 単独感染例よりも不利である。また、HBV Genotype A の症例は他の Genotype の症例に比べ、HBV DNA 量、HBe 抗原量とも多い。それにもかかわらず HBs 抗原の低下が比較的早い時期から開始される。

その理由として考えられることとしては、1) Genotype A の特性である、感染からの年月が短いため、抗 HBV 免疫応答が比較的保たれている、2) 免疫応答調節作用を持つ HBe 抗原量が重複感染例では多い、などが考えられるが、今後の検討が必要である。

## E. 結論

HBV Genotype A に感染し HIV 重複感染例では抗 HBV 薬（テノホビル）に対する治療反応性が良好である。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Watanabe Y, Yamamoto H, Oikawa R, Toyota M, Yamamoto M, Kokudo N, Tanaka S, Arii S, Yotsuyanagi H, Koike K, Itoh F. DNA methylation at hepatitis B viral integrants is associated with methylation at flanking human genomic sequences. *Genome Res.* 2015 Feb 4. pii: gr.175240.114. [Epub ahead of print]
- 2) Yamada N, Shigefuku R, Sugiyama R, Kobayashi M, Ikeda H, Takahashi H, Okuse C, Suzuki M, Itoh F, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Moriya K, Koike K, Wakita T, Kato T. Acute hepatitis B of genotype H resulting in persistent infection. *World J Gastroenterol.* 2014;20:3044-9.
- 3) Ikeda K, Izumi N, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Tsubouchi H,

Kumada H. Discrimination of fibrotic staging of chronic hepatitis C using multiple fibrotic markers. *Hepatology Res.* 2014;44:1047-55.

- 4) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsunami H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M; Japanese AHB Study Group. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology.* 2014;59:89-97.

### 2. 学会発表

- 1) 大岸誠人, 四柳宏, 堤武也, 瀧永博之, 森屋恭爾, 小池和彦. HIV と HCV の重複感染を有する血友病患者における、複数の遺伝子型の HCV バリエーションの潜在的な混合感染に関する次世代シーケンサーを用いた検討. 第 28 回エイズ学会 2014 年 12 月 大阪府
- 2) 平石哲也, 池田裕喜, 北川紗里香, 田村知大, 黄世揚, 山田典栄, 小林稔, 福田安伸, 馬場哲, 松永光太郎, 松本伸行, 奥瀬千晃, 伊東文生, 四柳宏, 安田清美, 野崎昭人, 田中克明, 鈴木通博. 前治療無効かつ IL28B Minor の C 型慢性肝炎に対するプロテアーゼ阻害薬併用 3 剤治療の現状 第 50 回日本肝臓学会総会 2014 年 5 月 東京都

(※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

表1 B型急性肝炎での発見例

	年齢	性	感染経路	HBV Genotype	肝炎の転帰	現在までの治療期間	腎機能
1	50	男	MSM	A	自然治癒	3年9ヶ月	変化なし
2	30	男	MSM	A	慢性化後cARTで治癒	3年7ヶ月	変化なし
3	30	男	MSM	A	自然治癒	1年4ヶ月	変化なし

図1 B型急性肝炎の慢性化例に対するcART

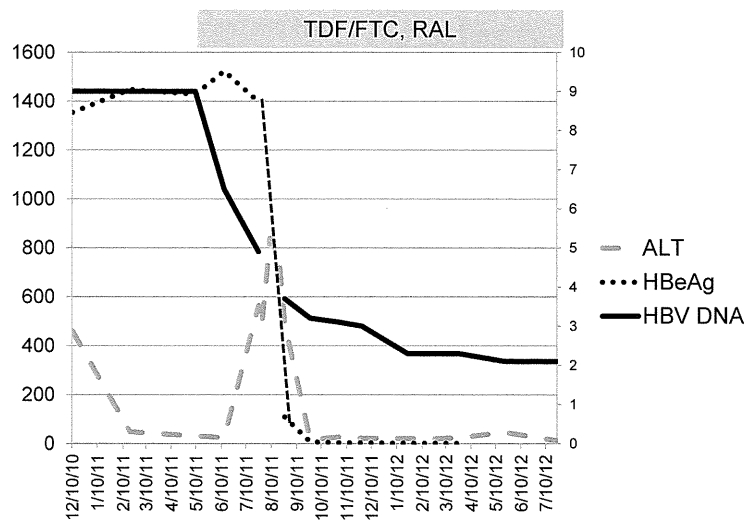
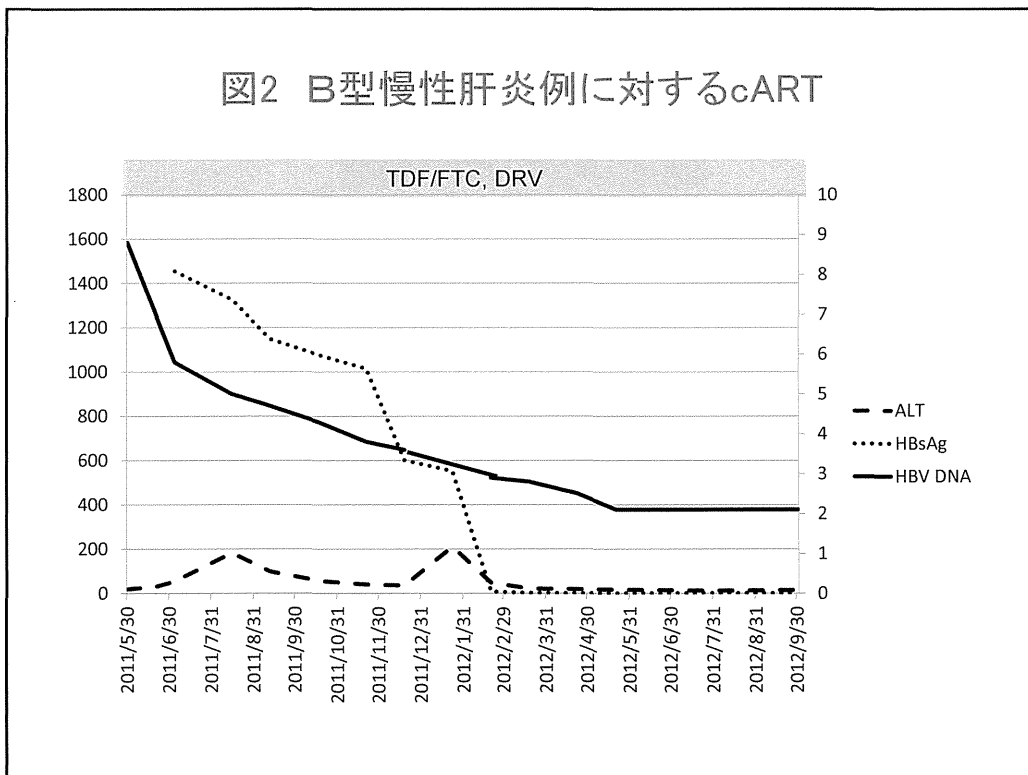


表2 HBVキャリアとして発見された例

	年齢	性	HIV発見のきっかけ	感染経路	HBV Genotype	転帰	現在までの治療期間	腎機能
1	40	男	ニューモシチス肺炎	MSM	未検	HBs抗原消えず 肝硬変	15年	変化なし
2	30	男	ニューモシチス肺炎	MSM	未検	HBs抗原消失 (9年後)	9年2ヶ月	変化なし
3	40	男	娘が急性肝炎を発症	MSM	A	HBs抗原消失 (1年5ヶ月後)	7年11ヶ月	変化なし
4	30	男	入院時スクリーニング	MSM	A/G	HBs抗原消失 (3年2ヶ月後)	7年9か月	変化なし
5	70	男	梅毒の治療	MSM	未検	HBs抗原消えず 肝細胞癌	6年	軽度低下
6	60	男	ニューモシチス肺炎	MSM	A	HBs抗原消失 (3年5ヶ月後)	4年9ヶ月	低下 (抗真菌薬)
7	30	男	術前スクリーニング	Heterosexual	A	HBs抗原消失 (1年8ヶ月後)	3年8ヶ月後	変化なし

図2 B型慢性肝炎例に対するcART



# 厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

## 分担研究報告書

### B 型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法による肝硬度の改善と発癌について

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： Transient Elastography による肝硬度 (LS) 測定により肝線維化を非侵襲的に評価できる。B 型慢性肝炎患者の治療効果の評価および発癌のリスクの評価における LS 測定の有用性について検討した。B 型慢性肝炎患者 73 例において抗ウイルス療法開始前から経時的に Fibroscan により肝硬度 (LS) を測定した。LS は、治療前から治療 1 年後、2 年後になるに従い有意に低下し、その後低値を維持しており、肝線維化の改善を反映しているものと思われた。このことより LS は治療効果の評価において有用であることが示された。肝発癌群では、非発癌群に比べ治療開始前および最終測定日において有意に LS が高値であった。このことから治療前の LS 高値例および治療後の LS 高値例において肝発癌リスクが高いことが示された。

#### A. 研究目的

B 型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法は B 型肝炎ウイルス (HBV) の増殖を抑制することで肝硬変や肝癌への進展を防ぐことを目的としている。そのための確かつ非侵襲的に線維化を評価することが重要となる。我々はこれまで肝の線維化を非侵襲的に評価できる Transient Elastography (TE) による肝硬度 (LS) 測定の有用性を報告してきた。本研究では B 型慢性肝炎患者の治療効果の評価および発癌のリスクの評価における LS の有用性について検討した。

#### B. 研究方法

2004 年 11 月から 2013 年 6 月までに藤田保健衛生大学病院にてラミブジン、アデフォビル、エンテカビルによる抗ウイルス療法を行った B 型慢性肝炎患者のうち、LS を計測した 73 例(男性：56 例、女性：17 例、平均年齢：49.2±10.0 歳)を対象とした。Echosens 社製 Fibroscan を用い、被験者の右肋間にて LS(kPa)を計測し以下の検討を行った。①治療経過における LS の変化：治療前、治療 1 年後、2 年後、3 年後、4 年後、

5 年以上における LS の変化を検討した。

②治療経過観察中における肝細胞癌(HCC)の発癌に関する検討：治療開始前から LS を計測しえた 43 例を対象とし、治療前と最終測定日の LS および AFP 値を比較した。

(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。TE 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保護については十分な注意を払った。

#### C. 研究結果

①治療前の LS[10.7(6.1-15.7)]と比較すると、治療 1 年後[7.0(4.8-11.5)] ( $p<0.0001$ )、2 年後[5.3(4.1-10.4)] ( $p=0.0034$ )、3 年後 [5.3(3.8-6.5)] ( $p=0.0001$ )、4 年後 [4.9(4.0-5.9)] ( $p=0.0146$ )、5 年以上 [4.7(4.0-5.9)] ( $p=0.0017$ )と有意に低値を示した。さらに 2 年後は 1 年後に比べ、有意に低値を示した ( $p=0.0177$ )。

②治療開始後の発癌群(5 例)の治療前の LS と最終測定日の LS はともに非発癌群(38 例)に比べ有意に高値であった(表 1)。さらに AFP も同様に有意差を認めた。

表 1. 治療経過観察中におけるHCCの発癌に関する検討

	発癌群(n=5)	非発癌群(n=38)	
治療前LS	22.8(13.1-29.7)kPa	9.3(6.1-14.8)kPa	p=0.0089
最終測定日LS	10.7(7.3-24.2)kPa	5.2(4.2-7.7)kPa	p=0.0208
治療前AFP	15.8(11.7-79.9)ng/ml	5.4(3.2-11.0)ng/ml	p=0.0164
最終測定日AFP	6.8(5.1-9.2)ng/ml	3.1(2.2-4.1)ng/ml	p=0.0013

#### D. 考察

治療経過においてLSは、治療前から治療1年後、2年後になるに従い有意に低下し、その後低値を維持しており、肝線維化の改善を反映しているものと思われた。このことよりLSは治療効果の評価において有用であることが示された。また、発癌に関する検討において発癌群では、非発癌群に比べ治療開始前および最終測定日において有意にLSが高値であった。このことから治療前のLS高値例および治療後のLS高値例において発癌リスクが高いことが示された。AFPも同様に非発癌群に比べ治療開始前および最終測定日において有意に高値であった。このことから治療前のAFP高値例および治療後のAFP高値例において発癌リスクが高いことが示された。

#### E. 結論

LS測定は、B型慢性肝炎の治療効果の評価において有用であることが示された。またAFPと同様にLSも治療前の高値例および治療後の高値例において発癌リスクが高いくことが示された。

#### F. 健康危険情報 特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nakaoka K, Hashimoto S, Kawabe N, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Shimazaki H, Kan T, Takagawa Y, Ohki M, Kurashita T, Takamura T, Nishikawa T, Ichino N, Osakabe K, Yoshioka K. PNPLA3 I148M associations with liver

carcinogenesis in Japanese chronic hepatitis C patients. SpringerPlus. 2015;4(1):83

2. Yoshioka K, Hashimoto S, Kawabe N. Measurement of liver stiffness as a non-invasive method for diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. Hepatol Res. 2015;45(2):142-51
3. Ichino N, Osakabe K, Sugimoto K, Suzuki K, Yamada H, Takai H, Sugiyama H, Yukitake J, Inoue T, Ohashi K, Hata H, Hamajima N, Nishikawa T, Hashimoto S, Kawabe N, Yoshioka K. The NAFLD Index: A Simple and Accurate Screening Tool for the Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Rinsho Byori. 2015;63(1):32-43
4. Honda T, Ishigami M, Masuda H, Ishizu Y, Kuzuya T, Hayashi K, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Katano Y, Goto H. Effect of peginterferon alfa-2b and ribavirin on hepatocellular carcinoma prevention in older patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol Hepatol. 2015;30(2):321-8
5. Hayashi K, Katano Y, Ishizu Y, Kuzuya T, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Association of interleukin 28B polymorphism and mutations in the NS5A region of hepatitis C virus genotype 2 with interferon responsiveness. J Gastroenterol Hepatol. 2015;30(1):178-83
6. Shakado S, Sakisaka S, Okanoue T,

- Chayama K, Izumi N, Toyoda J, Tanaka E, Ido A, Takehara T, Yoshioka K, Hiasa Y, Nomura H, Seike M, Ueno Y, Kumada H. Interleukin 28B polymorphism predicts interferon plus ribavirin treatment outcome in patients with hepatitis C virus-related liver cirrhosis: A multicenter retrospective study in Japan. *Hepatol Res.* 2014;44(9):983-92
7. Nishikawa T, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Mizuno Y, Shimazaki H, Kan T, Nakaoka K, Takagawa Y, Ohki M, Ichino N, Osakabe K, Yoshioka K. Factors correlating with acoustic radiation force impulse elastography in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2014;20(5):1289-97
  8. 川部直人、吉岡健太郎. エラストグラフィ. 榎本信幸、竹原徹郎、持田智編、*Hepatology Practice Vol.3 C型肝炎の診療を極める 基本から最前線まで*、文光堂 東京 2014:73-79
  9. 川部直人、橋本千樹、原田雅生、新田佳史、村尾道人、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、福井愛子、吉岡健太郎. C型肝炎治療困難例に対する瀉血療法、IFN-β療法、脾摘/PSE後のPeg-IFN療法の検討. *消化器内科* 2014;58(3):405-412
  10. 吉岡健太郎. 急性肝炎；*臨床雑誌内科* 6増大号 2014; 113(6):1074-5
  11. 吉岡健太郎. ChallengeQUIZ 貴方も名医；*CLINIC magazine* 2014;540(6):37, 68-9
  12. 高川友花、川部直人、橋本千樹、原田雅生、村尾道人、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、吉岡健太郎. C型肝炎に合併した多発肝MALTリンパ腫の1例. *肝臓* 2014;55(5):274-283
2. 学会発表
    1. Kawabe N, Osakabe K, Hashimoto S, Murao M, Nitta Y, Nakano T, Shimazaki H, Kan T, Nakaoka K, Ohki M, Takagawa Y, Kurashita T, Matsuo E, Takamura N, Fukui A, Nshikawa T, Ichino N, Yoshioka K. Effect of antiviral treatment on liver stiffness and its correlation to hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B. *AASLD The Liver Meeting 2014; Boston, MA /Hynes Convention Center 2014 Nov.7-11. Hepatology* 2014; 60(suppl):1112A.
    2. Takagawa Y, Kawabe N, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Shimazaki H, Kan T, Nakaoka K, Ohki M, Kurashita T, Takamura T, Osakabe K, Ichino N, Hashimoto S, Yoshioka K. Factors associated with HBsAg clearance in HBeAb-positive patients with persistently normal ALT levels. *The 11<sup>th</sup> JSH Single Topic Conference; HIROSHIMA November 20-21, 2014 Program & Abstract Book* p94
    3. 福井愛子、川部直人、橋本千樹、原田雅生、新田佳史、村尾道人、中野卓二、水野裕子、嶋崎宏明、菅敏樹、中岡和徳、大城昌史、高川友花、半谷眞七子、亀井浩行、吉岡健太郎. BCAA 顆粒製剤のみでは効果不十分な肝硬変における肝不全用経口栄養剤のLES追加投与の有用性. 第17回日本病態栄養学会年次学術集会；大阪国際会議場. 2014/1/11-12 日本病態栄養学会会誌 2014;17(suppl):S116

4. 川部直人、橋本千樹、原田雅生、新田佳史、村尾道人、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．肝細胞癌に対するシスプラチン動注療法を併用したTACEによる肝内異所性再発の抑制；第100回日本消化器病学会総会；東京国際フォーラム 2014/4/23~26 日本消化器病学会雑誌 2014(suppl):A275
5. 中岡和徳、高川友花、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、川部直人、橋本千樹、吉岡健太郎．C型慢性肝炎患者におけるPNPLA3遺伝子の肝線維化、発癌に対する影響—ARFIによる検討—；第100回日本消化器病学会総会；東京国際フォーラム 2014/4/23~26 日本消化器病学会雑誌 2014(suppl):A306
6. 刑部恵介、市野直浩、西川徹、加藤美穂、杉山博子、青山和佳奈、柴田亜委、川部直人、橋本千樹、吉岡健太郎．B型慢性肝炎の肝硬度に及ぼす抗ウイルス療法の影響と肝発癌との関係についての検討．JSUM2014 日本超音波医学会第87回学術集会；パシフィコ横浜 2014/5/9~11 Jpn J Med Ultrasonics 2014;41(suppl)S601
7. 川部直人、橋本千樹、原田雅生、新田佳史、村尾道人、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、福井愛子、吉岡健太郎．治療困難なC型肝炎に対するIFN- $\beta$ 療法、脾摘後のPEG-IFN療法、瀉血療法の検討；第50回日本肝臓学会総会；ホテルニューオータニ 東京 2014/5/29-30 肝臓:2014;55(suppl. 1):A121
8. 嶋崎宏明、川部直人、橋本千樹、原田雅生、新田佳史、村尾道人、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、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50回日本肝臓学会総会；ホテルニューオータニ 東京 2014/5/29-30 肝臓 :2014;55(suppl. 1):A363
9. 村尾道人、川部直人、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關与する因子の検討；第50回日本肝臓学会総会；ホテルニューオータニ 東京 2014/5/29-30 肝臓 :2014;55(suppl. 1):A446
10. 福井愛子、川部直人、橋本千樹、原田雅生、新田佳史、村尾道人、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．非アルコール性脂肪性肝疾患患者におけるビタミンE投与の有用性～肝硬度測定値の改善効果W含めた検討～；第50回日本肝臓学会総会；ホテルニューオータニ 東京 2014/5/29-30 肝臓:2014;55(suppl. 1):A453
11. 川部直人、橋本千樹、刑部恵介、原田雅生、新田佳史、村尾道人、中野卓二、嶋崎宏明、菅敏樹、中岡和徳、大城昌史、高川友花、倉下貴光、高村知希、松尾恵美、西川徹、市野直浩、吉岡健太郎．肝硬度測定によるB型慢性肝炎の肝発癌予測と核酸アナログ治療効果の検討；JDDW2014 第18回日本肝臓学会大会；兵庫県・神戸国際展示場 他 2014/10/23-24 肝臓 :2014;55(suppl. 2):A594
12. 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、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経過と発癌について ; JDDW2014 第 18 回日本肝臓学会大会 ; 兵庫県・神戸国際展示場 他 2014/10/23-24 肝臓:2014;55(suppl. 2):A652

13. 菅敏樹、斎藤恵美、高村知希、倉下貴光、高川友花、大城昌史、中岡和徳、水野裕子、嶋崎宏明、中野卓二、村尾道人、新田佳史、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およびSimeprevirを用いた3剤併用療法の使用経験 ; JDDW2014 第 18 回日本肝臓学会大会 ; 兵庫県・神戸国際展示場 他 2014/10/23-24 肝臓 :2014;55(suppl. 2):A667

#### 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  
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

### IFN フリー治療における HCV 薬剤耐性変異と治療効果

研究分担者 上野義之 山形大学医学部内科学第二講座 教授

#### 研究要旨：

C型肝炎ウイルス(HCV)感染者に対するウイルス肝炎の治療における医療費補助事業の体制を充実し、有効な医療を供給するために、県内医療機関の協力の下に抗ウイルス療法の際の重要な因子であるC型肝炎ウイルス(HCV)の変異の測定と変異の頻度を概算することを目的とした。県内で約500名の感染者が経口剤による治療を希望してそのためのウイルス変異に関する調査研究に同意した。そのうち結果が判明した357名での18.5%(66名)に治療に影響を与える変異が検出された。DAA未治療例における薬剤耐性変異は18%にみられ、とくにY93変異が高頻度であった。治療完遂例における検討では、治療前耐性変異を認めない症例に対する治療効果は良好であったが、多重変異例のSVR率は低い傾向にあった。多重変異例では治療後も変異の残存と新たな耐性変異が出現し、より治療抵抗性となっている可能性が示唆された。IFNフリー治療の選択には薬剤耐性変異が重要であり、耐性変異例に対する治療選択をどうするのか、今後検討が必要である。

#### A. 研究目的

IFNフリー治療は忍容性が高い反面、薬剤耐性の評価と治療対象の選択について、これまでに以上に高い専門性が必要とされている。一方耐性変異の測定は保険適応外であり、一般病院における治療導入の課題となっている。

本県では肝疾患診療連携拠点病院を中心として、やまがた肝炎ネットワーク内の専門医療機関を対象に、治療前耐性変異スクリーニングを実施することでIFNフリー治療の均てん化を試みており、そのデータを中間解析し、薬剤耐性変異の実態と治療導入アウトカムを分析した。併せて耐性変異と治療効果との関連についても検討した。

#### B. 研究方法

ウイルス変異の測定に関する臨床研究に同意した患者より山形大学医学部附属病院およびその関連施設において採血を行ない、HCVの変異(D168、Y93およびL31)について測定した。また既報の治療に影響を与える宿主因子であるIL28Bなどについても測定した。

(倫理面への配慮)

山形大学医学部倫理委員会の承認を得て臨床研究を行なった。

#### C. 研究結果

1) DAA未治療例における薬剤耐性変異は357例中66例(18%)にみられ、とくにY93変異が高

頻度であった。

2) 既存の治療奏功性に関与するIL28Bとの関連ではIL28BのmajorではY93変異の率が高く、IL28BがminorもしくはheteroではY93は野生型の頻度が高かった。

3) HCVの耐性スクリーニング検査を行なった後、耐性変異がなかった例では71%が治療を導入した場、HCVに薬剤耐性変異を認めた例29例中5例で(17.2%)で本人の強い希望などの理由で治療が導入されていた。

#### D. 考察

山形県ではHCV感染者は推計で4800人前後存在すると見込まれているが、今回の検討ではその10.4%に相当する500名の感染者が経口剤による治療を希望してそのためのウイルス変異に関する調査研究に同意した。そのうちH26年11月末までに結果が判明した357名での18.5%(66名)に治療に影響を与える変異が検出された。

全県の感染者の推計数(約5000人)からみて、その1割程度が現在の経口2剤での治療を希望して検査を受けたことは、疫学的に意義深い。今回の治療を見送っている例を含めると山形県では感染者の5割以上は既に医療機関に受診している可能性が高い。しかし、未受診者数をより詳細に確定することは医療行政的にも意義深いためさらに詳細な調査を行なうことが必要である。

## E. 結論

DAA 未治療例における薬剤耐性変異は 18%にみられ、とくに Y93 変異が高頻度であった。IFN フリー治療の均てん化を目的に、14 の肝炎専門医療機関を対象に治療前耐性変異を測定し、治療導入支援を試みた。現時点では本県の治療導入は耐性変異を有していない症例に積極的に行われていた。

治療完遂例における検討では、治療前耐性変異を認めない症例に対する治療効果は良好であったが、多重変異例の SVR 率は低い傾向にあった。多重変異例では治療後も変異の残存と新たな耐性変異が出現し、より治療抵抗性となっている可能性が示唆された。

IFN フリー治療の選択には薬剤耐性変異が重要であり、耐性変異例に対する治療選択をどうするのか、今後検討が必要である。

## F. 健康危険情報 特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 渡辺 久剛, 佐藤 智佳子, 奥本 和夫, 西瀬 雄子, 斎藤 貴史, 河田 純男, 上野 義之. 【B 型肝炎の概念の変遷とその臨床的意義】 B 型肝炎ウイルスジェノタイプ B 高感染地域における感染実態の変遷と核酸アナログ治療例におけるジェノタイプの臨床的意義. 消化器内科. 2014; 58(2): 213-9.

2) 上野 義之, 橋本 悦子, 阿部 雅則, 良沢 昭銘. 【肝胆膵領域の光学医療; 一見にかかず】 肝胆膵領域の光学医療 一見にかかず. 肝・胆・膵. 2014; 69(2):279-88.

3) Shakado S., Sakisaka S., Okanoue T., Chayama K., Izumi N., Toyoda J., Tanaka E., Ido A., Takehara T., Yoshioka K., Hiasa Y., Nomura H., Seike M., Ueno Y., Kumada H. Interleukin 28B polymorphism predicts interferon plus ribavirin treatment outcome in patients with hepatitis C virus-related liver cirrhosis: A multicenter retrospective study in Japan. Hepatology Research 2014; 44(9):983-92.

4) Omata M., Nishiguchi S., Ueno Y., Mochizuki H., Izumi N., Ikeda F., Toyoda H., Yokosuka O., Nirei K., Genda T., Umemura T., Takehara T., Sakamoto N., Nishigaki Y., Nakane K., Toda N., Ide T., Yanase M., Hino K., Gao B., Garrison K. L., Dvory-Sobol H., Ishizaki A., Omote M., Brainard D., Knox S., Symonds W. T., McHutchison J. G., Yatsunami H., Mizokami M. Sofosbuvir plus ribavirin in Japanese

patients with chronic genotype 2 HCV infection: an open-label, phase 3 trial. Journal of Viral Hepatitis. 2014; 21(11):762-8.

5) Ninomiya M., Ueno Y., Shimosegawa T. Application of deep sequence technology in hepatology. Hepatology Research 2014; 44(2):141-8.

### 2. 学会発表

1) Watanabe H., et al and Ueno Y. Genetic polymorphism in interferon-lambda 4 gene and treatment response to peginterferon and ribavirin in Japanese chronic hepatitis C. 米国肝臓病学会年次集会 ポストン 2014 年

2) 三浦 雅人, 上野 義之, 下瀬川 徹. HBe 抗体陽性無症候性キャリアの自然経過に関する検討. 日本肝臓学会第 50 回総会 東京、2014 年

3) 渡辺 久剛, 佐藤 智佳子, 上野 義之. HBV 遺伝子型からみた自然経過観察例および核酸アナログ治療例の HBs 抗原陰性化と肝発癌予後. 日本肝臓学会第 50 回総会 東京、2014 年

4) 渡辺 久剛, 斎藤 貴史, 上野 義之. 肝疾患診療における医療連携の在り方 本県における肝炎対策の現状と課題をふまえた「やまがた肝炎ネットワーク」の構築と肝疾患診療連携体制. 日本肝臓学会第 50 回総会 東京、2014 年

5) 三浦 雅人, 上野 義之, 下瀬川 徹. HBe 抗体陽性無症候性キャリアの自然経過に関する検討. 日本肝臓学会第 50 回総会 東京、2014 年

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (※予定を含む)

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
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

### 薬剤耐性変異からみた C 型慢性肝炎の治療法に関する研究

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 准教授

**研究要旨:** C型慢性肝炎の治療法、特に最も難治とされる1b型HCVに対して、直性作用型抗HCV薬 (Direct acting antivirals: DAAs) が開発され急速に進歩した。NS3-4 protease阻害剤のSimeprevirないしはVaniprevir (VPV) をPEG-IFN+RBVに併用する3剤併用療法は、治療効果と安全性からIFN適格の初回治療例では第1選択であるが、治療効果はPEG-IFN+RBVの治療効果と関連し、前治療再燃例や初回例で有効性が高く、IL28B TT症例では有効性が高いことが明らかになった。また治療失敗例ではNS3耐性が生じるが、これは治療前から存在する微量なクローンから選択増殖されている可能性が示され、例え耐性変異が逆変異により野生型に戻っても耐性部位以外の変異は変化せず、異なる変異の集積をもつウイルスが主流となり、quasispecies構成自体が変化し維持されていることが示された。これは、薬剤耐性機序解明の手掛かりになるばかりか、今後の治療に影響を及ぼす可能性があることから重要な発見と考えられる。一方、わが国で初めて認可されたprotease阻害剤のAsunaprevir (ASV) とNS5A阻害剤のdaclatasvir (DCV) を併用する経口2剤治療の適応は、現在、IFN不適格未治療、IFN不耐容例、無効例に限られるが、治療効果は極めて高いことが判明した。また自然得耐性変異が存在することが知られているが、NS5A-Y93Hは、高感度測定法によれば早期の治療反応性と関連することが判明し、今後最終効果との関連について検討が必要である。さらにNS5A-Y93HはIFN感受性がむしろ高い集団に多く存在する可能性が高く、今後測定法も含め、治療方針を決定するうえで非常に重要であると考えられた。

#### A. 研究目的

C 型慢性肝炎に対する治療法は、インターフェロン (Interferon: IFN) に加え、直接作用型抗 HCV 薬 (Direct acting antivirals: DAAs) を用いることで急速に進歩した。とくに 1b 型 HCV に対する NS3-4 protease 阻害剤の Talaprevir (TVR) Simeprevir (SMV)、Vaniprevir (VPV) を PEG-IFN とリバビリン (Ribavirin: RBV) に併用する 3 剤併用療法は極めて高い治療効果を示した。このうち SMV や VPV は高い治療効果と安全性から 3 剤併用療法においては第 1 選択薬である (日本肝臓学会 C 型肝炎治療ガイドライン)。

さらに protease 阻害剤の Asunaprevir (ASV) に NS5A 阻害剤の Daclatasvir (DCV) を併用する経口 2 剤治療も、わが国で初めて認可された。この治療法は極めて高い治療効果を示し、重篤な副作用もほとんどみられないが、平成 27 年 2 月現在の適応は、IFN 不適格未治療もしくは IFN 不耐容例、IFN 治療無効例に限られている。従って、IFN 適格未治療例は、PEG-IFN+RBV+ (TVR または SMV または VPV) が第 1 選択である。また DAA には薬剤耐性ウイルスの問題が存在する。これは治療不成功例では薬剤耐性変異がみられるという点と、もともと自然獲得薬剤耐性変異の問題という 2 点を含んでいる。

そこで本研究では、薬剤耐性変異につき、とくに検討し、現時点でのC型慢性肝炎の治療法を検討することを目的とした。

## B. 研究方法

山梨大学医学部附属病院で治療開始した、1b型C型慢性肝炎症例を対象とし、治療効果と薬剤耐性変異につき、宿主因子・ウイルス因子とともに検討した。

- 1) PEG-IFN+RBV+SMV 症例が 29 例に関しては治療効果と、治療不成功例の薬剤耐性変異につき Ultra-deep sequencing 法で詳細に検討した。
- 2) ASV+DCV 療法 36 例は、治療選択の理由・治療効果につき検討し、NS5A-Y93H 変異と治療効果に関しては Direct sequencing 法と Invader 法による相違を検討した。また、Y93H については他のコホート集団での検出頻度等についても検討した。

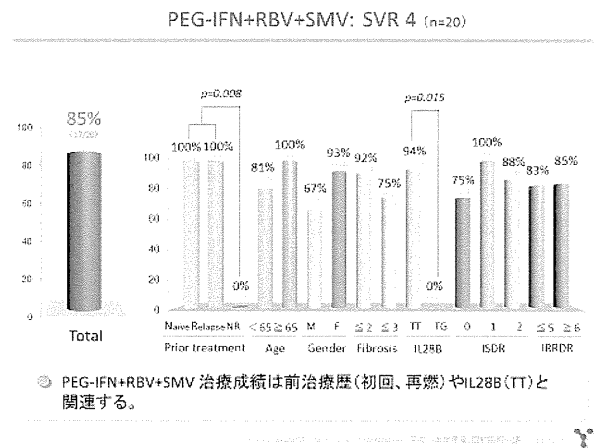
(倫理面への配慮)

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。

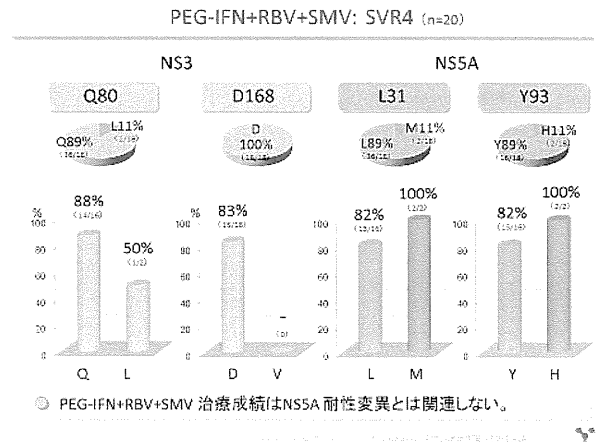
## C. 研究結果

- 1) PEG-IFN+RBV+SMV 29 例の SVR4 は 85% (17/20) であった。治療効果規定因子につき SVR12 を用いて、治療因子 (初回治療、前治療効果 [再燃/無効])、宿主因子 (年齢、性別、肝線維化、IL28B SNPs)、ウイルス因子

(ISDR/IRRDR、コアアミノ酸変異) につき検討すると、初回治療/前治療再燃例と IL28B major type (TT) のみが有意な因子であった。すなわち、前治療無効例では 1 例も SVR 達成しなかったが、初回治療例・前治療再燃では 100% の SVR 率であった ( $p=0.008$ )。また IL28B major type (TT) では、94% の SVR 率であるのに対し、minor type (TG または GG) では 1 例も SVR 率にならなかった ( $p=0.015$ )。

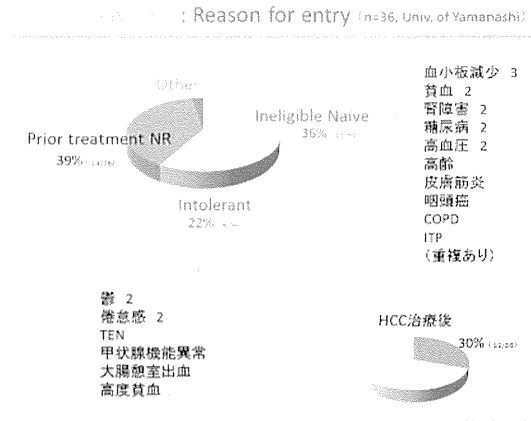


また、NS3-4 protease 阻害剤の耐性変異である Q80L、D168V について検討すると、D168V は存在せず、Q80L は 11% に認め、SVR4 は 50% であった。一方 NS5A 阻害剤の耐性変異である、L31M 変異と Y93H 変異を有する症例は 11% 存在したが治療効果とは関連しなかった。

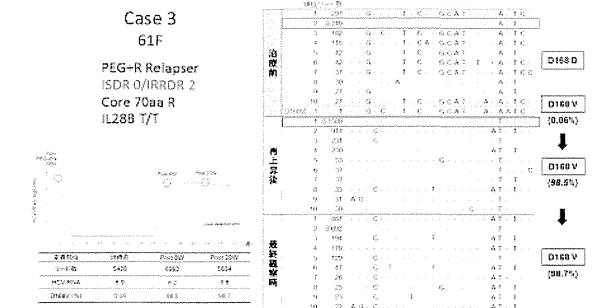
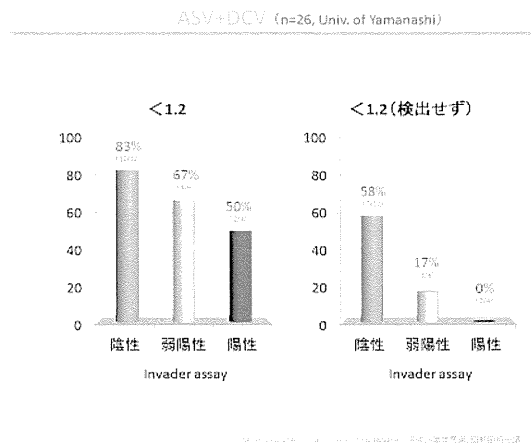
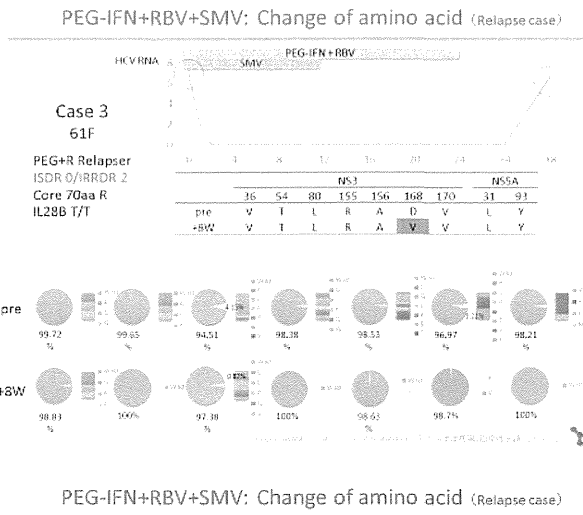


しかし治療失敗例を検討すると、ウイルス再増殖時には NS3-4 protease 阻害剤の耐性変異である D168V 変異が出現していた。これを、Ultra-deep sequencing 法で詳細に検討すると、治療前からわずかながら耐性変異を持ったウイルスが存在することが明らかになった。しかし、耐性部位以外の変異を検討すると、ウイルス再増殖時に多数を占めるウイルスは、治療前に存在していたごく微量のウイルスを起源として選択・増殖している可能性が示唆された。しかも、数か月の経過で、耐性部位のアミノ酸が逆変異し野生型に戻っても、耐性部位以外の変異は変化せず、異なる変異の集積をもつウイルスが主流となり、quasispecies 構成自体が変化し、維持されていた。

の導入理由は、IFN 不適格未治療 13 例 (36%)、IFN 不耐容 8 例 (22%)、前治療無効例 14 例 (39%) であった。



当院では direct sequencing 法を用いて NS5A 阻害剤の耐性変異を治療前に測定し耐性変異を有する症例は原則治療導入していない。しかし早期の治療効果を検討すると、2W でのウイルス陰性化 (<1.2 検出せず) あるいは <1.2 (検出) と Y93H の Invader 法の結果は相関した。

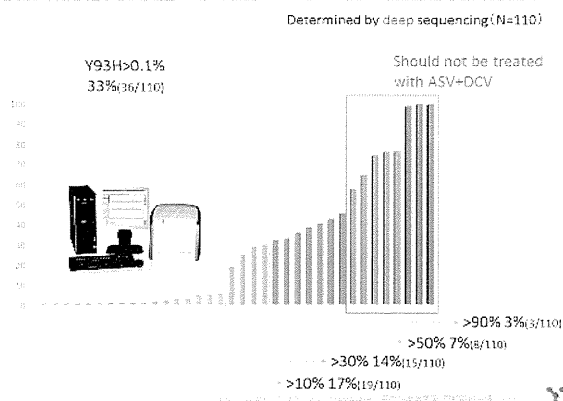


2) ASV+DCV 治療は 36 例に導入されたが、そ

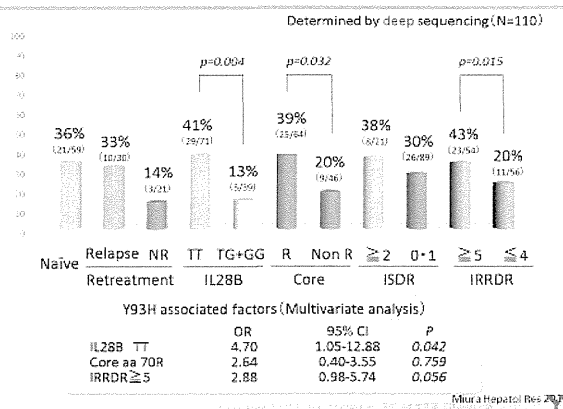
しかし、DAA 製剤未使用の Y93H 頻度を ultra-deep sequencing 法を用いて別の 110 例で検討すると検討すると、混在比率 50%以上の頻度で検出される症例が 7%、0.1%以上で検出される症例まで含めると 33%に認められた。この症例の特徴を多変量解析で検討すると、IL28B TT、コア 70 番アミノ酸 R (野生型)、IRRDR

変異数 $\geq 5$ が有意な因子で、IFN感受性が高いと考えられる集団に多く見られた。

Y93H: Percentage of resistance mutation at aa93



Y93H: Frequency in each background



## D. 考察

1b型HCVに対する治療法はIFN適格未治療例ではPEG-IFN+RBV+SMV（もしくはVPV）が第1選択であり、IFN不適格未治療、不対応例、IFN無効例ではASV+DCV併用療法が第1選択である。しかし、DAA製剤は薬剤耐性変異の問題を含んでおり、これらを慎重に検討する必要がある。とくにNS5A阻害剤のduclatusvir (DCV)に高度耐性を示すY93Hは、IFN感受性を示す症例に多く存在する。しかもこれらはPEG-IFN+RBV+SMVの治療効果とは関連しないため、治療選択にあたり慎重な検

討が必要である。しかも耐性変異測定には、種々の方法があり、高感度測定法ではかなりの頻度で耐性ウイルスが存在することが明らかになった。また高感度測定では早期の治療効果を判定できる可能性があり、最終的な治療効果を含め、測定法の臨床的有用性ととも今後の検討課題であると考えられた。

## E. 結論

C型慢性肝炎の治療方針を決定するためには薬剤耐性変異を十分検討することが必要である。とくにDCV耐性のY93Hは、測定法や自然獲得耐性例の存在も十分考慮する必要がある。

## まとめ

### 1、NS3 protease阻害剤の耐性変異の検討

- SMV failure例ではいずれもD168の耐性変異が出現していた。
- D168のminor mutationは治療前から存在していた可能性がある。

### 2、NS5A阻害剤耐性変異の検討

- Direct sequencingでは検出できない変異をInvader assayでは検出できる可能性がある。
- Invader assayの結果は、ASV+DCV治療の早期の治療反応性と関連する可能性がある。
- NS5A-Y93H変異は、IL28B TT、コア70アミノ酸置換、ISDR/IRRDRと関連する。とくに、IFN感受性が高いと考えられる症例での頻度が高い。

現時点では、NS3およびNS5A領域のDAA耐性変異を検討して治療方針を検討する必要がある。今後、未治療例にASV+DCV治療が適応になってもとくにY93H変異例は、IFN baseの治療効果が高い可能性があることも考慮する必要がある。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) Komatsu N, Motosugi U, Maekawa S, Shindo K, Sakamoto M, Sato M, Tatsumi A, Miura M, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Fukasawa M, Uetake T, Ohtaka M, Sato T,

- Asahina Y, Kurosaki M, Izumi N, Ichikawa T, Araki T, Enomoto N. Hepatocellular carcinoma risk assessment using gadoxetic acid-enhanced hepatocyte phase magnetic resonance imaging. *Hepatol Res* 2014, 44, 1339-1346, DOI: 10.1111/hepr.12309
- (2) 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 1 in hepatitis C virus infection. *Hepatol Res* 2014 in press Article first published online : 10 APR 2014, DOI: 10.1111/hepr.12316
- (3) Tatsumi A, Maekawa S, Sato M, Komatsu N, Miura M, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N. Liver Stiffness Measurement for Risk Assessment of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology Research* 2014 in press Article first published online : 20 OCT 2014, DOI: 10.1111/hepr.12377
- (4) 坂本穰、榎本信幸、線維化進展例に対する3剤併用療法、*医学のあゆみ* 249 (3)、237-241,2014
- (5) 坂本穰、榎本信幸、C型慢性肝炎、肝硬変、診療ガイドライン UP-TO-DATE、290-297、メディカルレビュー社
- (6) 坂本穰、榎本信幸、C型肝炎の治療目標、*HEPATOLOGY PRACTICE* C型肝炎の診療を極める。138-144、文光堂
- (7) 坂本穰、榎本信幸、DAA時代におけるインターフェロンの意義、*Mebio* 31、61-63、2014
- (8) 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、*日本臨床* 73 (2)、208-212、2015
2. 学会発表
- (1) 小松信俊、前川伸哉、佐藤光明、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Pre-S領域の遺伝子学的検討、第24回抗ウイルス療法研究会、2014.5.8、富士吉田
- (2) 鈴木雄一郎、坂本穰、辰巳明久、佐藤光明、小松信俊、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸. B型肝炎の核酸アナログ投与における肝炎抑制効果と発癌、第24回抗ウイルス療法研究会、2014.5.8、富士吉田
- (3) 前川伸哉、三浦美香、高野伸一、佐藤光明、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24回抗ウイルス療法研究会、2014.5.8、富士吉田
- (4) 前川伸哉、三浦美香、高野伸一、佐藤光明、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. HCV感染者におけるNS3プロテアーゼ阻害剤+NS5A阻害剤耐性変異の検討、第24回抗ウイルス療法研究会、2014.5.8、富士吉田
- (5) 佐藤光明、三浦美香、佐藤光明、小松信俊、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸. 次世代sequencerによるtelaprevir耐性変異の検討、第24回抗ウイルス療法研究会、2014.5.8、富士吉田
- (6) 鈴木雄一郎、坂本穰、榎本信幸、核酸アナ

- ログ療法の有効性に関わるウイルス因子、宿主因子の検討、第 100 回日本消化器病学会総会 (ワークショップ)、2014.4.26、東京
- (7) 廣瀬純穂、中山康弘、鈴木雄一朗、佐藤光明、小松信俊、辰巳明久、三浦美香、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、岡田大樹、荒木拓次、雨宮秀武、松田政徳、榎本信幸、脈管侵襲をきたした高度進行肝細胞癌に対する治療法とその成績、第 100 回日本消化器病学会総会、2014.4.26、東京
- (8) 坂本穰、三浦美香、佐藤光明、小松信俊、辰巳明久、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸、発癌リスクと治療反応性、薬剤耐性変異を考慮した難治性 C 型肝炎治療、第 100 回日本消化器病学会総会、2014.4.26、東京
- (9) 辰巳明久、佐藤光明、鈴木雄一朗、廣瀬純穂、小松信俊、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、FibroScan による肝硬度測定および脂肪化測定を用いた NBNC 肝癌評価、第 100 回日本消化器病学会総会、2014.4.26、東京
- (10) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、発癌リスクと protease 阻害剤を含む 3 剤併用療法の治療反応性と薬剤耐性変異を考慮した C 型慢性肝炎に対する治療戦略、第 50 回日本肝臓学会総会 (シンポジウム)、2014.5.29、東京
- (11) 鈴木雄一朗、坂本穰、榎本信幸、B 型肝炎における HBsAg、HBcrAg、ファイブロスキャンの有用性、第 50 回日本肝臓学会総会 (シンポジウム)、2014.5.29、東京
- (12) 井上泰輔、辰巳明久、鈴木雄一朗、佐藤光明、三浦美香、雨宮史武、中山康弘、坂本穰、榎本信幸、ファイブロスキャンによる肝硬度と C 型肝炎へのインターフェロン治療、第 50 回日本肝臓学会総会 (ワークショップ)、2014.5.29、東京
- (13) 佐藤光明、三浦美香、前川伸哉、小松信俊、辰巳明久、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、次世代 sequencer による telaprevir 耐性変異の解析、第 50 回日本肝臓学会総会、2014.5.29、東京
- (14) 前川伸哉、三浦美香、辰巳明久、小松信俊、佐藤光明、鈴木雄一朗、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、榎本信幸、Deep sequencing を用いた naturally-occurring DAA resistant HCV の検討、第 50 回日本肝臓学会総会、2014.5.29、東京
- (15) 小松信俊、坂本穰、榎本信幸、EOB-MRI 肝細胞相で低信号を示す乏血性結節と発癌リスクの検討、第 50 回日本肝臓学会 (シンポジウム)、2014.6.5、京都
- (16) 佐藤光明、中山康弘、小松信俊、辰巳明久、三浦美香、雨宮史武、井上泰輔、坂本穰、前島良康、栗山健吾、大西洋、榎本信幸、肝細胞癌に対する定位放射線療法の成績、第 50 回日本肝臓学会 (ワークショップ)、2014.6.5、京都
- (17) 雨宮史武、加藤亮、石田泰章、早川宏、川上智、小馬瀬一樹、門倉信、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、当院における非 B 非 C 型肝炎細胞癌の臨床的特徴、第 50 回日本肝臓学会、2014.6.5、京都
- (18) S.Maekawa, M.Sakamoto, N.enomoto, The Impact of the recently-found SNPs on liver fibrosis in chronic HBV and HCV hepatitis. 第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW)、



- International Sessin (Symposium)、2014.10.23、神戸
- (19) 鈴木雄一郎、坂本穰、榎本信幸、核酸アナログの発癌抑止に及ぼす影響と予後の検討、第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW) (シンポジウム)、2014.10.23、神戸
- (20) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、治療反応性と薬剤耐性変異を考慮した C 型肝炎の治療戦略、第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW) (シンポジウム)、2014.10.23、神戸
- (21) 小松信俊、前川伸哉、佐藤光明、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 Pre-S 領域の遺伝子学的検討、第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW)、2014.10.23、神戸
- (22) 村岡優、坂本穰、辰巳明久、鈴木雄一郎、佐藤光明、小松信俊、三浦美香、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、榎本信幸、Fibroscan による NBNC-HCC 高危険群囲い込みと検診への応用、第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW)、2014.10.23、神戸
- (23) 小松信俊、本杉宇太郎、佐藤光明、辰巳明久、雨宮史武、中山康弘、井上泰輔、坂本穰、市川智章、榎本信幸。EOB-MRI 肝細胞相を用いた発癌リスクの検討、第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW)、2014.10.23、神戸
- (24) 佐藤光明、三浦美香、小松信俊、辰巳明久、中山康弘、井上泰輔、前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、次世代シーケンサーによる telaprevir 耐性変異の解析、第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW)、2014.10.23、神戸
- (25) 坂本穰、前川伸哉、榎本信幸、薬剤耐性変異を考慮した C 型肝炎治療と発癌抑制からみた治療法選択、第 40 回日本肝臓学会東部会 (シンポジウム)、2014.11.27、東京
- (26) 鈴木雄一郎、坂本穰、榎本信幸、B 型肝炎における Fibroscan 測定の意義、第 40 回日本肝臓学会東部会 (パネルディスカッション)、2014.11.27、東京
- (27) 前川伸哉、坂本穰、榎本信幸、ウイルス性肝炎の病態進展における MICA、DEPDC5、PNPLA3 遺伝子多型の臨床的意義の検討、第 40 回日本肝臓学会東部会 (ワークショップ)、2014.11.27、東京
- (28) 佐藤光明、前川伸哉、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 sequencer による telaprevir 耐性変異と quasispecies の動態の解析、第 40 回日本肝臓学会東部会、2014.11.27、東京

#### H. 知的所得権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

# 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

### Telaprevir/PegIFN/RBV の 3 剤併用療法における効果および予後についての検討

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  $\alpha$  2b/Ribavirin(PEG-IFN  $\alpha$  2b/RBV)+Telaprevir 併用の治療効果と予後を検討する多施設共同の観察研究を行った。治療効果の対象は 601 例で SVR は 77% (464/601) であった。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。601 例のうち、発癌の既往および治療中の発癌を除いた 515 例を対象として予後(発癌)について検討した。観察期間 616 日(中央値)にて 21 例(4%)に発癌を認めた。発癌に寄与する独立した背景要因は HCVcore70(変異あり) ( $p = 0.004$ ) であり治療要因は治療後の  $\gamma$  GTP(高い) ( $p = 0.025$ ) と治療後の AFP(10 以上) ( $p = 0.013$ ) であった。背景因子および治療因子を合わせて検討すると年齢、HCVcore70、治療後の AFP 値が発癌に寄与する独立した因子であった。また SVR の有無は発癌には関与しておらず、SVR 例のみで同様(発癌に寄与する独立因子)の検討を行ったところ HCVcore70 および年齢が発癌に寄与する独立した因子であった。今後さらなる長期観察において予後を観察し背景および治療因子を検討することが必要である。

#### A. 研究目的

C 型慢性肝炎に対してはインターフェロン(IFN)をベースとした治療が行われてきた。2010 年以降 IFN とは異なる作用機序による抗ウイルス治療として DAAs(direct-acting antivirals)が開発されており、治療の主体をなしている。本邦でも 2011 年 11 月に第一世代の Protease Inhibitor(PI)である Telaprevir が市販され、2013 年 12 月に第二世代の PI である Simeprevir が市販され PegIFN/RBV と併用されてきた。さらに 2014 年 9 月にはインターフェロンフリーの DAAs の併用(PI+NS5Ainhibitor)が市販され、この治療は肝硬変(ただし ChildA のみ)や高齢者に対するの忍容性が高く有効率も高い。今回の研究目的は、前年度の『肝炎等克服緊急対策研究事業』にてまとめた主題研究に登録した Telaprevir/PegIFN/RBV 併用療法における治療

効果と予後(発癌)について明らかにすることである。

#### 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 週間以上経過した 601 症例を治療効果の対象とした(24 週以内の中止例は含むが治療延長例は除外した)。このうち、発癌の既往および治療中の発癌を除いた 515 例を予後(発癌)の対象とした。

- ・ 背景要因(年齢、性、体重、白血球数、Hb 値、血小板数、AST 値、ALT 値、 $\gamma$  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))
- ・ 治療要因(治療効果の検討：治療薬剤の完遂の有無・投与率、発癌の検討：治療後の AST

値・ALT 値・ $\gamma$ GTP 値・AFP 値・SVR の有無) 上記要因を用いて以下の検討を行った。単変量解析は Mann-Whitney's U test あるいは  $\chi$  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. 発癌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。また、本研究は倫理審査委員会にての承認を受けている。

## C. 研究結果

### 1. SVR に寄与する独立因子の検討

対象背景 (中央値 (IQR))

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/mm<sup>3</sup> (3800-5500)、Hb 14 g/dl (13-15)、PLT 16.1X10<sup>4</sup>/L (12.0-19.7)、AST 47 IU/L (30-65)、ALT 42 IU/L (30-76)、 $\gamma$ 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)。

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

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 (野生型) (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%、 $P = 0.031$ )、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)。

### 2. 発癌に寄与する独立因子の検討

対象背景 (中央値 (IQR))

年齢 61 歳 (53-65)、男 291 例 / 女 224 例、BMI 23kg/m<sup>2</sup> (21-25.2)、WBC 4600/mm<sup>3</sup> (3760-5500)、Hb 14 g/dl (13-15)、PLT 15.6X10<sup>4</sup>/L (12.2-19.7)、AST 48 IU/L (30-75)、ALT 42 IU/L (30-64)、 $\gamma$ GTP 28 IU/L (18-43)、AFP 5.3ng/ml (3.5-9.3)、HCVcore70aa (Wild 324 例 mutant144 例 mix 6 例 ND41 例)、IL28B(rs8099917) (TT376 例 TG/GG132 例 ND7 例)、ITPA(rs1127354) (CC341 例 CA/AA 112 例 ND62 例)、臨床病態 (慢性肝炎 427 例 肝硬変 72 例)、高血圧 (あり 121 例 なし 372 例)、糖尿病 (あり 54 例 なし 437 例)。

独立因子 (単変量 (発癌あり、なし、P 値)、多変量 (P 値、オッズ比、95%信頼区間))

発癌あり 21 例、なし 494 例。観察期間 616 日 (中央値) で発癌率は 4% であった (図 1)。背景要因として単変量 (表 2) にて年齢 (63 歳、60 歳、

P=0.004)、血小板数(14.4、15.7、P=0.022)、AST値(52、41、P=0.013)、ALT値(55、48、P=0.041)、AFP値(12.8、5、P=0.002)、Core aa70(変異型)(76%、26%、P<0.001)、臨床病態(肝硬変)(38%、13%、P=0.002)および高血圧(あり)(43%、23%、P=0.046))の8因子が抽出され多変量にてCore aa70(変異型)(P=0.004、4.783、1.628-14.058)のみが独立因子であった(図2)。治療要因として単変量(表3)にて治療後ALT値(22、18、P=0.024)、 $\gamma$ GPT値(43、22、P=0.002)およびAFP値(4.9、3.1、P=0.024)の3因子が抽出され多変量にて $\gamma$ GPT値(高い)(P=0.025、1.006、1.001-1.011)およびAFP(10ng/ml以上)(P=0.013、3.931、1.341-11.526)が独立因子であった(図3)。

#### 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  $\alpha$  2b/Ribavirin(PEG-IFN  $\alpha$  2b/RBV)+Telaprevir併用の治療において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。この要因はIFNベース治療においては共通である。

Telaprevir/PegIFN/RBV併用療法は本邦では最初のDAAs併用である。そこで治療効果のみならずその後の経過を追跡することは重要である。今回、観察期間は616日(中央値)と短いが予後について検討したところ21例(4%)に発癌を認めた。発癌に寄与する独立した背景要因はHCVcore70(変異あり)(p=0.004)であり治療要因は治療後の $\gamma$ GPT(高い)(p=0.025)と治療後のAFP(10以上)(p=0.013)であった。背景因子および治療因子を合わせて検討すると年齢、

HCVcore70および治療後のAFP値が発癌に寄与する独立した因子であった。またSVRの有無は発癌には関与しておらず、SVR例のみで同様(発癌に寄与する独立因子)の検討を行ったところHCVcore70および年齢が発癌に寄与する独立した因子であった。今後さらなる長期観察において予後を観察し背景および治療因子を検討する必要がある。

#### E. 結論

治療開始が高齢あるいはHCVcore70変異のウイルスに感染していた場合は、SVRが得られたとしても嚴重な経過観察が必要である。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Nagaoki Y, Imamura M, Kawakami Y, Kan H, Fujino H, Fukuhara T, Kobayashi T, Ono A, Nakahara T, Naeshiro N, Urabe A, Yokoyama S, Miyaki D, Murakami E, Kawaoka T, Tsuge M, Hiramatsu A, Aikata H, Takahashi S, Hayes CN, Ochi H, Chayama K; Hiroshima Liver Study Group. Interferon lambda 4 polymorphism affects on outcome of telaprevir, pegylated interferon and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C. Hepatol Res. 2014
- 2) 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