

201449007A

厚生労働科学研究委託費

肝炎等克服実用化研究事業（肝炎等克服緊急対策研究事業）

慢性肝炎・肝硬変・肝がんの遺伝子や  
バイオマーカーを含めた病態解明と  
各病態で求められる診療指針の開発と普及のための研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

研究代表者 泉 並木

平成 27（2015）年 3 月

本報告書は、厚生労働省の科学研究委託事業（肝炎等克服実用化研究事業（肝炎等克服緊急対策研究事業））による委託業務として、（受託者）武蔵野赤十字病院 院長 丸山 洋（業務主任者） 泉 並木 が実施した平成 26 年度「慢性肝炎・肝硬変・肝がんの遺伝子やバイオマーカーを含めた病態解明と各病態で求められる診療指針の開発と普及のための研究」の成果を取りまとめたものです。

# 厚生労働科学研究委託費

肝炎等克服実用化研究事業（肝炎等克服緊急対策研究事業）

慢性肝炎・肝硬変・肝がんの遺伝子や  
バイオマーカーを含めた病態解明と  
各病態で求められる診療指針の開発と普及のための研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

研究代表者 泉 並木

平成 27（2015）年 3 月

## 目 次

### I. 委託業務成果報告（総括）

- B 型 C 型慢性肝炎および肝硬変の腹水と中間ステージ肝癌の  
診療指針作成に向けた病態解析データの集積に関する研究 ————— 1  
武蔵野赤十字病院 副院長 泉 並木

### II. 委託業務成果報告

#### （業務項目）C 型肝炎に対する新薬指針の作成と普及

1. 薬剤耐性変異からみた C 型肝炎の治療方針に関する研究 ————— 9  
山梨大学医学部附属病院肝疾患センター 准教授 坂本 穰  
2. 難治性胸腹水を伴う非代償性肝硬変および肝腎症候群に対する  
トルバプタン使用例の検討 ————— 15  
北海道大学院消化器内科・助教 荘 拓也  
3. 本邦における急性ウイルス性肝炎の発生状況についての疫学的研究 ————— 17  
長野赤十字病院 副院長 和田 秀一

#### （業務項目）B 型肝炎に対する HB s 抗原や消失を目指した診療指針の作成と普及

4. B 型肝炎患者における核酸アナログ治療中の肝発癌に対する  
モニタリングについての診療指針作成に関する研究 ————— 19  
名古屋赤十字病院 消化器内科 部長 折戸 悦朗

#### （業務項目）C 型肝炎に対する新薬指針の作成と普及

5. NS3 および NS5 領域の薬剤耐性とプロテアーゼ 3 剤併用療法の治療効果 ————— 23  
東京医科歯科大学 教授 朝比奈 靖浩  
6. C 型肝炎に対する Simeprevir/Peg-IFN/Ribavirin3 剤併用療法の治療成績に関する研究 ————— 29  
大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学 講師 平松 直樹

#### （業務項目）B 型肝炎に対する HB s 抗原や消失を目指した診療指針の作成と普及

- 早期肝がんの画像支援システムを活用した診療指針の作成および肝がん  
肝動脈塞栓術のデータ収集  
7. 分子標的薬の長期効果と診療指針作成 ————— 33  
大阪赤十字病院 消化器内科 部長 大崎 往夫

#### （業務項目）B 型肝炎に対する HB s 抗原や消失を目指した診療指針の作成と普及

- 肝硬変の腹水に対する新しい利尿剤の効果判定のための診療指針作成  
8. B 型肝炎からの発癌に関する研究 ————— 43  
旭川赤十字病院 消化器内科 部長 長谷部 千登美

#### （業務項目）肝硬変の腹水に対する新しい利尿剤の効果判定のための診療指針作成

9. 尿中アクアポリン 2 に関する研究 ————— 47  
明治薬科大学 客員研究員 佐々木 成

#### （業務項目）肝硬変の腹水に対する新しい利尿剤の効果判定のための診療指針作成

- 早期肝がんの画像支援システムを活用した診療指針の作成および肝がん  
肝動脈塞栓術のデータ収集  
10. 肝細胞癌治療後の C 型肝炎に対する DAAs 経口 2 剤と IFN を含む 3 剤併用療法の比較 ————— 49  
松山赤十字病院 副院長 上甲 康二  
11. Conventional TACE 不応の肝細胞癌症例（ステージ II、III、IVa）に対する  
Sorafenib と DEB-TACE の比較（prospective と retrospective 観察研究） ————— 53  
松山赤十字病院 副院長 上甲 康二

(業務項目) C型肝炎に対する新療指針の作成と普及	
B型肝炎に対するHBs抗原や消失を目指した診療指針の作成と普及	
肝硬変の腹水に対する新しい水利尿剤の効果判定のための診療指針作成	
早期肝がんの画像支援システムを活用した診療指針の作成および肝がん	
肝動脈塞栓術のデータ収集	
12. DAA耐性変異の分布と治療薬選択状況	———— 55
武蔵野赤十字病院 消化器科 部長 黒崎 雅之	
Ⅲ. 学会等発表実績	———— 59
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷	———— 81

## I. 委託業務成果報告（総括）

## B 型 C 型慢性肝炎および肝硬変の腹水と中間ステージ肝癌の 診療指針作成に向けた病態解析データの集積に関する研究

担当責任者：泉 並木 武蔵野赤十字病院 副院長・消化器科 部長

研究要旨：肝発癌を防ぐためのウイルス肝炎の治療法が検討されている。日本肝臓学会肝炎診療ガイドラインに記載されていないが、実臨床で必要な部分について診療指針を作成して、普及させ肝癌の発症を防止したり、肝硬変や肝癌の予後改善対策を講じることが必要である。B 型肝炎について、sequential 療法が施行された症例を集積し、核酸アナログ内服中に HBs 抗原が 1000 IU/ml 未満になった例では sequential 療法によって 44% の例で HBs 抗原が 1/10 以下に低下し、HBs 抗原が 1000～10000 IU/ml の例では HBs 抗原 1/10 の低下が 33% にみられた。全国のシメプレビルとペグインターフェロン・リバビリン治療を行った C 型肝炎 632 例を集計し治療終了 4 週後の HCVRNA 陰性化(SVR4)は初回治療で 84%、前治療再燃例で 88%、前治療無効例でも 55% であった。治療終了後に再燃する因子について解析したところ、肝線維化の進行と IL28B が minor allele であることが関連していたため、再燃を防止して SVR 率を向上させるための指針を示した。また治療前に存在する薬剤耐性変異を全国で測定し、適切な薬剤選択のための指針となった。SVR が得られても肝発癌をきたす症例の特徴を解析し、リスクスコアが算出できるようにした。リスクスコアによって、画像診断の頻度を変えて肝癌が早期発見できるような診療指針を作成した。これを普及させるためのツールを開発して、展開していくことが次の課題である。利尿剤不応性の肝硬変の腹水例に対して、新たな水利尿剤であるトルバプタンを効果の指標として、尿の浸透圧やアクアポリン 2 排泄の低下が有用であった。これらを指標にして、診療指針を作成した。Intermediate ステージ肝癌に対して、肝動脈塞栓術 (TACE) が有効である症例の特徴を解析し、up to 7 基準内であれば TACE によって生命予後の改善が得られていた。そこでこれを基準に含んで、他治療の併用や移行の指針を作成したい。他の研究班で検討されていない実臨床のための診療指針を作成して、普及していきたい。

### A. 研究目的

慢性肝炎・肝硬変・肝がんは一連の疾患である。HCV 増殖を直接阻害する DAA が登場し、C 型肝炎に対する抗ウイルス治療は急速に進歩している。DAA の最大の問題点は薬剤耐性変異であり、個々の症例において薬剤耐性のリスクと治療効果を適切に予測し、最適な治療法を選択して肝発癌を防止することがますます重要である。B 型肝炎においては、ガイドラインに記載されていない sequential 療法についての指針が必要である。また、従来とは全く異なる作用機序の利尿薬が使用可能となったが、治療対象選択基準や適切な使用

方法は確立しておらず、客観的な治療効果に資する尿中水チャンネル定量や尿浸透圧変化を指標とした適切な治療指針が必要である。肝がん治療ではビーズを用いた新たな肝動脈塞栓術が開始されたが治療効果の評価や他治療への移行などの指針が必要である。

### B. 研究方法

**B 型肝炎における核酸アナログから HBs 抗原低下をめざした sequential 療法の集計と指針**

B 型肝炎においては、核酸アナログで HBVDNA が低下していても、肝発癌がおこる。

これを防止する目的でHBs抗原量の低下が有用であることが提言されており、そのひとつの方法としてペグインターフェロン(IFN)のsequential療法があげられる。しかしsequential療法の大規模成績がなく、診療指針がないため、多施設の成績を加味した診療指針の構築が必要である。

### C型肝炎に対するシメプレビル併用療法の効果と診療指針

シメプレビルとペグインターフェロン・リバビリン治療を行った632例を集計し効果関連因子が解析を行う。この成績をもとに、さらに効果を向上させるための指針を提言する。

### 薬剤耐性変異(resistant associate variant; RAV)の全国分布

IFNフリーでのC型肝炎の治療が可能になったが、治療前に存在するRAVを測定して治療方針を決めることが重要である。また、RAVの全国での頻度に地域差があるか否かも重要な検討事項であるため、全国でのRAVの頻度を検討した。

### C型肝炎ウイルス消失(sustained virological response; SVR)後の肝発癌関連因子と早期発見のための指針

C型肝炎に対してインターフェロン治療を行い持続的ウイルス陰性化(SVR)が得られている症例を集積し、肝癌を発症した症例の特徴を把握して、SVR例に対する診療指針を解析して、普及するための方策を考える。

### 肝硬変の腹水例に対するトルバプタン投与に関する診療指針の作成

既存の利尿薬に対して抵抗性を示す腹水を有する肝硬変の症例に対して、トルバプタンを投与して治療した症例に対して、尿浸透圧と尿中アクアポリン2の排泄を調べて、トルバプタンに対する反応性との関連を検討し、診療指針を作成する。

### Intermediate Stage肝癌に対する肝動脈塞栓術(TACE)による治療指針にむけての成績の収集

Intermediate Stage肝癌に対してTACEで治療した症例の予後について、全国赤十字病院の成績を集計して、診療指針作成のための基礎データを作る。

(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した(新GCPに遵守)。既に医療保険が認められている治療法においても上記に準じて書面の同意書を得ている。

### C. 研究結果

#### B型肝炎における核酸アナログからHBs抗原低下をめざしたsequential療法の集計

ペグインターフェロンによるsequential療法を施行した症例を全国赤十字病院で集計した。全体で52例が集計され、HBs抗原が1/10に減少したのが29%、1/100に減少したのが13%、HBs抗原が検出せなくなったのが7%であった。核酸アナログ内服中にHBs抗原が1000 IU/ml未満になった例ではsequential療法によって44%の例でHBs抗原が1/10以下に低下し、HBs抗原が1000~10000 IU/mlの例ではHBs抗原1/10の低下が33%にみられた。HBs抗原10000 IU/ml以上ではHBs抗原の低下例は25%であった。全体では12週間で-0.8 log、48週間で-1.1 logの低下が観察された(図1)。



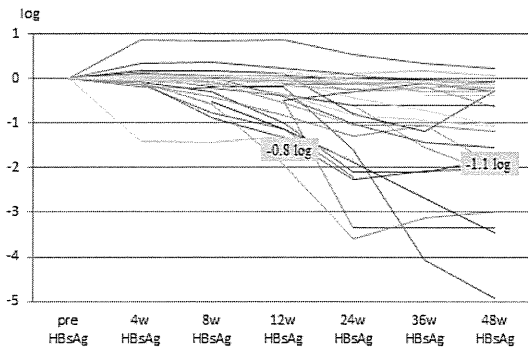


図1. Sequential療法によるHBs抗原量の変化

### C型肝炎に対するシメプレビル併用療法の効果と治療指針

C型肝炎慢性肝炎に対して、全国赤十字病院でシメプレビルとペグインターフェロン・リバビリン3剤併用療法を施行した632例の成績を集計した。初回治療例が43.7%あり、いまだ未治療であったC型肝炎慢性肝炎が多数存在することが示唆された。全体の治療成績は、治療終了4週後のHCV RNA陰性化(SVR4)は初回治療で84%、前治療再燃例で88%、前治療無効例でも55%であった。年齢と治療効果は関連がなく、前治療無効でも肝線維化程度例ではSVR4が100%であった。治療前に存在するQ80やD168などのプロテアーゼ阻害薬の耐性変異はインターフェロンが奏効する症例においては、ウイルス陰性化に関連しなかった。治療終了後に再燃する因子について解析したところ、肝線維化の進行とIL28Bがminor alleleであることが関連していた(図2)。

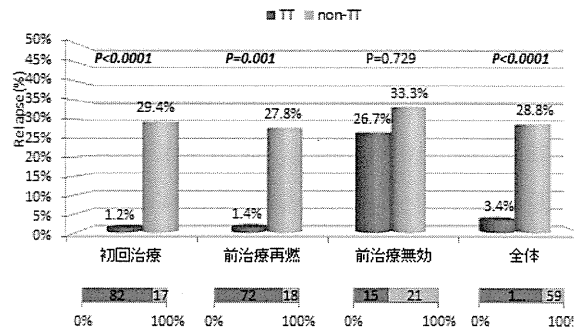


図2. 全国赤十字病院におけるシメプレビル併用療法による再燃に係る因子

そこで再燃を抑えるための診療指針について検討した。治療中はHCV RNAが陰性化しているため、再燃を抑えることによってSVRが増加すると考えられる。再燃の抑制にはペグインターフェロンとリバビリン2剤による延長治療が有効と考えられるため、図3のような治療指針を示した。

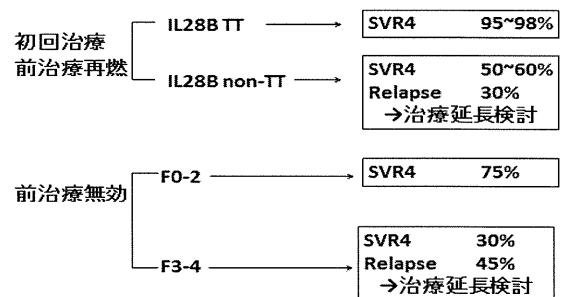


図3. シメプレビル治療による再燃を抑えるための診療指針

### 薬剤耐性変異(resistant associate variant; RAV)の全国分布

C型肝炎慢性肝炎症例の治療前の薬剤耐性変異の頻度を直接塩基解列法で解析した。NS5A阻害薬耐性であるY93H変異は19%の症例で検出され、L31M変異は2.4%に検出された。これらの症例では、治療効果が低下するだけでなく、今後のDAA製剤効果の低下に関与すると考えられる。

### C型肝炎ウイルス消失(sustained virological response; SVR)後の肝発癌関連因子と早期発見のための指針

C型肝炎慢性肝炎に対してインターフェロン治療を行

い持続的ウイルス陰性化 (SVR) が得られている 1050 例を全国赤十字病院から集積した。うち 92 例で肝発がんがみられた。5 年発がん率が 4%、10 年発がん率が 11% であった。多変量解析で分析した発がんリスク・ハザード比は、男性で 5 倍、年齢 58 歳以上で 7 倍、肝線維化 F3 以上で 3 倍であった。リスク因子を一つも有しない症例はわずか 9%、1 個有する症例は 37% で、2 個以上有する症例は半数以上の 54% であった。ウイルス排除成功例においては、極めて高い発がんリスクが残存することを広く認識する必要がある。そこで SVR 後の肝発癌予測スコアを作成して、リスクスコアを算出して、画像診断の頻度を変えて、肝癌の早期発見のための経過観察の指針を作成した (図 4)。

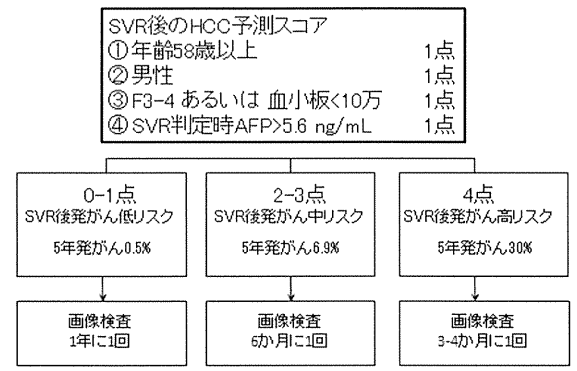


図 4. SVR 後の肝発癌早期発見のための診療指針

この診療指針をもとに医療連携パスを作成し、全国に普及していくことが重要と考えられた。

### 肝硬変の腹水例に対するトルバプタン投与に関する診療指針の作成

腹水を有する肝硬変患者に対してトルバプタンによる治療を行なった場合に、投与後の尿浸透圧の低下と尿中アクアポリン 2 (AQP2) 排泄の低下が治療効果と関連していた。トルバプタン投与 4 時間から 6 時間で尿浸透圧が低下し、尿中アクアポリン 2 排泄が低下している例が多く、これらの症例では尿

量が増加する効果がみられた。尿中アクアポリン 2 排泄の低下と、尿浸透圧の低下が関連しており、バゾプレッシン V2 受容体拮抗作用の発現とトルバプタンの効果が関連していると考えられた。これをもとに、利尿薬に抵抗性の腹水の診療指針を作成した (図 5)。

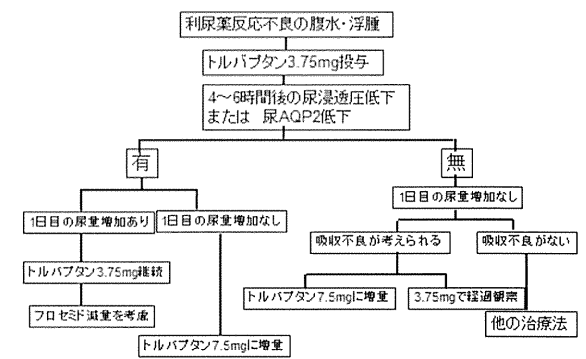


図 5. 利尿薬抵抗性の腹水を有する肝硬変に対するトルバプタンの使用の診療指針

### Intermediate Stage 肝癌に対する肝動脈塞栓術 (TACE) による治療指針にむけての成績の収集

ヨーロッパ肝臓学会およびアメリカ肝臓学会で肝癌治療の指標に用いられている BCLA 分類のステージ B の細分化と、肝動脈塞栓術 (TACE) の効果の関連をしらべた。ステージ B の Intermediate stage 肝細胞癌に対して TACE で治療を行う場合に、腫瘍径と腫瘍個数を加えた up to 7 基準によって予後が異なっていた (図 6)。Up-to-7 基準内の症例では、TACE による生命予後が良く、up-to-7 基準を超えた症例と比較すると TACE の恩恵を受けやすいと考えられた。そこで up to 7 基準を逸脱した症例で ATCE を施行する場合には他治療との併用や切り替えが必要と考えられた。

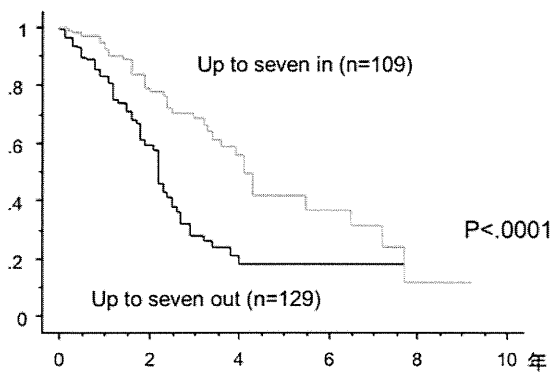


図 6. BCLC ステージ B の Intermediate stage の TACE で治療した症例の全生存率 up-to7 基準内と基準外の比較

#### D. 考察

B型肝炎に対する核酸アナログ内服中にペグインターフェロンによる sequential 療法を行った症例を集積して解析した結果、HBs 抗原量の低下が期待できる症例は、IL28B には関連がなく、HBe 抗原陰性、核酸アナログ治療 5 年以上、HBs 抗原 1000IU/L 未満であった。したがって、適応がある症例では、sequential 療法を行って HBs 抗原の低下や drug-free をめざすことが必要と考えられた。

全国赤十字病院でシメプレビル 3 剤併用療法を行った症例 632 例を集積したところ、初回治療例が 49% おり、いまだ未治療であった C 型慢性肝炎が多数存在することが示唆された。これらの症例は IFN 治療可能にもかかわらず治療を受けてこなかった患者であるため、今回の受療契機を来年度詳細に分析することで、潜在的患者の掘り起こし方策の立案の一助になると考えられる。耐性変異の影響は少なかったものの、肝線維化進展例や IL28B が minor allele の例で再燃が多く、ペグインターフェロンとリバビリン併用治療を延長して再燃を防ぎ、SVR 率を向上させるための指針を提言した。

シメプレビル併用では SVR 率が高く、また

経口抗ウイルス薬によって SVR を得る症例が増加すると考えられる。しかし、SVR を獲得した後に肝発癌をきたす症例が多い。全国赤十字病院で SVR 例と、SVR 後の肝発癌例を集計してリスク因子を分析した。その結果、SVR 後の肝発癌のリスクスコアが作成できた。これをもとに、リスク別に画像診断の頻度を高めて、肝癌の早期発見につなげるための対策を講じていくことが急務であり、連携パスを作成して普及していくことが今後の課題として重要である。

利尿剤抵抗性の腹水を有する肝硬変症例に、新しい水利尿剤であるトルバプタンを投与し、投与 4～6 時間後の尿浸透圧と低下と尿中アクアポリン 2 排泄の低下が効果の指標になっていた。これをもとに、トルバプタンを投与する際の診療指針を作成した。今後、これが妥当であるか否かについて、検証していくことが重要である。

BCLC ステージ B の Intermediate ステージ肝細胞癌に対する肝動脈塞栓術 (TACE) による治療後の生命予後について、腫瘍径と腫瘍個数を加えた up to 7 基準の妥当性を検証した。Up to 7 基準内の症例は、TACE 後の予後がよいことが判明し、TACE で治療していく場合の指標になると考えられた。これをもとに Intermediate stage 肝癌の診療指針を作成したい。

#### E. 結論

B型肝炎に対する sequential 療法の成績が集計され HBs 抗原が低下する例がみられた。C型肝炎に対してシメプレビル併用療法の効果は高かったが、肝線維化進展例や IL28B minor allele ではペグインターフェロンとリバビリンによる延長治療によって SVR が向上する可能性があり診療指針を作成した。治療前の NS5A 阻害薬に対する耐性変

異は高頻度で認められた。SVR後に肝発癌をきたす症例の特徴を解析し、リスクスコアを作成した。難治性腹水に対するトルバプタンの効果の指標として、尿浸透圧の低下と尿アクアポリン2排泄が有用で、これを用いて診療指針を作成した。中等度に進行した肝癌にTACEで治療する場合の生命予後改善が得られる症例の特徴が把握できた。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Izumi N. Efficacy of daclatasvir in hepatitis C virus. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014;12:1025-31.
- (2) Izumi N, Hayashi N, Kumada H, Okanoue T, Tsubouchi H, Yatsushashi H, Kato M, Ki R, Komada Y, Seto C, Goto S. Once-daily simeprevir with peginterferon and ribavirin for treatment-experienced HCV genotype 1-infected patients in Japan: the CONCERTO-2 and CONCERTO-3 studies. *J Gastroenterol* 2014;49:941-53.
- (3) Izumi N, Yokosuka O, Kawada N, Osaki Y, Yamamoto K, Sata M, Ishikawa H, Ueki T, Hu W, McPhee F, Hughes EA, Kumada H. Daclatasvir combined with peginterferon alfa-2a and ribavirin in Japanese patients infected with hepatitis C genotype 1. *Antivir Ther* 2014;19:501-10.
- (4) Takeda H, Nishikawa H, Osaki Y, Tsuchiya K, Joko K, Ogawa C, Taniguchi H, Orito E, Uchida Y, Izumi N; Japanese Red Cross Liver Study Group. Clinical features associated with radiological response to sorafenib in unresectable hepatocellular carcinoma: a large multicenter study in Japan. *Liver Int* 2014 in press. 2014 in press.

- (5) Nakanishi H, Kurosaki M, Tsuchiya K, Nakakuki N, Takada H, Matsuda S, Gondo K, Asano Y, Hattori N, Tamaki N, Suzuki S, Yasui Y, Hosokawa T, Itakura J, Takahashi Y, Izumi N. Effect of L-carnitine for muscle cramps in patients with liver cirrhosis. *Clin J Gast and Hepatol* in 2014 press.

##### 2. 学会発表

- (1) 黒崎雅之、泉並木他. インターフェロン反応性と耐性変異に基づくDAA治療戦略 第50回日本肝臓学会総会シンポジウム 2014年5月 東京 2014.
- (2) 折戸悦郎、泉並木他. B型慢性肝炎に対する核酸アナログ治療中の肝発癌に関与する因子についての検討 第50回日本肝臓学会総会シンポジウム 2014年5月 東京.
- (3) 玉城信治、泉並木他. B型慢性肝炎に対するペグインターフェロン単独療法、sequential療法の治療効果の検討 第50回日本肝臓学会総会シンポジウム 2014年5月 東京
- (4) 細川貴範、泉並木他. 尿浸透圧と尿中アクアポリン2排泄から評価した肝性浮腫・腹水に対するトルバプタンの効果 第50回日本肝臓学会総会ワークショップ5 2014年5月 東京.
- (5) 土谷薫、泉並木他. 腫瘍部 progenitor feature marker 発現評価による肝癌再発予測およびHCV陽性肝癌再発抑制治療の実際と新規再発予測マーカーの検討 第50回日本肝臓学会総会パネルディスカッション2. 2014年5月 東京.

#### H. 知的所得権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

## II. 委託業務成果報告

## 薬剤耐性変異からみた C 型慢性肝炎の治療方針に関する研究

担当責任者：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は直性作用型抗 HCV 薬（Direct acting antivirals: DAAs）の開発により急速に進歩した。とくに protease 阻害剤の Asunaprevir (ASV) に NS5A 阻害剤の daclatasvir (DCV) を併用する経口 2 剤治療は、わが国で初めて実用化された。しかしこれら DAA 製剤は薬剤耐性の問題があり、特に自然獲得耐性変異が存在する。そこで本研究ではこれら耐性変異と治療効果を検討し治療方針決定におよぼす影響を検討した。その結果、NS3-4 protease 阻害剤は PEG-IFN+RBV+SMV の治療効果をと関連し、治療不成功例は NS3 領域の耐性変異が出現し、これは治療前変から微量に存在したウイルス変異である可能性が示唆された。一方、NS5A 耐性変異は ASV+DCV 治療で問題となる可能性が高いが、とくに Y93H 変異は 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、測定法も含め今後薬剤耐性変異の検討が重要になると考えられた。

### A. 研究目的

C 型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法はこれまでインターフェロン（Interferon: IFN）を中心とした治療法が中心であったが、直接作用型抗 HCV 薬（Direct acting antivirals: DAAs）の開発により急速に進歩した。とくに 1b 型 HCV に対する NS3-4 protease 阻害剤の Talaprevir (TVR) や Simeprevir (SMV) を PEG-IFN やリバビリン（Ribavirin: RBV）と併用する 3 剤併用療法は極めて高い治療効果を示した。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 剤治療は、わが国で初めて実用化された。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 26 年 12 月現在は、適応症例に制限がある。一方、DAA の宿命として耐性ウイルスの問題が存在する。これは不適切な治療により薬剤耐性変異を生じるという点と、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。治療症例は、PEG-IFN+RBV+SMV 症例が 29 例、ASV+DCV 療法 36 例である。

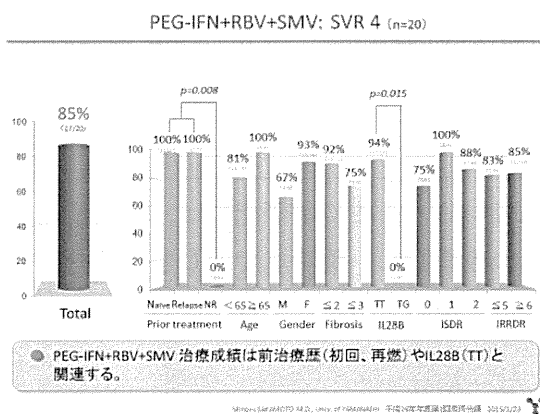
（倫理面への配慮）

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。

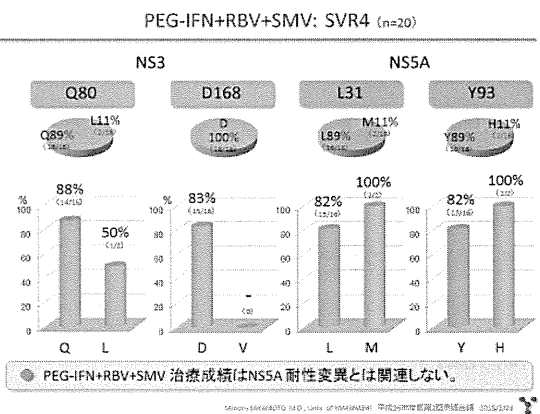
### C. 研究結果

1) PEG-IFN+RBV+SMV 29 例の SVR4 は 85% (17/20)

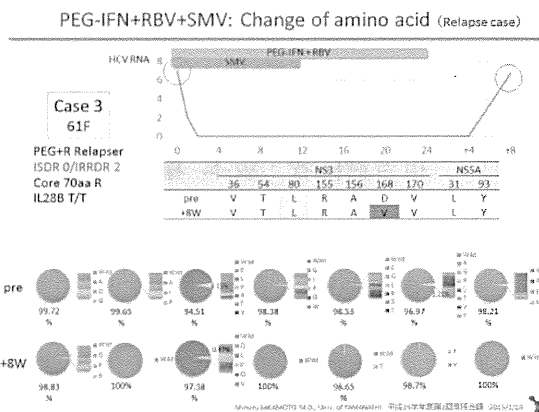
であった。治療効果規定因子につき治療因子（初回治療、前治療効果〔再燃/無効〕、宿主因子（年齢、性別、肝線維化、IL28B SNPs）、ウイルス因子（ISDR/IRRDR、コアアミノ酸変異）につき検討すると、初回治療/前治療再燃例とIL28B major type (TT) のみが有意な因子であった。すなわち、前治療無効例では1例もSVR達成しなかったが、初回治療例・前治療再燃では100%のSVR率であった (p=0.008)。またIL28B major type (TT) では、94%のSVR率であるのに対し,minor type (TGまたはGG) では1例もSVR率にならなかった (p=0.015)。



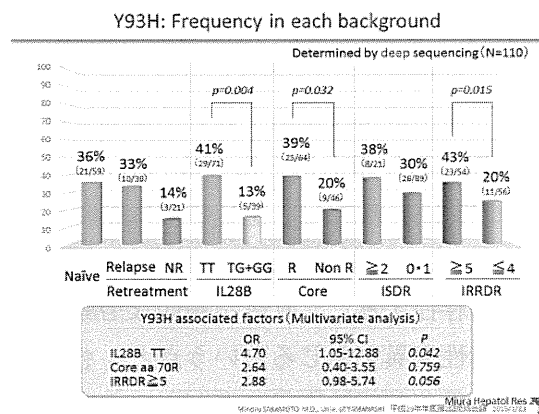
また、NS3-4 protease 阻害剤の耐性変異であるQ80L、D168Vについて検討すると、D168Vは存在せず、Q80Lは11%に認め、SVR4は50%であった。一方NS5A阻害剤の耐性変異である、L31M変異とY93H変異を有する症例は11%存在したが治療効果とは関連しなかった。



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。



2) ASV+DCV治療は36例に導入されたが、その導入理由は、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、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これをInvader法で再測定すると、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。





#### D. 考察

1b 型 HCV に対する治療法は PEG-IFN+RBV + SMV、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 daclatasvir (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り、度の測定法が臨床的に重要であるかはいまだ明らかではない。そこで今後症例を蓄積していくことも重要であると考えられる。

#### 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。

#### 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 1n 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、鈴木雄一郎、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、鈴木雄一郎、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) 鈴木雄一郎、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、鈴木雄一郎、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) 鈴木雄一朗、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、鈴木雄一朗、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) 鈴木雄一朗、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

なし