

厚生労働科学研究委託費（肝炎等克服実用化研究事業研究事業）

委託業務成果報告（分担）

アスナプレビル・ダクラタスビル療法施行例におけるウイルス遺伝子変異に関する検討の解析

業務担当者 荒井邦明 金沢大学附属病院消化器内科 助教

研究要旨: C型慢性肝炎に対するNS3/4A阻害剤アスナプレビルとNS5A阻害剤ダクラタスビルによる経口抗ウイルス療法の治療効果予測に関しては、治療開始前に両薬剤の耐性ウイルスが存在するとウイルス排除率が低下することが報告されている。しかしながら、耐性ウイルスの適切な測定法、さらに測定結果の解釈に関しては未だ明らかになっていない。今回当院にて第3相試験を実施した5例に関して耐性ウイルスの有無、および治療失敗例2例に関しては、長期の耐性ウイルスの推移を、invader法、direct sequence法において検討した。その結果以下の事が明らかとなった。①NS5A Y93H変異に関して、invader相対定量法は、direct sequence法では検出困難な10~20%のpopulationを検出可能であり、治療効果予測に有用と考えられた。②治療開始前のNS3とNS5A両部位における耐性変異ウイルスの存在は治療不成功に関わる可能性が考えられた。③治療失敗例においては治療後長期間耐性ウイルスが残存することが明らかとなった。④治療開始前のNS3耐性変異ウイルスの存在は、相当量のNS5AY93H変異を伴っていなければ、治療効果に影響しない可能性が考えられた。いずれも少数例での知見であるため、今後多数症例においてもさらなる検討を行う予定である。

A. 研究目的

2014年9月よりC型慢性肝炎に対するNS3/4A阻害剤アスナプレビルとNS5A阻害剤ダクラタスビルによる経口抗ウイルス療法が可能となった。本邦において実施された第2相、第3相の臨床試験の結果から、治療前にアスナプレビル、ダクラタスビルに対する耐性ウイルスが存在した場合、ウイルス排除率が低下することが示唆されている。そのため日本肝臓学会および厚生労働省の研究班のC型慢性肝炎のガイドラインでは治療前に耐性ウイルスの測定を行うことを強く推奨している。しかしながら、治療前に耐性ウイルスが存在してもウイルスが排除される症例も存在する。また、耐性ウイルスの測定法も複数存在し、それぞれの測定結果と治療効果との関連に関しても不明な点が多い。今回、当院において第3相試験を施行した5症例を対象として、治療前の耐性ウイルスの有無をinvader法とDirect sequence法において測定し、その治療効果との関連を検討した。また治療不成功となった2症例に関して、治療終了後のウイルス配列の推移も検討した。

B. 研究方法

金沢大学附属病院ではアスナプレビル・ダクラタスビルの第3相試験を5例実施した。これらの症例の治療前のNS3領域、NS5A領域の耐性ウイルスの有無を、invader法およびDirect sequence法において解析した。NS3領域に関し

ては、V36D、T54A/S、Q80L/R、R155K/Q/T、A156S/T/V、D168A/E/H/T/V、NS5A領域に関してはL31F/M/V、Y93Hの有無をinvader定性法（陰性、弱陽性、陽性）で検討した。NS5A Y93Hに関してはinvader相対定量法を用いて測定した。

（倫理面への配慮）

本研究は当院倫理委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

下記に症例の詳細を示す。

【症例1 59歳男性、IFN不耐容】

治療前：Invader定性法NS3 D168A/E弱陽性、invader相対定量法NS5A Y93H 14%、direct sequenceでは耐性ウイルスは認めなかった。

経過：4週目でウイルス陰性化するも10週目で陽転化。12週目ブレイクスルーと判断して治療中止となった。

中止後：中止後108週まで観察しえた。NS5A Y93Hに関しては中止後6週、12週、36週といずれも99%、58週で83%、108週で42%検出された（invader相対定量法）。NS5A L31M、NS3 D168Eに関しては、中止後6週後から108週まで陽性（invader定性法）、NS5A L31Vに関しては、108週目のみ弱陽性（invader定性）であった。

またinvader法で陽性であった変異は、全てdirect sequence法でも検出可能であった。

【症例2 28歳女、IFN不適格】

治療前：Invader 定性法にて NS3 D168A/T/V 弱陽性であった。Y93H、L31M/V に関しては invader 法（定性、相対定量法）において検出されなかった。direct sequence では耐性ウイルスは認めなかった。

経過：他院にて処方 of テグレート内服を希望。併用禁忌薬の規定により服用開始 2 週間で内服中止となった。

中止後：中止後 109 週まで観察しえた。NS5A Y93H に関しては中止後 10 週で 24%、22 週で 4%、46 週で 1%、52 週で 21%、109 週で 11%陽性であった（invader 相対定量法）。NS5A L31M に関しては、中止後 10 週、22 週、46 週で陽性、52 週、109 週で弱陽性であった（invader 定性法）。NS5A L31V に関しては中止後 10 週、22 週、46 週で陽性、52 週で弱陽性、109 週で弱陽性であった（invader 定性法）。また治療前に invader 定性法にて弱陽性であった NS3 変異に関しては、中止後 10 週で D168A/T/V 弱陽性、22 週、26 週で検出されず、52 週で D168A/T/V 弱陽性、109 週でいずれも検出されなかった（invader 定性法）。Direct sequence 法では、NS5A Y93H に関しては、invader 相対定量法にて 21%以上、また NS5A L31M/V に関しては、invader 定性法で陽性であった変異は、direct sequence 法でも検出可能であった。

【症例 3 36 歳男性、IFN 不適格】

治療前：Invader 定性法にて NS3 D168E 弱陽性であった。Direct sequence 法では変異は検出されなかった。

経過：SVR。

【症例 4 59 歳女性、IFN 不耐容】

治療前：Invader 相対定量法 NS5A Y93H 1%で検出された。NS3 T54S、Q80L が invader 定性法で陽性であった。尚 NS3 T54S、Q80L のいずれも direct sequence 法でも検出された。

経過：SVR。

【症例 5 62 歳女性、IFN 不適格】

治療前：Invader 相対定量法で NS5A Y93H 1%陽性であった。Invader 定性法にて NS3 T54S 陽性、L31M 弱陽性であった。Direct sequence 法では T54S、Q80L、L31M 陽性であった（Invader 定性法では検出されなかった Q81L が direct sequence 法では検出された。

経過：SVR。

D. 考察

1. NS5A Y93H 変異に関して、invader 相対定量法は、direct sequence 法では detection 困難な 10~20%の population を検出可能であり、治療効果予測に有用と考えられた（症例 1）。

2. 治療開始前の NS3 と NS5A 両部位における耐性変異ウイルスの存在は治療不成功に関わる可能性が考えられた（症例 1）。

3. コンプライアンスの低下による治療不成功

は、治療終了後も耐性ウイルスを誘発する可能性が考えられた（症例 2）。

4. 治療失敗例においては治療後長期間耐性ウイルスが残存することが明らかとなった（症例 1、2）

5. 治療開始前の NS3 耐性変異ウイルスの存在は、相当量の NS5AY93H 変異を伴っていなければ、治療効果に影響しない可能性が考えられた（症例 3、4、5）。

5. Direct sequence 法と invader 定性法の比較では、invader 定性法で陽性であれば direct sequence 法においても検出可能であった。

6. Invader 定性法では検出されなかったが direct sequence においてのみ検出される変異が存在した（症例 5、NS3 Q80L）。

E. 結論

5 例と少数例の検討ではあるが、再燃による治療失敗例においては invader 相対定量法において 14%の NS5A Y93H を認めた。この変異は direct sequence 法では検出されておらず、NS5A Y93H invader 相対定量法治療効果予測に有用と考えられた。また治療開始前の NS3 変異ウイルスの存在と治療効果との関連に関してはさらなる症例の蓄積が重要と考えられた。

F. 健康危険情報

健康危険情報に該当する有害事象は認められなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takamura H, Nakanuma S, Hayashi H, Tajima H, Kakinoki K, Kitahara M, Sakai S, Makino I, Nakagawara H, Miyashita T, Okamoto K, Nakamura K, Oyama K, Inokuchi M, Ninomiya I, Kitagawa H, Fushida S, Fujimura T, Onishi I, Kayahara M, Tani T, Arai K, Yamashita T, Yamashita T, Kitamura H, Ikeda H, Kaneko S, Nakanuma Y, Matsui O, Ohta T. Severe veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome after deceased-donor and living-donor liver transplantation. *Transplant Proc.* 2014 Dec, 46(10) 3523-35.

2) Terashima T, Yamashita T, Arai K, Sunagozaka H, Kitahara M, Nakagawa H, Kagaya T, Mizukoshi E, Honda M, Kaneko S. Feasibility and efficacy of hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma after sorafenib. *Hepatol Res.* 2014 Nov, 44(12) 1179-85.

3) 石田晃介, 堀井里和, 山下竜也, 荒井邦明, 山下太郎, 加賀谷尚史, 酒井佳夫, 水腰英四郎, 本多政夫, 金子周一. 副腎皮質シンチグラフィが有用であった肝 adrenal rest

- tumor の 1 例. 日本消化器病学会雑誌 2014 Oct. 111 巻 10 号 2004-2012
- 4) Terashima T, Yamashita T, Iida N, Yamashita T, Nakagawa H, Arai K, Kitamura K, Kagaya T, Sakai Y, Mizukoshi E, Honda M, Kaneko S. Blood neutrophil to lymphocyte ratio as a predictor in patients with advanced hepatocellular carcinoma treated with hepatic arterial infusion chemotherapy. *Hepatol Res.* 2014 Oct 16. [Epub ahead of print]
 - 5) Yamada K, Mizukoshi E, Sunagozaka H, Arai K, Yamashita T, Takeshita Y, Misu H, Takamura T, Kitamura S, Zen Y, Nakanuma Y, Honda M, Kaneko S. Characteristics of hepatic fatty acid compositions in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int.* 2014 Sep 15. [Epub ahead of print]
 - 6) Nakamura M, Kondo H, Tanaka A, Komori A, Ito M, Yamamoto K, Ohira H, Zeniya M, Hashimoto E, Honda M, Kaneko S, Ueno Y, Kikuchi K, Shimoda S, Harada K, Arai K, Miyake Y, Abe M, Taniyai M, Saibara T, Sakisaka S, Takikawa H, Onji M, Tsubouchi H, Nakanuma Y, Ishibashi H. Autoantibody status and histological variables influence biochemical response to treatment and long-term outcomes in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res.* 2014 Sep 14. [Epub ahead of print]
 - 7) Ooka Y, Chiba T, Ogasawara S, Arai K, Suzuki E, Tawada A, Yamashita T, Kanai F, Kaneko S, Yokosuka O. A phase I/II study of S-1 with sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Invest New Drugs.* 2014 Aug, 32(4) 723-8.
 - 8) Terashima T, Mizukoshi E, Arai K, Yamashita T, Yoshida M, Ota H, Onishi I, Kayahara M, Ohtsubo K, Kagaya T, Honda M, Kaneko S. P53, hTERT, WT-1, and VEGFR2 are the most suitable targets for cancer vaccine therapy in HLA-A24 positive pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 2014 May, 63(5) 479-89.
 - 9) Takeshita Y, Takamura T, Honda M, Kita Y, Zen Y, Kato K, Misu H, Ota T, Nakamura M, Yamada K, Sunagozaka H, Arai K, Yamashita T, Mizukoshi E, Kaneko S. The effects of ezetimibe on non-alcoholic fatty liver disease and glucose metabolism: a randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2014 May, 57(5) 878-90.
 - 10) Honda M, Shirasaki T, Shimakami T, Sakai A, Horii R, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Okada H, Murai K, Nakamura M, Mizukoshi E, Kaneko S. Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin-28B genotypes. *Hepatology.* 2014 Mar, 59(3) 828-38.
 - 11) 荒井邦明, 金子周一. 【臨床医学の展望 2014】 肝臓病学 日本医事新報 2014 Mar 4688 号 26-33
 - 12) 荒井邦明, 山下竜也, 金子周一. 肝がん: 診断と治療の進歩 IV. 診療ガイドラインの進歩 3. サーベイランスのガイドライン (治療後も含む) 日本内科学会雑誌 2014 Jan 103(1) 37-43
 - 13) 山下竜也, 荒井邦明, 金子周一. 肝がん: 診断と治療の進歩 VI. 治療法の進歩 5. 化学療法 日本内科学会雑誌 2014 Jan 103(1) 102-109,
2. 学会発表
 - 1) 荒井邦明, 山下竜也, 松田昌悟, 堀井理和, 北原征明, 砂子阪肇, 金子周一. 転移性肝腫瘍に対するラジオ波焼灼療法 (RFA) の治療成績を踏まえた RFA の適応. 第 22 回日本消化器関連学会週間 (JDDW) 神戸 2014
 - 2) 荒井邦明, 山下竜也, 清島淳, 堀井里和, 上田晃之, 北原征明, 砂子阪肇, 金子周一. 肝細胞癌に対する CelonPOWER を用いた TACE 先行 RFA. 第 33 回東京肝癌局所療法研究会 東京 2014
 - 3) 荒井邦明, 山下竜也, 金子周一. BCLC Stage C におけるソラフェニブの使い方 動注療法との使い分け、コンビネーション. 第 10 回日本肝癌分子標的治療研究会 兵庫県淡路 2014
 - 4) 荒井邦明, 山下竜也, 金子周一. Gd-EOB-DTPA 造影 MRI 低信号結節における動注 CT の活用. 第 50 回日本肝癌研究会 京都 2014
 - 5) 荒井邦明, 堀井里和, 北原征明, 砂子阪肇, 山下竜也, 金子周一. CAP (controlled attenuation parameter) による肝内脂肪蓄積量の定量化. 第 50 回日本肝臓学会総会 東京 2014
 - 6) 荒井邦明, 堀井里和, 北原征明, 砂子阪肇, 山下竜也, 金子周一. フィブロスキャンによる慢性肝疾患の肝予備能の推定. 第 87 回日本超音波医学会 横浜 2014
 - 7) 荒井邦明, 山下竜也, 金子周一. Gd-EOB-DTPA 造影 MRI 低信号結節における動注 CT の診断意義. 第 100 回消化器病学会総会 東京 2014
- 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
特記事項なし

厚生労働科学研究委託費（肝炎等克服実用化研究事業研究事業）

委託業務成果報告（分担）

DCV/ASV 療法の薬剤耐性からみた HCV dynamics

業務担当者 狩野吉康 札幌厚生病院 肝臓内科 副院長

研究要旨：Daclatasvir/Asunaprevir 併用療法時の抗ウイルス効果を Direct sequence (DS) 法 PCR-Invader (PI) 法 (BML) の二法で比較した。DAA 未治療の 49 例 (DSV/ASV 治験参加例) と 194 例 (非治験例) では PI 法で薬剤耐性変異を測定、治験例のうちの 35 例では DS 法で薬剤耐性変異を測定した。DS 法での薬剤耐性は D168 1 例 (3.0%)、L31 0 例 (0%)、Y93 6 例 (18.2%)、PI 法では D168 陽性 9 例 (4.6%)、弱陽性 94 例 (48.5%)、L31 陽性 6 例 (3.1%)、弱陽性 8 例 (4.1%)、Y93 陽性 44 例 (22.7%)、弱陽性 65 例 (33.5%) であった。DCV/ASV 治療例の薬剤耐性の有無別の SVR 達成率は DS 法では D168 耐性変異 有：100% (N=1)、無：91.2% (N=34)、Y93 耐性変異 有：71.4% (N=7)、無：95.6% (N=23)、PI 法では D168 耐性変異 弱陽性：88.9% (N=9)、無：95.8% (N=24)、Y93 耐性変異 陽性：66.7% (N=6)、弱陽性：100% (N=7)、無 95.2%

(N=21) であり、いずれの測定法でも薬剤耐性変異の無い症例では高率に SVR が得られていた。PI 法での弱陽性の治療効果に対する関与は少ないものと思われた。実臨床例で D168, L31, Y93 の弱陽性有無別の HCV dynamics 検討を行ったが、弱陽性の有無、弱陽性の数ともに dynamics に対する影響を認めなかった。以上より弱陽性と判定される薬剤耐性の DCV/ASV 治療効果に対する影響は軽微と考えられた。

A. 研究目的

今後の C 型肝炎治療は DAA 併用療法が主役になって行くと思われるが、DAA による治療の最も大きな障害は薬剤耐性ウイルスの存在である。すなわち治療に用いる DAA に対する耐性 HCV が存在すると治療効果が減弱することになる。現状では薬剤耐性 HCV に対する検査系の評価は定まっておらず、また検査の結果がどの程度治療効果を左右するのかも明らかになっていない。そのため、二つの検査系、Direct sequence (DI) 法、PCR-Invader (PI) 法を用いて Daclatasvir/Asunaprevir 併用療法の効果とベースラインの耐性ウイルスの関連を検討した。

B. 研究方法

DAA 未治療の 49 例 (DSV/ASV 治験参加例) と 194 例 (非治験例) を対象とした。治験例は DCV/ASV の第 2 相および第 3 相試験参加者で、すでに最終的な治療効果 (SVR/非 SVR) が確定している症例である。非治験例は、DCV/ASV 治療導入を念頭に HCV 薬剤耐性変異を測定した症例である。治験参加例においては、二つの測定法別に薬剤耐性の有無別に治療効果との関連を検討した。検討した耐性部位は NS 3 領域の D168、NS 5 A 領域の L31 と Y93 である。

PI 法では変異ウイルスのみ、或いは変異ウイルスと野生型ウイルスが混在して検出された症例を

薬剤耐性有り、野生型ウイルスのみの症例を薬剤耐性無しと判定した。PI 法では NS3、NS5A 領域のアミノ酸変異を定性的に解析し、変異型の存在比率から 20%以上を陽性、20%未満を弱陽性と陰性に判定した。

治験症例では D168, L31, Y93 の耐性変異の存在と DCV/ASV 併用療法の効果の関連を二つの測定法で検討した。非治験例では二つの測定法での各々部位の耐性変異の頻度を検討した。また DSV/ASV 併用療法導入例を対象として、PI 法にて弱陽性と判定された症例での HCV dynamics を検討した。

(倫理面への配慮)

治験参加例においては、治験参加の同意を得ている。また全ての症例において画像診断を含む検査データのデータベースへの登録、血清の保存、およびそれらのデータの医学研究への使用の同意を得ている。

個人情報の管理に当たっては使用する PC、データベースにパスワードを設定し、情報の流失をブロックしている。

C. 研究結果

研究成果は、薬剤耐性ウイルスの測定が可能になった今年度の成果である。

① DS 法および PI 法による DAA 未使用例の NS3、NS 5 A 薬剤耐性変異の存在比率

DS法での薬剤耐性はD168 1例(3.0%)、L31 0例(0%)、Y93 6例(18.2%)、PI法ではD168陽性9例(4.6%)、弱陽性94例(48.5%)、L31陽性6例(3.1%)、弱陽性8例(4.1%)、Y93陽性44例(22.7%)、弱陽性65例(33.5%)であった。PI法の陽性例で薬剤耐性のみで比較してもPI法で耐性ウイルスの存在が高率であった。(図1)

② 薬剤耐性の有無と治療効果 (SVR/非 SVR)

1) DS法による薬剤耐性変異と治療効果

DS法ではL31の耐性変異例は認めなかった。耐性変異の有無別のSVR率はD168変異有り100%(N=1)、無し91.2%(N=34)であった。Y93H変異有り71.4%(N=7)、無し95.6%(N=23)であった。D168耐性変異なしで非SVRとなった2例はいずれもY93Hを有していた。(図2)

PI法ではSVR率はD168耐性変異弱陽性:88.9%(N=9)、無:95.8%(N=24)、Y93耐性変異陽性:66.7%(N=6)、弱陽性:100%(N=7)、無95.2%(N=21)であった。(図3)いずれの測定法においても薬剤耐性変異の無い症例では高率にSVRが得られていた。PI法での弱陽性例においても高率にSVRが得られており、今回の治験全体のSVR率を上回っていた。

③ PI法弱陽性例のHCV dynamics

PI法弱陽性の臨床的意義を検討する目的で当院の治験参加例を対象に、D168, L31, Y93の弱陽性数(0, 1, 2, 3)とY93H耐性変異陽性に分け、HCV dynamics、HCV RNA陰性化時期への影響を検討した。治験では治療開始2週目までにHCV RNAの陰性化した症例では、全例がSVRとなったため治療2週間目の陰性化率で比較を行った。図4に弱陽性数別のHCV RNAの減衰(平均値)と陰性化率を示す。HCV RNAの減衰に差を認めず、治療2週間目のHCV RNAの陰性化率にも弱陽性の有無、さらに弱陽性数にも一定の傾向を認めなかった。

D. 考察

2種類の薬剤耐性変異測定系を比較検討したが、PI法でやや薬剤耐性が高率に検出された。薬剤耐性変異とDCV/ASV療法のSVR率の検討ではD168, L31耐性例は少数であり検討が出来なかったが、Y93変異の検討ではDS法、PI法共に同様の傾向を示した。PI法では弱陽性と判定されるグレーゾーンの症例が存在するが、これらの症例のSVR率は治験全体のSVR率と差が無く、HCV dynamicsで見ても薬剤耐性ウイルスを持たない症例と差が無く、PI法での弱陽性の臨床的意義はごく軽微と考えられた。

E. 結論

DS法、PI法ともにY93Hの耐性変異検出例ではDCV/ASV併用療法の治療効果は大きく減弱し、これらの方法による耐性変異の検出は、DCV/ASV併用療法の導入の可否の決定に有用である。PI法で検出される弱陽性の臨床的意義は少ないと思われる。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 狩野吉康、豊田成司. 抗ウイルス療法の副作用と対策. C型肝炎治療-DAAsで広がる治療対象 - 医療ジャーナル社 2014年 133-147
- 2) 狩野吉康. Daclatasvir(NS5A) + Asunaprevir(PI)併用療法時の薬剤耐性変異の影響と対策. 肝胆膵 2013年 67巻 935-942
- 3) Karino Y, Toyota J, Ikeda K, Suzuki F, Chayama K, Kawakami Y, Ishikawa H, Watanabe H, Hernandez D, Yu F, McPhee F, Kumada H. Characterization of virologic escape in hepatitis C virus genotype 1b patients treated with the direct-acting antivirals daclatasvir and asunaprevir. J Hepatol. 2013 Apr;58(4):646-54.

2. 学会発表

- 1) 山口将功, 小関至, 豊川揚也, 木村陸海, 荒川智宏, 中島知明, 桑田靖昭, 佐藤隆啓, 大村卓味, 髭修平, 狩野吉康, 豊田成司. daclatasvir/asunaprevir 併用療法非著効例に対してsimeprevirを用いた3剤併用療法を行った2例の検討. 日本肝臓学会東部会. 2014年東京
- 2) Yoshiyasu Karino, Shuhei Hige, Tomoaki Nakajima, Mutsumi Kimura, Tomohiro Arakawa, Yasuaki Kuwata, Takahiro Sato, Takumi Ohmura, Joji Toyota. Analysis of the liver function and hepatic reserve improvement effect, and liver carcinogenesis suppressant effect of the Daclatasvir/Asunaprevir combination therapy. 2014AASLD, Boston
- 3) Yoshiyasu Karino, Itaru Ozeki, Shuhei Hige. Analysis of the liver function and hepatic reserve improvement effect, and liver carcinogenesis restraint effect of the Daclatasvir Plus Asunaprevir combination therapy. 2014年日本肝臓学会大会. 神戸
- 4) Karino Y, Chayama K, Suzuki Y, Ikeda K, Toyota J, Kawakami Y, Ido A, Yamamoto K, Takaguchi K, Miyagoshi H, Eley T, McPhee F, Hu W, Ishikawa H, Hughes EA, Kumada H. On - Treatment Predictors of Response to Daclatasvir (DCV) in Combination With Asunaprevir (ASV) in Japanese Patients With Genotype 1b Infection. 2014 APASL, Brisbane

H. 知的財産権の出願・登録状況 (※予定を含む)

1. 特許取得：無し
2. 実用新案登録：無し
3. その他：無し

厚生労働科学研究委託費（肝炎等克服実用化研究事業研究事業）

委託業務成果報告（分担）

C型肝炎の抗ウイルス治療法選択を目的とした新規検査系に関する研究

業務担当者 平賀伸彦 広島大学病院消化器・代謝内科 特任助教

研究要旨：C型慢性肝炎患者に対する Direct-acting antiviral agents (DAAs)の組み合わせた IFN フリー治療では薬剤耐性変異の存在によって治療効果が影響される。従来の薬剤耐性変異検出は PCR-direct sequence 法や存在比率は次世代シーケンサーによって行われてきたが時間が掛かり費用も高額となることが問題であった。今回開発された Invader assay 法は、薬剤耐性検出をより簡便に安価に測定できるが、有用性の確認が必要であった。そこで、当院で DAA 治療の行われた 31 例を対象に Invader assay 法による薬剤耐性の検出を行った。PCR-direct sequence 法で検出した NS3 および NS5A 薬剤耐性変異症例は、Invader assay 法でも全例検出した。また、NS5A 薬剤耐性変異の耐性ウイルス量（混在比）は次世代シーケンサー法の結果と Invader assay 法の結果は強い相関を認めた。さらに、Invader assay 法による SVR の正診率は 90%であった。これらの結果から、C型慢性肝炎患者の DAA 治療前に Invader assay 法による薬剤耐性変異の検出は有用であることが示された。

A. 研究目的

近年 C 型肝炎の治療としてウイルス蛋白を直接阻害する Direct acting antivirals (DAAs) を組み合わせた IFN フリーの治療によってウイルス排除が可能となった。一方 IFN フリーの治療では、NS3、NS5A 領域の治療前における遺伝子変異の存在が DAAs の治療効果を予測する因子となることが報告されている。従って、これらの領域の遺伝子変異を治療前に把握することは、治療効果の予測を可能にするとともに治療法の選択に必要である。しかし現在の遺伝子測定は、主として PCR-direct sequence 法で行われているが、検査費用が高いことや測定に時間がかかること、少量の変異ウイルスを検出できないことから、一般臨床での使用に問題がある。本研究は、耐性ウイルスの測定系として、より簡便で定量も可能である Invader assay 法を行い、従来方法の PCR-direct sequence 法、更に次世代シーケンサー法による解析を比較し有用性を検討する。

B. 研究方法

DAA 併用療法を行い、治療効果判定が可能な C 型肝炎の 31 例の保存血清から HCV を抽出し、NS3 および NS5A 薬剤耐性変異について Invader assay 法、PCR-direct sequence 法、次世代シーケンサー法による解析を行った。

得られた Invader assay 法の結果と PCR-direct sequence 法の結果を比較し、耐性変異検出の有用性を検討した。

更に、耐性ウイルス量（混在比）の検出について、Invader assay 法の結果と次世代シーケンサーによる結果を比較検討した。

最後に、Invader assay 法の結果と治療効果について検討した。

（倫理面への配慮）

過去に保存された血清を用いる為、対象者に対して予測される身体的な危険・不利益はないと考えられる。試料の匿名化、やり取りの際には個人情報流出することがないように十分配慮する。

C. 研究結果

1) Invader assay 法と PCR-direct sequence 法の変異検出の比較

NS3 耐性変異について：PCR-direct sequence 法にて 31 例中 1 例に耐性変異を認め、Invader assay 法にても検出した。

NS5A 耐性変異について：PCR-direct sequence 法にて 8 例の変異型を認めたが、耐性変異 Y93H は 7 例に認め、Invader assay 法にても同様に Y93H 変異症例を 7 例検出した。のこり 1 例は Y93F であり薬剤耐性変異ではなく、Y93H を検出する Invader assay 法では陰性であった。

2) 耐性ウイルス量（混在比）について次世代シーケンサー法と Invader assay 法との比較

NS5A 耐性変異の Y93H 変異の耐性ウイルス量について Y93F 変異症例を除いた 30 例にて次世代シーケンサー法による結果と Invader assay 法による存在比率を比較検討したところ、相関係数は $R^2=0.899$ であった。

3) Invader assay 法の結果と治療効果判定

Invader assay による陽性 vs 陰性/弱陽性による判定による SVR 症例と非 SVR 症例での感度・特異度・正診率は、95%、40%、77%であった。

Invader assay 法による存在比率を 50%未満

と以上の2群に分けた場合、SVR 症例と非 SVR 症例での感度・特異度・正診率は、93%、75%、90%であった。

D. 考察

NS3 および NS5A 薬剤耐性変異の検出は、既存の測定法である PCR-direct sequence 法と Invader assay 法は同等であり、耐性ウイルス量（混在比）の検出も、次世代シーケンサー法の結果と Invader assay 法の結果は強い相関を認めたことから、耐性変異検出についてより簡便で安価である Invader assay 法が有用であると思われた。また、治療効果判定においても Invader assay 法による正診率は 90%であり、治療方針の決定に有用であると思われた。

E. 結論

Invader assay 法による薬剤耐性変異の検出に有用である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Murakami E, Imamura M, Hayes CN, Abe H, Hiraga N, Honda Y, Ono A, Kosaka K, Kawaoka T, Tsuge M, Aikata H, Takahashi S, Miki D, Ochi H, Matsui H, Kanai A, Inaba T, McPhee F, Chayama K. Ultradeep sequencing study of chronic hepatitis C virus genotype 1 infection in patients treated with daclatasvir, peginterferon, and ribavirin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):2105-12.

2. 学会発表

1) ヒト肝細胞キメラマウスを用いた HCV 感染阻害薬の検討、第 50 回 日本肝臓学会総会、東京、2014

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

厚生労働科学研究委託費（肝炎等克服実用化研究事業研究事業）

委託業務成果報告（分担）

DCV/ASV 療法における薬剤耐性と治療効果

業務担当者 瀬崎ひとみ 国家公務員共済組合連合会虎の門病院 肝臓センター

研究要旨；Genotype 1b 型、高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する DCV+ASV 併用療法は、国内第 2/3 相試験の結果より、NS5A-Y93 耐性変異の検出は Direct sequence 法、Invader 定性法および変異相対定量法いずれも治療効果とよく相関することがわかった。一方、Invader assay 法の NS3-D168 定性法での弱陽性例は陰性例とほぼ同等の高い治療効果が得られており、耐性検出の有無で治療効果の予測は困難であると考えられる。また NS5A-L31 定性における変異陽性例は、同時に NS5A-Y93 の変異の有無が治療効果に影響する可能性があると思われるが、変異陽性例が少ないため症例数が増えた段階で再評価を要するものと考えられた。実臨床における DCV+ASV 併用療法では、Invader 法の変異相対定量法で変異のある症例が 7%含まれていた。治療開始後 12 週目までの早期の HCV RNA 陰性化率は、Invader 変異相対定量法での変異型比率が治療早期の陰性化率に関係する傾向があったが、最終治療効果との関係について今後評価していく必要がある。一方で、Invader 法により耐性の有無を検出不能であった症例も 14%含まれており、これらの症例においては direct sequence 法での再評価が望ましく、今後最終治療効果との関連を評価する必要がある。

A. 研究目的

2014 年 7 月に本邦において初となる IFN-free の経口抗ウイルス剤であるダクラタスビル(DCV)とアスナプレビル(ASV)2 剤併用療法が製造販売承認された。これにより、より多くの症例に HCV 排除を目指した治療の道が開かれることとなった。一方で、これらの薬剤に耐性を有するウイルスに対しては治療効果が低下することもわかっている。しかしながら、薬剤耐性の検出法は各種存在し、いずれの方法がより臨床に即し、治療成績と相関するかは明らかにされていない。そこで、各検査法による薬剤耐性の検出頻度と DCV/ASV 併用療法の治療成績との関係を検討することを目的とした。

B. 研究方法

当院において、Genotype 1b 型、高ウイルス量の C 型慢性肝炎を対象とした国内第 2/3 相試験を行った 63 例で、治療開始前の HCV NS3 領域

の aa 168 番(NS3-D168)、NS5A 領域の aa31 番(NS5A-L31)、aa93 番(NS5A-Y93)の薬剤耐性変異を direct sequence 法および Invader assay 法定性法を用いて測定した。NS5A-Y93 については、変異相対定量法にて変異相対比率も算出した。各種検査法の耐性検出率を比較し、最終治療効果(SVR 率)との関係と検討した。

さらに、DCV/ASV 併用療法の実臨床において、NS5A-Y93 の耐性変異の有無を Invader 法の変異相対定量法にて測定した 359 例で、変異型比率の分布を検討し、開始後 12 週目までの早期 HCV RNA 陰性化率を検討した。
(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、副作用、患者に関する個人情報等の守秘義務、患者の権利保護等について説明し、同意を文章または口頭にて取得し研究を行った。

C. 研究結果

(1) DCV+ASV 併用療法国内第 2/3 相試験における薬剤耐性から見た治療成績

当院で治験を行ったのは 63 例であり、男性 23 例、女性 40 例、年齢中央値は 65 歳であった。Direct sequence 法で薬剤耐性変異を測定すると、NS3-D168 の変異が 1 例 1.6%、NS5A-L31 の変異が 1 例 1.6%、NS5A-Y93 の変異は minor な変異を有する(Y93Y/h)のが 11 例 17.5%、major な変異を有する(Y93H/y、Y93H)のは 8 例 12.5%であった。

治療時期別の HCV RNA 陰性化率を Y93 の変異の有無別に検討すると、治療中の陰性化率は Y93 変異の有無によらず同等であった。しかしながら、終了後 24 週の SVR 率は全体が 77.8% (49/63)の内 Y93 変異がなければ 93%(41/44)であったのに対し、Y93Y/h は 64%(7/11)、Y93H/y および Y93H は 13%(1/8)という結果であった。

次に、治療前の薬剤耐性変異の頻度を Invader 法で測定し、direct sequence 法と比較した。NS3-D168 は Invader 法で陽性と判定された症例は direct sequence 法でも major peak で陽性であった。一方、弱陽性と判定された症例は 16 例 25.4%にみられたが、いずれも direct sequence 法では耐性を検出されなかった。NS5A-L31 は Invader 法で陽性と判定されたのは 2 例 3.2%であり、この内 1 例は direct sequence 法で変異が major peak で検出され、もう 1 例は minor peak で検出された。弱陽性と判定された 2 例は、direct sequence 法では検出されなかった。

NS5A-Y93 は、Invader 定性法で陰性が 48 例 76.2%、陽性が 9 例 14.3%、弱陽性が 6 例 9.5%であった。Direct sequence 法と比較すると、陰性であった症例のうち 2 例が major peak で、3 例が minor peak で変異が検出された。一方、弱陽性であった症例のうち 1 例が direct sequence 法で耐性を検出されなかった。NS5A-Y93 の変異相対比率で見ると、1%未満が 44 例 69.8%、1-19%が 6 例 9.5%、20-98%が 13 例 20.7%であり、99%以上の変異を認めた症例はなかった。

Direct sequence と比較すると、変異比率が 1%未満の症例のうち 1 例が minor peak で変異を検出され、一方 1-19%の変異を検出された症例のうち 1 例が direct sequence では検出されなかった。

続いて、治療開始前にいずれかの測定法で薬剤耐性が検出された症例の治療効果を検討した。まず、direct sequence 法では耐性変異は陰性であったが、Invader assay 法にて耐性が検出された症例 15 例の内、NS3-D168 が Invader 定性で単独弱陽性の 13 例、NS5A-Y93 が単独弱陽性であった 1 例は SVR となった。Y93 の変異型比率が 5%検出された 1 例が再燃した。次に direct sequence 法にていずれかの部位に minor peak の変異を検出された症例 12 例では、NS5A-Y93Y/h の 11 例のうち、Invader 定性で陰性であった症例 3 例は SVR、弱陽性であった症例は 4 例中 3 例が SVR である一方、定性陽性と判定された症例は 4 例中、変異型比率 36%の症例と 69%の症例 2 例が non SVR であった。NS5A-L31L/m の 1 例は Invader 定性では陽性と判定されたが SVR であった。Direct sequence 法でいずれかの部位に major peak で耐性を検出された症例 9 例は、NS3-D168 が direct sequence でも Invader 法でも陽性と判定された 1 例は再燃し、NS5A-Y93H/y あるいは Y93H の 8 例は、Invader 定性陰性で変異型比率 65%検出の 1 例のみが SVR となった他は、全例 non SVR であった。NS5A-L31 については単独で major 耐性を検出された症例はなく NS5A-Y93 とともに陽性の 1 例が non SVR であった。

以上より、Invader 法による各薬剤耐性の有無と SVR 率についてまとめると、NS3-D163 の変異の有無による SVR 率は、陰性例 80%(36/45)と弱陽性例 81%(13/16)と同等であり、同時に NS5A に耐性を検出された症例を除外すると、陰性例 94%(30/32)、弱陽性例 100%(13/13)であった。Invader 法で陽性の 1 例は direct sequence でも陽性であり、non SVR であった。NS5A-L31 では、Invader 定性で陰性例は 81%(47/58)、弱陽性、陽性例はいずれも 50%(1/2)であった。この non

SVRの2例とも同時にNS5A-Y93がInvader法で陽性およびdirect sequence法でmajorの変異を検出されていた。NS5A-Y93では、Invader定性法で陰性であれば94%(44/47)がSVRとなったが、弱陽性では50%(3/6)、陽性では22%(2/9)とSVR率は低下した。変異相対定量法でも、1%未満は98%(42/43)がSVRとなったのに対し、1-19%は67%(4/6)、20-98%は23%(3/13)と低下した。

(2) DCV+ASV併用療法の実臨床における早期治療効果とNS5A-Y93耐性変異

当院における実臨床で治療を導入した症例の内NS5A-Y93の耐性変異の有無をInvader法の変異相対定量法にて測定したのは359例であり、男性150例、女性209例、年齢中央値は71歳であった。肝硬変症例が158例44%含まれていた。NS5A-Y93の変異相対定量法における変異の分布は、1%未満が282例80%、1-19%が13例3%、20-98%が10例3%、99%以上が4例1%であり、耐性の有無を検出不能の症例は50例14%であった。

治療開始後12週までのHCV RNA陰性化率をInvader法の変異相対定量により変異が1%未満、1-19%、20%以上の3群で分けて検討すると、それぞれ4週目は84%、75%、62%、8週目は99%、100%、88%と変異のある症例で陰性化時期が遅れる傾向にあったが、12週目では3群とも100%と同等であった。

D. 考察

Genotype 1b型、高ウイルス量のC型慢性肝炎に対するDCV+ASV併用療法は、国内第2/3相試験の結果より、Direct sequence法による薬剤耐性の検出は治療効果とよく相関することがわかった。一方、Invader assay法のNS3-D168定性法での弱陽性例は陰性例とほぼ同等の高い治療効果が得られており、耐性検出の有無で治療効果の予測は困難であると考えられる。またNS5A-L31定性における変異陽性例は、同時にNS5A-Y93の変異の有無が治療効果に影響する可能性があると思われるが、変異陽性例が少な

いため、症例数が増えた段階で再評価を要するものとする。NS5A-Y93変異は、定性法でも変異相対定量法でも治療効果とよく相関しており、治療効果予測に有用であると思われる。

また、実臨床におけるDCV+ASV併用療法では、Invader法の変異相対定量法で変異のある症例が7%含まれていた。治療開始後12週目までの早期のHCV RNA陰性化率は、Invader変異相対定量法での変異型比率が治療早期の陰性化率に関係する傾向があったが、最終治療効果との関係について、今後評価していく必要がある。一方で、Invader法により耐性の有無を検出不能であった症例も14%含まれていた。このInvader法で耐性を評価できない症例についてはdirect sequence法での再評価が望ましく、こういった症例についても今後最終治療効果との関連を評価する必要がある。

E. 結論

DCV/ASV併用療法において、治療開始前にInvader定性法で検出された耐性変異は、NS3-D168に関しては治療効果と相関がなかったが、NS5A-Y93については単独変異でも治療効果と相関した。今後は、Invader変異相対定量法によるY93変異の測定不能症例において、他の耐性検出法での検討を行う必要があるとともに、実臨床での薬剤耐性変異の有無による最終治療効果との関係を検討していく必要がある。

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) Akiyama S, Ikeda K, Sezaki H, Fukushima T, Sorin Y, Kawamura Y, Saitoh S, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. Therapeutic effects of short- and intermediate-term tolvaptan

- administration for refractory ascites in patients with advanced liver cirrhosis. *Hepatol Res.* 2014 [Epub ahead of print]
- 2) Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Fukushima T, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. HLA-DP genes polymorphisms associate with hepatitis B surface antigen kinetics and seroclearance during nucleot(s)ide analogue therapy. *Liver Int.* 2014 [Epub ahead of print]
 - 3) Suzuki F, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Mineta R, Suzuki Y, Kumada H. Virologic breakthrough in a patient with chronic hepatitis B by combination treatment with tenofovir disoproxil fumarate and entecavir. *Drug Des Devel Ther.* 2014 [Epub ahead of print]
 - 4) Ikeda K, Kawamura Y, Kobayashi M, Fukushima T, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. Prevention of disease progression with anti-inflammatory therapy in patients with HCV-related cirrhosis: a Markov model. *Oncology.* 2014;86(5-6):295-302.
 - 5) Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Evolution of simeprevir-resistant variants over time by ultra-deep sequencing in HCV genotype 1b. *J Med Virol.* 2014 Aug;86(8):1314-22.
 - 6) Sezaki H, Suzuki F, Hosaka T, Akuta N, Fukushima T, Hara T, Kawamura Y, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Effectiveness and safety of reduced-dose telaprevir-based triple therapy in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res.* 2014 Oct;44(10):E163-71.
 - 7) Akuta N, Suzuki F, Fukushima T, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Hara T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Utility of detection of telaprevir-resistant variants for prediction of efficacy of treatment of hepatitis C virus genotype 1 infection. *J Clin Microbiol.* 2014 Jan;52(1):193-200.
 - 8) Arase Y, Kobayashi M, Kawamura Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Sezaki H, Saito S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Kobayashi T. Impact of virus clearance for the development of hemorrhagic stroke in chronic hepatitis C. *J Med Virol.* 2014 Jan;86(1):169-75.
 - 9) Akuta N, Suzuki F, Kobayashi M, Hara T, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Correlation between hepatitis B virus surface antigen level and alpha-fetoprotein in patients free of hepatocellular carcinoma or severe hepatitis. *J Med Virol.* 2014 Jan;86(1):131-8.
 - 10) Kawamura Y, Ikeda K, Fukushima T, Hara T, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Sezaki H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. Potential of a no-touch pincer ablation procedure for small hepatocellular carcinoma that uses a multipolar radiofrequency ablation system: An experimental animal study. *Hepatol Res.* 2014 Nov;44(12):1234-40.
 - 11) Kawamura Y, Ikeda K, Fukushima T, Seko Y, Hara T, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki

Y, Arase Y, Kumada H. What Is the Most Effective Drug Delivery System for Cisplatin during the Treatment of Hepatic Tumors with Single-Session Transcatheter Chemotherapy? A Pilot Study. *Gut Liver*. 2013 Sep;7(5):576-84.

- 12) Suzuki F, Hosaka T, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Hara T, Kawamura Y, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Mineta R, Kumada H. Long-term efficacy and emergence of multidrug resistance in patients with lamivudine-refractory chronic hepatitis B treated by combination therapy with adefovir plus lamivudine. *J Gastroenterol*. 2014 Jun;49(6):1094-104.
- 13) Kobayashi M, Hosaka T, Suzuki F, Akuta N, Sezaki H, Suzuki Y, Kawamura Y, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Miyakawa Y, Kumada H. Seroclearance rate of hepatitis B surface antigen in 2,112 patients with chronic hepatitis in Japan during long-term follow-up. *J Gastroenterol*. 2014 Mar;49(3):538-46.
- 14) Tanaka M, Suzuki F, Seko Y, Hara T, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H. Renal dysfunction and hypophosphatemia during long-term lamivudine plus adefovir dipivoxil therapy in patients with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol*. 2014 Mar;49(3):470-80.
- 2) 福島泰斗、池田健次、宋林祐史、川村祐介、小林正宏、斎藤聡、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、鈴木文孝、鈴木義之、荒瀬康司、熊田博光. 肝動脈塞栓材 DC bead に対するエピルビシン含浸に関する検討、第 100 回日本消化器病学会総会、東京、2014.4.24.
- 3) 小林正宏、宋林祐史、福島泰斗、川村祐介、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、鈴木文孝、鈴木義之、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光. AFP、FIB-4 index を用いた C 型肝疾患よりの発癌リスクの層別化、第 100 回日本消化器病学会総会、東京、2014.4.25.
- 4) 川村祐介、荒瀬康司、池田健次、宋林祐史、福島泰斗、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、小林正宏、斎藤聡、鈴木文孝、鈴木義之、熊田博光. 病勢進行型 NASH の予測に有用な因子の検討、第 100 回日本消化器病学会総会、東京、2014.4.26.
- 5) 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、宋林祐史、田中崇、福島泰斗、川村祐介、保坂哲也、芥田憲夫、小林正宏、鈴木義之、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光. C 型慢性肝炎に対するシメプレビルおよびテラプレビル併用療法の効果と安全性の比較、第 50 回日本肝臓学会総会、東京、2014.5.29.
- 6) 川村祐介、池田健次、宋林祐史、福島泰斗、保坂哲也、小林正宏、斎藤聡、瀬崎ひとみ、芥田憲夫、鈴木文孝、鈴木義之、荒瀬康司、熊田博光. 経皮的ラジオ波焼灼療法における局所制御向上のための標的肝癌結節の選別、第 50 回日本肝臓学会総会、東京、2014.5.29.

2. 学会発表

- 1) 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、熊田博光. C 型慢性肝炎に対する DAAs 併用療法の治療効果、第 100 回日本消化器病学会総会、東京、2014.4.24.
- 7) 斎藤聡、川村祐介、井上雅文、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、小林正宏、鈴木文孝、鈴木義之、荒瀬康司、池田健次、熊田博光. 超音波および MRI 検査による 4 種類の肝脂肪定量法の比較検討、第 50

- 回日本肝臓学会総会、東京、2014.5.29.
- 8) 小林万利子、鈴木文孝、芥田憲夫、鈴木義之、保坂哲也、瀬崎ひとみ、川村祐介、小林正宏、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光.感染経路別にみた長期観察 B 型慢性肝疾患の HBs 抗原量の変化と予後、第 50 回日本肝臓学会総会、東京、2014.5.29.
 - 9) 小林正宏、鈴木文孝、福島泰斗、川村祐介、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、鈴木義之、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光.経口 DAA 製剤による SVR 達成とその後の発癌抑制効果に関する検討、第 50 回日本肝臓学会総会、東京、2014.5.30.
 - 10) 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、熊田博光.線維化マーカーからみた C 型慢性肝疾患に対する DAAs 併用療法の治療効果、第 18 回日本肝臓学会大会、神戸、2014.10.23.
 - 11) 福島泰斗、池田健次、宋林祐史、川村祐介、小林正宏、斎藤聡、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、鈴木文孝、鈴木義之、荒瀬康司、熊田博光.肝細胞癌に対する DEB-TACE の初期使用経験、第 18 回日本肝臓学会大会、神戸、2014.10.23.
 - 12) 瀬崎ひとみ、鈴木文孝、熊田博光.ダクラタスビル+アスナプレビル 2 剤併用療法の治療効果と治療後長期経過の検討、第 40 回日本肝臓学会東部会、東京、2014.11.27.
 - 13) 宋林祐史、池田健次、川村祐介、國本英雄、福島泰斗、小林正宏、斎藤聡、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、鈴木文孝、鈴木義之、荒瀬康司、熊田博光.当院におけるアルコール性肝硬変の発癌とその予後、第 40 回日本肝臓学会東部会、東京、2014.11.27.
 - 14) 國本英雄、池田健次、宋林祐史、福島泰斗、川村祐介、小林正宏、斎藤聡、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、鈴木文孝、鈴木義之、荒瀬康司、熊田博光.C 型肝炎 SVR 後の肝癌発癌例における治療後再発と長期予後、第 40 回日本肝臓学会東部会、東京、2014.11.27.
 - 15) 福島泰斗、池田健次、宋林祐史、川村祐介、小林正宏、斎藤聡、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、鈴木文孝、鈴木義之、荒瀬康司、熊田博光.マイクロスフィア使用 TACE 施行後の腫瘍マーカー推移についての検討、第 40 回日本肝臓学会東部会、東京、2014.11.28.
 - 16) 藤野初江、鈴木文孝、宋林祐史、福島泰斗、國本英雄、藤山俊一郎、川村祐介、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、小林正宏、斎藤聡、鈴木義之、池田健次、荒瀬康司、熊田博光.当院における genotype A 型 B 型慢性肝疾患の臨床像と治療成績、第 40 回日本肝臓学会東部会、東京、2014.11.28.
 - 17) 藤山俊一郎、斎藤聡、鈴木義之、宋林祐史、福島泰斗、國本英雄、藤野初江、川村祐介、瀬崎ひとみ、保坂哲也、芥田憲夫、小林正宏、鈴木文孝、荒瀬康司、池田健次、熊田博光.肝硬変合併門脈血栓に対する Danaparoid Sodium による治療の検討、第 40 回日本肝臓学会東部会、東京、2014.11.28.

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
鈴木 文孝	NS5A阻害剤	榎本 信幸	HEPATOLOGY PRACTICE V ol.3	文光堂	東京	2014	189-192
鈴木 文孝	C型慢性肝炎治療の ガイドライン(厚労省 研究班編)の概説	熊田 博光	C型肝炎治療～D AA sで広がる治 療対象～	(株)医薬ジャー ナル社	東京	2014	55-62
鈴木 文孝	DAA sによるIFNフリー 療法(IFN free regi men)	熊田 博光	C型肝炎治療～D AA sで広がる治 療対象～	(株)医薬ジャー ナル社	東京	2014	108-119
馬渡 誠一、 宇都 浩文、 井戸 章雄	HCVのウイルス学的 特徴	熊田博光、 茶山一彰、 豊田成司	C型肝炎治療	医薬ジャーナ ル	東京	2014	22-31
荒井 邦明、 金子 周一	肝臓病学 C型肝炎治療の転換 期		臨床医学の展望 2014	日本医事新報	東京	2014	2-9

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Suzuki F, Toyota J, Ikeda K, Chayama K, Mochida S, Hayashi N, Ishikawa H, Miyagoshi H, Wenhua Hu, Fiona McPhee, Eric A Hughes, Kumada H	A randomized trial of daclatasvir with peginterferon alfa-2b and ribavirin for HCV genotype 1 infection.	Antiviral Therapy	19	491-499	2014
Suzuki F, Hosaka T, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Hara T, Kawamura Y, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Mineta R, Kumada H	Long-term efficacy and emergence of multidrug resistance in patients with lamivudine-refractory chronic hepatitis B treated by combination therapy with adefovir plus lamivudine.J Gastroenterol.	J Gastroenterol	49	1094-1104	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hara T, <u>Suzuki F</u> , Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Kumada H	Long-term entecavir therapy results in falls in serum hepatitis B surface antigen levels and seroclearance in nucleos(t)ide-naive chronic hepatitis B patients.	J Viral Hepat	21	802-808	2014
<u>Suzuki F</u> , Akuta N, Suzuki Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Mineta R, Suzuki Y, Kumada H	Virologic breakthrough in a patient with chronic hepatitis B by combination treatment with tenofovir disoproxil fumarate and entecavir.	Drug Des Devel	8	869-873	2014
Ikeda K, Kawamura Y, Kobayashi M, Fukushima T, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Saitoh S, <u>Suzuki F</u> , Suzuki Y, Arase Y, Kumada H	Prevention of disease progression with anti-inflammatory therapy in patients with HCV-related cirrhosis: A Markov model.	Oncology	86	295-302	2014
Akuta N, <u>Suzuki F</u> , Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H	Evolution of simeprevir-resistant variants over time by ultra-deep sequencing in HCV genotype 1b.	J Med Virol	86	1314-1322	2014
Akuta N, <u>Suzuki F</u> , Fukushima T, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Hara T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H	Utility of Detection of Telaprevir-Resistant Variants for Prediction of Efficacy of Treatment of Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection.	JCM	52	193-200	2014
Akuta N, <u>Suzuki F</u> , Kobayashi M, Hara T, Sezaki H, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H	Correlation Between Hepatitis B Virus Surface Antigen Level and Alpha-Fetoprotein in Patients Free of Hepatocellular Carcinoma or Severe Hepatitis.	J Med Virol	86	131-138	2014
Arase Y, Kobayashi M, Kawamura Y, <u>Suzuki F</u> , Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Sezaki H, Saitoh S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Kobayashi T	Impact of Virus Clearance for the Development of Hemorrhagic Stroke in Chronic Hepatitis C.	J Med Virol	86	169-175	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanaka M, <u>Suzuki F</u> , Seko Y, Hara T, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H	Renal dysfunction and hypophosphatemia during long-term lamivudine plus adefovir dipivoxil therapy in patients with chronic hepatitis B.	J Gastroenterol	49	470-480	2014
Kobayashi M, Hosaka T, <u>Suzuki F</u> , Akuta N, Sezaki H, Suzuki Y, Kawamura Y, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Miyakawa Y, Kumada H	Seroclearance rate of hepatitis B surface antigen in 2,112 patients with chronic hepatitis in Japan during long-term follow-up.	J Gastroenterol	49	538-546	2014
Kawakami Y, <u>Suzuki F</u> , Karino Y, Toyota J, Kumada H, Chayama K	Telaprevir is effective given every 12 h at 750mg with pegylated interferon- α 2b and ribavirin to Japanese patients with HCV-1b IL28B rs8099917 TT.	Antiviral Therapy	19	277-285	2014
Hosaka T, <u>Suzuki F</u> , Kobayashi M, Fukushima T, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H	HLA-DP genes polymorphisms associate with hepatitis B surface antigen kinetics and seroclearance during nucleo(s)ide analogue therapy.	Liver Int		Epub ahead of print	2014
Kawamura Y, Ikeda K, Fukushima T, Hara T, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Sezaki H, Akuta N, <u>Suzuki F</u> , Suzuki Y, Kumada H	Potential of a no-touch pincer ablation procedure for small hepatocellular carcinoma that uses a multipolar radiofrequency ablation system: An experimental animal study.	Hepatol Res	44	1234-1240	2014
Sezaki H, <u>Suzuki F</u> , Hosaka T, Akuta N, Fukushima T, Hara T, Kawamura Y, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H	Effectiveness and safety of reduced-dose telaprevir-based triple therapy in chronic hepatitis C patients.	Hepatol Res	44	163-171	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kumada H, Sato K, Takehara T, Nakamura M, Ishigami M, Chayama K, Toyota J, <u>Suzuki F</u> , Nakayashu Y, Ochi M, Yamada I, Okanoue T	Efficacy of telaprevir-based therapy for difficult-to-treat patients with genotype 2 chronic hepatitis C in Japan.	Hpatol Res		Epub ahead of print.	2014
<u>Karino Y</u> , Toyota J, Ikeda K, Suzuki F, Chayama K, Kawakami Y, Ishikawa H, Watanabe H, Hernandez D, Yu F, McPhee F, Kumada H.	Telaprevir impairs renal function and increase blood ribavirin concentration during telaprevir/pegylated interferon/ribavirin therapy for chronic hepatitis C.	J Hepatol	21	341-347	2014
Tanaka T, Kasai H, Yamashita A, Okuyama-Dobashi K, Yasumoto J, <u>Maekawa S</u> , Enomoto N, Okamoto T, Matsuura Y, Morimatsu M, Manabe N, Ochiai K, Yamashita K, Moriishi K.	Hallmarks of hepatitis C virus in equine hepacivirus.	J Virol.	88 (22)	13352-66.	2014
Tatsumi A, <u>Maekawa S</u> , 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.	Hepatol Res.		Epub ahead of print	2014
Miura M, <u>Maekawa S</u> , 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 non-structural 5A inhibitor daclatasvir in patients with genotype 1b hepatitis C virus infection.	Hepatol Res.		Epub ahead of print	2014
Komatsu N, Motosugi U, <u>Maekawa S</u> , 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 gadoteric acid-enhanced hepatocyte phase magnetic resonance imaging.	Hepatol Res.	44 (13)	1339-1346.	2014