

- のこれから～. 第4回臨床ラク
トフェリンシンポジウム. 東京
2014
- 37) 島田紀朋, 高口浩一, 井出達也, 加藤慶三, 坪田昭人, 豊田秀徳, 熊田卓, 佐田通夫. TVR3 剤併用療法の早期HCV動態から見た治療効果予測 (RF3-5) 第100回日本消化器病学会総会. 東京 2014
- 38) 近藤千紗, 厚川正則, 島田紀朋, 安部 宏, 中川 愛, 糸川典夫, 加藤慶三, 福田 健, 松下洋子, 檜原義之, 中塚雄久, 岩切勝彦, 川本智章, 坪田昭人, 相澤良夫, 坂本長逸. IL28B minor genotype のC型慢性肝炎に対する3剤併用療法における再燃に寄与する因子の検討 (RF3-8) 第100回日本消化器病学会総会東京 2014
- 39) 糸川典夫, 厚川正則, 坪田昭人, 近藤千紗, 橋本知美, 松下洋子, 福田健, 城所秀子, 檜原義之, 中塚雄久, 金沢秀典, 坂本長逸. C型慢性肝炎 IL28B minor genotype に対するAlfacalcidol 併用3剤療法についての検討; Pilot Study 第100回日本消化器病学会総会 東京 2014
- 40) 中川 愛, 厚川正則, 島田紀朋, 糸川典夫, 近藤千紗, 安良岡高志, 橋本知美, 福田 健, 松下洋子, 城所秀子, 檜原義之, 中塚雄久, 坪田昭人, 岩切勝彦, 川本智章, 坂本長逸. 代償性肝硬変に対するpeg-IFN/ribavirin 併用療法に血清 25(OH)D3 濃度を与える影響 (P-093) 第100回日本消化器病学会総会東京 2014
- 41) 安部 宏, 島田紀朋, 厚川正則, 加藤慶三, 坪田昭人, 坂本長逸, 相澤良夫. C型慢性肝炎 Naive 症例に対する Telaprevir+Peginterferon+Ribavirin3 剤療法の治療成績 (P-225) 第100回日本消化器病学会総会東京 2014
- 42) 坪田昭人, 松浦知和. TK-NOG (Humanized mice model) による感染実験と今後の活用法平成26年度厚生労働省科学研究費補助金 感染症対策総合研究事業 B型肝炎創薬実用化等研究事業次世代生命基盤技術を用いたB型肝炎制圧のための創薬研究 合同班会議 東京 2014
- 43) 坪田昭人. ヒト肝キメラマウスのSVR後の肝病理組織学的解析平成26年度厚生労働省科学研究費補助金 肝炎等克服政策研究事業 HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の病態に関する研究班「SVR班」東京 2014
- 44) 坪田昭人. ヒト化肝臓キメラマウスの活用法平成26年度厚生労働省科学研究費補助金 B型肝炎創薬実用化等研究事業 合同研究会「B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発」班「次世代生命基盤研究技術を用いたB型肝炎制圧のための創薬研究」班 東京 2014
- 45) 坪田昭人. TK-NOG マウスを用いた in vivo 薬効評価平成26年度厚生労働省科学研究費補助金 B型肝炎創薬実用化等研究事業「次世代生命基盤研究技術を用いたB型肝炎制圧のための創薬研究」第6回班会議東京 2014
- 46) 安部 宏, 石黒晴哉, 島田紀朋, 関伸嘉, 杉田知典, 会田雄太, 富田陽

- 一, 永野智久, 板垣宗徳, 須藤 訓, 坪田昭人, 相澤良夫. Response-guided Peginterferon α +Ribavirin療法施行 Genotype2 型C型慢性肝炎の治療効果における IL28B 遺伝子多型測定の意義 (0-40) 東京 2014
- 47) 中川 愛, 厚川正則, 島田紀朋, 阿部 宏, 吉澤 海, 浅野 徹, 大久保雄介, 荒木眞裕, 池上 正, 糸川典夫, 近藤千紗, 中塚雄久, 忠願寺義通, 坪田昭人, 相澤良夫, 坂本長逸. 我が国におけるC型慢性肝炎患者の血清 25(OH)D3 濃度の特徴 (0-47) 第 40 回日本肝臓学会東部会東京 2014
- 48) 新井泰央, 厚川正則, 島田紀朋, 安部宏, 大久保知美, 中川愛, 糸川典夫, 近藤千紗, 坪田昭人, 相澤良夫, 川本智章, 坂本長逸. C型慢性肝炎における血清 25 (OH) D3 濃度の特徴についての検討 第 18 回日本肝臓学会大会 神戸 2014
- 49) 安部宏, 島田紀朋, 厚川正則, 坪田昭人, 關伸嘉, 杉田知典, 会田雄太, 井家麻紀子, 相澤良夫. Telaprevir3 剤療法を導入した IL28B Major genotype のC型慢性肝炎における非SVRに關与する因子の検討 第18回日本肝臓学会大会 神戸 2014
- 50) 厚川正則, 島田紀朋, 吉澤海, 安部宏, 中川愛, 糸川典夫, 近藤千紗, 坪田昭人, 相澤良夫, 坂本長逸. Simeprevir3 剤併用療法における vitaminD 併用療法の治療初期効果について, 第 18 回日本肝臓学会大会 神戸 2014
- 51) 中川愛, 厚川正則, 島田紀朋, 安部宏, 加藤慶三, 近藤千紗, 糸川典夫, 福田健, 松下洋子, 中塚雄久, 長田祐二, 岩切勝彦, 川本智章, 坪田昭人, 相澤良夫, 坂本長逸. C型慢性肝炎に対する3剤併用療法の HCV RNA 陰性化時期がSVRに与える影響~48週延長投与例も含めた解析 第50回日本肝臓学会総会 東京 2014
- 52) 島田紀朋, 厚川正則, 坪田昭人. Non-responder に対する T12PR48 はSVRを向上させる 第50回日本肝臓学会総会 東京 2014
- 53) 近藤千紗, 厚川正則, 島田紀朋, 安部宏, 中川愛, 糸川典夫, 加藤慶三, 福田健, 松下洋子, 檜原義之, 中塚雄久, 岩切勝彦, 川本智章, 坪田昭人, 相澤良夫, 坂本長逸. Peg-IFN/ribavirin/telaprevir 三剤併用療法における再燃に寄与する因子の検討 第50回日本肝臓学会総会 東京 2014
- 54) 神田達郎, 島田紀朋, 厚川正則, 篠崎正美, 三上繁, 中本晋吾, 新井誠人, 今関文夫, 坪田昭人, 横須賀収. B型慢性肝炎に対するpegインターフェロン療法~開始直前Hbe抗原からみた治療効果の検討~第50回日本肝臓学会総会 東京 2014
- 55) 安部宏, 島田紀朋, 厚川正則, 坪田昭人, 關伸嘉, 杉田知典, 会田雄太, 加藤慶三, 坂本長逸, 相澤良夫. C型慢性肝炎に対するTelaprevir+Peginterferon+Ribavirin3 剤療法の治療成績 第50回日本肝臓学会総会 東京 2014
- 56) Ohtsuru S, Ueda Y, Chiba T,

- Marusawa H. Infectivity and clinical significance of defective hepatitis C virus clones in chronic hepatitis C patients. The 24th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. 2015.3.12-15, Istanbul.
- 57) Inuzuka T, Ueda Y, Chiba T, Marusawa H. Clinical and viral characteristics of HBV reactivation from occult carrier status triggered by chemotherapy or immunosuppressive therapy. The 11th JSH Single Topic Conferences. 2014.11.20, Hiroshima.
- 58) 大鶴繁、上田佳秀、犬塚義、千葉勉、丸澤宏之. C型慢性肝炎における欠損型HCVの感染病態と臨床的意義. 第24回抗ウイルス療法研究会総会 2014.5.7-9. 山梨.
- 59) 林 和彦. Effect of Peginterferon alfa-2b and Ribavirin on Hepatocellular Carcinoma Prevention in Older Patients with Chronic Hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 100-103; 2014
- 60) Takasuke Fukuhara, Masami Wada, Shota Nakamura, Chikako Ono, Satomi Yamamoto, Mai Shiokawa, Toru Okamoto, Yoshiharu Matsuura, Exchangeable apolipoproteins participate in the particle formation of hepatitis C virus. 33rd American Society for Virology, Annual Meeting, Colorado, 2014
- 61) Chikako Ono, Takasuke Fukuhara, Mai Shiokawa, Satomi Yamamoto, Masami Wada, Toru Okamoto, Daisuke Okuzaki, Yoshiharu Matsuura, Characterization of HCV Propagation in miR-122 Knockout Cells. 33rd American Society for Virology, Annual Meeting, Colorado, 2014
- 62) Chikako Ono, Takasuke Fukuhara, Satomi Yamamoto, Masami Wada, Toru Okamoto, Daisuke Okuzaki, Yoshiharu Matsuura, Characterization of HCV propagation in miR-122 knockout cells, 第13回あわじしま感染症・免疫フォーラム、奈良、2014
- 63) 福原崇介、山本聡美、小野慎子、和田真実、岡本徹、茶山一彰、松浦善治、HCVのQuasispeciesは増殖性に関与する、第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014
- 64) Takasuke Fukuhara, Masami Wada, Shota Nakamura, Chikako Ono, Satomi Yamamoto, Mai Shiokawa, Toru Okamoto, Kazuhiko Koike, Yoshiharu Matsuura, Amphipathic α -helices of Exchangeable Apolipoproteins Participate in the Particle Formation of Hepatitis C Virus. 21st International symposium on Hepatitis C and related viruses, Banff, 2014
- G. 知的所有権の出願・取得状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他

1) 相崎英樹、飯島尋子、石上雅敏、
上野義之、小川浩司、片野義明、
菊池嘉、工藤正俊、酒井明人、坂
本穰、島上哲朗、下田和哉、日浅
陽一、正木尚彦、持田智、吉岡健
太郎、吉澤要、米田政志、渡邊綱

正、是永匡紹、肝炎ウイルス陽性
者フォローアップ導入マニュアル
第二版、効率的な肝炎ウイルス検
査陽性者フォローアップシステム
の構築のための研究班 in press

HCVに対する抗ウイルス治療後、SVR後の病態に関する研究

業務項目：SVR後肝癌を含む肝病変の発生・変化について関する研究

担当責任者：小池和彦 東京大学 教授

研究協力者：建石良介 東京大学 特任講師

研究要旨：平成 26 年 9 月から国内初の経口剤のみによる C 型肝炎治療が可能になり、これまでインターフェロンを含む治療に不適とされていた高齢者や肝線維化進行例などに対して高率に SVR が期待できる時代が到来した。これらインターフェロン不適格例は、同時に発癌高リスク群でもあり、SVR 後の発癌率の低下についてのエビデンスが不足している。SVR 例における肝線維化・肝機能の変化と発癌の実態を把握するため、通院中の患者コホートを設定し、ファイブロスキャンによる肝硬度測定と経過観察を開始した。

A. 研究目的

直接作用型抗ウイルス薬(DAA)による SVR 後の肝線維化及び肝機能の改善状況と肝発癌の実態を把握すること。

B. 研究方法

当院消化器内科通院中の HCV-RNA 陽性 C 型肝炎患者に対して通常の診療行為の一環として腹部超音波検査による肝癌スクリーニングとファイブロスキャンによる肝硬度測定を行った。比較対象として、当院にてインターフェロンを含む抗ウイルス療法が施行され、SVR が得られている症例を設定した。

（倫理面の配慮）

本研究は、通常の診療の範囲内で行う観察研究であり、東京大学医学部倫理委員会の承認を得て行っている。

C. 研究結果

当院フォロー中で、インターフェロン治療後 SVR が得られた患者は 244 人(男性 139 人、女性 105 人)、インターフェロン開始時年齢 56.3 ± 10.1 歳、SVR 達成後平均観察期間 6.1 ± 4.7 年、発癌例 17 人であった。当院フォロー中で、DAA 治療を検討されている患者は 606 人(男性 236 人、女性 370 人、平均年齢 69.2 ± 11.8 歳)であった。現在までにファイブロスキャン測定された者は 184 人で、ファイブロスキャン値は 11.3 ± 8.9 kPa であった。2014 年末までに 52 人において DAA 治療を開始した。

D. 考察

いまだ相当数の患者がインターフェロン非適応を理由に治療待機状態となっている。今後、その大半が DAA による治療適応となると予想される。SVR 後発癌のリスクは、高齢などを背景にインターフェロン療

法のそれよりも高いことが予想されるため、注意深い観察による肝臓早期発見が重要になる。

E. 結論

DAA 治療による SVR 後の肝線維化及び肝機能の改善状況および肝臓癌のリスク因子解明を目的としたコホート研究を開始した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Minami T, Tateishi R, Shiina S, Nakagomi R, Kondo M, Fujiwara N, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Yoshida H, Koike K. Comparison of improved prognosis between hepatitis B- and hepatitis C- related hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*. 2015 Jan 6. doi: 10.1111/hepr.12468. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25559860.
- 2) Fujiwara N, Tateishi R, Nakagawa H, Nakagomi R, Kondo M, Minami T, Sato M, Uchino K, Enooku K, Kondo Y, Asaoka Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Slight elevation of high sensitivity C-reactive protein to predict recurrence and survival in patients with early stage hepatitis C- related hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2014 Jul 29. doi: 10.1111/hepr.12398. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25070147.

- 3) Nakagawa H, Fujiwara N, Tateishi R, Arano T, Nakagomi R, Kondo M, Minami T, Sato M, Uchino K, Enooku K, Asaoka Y, Kondo Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Impact of serum levels of IL-6 and adiponectin on all-cause, liver-related, and liver-unrelated mortality in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30(2):379-388. PubMed PMID: 25168107.
- 4) Fujiwara N, Tateishi R, Kondo M, Minami T, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Masuzaki R, Nakagawa H, Kondo Y, Asaoka Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Cause-specific mortality associated with aging in patients with hepatocellular carcinoma undergoing percutaneous radiofrequency ablation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014;26(9):1039-1046. PubMed PMID: 25051219.
- 5) Asaoka Y, Tateishi R, Nakagomi R, Kondo M, Fujiwara N, Minami T, Sato M, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Kondo Y, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Frequency of and predictive factors for vascular invasion after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2014 Nov 14;9(11):e111662. doi:10.1371/journal.pone.0111662. eCollection 2014. PubMed PMID: 25397677.
- 6) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. The impact of PNPLA3 polymorphisms on the development of hepatocellular

- carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus Infection. *Hepatol Res* 2014;44(10):E137-44. PubMed PMID: 24125181.
- 7) 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 fibrosis markers. *Hepatol Res* 2014;44(11):1047-1055. PubMed PMID: 23941604.
- 8) Minami T, Tateishi R, Shiina S, Fujiwara N, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Asaoka Y, Kondo Y, Yoshida H, Koike K. Spontaneous clearance of serum hepatitis C virus RNA during the clinical course of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2014;44(10):E32-37. PubMed PMID: 23841664.
- 9) Kondo M, Ishizawa T, Enooku K, Tokuhara Y, Ohkawa R, Uranbileg B, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Kokudo N, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased serum autotaxin levels in hepatocellular carcinoma patients were caused by background liver fibrosis but not by carcinoma. *Clin Chim Acta* 2014;433:128-134. PubMed PMID: 24642343.
- 10) Kumada H, Suzuki Y, Ikeda K, Toyota J, Karino Y, Chayama K, Kawakami Y, Ido A, Yamamoto K, Takaguchi K, Izumi N, Koike K, Takehara T, Kawada N, Sata M, Miyagoshi H, Eley T, McPhee F, Damokosh A, Ishikawa H, Hughes E. Daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection. *Hepatology* 2014;59(6):2083-2091 PubMed PMID: 24604476.
- 11) Enooku K, Nakagawa H, Soroida Y, Ohkawa R, Kageyama Y, Uranbileg B, Watanabe N, Tateishi R, Yoshida H, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased serum mitochondrial creatine kinase activity as a risk for hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients. *Int J Cancer* 2014;135(4):871-879. PubMed PMID: 24420733.
- 12) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. IL28B minor allele is associated with a younger age of onset of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol* 2014;49(4):748-754. doi: 10.1007/s00535-013-0826-x. PMID: 23689989.
- 13) Sato M, Kondo M, Tateishi R, Fujiwara N, Kato N, Yoshida H, Taguri M, Koike K. Impact of IL28B Genetic Variation on HCV-Induced Liver Fibrosis, Inflammation, and Steatosis: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2014 Mar 17;9(3):e91822. doi: 10.1371/journal.pone.0091822. eCollection 2014. PubMed PMID: 24637774.
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の出願・取得状況

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)）
HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の病態に関する研究
委託業務成果報告（業務項目）

SVR 後肝組織の微小構造の解析に関する研究

担当責任者 飯島 尋子（兵庫医科大学 内科肝胆膵科 教授・超音波センター センター長）

研究要旨 HCV 肝炎 SVR 後の持続肝障害に関する検討を行った。

A.研究目的

血中ウイルス陰性の持続肝障害肝障害患者の組織について解析を行った。

B.研究方法

HCV 潜在性肝炎患者の肝組織からの HCV-RNA 検出と組織学的異常に関して検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究はいずれも非侵襲的な検討であり、実際の臨床に沿って行われるものであるが、倫理面については当院の倫理委員会（倫ヒ第 92 号）においても了承済みである。

C.研究結果

4 例中 1 例で肝組織中に HCV-RNA を検出した。組織学的にミトコンドリア異常があることが確認された。

D.考察

肝組織中に残存する HCV-RNA は炎症や発癌に関与しているかを明らかにする必要がある。

E.結論

ミトコンドリア異常が血中 HCV 陰性症例でどの程度発癌に関与するかを今後検討する必要がある。

F.研究発表（該当論文・発表以外削除願います）

1.論文発表

2.学会発表

1. Aizawa Nobuhiro, Nakano Chikage, Hasegawa Kunihiro, Takata Ryo, Aoki Tomoko, Hashimoto Kenji, Ishii Akio, Takashima Tomoyuki, Sakai Yoshiyuki, Ikeda Naoto, Tanaka Hironori, Iwata Yoshinori, Enomoto Hirayuki, Saito Masaki, Iijima Hiroko, Imuro Yuji, Fujimoto Jiro, Nishiguchi Shuhei. Relationship between the mitochondria gene abnormality in liver tissues in patients with chronic viral hepatitis C and the hepatocarcinogenesis. The 65rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases(AASLD2014)2014.11 Boston

G. 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

C型肝炎の治療前後における血中代謝物の網羅的比較解析

担当責任者 鈴木 哲朗 浜松医科大学感染症学講座 教授

研究要旨 インターフェロン/リバビリン投与に無効で、プロテアーゼ阻害剤含治療により SVR が達成された症例から治療前後の血液検体を採取し、脂質、糖、アミノ酸、ヌクレオチドなどを含む血清中の各種低分子量代謝物をキャピラリー電気泳動&質量分析技術により網羅的に定量的解析を行った。予備的ながら、プロテアーゼ阻害剤含治療によるウイルス消失に関連したアミノ酸変動を見出した。

A. 研究目的

直接作用型抗ウイルス薬(DAA)のみの治療で9割以上の患者にウイルス学的著効(SVR)が期待できるようになってきている。一方、SVR後の肝障害や肝癌の発症も報告されており、HCV消失後の肝機能改善/維持、病態の進展については未だ不明な点が多い。全体研究開発として、今後増加するSVR後症例の適切な管理のため、SVR後の肝病態の解明と新たな検査系・対処法の確立を目指している。

本分担研究では、インターフェロン(IFN)/リバビリン(RBV)/プロテアーゼ阻害剤(PI)投与またDAA二剤投与によってSVRが達成された症例について治療前後の血中代謝物を網羅的に解析することにより、HCV感染に伴う代謝異常がSVRに伴ってどのように改善されたかを明らかにする。

B. 研究方法

IFN/RBV/PI治療を受け奏功した慢性C型肝炎患者の治療前と治療後の血清を収集した。各血清に対し9倍量のメタノール(LC/MS用)を添加、ボルテックス後、血清の10倍量のクロロフォルム(HPLC用)及び4倍量の超純水を添加、数秒間ボルテックス後、2300xg、4℃、5分間遠心操作。上層(水相画分)を採取し、限外ろ過ユニット(5K)に供し遠心操作(9100xg、4℃、6時間程度)を行いろ液を回収しメタボ

ローム解析を行った。解析は、キャピラリー電気泳動飛行時間型質量分析装置(CE-TOFMS)のカチオン及びアニオンモードによるイオン性代謝物質の定量測定を実施した。

(倫理面への配慮)

肝疾患患者等からの試料提供を受ける場合には、試料提供者、その家族、および同様の肝疾患患者の人権、尊厳が保護されるよう十分に配慮する。当該研究機関の医の倫理委員会に申請し、インフォームドコンセントに係る手続きを実施し、提供試料、個人情報厳格に管理、保存する。

C. 研究結果

血清検体からの水溶性分画抽出、イオン性代謝物質解析によりどの程度(何種類程度)の物質検出が可能か、を明らかにし、治療成績に相関するような代謝物は認められるかを予備的に評価するため、IFN/RBV療法に無効、その後のIFN/RBV/Pi治療でSVRが達成された患者2名の検体についてメタボローム解析を行った。その結果、各血清由来検体の質量分析から148種類のピーク(カチオンモード94種類、アニオンモード54種類)が検出され、ライブラリー検索によって各ピークに候補化合物を付与された。これらは、アミノ酸、糖、脂質、ヌクレオチドの各代謝経路に関与する物質であった。患者血清50 uLからの検体調

製によりメタボローム解析が十分可能であることが示された。

治療成績と代謝物量との相関を調べた結果、ある種のアミノ酸またアミノ酸代謝物で、初回治療前、治療無効時には変動しないものの、IFN/RBV/PI 治療に伴って有意な量的変動を示すことが観察された。

D. 考察

HCV 関連の肝発がんには HCV 感染によって誘発される脂質、糖類の代謝異常が関連することが示されている。DAA 含治療後に代謝異常がどのように改善、変動するかを把握することは治療後の適切な管理、対処法を確立するために極めて重要である。

本年度、患者血清からのメタノール、クロロホルム抽出、CE-TOFMS 解析によって代謝物の網羅的、定量的解析が可能であることを確認し、予備的ながら、IFN/RBV/PI 治療によるウイルス消失に連動したアミノ酸変化を見出した。

次年度以降、更に DAA 含治療前後の患者血清を収集、メタボローム解析を実施する。得られたデータを蓄積し、病態改善の指標となる代謝物質変動を明らかにすることを目指す。

E. 結論

患者血清由来検体で代謝物の網羅的解析が可能であることを確認し、予備的ながら、プロテアーゼ阻害剤含治療によるウイルス消失に関連したアミノ酸変動を見出した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Masaki T, Matsunaga S, Takahashi H, Nakashima K, Kimura Y, Ito M, Matsuda M, Murayama A, Kato T, Hirano H, Endo Y, Lemon SM, Wakita T, Sawasaki T, Suzuki T.

Involvement of Hepatitis C Virus NS5A Hyperphosphorylation Mediated by Casein Kinase I- α in Infectious Virus Production. *J Virol.* 88: 7541-7555, 2014.

1. Saito K, Shirasago Y, Suzuki T, Aizaki H, Hanada K, Wakita T, Nishijima M, Fukasawa M. Targeting Cellular Squalene Synthase, an Enzyme Essential for Cholesterol Biosynthesis, Is a Potential Antiviral Strategy against Hepatitis C Virus. *J Virol.* 89: 2220-2232, 2015.
2. Matsuda M, Suzuki R, Kataoka C, Watashi K, Aizaki H, Kato N, Matsuura Y, Suzuki T, Wakita T. Alternative endocytosis pathway for productive entry of hepatitis C virus. *J Gen Virol.* 95: 2658-2667, 2014.
3. Fang L, Wang Z, Song S, Kataoka M, Ke C, Suzuki T, Wakita T, Takeda N, Li TC. Characterization of human bocavirus-like particles generated by recombinant baculoviruses. *J Virol Methods* 207: 38-44, 2014.
4. Ahmed SR, Hossain MA, Park JY, Kim SH, Lee D, Suzuki T, Lee J, Park EY. Metal enhanced fluorescence on nanoporous gold leaf-based assay platform for virus detection. *Biosens Bioelectron.* 58:33-39, 2014.

G. 知的所有権の出願・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。

SVR 後肝組織の微小炎症の免疫学的機序の検討

担当責任者 考藤達哉 国立国際医療研究センター
肝炎・免疫研究センター 肝疾患先進医療研究室長

研究要旨：抗 HCV 治療によって HCV が排除(SVR)された後にも肝がんが発症する例が増加しているが、SVR 後発がんの免疫学的機序や発がんに関与するリスク因子の詳細は明らかではない。効率的な SVR 後肝がんスクリーニング方法を確立するためには、病態の解明やリスク因子の同定が必要である。SVR 後肝がんには持続する軽微な炎症や線維化が関与する可能性がある。肝微小炎症の免疫学的機序や線維化進展機序の解明を通して、SVR 後肝がんの病態を明らかにすることを目的とする。

様々な固形がんにおいて、発がんやがんの進展には癌微小環境が関与することが報告されている。今年度は、癌微小環境の構成細胞である線維芽細胞を、非 SVR 肝がん組織（切除肝）から分離培養し、線維芽細胞が肝がん細胞やマクロファージの形質・機能に及ぼす影響を検討した。癌から分離した線維芽細胞は、免疫抑制型マクロファージ（M2）を誘導し、肝がん細胞の浸潤能を亢進させた。がん関連線維芽細胞が肝がんの病態に関与する可能性が示された。

A.研究目的

HCVが排除された(SVR)後も、高齢者や線維化進展例では、高率に肝がんが発症する。現時点ではSVR後肝がんのリスク因子や、発がん機序は明らかではなく、適切な肝がんのスクリーニング体制は確立されていない。SVR後でも微小な肝炎症が残存しており、線維化進展や発がんに関与する可能性があるが、この微小炎症の機序は明らかではない。本研究では、SVR後に残存する微小炎症の免疫学的機序を解明し、発がんリスク因子を同定することを目的とした。

B.研究方法

様々な固形がんでがん微小環境が発がんやがんの進展に関与することが報告されている。がん微小環境構成細胞である線維芽細胞を非SVR肝がん組織や背景肝組織(肝切除標本)から直接分離し、培養系を樹立した。線維芽細胞と単球、肝がん細胞との共培養系を用いて、マクロファージ分化や肝がんの悪性化(浸潤能)への影響を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は国立国際医療研究センター倫理審査委員会の承認を受けており、事前に被験者の同意を得ており倫理的問題はないと考える。

C.研究結果

肝がん組織や非がん部組織から線維芽細胞を分離し培養株として樹立した。肝がん

線維芽細胞(Cancer-associated fibroblast, CAF)は単球をIL-10産生型M2マクロファージに分化させた。またCAFは単球の遊走能を亢進させた。CAF培養上清を肝癌細胞株(Huh7)に添加すると、Matrigelへの浸潤能が亢進した。

D.考察

肝がん関連線維芽細胞(CAF)はM2マクロファージの分化誘導、肝がん細胞の悪性化に関与しており、肝がんの進展に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

E.結論

肝がん微小環境を構成する線維芽細胞は、免疫細胞やがん細胞の機能を修飾することで、肝がんの病態に関与する可能性が明らかとなった。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) Mukaide M, Sugiyama M, Korenaga M, Murata K, Kanto T, Masaki N, Mizokami M. High-throughput and sensitive next-generation droplet digital PCR assay for the quantitation of the hepatitis C virus mutation at core amino acid 70. *J Virol Methods*. 2014; 207: 169-77
- 2) Harada N, Hiramatsu N, Oze T, Morishita N, Yamada R, Hikita H, Miyazaki M,

Yakushijin T, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kanto T, Kasahara A, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Imai Y, Inoue A, Hayashi N, Takehara T. Risk factors for hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients with normal alanine aminotransferase treated with pegylated interferon and ribavirin. *J Viral Hepatitis*. 2014 5: 357-65

2.学会発表

- 1) Kanto T, Yoshio S, Sugiyama M, Mizokami M. Natural killer cells as immunological sentinels against HBV infection. The 2nd Japan-Italy Liver workshop, Hepatitis, setatosis and hepatocellular carcinoma: molecular basis and clinical links. Hiroshima, Japan, 2014.
- 2) Yoshio S, Kanto T, Sugiyama M, Shouji H, Mano Y, Aoki Y, Nishida N, Korenaga M, Murata K, Mizokami M. Distunct helper roles of dendritic cell subsets in NK cell-dependent HBV suppression in bystander infected cells. The Liver Meeting AASLD 65th Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA, 2014

H.知的財産権の出願・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

厚生労働科学研究委託事業（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））
HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の病態に関する研究
委託業務成果報告（業務項目）

ペグインターフェロン・リバビリン無効例に対するシメプレビル 3 剤併用療法
の有効性と耐性変異の解析

担当責任者：平松 直樹 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学 講師

研究要旨：当院ならびに関連施設において、2014 年 7 月までに Simeprevir (SMV) 3 剤併用療法を開始した Pegylated-interferon/Ribavirin (P/R) 無効例 45 例(平均年齢:61.3 歳、男性/女性:24/21 例)を対象とした。全例における治療効果は、RVR(4 週時 HCV RNA 陰性化)が 52%、EOT(治療終了時 HCV RNA 陰性化)が 75%、SVR4(治療終了 4 週後 HCV 陰性化)が 39%であった。RVR 達成例においても SVR4 は 50%と低率であった。また、P/R 無効例のうち、partial responder の著効率は 50%と null responder の 31%に比し高い傾向であった。P/R 治療の後に Telaprevir (TVR) 3 剤併用療法を施行し非著効であった症例では、全例非著効となったが、SMV 開始時には TVR 耐性変異 (V36, T54, V55)は消失あるいは微量であり、SMV 併用療法の治療効果に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。今後、症例を重ねて検討を行なう予定である。

A. 研究目的

わが国の臨床試験では、前治療無効例に対する Simeprevir (SMV) 3 剤併用療法の著効率は約 4 割と低率であった。今回、Pegylated-interferon/Ribavirin (P/R) 無効例において、SMV 併用療法の治療効果に関与する因子を検討した。

B. 対象と方法

当院ならびに関連施設において、2014 年 7 月までに SMV 3 剤併用療法を開始した P/R 無効例 45 例(平均年齢:61.3 歳、男性/女性:24/21 例、肝線維化ステージ F0-2/F3-4:22/18、IL28B SNP TT/non-TT:18/22 例、P/R 治療効果 partial responder/null responder:12/28 例)を対象とした。このうち 4 例は、P/R 治療の非著効後に Telaprevir (TVR) 3 剤併用療法を施行し、非著

効であった症例(再燃 2 例、無効 2 例)であり、

TVR 併用療法終了後、平均 26 ヶ月にて SMV 併用療法を開始した。治療効果は治療終了 4 週後 HCV 陰性化率 (SVR4) で判定した。一部の症例については、次世代シーケンサー (Ion PGM) を用いて耐性変異を解析した。

C. 研究結果

全例における治療効果は、RVR(4 週時 HCV RNA 陰性化)が 52%(21/41)、EOT(治療終了時 HCV RNA 陰性化)が 75%(19/26)、SVR4 が 39%(10/26) であり、非著効の内訳は、再燃 9 例、無効 7 例であった。RVR 例の SVR4 は 50%と低率であり、治療終了後の再燃率は 53%と高率であった。各因子別 SVR4 は、男性/女性:39%/39%、65 歳未満/65 歳以上:36%/42%、肝線維化 F0-2/F3-4:36%/40%、IL28B SNP TT/non-TT:50%/36%、

P/R 治療効果 partial/null:50%/31%であった。治療前の SMV 耐性変異と治療効果の関連については現在解析中である。P/R 無効例-TVR 療法非著効例では、RVR 25%(1/4)、EOT 50%(2/4)であったが、全例非著効であった(再燃 2 例、無効 2 例)。SMV 開始時の次世代シーケンサーによる薬剤耐性変異の解析では、再燃の 2 例では、各々、V36A(0.2%)/T54A(0.2%)/V55L(0.3%)/S122T(1.7%)、F43L(4.0%)/F43S(0.5%)/Q80L(81.0%)/S122N(17.3%)が検出され、無効の 2 例では、1 例で V36F(1.1%)/Q80L(99.7%)が検出され、他の 1 例では変異は検出されなかった。また、無効例の 2 例では、治療中止時に SMV 開始時に認めなかった D168V と D168E が検出された。

D. 考察

IFN-based therapy においては、Direct-acting antiviral (DAA) との併用においても、IFN 治療へのウイルス反応性が不良な前治療 (P/R) 無効例では、高い著効率は期待できないものと考えられた。さらに、こうした DAA を併用した治療の非著効例では、ほとんどの症例で耐性変異ウイルスが出現し、その後の IFN-free の DAAs 治療に影響を及ぼす可能性がある。今後、治療前/治療後のウイルス変異と治療効果との関連について、Direct sequence 法や Deep sequence 法を用いた詳細な検討が必要である。

E. 結論

本検討における P/R 無効例に対する SMV3 剤併用療法では、治療終了後、約半数に再燃を認めた。また、P/R 無効例-TVR 療法非著効例では、全例非著効となったが、SMV 開始時には TVR 耐性変異 (V36, T54, V55) は消失あるいは微

量であり、SMV 併用療法の治療効果に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。今後、症例を重ねて検討を行なう予定である。

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

1. 論文発表：

1) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, et al. Using early viral kinetics to predict anti viral outcome in response-guided pegylated interferon plus ribavirin therapy among patients with hepatitis C virus genotype 1. *J Gastroenterol.* 2014 Apr;49(4):737-47

2) Harada N, Hiramatsu N, Oze T, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients with normal alanine aminotransferase treated with pegylated interferon and ribavirin. *J Viral Hepat.* 2014 May;21(5):357-65.

3) Hiramatsu N, Oze T, Takehara T. Suppression of hepatocellular carcinoma development in hepatitis C patients given interferon-based antiviral therapy. *Hepatol Res.* in press

2. 学会発表：

1) 平松直樹、林 紀夫、竹原徹郎. “TVR/Peg-IFN/RBV 併用療法における TVR 投与量が与える治療効果ならびに副作用へのインパクト” シンポジウム「難治性C型肝炎治療の展望」第100回日本消化器病学会大会(東京) 2014

2) 小瀬嗣子、平松直樹、竹原徹郎. “高齢者C型肝炎に対するプロテアーゼ阻害剤併用療法の現況と有用性 -多施設共同研究-” ワークショップ「高齢者肝疾患の最適医療:個別化医

- 療の工夫」第18回日本肝臓学会大会、第56回
日本消化器病学会大会(神戸) 2014
- H. 知的所有権の出願・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

HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の病態に関する研究

SVR 後の発がん関連因子の検討

担当責任者：黒崎雅之 武蔵野赤十字病院 消化器科部長

研究要旨：C 型慢性肝炎の治療法の進歩により、発がんリスクの高い症例でも HCV 駆除が可能となり、今後は SVR 後の発がんが増加する可能性が危惧される。本年度の研究では、1992 年から 2009 年までに従来型のインターフェロン単独あるいはリバビリン併用療法により SVR を達成した症例における発がんリスクを分析し、SVR 前のデータと発がんとの関連性を検討した。年齢の発がん予測における AUROC は 0.73、最適 cut off 値 58 歳の感度は 90%であった。肝線維化を反映する血小板数の AUROC は 0.70、15 万以下の発がん予測における感度は 56%、特異度は 69%であった。SVR 達成後の AFP 値も発がんの有意な予測因子であり AUROC は 0.72、最適 cut off 値は 5.6 以上の感度は 61%、特異度は 80%であった。AFP 値は、高齢、肝線維化進行と関連する因子であったが、多変量解析では、これら 3 因子は独立危険因子であった。SVR 後の発がん例で、男性、AFP 値、高齢、肝線維化進行の 4 危険因子のうち、2 因子以上を保有していたのが 85%、3 因子以上が 52%であり、これらの因子保有数で発がんリスクの高い症例の一次囲い込みが可能であった。この一次囲い込みに該当する症例の中で、さらなる危険因子を同定することが来年度以降の課題である。

A. 研究目的

C 型慢性肝炎の治療法の進歩により、従来は治療困難であった高齢・線維化進行例などの発がんリスクの高い症例でも HCV 駆除が可能となった。その結果として、今後は SVR 後の発がんが増加する可能性が危惧される。

直接作用型抗ウイルス剤 (DAA) を含む治療は現在の第一選択薬であるが、その臨床導入はテラプレビルは 2011 年、シメプレビルは 2013 年 11 月、ダクラタスビル・アスナプレビルは 2014 年 9 月であり、いまだ SVR 達成例の長期追跡データはない。今後はこれらの治療で SVR となった症例の前向き追跡は必須である。

本年度の研究では、従来型のインターフ

エロン単独あるいはリバビリン併用療法により SVR を達成した症例における発がんリスクを分析し、SVR 後の発がんリスク因子を同定した。

B. 研究方法

1992 年から 2009 年までに SVR を達成した C 型慢性肝炎の治療前のデータと、治療終了後の発がんとの関連性を検討した。

C. 研究結果

年齢は有意な発がん予測因子であり、その AUROC は 0.73、最適 cut off 値は 58 歳であった。58 歳以上の発癌予測における感度は 90%であった。肝線維化を反映する血小板数の AUROC は 0.70、最適 cut off 値は 15 万であった。15 万以下の発癌予測における感度は 56%、特異度は 69%であった。同様にアルブミン値の AUROC は 0.70、最適

cut off 値は 4.0 であった。4.0 以下の発癌予測における感度は 68%、特異度は 65%であった。

SVR 達成後の AFP 値も発がんの有意な予測因子であり、その AUROC は 0.72、最適 cut off 値は 5.6 であった。5.6 以上の発癌予測における感度は 61%、特異度は 80%であった。高齢者や線維化進行例では SVR 達成後の AFP 値正常化率が、非高齢者と比較し 8%低下し、非線維化進行例と比較し 19%低下した。このように AFP 値は、高齢、肝線維化進行と関連する因子であったが、多変量解析では、これら 3 因子は独立危険因子であった。

SVR 後に発がんした症例は、男性、AFP 値、高齢、肝線維化進行の 4 因子のうち、2 因子以上を保有していたのが 85%、3 因子以上が 52%であり、これらの因子保有数で発がんリスクの高い症例の一次囲い込みが可能であった。

D. 考察

治療前因子の組み合わせで、SVR 後の発がんリスクが高い症例を囲い込むことができる。DAA 治療例に置いても、これらのリスク因子と発がんの関連を検討する必要がある、またこの一次囲い込みに該当する症例の中で、さらなる危険因子を同定することが来年度以降の課題である。

E. 結論

高齢、線維化進行、AFP の非正常化は、DAA を含まない治療で SVR となった C 型肝炎症例における発がんに関連する因子である。DAA 治療における同因子の発がんへの寄与度について検討が必要である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yasui Y, Kudo A, Kurosaki M, Matsuda S, Muraoka M, Tamaki N,

Suzuki S, Hosokawa T, Ueda K, Matsunaga K, Nakanishi H, Tsuchiya K, Itakura J, Takahashi Y, Tanaka S, Asahina Y, Enomoto N, Arii S & Izumi N. Reduced organic anion transporter expression is a risk factor for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients: a propensity score matching study. *Oncology* 2014; 86:53-62.

2. Tamaki N, Kurosaki M, Matsuda S, Nakata T, Muraoka M, Suzuki Y, Yasui Y, Suzuki S, Hosokawa T, Nishimura T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Matsunaga K, Taki K, Asahina Y & Izumi N. Prospective comparison of real-time tissue elastography and serum fibrosis markers for the estimation of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients *Hepatol Res* 2014;44:720-727.
3. Tamaki N, Kurosaki M, Matsuda S, Muraoka M, Yasui Y, Suzuki S, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y & Izumi N. Non-invasive prediction of hepatocellular carcinoma development using serum fibrosis marker in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol* 2014; 49:1495-1503.

2. 学会発表
なし