

令和 5 年 4 月 20 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08820

研究課題名（和文）C型慢性肝炎におけるHCV排除後の肝線維化および肝発癌の解明

研究課題名（英文）Evaluation for the liver fibrosis and hepatocellular carcinoma incidence after HCV elimination in patients with chronic hepatitis C

研究代表者

小川 栄一（Ogawa, Eiichi）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：70621283

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題は、C型慢性肝炎に対して抗ウイルス(DAA)治療によりC型肝炎ウイルス(HCV)排除を達成した症例を対象とし、長期予後に関して脂肪性肝炎との関連を解析したものである。HCV排除が達成された症例に対して、脂肪性肝炎に関連したPNPLA3遺伝子を測定したところ、遺伝的背景がHCV排除後の予後に強く関連した。さらに、治療開始時の肝予備能が非代償性肝硬変に進展するリスクと関連していることが判明した。HCV排除後の肝線維化進展および肝発癌に関しては、特に肝予備能が良好な症例において、脂肪性肝炎の存在が大きく関連し、それは関連遺伝子からも予測可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

C型肝炎は比較的容易にウイルス排除が可能な時代となったものの、治療後に肝病態が悪化したり、肝癌を発症する例が後を絶たず、その要因を明らかにすることが求められている。本研究において、脂肪性肝炎の存在、その遺伝的背景、さらには治療開始時の肝病態が長期予後に大きく関連することが判明した。これらは将来的な肝癌抑止のために有効な手法を検討する重要な知見と考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study has focused on the longitudinal outcomes related to steatohepatitis for patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection who have treated with direct-acting antivirals. For patients achieving HCV elimination, PNPLA3 gene associated with steatohepatitis was strongly associated with the HCV-related complications. Moreover, hepatic reserve at baseline was also associated with the risk of progression to decompensated cirrhosis. Our results enable us to predict the incidence of hepatocellular carcinoma and progression to decompensation after HCV cure, especially for those with preferable hepatic reserve at baseline.

研究分野：感染症、総合診療

キーワード：C型肝炎ウイルス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス(HCV)は持続感染から発癌に至る代表的なウイルスであり、2014年以前はインターフェロンを用いた免疫調整による抗HCV治療が中心であった。重篤な副作用の観点から高齢者は殆ど使用できなかったが、現在は経口の直接型抗ウイルス薬(DAA: direct-acting antivirals)の登場により、年齢に関係なくほぼ100%で持続的HCV排除(SVR: sustained viral response)が可能となった。しかしながら、DAA治療後早期に肝発癌を認める症例が報告され、DAA自体の発癌促進機構にも注目が集まっているが、現時点で一定の見解はない。HCV存在下における慢性炎症状態での免疫環境とHCV消失後の免疫再構築状態は異なると考えられるため、SVR後の発癌機構や肝癌の特徴を明らかにするために、宿主の肝病態や遺伝子背景を念頭に置いた検証が必要であった。

近年はゲノムワイド関連解析により一塩基多型(SNIP)とHCV肝癌との関連性に関する報告が散見されるが、DAA治療によるHCV排除後の発癌とSNIPとの論文報告はない。肝癌発症の肝組織にはHCV消失後も活性化星細胞が持続して存在する可能性があり、特に肝脂肪化に関連したSNIPとHCV排除後の肝線維化や肝癌には大きな関連性が予想される。更にHCVはインスリン抵抗性を惹起し肝脂肪化に深く関与することから、これまで報告されているHCVコア領域変異に関連する肝癌だけではなく、脂肪性肝炎に関連したSNIPを含めてHCV排除後の発癌との関連を明らかにする必要があると考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、HCV排除後の肝線維化進展・発癌に、脂肪性肝炎が関与していることを明らかにし、脂肪性肝炎関連SNIPとの感染性を解析することと、SNIPとその他の因子がどの程度肝線維化や肝発癌に関連しているかを評価することである。

これまで肝癌リスク評価は肝硬変の存在が大きく占めていた。しかし、申請者の先行研究ではインスリン抵抗性や脂肪性肝炎がHCV排除後の肝病態に関連している可能性が強く、これまで十分に考慮されていなかった脂肪性肝炎・HCV肝癌・アルコール代謝に関連するSNIP(PNPLA3、GCKR、RNF7、MICA、MLH1、ALDH2、TLL1)との関連も証明することで、HCV排除後の肝発癌の理解が大きく進むものと考えられた。

3. 研究の方法

18歳以上の日本人C型慢性肝炎患者で、DAA治療によりSVRを達成した症例を対象とした。非代償性肝硬変症例、HIVまたはHBV合併例、アルコール多飲例、免疫抑制剤使用例、肝移植後の症例は除外した。HCV排除後の肝線維化および肝癌に関連する因子を、脂肪性肝炎および関連SNIPを含めて解析した。統計解析は、SPSS Statistics version 25.0を使用した。

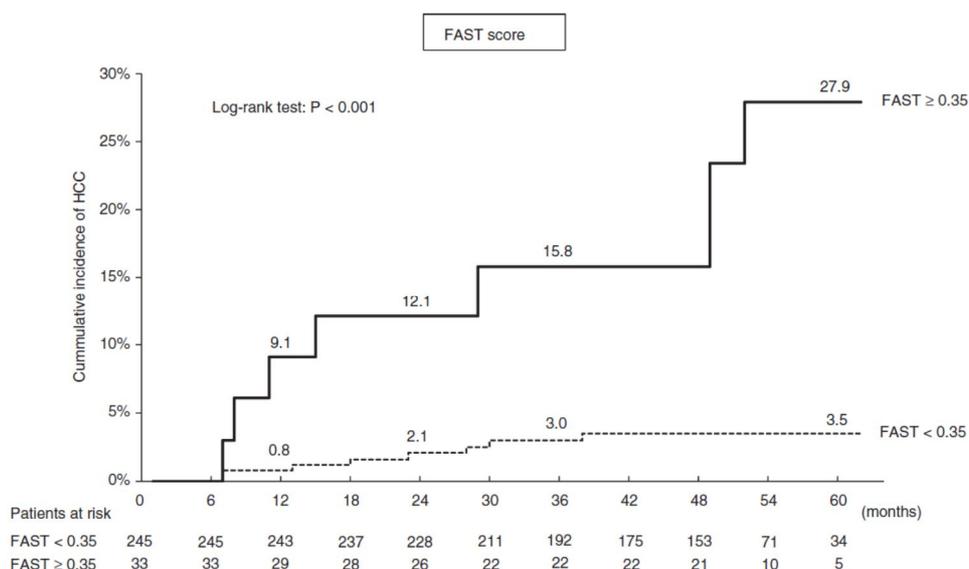
4. 研究成果

1. DAA治療によるHCV排除後の肝脂肪化と肝発癌¹⁾

肝線維化および肝脂肪化の評価方法として、従来、肝生検による侵襲的な組織学的評価がgold standardとされていたが、今日の日常診療においては、エラストグラフィによる肝硬度・肝脂肪化評価が用いられるようになった。特に、超音波エラストグラフィによる肝脂肪化の定量評価として、超音波減衰を利用したControlled Attenuation Parameter (CAP)の有用性が多く報告されている。2020年にhigh-risk non-alcoholic steatohepatitis (NASH)の可能性を予測する検査として初めて報告されたFASTスコアは、フィブロスキャンを用いた肝硬度、CAP測定値、および血液検査データ (AST値)を組み合わせたスコアであり、カットオフ値0.35においてNASH診断に有効であることが示された²⁾。これらを利用し、我々はDAA治療によりSVRを獲得した肝癌治療歴のない290例を対象に、FASTスコアと肝発癌との関連を検討した。まずは、FASTスコア別(≥ 0.35 vs. < 0.35)のKaplan-Meier曲線を示す(図1)。FASTスコア高値例の5年累積肝発癌率が27.9%と、低値群(3.5%)と比較して有意に高率であった($P < 0.001$)。このスコアは肝線維化も加味されているので、次に高度肝線維化群(フィブロスキャン測定値 [LSM] ≥ 10 kPa)の92例を対象に、FASTスコア別の肝癌発症率を多変量解析を用いて検討したところ、FASTスコア高値群は、低値群と比較して有意に高率であることが示された(HR 4.41、 $P = 0.034$) (表1)。同様に、脂肪性肝炎と関連の

強い PNPLA3 GG 遺伝子群を対象に検討した結果、FAST スコア高値群は、低値群と比較して有意に肝臓発症が高率であることが示された(HR 5.25、 $P=0.018$) (表 1)。これは肝脂肪化の存在は肝臓発症率を押し上げていることを示唆しており、今後の効果的な HCV 治療後の肝脂肪化改善に向けた患者教育に有用な知見であると考えられる。

(図 1)



(表 1)

	Patients, n	HCC, n	PY of follow-up	Incidence rate of HCC per 100 person-years (95% CI)	Crude HR (95% CI)	P value	Adjusted HR ^a (95% CI)	P value
PNPLA3 rs738409 CC/CG								
FAST score								
<0.35	184	5	740.5	0.68 (0-1.36)	1	0.002	1	0.012
≥0.35	20	4	75.5	5.30 (0-11.1)	8.12 (2.18-30.3)		8.38 (1.60-43.9)	
PNPLA3 rs738409 GG								
FAST score								
<0.35	43	2	160.0	1.25 (0-3.59)	1	0.044	1	0.034
≥0.35	13	4	48.6	8.23 (0-16.8)	4.67 (1.05-20.9)		5.25 (1.13-24.4)	
LSM < 10 kPa								
FAST score								
<0.35	182	1	720.5	0.14 (0-0.60)	1	<0.001	1	0.045
≥0.35	6	2	21.1	9.48 (0-23.8)	21.6 (3.60-130)		27.4 (1.08-700)	
LSM ≥ 10 kPa								
FAST score								
<0.35	64	5	246.4	2.03 (0-4.06)	1	0.077	1	0.018
≥0.35	28	6	102.6	5.85 (0-10.8)	2.93 (0.89-9.61)		4.41 (1.30-15.0)	

Abbreviations: CI, confidence interval; FAST, FibroScan-AST; HCC, hepatocellular carcinoma; HR, hazard ratio; LSM, liver stiffness measurement; PNPLA3, patatin-like phospholipase domain-containing protein 3; PY, person-years.

^aAdjusted for age, sex, FIB-4 index, and serum albumin, alanine aminotransferase, alpha-fetoprotein levels at 12 weeks after the end of DAA treatment.

2. 脂肪性肝炎および関連 SNIP と肝発症との関連性³⁾

脂肪性肝炎・HCV 肝臓発症・アルコール代謝に関連する SNIP(PNPLA3、GCKR、RNF7、MICA、MLH1、ALDH2、TLL1)と HCV 排除後の肝臓発症との関連性を解析した結果、PNPLA3 遺伝子のみが肝臓発症に関連したことが明らかとなった(表 2)。さらに、年齢、性別、肝線維化、中性脂肪、フェトプロテイン値(AFP)、および PNPLA3 遺伝子を加えた多変量解析では、年齢(HR 1.05、 $P=0.007$)、肝線維化進展(HR 2.69、 $P=0.019$)、治療後 AFP 値>7 ng/mL(HR 3.85、 $P=0.001$)、そして PNPLA3 GG 遺伝子(HR 3.02、 $P=0.004$)が肝臓発症関連因子として抽出された。脂肪性肝炎に関連した SNIP(PNPLA3)は、少なくとも日本人において、最も有用な HCV 排除後肝臓発症に関連した遺伝子である可能性が示された。HCV 治療後の肝臓モニタリングにおいて重要な因子の一つと考えられる。

(表 2)

	Genotype	n	Univariate analysis			Multivariable analysis ^a		
			HR	95% CI	p value	aHR	95% CI	p value
PNPLA3	CC	71	1			1		
rs738409	CG	106	2.37	(0.78-7.20)	0.13	2.36	(0.77-7.20)	0.13
	GG	46	4.82	(1.56-15.0)	0.006	5.66	(1.80-17.8)	0.003
GCKR	CC	43	1			1		
rs1260326	CT	115	2.25	(0.66-7.65)	0.19	2.35	(0.69-7.99)	0.17
	TT	65	2.03	(0.55-7.49)	0.29	2.12	(0.57-7.91)	0.26
TLL1	AA	184	1			1		
rs17047200	AT	34	0.61	(0.18-2.01)	0.42	0.58	(0.17-1.96)	0.38
	TT	5	1.55	(0.21-11.4)	0.67	1.84	(0.24-14.0)	0.55
RNF7	AA	191	1			1		
rs16851720	AC	30	1.33	(0.51-3.47)	0.56	1.42	(0.43-3.01)	0.79
	CC	2	-	-		-	-	-
ALDH2	GG	121	1			1		
rs671	GA	77	0.71	(0.31-1.63)	0.41	0.81	(0.35-1.87)	0.61
	AA	25	1.05	(0.36-3.12)	0.92	0.75	(0.25-2.22)	0.60
MICA	GG	98	1			1		
rs2596542	GA	92	1.21	(0.54-2.71)	0.64	1.49	(0.66-3.36)	0.33
	AA	33	1.57	(0.58-4.24)	0.38	2.03	(0.75-5.53)	0.16
MLH1	AA	69	1			1		
rs1800734	AG	105	0.53	(0.23-1.22)	0.13	0.56	(0.24-1.29)	0.17
	GG	49	1.06	(0.43-2.60)	0.89	1.06	(0.43-2.61)	0.90

Note: Minor allele; PNPLA3: G, GCKR: T, TLL1: T, RNF7: C, ALDH2: A, MICA: A, MLH1: G.

(参考文献)

1. Ogawa E, et al. Association between steatohepatitis biomarkers and hepatocellular carcinoma after hepatitis C elimination. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;52:866-876.
2. Newsome PN, et al. FibroScan-AST(FAST) score for the non-invasive identification of patients with non-alcoholic steatohepatitis with significant activity and fibrosis: a prospective derivation and global validation study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;5:362-373.
3. Ohta A, Ogawa E, et al. Impact of the PNPLA3 genotype on the risk of hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication. *J Med Virol.* 2022;94:5007-5014.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Eiichi Ogawa	4. 巻 37
2. 論文標題 Long-term assessment of recurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C after viral cure by direct-acting antivirals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 190-199
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jgh.15659	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Eiichi Ogawa	4. 巻 37
2. 論文標題 Long-term hepatic function of patients with compensated cirrhosis following successful direct-acting antiviral treatment for hepatitis C virus infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 371-377
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jgh.15703	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Eiichi Ogawa	4. 巻 52
2. 論文標題 Association between steatohepatitis biomarkers and hepatocellular carcinoma after hepatitis C elimination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Alimentary Pharmacology and Therapeutics	6. 最初と最後の頁 866-876
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/apt.15976	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Eiichi Ogawa	4. 巻 12
2. 論文標題 Incidence of Hepatocellular Carcinoma after Treatment with Sofosbuvir-Based or Sofosbuvir-Free Regimens in Patients with Chronic Hepatitis C	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2602
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers12092602	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Azusa Ohta, Eiichi Ogawa	4. 巻 94
2. 論文標題 Impact of the PNPLA3 genotype on the risk of hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Medical Virology	6. 最初と最後の頁 5007-5014
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jmv.27904	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Eiichi Ogawa
2. 発表標題 Predictors of advanced liver disease for chronic hepatitis C patients after sustained virological response following DAA treatment
3. 学会等名 APASL 2023 (アジア太平洋肝臓学会議) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Eiichi Ogawa
2. 発表標題 Nationwide population-level real-world evidence of long-term mortality, liver and non-liver benefits of DAA therapy in patients with chronic hepatitis treated with direct-acting antivirals
3. 学会等名 AASLD 2022 (米国肝臓学会議) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小川 栄一
2. 発表標題 代謝関連因子およびPNPLA3遺伝子多型を含めたSVR後肝癌発症に関する検討
3. 学会等名 第26回日本肝臓学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小川 栄一
2. 発表標題 慢性腎臓病症例におけるHCV排除後の腎機能・肝発癌・長期予後の実態
3. 学会等名 第58回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小川 栄一
2. 発表標題 DAA治療別のSVR後肝発癌に関する検討～Sofosbuvir-baseとSofosbuvir-freeの比較
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会総会（シンポジウム）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川 栄一
2. 発表標題 肝脂肪化からみたPost SVR肝発癌に関する検討～FAST scoreおよびPNPLA3遺伝子との関連について
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会（パネルディスカッション）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川 栄一
2. 発表標題 DAA治療によるSVR長期経過後の肝機能の推移
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川 栄一
2. 発表標題 DAA治療後SVR症例の肝発癌リスク層別化の検討
3. 学会等名 第25回日本肝臓学会大会 (JDDW 2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eiichi Ogawa
2. 発表標題 Long-term assessment of recurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C after viral cure by DAAs
3. 学会等名 The Liver Meeting (AASLD) 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eiichi Ogawa
2. 発表標題 Development of hepatocellular carcinoma by the older generations of patients after HCV cure by all-oral DAA therapy
3. 学会等名 The Liver Meeting (AASLD) 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小川 栄一
2. 発表標題 DAA治療によるHCV排除後の高齢者肝癌の実態
3. 学会等名 第24回日本肝臓学会大会 (JDDW 2020)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------