



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	DAA治療によるHCV排除が肝病変及び肝外病変に与える影響についての検討
Author(s)	得地, 祐匡
Description	配架番号 : 2773
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15455号
Issue Date	2023-03-23
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k15455
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91722
Type	doctoral thesis
File Information	TOKUCHI_Yoshimasa.pdf



学位論文

DAA治療による HCV 排除が肝病変及び肝外病変に
与える影響についての検討

(Study of the impact of HCV elimination by DAAs
treatment on hepatic and extrahepatic disease)

2023 年 3 月

北海道大学

得地 祐匡

学位論文

DAAs 治療による HCV 排除が肝病変及び肝外病変に
与える影響についての検討

(Study of the impact of HCV elimination by DAAs
treatment on hepatic and extrahepatic disease)

2023 年 3 月

北海道大学

得地 祐匡

目 次

発表論文目録及び学会発表目録	1 頁
要旨	3 頁
略語表	7 頁
緒言	9 頁
第一章	12 頁
第二章	42 頁
第三章	66 頁
結論	96 頁
謝辞	98 頁
利益相反	99 頁
引用文献	100 頁

発表論文目録及び学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に掲載。

1. Yoshimasa Tokuchi, Goki Suda, Megumi Kimura, Osamu Maehara, Takashi Kitagataya, Masatsugu Ohara, Ren Yamada, Taku Shigesawa, Kazuharu Suzuki, Naoki Kawagishi, Masato Nakai, Takuya Sho, Mitsuteru Natsuizaka, Kenichi Morikawa, Koji Ogawa, Naoya Sakamoto
Changes in the estimated renal function after hepatitis C virus eradication with direct-acting antiviral agents: Impact of changes in skeletal muscle mass

Journal of Viral Hepatitis, 28(5)・755-763, (2021)

2. Yoshimasa Tokuchi, Goki Suda, Megumi Kimura, Osamu Maehara, Takashi Kitagataya, Akinori Kubo, Sonoe Yoshida, Qingjie Fu, Zijian Yang, Shunichi Hosoda, Masatsugu Ohara, Ren Yamada, Kazuharu Suzuki, Naoki Kawagishi, Masato Nakai, Takuya Sho, Mitsuteru Natsuizaka, Kenichi Morikawa, Koji Ogawa, Shunsuke Ohnishi, Naoya Sakamoto

Possible correlation between increased serum free carnitine levels and increased skeletal muscle mass following HCV eradication by direct acting antivirals

Scientific Reports, 11・16616, (2021)

本研究の一部は以下の学会にて発表した。

1. 得地祐匡、須田剛生、坂本直哉

DAA投与によるC型肝炎ウイルス排除後の骨格筋量の検討

第107回日本消化器病学会総会、2021年4月15日～4月17日・東京

2. Yoshimasa Tokuchi, Goki Suda, Naoya Sakamoto

Changes in the estimated renal function after hepatitis C virus eradication with direct-acting antiviral agents: Impact of changes in skeletal muscle mass

第57回日本肝臓学会総会、2021年6月17日～6月18日・札幌

3. Yoshimasa Tokuchi, Goki Suda, Naoya Sakamoto

Changes in the estimated renal function after hepatitis C virus eradication with direct-acting antiviral agents: Impact of changes in skeletal muscle mass

The 31st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver、2022 年 3 月 30 日～4 月 3 日・SEOUL

要旨

【背景と目的】

直接作用型抗ウイルス薬(Direct acting antivirals, DAAs)は、合併症のない C 型肝炎ウイルス(Hepatitis C virus, HCV)感染患者だけでなく、併存疾患を有する患者においても安全かつ高率に HCV を排除できる事が報告されている。しかし DAAs 治療による HCV 排除が、併存疾患にどのような影響を及ぼすかは十分に検討されていない。HCV 感染は、腎機能障害の原因となり得るため、DAAs 治療による HCV 排除によって腎機能の改善が期待されるが、最近の研究で DAAs 治療による HCV 排除後に推定糸球体濾過量(estimated Glomerular filtration rate, eGFR)の低下を認めた事が報告された。一方、慢性肝疾患患者では骨格筋量低下に伴う血清クレアチニン濃度の低下により腎機能の過大評価が頻繁に起こる事が報告されている。また、低骨格筋量患者で DAAs 治療後に骨格筋量増加を認めた事が報告され、DAAs 治療後の骨格筋量増加が eGFR に影響を与えた可能性が考えられた。そこで第一章では、DAAs 治療による HCV 排除が腎機能に及ぼす真の影響を明らかにする事を目的とした。

さらに、DAAs 治療後の骨格筋量変化のメカニズムについては明らかにされていないため、第二章では DAAs 治療前後の骨格筋量変化と関連した因子について検討した。

また、HCV 感染は肝脂肪化を引き起こす事が示唆されており、HCV 排除は肝脂肪化の改善に寄与する可能性がある。一方で HCV 排除は、肝臓のコレステロール分泌を促進し、脂質異常症を引き起こす事が危惧される。HCV 排除後の脂肪肝の存在は肝発癌、線維化進行との関連が報告されているが、HCV 排除後の脂肪肝、脂質異常症の長期的な変化や関連については十分に明らかにされていない。第三章では DAAs 治療による HCV 排除が肝脂肪化及び脂質異常症に与える影響を検討した。

【対象と方法】

(第一章)

2014 年 10 月から 2018 年 4 月の間に当院で DAAs 治療を受けた HCV 感染患者で、治療開始時及び投与終了後 48 週目(以降、Sustained virological response 48:SVR48)に臨床情報と保存血清を有する 207 例を対象とした。腎機能は、血清クレアチニン濃度から算出された eGFR(以降、eGFRcre)及び血清シスタチン C 濃度から算出された eGFR(以降、eGFRcys)を用いて、

DAA 治療による腎機能の変化を評価した。eGFR_{cys} と比較して eGFR_{cre} が 20% 以上高値である場合を腎機能の過大評価と定義した。骨格筋量は、治療開始前と SVR48 以降に撮像した CT 検査で、Psoas muscle mass index (PMI) を用いて推定した。

(第二章)

2014 年 10 月から 2019 年 11 月の間に当院で DAA 治療を受けた HCV 感染患者で、治療開始時及び SVR48 に臨床情報と保存血清を有し、治療開始前及び SVR48 以降で CT 検査を施行した 58 例を対象とした。骨格筋量は、第一章と同様に PMI を用いて推定した。

(第三章)

2014 年 11 月から 2019 年 1 月の間に当院で DAA 治療を受けた HCV 感染患者で、DAA 投与終了後 96 週目(以降、SVR96)まで経過がフォローされ、治療開始時、DAA 投与終了後 24 週後(以降、SVR24)、SVR96 において、保存血清を有し、Transient Elastography (TE) による肝脂肪化と肝硬度の評価が施行された 100 例を対象とした。そのうち DAA 投与終了後 144 週後(以降、SVR144)までフォローされ、適切な臨床情報を有していた症例では SVR144 においても同様に解析を行った。対象症例において治療開始時、SVR24、SVR96、SVR144 における肝脂肪化、脂質プロファイルの経時的变化及びその関連について解析した。

【結果】

(第一章)

eGFR_{cre} は既報通り SVR48 で有意に低下したが、eGFR_{cys} は治療開始時と SVR48 で有意な変化を認めなかった。治療開始時は eGFR_{cre} が eGFR_{cys} よりも有意に高かったが、SVR48 では有意差を認めなかった。64 例で治療開始時の腎機能が過大評価されており、多変量解析で治療開始時の肝硬変の有無及び低アルブミン血症と関連することが明らかになった。骨格筋量変化を評価し得た 57 例のうち、37 例で PMI が増加した。SVR48 で PMI が増加した症例では eGFR_{cre} が有意に低下していたが、PMI が増加しなかった症例では治療開始時と有意差を認めなかった。一方で、eGFR_{cys} は PMI 増加の有無にかかわらず治療前後で有意な変化を認めなかった。

(第二章)

DAAs 治療による HCV 排除後の 41 例に PMI の増加を認め、コホート全体でも治療後の PMI 変化率は有意に高値であった。治療前の臨床データは PMI の増加と相関を認めなかったが、慢性肝疾患患者の骨格筋量との関連が報告されている因子のうち、血清遊離カルニチン濃度の変化率は PMI の変化率と有意な正の相関を認めた。血清遊離カルニチン濃度の上昇は血清アルブミン濃度の上昇と有意な正の相関を認めた。

(第三章)

脂肪肝と脂質異常症の有病率は体重の変化を伴わず、SVR96 で有意に増加した。SVR24、SVR96、SVR144 では、治療開始時と比較して総コレステロール、Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)、sdLDL-C (small-dense LDL-C)、CAP (Controlled attenuation parameter) 値が有意に増加した。治療開始時の CAP 値とその変化量は、SVR24、SVR96、SVR144 のすべての時点で有意な負の相関を認めた。治療開始時の LDL-C とその変化量についても同様であった。治療開始時では、CAP 値と LDL-C、sdLDL-C は有意な相関を認めなかったが、DAAs 治療による HCV 排除後、CAP 値と LDL-C、CAP 値と sdLDL-C は全ての時点で有意な正の相関を示した。

【考察】

(第一章)

DAAs 治療による HCV 排除後に骨格筋量が増加し、血中クレアチニンが上昇することにより eGFR_{cre} が低下するため腎機能が増悪したように見えるものの、eGFR_{cys} は有意な変化を認めず、真の腎機能は治療前後で変化しないと考えられた。腎機能は肝硬変患者の予後予測因子であり、慢性肝疾患患者で正確に腎機能を評価する事は極めて重要である。より正確な腎機能評価を行うためには、骨格筋量による腎機能の過大評価の可能性を考慮する必要があると考えられた。

(第二章)

DAAs 治療による HCV 排除後に骨格筋量の変化率の上昇を認め、さらにその増加が遊離カルニチンの増加と相関がある事を初めて明らかにした。そのメカニズムは明らかではないが、カルニチン上昇によるミトコンドリア内のエネルギー代謝の正常化による筋喪失抑制等のメカニズムの関与が想定された。遊離カルニチンの上昇はアルブミンの上昇と正の相関を

認め、HCV 排除による肝合成能改善が肝臓で産生されるカルニチン量増加に関与した可能性がある。

(第三章)

これまで HCV 排除は肝脂肪化を改善させることが予測されていたが、本結果は予測と反したものであった。すなわち、DAAs 治療後にベースラインの CAP 値が高い症例の 42%で CAP 値の上昇を認め、これらの症例ではベースラインの血清総コレステロール(Total cholesterol, T-C)濃度が有意に高いことが明らかになり、慎重な経過観察が必要と考えられた。さらに脂質異常症の有病率も治療後に上昇し、肝脂肪化との有意な正の相関を認めた。HCV 感染は心血管疾患リスクであり、HCV 排除は一般的に心血管疾患のリスクを減少させるが、一部の症例では脂肪肝と脂質異常症の併発により HCV 排除後も心血管系疾患発生のリスクがあると考えられる。

【結論】

(第一章)

DAAs 治療による HCV 排除後に eGFR_{cre} は有意に低下したが、骨格筋量変化の影響の為に腎機能の変化を正確に反映していない可能性がある。

eGFR_{cys} は DAAs 治療前後で骨格筋量変化にかかわらず有意な変化を認めず、慢性肝疾患患者における腎機能評価の有用な代替方法と考えられる。

(第二章)

DAAs 治療による HCV 排除後に骨格筋量の相対的な増加を認め、血清遊離カルニチン濃度の上昇との関連が明らかとなった。HCV 排除後も筋肉量が改善しない症例は、カルニチン補充が治療の選択肢となる可能性がある。

(第三章)

DAAs 治療による HCV 排除後に脂質異常症を伴った脂肪肝の有病率が有意に増加した。HCV 排除後の脂肪肝は肝発癌リスクになるとともに、脂質異常症の併発は心血管疾患発症のリスクになるため、治療後もこれらの患者には注意深い経過観察が必要である。

略語表

本文中及び図表に記載した略語は以下の通りである。

ASV	Asunaprevir
Alb	Albumin
BCAA	Branched chain amino acid
BMI	Body mass index
BW	Body weight
CAP	Controlled attenuation parameter
CPT-1	Carnitine palmitoyltransferase-1
Cre	Creatinine
CT	Computed tomography
Cys	Cystatin C
DAA	Direct acting antivirals
DCV	Daclatasvir
DL	Dyslipidemia
DM	Diabetes mellitus
EBR	Elbasvir
eGFR	estimated Glomerular filtration rate
GA	Glycoalbumin
GFR	Glomerular filtration rate
GLE	Glecaprevir
GZR	Grazoprevir
HCV	Hepatitis C virus
HDL-C	High density lipoprotein cholesterol
IFN	Interferon
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IL-6	Interleukin-6
LC	Liver cirrhosis
LDL-C	Low density lipoprotein cholesterol
LDV	Ledipasvir
LS	Liver steatosis

LSM	Liver stiffness measurement
MAFLD	Metabolic dysfunction-associated fatty liver
MELD	Mayo end-stage liver disease
MPGN	Membranoproliferative glomerulonephritis
MTP	Microsomal triacylglycerol transfer protein
ns	Not significant
OBV	Ombitasvir
Peg-IFN	Pegylated interferon
PIB	Pibrentasvir
PMI	Psoas muscle mass index
PTV	Paritaprevir
r	Ritonavir
RBV	Ribavirin
ROC	Receiver operatorating characteristic curve
sdLDL-C	small-dense LDL-C
SMV	Simeprevir
SOF	Sofosubvir
SREBP	sterol-regulatory-element-binding-protein
SVR	Sustained virologic response
T-C	Total cholesterol
TE	Transient elastography
TPV	Telaprevir
VEL	Velpatasvir
VLDL-C	very low-density lipoprotein-cholesterol
25(OH)-vitamin D	25-hydroxyvitamin D

緒言

C型肝炎ウイルス(Hepatitis C virus, HCV)は1989年に発見された一本鎖のRNAウイルスで、フラビウイルス科ヘパシウイルス属に属すウイルスであり、世界では約1億7000万人が感染していると推定されている(Lavanchy, 2011)。HCVに感染すると55-85%で慢性化し、慢性肝炎が成立すると自然経過でウイルスが排除される事はほとんどなく、肝硬変や肝不全、肝癌などの重篤な肝疾患に進行しうる公衆衛生上極めて重要な感染症である(Lok and McMahon, 2007)。

抗HCV治療は、その発見以降長らくインターフェロン(Interferon, IFN)治療が中心を担ってきた。しかし、その治療効果は本邦に多いとされるGenotype 1b型高ウイルス量C型慢性肝炎の患者に対して十分なものではなく、1年間週1回の皮下注射による治療においても、ウイルス学的著効(Sustained virologic response, SVR)率は約50%程度であった。しかし、現在、ウイルスの複製に必要なプロテアーゼやポリメラーゼなどのHCV蛋白を直接標的とする直接作用型抗ウイルス剤(Direct acting antivirals, DAAs)が開発され、HCVに対する治療は劇的に変化した。すなわち、2011年にDAA製剤の1種のHCV NS3/4Aプロテアーゼ阻害剤であるテラプレビル(Telaprevir, TPV)が承認され、2013年には第二世代のプロテアーゼ阻害剤であるシメプレビル(Simeprevir, SMV)の承認に伴い、Pegylated Interferon (Peg-IFN)、リバビリן(Ribavirin, RBV)と併用した3剤併用療法が可能となり、SVR率は約80%と著明に上昇した(Izumi et al., 2014; Sakamoto and Watanabe, 2009)。さらに2014年、初のIFNを用いないIFNフリーDAAs療法である、NS5A阻害剤のダクラタスビル(Daclatasvir, DCV)とプロテアーゼ阻害剤のアスナプレビル(Asunaprevir, ASV)との併用療法が承認された。2017年には、Genotype1-6の全ての遺伝子型のHCVに有効であるグレカプレビル(Glecaprevir, GLE)、ピブレンタスビル(Pibrentasvir, PIB)併用療法が承認され、SVR率も99%となり、C型肝炎は治癒を目指すことができる疾患になりつつある(Krishnan et al., 2018)。また、DAAs治療は、合併症のないHCV感染患者だけでなく、高齢者や腎機能障害、心血管疾患、メタボリックシンドローム等の併存疾患を有する症例においても、安全に高い確率でウイルスを排除できる事が多数報告されている(Takehara et al., 2019; Suda et al., 2018; Suda et al., 2019a)。

HCV 感染は、肝硬変や肝癌を含む肝病変以外に様々な肝外病変を合併することがある。すなわち、リンパ増殖性疾患、腎疾患、自己免疫性疾患、代謝性疾患、皮膚疾患、骨格筋の喪失、動脈硬化、心血管疾患等の多彩な肝外病変を合併する事が知られている(Cacoub et al., 2016)。肝外病変の原因としては、HCV 感染に対する免疫異常及び病変部への HCV 感染の関与が示唆されており、DAAs 治療による HCV 排除はこれら肝外病変の改善にも寄与する事が期待されている。

HCV 感染に伴う腎疾患としては、混合クリオグロブリン血症に続発する膜増殖性糸球体腎炎を始めとした多彩な病態が知られ、HCV 関連腎症と称されている。HCV 関連腎症では、約 50%で軽度腎機能障害、約 25%でネフローゼ症候群を認め、急速な腎機能の悪化をきたす症例も存在する(Fabrizi et al., 2013; Lee et al., 2014)。そのため、DAAs 治療による HCV の排除は腎機能障害を改善する可能性があると考えられていた(Misiani et al., 1994; Tsuge et al., 2016)。しかしながら、2019 年の台湾からの大規模研究で、DAAs 治療による HCV 排除は推定糸球体濾過量 (estimated Glomerular filtration rate, eGFR) を低下させる事が報告された(Tsai et al., 2019)。さらに、同施設より DAAs 治療終了 1 年後においても eGFR の低下を認めた事が報告された(Chiu et al., 2020)。

骨格筋量の喪失については、C 型慢性肝炎を含む慢性肝疾患が加齢に伴う筋萎縮と筋力低下によって定義されるサルコペニアを二次性に引き起こす主な原因として知られている(Cruz-Jentoft et al., 2010; Dasarathy., 2012; Hanai et al., 2016; Iritani et al., 2015; Masuda et al., 2014)。サルコペニアを合併した慢性肝疾患患者は予後不良となり、慢性肝疾患患者における骨格筋量の喪失を予防することは臨床的に重要となる(Nishikawa et al., 2016)。DAAs 治療による HCV 排除が骨格筋量に与える影響については、低骨格筋量の患者において DAAs 治療による HCV 排除が骨格筋量増加に寄与した事が報告された(Sugimoto et al., 2018)。

脂質代謝や心血管疾患については、HCV 自体による内皮障害、全身性炎症、酸化ストレス、糖代謝の増悪により心血管疾患が引き起こされる可能性がある事が報告されている(Roguljic et al., 2021)。そのため、HCV 排除は一般的に心血管疾患のリスクを減少させる事が報告されている(Roguljic et al., 2021)。また、HCV は肝臓に脂質を蓄積させる作用を有している事が報

告されており、HCV 感染は脂肪肝を引き起こすと考えられている(Czaja et al., 1998)。HCV 排除は、肝臓のコレステロール分泌を促進し、脂質異常症を引き起こす事が危惧されており、DAAs 治療後に LDL-C や総コレステロール(Total cholesterol, T-C)が増加する事が報告されている(Kawagishi et al., 2018; Sun et al., 2018)。

DAAs 治療が C 型慢性肝疾患に対する治療の主流となり、効果、安全性とも著明に改善したことにより、これまで治療対象とならなかった他臓器合併症を持つ患者においても、ウイルス排除が可能となった。そのため、従来のインターフェロン治療では評価が困難であった HCV 排除が肝内・肝外病変へ与える影響を評価し、長期的にコントロールを行う事は今後実臨床で非常に重要であると考えられる。本研究では、特に腎機能、骨格筋量、心血管疾患に関与する脂質異常、肝脂肪化に着目し、DAAs 治療による HCV 排除が及ぼす影響について検討を行った。

《第一章》

血清クレアチニンに基づく腎機能評価は、HCV に対する DAAs 治療後の腎機能変化を正確には反映しない

～骨格筋量変化による影響の検討～

緒言

世界的に HCV 感染は、肝硬変及び肝癌の主な原因の 1 つであり、公衆衛生上、極めて重要な感染症である。DAAs 治療の開発以降、HCV に対する治療は劇的に変化した。DAAs 治療は、合併症のない HCV 感染患者の治療だけでなく、腎機能障害を含む多くの合併症を有する、HCV 感染患者の治療をも可能にした(Takehara et al., 2019; Suda et al., 2018; Suda et al., 2019a)。

HCV 感染は、リンパ増殖性疾患、腎疾患、自己免疫性疾患、代謝性疾患及び、皮膚疾患等、肝臓以外の臓器に多彩な肝外病変を合併する事が知られている。腎疾患としては、混合クリオグロブリン血症に続発する膜性増殖性糸球体腎炎を始めとした多彩な病態が知られ、HCV 関連腎症と称されている。HCV 関連腎症では、約 50%で軽度腎機能障害、約 25%でネフローゼ症候群を認め、急速な腎機能の悪化をきたす症例も存在する(Fabrizi et al., 2013; Lee et al., 2014)。そのため、DAAs 治療による HCV の排除は腎機能障害を改善する可能性があると考えられていた(Misiani et al., 1994; Tsuge et al., 2016)。しかしながら、2019 年の大規模研究で、DAAs 治療による HCV 排除は、推定糸球体濾過量 (estimated Glomerular filtration rate, eGFR) を低下させる事が報告された(Tsai et al., 2019)。さらに同施設より、DAAs 治療終了 1 年後においても、eGFR の低下を認めた事が報告された(Chiu et al., 2020)。

以上のように、DAAs 治療による HCV 排除が腎機能に与える影響については、現在に至るまで議論の余地が残されている。腎機能は、肝硬変 (Liver

cirrhosis, LC) 患者の予後予測因子とされており、慢性肝疾患患者で正確に腎機能を評価することは極めて重要である。また、肝移植に関する意思決定に広く使用され、肝移植登録患者の重症度判定に用いられる Mayo End-Stage Liver Disease (MELD)スコアにおいても、評価項目に採用されている(Martin et al., 2014; Wiesner et al., 2003)。MELD スコアにおける腎機能は血清クレアチニン濃度を元に評価されており、血清クレアチニン濃度の変化は MELD スコアの変化に直結し、肝移植の順位決定に影響を与える可能性がある。最近、慢性肝疾患患者において、実測法で算出された糸球体濾過量(Glomerular filtration rate, GFR)に比べて、血清クレアチニン濃度から算出された推定糸球体濾過量(estimated Glomerular filtration rate, eGFR)が、しばしば腎機能をより良く評価してしまう、いわゆる過大評価が起きていることが報告された(Yoo et al., 2019)。同研究の多変量解析によると、腎機能の過大評価には骨格筋量が有意に関与していた。骨格筋量は肝硬変患者において頻繁に減少することが知られており(Ohara et al., 2020a)、低骨格筋量により血清クレアチニン濃度が低下し、腎機能の過大評価を引き起こしたのではないかと考えられた。

DAA 治療と骨格筋量の関係性について、低骨格筋量の患者では DAA 治療による HCV 排除後に骨格筋量が増加した事が報告された(Sugimoto et al., 2018)。これらの既報から、申請者は DAA 治療後の骨格筋量の増加が eGFR に影響を与えているのではないかと考えた。前述した Yoo らの研究では、慢性肝疾患患者において血清シスタチン C(Cystatin C, cys)濃度から算出された eGFR (以降、eGFR_{cys}) が、血清クレアチニン(Creatinine, cre)濃度から算出された eGFR (以降、eGFR_{cre})と比較して実測法で算出された GFR とより密接に相関していることが示されている。

そこで第一章では、DAA 治療前後の eGFR_{cre} と eGFR_{cys} を比較することにより、DAA 治療による HCV 排除が腎機能に及ぼす真の影響を明らかにするとともに、骨格筋量を評価することにより腎機能評価に対する筋肉量変化の関与について検討することを目的とした。

方法

1. 研究の種類・デザイン

単施設後ろ向き観察研究

2. 対象となる患者

2014 年 10 月から 2018 年 4 月の間に北海道大学病院で通院された患者のうち以下の選択基準（1）を満たし、かつ除外基準（2）のいずれにも該当しない場合を適格とした。

（1）選択基準

- ①北海道大学病院で IFN フリー DAAs 治療を受けた HCV 感染患者
- ②本研究への参加について自由意思による同意が得られた患者、もしくは研究の参加について拒否しない患者
- ③適切な臨床情報を有する患者

（2）除外基準

- ①DAA 治療が非著効であった患者
- ②肝移植患者
- ③血液透析患者
- ④臨床情報や保存血清が欠落している患者
- ⑤ヒト免疫不全ウイルスまたは B 型肝炎ウイルスとの重複感染がある患者
- ⑥他の肝疾患の既往のある患者

3. 検討項目

①DAAs 治療を受けた HCV 感染患者を対象とし、治療前後の腎機能の変化を eGFR_{cre}, eGFR_{cys} を用いて評価し、比較を行った。

②腎機能変化と関連する臨床因子（年齢、性別、HCV セロタイプ、DAAs 治療に用いられた薬剤、前治療の有無、LC の有無、糖尿病 (Diabetes Mellitus, DM) 併存の有無、治療前後の血液生化学的データ等）、さらに治療前後の骨格筋量変化との関連性について検討を行った。

4. 観察及び測定項目とその測定方法

DAAs 治療開始時点(以降ベースライン)と DAAs 投与終了後 48 週目(以降 SVR48)での年齢、性別、HCV セロタイプ、DAAs 治療に用いられた薬剤、前治療の有無、治療前血液生化学的データ等に関するデータを収集した。

シスタチン C については、検討を行うために、臨床データの収集、または保存血清を用いて血清濃度測定を行った (SRL, Tokyo,

Japan)。

LCの有無については、肝生検による組織所見、肝硬度、画像検査所見、血液検査データにより総合的に診断した(Ohara et al., 2018)。

肝硬度は、FibroScan® (Echosens, Paris, France) の M-probe と XL-probe による肝硬度測定 (Liver stiffness measurement, LSM) による非侵襲的な方法により、肝線維化の評価を行った。

また、肝線維化予測として FIB-4 index を使用した(Vallet-Pichard et al., 2007)。FIB-4 index は [(年齢×AST)/(血小板数×(ALT)^{1/2})] で計算した。

腎機能は、下記の計算式に基づいて算出された eGFRcre 及び、eGFRcys によって評価を行った。

$\begin{aligned} \text{eGFRcre (ml/min/1.73 m}^2\text{)} &= \\ 194 \times \text{Serum creatinine}^{-1.094} \times \text{Age}^{-0.287} \times (0.739 \text{ if female}) \end{aligned}$ (Matsuo et al., 2009) $\begin{aligned} \text{eGFRcys (ml/min/1.73 m}^2\text{)} &= \\ 104 \times \text{serum cystatin C}^{-1.019} \times 0.996^{\text{age}} (\times 0.929 \text{ if female}) - 8 \end{aligned}$ (Horio et al., 2013)

本研究では実測法による GFR を測定していないため、肝疾患患者で実測法での GFR とより正の相関があることが報告されている eGFRcys を基準として、eGFRcre が eGFRcys より 20%以上高値であった場合を腎機能の過大評価と定義した(Yoo et al., 2019)。

さらに患者の骨格筋量の変化を、治療開始時及び SVR48 以降の 2 時点で撮像したペアとなる CT 検査を用いて psoas muscle mass index (PMI)により推定し、評価した。PMI の計算方法は Figure 1 に示すように、CT 検査で第 3 腰椎レベルの左右の腸腰筋の断面積をマニュアルトレース法で測定し、合計した値を身長²で割ることで算出した。

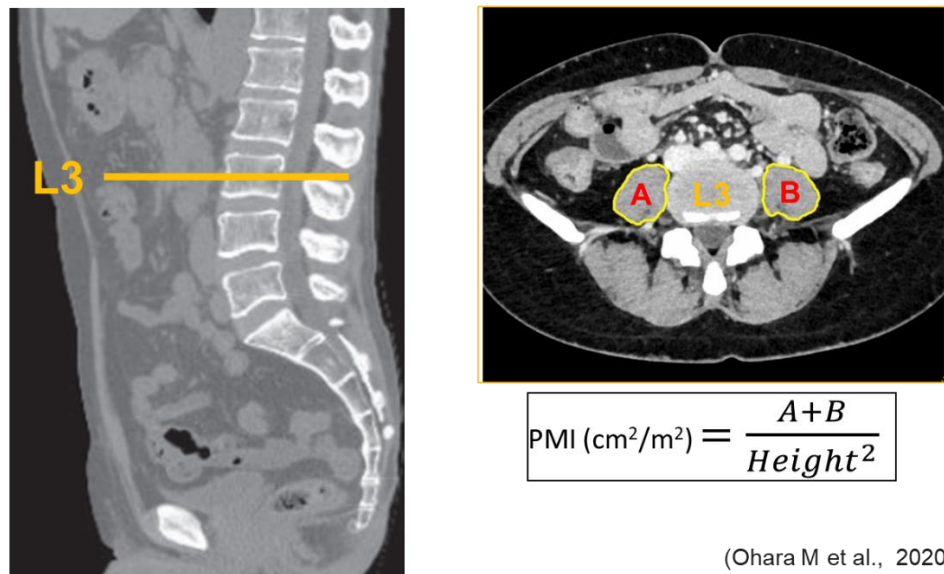


Figure 1. PMI の測定部位と計算方法

また治療による PMI の変化を評価するために、治療後の PMI の変化率を、SVR48 以降に撮像した CT 検査による PMI とベースラインの PMI の差をベースラインの PMI で除算する事で算出し、ベースラインの変化率を 0 とすることで、両者の差を検討した。

さらに骨格筋量の月毎の変化率を評価するために、下記計算式のように、治療後の PMI の変化率をその間の期間(月)で割った Δ PMI/month を算出し、各因子の変化率との相関を検討した。

$$\Delta \text{ PMI/month} = \frac{\text{PMI at } \geq \text{SVR48} - \text{PMI on the baseline}}{\text{PMI on the baseline} \times \text{the interval between CT scans (month)}}$$

(Ohara M et al, 2020)

5. 治療プロトコール

・ DAAs 治療プロトコール

(1)ダクラタスビル (Daclatasvir, DCV)、アスナプレビル (Asunaprevir, ASV) 併用療法

DCV 1 回 60 mgを 1 日 1 回、ASV 1 回 100 mgを 1 日 2 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 24 週間経口投与した。

(2)ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF)、レジパスビル (Ledipasvir, LDV) 併用療法

SOF 400 mgと LDV 90mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype1 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(3)ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF)、リバビリן (Ribavirin, RBV) 併用療法

SOF 400mg を 1 日 1 回、RBV は体重に応じて、60kg 以下は 1 日 投与量として 600 mgを、60kg 以上 80kg 以下は 800mg を、80kg を超える場合は 1000mg を Genotype2 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(4)オムビタスビル (Ombitasvir, OBV)、パリタプレビル (Paritaprevir, PTV)、リトナビル (Ritonavir, r)併用療法

OBV 25mg と PTV 150mg と r 100mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype1 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(5)ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF)、ベルパタスビル (Velpatasvir, VEL) 併用療法

SOF400mg と VEL100mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype にかかわらず C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(6)グレカプレビル (Glecaprevir, GLE)、ピブレンタスビル (Pibrentasvir, PIB)併用療法

GLE300mg と PIB120mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype1 または 2 型の C 型肝炎症例に 8 週間、C 型代償性肝硬変症例に 12 週間、Genotype1 または 2 型以外の C 型慢性肝炎又は代償性肝硬変症

例に 12 週間経口投与した。

(7)エルバスビル (Elbaszir, EBR)、グラゾプレビル (Grazoprevir, GZR)併用療法

EBR 50mg と GZR 100mg を 1 日 1 回、Genotype1 型の C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

どの治療プロトコールにおいても減量や中止、投与期間については薬剤添付文書の基準に従い行った。

6. 治療効果の評価

DAA 治療終了後 12 週または 24 週間後の HCV-RNA により評価し、HCV-RNA の陰性化をもって SVR と判定した。

7. 統計解析

カテゴリー変数の解析にはフィッシャーの直接確率検定を使用し、連続変数の解析には Mann-Whitney の U 検定を、多群間比較には 1 元配置分散分析を使用した。すべての *P* 値 は両側検定で、0.05 未満を統計的に有意であるとした。多変量解析にはロジスティック回帰分析を使用した。カットオフ値は、Youden index を用いて受信者動作特性 (Receiver Operating Characteristic curve, ROC) 曲線に基づいて算出した。2 つの変数間の関係は Spearman の順位相関係数によって分析した。統計分析は、Prism 7.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) ソフトウェアパッケージを使用した。

8. 被験者を対象とした研究におけるインフォームドコンセント

本研究は「ヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月改定)」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号)」を遵守して実施され、あらかじめ臨床研究実施計画書と患者説明同意文書を北海道大学病院長へ提出し、研究の実施に関して自主臨床研究審査委員会の承認及び病院の許可を得て行われた (自主臨床研究番号: 自 016-0021)。研究参加に対して書面による同意が得られた症例、かつ参加を辞退しなかった症例を対象とした。

結果

1. 患者背景

Figure 2 に示す通り、2014 年 10 月から 2018 年 4 月の間に北海道大学病院で DAAs 治療を受けた HCV 感染患者 274 例を対象とした。そのうち、通院の自己中断や転居等により観察期間が不十分な症例、臨床情報の欠落や保存血清が不足している症例、透析を受けている症例を除外し、計 207 例が検討対象となった。

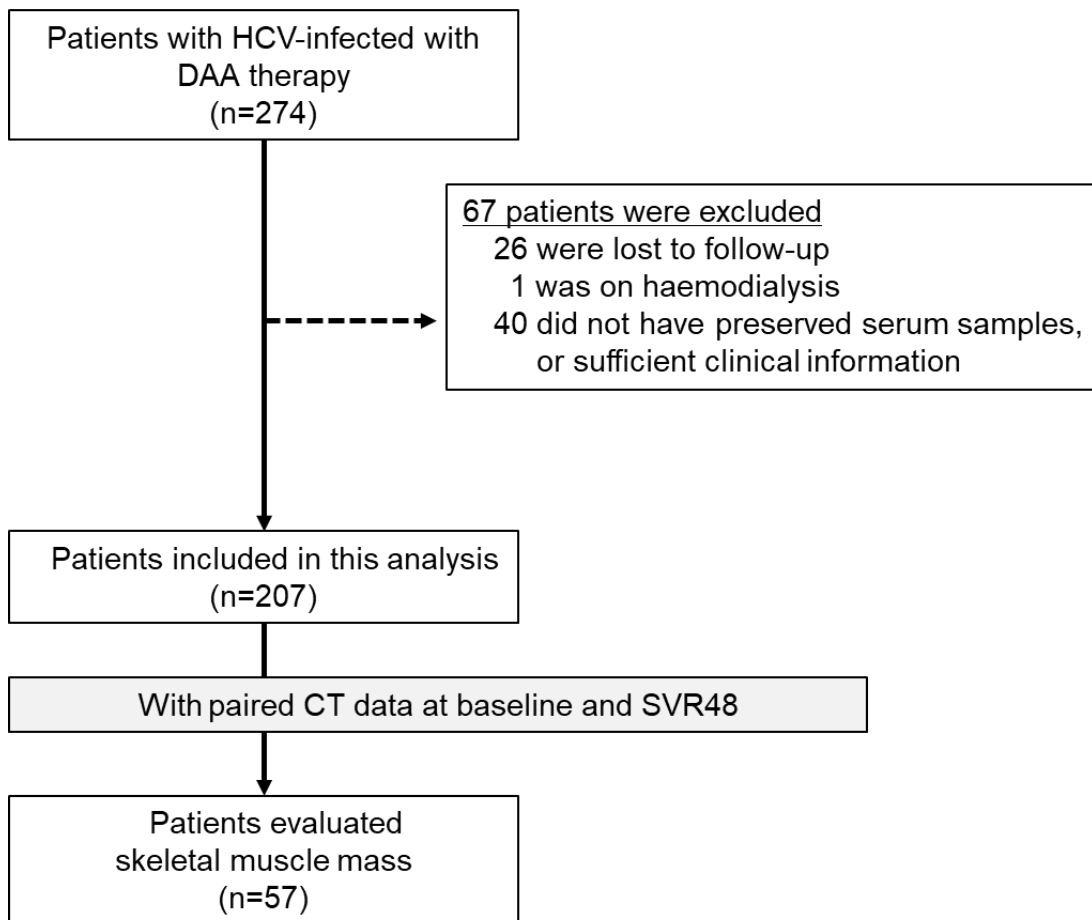


Figure 2. Study flow

Table 1 に検討を行った症例のベースラインにおける患者背景を示す。HCV serotype は 1 型 143 例 (69.2%)、2 型 61 例 (29.3%)、3 型 2 例 (1.0%)、4 型 1 例 (0.5%) であった。年齢の中央値は 70 歳で、92 例 (44.4%) が男性であった。血清クレアチニン濃度の中央値は 0.71 mg/dL

であり、血清シスタチン C 濃度の中央値は 1.0 mg/L であった。DAAs 治療に用いられた薬剤は、47 例が DCV/ASV 併用療法、73 例が SOF/LDV 併用療法、57 例が SOF/RBV 併用療法、13 例が OBV/PTV 併用療法、その他が 17 例 (EBR/GZR 併用療法 7 例、GLE/PIB 併用療法 4 例、SOF/VEL 併用療法 2 例、SOF/DCV 併用療法 2 例、その他 2 例) であった。

Table 1. 治療開始時の患者背景

Number	207
Age (years) [†]	70 (20–91)
Sex (male/female)	92/115
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.3 (3.6–7.4)
HCV Serotype (1/2/3/4)	143/61/2/1
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others	47/73/57/13/17
LC/non-LC	41/166
Platelet count ($\times 10^4$) [†]	15.0 (2.2–37.3)
Albumin (g/dL) [†]	4.1 (2.6–5.0)
AST (IU/L) [†]	53 (6–266)
ALT (IU/L) [†]	40 (6–292)
FIB-4 index [†]	3.0 (0.3–23.5)
AFP (ng/mL) [†]	4.8 (1.0–243.5)
Creatinine (mg/dL) [†]	0.71 (0.36–1.96)
Cystatin C (mg/L) [†]	1.0 (0.58–2.64)
Diabetes mellitus n (%)	36 (17.4)
Previous treatment (yes/no)	61/146

[†]Data are shown as median (range) values.

2. 治療前後の eGFR_{cre}、eGFR_{cys} の比較、及び治療による変化の検討

まず、ベースラインと SVR48 で、eGFR_{cre} と eGFR_{cys} を用いて DAAs 治療による HCV 排除後の腎機能の変化を評価した。ベースラインの血清クレアチニン濃度と血清シスタチン C 濃度の関連を検討し、ところ血清クレア

チニン濃度と血清シスタチン C 濃度の間には強い正の相関関係が認められた($r = 0.7402$, $p < 0.0001$; Figure 3A)。次にベースラインの eGFR_{cys} と eGFR_{cre} の関連について検討を行ったところ、eGFR_{cys} と eGFR_{cre} の間には強い正の相関関係が認められた($r = 0.7129$, $p < 0.0001$; Figure 3B)。ベースラインの eGFR_{cre} と血清クレアチニン濃度、eGFR_{cys} と血清シスタチン C 濃度の関連についても検討を行い、eGFR_{cre} と血清クレアチニン濃度の間に強い負の相関関係がある事($r = -0.7336$, $p < 0.0001$; Figure 3C)、eGFR_{cys} と血清シスタチン C 濃度の間に強い負の相関関係がある事($r = -0.8929$, $p < 0.0001$; Figure 3D)を確認した。

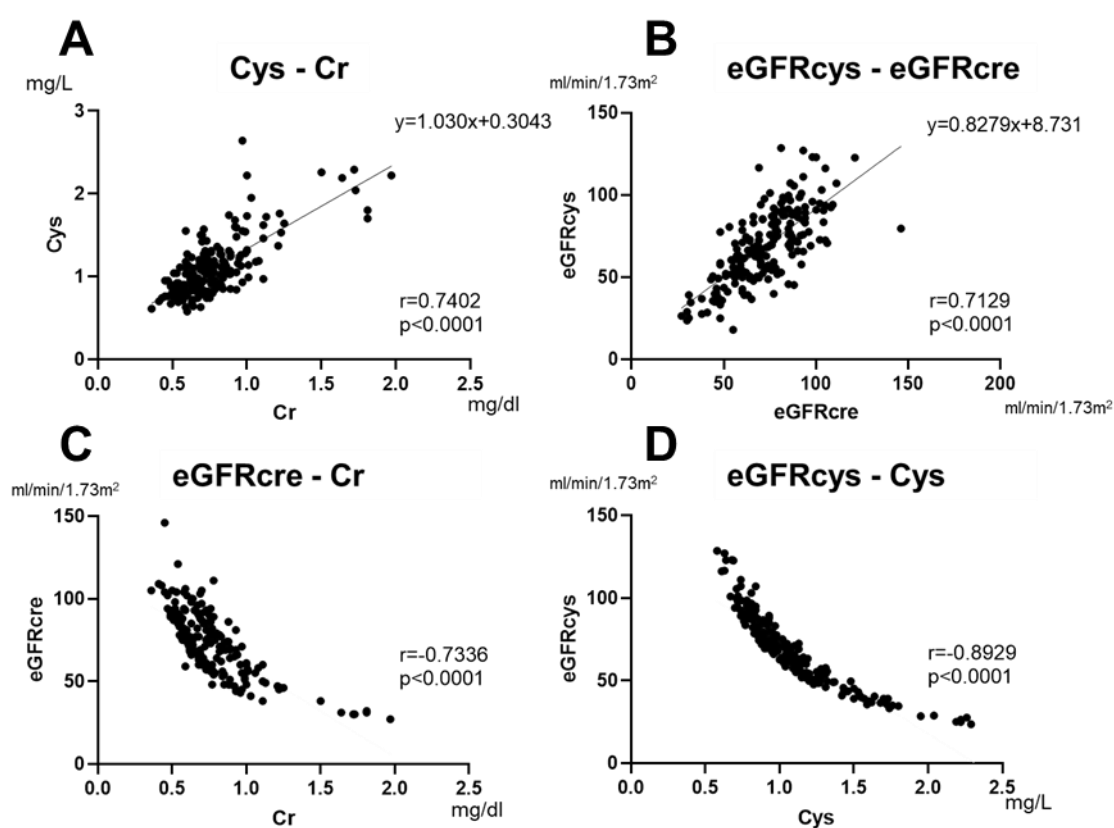


Figure 3. ベースラインにおける各腎機能評価項目の関連

血清シスタチン C 濃度と血清クレアチニン濃度の間には強い正の相関が認められた(A)。eGFR_{cys} と eGFR_{cre} の間には強い正の相関が認められた(B)。eGFR_{cre} と血清クレアチニン濃度の間及び eGFR_{cys} と血清シスタチン C 濃度の間には強い負の相関が認められた(C, D)。

また、SVR48 の血清クレアチニン濃度と血清シスタチン C 濃度の関連を

検討したところ、血清クレアチニン濃度と血清シスタチン C 濃度の間には強い正の相関関係が認められた($r = 0.8488$, $p < 0.0001$; Figure 4A)。次に SVR48 の eGFRcys と eGFRcre の関連について検討を行ったところ、eGFRcys と eGFRcre の間には強い正の相関関係が認められた($r = 0.7387$, $p < 0.0001$; Figure 4B)。SVR48 の eGFRcre と血清クレアチニン濃度、eGFRcys と血清シスタチン C 濃度の関連についても検討を行い、eGFRcre と血清クレアチニン濃度の間に強い負の相関関係がある事($r = -0.7029$, $p < 0.0001$; Figure 4C)、eGFRcys と血清シスタチン C 濃度の間に強い負の相関関係がある事($r = -0.8533$, $p < 0.0001$; Figure 4D)を確認した。

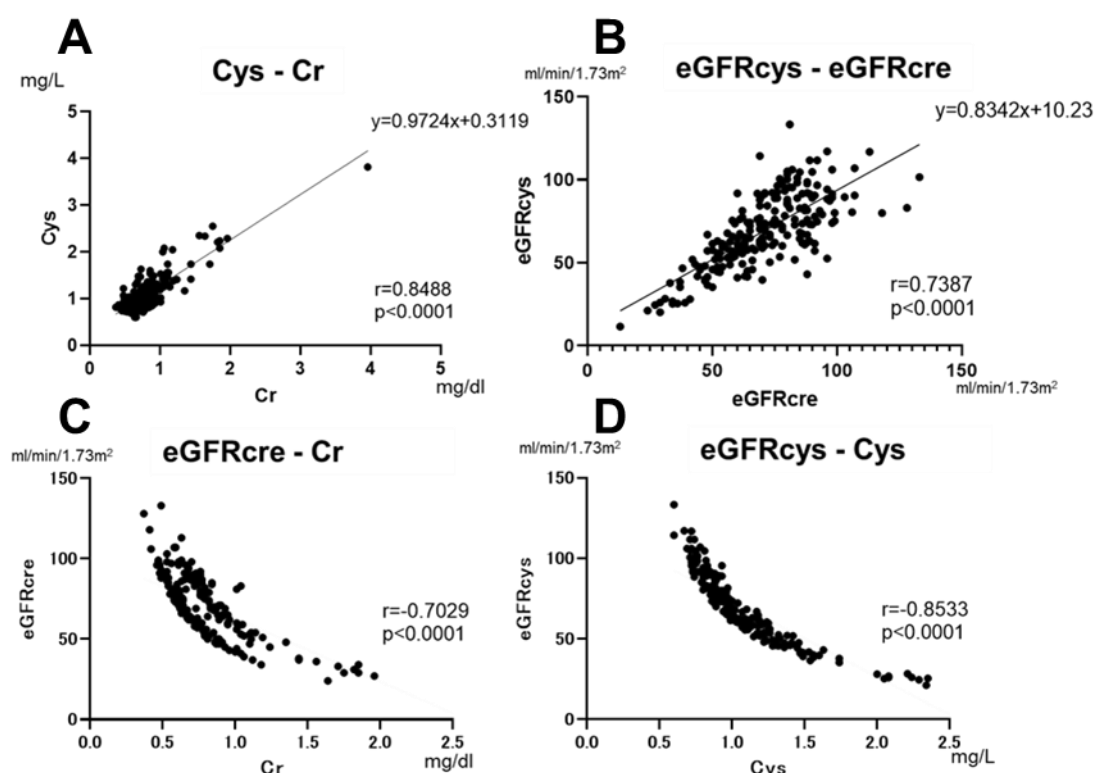


Figure 4. SVR48 における各腎機能評価項目の関連

血清シスタチン C 濃度と血清クレアチニン濃度の間には強い正の相関が認められた(A)。eGFRcys と eGFRcre の間には強い正の相関が認められた(B)。eGFRcre と血清クレアチニン濃度の間、及び eGFRcys と血清シスタチン C 濃度の間には強い負の相関が認められた(C, D)。

次に DAAs 治療前後の eGFRcre、eGFRcys の比較、及びそれぞれの DAAs 治療による変化について検討を行った。ベースラインと SVR48 における

eGFRcre の比較を行ったところベースラインの eGFRcre の中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 146.4 ml/min/1.73m²)で、SVR48 の eGFRcre の中央値は 70.8 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 132.7 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差が認められた(p < 0.01; Figure 5①左)。この結果は前述した Tsai らの報告(Tsai et al., 2019)と一致していた。しかし、ベースラインと SVR48 における eGFRcys の比較を行ったところベースラインの eGFRcys の中央値は 69.0 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 128.6 ml/min/1.73m²)で、SVR48 の eGFRcys の中央値は 68.3 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差は認められなかった(p = 0.1661; Figure 5①右)。加えてベースラインにおける eGFRcre と eGFRcys の比較を行ったところベースラインの eGFRcre の中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 146.4 ml/min/1.73m²)で、ベースラインの eGFRcys の中央値は 69.0 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 128.6 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差が認められた(p < 0.01; Figure 5②)が、SVR48 における eGFRcre と eGFRcys の比較を行ったところ SVR48 の eGFRcre の中央値は 70.8 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 132.7 ml/min/1.73m²)で、SVR48 の eGFRcys の中央値は 68.3 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差は認められなかった(p = 0.8537; Figure 5③)。

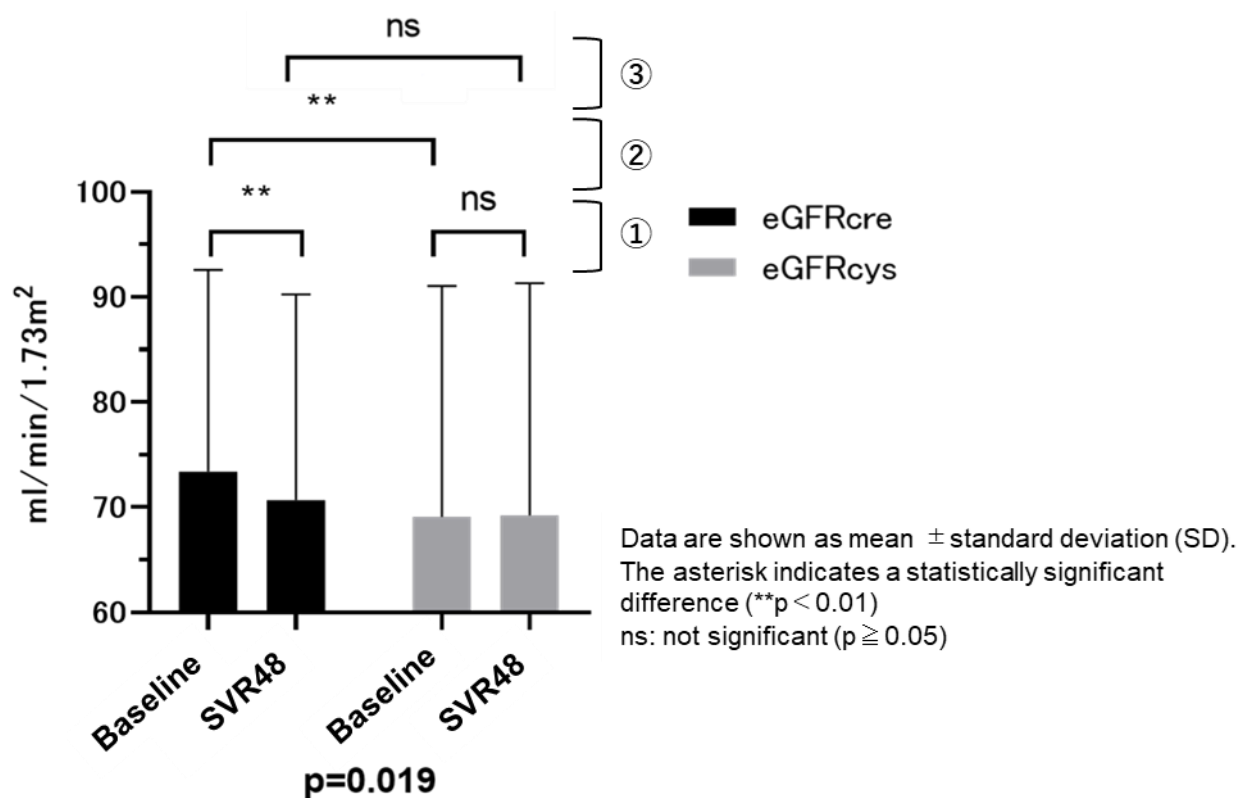


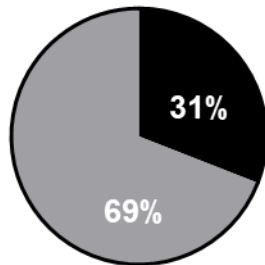
Figure 5. 治療前後の eGFRcre、eGFRcys の比較及び、治療による変化

ベースラインと SVR48 における eGFRcre を比較すると有意な差が認められたが(①左)、eGFRcys を比較すると有意な差は認められなかった(①右)。ベースラインにおける eGFRcre と eGFRcys を比較すると有意な差が認められたが(②)、SVR48 では有意な差は認められなかった(③)。

3. eGFRcre による腎機能の過大評価についての検討

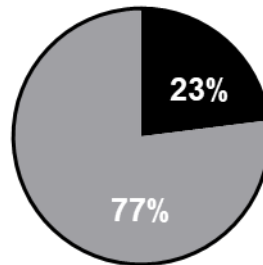
慢性肝疾患患者において、eGFRcys は実測法により測定された GFR とより密接に相関していると報告されている(Yoo et al., 2019)。ベースラインにおける eGFRcre の中央値は eGFRcys の中央値に比べて有意に高値であり、eGFRcre が過大評価されている可能性が考えられた。そこで、ベースラインで eGFRcre が eGFRcys に比べて過大評価されている患者の特徴を分析した。

Baseline



total=207

SVR48



total=207

■ Overestimation(+)
■ Overestimation(-)

Figure 6. eGFRcre が過大評価されていた患者の割合

ベースラインにおいて 31%の患者で eGFRcre による腎機能の過大評価を認めた(左)。また、SVR48 において 23%の患者で eGFRcre による腎機能の過大評価を認めた(右)。

Figure 6 に示すように、64 例(31%)の患者でベースラインの eGFRcre による腎機能の過大評価を認めた。さらに eGFRcre の過大評価の有無によって層別化し、関係する患者背景について検討を行った(Table 2)。単変量解析を行ったところ、LC の有無、血小板数、FIB-4 index、及び血清アルブミン(Alb)濃度が、ベースラインの eGFRcre の過大評価と有意に関連していることが明らかとなった(それぞれ $p < 0.001$, $p = 0.0026$, $p < 0.001$, $p = 0.0045$)。次にこれらの因子を用いて多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、LC の存在(odds ratio 2.5012; 95% confidence interval, 1.134-5.519; $p = 0.023$)と血清 Alb 濃度(odds ratio 0.252; 95% confidence interval, 0.119-0.535; $p < 0.001$)が eGFRcre の過大評価に関連する独立した因子であることが明らかとなった。

Table 2. ベースラインにおける eGFRcre の過大評価と関連する因子の検討

	Overestimation (+)	Overestimation (-)	Univariate analysis	Multivariate analysis	Odds ratio
Number	64	143			
Age (years) [†]	69.5 (35–91)	63.0 (21–87)	0.088		
Sex (male/female)	34/30	58/85	0.099		
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.1 (3.7–7.1)	6.3(3.6–7.4)	0.85		
HCV serotype (1/2/3/4)	47/15/1/1	96/46/1/0	0.26		
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others	14/24/14/5/7	33/49/43/8/10	0.66		
LC/non-LC	24/40	17/126	<0.001*	0.023*	2.501 (1.134–5.519)
Platelet count (× 10 ⁴) [†]	13.2 (4.3–31.8)	15.5 (2.2–37.3)	0.0026*	0.340	
Albumin (g/dL) [†]	3.8 (2.7–4.8)	4.2 (2.6–5.0)	<0.001*	<0.001*	0.252 (0.119–0.535)
AST (IU/L) [†]	45 (17–205)	39 (15–266)	0.094		
ALT (IU/L) [†]	45 (6–262)	37 (12–292)	0.14		
FIB-4 index [†]	3.7 (0.8–12.8)	2.9 (0.3–23.5)	0.0045*	0.810	
AFP (ng/mL) [†]	6.85 (1.6–243.5)	4.3 (1.0–198)	0.11		
Creatinine (mg/dL) [†]	0.72 (0.45–1.72)	0.70 (0.36–1.96)	0.53		
Diabetes mellitus n (%)	14 (21.9)	22 (15.4)	0.32		
Previous treatment (yes/ no)	20/44	41/102	0.74		

[†] Data are shown as median (range) values.*Statistically significant difference, $p < 0.05$.

また、Figure 6 に示すように SVR48 においても 23% (47/207) の患者で eGFRcre による腎機能が過大評価されていた。ベースラインと同様に SVR48 における eGFRcre の過大評価の有無によって層別化し、関係する患者背景について検討を行った (Table 3)。単変量解析により、年齢、LC の有無、血小板数、血清アルブミン濃度、FIB4-index が、SVR48 における eGFRcre の過大評価と有意に関連していることが明らかとなった (それぞれ $p = 0.003$, $p < 0.001$, $p = 0.007$, $p = 0.0003$, $p = 0.003$)。次に、これらの因子を使用して、多変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、LC の有無 (odds ratio 5.057; 95% confidence interval, 2.332-10.964; $p < 0.001$) と年齢 (odds ratio 0.965; 95% confidence interval, 0.931-0.994; $p = 0.021$) が有

意に SVR48 における eGFRcre の過大評価に関連する独立した因子であることが明らかとなった。

Table 3. SVR48 における eGFRcre の過大評価と関連する因子の検討

	Overestimation (+)	Overestimation (-)	Univariate analysis	Multivariate analysis	Odds ratio
Number	47	160			
Age (years) [†]	73 (50–91)	69 (21–87)	0.003*	0.021*	0.965 (0.931-0.994)
Sex (male/female)	23/24	69/91	0.508		
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.2 (3.7–7.2)	6.3 (3.6–7.4)	0.866		
HCV serotype (1/2/3/4)	33/13/0/1	110/48/2/0	0.254		
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others	10/17/12/3/5	37/56/45/10/12	0.964		
LC/non-LC	21/26	20/140	<0.001*	<0.001*	5.057 (2.332-10.964)
Platelet count ($\times 10^4$) [†]	13.4 (4.7–31.8)	15.65 (2.2–37.3)	0.007*	0.997	
Albumin (g/dL) [†]	3.8 (2.6–4.8)	4.2 (2.7–5.0)	0.0003*	0.194	
AST (IU/L) [†]	43 (20–125)	40.5 (15–266)	0.537		
ALT (IU/L) [†]	38 (6–196)	40 (12–292)	0.573		
FIB-4 index [†]	4.34 (0.9–10.5)	2.76 (0.3–23.5)	0.003*	0.919	
AFP (ng/mL) [†]	6.6 (1.6–198)	4.5 (1.0–243.8)	0.293		
Creatinine (mg/dL) [†]	0.71 (0.36–1.72)	0.71 (0.43–1.97)	0.607		
Diabetes mellitus n (%)	11 (23.4)	25 (15.6)	0.272		
Previous treatment (yes/ no)	14/33	47/113	>0.999		

[†]Data are shown as median (range) values.

*Statistically significant difference, $p < 0.05$.

4. eGFRcre の過大評価と関連した因子によるサブグループ解析

ベースライン及び SVR48 における eGFRcre による腎機能の過大評価に関連する因子であった LC の有無、血清アルブミン濃度、及び年齢によって患者を層別化し、サブグループ解析を行った。血清アルブミン濃度と年齢のカットオフ値は、ROC 曲線を元に算出し、血清アルブミン濃度は 4.0g/dl (感度 74.83、特異度 67.19、ROC-AUC 0.7369、 $p < 0.001$)、年齢は 70 歳 (感度 65.63、特異度 51.06、ROC-AUC 0.6306、 $p = 0.0065$) に設定した。

LC のある症例でベースライン及び SVR48 における eGFRcre と eGFRcys

の比較を行ったところ(Figure 7A 左①)、ベースラインにおける eGFRcre の中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 29.8 - 109.0 ml/min/1.73m²)で、eGFRcys の中央値は 57.1 ml/min/1.73m² (range, 23.5 - 94.1 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意差が認められ(p < 0.0001)、コホート全体の結果と一致していたが、SVR48 における eGFRcre の中央値は 68.5 ml/min/1.73m² (range, 23.6 - 118.0 ml/min/1.73m²)で、eGFRcys の中央値は 60.5 ml/min/1.73m² (range, 20.2 - 90.5 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意差が認められ(p < 0.0001)、コホート全体の結果とは対照的であった。ベースラインと SVR48 における eGFRcre の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 29.8 - 109.0 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 68.5 ml/min/1.73m² (range, 23.6 - 118.0 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差は認められず(Figure 7A 左②)、コホート全体の結果とは対照的であった。ベースラインと SVR48 における eGFRcys の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 57.1 ml/min/1.73m² (range, 23.5 - 94.1 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 60.5 ml/min/1.73m² (range, 20.2 - 90.5 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差は認められず(Figure 7A 左③)、コホート全体の結果と一致していた。

一方、非 LC 症例でベースライン及び SVR48 における eGFRcre と eGFRcys の比較を行ったところ(Figure 7A 右①)、ベースラインにおける eGFRcre の中央値は 72.9 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 146.4 ml/min/1.73m²)で eGFRcys の中央値は 71.6 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 128.6 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意な差は認められず(p = 0.2030)、SVR48 においても eGFRcre に中央値は 71.6 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 132.7 ml/min/1.73m²)で eGFRcys の中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意な差は認められなかった。ベースラインと SVR48 における eGFRcre の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 72.9 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 146.4 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 71.6 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 132.7 ml/min/1.73m²)であり、両者間に有意な差が認められ(p = 0.0011; Figure 7A 右②)、コホート全体の結果と一致していた。ベースラインと SVR48 における eGFRcys の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は eGFRcys の中央値は 71.6 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 128.6 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差は認められず(Figure 7A 右③)、

コホート全体の結果と一致していた。

血清アルブミン濃度が低い症例 (<4 g / dl) でベースライン及び SVR48 における eGFR_{cre} と eGFR_{cys} の比較を行ったところ(Figure 7B 左①)、ベースラインにおける eGFR_{cre} の中央値は 69.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 121 ml/min/1.73m²)で、eGFR_{cys} の中央値は 55.3 ml/min/1.73m² (range, 23.5 - 128.6 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意差が認められ(p < 0.0001)、コホート全体の結果と一致していたが、SVR48 における eGFR_{cre} の中央値は 65.0 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 118 ml/min/1.73m²)で、eGFR_{cys} の中央値は 58.7 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 117.0 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意差が認められ(p < 0.0001)、コホート全体の結果とは対照的であった。ベースラインと SVR48 における eGFR_{cre} の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 69.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 121 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 65.0 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 118 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差が認められ(p = 0.0227; Figure 7B 左②)、コホート全体の結果と一致していた。ベースラインと SVR48 における eGFR_{cys} の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 55.3 ml/min/1.73m² (range, 23.5 - 128.6 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 58.7 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 117.0 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差は認められず(Figure 7A 左③)、コホート全体の結果と一致していた。

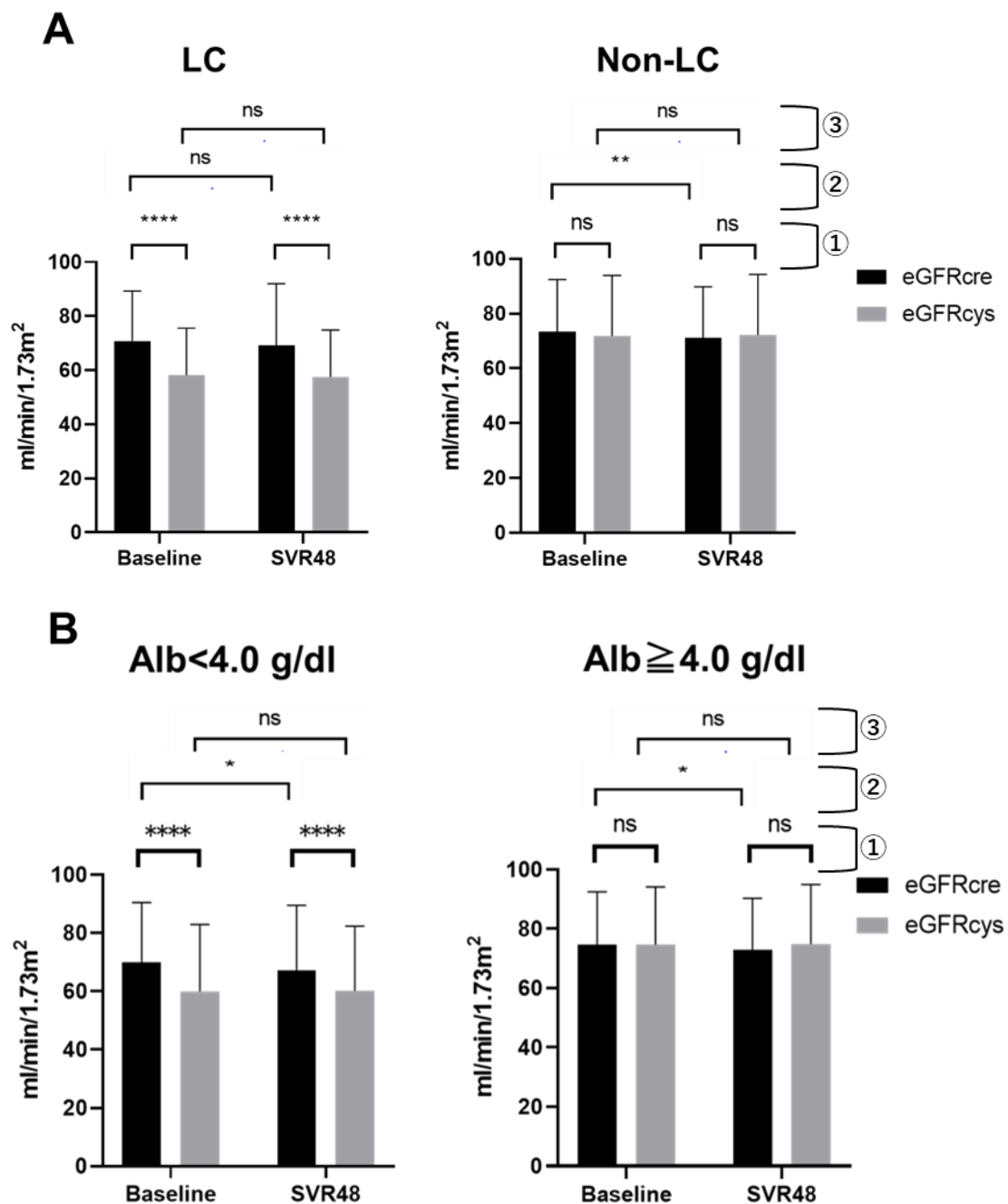
一方、血清アルブミン濃度の低下がない症例 (≥4 g / dl) でベースライン及び SVR48 における eGFR_{cre} と eGFR_{cys} の比較を行ったところ(Figure 7B 右①)、ベースラインにおける eGFR_{cre} の中央値は 75.0 ml/min/1.73m² (range, 30.0 - 146.0 ml/min/1.73m²)で eGFR_{cys} の中央値は 72.6 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 127.0 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意な差は認められず、SVR48 においても eGFR_{cre} の中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 133.0 ml/min/1.73m²)で eGFR_{cys} の中央値は 73.7 ml/min/1.73m² (range, 24.0 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意な差は認められなかった。ベースラインと SVR48 における eGFR_{cre} の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 75.0 ml/min/1.73m² (range, 30.0 - 146.0 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 73.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 133.0 ml/min/1.73m²)であり、両者間に有意な差が認められ(p = 0.0242; Figure 7B 右②)、コホート全体の結果と一致していた。ベースラインと SVR48 における eGFR_{cys} の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 72.6 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 127.0

ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 73.7 ml/min/1.73m² (range, 24.0 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差は認められず(Figure 7B 右③)、コホート全体の結果と一致していた。

70 歳以上の症例でベースライン及び SVR48 における eGFRcre と eGFRcys の比較を行ったところ(Figure 7C 左①)、ベースラインにおける eGFRcre の中央値は 64.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 109.0 ml/min/1.73m²)で、eGFRcys の中央値は 59.3 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 100.9 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意差が認められ(p < 0.0001)、コホート全体の結果と一致していたが、SVR48 における eGFRcre の中央値は 63.2 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 106.0 ml/min/1.73m²)で、eGFRcys の中央値は 60.8 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 114.3 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意差が認められ(p = 0.0055)、コホート全体の結果とは対照的であった。ベースラインと SVR48 における eGFRcre の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 64.0 ml/min/1.73m² (range, 27.0 - 109.0 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 63.2 ml/min/1.73m² (range, 13.0 - 106.0 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差が認められ(p < 0.0001; Figure 7C 左②)、コホート全体の結果と一致していた。ベースラインと SVR48 における eGFRcys の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 59.3 ml/min/1.73m² (range, 17.9 - 100.9 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 60.8 ml/min/1.73m² (range, 11.6 - 114.3 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差は認められず(Figure 7C 左③)、コホート全体の結果と一致していた。

一方、70 歳未満の症例でベースライン及び SVR48 における eGFRcre と eGFRcys の比較を行ったところ(Figure 7C 右①)、ベースラインにおける eGFRcre の中央値は 82.0 ml/min/1.73m² (range, 31.0 - 146.4 ml/min/1.73m²)で eGFRcys の中央値は 76.5 ml/min/1.73m² (range, 24.9 - 128.6 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意な差は認められず、SVR48 においても eGFRcre に中央値は 80.0 ml/min/1.73m² (range, 31.0 - 133.0 ml/min/1.73m²)で eGFRcys の中央値は 81.6 ml/min/1.73m² (range, 25.4 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり両者間に有意な差は認められなかった。ベースラインと SVR48 における eGFRcre の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 82.0 ml/min/1.73m² (range, 31.0 - 146.4 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 80.0 ml/min/1.73m² (range, 31.0 - 133.0 ml/min/1.73m²)であり、両者間に有意な差が認められ(p = 0.0022; Figure 7C 右②)、コホート全体の結果と一致していた。ベースラインと SVR48 におけ

る eGFRcys の比較を行ったところ、ベースラインの中央値は 76.5 ml/min/1.73m² (range, 24.9 - 128.6 ml/min/1.73m²)で SVR48 の中央値は 81.6 ml/min/1.73m² (range, 25.4 - 133.3 ml/min/1.73m²)であり、両者間には有意な差は認められず(Figure 7A 右③)、コホート全体の結果と一致していた。



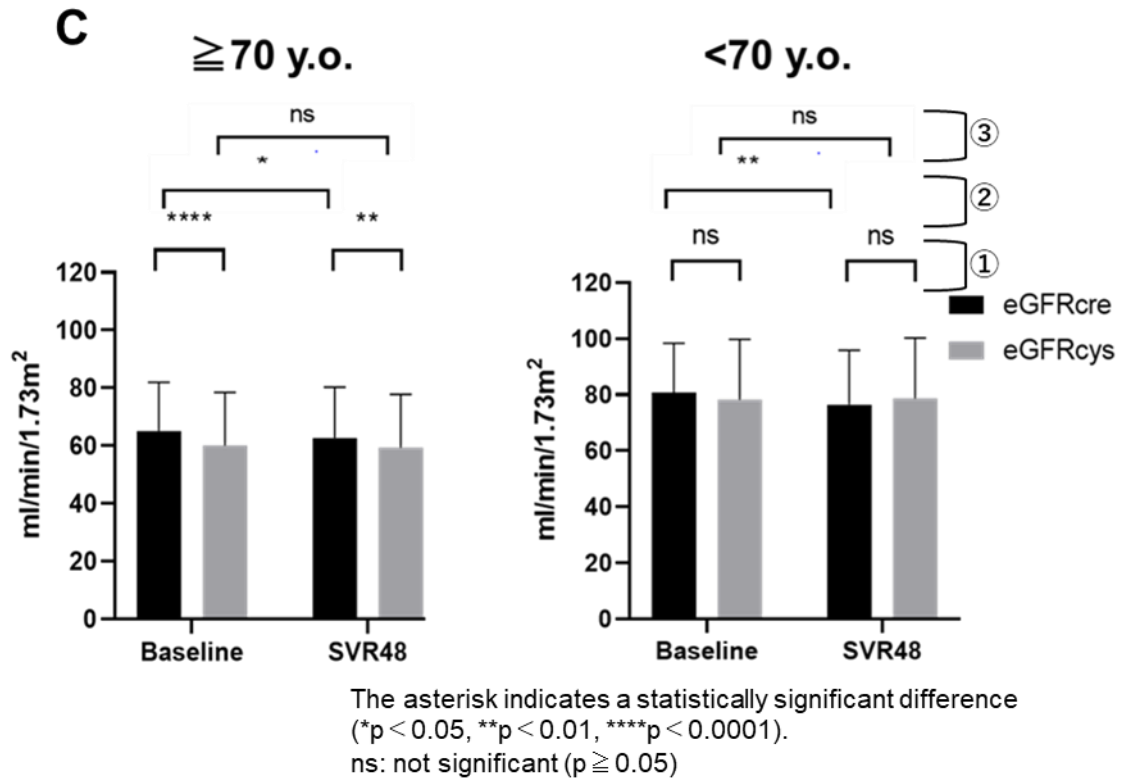


Figure 7. eGFRcre の過大評価と関連した因子によるサブグループ解析

LC 症例でベースライン及び SVR48 において eGFRcre と eGFRcys を比較すると有意な差が認められたが(A 左①)、他の比較では有意差を認めなかった(A 左②③)。非 LC 症例ではベースラインと SVR48 における eGFRcre を比較すると有意な差が認められたが(A 右②)、他の比較では有意差を認めなかった(A 右①③)。血清アルブミン濃度が低い症例でベースライン及び SVR48 において eGFRcre と eGFRcys を比較すると有意な差が認められた(B 左①)。ベースラインと SVR48 における eGFRcre の比較でも有意な差が認められたが(B 左②)、eGFRcys は有意な差を認めなかった(B 左③)。血清アルブミン濃度の低下がない症例ではベースラインと SVR48 における eGFRcre を比較すると有意な差が認められたが(B 右②)、他の比較では有意差を認めなかった(B 右①③)。70 歳以上の症例でベースライン及び SVR48 において eGFRcre と eGFRcys を比較すると有意な差が認められた(C 左①)。ベースラインと SVR48 における eGFRcre の比較でも有意な差が認められたが(C 左②)、eGFRcys は有意な差を認めなかった(C 左③)。70 歳未満の症例ではベースラインと SVR48 における eGFRcre を比較すると有意な差が認められたが(C 右②)、他の比較では有意差を認めなかった (C 右①③)。

5. 治療後の骨格筋量変化と eGFR_{cre}、eGFR_{cys} への影響の検討

本研究の対象となった 207 例のうち、ベースラインと SVR48 以降の 2 時点でペアとなる CT 検査を撮像していたのは 57 例であった。この 57 例において DAAs 治療後の骨格筋量の変化を検討した。Table 4 に検討を行った症例のベースラインにおける患者背景を示す。年齢の中央値は 74 歳で、29 例が男性であった。ベースラインにおける PMI の中央値は 4.23 cm²/m² であり、男性で 4.93 cm²/m²、女性で 3.76 cm²/m² であった。

Table 4. 骨格筋量の変化を評価した症例のベースラインにおける患者背景

Number	57
Age (years) [†]	74 (45–90)
Sex (male/female)	29/28
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.2 (3.7–7.1)
HCV Serotype (1/2/3/4/others)	47/9/0/1
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others	17/19/9/6/6
LC/non-LC	26/31
Platelet count (× 10 ⁴) [†]	12.2 (4.3–35.9)
Albumin (g/dL) [†]	3.7 (2.6–4.8)
AST (IU/L) [†]	47 (17–155)
ALT (IU/L) [†]	36 (14–128)
FIB-4 index [†]	4.96 (0.693–10.7)
AFP (ng/mL) [†]	6.7 (1.5–83.9)
Creatinine (mg/dl) [†]	0.73 (0.41–1.81)
Cystatin C (mg/L) [†]	1.19 (0.63–2.22)
Diabetes mellitus n (%)	11 (19.3)
Previous treatment (yes/ no)	20/37
PMI (cm ² /m ²) [†]	4.2 (1.9–9.3)
Male	4.9 (2.5–9.3)
Female	3.8 (1.9–6.0)

[†]Data are shown as median (range) values.

ベースラインと SVR48 における PMI を比較したところ、両者で明らかな有意差は認めなかった（ベースラインで中央値 4.37 cm²/m²、SVR48 以降で中央値 4.46 cm²/m²、 $p = 0.14$ ）。しかしながら、37 例（65%）の症例ではベースラインと比較して SVR48 で PMI の増加を認めた。さらにベースラインと SVR48 における PMI の変化率の比較を行ったところ SVR48 の PMI の変化率の中央値は 0.0198 (range, -0.248 - 0.339)であり有意な差が認められた($p = 0.0316$; Figure 8)。

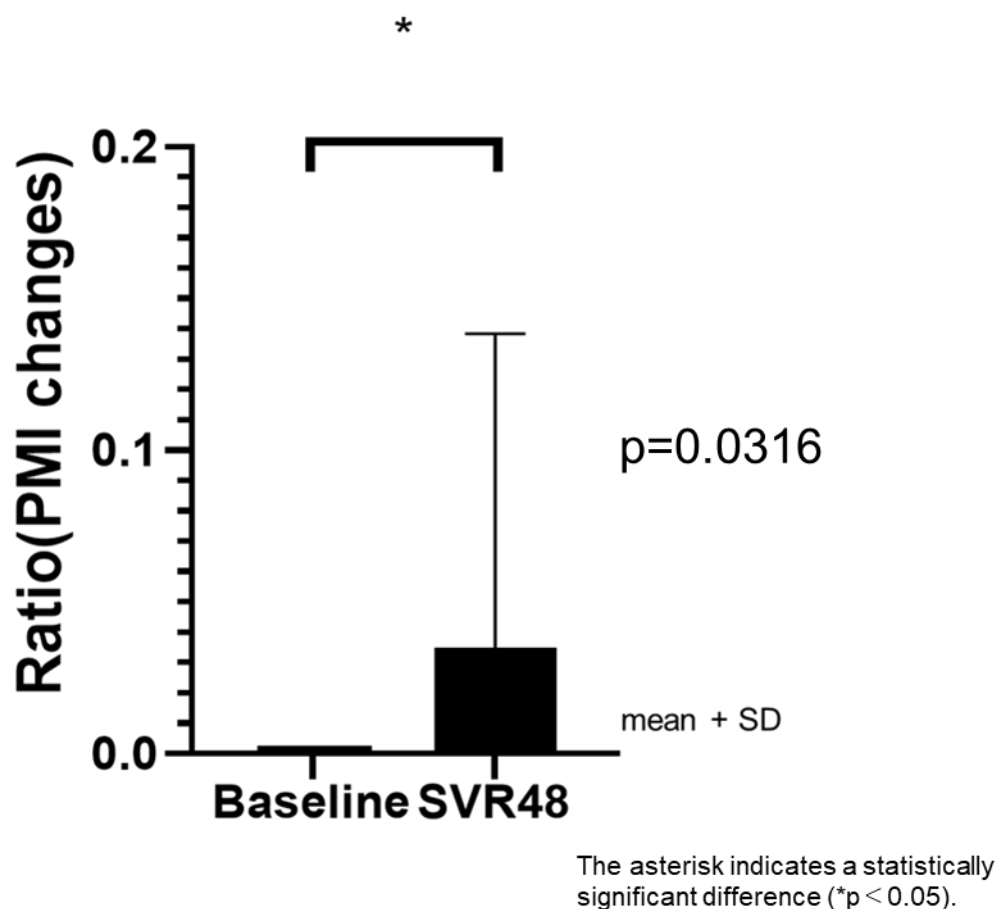


Figure 8. 治療後の PMI の変化率の検討

ベースラインと SVR48 における PMI の変化率を比較すると有意な差が認められた。

SVR48 において PMI が増加した症例と増加を認めなかった症例で層別化し、ベースラインの臨床データを用いて単変量解析を行ったが、全ての項目において両者間で有意な差を認めず、DAAs 治療による HCV 排除後の

PMI 増加に関連する因子を見出すことはできなかった (Table 5)。

Table 5. 治療後の PMI 増加に関連する因子の検討

	all	PMI increased	PMI non-increased	P value
Number	57	37	20	
Age (years) [†]	74(45-90)	74.0(51-90)	68.5(45-89)	0.2997
Sex (male/female)	29/28	20/17	9/11	0.5854
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.2(3.7-7.1)	6.2(3.7-7.1)	6.0(3.8-7.0)	0.2619
HCV serotype (1/2/3/4)	47/9/0/1	30/6/0/1	17/3/0/0	0.7494
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others	17/19/9/6/6	9/15/6/3/4	8/4/3/3/2	0.5059
LC/non-LC	26/31	14/23	12/8	0.1638
Platelet count ($\times 10^4$) [†]	12.2(4.3-35.9)	13.4(4.3-27.6)	10.3(4.7-35.9)	0.367
Albumin (g/dL) [†]	3.7(2.6-4.8)	3.7(2.7-4.7)	3.7(2.6-4.8)	0.7604
AST (IU/L) [†]	47(17-155)	43(23-155)	58(32-104)	0.7637
ALT (IU/L) [†]	36(14-128)	35(14-114)	42(14-128)	0.7027
FIB-4 index [†]	4.96(0.693-10.7)	4.0(0.9-10.7)	6.5(0.7-9.7)	0.2056
AFP (ng/mL) [†]	6.7(1.5-83.9)	6.6(1.5-60.7)	10.1(1.8-83.9)	0.1546
Creatinine (mg/dL) [†]	0.73(0.41-1.81)	0.8(0.41-1.81)	0.7(0.47-1.81)	0.7274
Cystatin C (mg/L) [†]	1.19(0.63-2.22)	1.2(0.7-2.19)	1.1(0.63-2.22)	0.4081
Diabetes mellitus n (%)	11(19.3)	5(13.5)	6(30)	0.1677
Previous treatment (yes/ no)	20/37	14/23	6/14	0.7718

[†]Data are shown as median (range) values.

*Statistically significant difference, $p < 0.05$.

次に SVR48 で PMI が増加した症例と増加しなかった症例で腎機能について検討を行った。PMI が増加した症例におけるベースラインと SVR48 の eGFRcre の比較を行ったところベースラインの eGFRcre の中央値は 69.0 ml/min/1.73m² (range, 31.0 - 109.0 ml/min/1.73m²)で、SVR48 の eGFRcre の中央値は 65.0 ml/min/1.73m² (range, 24.0 - 106.0 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差が認められた($p = 0.0273$; Figure 9 左)。一方、PMI が増加しなかった症例におけるベースラインと SVR48 の eGFRcre の比較を行ったところベースラインの eGFRcre の中央値は 67.5 ml/min/1.73m² (range, 31.0 - 94.0 ml/min/1.73m²)で、SVR48 の eGFRcre の中央値は 65.0 ml/min/1.73m² (range, 33.0 - 107.0 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差は認められなかった (Figure 9 右)。PMI が増加した症例におけるベー

スラインと SVR48 の eGFRcys の比較を行ったところベースラインの eGFRcys の中央値は 52.8 ml/min/1.73m² (range, 25.1 - 94.1 ml/min/1.73m²)で、SVR48 の eGFRcys の中央値は 56.1 ml/min/1.73m² (range, 21.2 - 94.2 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差は認められなかった(Figure 9 左)。さらに、PMI が増加しなかった症例におけるベースラインと SVR48 の eGFRcys の比較を行ったところベースラインの eGFRcys の中央値は 64.6 ml/min/1.73m² (range, 24.9 - 116.6 ml/min/1.73m²)で、SVR48 の eGFRcys の中央値は 61.1 ml/min/1.73m² (range, 37.8 - 91.8 ml/min/1.73m²)であり両者間には有意な差は認められなかった(Figure 9 右)。eGFRcys は、PMI が増加した症例と増加しなかった症例の両方で、ベースラインと SVR48 の間で有意な差は認められず、PMI の変化の影響を受けないことが明らかになった。

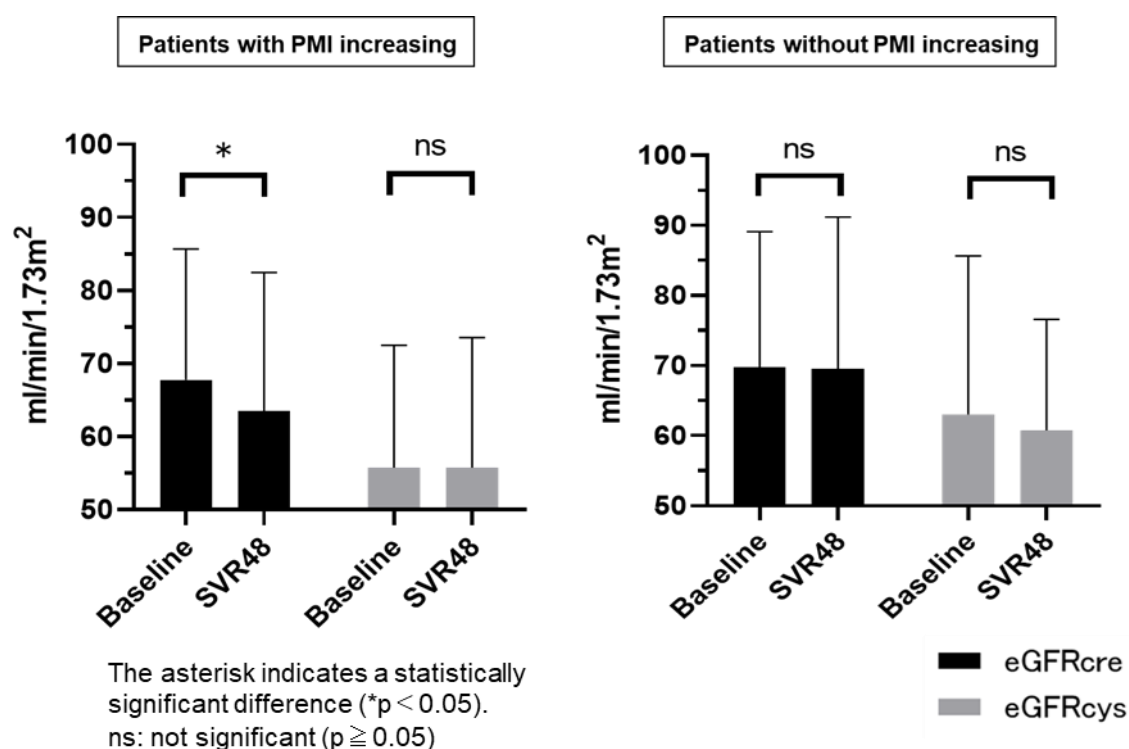


Figure 9. 治療後の PMI 増加の有無と腎機能の変化

PMI が増加した症例におけるベースラインと SVR48 の eGFRcre を比較すると有意な差が認められたが、eGFRcys を比較すると有意な差は認められなかった(左)。PMI が増加しなかった症例においては、eGFRcre、eGFRcys とともにベースラインと SVR48 で有意な差は認められなかった(右)。

さらに、月毎の PMI の変化率である $\Delta \text{PMI/month}$ を算出し、 eGFRcre と eGFRcys の変化率との関連を検討した。ベースラインから SVR48 の eGFRcys の変化率と $\Delta \text{PMI/month}$ の関連について検討したところ両者間には有意な相関関係は認められなかった($r = -0.099$, $p = 0.4657$; Figure 10 右)。一方で、ベースラインから SVR48 の eGFRcre の変化率と $\Delta \text{PMI/month}$ の関連について検討したところ両者間には弱い負の相関関係が認められた($r = -0.317$, $p = 0.0161$; Figure 10 左)。したがって、DAAs 治療後の eGFRcre の悪化は PMI の変化に関与する事が示唆された。

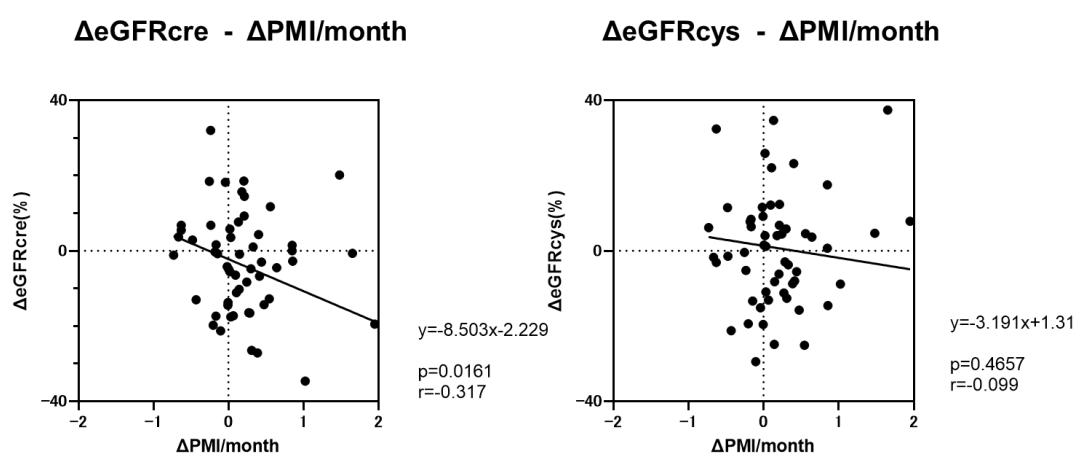


Figure 10. $\Delta \text{PMI/month}$ と eGFRcre 、 eGFRcys の変化率の関連

ベースラインから SVR48 の eGFRcre の変化率と $\Delta \text{PMI/month}$ の間には弱い負の相関が認められたが(左)、 eGFRcys の変化率との間には有意な相関は認められなかった(右)。

次にベースライン及び SVR48 における血清クレアチニン濃度、血清シスタチン C 濃度と PMI の関連を検討した。ベースラインにおける血清シスタチン濃度と PMI の関連について検討したところ両者間には有意な相関関係は認められなかった($r = 0.182$, $p = 0.1155$; Figure 11A 右)。また SVR48 における血清シスタチン濃度と PMI の関連について検討したところ両者間には有意な相関関係は認められなかった($r = 0.176$, $p = 0.1913$; Figure 11B 右)。一方でベースラインにおける血清クレアチニン濃度と PMI の関連について検討したところ両者間には弱い正の相関関係が認められた($r = 0.355$, $p = 0.0016$; Figure 11A 左)。また SVR48 における血清クレアチニン濃度と PMI の関連について検討したところ両者間には弱い正の相関関係が認められた($r = 0.307$, $p = 0.0203$; Figure 11B 左)。

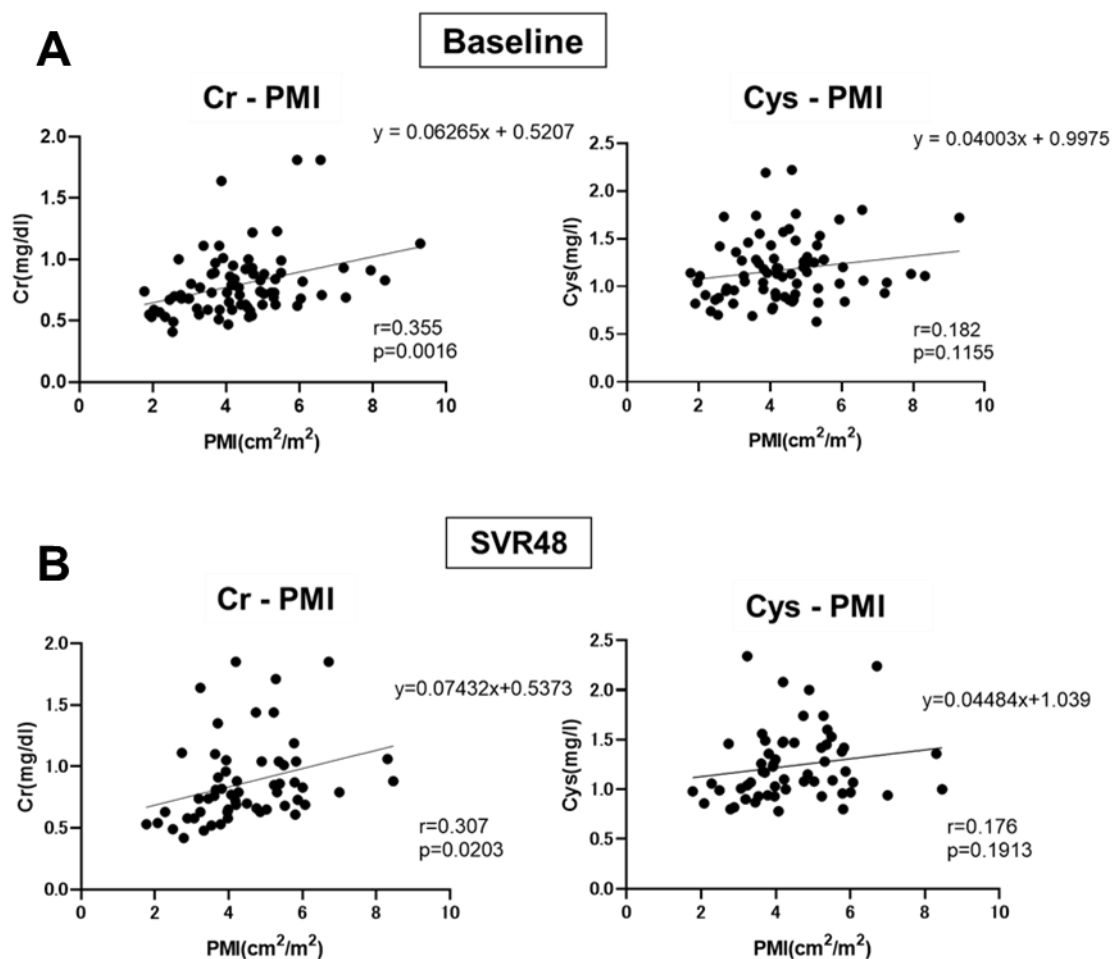


Figure 11. ベースライン及び SVR48 における PMI と血清クレアチニン、シスタチン C 濃度の関連

ベースラインにおける血清クレアチニン濃度と PMI の間には弱い正の相関が認められたが、血清シスタチン濃度との間には有意な相関関係は認められなかった(A)。また SVR48 における血清クレアチニン濃度と PMI の間には弱い正の相関が認められたが、血清シスタチン濃度との間には有意な相関関係は認められなかった(B)。

考察

HCV 感染は多彩な病態から腎機能障害の原因となり得る(Fabrizi et al., 2013; Lee et al., 2014)が、IFN 治療により HCV が排除されると、慢性腎疾患の合併率が抑制されることが報告されている(Cheng et al., 2005)。したがって、DAAs 治療による HCV 排除もまた、HCV 感染に併存した腎機能障害を改善することが期待された。しかしながら、最近の台湾からの大規模研究で、DAAs 治療後に eGFRcre が低下した事が報告されており、DAAs 治療が腎機能に与える影響については依然議論の余地がある(Tsai et al., 2019)。本研究では、DAAs 治療による HCV 排除後に見られる真の腎機能の変化を eGFRcre, eGFRcys を用いて検討し、それらの変化と関連する因子について検討した。

MELD スコアは肝硬変患者の 3 か月以内の死亡率と相関し、肝移植の順位決定に使用されている(Wiesner et al., 2003)。また MELD スコアの評価項目には血清クレアチニン濃度による腎機能評価が含まれている。よって、血清クレアチニン濃度の変化は MELD スコアの変化に直結し、肝移植の順位決定に影響を与える可能性があるため、慢性肝疾患患者において正確に腎機能の評価することは非常に重要となる。クレアチニン自体は、クレアチンの代謝産物として筋肉で産生され、血中へ流入し糸球体で濾過された後に、尿細管でほとんど再吸収されることなく速やかに尿中へ排出される。クレアチンは、肝臓で生成され、筋肉へ運搬、貯蔵されている。そのため、血中クレアチニン濃度は肝機能や骨格筋量によって影響を受ける(Yoo et al., 2019)。一方で、シスタチン C は、全身の有核細胞から産生され、一定の割合で分泌され糸球体ですべて濾過された後、尿細管で再吸収され分解される為、性別や年齢、肝機能や骨格筋量に影響を受けない(Rawlins and Barrett, 1990)。そのため、肝疾患患者において正確な腎機能評価に有用なバイオマーカーと考えられる。

本研究では、DAAs 治療後の腎機能の変化を評価するために、207 例の HCV 感染患者の eGFRcre と eGFRcys を評価した。Figure 5 に示すように、DAAs 治療による HCV 排除後、eGFRcre は有意に増悪し、既報と一致した結果となった。一方で、eGFRcys は DAAs 治療前後で有意な変化を認めなかった。この結果から、DAAs 治療後に腎機能が増悪したのではなく、ベースラインの eGFRcre が過大評価されていた可能性を考えた。加えてベースラインにおいて eGFRcre は、eGFRcys よりも有意に高かった一方で、SVR48 では eGFRcre と eGFRcys に有意差を認めなかった結果からも、ベ

ースラインで eGFRcre が過大評価されているという仮説と一致した。また、Table 2 に示した多変量解析の結果から、ベースラインでは LC の有無と血清アルブミン濃度が、SVR48 では LC の有無と年齢が eGFRcre の過大評価と有意に関連していることが明らかになった。本研究の結果と一致して、肝硬変患者において GFR、eGFRcre、及び eGFRcys を比較し、eGFRcre が頻繁に過大評価されていることが報告されている(Yoo et al., 2019)。

DAA 治療後に、eGFRcre の過大評価が是正された理由については依然明らかではない。本研究では、その理由について DAA 治療による HCV 排除後の骨格筋量の変化に着目し検討を行った。慢性肝疾患は、二次性サルコペニアの主な原因疾患の 1 つである。LC 患者では蛋白質合成に参与するインスリン様成長因子 1、ビタミン D、L-カルニチン、及び分岐鎖アミノ酸等の欠乏をしばしば認め、骨格筋量の低下をもたらす(Ohara et al., 2020b; Katsanos et al., 2006; Børsheim et al., 2008)。申請者の研究室では以前に、肝線維化が進行した患者または高齢の患者は骨格筋量が低下していることを報告した(Ohara et al., 2020a)。

HCV 排除が骨格筋量に与える影響については、まだ十分に明らかにされていないものの、低骨格筋量の HCV 感染患者において、DAA 治療による HCV 排除後に骨格筋量が有意に増加したことが報告されている(Sugimoto et al., 2018)。したがって、本研究においても、C 型慢性肝疾患の影響による骨格筋量低下が血清クレアチニン濃度の低下につながり、ベースラインの eGFRcre の過大評価を引き起こした事が推測された。続いて、DAA 治療による HCV 排除後に骨格筋量が増加することによって、eGFRcre の過大評価が是正されたことが推測された。この仮説を裏付けるように、本研究では、PMI が増加した症例では eGFRcre が有意に悪化し、PMI の増加を認めなかった症例では治療前後で eGFRcre の有意差を認めなかった。一方で、eGFRcys は DAA 治療後の骨格筋量増加の有無にかかわらず、有意な変化を認めず、骨格筋量の影響を受けない腎機能評価手段であると考えられた。

DAA 治療以前は、IFN 療法が HCV に対する治療の主流であり、発熱や食欲不振などの IFN による有害事象が高頻度に出現し、しばしば治療後の体重が大幅に減少するため(Fioravante et al., 2012)、HCV 排除後の骨格筋量の変化を正確に評価できていなかった可能性がある。近年、DAA 治療が主流となったことにより、HCV 排除後の骨格筋量の変化における更なるデータの集積や検討が必要である。

また、HCV 感染患者では膜性増殖性糸球体腎炎(Membranoproliferative glomerulonephritis, MPGN)の有病率が非感染者に比べて有意に高いことが報告されているが(Fabrizi et al., 2013)、今回の研究では MPGN と診断された HCV 感染患者は含まれていなかった。MPGN の有病率は、HCV 非感染者で 0.05%、HCV 感染患者でも 0.36%と低いものの、これが HCV 排除後、eGFR_{cys} によって評価した腎機能も改善を認めなかった一因である可能性もあるため、さらに多くの症例を対象とした検討が必要と考えられる。

コホート全体では、DAAs 治療後に eGFR_{cre} による腎機能の過大評価が是正された。しかしながら、サブグループ解析では、LC の症例、70 歳以上の症例では SVR48 においても依然として eGFR_{cre} が eGFR_{cys} に比べ有意に高値であった。したがって、これらの背景を有する症例では、HCV 排除後も eGFR_{cre} が腎機能を過大評価している可能性を考慮する必要がある。LC の症例、70 歳以上の症例で、治療後も eGFR_{cre} の過大評価が是正されない要因は明らかではないが、LC 患者と高齢者では骨格筋の喪失が急速であることが報告されており(Ohara et al., 2020; Ohara et al., 2018)、DAAs 治療による HCV 排除後の骨格筋量増加の影響が失われた可能性も考えられ、更なる検討が必要である。

前述の如く、正確な腎機能評価は、慢性肝疾患患者の予後予測や肝移植待機症例の順位決定を行う上で極めて重要である(Francoz and Sola, 2019)。DAAs 治療は肝移植候補の症例においても適応となる治療であり、肝移植を必要とする症例の予後を評価する際は、より正確な腎機能評価を行うために、本研究で示した腎機能の過大評価に関する問題点を考慮に入れる必要があると考えられる。

本章の研究にはいくつかの制限がある。本研究は、単施設後方視的研究であり、ベースラインと SVR48 でペアとなる CT 検査を撮像していた症例の数が限られていた。また、観測期間が比較的限られており、検討が可能な非 SVR 症例が含まれていなかった。そのため SVR を達成した症例と非 SVR 症例での直接比較が欠けており、今後より多くの被験者を対象とした前向き研究が必要と考えられた。

《第二章》

DAAs 治療による C 型慢性肝疾患治療が

骨格筋量変化に与える影響と関連する因子の検討

緒言

HCV 感染は、肝臓及び肝移植の主要な原因疾患の 1 つである。近年、IFN フリー DAAs 治療が開発され、それまで治療の困難であった非代償性肝硬変症例、血液透析症例、高齢者を含む HCV 感染患者や、腎機能障害、心血管疾患、メタボリックシンドローム等の併存疾患を有する症例においても安全に 90%以上の高い SVR 率でウイルスを排除できるようになった(Takehara et al., 2019; Suda et al., 2018; Suda et al., 2019b)。DAAs 治療による HCV 排除は、肝臓の発生頻度の低下や肝線維化の改善、肝予備能の改善をもたらす(Nagata et al., 2017; Kawagishi et al., 2020; Kawagishi et al., 2018)だけでなく、クリオグロブリン血症や HCV 関連腎症、自己免疫疾患などの、HCV 感染による肝外病変についても改善させる可能性が示唆されている。HCV 感染による合併症の 1 つである骨格筋量の低下についても、DAAs 治療による HCV 排除が肝硬変患者の骨格筋量の喪失を抑制した事や、低骨格筋量患者の骨格筋量を増加させた事が報告されている(Sugimoto et al., 2018)。

原発性サルコペニアは、加齢に伴う筋萎縮と筋力低下と定義されている。C 型慢性肝炎や肝硬変を含む慢性肝疾患は、二次性サルコペニアの主な原疾患の一つであり(Cruz-Jentoft et al., 2010; Dasarathy, 2012; Hanai et al., 2016; Iritani et al., 2015; Masuda et al., 2014)、サルコペニアを合併した慢性肝疾患は予後不良とされている(Nishikawa et al., 2016)。すなわち、慢性肝疾患患者における骨格筋量の喪失に対して介入し、予防することは臨床的に非常に重要である。

申請者は第一章において、DAAs 治療による HCV 排除によりコホート全体で骨格筋量の変化率が上昇した事を明らかにした。しかし、HCV 排除に成功しても骨格筋量が増加せず、低骨格筋量が改善しない症例も存在した。HCV 排除後の骨格筋量変化に関する分子的なメカニズムについてはまだ十分に明らかにされておらず、第一章の検討においても治療後の骨格筋量増加に関与した因子を明らかにすることは出来なかった。HCV 排除後の骨格筋量変化のメカニズムを明らかにすることは、慢性肝疾患患者におけるサルコペニアのマネジメントの一助になる可能性があり、臨床的に重要と考えられる。そのため第二章では、実臨床上で収集可能な臨床データに加えて、肝疾患患者の骨格筋量低下との関連が報告されている種々の因子について追加で検討を行う事で、骨格筋量変化に関与する因子やメカニズムを明らかにする事を目的とした。

方法

1. 研究の種類・デザイン

単施設後ろ向き観察研究

2. 対象となる患者

2014 年 10 月から 2019 年 11 月の間に北海道大学病院で通院された患者のうち以下の選択基準（1）を満たし、かつ除外基準（2）のいずれにも該当しない場合を適格とした。

（1）選択基準

- ①北海道大学病院で IFN フリーDAAs 治療を受け SVR となった HCV 感染患者
- ②ベースライン及び SVR48 以降の 2 時点でペアとなる CT 検査を撮像されていた患者
- ③本研究への参加について自由意思による同意が得られた患者、もしくは研究の参加について拒否しない患者
- ④適切な臨床情報を有する患者

（2）除外基準

- ①DAAs 治療に抵抗性のあった患者

- ②肝移植患者
- ③血液透析患者
- ④臨床情報や保存血清が欠落している患者
- ⑤ヒト免疫不全ウイルスまたは B 型肝炎ウイルスとの重複感染がある患者
- ⑥他の肝疾患の既往のある患者

3. 検討項目

DAA 治療を受けた HCV 感染患者を対象とし、治療前後の骨格筋量の変化と関連する因子の検討を行った。

4. 観察及び測定項目とその測定方法

ベースラインと SVR48 時点での年齢、性別、HCV セロタイプ、DAA 治療に用いられて薬剤、前治療の有無、治療前血液生化学的データ等に関するデータを収集した。

LC の有無については、肝生検による組織所見、肝硬度、画像検査所見、血液検査データにより総合的に診断した (Ohara et al., 2018)。

肝硬度は、FibroScan® (Echosens, Paris, France) の M-probe と XL-probe による肝硬度測定 (Liver Stiffness measurement, LSM) による非侵襲的な方法により、肝線維化の評価を行った。

また、肝線維化予測として FIB-4 index を使用した (Vallet-Pichard et al., 2007)。FIB-4 index は $[(\text{年齢} \times \text{AST}) / (\text{血小板数} \times (\text{ALT})^{1/2})]$ で計算した。

さらに、肝疾患患者の骨格筋量低下との関連が報告されている 25-ヒドロキシビタミン D (25-hydroxyvitamin D, 25(OH)-vit D)、総カルニチン、遊離カルニチン、亜鉛、分岐鎖アミノ酸 (Branched Chain Amino Acid, BCAA)、インスリン様成長因子 1 (Insulin-like growth factor 1, IGF-1) について検討を行うために、臨床データの収集、または保存血清を用いてそれぞれの血清濃度測定を行った。

患者の骨格筋量の変化については、治療開始時及び SVR48 以降の 2 時点で撮像したペアとなる CT 検査を用いて、第一章と同様に PMI

の変化率を算出し評価を行った。

さらに、骨格筋量の月毎の変化率を評価するために、第一章と同様に $\Delta \text{PMI/month}$ を算出した。

5. 治療プロトコール

・ DAAs 治療プロトコール

(1) ダクラタスビル (Daclatasvir, DCV)、アスナプレビル (Asunaprevir, ASV) 併用療法

DCV 1 回 60 mg を 1 日 1 回、ASV 1 回 100 mg を 1 日 2 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 24 週間経口投与した。

(2) ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF)、レジパスビル (Ledipasvir, LDV) 併用療法

SOF 400 mg と LDV 90mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(3) ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF)、リバビリン (Ribavirin, RBV) 併用療法

SOF 400mg を 1 日 1 回、RBV は体重に応じて、60kg 以下は 1 日投与量として 600 mg を、60kg 以上 80kg 以下は 800mg を、80kg を超える場合は 1000mg を Genotype 2 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(4) オムビタスビル (Ombitasvir, OBV)、パリタプレビル (Paritaprevir, PTV)、リトナビル (Ritonavir, r) 併用療法

OBV 25mg と PTV 150mg と r 100mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(5) ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF)、ベルパタスビル (Velpatasvir, VEL) 併用療法

SOF 400mg と VEL 100mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(6) グレカプレビル (Glecaprevir, GLE)、ピブレンタスビル (Pibrentasvir, PIB)併用療法

GLE300mg と PIB120mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype1 または 2 型の C 型肝炎症例に 8 週間、C 型代償性肝硬変症例に 12 週間、Genotype1 または 2 型以外の C 型慢性肝炎又は代償性肝硬変症例に 12 週間経口投与した。

(7) エルバスビル (Elbasvir, EBR)、グラゾプレビル (Grazoprevir, GZR)併用療法

EBR 50mg と GZR 100mg を 1 日 1 回、Genotype1 型の C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

どの治療プロトコールにおいても、減量や中止、投与期間については薬剤添付文書の基準に従った。

6. 治療効果の評価

治療終了後 12 週または 24 週間後の HCV-RNA により評価し、HCV-RNA の陰性化をもって SVR と判定した。

7. 統計解析

カテゴリー変数の解析にはフィッシャーの直接確率検定を使用し、連続変数の解析には Mann-Whitney の U 検定を、多群間比較には 1 元配置分散分析を使用した。すべての *P* 値 は両側検定で、0.05 未満を統計的に有意であるとした。多変量解析にはロジスティック回帰分析を使用した。カットオフ値は、Youden index を用いて受信者動作特性 (Receiver Operating Characteristic curve, ROC) 曲線に基づいて算出した。2 つの変数間の関係は Spearman の順位相関係数によって分析した。統計分析は、Prism 7.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) ソフトウェアパッケージを使用した。

8. 被験者を対象とした研究におけるインフォームドコンセント

本研究は「ヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月改定)」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号)」を遵守して実施され、あらかじめ臨床研究実施計画

書と患者説明同意文書を北海道大学病院長へ提出し、研究の実施に関して自主臨床研究審査委員会の承認及び病院の許可を得て行われた(自主臨床研究番号：自 016-0397)。研究参加に対して書面による同意が得られた症例、かつ参加を辞退しなかった症例を対象とした。

結果

1. 患者背景

Figure 1 に示すように、北海道大学病院で 2014 年 10 月から 2019 年 11 月までに IFN フリー-DAA 治療を受けた HCV 感染患者 279 例を対象とした。そのうち、通院の自己中断や転居等により観察期間が不十分な症例、臨床情報の欠落や保存血清が不足している症例、透析を受けている症例、評価に必要な CT 検査が撮像されていない症例が除外され、計 58 例が検討対象となった。

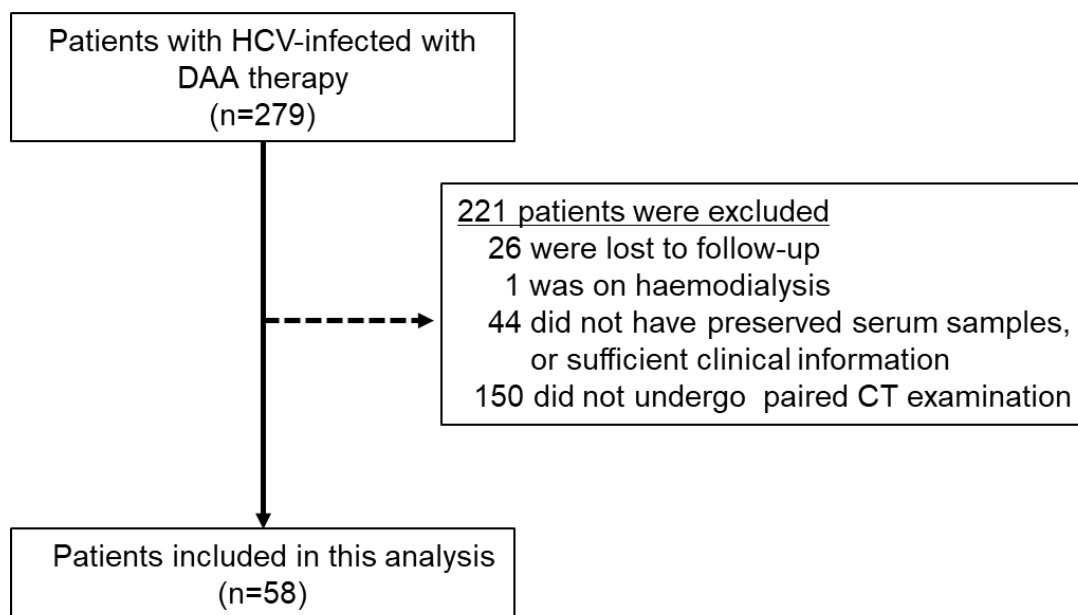


Figure 1. Study flow

Table 1 に示すように、58 例の年齢の中央値は 74 歳で、28 人(48.2%)が男性であった。HCV の遺伝子型は、セロタイプ 1 が 47 人(81%)で最多であった。LC の患者は 26 例(44.8%)であり、FIB-4 index の中央値は 5.1 であった。PMI の中央値は全体で 4.22 cm²/m²であり、男性では 5.30 cm²/m²、

女性では 3.89 cm²/m²であった。

Table 1. ベースラインにおける患者背景

Number	58
Age (years) [†]	74(43-90)
Sex (male/female)	28/30
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.2(3.7-7.2)
HCV Cerotype (1/2/3/4)	47/10/0/1
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others	13/19/9/6/11
LC/nonLC	28/30
Platelet count (× 10 ⁴) [†]	11.8(4.3-35.9)
Albumin (g/dL) [†]	3.7(2.7-4.8)
AST (IU/L) [†]	47(17-155)
ALT (IU/L) [†]	35(14-128)
FIB-4 index [†]	5.1(0.70-12.0)
AFP (ng/mL) [†]	6.7(1.5-83.9)
Creatine(mg/dl)	0.78(0.41-1.81)
Diabetes mellitus n (%)	11(19.0)
Alcohol drinking n (%)	4(6.9)
Previous treatment (yes/ no)	19/39
PMI (cm ² /m ²) [†]	4.22(2.08-8.46)
male	5.30(2.73-8.46)
female	3.89(2.08-6.50)
Body weight (kg)	59.0(32.0-102.0)
BMI(kg/m ²)	22.5(15.0-34.1)

[†]Data are shown as median (range) values.

2. DAAs 治療による HCV 排除後の骨格筋量変化と関連する因子の検討

ベースラインと SVR48 における PMI を比較したところ、両者で明らかな有意差は認めなかった（ベースラインで中央値 4.44 cm²/m²、SVR48 以降で中央値 4.56 cm²/m²、 $p=0.0556$ ）。しかしながら、DAAs 治療後に 41 例（70.7%）の症例で PMI の増加を認めた。さらにベースラインと SVR48 における PMI の変化率の比較を行ったところ SVR48 の PMI の変化率の中央値は 0.0243 (range, -0.248 - 0.356)であり有意な差が認められた ($p=0.0056$; Figure 2)。

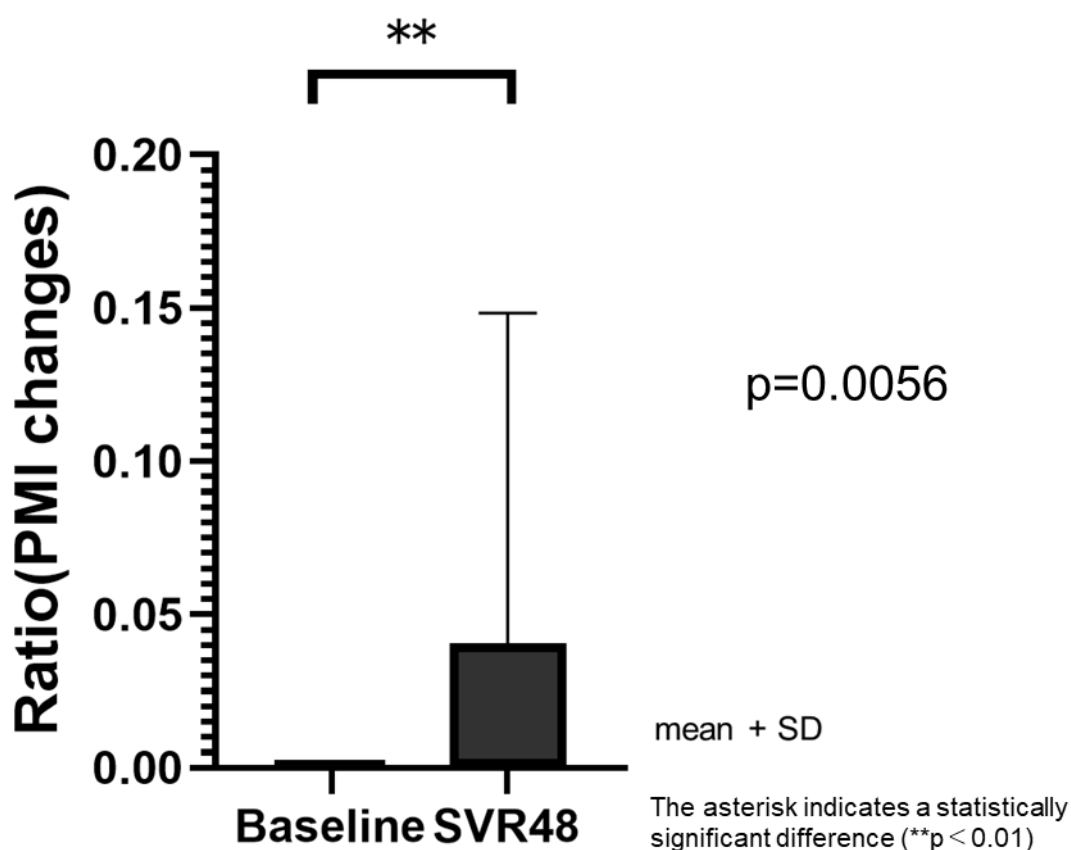


Figure 2. 治療前後の PMI の変化率の比較

ベースラインと SVR48 における PMI の変化率の比較を行ったところ有意な差が認められた。

SVR48 において PMI が増加した症例と増加を認めなかった症例で層別化し、ベースラインの臨床データを用いて単変量解析を行ったが、第一章同様、全ての項目において両者間で有意な差を認めず、DAAs 治療による HCV

排除後の PMI 増加に関連する因子を見出だすことはできなかった (Table 2)。

Table 2. 治療後の PMI 増加に関連する因子の検討

	all	PMI increase	PMI decrease	P value
Number	58	41	17	
Age (years) [†]		74.0(43-90)	68.0(45-89)	0.2573
Sex (male/female)		21/20	7/10	0.8396
HCV-RNA (log IU/mL) [†]		6.2(3.7-7.1)	5.8(3.8-7.0)	0.1861
HCV Cerotype (1/2/3/4)		33/7/0/1	14/3/0/0	0.8097
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others		8/15/6/3/9	5/4/3/3/2	0.5383
LC/nonLC		19/22	9/8	0.7749
Platelet count (× 10 ⁴) [†]		12.4(4.3-27.6)	9.6(4.7-35.9)	0.5354
Albumin (g/dL) [†]		3.7(2.7-4.7)	3.6(2.7-4.8)	0.8183
AST (IU/L) [†]		44(23-155)	58(17-94)	0.8254
ALT (IU/L) [†]		35(14-114)	40(14-128)	0.5550
FIB-4 index [†]		4.0(0.94-12.0)	6.35(0.70-9.68)	0.4283
AFP (ng/mL) [†]		6.6(1.5-60.7)	9.6(1.8-83.9)	0.1170
Creatine(mg/dl) [†]		0.79(0.41-1.81)	0.7(0.47-1.81)	0.8030
Diabetes mellitus n (%)		6(14.6)	5(29.4)	0.2704
Alcohol drinking n (%)		3(7.3)	1(5.9)	> 0.9999
Previous treatment (yes/ no)		14/27	5/12	> 0.9999
PMI (cm ² /m ²) [†]		4.19(2.08-8.46)	4.50(2.49-8.31)	0.5936
male		5.27(2.73-8.46)	5.28(2.89-8.31)	0.7124
female		3.77(2.08-6.50)	4.22(2.49-5.52)	0.3069
Body weight (kg) [†]		57.0(45-102)	60.4(32.0-83.0)	0.6313
BMI(kg/m ²) [†]		22.5(19.2-34.1)	23.6(15.0-28.6)	0.7885

[†] Data are shown as median (range) values.

*Statistically significant difference, p < 0.05.

そこで、慢性肝疾患患者における骨格筋量の変化に関連する事が報告されている因子についても追加で解析した。血清ビタミン D、IGF-1、亜鉛、BCAA、総カルニチン及び遊離カルニチン濃度は、慢性肝疾患患者における骨格筋の喪失と関連することが報告されており (Assy et al., 1997; Ceglia et al., 2010; Moriwaki et al., 2004; Nishikawa et al., 2016; Ohara et al., 2018)、ベースライン及び SVR48 における血清濃度を測定し、検討を行った。ベースラインと SVR48 における血清総カルニチン濃度の比較を行ったところ、ベースラインの血清総カルニチン濃度の中央値は 53.7 μmol/L (range, 17.8

- 83.6 $\mu\text{mol/L}$)で、SVR48 の血清総カルニチン濃度の中央値は 60.0 $\mu\text{mol/L}$ (range, 17.6 - 83.6 $\mu\text{mol/L}$)であり両者間には有意な差が認められた($p < 0.0001$; Figure 3A)。同様にベースラインと SVR48 における血清遊離カルニチン濃度の血清遊離カルニチン濃度の比較を行ったところ、ベースラインの血清遊離カルニチン濃度の中央値は 43.65 $\mu\text{mol/L}$ (range, 15.1 - 69.7 $\mu\text{mol/L}$)で、SVR48 の血清遊離カルニチン濃度の中央値は 46.9 $\mu\text{mol/L}$ (range, 30.2 - 87.5 $\mu\text{mol/L}$)であり両者間には有意な差が認められた($p = 0.0051$; Figure 3B)。同様にベースラインの血清亜鉛濃度 (中央値 60.0 $\mu\text{g/dL}$; range, 41 - 124 $\mu\text{g/dL}$)と SVR48 の血清亜鉛濃度(中央値 73.0 $\mu\text{g/dL}$; range, 36 - 96 $\mu\text{g/dL}$)の間にも有意な差が認められた($p < 0.0001$; Figure 3F)。一方で血清 25-ヒドロキシビタミン D (25-hydroxyvitamin D, 25(OH)-vit D) (Figure 3C)、IGF-1 (Figure 3D)、BCAA (Figure 3E)濃度はベースラインと SVR48 の間で有意な差が認められなかった。

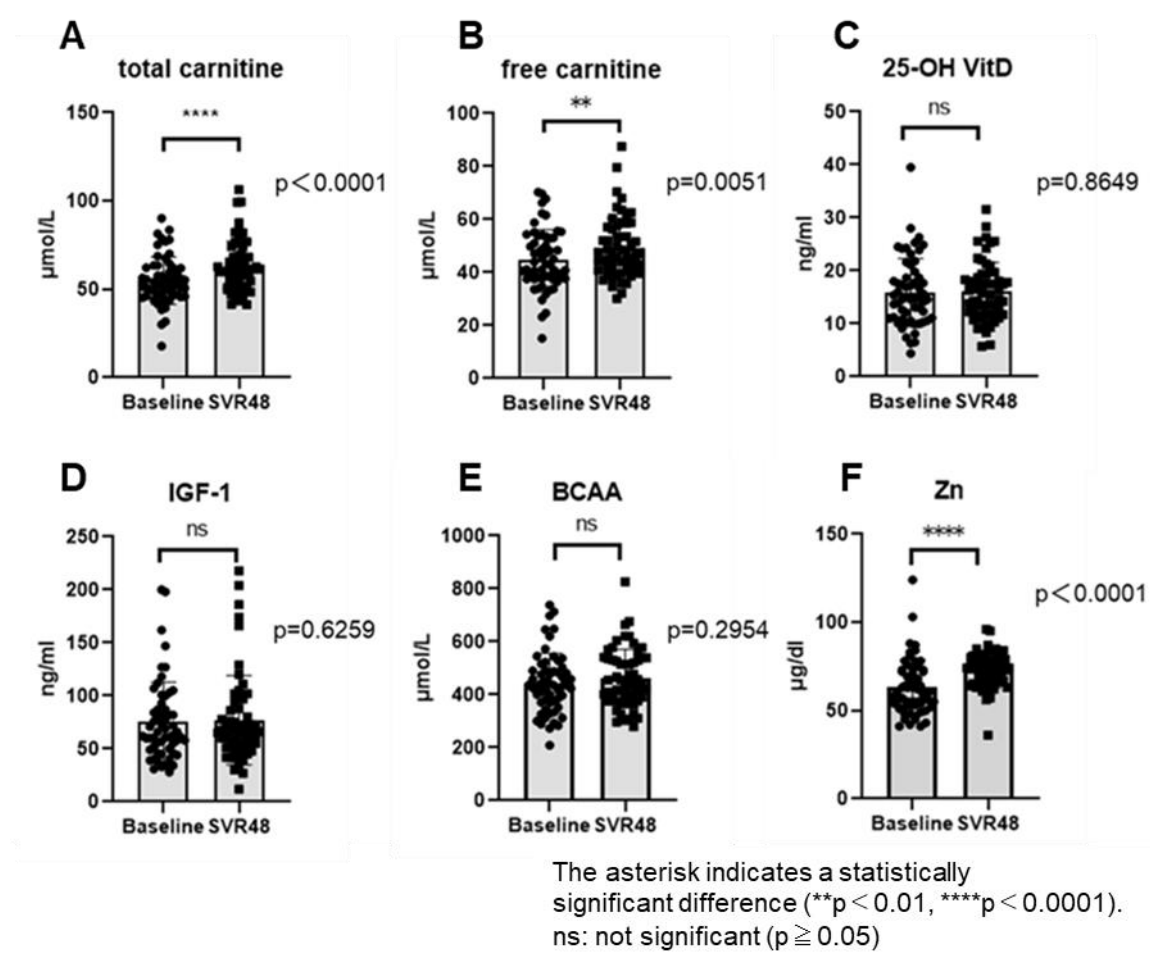
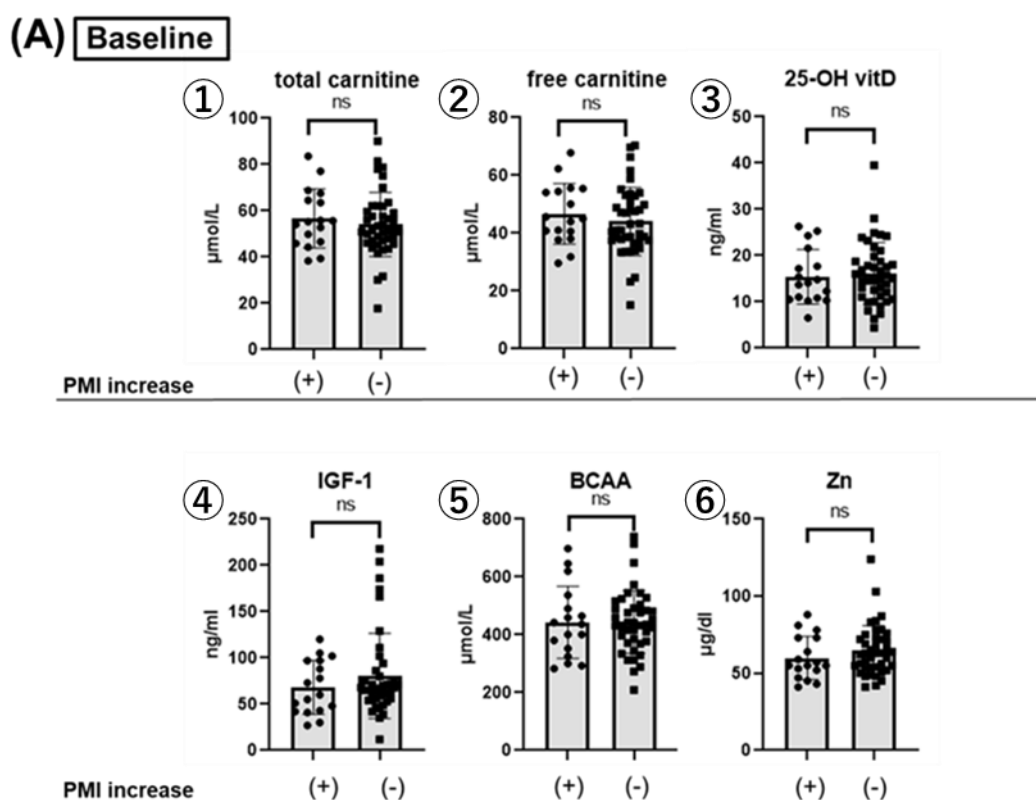


Figure 3. 追加解析を行った因子のベースラインと SVR48 における変化

ベースラインと SVR48 における各因子の血清濃度について比較すると、血清総カルニチン、遊離カルニチン、亜鉛濃度では有意差が認められた(A, B, F)。一方で血清 25(OH)-Vit D、IGF-1、BCAA 濃度では有意な差は認められなかった(C, D, E)。

続いて DAAs 治療後に PMI が増加した症例と、増加しなかった症例でベースラインと SVR48 の各因子の血清濃度を比較した。治療後に PMI が増加した症例と増加しなかった症例でベースラインにおける血清総カルニチン(Figure 4A①)、遊離カルニチン(Figure 4A②)、25(OH)-VitD (Figure 4A③)、IGF-1 (Figure 4A④)、BCAA (Figure 4A⑤)、亜鉛(Figure 4A⑥)濃度の比較を行ったところ、全ての因子で両者間には有意な差が認められなかった。ベースライン及び SVR48 の両方で、PMI 増加の有無で有意差を認めなかった。



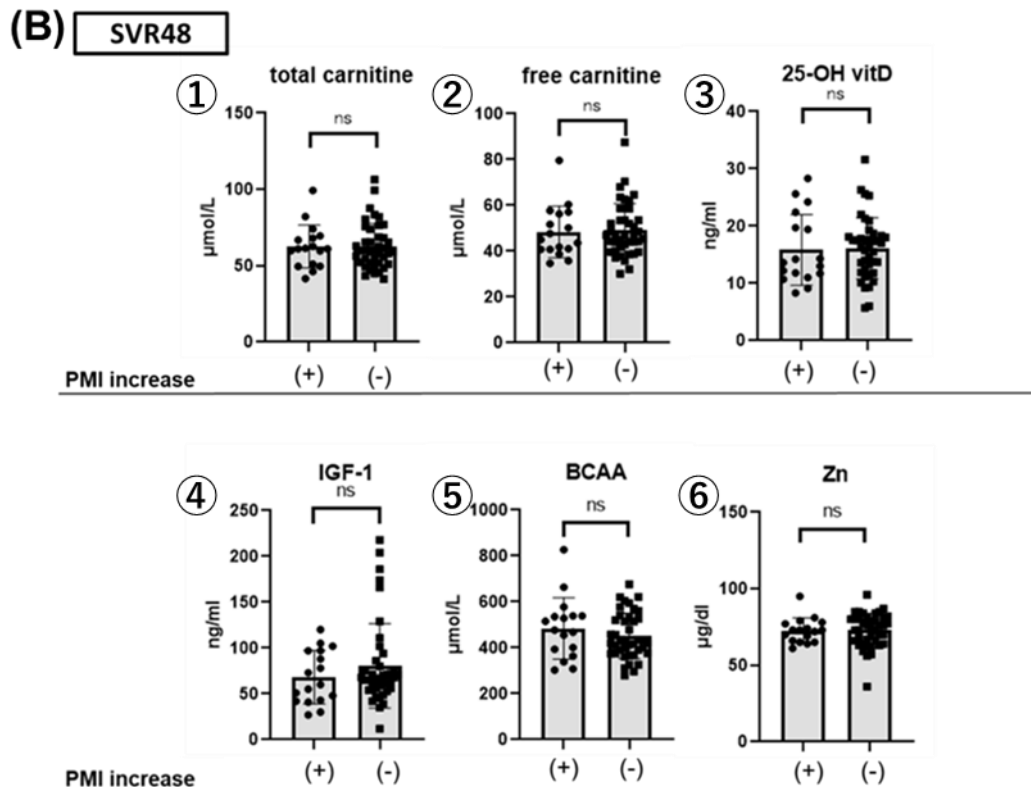


Figure 4. SVR48 における PMI 増加の有無で層別化した各因子の比較

(A) PMI が増加した症例(左)と増加しなかった症例(右)のベースラインにおける各因子の比較

PMI が増加した症例と増加しなかった症例でベースラインにおける血清総カルニチン濃度 (①)、血清遊離カルニチン濃度 (②)、血清 25(OH)-VitD 濃度 (③)、血清 IGF-1 濃度 (④)、血清 BCAA 濃度 (⑤)、血清亜鉛濃度 (⑥) を比較すると有意な差は認められなかった。

(B) PMI が増加した症例(左)と増加しなかった症例(右)の SVR48 における各因子の比較

ベースラインと同様、SVR48 において PMI が増加した症例と増加しなかった症例で有意な差を認めた因子はなかった。

続いて、 Δ PMI/month とベースラインから SVR48 の血清総カルニチン、遊離カルニチン、25-(OH) vitD、IGF-1、BCAA、亜鉛濃度の変化率との関連を検討した。 Δ PMI/month と血清総カルニチン($r = 0.229$, $p = 0.084$; Figure 5A)、25-(OH) VitD ($r = 0.137$, $p = 0.303$; Figure 5C)、IGF-1($r = 0.065$, $p = 0.629$; Figure 5D)、BCAA($r = 0.131$, $p = 0.327$; Figure 5E)、亜鉛($r = -0.170$, $p = 0.203$; Figure 5F)濃度の変化率の関連について検討を行

ったところ、全ての因子で両者間に有意な相関関係が認められなかった。一方で $\Delta \text{PMI/month}$ と血清遊離カルニチン濃度の変化率の関連について検討を行ったところ両者間には弱い正の相関関係が認められた ($r = 0.305$, $p = 0.020$; Figure 5B)。したがって血清遊離カルニチン濃度の上昇は、HCV 排除後の PMI の増加に關与している事が明らかになった。

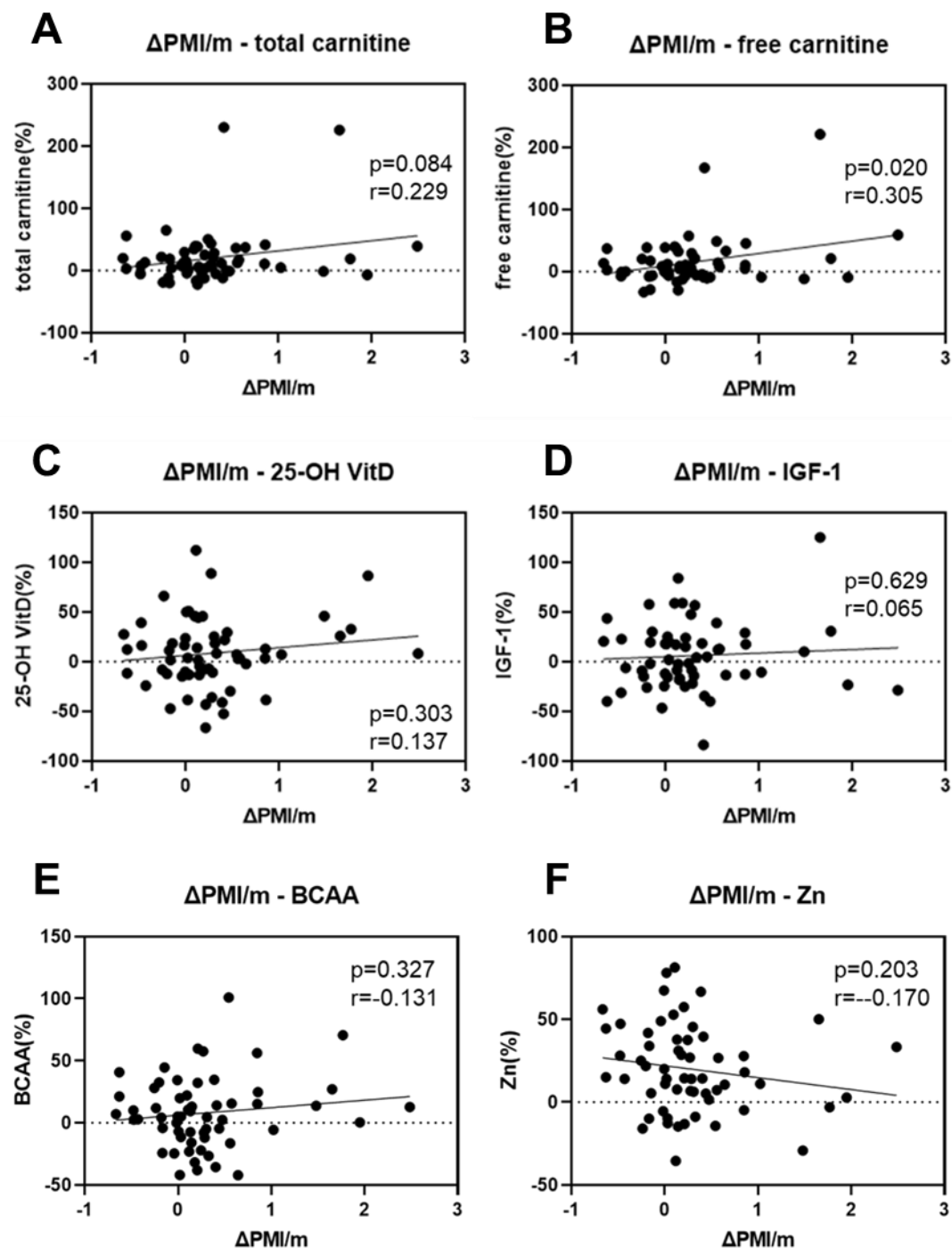


Figure 5. Δ PMI/month と各因子の変化率の関連

Δ PMI/month と血清遊離カルニチン濃度の変化率の間には弱い正の相関関係が認められた(B)。一方で、 Δ PMI/month と血清総カルニチン、25-(OH) vitD、IGF-1、BCAA 濃度の変化率の間には有意な相関関係は認められなかった(A, C, D, E, F)。

そこで、SVR48 で血清遊離カルニチン値が増加した症例と増加しなかった症例で層別化して検討した。治療後に血清遊離カルニチン濃度が増加した症例で、ベースラインと SVR48 における PMI の変化率の比較を行ったところ SVR48 における PMI の変化率の中央値は 0.0337 (range, -0.248 - 0.356)であり、両者間に有意な差が認められた($p = 0.0134$; Figure 6 左)。一方で治療後に血清遊離カルニチン濃度が増加しなかった症例で、ベースラインと SVR48 における PMI の変化率の比較を行ったところ SVR48 における PMI の変化率の中央値は 0.0206 (range, -0.0231 - 0.0238)であり、両者間に有意な差は認められなかった($p = 0.2135$; Figure 6 右)。

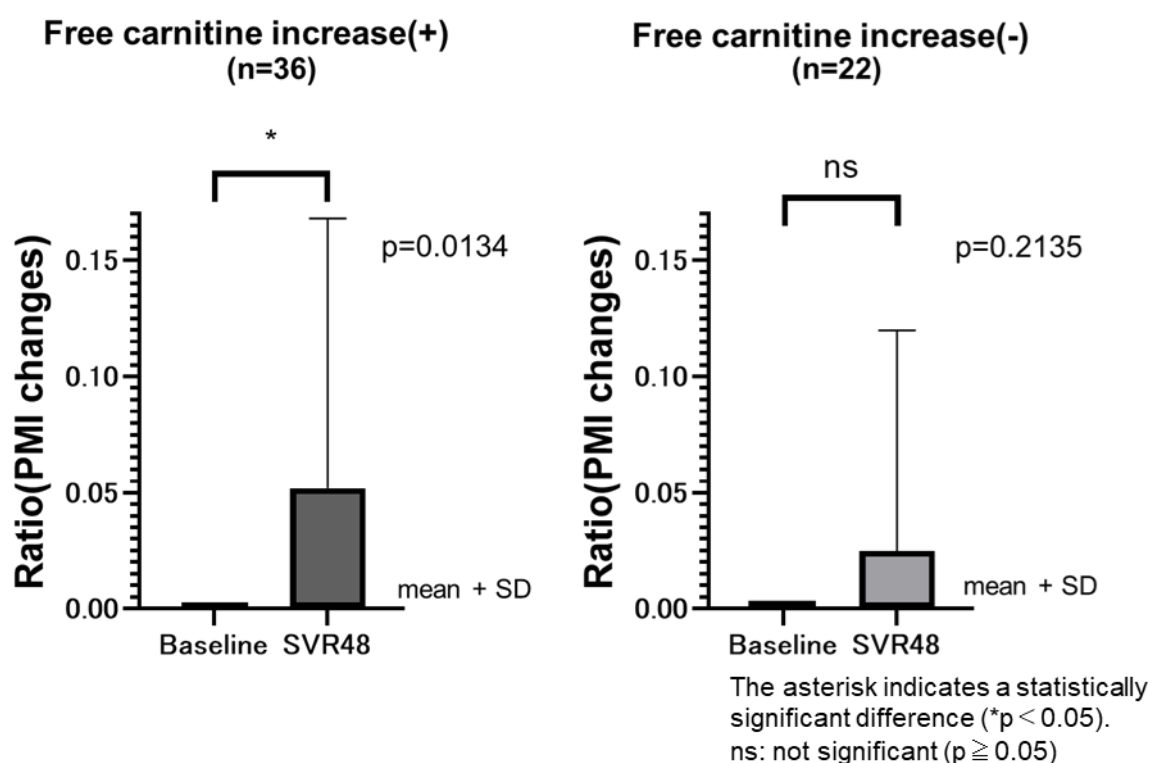


Figure 6. 治療後の血清遊離カルニチン濃度増加の有無による治療前後の PMI の変化率の比較

治療後に血清遊離カルニチン濃度が増加した症例で、ベースラインと SVR48 に

における PMI の変化率を比較すると有意な差が認められたが(左)、増加しなかった症例では有意な差は認められなかった(右)。

DAA 治療による HCV 排除後の血清遊離カルニチン濃度増加の要因は明らかではなく、関与した因子を検討するために、血清遊離カルニチン濃度の変化率と実臨床でルーチンとして測定される血清 AST、ALT 濃度、血小板数、血清アルブミン濃度、及びこれらから算出される FIB-4 index の変化率との関連について検討を行った。血清遊離カルニチン濃度の変化率と血小板数 ($r = 0.024$, $p = 0.857$; Figure 7B)、血清 AST ($r = -0.053$, $p = 0.695$; Figure 7C)、ALT ($r = -0.070$, $p = 0.601$; Figure 7D)、FIB-4 index ($r = -0.100$, $p = 0.469$; Figure 7E)濃度の変化率の関連について検討を行ったところ、全ての因子で両者間に有意な相関関係が認められなかった。一方、血清遊離カルニチン濃度の変化率と血清アルブミン濃度の変化率の関連について検討したところ両者間には弱い正の相関関係が認められた($r = 0.274$, $p = 0.038$; Figure 7A)。この相関のメカニズムについては明らかではないものの、HCV 排除後のアルブミンの肝合成能の回復に関連している可能性が考えられた。

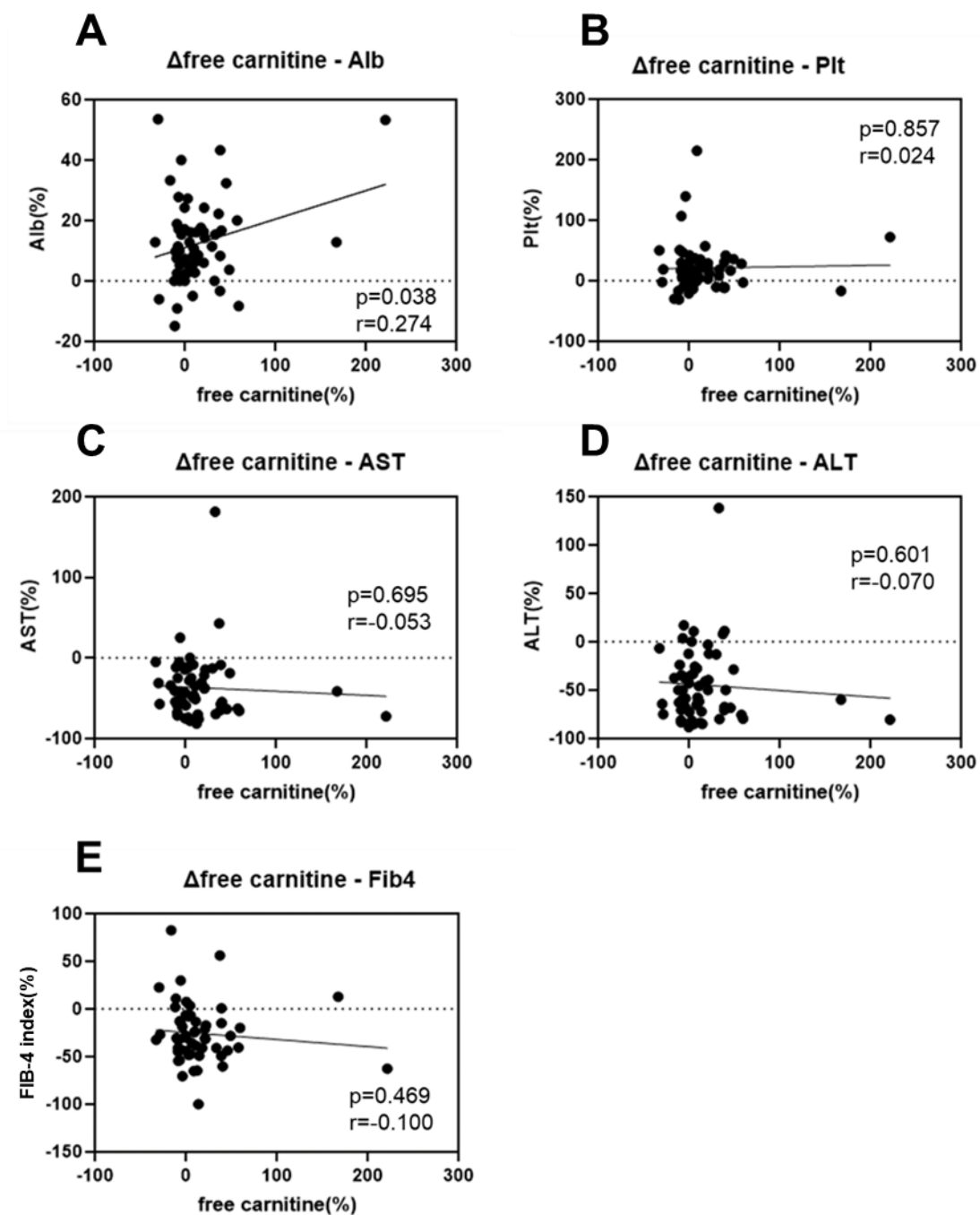


Figure 7. 血清遊離カルニチン濃度の変化率と実臨床で収集される血液生化学的検査所見の変化率の関連

血清遊離カルニチン濃度の変化率と血清アルブミン濃度の変化率の間には弱い正の相関関係が認められた(A)。一方で、血清遊離カルニチン濃度の変化率と血小板数、血清AST、ALT濃度、FIB-4 indexの変化率の間には有意な相関関係は認められなかった(B, C, D, E)。

DAA治療後に血清遊離カルニチン濃度が上昇した患者のうち、観察期間中に L-カルニチン製剤の投与が開始された症例が 3 例（2 例は筋肉痛のため、1 例は高アンモニア血症のため）存在した。そこで、L-カルニチン投与がある症例とない症例で患者背景の比較を行ったところ、両者間に有意な差が認められた因子はなく、患者背景はほぼ同様であった (Table 3)。

Table 3. L-カルニチン内服の有無によるベースラインの患者背景の比較

	L-carnitine p. o. (+)	L-carnitine p. o. (-)	P value
Number	3	55	
Age (years) [†]	73.0(61-75)	74.0(43-90)	0.7703
Sex (male/female)	1/2	27/28	> 0.9999
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.2(6.0-6.6)	6.2(3.7-7.2)	0.5183
HCV Cerotype (1/2/3/4)	3/0/0/0	44/10/0/1	0.691
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, OBV/PTV/r, others	2/1/0/0/0	11/18/9/6/11	0.3819
LC/nonLC	2/1	26/29	0.6053
Platelet count (×10 ⁴) [†]	7.5(6.7-13.6)	11.9(4.3-35.9)	0.2834
Albumin (g/dL) [†]	3.5(2.7-3.9)	3.7(2.7-4.8)	0.2992
AST (IU/L) [†]	62(53-79)	44(17-155)	0.4115
ALT (IU/L) [†]	45(35-114)	35(14-128)	0.1985
FIB-4 index [†]	8.8(3.2-9.2)	5.0(0.70-12.0)	0.3012
AFP (ng/mL) [†]	8.7(5.3-12.9)	6.6(1.5-83.9)	0.6892
Creatine(mg/dl)	0.63(0.61-0.92)	0.80(0.41-1.81)	0.4922
Diabetes mellitus n (%)	0(0)	11(20.0)	N/A
Previous treatment (yes/ no)	1/2	18/37	> 0.9999
PMI (cm ² /m ²) [†]	4.59(4.53-5.35)	4.23(2.08-8.46)	0.4417
Body weight (kg) [†]	58.0(44-61)	59.0(32.0-102.0)	0.5777
BMI(kg/m ²) [†]	22.6(19.8-26.8)	22.5(15.0-34.1)	0.9504

[†]Data are shown as median (range) values.

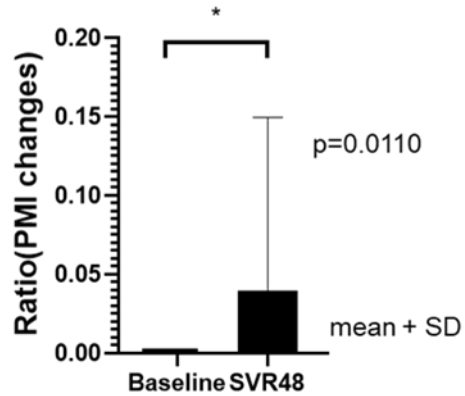
*Statistically significant difference, p < 0.05.

観察期間中に L-カルニチン製剤の投与を開始した症例を除いた症例においてベースラインと SVR48 における PMI の変化率に比較を行ったところ、SVR48 における PMI の変化率の中央値は 0.0211 (range, -0.248 - 0.356)で

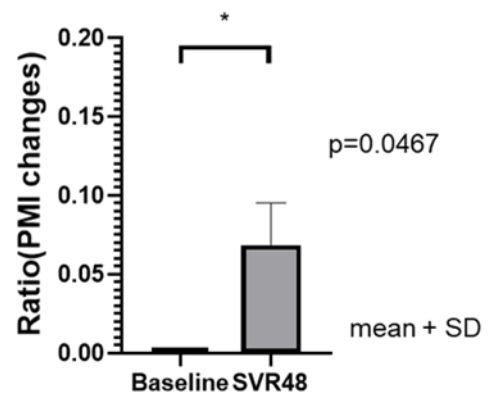
あり、両者間には有意な差が認められた($p = 0.0110$; Figure 8A①)。また、ベースラインと SVR48 における血清総カルニチン濃度の比較を行ったところベースラインの血清総カルニチン濃度の中央値は $52.8 \mu\text{mol/L}$ (range, $17.8 - 90.2 \mu\text{mol/L}$)で、SVR48 の血清総カルニチン濃度の中央値は $59.8 \mu\text{mol/L}$ (range, $41.3 - 99.4 \mu\text{mol/L}$)であり両者間には有意な差が認められた($p = 0.0004$; Figure 8B①)。さらにベースラインと SVR48 における血清遊離カルニチン濃度の比較を行ったところベースラインの血清総カルニチン濃度の中央値は $43.1 \mu\text{mol/L}$ (range, $15.1 - 70.3 \mu\text{mol/L}$)で、SVR48 の血清総カルニチン濃度の中央値は $45.4 \mu\text{mol/L}$ (range, $30.2 - 79.6 \mu\text{mol/L}$)であり両者間には有意な差が認められた($p = 0.0254$; Figure 8B②)。また、 $\Delta \text{PMI/month}$ と血清遊離カルニチン濃度の変化率の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い正の相関関係が認められ($r = 0.302$, $p = 0.025$; Figure 8D①)、 $\Delta \text{PMI/month}$ と血清総カルニチン濃度の変化率の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係が認められず($r = 0.225$, $p = 0.098$; Figure 8D②)、全体のコホートの結果と一致した。また、観察期間中に L-カルニチン製剤を投与された 3 例では全例で、PMI と血清遊離カルニチン濃度、総カルニチン濃度の上昇を認めた(Figure 8A②、8C)。

A

① Patients without L-carnitine administration (n=55)



② Patients with L-carnitine administration (n=3)

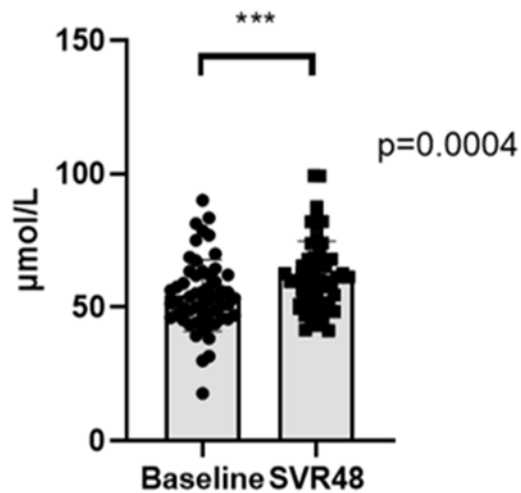


The asterisk indicates a statistically significant difference (* $p < 0.05$).

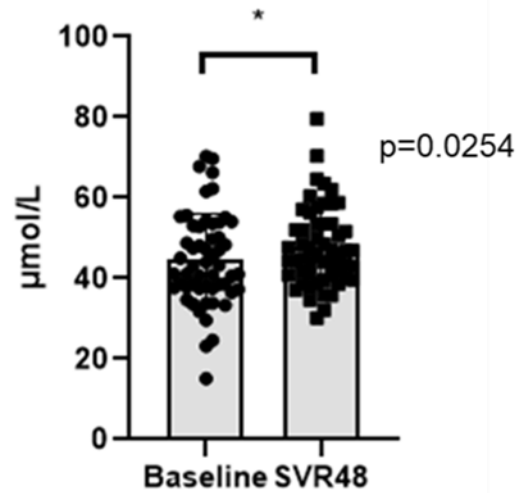
B

① total carnitine

Patients without L-carnitine administration (n=55)



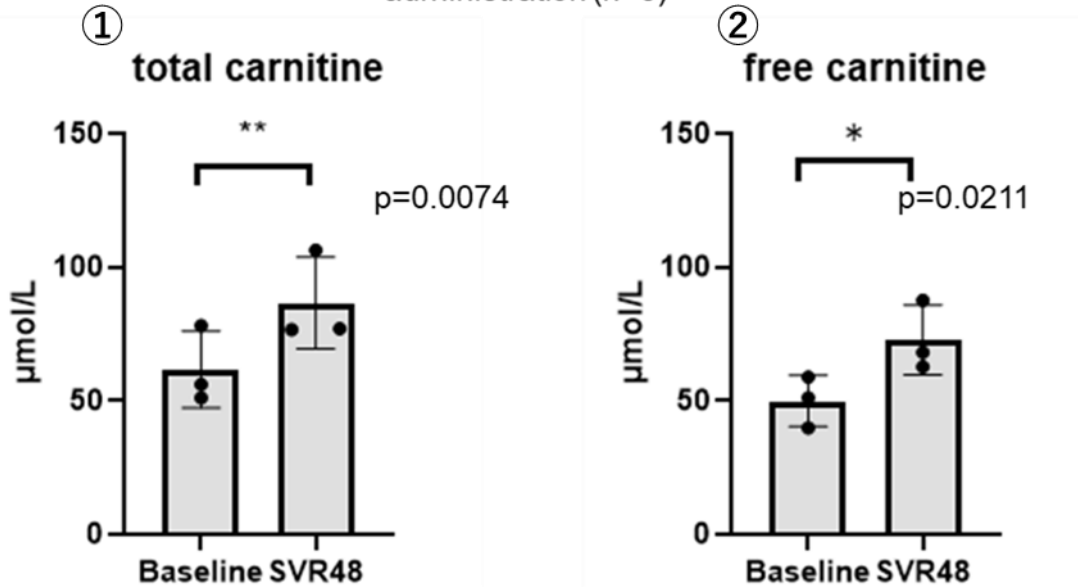
② free carnitine



The asterisk indicates a statistically significant difference (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$).

C

Patients with L-carnitine administration (n=3)



The asterisk indicates a statistically significant difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

D

Patients without L-carnitine administration (n=55)

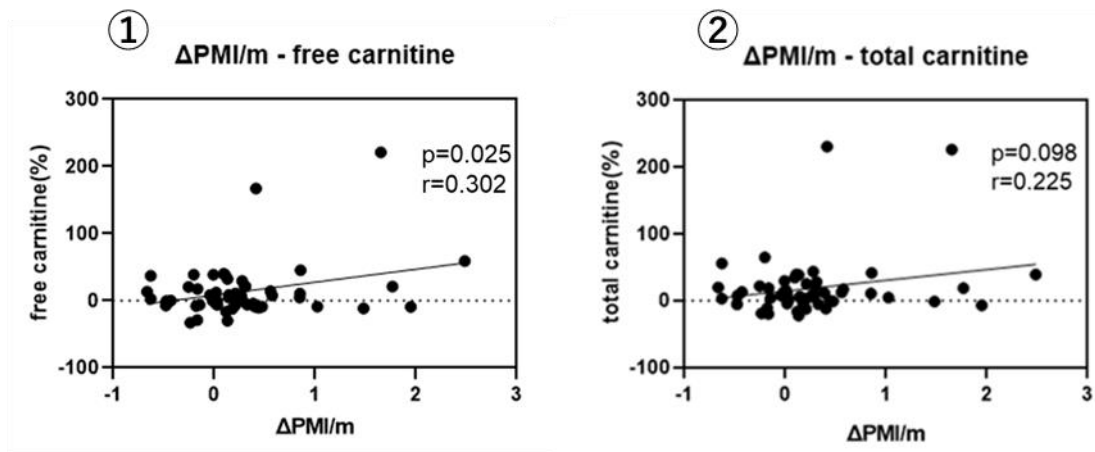


Figure 8. L-カルニチン内服の有無による PMI の変化率、血清カルニチン濃度の比較、PMI の変化率と血清カルニチン濃度の変化率の関連

(A) 治療前後の PMI の変化率の比較

カルニチン非投与症例(55 例)のベースラインと SVR48 における PMI の変化

率を比較すると有意な差が認められた(①)。カルニチン投与症例(3例)でも同様に有意な差が認められた(②)。

(B) カルニチン非投与症例における治療前後の血清カルニチン濃度の比較

ベースラインと SVR48 における血清総カルニチン、遊離カルニチン濃度を比較すると有意な差が認められた(①, ②)。

(C) カルニチン投与症例における治療前後の血清カルニチン濃度の比較

ベースラインと SVR48 における血清総カルニチン、遊離カルニチン濃度を比較すると有意な差が認められた(①, ②)。

(D) カルニチン非投与症例における Δ PMI/month と血清カルニチン濃度の関連

Δ PMI/month と血清遊離カルニチン濃度の変化率の関連を検討すると弱い正の相関が認められた(①)。 Δ PMI/month と血清総カルニチン濃度の変化率の関連を検討すると有意な相関は認められなかった(②)。

考察

C 型慢性肝炎や肝硬変を含む慢性肝疾患は、二次性サルコペニアの主な原因であり、サルコペニア合併は慢性肝疾患患者の予後不良と関連する。したがって、慢性肝疾患患者におけるサルコペニアの適切な予防やマネジメントが強く求められる(Nishikawa et al., 2016)。最近、HCV 排除はサルコペニアを構成する骨格筋量に影響を与える可能性が示唆されている(Sugimoto et al., 2018)。本研究では、DAAs 治療による HCV の排除後に 70.7%の症例で PMI の増加を認め、全体のコホートでもベースラインを基準とした PMI の変化率が有意に増加したことが明らかになった。しかし、通常の実臨床の中で収集される患者因子の中では、PMI の増加と関連があった因子を見出すことはできなかった。そこで、慢性肝疾患患者における骨格筋の喪失と関連することが報告されている因子について検討、追加解析を行った。追加解析を行った因子のうち、血清亜鉛、総カルニチン及び遊離カルニチン値は、DAAs 治療後に有意に増加しており、さらに血清遊離カルニチン濃度の変化率のみが PMI の変化率と有意な正の相関を認めた。

慢性肝疾患患者では、骨格筋を構成する蛋白質合成の抑制と、異化作用の亢進の両方が骨格筋量減少に関与していると考えられている。ビタミン D は、筋芽細胞の増殖や分化に関与しており、慢性肝疾患患者ではしばしばビタミン D の欠乏を認める(Ceglia et al., 2010)。したがって、ビタミン D 欠乏は慢性肝疾患患者の骨格筋量減少の一因であると考えられている。同様に、慢性肝疾患患者では、成長ホルモンによるシグナルで、主に肝臓で産生される IGF-1 の欠乏を認める事がある。IGF-1 は蛋白質合成に関与しており、欠乏することで骨格筋量減少をもたらす可能性がある(Assy et al., 1997; Donaghy et al., 2002)。また、LC のような肝機能が低下した患者では、グリコーゲンがしばしば不足する事で代替エネルギーとして強い同化作用を持つ BCAA が利用される。BCAA 量の減少は、蛋白質合成経路の機能不全を引き起こし骨格筋の喪失に寄与する可能性がある(Moriwaki et al., 2004)。さらに、慢性肝疾患患者ではしばしば血清亜鉛濃度が低下しており、亜鉛の欠乏はサルコペニアと有意に関連している事が報告されている(Nishikawa et al., 2016)。したがって、慢性肝疾患患者では、IGF-1、カルニチン、BCAA、亜鉛、ビタミン D の欠乏が骨格筋量減少の重要な要因であることが示唆されている。しかし本研究の結果からは、HCV 排除後に骨格筋量の増加を認めたにもかかわらず、血清 IGF-1、BCAA、ビタミン D 濃度は変化せず、血

清血鉛濃度は治療後に上昇を認めたものの PMI の変化率と有意な相関は認めなかった。したがって、DAAs 治療後の骨格筋量の増加に、IGF-1、BCAA、ビタミン D、血鉛の関与は見出せなかった。

一方で、Figure 3 で示したように、DAAs 治療による HCV 排除後、血清総カルニチン、遊離カルニチン濃度が有意に増加し、特に遊離カルニチンだけが PMI の変化率と有意な正の相関を認めた。この結果から、DAAs 治療後の骨格筋量の増加に、遊離カルニチンの上昇が関与した事が明らかになった。カルニチンは、主に脂肪酸の代謝に関与する必須栄養素であり (Flanagan et al., 2010)、総カルニチンは遊離カルニチンとアシルカルニチンから構成される。カルニチンの大部分は遊離カルニチンとして存在しており、血中遊離カルニチン濃度が $20 \mu\text{mol/L}$ 未満の場合をカルニチン欠乏症と定義されている (Reuter and Evans, 2012; Gnoni et al., 2020)。カルニチンは主に食事から吸収されるが、約 25% は肝臓と腎臓で生合成される。したがって、慢性肝疾患や腎疾患を有する患者では、頻繁に二次的なカルニチン欠乏症が認められる (Mitwalli et al., 2005; Rudman et al., 1977)。また、カルニチン欠乏症の患者では、肝の脂肪化や、高アンモニア血症、骨格筋量の低下を認めたことが報告されている (Koizumi et al., 1988; Magoulas and El-Hattab, 2012)。また以前に申請者は、LC 患者に対して L-カルニチンを補充する事で、骨格筋量の喪失が抑制されることを報告した (Ohara et al., 2018)。本研究の結果からも、カルニチンが骨格筋の増加や維持に、非常に重要な役割を果たしている事が推測される。そのメカニズムについては明らかにされていないが、いくつかの仮説が提唱されている。カルニチンは、 β 酸化に必須となる脂肪酸をミトコンドリア内へ運搬することで、正常なエネルギー代謝を促している。体内では筋肉中に高濃度に存在しているため、カルニチンが欠乏する事で筋肉中の正常なエネルギー代謝が妨げられ、蛋白異化が亢進し、結果として骨格筋の喪失に強く影響を及ぼす可能性がある (Brass, 2000)。また、カルニチン欠乏は臨床的にしばしば高アンモニア血症を引き起こす事が知られているが、高アンモニア血症は筋肉の合成を強力に抑制するミオスタチンをアップレギュレートする事により筋萎縮を引き起こす可能性がある (McPherron et al., 1997)。さらに申請者の所属する研究室では、カルニチンが、*in vitro* 及び臨床的解析の両方で、肝疾患における炎症パラメーター及び酸化ストレスを抑制することを報告している (Ohara et al., 2018; Tsukuda et al., 2017)。炎症や酸化ストレスの増加は骨格筋の減少を引き起こす可能性があるため (Silvério et al., 2011)、カルニチンは抗

炎症及び抗酸化ストレス作用により、骨格筋の喪失を抑制する可能性がある。DAAs 治療による HCV 排除後の血清カルニチン濃度の上昇についても、そのメカニズムは明らかになっていない。しかし、Figure 7 に示したように血清遊離カルニチン濃度の上昇は血清アルブミン濃度の上昇と有意な正の相関があることが明らかになった。血清アルブミン濃度の上昇は HCV 排除後の肝合成能の回復を反映したものと考えられ、カルニチン濃度上昇もまた肝合成能回復と関与している可能性があるが、このメカニズムを明らかにするためには、さらなる解析が必要である。

本研究では、L-カルニチンを補充した 3 人の患者全例で、骨格筋量の有意な増加が観察された。慢性肝疾患患者における L-カルニチン補充の有益な効果としては、代謝性脳症の改善、筋けいれんの改善や予防、高アンモニア血症の改善が報告されている(Nakanishi et al., 2015)。本研究の結果は、L-カルニチン補充が DAAs 治療後も骨格筋量が低い患者において治療オプションとなり得る事を示唆している可能性がある。

本章の研究にはいくつかの制限がある。第一に、本研究は単一施設の後方視的な研究であり、症例数が限られている。また、血清アンモニアなど骨格筋量と関係する可能性のあるいくつかの因子の臨床データが不足していた。本研究では、HCV 排除後の骨格筋量増加を予測するベースラインでの臨床的な因子を示すことができなかった。したがって、大規模な多施設共同前向き研究が必要である。

《第三章》

DAAs 治療による HCV 排除が肝脂肪化及び脂質異常症の有病率 に与える影響の検討

緒言

近年、HCV 治療は劇的に変化し、多くの HCV 感染患者が DAAs 治療によって SVR を達成している (Suda et al., 2018; Suda and Sakamoto, 2021)。HCV の排除は、肝癌や肝硬変などの肝機能障害の発生を抑制することができる (Beste et al., 2017; Kobayashi et al., 2017; Mettke et al., 2018; Reig et al., 2016) だけでなく、骨格筋量減少、クリオグロブリン血症、腎機能障害、代謝障害など、HCV に関連する肝外病変を改善させることが期待されている。

現在、肝細胞癌や肝硬変の主な原因の 1 つとして、代謝異常関連脂肪肝 (Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD) が注目されており、今後 MAFLD 患者の数は増加する事が予想されている (Ito et al., 2021)。そのため、DAAs 治療を行った HCV 患者においても、脂肪肝や代謝異常の存在は非常に重要な問題である (Fouad et al., 2021)。HCV は複製に脂肪滴を利用するため (Miyanari et al., 2007)、HCV は肝臓に脂質を蓄積させる作用を有している事が報告されており、その結果、HCV 感染は脂肪肝を引き起こすと考えられている (Czaja et al., 1998)。作用機序としては、HCV ウィルスタンパク質が、sterol-regulatory-element-binding-protein (SREBP) 1c を活性化して脂肪生成を促進するとともに (Syed et al., 2014)、ミトコンドリアにおける β 酸化に大きく関与する Carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1) を低下させる事で、脂肪の分解を抑制する (Cheng et al., 2005; Korenaga et al., 2005; Tsukuda et al., 2017) 事が報告されている。また、HCV コアタンパク質は Microsomal triacylglycerol transfer protein (MTP) の活性を抑制し、肝細胞からの超低比重リポタンパク質-コレステロール (very low-density lipoprotein-cholesterol, VLDL-C) 分泌を抑制する (Perlemuter et al., 2002)。この為、DAAs 治療による HCV

排除によって、脂肪肝が改善する可能性が示唆されているが、DAAs 治療による HCV 排除後の長期にわたる脂肪肝の有病率の変化については、十分に明らかにされていない。

また、HCV が排除されると、MTP 等の活性化が改善するため血清コレステロール濃度は上昇すると考えられており、実際に DAAs 治療後に低比重リポ蛋白質-コレステロール(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)や総コレステロール(Total cholesterol, T-C)が増加する事が報告されている(Kawagishi et al., 2018; Sun et al., 2018)。LDL-C のうち、small-dense LDL-C (sdLDL-C)は、より高い粥状動脈硬化作用を持ち、その血清濃度は頸動脈内膜厚と関連していることが報告されている(Ichikawa et al., 2019)。そのため、sdLDL-C は LDL-C と比較しても、より鋭敏な心血管疾患リスクのバイオマーカーとなり得る(Hevonoja et al., 2000; Hoogeveen et al., 2014; Ridker et al., 2008)。

既報では、HCV 排除後の LDL-C, T-C, sdLDL-C の短期的な変化について示されているが、長期的な変化や肝脂肪化の変化との関連については十分に明らかにされていない。American Association for the Study of Liver Disease – Infection Disease Society of America (AASLD-IDSA)ガイドラインでは、抗 HCV 療法により HCV 排除が成功した非肝硬変患者に対しては、HCV 非感染者と同様の標準フォローが推奨されているが、非アルコール性脂肪性肝疾患患者ではこのストラテジーから除外され、より注意深くフォローする事が推奨されている(Hepatitis C Guidance 2021 Update: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection, 2021)。そのため、HCV 排除後の長期的な肝脂肪化の変化や、脂質プロファイルとの関連について検討することは临床上重要である。また、肥満は以前まで HCV 治療の主流であった IFN 治療の効果を低下させる一因であった。しかし、現在 DAAs 治療が中心となり、肥満の症例においてもその影響を受けずに高い SVR 率で HCV 排除が可能となった(Leslie et al., 2022)。そのため、DAAs 治療による HCV 排除後の長期的な肝脂肪化の変化や、脂肪肝の有病率の変化について検討することは重要である。

本研究では、DAAs 治療による HCV 排除が成功した症例における長期観察期間においての脂肪肝、脂質異常症の有病率の変化とそれらの関連性について評価し明らかにすることを目的とした。

方法

1. 研究の種類・デザイン

単施設後ろ向き観察研究

2. 対象となる患者

2014 年 11 月から 2019 年 1 月の間に北海道大学病院で通院された患者のうち以下の選択基準（1）を満たし、かつ除外基準（2）のいずれにも該当しない場合を適格とした。

（1）選択基準

- ①北海道大学病院で IFN フリーDAAs 治療を受けた HCV 感染患者
- ②本研究への参加について自由意思による同意が得られた患者、もしくは研究の参加について拒否しない患者
- ③DAAs 投与終了後 96 週間以上適切なフォローがされており、ベースライン、SVR24、SVR96 の時点で保存血清、及び Transient elastography (TE)の結果を含めた十分な臨床情報を有する患者

（2）除外基準

- ①DAAs 治療が非著効であった患者
- ②臨床情報や保存血清が欠落している患者
- ③DAAs 治療前から脂質異常症に対する治療薬を内服している患者
- ④20 歳未満の患者
- ⑤肝移植の既往がある患者
- ⑥血液透析患者

3. 検討項目

①DAAs 治療を受けた HCV 感染患者を対象とし、ベースライン、SVR24、SVR96、SVR144 における、血清コレステロール濃度により診断される脂質異常症、Controlled Attenuation Parameter (CAP)により診断される脂肪肝の有病率の変化とそれらの相関性の変化を検討した。

②脂肪肝の有病率、脂質プロファイルの経時的な変化の検討を行った上で、検討した項目の相互的な相関についても解析した。

4. 観察及び測定項目とその測定方法

ベースライン、SVR24、SVR96、SVR144 における年齢、性別、HCV セロタイプ、DAAs 治療に用いられた薬剤、前治療の有無、治療前血液生化学的データ等に関するデータを収集した。

血清コレステロール値については、T-C、LDL-C、高比重リポタンパク質・コレステロール(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、sdLDL-C を、測定キット(Denka Seiken, Tokyo, Japan) を用いて解析を行った。

・TE による脂肪肝及び肝線維化の評価、診断

本研究では、FibroScan® (Echosens, Paris, France) の M-probe と XL-probe による肝硬度測定(Liver stiffness measurement, LSM) 、及び CAP による非侵襲的な方法により、肝線維化と脂肪肝の評価を行った。有効測定を 10 回以上施行し、60%以上、四分位範囲 30%未満を有効測定値とした。本研究では、結果の中央値を測定値として採用した。

本研究では、日本動脈硬化学会動脈硬化性心疾患予防ガイドラインのスクリーニングの診断基準に則り、LDL-C が 140 mg/dL 以上の症例を脂質異常症(Dyslipidemia, DL) (Teramoto et al., 2014)、CAP 値が 248 dB/m 以上の症例を脂肪肝(Liver steatosis, LS) (Karlas et al., 2017)と診断した。

5. 治療プロトコール

・DAAs 治療プロトコール

(1) ダクラタスビル (Daclatasvir, DCV) 、アスナプレビル (Asunaprevir, ASV) 併用療法

DCV 1 回 60 mg を 1 日 1 回、ASV 1 回 100 mg を 1 日 2 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 24 週間経口投与した。

(2) ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF) 、レジパスビル (Ledipasvir, LDV) 併用療法

SOF 400 mg と LDV 90mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype 1

型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(3)ソホスブビル (Sofosbuvir, SOF)、リバビリン (Ribavirin, RBV) 併用療法

SOF 400mg を 1 日 1 回、RBV は体重に応じて、60kg 以下は 1 日投与量として 600 mgを、60kg 以上 80kg 以下は 800mg を、80kg を超える場合は 1000mg を Genotype2 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(4) グレカプレビル (Glecaprevir, GLE)、ピブレンタスビル (Pibrentasvir, PIB)併用療法

GLE300mg と PIB120mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype1 または 2 型の C 型肝炎症例に 8 週間、C 型代償性肝硬変症例に 12 週間、Genotype1 または 2 型以外の C 型慢性肝炎又は代償性肝硬変症例に 12 週間経口投与した。

どの治療プロトコールにおいても、減量や中止、投与期間については薬剤添付文書の基準に従い行った。

6. 治療効果の評価

DAA 治療終了後 12 週、または 24 週間後の HCV-RNA により評価し、HCV-RNA の陰性化をもって SVR と判定した。

7. 統計解析

カテゴリー変数の解析にはフィッシャーの直接確率検定を使用し、連続変数の解析には Mann-Whitney の U 検定を、多群間比較には 1 元配置分散分析を使用した。すべての *P* 値 は両側検定で、0.05 未満を統計的に有意であるとした。カットオフ値は、Youden index を用いて受信者動作特性 (Receiver Operating Characteristic curve, ROC) 曲線に基づいて算出した。2 つの変数間の関係は Spearman の順位相関係数によって分析した。統計分析は、Prism 7.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) ソフトウェアパッケージ、及び SPSS version 24.0 (IBM Japan, Tokyo, Japan) を使用した。

8. 被験者を対象とした研究におけるインフォームドコンセント

本研究は「ヘルシンキ宣言（2013 年 10 月改定）」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号）」を遵守して実施され、あらかじめ臨床研究実施計画書と患者説明同意文書を北海道大学病院長へ提出し、研究の実施に関して自主臨床研究審査委員会の承認及び病院の許可を得て行われた（自主臨床研究番号：自 016-0021）。研究参加に対して書面による同意が得られた症例、かつ参加を辞退しなかった症例を対象とした。

結果

1. 患者背景

Figure 1 に示す通り、2014 年 11 月から 2019 年 1 月の間に北海道大学病院で DAAs 治療を受けた HCV 感染患者 234 例を対象とした。そのうち、通院の自己中断や転居等により観察期間が不十分な症例、臨床情報の欠落や保存血清が不足している症例、Fibroscan®による CAP、LSM の評価がされていない症例、DAAs 治療前から脂質異常症に対して内服加療されていた症例等が除外され、計 100 例が検討対象となった。さらにそのうち、SVR144 まで適格な臨床情報を有し、その変化について解析できた症例は 90 例であった。

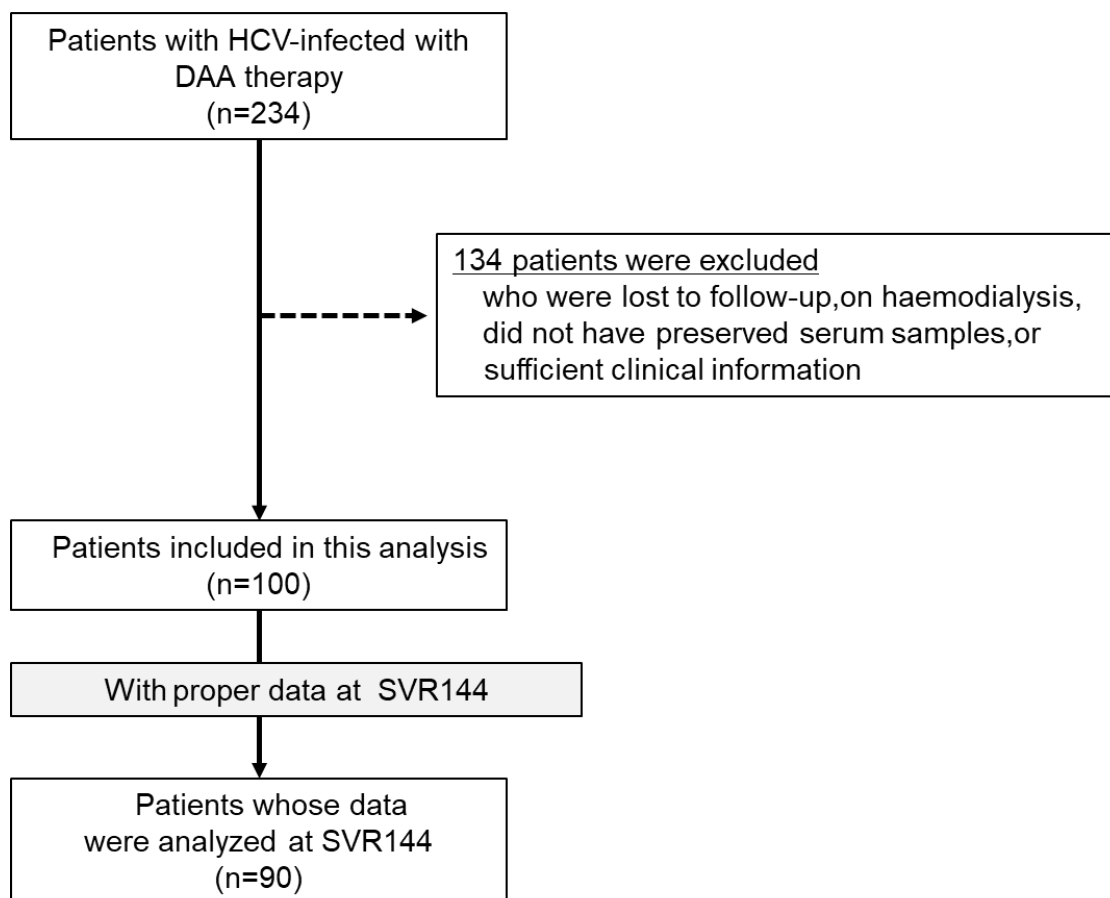


Figure 1. Study flow

Table 1 に示すように、年齢の中央値は 63.5 歳、44 例（44%）が男性であった。BMI の中央値は 22.21 kg/m²、血清 T-C 濃度の中央値は 172.0 mg/dL、血清 HDL-C 濃度の中央値は 51.0 mg/dL、血清 LDL-C コレステロール濃度の中央値は 94.0 mg/dL、血清 sdLDL-C の中央値は 21.75 mg/dL だった。また、CAP の中央値は 213.0 dB/m、LSM の中央値は 6.70 kPa だった。

Table 1. 患者背景

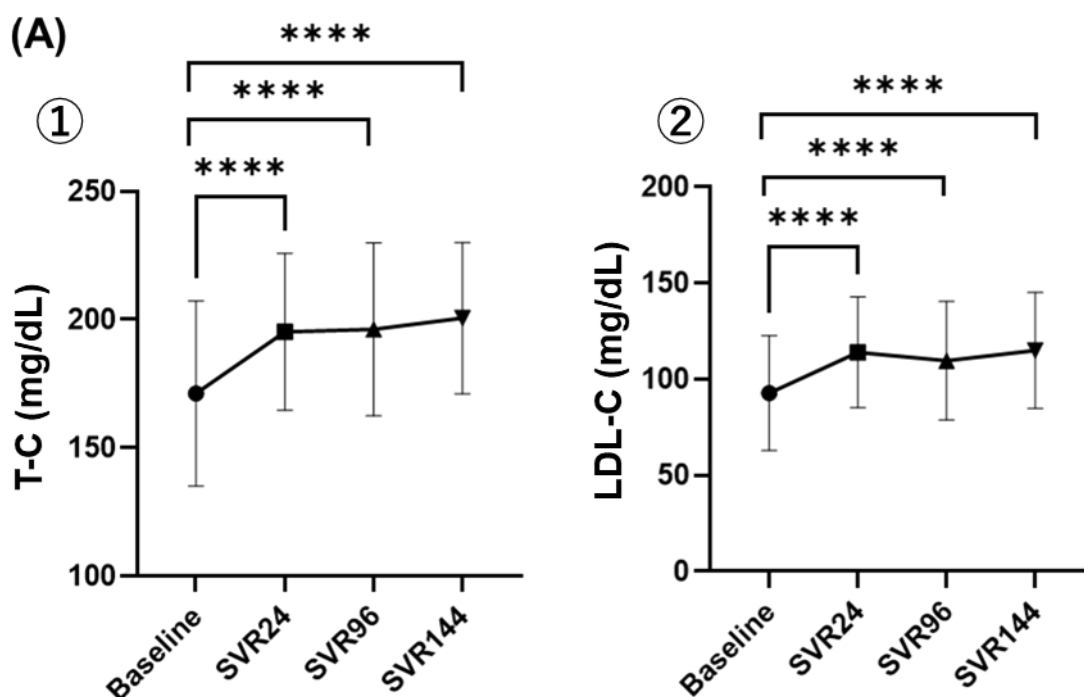
Number	100
Age (years) [†]	63.5(35-85)
Sex (male/female)	44/56
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.30 (3.2-7.2)
DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV, GLE/PIB	16/47/32/5
BMI (kg/m ²) [†]	22.21 (15.63-30.86)
Baseline ALT (IU/L) [†]	39.5 (6-262)
Baseline Fib-4 index [†]	2.77 (0.54-13.51)
Baseline T-C (mg/dL) [†]	172.0 (94-278)
Baseline HDL-C (mg/dL) [†]	51.0 (22.4-131)
Baseline LDL-C (mg/dL) [†]	94.0 (40-197)
Baseline sdLDL-C (mg/dL) [†]	21.75(3.9-83.2)
Baseline Liver stiffness (kPa) [†]	6.70 (3.1-27.7)
Baseline CAP (dB/m) [†]	213.0 (100-338)
Baseline GA (%) [†]	22.3 (13.2-58.6)

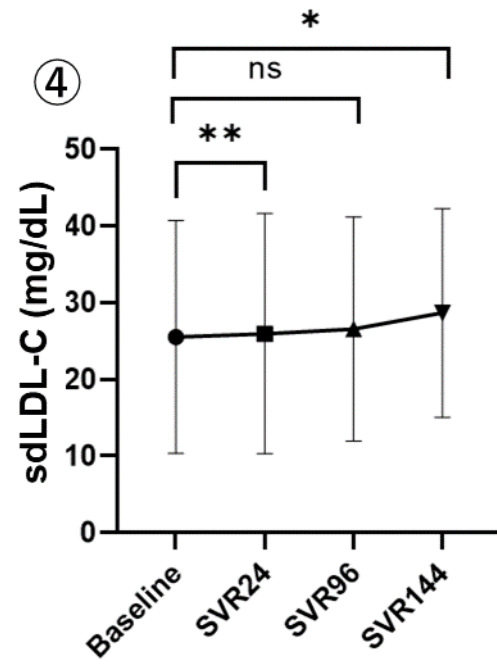
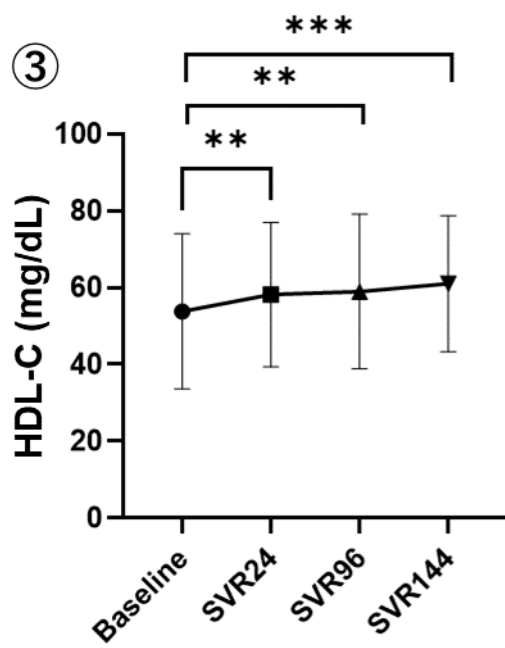
[†]Data are shown as median (range) values.

2. DAAs 治療による HCV 排除後の脂質プロファイル、CAP、LSM、BMI、脂肪肝と脂質異常症の有病率の経時的変化

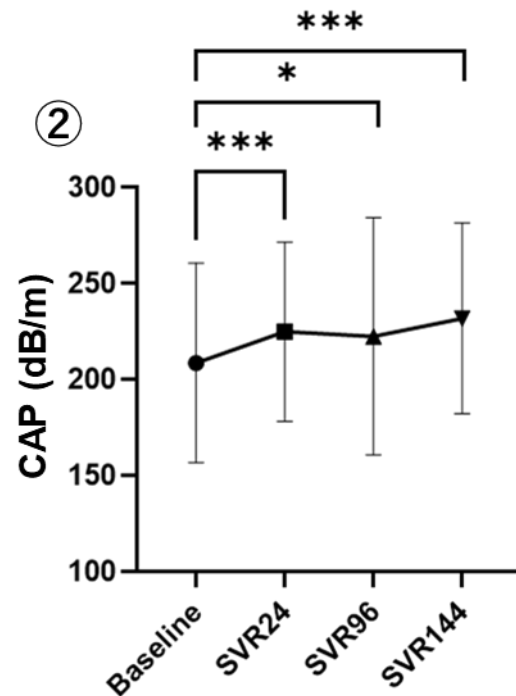
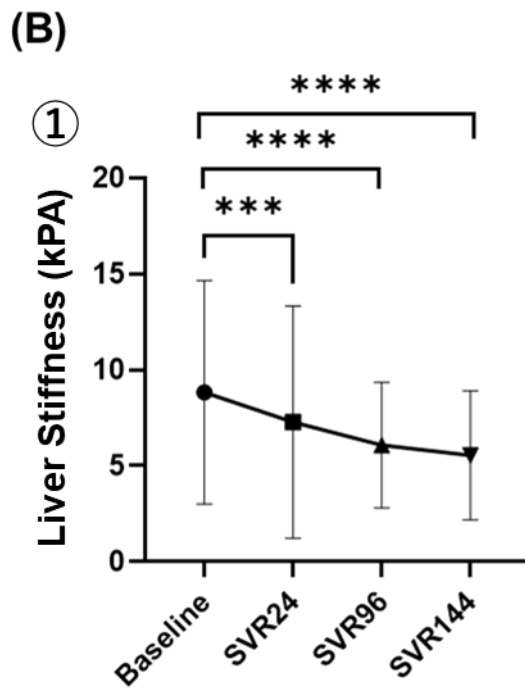
まず、ベースライン、SVR24、SVR96、SVR144 の血清 T-C、LDL-C、sdLDL-C、HDL-C 濃度、体重(Body Weight, BW)、Body Mass Index (BMI)、LSM 値、CAP 値の経時的変化を評価した。ベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における血清 T-C 濃度の比較を行ったところ治療後の全てのポイントで有意な差が認められた(Figure 2A①)。次にベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における血清 LDL-C 濃度の比較を行ったところ中央値はそれぞれ 94.0 mg/dl (range, 28.0 - 197 mg/dl)、112 mg/dl (range, 56.0 - 182 mg/dl)、110 mg/dl (range, 48.0 - 188 mg/dl)、115.5 mg/dl (range 61.0 - 195 mg/dl)であり、治療後の全てのポイントで有意な差が認められた(それ

ぞれ $p < 0.0001$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$; Figure 2A②)。ベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における血清 HDL-C 濃度の比較を行ったところ治療後の全てのポイントで有意な差が認められた(Figure 2A③)。ベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における血清 sdLDL-C 濃度の比較を行ったところベースラインの sdLDL-C と SVR24、SVR144 における sdLDL-C の比較で有意な差が認められた(Figure 2A④)。またベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における LSM の比較を行ったところ治療後の全てのポイントで有意な差が認められた(Figure 2B①)。さらにベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における CAP 値の比較を行ったところ中央値はそれぞれ 213 dB/m (range 100 - 343 dB/m)、218.5 dB/m (range 122 - 362 dB/m)、224 dB/m (range 100 - 362 dB/m)、230 dB/m (range 120 - 379 dB/m)であり、治療後の全てのポイントで有意な差が認められた(それぞれ $p = 0.0009$, $p = 0.015$, $p = 0.0002$; Figure 2B②)。一方、ベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における体重の比較を行ったところ治療後の全てのポイントで有意な差は認められなかった(Figure 2C①)。さらにベースラインと SVR24、SVR96、SVR144 における BMI の比較を行ったところ治療後の全てのポイントで有意な差は認められなかった(Figure 2C②)。





The asterisk indicates a statistically significant difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).
ns: not significant ($p \geq 0.05$)



The asterisk indicates a statistically significant difference (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

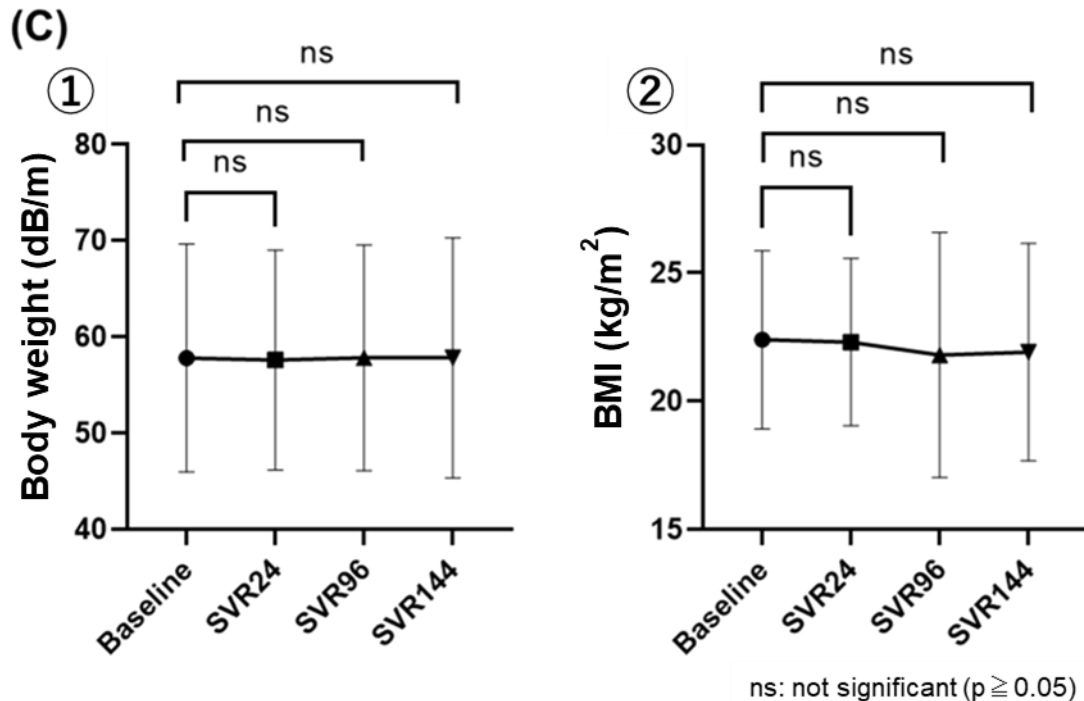


Figure 2. 脂質プロファイル、LSM、CAP、BW、BMI の経時的変化

(A)ベースラインと治療後の各ポイント(SVR24、SVR96、SVR144)における血清コレステロール濃度の比較を行った。血清 T-C 濃度(①)、血清 LDL-C 濃度(②)、血清 HDL-C 濃度(③)は全てのポイントで有意な差が認められ、血清 sdLDL-C 濃度はベースラインと SVR24、SVR144 において有意な差が認められた(④)。

(B)ベースラインと治療後の各ポイント(SVR24、SVR96、SVR144)における LSM(①)及び CAP 値(②)の比較を行ったところ、全てのポイントで有意な差が認められた。

(C)ベースラインと治療後の各ポイント(SVR24、SVR96、SVR144)における BW(①)及び BMI(②)の比較を行ったところ、全てのポイントで有意な差は認められなかった(②)。

続いてベースライン及び SVR96 における脂肪肝 (CAP 値 ≥ 248 dB/m) 及び脂質異常症 (血清 LDL-C 濃度 ≥ 140 mg/dL) の有病率の変化について検討した。ベースラインと SVR96 における脂肪肝の有病率の比較を行ったところベースラインの有病率は 19%で、SVR96 の有病率は 32%であり両者間には有意な差が認められた($p = 0.0349$; Figure 3A)。またベースラインと SVR96 における脂質異常症の有病率の比較を行ったところベースラインの有病率は 6%で、SVR96 の有病率は 15%であり両者間には有意な差が認められた($p = 0.0379$; Figure 3B)。

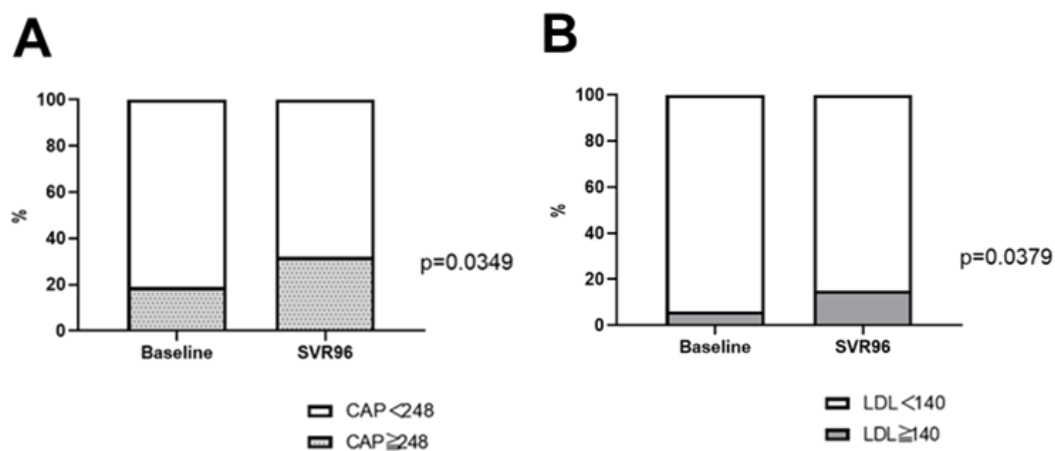


Figure 3. 脂肪肝及び脂質異常症の有病率の経時的変化

ベースラインと SVR96 における脂肪肝(A)及び脂質異常症(B)の有病率を比較すると有意な差が認められた。

さらに、対象となった症例を①脂肪肝のみがある症例、②脂肪肝と脂質異常症が併存する症例、③脂質異常症のみがある症例、④どちらもない症例に層別化し、それぞれの割合の変化について検討を行ったところ、各ポイントにおける各①-④群の割合の変化には有意な差が認められた($p = 0.0206$; Figure 4)。脂肪肝のみがある症例の割合を経時的に比較したところ、ベースラインでは 19%、SVR24 では 29%、SVR96 では 32%、SVR144 では 31%であった(Figure 4①)。脂肪肝と脂質異常症が併存する症例の割合を経時的に比較したところ、ベースラインでは 2%、SVR24 では 9%、SVR96 では 6%、SVR144 では 9%であった(Figure 4②)。脂質異常症のみがある症例の割合を経時的に比較したところ、ベースラインでは 6%、SVR24 では 19%、SVR96 では 15%、SVR144 では 23%であった。(Figure 4③)

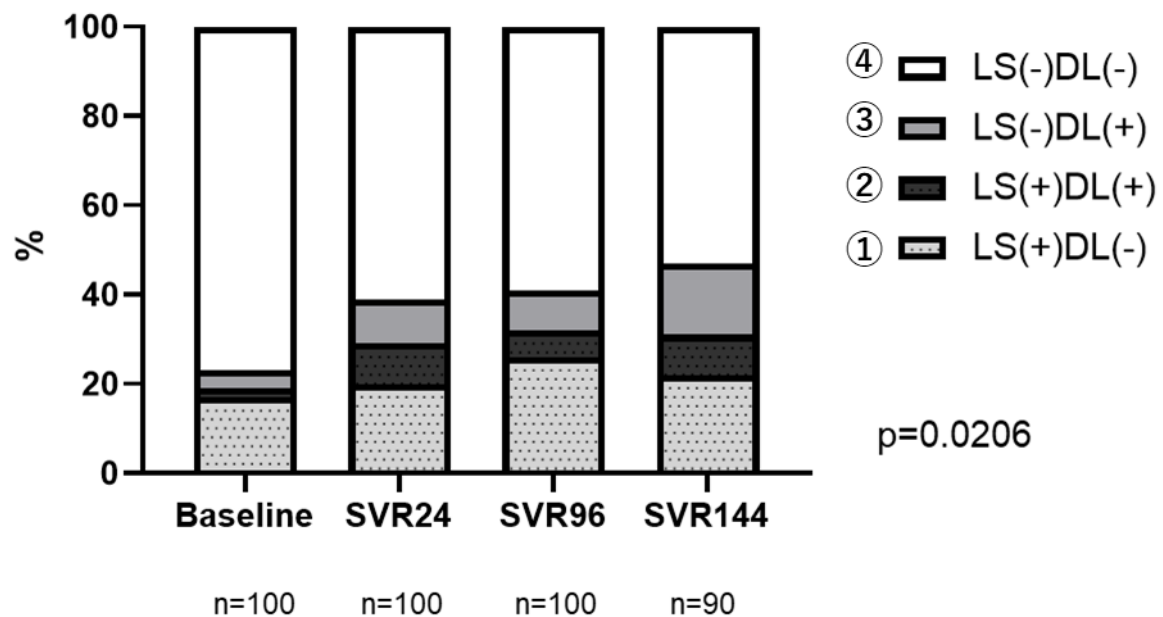


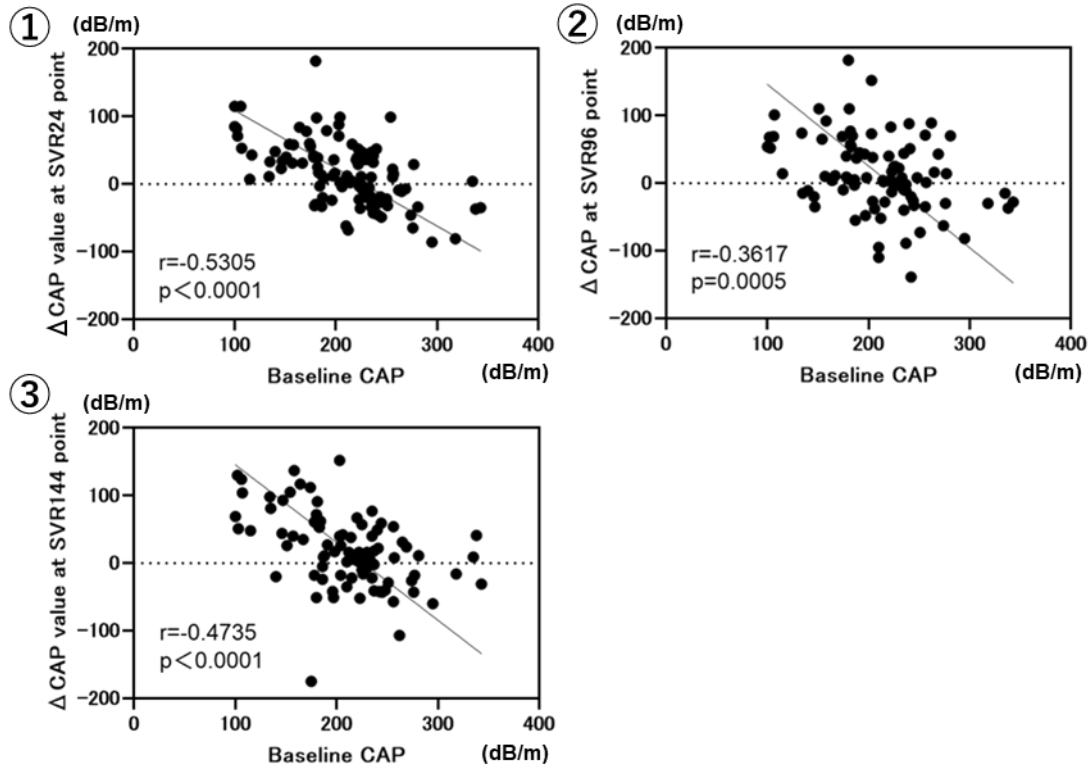
Figure 4. 脂質異常症、脂肪肝、両疾患の併存する症例の割合の経時的変化
各ポイントにおける①—④群の割合には有意な差が認められた ($p = 0.0206$)。脂肪肝のみがある症例の割合はベースラインでは 19%、SVR24 では 29%、SVR96 では 32%、SVR144 では 31%であった(①)。脂肪肝と脂質異常症が併存する症例の割合はベースラインでは 2%、SVR24 では 9%、SVR96 では 6%、SVR144 では 9%であった(②)。脂質異常症のみがある症例の割合はベースラインでは 6%、SVR24 では 19%、SVR96 では 15%、SVR144 では 23%であった(③)。

3. ベースラインにおける CAP 値、血清コレステロール濃度とそれぞれの DAAs 治療後の変化量との相関についての検討

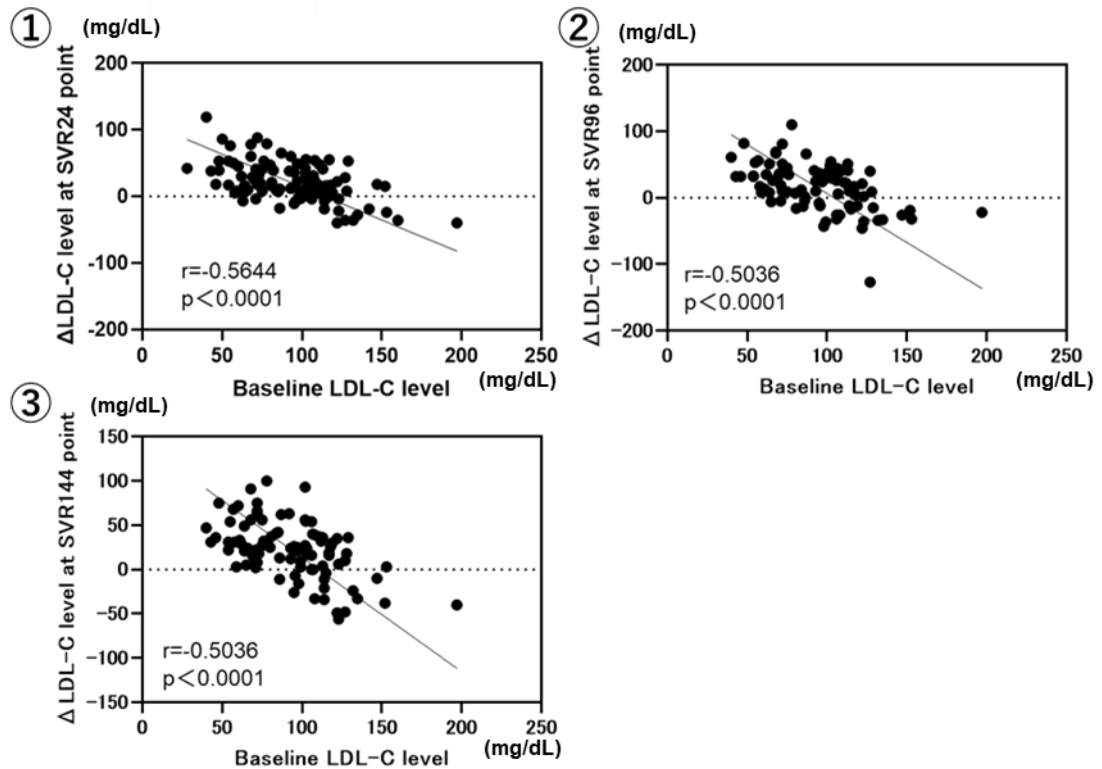
DAAs 治療後、脂質異常症や脂肪肝の有病率が増加することから、ベースラインの血清コレステロール濃度や肝脂肪化が DAAs 治療後の変化にどのように影響するか検討した。まずベースラインの CAP 値と、治療後の CAP 値の変化の関連を検討した。ベースラインの CAP 値と各ポイント (SVR24、SVR96、SVR144) の CAP 値の変化量の関連について検討を行ったところ、全てのポイントで両者間に有意な負の相関関係が認められた (SVR24: $r = -0.5305$, $p < 0.0001$; Figure 5A①, SVR96: $r = -0.3617$, $p < 0.005$; Figure 5A②, SVR144: $r = -0.4735$, $p < 0.0001$; Figure 5A③)。またベースラインの血清 LDL-C 濃度と各ポイント (SVR24、SVR96、SVR144) の血清 LDL-C 濃

度の変化量の関連について検討を行ったところ、全てのポイントで両者間に有意な負の相関関係が認められた(SVR24: $r = -0.5644$, $p < 0.0001$; Figure 5B①, SVR96: $r = -0.5036$, $p < 0.0001$; Figure 5B②, SVR144: $r = -0.5038$, $p < 0.0001$; Figure 5B③)。さらにベースラインの血清 sdLDL-C 濃度と各ポイント (SVR24、SVR96、SVR144) の血清 sdLDL-C 濃度の変化量の関連について検討を行ったところ、SVR24 の血清 sdLDL-C 濃度の変化量との間には有意な関連は認められなかったものの(Figure 5C①)、SVR96、SVR144 では両者間に有意な負の相関関係が認められた(SVR96: $r = -0.6010$, $p < 0.0001$; Figure 5C②, SVR144: $r = -0.6794$, $p < 0.0001$; Figure 5C③)。このように、基本的にベースラインの CAP 値が低い症例や、血清コレステロール濃度が低い症例では、DAAs 治療後に CAP 値や血清コレステロール濃度が上昇し、ベースラインの CAP 値が高い症例やベースラインの血清コレステロール濃度が高い症例では、DAAs 治療後に CAP 値や血清コレステロール濃度が低下することが明らかになった。

(A) CAP



(B) LDL-C



(C) sdLDL-C

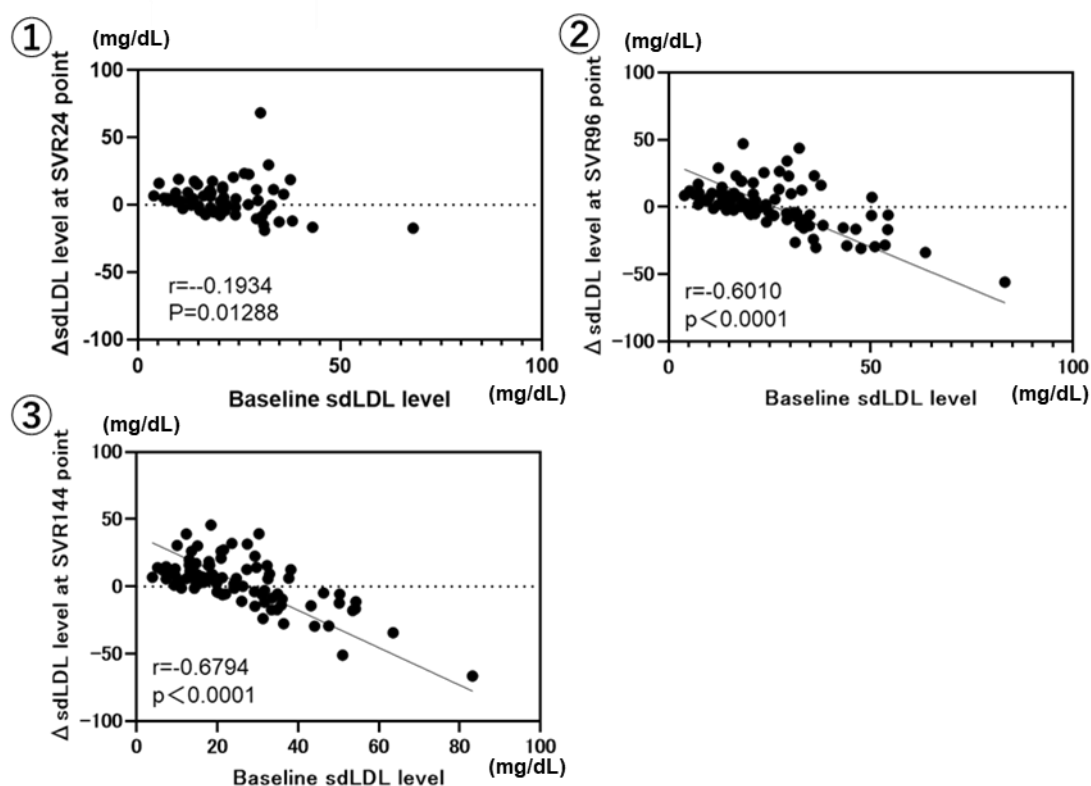


Figure 5. ベースラインにおける CAP 値、血清コレステロール濃度と治療後の各ポイントにおけるそれぞれの変化量との関連

ベースラインの CAP 値と①SVR24、②SVR96、③SVR144 の各ポイントの CAP 値の変化量の関連について検討を行ったところ、全てのポイントで有意な負の相関が認められた(A)。ベースラインの血清 LDL-C 濃度と治療後の各ポイントの LDL-C の変化量の関連について検討を行ったところ、全てのポイントで有意な負の相関が認められた(B)。ベースラインの血清 sdLDL-C 濃度と治療後の各ポイントの血清 sdLDL-C 濃度の変化量の関連について検討を行ったところ、SVR24 の変化量との間には有意な相関は認められなかったものの、その他のポイントでは両者の間に有意な負の相関が認められた(C)。

次に SVR96 における CAP $\geq$ 248 dB/m の症例と CAP $<$ 248 dB/m の症例のベースラインの臨床データの比較を行った。ベースラインの BMI、CAP、血清 HDL-C 濃度は両者間に有意な差が認められ、BMI 高値、CAP 値高値、血清 HDL-C 濃度低値は SVR96 の CAP $\geq$ 248 dB/m と関連があったと考えられる (Table 2)。

Table 2. SVR96 において CAP $<$ 248 dB/m、CAP $\geq$ 248 dB/m の症例のベースラインの臨床的因子の比較

Number	CAP $<$ 248 dB/m 68	CAP $\geq$ 248 dB/m 32	P value
Age (years) [†]	63(22-83)	66(35-85)	0.7697
Sex (male/female)	30/38	16/16	0.6687
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.3(4.2-7.1)	6.3 (3.6-7.2)	0.6734
BMI (kg/m ²) [†]	20.61 (15.6-30.4)	24.47 (17.1-30.9)	* <0.0001
Baseline ALT (IU/L) [†]	38 (6-173)	40.5(11-262)	0.3093
Baseline Fib-4 index [†]	2.88 (0.54-13.5)	2.49 (0.59-6.77)	0.3467
Baseline T-C (mg/dL) [†]	167 (94-278)	177(90-247)	0.3911
Baseline HDL-C (mg/dL) [†]	55 (22.4-131)	42 (23.6-102)	* 0.0176
Baseline LDL-C (mg/dL) [†]	90(28-153)	100.7(50-197)	0.0665
Baseline sdLDL-C(mg/dL) [†]	19.3(5.2-83.2)	26.15(3.9-68.1)	0.2652
Baseline Liver stiffness (kPa) [†]	6.75 (3.1-27.7)	6.70 (3.8-27.7)	0.6031
Baseline CAP (dB/m) [†]	198.5 (100-295)	238 (151-343)	* <0.0001
Baseline GA (%) [†]	22.3 (13.2-49.3)	21.9 (14.1-58.6)	0.1859

[†]Data are shown as median (range) values.

*Statistically significant difference, p < 0.05.

また SVR96 で LDL<140 mg/dL の症例と LDL-C $\geq$ 140 mg/L の症例のベースラインにおける臨床データの比較を行ったところベースラインの血清 LDL-C 濃度、血清 sdLDL-C 濃度は両者間で有意な差が認められ、ベースラインの血清 LDL-C 濃度高値、血清 sdLDL-C 濃度高値は SVR96 の LDL-C $\geq$ 140 mg/L と関連があったと考えられる (Table 3)。

Table 3. SVR96 において LDL<140 mg/dL、LDL $\geq$ 140 mg/dL の症例のベースラインの臨床的因子の比較

Number	LDL<140mg/dl 84	LDL $\geq$ 140mg/dl 16	P value
Age (years) [†]	63.5(22-85)	63.5(50-76)	0.9182
Sex (male/female)	38/46	8/8	0.7885
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	6.30(4.2-7.2)	5.90 (3.6-6.7)	*0.0408
BMI (kg/m ²) [†]	22.03 (15.6-30.9)	22.83 (19.6-28.9)	0.3850
Baseline ALT (IU/L) [†]	40.0 (14-169)	37.5(16-91)	0.1906
Baseline Fib-4 index [†]	2.77 (0.54-9.76)	2.72 (0.89-13.5)	0.5493
Baseline T-C (mg/dL) [†]	171.5 (90-278)	183.7(136-247)	0.1837
Baseline HDL-C (mg/dL) [†]	53.7 (22.4-131)	42.0 (23.6-84)	0.0549
Baseline LDL-C (mg/dL) [†]	89.0(28-160)	107.4(72-197)	*0.0057
Baseline sdLDL-C(mg/dL) [†]	20.9(3.9-83.2)	31.0(12.3-59.9)	*0.0275
Baseline Liver stiffness (kPa) [†]	6.70 (3.1-27.7)	6.75 (4.2-21.0)	0.6414
Baseline CAP (dB/m) [†]	211.5 (100-343)	218.5 (154-281)	0.2090
Baseline GA (%) [†]	22.8 (13.2-58.6)	20.2 (14.8-37.3)	0.2927

[†]Data are shown as median (range) values.

*Statistically significant difference, p<0.05.

さらに、血清コレステロール濃度及び CAP 値の変化量は、ベースラインのそれぞれの値と有意な負の相関があったことから、SVR96 における血清コレステロール濃度及び CAP 値の増減を予測するカットオフ値を設定した。カットオフ値は ROC 曲線を元に算出し、SVR96 における血清 LDL-C 濃度の低下を予測するカットオフ値は 94 mg/dL (感度 61.1、特異度 78.57、ROC-AUC, 0.7696; p<0.001) に設定した (Figure 6 左)。また CAP 値の低下を予測するカットオフ値は 234 dB/m (感度 77.42、特異度 50、ROC-AUC, 0.6643; p<0.001) に設定された (Figure 6 中)。また血清 sdLDL-C 濃度の低下を予測するカットオフ値は 21.25 mg/dL (感度 75、特異度 86.36、ROC-

AUC, 0.8614; $p < 0.001$) に設定した(Figure 6 右)。

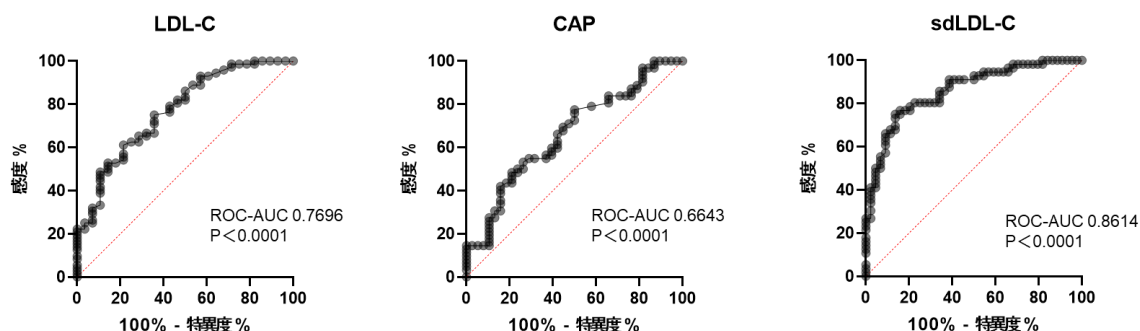


Figure 6. LDL-C、CAP 値、sdLDL-C の DAAs 治療後の減少による ROC 曲線

ROC 曲線を元にカットオフ値を算出し、SVR96 における血清 LDL-C 濃度の低下を予測するカットオフ値は 94 mg/dL、CAP 値の低下を予測するカットオフ値は 234 dB/m、血清 sdLDL-C 濃度の低下を予測するカットオフ値は 21.25 mg/dL に設定した。

ベースラインの CAP 値がカットオフ値の 234 dB/m 以上の症例においては、その多くが DAAs 治療後に CAP 値が減少したが、33 例のうち 14 例で DAAs 治療後に CAP 値が上昇した。CAP 値がカットオフ値の 234 dB/m 以上の症例で治療後に CAP 値が上昇しなかった症例と上昇した症例で層別化して臨床的データの比較を行ったところ、ベースラインの血清 T-C 濃度が両者間で有意な差が認められた。したがってベースラインの CAP 値が高く、血清 T-C 濃度が高い症例では、DAAs 治療後に肝脂肪化が増悪するリスクがある可能性が示唆された(Table 4)。

Table 4. ベースラインで CAP 値 $\geq$ 234 dB/m の症例で SVR96 において CAP 値が低下した症例と上昇した症例の比較

Number	CAP decrease 19	CAP increase 14	P value
Age (years) [†]	63(35-76)	60(35-83)	0.8643
Sex (male/female)	9/10	6/8	>0.9999
HCV-RNA (log IU/mL) [†]	5.85(4.7-6.8)	6.3 (3.2-7.2)	0.3999
BMI (kg/m ²) [†]	21.63 (16.6-30.4)	24.48 (18.6-30.0)	0.1454
Baseline ALT (IU/L) [†]	41 (13-98)	32(11-179)	0.7005
Baseline Fib-4 index [†]	2.12 (0.54-13.51)	2.35 (0.65-6.77)	0.7462
Baseline T-C (mg/dL) [†]	163 (122-210)	190(114-234)	*0.0337
Baseline HDL-C (mg/dL) [†]	55 (22.6-93.0)	44 (23.6-102.0)	0.9462
Baseline LDL-C (mg/dL) [†]	87(46-122)	102.7(61-160)	0.0935
Baseline sdLDL-C(mg/dL) [†]	17.9(6.4-83.2)	28.4(10.0-68.1)	0.3025
Baseline Liver stiffness (kPa) [†]	6.1 (3.1-27.7)	6.3 (4.4-27.7)	0.8909
Baseline CAP (dB/m) [†]	245 (235-343)	255 (235-281)	0.2841
Baseline GA (%) [†]	24.0 (14.9-46.6)	20.0 (15.1-37.3)	0.1983

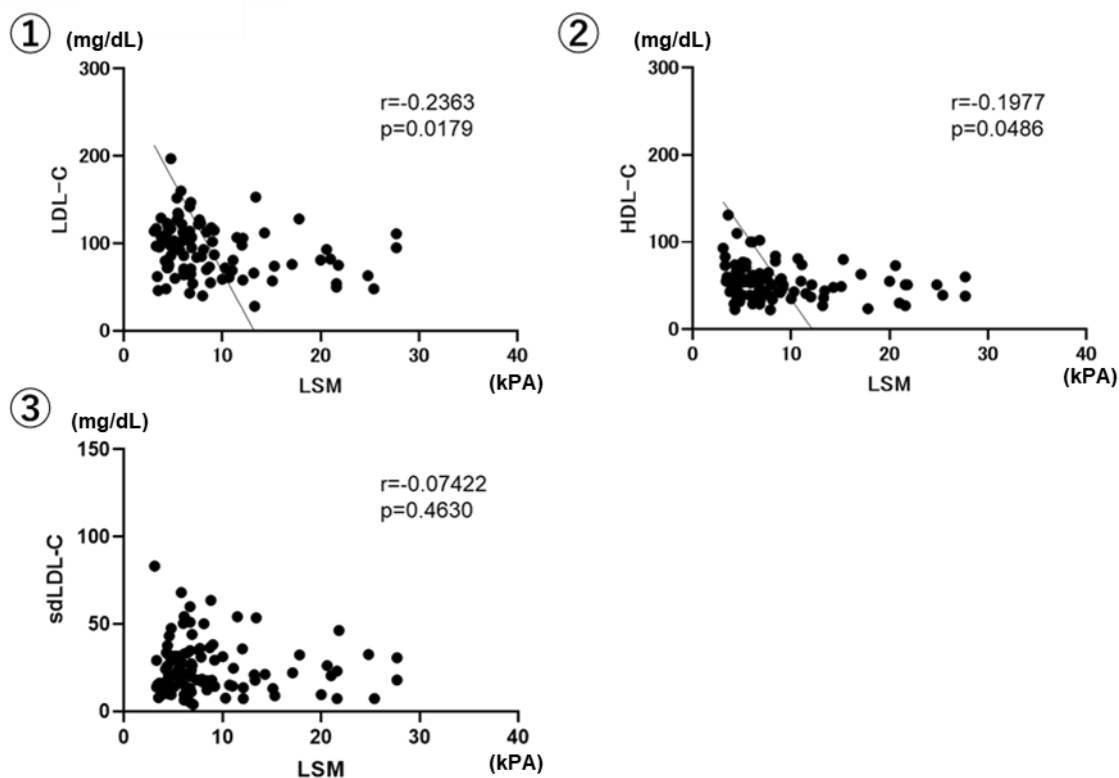
[†]Data are shown as median (range) values.
*Statistically significant difference, $P < 0.05$.

4. 肝線維化及び脂肪肝と血清コレステロール濃度の関連とその経時的変化についての検討

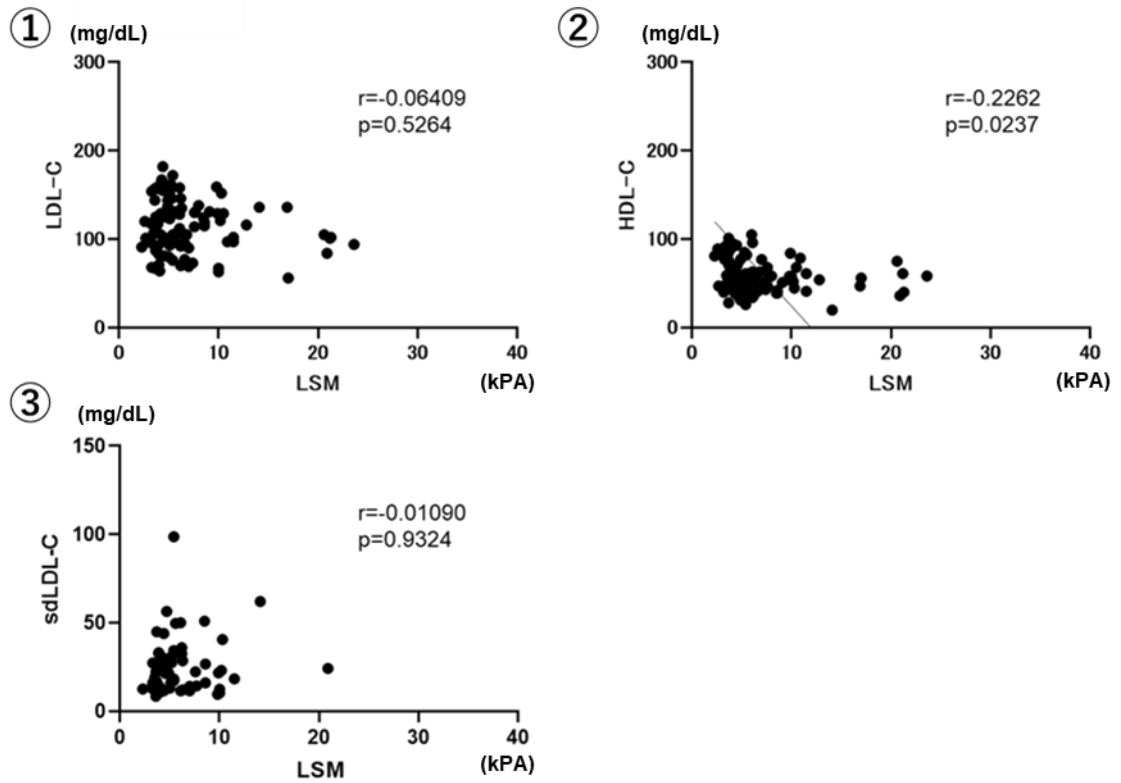
肝線維化の指標である LSM と血清コレステロール濃度のベースライン、SVR24、SVR96、SVR144 における関連と、その経時的な変化について検討を行った。ベースラインにおいて、LSM と血清 LDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い負の相関関係が認められた($r = -0.2363$, $p = 0.0179$; Figure 7A①)。また LSM と血清 HDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い相関関係が認められた($r = -0.1977$, $p = 0.0486$; Figure 7A②)。LSM と血清 sdLDL-C 濃度の間には有意な相関関係は認められなかった(Figure 7A③)。SVR24 において、LSM と血清 LDL-C 濃度の間には有意な相関関係は認められなかった(Figure 7B①)。LSM と血清 HDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い負の相関関係が認められた($r = -0.2262$, $p = 0.0237$; Figure 7B②)。LSM と血清 sdLDL-C 濃度の間にはベースライン同様有意な相関関係は認

められなかった(Figure 7B③)。SVR96において、LSM と血清 LDL-C 濃度の間には有意な相関関係は認められなかった(Figure 7C①)。また LSM と血清 HDL-C 濃度の間にも有意な相関関係は認められなかった(Figure 7C2②)。LSM と血清 sdLDL-C 濃度の間にはベースライン同様有意な相関関係は認められなかった(Figure 7C③)。SVR144において、LSM と血清 LDL-C 濃度の間には有意な相関関係は認められなかった(Figure 7D①)。また LSM と血清 HDL-C 濃度の間にも有意な相関関係は認められなかった(Figure 7D②)。LSM と血清 sdLDL-C 濃度の間にはベースライン同様有意な相関関係は認められなかった(Figure 7D③)。

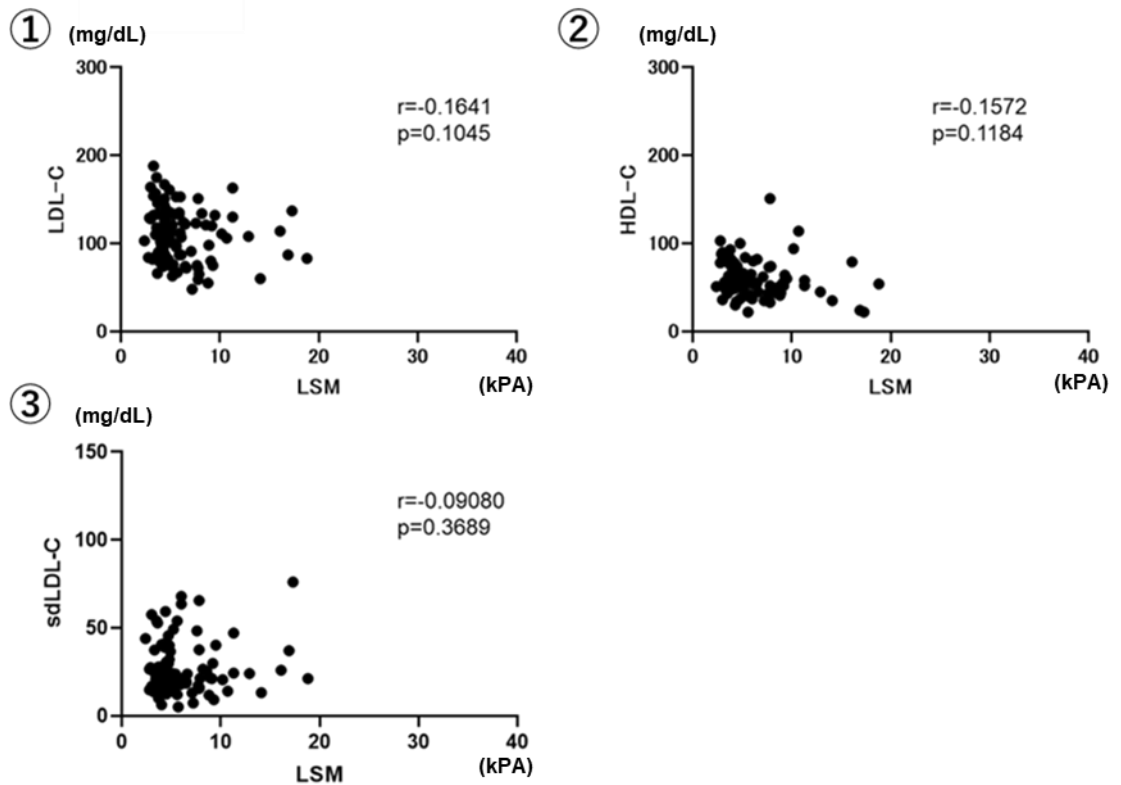
(A) Baseline



(B) SVR24



(C) SVR96



(D) SVR144

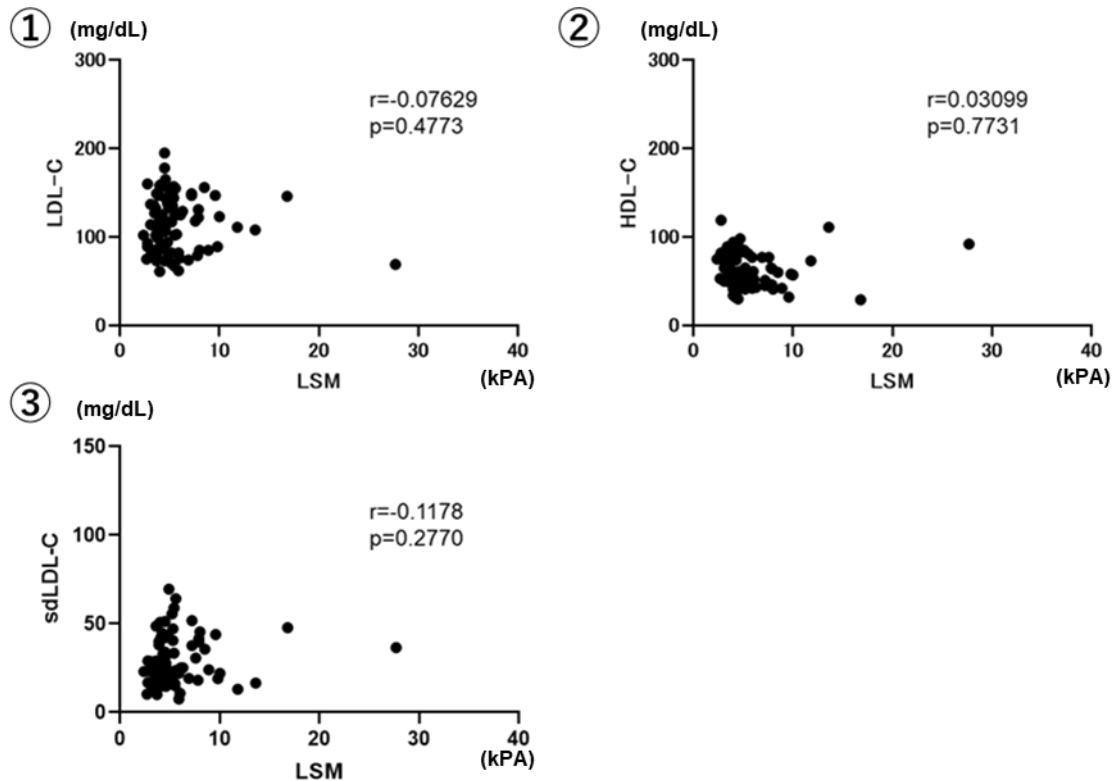


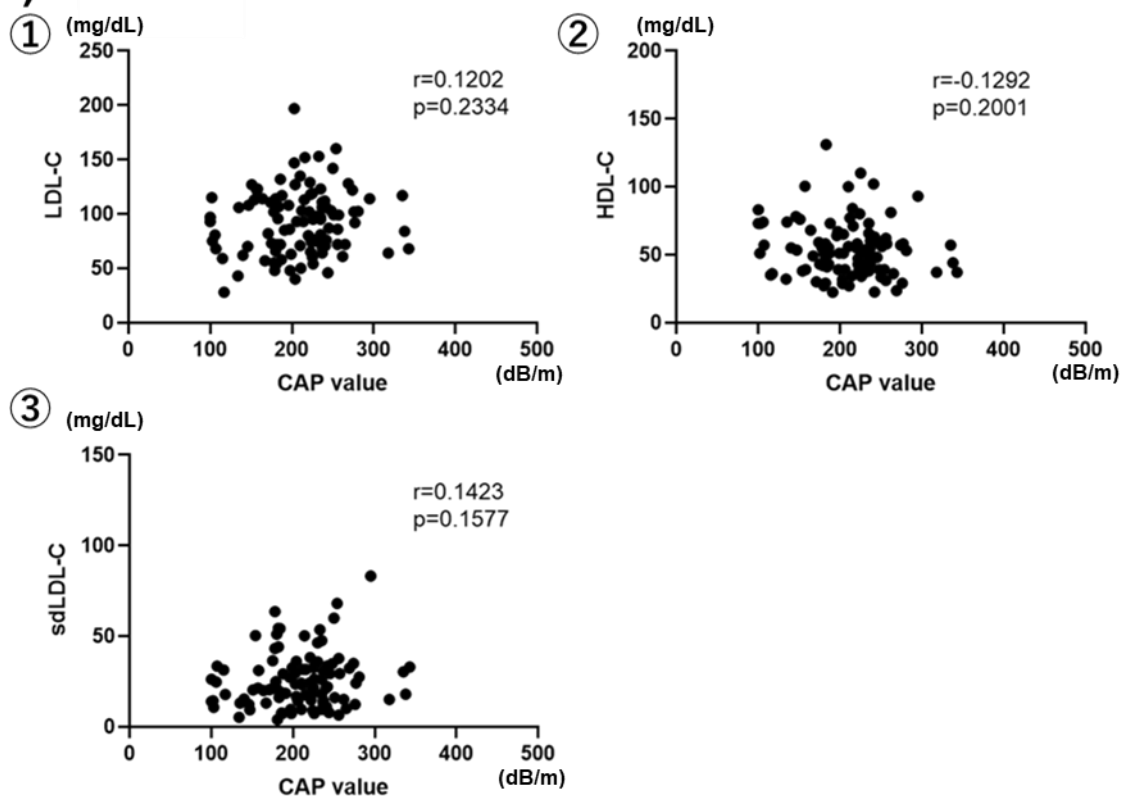
Figure 7. 血清コレステロール濃度と肝線維化の関連とその経時的な変化

ベースラインでは LSM と血清 LDL-C(①)、HDL-C(②)濃度の間には弱い相関関係が認められたが、血清 sdLDL-C(③)濃度の間には有意な相関関係は認められなかった。SVR24 では LSM と血清 LDL-C、sdLDL-C 濃度の間には有意な相関関係は認められなかったが、血清 HDL-C 濃度との間には弱い相関関係が認められた。SVR96、144 では LSM と各血清コレステロール濃度の間には有意な相関関係は認められなかった。

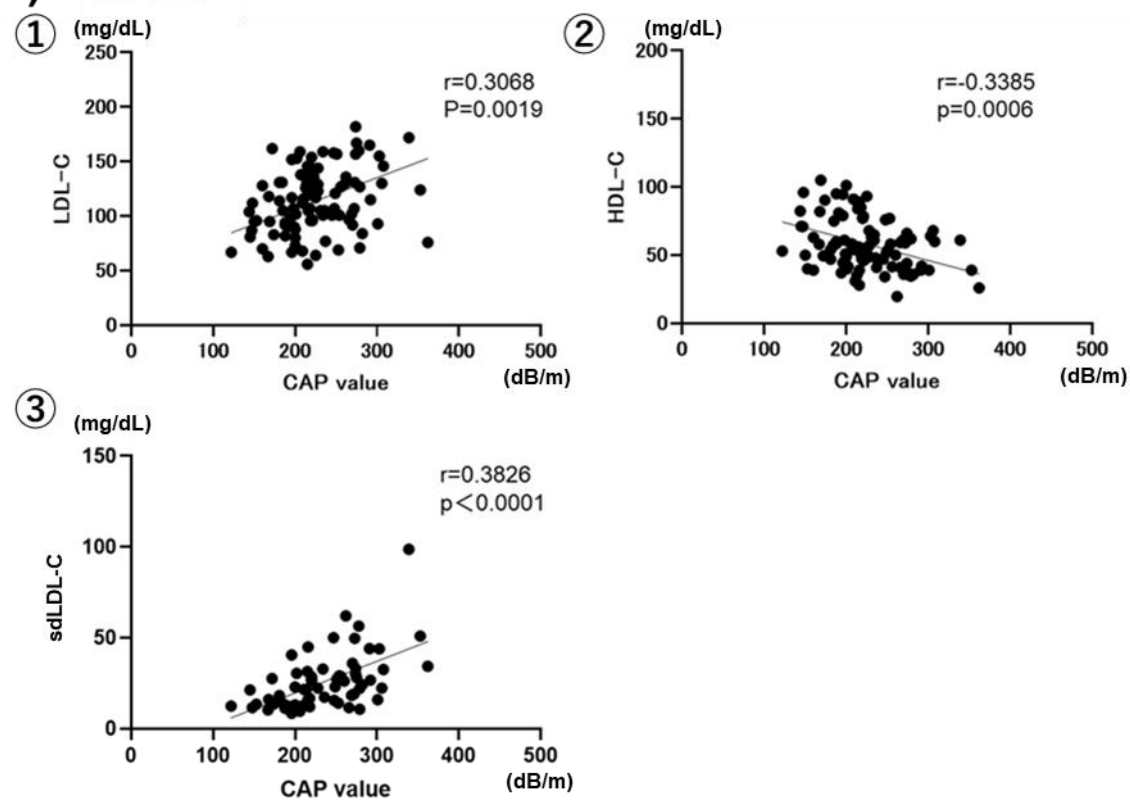
続いて、脂肪肝の指標である CAP 値と血清コレステロール濃度のベースライン、SVR24、SVR96、SVR144 における関連と、その経時的な変化について検討を行った。ベースラインにおいて、CAP 値と血清 LDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係を認めなかった (Figure 8A①)。また CAP 値と血清 HDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係を認めなかった (Figure 8A②)。さらに CAP 値と血清 sdLDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係は認められなかった (Figure 8A③)。しかし SVR24 において、CAP 値と血清 LDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両

者間には弱い正の相関関係が認められた ($r = 0.3068$, $p = 0.0019$; Figure 8B①)。また CAP 値と血清 HDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い負の相関関係が認められた ($r = -0.3385$, $p = 0.0006$; Figure 8B②)。さらに CAP 値と血清 sdLDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い正の相関関係が認められた ($r = 0.3826$, $p < 0.0001$; Figure 8B③)。SVR96 において、CAP 値と血清 LDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い正の相関関係が認められた ($r = 0.2596$, $p = 0.0091$; Figure 8C①)。また CAP 値と血清 HDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い負の相関関係が認められた ($r = -0.3133$, $p = 0.0015$; Figure 8C②)。さらに CAP 値と血清 sdLDL-C 濃度の関連について検討を行ったところ、両者間には弱い正の相関関係が認められた ($r = 0.3973$, $p = 0.0001$; Figure 8C③)。同様に SVR144 においても、CAP 値と血清 LDL-C (Figure 8D①)、HDL-C (Figure 8D②)濃度との間には弱い相関関係が認められ、血清 sd-LDL-C 濃度との間には有意な正の相関関係が認められた ($r = 0.4354$, $p < 0.0001$; Figure 8D③)。

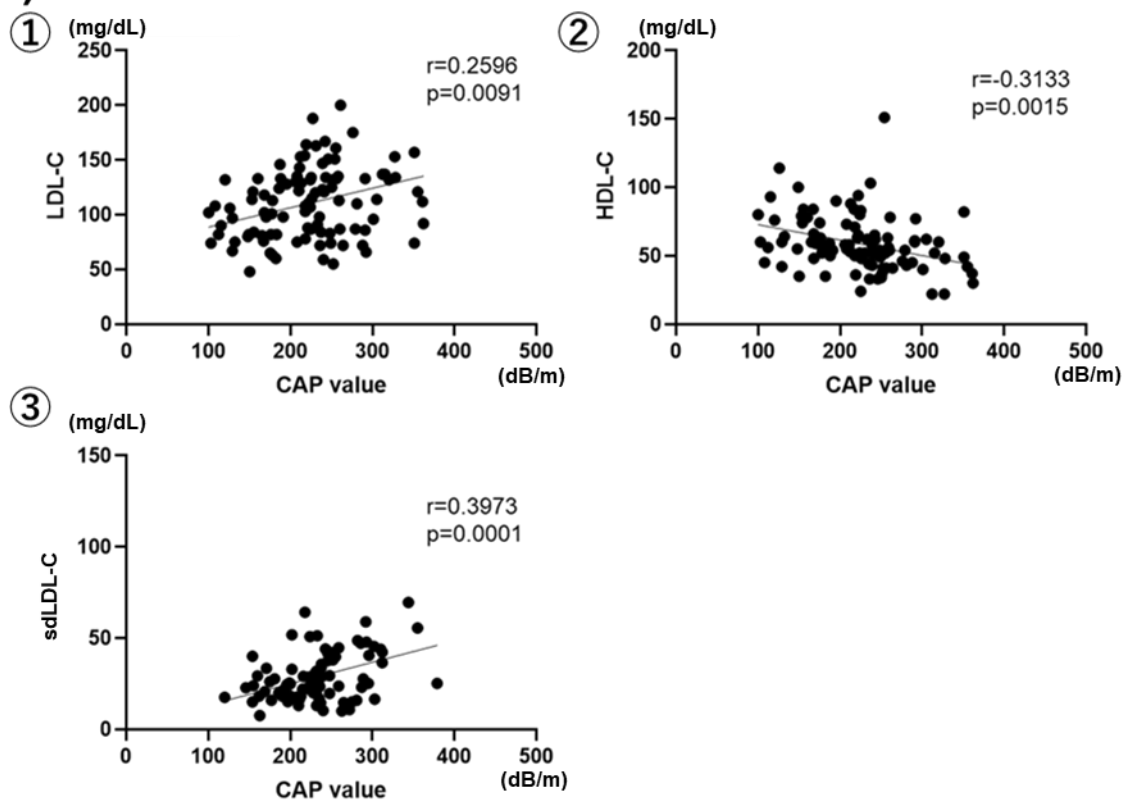
(A) Baseline



(B) SVR24



(C) SVR96



(D) SVR144

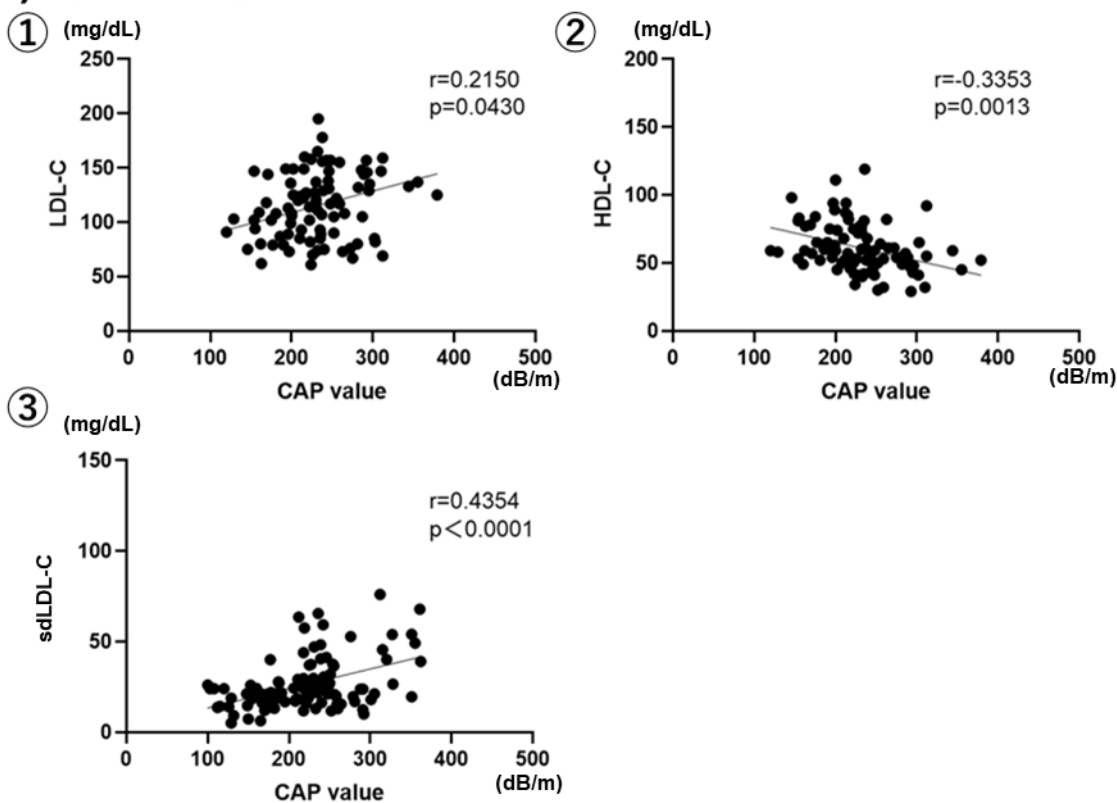


Figure 8. 血清コレステロール濃度と CAP 値の関連とその経時的な変化

ベースラインの CAP 値と血清 LDL-C (①)、HDL-C (②)、sdLDL-C (③)濃度の間には有意な相関関係は認められなかったが、治療後の各ポイントにおける CAP 値と各血清コレステロール濃度の間には弱い相関関係が認められた。

さらに、CAP 値と LSM のベースライン、SVR24、SVR96、SVR144 における関連と、その経時的な変化について検討を行った。ベースラインにおいて CAP 値と LSM の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係を認めなかった(Figure 9A)。また SVR24 において CAP 値と LSM の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係を認めなかった(Figure 9B)。さらに SVR96 において CAP 値と LSM の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係を認めなかった(Figure 9C)。しかし、SVR144 において CAP 値と LSM の関連について検討を行ったところ両者間には弱い正の相関関係が認められた ($r = 0.2289$, $p = 0.0310$; Figure 9D)。

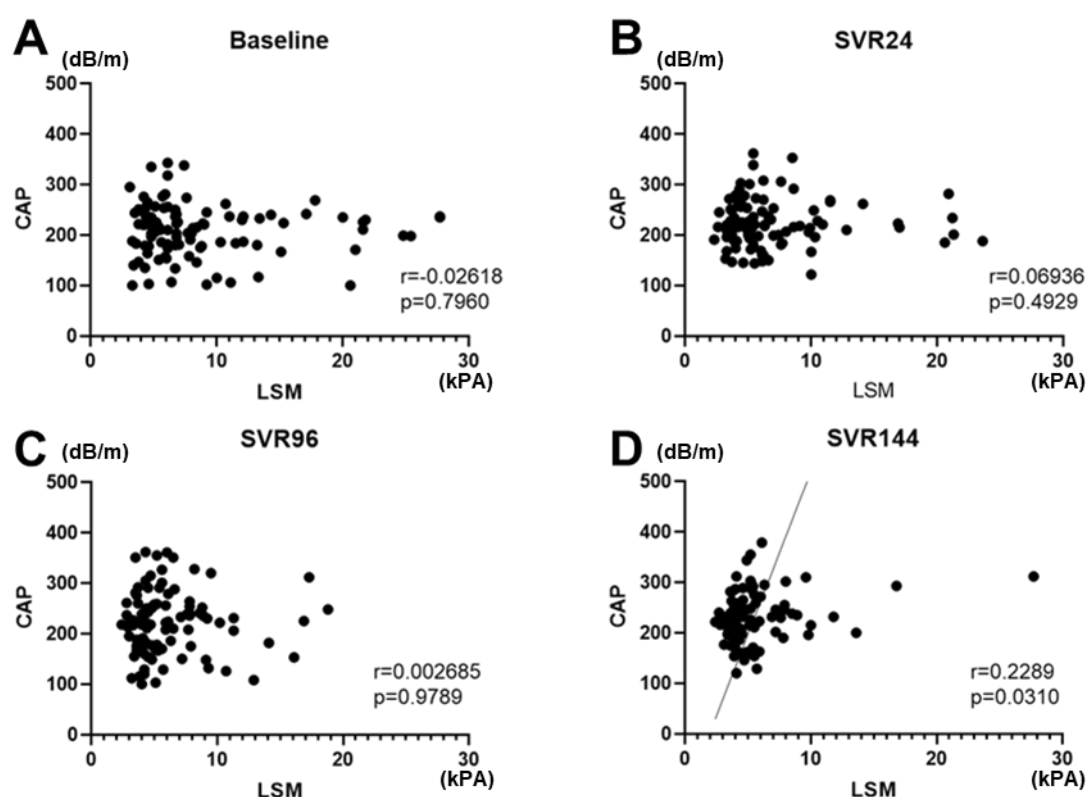


Figure 9. 各評価ポイントにおける CAP 値と LSM の関連

ベースラインにおいて CAP 値と LSM の関連について検討すると両者間には有

意な相関関係を認めなかった(A)。同様に SVR24 (B)、SVR96 (C)において CAP 値と LSM の関連について検討を行ったところ、両者間には有意な相関関係を認めなかった。しかし SVR144 において CAP 値と LSM の関連について検討すると両者間には弱い正の相関関係が認められた。

考察

今回の長期観察研究では、平均体重や BMI は観察期間を通じて同程度であった。しかしながら、HCV 感染患者において DAAs 治療による HCV 排除後に、脂肪肝の有病率が有意に上昇し、SVR144 においても上昇した有病率の改善がないことが明らかになった。HCV 排除後に脂肪肝が存在する症例では、治療後も持続的に肝線維化が進行しうることが報告されており (Noureddin et al., 2018)、HCV 排除後の脂肪肝の存在は肝発癌における有意な危険因子となり得ることから (Ji et al., 2021)、本研究の結果は臨床上、重要と考えられる。

これまで、HCV 感染は肝脂肪化を引き起こす事で、自身の複製をサポートする可能性があることが報告されている (Czaja et al., 1998)。そのため、HCV 排除は肝脂肪化を改善させることが予測されたが、今回の結果は既報からの予測と反したものであった。HCV 感染の肝脂肪化に与える影響は、HCV の遺伝子型により異なるとする報告もある。Price らは Genotype3 では直接的に肝脂肪化を引き起こすのに対して (Rubbia-Brandt et al., 2000)、それ以外の遺伝子型では HCV 非感染者に比べても脂肪肝症例が少なく (Machado et al., 2010; Poynard et al., 2003)、HCV 感染が肝脂肪化に対して抑制的に作用している可能性がある事を報告しており (Price et al., 2017)、本研究の結果を裏付けている可能性がある。DAAs 治療による HCV 排除後に肝脂肪化が増悪するメカニズムについては、十分に明らかになっていない。しかし、このメカニズムについてはインターロイキン-6 (Interleukin-6, IL-6) が関与している可能性がある。IL-6 は炎症性サイトカインの一種であり、肝の脂肪沈着を抑制する重要な役割を果たしているため、肝の IL-6 シグナルが失われる事で肝脂肪化が起こることが報告されている (Schmidt-Arras and Rose-John, 2016)。申請者の研究室では以前に、HCV のコアタンパク質が IL-6 を誘導することを報告しており (Suda et al., 2010)、DAAs 治療による HCV 排除が IL-6 の発現レベルの低下を介して、肝脂肪化の増悪を引き起こした可能性が考えられた。この仮説を検証するためには、基礎的研究を含めたさらなる追加解析が必要である。

また本研究では、DAA治療によるHCV排除を行うことで、ベースラインのCAP値が低い症例ではCAP値が増加し、ベースラインのCAP値が高い症例ではCAP値が減少することが明らかになり、ベースラインの肝脂肪化の状態が、DAA治療により劇的に変化する事を示した。ベースラインのCAP値が234 dB/m以上の患者では、大半の症例で治療後にCAP値が減少したものの、14例(42%)で治療後もCAP値の上昇を認めた。これらの症例では、ベースラインの血清T-C濃度が有意に高かった事から、ベースラインのCAP値が高く、さらに血清T-C濃度も高い症例では、DAA治療後も肝脂肪化が増悪するリスクがあるため、慎重な経過観察が必要であると考えられた。

DAA治療によるHCV排除後に脂肪肝が存在する症例では、治療後も線維化の進行が持続する事が報告されている(Noureddin et al., 2018)。本研究では、Figure 9に示すように、ベースライン、SVR24、SVR96においては、肝硬度とCAP値に有意な相関を認めなかったものの、SVR144では肝硬変とCAP値に有意な相関を認めた。この結果は、DAA治療後も脂肪肝が存在する症例で、長期観察においては肝線維化が進行した結果を反映している可能性が示唆され、既報の結果を裏付けている可能性がある。DAA治療後の肝線維化の進行は肝細胞癌の発生リスクであり(Ji et al., 2021)、改めてDAA治療によるHCV排除後に脂肪肝を有する症例では、肝細胞癌の発生を定期的にスクリーニングすることが強く求められると考えられる。

本研究では、脂肪肝の有病率と同様、脂質異常症の有病率もDAA治療によるHCV排除後に有意に上昇し、SVR144においても上昇した有病率の改善がないことが明らかになった。さらに、DAA治療前では、肝脂肪化と血清脂質濃度は相関を認めなかったが、HCV排除後では肝脂肪化と血清脂質濃度は有意に相関する事を示した。脂肪肝と脂質異常症の併存は、心血管系疾患発生のリスクを上昇させる事が報告されており(Katsiki et al., 2016)、DAA治療によるHCV排除後も、これらの症例では心血管疾患に対するフォローを慎重に行う必要があると考えられた。心血管疾患は、HCV感染症の肝外病変の1つとしてHCV自体による内皮障害、全身性炎症、酸化ストレス、糖代謝の増悪により引き起こされる可能性がある(Roguljic et al., 2021)。そのため、DAA治療によるHCV排除は一般的に心血管疾患のリスクを減少させる事が報告されている(Roguljic et al., 2021)。一方で、本研究で示したように、DAA治療によるHCV排除後の症例の一部では脂質異常症を伴った肝脂肪化の増悪を認めた症例も存在した。治療後のCAP値はLDL-Cだけでなく、より心血管疾患と関連性が高いsdLDL-Cとも相関を

認めている事から、これらの症例では血清 sdLDL-C 値が高く、心血管疾患のリスクがより高い症例と考えられる。このように、一般的に DAAs 治療による HCV 排除は心血管疾患のリスクを低下させるが、一部の患者では治療後も心血管疾患のリスクが高いことが明らかになった。したがって、DAAs 治療後に既知の脂肪肝が増悪、または新規に脂肪肝の診断となった症例では、心血管疾患に対してより慎重なフォローが必要な可能性がある。

本章の研究にはいくつかの制限がある。本研究は単一施設での後方視的な研究である。また、脂肪肝、肝線維化、脂質プロファイルの長期に渡る経時的データを有する症例を対象としたため、患者数が比較的限られている。また、収集した臨床情報に、運動量や食事量、正確な飲酒量などのデータが不足している。したがって、この研究結果を検証するためには、さらに大規模な前向き多施設研究が必要である。

結論

第一章から、DAA治療によるHCV排除後に、eGFR_{cre}は有意に低下したが、骨格筋量変化の影響の為に、腎機能の変化を正確に反映していない可能性がある事が明らかとなった。一方で、eGFR_{cys}はDAA治療前後で骨格筋量変化にかかわらず有意差を認めなかった事から、慢性肝疾患患者における腎機能評価の有用な代替方法と考えられた。

第二章より、DAA治療によるHCV排除後に、骨格筋量の相対的な増加を認めた。骨格筋量の増加は血清遊離カルニチン濃度の上昇と有意な関連を認めた。L-カルニチン製剤が投与された症例では全例で、PMIと血清遊離カルニチン濃度の上昇を認め、カルニチン補充がDAA治療後の低骨格筋量患者において、治療の選択肢となる可能性がある。

第三章では、DAA治療によるHCV排除後に、体重の増加を伴う事なく、脂肪肝の有病率が有意に増加することが明らかになった。また、治療後の脂肪肝は脂質異常症と有意な相関が認められた。HCV排除後の脂肪肝の存在は、肝発癌のリスクであり、脂肪肝と脂質異常症の合併は、心血管疾患発症のリスクとなるため、DAA治療によるHCV排除後も、これらの患者を注意深く経過観察する必要がある。

本研究において、以下の知見が得られた。

- ・DAA治療によるHCV排除後に、eGFR_{cre}は低下するが、骨格筋量変化の影響の為に、腎機能の変化を正確に反映していない可能性がある事を報告した。
- ・DAA治療によるHCV排除後に、eGFR_{cys}は有意な変化を認めず、DAA治療によるHCV排除は腎機能を増悪させない可能性がある事を報告した。
- ・eGFR_{cys}は骨格筋量の影響を受けないため、慢性肝疾患患者における正確な腎機能評価に有用な可能性がある事を報告した。
- ・DAA治療によるHCV排除後に、骨格筋量は相対的に増加した事を報告した。
- ・DAA治療によるHCV排除後の骨格筋量の変化は、血清遊離カルニチン濃度の変化が関与した可能性がある事を報告した。
- ・カルニチンの補充が、DAA治療後の低骨格筋量患者における、新たな治

療選択肢となり得る可能性がある事を報告した。

- ・DAAs 治療による HCV 排除後、長期的には、脂質異常症、脂肪肝の有病率、両疾患併発の有病率が増加した事を報告した。

- ・DAAs 治療による HCV 排除後、ベースラインで CAP 値が高い症例では、大半で CAP 値の低下を認めたが、一部の症例でさらに上昇する事を報告した。また、その予測因子としてベースラインの血清 T-C 濃度が有用である可能性を報告した。

本研究では、慢性肝疾患患者において、骨格筋量によって腎機能が過大評価され得る事を報告した。前述の通り、サルコペニアを合併した慢性肝疾患の予後は不良であり、今後本研究で確認された腎機能の過大評価を用いて、慢性肝疾患患者の筋肉量を推定する簡易な手段としてや、慢性肝疾患患者の予後予測因子として利用できないか、今後も引き続き検討を行っていく予定である。

また、カルニチンの補充が、DAAs 治療後の低骨格筋量患者の、新たな治療選択肢となり得る可能性について報告したが、本研究ではカルニチンの補充を行った症例数が非常に少なく、今後さらに症例数を増やして検討していくと共に、低骨格筋量の慢性肝疾患患者を対象とした大規模な前向き研究が望まれる。

さらに、HCV 排除後の脂質異常症や脂肪肝の有病率の上昇について報告し、治療後の高リスク症例での心血管疾患に対する慎重なフォローが重要と考えられるが、本研究の観察期間中において心血管疾患が出現した症例は非常に少なく、真の影響を明らかにするために、より長期間の観察を継続的に行っていく予定である。

C 型肝炎は根治を目指せる時代に近づきつつあるものの、HCV 排除後の肝内、肝外病変の検討やコントロールについては未だ十分に明らかではなく、今後更なる検討を要する。

謝 辞

先ず、本研究にご協力頂いた全ての患者様とそこそご家族に心より感謝申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、有益な御指導・御助言をいただきました北海道大学大学院医学研究院内科学分野消化器内科学教室 坂本直哉教授に深く感謝いたします。

研究に対する心構えや信念、実験方法、データ解釈、論文作成など、様々な面において御指導・御援助頂きました北海道大学大学院医学研究院内科学分野消化器内科学教室講師 須田剛生先生には感謝の念に堪えません。厚く御礼申し上げます。

また、臨床における技術指導や、検体の採取などにご尽力頂きました、北海道大学病院消化器内科 肝臓グループの諸先生方に、心より深く感謝申し上げます。

2023年3月

得地 祐匡

利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

Assy, N., Hochberg, Z., Amit, T., Shen-Orr, Z., Enat, R., and Baruch, Y. (1997). Growth hormone-stimulated insulin-like growth factor (IGF) I and IGF-binding protein-3 in liver cirrhosis. *J. Hepatol.* *27*, 796-802.

Beste, L.A., Green, P.K., Berry, K., Kogut, M.J., Allison, S.K., and Ioannou, G.N. (2017). Effectiveness of hepatitis C antiviral treatment in a USA cohort of veteran patients with hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* *67*, 32-39.

Børsheim, E., Bui, Q.U., Tissier, S., Kobayashi, H., Ferrando, A.A., and Wolfe, R.R. (2008). Effect of amino acid supplementation on muscle mass, strength and physical function in elderly. *Clin. Nutr.* *27*, 189-195.

Brass, E.P. (2000). Supplemental carnitine and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* *72*, 618s-623s.

Cacoub, P., Desbois, A.C., Isnard-Bagnis, C., Rocatello, D., and Ferri, C. (2016). Hepatitis C virus infection and chronic kidney disease: Time for reappraisal. *J. Hepatol.* *65*, s82-s94.

Ceglia, L., da Silva Morais, M., Park, L.K., Morris, E., Harris, S.S., Bischoff-Ferrari, H.A., Fielding, R.A., and Dawson-Hughes, B. (2010). Multi-step immunofluorescent analysis of vitamin D receptor loci and myosin heavy chain isoforms in human skeletal muscle. *J. Mol. Histol.* *41*, 137-142.

Cheng, Y., Dharancy, S., Malapel, M., and Desreumaux, P. (2005). Hepatitis C virus infection down-regulates the expression of peroxisome proliferator-activated receptor alpha and carnitine palmitoyl acyl-CoA transferase 1A. *World J. Gastroenterol.* *11*, 7591-7596.

Chiu, S.M., Tsai, M.C., Lin, C.Y., Chen, C.H., Lu, S.N., Hung, C.H., Sheen,

I.S., Chien, R.N., Lin, C.L., Hu, T.H., et al. (2020). Serial changes of renal function after directly acting antivirals treatment for chronic hepatitis C: A 1-year follow-up study after treatment. *PLoS One* *15*, e0231102.

Cruz-Jentoft, A.J., Baeyens, J.P., Bauer, J.M., Boirie, Y., Cederholm, T., Landi, F., Martin, F.C., Michel, J.P., Rolland, Y., Schneider, S.M., et al. (2010). Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* *39*, 412-423.

Czaja, A.J., Carpenter, H.A., Santrach, P.J., and Moore, S.B. (1998). Host- and disease-specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* *29*, 198-206.

Dasarathy, S. (2012). Consilience in sarcopenia of cirrhosis. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* *3*, 225-237.

Donaghy, A.J., Delhanty, P.J., Ho, K.K., Williams, R., and Baxter, R.C. (2002). Regulation of the growth hormone receptor/binding protein, insulin-like growth factor ternary complex system in human cirrhosis. *J. Hepatol.* *36*, 751-758.

Fabrizi, F., Plaisier, E., Saadoun, D., Martin, P., Messa, P., and Cacoub, P. (2013). Hepatitis C virus infection, mixed cryoglobulinemia, and kidney disease. *Am. J. Kidney Dis.* *61*, 623-637.

Fioravante, M., Alegre, S.M., Marin, D.M., Lorena, S.L., Pereira, T.S., and Soares, E.C. (2012). Weight loss and resting energy expenditure in patients with chronic hepatitis C before and during standard treatment. *Nutrition* *28*, 630-634.

Flanagan, J.L., Simmons, P.A., Vehige, J., Willcox, M.D., and Garrett, Q. (2010). Role of carnitine in disease. *Nutr. Metab. (Lond.)* *7*, 30.

Fouad, Y., Lazarus, J.V., Negro, F., Peck-Radosavljevic, M., Sarin, S.K.,

Ferenci, P., Esmat, G., Ghazinian, H., Nakajima, A., Silva, M., et al. (2021). MAFLD considerations as a part of the global hepatitis C elimination effort: an international perspective. *Aliment. Pharmacol. Ther.* *53*, 1080-1089.

Francoz, C., and Sola, E. (2019). Assessment of renal function in cirrhosis: Sarcopenia, gender and ethnicity matter. *J. Hepatol.* *70*, 828-830.

Gnoni, A., Longo, S., Gnoni, G.V., and Giudetti, A.M. (2020). Carnitine in Human Muscle Bioenergetics: Can Carnitine Supplementation Improve Physical Exercise? *Molecules* *25*.

Hanai, T., Shiraki, M., Ohnishi, S., Miyazaki, T., Ideta, T., Kochi, T., Imai, K., Suetsugu, A., Takai, K., Moriwaki, H., and Shimizu, M. (2016). Rapid skeletal muscle wasting predicts worse survival in patients with liver cirrhosis. *Hepatol. Res.* *46*, 743-751.

Hevonoja, T., Pentikäinen, M.O., Hyvönen, M.T., Kovanen, P.T., and Ala-Korpela, M. (2000). Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: basis for understanding molecular changes in modified LDL. *Biochim. Biophys. Acta* *1488*, 189-210.

Hoogeveen, R.C., Gaubatz, J.W., Sun, W., Dodge, R.C., Crosby, J.R., Jiang, J., Couper, D., Virani, S.S., Kathiresan, S., Boerwinkle, E., and Ballantyne, C.M. (2014). Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *34*, 1069-1077.

Ichikawa, T., Miyaaki, H., Miuma, S., Motoyoshi, Y., Narita, S., Toda, S., Takahashi, Y., Honda, T., Yajima, H., Uehara, R., et al. (2019). Carotid Intima-media Thickness and Small Dense Low-density Lipoprotein Cholesterol Increase after One Year of Treatment with Direct-acting Antivirals in Patients with Hepatitis C Virus Infection. *Intern. Med.* *58*,

1209-1215.

Iritani, S., Imai, K., Takai, K., Hanai, T., Ideta, T., Miyazaki, T., Suetsugu, A., Shiraki, M., Shimizu, M., and Moriwaki, H. (2015). Skeletal muscle depletion is an independent prognostic factor for hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol.* *50*, 323-332.

Ito, T., Ishigami, M., Zou, B., Tanaka, T., Takahashi, H., Kurosaki, M., Maeda, M., Thin, K.N., Tanaka, K., Takahashi, Y., et al. (2021). The epidemiology of NAFLD and lean NAFLD in Japan: a meta-analysis with individual and forecasting analysis, 1995-2040. *Hepatol. Int.* *15*, 366-379.

Izumi, N., Hayashi, N., Kumada, H., Okanoue, T., Tsubouchi, H., Yatsuhashi, H., Kato, M., Ki, R., Komada, Y., Seto, C., and Goto, S. (2014). 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.* *49*, 941-953.

Ji, D., Chen, G.F., Niu, X.X., Zhang, M., Wang, C., Shao, Q., Wu, V., Wang, Y., Cheng, G., Hurwitz, S.J., et al. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease is a risk factor for occurrence of hepatocellular carcinoma after sustained virologic response in chronic hepatitis C patients: A prospective four-years follow-up study. *Metabol Open* *10*, 100090.

Karlas, T., Petroff, D., Sasso, M., Fan, J.G., Mi, Y.Q., de Lédinghen, V., Kumar, M., Lupson-Platon, M., Han, K.H., Cardoso, A.C., et al. (2017). Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J. Hepatol.* *66*, 1022-1030.

Katsanos, C.S., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Aarsland, A., and Wolfe, R.R. (2006). A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *291*, E381-387.

Katsiki, N., Mikhailidis, D.P., and Mantzoros, C.S. (2016). Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. *Metabolism* *65*, 1109-1123.

Kawagishi, N., Suda, G., Kimura, M., Maehara, O., Shimazaki, T., Yamada, R., Kitagataya, T., Shigesawa, T., Suzuki, K., Nakamura, A., et al. (2020). High serum angiopoietin-2 level predicts non-regression of liver stiffness measurement-based liver fibrosis stage after direct-acting antiviral therapy for hepatitis C. *Hepatol. Res.* *50*, 671-681.

Kawagishi, N., Suda, G., Nakamura, A., Kimura, M., Maehara, O., Suzuki, K., Nakamura, A., Ohara, M., Izumi, T., Umemura, M., et al. (2018). Liver steatosis and dyslipidemia after HCV eradication by direct acting antiviral agents are synergistic risks of atherosclerosis. *PLoS One* *13*, e0209615.

Kobayashi, M., Suzuki, F., Fujiyama, S., Kawamura, Y., Sezaki, H., Hosaka, T., Akuta, N., Suzuki, Y., Saitoh, S., Arase, Y., et al. (2017). Sustained virologic response by direct antiviral agents reduces the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with HCV infection. *J. Med. Virol.* *89*, 476-483.

Koizumi, T., Nikaido, H., Hayakawa, J., Nonomura, A., and Yoneda, T. (1988). Infantile disease with microvesicular fatty infiltration of viscera spontaneously occurring in the C3H-H-2(0) strain of mouse with similarities to Reye's syndrome. *Lab. Anim.* *22*, 83-87.

Korenaga, M., Wang, T., Li, Y., Showalter, L.A., Chan, T., Sun, J., and Weinman, S.A. (2005). Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases reactive oxygen species (ROS) production. *J. Biol. Chem.* *280*, 37481-37488.

Krishnan, P., Schnell, G., Tripathi, R., Beyer, J., Reisch, T., Dekhtyar, T., Irvin, M., Xie, W., Fu, B., Burroughs, M., et al. (2018). Integrated Resistance Analysis of CERTAIN-1 and CERTAIN-2 Studies in Hepatitis

C Virus-Infected Patients Receiving Glecaprevir and Pibrentasvir in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* *62*.

Lavanchy, D. (2011). Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin. Microbiol. Infect.* *17*, 107-115. 10.1111/j.1469-0691.

Lee, J.J., Lin, M.Y., Chang, J.S., Hung, C.C., Chang, J.M., Chen, H.C., Yu, M.L., and Hwang, S.J. (2014). Hepatitis C virus infection increases risk of developing end-stage renal disease using competing risk analysis. *PLoS One* *9*, e100790.

Leslie, J., Geh, D., Elsharkawy, A.M., Mann, D.A., and Vacca, M. (2022). Metabolic dysfunction and cancer in HCV: Shared pathways and mutual interactions. *J. Hepatol.* *77*, 219-236.

Lok, A.S., and McMahon, B.J. (2007). Chronic hepatitis B. *Hepatology* *45*, 507-539.

Machado, M.V., Oliveira, A.G., and Cortez-Pinto, H. (2010). Hepatic steatosis in patients coinfecting with human immunodeficiency virus/hepatitis C virus: a meta-analysis of the risk factors. *Hepatology* *52*, 71-78. 10.1002/hep.23619.

Magoulas, P.L., and El-Hattab, A.W. (2012). Systemic primary carnitine deficiency: an overview of clinical manifestations, diagnosis, and management. *Orphanet J. Rare Dis.* *7*, 68.

Martin, P., DiMartini, A., Feng, S., Brown, R., Jr., and Fallon, M. (2014). Evaluation for liver transplantation in adults: 2013 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Hepatology* *59*, 1144-1165.

Masuda, T., Shirabe, K., Ikegami, T., Harimoto, N., Yoshizumi, T., Soejima, Y., Uchiyama, H., Ikeda, T., Baba, H., and Maehara, Y. (2014). Sarcopenia is a prognostic factor in living donor liver transplantation. *Liver Transpl.* *20*, 401-407.

McPherron, A.C., Lawler, A.M., and Lee, S.J. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *Nature* *387*, 83-90.

Mettke, F., Schlevogt, B., Deterding, K., Wranke, A., Smith, A., Port, K., Manns, M.P., Vogel, A., Cornberg, M., and Wedemeyer, H. (2018). Interferon-free therapy of chronic hepatitis C with direct-acting antivirals does not change the short-term risk for de novo hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* *47*, 516-525.

Misiani, R., Bellavita, P., Fenili, D., Vicari, O., Marchesi, D., Sironi, P.L., Zilio, P., Vernocchi, A., Massazza, M., Vendramin, G., and et al. (1994). Interferon alfa-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *N. Engl. J. Med.* *330*, 751-756.

Mitwalli, A.H., Al-Wakeel, J.S., Alam, A., Tarif, N., Abu-Aisha, H., Rashed, M., and Al Nahed, N. (2005). L-carnitine supplementation in hemodialysis patients. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* *16*, 17-22.

Miyanari, Y., Atsuzawa, K., Usuda, N., Watashi, K., Hishiki, T., Zayas, M., Bartenschlager, R., Wakita, T., Hijikata, M., and Shimotohno, K. (2007). The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat. Cell Biol.* *9*, 1089-1097.

Moriwaki, H., Miwa, Y., Tajika, M., Kato, M., Fukushima, H., and Shiraki, M. (2004). Branched-chain amino acids as a protein- and energy-source in liver cirrhosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *313*, 405-409.

Nagata, H., Nakagawa, M., Asahina, Y., Sato, A., Asano, Y., Tsunoda, T., Miyoshi, M., Kaneko, S., Otani, S., Kawai-Kitahata, F., et al. (2017). Effect of interferon-based and -free therapy on early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* *67*, 933-939.

Nakanishi, H., Kurosaki, M., Tsuchiya, K., Nakakuki, N., Takada, H., Matsuda, S., Gondo, K., Asano, Y., Hattori, N., Tamaki, N., et al. (2015). L-carnitine Reduces Muscle Cramps in Patients With Cirrhosis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* *13*, 1540-1543.

Nishikawa, H., Shiraki, M., Hiramatsu, A., Moriya, K., Hino, K., and Nishiguchi, S. (2016). Japan Society of Hepatology guidelines for sarcopenia in liver disease (1st edition): Recommendation from the working group for creation of sarcopenia assessment criteria. *Hepatol. Res.* *46*, 951-963.

Noureddin, M., Wong, M.M., Todo, T., Lu, S.C., Sanyal, A.J., and Mena, E.A. (2018). Fatty liver in hepatitis C patients post-sustained virological response with direct-acting antivirals. *World J. Gastroenterol.* *24*, 1269-1277.

Ohara, M., Ogawa, K., Suda, G., Kimura, M., Maehara, O., Shimazaki, T., Suzuki, K., Nakamura, A., Umemura, M., Izumi, T., et al. (2018). L-Carnitine Suppresses Loss of Skeletal Muscle Mass in Patients With Liver Cirrhosis. *Hepatol Commun* *2*, 906-918.

Ohara, M., Suda, G., Kimura, M., Maehara, O., Shimazaki, T., Shigesawa, T., Suzuki, K., Nakamura, A., Kawagishi, N., Nakai, M., et al. (2020a). Analysis of the optimal psoas muscle mass index cut-off values, as measured by computed tomography, for the diagnosis of loss of skeletal muscle mass in Japanese people. *Hepatol. Res.* *50*, 715-725.

Ohara, M., Suda, G., Kimura, M., Maehara, O., Shimazaki, T., Shigesawa, T., Suzuki, K., Nakamura, A., Kawagishi, N., Nakai, M., et al. (2020b). Computed tomography, not bioelectrical impedance analysis, is the proper method for evaluating changes in skeletal muscle mass in liver disease. *JCSM Rapid Communications* *3*, 103-114.

Perlemuter, G., Sabile, A., Letteron, P., Vona, G., Topilco, A., Chrétien, Y.,

Koike, K., Pessayre, D., Chapman, J., Barba, G., and Bréchet, C. (2002). Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J.* *16*, 185-194.

Poynard, T., Ratziu, V., McHutchison, J., Manns, M., Goodman, Z., Zeuzem, S., Younossi, Z., and Albrecht, J. (2003). Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* *38*, 75-85.

Price, J.C., Ma, Y., Scherzer, R., Korn, N., Tillinghast, K., Peters, M.G., Noworolski, S.M., and Tien, P.C. (2017). Human immunodeficiency virus-infected and uninfected adults with non-genotype 3 hepatitis C virus have less hepatic steatosis than adults with neither infection. *Hepatology* *65*, 853-863.

Rawlings, N.D., and Barrett, A.J. (1990). Evolution of proteins of the cystatin superfamily. *J. Mol. Evol.* *30*, 60-71.

Reig, M., Mariño, Z., Perelló, C., Iñarrairaegui, M., Ribeiro, A., Lens, S., Díaz, A., Vilana, R., Darnell, A., Varela, M., et al. (2016). Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *J. Hepatol.* *65*, 719-726.

Reuter, S.E., and Evans, A.M. (2012). Carnitine and acylcarnitines: pharmacokinetic, pharmacological and clinical aspects. *Clin. Pharmacokinet.* *51*, 553-572.

Ridker, P.M., Danielson, E., Fonseca, F.A., Genest, J., Gotto, A.M., Jr., Kastelein, J.J., Koenig, W., Libby, P., Lorenzatti, A.J., MacFadyen, J.G., et al. (2008). Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N. Engl. J. Med.* *359*, 2195-2207.

Roguljic, H., Nincevic, V., Bojanic, K., Kuna, L., Smolic, R., Vcev, A., Primorac, D., Vceva, A., Wu, G.Y., and Smolic, M. (2021). Impact of DAA

Treatment on Cardiovascular Disease Risk in Chronic HCV Infection: An Update. *Front. Pharmacol.* *12*, 678546.

Rubbia-Brandt, L., Quadri, R., Abid, K., Giostra, E., Malé, P.J., Mentha, G., Spahr, L., Zarski, J.P., Borisch, B., Hadengue, A., and Negro, F. (2000). Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J. Hepatol.* *33*, 106-115.

Rudman, D., Sewell, C.W., and Ansley, J.D. (1977). Deficiency of carnitine in cachectic cirrhotic patients. *J. Clin. Invest.* *60*, 716-723.

Sakamoto, N., and Watanabe, M. (2009). New therapeutic approaches to hepatitis C virus. *J. Gastroenterol.* *44*, 643-649.

Schmidt-Arras, D., and Rose-John, S. (2016). IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *J. Hepatol.* *64*, 1403-1415.

Silvério, R., Laviano, A., Rossi Fanelli, F., and Seelaender, M. (2011). l-carnitine and cancer cachexia: Clinical and experimental aspects. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* *2*, 37-44.

Suda, G., Hasebe, C., Abe, M., Kurosaki, M., Itakura, J., Izumi, N., Uchida, Y., Mochida, S., Haga, H., Ueno, Y., et al. (2019a). Safety and efficacy of glecaprevir and pibrentasvir in Japanese hemodialysis patients with genotype 2 hepatitis C virus infection. *J. Gastroenterol.* *54*, 641-649.

Suda, G., Nakai, M., Sho, T., Kimura, M., Shimazaki, T., Maehara, O., Shigesawa, T., Suzuki, K., Nakamura, A., Ohara, M., et al. (2019b). The Successful Retreatment with Glecaprevir and Pibrentasvir of Genotype 1 or 2 HCV-infected Hemodialysis Patients who Failed to Respond to NS5A and Protease Inhibitor Treatment. *Intern. Med.* *58*, 943-947.

Suda, G., Ogawa, K., Morikawa, K., and Sakamoto, N. (2018). Treatment of hepatitis C in special populations. *J. Gastroenterol.* *53*, 591-605.

Suda, G., and Sakamoto, N. (2021). Recent advances in the treatment of hepatitis C virus infection for special populations and remaining problems. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *36*, 1152-1158.

Suda, G., Sakamoto, N., Itsui, Y., Nakagawa, M., Tasaka-Fujita, M., Funaoka, Y., Watanabe, T., Nitta, S., Kiyohashi, K., Azuma, S., et al. (2010). IL-6-mediated intersubgenotypic variation of interferon sensitivity in hepatitis C virus genotype 2a/2b chimeric clones. *Virology* *407*, 80-90.

Sugimoto, R., Iwasa, M., Hara, N., Tamai, Y., Yoshikawa, K., Ogura, S., Tanaka, H., Eguchi, A., Yamamoto, N., Kobayashi, Y., et al. (2018). Changes in liver function and body composition by direct-acting antiviral therapy for hepatitis C virus infection. *Hepatol. Res.* *48*, 337-344.

Sun, H.Y., Cheng, P.N., Tseng, C.Y., Tsai, W.J., Chiu, Y.C., and Young, K.C. (2018). Favouring modulation of circulating lipoproteins and lipid loading capacity by direct antiviral agents grazoprevir/elbasvir or ledipasvir/sofosbuvir treatment against chronic HCV infection. *Gut* *67*, 1342-1350.

Syed, G.H., Tang, H., Khan, M., Hassanein, T., Liu, J., and Siddiqui, A. (2014). Hepatitis C virus stimulates low-density lipoprotein receptor expression to facilitate viral propagation. *J. Virol.* *88*, 2519-2529.

Takehara, T., Sakamoto, N., Nishiguchi, S., Ikeda, F., Tatsumi, T., Ueno, Y., Yatsunami, H., Takikawa, Y., Kanda, T., Sakamoto, M., et al. (2019). Efficacy and safety of sofosbuvir-velpatasvir with or without ribavirin in HCV-infected Japanese patients with decompensated cirrhosis: an open-label phase 3 trial. *J. Gastroenterol.* *54*, 87-95.

Teramoto, T., Sasaki, J., Ishibashi, S., Birou, S., Daida, H., Dohi, S., Egusa, G., Hiro, T., Hirobe, K., Iida, M., et al. (2014). Other types of primary hyperlipoproteinemia(hyperlipidemia). Executive summary of

the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan--2012 version. *J Atheroscler Thromb* 21, 82-85.

Tsai, M.C., Lin, C.Y., Hung, C.H., Lu, S.N., Tung, S.Y., Chien, R.N., Lin, C.L., Wang, J.H., Chien-Hung, C., Chang, K.C., et al. (2019). Evolution of renal function under direct-acting antivirals treatment for chronic hepatitis C: A real-world experience. *J. Viral Hepat.* 26, 1404-1412.

Tsuge, M., Hiramatsu, A., Shinohara, F., Nakano, N., Nakamura, Y., Hatooka, M., Morio, K., Morio, R., Kan, H., Fujino, H., et al. (2016). Improvement of renal dysfunction in a patient with hepatitis C virus-related liver cirrhosis by daclatasvir and asunaprevir combination therapy: A case report. *Hepatol. Res.* 46, 944-948.

Tsukuda, Y., Suda, G., Tsunematsu, S., Ito, J., Sato, F., Terashita, K., Nakai, M., Sho, T., Maehara, O., Shimazaki, T., et al. (2017). Anti-adipogenic and antiviral effects of l-carnitine on hepatitis C virus infection. *J. Med. Virol.* 89, 857-866.

Vallet-Pichard, A., Mallet, V., Nalpas, B., Verkarre, V., Nalpas, A., Dhalluin-Venier, V., Fontaine, H., and Pol, S. (2007). FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology* 46, 32-36.

Wiesner, R., Edwards, E., Freeman, R., Harper, A., Kim, R., Kamath, P., Kremers, W., Lake, J., Howard, T., Merion, R.M., et al. (2003). Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology* 124, 91-96.

Yoo, J.J., Kim, S.G., Kim, Y.S., Lee, B., Lee, M.H., Jeong, S.W., Jang, J.Y., Lee, S.H., Kim, H.S., Kim, Y.D., and Cheon, G.J. (2019). Estimation of renal function in patients with liver cirrhosis: Impact of muscle mass and sex. *J. Hepatol.* 70, 847-854.