

3,6,12,24,48 時間, 4,7,14 日目に採血し、血中ウイルス量と Th1 サイトカイン系の Neopterin, β 2-microglobulin(BMG)と Th2 系サイトカインの IL-10 を測定した。IFN monotherapy, IFN と Rib 併用療法、IFN α と γ の交互投与例の患者背景と治療効果は Table1,2,3 に示すごとくである。なお、IFN monotherapy は IFN α 2b 一日 1000 万単位を、IFN と Rib 併用群は IFN α 2b 一日 600 万または 1000 万単位と Rib 一日 600mg または 800mg 投与とし、IFN α と IFN γ 交互投与群は OIF 一日 1000 万単位と IFN γ (オーガンマ) 一日 100 万単位を交互に 3 週間投与し、以後は OIF 一日 1000 万単位、週 3 回 21 週投与した。

C. 研究結果

IFN monotherapy 35 例の HCV dynamics は大きく 3 群に大別できた。1) 投与 24 時間以内(first phase)に血中 HCV RNA 量が定量感度以下になり、以降(second phase)の検討が不可能な例、2) first phase は有意に減少するが、second phase の半減期が極めて長く 14 日に血中 HCV RNA 量が感度以下に低下しない例、3) first phase のウイルス量の減少が有意でない例である。IFN 一日 6MU 投与時の first phase の半減期が約 7 時間、10MU 投与時が 5 時間で、second phase は 10-15 倍長いことを報告している¹⁾。今回対象とした他の 2 群の成績もほぼ同様であったが、IFN monotherapy

以外は症例数が少なく、3 群間の比較検討は十分でなかった。

投与中の血中ウイルス量、遺伝子型、肝線維化の程度と HCV dynamics との関係を IFN monotherapy 例で検討した。血中ウイルス量 400KC/ml 以下と以上に分けて検討したが、ウイルス量の多い群で first phase, second phase 共にやや半減期が長かったが有意差はなかった(Table 4)。遺伝子型との関係では 2a,2b は 1b に比して IFN への感受性が大きで、かつ今回の 2a,2b 例はウイルス量が少なかったため、first phase で感度以下に減少し second phase の検討が不可能であった。線維化との関連では F1,F2 に比して F3,F4 群の方が有意差はないものの、first phase, second phase 共に短かった。治療効果との関係では 1) のパターンに著効例が多く、2),3) に著効例はなく、一過性有効例と無効例の間に first phase, second phase 共に半減期に有意差はなかった。

一方 Neopterin, β 2-microglobulin(BMG)、IL-10 の動態は Fig1,2,3 に示すごとくで、3 群間に有意な差はなかったが、IL-10 値は IFN と Rib 併用群でやや低下する傾向を示した。なお、IFN と Rib 併用群の多くは以前に IFN monotherapy を受け無効であった症例であるが、この内の一例は IFN monotherapy で first phase, second phase とともに有意なウイルス量の低下が見られなかったが、FN、Rib 併用療法で有意にウイルス量の低下が見られた。

D. 考察

今回 IFN monotherapy, IFN と Rib 併用療法、IFN α と γ の交互投与例における HCV dynamics とその際の血中 Th1/Th2 を検討したが、IFN と Rib 併用療法、IFN α と γ の交互投与症例の症例数が少ないため 3 群間の比較検討は十分出来なかった。しかし、以前に IFN で有意なウイルス量の低下が見られなかった症例において IFN、Rib 併用療法で有意なウイルス量の低下があった事は注目すべき事である。

Rib は Th2 系を抑制し相対的に Th1 系を優位とし、かつ直接 Th1 系活性化と軽度ながら抗ウイルス作用を有する事から、上記症例でみられた現象は注目すべき事である。また、Th1 系サイトカインそのものである IFN γ 使用例で,genotype 1b で投与前ウイルス量が 393 KC/ml と多量であった一例が著効になっており、この治療も今後十分に検討する価値があるものと思われる。

E. 結語

IFN α 一日 6MU または 10MU 投与した C 型慢性肝炎 35 例、IFN α 2b 一日 6MU/ml または 10MU/ml と ribavirin 一日 600mg または 800mg 併用の 7 例、nIFN α 一日 10MU と IFN γ 100 万単位交互投与 例の HCV dynamics と血中サイトカインの動態を検討した。

1. IFN 投与により血中 HCV RNA 量は 2 相性に減少し、最初の 24 時間

(first phase)の半減期は 7-10 時間、その後(second phase)の半減期は 10-15 倍長かった。

2. IFN monotherapy, IFN α と ribavirin の併用療法、IFN α と IFN γ の交代療法での血中 HCV dynamics に有意な差はみられなかった。
3. 血中ウイルス量の少ない例、遺伝子型の 2a,2b 例、線維化の軽度な例は first phase, second phase とともに HCV 半減期は短い傾向にあった。
4. 一過性有効例と無効例の間に、HCV dynamics に有意差はなかった。

F. 健康危険情報

C 型慢性肝炎患者に IFN を投与した際、24 時間以内に著明な血中ウイルス量の低下がみられない例では以後 6 カ月間 IFN を投与しても著効になる可能性はほとんどない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yasui K, Okanoue T, Murakami Y, et al. Dynamics of hepatitis C viremia following interferon- α administration. J Infect Dis 177: 1475-1479, 1998.

2. 学会発表

岡上 武、伊藤義人、外山哲也、ほか。C 型慢性肝炎に対する IFN 治療および HCV dynamics から

みた肝発癌抑制の検討。
 第 36 回日本肝臓学会総会(福岡)
 2000,6,9
 (肝臓 Vol. 41 Supple (1) A267)

文献

1. Yasui K, Okanoue T, Murakami Y, et al. Dynamics of hepatitis C viremia following interferon- α administration. J Infect Dis 1998; 177: 1475-1479

2. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C virus dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon- α therapy. Science 1998; 282: 103-107

Table 1. Baseline of 35 chronic hepatitis C patients received interferon α therapy

Dose of IFN	No. of pt.	Age (y.o.)	ALT (IU/l)	HCV RNA (KC/ml)	Genotype	Stage of liver disease
6MU daily	22	50.0 \pm 11.6	107.5 \pm 70.7	447 \pm 432	1b:16 2a:5,2b:1	F1:10, F2:5 F3:4, F4:3
10MU daily	13	49.0 \pm 12.6	105.2 \pm 70.7	50.1 \pm 37.9	1b:10 2a:2, 2b:1	F1:3, F2:9 F3:2

Table 2. Baseline of chronic hepatitis C patients received interferon and ribavirin

Case No.	Age (y.o.)	Sex	Effect	Histology	AST/ALT (IU/l)	HCV RNA (KU/ml)	HCV RNA at 2 weeks
1	47	M	CR	A2/F2	35/44	496	neg.
2	58	M	TR(-)	A2/F2	119/227	699	neg.
3	48	M	TR(-)	A2/F2	43/59	1545	neg.
4	56	M	TR(-)	A1/F2	73/90	2147	neg.
5	52	F	TR(-)	A2/F2	71/87	621	neg.
6	56	F	TR(+)	A1/F2	42/43	222	neg.
7	43	M	NR(+)	A3/F3	181/165	211	pos.
8	52	M	NR(+)	A1/F2	77/107	515	pos.
9	51	M	NR(+)	A2/F2	40/77	474	pos.
10	48	M	NR(+)	A2/F3	77/91	522	pos.
11	55	F	n.d.	A2/F2	50/99	54	neg.

n.d.: not determined

TR(-): normal serum ALT at the end of therapy without viremia

NR(+): abnormal serum ALT at the end of therapy with viremia

Table 3. Baseline of chronic hepatitis C patients received interferon α and interferon γ

Case No.	Age	Sex	Effect	Histology	AST/ALT (IU/l)	HCV RNA (KU/ml)	HCV RNA at 2 weeks
1	41	M	CR	A2/F2	103/201	393	negative
2	55	M	TR(+)	A3/F3	71/115	19Meq	negative
3	43	M	TR(+)	A3/F3	143/205	850	positive
4	47	M	NR(+)	A2/F3	53/115	5.7Meq	positive
5	55	M	NR(+)	A1/F2	63/84	850	positive
6	45	M	NR(+)	A3/F3	68/67	>850	positive

TR(+): relapsed case with HCV RNA viremia at the end of therapy

NR(+): abnormal serum ALT with viremia at the end of therapy

Table 4. Relationship between half-life of HCV and serum amount of HCV RNA

Half-life	Serum amount of HCV RNA	
	$\leq 400\text{KC/ml}$	$> 400\text{KC/ml}$
1st phase (hr)	9.5 ± 9.9	10.2 ± 6.0
2nd phase (hr)	89.6 ± 32.6	146.2 ± 93.7

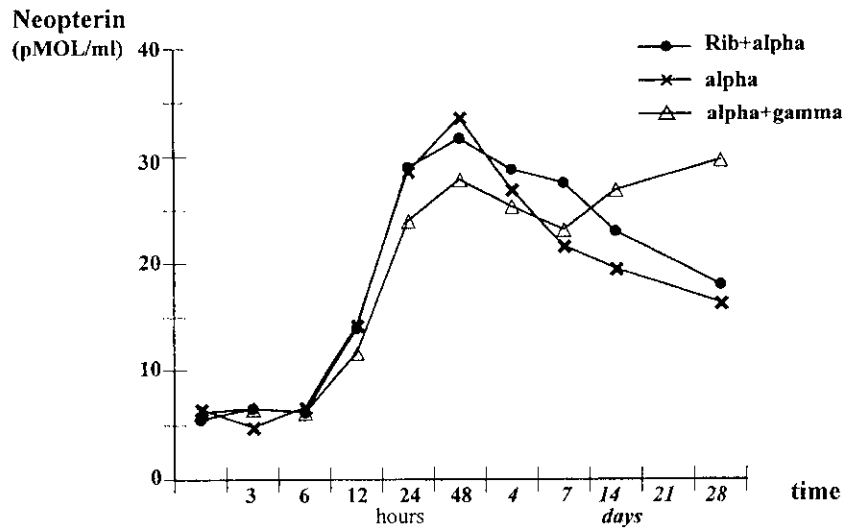


Fig 1. Time course of changes in serum concentrations of neopterin

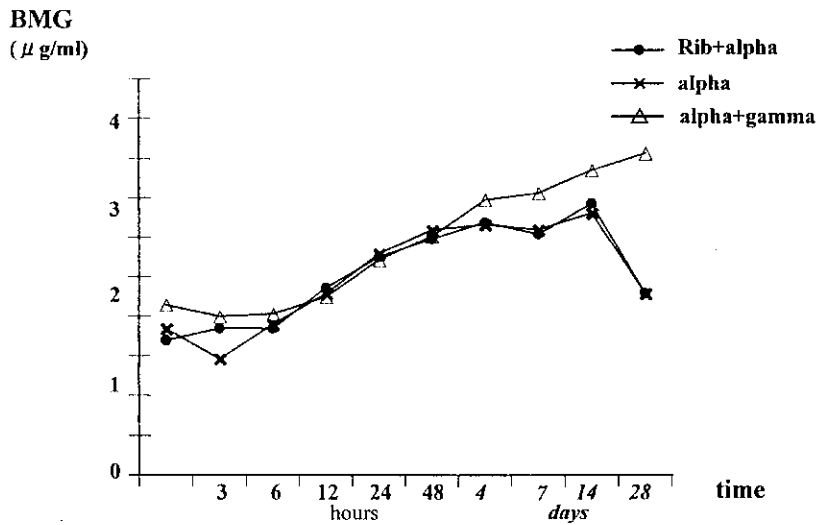


Fig 2. Time course of changes in serum concentrations of BMG

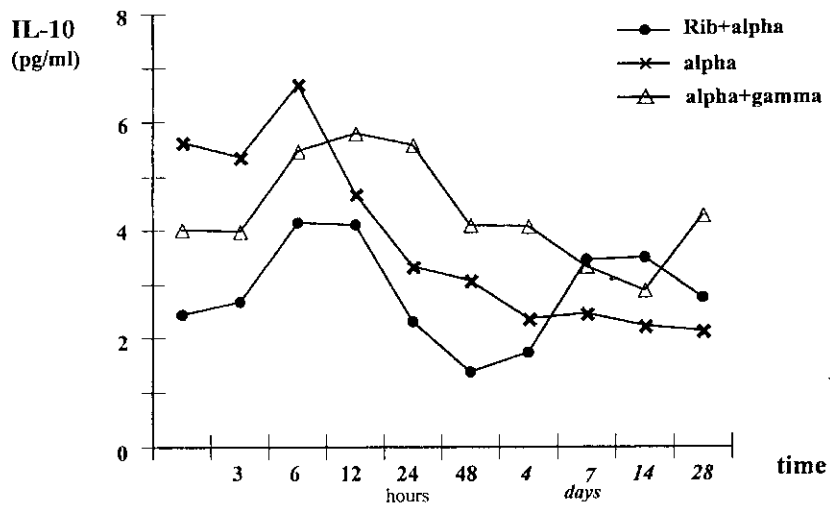


Fig 3. Time course of changes in serum concentrations of IL-10

5 年以上経過した、C 型慢性肝炎に対する IFN 治療の virological responder の長期予後

班友 赤羽賢浩 山梨医科大学第 1 内科助教授
協同研究者 内藤成子, 俵 章夫, 坂本 穰, 岡田俊一¹⁾
岡本宏明²⁾

1) 山梨医科大学第 1 内科

2) 自治医科大学予防生態・分子ウイルス学研究部

研究要旨

最近 IFN 治療の著効例における肝組織の改善や、発癌が注目されている。そこで今回 5 年以上経過した virological responder (VR) の長期予後を検討した。その結果、5 年以上経過した VR 47 例のうち 1 例では 6 年 8 ヶ月後に HCV RNA の再陽性化がみられた。この症例の初回の HCV 感染は配偶者間の感染が推定されたが、再陽性化の原因は不明であった。また他の 1 例は 5 年 2 ヶ月後に多発の肝細胞癌の発生がみられたが、本例の IFN 治療前の組織像は F4 で、かつアルコール多飲者、GBV-C 陽性者であった。47 例中 16 例では、5 年以降に追跡肝生検を行ったが、上記の 2 例と一部を除いて、staging, grading とも明らかな改善がみられた。以上より、IFN 治療の VR の大部分の長期予後は、生化学的にも、血清学的にも、形態学的にも、明らかに改善がみられたが、risk factor があれば、HCV の再感染があり得ること、配偶者間の感染も risk factor の 1 つであること、5 年以上経過しても発癌例がみられること、が明らかになった。今回の検討から、IFN の治療により HCV が消失した症例でも、5 年間ではなく、10 年間程度は US 検査を含め、追跡が必要であろうと考えられた。

A. 研究目的

最近、C 型慢性肝炎に対して IFN 治療を行い、complete responder (CR) あるいは virological responder (VR) となった症例における肝組織像の改善、あるいはまた発癌の報告が散見される。しかし、これらの検討の大部分は IFN 投与後 5 年程度

のものであり、長期の予後は必ずしも判然としなない。そこで今回、5 年以上経過した VR の長期予後を検討した。

B. 対象並びに方法

1987 年から 1995 年にかけて IFN 治療を行った C 型慢性肝炎症例で、投与終了 6 ヶ

月後に VR と判定し、IFN 投与後 5 年以上経過観察し得た 47 例を対象とした。男性 30 例、女性 17 例で、IFN 投与時の年齢は 23~66 才、平均 44.1 ± 11.6 才である。IFN 投与前の肝組織像は、F1 17 例、F2 22 例、F3 5 例、F4 3 例である。また HCV genotype は 1b 19 例、2a 17 例、2b 10 例、mixed type 1 例である。IFN 投与スケジュール並びに総投与量は、治療段階の症例も含まれ、種々である。これら 47 例を、5 年から 8 年 11 ヶ月、平均 6.6 ± 1.1 年間経過観察した。また 47 例中 16 例については、IFN 投与終了後 5 年以降に追跡肝生検を行い、肝組織像の推移を観察した。

(倫理面への配慮)

経過観察にあたっては、各症例に対して、経過観察の必要性を十分に説明し、通院回数も可能な限り少なくした。また特に肝生検に関しては、十分にインフォームドコンセントをとった上で実施した。

C. 観察結果

1) HCV RNA の再陽性化

47 例中 46 例は最終観察時点でも HCV RNA は陰性のままであったが、1 例は IFN 投与終了 6 年 8 ヶ月後に HCV RNA が再陽性化した (症例 1)。症例 1 の臨床経過を図 1 に示した。症例 1 は 59 才、女性、初回 IFN 治療前の肝組織像は F2 A2、HCV genotype は III/2a、HCV RNA は 10 KIU/ml であった。1992 年 10 月から 1993 年にかけて、HLBI 6 MU/日を 2 週間連日、以後 24 週間週 3 回筋肉内投与した。IFN の総投与量は 516 MU で、投与終了後 6 ヶ月の時点で VR と判定した。その後も AST/ALT は正常値を持続し、HCV 抗体も徐々に低下を示したが、6 年 8 ヶ月後の 1999 年 12 月突然、HCV

RNA が陽性となり、肝炎も再燃した。再陽性時の HCV も genotype III/2a であった。

本症例は、輸血歴や他の risk factor を認めなかったが、家族検診の結果、患者の夫 (62 才) も HCV RNA 陽性で、genotype III/2a であることが判明した。

そこで、患者本人とその夫の、1992 年/1993 年の血清と、HCV RNA が再陽性化した 2000 年の血清より HCV RNA を抽出し、超可変領域 (HVR) の塩基配列を検討した。各血清より任意に 10 クローンを得、その塩基配列を決定した (図 2)。

その結果、患者本人の血清では、1992 年も 2000 年も HVR は全く均一であった。しかし 1992 年と 2000 年の HVR は全く異なり、1999 年の HCV RNA の再陽性化は再燃ではなく、再感染が強く示唆された。また夫の血清から得られた HCV では、HVR は、10 クローン中 2 クローンが、患者の HVR と 1 塩基のみ、他の 2 クローンが 2 塩基のみの相違であり、配偶者間で HCV の感染があった可能性が高いものと考えられた。更に夫の 1993 年と 2000 年の HCV の HVR は連続的に変異したものと推定され、夫はこの間 HCV carrier 状態にあった事が裏付けられた。しかし、患者の 2000 年の HVR は、夫の 2000 年の HVR とは全く異なり、患者の再感染の原因が、夫からである証拠は得られなかった。

2) 肝発癌

VR 47 例中 1 例では、IFN 投与終了後 5 年 2 ヶ月の時点で、多発の肝細胞癌が確認された (症例 2)。症例 2 は 63 才、男性で、IFN 投与前は大斑紋肝で、組織学的には F4 A2 を示した。HCV は genotype II/1b、HCV RNA は 320 KIU/ml であったが、IFN- β 6 MU/日連日 8 週間、総投与量 288 MU で、HCV RNA は陰性化し、

ALTも一時正常化した。しかし本例は1週間にウイスキーボトル3本を空ける大酒家で、その後も γ -GTPの高値が続き、GBV-C RNAが陽性を示した。

3) 肝機能検査及びHCV抗体価

最終観察時点の肝機能検査では、ASTで6例(13%)、ALTで8例(17%)、 γ -GTPで5例(11%)、ZTTで5例(11%)が、正常値の上限を越えていたが、いずれも軽度であり、糖尿病、アルコール過飲があり、脂肪肝ないし脂肪沈着によるものと考えられた。IFN投与時及び最終観察時点のHCV抗体価はend titerを求めてないが、少なくとも3/4の症例でHCV抗体の低下が確認された。

4) 5年以降の追跡肝生検

47例中16例では、IFN投与終了後5年以降に追跡肝生検を行い、肝組織像の改善を確認した。図3に示すごとく、stagingに関してはF1→F1の1例を除き、down stagingが認められた。gradingに関しては、症例1とA1→A1の2例を除き、やはり改善がみられた。特にgradingでは症例1を除き、他は全てA1以下に改善していた点が注目された。

D. 考察並びに結論

IFN治療の著効例では、肝組織像の改善がみられること¹⁾、あるいは著効例であっても肝発癌例がみられること²⁾が報告されている。しかし、これらの検討はいずれもIFN投与終了5年以内の検討であることから、今回5年以上経過観察し得た症例の長期予後を検討した。

その結果、C型慢性肝炎に対してIFN治療を行い、VRとなった症例では、1) 生化学的にも、血清学的にも、組織学的にも明らかな改善がみられること、2) しかし、risk factorがあれば、HCVの再感染

があり得ること、更に、risk factorの1つには配偶者間の感染もあり得ること、3) 5年以降であっても肝発癌があり得ることが明らかになった。

以上より、C型慢性肝炎に対するIFN治療のVRであっても、5年間ではなく、少なくとも10年程度は、US検査を含め、経過観察が必要であると考えられた。

E. 参考文献

- 1) Shiratori Y et al: Histological improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. Ann Intern Med 132: 517-24, 2000.
- 2) 飯野四郎: IFN投与5年以上観察例での肝細胞癌発生調査. 厚生省非A非B型肝炎研究班. 平成9年度研究報告書. p69-72.

F. 研究発表

1. 学会発表

岡田俊一, ほか: 5年以上経過観察し得た、C型慢性肝炎に対するIFN responderの長期予後. 第37回日本肝臓学会総会. 2001年5月. 横浜.

症例1 : AH 女性 59~67歳

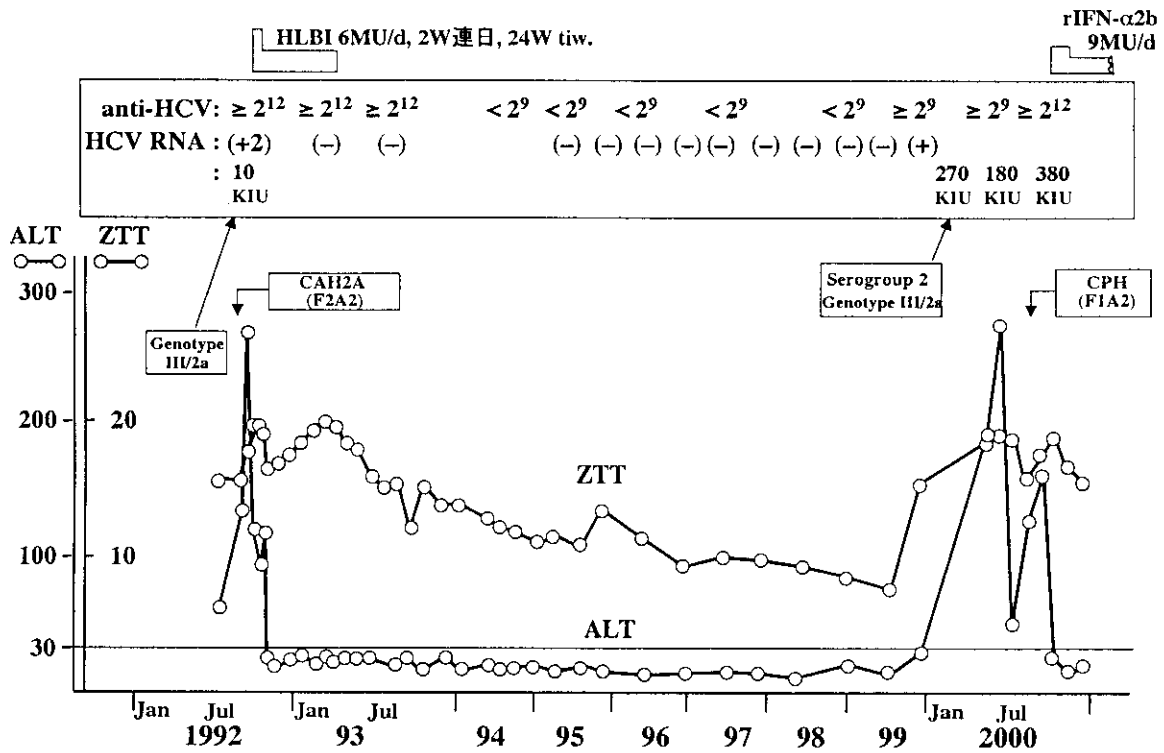


図1. 症例1の臨床経過

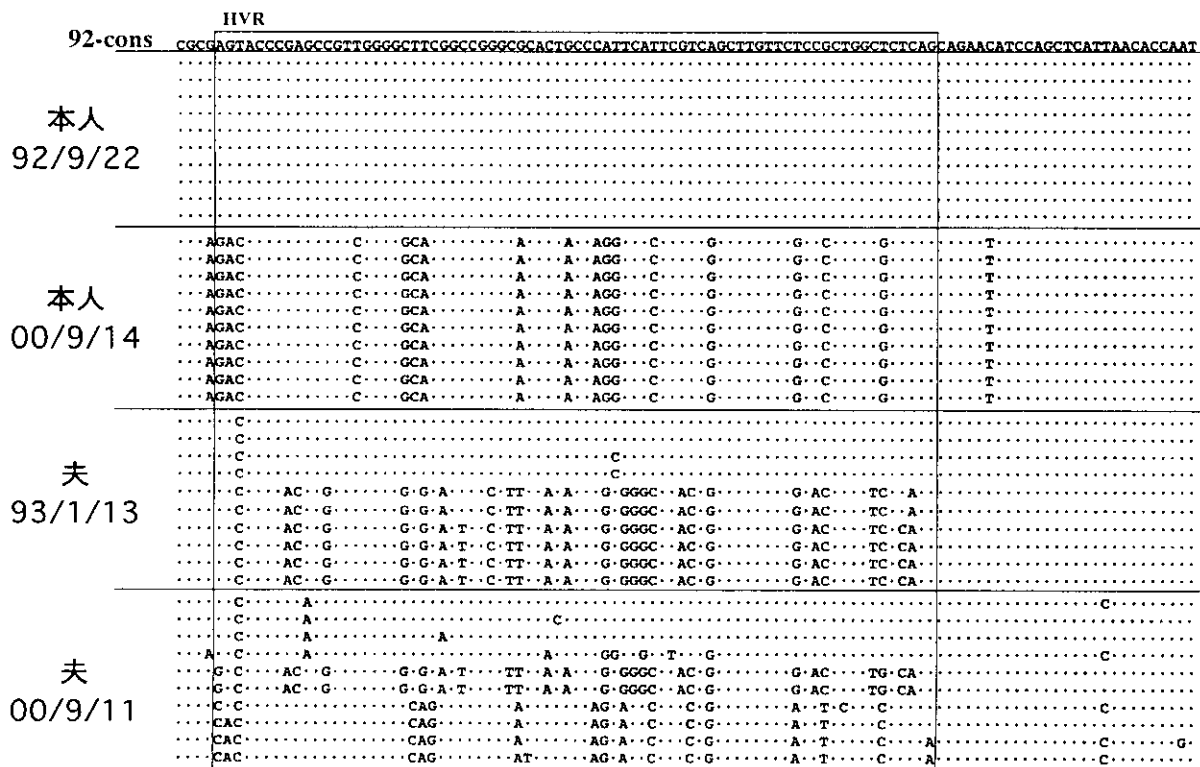


図2. 症例1及びその夫からクロニングされたHCV RNAのHVR

> 5年経過後の追跡肝生検

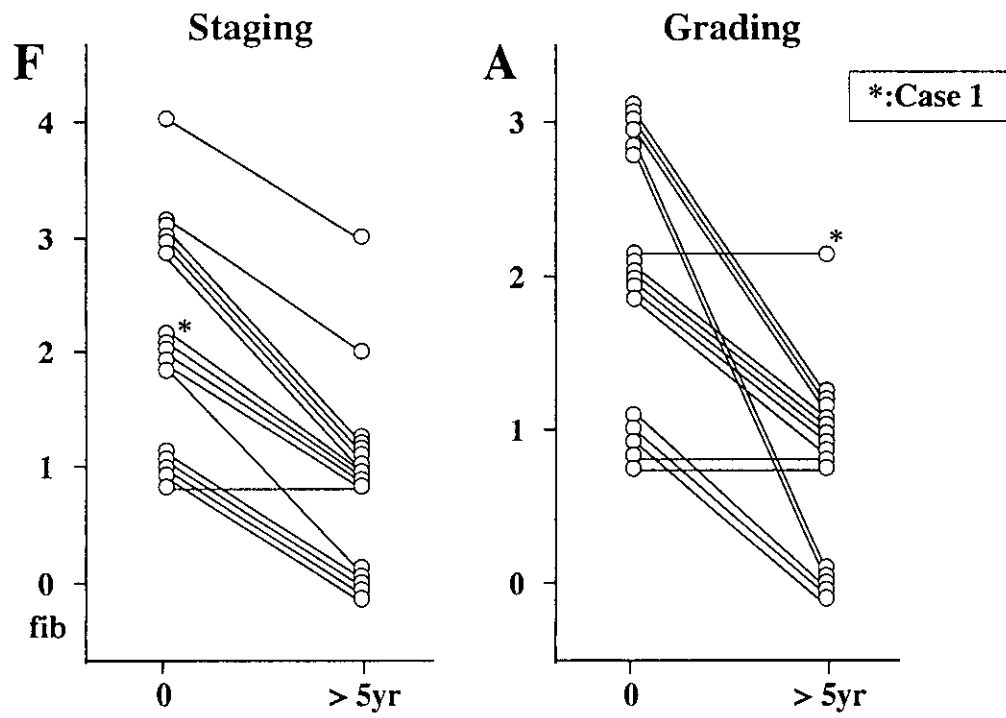


図3. 5年以降の追跡肝生検

分担研究報告書

C型慢性肝炎からの発癌抑制—インターフェロン無効例への治療としての
瀉血療法の意義

分担研究者 岡上 武 京都府立医科大学第三内科助教授

研究要旨

インターフェロン(IFN)治療を受けた 1356 例の C 型慢性肝炎では、IFN 無効例からは高率に発癌する。治療終了後平均 5 年間のフォロー中 102 例に肝癌が発生した。その内訳は F1 の 224 例から 1 例、F2 の 703 例から 20 例、F3 の 381 例から 66 例、F4 の 381 例から 15 例であった。累積肝癌発生率は F1 vs F2, F2 vs F3, F3 vs F4 で病期の進展につれて有意に高かった。著効例のみならず一過性有効例でも無効例に比して有意に発癌が抑制されたが、無効例からの発癌において、血清トランスアミナーゼ低値例からの発癌は高値例に比して有意に低かった。従って、無効例からの発癌抑制には、血清トランスアミナーゼを低値に保つ事（炎症の抑制）が重要と考え、酸化ストレスの面から瀉血療法を検討し、瀉血療法が炎症の抑制に有効である事を明らかにした。

A. 研究目的

C 型慢性肝炎へのインターフェロン(IFN)治療では約 30%の例が著効(SR)、約 25%が一過性有効(治療終了時肝機能正常でその後再燃。TR)、残り 45%が無効(NR)である。IFN 治療では、著効例のみならず一過性有効例でも有意に発癌が抑制されるが^{1,2)}、残念ながらNRからは高率に発癌してくる。今回我々はより多数例をより長期にフォローし、一過性有効例での発癌抑制効果を炎症の程度と病期(stage)の面から検討し、また、無効例からの発癌抑制を目指して、瀉血療法の意義について、酸化ストレスの面から検討

した。

B. 研究方法

1. IFN 治療例

IFN 投与前に肝生検が施行され、投与終了後 2 年以上フォローされた 1356 例の C 型慢性肝炎を対象とした。平均フォロー期間は 5 年で、病期(stage)は Desmet らの分類³⁾に従って F0 (線維化なし), F1, F2, F3, F4 (肝硬変) に分類した。内訳は F1 224 例 (M/F; 131/93), F2 703 例 (M/F; 460/243), F3 381 例 (M/F; 235/146), F4 48 例 (M/F; 22/26) 例で、F4 以外は有意に男性例が多い。

2. 瀉血療法例

IFN 無効例で血清フェリチン高値かつ血清トランスアミナーゼ (ALT)61IU/l 以上の C 型慢性肝炎 8 例を対象とした。

C. 研究結果

1. IFN 治療

各病期の SR, TR, NR 率はそれぞれ、F1; 43%, 30%, 27%, F2; 33%, 25%, 43%, F3; 22%, 18%, 60%, F4; 8%, 15%, 77%で病期の進展に比例して著効率は有意に低下した (Table 1)。

平均5年間のフォロー中 102 例に肝癌が発見された。その内訳は F1 から 1 例(女性の TR), F2 から 20 例(TR の男性 2 例,女性 1 例, NR の男性 16 例,女性 1 例)、F3 から 66 例で(SR の男性 4 例, TR の男性 7 例,女性 3 例, NR の男性 39 例、女性 13 例)、F4 から 15 例 (TR の男性 1 例、女性 1 例、NR の男性 7 例、女性 6 例) である。病期別、治療効果別、性別の年率発癌率は、F1 の SR は 0%, TR は男性 0%, 女性 0.3%, NR は 0%であった。F2 の SR では 0%, TR の男性 0.5%,女性 0.3%, NR の男性 1.5%,女性 0.2%で、F3 では男性の SR 1.4%,女性 0%, TR の男性 2.4%,女性 2.2%, NR の男性 5.2%,女性 2.7%であった。F4 では SR は 0%, TR の男性 7.7%,女性 4.0%, NR の男性 7.1%,女性 5.6%で、F2,F3,F4 では男性での発癌率が有意に高かった (Table 2)。

年率発癌率の男女比は男性が女性の 1.8 倍と従来の報告より低かったが、

その理由は、高率に発癌する F4 で女性患者数が男性より多かったためと思われる。

F1,F2,F3,F4 各群の NR の年率発癌率は、それぞれ 0%, 1.0%, 4.2%, 6.4%で病期の進展につれて有意に発癌率が上昇した。

累積肝癌発生率は Fig 1 に示すように SR はもとより TR でも NR に比して有意に低率であったが、TR での有意な発癌抑制効果は治療終了後 5 年までであった。

また、炎症の抑制がどのように発癌抑制につながるのかを検討するために、NR 群を 2 群(NR1, NR2)にわけて検討した。NR1 は治療終了後フォロー期間中の血清 ALT の平均値が 60IU/l 以下で経過した群で、NR2 はそれが 61IU/l 以上で経過した群である。両者の累積肝癌発生率を比較すると、NR1 は NR2 に比して有意に ($p=0.0022$)発癌が抑制された。

2. 瀉血療法

上記結果は、IFN 著効例は別として、TR、NR 例での肝発癌抑制には出来る限り炎症を抑制する事が重要であるという事を意味している。

そこで我々は、以前から C 型慢性肝炎では酸化ストレスが重要な役割を果たし、かつ、B 型慢性肝炎に比して血清フェリチン高値例が多い事に注目していた。このような症例では肝組織に過剰の鉄が沈着し、肝毒性の強いヒドロキシラジカルが産生され肝障害が生じているものと想定されてい

る。

欧米を中心に一部の施設で血清フェリチンの高値の C 型慢性肝炎に積極的に瀉血療法が行われ、その有効性が報告されてきた。著者らは血清 thioredoxin(TRX)⁴⁾を酸化ストレスのマーカーとして用い、TR、NR での長期発癌抑制を目的に瀉血療法を行ってきた。血清 TRX レベルは血清フェリチン値と線維化の程度(病期)と正の相関を示し⁵⁾、瀉血を行うと血清フェリチン値の低下に比例して TRX も低下し、血清フェリチン値が 20ng/ml 以下になると血清 ALT 値も有意に改善する(Fig. 2)。

現在著者らは IFN 無効例、一過性有効例で、血清フェリチン値が高値かつ血清 ALT60IU/l 以上の例には積極的に瀉血を行い、約 7 割の症例は瀉血で血清トランスアミナーゼが有意に低下している。

D. 考察

IFN 治療後の C 型慢性肝炎 1356 例を平均 5 年間フォローすると 102 例に肝癌が発見された。著効例(SR)はもとより一過性有効例(TR)でも無効例(NR)に比して有意に発癌が抑制されたが、TR での発癌抑制効果は治療終了後 5 年以内で、それ以降は NR よりは低率ながらもかなり高率に発癌した。また、IFN 無効の F3 男性例からは特に発癌率が高く、中でも治療終了後血清トランスアミナーゼ高値持続例は血清トランスアミナーゼ低値持続例に比して有意に発癌率が高かった。こ

の事は例え IFN で治癒しなくても、一時的にしる血清トランスアミナーゼを正常化すれば一定期間癌の発育成長が抑制される事を意味しており、また、無効であってもその後の炎症を抑制すれば有意に発癌が抑制される事を意味している。

血清フェリチン高値例では肝内に過剰に鉄が沈着し、その結果酸化ストレスがかかり、肝細胞障害が起きている。従って、瀉血により血清フェリチン値を低下させれば肝内鉄含量は低下し、肝炎が沈静化する。瀉血で長期に炎症を抑制すれば発癌が抑制されると想定される事から、今後 IFN 無効で発癌の危険性の大きい患者は瀉血療法の適応と思われる。

E. 結論

IFN 治療終了後の C 型慢性肝炎 1356 例を平均 5 年フォローし、発癌抑制効果を治療効果別に検討した。また、肝発癌抑制における瀉血療法の意義についても検討し、以下の結論を得た。

1. 平均 5 年間のフォロー中 102 例に肝癌が発見され、発癌率は病期の進展に比例して上昇した。
2. 著効例は勿論のこと一過性有効例でも有意に肝発癌が抑制されたが、一過性有効例での発癌抑制効果は 5 年以内であった。
3. 無効例では、治療後の血清トランスアミナーゼ高値例は低値例に比して有意に発癌率が高

かった。

4. 血清チオレドキシシン値は血清フェリチン値、肝病期進展に比例し、瀉血により血清フェリチン値が低下すると血清 ALT 値と血清チオレドキシシン値は有意に低下した。

F. 健康危険情報

インターフェロン(IFN)治療で治癒した C 型慢性肝炎患者からは肝癌が出てくる可能性は極めて少ない。また、IFN 治療で一過性有効を示した例でも約 5 年間は有意に肝発癌が抑制される。ただし、線維化の進展した例で IFN 治療無効例で、かつ血清トランスアミナーゼ高値例では高率に発癌し、男性例はより高率である。しかし、このような患者でも血清フェリチン高値例では瀉血療法が有効である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Okanoue T, Itoh Y, Minami M, et al. Interferon therapy lowers the rate of progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C but not significantly in an advanced stage: A retrospective study in 1148 patients. *J Hepatol* 30: 653-659, 1999.

Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, et al. Serum thioredoxin levels in an indication of

oxidative stress in patients with hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 33: 616-622, 2000.

Okanoue T, Daimon Y, Kirishima T, et al. Retreatment with interferon- α at dosages or periods increased by 1.3 times is effective in transient responders and non-responders in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res* (in press)

2. 学会発表

角田圭雄、中嶋俊彰、楊 孝治、ほか。慢性肝疾患の酸化ストレス状態—血清チオレドキシシン、鉄関連マーカーからの検討。第 36 回日本肝臓学会総会（福岡）2000.6.8.

（肝臓 Vol. 41 Supple(1), A209）

中嶋俊彰、角田圭雄、楊 孝治、ほか。C 型慢性肝炎の UDCA 療法におけるグルタチオンとチオレドキシシンの動態。

第 36 回日本肝臓学会総会（福岡）2000.6.8.

（肝臓 Vol. 41 Supple(1), A218）

岡上 武、伊藤義人、外山哲也、ほか。C 型慢性肝炎に対する IFN

治療および HCV dynamics から
みた肝発癌抑制の検討。

第 36 回日本肝臓学会総会 (福岡)
2000,6,9

(肝臓 Vol. 41 Supple (1) A267)

大西直樹、伊藤義人、岡上 武、
ほか。ヒト肝癌細胞株に対する
新しいレトロウイルスベクター
を用いた遺伝子導入と遺伝子
発現効率の検討。

第 36 回日本肝臓学会総会 (福岡)
2000,6,9

(肝臓 Vol. 41 Supple (1) A267)

文献

1. Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998; 27: 1394-1402
2. Okanoue T, Itoh Y, Minami M, et al. Interferon therapy lowers the rate of progression of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C but not significantly in an advanced stage: a retrospective study in 1148 patients. *J Hepatol* 1999; 30: 653-659
3. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513-1520.
4. Nakamura H, Matsuda M, Furuke K, et al. Adult T cell leukemia-derived factor/human thioredoxin protects endothelial F-2 cell injury caused by activated neutrophils or hydrogen peroxide. *Immunol Lett* 1995; 42: 75-80
5. Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, et al. Serum thioredoxin levels as indicator of oxidative stress in patients with hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2000; 33: 616-622
6. Ikeda K, Arase Y, Saito S, et al. Interferon beta prevents recurrence of hepatocellular carcinoma after complete resection or ablation of the primary tumor - A prospective randomized study of hepatitis C virus-related liver cancer. *Hepatology* 2000; 32: 228-232
7. Okanoue T, Daimon Y, Kirishima N, et al. Retreatment with interferon- α at dosages or periods increased by 1.3 times is effective in transient responders and non-responders in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res* (in press)

Table 1. Effect of Interferon therapy on 1356 chronic hepatitis C patients

Stage of liver disease (No. of patient)	Response rate in interferon therapy		
	SR(CR/BR)	TR(TR1/TR2)	NR(NR1/NR2)
F1(n=224) m=131 f=93	97(81/16), 43% ¹ 59(45%) 38(41%)	67(55/12), 30% 33(25%) 34(37%)	60(31/29), 27% 39(30%) 21(23%)
F2(n=703) m=460 f=243	229(213/16), 33% ² 147(32%) 82(34%)	173(126/47), 25% 109(24%) 64(26%)	301(135/166), 43% 204(44%) 97(40%)
F3(n=381) m=235 f=146	82(72/10), 22% ³ 53(23%) 29(20%)	69(45/24), 18% 36(15%) 33(23%)	230(80/150), 60% 146(62%) 84(57%)
F4(n=48) m=22 f=26	4(4/0), 8% 2(9%) 2(8%)	7(1/6), 15% 2(9%) 2(8%)	37(8/29), 77% 18(82%) 19(73%)

SR: sustained responder, CR: complete responder, BR: biochemical responder
TR: transient biochemical responder, NR: non-responder
m: male, f: female

¹ $p = .000$ (F1 vs F2), ² $p = .000$ (F2 vs F3), ³ $p = .016$ (F3 vs F4) when Wilcoxon's rank-sum test was used for statistical analysis.

Table 2. Annual incidence of hepatocellular carcinoma after interferon therapy

Stage	No. of patient in each gender	Response to interferon therapy			Total
		SR	TR	NR	
F1	M (131)	0/59	0/33	0/39	0/131
	F (93)	0/38	1/34(0.7%)	0/21	1/93(0.3%)
	Total (224)	0/97	1/67(0.3%)	0/60	1/224(0.1%)
F2	M (460)	0/147	2/109(0.5%)	16/204(1.5%)	18/460(0.8%)
	F (243)	0/82	1/64(0.3%)	1/97(0.2%)	2/243(0.2%)
	Total (703) ¹	0/229	3/173(0.4%)	17/301(1.0%)	20/703(0.5%)
F3	M (235)	4/53(1.4%)	7/36(2.4%)	39/146(5.2%)	50/235(3.6%)
	F (146)	0/29	3/33(2.2%)	13/84(2.7%)	16/146(2.0%)
	Total (381) ²	4/82(0.9%)	10/69(2.3%)	52/230(4.2%)	66/381(3.2%)
F4	M (22)	0/2	1/2(7.7%)	7/18(7.1%)	8/25(6.8%)
	F (26)	0/2	1/5(4.0%)	6/19(5.6%)	7/26(4.8%)
	Total (48)	0/4	2/7(5.3%)	13/37(6.4%)	15/48(5.8%)
Total(M/F)	1356(848/508) ³	4/412(0.2%)	16/316(1.0%)	82/623(2.5%)	102/1356

M: male, F: female, SR: sustained responder, TR: transient biochemical responder, NR: non-responder

¹ p values: SR vs TR; $p = .0324$, SR vs NR; $p = .0007$, TR vs NR; $p = .0688$

² p values: SR vs TR; $p = .3795$, SR vs NR; $p = .0039$, TR vs NR; $p = .0444$

³ p values: SR vs TR; $p = .0169$, SR vs NR; $p = .0001$, TR vs NR; $p = .0001$

Fig 1. Cumulative Incidence of Hepatocellular Carcinoma in Chronic Hepatitis C Patients Received Interferon Therapy

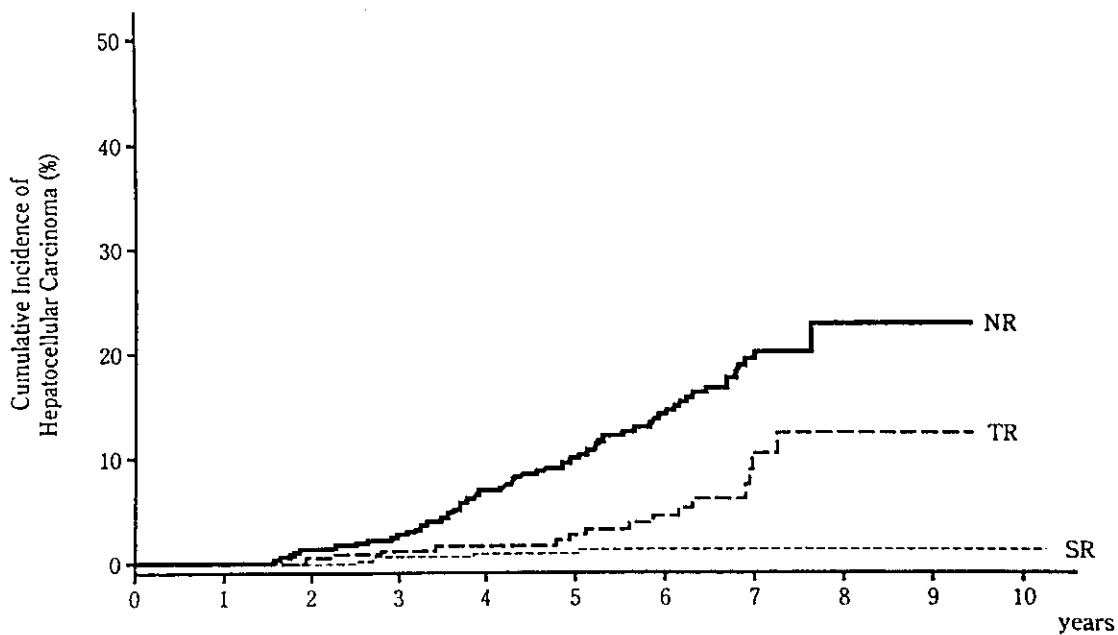
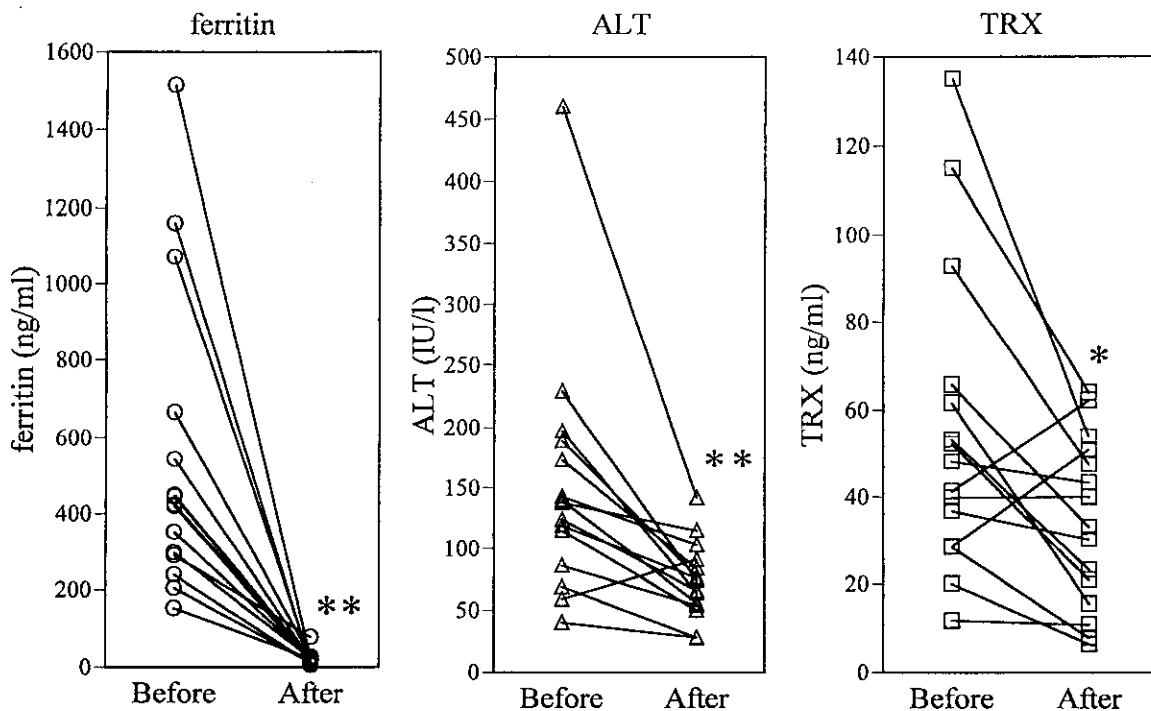


Fig 2. Effects of phlebotomy on patients with chronic hepatitis C



* $p < .05$, ** $p < .01$ vs. Before
Wilcoxon-signed rank test

C型慢性肝炎患者におけるインターフェロン治療効果と抗原提示関連遺伝子多型性
分担研究者 林 紀夫 大阪大学大学院分子制御治療学教授

研究要旨 C型肝炎ウイルス感染におけるウイルスの排除、あるいは肝障害は、ウイルスと宿主との相互作用により惹起される。本研究では、抗原提示に関与する遺伝子多型性に注目し、これらとC型肝炎患者におけるインターフェロン治療効果との関連について検討した。TAP1*, TAP2*, LMP2の遺伝子頻度の分布に差異は認めなかったが、LMP7-Kは著効群において高頻度に認められた(オッズ比2.3, $p=0.056$)。多変量解析により、IFN治療効果に独立して寄与している因子について検討したところ、低ウイルス量とLMP7-Kのみが著効に独立して関与していることが明らかとなった。特に低ウイルス量(<0.5 Meq/mL)の患者において、LMP7-Kは強く著効と関連しており(オッズ比13.0, $p<0.05$)、その関与は低めのウイルス量の患者(<1.0 Meq/mL)においても有意に関連していた(オッズ比3.8, $p<0.05$)。

A. 研究目的

近年、HLAクラスI拘束性の抗原提示機構が分子レベルで明らかにされている。ウイルスなどの内在性抗原は、細胞質内のLow molecular mass polypeptide (LMP)によってペプチドに断片化された後、小胞体に運ばれる。Transporter associated with antigen processing (TAP)は、小胞体の膜上に存在しペプチドの小胞体内への選択的輸送を行う。TAPにより小胞体内に運ばれたペプチドはクラスI分子、 β_2 ミクログロブリンと会合し完全なHLAクラスI分子を形成し、ゴルジ装置を経て細胞膜上に運ばれる。これらHLAクラスI拘束性の抗原提示関連遺伝子は、HLAクラスII領域内DQ遺伝子座のごく近傍に存在する。さらにこれら遺伝子は、他のHLA遺伝子と同様に遺伝子多型性を有している。しかしながら、C型肝炎感染患者におけるインターフェロン(IFN)治療効果における、これら抗原提示遺伝子の関与は未だ明らかでない。本研究では、C型肝炎患者における抗原提示遺伝子多型性と、IFN治療効果との関連について検討した。

B. 研究方法

IFN治療を施行し、治療効果を判定し得たC型肝炎患者175例(男性:女性=126:49)を対象とした。治療終了後6ヶ月間、肝機能が持続正常の症例を著効群、治療終了後肝機能異常を呈した症例を再燃群、治療効果の認められなかったものを無効群とした。LMP2, LMP7, TAP1, TAP2の遺伝子多型性をPCR-RFLP法を用いて決定し、これらIFN治療効果とLMP2, LMP7, TAP1, TAP2の遺伝子多型性との関連を検討する。さらに、多変量解析により、ウイルス、宿主因子を含め、IFN著効に独立して寄与する因子についても検討する。(倫理面への配慮)遺伝子サンプルの収集とその取り扱いについては、インフォームド・コンセントを徹底し、その目的についても患者に理解を得る必要がある。同意を得られたサンプルについては、その保管場所、責任者を明確にする。その詳細については大阪大学大学院医学系研究科ヒトゲノム研究倫理委員会の規定に準ずる。

C. 研究結果

C型肝炎患者175例を対象とし、著効群($n=49$)と無効群($n=126$)とで抗原提示関連遺伝子多型性を比較検討したところ、TAP1*, TAP2*, LMP2の遺伝子頻度の分布に差異は認めなかったが、LMP7-Kは著効群において高頻度に認められた(オッズ比2.3, $p=0.056$)。多変量解析により、IFN治療効果に独立して寄与している因子について検討したところ、低ウイルス量とLMP7-Kのみが著効に独立して関与していることが明らかとなった。さらに、LMP7-Kの有無とウイルス量との関連を詳細に検討したところ、特に低ウイルス量(<0.5 Meq/mL)の患者において、LMP7-Kは強く著効と関連しており(オッズ比13.0, $p<0.05$)、その関与は低めのウイルス量の患者(<1.0 Meq/mL)においても有意に関連していた(オッズ比3.8, $p<0.05$)。

D. 考察

HLA class I 拘束性の抗原提示に関与する4つの遺伝子のうち、IFN治療による持続的なウイルス排除には、LMP7遺伝子多型性が関与していることが示唆された。今後この遺伝子多型性が、IFN治療予測だけでなく、より有効な治療法の開発に役立つものと考えられる。

E. 結論

C型肝炎患者のIFN治療効果における、ウイルスの持続排除には、宿主側の因子であるLMP7遺伝子多型性が関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) Sugimoto Y, Kuzushita N, et al. Host genetic factors influence the efficacy for interferon therapy in chronic hepatitis C patients. *Hepatology* 32, 375A 2) 杉本佳子, 佐々木 裕, 林 紀夫 抗原提示関連遺伝子からみたC型肝炎慢性肝炎に対するIFN治療効果 (シンポジウム) 肝臓 41巻suppl. (2) 2000 3) Kuzushita N Involvement of TAP2 and LMP7 gene polymorphisms in HCV infection. The 22nd joint meeting of the United States - Japan Hepatitis Panels. Feb. 2-4 2001 KOBE

H. 知的財産権の出願・登録状況 特に予定なし

非A非B肝炎の臨床的総合研究に関する研究

分担研究者 恩地森一 愛媛大学医学部第三内科 教授

研究要旨：著者らは、HCV genotype 1b症例において、RNA dependent RNA polymerase (RdRp)をコードするNS5B領域の変異とIFN治療効果との間に密接な関連があることを報告した。今回、その機序を明らかにする目的で、HCV NS5B領域の変異とHCV増殖との関連の検討を行った。HCV genotype 1b例において、genotype特異的なアミノ酸配列が、2a型特異的なアミノ酸配列に置換している例では、wild例に比べHCV増殖（血中HCV-RNA量、HCV core抗原量）が低かった。すなわち、HCV NS5B領域の変異とウイルス増殖は関連していた。しかし、HCV genotype 1b例のwildと変異例間でRdRp活性の差はなく、HCV増殖低下の機序については、更に解析する必要がある。

HCV NS5B領域変異とウイルス増殖との関連

A. 研究目的

C型慢性肝炎に対してインターフェロン(IFN)治療の著効を規定するウイルス側要因として、ウイルス量、亜型及びHCV変異があげられる。著者らは、HCV genotype 1b症例において、RNA dependent RNA polymerase (RdRp)をコードするNS5B領域の変異とIFN治療効果との間に密接な関連があることを報告した¹⁾。今回、その機序を明らかにする目的でHCV NS5B領域変異とウイルス増殖との関連を検討した。

B. 研究方法

対象はC型慢性肝炎64例(HCV genotype 1b 42例、genotype 2a 22例)である。末梢血中HCV NS5B(1bはnt 8331-8600)の塩基配列は、direct sequencing法にて決定した¹⁾。HCVについては、genotype 1b、2aそれぞれのprototypeにみられるgenotype特異的なアミノ酸配列が、他の型特異的なアミノ酸配列に置換している例を変異例とした。血中HCV-RNA量はreal time detected PCR法、HCV core抗原量はEIA法にて測定した。HCV RdRp活性は凍結肝組織50mgよりBehrensの方法に準じて測定した²⁾。本研究の遂行にあたっては患者さんに、研究内容、個人情報保護、研究成果は学術雑誌などで発表されることを説明し同意を得た。

C. 研究結果

対象のHCV genotype 1b例において、変異例は42例中21例(50%)であった。変異例に共通したアミノ酸配列あるいは共通した変異部位はなかった。RdRpのモチーフであるGly-Asp-Asp(nt 2736-2738)は、全例で保たれていた。

HCV NS5B変異とウイルス増殖との関連を検討し、表1に示した。HCV NS5B変異と血中HCV-RNA量(log copies/ml)との関連では、変異例(5.8±0.7)はwild type(5.4±0.7)に比し、有意に(P<0.05)高かった。また、HCV core抗原量(log pg/ml)も、変異例(2.1±0.7)はwild type(1.7±0.7)に比し有意に(P<0.05)高かった。しかし、RdRp活性は両者間で差がなかった。

D. 考察

HCV genotype 1b例は血中HCV-RNA量が高値で、C型慢性肝炎に対するIFN治療が無効の例が多い。HCV-RNA NS5B領域にはRdRpのモチーフが存在し、最近RdRp活性が報告されている²⁾。今回、HCV genotype 1b例において、genotype特異的なアミノ酸配列が、2a型特異的なアミノ酸配列に置換している例ではIFN著効例が多く¹⁾、HCV増殖が低かった。HCV genotype 1b wild typeにおいては、RdRp活性が高く、HCV増殖が強く、IFN治療が無効であるが、変異によりRdRp活性及びHCV増殖が低下し、IFN治療効果が上昇する可能性が示唆された。

しかし、HCV genotype 1b例のwildと変異例間でRdRp活性の差はなく、HCV増殖低下の機序については、他の蛋白(NS3, NS4A, NS5A)とのinteractionについて更に解析する必要がある。

・ 文献

1. Horiike N, Michitaka K, Masumoto T, et al: The relationship between the effect of interferon therapy and the change of hepatitis C virus non structural 5B gene.
J of Gastroenterol and Hepatol 14: 333-339, 1999

2. Beherens SE, Tomei L and Francesco RD: Identification and properties of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. EMBO J 15: 12-22, 1996

E. 結論

HCV genotype 1b例において、HCV NS5B領域変異とウイルス増殖との関連を検討し、以下の成績を得た。

1. HCV NS5B領域の変異によりウイルス増殖は低下していた。

2. 変異によるHCV RdRp活性の差はなかった。

以上より、HCV NS5B領域の変異とウイルス増殖は関連していた。

F. 健康保険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

大蔵いずみ、堀池典生、道堯浩二郎、恩地森一:C型肝炎ウイルス NS5B領域変異とウイルス増殖の関連について
第37回日本肝臓学会総会(2001. 5)
発表予定