

SMR はそれぞれ 0.3(95%CI:0.10.5)、0.4(95%CI:0.2-0.7)と general population に比し低値であったが、無効群の SMR は 1.7(95%CI:1.3-2.1)と general population に比し高値であった。肝臓病死の SMR は著効、再燃、無効群でそれぞれ 0.3(95%CI:0.0-1.4)、1.6(95%CI:0.5-3.7)、11.6(95%CI:8.9-14.9)であり、著効、再燃群では general population と同程度であったが、無効群では general population に比し高値であった。年齢別に検討すると、どの年齢層においても著効、再燃群の肝臓病死の SMR は general population と同程度であり、無効群の肝臓病死の SMR は general population に比し高値であった。同様の結果は、全死亡における SMR 解析においても認められた。

性、年齢、線維化の程度、肝生検時期を調整した後 Cox 比例ハザードモデルにて解析すると IFN 治療は未治療群に比し 50%全死亡のリスクを低下させた。他方、年齢別に層別化して解析すると、どの年齢層においても IFN 治療群と未治療群の死亡のリスクに有意差を認めなかった。IFN 治療効果別に検討すると著効、再燃群では未治療群に比し全死亡のリスクが 17%、21%にまで低下していたが、無効群と未治療群のリスクは同程度であった。著効、再燃群における全死亡のリスクの有意な低下は 54 歳以下及び 55-64 歳では認められたが、65 歳以上では IFN 治療効果は全死亡のリスクに影響を与えなかった。

D. 考案

SMR による解析では、65 歳以上の高齢者 C 型慢性肝炎患者に対する IFN 単独治療にて肝臓病死のリスクは低下し、全死亡のリスクも general population と同程度であったこと、IFN 単独治療により著効、再燃となれば全死亡のリスクは general population に比し低値で、肝臓病死のリスクも general population と同程度まで低下したことより、高齢者 C 型慢性肝炎患者に対しても積極的に抗ウイルス療法を肝機能の正常化を目標として行うことが肝臓病死を防止する上で重要であることが示唆された。しかしながら、多変量解析における検討では、65 歳以上の高齢者は著効、再燃となっても全死亡のリスクは未治

療群に比し低下せず、両解析は相反する結果となった。その原因として、65 歳以上の高齢者 C 型慢性肝炎例が IFN 治療群、未治療群合わせて 217 例と少ないことが一因と考えられた。従って、高齢者 C 型慢性肝炎に対し積極的に抗ウイルス療法を施行すべきか否かの確定には、より多数例における検討が必要と考えられた。さらに、高齢者 C 型慢性肝炎に対する治療法として IFN 単独治療でよいのか、併用療法が必要なのか、SNMC や UDCA 投与も含めどのような治療法が安全で有用性が高いのか、どのような高齢者 C 型慢性肝炎患者を治療対象とするのかなど、今後更なる検討が必要と考えられた。

E. 結論

SMR を用いた解析では、高齢者 C 型慢性肝炎患者に対しても積極的に抗ウイルス療法を肝機能の正常化を目標として行うことが、肝臓病死を防止する上で必要であることが示唆された。

F. 健康危惧情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugimoto Y., Kuzushita N., Takehara T., Kanto T., Tatsumi T., Miyagi T., Jinushi M., Ohkawa K., Horimoto M., Kasahara A., Hori M., Sasaki Y., and Hayashi N. A single nucleotide polymorphism of the low molecular mass polypeptide 7 gene influences the interferon response in patients with chronic hepatitis C. J Viral Hepatitis 9: 377-384,2002.
- 2) Noda K., Miyoshi E., Nakahara S., Ihara H., Gao CX., Honke K., Yanagidani S., Sasaki Y., Kasahara A., Hori M., Hayashi N., and Taniguchi N. : An enzymatic method of analysis for GDP-L-fucose in biological samples, involving high-performance liquid chromatography. Anal Biochem 310:100-106,2002.

3) Noda K., Miyoshi E., Kitada T., Nakahara S., Gao CX., Honke K., Shiratori Y., Moriwaki H., Sasaki Y., Kasahara A., Hori M., Hayashi N., and Taniguchi N. : The enzymatic basis for the conversion of nonfucosylated to fucosylated alpha-fetoprotein by acyclic retinoid treatment in human hepatoma cells: Activation of alpha 1-6 fucosyltransferase. Tumor Biol 23: 202-211,2002

2. 学会発表

1) 笠原彰紀, 佐々木裕, 林 紀夫 : C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療は肝癌発生、肝臓病死を抑制し長期予後を改善する, 「C型慢性肝炎治療の新たな展開:生命予後改善」, 第88回日本消化器病学会総会パネルディスカッション, 旭川, 2002

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

無症候性 HCV キャリアーの長期フォロー症例

研究協力者 岡上 武 京都府立医科大学第3内科学教室教授

研究要旨：107例の無症候性 HCV キャリアーを長期フォローし、本症の病態・ウイルス学的特徴や長期予後を明らかにするために症候性慢性肝炎との比較検討を行った。無症候性キャリアは C 型慢性肝炎患者に比べ女性の比率およびウイルス型 Group2 の占める割合が高かった。無症候性キャリアでは肝組織への鉄沈着や脂肪沈着の程度は有意に軽度であった。平均 6.2 年間のフォローで血清 ALT 持続正常例は 36.4%で、18.7%が症候性慢性肝炎になった。107 例中 13 例は正常肝組織を呈し、約 2/3 の症例は A1/F1 以下の軽度な組織所見を呈した。21 例に複数回肝生検を施行し(平均 5.4 年間隔)、6 例で病期の進展が見られた。本症の多くは予後良好であるが、本症の病態について今後詳細な検討が必要である。

共同研究者

中山 美加 京都府立医科大学第3内科
研究生
大門由紀子 京都府立医科大学第3内科
研究生

A. 研究目的

無症候性 HCV キャリアーの肝組織所見や血清 HCV RNA 量、遺伝子型、鉄代謝、脂肪沈着や長期フォローによる組織学的変化を明らかにすることは臨床上重要である。症候性慢性 C 型肝炎患者を対象とした。

B. 研究方法

京都府立医科大学第三内科患者を対象とした。HCV 抗体および HCV RNA (PCR) 陽性患者で血清 AST・ALT とともに一年以上正常値 ($\leq 30\text{IU/l}$) を持続する者を無症候性 HCV キャリアと定義した(表1)。同意の得られた 107 例の患者に肝生検を施行し、うち 21 例の平均 5.4 年後に 2 度目の肝生検を施行した。なお、1 例に 3 回の肝生検を施行した。血液検査は肝生検時に血清 HCV RNA 量、HCV セロタイプ、血清 AST,ALT,血小板数、血清フェリチン値を測定し、初めの一年間は 3 ヶ月毎にこれらを検査し、以後は 6 ヶ月毎に採血した。対象患者は 29~77 歳、(中央値 48 歳)、男性：20 名・女性：87 名、フォロー期間は 2~11 年 (平均 6.2 年)、セログループ (G1/G2/判定不能；57/38/12)、血小板数：12~40 $\times 10^4/\text{ml}$ (平均 $21.3 \times 10^4/\text{ml}$)、血清フェリチン値：5~290ng/ml (平

均 54.2 ng/ml、男：女；46.2 ng/ml：56.2 ng/ml)、BMI は 16~27 (平均 21.1) であった。肝組織所見はヨーロッパ分類にもとづいて分類し、脂肪沈着は Grade 0：0%、Grade 1：<10%、Grade 2：10~30%、Grade 3：30~50%、Grade 4：>50%に分類した。血中ウイルス量は Amplicor-M で測定し、その変動幅を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は京都府立医科大学臨床研究に関する倫理委員会の承認を得た上で施行した。臨床試験の目的・方法、肝生検における合併症・危険性、患者に関する個人情報守秘義務、患者の権利保護などについて十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した。

C. 研究結果

初回肝組織生検を行った 107 名 (男/女；20/87) の肝組織所見は、A1/F1 より軽度の症例が 86.9%であり、F4 すなわち肝硬変症例は 1 例も見られなかった。13 例 (12%) は A0/F0、すなわち正常肝を呈した(表2)。血清フェリチン値は無症候性キャリアでは 54.2 ng/ml (5~290 ng/ml) C 型慢性肝炎患者では 153 ng/ml (8~1410 ng/ml) で、女性患者では無症候性キャリアでは 56.2 ng/ml (5~290 ng/ml) ,C 型慢性肝炎患者では 133 ng/ml (8~1410 ng/ml) であった。平均 6.2 年のフォローで 39 例(36.4%)は血清 ALT 値

持続正常で、48例(44.8%)が一過性にALT値が異常を呈した。20例(18.7%)は症候性慢性肝炎に移行した。HCV RNA量(Amplicor-M)は無症候性キャリアとC型慢性肝炎との間に有意差はなかった。HCV RNA量は著明に変動し、無症候性、症候性ともにG1の患者の変動幅はlog表示で0.8でG2ではそれぞれ1.2, 1.0であった。肝組織所見の経過については、1回以上肝機能異常を呈した17症例に2回目の肝生検を施行したが、うち6例で病期(F stage)の軽度の進展がみられたが、11例では肝線化の進展はみられなかった(図1)。経過中1度以上肝機能異常を来した1例に2回肝生検を施行したが、4年後の肝組織に変化はなく、7.5年後に施行した3回目の肝生検ではF0からF1に進展していた。無症候性キャリアの肝組織所見は遺伝子型別に有意な差はみられなかった。また脂肪沈着に関しては、無症候性キャリア、症候性慢性肝炎患者でそのgradeを比較すると(G0/G1/G2/G3~4)無症候性では、66.7/25.6/5.0/2.6%、症候性では36.4/24.5/30.4/8.7%で、無症候性キャリアでは明らかに脂肪沈着の程度が軽度であった(表3)。遺伝子型の分布に関しては、無症候性キャリアではG1が53%、G2が35.5%であるのに対し、慢性肝炎ではG1が74.8%、G2が21.6%で、無症候性では症候性に比してG2の比率が高かった。

D. 考察

わが国ではHCV持続感染者が約200万人いると想定されており、無症候性キャリアはその2割前後を占めると想定されている。無症候性キャリアの長期経過観察例の報告は少なく、その予後や病態についてはいまだ明らかにされていない点が多い。通常のC型慢性肝炎患者では男性が女性の1.5~2倍高頻度であるのに対し、今回の我々の検討では無症候性キャリアでは女性が8割以上を占めた。また、無症候性キャリアの肝組織では、鉄沈着や脂肪沈着の程度は極めて軽く、明らかに症候性慢性肝炎と異なる病態を示した。また遺伝子型においても症候性に比してG2の占める頻度が高く、無症候性キャリアの成立にはウイルス側、宿主側の因子が関与しているものと想定される。今後これらの点に関する検討が必要と思われる。

E. 結論

無症候性キャリアの鉄代謝や脂肪代謝は症候性とは明らかに異なるが、ウイルス量の変動は症候性と同様であった。

無症候性キャリアは一般に予後良好であるが、炎症や線維化の進展を来す症例も時に存在するため、定期的なフォローが必要である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yasui K, Okanoue T, Murakami Y, Itoh Y, Minami M, Sakamoto S, Sakamoto M, Nishioji K. Dynamics of hepatitis C viremia following interferon- α administration. *J Infect Dis* 177: 1475-1479, 1998.
- 2) Okanoue T, Itoh Y, Minami M, Sakamoto S, Yasui K, Sakamoto M, Nishioji K, Murakami Y, Kashima K, The viral hepatitis study group. 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.
- 3) Tamaru M, Nishioji K, Kobayashi Y, Watanabe Y, Itoh Y, Okanoue T, Murai M, Mastushima K, Narumi S. Liver-infiltrating T lymphocytes are attracted selectively by IFN-inducible protein-10. *Cytokine* 12: 299-308, 2000.
- 4) Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, Nakajima Y, Ishikawa H, Mitsuyoshi H, Sakamoto Y, Okanoue T, Kashima K, Nakamura H, Yodoi J. Serum thioredoxine levels as an indicator of oxidative stress in patients with hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 33: 616-622, 2000.
- 5) Okanoue T, Daimon Y, Kirishima T, Ohnishi N, Nakamura H, Nagao Y, Minami M, Itoh Y. 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* 20: 348-358, 2001.

- 6) Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, Kakisaka Y, Nakajima Y, Ishikawa H, Mitsuyoshi H, Okanoue T, Nakamura H, Yodoi J. Serum thioredoxine elucidates the significance of serum ferritin as a marker of oxidative stress in chronic liver disease. *Liver* 21: 295-299, 2001.
- 7) Itoh Y, Morita A, Nishioji K, Narumi S, Toyama T, Daimon Y, Kirishima T, Nakamura H, Okanoue T. Clinical significance of elevated serum interferon-inducible protein-10 levels in hepatitis C virus carriers with persistently normal serum transaminase levels. *J Viral Hepatitis* 8: 341-348, 2001.
- 8) Okanoue T, Itoh Y, Sakamoto M, Kirishima T, Daimon Y, Toyama T, Morita A, Nakajima T, Minami M, and the Viral Hepatitis Therapy Study Group. Transient biochemical response in interferon therapy decreases the development of hepatocellular carcinoma for five years and improves the long-term survival of chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res* 23: 62-77, 2002

表1. 無症候性HCVキャリア107例の背景

■ age (yr)	48(29-77)
■ male/female	20/87
■ BMI	21.2(16-27)
■ follow up duration (yr)	6.2(2-11)
■ serogroup (G1/G2/uc)	57/39/17
■ PLT (10 ⁴ /ml)	21.3(12-40)
■ serum ferritin (ng/ml)	65.3(5-720)
	(male: 101.6 ng/ml / female: 58.1 ng/ml)

2. 学会発表

- 1) Okanoue T, Nakayama M, Daimon Y. Long-term follow-up study of asymptomatic HCV carriers. 24th Joint Meeting of the United States-Japan Hepatitis Panels, January 11-13, 2003 (Tokyo)

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

表2. 初回肝生検所見

	male(n=20)	Female(n=87)
F0/A0	7	6
F0/A1	3	18
F1/A0	0	2
F1/A1	9	48
F1/A2	1	7
F2/A1	0	2
F2/A2	0	3
F3/A2	0	1

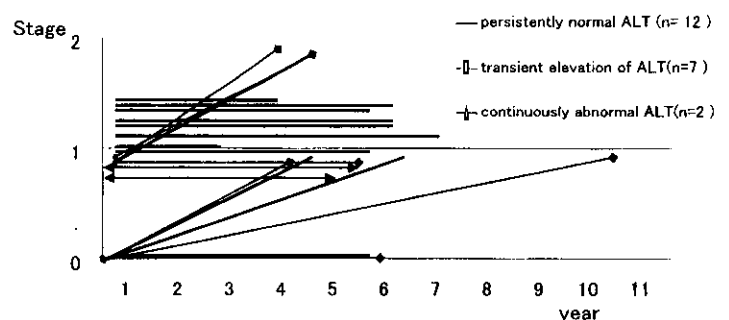
F: fibrotic stage A: grade of activity

表3. 無症候性キャリアと慢性肝炎における肝脂肪沈着と肝線維化の関係

		F0	F1	F2	F3
Steatosis	0	3	40	17	7
		8	17	1	
	1	1	28	12	4
		3	7		
	2	1	13	22	20
			1	1	
	3-4	1	6	4	5
			1		

上段: 慢性肝炎 下段: 無症候性キャリア

図1. 無症候性HCVキャリアの肝組織のフォロー



厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

ALT 正常値の慢性 C 型肝炎に対するインターフェロン療法の治療効果

分担研究者 熊田博光 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 消化器科部長

研究要旨：ALT 正常値の慢性 C 型肝炎に対するインターフェロン療法の治療効果について検討した。ALT 値異常にて治療を開始した症例を対照群として比較検討すると ALT 正常値群では、genotype 2a 及び高ウイルス量の症例で完全著効率が低かった。一方低ウイルス量の症例では完全著効率に差を認めなかった。またインターフェロン終了後 ALT 値の異常を示した症例が 49% に認められた。ALT 値正常症例に対するインターフェロン療法は治療開始時期を慎重に判断すべきである。

共同研究者

坪田昭人 虎の門病院 消化器科 医員
鈴木文孝 虎の門病院 消化器科 医員

A. 研究目的

従来慢性 C 型肝炎に対するインターフェロン(IFN)療法は主として ALT 値の異常症例を対象に施行されてきた。そのため ALT 値の正常症例に対する IFN 療法の効果については十分な検討がなされていない。今回 ALT 値正常にて IFN を施行された症例の治療効果について検討した。

B. 研究方法

1992 年 7 月から 2001 年 8 月までに当院にて IFN 単独投与を施行された 791 例を対象とした。全例 IFN は初回投与例、肝生検にて慢性肝炎と診断された症例である。IFN は 8 週から 28 週間投与であり原則的に 8 週連日または 8 週連日+週 2 または 3 回の間歇投与を施行した。791 例中 IFN 開始時に ALT 値が正常であった 94 例を ALT 値正常群とし残り 697 例を ALT 値異常群とした。ALT 値正常群の臨床背景は年齢 20-68 歳（中央値 46 歳）、男性：女性=54:40、肝生検所見（新犬山分類）F0:F1:F2:F3=1:82:5:1、HCV genotype 1b:2a:2b=38:43:13、HCV RNA 量(bDNA 法) 1Meq/mL 以上：以下=48:46、治療開始時 ALT 値 11-50 IU/L（中央値 36）IFN 総投与量 318-1040 MU（中央値 627）であった。一方 ALT 値異常群は年齢 17-73 歳（中央値 51 歳）、男性：女性=436:261、肝生検所見（新犬山分類）F0:F1:F2:F3=3:446:180:48、

HCV genotype 1b:2a:2b=466:176:52、HCV RNA 量 (bDNA 法) 1Meq/mL 以上：以下=235:459、治療開始時 ALT 値 51-683 IU/L（中央値 102）IFN 総投与量 261-1040 MU（中央値 624）であった。（両群間で肝生検所見、HCV genotype、治療開始時 ALT 値に有意差を認めた。）IFN の完全著効率（IFN 終了後 6 ヶ月目で HCV RNA 陰性化、ALT 値の正常化例を著効と判定）を両群間で HCV genotype、開始時 HCV RNA 量別に比較検討した。また ALT 値正常群では IFN 終了後の ALT 値の推移を検討した。さらに ALT 値正常群の内当院受診時より持続的に ALT 値が正常であった 18 例を ALT 値持続正常群とし IFN の効果を判定した。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

ALT 値正常群の著効率は 45.7%(43/94)であった。対照群である ALT 値異常群では 33.4%(233/697)であった。両群間で HCV genotype とウイルス量別（bDNA 1Meq/mL 以上、以下で分類）に完全著効率を検討すると、genotype 2a、高ウイルス量群の ALT 値正常群で完全著効率が低かった。（23.8%[5/21] vs 55.6%[45/81], $P=0.0189$ ）次に ALT 値正常群の IFN 終了後の ALT 値の推移を検討した。非完全著効例 51 例中 25 例(49%)が IFN 終了後 ALT 値の上昇を認めた。

さらに IFN 投与前に ALT 値が持続的に正常値であった 18 例例において同様の検討を行った。完全著効は 18 例中 7 例 (38.9%) であった。ウイルス量が 1Meq/mL 以下の低ウイルス症例では完全著効率が高いもののやはり genotype 2a で高ウイルス量の症例では著効率が低い傾向にあった。(25%、8 例中 2 例) この 18 例中 IFN 終了後に ALT の上昇を認めた症例が 6 例ありその内 2 例は持続的な ALT 値の異常を示した。

D. 考察

ALT 値正常症例に対する IFN の治療効果を HCV genotype とウイルス量別に検討した。今回の我々の検討では低ウイルス量の症例での治療効果は ALT 値異常群と差を認めなかった。一方 genotype 2a で高ウイルス症例では ALT 値正常群で有意に低率であった。この理由の 1 つとして IFN 療法の効果を規定する因子には genotype、ウイルス量以外にも生体側の因子が関係している。ALT 値が異常値を呈する状態では生体側の反応により IFN の抗ウイルス作用がより増強されるのかもしれない。

一方完全著効に至らなかった症例で IFN 終了後 ALT 値の上昇する症例が約半数認められた。この内投与前に ALT 値が持続正常であった症例の 2 例では IFN 治療後 ALT 値の上昇が持続的に認められるようになった。このことから肝機能が持続正常である症例では完全著効に至らなかった場合新たに肝炎が引き起こされる可能性があるといえる。

E. 結論

ALT 値正常症例に対する IFN 療法の効果を検討した。Genotype 2a で高ウイルス量の症例でその効果が低かった。また完全著効に至らなかった症例では IFN 終了後約半数で ALT 値の上昇が認められた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

- 1) 間森聡、鈴木文孝、保坂哲也、芥田憲夫、染谷貴志、小林正宏、坪田昭人、鈴木義之、斎藤聡、荒瀬康司、池田健次、熊田博光。ALT 値正常にて開始したインターフェロン初回投与例の治療効果。第 272 回日本消化器病学会関東地方会、平成 14 年 12 月 14 日、東京。

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

全国調査に基づく C 型急性肝炎の感染経路および治療に関する研究

分担研究者 佐田通夫 久留米大学第二内科教授

研究要旨：当科および関連施設、さらに全国十二施設の協力を得て C 型急性肝炎の感染経路および治療に関する研究を行った。対象症例は 1990 年以降発症の 109 名。感染経路の内訳は、医療原性 33 例(30%)、針刺し事故 23 名(21%)、性交渉 8 名(7%)、覚醒剤乱用 6 名(5%)、刺青 4 名(4%)、不明 35 名(32%)であった。針刺し事故と医療原性で原因の過半数を占め、医療従事者の HCV 感染に対する意識改革を促す結果となった。インターフェロン(IFN)治療を行った 87 名中 63 名(81.8%)が著効となり、その有効性が改めて認識された。さらに針刺し事故による感染者の IFN 著効率は 100%であり、その理由として事故後の十分な経過観察のもとに適切なタイミングで IFN が投与されたためと考えられた。

分担研究者

佐田通夫、久留米大学第二内科教授

共同研究者

井出達也、久留米大学第二内科助手

緒方 啓、久留米大学第二内科助手

A. 研究目的

全国調査により C 型急性肝炎の感染経路を詳細に調査し、その感染対策への足がかりとする。従来の報告のように IFN 治療が有効であることを再確認すると同時にその投与期間、量、種類などの IFN 側因子と HCV RNA 量、serotype などのウイルス側因子が効果に影響を及ぼすか否かを検討する。

B. 研究方法

全国十二施設の班友各位の協力の元に 1990 年以降発症の C 型急性肝炎例の感染経路および治療に関するアンケート調査を行い、109 名の調査解析を行った。IFN 治療効果判定は、IFN 投与終了後 6 ヶ月目の血中 HCV RNA が陰性および ALT 値正常例を著効、HCV RNA 陽性例を無効とした。

C. 研究結果

1) 症例

男性 49 名、女性 60 例で各々平均年齢は 39.1 ± 15.8, 38.3 ± 15.8 才であった。

全 109 例の平均年齢は 38.8 ± 15.9 才であった。

2) 感染経路

全 109 例の内訳は、医療原性 33 例(30%)、針刺し事故 23 例(21%)、性交渉 8 例(7%)、覚醒剤乱用 6 例(5%)、刺青 4 例(4%)、不明 35 例(32%)であった。最も多い割合を占めた医療原性をさらに分類すると、外科手術 11 例(34%)、輸血 5 例(15%)、静脈注射 4 例(12%)、観血手技 3 例(9%)、歯科治療 3 例(9%)、内視鏡 3 例(9%)、透析 1 例(3%)、詳細不明 3 例(9%)であった。

3) IFN の治療成績

IFN 施行は 87 名で、著効 63 例(81.8%)、無効 14 例(18.2%)であった。効果不明が 4 例、投与中が 6 名であった。

4) IFN 治療効果別背景因子

年齢、性別(男:女)、総投与量(MU)、投与期間(週)、IFN 開始までの期間(週)について著効と無効両群間において比較検討を行った。著効群ではそれぞれ 33.4 ± 12.2, 26:36, 483 ± 227, 16.6 ± 8.1, 13.1 ± 10.3 であり、無効群では 39.6 ± 13.8, 9:5, 398 ± 182, 18.1 ± 9.8, 19.3 ± 14.8 であった。いずれの因子においても統計学的有意差は認められなかった。

5) HCV RNA 量と治療効果

HCV RNA が 100 KIU/ml あるいは 1 Meq/ml 以上を高ウイルス量群、100 KIU/ml あるいは 1 Meq/ml 未満を低ウイルス量群と定義し IFN 治療効果を比較検討したところ、高ウイルス量群では 79.4% (27/34)、低ウイルス量群では 88.9% (32/36)、

ウイルス量不明群では 50% (3/6)の著効率であり、HCV RNA 量との間には治療効果統計学的有意差は認められなかった。

6) serogroup と治療効果

serogroup 1 群では 83.7% (36/43), serogroup 2 群では 85.7% (18/21), serogroup 不明群では 66.7% (12/18)の著効率であり、ここにも統計学的有意差は認められなかった。

7) HCV RNA 量、serogroup と治療効果

Serogroup 別にウイルス量を高、低、不明に分けて各群の治療効果を検討した。serogroup 1 の著効率は高ウイルス量群で 76% (19/25), 低ウイルス量群で 93.8% (15/16), ウイルス量不明群で 100% (2/2)であった。serogroup 2 の著効率は高ウイルス量群で 85.7% (6/7), 低ウイルス量群で 85.7% (12/14), ウイルス量不明群は 0 例であった。一方、serogroup 不明群の著効率は高ウイルス量群で 100% (2/2), 低ウイルス量群で 80% (4/5), ウイルス量不明群は 25% (1/4)であり、各々の因子間での統計学的有意差は認められなかった。

8) IFN の種類と治療効果

使用した IFN の種類により α 、 β 、 $\alpha + \beta$ の 3 群に分けて治療効果を比較した。 α 群では 80.4% (37/46), β 群では 94.4% (17/18), $\alpha + \beta$ 群では 66.7% (4/6)の著効率であり、統計学的有意差は認められなかった。

9) ALT 値の動きと治療効果

血中 ALT 値(IU/L)の変動パターンにより 1 峰性、2 峰性、3 峰性以上の 3 群に分けて治療効果を比較した。1 峰性群では 88.2% (15/17), 2 峰性群では 75.9% (22/19), 3 峰性以上群では 76.2% (16/21)の著効率であり、統計学的有意差は認められなかった。

10) IFN 治療開始までの期間と治療効果

IFN の投与を開始するまでに要した期間と治療効果とを比較検討した。開始までの時期を 5 群に分けると、それぞれ 4 週以内: 80% (8/10), 8 週以内: 88% (21/24), 12 週以内: 90% (9/10), 24 週以内: 81% (13/16), 25 週以上: 55% (6/11)の著効率であり、25 週以上では著効率が有意に低かった。

11) 感染経路別の治療効果

感染経路別にみた IFN 治療効果では、それぞれ医療原性: 71.4% (15/21)、性交渉: 80% (4/5)、覚醒剤乱用: 80% (4/5)、刺青: 66.7% (2/3)、原因不明: 77.3% (17/22)、針刺し事故: 100% (20/20)という著効率を示し、針刺し事故群の著効率が有意に高かった。

12) 針刺し事故群における臨床的背景

特に高い IFN 著効率を示した針刺し事故群の背景因子を検討するために、IFN 施行群を針刺し事故群(22 例)と針刺し事故以外群(65 例)に分類して年齢、性別(男:女)、serotype(1:2)、投与量(MU)、投与期間(週)、IFN 開始までの期間(週)、ALT 値の変動(1 峰性: 2 峰性: 3 峰性以上)の各因子について比較検討した。その結果、性(針刺し群 6:16 針刺し以外群 35:30)、serotype(針刺し群 17:2 針刺し以外群 31:22)、ALT 値の変動(針刺し群 7:10:1 針刺し以外群 13:24:23)の 3 因子において統計学的有意差を認めた。

13) 感染経路別にみた IFN 開始までの期間

各々の IFN 開始までの平均期間(週)は、医療原性: 15.2 ± 13.65 、性交渉: 18.6 ± 7.27 、覚醒剤乱用: 17.2 ± 13.82 、刺青: 11.0 ± 7.39 、原因不明: 15.4 ± 11.92 、針刺し事故: 10.6 ± 5.98 であり、針刺し事故群において最短であった。

14) IFN 未施行例の経過

IFN 治療を行わなかった 22 例の予後(2 例は不明)については、慢性化: 65% (13 例)、自然治癒: 35% (7 例)であった。

D. 考察

今回の全国調査の実施によって調べ得た限りでは、C 型急性肝炎の感染原因の半数以上が医療に関連したもの(針刺し事故、医療原性)であることが判明した。これは我々独自の関連施設で行った結果とほぼ一致するデータである。また、原因不明が 32%と多かったことも無視できない。C 型急性肝炎の感染原因に関しては、患者への問診に頼るところが多い。つまり覚醒剤使用などの発覚を恐れて申告を控える場合も考えられるため、詳細かつ正確な問診技術が必要となる。仮に覚醒剤使用が原因とすれば、いわゆる回し打

ちによって狭い地域で散発的に発生する可能性があり、感染予防対策を行う上で重要な情報である。あるいは患者自身が、医療行為を受けたことが感染の原因だと思っていないことが不明という結果につながっているのかも知れない。いずれにしても今後、コメディカルを含めた医療従事者に対する早急かつ横断的な啓蒙が急務である。

IFN 治療に関してはウイルス側の serogroup、HCV RNA 量は治療効果との関連性が認められなかった。また、総投与量(MU)、投与期間(週)においても著効群と無効群において有意差は認められなかった。しかし、IFN の開始時期に関しては、発症後 24 週以内に治療を開始した群と 25 週以降に開始した群とでは有意差を持って著効率の相違を認めた。さらに感染経路別の著効率をみると、針刺し事故群の 100%が際立っており、殆どの例で ALT 値多峰性変動期に入る前に治療を開始していた。これは医療従事者という立場上定期的な経過観察を受けやすく、早めに治療したためと思われる。すなわち C 型急性肝炎に罹患した場合、少なくとも ALT 値が 2 回目のピークを迎える頃には IFN 治療をいつでも始めることができるように準備しておくことが望ましく、発症から 24 週以内に投与を開始すべきであると考えられる。

E. 結論

- 1) C 型急性肝炎の感染経路は、針刺し事故および医療原性で半数以上を占め、医療従事者個々の感染対策への意識付けと予防の努力が必要と考えられた。
- 2) IFN 治療効果はウイルス量、serogroup に関係なく著効を示す場合が多く、治療前に症例の選択を行う必要はないと考えられる。また治療のタイミングに関しては、発症後 24 週以内かつ ALT 値が多峰性の変化をたどる前に開始するのが望ましいと考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

- 1) Yano Y, Yamashita F, Sumie S, Ando E, Fukumori K, Kiyama M, Oyama T, Kuroki S, Kato O, Yamamoto H, Tanaka M, Sata M : Clinical features of hepatocellular carcinoma seronegative for both HBsAg and anti-HCV antibody but positive for anti-HBc antibody in Japan. *Am. J. Gastroenterol.* 97; 156-161, 2002
- 2) Ohira H, Sato Y, Ueno T, Sata M : Fenofibrate treatment in patients with primary biliary cirrhosis. *Am. J. Gastroenterol.* 97; 2147-2149, 2002
- 3) Ando E, Tanaka M, Yamashita F, Kuromatsu R, Yutani S, Fukumori K, Sumie S, Yano Y, Okuda K, Sata M : Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis: Analysis of 48 cases. *Cancer* 95; 588-595, 2002
- 4) Koga H and Sata M : Involvement of p21^{WAF1/Cip1} and p27^{Kip1} in troglitazone-induced cell cycle arrest in human hepatome cell lines. *Growth, Proliferation, and Apoptosis in Hepatocytes* Okita K ed. Springer-Verlag, Tokyo, p. 61-72, 2002
- 5) Kumashiro R, Ide T, Sasaki M, Murashima S, Suzuki H, Hino T, Morita Y, Miyajima I, Ogata K, Tanaka E, Yoshida H, Tanikawa K, Sata M : Interferon- γ brings additive anti-viral environment when combined with interferon- α in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol. Res.* 22; 20-26, 2002
- 6) Nagao Y, Tanaka J, Nakanishi T, Moriya T, Katayama K, Kumagai J, Komiya Y, Itoh Y, Myoken Y, Fujihara M, Sata M, Yoshizawa H : High incidence of extrahepatic manifestations in an HCV hyperendemic area. *Hepatol. Res.* 22; 27-36, 2002
- 7) Ide T, Kumashiro R, T Hino, Murashima S, Ogata K, Koga Y, Sata M : Short term and two-step interferon therapy for chronic hepatitis

- C patients with low HCV RNA levels. *Hepatol. Res.* 22; 145-151, 2002
- 8) Kakumu S, Matsushima T, Sato S, Kobayashi K, Kiyosawa K, Hayashi N, Tsuji T, Sata M, Origasa H, Iino S, RAM Study Group : Serum HCV RNA levels during early phase of recombinant interferon alfa-2a (Roferon A) therapy for chronic hepatitis C and efficacy of short-term therapy with earlier loss of viremia. *Hepatol. Res.* 22; 152-160, 2002
- 9) Nagao Y, Tsubone K, Kimura R, Hanada S, Kumashiro R, Ueno T, Sata M. High prevalence of anticardiolipin antibodies in patients with HCV-associated oral lichen planus. *Int. J. Mol. Med.* 9; 293-297, 2002
- 10) Koga H, Sakisaka S, Yoshitake M, Harada M, Kumemura H, Hanada S, Taniguchi E, Kawaguchi K, Kumashiro R and Sata M : Abnormal accumulation in lipopolysaccharide in biliary epithelial cells of rats with self-filling blind loop. *Int. J. Mol. Med.* 9; 621-626, 2002
- 11) Nagao Y, Tomonari R, Kage M, Komai K, Tsubone K, Kamura T and Sata M : The possible intraspousal transmission of HCV in terms of lichen planus. *Int. J. Mol. Med.* 10; 569-573, 2002
- 12) Sakai K, Iwao T, Oho K, Toyonaga, A and Sata M : Propranolol ameliorates thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *J. Gastroenterol.* 37; 112-118, 2002
- 13) Taniguchi E, Harada M, Kawaguchi T, Koga H, Kumemura H, Hanada S, Shishido S, Baba S, Kumashiro R, Ueno T, Sakisaka S, Sata M : Expression of uncoupling protein-2 in biliary epithelial cells in primary biliary cirrhosis. *Liver* 22; 451-458, 2002
- 14) Tsuda H, Sata M, Ijuin H, Kumabe T, Uchida M, Ogou Y, Akagi Y, Shirouzu K, Hara H, Nakashima Y : A novel strategy for remission induction and maintenance in cancer therapy. *Oncology Report* 9; 65-68, 2002
- 15) Yoshida H, Arakawa Y, Sata M, Nishiguchi S, Yano M, Fujiyama S, Yamada G, Yokosuka O, Shiratori Y, Omata M : Interferon therapy prolonged life expectancy among chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology* 123;483-491, 2002
- 16) Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T, Kosai K, Sata M, Kohara M, Yoshimura A : Activation of STAT3 by the hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation. *J. Exp. Med.* 196;641-653, 2002

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究

C型肝炎ウイルスの複製とリバビリン薬理作用

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：C型肝炎ウイルス(HCV)に対してリバビリンに **mutagen** としての薬理作用があるかどうかを HCV replication system を用いて検討した。

HCV 全長遺伝子を持つプラスミドと E2-NS5B 領域を欠失したコントロールウイルスをトランスフェクションし、リバビリンを加えた後、T7 ポリメラーゼにより HCV (+)鎖と(-)鎖を発現させた。HCV の各遺伝子領域を RT-PCR により増幅し、クローニングシーケンスにより遺伝子変異の有無を検討した。その結果、リバビリンにより有意な遺伝子変異が観察され、リバビリンは HCV replication の過程において、**mutagen** として作用し、その変異は特に **invariant** 領域に多くみられた。

共同研究者

日浅陽一 愛媛大学医学部第三内科 助手
堀池典生 愛媛大学医学部第三内科 助教授

C型肝炎ウイルス複製とリバビリンの **mutagen** としての薬理作用について

A. 研究目的

C型肝炎に対し、リバビリン+インターフェロン療法が抗ウイルス療法として確立された。しかし、リバビリンの C型肝炎ウイルス(HCV)に対する薬理作用は未だによくわかっていない。HCV 以外のウイルスに対する薬理作用としては poliovirus に対して遺伝子変異を誘導する **mutagen** として作用し、ウイルスの感染性を 99.3%減弱させたという報告(1)や、GB virus B (GBV-B)の複製の際、**mutagen** として作用したとの報告(2)がある。しかし、HCV の複製過程についてリバビリンが直接 **mutagen** として作用するかどうかについての報告はない。そこで、近年報告された HCV replication system (3)を用いてリバビリンが直接 **mutagen** として作用するかどうかを検討した。

B. 研究方法

感染性を有する HCV の全長クローンから作成された cDNA の 5'側に T7 プロモーターを、3'側にデルタ肝炎ウイルスのリボザイム遺伝子を持つプラスミド (pH77)を作成した。これを CV-1 細胞あるいは

HepG2 細胞にトランスフェクションし、さらに T7 ポリメラーゼを発現する組換えワクシニアウイルス (vvT7)を感染させることにより HCV 遺伝子を宿主細胞に発現させる。この pH77 プラスミドと、その E2 から NS5B 領域を欠失したコントロールプラスミド (p \square BglII)を各々 CV-1 細胞にトランスフェクションし、その 5 時間後にインターフェロン(IFN)あるいはリバビリン(RBV)を培養上清中に加えた。さらに 20 時間後 vvT7 を感染させ HCV 遺伝子を発現させ、その 24 時間後にハーベストして RNA を抽出した。取り出した RNA は Dnase で充分処理した後、5'UTR, core, E1/E2, NS5A, NS5B 領域の各々のプライマーを用いて RT-PCR にて HCV positive 鎖を検出した。得られた DNA 産物を TOPO cloning によりクローニングシーケンスを行い、**mutation** の有無について検討した。

C. 研究成果

まず、薬剤を加えずに CV-1 細胞に HCV を発現させ、この HCV replication system において **mutation** がみられるかどうかを検討した。その結果、pH77 とコントロールプラスミド p \square BglII との間では、HVR1 region を含む E1/E2 領域で **mutation** は増加したが、他の領域ではほとんどみられなかった。

次に、RBV と IFN を加えて **mutation** の増加の有無について検討した。領域別に比較すると RBV を添加したものでは、薬剤なしに比較して core, NS5A 領

域ともに mutation は有意に増加した。IFN を加えたものでは core 領域のみに有意な mutation の増加がみられた。

全ての領域の変異数をまとめると、Error generation rate は RBV 50 μ M で 0.33×10^3 、RBV 400 μ M で 0.20×10^3 、IFN 100000IU で 0.23×10^3 と、各々薬剤なしの際の Error generation rate に比較して有意に増加していた。

一方、コントロールプラスミド p \square BgIII を用いた検討では薬剤を加えないものに比べ、有意な変異はほとんどみられなかった。さらに RBV を加えた場合においても、有意な変異はみられなかった。

HepG2 細胞でも検討したところ、CV-1 細胞同様に RBV を加えた際において core, E1/E2 領域の変異数は有意に増加した。

D. 考察

我々のシステムを用いて検討した結果、リバビリンは HCV の遺伝子変異を増加させ、mutagen として作用した。その遺伝子変異は特に invariant region で多くみられた。この傾向は CV-1 細胞を用いた場合のみならず HepG2 細胞を用いた場合にもみられた。しかしながら RBV による遺伝子変異の誘導率は濃度依存性にはみられなかった。今回用いたシステムでは VVT7 を用いたため培養は短期間となり、高濃度の RBV の場合、十分な遺伝子変異が得られなかった可能性もある。今後はこの HCV replication system を改善して長期間培養を持続して遺伝子変異率がどうなるかをさらに検討していきたい。また、今回の検討では、IFN を加えた場合でも遺伝子変異がみられた。IFN には直接的に HCV RNA 及び HCV 蛋白の合成を阻害する作用があることが知られており、IFN による遺伝子変異が関わっている可能性がある。あるいは IFN によるウイルス多型を促す作用に関与している可能性もある。

今後 RBV 及び IFN により誘導された遺伝子変異が、生体内でのウイルス増殖にどのように関わっていくのか、臨床サンプルなどを用いてさらに解析していく予定である。

E. 結論

HCV replication system において RBV, IFN による HCV mutation 増加の有無について検討した

1. 添加薬剤なしでは、HCV の HVR1 領域を含む E1/E2 領域に変異が増加した
2. RBV を加えた状態では、HCV の全ての領域(特に invariant 領域)において変異が増加した
3. RBV による同様の変異増加は CV1 cell のみならず HepG2 cell でも見られた
4. IFN を加えた状態では core, E1/E2, NS5A の領域で変異が増加した

以上より RBV は HCV replication の過程において、mutagen として作用し、その変異は特に invariant 領域に多くみられた。

参考文献

1. Crotty S, Cameron CE, Andino R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98; 6895-6900, 2001.
2. Lanford RE, Chavez D, Guerra B, et al. J Virol 75; 8074-8081, 2001.
3. Chung RT, He W, Saquib A, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98; 9847-9852, 2001.

F. 健康保険情報 特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Contreras AM, Hiasa Y, He W, Terella A, Schmidt EV, Chung RT; Viral RNA mutations are region specific and increased by ribavirin in a full-length hepatitis C virus replication system. J Virol 76; 8505-8517, 2002.

2. 学会発表

- 1) Hiasa Y, Terella A, Kamegaya Y, Schmidt EV, Chung RT. Sustained HCV replication in a cell-based HCV replication system using replication-defective adenoviral vectors. 9th HCV International Meeting on HCV and Related Viruses. (2002.7.7-11 UCSD, La Jolla, CA, USA)

2) Hiasa Y, Blackard J, Kamegaya Y, Schmidt EV, Chung RT. Sustained HCV replication in a cell-based HCV replication system using replication-defective adenoviral vectors. 53rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. (2002.11.1-5. Boston, MA, USA)

H. 知的財産権の出願登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究 インターフェロン・リバビリン(IFN・Riba)併用療法中の HCV RNA の 推移とその長期効果

分担研究者 飯野四郎 医療法人社団静山会 清川病院 病院長

研究要旨：IFN・Riba 併用療法について検討した。予測通りに遺伝子型 1b で 25%、2a で 85.7% の CR 率であった。投与開始 8 週目までに RNA が陰性化する例では高率に CR となった。8～16 週の間陰性化する例では 1 年間投与によって CR となる可能性があるかと推察された。16 週目までに陰性化しない例では、治療中止し、IFN 少量長期投与などの他の治療法への変更も考慮すべきであると考えられた。

共同研究者
安田清美 医療法人 清川病院 副院長

A. 研究目的

IFN・Riba 併用療法時の血中 HCV RNA の推移から、6 ヶ月間治療法での治療後の HCV RNA の陰性化率 (CR)、治療効果に関係する因子、治療中の HCV RNA 陰性化時期からみた CR 予測、治療法上の問題を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

2001 年 12 月から 2002 年 10 月の間に治療を開始した 58 例を対象とした。平均年齢は 56 ± 11 才 (22～70 才)、男女比は 32/26、25 例 (43%) が IFN 治療歴を有し、HCV 遺伝子型は 1b : 2a : 2b : その他が 33 : 20 : 3 : 2 であった。投与前 HCV RNA 量は 491 ± 270 KIU/mL (27～860<)、100 KIU/mL 未満は再治療の 2 例であった。

HCV RNA は投与開始前、投与中の 1、2、4、8、12、16、20、24 週および投与後 4 週、8 週、12 週、24 週の各点で、アンプリコア法による定量・定性検査で測定した。また、これら各時点で末梢血液、生化学的検査も行なった。

C. 研究結果

58 例中 6 例が経過観察中に治療を中止した。中止

6 例中 2 例は 20 および 22 週で HCV RNA の陰性化が認められず、ALT も改善しないために無効と判断し、協議の上中止した。評価判定に加えた。他の残り 4 例は、1 例が 12 週目まででうつ病のため、1 例は全身倦怠感が強いということで 2 週目まで、1 例は 12 週目までで本人の都合で、1 例は 1 週間で経済的理由で中止した。

他の 52 例中 30 例が予定 6 ヶ月の治療を完遂し、うち 25 例は、上記 2 例の中止例とともに、合計 27 例として効果判定を行なった。残り 5 例は観察中で未判定である。残りの 22 例は現在、投与中である。(図 1)。

判定した 27 例における効果は CR が 27 例中 11 例 (40.7%) であり、遺伝子型 1b では 20 例中 5 例 (25%)、同遺伝子型 2a では 7 例中 6 例 (85.7%) であった。

全例について、遺伝子型別にみた各時点での HCV RNA 陰性化率を図 2 に示した。2a では全例が 8 週目までに陰性化した。1b では 8 週を過ぎてから陰性化率が上昇し、24 週の終了時でも 20% 以上の例で RNA 陽性であった。図 2 のグラフの下に示した表は効果判定が行なえた例について、各時点での RNA 陰性化例に対する CR 例の割合である。1b の場合には 6 ヶ月間投与では、4 週目以内に陰性化すれば CR とする確立が高く、16 週目以降に陰性化しても CR とはならない。

全例について、治療前の HCV RNA 量別にみた各

時点での RNA の陰性化率を図 3 に示した。200Kcopies/mL 未満の場合には早期に陰性化する例が多いが、200Kcopies/mL 以上の例での陰性化率の変化は量依存傾向が低い。同様に図 3 のグラフの下に示した表は陰性化例に対する CR 例の比率である。200Kcopies/mL 未満の例では全例 CR である。500Kcopies/mL 未満の場合も CR となる確立が高い。

CR とその他の NCR 別にみた RNA 陰性化率の推移を図 4 に示した。8 週目が両者の差がもっとも大きく、16 週目ももう一つの判断のポイントと考えられる。

D. 考察

IFN・Riba の承認から 1 年後までの集計であるために、6 ヶ月間の投与、投与終了 3 ヶ月の判定、計 9 ヶ月を要し、3 ヶ月間の投与例での集計ということになり、判定可能例は投与開始 58 例中 27 例であった。

CR 例は 1b で 20 例中 5 例、2a で 7 例中 6 例であった。この結果は治験の結果から推定されたものにはほぼ一致している。

図 2 の RNA 陰性化率および陰性化例中の CR 率を見ると、2a では 6 ヶ月間投与で十分と判断されるが、1b では 6 ヶ月間投与では不十分で、早期に 12 ヶ月間投与が承認されることが望まれる。8 週間から 16 週間の間に陰性化する例が 1 年投与で CR となる可能性がある。

図 3 の投与前 RNA 量からみた場合、陰性化率の推移からみると 200Kcopies/mL で 2 分されると考えられた。また、500Kcopies/mL 未満の例では高い CR 率が期待できることが明らかとなった。

本研究の目的であった、併用療法を継続するか、あるいはこの治療を放棄して対症療法に切り換えるかを判断する時点は図 4 からみると、8 週目までに陰性化していれば、何とかして 24 週目までの終了を目指す、16 週目で陰性化していなければ、継続を断念して、併用療法を中止し、少量長期の IFN 療法に切り換えることを考慮すべき時点であると考えられた。

E. 結論

IFN・Riba 併用療法の効果は治験の成績を裏付け

るものであった。

HCV RNA が投与前 500Kcopies/mL 未満の例では高い確率で CR となると予測できる。

6 ヶ月間の併用療法では、8 週以内に RNA が陰性化すれば高率に CR となる。8 週から 16 週の間 RNA が陰性化する例は 1 年間投与により高率に CR となる可能性がある。16 週までに陰性化しない例では併用療法の中止を検討すべきである。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

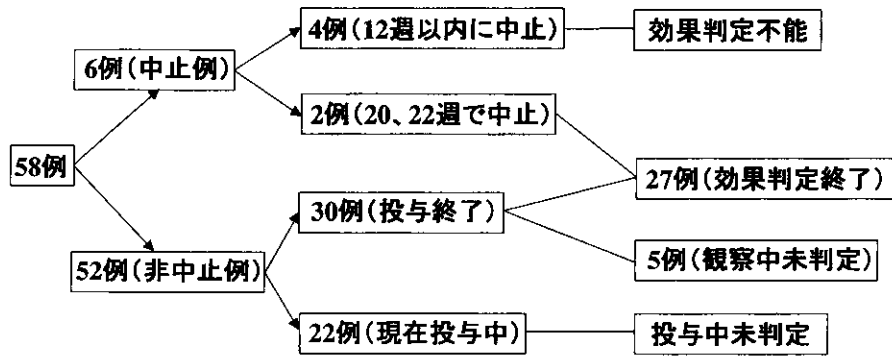
1. 論文発表

- 1) 吉澤浩司、飯野四郎：ウイルス肝炎；診断・予防・治療、第 2 版、文光堂、2002 年 10 月
- 2) S Iino, T Tango, T Matsushima, G Toda, K Miyake, K Hino, H Kumada, K Yasuda, T at different doses on chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatology Research* 19: 31-40, 2001
- 3) S Kakumu, T Matsushima, S Sato, K Kobayashi, K Kiyosawa, N Hayashi, T Tsuji, M Sata, H Origasa, S Iino, RAM Study Group : Serum HCV RNA levels during early phase of recombinant interferon alfa-2a (Roferon A) therapy for chronic hepatitis C and efficacy of short-term therapy with earlier loss of viremia. *Hepatology Research* 22: 152-160, 2002
- 4) S Iino, F Ichida, A Sakuma, H Suzuki, Study Group for Chronic Hepatitis C(OPC-18): A randomized clinical trial with natural interferon- α monotherapy for 24 or 48 weeks on patients with chronic hepatitis C having genotype 1b infection in high viral titers. *Hepatology research* 24: 338-345, 2002

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

図1. 対象症例の内訳 「2003年1月15現在」



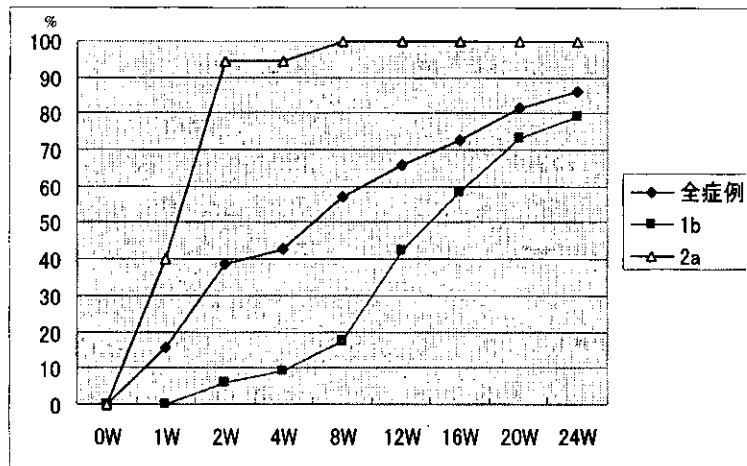
効果判定終了例27例の内訳

CR率: 11/27 (40.7%)

Genotype別: 1b例... 5/20 (25%) 2a例... 6/7 (85.7%)

<2003/1/24>

図2. Genotype別HCV RNAの累積陰性化率

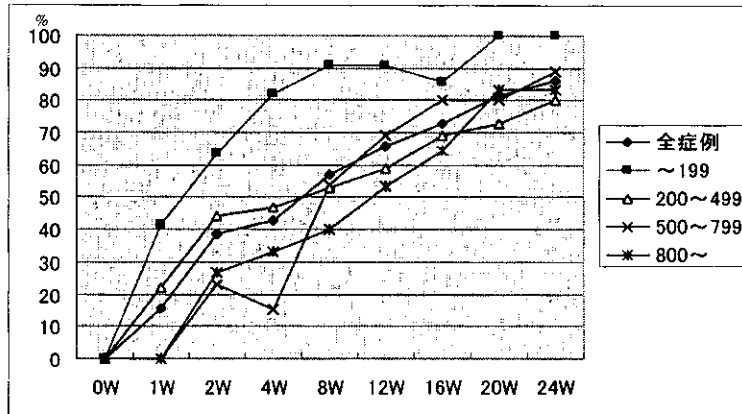


HCV RNA(-)例のCR率 ~Genotype別~

	1W	2W	4W	8W	12W	16W	20W	24W
1b	-	1/1	2/2	4/5	4/10	5/12	5/13	5/13
2a	2/2	6/7	6/7	6/7	6/7	6/7	6/7	6/7

<2003/1/24>

図3. 投与前HCV RNA量別HCV RNAの累積陰性化率

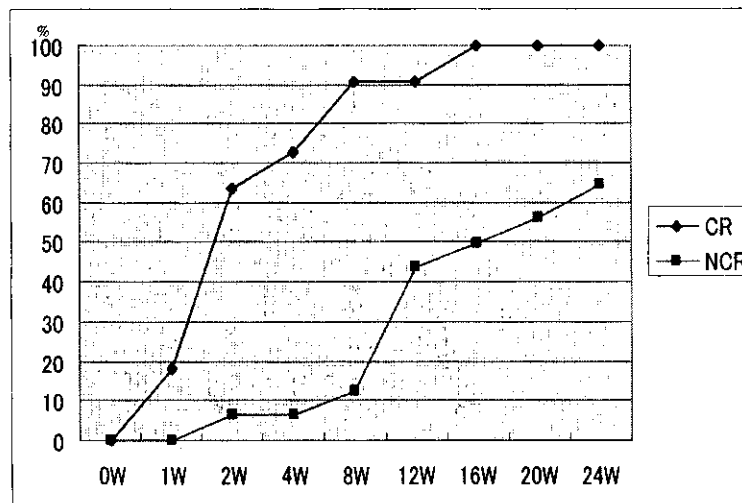


HCV RNA(-)例のCR率 ~前HCV RNA量層別~

	1W	2W	4W	8W	12W	16W	20W	24W
~199	1/1	2/2	3/3	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
200~499	1/1	3/3	3/3	3/3	3/4	3/4	3/4	3/4
500~799	-	0/1	0/1	1/2	1/4	1/5	1/5	1/5
800~	-	2/2	2/2	2/3	2/5	3/6	3/7	3/7

<2003/1/24>

図4. CR・NCR別HCV RNAの累積陰性化率



<2003/1/24 >

厚生労働科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型慢性肝炎に対する ribavirin・interferon 併用療法における HCV 動態・変異の検討

研究協力者 泉 並木 武蔵野赤十字病院 消化器科部長

研究要旨：わが国の C 型慢性肝炎は genotype1b 型・高 HCV RNA 量の難治例が多数を占める。この難治例に対して ribavirin・interferon(IFN)併用治療の有効性が高いことが示されているが、その機序は解明されていない。Ribavirin 単独 4 週間先行投与を行った症例において治療前・後、IFN 併用治療後の 3 ポイントで HCV 変異を測定した。その結果、リバビリン単独投与で hypervariable region-1 と ISDR(NS5A)変異が観察され、アミノ酸変異を伴う例で著効がみられた。以上から ribavirin は HCV に対して変異を促進する mutagen として作用しうることが示された。

共同研究者

朝比奈靖浩 武蔵野赤十字病院消化器科副部長

A. 研究目的

難治性 C 型慢性肝炎に対して ribavirin(RBV)・interferon- α 2b(IFN)併用療法がより効果が高い治療法として施行されている。しかし ribavirin がどのような作用機序で IFN との相加作用が発揮されるかについては不明である。当科で RBV・IFN 併用療法を施行した genotype 1b・高 HCV RNA 量症例で HCV 動態を解析し、また RBV 単独先行投与を行った例で治療前後で HCV 変異が誘導され、RBV が HCV に対して変異を誘導し mutagen として作用するか否かを検討した。

B. 研究方法

当院に通院中の C 型慢性肝炎で genotype1b 型で高 HCV RNA 量の難治例について IFN 単独と RBV・IFN 併用群の 2 群に分けた。2 群間に性・年齢・HCV RNA 量・肝生検組織像いずれも差がなかった。治療開始早期から 12 週まで細かく採血し real-time detection PCR 法を用いて HCV 動態(dynamics)を測定した。HCV 動態は初期 24 時間の急峻な HCV 減少が観察される第 1 相と、24 時間以降の緩徐な減少の第 2 相に分けられた。この第 2 相が感染肝細胞の破壊を示す重要な臨床的指標となることが示されているため、IFN 単独治療と RBV・IFN 併用治療群で第 1,2 相を比較

検討した。

さらに genotype 1b・高 HCV RNA 量の 26 例に対して RBV を 4 週間先行投与し、引き続いて 24 週間の併用治療を行った例で、治療前、4 週間の RBV 単独治療後、4 週間の RBV・IFN 併用治療後に採血し HCV 変異を解析した。HCV の hypervariable region -1 (HVR-1)の変異はクローンの変化を直接観察できる single-strand conformation polymorphism (SSCP)法を用いて解析した。また HCV の NS5A 領域に存在する interferon-sensitivity determining region (ISDR)変異について、直接塩基配列決定法によって ISDR アミノ酸変異を検討した。

(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法・血液を用いた検討項目・治療の効果と副作用、患者に関する個人情報守秘義務、患者の権利保護について十分な説明を行い、患者が熟考するのに十分な時間と理解の後に、書面による同意を得たうえで臨床試験を実施した。

C. 研究結果

HCV 動態の解析

genotype 1b 型・高 HCV RNA 量例 10 例は IFN 単独で、他 10 例は RBV・IFN 併用で治療を行った。HCV 動態(dynamics)第 1 相は両群間に差がみられなかったが、第 2 相は有意に RBV・IFN 併用群の法が高いことが観察された。RBV の作用は後期になってから出現するため、第 2 相を 12 週間まで観察した

が、同様に RBV 併用治療群で IFN 単独治療よりも高いことが認められた。第 2 相で HCVRNA 量の減少が顕著な例で著効 (sustained response) が 2 例みられたが、IFN 単独では著効は 1 例もなかった。

RBV による HCV 変異の検討

RBV 単独投与によって HCVRNA 量は有意に低下し、RBV 単独でも抗ウイルス作用を有すると考えられた。RBV 単独投与後に SSCP 法によって HVR-1 の変異を解析すると、多くの例では明らかなクローンの変化は観察されなかったが、新たなクローンが出現した例が 3 例みられた。このうち 2 例では、その後の RBV・IFN 併用によってすべてのクローンが消失し、最終的に著効となった。しかしながら、新たなクローンが出現した例の 1 例では、出現したクローンが IFN 併用治療後も残存しており、併用療法抵抗ウイルスと考えられた。そこで、ISDR 変異を RBV 治療前後で比較検討した。

RBV 治療前に ISDR が野生株(wild)であった症例で 1 例 RBV 単独投与後に 3ヶ所のアミノ酸変異が観察されこの症例は最終的に著効となった。さらに、治療前 ISDR が 1ヶ所変異の intermediate 型であった例で、4 週間 RBV 単独投与によって 4ヶ所のアミノ酸変異が観察され mutant 型になっていた。この症例はその後の RBV・IFN 併用治療後に著効となった。しかし逆の例もみられた。すなわち、治療前 ISDR が 4ヶ所変異の mutant 型であった例で、RBV 単独投与後アミノ酸 1ヶ所変異の intermediate 型となり、最終的に非著効となった例がみられ、RBV によりクローンの選択が生じたと考えられる例もみられた。

D. 考察

IFN などの抗ウイルス療法の効果を臨床的にモニターし、作用機序を解析していくうえで HCV 動態 (dynamics) を観察することの有用性が報告されている。今回 genotype1b 型・高 HCVRNA 量のウイルス学的に均一な集団を対象として IFN 単独と RBV・IFN 併用の HCV 動態を解析したところ、併用治療群で第 2 相が有意に高いことが証明された。すなわち、RBV が IFN に相加的に作用する別の抗ウイルス機序を有することが認められ、これが感染肝細胞排除に重

要な役割をはたしていると考えられた。

HCV 感染肝細胞排除に対するリバビリンの作用機序に関しては不明な点が多い。最近、Lau らによって HCV に対するリバビリンの作用に関する仮説が提唱されている。4つの仮説があげられ、(1)細胞性免疫賦活、(2)イノシン単リン酸脱水素酵素阻害、(3)RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ阻害、(4)mutagen としての作用である。

われわれはこのうち、RBV の mutagen としての作用に注目した。すなわち RBV は肝細胞に取り込まれた後、リン酸化を受け、リバビリン 3リン酸(RTP)となり、これが pseudobase として HCV に misincorporate されて HCV の変異をきたし、error catastrophe をおこすという仮説が提唱されている。培養細胞を用いた実験系では RBV が RNA ウイルスに変異を起こし mutagen として作用することが証明されている。しかし、臨床的には mutagen としての作用を証明した報告はない。

RBV と IFN の併用療法では error catastrophe に陥ったウイルスは排除されていくと考えられるため、RBV 単独治療を行った例で検討した。その結果、RBV 投与によって一部の症例で HVR-1 の変異が SSCP 法によって観察された。RBV の投与をもっと長期におこなった場合に変異がさらに誘発されるか否かについては今後の検討課題である。しかし、RBV によって変異した HCV が必ずしも IFN 感受性であるとは限らず、その後の IFN 併用においてもクローンが残存している例もみられ、RBV によってもたらされるどのような変異が IFN 効果を高めるのかについて、今後検討していく必要がある。

RBV の作用について、ISDR の変異についても検討した。ISDR はわが国で最も患者が多い genotype1b 型の C 型慢性肝炎において、IFN 単独治療での著効と最も関連する HCV の領域である。したがって ISDR 変異がもたらした場合に、IFN に対する HCV の感受性が変化してくる可能性がある。実際に今回の検討で ISDR アミノ酸変異が生じた例がみられ、ウイルス排除が得られたため、RBV の作用として HCV 変異誘導について今後、検討していくことが重要と考えられた。