

図2 各時期のHCV RNAの陰性化率

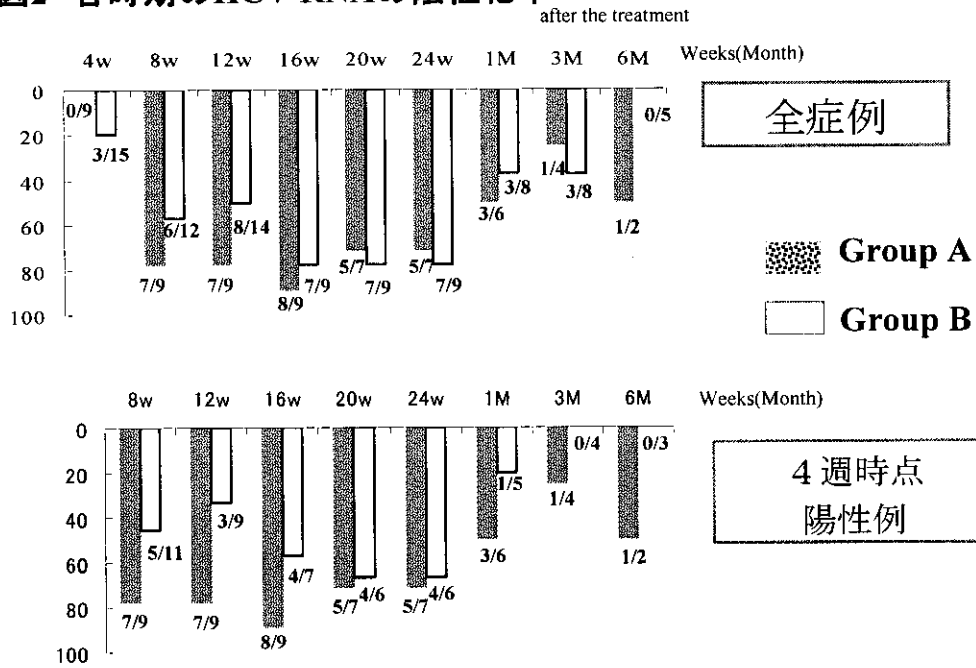
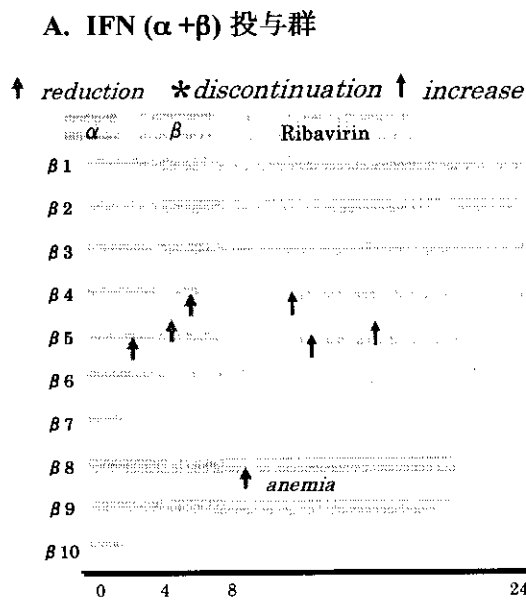
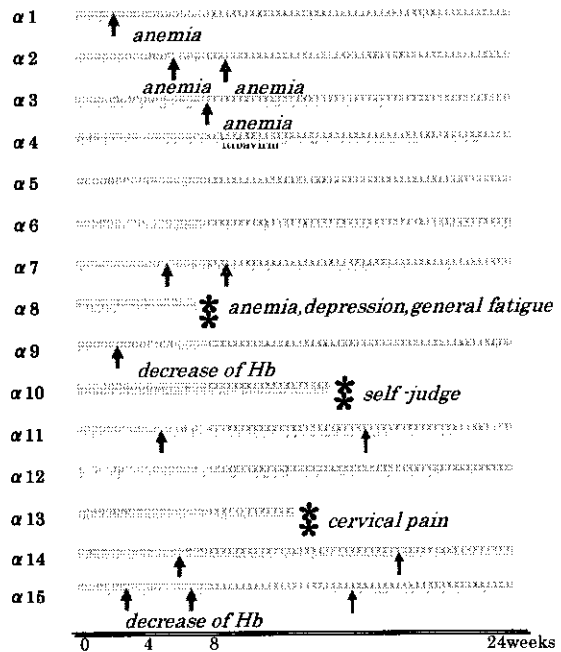


図3 リバビリンの減量と中止



B. IFN- α 投与群



厚生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 IFN α -2b+Ribavirin 併用療法の治療効果と 治療中の HCV RNA の消失との関係についての検討

研究協力者 折戸悦朗 名古屋市立大学大学院臨床分子内科 講師

研究要旨：C型慢性肝炎に対する Interferon (IFN) α -2b+ Ribavirin(Rib)併用療法の治療効果を従来の IFN 単独療法と比べその有効性を検討したところ、HCV genotype 1 型でかつ高ウイルス量の群において、ウイルス学的著効(SVR)率は従来の単独療法では 6.1%であったが、併用療法では 14.6%と有意に上昇した。また治療中の HCV RNA の消失をモニタリングし、その後の治療効果との関連性を検討したところ、SVR 群では、4 週から 8 週までに 86%が HCV RNA は消失しており、12 週までに前例が陰性化した。従って SVR となるためには、少なくとも 12 週までには HCV RNA の陰性化が必要であると思われた。

共同研究者

杉原寛治 名市大大学院臨床分子内科医員
大野智義 名市大大学院臨床分子内科助手

A. 研究目的

従来の Interferon (IFN) 単独療法に難治性とされる HCV genotype 1b かつ高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する IFN α -2b+Ribavirin 併用療法における治療効果、および治療中の HCV RNA の消失とその後の有効性の予測について検討を加えた。

B. 研究方法

(1) IFN +Rib 併用療法と IFN 単独療法の比較

当科および関連施設で C 型慢性肝炎患者に IFN +Rib 併用療法 (24 週) を投与された 78 例と、過去に IFN 単独療法 (24 週) を投与された 162 例を対象とした。全例治療前 HCV RNA は持続陽性で、かつ HBs 抗原は陰性である。投与スケジュールは IFN については、併用療法、単独療法ともに IFN- α -2b を 600MU2 週連投後、600MU を週 3 回 22 週間投与した。併用療法群では、Rib を体重により 1 日 600mg から 800mg を連日 24 週間投与した。治療終了後 24 週間後に HCV RNA とトランスアミナーゼを測定し、ウイルスの消失が確認できた群を SVR 群、治療中はウイルスが消失したが治療後再燃した

群を Rel 群、それ以外を NR 群とした。

(2) 併用療法中の HCV RNA のモニタリング

IFN+Rib 併用群において、治療前、治療中各 4 週ごと、および治療最終日、そして治療終了後 24 週目の血清を用いて HCV RNA を PCR にて定性し、最終治療効果との関連について検討した。

C. 研究結果

(1) IFN 単独療法(24 週間投与)と IFN +Rib 併用療法 (24 週間投与)による有効性の比較

治療を導入された 78 例中、投与が終了し効果判定が終了したものが 55 例で、現在経過観察中が 4 例、脱落例が 19 例であった。過去に IFN を単独投与された 162 例と、今回評価可能であった 55 例を比較すると、HCV genotype 1 型でウイルス量が 100 KIU/ml 以上の群 (1-H 群) においては、SVR 例が併用群では 14.6%、単独群では 6.1%と有意に ($p<0.05$) 有効性が上昇していた。しかし Rel 例では、それぞれ 56.3%、46.4%、NR 例では 29.2%、47.6%と有意差は見られなかった。一方、1-H 以外の群においては、併用群、単独群それぞれ SVR 例は 85.7%、58.8%、Rel 例では 14.3%、32.5%、また NR 例では 0%、15.0%と有意差は見られなかったが、併用群で有効性が向上している傾向が見られた。また、1-H 群においては、700KIU/ml 以上の特にウイ

ルス量の高い群で見ると、併用群、単独群それぞれ 15.4%、0%が SVR であり、700KIU/ml 以下の群では 13.6%、6.5%とやはり有意に併用群が著効率が向上していた。

(2) IFN+Rib 併用療法における治療中の HCV RNA の消失とその後の治療有効性との関連について 1-H 群において、治療中の HCV RNA を PCR にて定性した。その結果、SVR 例においては、4 週目で 86%、8 週目で 86%、12 週目以降で 100%の例が HCV RNA は陰性化していた。また、Rel 例ではそれぞれ 36%、71%、82%、96%が陰性化したが、NR 例では、それぞれ 0%、21%、7%、0%となった。

D. 考察

- (1) IFN +Rib 併用療法 (24 週間投与)の治療効果は、IFN 単独療法と比べ有意に有効性が向上した。それは特にいわゆる難治性といわれる 1-H 群で顕著な差が見られた。しかし 1-H 以外の群では逆に IFN 単独でも 58.8%で SVR が見られ、こういった例では IFN 単独長期投与に持ち込めば、さらに著効率の改善が期待できることをうかがわせる結果であった。
- (2) 併用療法における治療中の HCV RNA の消失と治療効果の関連については、SVR となるためには、大部分の場合おそくとも 12 週までには HCV RNA が陰性化することが必要であると考えられた。しかし、一方で Rel 例でも 12 週までには 82%が陰性化しているため、この時点で SVR となるか Rel となるかを区別することは困難であることが問題であった。24 週間の IFN+Rib 併用療法では治療中はかなりの例が HCV RNA は陰性化しており、さらに長期に投与すれば、Rel となった症例の中から SVR となっていく例が増加していくことが考えら、今後 IFN+Rib の 1 年投与の早期認可が期待される。

E. 結論

従来の IFN 単独療法に比べ、IFN+Rib 併用療法は有意に治療効果を向上させることができた。そしてその効果は、特にいわゆる難治性といわれる 1-H

例において顕著に有効性が改善した。また、治療効果を予測するにあたり、投与中の HCV RNA のモニタリングが非常に有用となることが示された。治療開始して 12 週目で HCV RNA が陰性化していなければ SVR を期待することはかなり困難であることが示された。したがってこの時期に HCV RNA が陰性化していなければ治癒をめざすよりも、炎症を抑えて肝病態の進展を抑制する方向での治療方針に切り替えていかざるを得ないと考えられた。

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

- 1) Tanaka Y, Furuta T, Suzuki S, Orito E, Yeo AE, Hirashima N, Sugauchi F, Ueda R, Mizokami M. Impact of interleukin-1beta genetic polymorphisms on the development of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *J Infect Dis* 187: 1822-1825, 2003.
- 2) Hattori Y, Orito E, Ohno T, Sugauchi F, Suzuki S, Sugiura M, Suzumori K, Hattori K, Ueda R, Mizokami M. Loss of hepatitis C virus RNA after parturition in female patients with chronic HCV infection. *J Med Virol* 71: 205-211, 2003.
- 3) Suzuki S, Tanaka Y, Orito E, Sugauchi F, Hasegawa I, Sakurai M, Fujiwara K, Ohno T, Ueda R, Mizokami M. Transforming growth factor-beta-1 genetic polymorphism in Japanese patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 18(10):1139-1143, 2003.

2. 学会発表

杉原寛治、折戸悦朗、平嶋昇、熊田和徳、徳田泰司、鈴木馨、中村誠、大谷宣人、松本雄幸、溝上雅史
ワークショップ: Interferon alfa 2b+Ribavirin 併用療法

における治療開始4週目のHCV陰性化に関与する因子
について－従来のIFNalpha2b単独療法との比較検討－
第39回日本肝臓学会総会

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型慢性肝炎におけるIFN・リバビリン併用療法の検討 —多施設共同研究—

分担研究者 佐田通夫 久留米大学医学部第二内科 教授

研究要旨：久留米大学医学部第二内科およびその関連施設において、C型慢性肝炎におけるIFN・リバビリン併用療法を行った例の臨床的検討を行った。登録例358例のうち、治療効果が判定できた256例を対象とした。男性142例、女性114例で、平均年齢は54.9±11.5才であった。解析はすべてITT (intent to treat)で行った。著効率は37.5% (96/256)であった。治療完遂率（減量例も含む）は、74.6%であった。とくに60才台では完遂率は68.5% (61/89)であり、70才以上では33.3% (3/9)と低かった。さらに60才台ではIFNあるいはリバビリンの減量も中止も行わなかった完全完遂例は31.4%であった。治療効果に寄与する因子の多変量解析では、HCV serotype, IFN中止の有無、IFN一日投与量が抽出された。

共同研究者
井出達也 久留米大学医学部第二内科 医員

A. 研究目的

C型慢性肝炎に対するIFN・リバビリン併用療法はIFN単独療法に比し、著効率が高いことが知られている。しかし、副作用が強いことに加えて、治療対象年齢が高齢化していることが本治療法の問題点として挙げられている。そこで今回は治療効果に加えさらに副作用による中止減量例についても検討した。

B. 研究方法

久留米大学医学部第二内科（以下、当科）およびその関連施設において、IFN・リバビリン併用療法を行わない登録した358例のうち、治療効果が判定できた256例を対象とした。IFNはIFN α -2b 6~10MU/日2週連日後週3回、計24週間とし、リバビリンは体重60kg以上は、800mg/日、60kg未満は、600mg/日を連日24週間投与した。男性142例、女性114例で、平均年齢は54.9±11.5才であった。解析はすべてITT (intent to treat)で行った。著効とはIFN・リバビリン療法終了後6カ月以上HCV RNAが持続陰性化する例とし、それ以外は無効とした。

C. 研究結果

全体の著効率は37.5% (96/256)であった。Serogroup

別、ウイルス量別に著効率を検討すると serogroup 1, 100KIU/ml 以上では 25.1% (43/171), 100 KIU/ml 未満 50% (3/6), serogroup 2, 100 KIU/ml 以上では 75.0% (42/56), 100 KIU/ml 未満 100% (4/4)であった。治療完遂率（減量例も含む）は、74.6% (191/256)であった。治療完遂例での著効率は 37.7% (72/119)であったが、治療中止例での著効率は 6.0% (4/61)と有意に (P<0.0001) 治療中止例で著効率が低かった。年齢別に中止および減量率を検討すると、20才台では 10% (1/10), 0% (0/10), 30才台では 12.5% (2/16), 18.5% (3/16), 40才台では 33.3% (12/36), 13.9% (5/36), 50才台では 13.3% (10/75), 30.7% (23/75), 60才台では 31.5% (28/89), 37.1% (33/89), 70才台では 66.7% (6/9), 11.1% (1/9), であり、高齢者ほど中止や減量例の割合が多くなりとくに60才以上では完全完遂率は30%前後であった。年齢別に Serotype 1, 2別の著効率を検討すると、20才台ではそれぞれ 66.7% (2/3), 100% (6/6), 30才台では 71.4% (5/7), 88.9% (8/9), 40才台では 34.6% (9/26), 71.4% (5/7), 50才台では 25.3% (12/47), 86.7% (13/15), 60才台では 17.9% (10/56), 57.1% (8/14), 70才台では 9.1% (2/22), 40% (2/5), であり、高年齢になるほど Serotype 1, 2ともに著効率は低下し、特に Serotype 1での低下が顕著であった。中止、減量の理由としては、IFNの中止減量は、全身倦怠感、白血球もしくは血小板減少、食欲低下が主で、リバビリンの中止減量は貧血、食欲低下、全身倦怠感が主であ

った。

次に治療効果に寄与する因子を検討した。検討項目は性(男>女)、年齢、輸血歴、手術歴、飲酒歴、IFN 治療歴、HCV serotype(2>1)、HCV RNA 量、組織学的所見(activity, fibrosis)、治療前 ALT 値、治療前血小板数(>12 万)、IFN 投与期間、IFN 一日投与量、リバビリン一日投与量、治療完遂の有無、IFN 減量の有無、IFN 中止の有無、リバビリン中止の有無とした。単変量解析では、性(P<0.0136)、年齢(P<0.0005)、輸血歴(P<0.0385)、HCV serotype(P<0.0001)、組織学的所見 activity, (P<0.0075)、fibrosis(P<0.0007)、治療前 ALT 値(P<0.0238)、治療前血小板数(P<0.0066)、IFN 投与期間(P<0.0001)、IFN 一日投与量(P<0.0047)、治療完遂の有無(P<0.0001)、IFN 中止の有無(P<0.0001)、リバビリン中止の有無(P<0.0001)と多くの項目で有意差を認めた。そこで多変量解析を行うと、HCV serotype(P<0.0001, O.R.=21.1), IFN 中止の有無(P=0.0074, O.R.=7.30)、IFN 一日投与量(P<0.0289, O.R.=3.98)が抽出された。すなわち HCV serotype は 2 型の症例が、IFN は中止しない例が、IFN 一日投与量は、6MU より 10MU がより高い著効率をもたらすことが判明した。

D. 考察

IFN・リバビリン併用療法の著効率は IFN 単独療法に比し効果は高いが、副作用も強くとくに高齢者では副作用により治療完遂率が減少し、治療効果も低下する。60 才以上では実に約 1/3 の症例でスケジュール通り治療が行えず、さらに高齢者では組織進展例が多いため、著効率が著名に低下した。今後は治療完遂率を高めるため治療薬の減量や他の薬物による予防など様々な工夫が必要と考えられた。

IFN・リバビリン併用療法の治療効果を規定する因子として、serotype と IFN の中止があげられることは、従来の報告と同じである。しかし 10MU を用いた方が著効率が増加するという結果は以前の報告にはなく、我が国で行われた臨床治験 (6MU と 10MU に差はない) と異なる結果であった。相反する結果になった理由は不明であるが、今後

prospective に研究を行い結論を出すべきと考えられる。

E. 結語

IFN・リバビリン併用療法は、高齢者に用いる場合の方法が確立されておらず、いかに治療を継続させるかを検討すべきと思われる。IFN の 1 日投与量さらには 60 日以上長期投与についてもさらに症例を追加し検討する必要がある。

F. 健康危険情報

高齢者の IFN・リバビリン併用療法は副作用発現のため中止・減量することが多い。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ide T, Okamura T, Kumashiro R, Koga Y, Hino T, Hisamochi A, Ogata K, Tanaka K, Kuwahara R, Seki R, Sata M. A pilot study of eicosapentaenoic acid therapy for ribavirin-related anemia in patients with chronic hepatitis C. *Int J Mol Med.* 2003;11:729-32.
- 2) Nagao Y, Hanada S, Shishido S, Ide T, Kumashiro R, Ueno T, Sata M. Incidence of Sjogren's syndrome in Japanese patients with hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol.* 2003;18:258-66.
- 3) Nagao Y, Fukuizumi K, Kumashiro R, Tanaka K, Sata M. The prognosis for life in an HCV hyperendemic area. *Gastroenterology.* 2003 ; 125:628-9.
- 4) Nagao Y, Tanaka K, Kobayashi K, Kumashiro R, Sata M. Analysis of approach to therapy for chronic liver disease in an HCV hyperendemic area of Japan. *Hepatol Res.* 2004;28:30-35.
- 5) Nagao Y, Tanaka K, Kobayashi K, Kumashiro R, Sata M. A cohort study of chronic liver disease in an HCV hyperendemic area of Japan: a prospective analysis for 12 years. *Int J Mol Med.* 2004 ;13: 257-65.

6) Yoshida H, Tateishi R, Arakawa Y, Sata M, Fujiyama S, Nishiguchi S, Ishibashi H, Yamada G, Yokosuka O, Shiratori Y, Omata M. Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C. Gut 2004 in press.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許出願中。(リバビリン/インターフェロン併用療法の副作用軽減剤。特願 2003-44751)

厚生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各種インターフェロンやリバビリン併用療法における HCV 動態（ダイナミクス）やインターフェロン誘導遺伝子発現からみた治療効果

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：C型慢性肝炎に対してリバビリン・インターフェロン(IFN)併用療法や α 型や β 型 IFN の投与法の工夫によって抗ウイルス作用が向上する。リバビリン併用や β 型 IFN を1日2分割投与することによって抗ウイルス作用機序の違いを明らかにすることが今後の効率的治療のために重要である。治療開始後の HCV 動態を解析することは臨床的に作用機序をモニターするのに有用であるし、インターフェロン誘導遺伝子(ISG)発現の検討はより直接的に抗ウイルス作用を検討できる。本研究ではリバビリン併用によって HCV 動態第2相の改善がみられ相乗的抗ウイルス作用が証明され、 β 型 IFN2分割投与で高い ISG 発現の維持が得られた。治療効果のモニターに有用である。

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
黒崎雅之 武蔵野赤十字病院消化器科副部長

A. 研究目的

わが国ではゲノタイプ 1b 型かつ高 HCVRNA 量の難治性 C 型慢性肝炎の患者が最も多く、より効果的な治療法の開発が必要である。治療中の抗ウイルス効果を臨床的にモニターし、作用機序の違いを考慮しながら症例毎の治療法を選択することが重要である。HCV 動態(ダイナミクス)や抹消血リンパ球の抗ウイルス物質(interferon stimulated gene; ISG)誘導は臨床的に用いることができ、作用機序を解析するうえで有用と考えられるため検討を行った。

B. 研究方法

(1) ゲノタイプ 1b 型・高 HCVRNA 量症例に対する治療効果と HCV 動態

当科で 1999 年 4 月より 7 月までにゲノタイプ 1b 型かつ高 HCVRNA 量症例に IFN 単独あるいは IFN + リバビリン併用療法を行った 20 例について、治療開始後の HCVRNA 量を real-time PCR 法を用いて細かく測定し、減少率から HCV 動態(ダイナミクス)を測定し、2 群間で比較検討した。治療前の各種パラメータから治療効果に関連する因子について解

析した。

(2) PEG-IFN α 2b とリバビリン併用による HCV 動態の解析

当科において開発治験に参加したゲノタイプ 1b 型かつ高 HCVRNA 量の C 型慢性肝炎 49 例を無作為に 2 群に割付け、リバビリン併用し PEG-IFN α 2b 1.5 μ g/kg あるいは IFN α 2b 6MU を投与して、HCV 動態(ダイナミクス)を解析した。HCV 動態に関連する因子について検討を加えた。この開発治験は現在進行中であり最終的な治療効果との関連性は今後の課題である。

(3) IFN 治療法の差による ISG 誘導能と抗ウイルス作用の関連

β 型 IFN の 6MU1 日 1 回投与と 3MU2 分割投与の比較を行い、HCV 動態と抗ウイルス作用に関与する ISG 発現を経時的に測定し、IFN の投与法の差異による抗ウイルス物質誘導能の違いを解析した。

(倫理面への配慮)

開発治験においてはその目的や方法、予想される治療効果や副作用について十分説明し、また個人情報の守秘義務や患者の知る権利保護についても説明した。当病院の審査委員会での審議を経たうえで、患者本人に十分な熟慮する時間をとり書面による同意を得た(新 GCP 対応)。またすでに健康保険適用に

なっている治療についても臨床試験の目的や方法について十分説明し、病院内の倫理委員会の承認を経て、患者本人の書面での同意を得ている。

C. 研究結果

(1) ゲノタイプ 1b 型・高 HCVRNA 量症例に対する治療効果と HCV 動態

IFN 単独投与に比較して、リバビリン+IFN 併用の方が HCV 動態第 2 相の改善効果が強かった。第 2 相は主として感染肝細胞の破壊による影響が考えられる。すなわち IFN 単独以外にリバビリンには抗ウイルス作用を増強し感染肝細胞を排除する機序が存在することが考えられた。

リバビリン+IFN 併用治療を行った症例について治療効果と関連する臨床的背景を解析したところ、HCV の NS5A 領域に存在する interferon sensitivity determining region (ISDR) に 40 個のアミノ酸変異数が関連し、IFN 単独で治療効果が見られる 4 箇所以上の変異がみられるタイプでは IFN 単独治療での著効率が 80% 以上であったのに対し、それ以外では著効率は少なかった。しかし 1~3 箇所変異の中間型において IFN 単独よりリバビリン併用の効果増強がみられ、治療法選択に有用と考えられた。

(2) PEG-IFN α 2b とリバビリン併用による HCV 動態の解析

ゲノタイプ 1b 型かつ高 HCVRNA 量症例に対してリバビリン併用 PEG-IFN α 2b と IFN α 2b の治療効果の比較が無作為試験によって行われている。治療初期(12 週)の HCV 動態を解析すると、初期の 2 週間までは IFN α 2b 群の方が HCV 低下が良かったが、その後は PEG-IFN α 2b 群の方が HCVRNA 低下率が高かった。この 3 週目から 4 週目の HCV 減少率は血中リバビリン濃度と有意の相関がみられた。すなわち血中リバビリン濃度の上昇にともなって併用療法の抗ウイルス作用が増強されると考えられた。

(3) IFN 治療法の差による ISG 誘導能と抗ウイルス作用の関連

β 型 IFN 単独治療を行った 140 例について、1 日 6MU1 回投与と 3MU2 分割投与を行い、HCV 動態

(ダイナミクス)を解析した。また経時的に抹消血リンパ球採血を行い、ISG の代表として PKR と MxA の mRNA 発現を解析した。mRNA 発現は real-time PCR 法を用いた。その結果、HCV 動態は第 1 相には差がみられなかったが、第 2 相は 1 日 2 分割投与での改善が有意に顕著であった。また PKR と MxA いずれも HCV 第 2 相にかかわる 24 時間以降でその発現が 1 回投与よりも有意に亢進していた。すなわち HCV 減少が増強されるのに PKR や MxA の mRNA 発現の亢進が関与している可能性が考えられた。

D. 考察

(1) リバビリンは IFN の抗ウイルス作用を増強する作用を有していることが判明した。その亢進は、リバビリンが免疫賦活作用があること、HCV に対して増殖に関与する RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ活性の抑制、核酸アナログとして misincorporate されて HCV の変異を誘発するなどの機序が考えられる。また IFN 単独ではウイルス排除が困難な ISDR 変異が中間型の症例でウイルス排除率が高まる作用が最も顕著にみられた。すなわち IFN 単独治療を選択するかリバビリン併用を選択するかの治療方針決定に役立つ情報となると考えられる。いずれにしても治療開始後の HCV 動態(ダイナミクス)の測定は臨床的に治療効果を評価するのに有益な情報を提供すると考えられた。

(2) PEG-IFN α 2b とリバビリン併用は海外では標準的治療法として定着している。PEG-IFN は週 1 回同じ条件で注射するのに対して、リバビリン併用の場合には、その血中濃度増加に伴って抗ウイルス作用が増強されることが確認された。すなわちリバビリン併用療法においては、初期の IFN 導入のための強力な連日投与は有用ではなく、リバビリンの血中濃度上昇後に抗ウイルス効果を発揮させる治療方針で望んでいく必要があると考えられる。

(3) IFN の抗ウイルス作用は PKR や MxA などの ISG によって発揮されているが、IFN の投与方法

によってその発現レベルが異なることが示された。今後 PEG-IFN など持続性が高い IFN が導入された場合に、その作用機序をさらに解析していくことが重要であろう。

E. 結論

リバビリンを IFN に併用することによって抗ウイルス作用が増強され、感染肝細胞排除効果が高くなることが臨床的に認められた。治療中の HCV 動態の観察は治療効果の評価に有用である。治療前の詳細なウイルス学的解析は、治療法選択に有益な情報となりうる。PEG-IFN とリバビリン併用においては、リバビリンの血中濃度上昇後の抗ウイルス作用を考慮した治療法が重要である。IFN の抗ウイルス作用機序を解析するのに抹消血リンパ球の ISG の測定が有用であり、今後の治療において作用機序を解析していくうえで重要な情報が得られる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Aasahina Y, Izumi N, Uchihara M, Noguchi O, Nishimura Y, Inoue K, Ueda K, Tsuchiya K, Hamano K, Itakura J, Miyake S. Interferon-stimulated gene expression and hepatitis C viral dynamics during different interferon regimens. *J Hepatol* 2003; 39:421-7.
- 2) Asahina Y, Izumi N, Uchihara M, Noguchi O, Nishimura Y, Inoue K, Ueda K, Tsuchiya K, Hamano K, Itakura J, Miyake S. Core promoter/pre-core mutations are associated with lamivudine-induced HbeAg loss in chronic hepatitis B with genotype C. *J Hepatol*

2003; 39:1063-69.

- 3) Asahina Y, Izumi N, Uchihara M, Noguchi O, Tsuchiya K, Hamano K, Kanazawa N, Itakura J, Miyake S, Sakai T. A potent antiviral effect on hepatitis C viral dynamics in serum and peripheral blood mononuclear cells during combination therapy with high-dose daily interferon alfa plus ribavirin and intravenous twice-daily treatment with interferon beta. *Hepatology* 2001; 34:377-384.
- 4) Moriguchi H, Chung RT, Contreras AM, Izumi N, Uemura T, Kobayashi M, Sato C. The interferon sensitivity determining region in the era of combination therapies and the rational use of such therapies for patients with HCV genotype 1b infection. *Gastroenterology* 2003;125:1284-6.
- 5) Watanabe H, Nagayama K, Enomoto N, Itakura J, Tanabe Y, Hamano K, Izumi N, Sato C, Watanabe M. Sequence elements correlating with circulating viral load in genotype 1b hepatitis C virus infection. *Virology*. 2003 ; 311:376-83.
- 6) Izumi N, Asahina Y, Kurosaki M, Uchihara M, Nishimura Y, Inoue K, Ueda K, Tsuchiya K, Hamano K, Itakura J, Miyake S. A comparison of the exponential decay slope between PEG-IFN alfa-2b / ribavirin and IFN-alfa 2b / ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C genotype 1b infection and a high viral load. *Intervirology* in press.

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。

厚生労働省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

インターフェロン・リバビリン併用療法を行った C 型慢性肝炎例における 血中 HCV RNA の動態および HCV 排除効果からみた併用療法期間の推定

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：インターフェロン・リバビリン併用療法を施行した C 型慢性肝炎例の治療期間中の血中 HCV RNA の動態を定量的・定性的に検討した。

この結果、血中 HCV 量が増加するに従って HCV 排除（CR）率は低下した。また、早期に血中 HCV が陰性化するほど CR 率は高率であった。さらに、投与 4 週および 8 週時の血中 HCV RNA 量から CR を得るに必要な治療期間が推定できる可能性を示した。

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

インターフェロン（IFN）単独療法あるいは IFN とリバビリン（Rib）併用療法の CR 効果に關与する投与前主要因子は、HCV 遺伝子型と血中 HCV 量であることはよく知られている。また、投与中の因子としては HCV RNA 陰性化時期であることも知られている。しかし、これら因子も治療期間に依存して変化するものである。このことから、血中 HCV の動態から、逆に、CR を得るための投与期間を想定できる可能性がある。

この解析の第一段階として、IFN・Rib 併用例の治療中の血中 HCV の動態を検討して、期間確定のための作図を行った。

B. 研究方法

表 1 に対象および方法を示した。

対象 76 例中 8 例は投与を中止した。8 例中 5 例は副作用のため、3 例は効果が期待できないための中止であった。残り 68 例中、現時点で効果判定が可能であった症例は 56 例である。

C. 研究成果

1. CR 率

56 例中 28 例（50%）が CR と判定された。

遺伝子型 1b では 31 例中 7 例（22.6%）、2a では 22 例中 18 例（81.8%）、2b では 3 例中 3 例が CR であった。

2. HCV 定量法の検討

血中 HCV を比較的低値から高値まで定量できる測定系としては、Amplicor-monitor 法、TaqManPCR 法、HCV コア抗原法の 3 つが存在する。これらの測定法の関係を明らかにするために、それぞれ 2 つの系の測定値の相関をみた。

Amplicor-monitor 法と TaqManPCR 法の間では 10^5 copies まではある程度の相関があるものの、それ以上の場合には Amplicor-monitor 法では正確に測定できず、低値に表現されていた。TaqManPCR 法と HCV コア抗原法はよく相関した。TaqManPCR 法の 10^5 IU/mL が HCV コア抗原法の 1000 fm/ml におおよそ相当すると考えられた。

3. 治療前 HCV 量と CR 率の関係

上記 3 つの測定系でみた HCV 量と CR 率の関係を表 2 に示した。

Amplicor-monitor 法では、HCV RNA 低値例ではその量をよく反映して予測に用いるが、 500 KIU/mL 以上の例では、識別能が悪く CR 予測は難しいと判断された。一方、TaqManPCR 法では、HCV RNA 量と CR 率との関係が明らかで、HCV RNA の増加に伴って CR 率は低下した。また、 10^7 IU/mL 以上の例では、IFN・Rib 併用 6

ヶ月間投与の治療では CR は望みえないことが明らかとなった。

HCV コア抗原法は TaqManPCR 法とほぼ同様の結果を示したが、この場合も、HCV が非常に高値の例では HCV 量を十分には反映していない可能性がある。

しかし、いずれの方法であっても明確な予測ラインは得られず、治療前値の HCV 量からは十分な予測はできないと考えられる。

4. HCV RNA の陰性化時期と CR 効果

図 1 に示したように、CR 例の 95% 以上は 8 週目までに HCV RNA は定性法である AmpliCor 法で陰性化していたが、非 CR 例では 8 週目までに陰性化していた例は約 20% であった。IFN・Rib 併用 6 ヶ月間では 4 週目までに陰性化する例で有望と考えられる。

因みに、IFN 単独療法の場合には CR 例は 2 週までに陰性化し、一方、非 CR 例の約 30% が 2 週までに陰性化していた。

5. 治療中の HCV RNA 量の推移

図 2 に CR 例と非 CR 例とに分けて、治療中の AmpliCor-monitor 法で測定した HCV RNA 量の推移を示した。

CR 例ではほとんどの例で投与開始後、急激に HCV RNA は減少し、陰性化に至っている。4 週までに陰性化しなかった 2 例でも、4 週から 8 週の間で大幅な減少をみて陰性化している。一方、非 CR 例でみると、4 週以降も減少する群と減少しない群に 2 分されている。減少する群では、初めの IFN の連日投与の 2 週間で大きく低下した後、4 週から 8 週にかけて再び減少し、陰性化に至る例が大部分を占めている。併用療法の 6 ヶ月間投与では遺伝子型 1b 高 RNA 群でみると CR 率は 20% 弱であるが、12 ヶ月間投与にすると 50% に達することが知られており、投与期間延長によって CR となる例は、この減少する群に属する例と考えられる。

ただ、早期に陰性化しても、治療終了後に HCV の再増殖をみる例が一部にみられるが、これらの例は、現在の検出限界以下のまま、陰性化してい

ない例であり、将来検出感度が向上すれば、ごく低値のまま推移していることが証明できる例と考えられる。

6. 血中 HCV RNA の減少率からの投与期間の推定

図 2 のように、血中 HCV RNA の週 3 回投与時の減少速度をもっともよく反映するのは 4 週から 8 週にかけての HCV RNA の変化と考えられることから、血中 HCV RNA 陰性からさらに低いレベルにある生体内（主として肝）の HCV RNA の陰性化レベルを図 3 のように想定した。

投与開始から 4 週が経過した時点で HCV RNA が定量できた例については、8 週時の HCV RNA を定量し（陰性であれば血中 RNA 陰性レベルと想定する）、この 2 点を結ぶ線を延長し、多数例で図 3 の点線の横軸に交わる点の集合から 6 ヶ月時点が決定できれば、それに従って、横軸の期間の単位を決定することができると推察される。その上で何週間投与すれば CR に至るかは、現在進行中の 12 ヶ月間投与例を用いて、同時に作図することによってこの仮説は検証することができる。

D. 考察

1. 日本の C 型慢性肝炎に対する IFN 投与方法の成立過程

HCV が発見される以前、IFN が非 A 非 B 型肝炎に有効に働くことが示された以降¹⁾、日本では多種多様な IFN 投与方法が非 A 非 B 型肝炎に試みられたが、効果判定基準が存在しなかったこと、理論的な背景を欠く、単なる試行錯誤であったこと、などから混乱を極めていた。その中から、藤岡らが、IFN の投与方法によっては、それまで主として IFN 投与中の ALT に対する効果から有効性が示されていたことに対して、投与中の ALT の改善のみならず投与中止後に至るまでその効果が持続することを示した²⁾。

この成績に大きく影響された IFN の非 A 非 B 型肝炎に対する効果判定基準が厚生省難治性の肝炎調査研究班で作成された³⁾。この判定基準の中心をなす IFN 投与後の ALT 正常化の持続とい

う目標が日本の優れた IFN 投与方法を生み出す原動力として働いた。この判定基準の先見性はその後、HCV が発見され、HCV RNA 検出が可能になって、投与後の ALT 持続正常化例の 80%以上が HCV RNA 持続陰性化例であったことによって証明された。

一方では、IFN の抗ウイルス効果の背景を分析する目的で、B 型肝炎ウイルス (HBV) をモデルとして、IFN 投与時の HBV の動態解析、IFN により誘導される抗ウイルス活性の指標である 2'・5' oligoadenylate synthetase 活性の挙動などから、IFN のより有効な投与方法が検討された³⁾。これらの基本的な考え方に基づいた治験が各製薬会社で行われたが、その中でもっとも理論的に組み立てられた治験によって^{4) 5)}、この考え方の正しさが立証され、その後、日本の標準的投与方法 (初期 2 週連日投与、以後、週 3 回投与) となった。

1989 年に HCV が発見され⁶⁾、1990 年には HCV RNA の検出が可能となり⁷⁾、上記、治験成績も ALT の持続正常化のみならず、HCV RNA 持続陰性化も推察通りであることが裏付けられた。⁵⁾

2. IFN 投与中の血中 HCV RNA 動態による IFN 効果の予測

C 型慢性肝炎に対する IFN の効果に関与する因子としては、投与前の血中 HCV RNA 量、HCV 遺伝子型が主要なものとなっている。しかし、これらによる CR 予測能はそれほど高いものではない。

上述の日本における標準的な IFN 投与方法の妥当性を証明するために、HCV RNA を PCR 法で鋭敏に検出できるようになって以降⁸⁾、限界希釈法を用いて RNA を半定量することによる血中 HCV RNA 動態を検討し、ほぼ予測通りの結果を得ていた⁹⁾。その検討の過程で、b DNA probe 法が導入され、その治験の中で、IFN 投与翌日に血中 HCV RNA が検出限界以下であることが CR の条件であることを見出した¹⁰⁾。さらに、b DNA 法より検出感度が上昇した Amplicor 法の場合には 1 週間以内に本法で陰性化することが CR の条

件であることが明らかになった¹¹⁾。研究室の PCR 法の場合にはさらに検出感度が向上するため 2 週終了時までの陰性化が CR の必要条件であった。

これらの経験をもとに昨年を引き続き、IFN と Rib 併用時の血中 HCV RNA 陰性化時点と CR との関係を検討し、併用期間を 6 ヶ月間とした場合には、例外的なものは別として、12 週終了時までの陰性化が必要条件であり、8 週終了時までが CR と非 CR の分岐点であるとの結果を得た。Rib を併用することによって、IFN による直接的な作用である HCV 増殖阻止に加えて、IFN の間接的な作用である免疫が関与する CR が促進されたものと推察される (いわゆる第 2・第 3 相の促進)。

また、経時的にみた血中 HCV RNA 量の推移から、1 週間内の HCV RNA の急激な減少に加えて、第 4 週から第 8 週の間での HCV RNA の変化が重要であることが明らかとなった。この間の変化は、併用療法 6 ヶ月間に比して、12 ヶ月間の場合に CR 率が 2 倍以上に上昇することに関係していると推察された。

この結論をもとに図 3 に示したような仮説を今回提唱した。

なお、未解決として残されている 2 つの問題がある。第一は、投与開始 8 週を過ぎても血中 HCV RNA が減少傾向を示さない症例で、併用療法をどれだけの期間行うかである。IFN 単独あるいは併用療法後に 10~20% の非 CR 例で ALT が正常化~ほぼ正常化する。この ALT に対する効果をもっとも高い割合にするには全体の治療期間がどれくらいにすればよいのか、明らかにされていない。長期投与ほど ALT 正常化率も高くなることが予測されるが、その最短期間がどれくらいかという成績を得ることがもっとも望まれる。

第二は、4 週間以内に血中 HCV RNA が陰性化したにもかかわらず、CR とならない例である。血中 HCV RNA の検出感度が向上すれば血中 HCV RNA が低値陽性で持続していることが証明できると思われるが、果たしてそうであるのか、血中 RNA 陰性で体内に非常に長期に亘って HCV が残存しているのか、不明の点である。

3. 文献

- 1) Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, et al: Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. *N. Eng. J. Med.* 315: 1575 - 1578, 1986
- 2) 藤岡悟, 日野邦彦, 福原彰典 他: 非 A 非 B 型慢性肝炎に対する Humann Innterferon- β 用量別比較試験. *肝臓* 30: 516-521, 1989
- 3) 飯野四郎: 平成元年度治療分科会報告. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班平成元年研究報告: 163-164, 1990
- 4) 飯野四郎: インターフェロンの臨床薬理学的検討. 厚生省特定疾患難治性の肝炎調査研究班昭和 63 年研究報告: 159-168, 1989
- 5) Iino S, Hino K, Kuroki T, et al: Treatment of chronic hepatitis C with high-dose interferon α -2b. *Dig Dis Sci* 38: 612-618, 1993
- 6) Iino S, High dose interferon treatment in chronic hepatitis C. *Gut* 1993(suppl): S114-S118, 1993
- 7) Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, et al: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Sci* 244: 359-362, 1989
- 8) Weiner AJ, Kuo G, Bradley DW, et al: Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 335: 1-3, 1990
- 9) Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, et al: Detection of hepatitis C virus RNA by a two stage polymerase chain reaction with two pairs of primers deduced from the 5' - noncoding region. *Jpn J Exp Med* 60: 215-222, 1990
- 10) Iino S, Hino K, Yasuda K: Current state of interferon therapy for chronic hepatitis C. *Intervirol* 37: 87-100, 1994
- 11) 飯野四郎: 新しい HCV マーカの臨床的有用性. 厚生省非 A 非 B 型肝炎研究班平成 5 年度研究報告書: 75-79, 1994

- 12) 飯野四郎: IFN 投与初期の HCV RNA の変化と長期効果の関係について. 厚生省非 A 非 B 型肝炎研究班平成 6 年度研究報告書: 73-75, 1996

E. 結論

IFN・Rib 併用療法時の血中 HCV RNA の定性的・定量的な検討を行い、血中 HCV RNA の陰性化時点および第 4～第 8 週の間 HCV RNA の減少速度から、CR を得るに必要な治療期間を推定できる可能性があることを示した。今後、その検証が必要である。

F. 健康危険情報

HCV による肝炎の治療の問題ではないが、現在、性感染による遺伝子型 A の B 型急性肝炎が、東京から始まり、この 10 年足らずに全国へ拡がりつつある。遺伝子型 A の HBV は成人で感染しても、外国で知られているように約 10% がキャリア化するとされており、日本人の場合も同様であるという結果が得られつつある。成人の B 型急性肝炎からのキャリア化例数は B 型肝炎母子感染防止失敗例数を上回る状態になりつつあると危惧され、B 型肝炎が性感染であるとの認識を広く日本国民に啓発するとともに、HB ワクチンの接種対象拡大など緊急の対策が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Moriya K, Shintani Y, Fujie H, et al: Serum lipid profile of patients with genotype 1b hepatitis C viral infection in Japan. *Hepatol Res* 25: 371-376, 2003
- 2) Okuse C, Yotsuyanagi H, Okazaki T, et al: Detection, using a novel method, of a high prevalence of cryoglobulinemia in persistent hepatitis C virus infection. *Hepatol Res* 27: 18-22, 2003

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1. 対象

- ・2001年12月から2003年10月の間に、IFN+Ribavirin治療を開始した76例
- ・平均年齢…55±10歳(22~72歳)
- ・男女比…37:39
- ・過去にIFN治療歴有り…27例(36%)
- ・HCV Genotype…1b:2a:2b:その他=43:27:5:1
- ・投与前HCV RNA量…491±266 KIU/ml(27~850<)

方法

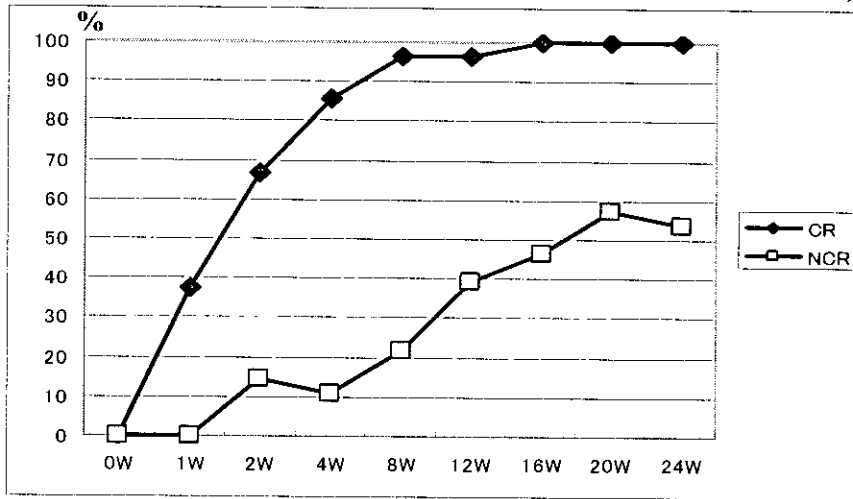
- ・HCV RNA定量および定性測定(HCVアンプリコアモニターV.2.0、TaqMan HCV、アンプリコア定性)
- ・HCVコア抗原量測定(ルミスポットHCV抗原)
- ・血清リパビリン濃度

表2. 投与前HCV量別CR率

<i>Amplicor-M</i> (Ver.2.0) (KIU/ml)	CR率	<i>TaqMan HCV</i> (IU/ml)	CR率	HCVコア抗原量 (fmol/L)	CR率
~199	10/11 (90.9%)	~1.0E+04	3/3 (100%)	~999	5/5 (100%)
200~499	11/18 (61.1%)	1.0E+04~1.0E+05	7/8 (87.5%)	1000~4999	11/14 (78.6%)
500~849	3/13 (23.1%)	1.0E+05~1.0E+06	7/13 (53.8%)	5000~9999	4/12 (33.3%)
850~	4/14 (28.6%)	1.0E+06~1.0E+07	3/14 (21.4%)	10000~14999	3/11 (27.3%)
		1.0E+07~	0/2(0%)	15000~	2/10 (20%)
Total	28/56 (50.0%)	Total	20/40 (50.0%)	Total	25/52 (48.1%)

図1. CR・NCR別HCV RNAの累積陰性化率

n=56 (CR例28例、NCR例28例)



HCV RNA消失例のCR予測確率

1W	2W	4W	8W	12W	16W	20W	24W	(%)
9/9(100)	16/20(80.0)	24/27(88.9)	27/33(81.8)	27/38(71.1)	28/41(68.3)	28/44(63.6)	28/43(65.1)	

図2. CR・NCR例の投与中のHCV RNA定量値の推移

CR例(n=24)

NCR例(n=27)

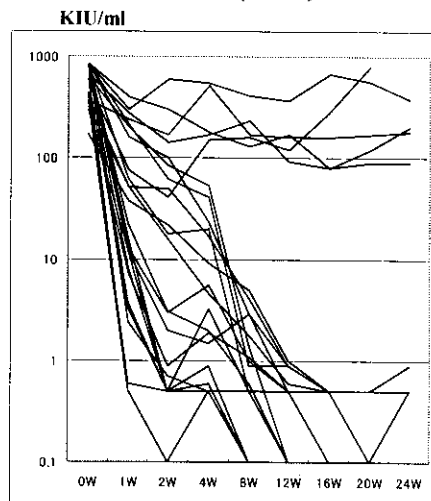
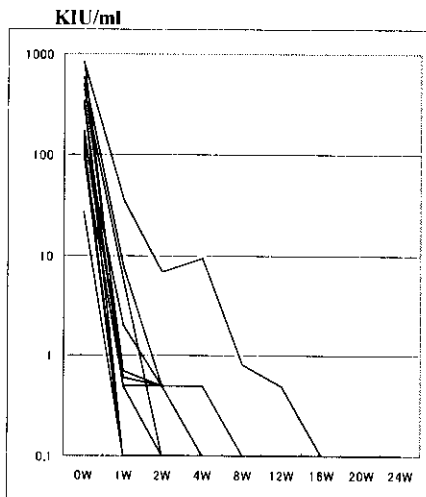
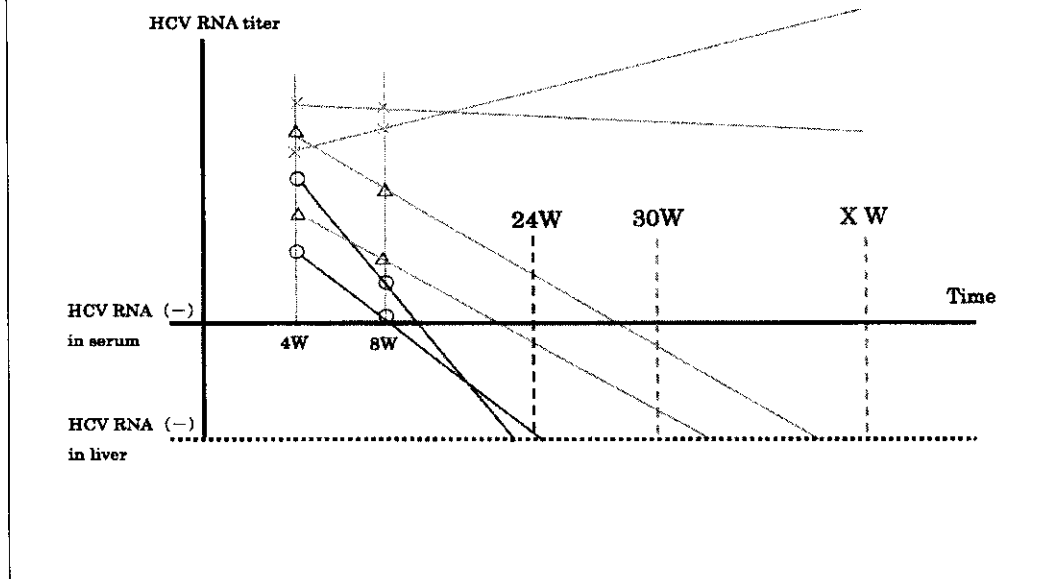


Fig. 3. Supposed Schema of the Profile of HCV RNA Levels (4W to 8W) and the Period of Administration



厚生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 単独療法における HCV 遺伝子変異パターンの検討

研究協力者 折戸悦朗 名古屋市立大学 臨床分子内科学講座 講師

研究要旨：C 型慢性肝炎に対する Ribavirin 単独療法が施行された症例のシリーズ検体を用いて、*in vivo* における Ribavirin の RNA mutagen としての作用及びその遺伝子変異パターンを検討した。Ribavirin 単独投与により、*in vivo* においてヌクレオチドアナログとして作用するだけでなく、RNA Mutagen としても作用する可能性が示唆された。こうしたウイルス遺伝子変異は、IFN + Ribavirin 併用療法における治療効果に影響を及ぼす可能性が考えられ、今後の検討課題である。

共同研究者

溝上雅史 名市大 臨床分子情報医学 教授
大野智義 名市大 臨床分子内科学 講師
田中靖人 名市大 臨床分子情報医学 講師

A. 研究目的

難治性 C 型慢性肝炎に対する Interferon(IFN) + Ribavirin 併用療法が導入され、その治療効果が期待されている。しかし、Ribavirin 単独での作用機序に関しては、免疫学的機序や RNA mutagen、いわゆる error catastrophe としての機序が提唱されているが、未だ不明の点も多い。今回我々は C 型慢性肝炎に対する Ribavirin 単独療法が施行された症例のシリーズ検体を用いて、*in vivo* における Ribavirin の RNA mutagen としての作用、及びその遺伝子変異パターンを検討した。

B. 研究方法

対象は、C 型慢性肝炎に対する Ribavirin 単独療法が施行された 7 例である。HCV genotype 1a 5 例、1b 1 例、2b 1 例で投与期間は 36 週であった。投与前及び投与終了直前の検体を用いて HCV NS5B 領域の遺伝子増幅後、クローニングにより 22-30 クローンの塩基配列をそれぞれ決定し比較検討を行った。分子進化学的手法を用いて各個体毎のクローンの Pair-wise 遺伝子距離を all position、synonymous、non-synonymous でそれぞれ推定し、その平均値を比較した。さらに、Ribavirin 投与による特異的な遺伝子変異パターンを maximum-likelihood method

を用いて決定した先祖配列から推測した。

C. 研究結果

Ribavirin 単独療法の治療効果は、投与終了時で ALT 正常化例 4/7(57%)、終了後 6 ヶ月では 2/7(29%) であったが、HCV RNA の陰性化例は認めなかった。投与前後での平均の遺伝子距離を比較すると、all position、synonymous、non-synonymous とともに 6/7(86%)で Ribavirin 投与により平均の遺伝子距離は有意に増加し、RNA mutagen として作用している可能性が示唆された。次に、Ribavirin による特異的な遺伝子変異パターンを検討するために、Ribavirin 投与前後で直接比較するのではなく、それぞれが共通な先祖配列から進化していると考えられたので、最初にその配列を分子進化学的に推定した。多重置換を考慮の上でそれぞれの先祖配列から遺伝子変異パターンを推測すると、Ribavirin 投与後では C から T、G から A への transition 変異が有意に増加していた。

D. 考察

- (1) Ribavirin 単独投与により特異的な遺伝子変異パターンが見られ、*in vivo* においてもヌクレオチドアナログとして作用している可能性が示唆された。
- (2) 今回の検討で、Ribavirin は *in vivo* においても RNA Mutagen としても作用する可能性が示唆された。

(3) 現在 NS5A-5B 領域の全塩基配列を決定し、Ribavirin 耐性遺伝子を検索中である。今回 Ribavirin 単独投与により得られた特異的な遺伝子変異に関して、さらに実際の IFN + Ribavirin 併用療法が施行された症例で詳細に検討し、耐性遺伝子の有無に関して解析を進めている。

E. 結論

今回 Ribavirin 単独投与により、*in vivo*においてヌクレオチドアナログとして作用するだけでなく、RNA Mutagen としても作用する可能性が示唆された。こうしたウイルス遺伝子変異は、IFN + Ribavirin 併用療法における治療効果に影響を及ぼす可能性が考えられ、今後の検討課題である。

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) Tanaka Y, Kato T, Ohno T, Orito E, Mizokami M. HCV mutation pattern during ribavirin monotherapy for patients infected with hepatitis C virus. (submitted for publication).
- 2) Tanaka Y, Hanada K, Mizokami M, Yeo AET, Shih JWK, Gojobori T, Alter H. A comparison of the molecular clock of hepatitis C virus in the United States and Japan predicts that hepatocellular carcinoma incidence in the United States will increase over the next two decades. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 15584-15589, 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

赤血球膜中イコサペンタ酸（EPA）の減少とリバビリン誘導性貧血

分担研究者 沖田 極 山口大学医学部消化器病態内科学 教授

研究要旨：C型慢性肝炎に対する IFN・リバビリン併用療法時の貧血の発現機序は明らかではない。一方、C型慢性肝炎の病態には酸化ストレスが重要な役割を果たすことが報告されている。そこで IFN・リバビリン併用療法時の赤血球膜内リン脂質の脂肪酸分析を経時的に行い、貧血との関係を検討した。又ビタミン E と C が赤血球膜内リン脂質の過酸化にあたる影響について検討した。26 種類の脂肪酸解析の結果、多価不飽和脂肪酸であるイコサペンタ酸（EPA）が治療開始後 8 週目、終了時に有意に低下したが、ビタミン E、C はこれを抑制した。ビタミン投与による貧血の抑制効果は明らかでなかったが、治療開始後 8 週目の EPA 濃度とヘモグロビンの低下には有意な逆相関を認めた。以上より、リバビリン誘導性貧血には赤血球膜内リン脂質の EPA の低下が関与していると考えられた。

共同研究者

日野啓輔 山口大学医学部保健学科 助教授
沖田美佐子 岡山県立大学栄養学科 教授

A. 研究目的

C型慢性肝炎に対する IFN・リバビリン併用療法の有効性を規定する因子のひとつに治療を完遂することが挙げられるが、リバビリン誘導性貧血の発現は、とくに高齢者において治療完遂の大きな障害となっている。一方C型慢性肝炎の病態に酸化ストレスが重要な役割を果たすことが報告されている。リバビリンは赤血球内に取り込まれるとリン酸化体となるが、これが殆ど脱リン酸化されないためリン酸の供給源である ATP が減少し、またリバビリンーリン酸は GTP 合成経路のイノシトールーリン酸を競争阻害するため GTP も減少すると考えられている。

そこでリバビリン併用時には赤血球に対する酸化ストレスが増大し、赤血球膜内リン脂質の過酸化が起こり、赤血球膜の流動性が低下することにより溶血性貧血が惹起されるのではないかと考え、IFN・リバビリン併用療法時の赤血球膜内リン脂質の脂肪酸分析を経時的に行い、貧血との関係を検討した。さらに抗酸化剤であるビタミン E と C がリバビリン併用時の赤血球膜の酸化に及ぼす影響と貧血を抑制しうるか否かについて検討した。

B. 研究方法

1) 患者割付

IFN・リバビリン併用療法を必要とするC型慢性肝炎患者を任意に IFN・リバビリン併用治療群（コントロール群）と併用療法に加えてビタミン投与をおこなう群（ビタミン群）に振り分けた。なお、本研究は山口大学医学部倫理委員会の承諾を得た後、臨床試験の目的・方法・治療の副作用等について十分な説明を行い、各患者より同意を得て行われた。

2) 治療方法

コントロール群は IFN- α 2b 600 万単位を 2 週間連日投与後、24 週間は週 3 回投与を行った。リバビリンは 600 または 800 mg/day（体重 60kg で区別）を 26 週間経口投与した。ビタミン群はこれに加えてビタミン E 500 mg/day とビタミン C 750 mg/day の経口投与を行った。

3) 解析項目

治療前、2 週目、4 週目、8 週目 26 週目に採血を行い、以下の項目を測定した。①赤血球膜リン脂質内の 26 種類の脂肪酸（ガスクロマトグラフィー）、②赤血球内 α トコフェノール濃度（液体クロマトグラフィー）、③血清中ビタミン C 濃度（液体クロマトグラフィー）、④血清中リバビリン濃度（液体クロマトグラフィー）