

- of interferon-alpha therapy is associated with more favorable long-term response in patients with chronic hepatitis C. *J. Med. Virol.* 46:109-115.
30. Poyard, F., P. Bedossa, P. Opolon, and The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. 1997. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 349:825-232.
 31. Rebucci, C., A. Cerino, A. Cividini, L. Timo, M. Furlone, and M. U. Mondelli. 2003. Monitoring response to antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C virus infection by a core-antigen assay. *J. Clin. Microbiol.* 41: 3881-3884.
 32. Saito, H., H. Ebhuma, I. Satoh, S. Miyaguchi, S. Tada, N. Iwabuchi, N. Kumagai, K. Tsuchimoto, T. Morizane, and H. Ishii. 2000. Immunological and virological predictors of outcome during interferon-alpha therapy of chronic hepatitis C. *J. Viral Hepat.* 7:64-74.
 33. Takahashi, K., H. Okamoto, S. Kishimoto, E. Munekata, K. Tachibana, Y. Akahane, H. Yoshizawa, and S. Mishiro. 1992. Demonstration of a hepatitis C virus-specific antigen predicted from the putative core gene in the circulation of infected hosts. *J. Gen. Virol.* 73:667-672.
 34. Tanaka, E., K. Kiyosawa, A. Matsumoto, T. Kashiwakuma, A. Hasegawa, H. Mori, O. Yanagihara, and Y. Ohta. 1996. Serum levels of hepatitis C virus core protein in patients with chronic hepatitis C treated with interferon alfa. *Hepatology* 23:1330-1333.
 35. Tanaka, T., J. Y. Lau, M. Mizokami, E. Orito, E. Tanaka, K. Kiyosawa, K. Yasui, Y. Ohta, A. Hasegawa, S. Tanaka, et al. 1995. Simple fluorescent enzyme immunoassay for detection and quantification of hepatitis C viremia. *J. Hepatol.* 23:742-745.
 36. Yoshida, H., Y. Arakawa, M. Sata, S. Nishiguchi, M. Yano, S. Fujiyama, G. Yamada, O. Yokosuka, Y. Shiratori, and M. Omata. 2002. Interferon therapy prolonged life expectancy among chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology* 123:483-491.
 37. Zaaljer, H. L., H. T. Cuypers, H. W. Roesink, I. N. Winkel, G. Gerken, and P. N. Lelle. 1993. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet* 341:722-724.
 38. Zanetti, A. R., L. Romano, M. Brunetto, M. Colombo, G. Bellati, and C. Tackney. 2003. Total HCV core antigen assay: a new marker of hepatitis C viremia for monitoring the progress of therapy. *J. Med. Virol.* 70:27-30.
 39. Zeuzem, S., J. H. Lee, A. Franke, B. Ruster, O. Prammer, G. Herrmann, and W. K. Roth. 1998. Quantification of the initial decline of serum hepatitis C virus RNA and response to interferon alfa. *Hepatology* 27:1149-1156.
 40. Zeuzem, S., J. M. Schmidt, J. H. Lee, B. Ruster, and W. K. Roth. 1996. Effect of interferon alfa on the dynamics of hepatitis C virus turnover in vivo. *Hepatology* 23:366-371.

最近の NASH に対する臨床試験

Recent clinical trials for NASH

近年、非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis: NASH) に関する文献が多く見受けられる。国民の 1/3 が肥満とされるアメリカでは食餌性の脂肪性肝疾患 (fatty liver diseases: FLD) の頻度が高く、脂肪肝をもとにしないで線維化が進み肝硬変に至る可能性のある NASH には多大な関心が寄せられているのも納得できる。わが国でも飽食傾向となり健診などで脂肪肝と診断される成人の数が多くなっているのは事実である。アメリカに比べれば肥満の程度が高度でないにもかかわらず、わが国で NASH の存在が認められるのは、この疾患の背景・原因に糖尿病、高脂血症、薬剤、飢餓などが関与しているためと思われる。

動物モデルにより NASH の病態、発症メカニズムに迫る知見が蓄積しつつある。インスリン抵抗性、酸化ストレス、tumor necrosis factor (TNF)- α 、レプチンなどの関与が報告されているが、これらの因子は同じ NASH という病像を形成する際にいろいろな組合せで関与するものと考えられ、肥満のみの NASH と糖尿病にみられる NASH、特定の薬物に随伴した NASH などで発症メカニズムはそれぞれ異なるものと推定される。動物モデルは特定の発症メカニズムの解明にたいへん有用であるが、ヒトの NASH のすべてを説明しうるものでないと考えべきである。たとえば、ヒトでは PPAR- α の活性化は NASH の治療法としてひとつの候補であるが、齧歯類では PPAR- α の活性化でペロオキシゾーム β 酸化酵素が誘導され、最終的に肝癌の発生がみられる。

NASH の治療に関する臨床報告

は Agrawal らが 2002 年に clinical reviews¹⁾ としてまとめているが、それまで無作為対照試験は gemfibrozil に関して行われたのみであった。Agrawal ら¹⁾ の報告以降 NASH に対する比較的エビデンスのある治療報告には、probuco, ビタミン E と C, rosiglitazone がある。Probuco は本来高コレステロール血症の治療薬であるが、17 例の NASH に対して probuco 500 mg/day 6 カ月間の投与でトランスアミナーゼ値などの生化学検査値が改善したというが²⁾、検査値のみの改善では有効性の判定は不明である。45 例の NASH に対して ビタミン C (1,000 mg/day) と E (1,000 IU/day) のプラセボ対照試験 (6 カ月) を行った Stephen らの報告³⁾ では ALT 値や炎症の程度に改善はみられなかったが、線維化の程度が改善したという。このスタディでは患者に体重減少のカウンセリングを行い 30 fat g/day のダイエットを併用している。これと同様にライフスタイルの改善と ビタミン E 800 IU/day の 6 週間投与⁴⁾ では運動と low fat diet により ALT, コレステロール値, ヒアルロン酸値が改善したが、短期投与なので、ビタミン E の加算効果はなかったとしている。

最近今まで NASH の治療に有効とされていたウルソデオキシコール酸 (UDCA) の効果に関して 100 例以上の NASH を対象にした無作為化二重盲検プラセボ試験⁵⁾ の成績が報告された。この報告では 127 例で UDCA 13~15 mg/kg/day あるいはプラセボを 2 年間投与し、そのうち 107 例に関して投与前後で肝生検がなされ、組織の変化が検討されている。その結果、AST, ALT 値を含む血清生化学データ、肝組織の脂肪化、

炎症、線維化、風船化、マロリ一体などすべての項目において UDCA 群とプラセボ群で有意差が認められなかった。著者らは UDCA 投与は NASH に効果がないと結論しているが、同じ号の Editorial⁶⁾ にはこの negative trial の報告は正しいであろうが、統計処理の criteria や例数、肝生検の sampling error, UDCA の投与量や期間などが適正かどうかもう一度検討しなければならないと UDCA に好意的に論評されている。無作為化二重盲検プラセボ試験で症例数も 100 例以上で研究をしてもこのような批評がなされるとは報告したほうもたまったものではないと思われる。

一方、NIH 主導により行われたと思われるパイロット研究⁷⁾ では 18 例の非糖尿病 NASH に対してインスリン抵抗性改善薬である pioglitazone 30 mg/day を 1 年間投与している。対照がない研究であるが、72% でトランスアミナーゼ値が正常化し、肝生検所見も脂肪化、線維化を含め有意に改善し、MRI 上の肝脂肪の程度も改善している。体重が平均で 4% 増加し、体脂肪率が増えたこと以外はいへん効果があるとの結論であり、さらに検討を積むべく揚々とした報告がされている。また、48 週間の rosiglitazone (4 mg \times 2/day) 投与 22 例の検討⁸⁾ では生化学データや中心静脈周囲の線維化が改善したというが、67% に体重増加がみられ中央値 7.3% の増加であった。このように肥満を対照に治療したにもかかわらず治療によりさらに体重増加がみられるのはこの系統の薬物の問題点である。

このように NASH の現実的な治療は運動とダイエット以外今のところ満足の得られる治療のエビデンスはないようで、種々の薬物に関する今後の臨床研究が期待される。診断の困難性⁹⁾ は別にして今後治療により肝硬変への進展や

発癌抑制，生命予後の改善が得られるか検討されていくことになる。

- 1) Agrawal, S. and Bonkovsky, H. L. : *J. Clin. Gastroenterol.*, **35** : 253-261, 2002.
- 2) Merat, S. et al. : *J. Clin. Gastroenterol.*, **36** : 266-268, 2003.
- 3) Stephen, A. et al. : *Am. J. Gastroenterol.*, **98** : 2485-2490, 2003.
- 4) Kugelmas, M. et al. : *Hepatology*, **38** : 413-419, 2003.
- 5) Lindor, K. D. et al. : *Hepatology*, **39** : 770-778, 2004.
- 6) Clark, J. M. and Brancati, F. L. : *Hepatology*, **39** : 602-603, 2004.
- 7) Promrat, K. et al. : *Hepatology*, **39** : 188-196, 2004.
- 8) Neuschwander-Tetri, B. A. et al. : *Hepatology*, **38** : 1008-1017, 2003.
- 9) 橋本悦子 : 医学のあゆみ, **206** : 335-339, 2003.

齋藤英胤 / Hidetsugu SAITO
 慶應義塾大学医学部内科学教室

使用する疾患では標的異常細胞の検出に非常により成績を上げている。

ペグインターフェロン α -2a

慶應義塾大学消化器内科

北村 公美 Kumi KITAMURA 多田慎一郎 Shinichiro TADA

齋藤 英胤 Hidetsugu SAITO 石井 裕正 Hiromasa ISHII

はじめに

厚生労働省「国民衛生の動向」によると我が国の悪性新生物のうち肝がんによる死亡率(2001年)¹⁾は、男性第3位、女性第6位と上位を占め、その対策が重要である。肝がんの成因の約80%はC型肝炎ウイルス(HCV)感染とされている。HCVの感染後約70%は慢性肝炎となり、自然経過として肝硬変、肝がんへ移行する。C型慢性肝炎の抗ウイルス療法として1992年4月よりインターフェロン(IFN)療法が保険収載され、治療が成功しHCVの持続陰性化が得られると肝線維化が改善し、発がん率が低下することが明らかにされた。現在ではIFN治療は肝硬変・肝がんへの進展阻止を目的として行われている。

しかし従来のIFN製剤は消失半減期($t_{1/2}$)が短く、注射後およそ24時間で血中から排泄されてしまうため、C型慢性肝炎に対する治療として通常週3回6ヵ月間の投与が保険適応とされ行われている。そのため、患者は週3回以上の通院が必要で、インフルエンザ様症状等の副作用も少なくなく、大きな負担となっている。また、日本人C型慢性肝炎患者の約70%を占めるgenotype 1bに対するウイルス陰性化率は10~20%と効果が低く、より効果の高い新薬の開発が期待されていた。

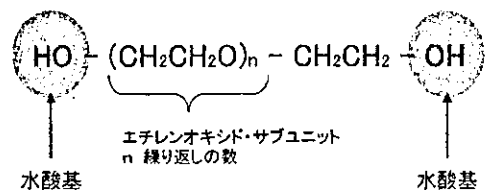
今回、週1回の投与にて有効血中濃度が維持できるため高い抗ウイルス効果が期待できるIFN製剤がロシテググループにより開発され、2003年10月、「ペガシス皮下注90 μ g, 180 μ g」の販売名で承認され、12月からC型慢性肝炎の治療薬として保険適応になった。

薬理学的特徴

1. ペグ化の特徴

ペガシス(PEG-IFN α -2a)は、従来の遺伝子組換えインターフェロン製剤である α -2a(rIFN α -2a)をPEG化、すなわちポリエチレングリコール(PEG)を結合させることで血中消失半減期($t_{1/2}$)を延長させることが可能となった製剤である。週1回の投与で有効血中濃度が

1週間維持できるようになり、投与頻度の減少と抗ウイルス効果の増強が可能となった。図1に示すように、エチレンオキシド・サブユニットの繰り返し単位から構成されるPEG分子の両末端には水酸基(-OH)が存在し、この水酸基を活性化させることによりタンパクにPEG鎖を結合させることが可能となり、これをPEG化という。しかし、同じPEG鎖に2つのタンパク分子が結合する可能性があるため、一方の水酸基を非反応性のメトキシ基(-OCH₃)に化学的変換しモノメトキシPEG(mPEG)分子を生成し、IFNのPEG化に用いている。水性溶媒中でPEGを高度に水和するとPEG鎖の可動性が向上するためタンパクのまわりを極めて速く動きまわることが可能となり、血液中のタンパク分解酵素の接近を妨げる「排除体積」という空間が形成される(図2b)。この排除体積の形成でタンパク分解酵素による分解が減少し、PEG-IFN α -2aの特徴である $t_{1/2}$ の延長に大きな役割を果たしている。また、PEGは非免疫原性という特徴をもつため免疫防御システムから検知されにくくなり、抗原性も低下すると考えられている²⁻⁴⁾。開発当初、分子量5kDaの直鎖型PEGが結合されたが(図2a)、ウレタン結合という不安定な結合のため加水分解が起こり血中でPEG鎖が分離して、従来型IFNとその血中濃度に大きな差は得られなかった。また結合するPEG分子が大き過ぎる(図2c)と排除体積内にIFN分子が埋没してIFN自身が



- サブユニット数が多い=分子量が大きい
- 大きさの異なるPEGは、性質も異なる
分子量大→ろうのような固体
分子量小→粘潤な液体

図1 ポリエチレングリコールの構造

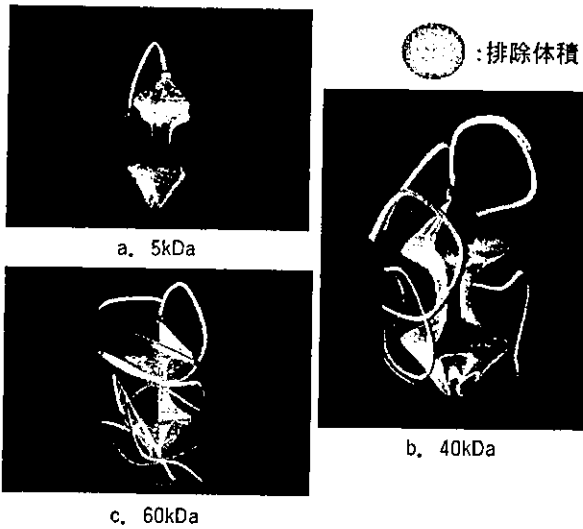


図2 ペグインターフェロンの構造

受容体に結合できなくなる。今回製品化されたPEG-IFN α -2aには分子量20kDaの2つのPEG鎖をウレタン結合させた40kDaの分鎖型PEGが使われ、IFN α -2aとはアミド結合という非常に安定した結合で連結されている^{5,6)}(図2b)。

2. 体内薬物動態

皮下に投与されたタンパクの吸収は、毛細血管を介して急速に吸収される経路とリンパ系を介してゆっくり持続的に吸収される経路がある。従来のIFNは主に毛細血管を通して急速に吸収され、ごくわずかだがリンパ系を介して吸収された。一方、PEG化タンパクは排除体積により同じ分子量の可溶性タンパクの5~10倍の大きさをもつため、リンパ管壁の内皮細胞の隙間は通り抜けられるが、毛細血管壁の内皮細胞間は通り抜けられない。従来のIFNとPEG-IFN α -2aの吸収の違いは吸収半減期($t_{1/2abs}$)に反映され、それぞれ2.3時間、50時間である。PEG-IFN α -2aのゆっくりした吸収と分解されにくい特徴から、従来のIFNで観察される血中濃度の急激な上昇を防ぐとともに、一定かつ持続的な有効血中濃度が維持されるようになった⁷⁾。

3. 代謝

IFNの代謝経路は肝・腎排泄であるが、PEG-IFN α -2aは分子量が大きく側鎖構造を有しているため、従来のIFNと比較して腎クリアランスが低下し肝への長時間の曝露が可能となった⁸⁾。一方、慢性腎障害(Cl_{CR} 値 >20 mL/分; >1.2 L/時間)を伴う患者での薬物動態は、腎機能正常患者と比較して明らかな差を認めなかったことから、腎を介するクリアランスによる薬物動態への影響はそれほどではないと考えられている⁹⁾。実際PEG-IFN α -2aの血中濃度変化を検討してみると、健康成人男子に対する

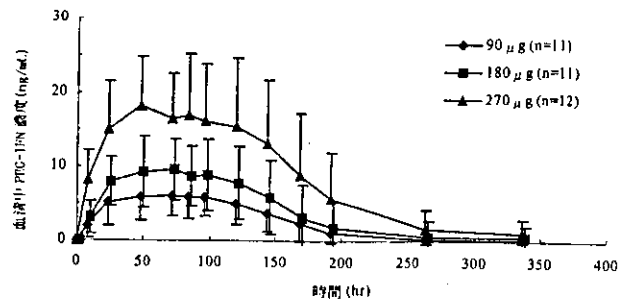


図3 日本人におけるPEG-IFN単回皮下投与後336時間までの血清中濃度推移(平均±標準偏差)(文献10より改変)

第I相試験において90, 180, 270 μ gの各容量において投与48~72時間後に最高濃度に達した後、一次吸収過程を含む緩やかな一相性の消失が示された(図3)。また、PEG-IFN α -2aの $t_{1/2}$ 平均値は90, 180, 270 μ g投与群でそれぞれ40, 33, 43時間であり、これは従来のIFNに比して約10倍延長していた¹⁰⁾。

薬物相互作用についての検討では、PEG-IFN α -2aを非喫煙健康成人男性15例に反復投与した場合、チトクロームp450(CYP)2C9, 2C19, 2D6また3A4アイソザイムを介した薬物代謝に対する有意な影響はみられなかった。しかし、テオフィリン投与中にPEG-IFN α -2aを反復投与した場合、投与前と比較してテオフィリンのクリアランス(CYP1A2により代謝される)の低下が認められた。IFN α とテオフィリンとの相互作用についてはよく知られており、これはIFN α を介したCYP1A2の生体内合成抑制作用によるものであると考えられる¹¹⁾。

このようにPEG-IFN α -2aはゆっくりと吸収され、血中で分解されにくく、体内から排泄されにくいという特徴をもつため有効血中濃度の維持が可能となり、従来のIFNに比べて高い効果が期待される。

ウイルス学的臨床効果

2001年にReddyらが発表したrandomized controlled trial(RCT)では、rIFN α -2aの300万単位週3回1年間投与のウイルスの持続陰性化率が3%であったのに対し、PEG-IFN α -2a週1回1年間投与の持続陰性化率は90 μ g投与群で30%、180 μ g投与群で36%、270 μ g投与群で29%と、従来のIFN療法に比較して有意に治療効果が高いことが報告された¹²⁾。その後行われた海外の大規模研究でも同様の結果が示されている^{13,14)}。国内で行われた第II相試験においても表1に示すようにIFN投与終了24週目のHCV消失率は、PEG-IFN α -2a(180 μ g)週1回48週投与群で36.1%、rIFN α -2a週3回24週間投与群で20.3%となり有意に高い効果が得られ、180 μ g群と90 μ g群で用量依存的な効果の増強が認められた¹⁵⁾。

表1 ウイルス学的効果, 生化学的効果: 投与終了後24週時 (FAS) (文献15より改変)

	投与群	例数	有効	有効率	(95%信頼区間)	オッズ比* (95%信頼区間)
ウイルス学的効果	rIFN α -2a 9MIU	59	12	20.3%	(11.0~32.8)	—
	PEG-IFN 90 μ g	59	16	27.1%	(16.4~40.3)	1.46 (0.62~3.43)
	PEG-IFN 180 μ g	122	44	36.1%	(27.6~45.3)	2.21 (1.07~4.57)
生化学的効果	rIFN α -2a 9MIU	59	21	35.6%	(23.6~49.1)	—
	PEG-IFN 90 μ g	59	18	30.5%	(19.2~43.9)	0.79 (0.37~1.72)
	PEG-IFN 180 μ g	122	43	35.2%	(26.8~44.4)	0.98 (0.51~1.89)

*: PEG-IFN群における反応のオッズとIFN群における反応のオッズとの比である。

表2 ジェノタイプ, ウイルス量別ウイルス学的効果 (文献15より改変)

ジェノタイプ /ウイルス量 (KIU/mL)	rIFN α -2a 9MIU		PEG-IFN 90 μ g		PEG-IFN 180 μ g	
	N	有効症例 (%)	N	有効症例 (%)	N	有効症例 (%)
全症例	59	12 (20.3%)	59	16 (27.1%)	122	44 (36.1%)
1b	39	4 (10.3%)	39	7 (17.9%)	80	15 (18.8%)
2a/2b	19	8 (42.1%)	18	9 (50.0%)	34	24 (70.6%)
その他	—	—	2	0 (0.0%)	5	2 (40.0%)
欠測	1	0 (0.0%)	—	—	3	3 (100.0%)
<100	8	6 (75.0%)	13	9 (69.2%)	24	16 (66.7%)
\geq 100	48	6 (12.5%)	44	7 (15.9%)	96	28 (29.2%)
欠測	3	0 (0.0%)	2	0 (0.0%)	2	0 (0.0%)
1b	3	2 (66.7%)	6	3 (50.0%)	7	4 (57.1%)
<100	3	2 (66.7%)	6	3 (50.0%)	7	4 (57.1%)
\geq 100	34	2 (5.9%)	32	4 (12.5%)	71	11 (15.5%)
欠測	2	0 (0.0%)	1	0 (0.0%)	2	0 (0.0%)
2a/2b	4	4 (100.0%)	7	6 (85.7%)	13	8 (61.5%)
<100	4	4 (100.0%)	7	6 (85.7%)	13	8 (61.5%)
\geq 100	14	4 (28.6%)	11	3 (27.3%)	21	16 (76.2%)
欠測	1	0 (0.0%)	—	—	—	—

C型慢性肝炎に対するIFNの治療効果はHCVのgenotypeと治療前の血中ウイルス量に依存することが知られている。日本人C型慢性肝炎患者の約7割を占めるgenotype 1bの高ウイルス量群 (AMPLICOR Monitor法100 KIU/mL以上) ではIFNの治療効果が非常に低いことが問題となっている。本邦第II相試験におけるgenotype別の検討 (表2) では、PEG-IFN α -2a投与群はrIFN α -2a投与群に比し、genotype 1b, 2a/2bともに治療効果が高かった。また、genotype 1bで100KIU/mL以上の高ウイルス量群においても、PEG-IFN α -2a投与群はrIFN α -2a投与群に比し高い治療効果が示された。

このようにPEG-IFN α -2aは従来のIFNに比べ高い治療効果が得られることが示されている。特にこれまで難治例とされてきたgenotype 1b高ウイルス量群においても有効性があり、臨床の場で効果が期待されている。

副作用

国内第II相臨床試験において副作用は99.4%に認められた。主な副作用は従来のIFNでも出現していた頭痛、

発熱、倦怠感、注射部位反応、腹痛等であった。また好中球減少、血小板減少、白血球減少、リンパ球減少等の臨床検査値の異常も同様に報告されている。この試験において従来のrIFN α -2a群では、94.6%の症例において中等度以上に副作用が発現したのに比べ、PEG-IFN α -2a90 μ g群では35.7%、PEG-IFN α -2a180 μ g群では49.6%と副作用の発現率は低い傾向があった。発現率が10%以上の副作用および臨床検査異常について表3, 4に示した。PEG-IFN α -2a群においてはインフルエンザ様症状、関節痛、不眠症等の発現率が低かったが、注射部位紅斑、皮膚炎等の皮膚症状およびリンパ球数減少、血小板数減少、赤血球数減少といった血球系の減少がrIFN α -2a群に比べ高頻度に認められた。特に問題となるのは好中球減少と血小板数の減少であり、従来型rIFN α -2a群では1週間程度で最低値を示し、その後投与中に回復傾向がみられたが、PEG-IFN α -2a群では投与開始後6~12週間目まで低下し、投与中は低値を持続し回復傾向を示さなかった。投与終了後は速やかに回復しているものの、投与に対しては血球系の減少に慎重に対処する必

表3 副作用（発現率10%以上）（文献15より改変）

	rIFN α -2a 9MIU (N=56)	PEG-IFN 90 μ g (N=57)	PEG-IFN 180 μ g (N=121)
発現例数	55 (98.2%)	55 (96.5%)	119 (98.3%)
総発現件数	564	505	1,254
発熱	54 (96.4%)	28 (49.1%)	79 (65.3%)
倦怠感	40 (71.4%)	31 (54.4%)	68 (56.2%)
頭痛	33 (58.9%)	30 (52.6%)	74 (61.2%)
脱毛	29 (51.8%)	17 (29.8%)	45 (37.2%)
関節痛	25 (44.6%)	14 (24.6%)	45 (37.2%)
不眠症	21 (37.5%)	15 (26.3%)	29 (24.0%)
上腹部痛	20 (35.7%)	10 (17.5%)	29 (24.0%)
背部痛	15 (26.8%)	12 (21.1%)	32 (26.4%)
咳嗽	10 (17.9%)	12 (21.1%)	32 (26.4%)
筋痛	14 (25.0%)	6 (10.5%)	33 (27.3%)
咽喉痛	11 (19.6%)	12 (21.1%)	28 (23.1%)
下痢	12 (21.4%)	10 (17.5%)	23 (19.0%)
便秘	10 (17.9%)	10 (17.5%)	21 (17.4%)
そう痒症	6 (10.7%)	11 (19.3%)	24 (19.8%)
食欲減退	11 (19.6%)	6 (10.5%)	20 (16.5%)
食欲不振	13 (23.2%)	4 (7.0%)	19 (15.7%)
嘔気	10 (17.9%)	6 (10.5%)	17 (14.0%)
鼻漏	7 (12.5%)	7 (12.3%)	18 (14.9%)
悪寒	17 (30.4%)	6 (10.5%)	6 (5.0%)
皮膚炎	2 (3.6%)	8 (14.0%)	17 (14.0%)
浮動性めまい (回転性眩暈を除く)	4 (7.1%)	6 (10.5%)	17 (14.0%)
注射部位紅斑	1 (1.8%)	13 (22.8%)	12 (9.9%)
鼻咽頭炎	7 (12.5%)	2 (3.5%)	17 (14.0%)
口内炎	8 (14.3%)	5 (8.8%)	12 (9.9%)
腹痛	4 (7.1%)	6 (10.5%)	13 (10.7%)
四肢痛	6 (10.7%)	7 (12.3%)	9 (7.4%)
嘔吐	3 (5.4%)	6 (10.5%)	13 (10.7%)
感覚減退	3 (5.4%)	4 (7.0%)	14 (11.6%)
体重減少	7 (12.5%)	3 (5.3%)	11 (9.1%)
胸痛	5 (8.9%)	6 (10.5%)	9 (7.4%)
易刺激性	8 (14.3%)	2 (3.5%)	10 (8.3%)
関節硬直	6 (10.7%)	5 (8.8%)	9 (7.4%)
喀痰増加	2 (3.6%)	7 (12.3%)	10 (8.3%)
注射部位そう痒感	-	8 (14.0%)	10 (8.3%)
味覚障害	8 (14.3%)	1 (1.8%)	7 (5.8%)
湿疹	4 (7.1%)	6 (10.5%)	3 (2.5%)

表4 臨床検査値異常（発現率10%以上）

	rIFN α -2a 9MIU (N=56)	PEG-IFN 90 μ g (N=57)	PEG-IFN 180 μ g (N=121)
発現例数	54 (96.4%)	51 (89.5%)	113 (93.4%)
総発現件数	263	247	643
好中球数減少	49 (87.5%)	39 (68.4%)	95 (78.5%)
血小板数減少	33 (58.9%)	32 (56.1%)	94 (77.7%)
白血球減少	37 (66.1%)	27 (47.4%)	88 (72.7%)
リンパ球数減少	17 (30.4%)	23 (40.4%)	68 (56.2%)
血中トリグリセリド増加	20 (35.7%)	8 (14.0%)	27 (22.3%)
ALT増加	13 (23.2%)	14 (24.6%)	25 (20.7%)
AST増加	13 (23.2%)	14 (24.6%)	24 (19.8%)
ヘモグロビン減少	10 (17.9%)	9 (15.8%)	29 (24.0%)
ヘマトクリット減少	8 (14.3%)	9 (15.8%)	28 (23.1%)
赤血球数減少	5 (8.9%)	9 (15.8%)	31 (25.6%)
γ -GTP増加	4 (7.1%)	10 (17.5%)	16 (13.2%)
血中リン酸塩減少	7 (12.5%)	6 (10.5%)	12 (9.9%)
CRP増加	1 (1.8%)	4 (7.0%)	13 (10.7%)
リンパ球数増加	7 (12.5%)	2 (3.5%)	4 (3.3%)
FT ₄ 減少	6 (10.7%)	2 (3.5%)	5 (4.1%)

要があると考えられた。そのため厚生労働省から投与開始前、各投与直前の血液検査に関して特に以下のように義務づけられている¹⁵⁾。

「本剤の投与開始後2週間は血液学的検査を週2回以上、以後は各投与直前に検査値が回復するまで定期的に検査を行なう。また、肝障害、腎障害を起こすおそれがあるため、生化学的検査は4週毎に定期的に行い経過観察することが推奨される。」

さらに基準項目と数値が以下のように決められている。

180 μ g開始	90 μ gに減量	中止
好中球数		
1,500/mm ³ 以上	750/mm ³ 未満	500/mm ³ 未満
血小板数		
90,000/mm ³ 以上	50,000/mm ³ 未満	25,000/mm ³ 未満
Hb値		
10g/dL以上	—	8.5g/dL未満

また、国内第II相臨床試験における中止例で複数例以上に認められた有害事象は、突発性難聴、肝機能障害、うつ病によるものが報告されている。このようにPEG-IFN α -2aにも少なからず副作用が存在し、今後臨床の場で広く用いられるようになると未知の副作用の出現の可能性もあり、注意深い使用が必要であると考えられ、週1回血液検査値を確認しながら投与するのは医師・患者共に負担ではあるが妥当な方法かもしれない¹⁵⁾。

服薬指導上の注意・留意点

1. C型慢性肝炎におけるウイルス血症の改善への本剤の使用にあたっては、HCV-RNAが陽性であること、自己免疫性肝炎、アルコール性肝炎等その他の慢性肝疾患でないこと、および肝硬変を伴う慢性肝炎でないこと、並びに肝不全を伴わないことを確認する。本剤の使用にあたっては、組織像または肝予備能、血小板数等により、慢性肝炎であることを確認する。
2. リバビリン製剤との併用療法については、日本人における有効性・安全性は確立していないため、併用しないこと。
3. 同じ箇所への連続した投与を避ける。
4. 投与終了後も定期的な経過観察を行う。また、治療効果を確認するために、少なくとも6ヵ月間は定期的な検査を行う。

【禁忌】

1. 小柴胡湯を投与中の患者
2. 自己免疫性肝炎の患者 [肝炎が重症化することがある]

3. 本剤の成分または他のインターフェロン製剤に対し過敏症の既往歴のある患者
4. 低出生体重児、新生児、乳児、3歳未満の幼児
5. ワクチン等生物学的製剤に対し過敏症の既往歴のある患者

最後に

PEG-IFN α -2aはrIFN α -2aのPEG化により、吸収半減期、血中消失半減期の延長、排泄の遅延により長時間一定の血中濃度の維持ができるようになり、抗ウイルス効果の増強が可能となったばかりでなく投与頻度の減少も可能となり、患者の負担軽減に成功し、C型慢性肝炎の治療において大変有用な薬剤である。

しかしながら血小板数減少、好中球数減少等、従来のIFNより強く出現する副作用もあり、専門家による注意深い観察が必要である。

一方、genotype 1bでAMPLICOR Monitor 850KIU/mL以上の極めて高いウイルス量をもつ患者に対しての有効率は低く、近い将来保険適応となるであろうPEG-IFNとリバビリンの併用療法や新薬の登場が期待される。

参考文献

- 1) 厚生労働省：国民衛生の動向2003，厚生統計協会，東京，2003.
- 2) J.M. Harris, N.M. Martin *et al.*: Pegylation: a novel process for modifying pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinetics*, **40**, 539-551 (2001).
- 3) B.A. Luxon, M. Grace *et al.*: Pegylated interferons for the treatment of chronic hepatitis C infection. *Clin Ther*, **24**, 1363-1383 (2002).
- 4) A. Kozlowski, S.A. Charles *et al.*: Development of pegylated interferons for the treatment of chronic hepatitis C. *BioDrugs*, **15**, 419-429 (2002).
- 5) Y.S. Wang, S. Youngster *et al.*: Identification of the major positional isomer of pegylated interferon alpha-2b. *Biochemistry*, **39**, 10634-10640 (2000).
- 6) P. Bailon, A. Palleroni *et al.*: Rational design of a potent, long-lasting form of interferon: a 40 kDa branched polyethylene glycol-conjugated interferon alpha-2a for the treatment of hepatitis C. *Bioconjug Chem*, **12**, 195-202 (2001).
- 7) N.P. Lam, A.U. Neumann *et al.*: Dose-dependent acute clearance of hepatitis C genotype 1 virus with interferon alfa. *Hepatology*, **30**, 226-231 (2003).
- 8) M.W. Modi, J.S. Fulton *et al.*: Clearance of pegylated (40KDA) interferon alfa-2a (Pegasys) is primarily hepatic [abstract]. *Hepatology*, **32**, 371 (2000).
- 9) N.E. Algranati, S. Sy *et al.*: A branched methoxy 40 kDa polyethylene glycol (PEG) moiety optimizes the

- pharmacokinetics (PK) of peginterferon α -2A and may explain its enhanced efficacy in chronic hepatitis C (CHC) [abstract]. *Hepatology*, **30**, 190A (1999).
- 10) 東 純一, 伊藤忠雄ほか: Ro25-8310の健康成人男子に対する第I相臨床試験, *薬理と治療*, **31**, 945-958 (2003).
- 11) S. Sy, N.E. Martin *et al.*: Drug interactions between PEG (40) K-IFN α -2a (PEGASYS) and cytochrome P450 (CYP450)-metabolize drugs are unlikely except for those metabolized by CYP1A2 [Abstract]. 9th International Congress on Infectious Diseases: Buenos Aires, April 10-13, 2000, p. 178.
- 12) Reddy RK, Wright TL *et al.*: Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon α -2a compared with interferon α -2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, **30**, 433-438 (2003).
- 13) S. Zeuzem, S.V. Feinman *et al.*: Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *Engl J Med*, **343**, 1666-1672 (2000).
- 14) E.J. Heathcote, M.L. Shiffman *et al.*: Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med*, **343**, 1673-1680 (2000).
- 15) 堺 隆弘, 小俣政男ほか: Ro25-8310のC型慢性肝炎に対する第II相臨床試験, *医学と薬学*, **50**, 655-672, 2003.
-

特集II 原発性硬化性胆管炎の診断

原発性硬化性胆管炎の診断*

—当科の症例を中心に—

齋藤英胤**
 多田慎一郎**
 岩男 泰**
 石井裕正**
 日比紀文**

Key Words : cholangitis, cholestasis, liver transplantation, endoscopic retrograde cholangiography

はじめに

原発性硬化性胆管炎; primary sclerosing cholangitis (PSC)は肝内・肝外胆管の炎症と線維化・狭窄に特徴づけられた慢性胆汁うっ滞をきたす疾患である。この疾患は多くの場合進行性であり、現在効果的な治療法はなく、また個々人の臨床経過を予測することが不可能なため最終的に肝移植の重要な適応疾患となっている。PSCの頻度はとくに日本では低い、地域格差が大きく、スカンジナビア諸国ではもっとも高いことが知られている。

本疾患の原因・病態は不明であり、遺伝学的因子、免疫学的因子、環境因子が複雑に絡み合っで発症すると考えられている。HLAハプロタイプと本疾患との関連やinflammatory bowel disease (IBD)とくに潰瘍性大腸炎との合併が知られているが、PSCとIBDの合併に関する病態機序は解明されておらず、また国により合併率はさまざまである。

欧米では典型的なPSC患者はIBDを有した若い男性で臨床的あるいは生化学検査にて胆汁うっ滞の存在を示す者とされるが、これはPSC患者の60~80%がIBDを合併しているからである。多く

の患者は無症候性であるため本疾患の早期診断は困難であるが、日本では健康診断時の生化学検査にて基準値を外れたために本疾患が疑われることが多い。また細菌性胆管炎を発症してPSCが診断される症例もある。しかし、慢性の細菌性胆管炎とPSCを鑑別することはきわめて難しいことが少なくない。Endoscopic retrograde cholangiography (ERC)はPSC診断のgold standardとされているが、magnetic resonance cholangiography (MRC)は多くの症例でPSCの診断に有用と考えられている。しかし、同様の臨床症状を示したり同様の画像を示す症候群と鑑別する必要がある。これらの症候群には総胆管結石、細菌性胆管炎、胆管系の手術後、胆管病変のあるAIDSなどが含まれる¹⁾。

本稿では慶應義塾大学消化器内科を受診されたPSC患者を対象に上述の諸因子に関して解析し、PSCの診断を中心にまとめた。

当院における症例

われわれは1983年から2003年の間に28例のPSC患者を経験した。これらの症例を対象に背景、既往歴、診断時の生化学データ、免疫学的データ、肝組織、画像所見、大腸鏡所見について検討を行った。これらのデータを元に当院で経験したPSC症例の特徴と文献的考察を行った。

* Diagnosis of primary biliary cirrhosis.

** Hidetsugu SAITO, M.D., Shinichiro TADA, M.D., Yasushi IWAO, M.D., Hiromasa ISHII, M.D. & Toshifumi HIBI, M.D.: 慶應義塾大学医学部消化器内科〔〒160-8582 東京都新宿区信濃町35〕; Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University, Tokyo 160-8582, JAPAN

患者背景と経過・予後

PSC 28例の性別は男性：女性＝1：1、年齢の中央値は37歳(5～68歳)で、20歳代と50歳代の2峰性を示した。診断の契機となったのは全ての症例で生化学検査における肝機能障害であった。黄疸は11%に、発熱は7%に認められた。一般に疲労感、掻痒感に加え発熱、悪寒、夜間盗汗、右季肋部痛が10～15%の患者に出現するとされている。

当院の症例は平均観察期間は5.97年(5か月～20年)であったが、PSCと診断されてから平均10.1年で9例(32.1%)が肝不全に至った。肝不全のうち3例は移植に至らずに肝不全で死亡し、6例は肝移植が施行された。全体では28例中20例(71.4%)が生存しており、4例が肝不全以外で死亡した。その内訳は胆管癌1例(3.6%)、multiple myeloma 1例(3.6%)、sarcoma 1例(3.6%)、eosinophilic pneumonia 1例(3.6%)であった。

一般人口におけるPSCの頻度は詳細不明であるが、ミネソタのある地域では年齢補正すると年間に男性10万人対1.25人、女性10万人対0.54人が発症し、2000年の統計ではPSCは男性10万対20.9人、女性10万対6.3人と男性に多いことが報告されており²⁾、当院の症例にはバイアスのあることが考えられる。高齢層で診断されたPSCでは比較的女性が多いとされる³⁾が、われわれの経験とは異なる。予後に関しては、診断されてから移植なしの生存率はおよそ12年で、診断時症候性の場合には予後が悪いとされており⁴⁾当院の症例もほぼ同様と考えられる。

血液検査所見の特徴

血液生化学検査のうち異常値となる頻度がもっとも高いのはALPであった(94.7%、平均値1133.4IU/l)。γGTPは83.3%(平均値296.0IU/l)認められたが、一方AST値、ALT値はそれぞれ平均56.6、43.0IU/lで、異常値の頻度は63.2%、57.9%であった。アルブミン値の平均は3.92g/dlで、異常値の頻度は47.1%、血小板数が15万/mm³未満の症例は7.7%であった。

IgG高値は71.4%に認められ、出現頻度の高い自己抗体はPR3-ANCA(45.5%)、ANA(33.3%)、

表1 MayoモデルによるPSC患者の生存予測

$R = 0.03(\text{age} [\text{years}]) + 0.54 \log_e(\text{Bilirubin} [\text{mg/dl}]) + 0.54 \log_e(\text{AST} [\text{IU/l}]) + 1.24(\text{variceal bleeding} [0 = \text{no}/1 = \text{yes}]) - 0.84(\text{albumin} [\text{g/dl}])$
$\cdot \text{Survival function coefficient} [S_0(t)]$
- 1年 = 0.963
- 2年 = 0.919
- 3年 = 0.873
- 4年 = 0.833
生存期待年数： $S(t) = S_0(t) \exp(R \cdot t)$

MPO-ANCA(23.5%)であった。一般には高γグロブリン血症は30%に、IgM高値は40～50%に、P-ANCA陽性は30～80%に認められるとされ⁵⁾、PSCでは自己抗体の陽性率が高いが⁶⁾、自己抗体陽性と重症度とは関係ないとされている。ただし抗カルジオライピン抗体陽性の症例は重症のことが多く、Mayo risk score⁷⁾(表1)と相関するとされる。自己抗体の出現はPSCが自己免疫性疾患の一つであることを示唆するが、その他発症機序に関して細胞障害性T細胞⁸⁾、胆管上皮におけるHLA class II抗原やICAM-1の発現⁹⁾などが報告されている。潰瘍性大腸炎との合併に関しては大腸上皮細胞と交差反応する抗原の存在が報告されているが、診断における実用化には至っていない。

HLA-A2, A24, CW3, CW7が陽性となる症例が多かったが、欧米でPSCに頻度の高いとされるDR3, DQ2, DR6, DQ6のハプロタイプやA1, B10, R2, DR3, DR4, DR52は頻回には認められなかった。PSCではとくにHLA-B8, -DR3, DRw52aが頻回にみられ¹⁰⁾、報告によればDRw52aは100%に認められるとするものもある¹¹⁾。B8は60～80%にみられ、PSC合併潰瘍性大腸炎ではB8/DR3ハプロタイプが多いと報告されているが¹⁰⁾、われわれの経験した症例とは合わず日本人における遺伝学的素因は異なると考えられる。

組織学的所見

肝生検は20例に行われた。生検で得られた検体の肝組織学的検査の結果、ほとんどの症例においてLudwig分類¹²⁾でstage Iであった。すなわち80%(16/20)の患者では図1-aに示すようにLudwig stage Iであり、2例(10%)でLudwig

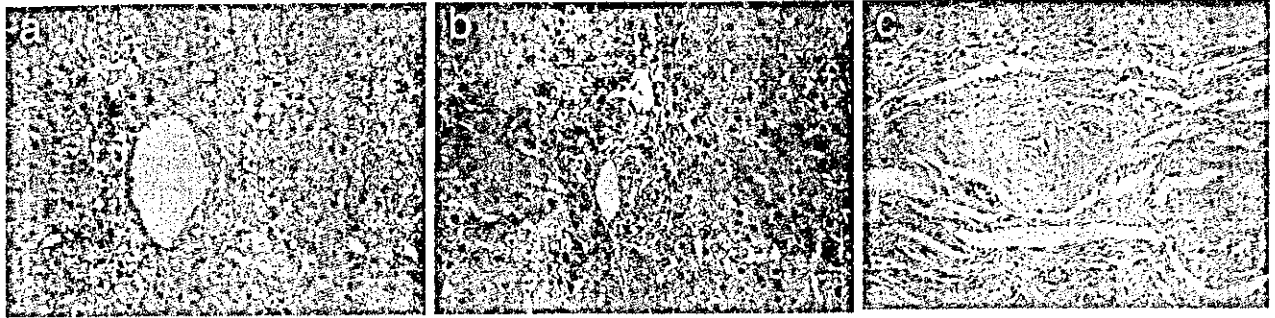


図1 PSC症例の肝組織像

- a : Ludwig stage I の例でわれわれの経験した症例の80%はこのstageであった。
 b : Ludwig stage II の例。
 c : Ludwig stage III の例。胆管は線維により囲まれ、onion skin状となっている。



図2 ERC像の典型例

- 左：肝内外型の典型像で症例の71%はこのタイプであった。
 右：肝内型。25%はこの型であった。

stage II (図1-b), 1例がstage III (5.0%, 図1-c)で, 残る1例がstage IVであった。したがって多くの症例では組織学的検査のみでPSCの診断をつけることは不可能であった。一般にPSCにおける肝生検では胆管炎発症を考慮し予防的に抗生剤を投与して施行することが推奨されており, 典型的な所見はonion skinパターンとされているが, PSCの組織所見に特異的なものはなく, 原発性胆汁性肝硬変と同様の所見も多い。

IBDとの合併

これらのPSC患者におけるIBDとの合併は46.4% (13/28)に認められた。逆にIBD患者1098例におけるPSCの合併は1.2% (13/1098)に認められた。IBDを合併した14例のIBD患者では, 11例が潰瘍性大腸炎と診断され, 1例はクローン病, もう1例は潰瘍性大腸炎ともクローン病とも鑑別困難

な症例であった。これら合併例の平均年齢は27.8歳(16~58歳)で非合併例の平均37.0歳(5~58歳)より若かった。これら合併例における潰瘍性大腸炎は非典型的な症例が多かった。PSCにおける潰瘍性大腸炎の合併率は25~90%と報告によりさまざま¹⁾²⁾⁵⁾¹³⁾, 潰瘍性大腸炎におけるPSCの合併率は5%前後と報告されている³⁾¹⁴⁾。

画像診断

われわれの経験したPSC症例ではすべての例でERCP上の異常が認められ, 診断法としてもっとも信頼のおける方法と考えられた。ERCP所見上の分類では, 肝内型が7/28(25.0%), 肝外型が1/28(3.6%), 肝内外型が20/28(71.4%)で, 肝内外型がもっとも多かった(図2)。

MRCPは28例中13例で施行したが, そのうち9例でERCPによる診断と一致した(69.2%)。4例

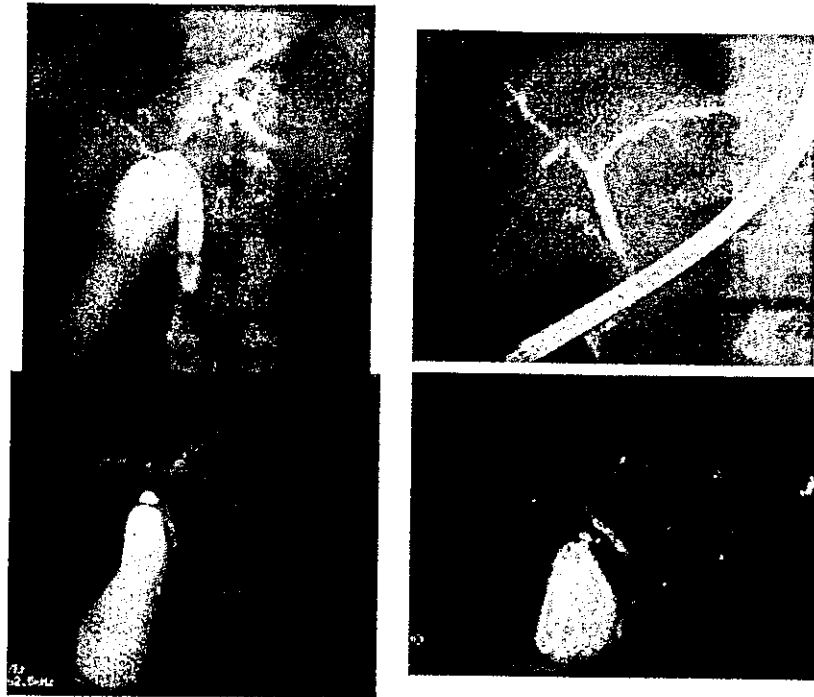


図3 ERCとMRCによる診断

上段：ERC, 下段：MRC.

左：診断一致例(69%は診断一致していた).

右：診断不一致例. MRCでは軽度異常例を正常範囲と診断しやすい欠点がある.

では診断が不一致であった。不一致例のうち2例ではMRCP上、正常と診断されたが、振り返った診断では異常と捉えることができた(図3)。ほかの2例ではERC上での異常な胆管とMRCPによる診断部位が不一致であった。すなわち現状では血液生化学検査などで胆道系酵素優位の異常値を認めた症例では、全例ERCを行わないとPSCの診断は困難であることを示している。

その他の注意点

太い胆管の狭窄が進むと胆汁うっ滞に伴う全身症状が出現する。掻痒感は軽症から重症までさまざまで重症の掻痒は移植の一つの適応となる¹⁵⁾。脂肪性下痢や脂溶性ビタミン不足も重要な症状である¹⁶⁾。これに関連して骨粗鬆症も一つの大きな問題であり、腰椎、骨盤、大腿骨などの検査を忘れてはならない¹⁷⁾。また肝門部付近の太い胆管の狭窄はPSC患者の20%程度に認められるが¹⁸⁾、胆管癌との鑑別に注意する必要がある。PSC患者における胆管癌の発症率はおよそ1.5%であるため¹⁹⁾、狭窄のある患者では狭窄部の擦過細胞診や生検をすべきだが、CT、MRI、CEA、CA19-9

を含め、PSCにおける胆管癌の診断はきわめて難しい²⁰⁾²¹⁾。

おわりに

われわれの経験したPSC症例は数が少なく詳細は不明であるが、臨床症状、組織学的進行、予後は一般に報告されていることと大きな差はなく、診断には放射線学的診断法がいまだに重要である面でも特異所見はないと考えられる。しかし日本人の遺伝学的背景や潰瘍性大腸炎との合併例に関して、報告と異なる所見が考えられひき続き今後の検討が必要である。

文 献

- 1) Angulo P, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1999; 30 : 325.
- 2) Bambha K, Kim WR, Talwalkar J, et al. Incidence, clinical spectrum, and outcomes of primary sclerosing cholangitis in a United States community. *Gastroenterology* 2003; 125 : 1364.
- 3) Olsson R, Danielsson A, Jarnerot G, et al. Prevalence of primary sclerosing cholangitis in patients

- with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1991 ; 100 : 1319.
- 4) Broome U, Olsson R, Loof L, et al. Natural history and prognostic factors in 305 Swedish patients with primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1996 ; 38 : 610.
 - 5) Lee YM, Kaplan MM. Primary sclerosing cholangitis. *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 924.
 - 6) Angulo P, Peter JB, Gershwin ME, et al. Serum autoantibodies in patients with primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 2000 ; 32 : 1842.
 - 7) Kim WR, Therneau TM, Wiesner RH, et al. A revised natural history model for primary sclerosing cholangitis. *Mayo Clin Proc* 2000 ; 75 : 688.
 - 8) Woolf GM, Vierling JM. Disappearing intrahepatic bile ducts : The syndromes and their mechanisms. *Semin Liver Dis* 1993 ; 13 : 261.
 - 9) Bloom S, Fleming K, Champman R. Adhesion molecule expression in primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis. *Gut* 1995 ; 35 : 604.
 - 10) van Milligen de Wit AW, van Deventer SJ, Tytgat GN. Immunogenetic aspects of primary sclerosing cholangitis : Implications for therapeutic strategies. *Am J Gastroenterol* 1995 ; 90 : 893.
 - 11) Prochazka EJ, Terasaki PI, Park MS, et al. Association of primary sclerosing cholangitis with HLA-DRw52a. *N Engl J Med* 1990 ; 322 : 1942.
 - 12) Ludwig J, Barham SS, LaRusso NF, et al. Morphologic features of chronic hepatitis associated with primary sclerosing cholangitis and chronic ulcerative colitis. *Hepatology* 1981 ; 1 : 632.
 - 13) Fausa O, Schrumpf E, Elgjo K. Relationship of inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. *Semin Liver Dis* 1991 ; 11 : 31.
 - 14) Schrumpf E, Elgjo K, Fausa O, et al. Sclerosing cholangitis in ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 1980 ; 15 : 689.
 - 15) Bergasa NV, Jones EA. The pruritus of cholestasis: Potential pathogenesis and therapeutic implications of opioids. *Gastroenterology* 1995 ; 108 : 1582.
 - 16) Jorgensen RA, Lindor KD, Sartin JS, et al. Serum lipid levels and fat soluble vitamin levels in primary sclerosing cholangitis. *J Clin Gastroenterol* 1995 ; 20 : 215.
 - 17) Bonkovsky HL, Hawkins M, Steinberg K, et al. Prevalence and prediction of osteopenia in chronic liver disease. *Hepatology* 1990 ; 12 : 273.
 - 18) Harnois DM, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis : Evolving concepts in diagnosis and treatment. *Dig Dis* 1997 ; 15 : 23.
 - 19) Bergquist A, Ekbohm A, Olsson R, et al. Hepatic and extrahepatic malignancies in primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 2002 ; 36 : 321.
 - 20) Chalasani N, Baluyut A, Ismail A, et al. Cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis : A multicenter case-control study. *Hepatology* 2000 ; 31 : 7.
 - 21) Siqueira E, Schoen RE, Silverman W, et al. Detecting cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *Gastrointest Endosc* 2002 ; 56 : 40.

* * *

一般演題

高齢者に対する低侵襲性診断：肝線維化のエラストメーターによる測定

¹⁾ 慶應義塾大学消化器内科

²⁾ 高度先進医療研究会

³⁾ 神奈川歯科大学内科

齋藤英胤¹⁾，多田慎一郎¹⁾，岩井宏方²⁾
石井裕正¹⁾，森實敏夫³⁾，日比紀文¹⁾

【要旨】

肝臓の弾性度を測定する装置（エラストメーター）は肝生検による組織診断と肝線維化判定において相関するか検討した。C型慢性肝炎・肝硬変患者を対象に、新犬山分類による肝線維化の各段階（F1～4）にある患者の血小板数と弾性度を測定し、その有用性をF分類との相関で検討した。その結果、エラストメーターによる肝弾性度はF分類ステージと有意な相関が認められ、全く非侵襲的に肝線維化を推定する有用な方法と考えられた。高齢C型慢性肝炎患者では侵襲的な検査に対する恐怖感から検査、治療を諦めることが多いが、エラストメーターは高齢者慢性肝疾患のステージを簡便に非侵襲的に推定する有用な方法で肝生検に代替できる可能性がある。

Key words: C型慢性肝炎，弾性度測定，肝生検，F分類，非侵襲

【はじめに】

生体組織の弾性を測定することは健常組織と病変組織の鑑別に有用と考えられ医療機器へのニーズが高まる中、臓器の弾性を測定するエラストグラフィ技術が1990年代初頭に開発された。1994年よりフランス・パリ市工業物理化学院の波動・音響研究所においてパルス波を用いたエラストグラフィの研究が

行われ、本技術が確立された。エラストグラフィの利点は、計測が短時間でできるため動く臓器に対しても使用可能であること、一過性の波動を使用するため解析が難しい波動形成が避けられること、そして何よりも非侵襲的であることである。またこのパルス波・エラストグラフィの作成を可能にしたのが超高速超音波画像診断装置であり、この2つの技術を組み合わせてフランスのエコセンス社がエラストメーター（弾性度測定装置）を開発した^{1,3)}。

エコセンス社が特許を保有するエラストメーターを肝線維化の定量に応用すべく第一世代の器械が完成した。慢性肝疾患はその原因を問わず肝線維化が進行し、終末像として肝硬変に進行する。慢性肝疾患の8割を占めるC型慢性肝炎において、線維化の程度すなわち臨床病期の決定はインターフェロン治療適応の決定や肝細胞癌発生の予測をする上で重要である。現在肝線維化の病期決定のgold standardは肝生検であるが⁴⁾、肝生検は侵襲的で患者の負担も大きく頻回に施行するのは困難である^{5, 6)}。そのため病期予測に血小板数やヒアルロン酸（HA）やprocollagen-III-peptide（P-III-P）などの血清肝線維化マーカーが利用されている⁷⁾。このような肝臓病診療の現状において、新たなそして非侵襲的な肝線維化定量法として肝弾性度測定が注目され

る。特に日本のC型慢性肝疾患患者は次第に高齢になっているが、高齢者では侵襲的検査に対する恐怖心も大きく、侵襲的な検査をするなら治療も断念してもよいという諦めを持つ方も多い。

本研究では慢性肝疾患の臨床病期を肝生検以外の高齢者に優しい非侵襲的なエラストメトリー検査で代替できないか検討することを目的とした。

【患者と方法】

肝生検を行った患者に対し、インフォームドコンセントを得た上で肝の弾性をエラストメーターを用いて測定し、新犬山分類のFステージ⁸⁾と測定値との関係を解析した。使用したエラストメーターはエコセンス社製の第2世代の器械であり、内部装置としてはすでに開発された第3世代の装置と同等である。対象はC型慢性肝炎・肝硬変患者で肝生検を施行した症例75例である。またエラストメトリーを施行した日に血小板数、血清P-III-P, HA, type IV collagen 7S (7S)を測定し、F分類との相関を求めた。

【成績】

年齢の中央値は50歳であった。肝生検のFステージはF1が24例、F2が17例、F3が18

例、F4が16例であった。P-III-P, HA, 7S測定値は線維化の進行とともに上昇しておりF1～3とF4の間で有意な差を認めたが、F1からF3の間では差が認められなかった。またF分類と良く相関するとされている血小板数とFステージの比較をKruskal Wallis検定法で行ったところ、F分類に伴い有意に血小板数は低下したが、ばらつきが大きくF分類の低いところではステージとの相関が見られなかった。以上のごとく現在臨床の場で用いられている線維化マーカーでは肝臓の線維化予測には不十分であることが確認された。

これらの患者のエラストメーター測定値Fステージとの比較をKruskal Wallis検定法あるいはANOVAを用いて行ったところF1からF4まで有意な差をもって上昇しそれぞれのばらつきも少なかった(図1)。F1からF4までの各ステージに1から4の数値をダミーとして与え、ステージと弾性度測定値の自然対数の間の相関を解析すると、相関係数 $r=0.847962$ (R-square=0.719039, $P<0.0001$ で有意な相関が認められた。直線回帰を当てはめると、次の式で示される関係が認められた。

$$LN(\text{Elasticity}) = 1.05 + 0.59 \times \text{Dummy Stage}$$

F4とそれ以外、すなわちF1～3の鑑別における、弾性度測定値のROC曲線はからArea Under the Curve (AUC)は0.98830となった。

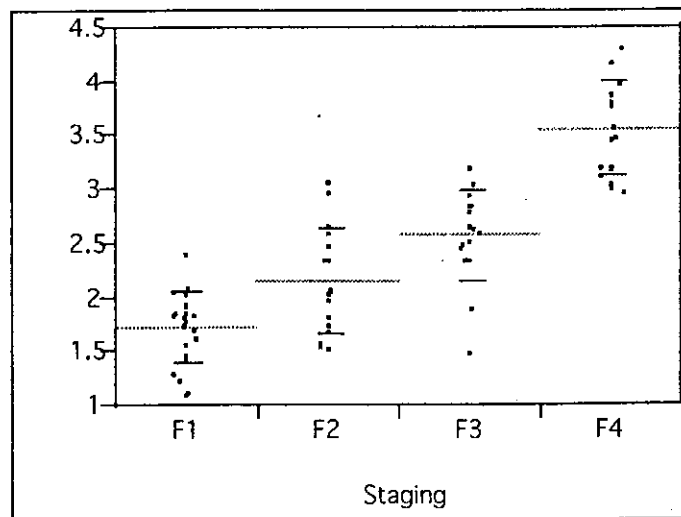


図1：肝生検組織診断によるF分類とエラストメーター測定値の実際

縦軸は測定値(kPa)の自然対数値。各ステージ間の値はそれぞれ有意差が認められた。

ちなみに、血小板数の同様のROC曲線からはAUC=0.84325であった。

また同一患者に対して異時性に肝臓の同一部位に対して測定を行ったところ高い再現性が示された。

【考察】

エラストメーターの原理は可聴振動と高度な超音波技術を組み合わせたもので、プローブから発生した振動が皮膚を通じて脂肪織に入り肝臓に伝播する。この振動の進行を超音波で追跡し、その速度を計算することで肝臓の弾性を算出する原理である。この弾性はヤング率で規定される^{2,3)}。今回の検討に使用したのは第2世代のエラストメーターで、この装置は1本のプローブと1セットの超音波電子ボックスおよびPC型の制御コンピューターから構成される。プローブには電子ダイナミクス振動発生装置および超音波トランスジューサーが内蔵されている。

実際の測定は右肋間から肝右葉上で行う。搭載ソフトウェアにより違うが、今回使用した第2世代の装置では皮膚表面より搭25mmから65mmの深さを計測しその中で最低20mm計測できれば数値化される。検査はまったくの無痛性であり、被検者は軽い振動を自覚するだけである。測定は1被検者に対し10回行いその中央値が直接モニターに表示されそれを測定結果としている。

今回このエラストメーターの測定値と従来から用いられている血小板数、線維化マーカーなどと比較して肝線維化の評価を行ったが、従来から線維化評価のgold standardとされる肝生検による組織診断ともっとも相関を認めたのはエラストメトリーであり、この技術の発明者フランスのSandrinらの報告¹⁾と一致するものである。またF4とその他のステージの分別において高い有用性が認められた。

肝の弾性度が線維化の程度と相関するのはおそらく限られた組織状態ではないかと考えられる。われわれ内科医は経験が少ないが、外科医によれば、外科手術時に得た肝の感触によれば高度の脂肪肝の弾性はきわめて柔ら

かいとされる。従って、組織診断上脂肪化が高度であれば実際の線維化よりも弾性度は低い値に表示される可能性が考えられる。こうした事情は近年注目されている病態であるnon-alcoholic steatohepatitis (NASH)⁹⁾で大きな問題となると思われるが、本器械が果たしてNASHの診断に役立つかどうか、実際にエラストメーターではどのように測定されるかは今後の検討に委ねられるものである。同様に今回はC型慢性肝炎、肝硬変を対象に試験を行ったが、疾患による相違も考えられる。アルコール性肝硬変のようなfineな線維化とC型肝炎にみられるような太い線維化に相違があるのか、など今後の検討課題は多い。特に本研究からいえることは、少なくともC型慢性肝疾患では、本研究で用いたエラストメトリーと従来用いられてきた血小板数や線維化マーカー、アルブミン値などを組み合わせることでより精度の高い線維化ステージの推定が可能と考えられる。

新しい技術によるエラストメトリーは患者に対し非侵襲的であるとともに、肝線維化評価の大変優れた指標となりうると考えられ、高齢者の肝組織を推定するためのよいツールになりうる。第2世代のエラストメーターの問題点を改善した第3世代のエラストメーターが開発されておりさらに実用的なものが期待される。

【文献】

- 1) Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM et al: Transient elastography: a new non-invasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003, 29;1719-1727
- 2) Sandrin L, Tanter M, Gennisson JL, et al: Shear elasticity for soft tissue 1-D transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelect Freq Contr* 2002, 49; 436-446
- 3) Catheline S, Thomas J-L, Wu F, Fink MA: Diffraction field of a low frequency vibrator in soft tissues using transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelect Freq Contr* 1999, 46; 1013-1019
- 4) Bravo AA, Sheth SG, Chopra S: Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001,344;495-500
- 5) Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, et al: Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J Hepatol* 1986, 2;165-173
- 6) Garcia G, Keeffe EB: Liver biopsy in chronic hepatitis C: routine or selective. *Am J Gastroenterol* 2001, 96; 3053-

- 3055
- 7) Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pironi L, et al: Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001, 357; 1069-1075
 - 8) Ichida F, Tsuji T, Omata M et al. New Inuyama classification; new criteria for histological assessment of chronic hepatitis. *Int Hepatol Commun* 1996, 6; 112-119
 - 9) Reid AE: Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2001, 121; 710-723

Enlargement of thermal ablation zone by the combination of ethanol injection and radiofrequency ablation in excised bovine liver

SEISHIRO WATANABE¹, KAZUTAKA KUROKOHCHI¹, TSUTOMU MASAKI¹, YOSHIAKI MIYAUCHI¹, TOSHIHARU FUNAKI¹, HIDEYUKI INOUE¹, TAKASHI HIMOTO¹, YUKO KITA¹, NAOHITO UCHIDA¹, TETSUO TOUGE¹, TOSHIAKI TATSUKAWA² and SHIGEKI KURIYAMA¹

¹Third Department of Internal Medicine and ²Department of Applied Radiology, Kagawa University School of Medicine, 1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa 761-0793, Japan

Received August 25, 2003; Accepted November 3, 2003

Abstract. The efficacy of radiofrequency ablation (RFA) and RFA with concurrent ethanol injection (EI-RFA) was compared. RFA (3-cm-electrode) was applied to bovine liver using three types of RFA equipment; Radionics, RITA and Radio Therapeutics Corporation (RTC). For EI-RFA, 5 ml of 99.5% ethanol was injected around the electrode. A total number of 40 RFA and EI-RFA treatments were performed. We compared RFA with EI-RFA by examining the size, shape of ablation zone, treatment time, power, and needle tip temperature. Liver specimens were examined for pathological changes. EI-RFA produced a larger zone of ablation than RFA alone using Radionics and RITA (Radionics, 35.3 ± 7.4 cm³ vs 23.2 ± 7.7 cm³, $p < 0.05$; RITA, 30.7 ± 10.3 cm³ vs 19.7 ± 4.7 cm³, $p < 0.05$), corresponding to shortest diameters of coagulation zone (Radionics, 3.7 ± 0.4 cm vs 3.0 ± 0.4 cm, $p < 0.05$; RITA, 3.8 ± 0.4 cm vs 3.1 ± 0.3 cm, $p < 0.01$). However, a larger ablation zone was not seen with the RTC device. The ablated volume per energy and the ablated volume per current density administered were greater with EI-RFA than with RFA using Radionics ($p < 0.05$). The shape of the ablated zone changed from ellipsoid to spherical with EI-RFA using Radionics. No pathological differences between RFA and EI-RFA samples were detected. For a given amount of energy and current administered, ethanol injection caused a better ablation effect, in terms of the size and shape of the ablated zone, than RFA with Radionics and RITA equipment.

Introduction

Radiofrequency ablation (RFA) has been used clinically as a reliable method for minimally invasive therapy for localized small hepatocellular carcinoma (HCC) (1-4) or metastatic liver cancer (5,6). Recently, strategies to further increase the size of the ablation have been tested, including elongation of the radiofrequency electrode tip length, increased ablation duration or increased overall energy administration with double ablation of the same tumor, or multiprobe insertion.

The direct effects of injection of 99.5% ethanol in small HCC nodules have been well characterized clinically (7). Also, percutaneously applied ethanol injection combined with RFA increased coagulation in a rat breast tumor model (8). Increased coagulation was observed only when ethanol injection was administered prior to RFA deposition - but not later. In the present experiments, we evaluated the size of the ablated zone achieved by RFA and examined the effect of pretreatment by ethanol injection. We tried the feasibility of RFA combined with concurrent ethanol injection (EI-RFA) in excised fresh bovine liver.

Materials and methods

EI-RFA in bovine liver using 3 different systems. We studied the affects of combined therapy of ethanol injection and RFA versus RFA alone using three types of systems, and compared whether there is a difference of the zone of coagulation and associated changes in energy deposition.

Fifteen pieces of fresh bovine liver block weighing 0.5 kg each were prepared for examination. An external grounding pad (18.0 - 10.5 cm) was fixed to the back of a stainless steel basin and a liver block was put into the basin. For RFA, an 18-gauge cooled-tip electrode with 3-cm-tip exposure was placed 2.5 cm deep into the liver. The ethanol injection was performed by injecting 5 ml of 99.5% ethanol around the tip of the electrode using a 23-gauge needle after inserting the electrode for EI-RFA. In the present experiments, 2, 5 and 10 ml of ethanol applied to the liver specimen, and 5 ml was the maximum volume that could be injected. Injection of a

Correspondence to: Dr Shigeki Kuriyama, Third Department of Internal Medicine, Kagawa University School of Medicine, 1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa 761-0793, Japan
E-mail: skuriyam@kms.ac.jp

Key words: radiofrequency ablation, ethanol injection, hepatocellular carcinoma, bovine liver

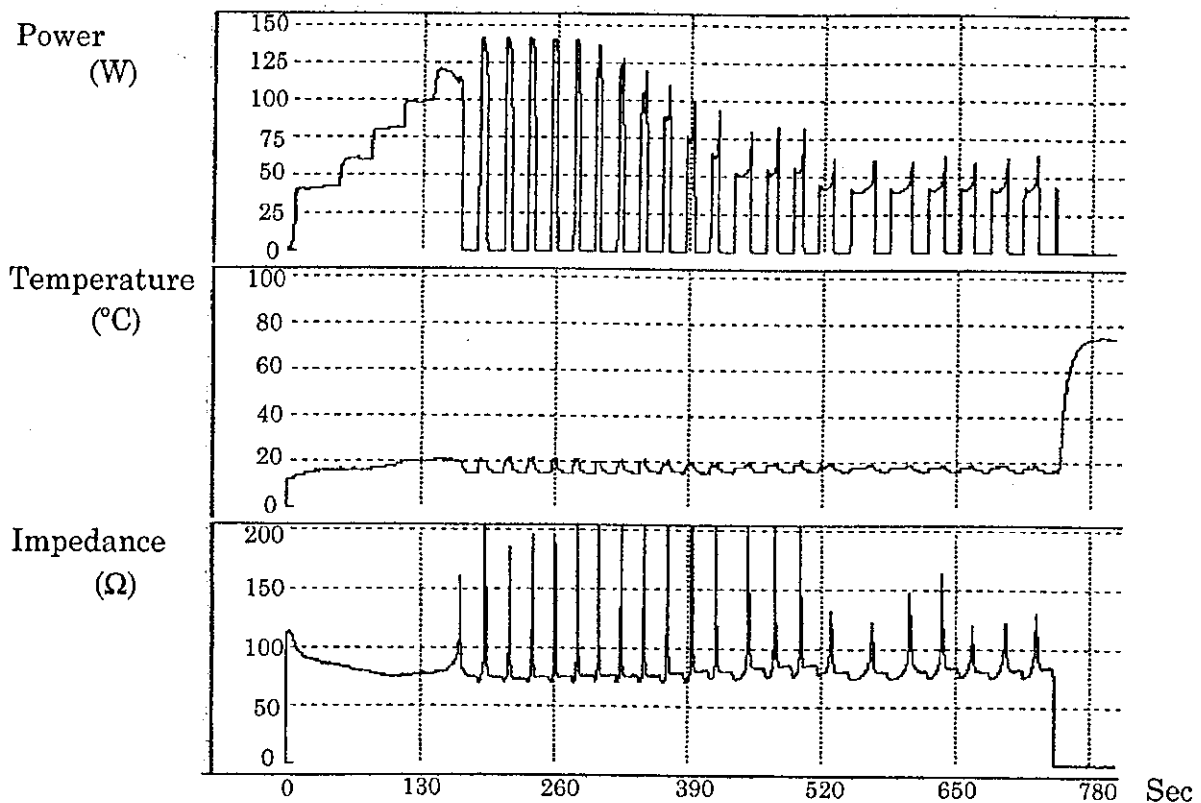


Figure 1. Sample data of RFA using Radionics. Total power administered was calculated by tracing under the curve. Current density at the grand pad was calculated by wattage and the corresponding impedance.

larger volume caused overflow of the ethanol from the cut surface, or caused a back flow along the needle tract to the surface of the liver. After connecting the line to the RFA delivery system (Cool-tip RF system, Radionics Inc; Burlington, MA, USA; Catalog no. CC-1-100, serial no. 921-516), radiofrequency was applied with impedance control, starting at 40 W, and accelerated 20 W per min until achieving 130 W, which was applied for a total of 12 min. The temperature deep into the tissue was estimated by the tip temperature immediately after RFA application. RFA was performed in 6 treatments, and EI-RFA in 6.

A 15-gauge RFA electrode for a 3-cm diameter wire array (RITA Medical Systems; Mountain View, CA, USA) was placed 2.5-cm deep into a block of excised bovine liver. Then the tines of the four retractable electrodes were deployed to a maximum diameter of 3.0 cm. Ethanol injection was performed as described above. RFA (RITA RF generator, Model no. 500 series, serial no. AP-0026) was started at 20 W and accelerated 10 W per min until the temperature of each electrode reached 80°C. Then RFA was continued at this power for a total of 10 min. After the electrode arrays were retracted, electrode was rotated 45 degrees at the same point and RFA was repeated for an additional 10 min. RFA was performed in 7 treatments, and EI-RFA in 7.

A 15-gauge Le Veen needle for a 3-cm diameter array [Radio Therapeutics Corporation (RTC); Sunnyvale, CA, USA] was inserted to a depth of 2.5 cm in the excised bovine liver. Then the tines of the electrode array were deployed.

Ethanol injection was performed as described above. RFA (RF2000 RF generator, serial no. 9904-66) was started at 40 W and accelerated by 20 W per min until achieving 80 W, and the electrode was kept in place until a rise in impedance and a corresponding drop in delivered power (roll-off) occurred. RFA was performed in 7 treatments, and EI-RFA in 7.

Each specimen was cut perpendicularly along the electrode needle tract line and photographed. After that, the ablated area was re-cut at a right angle to the cut surface along the needle tract. Then the area of the thermal ablation zone was evaluated. We measured the radius of each dimension of the ellipsoid of the yellowish white ablated area of the liver and calculated the volume of the ablated zone as a hypothetically ellipsoid figure: $\frac{4\pi abc}{3}$ (where a, b, c are the radii of each dimension of the ellipsoid).

The shapes of the ablated zones obtained RFA could be compared with those obtained with EI-RFA, as the ablated zones in both cases were ellipsoid. The dimensions of the cut surface of the ablated zone obtained with RFA were expressed as transverse diameter/longitudinal diameter of the ellipsoid and compared with those obtained with EI-RFA.

The total energy administered (joule) was measured using the NIH image program with a computer by tracing the area under the wattage curve that was recorded during RFA performed using Radionics (Fig. 1). The total energy (joule) was measured by summing the power (watt) recorded every 15 sec when performing ablation using RTC.

From baseline impedance and the necessary wattage of the RFA and EI-RFA data, we calculated the current density