

ることを強調しておきたいと思います。

**井廻** PBCが見つかったら、ぜひ食道静脈瘤はきちんとチェックしていただきたいですね。

**熊田** 私どもはB型肝炎とC型肝炎の血小板の値は常に頭にあります。ところがPBCは血小板の値が結構高いのです。時には20万/ $\mu$ くらいでも静脈瘤がある人はいますから、血小板の値だけをみていると非常に危険だと思います。

**井廻** そうですね。ぜひ、この点については先生方に注意していただきたいと思います。

## ■非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の日本における実態と今後の対処

**井廻** 次に、最近注目されている非アルコール性脂肪肝炎についてですが、西原先生は非常に熱心に研究されていて、たくさんのデータを出しておられます。まず、この非アルコール性脂肪肝炎とはどういうものかについてお話しいただけますか。

**西原** nonalcoholic steatohepatitis (NASH)は肥満を誘因として、一見アルコール性肝炎と区別がつかないsteatohepatitisと呼ばれる組織学的変化(脂肪肝を背景とした肝細胞の膨化、変性、あるいはMallory体形成)を来す慢性の肝臓病です。1950年ごろ、すでに糖尿病でも同様の肝硬変が観察されることが知られており、1980年になって病理医のLudwigが、肥満を誘因として同様の病態の起こることを再度提唱したことがNASHの名称の由来となっています。

“脂肪肝は良性可逆性の病変の典型”“肝生検を行ってsteatohepatitisが証明できると常習飲酒家におけるアルコール性肝炎”との臨

床家の思い込みが邪魔をして、長くNASHの存在を信じる臨床家はいませんでした。

しかし、1998年になって急転直下、NASHの存在が公式に認知されました。このような劇的な変化は、steatohepatitisの症例は急速に増加を続けて米国成人の3~5%、あるいは2~5%が本症に罹患する事態となったことや、アルコールの消費量が横這いあるいは減少に転じて10年近くなり、steatohepatitisの増加をもちやアルコールの消費に転嫁することが不可能となった疫学調査の結果と無関係ではありません。

本症の診断は病理学的に行われますので、診断に先立ってまずウイルス性の肝炎、自己免疫性肝炎、PBCなど疾患概念が確立されている疾患、Wilson病やヘモクロマトーシスなどの生化学的に診断可能な代謝性疾患を除外する必要があります。そして、脂肪肝を背景病変とした肝細胞の膨化、変性、あるいはMallory体形成といったアルコール性肝炎の肝病変に類似しているかを検証し、NASHとの診断に到達することになります。

病変の記載についてはBruntの分類を用いることでコンセンサスが得られており、NASHの典型例の診断には何ら支障がありません。しかし、境界領域の症例についてはどのような基準を用いて肝細胞の膨化を陽性と判定するのか、上記の病理学的変化のどこに重点をおいてNASHと診断するかなどについては、依然、病理医の間でも意見の統一がなされていないのが現状です。

また、疾患の背景病変である肝細胞の脂肪性変化を意味するsteatosisと、肝炎を意味するhepatitisとの合成語であるsteatohepatitisという用語についても、NASHの中心病変が肝細胞の膨化、変性、あるいはMallory体形成であるとする今日的観点からは、あまり適切

とはいえないとの指摘があります。

さらに、わが国では steatohepatitis を直訳して非アルコール性脂肪肝炎あるいは非アルコール性脂肪性肝炎という名称が用いられており、私も両者を区別せずに使用しております。しかし、脂肪肝があたかも肝炎の原因のような印象を与える脂肪性肝炎という名称は、個人的には好ましくないと感じており、無機質で先入観を与えない NASH という名称を好んで用いております。

**井廻** 現在、日本では何人くらい患者さんがいると推定されていますか。

**西原** NASH が新しい疾患概念であることもあり、日本における NASH の頻度に関する確実なデータはないのですが、高知県のデータを基にすると 100 万人くらい存在すると考えております。

その誘因の中心はやはり肥満です。1970 年代に飽食の時代とのキャッチフレーズでグルメ時代が始まり、それが誘因となって、肥満の頻度が高まっています。たとえば BMI (body mass index) が 25 以上の肥満は年率 4% で過去 40 年間増加し続けていますし、近年の NASH の増加に拍車をかけているのは、BMI が 30 を超える高度の肥満といわれる症例数が、この 5 年に限れば年率 7~8% で増加していることも重要な要因と思います。

欧米では、10 年間で NASH の 1~2 割が肝硬変になってしまうといわれています。米国では成人人口の 2~5% が NASH に罹患していて、その 2 割、つまり 100 万人以上が 10 年以内に肝硬変に移行すると考えられています。これと比較すると、日本人は成人の 1% 弱で、ちょうど米国の 20 年前の推定値に近い水準にあります。

**井廻** そういう意味では C 型肝炎と逆の関係ですね。

今までわれわれは「肥満に伴う脂肪肝は肝硬変にならないから、お酒を飲まないかぎり大丈夫だよ」と言っていたと思うのですが、これは実は間違いであるということになるわけですね。実際に日本でも、肥満に伴う脂肪肝が肝硬変に移行したり、あるいは肝癌になったりしていますか。

**西原** 実は、当初、われわれも NASH が日本に存在するという自信はありませんでした。ところが 1982 年ごろから、病理の円山英昭教授が脂肪肝を背景病変とした肝細胞の膨化、変性、あるいは Mallory 体形成といったアルコール性肝炎の肝病変に類似している症例に対して、fatty liver hepatitis という診断をなさるようになりました。しかし、当時はウイルス性肝炎が診療の中心を占めており、肝細胞壊死や炎症の強い肝組織像を毎日見ていたこともあり、私どもには Mallory 体が存在していても NASH の組織像は脂肪肝と非特異的炎症にしか見えなかったことを記憶しています。

15 年間でそのような症例が 17 例集まり、そのうち 7 例を後日たまたま診察する機会があって検査したところ、3 例は画像的に肝硬変まで進展しておりました。

**井廻** これから日本でも症例を集めて解析しなければいけないということになりますね。

日本人は BMI が少し低い段階から NASH が起きるのではないかとされていますが、それについてはいかがですか。

**西原** 事実だと思います。というのは、日本人の 6% 程度は、遺伝的に肥満がなくても脂肪肝を来すような形質を有することを示唆する成績を最近私どもは得ているからです。そのような形質をもつ人が肥満になれば、より高度な脂肪肝になることが予測されますの

で、脂肪肝になりやすい日本人はNASHにも罹患しやすいのではないかと推論が可能ではないでしょうか。

**井廻** しかも、肥満がどんどん増えてきているということになると、これからは糖尿病などいわゆる生活習慣病と同じような対策が必要になるわけですね。

**西原** 非常に大切だと思います。遺伝子を検索することによって、未病の時期に脂肪肝や肥満になりやすい体質を簡単にチェックできるようになったのです。

脂肪肝になりやすい、生活習慣病になりやすい体質をもった人がどのように生活習慣病対策をとるか、生徒自身が考える機会を教育の現場で作り出させていただくことこそが、これからの生活習慣病対策の1つの方向性ではないかと思えます。

**井廻** 肥満になりやすい人には、きちんと生活指導をするということですね。

**西原** 肥満になってから減量するのは大変難しいので、肥満になる前に「肥満になりやすい体質かどうかを調べることも可能です」、「もし、あなたが肥満になりやすい体質をもっていたらどうしたら防ぐことができるか考えてみましょう」といったメッセージを若者に伝えることが、肥満の予防であり、生活習慣病の予防に直結するのではないかと期待しています。

**井廻** 肥満になっても、肝障害がない人もいますね。

**西原** はい、確かにそのような方は高度肥満の方にもいらっしゃいます。生活習慣病は単一の疾患ではなく、個人個人の体質や生活環境の重なり具合に応じて、たとえば心筋梗塞になりやすい人、糖尿病になりやすい人、あるいは脳梗塞になりやすい人などができてまいります。NASHの場合も、生活習慣病のな

かで肝臓が悪くなりやすい体質の人だとご理解いただければと思います。

**三代** 質問なのですが、脂肪肝になりやすい遺伝的な素質をもっている人が、アルコールを飲むとどうなりますか。

**西原** 実は、まだデータをもっていません。

**三代** では、NASHの患者さんがアルコールを多量にどんどん飲んだらどうなりますか。病状の悪化は加速されますか。

**西原** たぶんそうだと思います。肝障害が発生する機序はかなり違うと思うのですが、アルコールの過剰摂取の場合も脂肪肝の場合も、肝臓は過度の還元状態におかれるわけですので。

**三代** NASHからASHになってしまう。それともASH on NASHですか。

**西原** そういうことですね。だから今は、少し太めの方がお酒を飲みながらチョコレートを食べる、そういう状況が少し問題だろうと思います。

**三代** 私はアルコールも好きなのですが、チョコレートも大好きです。ところが相当アルコールを飲んでも脂肪肝にならないのですよ。NASHにもならないし、ASHにもならないのですが、これは遺伝的なものでしょうか。

**井廻** そうですね。やせた人にも脂肪肝はありますよね。ウイルスも陰性、銅代謝、鉄代謝、すべて問題ないけれども、腹部超音波検査を行ってみると著明な脂肪肝で、そして組織をみるとNASH像があるというのは、やはり遺伝的体質が非常に重要なのだと思います。

## ■ E型肝炎

### ●日本における実態

**井廻** ではE型肝炎の話題に移りましょ

う。E型肝炎については新聞にも出て大きな話題となっていますが、2004年は一体何例くらい出たのですか。

三代 実際のところは分からないのです。

井廻 以前からあったのでしょうかけれども、急に話題になりましたよね。

三代 以前からあったのに気が付かないでいて、気が付いたのが最近なのか、本当に最近増えたのかということが大きななぞだったのですが、厚生労働省の研究班で初めてまとまった数の症例を集めることができました。1979年から2005年の1月まで含めて全部で193例です。いちばん若かった感染者は15歳で、いちばん年上は83歳です。男女比は4対1で男性が多い。

それから、年齢は50歳前後がちょうど平均値になりまして、30歳から70歳くらいまでの間が全体の90%くらいです。今まで教科書的にはE型肝炎はyoung adultの病気といわれていましたが、日本では中高年層が多かったわけです。

外国と比べてみましても、たとえばフランスにもE型肝炎の散发例が結構ある地域があります。フランスとスペインとの国境にピレネー山脈がありますが、その麓のミディ・ピレネー地方で、地方庁所在地がトゥールーズ、ルルドの泉などで有名な所です。そこは山岳地帯に入っていますから、ジビエ料理が有名なのです。

井廻 それはどういう料理ですか。

三代 野生動物を捕って食べるフランスの田舎グルメです。その地方ではわりにE型肝炎が起こっているのですが、2004年の11月のレポートによると、E型肝炎ウイルスのRNAが陽性だった症例をまとめてみたら、男女比が4対1で男、そして平均年齢が52歳と日本とピッタリ同じでした。

日本のデータに戻りますと、集めた193例のなかには不顕性感染、それから急性肝炎、急性肝炎重症型、劇症肝炎もいる。そのおのおのの категорияで年齢の頻度をとっていくと、明らかに重症度が増すに従って年齢も高くなっていく。つまり、かつてA型でいわれていたのと同じように、重症化にagingが関係しているといえます。

それからもう1つは、A型もE型もどちらも経口感染する肝炎ウイルスで、臨床的にも区別がつかないくらい似たウイルス同士なのですが、A型では明らかな季節性があります。しかしE型でみると、明らかに季節性がないのです。

最近増えたかどうかという問題については、集めた症例を横軸に年度をとって、縦軸に度数をとって引いてみると、明らかに最近のほうに山があるのです。しかし、これは調べ始めたのは最近であって、1979年や80年代の症例もあるにはあるが、それはたまたま保存血清があったものに関して調べ直して発見したもので、これを流行と解釈するのは危険だと思います。

井廻 E型肝炎は最近、急に増えたというわけではないと考えられるのですね。

三代 国立病院機構長崎医療センターの矢野公士先生たちが全国の二十何か所の国立病院を束ねた研究グループがありますが、定点観測をやっていますから、そのデータを信用すると、E型肝炎は1980年代くらいからコンスタントにあり続けている。最近増えたという傾向はないのです。ところが問題がありまして、このグループには北海道と岩手県の病院が抜けていたのです。流行地のデータが抜けていたわけですから、これも正確な状況を反映しているとはいえません。

それで、ウイルス遺伝子の型を調べたとこ

ろ、おもしろいことが分かったのです。それは、北海道は圧倒的に4型が多くて、本州は3型が多いのです。2003年に、私たちはE型肝炎ウイルスの変異速度を推定することができたのですが、それに基づいて名古屋市立大学の溝上雅史教授たちが分子時計法で解析した結果、3型も4型も日本に入ってきたのは1900年前後、日本が開国して肉を食べるようになったころのことです。

そして4型は最近の20年以内、札幌でいうと1992年くらいから急に拡散速度が速くなって広がり始め、一方、3型は本州でlow levelでコンスタントにあり続けている。4型はなぜか最近の北海道で、急に増え始める要因ができて増えているということではないかと思えます。

**井廻** 劇症肝炎は4型に多いのですか。

**三代** 4型に多いのです。不顕性感染、急性肝炎、急性肝炎重症型プラス劇症肝炎という3つのカテゴリーに分けて4型の比率をみると、21%、38%、76%で、4型は明らかに重症例が多い。

それがどうしてなのかはよく分からないのです。ただ、ゲノムの構造をみると4型はちょっとユニークなのです。1型、2型、3型は、オープンリーディングフレーム1と2と3は3つとも皆フレームが違うのですが、4型だけは1と3が同じフレームなのです。ですから、ウイルスに秘密があるのかもしれない。

### ●感染経路

**三代** それで、E型肝炎は感染症ですから、193例の推定された感染経路を調べてみました。そうしますと、そのうちの4例、2%は輸血が原因です。

それから8%くらいが輸入感染です。以前は日本の症例のほとんどがそうだと思われて

いたのですが、わずか8%しかない。どこに行ったかという、バングラデシュ、インド、ネパール、中国などです。

最も多いのが動物からの感染で26%です。そのなかで、何を食べて感染したのかという、いちばん多いのがブタ、次がイノシシ、シカの順です。そのほかに動物種不明もあります。これは、明らかに何かの動物の刺身を食べたのだけれども、何の動物だったか分からないというものです。それから飼っていたネコから感染した可能性がある症例が1例あります。

ここまでが確定もしくは推定できた感染経路で、残りの60%ちょっとは感染源不明です。現段階でも、E型肝炎ウイルスになぜ感染したのか分からない症例が半数以上を占めているのが現状です。私たちの知らない感染経路がある可能性があるのも、もっと解明していかなくてはいけないと思っています。

**井廻** 不明なものも多いですが、分かっているところでは動物感染が多いのですね。

**三代** 先ほどのフランスのレポートに戻りますが、その感染経路としてはジビエ料理、つまり野生動物を食べることがあげられます。もう1つは、その地方はトリュフが有名な所なのです。トリュフはブタに探させるのですが、探させたブタの糞便から感染している可能性もある。

ちなみに日本のブタは、生まれてから6か月目で屠殺されて食肉として出荷されるまでの間に、ほとんどすべてがE型肝炎ウイルスに感染するのです。北海道の養豚場でも関東でも、どこで調べてもそうなのです。それなのに、なぜ北海道は非常にヒトの感染例が多くて、それ以外の地域は少ないかという問題がなぞだったのですが、やはりこれは食べ方の違いではないかと考えられます。

**井廻** 北海道ではかなり生のところを食べているということですか。

**三代** 本州でホルモンというウシ、北海道ではブタなのです。その違いがある。それからもう1つは、大阪で生ホルモンという、これは常識的には一度湯がいてあるようですが、北海道では本当に生なのだそうです。このように食習慣が地域によって違うので、それが反映しているのではないかと思います。

**井廻** だから、ブタはよく火を通して食べると昔からいられているんですね。

**三代** あと、イスラムはブタを食べるのを禁止していますよね。実際、インドネシアで調べたのですが、ヒンズー教徒とイスラム教徒でE型肝炎ウイルスに対する抗体の陽性率を調べてみたら、圧倒的にブタを食べるヒンズー教徒のほうが高いのです。

**井廻** 日本では、抗体陽性者はどのくらいいるのですか。

**三代** 初めて信頼できそうなデータが取れつつあるのですが、それは献血者で調べています。そうするとIgGクラスの抗体でみたときには、全国ならせば5%くらいです。ただ、これは地域差があって、北海道は高く、西低東高の傾向がみられます。

それから輸血感染例が起こっていますから、ALTが正常のドナーの間でどのくらいRNAをもっている人がいるかを調べる必要があります。これはまだ着手したばかりですが、たとえばALTが200を超える、B型でもC型でもないものを母集団にしてHEV RNAを試みると、全体でならして1%がもっています。

**井廻** ALT上昇というのは、急性感染をみているわけですね。それとも慢性的な患者ですか。

**三代** いいえ、急性感染のウィンドウ期に近い早期か、あるいは後期かです。

**井廻** E型肝炎は原則的には経口感染で、A型と同じですね。たまたま急性感染のウィンドウ期にあった人の血液で感染が起こった。

**三代** そうですね。ただ、透析施設で感染したという症例もありますから、血液感染も見落としてはいけないのです。

#### ●予防対策

**井廻** そうしますと、予防という点ではいかがでしょうか。

**三代** 予防と治療ですね。少ないけれども劇症肝炎で亡くなる患者さんもおられますから、やはりE型肝炎にspecificに効く抗ウイルス薬を何とか作りたいですね。

**井廻** 今のところは全く既知のものはないのですね。

**三代** ありません。予防的には、アメリカで作られたワクチンのフィールドトライアルがネパールで行われています。

**井廻** タイプは一緒ですか。

**三代** 1型でやっているのですが、なかなか発表されないところをみると、あまり思わしい結果ではなかったのではないかと思います。日本でも、ワクチンの候補になりそのような抗原は良いものができています。そういうものを使ってワクチンを開発しようとしているところです。

ただ、ワクチンの効果に関しては否定的な意見をもっている人が多いのです。というのは、一過性の感染症でありながら、インド辺りでは1人で3回感染したというレポートもありますので、ひょっとすると Dengue 熱のときのようなことが起こっているのかもしれない。

**井廻** あるいはインフルエンザみたいなも

のかもしれないということですね。

いずれにしても予防としては、ブタなどを食べるときはしっかりと火を通しましょうということですね。特に、お年寄りには食事には十分に注意していただきたい。感染して、劇症肝炎になってしまったらどうしようもないですから。

**西原** 妊婦が感染した場合、劇症肝炎を発症し、死亡する例が高いという話がありますが、いかがでしょうか。

**三代** はっきりしたことはよく分かりません。1978年にインドのカシミールで5万人くらいの大規模な急性肝炎の流行がありましたが、それがE型肝炎だということすら最近では疑わしいといわれています。そのなかでは、妊婦で劇症肝炎を起こして亡くなった人がた

くさんいたということは事実のようです。

**井廻** 30%ぐらいでしたか。

**三代** 20数%です。ただ、はっきりしたことはよく分からないのです。

**井廻** 日本での妊婦へのE型肝炎感染例は報告されておらず、実際に妊婦にE型肝炎ウイルスが感染した場合に劇症化しやすいかどうかは不明ですが、高齢者では重症化しやすいということは明らかですので、特に高齢者ではE型肝炎ウイルスの感染予防は重要ということになるでしょうか。

本日は、C型慢性肝炎、B型慢性肝炎の治療法から、食道静脈瘤を伴う早期のPBC、NASH、E型肝炎まで、最新の話題について有意義なお話をしていただきました。ありがとうございました。

## ペグインターフェロン, リバビリン 併用療法の問題点

昭和大学医学部第2内科

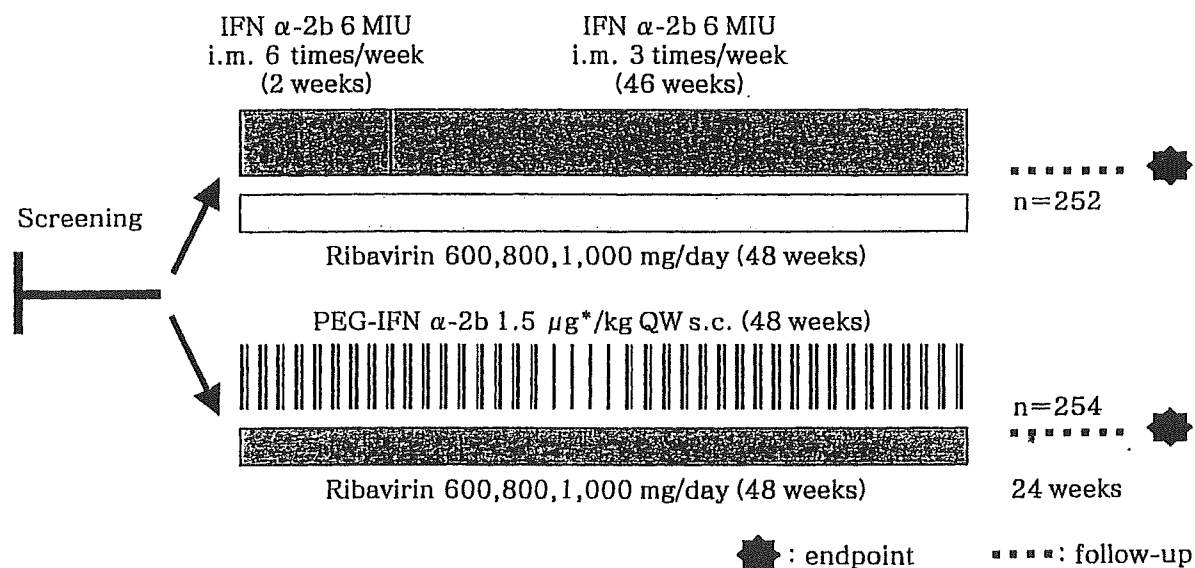
井口 桃子・伊藤 敬義

井廻 道夫

### はじめに

C型慢性肝炎において、インターフェロン (IFN) 療法抵抗性とされる HCV ジェノタイプ 1b 型, 高ウイルス量患者に対するペグイン

ターフェロン (PEG-IFN), リバビリン併用療法が平成 16 年 12 月に保険収載された。昭和大学医学部附属病院消化器内科における同併用療法開始から 6 カ月間の臨床上的問題点を, 国内第 III 相臨床開発試験の報告と対比して検討



\* : Peg Intron dosage : 1.5  $\mu$ g/kg=1.25~1.875  $\mu$ g/kg, ribavirin 1 日量 : 40<~60 kg=600 mg, 60<~80 kg=800 mg, 80<~100 kg=1,000 mg

図 1 国内第 III 相試験 : genotype 1b かつ高ウイルス量症例に対する PEG-IFN  $\alpha$ -2b+リバビリン併用投与試験

Problems of PEG interferon and ribavirin combination therapy

Momoko Inokuchi, Takayoshi Ito, Michio Imawari    *Second Department of Internal Medicine, Showa University School of Medicine*

Key words : PEG interferon, ribavirin, chronic hepatitis C



表 1 患者背景

項 目		IFN/R 群 (n=252)	PEG-IFN/R 群 (n=254)	PEG-IFN/R 群 (自験例) (n=16)
性 別	男	164	165	10
	女	88	89	6
年 齢 (歳)	平 均	50.7	52.2	54.4
	65 未 満	229	237	14
	65 以 上	23	17	2
HCV RNA 量 (KIU/ml)	500 未 満	52	53	1
	500~850 未 満	68	71	0
	850 以 上	130	130	15

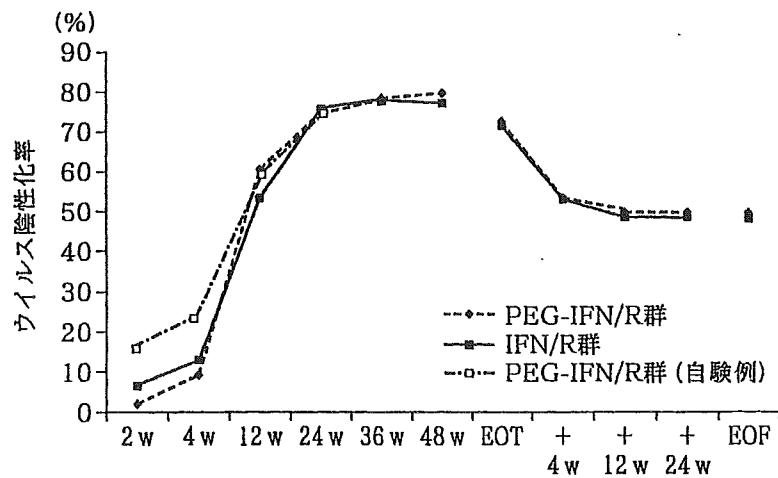


図 2 治療期間中/観察期間中のウイルス陰性化率の推移

した。

### I. 治療方法

既知のとおり、HCV ジェノタイプ 1b 型、高ウイルス量患者に対する PEG-IFN, リバビリン併用療法の国内第 III 相臨床開発試験は IFN  $\alpha$ -2b, リバビリン併用群 252 例と PEG-IFN  $\alpha$ -2b, リバビリン併用群 254 例を対象に行われた。48 週の薬剤使用期間と 24 週の経過観察期間を設け、PEG-IFN  $\alpha$ -2b とリバビリンに関しては体重別に使用量を決定している (図 1)。われわれの施設においても平成 17 年 1 月より PEG-IFN  $\alpha$ -2b, リバビリン (以下 PEG-IFN/R) 併用療法を臨床試験と同様の方法で導入した。

### II. 対象患者

国内第 III 相臨床開発試験の参加患者とわれわれの施設において PEG-IFN/R 併用療法を導入し、かつ治療開始後 24 週間経過した 16 症例を対象とした。患者背景では、臨床試験の 2 群間にはいずれの項目も有意差はなかった。当施設の 16 例の患者群は、平均年齢がやや高く、ウイルス量 850 KIU/ml 以上の症例患者がほとんどであった (表 1)。

### III. 治療効果と薬剤減量・中止の影響

治療観察期間中のウイルス陰性化率の推移は、国内臨床試験とわれわれの施設の間で、各ポイントにおいて 24 週までで有意差はなく、24 週の時点で約 80% の患者で HCV RNA が陰性

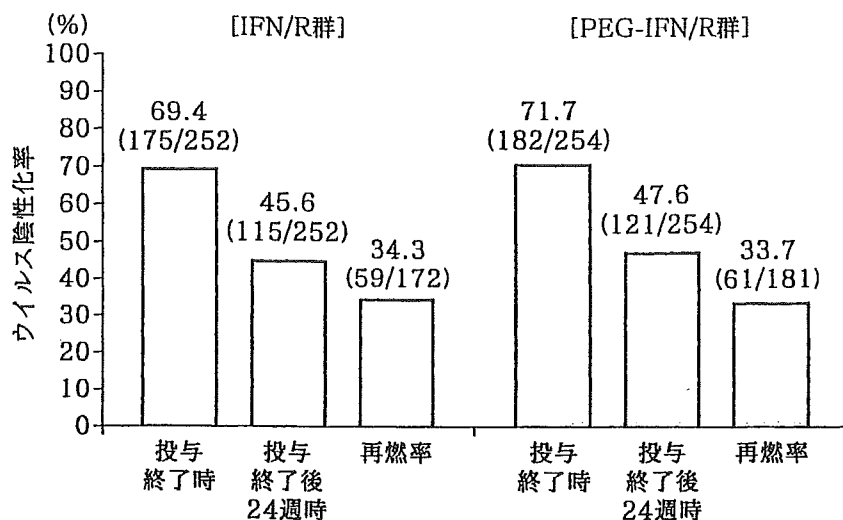


図3 ウイルス陰性化率

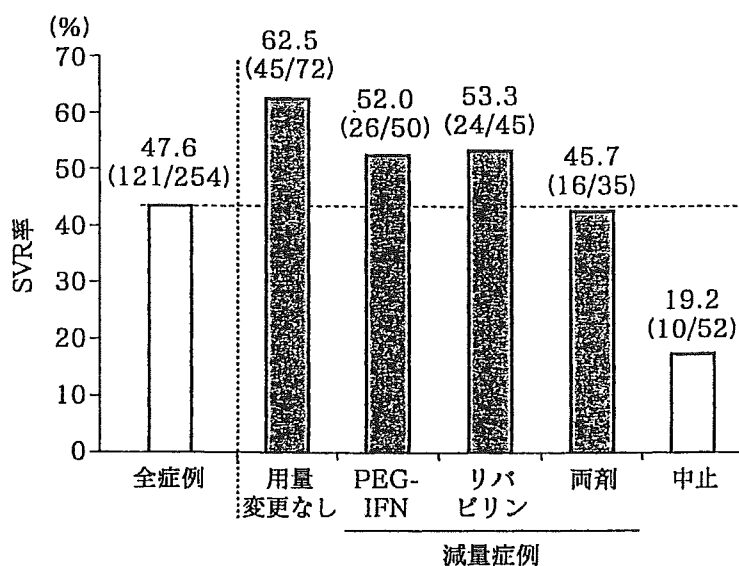


図4 減量および中止とSVR率 (PEG-IFN/R群)

表2 中止率

( )=n

	IFN/R群		PEG-IFN/R群		
	投与24週以内 (252)	投与25週以降 (214)	投与24週以内 (254)	投与25週以降 (223)	投与24週以内自験例 (16)
中止	12.3% (31)	7.0% (15)	10.6% (27)	8.5% (19)	0% (0)

化した(図2)。なお臨床試験の最終成績では投与終了時の陰性化率は両群ともに約70%で、そのうち再燃率は両群ともに約34%であった(図3)。

臨床試験成績では、薬剤を減量した患者でも

50%前後の持続ウイルス陰性化(SVR)率が維持されているのに対し、服薬治療中止された患者では、極端に19.2%までSVR率が落ちるという結果が出ており(図4)、治療の継続が重要であることが示唆されていた。中止率は臨床試

表3 減量および休薬率

( )=n

	IFN/R群		PEG-IFN/R群		
	投与24週以内 (252)	投与25週以降 (214)	投与24週以内 (254)	投与25週以降 (223)	投与24週以内 自験例(16)
減量	49.2% (124)	13.1% (28)	44.9% (114)	18.8% (42)	31.2% (5)
休薬	2.0% (5)	2.3% (5)	4.3% (11)	3.6% (8)	6.2% (1)

[主な薬剤減量規定の違い]

24週併用療法国内開発試験： Hb値10g/dl未満	PEG-IFN+Ribavirin国内開発試験： Hb値10g/dl未満 好中球数750/mm <sup>3</sup> 未満 血小板数80,000/mm <sup>3</sup> 未満
-------------------------------	--

	PEG-IFN/R群	IFN/R群		PEG-IFN/R群	IFN/R群
白血球数減少	96.5%	87.0%	食欲不振	83.9%	90.5%
ヘモグロビン減少	86.6%	74.7%	関節痛	77.6%	83.4%
赤血球数減少	80.3%	71.1%	筋痛	72.8%	77.9%
ヘマトクリット減少	79.5%	67.6%	不眠症	66.9%	75.1%
そう痒症	61.0%	52.2%	脱毛症	68.5%	73.9%
注射部位紅斑	41.7%	3.6%	悪心	57.9%	64.4%
血中ビリルビン増加	35.0%	29.2%	血小板数減少	46.1%	52.6%
			リンパ球数増加	35.8%	42.3%
			下痢	33.1%	41.9%
			網状赤血球百分率減少	28.0%	34.4%
			好中球数増加	18.5%	30.8%

図5 有害事象の発現頻度—発現率が30%以上で、両群間に5%以上の差がある項目

験では両群ともに24週以内に10%強であった(表2)。われわれの施設の治療開始後6カ月以上経過を追えた16例では、治療開始6カ月まで中止例はなかったが、この他の治療開始後24週に満たない患者8例中1例で、不眠症状持続のため治療開始1カ月の時点で治療を中止した。

減量および休薬に関して、国内臨床試験の減量基準はHb10g/dl未満、好中球数750/mm<sup>3</sup>以下、血小板数8万/mm<sup>3</sup>以下である。われわれの施設16例も、原則的には同基準に従って減量した。減量は5例で、うち4例はリバビリンの減量、1例はPEG-IFN、リバビリン両剤を減量した。休薬例の1例はレベトール®の休薬で

あった(表3)。いずれも貧血が減量の主要因で、60歳以上の高齢者と低体重者に多くみられた。PEG-IFNの減量は好中球減少に起因した。

#### IV. 副作用

すでに報告されている有害事象は図5のとおりだが、このうちPEG-IFN群に有意差を持って多いものは注射部位紅斑だけであった。当施設においても16例中7例、43.8%に注射部位紅斑を認めた。また、食欲不振と不眠についてはPEG-IFN群で有意に少ない結果だった。

臨床検査値異常として、ヘモグロビンの平均値の推移は、臨床開発試験では、両群間には差

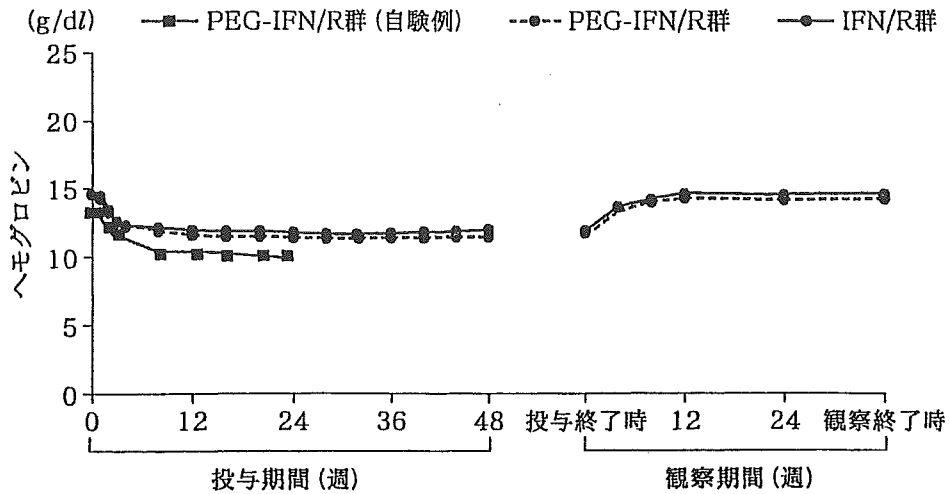


図 6 治療期間中および観察期間中のヘモグロビン値の推移 (平均値)

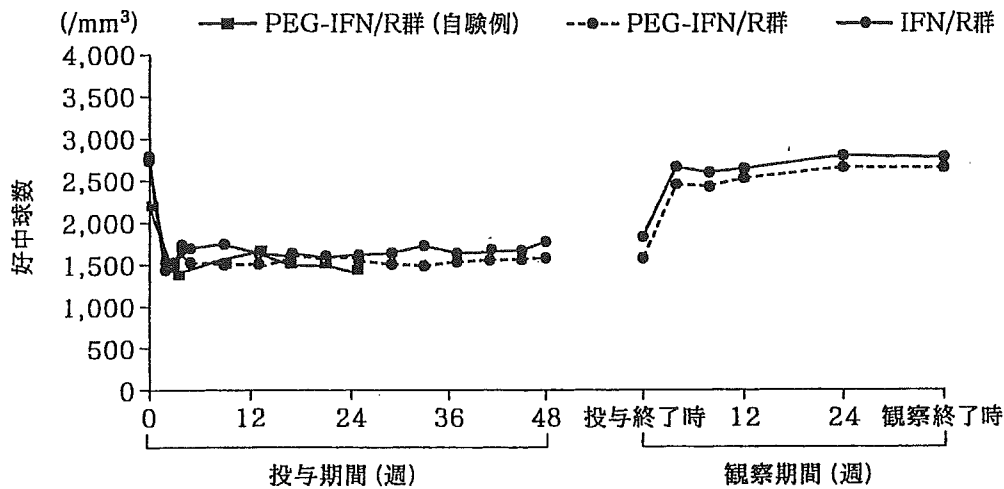


図 7 治療期間中および観察期間中の好中球数の推移 (平均値)

がないのに対し、われわれの施設では2週目以降、平均でヘモグロビン値が約0.6 g/dl低いという結果であった(図6)。これはわれわれの施設の患者群の平均年齢が治験群よりも高かったためと推察され、実際に治療対象となる患者は臨床試験よりも高齢者が多いことが予想され、貧血には注意を要すると考えられた。好中球数の推移も両群間に差がなく、われわれの施設の結果とも差はみられなかった(図7)。同様に、血小板数も24週までの時点で差がみられなかった(図8)。

その他の治療期間中に比較的に高頻度に発現した臨床検査異常は、トランスアミナーゼ値の

増加、ビリルビン値上昇、甲状腺機能異常であった(表4)。われわれの施設におけるビリルビン値の上昇はほとんどが非抱合型ビリルビン優位であり、ヘモグロビン低下との関連もみられ、溶血によるものと推察した。また間質性肺炎との関連が示唆されているKL-6<sup>1)</sup>は、測定した13例中2例で基準値以上であったが、現在のところ間質性肺炎は認められておらず、胸部単純X線撮影にて定期的に経過を追っている。

### V. 症例提示 (図9)

甲状腺機能低下を呈した一例を提示する。  
37歳、男性。

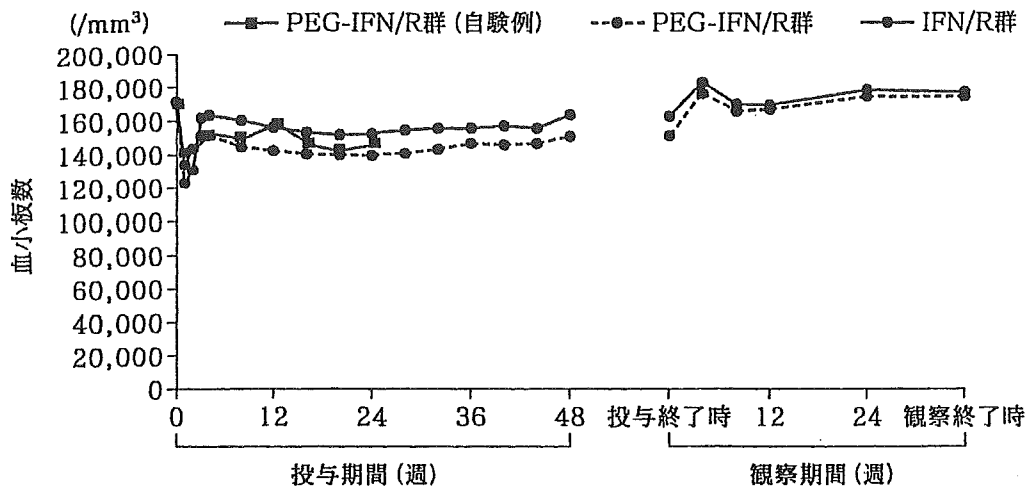


図 8 治療期間中および観察期間中の血小板数の推移 (平均値)

表 4 治療期間中に高頻度に発現した臨床検査異常

	PEG-IFN/R 群 (治験データ)	PEG-IFN/R 群 (自験例)
ALT 増加	20.1%	25.0%
AST 増加	21.7%	25.0%
総ビリルビン増加	35.0%	43.8%
抱合型ビリルビン増加	39.8%	6.2%
非抱合型ビリルビン増加	27.2%	43.8%
TSH 減少	13.0%	6.2%
TSH 増加	29.1%	12.4%
FT4 減少	11.0%	6.2%
KL-6 増加	—	12.4%

治療前 HCV RNA 量 1,910 KIU/ml, ジェノタイプ 1b の患者で, 治療前の抗マイクロゾーム抗体 1,600 倍, サイロイド抗体 100 倍であった。PEG-IFN 100  $\mu$ g, リバビリン 800 mg で治療開始し, 治療開始 8 週で TSH の上昇を認め, 予防的にレボチロキシンナトリウムの経口投与を開始した。しかし, 治療開始 20 週より, FT4 の低下, TSH の著しい上昇を認め, 甲状腺ホルモン剤を増量した。その時点で抗マイクロゾーム抗体 25,600 倍, サイロイド抗体 400 倍と増加していた。現在レボチロキシンナトリウム投与で FT4 は正常化し, 治療継続中である。

## VI. 市販後調査での副作用

シェリング・プラウ社による市販後調査によると, PEG-IFN/R 併用療法による重篤な副作用として, 死亡例は 1 例で肝不全, DIC, 無尿, 呼吸不全, 肺水腫, MRSA 肺炎などが報告されている (平成 17 年 6 月まで)。その他に, 2 例以上の重篤例は 20 項目あり, 帯状疱疹, 敗血症, 無顆粒球症, 貧血, 播種性血管内凝固, うつ病, 脳出血, 脳梗塞, 浮動性めまい, てんかん, 意識消失, 視床出血, 肝機能異常, 薬疹, 発疹, 血尿, 蛋白尿, 好中球数減少, 血小板数減少が報告されているが, われわれの施設では重篤例はなかった。

	治療前	1 w	2 w	4 w	8 w	12 w	24 w
好中球数 (/mm <sup>3</sup> )	2,924	1,776	1,078	1,901	1,841	1,581	1,485
ヘモグロビン値 (g/dl)	17.3	16.5	16.9	14.9	13.4	11.3	11.4
血小板数 (/mm <sup>3</sup> )	18.3	15.0	13.6	12.8	17.4	17.4	12.8

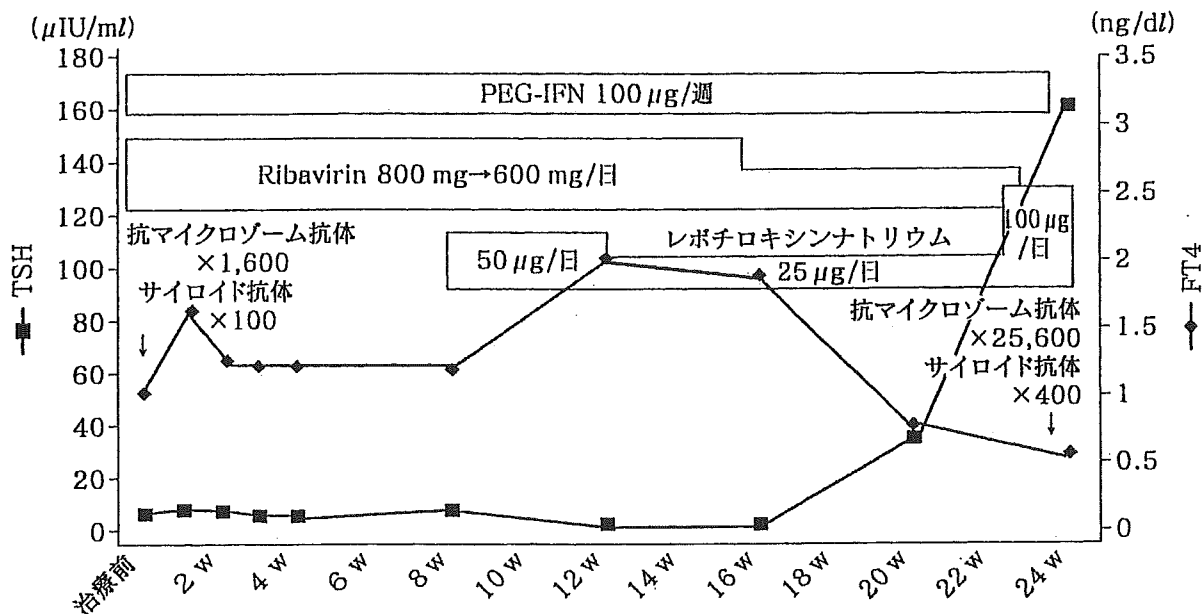


図9 臨床経過 (甲状腺機能低下症例, 37歳, 男性)

まとめ

われわれの施設で PEG-IFN/R 併用療法を開始し、6 か月以上経過した 16 例の患者においては、治療開始 6 か月間には重篤な副作用は認めなかった。臨床検査値異常として好中球数減少、血小板数減少は国内臨床開発試験の結果と同レベルであったが、貧血は高度であり、リバビリン減量の主要因となった。抗マイクロゾーム抗体陽性、サイロイド抗体陽性の 1 例で治療中両抗体の上昇を認め、甲状腺機能低下症を併

発した。6 か月の観察中、間質性肺炎の発症はなかったが、KL-6 の上昇例があり、今後呼吸状態、胸部単純 X 線撮影などの定期チェックが必要と考えられた。

文献

1) Tokita H, Fukui H, Tanaka A et al : Circulating KL-6 level at baseline is a predictive indicator for the occurrence of interstitial pneumonia during interferon treatment for chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 26 : 91-97, 2003.

\* \* \*

# Long-Term Clinical and Virological Outcomes of Chronic Hepatitis C After Successful Interferon Therapy

NATSUKO TSUDA, NOBUKAZU YUKI, KIYOSHI MOCHIZUKI, TAKAYUKI NAGAOKA,  
MASATOSHI YAMASHIRO, MASAO OMURA, KAZUMASA HIKIJI, AND MICHIO KATO

Reprinted from Journal of Medical Virology, Vol. 74, No. 3, 2004

## Long-Term Clinical and Virological Outcomes of Chronic Hepatitis C After Successful Interferon Therapy

Natsuko Tsuda,<sup>1</sup> Nobukazu Yuki,<sup>1\*</sup> Kiyoshi Mochizuki,<sup>2</sup> Takayuki Nagaoka,<sup>3</sup> Masatoshi Yamashiro,<sup>3</sup> Masao Omura,<sup>3</sup> Kazumasa Hikiji,<sup>3</sup> and Michio Kato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Gastroenterology, Osaka National Hospital, Osaka, Japan

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine and Therapeutics, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Japan

<sup>3</sup>SRL, Inc., Hino, Japan

Clinical relevance of occult hepatitis C virus (HCV) and/or hepatitis B virus (HBV) infection(s) remains uncertain years after interferon (IFN) therapy for chronic hepatitis C. By 1993, 38 sustained virological responders (SVRs) showing HCV RNA clearance at 6 months post-treatment and 37 biochemical responders (BRs) with end-of-treatment alanine aminotransferase (ALT) normalization and subsequent 6-month stabilization within  $2 \times$  the upper limit of normal (ULN) were enrolled. They were monitored for 4.4–12 years (median 6.8), then 15 SVRs and 15 BRs underwent paired liver biopsies. Biopsy samples were tested for positive and negative HCV RNA strands, and HBV DNA surface and X sequences. All SVRs showed sustained serum HCV RNA clearance during follow-up, but hepatocellular carcinoma (HCC) developed in 4 (11%) SVRs. On paired liver biopsies, histological improvement was significant, but mild inflammation persisted in 87% of SVRs. Nonetheless, no HCV RNA sequence was amplified from liver tissues, and HBV DNA sequences were found in only one SVR. As for BRs, biochemical flare-up of  $>2 \times$  ULN occurred at a 5-year risk of 41% (95% CI 24.7–56.4). The event was unpredictable but controllable by retreatment in 70%. Liver tissues after follow-up contained positive and negative HCV RNA strands, but no HBV DNA sequence was amplified. These results suggest that SVRs, albeit free of occult HCV and/or HBV infection(s) over a decade, retain mild liver inflammation and the risk of HCC. Occult HBV was also shown uninvolved in flare-up during follow-up of BRs. *J. Med. Virol.* 74: 406–413, 2004. © 2004 Wiley-Liss, Inc.

**KEY WORDS:** occult HCV infection; occult HBV infection; hepatocellular carcinoma

### INTRODUCTION

Interferon (IFN) has been used for the treatment of chronic hepatitis C for a decade. Previous studies have shown that sustained virological responders (SVRs) who were negative for serum hepatitis C virus (HCV) RNA 6 months after treatment were likely to remain in virological and biochemical remission with histological amelioration [Marcellin et al., 1997; Shiratori et al., 2000]. Low risk of hepatocellular carcinoma (HCC) can also be expected in such patients [Imai et al., 1998; Yoshida et al., 1999]. However, late biochemical relapse after a sustained virological response has been observed [Reichard et al., 1995; Marcellin et al., 1997], and HCC can develop as a late complication. Under these circumstances, questions arise about whether SVRs are completely free of occult HCV and/or hepatitis B virus (HBV) infection(s). HCV eradication from the liver has not been well validated based on long-term follow-up of more than 5 years after treatment. It is possible that HCV infection may persist in the liver after spontaneous circulating HCV clearance [Haydon et al., 1998; Dries et al., 1999; Sugiyasu et al., 2003]. Recently, occult HBV coinfection and its possible virulence have been shown for chronic hepatitis C patients [Cacciola et al., 1999; Tamori et al., 1999]. However, little is known about the clinical relevance of occult hepatitis B after IFN therapy.

To address these issues, patients with a sustained virological response were monitored over 4.4–12 years after IFN therapy, and the long-term virological outcomes were investigated by detecting liver HCV and

\*Correspondence to: Nobukazu Yuki, MD, Department of Gastroenterology, Osaka National Hospital, Hoenzaka 2-1-14, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan. E-mail: yuki@onh.go.jp

Accepted 10 July 2004

DOI 10.1002/jmv.20190

Published online in Wiley InterScience  
(www.interscience.wiley.com)



HBV sequences. We also studied the clinical relevance of occult HBV infection in patients who were monitored after a biochemical response.

## MATERIALS AND METHODS

### Patients

By 1993, a total of 38 chronic hepatitis C patients showed a sustained virological response to IFN therapy, and 37 patients showed a biochemical response. A sustained virological response was defined as clearance of circulating HCV RNA at 6 months post-treatment, whereas a biochemical response was defined as end-of-treatment alanine aminotransferase (ALT) normalization and subsequent 6-month ALT stabilization within  $2 \times$  the upper limit of normal (ULN) (33 IU/L) in the absence of serum HCV RNA clearance. They comprised 53 men and 22 women and ranged in pre-treatment age from 22 to 66 years (median 52). Before treatment, all patients had elevated serum ALT activity for at least 6 months and tested positive for HCV antibody and serum HCV RNA. After liver biopsies, they were treated with IFN in various dose regimens for 6–62 weeks (median 24). Natural IFN- $\alpha$  (Sumiferon, Sumitomo Pharm Co., Osaka or OIF, Otsuka Pharm Co., Tokyo, Japan), IFN- $\alpha$ 2a (Roferon-A, Nippon Roche K.K., Tokyo, Japan) or IFN- $\alpha$ 2b (Intron A, Schering-Plough Co., Osaka, Japan) was given by intramuscular injection to 34, 26, and 6 patients, respectively. The remaining nine patients were treated with intravenous injection of IFN- $\beta$  (Feron, Toray Co., Tokyo, Japan). The total IFN dose ranged from 36 to 936 MU (median 432). Serum ALT activity and HCV RNA were monitored monthly during the 6-month post-treatment period. Of the 37 biochemical responders (BRs), 10 patients showed sustained ALT normalization during 6 months post-treatment, whereas the remaining 27 patients showed end-of-treatment ALT normalization and subsequent slight ALT fluctuations within  $2 \times$  ULN.

These 75 consecutive patients were enrolled and followed for 4.4–12 years (median 6.8) after therapy withdrawal. SVRs were tested for serum ALT activity and HCV RNA at least every 6 months. For BRs, serum ALT activity was monitored monthly, and serum HCV RNA at least every 6 months. All patients underwent abdominal ultrasonography every 6 months. If HCC was suspected, they had additional examinations by dynamic computed tomography, magnetic resonance imaging, arteriography, and ultrasonography-guided tumor biopsy, as deemed necessary. All but three patients had no apparent cause of hepatocellular injury other than HCV during the entire follow-up period. They were persistently negative for hepatitis B surface antigen (HBsAg). They had no history of administration of hepatotoxic drugs or alcohol abuse ( $>10$  g/day) and showed no evidence of autoimmune liver disease. Of the remaining three patients, two SVRs (patients 9 and 24) had HBsAg before treatment but were cleared of it at 3.1 and 5.4 years after treatment, respectively. One BR (patient 39) was persistently positive for HBsAg. At the

end of the follow-up, 15 SVRs and 15 BRs had paired liver biopsies 5.9–12.5 years apart (median 7.7). This study was approved by the local Research Ethics Committee in accordance with the 1975 Declaration of Helsinki. All patients provided written informed consent.

### Virological Tests

Serum HCV RNA was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) [Hagiwara et al., 1993] and quantified using a branched DNA (bDNA) assay (Quantiplex HCV-RNA, Chiron Corporation, Emeryville, CA). The detection limit of the RT-PCR method was 300 copies of synthetic HCV RNA/ml serum. HCV RNA-positive serum samples were subjected to a serological genotyping assay (Immucheck-HCV Gr, International Reagent Corporation, Kobe, Japan). Quantification of HCV core antibody was performed using a commercially available kit (HCV Core-Ab IRMA, Ortho Diagnostic Systems Co., Ltd., Tokyo, Japan). Serum samples were tested for HBsAg, antibody to HBsAg (anti-HBs) and antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) with radioimmunoassays (Abbott Laboratories, North Chicago, IL). Serum HBV DNA was detected by real-time detection PCR based on Taq Man chemistry as previously reported [Abe et al., 1999]. The HBV surface and X regions were amplified using set 2 primers and set 3 primers, respectively. For each primer set, the PCR sensitivity was 10 copies of synthetic HBV DNA per reaction, and the detection limit of serum HBV DNA was 200 copies/ml serum.

Percutaneous needle liver biopsies were performed using 14-gauge Tru-Cut needles at the follow-up end, and biopsy specimens sufficient for histological and virological evaluation were obtained. Liver specimens for PCR testing were frozen immediately and then stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Positive and negative HCV RNA strands in the liver were independently amplified by specific RT semi-nested PCR as described elsewhere [Tomimatsu et al., 1997]. Using synthetic HCV RNA strands, the PCR sensitivity was 10 copies per reaction. For the detection of HBV DNA, total DNA was extracted from liver tissue using a commercially available kit (SMI test EX R and D, Sumitomo Metal Industries, Tokyo, Japan). Purified total hepatic DNA was resuspended in 500  $\mu\text{l}$  of distilled water. A 25- $\mu\text{l}$  aliquot of DNA solution was subjected to the real-time detection PCR. In preliminary experiments, liver biopsy specimens from 12 chronic hepatitis B patients, who had been clear of serum HBsAg for 1.3–15.3 years (median 4.9), were tested to evaluate the ability to detect occult HBV infection. Liver HBV DNA was successfully amplified in each patient, thus indicating that the real-time detection PCR method used was practically sensitive enough to detect occult HBV in liver tissues. To avoid contamination in all PCR assays, the contamination avoidance measures [Kwok and Higuchi, 1989] were strictly applied throughout, and positive and negative controls were used.

### Histological Evaluation

Liver biopsy specimens for histological evaluation were fixed in formalin and embedded in paraffin for routine staining with hematoxylin–eosin. All specimens were examined by the same experienced pathologist, who was unaware of the biochemical, serological, and virological data. Biopsy specimens were semiquantitatively evaluated by the modified histological activity index [Ishak et al., 1995]. The histological outcome of IFN therapy was assessed by comparing the pre-treatment biopsy specimen with the last biopsy specimen obtained after treatment. Using the inflammatory grade and fibrosis staging scores of the paired biopsy samples, the yearly progression or regression was calculated as the change in the scores divided by time (years) between biopsies.

### Statistical Analysis

Statistical analysis for group comparisons was performed by the  $\chi^2$  test or Fisher's exact test for categorical variables. Non-parametric tests (Wilcoxon and Mann–Whitney) were used for continuous variables. A value of  $P < 0.05$  (two-tailed) was considered to indicate significance. For multivariate analysis to investigate the influence of various patient characteristics on responses to IFN therapy, multivariate logistic-regression analysis with stepwise procedure was performed with the computer program, SAS 6.12 (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Kaplan–Meier curves were generated to estimate the cumulative incidence of hepatitis flare-up, and the prognostic relevance of the baseline variables was analyzed by log-rank tests.

### RESULTS

Baseline clinical features are shown in Table I. The SVRs had lower pre-treatment viral loads than the BRs (median  $<0.5$ , range  $<0.5$ –8.6 vs. median  $<0.5$ , range  $<0.5$ –15.6 Meq/ml;  $P = 0.031$ ) and were more frequently infected with genotype 2 (53 vs. 30%;  $P = 0.043$ ). Patients with sustained virological response showed more marked piecemeal necrosis expressed as the Ishak score (median 3, range 0–4 vs. median 1, range 0–4;  $P = 0.049$ ) and were treated with a higher total IFN dose (median 480, range 174–936 vs. median 396, range 36–810 MU;  $P = 0.030$ ). In multivariate logistic-regression analysis, however, a sustained virological response was associated with marked piecemeal necrosis of  $\geq 3$  points (odds ratio 3.8 [95% CI 1.3–11.3],  $P = 0.017$ ) and the age of  $<50$  years (odds ratio 3.8 [1.2–11.8],  $P = 0.020$ ). As for the BRs, baseline clinical features were similar between the 10 patients with sustained ALT normalization during the 6-month post-treatment period and the remaining 27 patients with end-of-treatment ALT normalization and subsequent slight ALT fluctuations of  $\leq 2 \times$  ULN.

The SVRs were monitored over 4.4–12 years (median 6.2) after therapy withdrawal, and the BRs over 4.8–9.6 years (median 7.3) (Fig. 1). All SVRs were persistently negative for serum HCV RNA and retained normal ALT levels during the entire follow-up periods. On the other hand, HCV viremia persisted in all BRs, and biochemical flare-up defined as ALT fluctuations of  $>2 \times$  ULN occurred in 17 (46%) patients. Only two patients showed persistently normal ALT levels. Figure 2 presents overall cumulative biochemical flare-up rate

TABLE I. Pre-Treatment Characteristics of Chronic Hepatitis C Patients Showing Virological or Biochemical Response at 6 Months After Interferon (IFN) Therapy Withdrawal

Characteristic	Virological responders (n = 38)	Biochemical responders (BRs)		Total (n = 37)
		Persistently normal alanine aminotransferase (ALT) (n = 10)	ALT fluctuation $\leq 2 \times$ upper limit of normal (ULN) (n = 27)	
Sex (F/M)	12/26	3/7	7/20	10/27
Age (years)	51 (22–65)	54 (27–66)	53 (28–66)	53 (27–66)
Blood transfusion history	8 (21%)	4 (40%)	8 (30%)	12 (32%)
HCV load (Meq/ml) <sup>a</sup>	$<0.5$ ( $<0.5$ –8.6)	$<0.5$ ( $<0.5$ –13.4)	$<0.5$ ( $<0.5$ –15.6) <sup>c</sup>	$<0.5$ ( $<0.5$ –15.6) <sup>c</sup>
HCV genotype (1/2)	18/20	6/4	20/7 <sup>c</sup>	26/11 <sup>c</sup>
ALT activity (U/L)	149 (37–789)	179 (42–981)	126 (31–1,126)	144 (31–1,126)
ALT fluctuation ( $\leq 2 \times$ ULN/ $>2 \times$ ULN)	1/37	2/8	3/24	5/32
Necroinflammatory score <sup>b</sup>				
I	3 (0–4)	1 (0–4)	1 (1–4)	1 (0–4) <sup>c</sup>
II	0 (0–2)	0 (0–2)	0 (0–2)	0 (0–2)
III	2 (1–4)	2 (1–4)	2 (1–4)	2 (1–4)
IV	2 (1–3)	2 (1–4)	2 (1–3)	2 (1–4)
Total	8 (2–11)	7 (3–12)	7 (3–11)	6 (3–12)
Fibrosis score	4 (3–6)	3 (3–6)	3 (2–6)	3 (2–6)
Total IFN dose (MU)	480 (174–936)	336 (78–648) <sup>c</sup>	400 (36–810)	396 (36–810) <sup>c</sup>

Quantitative data expressed as median (range).

<sup>a</sup>Pre-treatment viral loads were not available for two virological responders and four BRs (two with persistently normal ALT and two showing ALT fluctuation of  $\leq 2 \times$  ULN).

<sup>b</sup>Four categories were scored: I, piecemeal necrosis; II, confluent necrosis; III, focal lytic necrosis; and IV, portal inflammation.

<sup>c</sup> $P < 0.05$  versus virological responders.

curve for all BRs. The flare-up rates at 1, 2, 3, 4, and 5 years were 11, 22, 30, 32, and 41%, respectively. None of the clinical, virological, and histological characteristics of the patients (listed in Table I) were predictive of the flare-up. The flare-up rates did not differ between patients with sustained ALT normalization during 6 months post-treatment and those without it. Ten of the 17 flare-up cases were retreated with IFN at a median of 6 years (range 3.3–7.3) after the end of initial treatment. The total IFN dose ranged from 168 to 1,476 MU (median 759), and seven patients were retreated with a higher dose. Pre-retreatment viral loads ranged between <0.5 and 31.0 Meq/ml (median 4.5), and genotypes 1 and 2 were found in six and four patients,

respectively. Six patients, three of whom had genotype 1 and high viral loads (>5 Meq/ml), achieved a biochemical response again. A sustained virological response was achieved by another patient.

During follow-up after IFN therapy, HCC developed in four SVRs but not in the BRs (11 [95% CI 4–24] vs. 0% [0–9]; *P* = 0.115). Two small HCCs of 1.5 and 1 cm were found in patient 6 at month 1, and solitary small HCC of 2 cm developed in patients 7, 14, and 19 at year 3.8–5.5. Patients 6 and 14 had cirrhosis before treatment, whereas bridging fibrosis was observed in patients 7 and 19. Moderately differentiated HCC was resected for patients 14 and 19. The surrounding non-tumor liver tissue of patient 19 only showed slight portal inflamma-

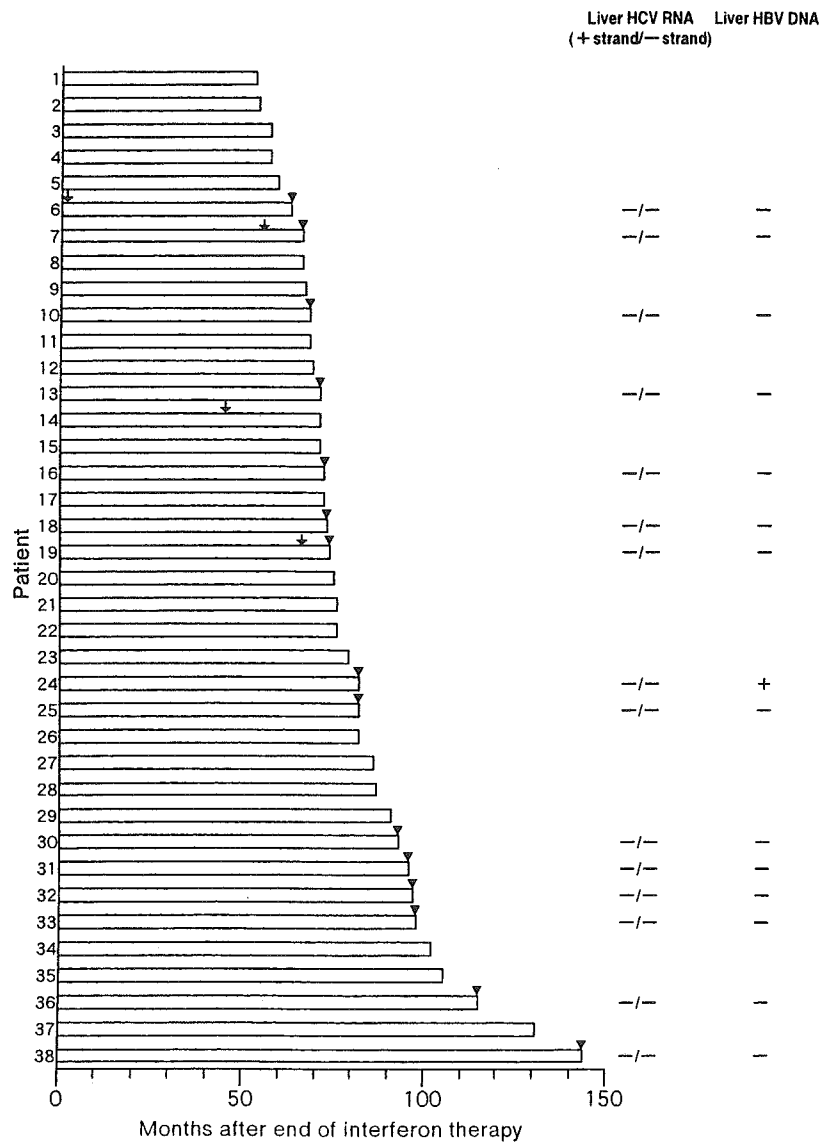


Fig. 1. Long-term clinical courses of chronic hepatitis C patients who achieved virological (patients 1–38) or biochemical (patients 39–75) response at 6 months after the end of interferon (IFN) therapy. [white box], serum hepatitis C virus (HCV) RNA-negative with normal alanine aminotransferase (ALT); [cross-hatched box], serum HCV RNA-positive with

persistently low ALT of  $\leq 2 \times$  upper limit of normal (ULN); [diagonal lines box], serum HCV RNA-positive with ALT fluctuations of  $> 2 \times$  ULN; [solid black box], retreatment with IFN. End-of-follow-up liver biopsies are indicated by closed triangles ( $\blacktriangledown$ ), and the occurrence of hepatocellular carcinoma (HCC) by arrows ( $\blacktriangledown$ ).

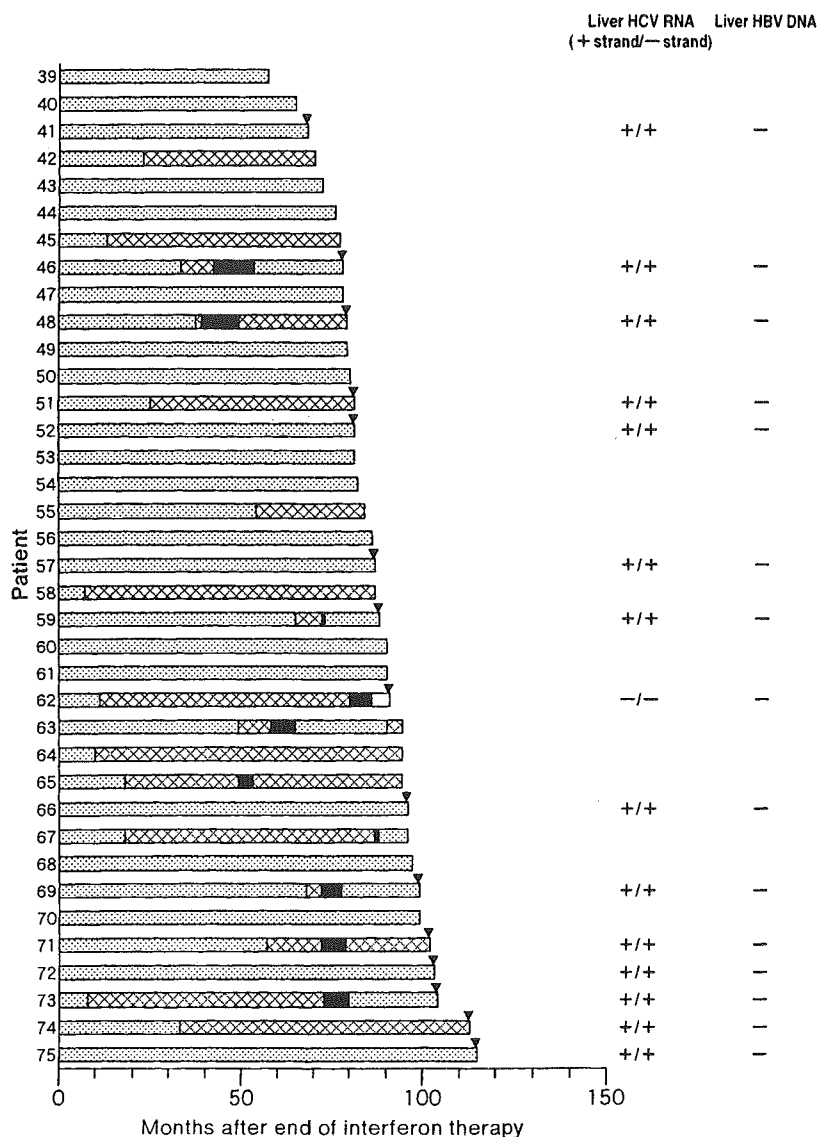


Fig. 1. (Continued)

tion with no fibrosis (Fig. 3). The remaining two patients were treated by transcatheter arterial embolization (TAE) and percutaneous ethanol injection therapy (PEIT). Recurrence occurred in patient 14 but was controlled by the combination therapy.

At the end of follow-up, 15 patients with sustained virological response, including three HCC cases, provided written informed consent to liver biopsies. Paired biopsies were performed at a median of 7.3 years (range 5.9–12.5) after pre-treatment biopsies. Paired biopsies were also performed 6.2–9.8 years apart (median 8.3) on 15 BRs including seven retreated cases. Positive and negative HCV RNA strands were not found in the livers of the 15 SVRs. The  $\log_2$  titer of the HCV core antibody also decreased in each patient (median 7.2, range 2.8–8.3 before treatment vs. median 3.7, range negative to 5.0 at the end;  $P = 0.001$ ), and the mean  $\log_2$  change was

estimated at  $-0.46/\text{year}$  (95% CI  $-0.38$  to  $-0.55$ ). In contrast, all BRs had both HCV RNA strands in the liver except patient 62 who had achieved sustained virological response after retreatment.

Occult HBV in the liver was further studied for the 30 chronic hepatitis C patients after IFN therapy. Paired liver and serum samples were subjected to HBV DNA PCR to amplify the surface and X regions. HBV DNA sequences were not found in any serum samples, but one non-HCC SVR with previous HBV coinfection (patient 24) had the two HBV genomic regions in the liver. The other 29 patients were persistently negative for HBsAg. Anti-HBc and/or anti-HBs were found in 13 patients, but none had liver HBV DNA.

Long-term histological outcomes are shown in Figure 4. The total necroinflammatory score improved in the SVRs (median 7, range 4–11 before treatment vs.