

core protein production was less robust after Ad-T7pol infection; nonetheless, it was clearly detectable. Negative-strand HCV RNA and HCV core protein were not detected when the control Ad-Psi5 vector was used. Quantitative HCV core ELISA results suggested that an MOI of 10 was optimal for adenoviral-driven HCV protein production (Fig. 1D); therefore, an MOI of 10 was selected for all subsequent experiments.

In contrast to increased HCV RNA synthesis and protein production in transfected/infected cells, LacZ mRNA levels decreased rapidly after day 1 and were not detectable after day 7 (data not shown).

3.2. Adenoviral-T7-driven HCV replication is dependent on an intact HCV polymerase gene

The H77_{GDD→AAG} mutant (Fig. 2A) was used to assess whether the HCV RNA polymerase gene (NS5B) was necessary for viral replication. By qualitative RT-PCR of the 5'UTR, HCV negative-strand synthesis was detectable only in the pres-

ence of both H77 and Ad-T7pol (Fig. 2B) in CV-1 cells. The absence of detectable negative-strand HCV RNA upon transfection of the mutant plasmid (H77_{GDD→AAG}) indicates that replication was dependent on an intact polymerase sequence. H77 + Ad-T7pol expressed significantly higher core protein levels compared to H77_{GDD→AAG} + Ad-T7pol (Fig. 2C), further suggesting an intact polymerase sequence is necessary for robust HCV protein production. Ribonuclease protection assay demonstrated the presence of HCV negative-strand in CV-1, Huh7, and Huh-T7 cell lines on day 2 (Fig. 2D). However, negative-strand HCV RNA was not detected when the H77_{GDD→AAG} mutant was transfected, indicating that an intact NS5B sequence was necessary for negative-strand HCV RNA synthesis.

3.3. Kinetic analysis of HCV RNA synthesis and core protein production

The data described above suggest that the Ad-T7pol replication system results in efficient HCV RNA and protein

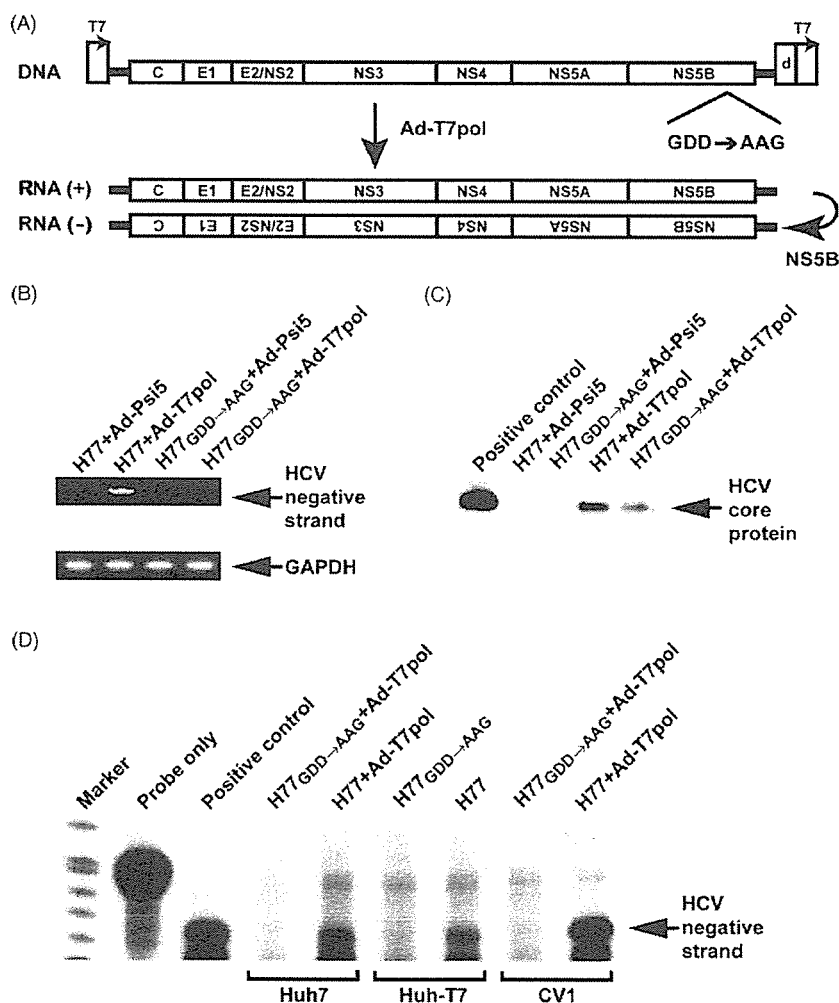


Fig. 2. (A) A control plasmid was prepared by mutating the active site motif from GDD to AAG in the NS5B RNA-dependent RNA polymerase sequence (H77_{GDD→AAG}). (B) A qualitative strand-specific RT-PCR for negative-strand HCV RNA was performed as previously described (Lanford et al., 1995). (C) Western blotting analysis demonstrated that transfection/infection with H77 + Ad-T7-pol also resulted in HCV core protein production. (D) Ribonuclease protection assay demonstrated detectable negative-strand HCV RNA in CV-1, Huh7, and Huh-T7 cell lines on day 2.

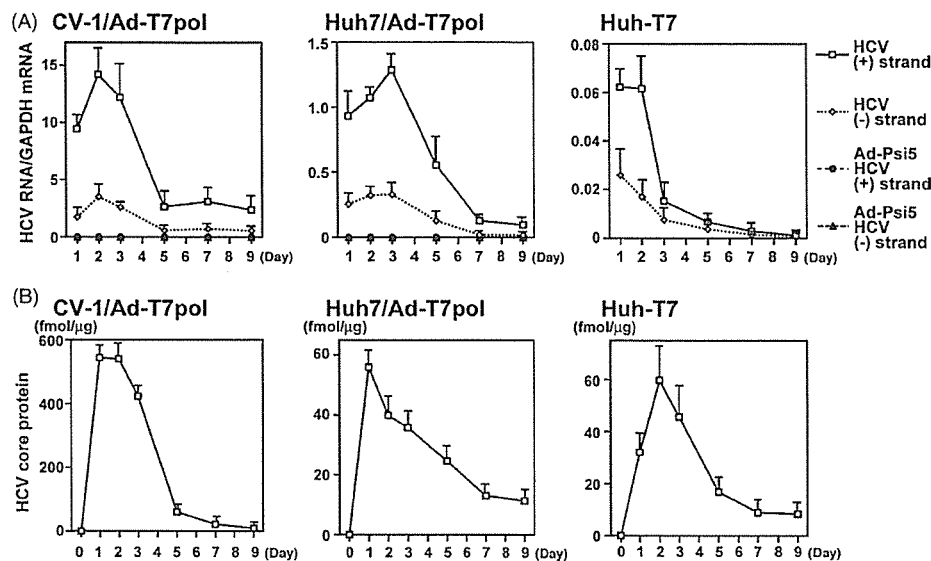


Fig. 3. (A) Real-time PCR of HCV positive- and negative-strand RNA was performed as described. Data are expressed as the strand-specific HCV copy number per molecule of GAPDH. Error bars indicate the mean \pm standard error (S.E.) of four replicates. (B) A quantitative core ELISA measured HCV protein production in CV-1, Huh7, and Huh-T7 cell lines. Data are expressed as fmol (mean \pm S.E.) of HCV core per μ g of total protein for three replicates.

expression without inducing cell toxicity. Thus, the time course of strand-specific HCV RNA synthesis (Fig. 3A) and HCV protein production (Fig. 3B) was examined further in CV-1 and Huh7 cells (transfected with H77 and infected with Ad-T7pol), as well as Huh-T7 cells (transfected with H77). Both positive- and negative-strand HCV RNA were detectable for the entire 9-day experiment in each cell line. Positive-strand HCV RNA levels increased significantly after infection and continued to be expressed at high levels for 3 days and diminished thereafter. Negative-strand HCV RNA synthesis paralleled that of positive-strand throughout the time course; however, the quantity of negative-strand HCV RNA was approximately 10% of positive-strand levels. This is consistent with positive-/negative-strand ratios reported from infected human liver samples (Komurian-Pradel et al., 2004; Laskus et al., 1998). As expected, HCV RNA was not detected in CV-1 or Huh7 cells infected with the Ad-psi5 control vector.

Using an identical experimental approach, HCV core protein production was expressed strongly during days 1–3 in all cell lines examined, and diminished with similar kinetics as HCV RNA (Fig. 3B). Similar to HCV RNA, HCV core protein was detectable for the entire 9-day experiment in each cell line.

To circumvent potential perturbations in the cellular environment due to transfection/infection with viral vectors, experiments in a Huh7 cell line stably transfected with T7 polymerase (Huh-T7) were performed. After transfection of H77 into these cells, positive- and negative-strand HCV RNA were detected (Fig. 3A), as well as HCV core protein (Fig. 3B), throughout the entire 9-day experiment. Interestingly, HCV RNA levels were lower in Huh-T7 cells than in CV-1 and Huh7 cells, although core levels were not appreciably different between Huh7 and Huh-T7 cells.

3.4. IFN efficiently inhibits HCV expression

Utilizing these refined models of HCV replication, the inhibitory effects of IFN on HCV expression were examined. To determine the potential effects of IFN on cellular gene translation, the plasmid OS8 was transfected, and LacZ mRNA levels were measured in the presence of several doses of IFN. LacZ mRNA expression was slightly reduced; however, no significant toxicity in cells exposed to IFN was observed using trypan-blue staining (data not shown).

In CV-1 cells (Fig. 4A), HCV positive-strand RNA levels were significantly decreased in the presence of 1000 IU/mL IFN at day 2 (14.21 ± 3.95 versus 8.55 ± 0.61 , $p < 0.05$). A trend toward reduced HCV RNA was also observed on day 3 (12.23 ± 5.43 versus 4.13 ± 0.74 , $p < 0.10$). In Huh7 cells, a significant decrease of HCV positive-strand was observed on days 2 (1.07 ± 0.07 versus 0.63 ± 0.14 , $p < 0.05$) and 3 (1.29 ± 0.13 versus 0.44 ± 0.15 , $p < 0.05$). In Huh-T7 cells, a significant decrease was also observed on day 2 (0.06 ± 0.03 versus 0.03 ± 0.007 , $p < 0.05$). For HCV negative-strand RNA (Fig. 4B), only day 3 IFN-treated CV-1 cells had significantly decreased levels compared to untreated cells (2.60 ± 0.41 versus 0.97 ± 0.31 , $p < 0.05$).

HCV core protein expression was approximately 10-fold higher in CV-1 cells compared to either Huh7 or Huh-T7 cells (Fig. 4C). IFN treatment of CV-1 cells did not appear to have a large effect on HCV core protein levels; however, HCV core levels were decreased in IFN-treated CV-1 cells compared to untreated cells at days 3 (423.51 ± 25.73 fmol/ μ g versus 190.92 ± 35.25 fmol/ μ g, $p < 0.05$) and 5 (60.24 ± 12.89 fmol/ μ g versus 34.15 ± 0.76 fmol/ μ g, $p < 0.05$). For Huh7 and Huh-T7 cells, HCV core expression was significantly reduced when treated with IFN compared to untreated cells at all time points ($p < 0.05$).

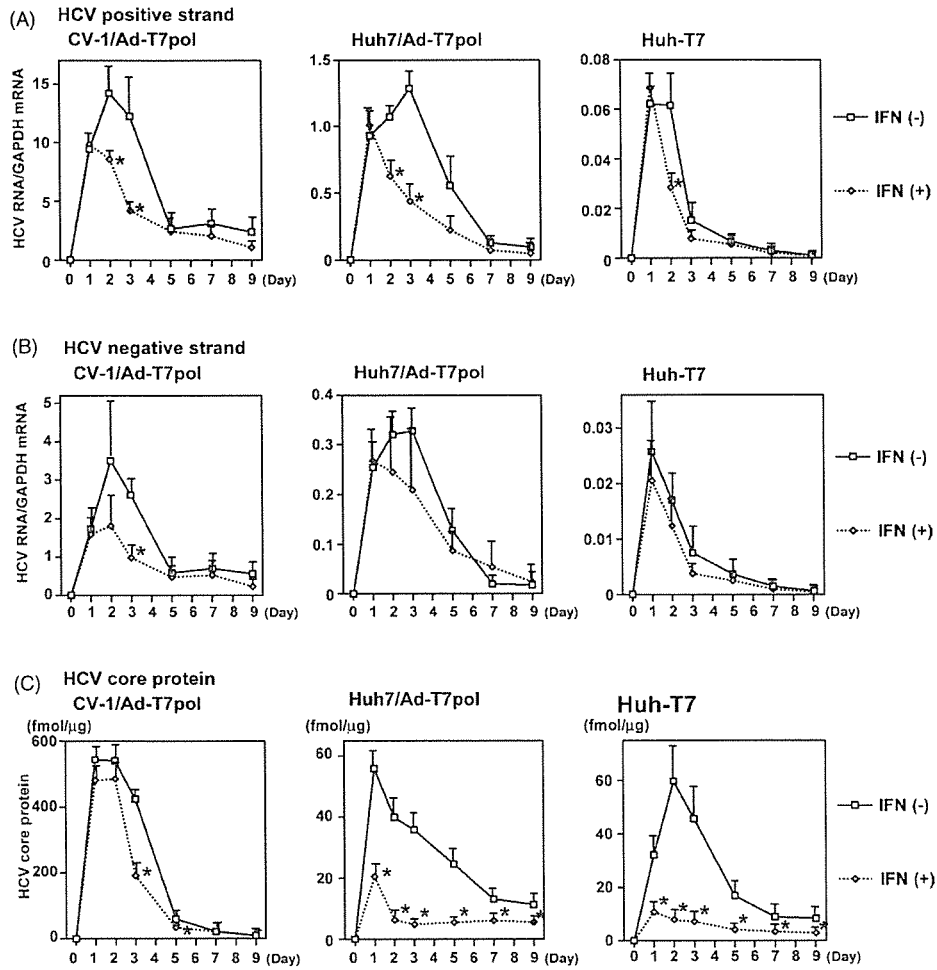


Fig. 4. (A) Real-time PCR of positive-strand HCV RNA was performed in the presence of 1000 IU/mL IFN. Error bar indicates mean \pm S.E. for four replicates (* $p < 0.05$; ** $p < 0.10$). (B) Real-time PCR of negative-strand HCV RNA was also performed in the presence of 1000 IU/mL IFN. (C) Quantitative core ELISA also demonstrated decreased HCV protein production in IFN-treated cells.

4. Discussion

Because of the cytotoxic nature of vaccinia virus, long-term evaluation of HCV RNA synthesis and protein production, as well as characterization of the inhibitory effects of antiviral agents, such as IFN and RBV, was not possible using our previous replication model. By using adenovirus-derived T7 vectors, vaccinia-induced cytotoxicity was removed, allowing sustained detection of HCV replication and protein production for 9 days in multiple cell types. The refined binary HCV replication system efficiently synthesized HCV negative-strand RNA, an important indicator of ongoing, active viral replication, in an NS5B-dependent manner, as no negative-strand HCV RNA was detected upon transfection of an NS5B mutant. Using Huh7 cell lines stably expressing T7 polymerase (Huh-T7), dependence of the replication models on any viral vectors was removed. Quantities of HCV RNA synthesis and protein production in Huh-T7 cells were not as robust as in CV-1 or Huh7 cells transfected with Ad-T7. However, sustained HCV replication in Huh-T7 cells, with no obvious signs of cytotoxicity, suggests that this

viral vector-independent replication model will be useful for future studies of virus–host interactions and the development of antiviral agents with activity against HCV genotype 1.

These binary systems offer several advantages over currently available HCV replication systems. First, these replication models do not require continuous antibiotic selection as do current replicon systems (Blight et al., 2000; Frese et al., 2001; Guo et al., 2001; Lohmann et al., 1999). Second, the requirement of highly adaptive viral mutations for efficient replicon activities that are not necessarily viable in vivo (Bukh et al., 2002) may limit the interpretability of certain findings obtained from replicon systems. Because the refined replication models do not require continuous selection and do not possess highly ‘adaptive’ viral mutations, they are more authentic for characterization of antiviral agents, virus–host interactions, and viral fitness. Third, these replication systems can be used to study HCV replication in a variety of hepatocyte- and non-hepatocyte-derived cell types; in contrast, replicon systems only replicate efficiently in Huh7 cells. Most importantly, these replication systems use a full-length infectious genotype 1a cDNA construct that yields an

Table 1
Several similarities and differences between the vaccinia and adenovirus systems exist

	Vaccinia	Ad-T7
T7 polymerase delivery	Vaccinia virus	Adenovirus
Cytotoxicity	Yes	No
HCV replication	(+) and (–) strand synthesis; high levels	(+) and (–) strand synthesis; low but effective levels
Duration of replication	24 h	9 days
HCV protein production	Yes	Yes
Quasispecies generation	Yes	Yes
IFN inhibits replication	Yes	Yes

authentic dual-function template in vivo that is both translated and transcribed. Moreover, transfected cells in our replication systems are able to express all HCV structure and non-structural proteins (Lin et al., 2005). Thus, they are more likely to carry out authentic HCV RNA replication than replicon systems based on sub-genomic constructs.

Several significant differences exist between the vaccinia and adeno-T7 replication systems (Table 1). Both are capable of positive- and negative-strand HCV RNA synthesis, protein production, and quasispecies generation without the need for cell culture adaptive mutations (Chung et al., 2001; Contreras et al., 2002; Blackard and Hiasa et al., unpublished data). HCV replication is inhibited significantly by IFN in both systems. However, the vaccinia-based system replicates at much higher levels than the adeno-T7-based system; yet, HCV RNA synthesis occurs for at least 9 days in the former due to the lack of vector-induced cytotoxicity. Nonetheless, the decrease of HCV RNA synthesis and protein production after 3 days suggests an inhibitory effect exerted by key host cells proteins, such as protein kinase R (PKR), since adenoviruses do not inhibit PKR function as does vaccinia virus (Chang et al., 1992; Watson et al., 1991). Further examination of host antiviral pathways that limit robust long-term viral replication in culture is necessary.

We used these refined replication systems to explore the kinetics of HCV RNA synthesis and protein production in the presence of IFN. When 1000 IU/mL of IFN was added to the culture medium of HCV-expressing cells, there was no difference in HCV positive- or negative-strand quantity compared to untreated cells at day 1. Despite this lack of short-term antiviral activity, HCV RNA was significantly decreased in IFN-treated cells at days 2 and 3, suggesting that the full effects of IFN may require at least 24 h.

This cell-based HCV replication system has already been used to examine the interaction between HCV protein expression and host type I IFN signaling components in the Jak-STAT kinase pathway (Lin et al., 2005). Recently, in vitro systems that support infectious HCV production have been reported. However, these systems are based on HCV genotype 2a (Wakita et al., 2005; Zhong et al., 2005) and do not support replication in cells other than the highly permissive Huh-7 cell line and its derivatives. Importantly, the replication systems described here are based on genotype 1a isolate and replicate in several hepatocyte- and non-hepatocyte-derived cell lines. Thus, these

refined replication models provide the opportunity to explore HCV molecular biology and the interactions between antiviral agents and specific HCV and/or host proteins that are relevant to genotype 1 infection.

Acknowledgements

We thank Drs. Michinori Kohara and Bryan R.G. Williams for anti-HCV core and anti-PKR antibodies, respectively. We thank Dr. Stanley M. Lemon for the Huh-T7 cell line. This work supported by a Postdoctoral Research Fellowship Award from the American Liver Foundation (to Y.H.), a Grant-in-Aid for Scientific Research Grant (JSPS KAKENHI 15790350 and 17590650) from the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (to Y.H.), and NIH Grants RO1 DK57857 (to R.T.C.) and RO1 AI43478 (to E.V.S.).

References

- Alter, M.J., Kruszon-Moran, D., Nainan, O.V., McQuillan, G.M., Gao, F., Moyer, L.A., Kaslow, R.A., Margolis, H.S., 1994. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N. Engl. J. Med.* 341, 556–562.
- Blackard, J.T., Smeaton, L., Hiasa, Y., Horiike, N., Onji, M., Jamieson, D.J., Rodriguez, I., Mayer, K.H., Chung, R.T., 2005. Detection of hepatitis C virus (HCV) in serum and peripheral blood mononuclear cells of HCV-monoinfected and HIV/HCV-coinfected persons. *J. Infect. Dis.* 192, 258–265.
- Blight, K.J., Kolykhalov, A.A., Rice, C.M., 2000. Efficient initiation of HCV RNA replication in cell culture. *Science* 290, 1972–1974.
- Bouvier-Alias, M., Patel, K., Dahari, H., Beaucourt, S., Larderic, P., Blatt, L., Hezode, C., Picchio, G., Dhumeaux, D., Neumann, A., McHutchison, J.G., Pawlotsky, J.M., 2002. Clinical utility of total HCV core antigen quantification: a new indirect marker of HCV replication. *Hepatology* 36, 211–218.
- Bukh, J., Pietschmann, T., Lohmann, V., Krieger, N., Faulk, K., Engle, R.E., Govindarajan, S., Shapiro, M., St. Claire, M., Bartenschlager, R., 2002. Mutations that permit efficient replication of hepatitis C virus RNA in Huh-7 cells prevent productive replication in chimpanzees. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 14416–14421.
- Carroll, K., Elroy-Stein, O., Moss, B., Jagus, R., 1993. Recombinant vaccinia virus K3L gene product prevents activation of double-stranded RNA-dependent, initiation factor 2 alpha-specific protein kinase. *J. Biol. Chem.* 268, 12837–12842.
- Castet, V., Fournier, C., Soulier, A., Brillet, R., Coste, J., Larrey, D., Dhumeaux, D., Maurel, P., Pawlotsky, J.M., 2002. Alpha interferon inhibits hepatitis C virus replication in primary human hepatocytes infected in vitro. *J. Virol.* 76, 8189–8199.
- Chang, H.-W., Watson, J.C., Jacobs, B.L., 1992. The E3L gene of vaccinia virus encodes an inhibitor of the interferon-induced, double-stranded RNA-dependent protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 4825–4829.
- Chung, R.T., He, W., Saquib, A., Contreras, A.M., Xavier, R.J., Chawla, A., Wang, T.C., Schmidt, E.V., 2001. Hepatitis C virus replication is directly inhibited by INF- α in a full-length binary expression system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 9847–9852.
- Chung, R.T., Kaplan, L.M., 1999. Heterogenous nuclear ribonucleoprotein 1 (hnRNP-1/PTB) selectively binds the conserved 3' terminus of hepatitis C viral RNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 254, 351–362.
- Contreras, A.M., Hiasa, Y., He, W., Terella, A., Schmidt, E.V., Chung, R.T., 2002. Viral RNA mutations are region specific and increased by ribavirin in a full-length hepatitis C virus replication system. *J. Virol.* 76, 8505–8517.

- Dobson, A.T., Margolis, T.P., Sedarati, F., Stevens, J.G., Feldman, L.T., 1990. A latent, nonpathogenic HSV-1-derived vector stably expresses β -galactosidase in mouse neurons. *Neuron* 5, 353–360.
- Frese, M., Pietschmann, T., Moradpour, D., Haller, O., Bartenschlager, R., 2001. Interferon-alpha inhibits hepatitis C virus subgenomic RNA replication by an MxA-independent pathway. *J. Gen. Virol.* 82, 723–733.
- Fuerst, T.R., Niles, E.G., Studier, F.W., Moss, B., 1986. Eukaryotic transient-expression system based on recombinant vaccinia virus that synthesizes bacteriophage T7 RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 8122–8126.
- Gale M.Jr., Tan, S.-L., Wambach, M., Katze, M.G., 1996. Interaction of the interferon-induced PKR protein kinase with inhibitory proteins p58IPK and vaccinia virus K3L is mediated by unique domains. *Mol. Cell Biol.* 16, 4172–4181.
- Guo, J.T., Bichko, V.V., Secger, C., 2001. Effect of alpha interferon on the hepatitis C virus replicon. *J. Virol.* 75, 8516–8523.
- Hiasa, Y., Horiike, N., Akbar, S.M., Saito, I., Miyamura, T., Matsuura, Y., Onji, M., 1998. Low stimulatory capacity of lymphoid dendritic cells expressing hepatitis C virus genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249, 90–95.
- Hiasa, Y., Kamegaya, Y., Nuriya, H., Onji, M., Kohara, M., Schmidt, E.V., Chung, R.T., 2003. PKR is increased and is functional in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Am. J. Gastroenterol.* 98, 2528–2534.
- Kashiwakuma, T., Hasegawa, A., Kajita, T., Tanaka, A., Mori, H., Ohta, Y., Tanaka, E., Kiyosawa, K., Tanaka, T., Tanaka, S., Hattori, N., Kohara, M., 1996. Detection of hepatitis C virus specific core protein in serum of patients by a sensitive fluorescence enzyme immunoassay (FEIA). *J. Immunol. Methods* 190, 79–89.
- Komurian-Pradel, F., Perret, M., Dciman, B., Sodoyer, M., Lotteau, V., Paranhos-Baccala, G., Andre, P., 2004. Strand specific quantitative real-time PCR to study replication of hepatitis C virus genome. *J. Virol. Methods* 116, 103–106.
- Lanford, R.E., Chavez, D., Chisari, F.V., Sureau, C., 1995. Lack of detection of negative-strand hepatitis C virus RNA in peripheral blood mononuclear cells and other extrahepatic tissues by the highly strand-specific rTth reverse transcriptase PCR. *J. Virol.* 69, 8079–8083.
- Laskus, T., Radkowski, M., Wang, L.F., Cianciara, J., Vargas, H., Rakela, J., 1997. Hepatitis C virus negative strand RNA is not detected in peripheral blood mononuclear cells and viral sequences are identical to those in serum: a case against extrahepatic replication. *J. Gen. Virol.* 78, 2747–2750.
- Laskus, T., Radkowski, M., Wang, L.F., Vargas, H., Rakela, J., 1998. Search for hepatitis C virus extrahepatic replication sites in patients with acquired immunodeficiency syndrome: specific detection of negative-strand viral RNA in various tissues. *Hepatology* 28, 1398–1401.
- Lin, W., Choe, W.H., Hiasa, Y., Kamegaya, Y., Blackard, J., Schmidt, E.V., Chung, R.T., 2005. Hepatitis C virus expression suppresses interferon signaling by degrading STAT1. *Gastroenterology* 128, 1034–1041.
- Lohmann, V., Korner, F., Koch, J., Herian, U., Theilmann, L., Bartenschlager, R., 1999. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 285, 110–113.
- McHutchison, J.G., Poynard, T., 1999. Combination therapy with interferon plus ribavirin for the initial treatment of chronic hepatitis C. *Semin. Liver Dis.* 19, 57–65.
- Miyake, S., Makimura, M., Kanegae, Y., Harada, S., Sato, Y., Takamori, K., Tokuda, C., Saito, I., 1996. Efficient generation of recombinant adenoviruses using adenovirus DNA-terminal protein complex and a cosmid bearing the full-length virus genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 1320–1324.
- Schultz, D.E., Honda, M., Whetter, L.E., McKnight, K.L., Lemon, S.M., 1996. Mutations within the 5' nontranslated RNA of cell culture-adapted hepatitis A virus which enhance cap-independent translation in cultured African green monkey cells. *J. Virol.* 70, 1041–1049.
- Wakita, T., Pietschmann, T., Kato, T., Date, T., Miyamoto, M., Zhao, Z., Murthy, K., Habermann, A., Krausslich, H.G., Mizokami, M., Bartenschlager, R., Liang, T.J., 2005. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat. Med.* 11, 791–796.
- Watson, J.C., Chang, H.-W., Jacobs, B.L., 1991. Characterization of a vaccinia virus-encoded double-stranded RNA-binding protein that may be involved in inhibition of the double-stranded RNA-dependent protein kinase. *Virology* 185, 206–216.
- Wold, W.S., Gooding, L.R., 1989. Adenovirus E3 proteins that prevent cytotoxicity by cytotoxic T cells and tumor necrotic factor. *Mol. Biol. Med.* 6, 433–452.
- Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U., Bukh, J., 1997. Transcripts from a single full-length cDNA clone of hepatitis C virus are infectious when directly transfected into the liver of a chimpanzee. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 8738–8743.
- Zhong, J., Gastaminza, P., Cheng, G., Kapadia, S., Kato, T., Burton, D.R., Wieland, S.F., Uprichard, S.L., Wakita, T., Chisari, F.V., 2005. Robust hepatitis C virus infection in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 9294–9299.

C型慢性肝炎のPEG-IFN α 2a 単独治療における 途中中止例の予測

—SF-36 を用いた投与開始前鬱症状のスクリーニング—

泉 明佳¹⁾・岡本 華枝²⁾・佐々木千枝¹⁾・坂之上律子³⁾
 稲田 暢³⁾・大和 隆明³⁾・西野 謙³⁾・足立 会美³⁾
 花野 伸一³⁾・末廣 満彦³⁾・川中 美和³⁾・新山 豪一³⁾
 戸川 三省³⁾・山田剛太郎¹⁾³⁾

はじめに

従来のインターフェロン (IFN) と比較すると、PEG-IFN α 2a は副作用が少なく QOL の低下は一般に軽度とされているが、経過中に強い自他覚症状のために投与中止となった患者も一部に認められる。

自他覚症状のために途中中止に至る原因としては、高齢、投与量などの因子に加え、患者本人の心の健康 (鬱傾向) のために自他覚症状が強く出現する場合も考えられる。前回、PEG-IFN α 2a 投与開始後 24 週経過した 50 症例について SF-36¹⁾ を用いて健康関連 QOL への影響について評価し、報告した²⁾。

その後、これら 50 症例については PEG-IFN α 2a の 48 週投与と 24 週の経過観察期間が終了したが、うち 8 例が有害事象のために投与が

途中中止に至っている。中止した 8 例中 6 例は強い全身倦怠や頭痛、筋肉痛などの自他覚症状のためであった。今回、SF-36 を用いて投与開始前健康関連 QOL を評価することによって中止の予測が可能かどうか、8 項目のサブスケールに加えて、最近、鬱症状のスクリーニングに有用として報告された心の健康指数 (5 項目: MHI-5, 3 項目: MHI-3) を用いて検討を行ったので報告する。

I. 対象・調査方法

対象は HCV-RNA 陽性の C 型慢性肝炎患者で、2003 年 12 月から 2004 年 3 月までに PEG-IFN α 2a の投与を開始し、原則として 48 週投与を実施、その後 24 週の経過観察をしている 50 例である。SF-36¹⁾ による健康関連 QOL のアンケート調査を、投与開始前 0 週に実施し

1) 川崎医科大学附属川崎病院 肝臓・消化器病センター臨床研究部 2) 旭川荘療育センター療育園

3) 川崎医科大学附属川崎病院 肝臓・消化器病センター内科

Investigation of patients using the SF-36 screening method following depression from previous PEG-interferon α 2a treatment

Akiyoshi Izumi et al Department of Clinical Research, Center for Liver Disease, Kawasaki Hospital, Kawasaki Medical School

Key words : C 型慢性肝炎の治療, 心の健康, PEG-IFN α 2a, 健康関連 QOL, SF-36

表 1 PEG-IFN α 2a 投与 50 例の背景

平均年齢 (歳) (65 歳以上/未満)	58.2 \pm 11.4 (15/35)
性 別 (M/F)	24/26
肝線維化診断 (F1/F2/F3/F4)	17/11/9/13
ALT (U/l)	83.1 \pm 62.9
血小板数 ($\times 10^4/\mu$ l)	13.7 \pm 5.7
HCV-RNA (サブタイプ・ウイルス量) (1 型高ウイルス/1 型低ウイルス/2 型)	24/9/17
PEG-IFN 開始投与量 (180 μ g/90 μ g, 週 1 回)	32/18

表 2 48 週投与例と途中中止例での背景因子の比較

	48 週投与例 (n=42)	途中中止例 (n=8)	p-value
平均年齢 (65 歳以上%)	58.6 \pm 11.2 (31%)	55.8 \pm 12.7 (25%)	NS (NS)
性 別 (M/F)	20/22	4/4	NS
肝線維化診断 (F1/F2/F3/F4)	14/9/8/11	3/2/1/2	NS
ALT (U/l)	77.5 \pm 56.6	112.3 \pm 87.9	NS
血小板数 ($\times 10^4/\mu$ l)	13.2 \pm 5.3	16.1 \pm 7.7	NS
HCV-RNA (サブタイプ・ウイルス量) (1 型高ウイルス/1 型低ウイルス/2 型)	19/8/15	5/1/2	NS
開始投与量 (180 μ g/90 μ g, 週 1 回)	27/15	5/3	NS

た。アンケートを行うにあたり、研究目的、内容を説明し、同意が得られた患者に対し SF-36 Ver 1.2 (Acute 版) を用いて自己記入式での調査を行った。

アンケート結果は、SF-36 スコアリングプログラムを用いてスコアリングを行い、SF-36 サブスケール 8 項目 { 身体機能 (PF), 身体的な日常役割機能 (RP), 体の痛み (BP), 全体的健康感 (GH), 活力 (VT), 社会生活機能 (SF), 精神的な日常役割機能 (RE), 心の健康 (MH) } を 0~100 得点で算出した後、日本人の国民標準値を用いた偏差得点へと換算した。解析の際には、属性との関係を見るため対象の群別を行い、パラメトリック・ノンパラメトリック検定を行った。有意差検定には統計ソフト JMP と SAS を使用した。

鬱症状の指標として報告されている SF-36 を用いた心の健康指数 (MHI)³⁾についても検討

した。Yamazaki らの報告³⁾に従って、5 項目質問法 (以降、MHI-5 と記す) は 69 点以上 (正常), 61~68 点 (「軽度」以上の鬱ないしは鬱症状), 53~60 点 (「中等度」以上の鬱ないしは鬱症状), 52 点以下 (「高度」の鬱ないしは鬱症状) の 4 群に群別した。さらに、3 項目質問法 (以降 MHI-3 と記す) では、15 点以上 (正常), 14 点 (「軽度」以上の鬱ないしは鬱症状), 13 ないし 12 点 (「中等度」以上の鬱ないしは鬱症状), 11 点以下 (「高度」の鬱ないしは鬱症状) の 4 群に群別した。MHI と中止率の統計的解析には、MHI-5 では 61 点以上と 60 点以下の 2 群、MHI-3 では 14 点以上と 13 点以下の 2 群に分けて解析を試みた。

II. 結 果

1. 患者背景 (表 1)

対象は、平均年齢 58.2 \pm 11.4 歳, 男性 24 名,

表 3 PEG-IFN α 2a 投与症例の治療効果

() : %

	HCV-RNA 陰性化		ALT 正常化	
	ETR	SVR	終了時	P6M
180 μ g 投与開始群	21/32 (65.6)	14/29* (48.3)	21/32 (65.6)	18/29* (62.1)
1型高ウイルス	6/12 (50.0)	0/9* (0)	7/12 (58.3)	4/9* (44.4)
1型低ウイルス	5/7 (71.4)	5/7 (71.4)	5/7 (71.4)	5/7 (71.4)
2型	10/13 (76.9)	9/13 (69.2)	9/13 (69.2)	9/13 (69.2)
90 μ g 投与開始群	6/18 (33.3)	3/17** (17.6)	10/18 (55.6)	4/17** (23.5)
1型高ウイルス	3/12 (25.0)	0/11** (0)	6/12 (50.0)	1/11** (9.1)
1型低ウイルス	1/2 (50.0)	1/2 (50.0)	1/2 (50.0)	1/2 (50.0)
2型	2/4 (50.0)	2/4 (50.0)	3/4 (75.0)	2/4 (50.0)

* : 継続して投与中の3例を除く

** : 継続して投与中の1例を除く

女性26名である。肝線維化診断⁴⁾では、F1/F2/F3/F4がそれぞれ17/11/9/13例、開始前ALTは平均 83.1 ± 62.9 U/l、開始前血小板数は $13.7 \pm 5.7 \times 10^4 / \mu$ l、HCV-RNA サブタイプとウイルス量では、1型高ウイルス量24例、1型低ウイルス量9例、2型17例であった。対象50名のうち、32名に対しては180 μ g、週1回、18名に対しては90 μ g、週1回でPEG-IFN α 2aの治療を開始した。

48週投与例と途中中止例での背景因子の比較(表2)では、平均年齢、年齢区分(65歳以上/未満)、性別、肝線維化診断、開始前ALT、開始前血小板数、HCV-RNA サブタイプとウイルス量区分、PEG-IFN 開始投与量のすべてにおいて、両群間に有意差はみられなかった。

2. PEG-IFN α 2a 投与症例の治療効果

PEG-IFN 投与50例の治療効果を表3に示す。投与終了後6カ月後のHCV-RNA 陰性化(SVR)率、ALTの正常化率は、48週投与後PEG-IFN α 2aを追加投与中、追加投与終了後経過観察中の4例を除いて計算した。

HCV-RNA サブタイプ、ウイルス量別の治療効果では、1型高ウイルス量ではSVR例がみられなかった。1型低ウイルス量群と2型群については、180 μ g 投与群で約70%の治療効果が

みられた。途中中止となった8例中、2例では投与中止後6カ月間のALT正常化がみられた。

3. 開始前SF-36 偏差得点

PEG-IFN α 2a 投与50例について、48週投与例と途中中止例での開始前SF-36 偏差得点の比較を行った(表4)。全体50例、PEG-IFN 開始投与量別(180 μ g、週1回、90 μ g、週1回)ともに、すべてのサブスケール偏差得点に有意差はみられなかった。

4. 開始前MHI-5 質問法とMHI-3 質問法別中止率

MHI-5のスコア区分を使用して中止率の検討を行った(表5)。MHI-5スコア区分別の中止率は、69点以上:4/35(11.5%)、61~68点:0/6(0%)、53~60点:3/6(50.0%)、52点以下:1/3(33.3%)となり、MHI-5スコア61点以上と、60点以下の2群に分けての中止率の検討では61点以上の群に比較して、60点以下の群では有意に中止率が高かった(p=0.0203)。

MHI-3のスコア区分別の中止率は15点以上:4/32(12.6%)、14点:2/10(20.0%)、12、13点:1/5(20.0%)、11点以下:1/3(33.3%)となった。MHI-3についてもMHI-5と同様に、14点以上と13点以下の2群に分けて中止率を検討したが有意な差はみられなかった。

表 4 PEG-IFN α 2a 投与症例中, 48 週投与例と途中中止例での開始前 SF-36 の 8 項目別偏差得点の比較
[全 体] (n=50)

	PF_T	RP_T	BP_T	GH_T	VT_T	SF_T	RE_T	MH_T
48 週投与例 (n=42)	50.3±8.7	54.0±7.5	56.3±7.6	47.5±10.0	51.3±10.8	51.2±10.1	54.3±5.6	51.8±8.0
途中中止例 (n=8)	43.4±13.1	49.8±11.7	54.0±5.8	47.7±6.4	50.9±9.4	53.5±5.5	55.4±1.0	51.7±8.7
p-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

[180 μ g 投与開始群] (n=32)

	PF_T	RP_T	BP_T	GH_T	VT_T	SF_T	RE_T	MH_T
48 週投与例 (n=27)	49.7±9.1	52.9±8.3	54.7±7.8	47.2±9.5	51.4±10.1	50.4±10.1	55.1±0.9	51.4±8.2
途中中止例 (n=5)	42.3±15.9	46.6±12.7	55.5±6.0	48.2±7.5	49.4±10.5	53.2±6.3	55.1±1.1	48.4±7.9
p-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

[90 μ g 投与開始群] (n=18)

	PF_T	RP_T	BP_T	GH_T	VT_T	SF_T	RE_T	MH_T
48 週投与例 (n=15)	51.2±8.2	55.9±5.8	59.2±6.5	48.2±11.0	51.2±12.3	52.6±10.3	52.7±9.3	52.6±7.8
途中中止例 (n=3)	46.1±0.8	57.8±1.7	50.2±3.6	46.5±4.6	54.7±7.3	54.2±5.1	56.2±0.5	60.0±4.0
p-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

表 5 PEG-IFN α 2a 投与 50 例における MHI-5, MHI-3 によるスコア別中止率

	MHI-5			
	69 点以上 (n=35)	61~68 点 (n=6)	53~60 点 (n=6)	52 点以下 (n=3)
中止率 (%)	4/35 (11.5)	0/6 (0)	3/6 (50.0)	1/3 (33.3)
	4/41 (9.8)		4/9 (44.4%)	

p=0.0203

	MHI-3			
	15 点以上 (n=32)	14 点 (n=10)	12, 13 点 (n=5)	11 点以下 (n=3)
中止率 (%)	4/32 (12.6)	2/10 (20.0)	1/5 (20.0)	1/3 (33.3)
	6/42 (14.3)		2/8 (25.0)	

NS

表 6 PEG-IFN α 2a 投与量別の MHI-5 によるスコア別中止率
[180 μ g 投与開始群]

	MHI-5			
	69 点以上 (n=22)	61~68 点 (n=4)	53~60 点 (n=4)	52 点以下 (n=2)
中止率 (%)	2/22 (9.1)	0/4 (0)	3/4 (75.0)	0/2 (0)
	2/26 (7.7)		3/6 (50.0)	

p=0.0211

[90 μ g 投与開始群]

	MHI-5			
	69 点以上 (n=13)	61~68 点 (n=2)	53~60 点 (n=2)	52 点以下 (n=1)
中止率 (%)	2/13 (15.4)	0/2 (0)	0/2 (0)	1/1 (100)
	2/15 (13.3)		1/3 (33.3)	

NS

表 7 PEG-IFN α 2a 投与中止時期・理由

年齢 (歳)	性別	開始投与量	中止時期	中止理由	MHI-5	MHI-3
41	M	180 μ g	38 W	全身倦怠	60 点以下	14 点以上
52	M	180 μ g	10 W	知覚異常の増強	60 点以下	13 点以下
61	M	180 μ g	4 W	頭痛, 筋肉痛, 不眠	60 点以下	14 点以上
44	M	90 μ g	35 W	下肢の痛み	60 点以下	13 点以下
63	F	90 μ g	35 W	筋肉痛, 頭痛の増強, 味覚異常	61 点以上	14 点以上
72	F	90 μ g	16 W	筋肉痛, 関節痛の増強	61 点以上	14 点以上
42	F	180 μ g	10 W	肝機能の急激な悪化 (AST, ALT 1,000 U/l 以上)	61 点以上	14 点以上
71	F	180 μ g	27 W	眼底出血	61 点以上	14 点以上

MHI-5 スコア区分を, さらに PEG-IFN 開始投与量別に分けて検討を行った (表 6)。180 μ g/回/週投与群では 69 点以上: 2/22 (9.1%), 61~68 点: 0/4 (0%), 53~60 点: 3/4 (75.0%), 52 点以下: 0/2 (0%) となり, 61 点以上: 2/26 (7.7%) と 60 点以下: 3/6 (50.0%) の比較では, 60 点以下の群は有意に中止率が高かった (p=0.0211)。90 μ g/回/週投与群についても検討を行ったが, MHI-5 スコア区分と中止率に

有意な差はみられなかった。

5. PEG-IFN α 2a 中止時期, 理由

PEG-IFN 開始投与量別の中止時期, 理由の詳細 (表 7) をみると, 180 μ g/回/週投与群では, MHI-5 スコア 61 点以上 2 例 (肝機能の急激な悪化: 1 例, 眼底出血: 1 例), 60 点以下 3 例 (全身倦怠: 1 例, 知覚異常の増強: 1 例, 頭痛, 筋肉痛, 不眠: 1 例) であった。90 μ g/回/週投与群では, MHI-5 スコア 61 点以上 2 例 (筋肉痛,

表 8 年齢 (65 歳以上/未満) と MHI-5 スコアによる中止率 (%)

全 体	Total	MHI-5	
		61 点以上	60 点以下
65 歳以上 (n=15)	2/15 (13.3)	2/14 (14.3)	0/1 (0)
65 歳未満 (n=35)	6/35 (17.1)	2/27 (7.4)	4/8 (50.0)

180 μ g 投与開始群	Total	MHI-5	
		61 点以上	60 点以下
65 歳以上 (n=5)	1/5 (20.0)	1/4 (25.0)	0/1 (0)
65 歳未満 (n=27)	4/27 (14.8)	1/22 (4.5)	3/5 (60.0)

90 μ g 投与開始群	Total	MHI-5	
		61 点以上	60 点以下
65 歳以上 (n=10)	1/10 (10.0)	1/10 (10.0)	0/0 (0)
65 歳未満 (n=8)	2/8 (25.0)	1/5 (20.0)	1/3 (33.3)

関節痛の増強：1 例，筋肉痛，頭痛の増強，味覚異常：1 例，60 点以下 1 例(下肢の痛み)であった。

途中中止例の中止後の経過では，HCV-RNA の陰性化は全例みられないが，中止後 6 カ月間の ALT 正常化例が 2 例であった。中止後現在まで，肝臓癌の発生例はなく 3 例に対しては IFN の再投与を行った。

6. 高齢者での減量・中止

65 歳未満と 65 歳以上の高齢者での中止率の検討(表 8)では，全体での 65 歳未満の中止率は 6/35 (17.1%)，65 歳以上では 2/15 (13.3%) であった。さらに，MHI-5 を 61 点以上と 60 点以下の 2 群に分けて中止率をみると，MHI-5 が 61 点以上では 65 歳未満：2/27 (7.4%)，65 歳以上：2/14 (14.3%) と，65 歳未満に比較して 65 歳以上の高齢者では中止率が高くなっていたが，有意な差はみられなかった。MHI-5 が 60 点以下については，65 歳以上の高齢者では 1 例しかなかった。

PEG-IFN 開始投与量別に分けて同様に中止率を検討すると，180 μ g/回/週投与群では，65 歳未満：4/27 (14.8%)，65 歳以上：1/

5 (20.0%) となり，90 μ g/回/週投与群では 65 歳未満：2/8 (25.0%)，65 歳以上：1/10 (10.0%) となった。さらに MHI-5 で 2 群に分けたが，いずれの場合も年齢と中止率に有意な差はみられなかった。

III. 考 察

C 型慢性肝炎では PEG-IFN α 2a 投与を開始して 72 週経過した 50 例について，強い自他覚症状による投与の途中中止症例を投与開始前の健康関連 QOL から予測が可能かどうか検討を行った。8 項目のサブスケールを 48 週投与例と途中中止例の 2 群間で比較しただけでは有意差はみられなかった。偏差得点は，日本人の国民標準値を用いることによって評価をやすくしているものの，各サブスケールの分布型は考慮されていないためである。

しかし，投与開始前の心の健康指数である MHI-5 を用いて 60 点以下(「中等度」以上の鬱)の症例群と 61 点以上(「健康」ないしは「軽度」の鬱)の症例群に分けて比較すると，60 点以下の群で中止率は有意に高くなっていた。投与開始前 MHI-5 が 60 点以下の中止症例はい

ずれも頭痛や筋肉痛などの痛み、全身倦怠などの強い自覚症状が認められていた。

日本人における鬱ないしは鬱症状の頻度は3.5%⁹⁾から45%¹⁰⁾と検査方法によって大きな差が認められる。MHI-5を用いた日本人4,500人での「軽度」以上の鬱症状の頻度は37%、「中等度」以上が14%と報告されている⁹⁾。今回、PEG-IFNで治療した50例の投与前のMHI-5スコアでは「軽度」以上の鬱症状が30%、「中等度」以上の鬱症状が18%に認められ、ほぼ似た成績であった。通常の間診ではいずれも過去に鬱などの治療歴は認められていない。

IFN治療に伴う精神症状としてはいらいら、不安などの鬱症状から、自殺企図などの重篤な副作用に至る多様な副作用が報告されている⁷⁾。精神症状の発生頻度は、内科の大規模なretrospectiveな副作用発生報告では0.1~2.4%であり、prospectiveに心理テストを使用した報告では、4.6~40%と多い。このようなばらつきの要因として、内科の通常治療では精神症状が見落とされる傾向が強いことや、IFN治療では一過性の抑鬱傾向がみられることが指摘されている。

今回、投与を中止した症例ではいずれも明らかな鬱症状は認められていないが、開始前のMHI-5スコア診断で「中等度」以上の鬱の存在が推測されていたことは、強い筋肉痛や全身倦怠の発生は鬱と密接に関連していた可能性が高い。今後は問診のみでなく、MHI-5によるアンケート調査も実施し、「中等度」以上の鬱症状が疑われる症例のIFN治療にあたっては精神科医などによる積極的な介入によって、中止に至る症例を少しでも減らすように努められれば、と考えている。

年齢とMHI-5については、65歳以上の高齢者ではMHI-5が60点以下の症例は1例のみであった。これは、高齢者へのPEG-IFN α 2a投与を決定するときに、65歳未満の非高齢者と比べて対象となる患者が厳しく選択されていることを示していると考えられる。しかし、65歳以上の高齢者ではMHI-5が61点以上の高値でも

中止となる症例がみられたため、高齢者における途中中止の予測には投与前のQOL調査だけでなく、投与中のQOLの評価についても今後検討する必要がある。

SF-36は比較的簡単に患者本人の肉体的、精神的なQOLを定量評価することが可能である。当科でもPEG-IFN α 2a単独投与患者に加えて、より副作用が強く、投与中断例が多いPEG-IFN α 2b+リバビリン併用療法患者に対してもSF-36 Ver.2を使用してQOL調査を行い、その有用性を検討している。高齢化時代に少しでも治療効果を上げるためには、投与開始前や投与中の健康関連QOLを客観的に評価することによって、脱落例を減らすための工夫がさらに必要である。

結 語

PEG-IFN α 2a投与開始前に健康関連QOL評価法の一つであるSF-36を用いて、PEG-IFN投与の途中中止の予測を検討した。48週投与例と途中中止例の2群間について、8項目のサブスケールを比較しただけでは有意差はみられなかった。しかし、心の健康指数であるMHI-5の開始前の評価より、「中等度」以上の鬱症状が推測された症例では途中中止率が有意に高かった。SF-36による健康関連QOL調査は、今後、投与中止例を減らし、安全なIFN治療を行う上で有用な指標になるものと思われる。

文 献

- 1) 福原俊一 他：SF-36日本語版マニュアル (Ver. 1.2), (財)パブリックヘルスリサーチセンター, 東京, 2001.
- 2) 岡本華枝 他：C型慢性肝炎のPEG-INTERFERON α -2a単独治療における健康関連QOLの検討—SF-36による測定—, 肝胆膵 50(2): 387-394, 2005.
- 3) Yamazaki S et al: Usefulness of five-item Mental Health inventories to screen for depressive symptoms in the general population of Japan. Health and Quality of Life Outcomes

- 3 : 48, 2005.
- 4) 市田文弘 他：慢性肝炎の肝組織診断基準. C型肝炎研究の進歩, 肝炎ウイルスの変異, 犬山分類の再検討(犬山シンポジウム刊行会編), pp 183-188, 中外医学社, 東京, 1996.
- 5) The WHO World Mental Health Survey Consortium : Prevalence, severity, and unmet need for treatment of mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *JAMA* **291** : 2581-2590, 2004.
- 6) Kawakami N et al : Depressive symptoms and occurrence of type 2 diabetes among Japanese men. *Diabetes Care* **22** : 1071-1076, 1999.
- 7) 細田真司 他：慢性肝炎に対するインターフェロン治療に伴う精神症状. *精神神経学雑誌* **105**(6) : 768-786, 2003.

* * *

※

肝疾患の変遷：高齡者の頻度

新山 豪一* 西野 謙*
 泉 明佳** 山田 剛太郎*

索引用語：肝疾患，高齡者，肝癌，急性肝炎，薬物性肝障害

1 はじめに

日本人の平均寿命は，明治，大正期を通じて低い水準であったが，昭和期になると伸びはじめ，1935/36年(昭和10/11年)の男46.92歳，女49.63歳が，1947年(昭和22年)に男女とも50歳を超え，現在では2004年の簡易生命表によると，男78.64歳，女85.59歳と世界でも有数の長寿国となっている。1970年頃には65歳以上の老年人口が総人口の7%となり，高齡化社会の到来と言われてきたが，1994年には14%，さらには2004年の調査では19.5%を占め，まさしく高齡化社会まっただ中である¹⁾。

われわれが日常診療を行っている肝疾患患者の高齡化も進んでいる²⁾。高齡者医療が現在すでに大きな問題であり，高齡者診療の比重がさらに加速化し，今後より大きな問題となることは明らかである。

本稿では肝疾患の変遷と高齡者の頻度につ

いて，当センター登録症例を中心に概説したい。

2 高齡者における肝疾患別頻度

1996年4月から2006年3月末に当センターに登録した総肝疾患患者は4,729名である。死亡した677名死亡を除く4,052例で，現在年齢が65歳以上の高齡者が占める割合は1,736名43%であった。成因別頻度では65歳以上の高齡者は，HCVによる割合が62%と多くを占め，HBVによるものは5%と少ない(図1)。さらにHCVとHBVの詳細をみると，HCVに関しては65歳以上で肝硬変，肝癌の頻度が明らかに高くなっている(図2)。一方HBVに関しては，肝硬変，肝癌は50歳代後半が多い(図3)。すなわち，現在65歳以上の高齡者ではC型慢性肝疾患，特にC型肝炎，C型肝炎の頻度が極めて高くなっている。

Gouichi NIYAMA *et al* : Characteristics of liver disease in elderly patients

*川崎医科大学附属川崎病院肝臓消化器病センター内科 [〒700-8505 岡山市中山下2-1-80]

** 同 臨床研究部

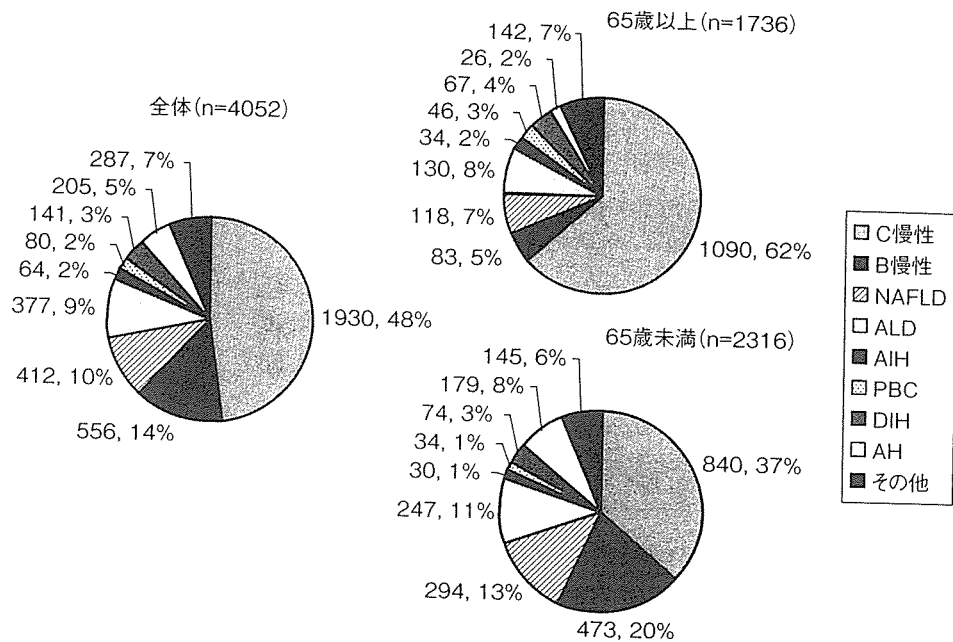


図1 当センターにおける年齢別の肝疾患頻度

3 高齢者のC型慢性肝炎

本邦でのHCV感染の実体が1995年～2000年の初回献血者3,485,648人のデータから改定された。HCV持続感染者は150万人以上存在することが報告され、HCV抗体陽性率は、16歳から69歳までの全年齢階級においては0.5%であるが、50歳代では1.8%を超え、60歳代では3.4%、肝癌による死亡数が増加する65歳以上では6%を超える高い数値であることが明らかとなった(HCV-RNA陽性者はHCV抗体陽性者の約70%)³⁾。したがって当センターでの頻度と同様に65歳以上の高齢者ではHCVによる肝障害の頻度が高いと考えられる。HCV感染は戦後の日本社会の混乱、それを背景とした疾病構造の変化、輸血等の医療行為でC型肝炎の拡大につながったと考えられており⁴⁾、これらの患者が高齢化した現在の対策が急務である。

1990年から91年当時のC型慢性肝炎の平

均年齢は49歳であった⁵⁾。しかしC型肝炎患者の高齢化は年々進み、当センターでの2005年末のC型慢性肝炎、肝硬変、肝癌の平均年齢はそれぞれ61.8歳、68.8歳、71.5歳と上昇している(図2)。高齢者においては肝線維化の進行が認められ、65歳以上では、肝硬変、肝癌の比率が42%と多くを占めている(図2)。また治療の対象となり得るALT 50 IU/L以上の活動性のある症例は、65歳から74歳の慢性肝炎症例では40.6% (タイプ1高ウイルス量25.0%、タイプ1低ウイルス量とタイプ2 15.6%)であるが、肝硬変症では57.4% (タイプ1高ウイルス量35.2%、タイプ1低ウイルス量とタイプ2 22.2%)と線維化の進行とともに上昇している⁶⁾。急速に増加している65歳以上の高齢者症例では、加齢の問題と、F3、F4の病期進行症例が多いことなどがあり、治療方針についての再検討が必要である。

65歳以上のC型肝炎の死因についての

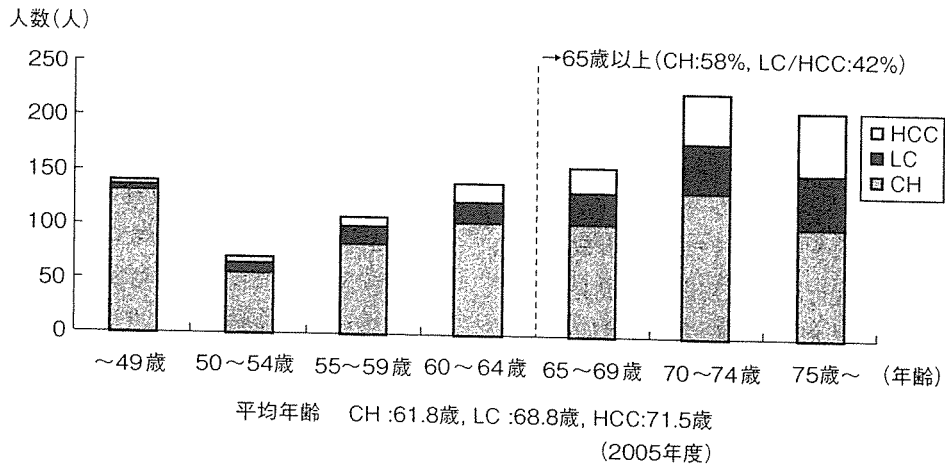


図2 C型慢性肝疾患患者の年齢層

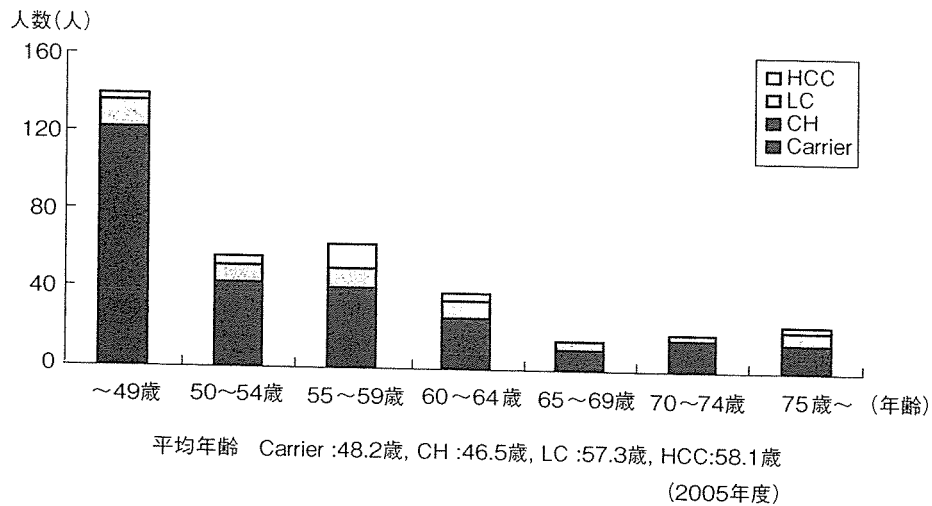


図3 B型慢性肝疾患患者の年齢層

検討では、肝癌、肝不全、食道静脈瘤破裂などによる肝疾患関連死が、F1であれば約20%であるが、F3ないしはF4の場合70~80%であることが報告されている。したがって65歳以上の高齢者は、肝炎の沈静化が行われれば、より長寿が可能になることが示唆されている⁷⁾。またC型慢性肝炎からの発癌率は線維化の進行とともに高率となり、肝硬変にいたれば年率6~7%の確率で発癌する。したがって線維化進展例での治療の目標は、さらなる肝予備能の低下を引き起こす炎

症の抑制、そして肝発癌の抑制である^{8,9)}。1年以上の長期間にわたりIFN治療を行った群においては有意に肝癌の発生が低下したことが報告され¹⁰⁾、さらには、IFNによるBRはSVRと同様、発癌や肝関連死が減少することが報告されている¹¹⁾。

当センターでも高齢者に対してIFN少量長期投与を2002年3月から¹²⁾、2003年12月からはPEG-IFN α 2a投与を積極的に行っている¹³⁾。PEG-IFN α 2aの治療効果は高齢群、非高齢群においてETR、SVRの差は認めず、

高齢群においてPEG-IFN 180 μ g投与で減量症例が多いものの、いずれの症例群でも約半数の症例でALTは安定化が得られている。以上のことから予防治療が最も重要と考えられる。

抗ウイルス療法を受けないままに肝癌を発症する症例や、進行肝癌が初診時に発見されるような症例を減少させていく対策が必要であり、2002年から基本健康診査に肝炎ウイルス検診が導入されている¹⁴⁾。

4 高齢者の肝癌

わが国では慢性肝炎に対する治療は進歩し、肝癌の早期発見治療の啓蒙も普及はしているものの、肝癌の増加を抑制するにはいまだ至っていない。1970年代の半ばから今日に至るまで、肝癌による死亡数は増加傾向にある。2003年における肝癌の死亡者数は3万4,089人と、肺癌5万6,720人、胃癌4万9,535人、大腸癌3万8,909人について悪性新生物による死亡の第4位を占めている¹⁾。成因別にみた肝癌死亡数は、HBVに起因するものは、1970年代から今日に至るまで増減がないまま推移しているのに対し、C型肝炎による死亡は年々増加し、現在肝癌死亡の約80%を占めている^{14,15)}。

当科において過去10年間に経験した初発肝癌患者612例の発症年齢を検討した。初発C型肝炎468例(76.5%)は、1996～2000年では67.3歳、2001～2005年の最近5年間では69.0歳と70歳直前まで上昇している。さらに70歳以上で発症した患者の占める割合は、5～10年前は37.5%であったが、最近5年間では51%と上昇している。一方初発B型肝炎80例(13.1%)の発症年齢は、5～10年前が56.5歳であり、最近5年間が57.2歳と年代で差は無かった。したがって現在高齢者の肝

癌はほぼHCVが問題となる。

肝癌患者が減少しない理由としては、抗ウイルス療法に対してはまだ難治例が多いことや、定期的なフォローアップを十分に受けていない症例の存在や、無自覚の肝炎ウイルス持続感染者が、来院時にすでに進行肝癌として発見される症例も多いことなどが理由として挙げられる。高齢化を迎えたC型肝炎死亡の将来予測を行うと今後10年以内に自然減少に転じることが報告されているが³⁾、肝炎難治症例に対する積極的な医療介入や、肝炎ウイルス検診などでウイルス持続感染者を組織的に見つけだし、肝癌死亡者数を減らす対策が急がれる。

5 急性肝炎

65歳以上の高齢者では急性肝炎の頻度は明らかに低い(図1)。急性肝炎の成因別平均年齢は矢野らの国立病院急性肝炎共同研究班の成績ではA型：39歳、B型：35歳、C型：42歳、非ABC：44歳と報告されており、非ABC型の特徴としてA型、B型に比較して高齢者に多く、かつ女性に多いことが報告されている¹²⁾。当センターに10年間に入院した急性肝炎163例の検討では、A型：24例：平均年齢39.3歳、B型：52例：32.4歳、C型：26例：40.1歳、非ABC:60例：44.3歳、E型：1例：56歳であった。65歳以上の高齢者急性肝炎14例ではA型、B型は1例もなく、C型2例で、他の12例はいずれも非ABC型であった。高齢者の急性肝炎は予後が悪いことが以前より指摘され、特に劇症肝炎の全国集計では60歳以上の老年者の占める割合は60%を超えている。老年者では亜急性型の頻度が高く、生存率は10%以下と予後が極めて悪い。また老年者では危険因子が多く、栄養不良、複数のウイルス感染、既往疾患の存在(悪性

腫瘍，心不全など)も多く，さらに種々の合併症(腎不全，呼吸器感染症，消化管出血)も来たしやすい^{17,2)}。

当センターで65歳未満の急性肝炎では劇症肝炎4例，重症型11例を含む，149例中死亡例はB型劇症肝炎の1例(0.7%)であったが，65歳以上の高齢者では劇症肝炎1例，重症型2例を含む14例中，非ABCの劇症肝炎の2例(14.3%)が死亡した。

高齢者では全肝疾患に占める急性肝炎の頻度は低い。しかし，高齢者の急性肝炎は一般に症状も強く，劇症化や種々の合併症を来たしやすく，予後も悪く，治療に注意を要する。

6 薬物性肝障害

近年，新薬における劇症肝炎の発症や，ダイエット用健康食品などによる急性肝障害などが多発し，薬物性肝障害があらためて注目されている。一方，高齢化に伴う併用薬の増加や生活習慣病に伴う脂肪肝やNASHの増加などのために，薬物性肝障害の診断が難しい症例も増加している。近年では薬物性肝障害の診断はDDW-J 2004薬物性肝障害ワークショップ改定案によるスコアリングが提唱されている¹⁸⁾。

過去10年間に入院を要した薬物性肝障害症例は102例(男性42例，女性60例)で，平均年齢 57.8 ± 17.4 歳(18歳～86歳)であった。病型分類では肝細胞障害型が62例(60.8%)と多く，胆汁うっ滞型11例(10.7%)，混合型29例(28.5%)であった。年代別症例数は，10歳代2例，20歳代9例，30歳代6例，40歳代11例，50歳代18例，60歳代26例，70歳代25例，80歳代5例と年齢が高くなるほど増加し，65歳以上の高齢者は44例43.1%を占めていた。

原因薬剤は抗生物質や解熱鎮痛剤の頻度が高いが，基礎疾患の治療薬など多岐にわたった。高齢者の多剤併用は日常診療上よく経験するが，投薬数は，55歳未満では平均2.5剤(1～7剤)，55～64歳では平均3.4剤(1～9剤)，65歳以上では平均3.7剤(1～10剤)と年齢が高くなるほど増加していた。診断を進める上で，薬剤歴の厳重な聴取が必要である。

多くの症例は投与薬剤の中止と保存的治療で比較的すみやかに回復したが，劇症肝炎を3例(糖尿病用剤：死亡，5剤以上の使用で原因薬剤が同定不能2例：1例死亡/1例生体肝移植で救命)，重症型肝炎3例(痛風用剤，循環器用剤，抗結核剤)，黄疸遷延2例(抗生剤，抗ウイルス薬)に認めた。劇症，重症，黄疸遷延化に占める割合は65歳未満群では5例8.6% (うち1例死亡)，65歳以上群では3例6.8% (うち1例死亡)であった。今後高齢化社会に伴い薬物性肝障害は増加が予想されるので注意を要する。

7 おわりに

当センター登録症例を中心に肝疾患の変遷と高齢者の頻度について概説した。65歳以上の高齢者ではC型慢性肝疾患，特にC型肝硬変，C型肝炎の頻度が極めて高くなっている。また高齢化に伴い，症例数は少ないものの急性肝炎高齢発症例の予後の悪化や，高齢者の薬物性肝障害の増加などの特徴がみられる。

21世紀は超高齢化社会である。高齢者は多数の疾患を抱えていることが多いため，よききめの細かい医療が重要と考えられる。

文 献

- 1) 厚生統計協会：国民衛生の動向，2005
- 2) 山田剛太郎：高齢者の急性肝炎／慢性肝炎の特

- 徴. 肝胆膵 40 : 695-700, 2000
- 3) Tanaka J, Kumagai J, Katayama J et al : Sex-and age -specific carriers of hepatitis B and C viruses in Japan estimated by the prevalence in the 3485648 first-time blood donors during 1995-2000. *Intervirology* 47 : 32-40, 2004
 - 4) 日本肝臓学会 : 肝がん白書, 1999
 - 5) Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R et al : Natural course of chronic hepatitis. *Am J Gastroenterol* 88 : 240-243, 1993
 - 6) 戸川三省, 山田剛太郎 : 高齢者C型慢性肝疾患へのインターフェロン治療. 肝胆膵 45 : 1033-1038, 2002
 - 7) 荒瀬泰司 : ウイルス性慢性肝疾患の最先端. 6. 高齢者に対する治療. 肝臓 45 : 418-422, 2004
 - 8) Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M et al : Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and non-cirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. *Ann Intern Med* 131 : 174-181, 1999
 - 9) Nishiguchi S, Shimoi S, Nakatani S et al : Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *Lancet* 357 : 196-197, 2001
 - 10) Ikeda K, Saitoh S, Kobayashi M et al : Long term interferon therapy for 1 year or longer reduces the hepatocellular carcinogenesis rate in patients with liver cirrhosis caused by hepatitis C virus: a pilot study. *J gastroenterol Hepatol* 16 : 406, 2001
 - 11) Kasahara A, Tanaka H, Okanoue T et al : Interferon treatment improves survival in chronic hepatitis C patients showing biochemical as well as virological responses by preventing liver related deaths. *J Viral Hepatitis* 11 : 148, 2004
 - 12) 戸川三省, 山田剛太郎 : 高齢C型慢性肝疾患の治療. 肝胆膵 49 : 1015-1020, 2004
 - 13) 山田剛太郎 : C型慢性肝炎の高齢者に対する抗ウイルス療法. 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), 平成17年度報告書, 2006年3月
 - 14) 吉澤浩司 : 肝炎ウイルス検診の現状と今後の展望. *日医雑誌* 134 : 592-596, 2005
 - 15) 日本肝臓研究会 : 第15回全国原発性肝癌追跡調査報告 (1998-1999), 2002
 - 16) 矢野右人 : 散発性急性肝炎. 肝胆膵 39 : 173-178, 1999
 - 17) 荒川泰之, 森山光彦 : 肝疾患. 日本老年医学会編 : 老年医学テキスト, *Medical View*, 東京, 1998, pp238-242
 - 18) 滝川 一, 恩地森一, 高森頼雪, 他 : DDW-J2004ワークショップ薬物性肝障害診断基準の提案. 肝臓 46 : 85-90, 2005

* * *

Review

Update of research and management of hepatitis B

TAKESHI OKANOUE and MASAHITO MINAMI

Molecular Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, Hirokoji, Kawaramachi, Kamigyo-ku, Kyoto 602-8566, Japan

Key words: genotype, integration, treatment, hepatocellular carcinoma, mutation

Introduction

Approximately 350 million people in the world are chronically infected with hepatitis B virus (HBV), the main cause of hepatocellular carcinoma (HCC) especially in many Asian countries. Recent advances in molecular biology have expanded our knowledge of the biology of HBV, the mechanisms of liver disease, and the development of HCC associated with HBV infection. Eight genotypes have been discovered^{1–4} that have an uneven geographical distribution.^{5,6} It has also been clarified that intertypic recombination was noted in genotypes A, B, and others.⁷

Recently, new nucleos(t)ide analogues and long-acting interferon (pegylated interferon) were introduced to treat chronic hepatitis B, but there is no consensus on the treatment of chronic hepatitis B. The main aim when treating chronic hepatitis B is to suppress persistent virus replication. Interferon (IFN) was first introduced as an antiviral agent; and recently nucleos(t)ide analogues such as lamivudine,^{8–10} adefovir dipivoxil,^{11–13} and entecavir^{14,15} as well as the long-acting IFN peginterferon^{16,17} have become available in many countries, but they show low rates of sustained response and are associated with various adverse events. There is a possibility that combination therapy has additive or synergistic antiviral effects and decreases the rate at which resistant viruses develop.^{18–20} However, the data for these combination therapies are still short term.

Recent advances in molecular biology have also clarified the clinical significance of the HBV genotype^{21,22}

and the mutation of precore and core promoter regions.^{7,23} Most HBV carriers in Asian countries have resulted from maternal transmission of the infection during early childhood, and around 80% of the carriers show natural seroconversion from a hepatitis B e antigen (HBeAg)-positive state to an HBe antibody (HBeAb)-positive state before 25 years of age. Furthermore, HBeAg to HBeAb seroconversion frequently occurs in chronic hepatitis patients with a high serum alanine aminotransferase (ALT) level. Thus, it is important to clarify the natural course of HBV carriers before antiviral treatment. This article focuses on the recent advances in basic research of HBV and suggests a strategy of antiviral therapy for chronic hepatitis B patients.

HBV genotype

There are currently eight HBV subgroups based on genetic differences. HBV genotypes A, B, C, and D were first classified by an intergroup divergence of more than 8%.¹ HBV genotypes E and F were then identified,² followed by recent reports of genotypes G and H.^{3,4} One cannot discriminate these genotypes by four serological subtypes (adw, adr, ayw, ayr) of HBV, which are classified by antigenic determinants of the hepatitis B surface antigen, but there is a partial correlation between genotypes and serotypes (Table 1). There are also a few reports on a serological method for determining HBV genotypes using several monoclonal antibodies to preS2 and S proteins.^{24,25} These HBV genotypes show a close relation to ethnicity (Table 1); more importantly, recent investigations have revealed associations between HBV genotypes and clinical features of the infection.

Two major genotypes, HBV/B and HBV/C, prevail in East Asia including Japan. HBV genotype C was more prevalent than genotype B in cirrhotic patients in Japan,^{5,26} China,²⁷ and Taiwan.²⁸ Another study from