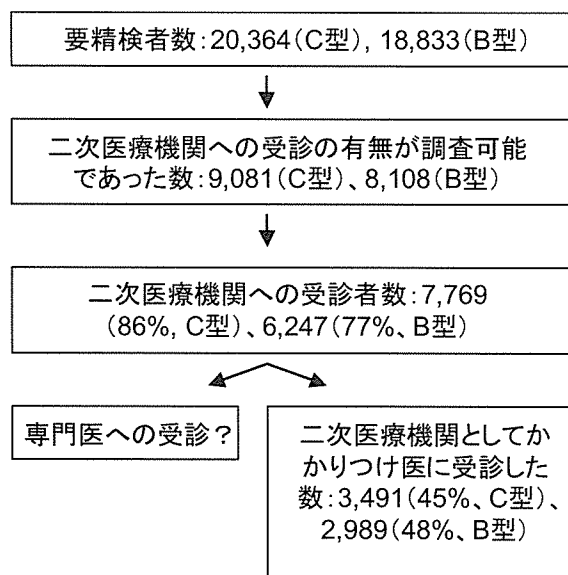


療機関として肝臓専門医でなく、いわゆるかかりつけ医を受診した要精検者数は 3,491 人 (45%) にのぼった。

B 型肝炎ウイルス

アンケート調査から得られた節目検診、節目外検診を併せた要精検者数は 18,833 人であり厚生労働省の発表による要精検者数 22,520 人の 84% を占め、C 型同様回答率は高かった。二次医療機関受診の有無が調査可能であった数は 81,08 人 (43%) であった。このうち二次医療機関受診者数は 6,247 人 (77%) で、C 型に比べるとやや低い受診率であった。二次医療機関として肝臓専門医でなく、いわゆるかかりつけ医を受診した要精検者数は 2,989 人 (48%) にのぼった。以上の結果を図 1 に示す。



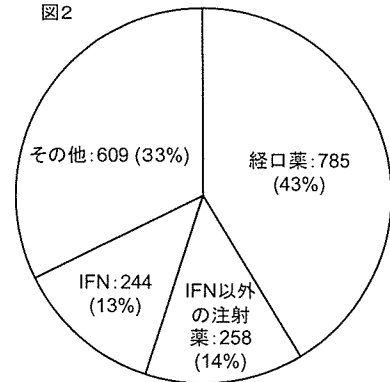
3) 二次医療機関での治療の内訳

C 型肝炎ウイルス検診については可能な範囲で治療内容について調査を行った。二次医療機関受診者の中で何らかの治療を受けた者の数は 1,841 人 (1,841/7,769、24%) であった。治療の内訳は図 2 に示す通りで、経口薬が 785 人 (43%)、強力ネオミノファーゲンC等のインターフェロン (IFN) 以外の注射薬が 258 人 (14%)、IFN が 244 人(13%)、その他の治療が 609 人 (33%) であった。

D 考察

今年度でこの二次医療機関受診率の全国調査は 2 年目を迎える。都道府県別の回答率は昨年 39 都道府県 (83%) に比べて本年度は 43 都道府県 (91%) に上昇した。しかし、本年度から政令市も調査対象とし

図2



たが、政令市からの回答率はわずか 4 市と低かった。何れも大都市圏であり都市部での二次医療機関受診率把握のためには政令市の調査が不可欠であり、今後の検討課題と考えられた。

今回のアンケート調査による要精検者は C 型が 20,364 人、B 型が 18,833 人であり厚生労働省の発表による各々の要精検者数の 87%、84% を占め全国の肝炎ウイルス検診要精検者の大部分を占める調査対象であったと考えられる。しかし、二次医療機関受診の有無が調査しえたのは C 型要精検者の 45%、B 型要精検者の 43% であり個人情報保護の観点からも聞き取り調査では限界があり、肝炎ウイルス検診と連動した二次医療機関受診調査システムの構築が必要と考えられた。

二次医療機関受診率は C 型 86%、B 型 77% で高い受診率であったが、その約半数は肝臓専門医ではなくいわゆるかかりつけ医への受診であった。治療を受けた要精検者は二次医療機関受診者の 24% であったが、今回のアンケート調査では「治療の有無を確認しえた要精検者数」は把握されていないので、残り 76% が治療を受けなかったとは断定できず、実際には治療を受けた要精検者はこれより多いと判断すべきである。一方、C 型慢性肝炎の第一選択治療である IFN 治療施行率が 13% と低かったことは肝臓専門医への受診率が低い点とも関連があると推測される。今後は要精検者が一度は肝臓専門医を受診するようなシステム、あるいは病診連携等を推進していく必要があると考えられる。

E 健康危険情報

特記すべきことなし。

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

経過観察開始時に ALT 値が基準値内の HCV キャリアの経過

分担研究者 熊田 卓 大垣市民病院 消化器科部長

研究要旨：経過観察開始時に ALT 値が基準値以内（35 IU/l 以下）であった HCV 抗体陽性の HCV キャリア 547 例の経過を検討した。女性が多く、genotype2 型の占める割合が高かった。ALT の異常発現率は 5 年で 57.7%、10 年で 71.5%であった。経過観察開始時より 18 ヶ月間 ALT が基準値以内であった 351 例での異常発現率は 5 年で 34.3%、10 年で 55.8%であった。ALT の異常発現に關与する因子を Cox の比例ハザードモデルで検討するとウイルス量低値（100 KIU/ml 未満）、ALT 高値（21 IU/l 以上）、血小板低値（ $12 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満）が有意であった。特に ALT 値は 30 IU/l を超える群で高率に異常が発生し、現在多くの施設で設定されている ALT の基準上限値は C 型肝炎患者には不適當と考えられ、治療効果の期待できる現在では再考する必要がある。

共同研究者

豊田秀徳	大垣市民病院 消化器科 医長
片野義明	名古屋大学・分子総合医学専攻・病態内科学講座・病態修復内科学分野・大学院医学系研究科助手
本多 隆	名古屋大学・分子総合医学専攻・病態内科学講座・病態修復内科学分野・大学院医学系研究科医員

②観察期間が 3 年以上、③ALT を 6 回以上測定、④インターフェロンを投与せずの 4 つの条件を満たした 547 例である。なお血中の HCV RNA は 313 例で測定し、残りの症例は HCV 抗体価がカットオフ値で 10 以上の症例を対象とした。

背景因子は男性 255 例、女性 292 例で、平均年齢は 58.5 ± 12.0 歳、genotype1 型 150 例、2 型 95 例（測定せず 202 例）、ウイルス量中央値 560 KIU/ml（1.0~7700.0）、観察期間中央値 7.1 年（3.0~10.0）、ALT の測定回数中央値 20 回（6~214）、HCC の合併 69 例（経過観察開始時 23 例、経過観察中 46 例）であった。

解析した因子は年齢、性、ALT、AST、硫酸亜鉛混濁試験（ZTT）、 γ -GTP、アルブミン（ALB）、総コレステロール（CHO）、血小板、genotype、ウイルス量の 11 因子である。Kaplan-Meier 法を用いて ALT 値が 35 IU/l を越えた時点で異常発生とした。なお ALT 値はさらに 31~35 IU/l（A 群）、21~30 IU/l（B 群）、11~20 IU/l（C 群）、10 IU/l 以下（D 群）の 4 群に細分して検討した。

統計学的手法は単因子の解析は Logrank test（多群間は Bonferroni *t* method を使用）、多変量解析には Cox の比例ハザードモデルを用いた。p<0.05 を有意とした。

A. 研究目的

ペグインターフェロンとリバビリン併用療法の認可によりわが国に多くみられ従来難治性とされてきた 1b・高ウイルス量 C 型慢性肝炎症例にも約 50%の著効（HCV の排除）が期待されるようになった。また、本邦における C 型肝炎患者の高齢化が進みその多くを占める 60 歳を超える症例に対しても積極的にインターフェロン治療が行われるようになった。

一方、2002 年 4 月から 5 年間の予定で開始された肝炎ウイルス検診によりいわゆる「自覚症状のないまま社会に潜在している HCV キャリア」の多くが診療機関を訪れるようになった。この中の 30~40%は来院時に ALT が基準値以内の症例で、従来は治療介入は行わず経過観察が原則であった。しかし C 型肝炎患者は高齢化しており、経過観察することで IFN 治療を受ける機会を逸する可能性もある。外国では ALT が正常の C 型慢性肝炎に対し多数例でのペグインターフェロンとリバビリン併用療法の検討がなされ ALT 異常例とほぼ同様の著効率が示されている。

今回の研究の目的は、経過観察開始時に ALT が基準値以内であった症例の長期経過を明らかにすることにより、ALT 基準値以内の症例でのインターフェロン治療の適応の再検討を行うことにある。

B. 研究方法

対象は 1995 年 1 月から 2004 年 12 月までの 10 年間に大垣市民病院消化器科を受診した HCV 抗体陽性患者 5300 例中、①観察開始時の ALT が 35 IU/l 以下、

C. 研究結果

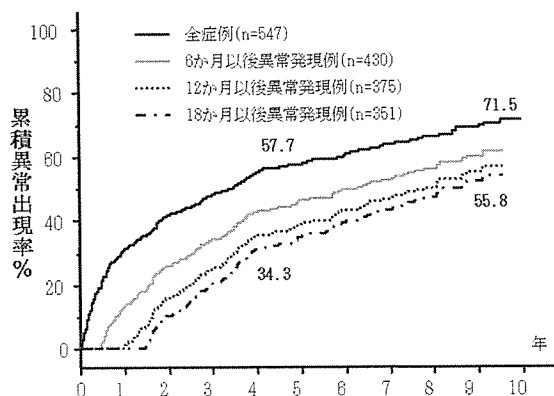
1) ALT の異常発現時期

547 例の異常発現時期を見たのが図 1 である。全症例で検討すると異常発現率は 5 年で 57.7%、10 年で 71.5%であった。さらに、経過観察開始から 6 ヶ月間 ALT が基準値以内であった 430 例、経過観察開始から 12 ヶ月間 ALT が基準値以内であった 375 例、経過観察開始から 18 ヶ月間 ALT が基準値以内であった 351 例の異常発現率を見ると右側へ平行移動したのみであった。18 ヶ月間 ALT が基準値以内の症例での異常発現率は 5 年で 34.3%、10 年で 55.8%であった。

2) ALT 異常発現に關与する因子（単変量解析）

表 1 に ZTT、ALT、AST、 γ -GTP、ALB、CHO、血小板、genotype、ウイルス量と ALT の異常発現率を検討した結果を示す。

図1、ALTの異常出現時期



ZTT、ALT、AST、 γ -GTPは高値ほど異常出現率が高く、ALB、血小板は低値ほど異常発現率が高かった。CHO、genotype、ウイルス量による差は認めなかった。

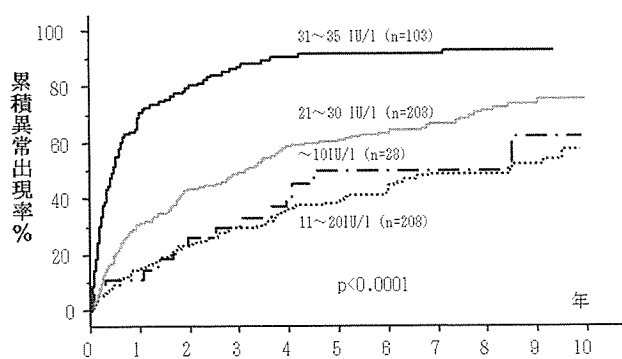
表1、ALT異常値出現に関与する因子(単変量解析)

項目	比較	p値
ZTT(U)	-12 vs 13-	<0.0001
ALT(IU/l)	-20 vs 21-	<0.0001
AST(IU/l)	-40 vs 41-	<0.0001
γ -GTP(IU/l)	-56 vs 57-	0.0344
ALB(g/dl)	3.6- vs -3.5	<0.0001
CHO(mg/dl)	-220 vs 221-	n.s.
血小板($\times 10^4$)	12.0- vs -11.9	<0.0001
Genotype	1 vs 2	n.s.
ウイルス量(KIU/ml)	-100 vs 101-	n.s.

3) ALT値と異常発現率

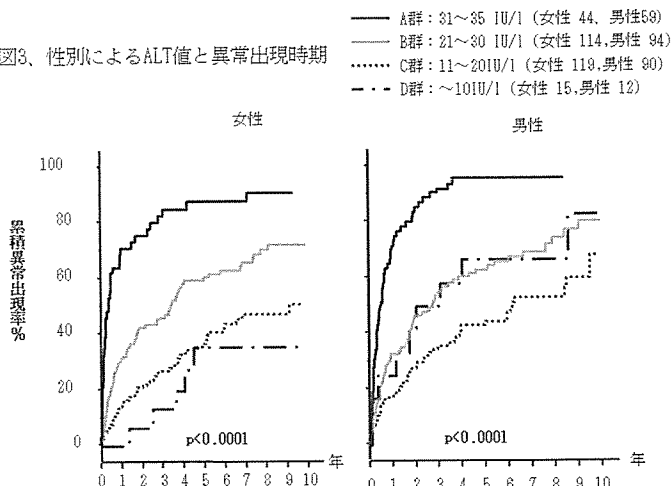
ALT値をさらに31~35 IU/l (A群)、21~30 IU/l (B群)、11~20 IU/l (C群)、10 IU/l以下 (D群)の4群に細分して検討した。図2の示すごとくC群とD群に差は認めなかったが、C・D群とA群、C・D群とB群、B群とC群に有意差を認めた。

図2、ALT値と異常出現時期



次に女性と男性に分けて検討した結果を示す。図3に示すごとく女性では同様にC群とD群に差は認めなかったが、C・D群とA群、C・D群とB群、B群とC群に有意差を認めた。一方、男性ではB群とC群とD群に差は認めず、B・C・D群とA群に有意差を認めた。

図3、性別によるALT値と異常出現時期



4) ALT異常発現に関与する因子(多変量解析)

ALT異常発現に関与する因子を変数増加法(条件付)により年齢、性、ZTT、ALT、AST、 γ -GTP、ALB、CHO、血小板、genotype、ウイルス量の因子を用いてCoxの比例ハザードモデルを用いて検討した結果を表2に示す。

表2、ALT異常値出現に関与する因子

(COX比例ハザードモデル、変数増加法)

パラメータ	リスク比(95%CI)	p	
ウイルス量	100KIU/ml >	1	
	100KIU/ml \leq	0.600(0.468-0.824)	0.002
ALT	10IU/l \leq	1	
	11~20IU/l	1.387(0.547-3.517)	0.490
	21~30IU/l	2.783(1.103-7.021)	0.030
	31~35IU/l	6.060(2.398-15.313)	0.000
血小板	$12.0 \times 10^4 / \mu l >$	1	
	$12.0 \times 10^4 / \mu l \leq$	0.617(0.427-0.892)	0.010

ウイルス量が少ないこと(リスク比0.600、 $p < 0.002$)、ALT値が高いこと(21~30 IU/l、リスク比2.783、 $p < 0.030$ 、31~35 IU/l、リスク比6.060、 $p < 0.000$)、血小板値が低いこと(リスク比0.617、 $p < 0.010$)の3因子が選択された。

D、考察

今回の検討で、初めて測定したALT値が基準値以内の症例でも、その後の経過観察で高率にALTの異常が出現することが明らかとなった。そして異常を発現する率が高い症例はウイルス量が少ないこと(単変

量解析では有意差無し)、ALT 値が低値であること、血小板値が低値であることの 3 因子を有していた。HBV の無症候性キャリアはウイルス量が高値の症例が多いことが知られているが HCV でも同様の傾向が認められた。また ALT 値に関しては ALT 20 IU/l 以下の群と ALT 20 IU/l 以上の群で明らかに異常出現率が異なっていたことが注目された。特に、男性と女性に分けて検討すると、女性では ALT 20 IU/l 以下の群と ALT 21 IU/l 以上の群で差を認め、男性では ALT 30 IU/l 以下の群と ALT 31 IU/l 以上の群で差が認められた。これは、Prati D ら(Ann Intern Med. 2002; 137: 1-9)の献血センターで再検討された ALT 基準値とよく一致する。初回献血者で①HBsAg、anti-HCV、anti-HIV 陰性、②ALT 男性 40 IU/l 以下、女性 30 IU/l 以下、③輸血歴、薬剤歴、肝障害歴、貧血など無し、④総コレステロール、中性脂肪、血糖基準値以内、⑤BMI 24.9kg/m² 以下を満たした症例 3925 例の検討では女性の基準値上限は 19 IU/l、男性の基準値上限は 30 IU/l と述べている。今回の検討でも女性では 20 IU/l を境として、男性では 30 IU/l を境として異常出現率は異なっていた。

従って、今後 IFN 治療を行う基準として考慮すべき因子は多々あるが ALT は女性では 20 IU/l を越えた場合、男性では 30 IU/l を越えた場合適応と考えるべきと考えられた。

E. 結論

従来インターフェロン治療の対象とされなかった ALT 基準値以内の症例の経過について検討した。経過観察中に高率に異常が出現した。ペグインターフェロンとリバビリン併用療法で難治性の 1b・高ウイルス量の症例での著効率が 50%となった現在、ALT が 30 IU/l (女性では 20 IU/l) を越える症例では、各種因子を考慮しつつ適応を考えるべきと思われる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Toyoda H, Kumada T, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, Hayashi K, Honda T, Kuzuya T. Influence of age, sex, and degree of liver fibrosis on the association between serum alanine aminotransferase levels and liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. Dig Dis Sci. 2004; 49: 295-9.

2) Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y, Honda T, Katano Y, Nakano I, Goto H, Kumada T, Takamatsu J. Prevalence and clinical implications of occult hepatitis B viral infection in hemophilia patients in Japan. J Med Virol. 2004; 73: 195-9.

3) Toyoda H, Kumada T, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, Hayashi K, Honda T, Kitabatake S, Kuzuya T, Nonogaki K, Kasugai T, Shimizu J. Changes in the characteristics and survival rate of hepatocellular carcinoma from 1976 to 2000: analysis of 1365 patients in a single institution in Japan. Cancer. 2004; 100: 2415-21.

4) Nakano I, Fukuda Y, Katano Y, Toyoda H, Hayashi K, Kumada T, Nakano S. Mutations of the interferon sensitivity-determining region (ISDR) correlate with the complexity of hypervariable region (HVR)-1 in the Japanese variant of hepatitis C virus (HCV) type 1b. J Med Virol. 2004; 74: 54-61.

5) Kumada T, Nakano S, Toyoda H, Hayashi K, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, Yamamoto A, Takeshima K, Hibi T, Yabashi T, Noda T, Sassa T, Furukawa M, Ogawa S. Assessment of tumor hemodynamics in small hepatocellular carcinoma: comparison of Doppler ultrasonography, angiography-assisted computed tomography, and pathological findings. Liver Int. 2004; 24: 425-31.

6) Toyoda H, Kumada T, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kuzuya T, Honda T, Hayashi K, Nakano I, Katano Y, Goto H. Changes in hepatitis C virus (HCV) antibody status in patients with chronic hepatitis C after eradication of HCV infection by interferon therapy. Clin Infect Dis. 2005; 40 :e49-54.

7) Tada T, Kumada T, Toyoda H, Kiriya S, Sone Y, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kitabatake S, Kuzuya T, Nonogaki K, Shimizu J, Satomura S. Relationship between Lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein and pathologic features of hepatocellular carcinoma. Liver International 2005 (in press).

8) Kumada T, Toyoda H, Honda T, Kuzuya T, Katano Y, Nakano N, Goto H. Treatment of chronic hepatitis C in Japan. Intervirology 2005 (in press).

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生労働科学研究費補助金 (B型およびC型肝炎ウイルス感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究)

分担研究報告書

無症候性 HCV キャリアの病態と経過からみた抗ウイルス療法の適応

分担研究者 岡上 武 京都府立医科大学消化器病態制御学 教授

研究要旨：わが国には HCV 持続感染者が 170-200 万人いて、うち約 25%は肝機能正常のいわゆる無症候性 HCV キャリア(ASC)である。彼らに抗ウイルス療法が必要か否かを明らかにすることは医療経済的側面も含め臨床上極めて重要である。ASC129 例に肝生検を施行し、35 例に 3.4-10.3 年後に follow-up 肝生検を施行した。肝組織所見では 129 例中 119 例(92%)は正常または軽度慢性肝炎、10 例(8%)のみ中等度慢性肝炎像であった。5 年以上フォロー (平均 8.5 年) した 69 例中 10 例(14%)は肝機能持続正常(A 群)、39 例(57%)は一過性間機能異常(B 群)、20 例(29%)が症候性慢性肝炎(C 群)になった。A,B,C 群の年率線維化 (病期) 進展度はそれぞれ 0.05, 0.04, 0.08 で症候性慢性肝炎に比して病期の進展は緩徐であった。また、ASC-C は症候性慢性肝炎に比して酸化ストレスも軽微であった。無症候性 HCV キャリアからの肝癌発生はなく、多くは極めて予後良好で、フォローの後の肝機能検査値、年齢などを考慮し、抗ウイルス療法の適応の有無を決定するのが望ましいと思われる。

共同研究者

牧山明子、安居幸一郎、南 祐仁、
伊藤義人
京都府立医科大学消化器病態制御学

関与していると考えられている。わが国に約 50 万人いるといわれている肝機能正常のいわゆる無症候性 HCV キャリアへの治療の必要性を明らかにすることは、医療経済的側面も含めて臨床上極めて重要である。今回無症候性 HCV キャリアの病態と予後を明らかにし、彼らに抗ウイルス療法が必要か否かを明らかにすることとした。

A. 研究目的

肝機能正常で肝組織所見が軽微な C 型肝炎患者の予後は一般的に良好と言われているが、C 型慢性肝炎は進行すると極めて高率に肝癌が発生する。肝発癌には炎症、線維化の進展が大きな要因で、酸化ストレスも大きく

B. 研究方法

HCV RNA 陽性で、一年間以上血清トランスアミナーゼ(ALT)が持続

正常 ($\leq 30\text{IU/L}$)、血小板数 $150,000/\mu\text{l}$ 以上の者を無症候性 HCV キャリア(ASC-C)と定義した。飲酒者、HBs 抗原陽性者、自己免疫性肝炎合併者などは除外した。BMI, 空腹時血糖、HCV RNA 量, HCV serotype, 一般肝機能検査、末梢血一般、血清フェリチン、血清チオレドキシシン(TRX)値を測定し、BMI $30\text{kg}\cdot\text{m}^2$ 以上、空腹時血糖 125mg/dl 以上の例は対象から除外した。

上記の条件を満たした患者で、同意の得られた ASC-C129 名に肝生検を施行した。肝生検組織は HE 染色、Masson-Trichrome 染色、Perls' Prussian blue 染色(鉄染色)を施し、炎症・線維化・脂肪沈着・鉄沈着の程度を評価した。最初の2年間は4か月毎に、肝機能正常が持続する者には以後6か月毎に血液生化学検査と血中ウイルス量を測定した。フォロー中に ALT が持続異常化した例では2-4か月毎に血液生化学検査を施行した。5年間以上フォロー可能であった例は69例で、35例に3.4-10.3年後に2度あるいは3度目の肝生検を施行した。

C. 研究結果

平均年齢は48歳、男性24名、女性105名で、BMIは $16\text{-}27\text{kg}/\text{m}^2$ で男性 $16\text{-}27\text{kg}/\text{m}^2$ 、女性 $21.3\text{kg}/\text{m}^2$ であった。血清 ALT 値は $8\text{-}30\text{IU/L}$ で、男性 $22.5 \pm 5.7\text{IU/L}$ 、女性 $21.6 \pm 4.8\text{IU/L}$ で、血小板数はそれぞれ $20.3 \times 10^4/\mu\text{l}$ 、 $21.8 \times 10^4/\mu\text{l}$ であった。5

年以上フォローできた69例の平均フォロー期間は8.5年である。

血清フェリチン値は男性 76.2ng/ml 、女性 60.9ng/ml で、HCV RNA 量(保存血清を使用し、Amplicor monitor version 1)で測定し、G1(58例): 648.7KC/ml 、G2(45例): 356KC/ml であった。酸化ストレスの血清マーカーである TRX 値は 27.7ng/ml で、control: 24.9 と有意差はなく、CH: 34.6 、LC: 42.5 に比して有意に低値であった。

肝生検所見は F0A0:17例、F0A1:24、F1A0:3、F1A1:75、F1A2:6、F2A1:2、F2A2:2 で、F2 あるいは A2 以上の中等度肝障害例は僅か10例(8%)で、多くは正常肝組織あるいは軽微な慢性肝炎像(F1A1 以下)であった。脂肪沈着(肝細胞の10%以上に認める例)は $9/129(9\%)$ 、鉄沈着は $6/50(12\%)$ に認め、通常慢性肝炎に比して明らかに低頻度かつ軽度であった。5年以上フォローしえた69例中、10例(14%: A群)は ALT 持続正常、39例(57%: B群)は一過性上昇、20例(29%: C群)は症候性慢性肝炎に移行した。A群:5例、B群:16例、C群:14例に2-3回肝生検を施行し組織学的経過観察を行ったが、A,B,C各群でそれぞれ $2/5, 5/16, 6/14$ 例で F stage が one rank 上昇し、B群の1例で6年後に F2 から F1 に改善し、残り21例は不変であった。各群の年率病期(線維化)進展度はそれぞれ、0.05, 0.04, 0.08 で、症候性慢性肝炎に比して線維化の進展は明らかに緩徐であった。なお、

129 例ではフォロー中に肝発癌をみた例はなかった。

D. 考察

無症候性HCVキャリアは女性に多く、症候性慢性肝炎に比して HCV group 2 の患者の比率が高かった。無症候性HCVキャリアを一年間以上血清 ALT \leq 30IU/L を示し血小板数 \geq 150,000/ μ l と定義すると、肝への鉄沈着や酸化ストレス状態は症候性 C 型慢性肝炎より明らかに軽微で、90% 以上の症例は肝組織の炎症、線維化とも軽微で、長期フォローしても肝病変の進展も遅かった。

5 年以上フォローすると約 30% は症候性慢性肝炎になったが、129 例の無症候性HCVキャリアからの肝発癌例はなかった。

なお、海外での無症候性 HCV キャリアへの peginterferon, ribavirin 併用 48 週間の大規模試験における著効率は症候性慢性肝炎とほぼ同程度であった。

E. 結論

今回の検討から、血小板数 150,000/ μ l 以上の患者を対象とした場合、無症候性HCVキャリアの肝組織病変は軽微で、酸化ストレスも軽く、多くは予後良好である。定期的な経過観察後の肝機能検査の変化や組織の進展度を考慮し、血清 ALT 高値が持続し、肝組織の進展が見られるようになった時点で、年齢、病期などから抗ウイルス療法施行を行うか否かを決定す

ることが望ましいと思われる。

F. 健康危険情報

血小板数減少を伴わない、肝機能正常の C 型肝炎ウイルス持続陽性者(いわゆる無症候性 HCV キャリア) の多くは予後良好であり、基本的には経過観察でよい。経過観察の後に肝機能が持続異常を呈するようになれば、年齢、血清 ALT 値、線維化の程度など(血小板数など)を評価し、抗ウイルス療法を考慮し、通常慢性肝炎への治療に準じた方法で行う。

G. 研究発表

1. 発表論文

- 1) Okanoue T, Yasui K, Itoh Y. Practice of interferon therapy-chronichepatitis C (combination with ribavirin). JMAJ 47: 64-68, 2004
- 2) Kasahara A, Tanaka H, Okanoue T, Imai Y, Tsubouchi H, Yoshioka K, Kawata S, Tanaka E, Hino K, Hayashi K, Tamura S, Itoh Y, Kiyosawa K, Kakumu S, Okita K, Hayashi N. Interferon treatment improves survival in chronic hepatitis C patients showing biochemical as well as virological responses by preventing liver-related death. J Viral Hepatitis. 11: 148-156, 2004
- 3) Makiyama A, Itoh Y, Kasahara A, Imai Y, Kawata S, Yoshioka K, Tsubouchi H, Kiyosawa K, Kakumu

S, Okita K, Hayashi N, Okanoue T. Characteristics of patients with chronic hepatitis C who develop hepatocellular carcinoma after a sustained response to interferon. *Cancer* 101: 1616-1622, 2004

4) Toyama T, Nakamura H, Harano Y, Yamauchi N, Morita A, Kirishima T, Minami M, Itoh Y, Okanoue T. PPAR α ligands activate antioxidant enzymes and suppress hepatic fibrosis in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 324: 697-704, 2004

5) Okanoue T, Nakayama M, Makiyama A, Sumida Y, Mitsufuji H, Nakajima T, Yasui K, Minami M, Itoh Y. Usefulness of liver biopsy

and follow-up study to decide candidates for antiviral therapy in HCV carriers with persistently normal aminotransferase. (in submission)

2. 学会発表

1) Okanoue T, Makiyama A, Nakayama M, Yasui K, Minami M, Itoh Y. Long term follow-up study of ALT normal HCV carriers. 40th Anniversary United States-Japan Cooperative Medical Science Program. 26th Hepatitis Panel Meeting. Dec 9, 2004, Kyoto, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書 IFN 治療の効果に及ぼす肥満の影響

分担研究者 鈴木一幸 岩手医科大学第一内科 教授

研究要旨：IFN α -2b+リバビリン療法を受け追跡調査により治療効果が判明している 63 例について、遺伝子型より 1b 群(45 例)と non-1b 群(18 例)に分け、さらにそれぞれを肥満群と非肥満群に分けて HCV 陰性率を検討した。HCV 陰性化率は 1b 群(肥満群:28.6%、非肥満群:32.3%)、non 1b 群(肥満群:88.9%、非肥満群:44.4%)であり、non 1b 群の肥満群で高い結果が得られた。肥満群での比較では、有意に non 1b 群で HCV 陰性率が高かったが、これには IFN あるいはリバビリン治療薬の減量・中止例が少なかった事も大きな要因であった。肝脂肪変性率と各群での HCV 陰性率を検討すると、1b 群では脂肪変性率と明らかな関連はみられなかった(肝脂肪変性率 0:27%、10%以下:20%、10-30%:31%、30%以上:50%)が、non 1b 群では脂肪変性率が高度になるに従って HCV 陰性率は低下がみられた(肝脂肪変性率 0:67%、10%以下:60%、10-30%:50%、30%以上:0%)。以上より、IFN 療法の治療効果に肥満の影響が少なからず関係している可能性が示唆された。今後、症例数をさらに集積して IFN 治療における肥満あるいは肝脂肪化の影響を遺伝子型毎に検討する必要があると思われた。

共同研究者

阿部弘一 岩手医科大学第一内科
講師
佐藤慎一郎 岩手医科大学第一内科
助手
熊谷一郎 岩手医科大学第一内科
専門医員

れているが、わが国では体重あたりの IFN 投与量を決めている IFN 製剤は殆どない。C-CH のウイルス消失率(SVR)は HCV の遺伝子型と HCV-RNA 量に影響を受ける事が明らかになっているため、IFN 投与量については患者の自覚症状あるいは副作用などをみながら適宜増減するのが通例である。しかしながら、C-CH の 30-70%の肝脂肪化がみられること、遺伝子型 3 では HCV のウイルス

A. 研究目的

C 型慢性肝炎(C-CH)に対する IFN 療法の標準化のガイドラインが示さ

量と肝の脂肪化が相関し、IFN 療法を行うと SVR 例では BMI(body mass index)に関わらず肝脂肪化の改善がみられることが報告されている。わが国では肥満を有する C-CH に対する IFN 療法の効果については十分に検討されておらず、今後、IFN 療法の標準化を推進する上ではこの点を明らかにしておく事が必要と考えられる。

B. 研究方法

当科および関連病院で IFN α -2b + リバビリン療法を受け、追跡調査によりその治療効果が確認されている C-CH63 例を対象とした。BMI より肥満群 (BMI \geq 25) と非肥満群 (BMI<25) に分け、治療効果を検討した。なお、63 例中 52 例では治療前に肝生検を施行しており、肝組織中の脂肪化の程度より脂変化率 0、<10%、10-30%、>30%の 4 段階に分類して治療効果との関連も検討した。

C. 研究結果

1) BMI と肝脂肪変性率との関連

BMI と肝組織中の脂肪変性率とは正の相関関係が認められた。

2) HCV 陰性化率

遺伝子型より 1b 群(45 例)と non-1b 群(18 例)に分け、さらにそれぞれを肥満分と非肥満群に分けて検討すると、患者背景では non1b 群で

女性が多い傾向を認めたが、年齢、投与前 HVC-RNA 量、血清トランスアミナーゼ値、肝組織線維化因子には有意差を認めなかった。HCV 陰性化率は 1b 群(肥満群:28.6%、非肥満群:32.3%)、non 1b 群(肥満群:88.9%、非肥満群:44.4%)であり、non 1b 群の肥満群で高い結果が得られた。BMI \geq 25 の肥満群で比較すると有意に non 1b 群の肥満群で HCV 陰性率が高かったが、これには IFN あるいはリバビリン治療薬の減量・中止例が少なかった事が大きな要因と考えられた。次に、肝脂肪変性率と各群での HCV 陰性率を検討すると、1b 群では脂肪変性率と明らかな関連はみられなかった(肝脂肪変性率 0:27%、10%以下:20%、10-30%:31%、30%以上:50%)が、non 1b 群では脂肪変性率が高度になるに従って HCV 陰性率は低下がみられた(肝脂肪変性率 0:67%、10%以下:60%、10-30%:50%、30%以上: 0%)。

なお、肥満度に関わらず治療法と HCV 陰性率を検討すると、HCV-RNA 量が少ないほど、肝線維化の程度が少ないほど HCV 陰性率は高率であった。

D. 考察

今回の検討は、対象症例が少なく、また対象症例の背景因子を揃えた検討でないため、IFN 療法における肥満

の意義を明確にすることは出来なかったが、non 1b 群では肝脂肪変性率が高い例ほど HCV 著効率は低い傾向が認められたため、今後症例数をさらに追加して、遺伝子型毎に検討する必要があると思われた。

わが国における今後の IFN 療法においては、PEG-IFN を主体に単独またはリバビリンとの併用療法が中心になるものと考えられるが、その際、日本人の体重に見合った IFN およびリバビリン投与量を考慮することも重要であると思われる。そのためには HCV 遺伝子型と BMI および肝脂肪化の程度との関連をさらに明確にしておく必要がある。

E. 結論

IFN 療法の治療効果に肥満の影響が少なからず関係している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

学会発表

1)阿部弘一、鈴木一幸、他：C型慢性肝炎に対する IFN α -2b+Ribavirin 併用療法の投与量別治療効果の検討. 第 40 回日本肝臓学会総会、2004.6.3 (千葉)

2)熊谷一郎、鈴木一幸、他：HBs 抗原が消失した慢性 HBV 感染における pre-S 領域の経時的解析：無性候性キャリア住民と慢性肝炎の比較検. 第 40 回日本肝臓学会総会、2004.6.3 (千葉)

3)熊谷一郎、阿部弘一、鈴木一幸：岩手県における E 型急性肝炎の実態：その感染経路と重症化に關与する因子の考察. 第 8 回日本肝臓学会大会、2004.10.21 (福岡)

4)阿部弘一、小山富子、鈴木一幸：C 型肝炎ウイルス検診により発見された HCV キャリアの実態と肝癌の頻度-検診後の追跡調査による検討-. 第 8 回日本肝臓学会大会、2004.10.21 (福岡)

5)宮坂昭生、阿部弘一、鈴木一幸：B 型非代償性肝硬変に対するラミブジンの治療効果と限界. 第 8 回日本肝臓学会大会、2004.10.21 (福岡)

6)熊谷一郎、阿部弘一、鈴木一幸：C 型慢性肝炎例に対する各種抗ウイルス療法の評価. 第 35 回日本肝臓学会東部会、2004.12.10 (東京)

7)熊谷一郎、鈴木一幸、他：B 型重症肝炎に対するラミブジン療法の意義. 第 90 回日本消化器病学会総会、2004.4.21 (仙台)

8)宮坂昭生、鈴木一幸、他：HCV 検診における血清ヒアルロン酸測定の意味. 第 90 回日本消化器病学会総会、

2004.4.21 (仙台)

9)熊谷一郎、阿部弘一、鈴木一幸：岩手県における E 型急性肝炎の実態：その感染経路と重症化に関与する因子の考察. 第 46 回日本消化病学会大会、2004.10.22 (福岡)

10)阿部弘一、小山富子、鈴木一幸：C 型肝炎ウイルス検診より発見された HCV キャリアの実態と肝癌の頻度 - 検診後の追跡調査による検討 -. 第 46 回日本消化病学会大会、2004.10.22 (福岡)

11)宮坂昭生、阿部弘一、鈴木一幸：B 型非代償性肝硬変に対するラミブジンの治療効果と限界. 第 46 回日本消化病学会大会、2004.10.22 (福岡)

H. 論文発表

1) Kato H, Sugauchi F, Ozasa A, Kao T, Tanaka Y, Sakuragawa H, Sata M, Hino K, Onji M, Okanoue T, Tanaka E, Kawara S, Suzuki K, Hige S, Ohno T, Orito E, Ueda R, Mizokami

M: Hepatitis B genotype G in an extremely rare genotype in Japan. *Hepatol Res* 2004; 30:199-203.

2) 阿部弘一、熊谷一郎、葛西幸穂、宮坂昭生、遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：HBV キャリアからの重症化・劇症化例をいかに対処するか. *臨床医* 2004; 30:1607-1611.

3) 阿部弘一、熊谷一郎、遠藤龍人、滝川康裕、鈴木一幸：B 型肝炎重症化例の治療. *内科* 2004; 3:471-476.

4) 鈴木一幸、阿部弘一、熊谷一郎：HBV 無症候性キャリアの自然経過、予後、死因. *ウイルス性肝炎(下)*、日本臨床、2004; 増刊号 8:227-232.

5) Sato S, Suzuki K, Takikawa Y, Endo R, Omata M: Clinical epidemiology of fulminant hepatitis in Japan before the substantial introduction of liver transplantation: an analysis of 1309 cases in a 15-year national survey. *Hepatol Res* 2004; 30:155-161.

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

酸化ストレスに対するグリチルリチンおよび強力ネオミノファーゲン C の抑制効果

分担研究者 沖田 極 山口大学医学部消化器病態内科学 教授

研究要旨：本邦において C 型慢性肝炎からの肝発癌抑制効果が実証されたインターフェロン以外の薬剤は強力ネオミノファーゲン C (SNMC) のみである。SNMC はウイルス肝炎の治療薬として広く使用されているが、その薬効に関する作用機序については不明の点が多い。一方、C 型肝炎の病態に酸化ストレスが関与することが明らかにされている。そこで、HCV コア蛋白の発現が調節可能な培養細胞 (*in vitro*) と HCV 全遺伝子が組み込まれたトランスジェニックマウス (HCV TgM) (*in vivo*) を用いて SNMC が酸化ストレスに及ぼす効果について検討した。コア蛋白発現による活性酸素の上昇を SNMC の主成分であるグリチルリチンは用量依存性に抑制した。また、グリチルリチンはコア蛋白発現の有無に関係なく細胞内のグルタチオン (GSH) 量を上昇させた。HCV TgM の尾静脈より微量の四塩化炭素 (CCl₄) 20 μ l/kg を投与するとコントロールマウスに比べて有意に血清 ALT 値と肝内脂質過酸化物質二次性生物が上昇したが、SNMC 投与 (50 μ l) はこれらを有意に抑制した。また、SNMC は HCV 蛋白の有無に関係なく、CCl₄ 投与により低下した還元型/酸化型 GSH 比を有意に上昇させた。以上より、C 型慢性肝疾患に対するグリチルリチンの効果として抗酸化作用が重要であると考えられた。

共同研究者

仁科惣治 山口大学医学部消化器病態内科学
古谷隆和 山口大学医学部消化器病態内科学
原 裕一 山口大学医学部消化器病態内科学
坂井田功 山口大学医学部消化器病態内科学 助教授
日野啓輔 山口大学医学部保健学科 助教授

A. 研究目的

本邦においても難治型の C 型慢性肝炎に対してペグインターフェロンとリバビリン併用療法が可能になりその効果が期待される。しかし、50%弱の症例ではウイルス排除が期待されず、またわが国の C 型慢性肝炎患者は高齢化が進んでいるため強力なインターフェロンとリバビリン併用療法を施行し得ない症例も数多く存在する。ウイルス排除が困難な症例に対してはトランスアミナーゼを安定化させることで肝発癌を抑制しようとする試みがなされている。強力ネオミノファーゲン C (SNMC) は本邦において C 型慢性肝炎からの肝発癌抑制効果が実証されたインターフェロン以外の唯一の薬剤であるが、その薬効に関する作用機序については不明の点が多い。一方、C 型慢性肝炎の病態に酸化ストレスが重要な役割を果たすことが次第に明らかにされてきている。そこで本研究では HCV コア蛋白の発現が調節可能な培養細胞 (*in vitro*) と HCV 全遺伝子が組み込まれたトランスジェニックマウス (HCV TgM) (*in vivo*) を用いて SNMC が酸化ストレスに及ぼす効果について検討した。

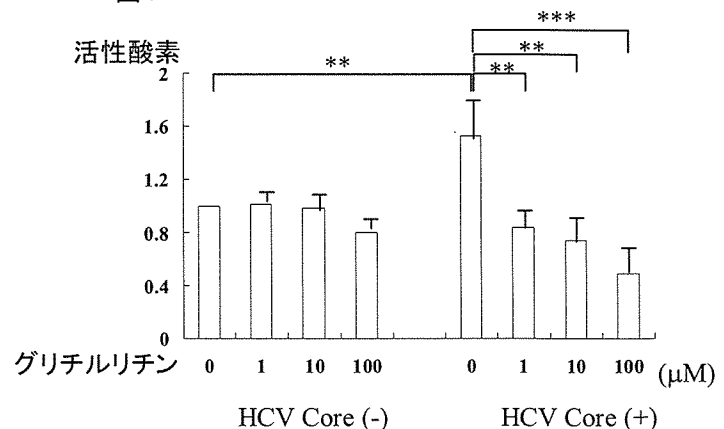
B 研究方法

1. Tet-Off システムにより HCV コアタンパクの発現が調節可能な培養細胞 (Huh-7) にグリチルリチンを 1, 10, 100 μ M の濃度で添加し、活性酸素の産生量と細胞内 GSH 量を測定した。
2. HCV 全遺伝子が組み込まれたトランスジェニックマウス (HCV TgM) の尾静脈より微量の四塩化炭素 (CCl₄) 20 μ l/kg を投与し、その 1 時間後に SNMC 50 μ l を投与した。CCl₄ 投与後と CCl₄ 投与後に SNMC を投与した時の血清 ALT 値、肝内 malondialdehyde (MDA) 量および肝内還元型/酸化型 GSH (GSH/GSSG) 比を比較検討した。

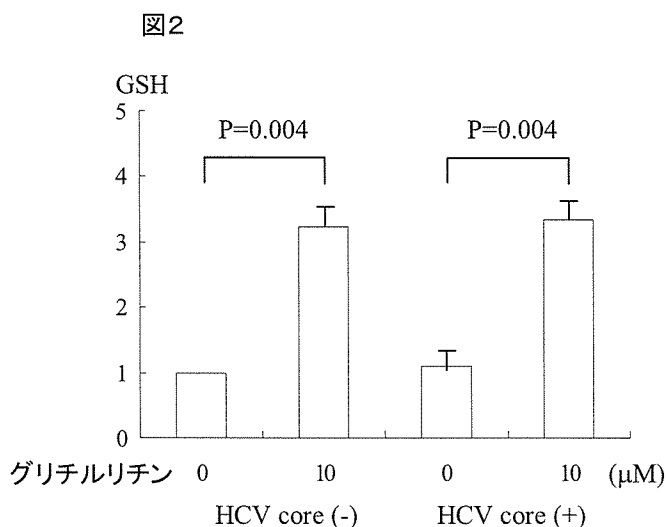
C 研究結果

- 1) コア蛋白発現による活性酸素の上昇を SNMC の主成分であるグリチルリチンは用量依存性に抑制した(図 1)。

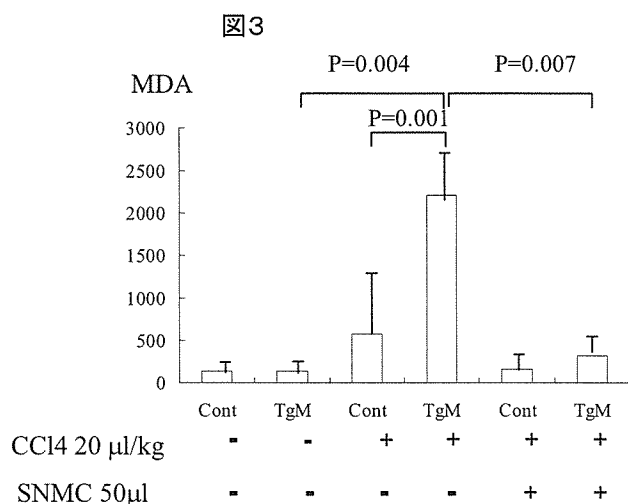
図 1



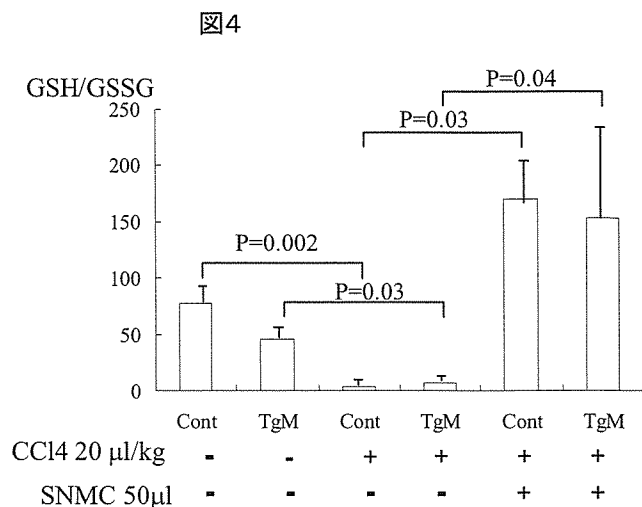
2) グリチルリチンはコア蛋白発現の有無に関係なく細胞内のグルタチオン (GSH) 量を上昇させた(図2)。



3) HCV TgM に微量の四塩化炭素 (CCl₄) 20 μl/kg を投与するとコントロールマウスに比べて有意に血清 ALT 値と肝内 MDA 量が上昇したが、SNMC 投与 (50 μl) はこれらを有意に抑制した (図3)。



4) 肝組織内の GSH/GSSG 比は HCV 蛋白の発現に関係なく僅かな CCl₄ 投与により低下するが、SNMC 投与により回復した (図4)。



D 考察

SNMC は肝障害に対してトランスアミナーゼの下降作用を持つため臨床的には広範な肝疾患に使用されている。今回の検討から SNMC は抗酸化作用を持つことが明らかとなったが、その一つの機序として GSH の上昇が示唆された。HCV 蛋白により誘導された酸化ストレスが SNMC で抑制されることから、C 型慢性肝疾患に対するグリチルリチンの効果として抗酸化作用が重要であると考えられた。今後はグリチルリチンの抗酸化機序を更に詳細に検討し、HCV 感染からの肝発癌に対する抑制効果のメカニズムを明らかにしていく必要があると考えられる。

E 健康危険情報

特記すべきことなし。

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

血漿アミノ酸分析を応用した肝線維化ステージ診断および IFN 治療効果の評価について

分担研究者 各務 伸一 愛知医科大学消化器内科 教授

研究要旨:血漿アミノ酸濃度を多変量変数として相関解析を行うことにより非侵襲的に肝線維化ステージを評価する手法を開発した。すなわち血漿アミノ酸濃度を測定後、数種類のアミノ酸を抽出して一定の計算式に当てはめ算出した“AminoIndex (AI)”は、慢性肝疾患における肝線維化ステージの判別において Fischer 比よりもすぐれた診断能を有していることが明らかとなった。また、血漿アミノ酸濃度のバランスを解析することにより IFN 治療の効果予測が可能かどうかについての検討を行った結果、IFN 治療開始直前の血中の分岐鎖アミノ酸値 (BCAA) は、IFN 投与終了時におけるウイルス消失群においてウイルス非消失群に比べて有意に高値であったことが明らかとなり、この方法により IFN 治療効果を予測することがある程度可能であると考えられた。これらの結果から、適切なアミノ酸を選択しそれらの動態を詳細に検討することにより目的に即した有用な生体内の情報を得ることが可能であると考えられた。

共同研究者

奥村明彦 愛知医科大学 消化器内科 講師
石川哲也 愛知医科大学 消化器内科 講師

A. 研究目的

肝線維化ステージの診断は肝生検組織の組織診断によりなされている。しかし肝疾患患者においては血液凝固機能の異常や出血傾向などのために肝生検が安全に施行できない場合も存在しており、非侵襲的で有効かつ簡便な診断法の開発が求められている。これまで我々は血漿アミノ酸濃度が肝臓の病態を反映して変動していることを報告してきたが、今回、血漿アミノ酸濃度を多変量変数として相関解析を行うことにより肝線維化ステージを評価する手法を開発したため報告する。また、血漿アミノ酸濃度の動態を解析することにより IFN 治療の効果予測が可能かどうかについての検討を行った。

B. 研究方法

56例の C 型慢性肝炎患者および C 型肝硬変患者 (F1:F2:F3:F4=23:5:10:18 例)

を対象として早朝空腹時に採血を行い、23 種類のアミノ酸の血漿中の濃度を測定した。これらのアミノ酸を疾患の進展と正の相関をもった群と負の相関を持った群に分類し、それぞれの群からいくつかのアミノ酸を抽出して一定の計算式に当てはめ、これらの割合を“AminoIndex (AI)”として算出した。このようにして得られた AI により線維化ステージを正確に判別できるかどうかを Fischer 比 (FR) との対比により評価した。また、71 症例の C 型慢性肝炎患者において、IFN 治療開始直前の血漿アミノ酸濃度を測定すると同時に IFN γ 産生 T 細胞数および IL4 産生 T 細胞数をフローサイトメトリーにより測定し、両者の比を Th1/Th2 として算出した。次にこれらの指標と IFN 投与終了時のウイルス消失率との関連性について検討した。

C. 研究結果

F2 以下のステージ群 (軽度線維化群) と F3・F4 群 (高度線維化群) の判別において、まず ROC 曲線解析による比較を行ったところ、AI、FR を用いた場合の AUC (曲線下面積) はそれぞれ 0.925、0.864 であり、AI は

FR よりも高い診断能をもつことが示された。また、相関係数 (R^2) についても FR は $R^2=0.396$ であったのに対し AI は $R^2=0.569$ と FR より高い相関を示した。次に、AI、FR をもちいてすべての症例を分別し、実際の線維化ステージの判別と合致しているかどうか (最大判別効率) を検討したところ、FR では 81.5% の症例が正しく分類されたのに対して AI を用いた場合には 87.0% の症例が正しく分類され、AI による最大判別効率は FR よりも勝っていた。

IFN 治療の効果予測については、IFN 治療開始後には時間の経過と共に Th1/Th2 は有意に低下していることが明らかとなった。また、IFN 投与終了時のウイルス消失率と Th1/Th2 の間には統計学上有意な相関関係が認められなかったのに対し、ウイルスが消失した群においては治療開始直前の分岐鎖アミノ酸値 (BCAA) がウイルス非消失群に比べて有意に高値であったことが明らかとなった。

D. 考察

血中アミノ酸のバランスは生体内における免疫状態をはじめとしたさまざまな状態のトータルの output であると考えられ、適切なアミノ酸を選択しそれらの動態を詳細に検討することにより目的に即した有用な生体内の情報を得ることが可能であると考えられる。今回我々が報告した AI のような非侵襲的な肝線維化の診断法は、血液凝固機能の異常や出血傾向などのために肝生検が安全に施行できない場合などには特に意義があることであると考えられる。また、同様に IFN 治療効果についても Th1/Th2 以上の有用な予測指標を算出することが可能であると考えられ、今後はより簡便に利用できる新たなパラメーターを開発してゆく必要があると思われる。

E. 結論

“AminoIndex (AI)” を用いることにより、非侵襲的に慢性肝疾患における肝線維化ステージを判別することが可能であった。また、適切なアミノ酸を選択しそれらの動態を詳細に検討することにより IFN 治療効果についても有用な予測指標を算出することが可能であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

当該研究に関するものはなし。

2. 学会発表

- (1) 奥村明彦、石川哲也、綾田穰、佐藤頤、前野禎、堀田直樹、多賀谷恒明、福沢嘉孝、各務伸一. 慢性 C 型肝炎患者に対する IFN・リバビリン治療中の血中アミノ酸の変化と Th1/Th2 バランスの解析. 第 11 回日本消化器関連学会週間・第 7 回日本肝臓学会大会. 2003.10 大阪
- (2) Okumura A, Ishikawa T, Ayada M, Sato K, Maeno T, Hotta N, Tagaya T, Fukuzawa Y, Kakumu S. Nutrition is more important than Th1-dominated condition for better response in interferon alpha-2b/ribavirin. The 54th Annual Meeting of American association for the Study of the Liver Diseases 2003.11 Boston

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

申請中。

2. 実用新案登録

なし。

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型慢性肝炎に対する Interferon・Ribavirin 併用療法時のウイルス学的不応例の検討 —HCV core 領域のアミノ酸配列の検討—

分担研究者 熊田博光 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 副院長

研究要旨：HCV genotype 1b・高ウイルス量症例に対する Interferon(IFN)・Ribavirin(RBV)併用療法中にウイルスが陰性化しないウイルス学的不応例(Non-virological responder (NVR))に寄与する治療前予測因子を多変量解析で検討した。HCV core 領域の aa70 and/or aa91 でアミノ酸置換を有することが統計学的に有意差を示した。また、aa70 は glutamine、aa91 は methionine に置換される傾向があった。特に、治療開始後 24 週間以内に HCV RNA 量が $2\log_{10}$ IU/ml 以上低下しない absolute NVR ではこの様なアミノ酸置換パターンが 90%以上の高頻度で確認された。HCV core 領域のアミノ酸パターンは IFN・RBV 併用療法における NVR の治療前予測因子として有用であった。

共同研究者

芥田憲夫 虎の門病院 消化器科 医師
鈴木文孝 虎の門病院 消化器科 医師

A. 研究目的

HCV genotype 1b・高ウイルス量(>100KIU/ml)症例に対する Interferon(IFN)・Ribavirin(RBV)併用療法中にウイルスが陰性化しないウイルス学的不応例(Non-virological responder (NVR))について検討する。ウイルス学的因子として HCV core 領域のアミノ酸配列(aa1-191)の検討も行う。

B. 研究方法

(検討 1) IFN・RBV 併用療法 48 週間投与

2001 年から 2003 年に IFN・RBV 併用療法 48 週間の study に entry した genotype 1b・高ウイルス量の 57 例の中で 24 週間以上治療可能であった 50 例を対象とした。Peginterferon(PEG-IFN) α 2b 投与群 34 例、IFN α 2b 投与群 16 例。いずれも RBV600-800mg/日を併用。年齢 53 歳(中央値)。男性 31 例：女性 19 例。HCV-RNA 710KIU/ml(中央値)。Body mass index 23.2kg/m²(中央値)。F1/2/3 : 31/15/4 例。ISDR 変異数 (wild/intermediate/mutant) : 27/20/3 例。Hepatocyte steatosis の程度 (< 33%/33-66%/ > 66%) : 43/7/0 例。ウイルス学的因子として Core 領域のアミノ酸配列についても検討した。治療中のウイルス陰性化例を virological responder(VR)、非陰性化例を NVR と定義し、ウイルス学的要因も含めた 23 個のパラメーターから NVR に寄与する治療前独立因子を多変量解析で検討した。更に、Core 領域のアミノ酸置換パターンから見た治療成績についても検討した。Core 領域のアミノ酸パターンは 50 例から作成されたコンセンサスシークエンスとの比較で行われた。

(検討 2) Matched case-control study

1999 年から 2004 年までに当院で 24 週間以上の IFN・RBV 併用療法を受けた genotype 1b・高ウイルス量の 167 例の中で、年齢・性別を一致させた NVR44 例(case)と VR22 例(control)を対象として Matched case-control study を行い、Core 領域のアミノ酸配列が治療効果に及ぼす影響について検討した。両群共に

年齢中央値 53 歳、男女比 3 : 1。また、NVR をウイルス減少量から 2 群に細分化して更に詳細に Core 領域との関係を検討した。治療開始後 24 週間以内に HCV RNA 量(アンプリコア・ハイレンジ法)が $2\log_{10}$ IU/ml 以上低下しない究極の難治例を absolute NVR(ANVR)、 $2\log$ 以上低下する症例を relative NVR(RNVR)と定義した。

(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した(新 GCP に遵守)。既に医療保険が認められている治療法においても上記に準じて書面の同意書を得ている。

C. 研究結果

(検討 1) IFN・RBV 併用療法 48 週間投与

NVR は 24.0%(12/50 例)、VR は 76.0%(38/50 例)であった。NVR に寄与する治療前独立因子を多変量解析で求めると、血清アルブミンの低値(P=0.004)と Core 領域の aa70(P=0.013)、aa91(P=0.016)にアミノ酸置換を有することで統計学的に有意差を示した(Logistic regression analysis)。更に、Core のアミノ酸置換パターンから治療成績を見ると、aa70 の glutamine(Q) and/or aa91 の methionine(M)のアミノ酸置換を有する症例が VR 例で 42.1%(16/38 例)であるのに対して NVR 例では 91.7%(11/12 例)と高率であり、これは統計学的に有意差を示した(P=0.003 ; Fisher's exact probability test)。

(検討 2) Matched case-control study

特に、検討 1 で確認された Core 領域のアミノ酸置換に注目して両群を比較した結果、aa70 and/or aa91 にアミノ酸置換を有する症例は VR で 40.9%(9/22 例)であるのに対して NVR では 77.3%(34/44 例)と高率であり、これは統計学的に有意差を示した(P=0.006 ; Fisher's exact probability test)。

NVR を 2 群に細分化すると、45.5%(20/44 例)が ANVR、54.5%(24/44 例)が RNVR であった。更に、

Core のアミノ酸から治療成績を見ると aa70 and/or aa91 にアミノ酸置換を有する症例は ANVR で 95.0%(19/20 例)、RNVR で 62.5%(15/24 例)、VR で 40.9%(9/22 例)存在した。ANVR は、RNVR(P=0.049) や VR(P<0.001)と比較して高率に aa70 and/or aa91 のアミノ酸置換を有し、統計学的に有意差を示した (Bonferroni test)。aa70 の Q and/or aa91 の M のアミノ酸置換を有する症例は ANVR で 90.0%(18/20 例)、RNVR で 62.5%(15/24 例)、VR で 40.9%(9/22 例)存在した。ANVR は VR と比較して高率であり、統計学的に有意差を示した(P=0.002 ; Bonferroni test)。

D. 考察

IFN・RBV 併用療法は最強の治療である反面、副作用脱落例も多く認める。今回の検討で、HCV genotype 1b・高ウイルス量の RBV 併用療法による NVR 率は 24.0%、中でも究極の難治例といえる ANVR は NVR の 45.5%で存在した。この様なウイルス排除を期待出来ない症例をより早期に判定することは、長期発癌予防を目的とした治療への早期移行を可能とし、患者の身体的・経済的負担をより軽減出来る可能性がある。

NVR の治療前効果予測因子を検討した結果、HCV core 領域の aa70 and/or aa91 でアミノ酸置換を有することが NVR に寄与する独立因子であった。また、aa70 の Q and/or aa91 の M のパターンを有する傾向があり、特に ANVR ではこの様な変化を 90%以上の高い頻度で認めた。IFN 単独療法における治療抵抗性に関しては、HCV core 領域が Jak-STAT signaling cascade を介した抗ウイルス機序に関与していることが報告されている。今回の検討で確認された HCV core 領域のアミノ酸置換パターンが IFN・RBV 併用療法における治療抵抗性にどのようなメカニズムで関与しているか更なる検討を要する。

E. 結論

HCV core 領域のアミノ酸パターンは IFN・RBV 併用療法における NVR の治療前予測因子として有用であった。今後は、より多数例での prospective な検討を必要とする。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Watahiki S, Sato J, Matsuda M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Association of amino acid substitution pattern in core protein of hepatitis C virus genotype1b high viral load and non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy. *Intervirology* 2004 (in press).

2) Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Watahiki S, Sato J, Matsuda M, Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Predictive Factors of non-virological response to interferon-ribavirin combination therapy in patients infected with hepatitis C virus of genotype1b and high viral load: virological features in core region of non-virological responders. (in submission).

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）

分担研究報告書

C型慢性肝炎の IFN・リバビリン併用療法時の貧血に対するエイコサペンタエン酸の検討 —多施設共同研究—

分担研究者 佐田通夫 久留米大学第二内科 教授

研究要旨：インターフェロン・リバビリン併用療法（IFN・Rib療法）における最も重要な副作用は貧血である。我々はエイコサペンタエン酸（EPA）が変形能の改善効果をもたらすことに注目し、EPAを投与し、貧血の改善効果を検討した。治療前のHb値が15 g/dl未満例において、EPA投与群では、非投与群に比し0.7～0.9 g/dlの貧血抑制効果を示した。赤血球変形能の検討ではIFN・Rib療法12週目では、治療前に比し、赤血球変形能の有意な低下を認めた。しかしながらEPAを投与した患者に於いては、治療中に於いても赤血球変形能の低下は認められなかった。以上よりEPAは赤血球変形能の改善をもたらし、貧血の改善効果を示すことが判明した。

共同研究者
井出達也 久留米大学第二内科 医員

A 研究目的

インターフェロン・リバビリン併用療法（IFN・Rib療法）における最も重要な副作用は貧血である。貧血の機序のひとつとして、赤血球内に蓄積したリバビリンによりATP濃度が減少し、赤血球変形能の低下が起こり網内系で破壊されるためとされる。我々はエイコサペンタエン酸（EPA）が変形能の改善効果をもたらすことに注目し、EPAを投与し、ヘモグロビン（Hb）値の上昇が認められることを報告した。今回はEPA投与のprospective randomized control trialを行いその効果を検証したので報告する。また赤血球変形能を測定したのであわせて報告する。

B 研究方法

当科および関連病院において、IFN・Rib療法を受けた62例である。治療前に同意を得た後、封筒法にてEPA投与法を決定した。前期投与群は最初の12週間、EPAを投与し、その後中止とした。後期投与群は最初の12週間は、EPAは投与せず、12週治療後に貧血（Hbが正常値以下）が存在する例にEPAを投与した。

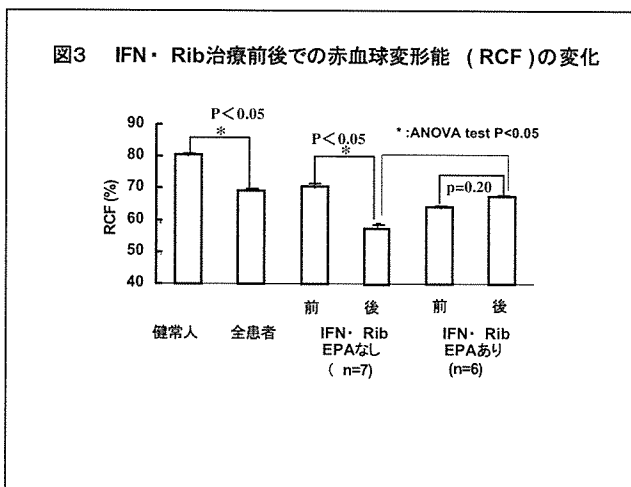
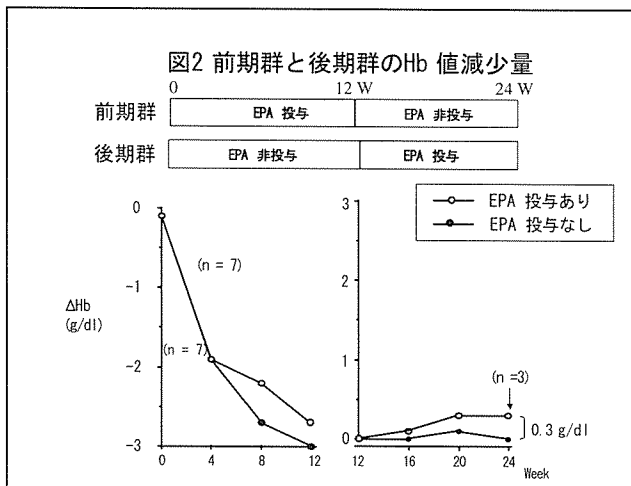
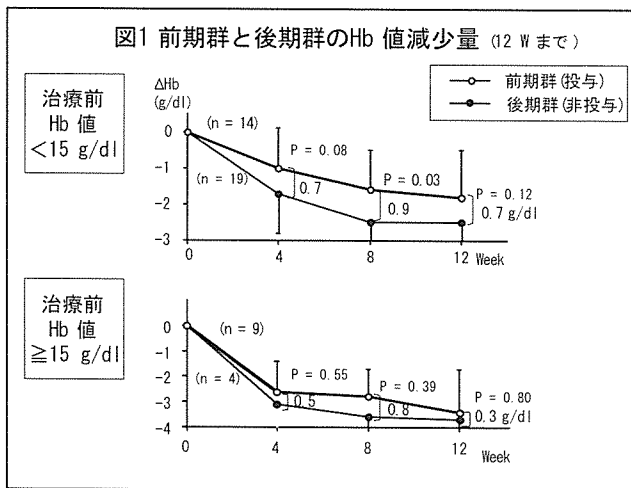
赤血球変形能の測定法は、末梢血をクリーンベン

チ内にて、無菌的にHEPES-Naバッファーにて洗浄した。白血球を含まない、赤血球浮遊液を迅速に調整した。Nickel mesh filterを用いた連続負圧式細胞変形能測定装置にて、赤血球変形能を測定した。

C 研究結果

図1にIFN・Rib療法治療開始後12週目までのHb値の減少量を示す。治療前のHb値が15 g/dl未満例において、EPA投与群では、非投与群に比し0.7～0.9 g/dlの貧血抑制効果を示した。図2にIFN・Rib療法およびEPAの投与完遂例のHb値の推移を示す。症例数が少ないため統計学的検討が行えないが、前期投与群、後期投与群いずれもEPA投与例において貧血抑制効果が認められた。

図3に、赤血球変形能の測定結果を示す。C型慢性肝炎患者では、健常人に比し赤血球変形能は有意に低値を示した。IFN・Rib療法12週目では、治療前に比し、赤血球変形能の有意な低下を認めた。しかしながらEPAを投与した患者に於いては、治療中に於いても赤血球変形能の低下は認められなかった。またIFN・Rib療法12週目において、EPA投与例と非投与例を比較するとEPA非投与例が有意に赤血球変形能が低値であった。



D. 考察

今回の研究によって、EPA 投与は貧血の抑制効果をもたらすことが明らかになった。しかしその抑制効果は 0.7~0.9 g/dl 程度であるため、EPA を内服していても貧血が完全に改善するわけではなく、リバビリンの減量を行わなければならない症例もあった。EPA の貧血抑制効果は赤血球変形能の測定の結果、赤血球変形能の改善に基づくものと考えられた。貧血の原因として、赤血球中のリバビリン濃度が上昇しており ATP の相対的不足がおこり変形能が低下するためと考えられているが、やはり変形能の改善だけでは貧血が完治しないことから変形能以外の原因もあると考えられる。

今後はさらに他の薬剤との併用などにより貧血を改善していく方法を考案する必要があると考えられた。

E. 結論

EPA は赤血球変形能の改善をもたらし、貧血の改善効果を示すことが判明した。今後さらに貧血を予防するための方策について他の薬剤も含め検討する必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ide T, Okamura T, Kumashiro R, Koga Y, Hino T, Hisamochi A, Ogata K, Tanaka K, Kuwahara R, Seki R, Sata M.

A pilot study of eicosapentaenoic acid therapy for ribavirin-related anemia in patients with chronic hepatitis C.

Int J Mol Med. 2003 Jun; 11(6): 729-32

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。