

ナログは、抗HBVと抗HIVの両方の活性を有しており、ラミブジンは当初HIVに対する薬剤として開発された後、HBVに対しても使用されるようになった。ラミブジンは抗HIV薬としては300 mg/dayで使用されるが、抗HBV薬としては、より少量で十分な抗ウイルス効果を発揮するため、100mg/dayで投与される、ここに落とし穴がある。

HIVの治療は1987年にHIVに対する初の逆転写酵素阻害剤AZT(レトロビル®)の開発以後、各種抗HIV剤が使用可能となり飛躍な進歩を遂げたが、当初は逆転写酵素阻害剤に対する耐性株の出現によるコントロール不良例が頻発し、治療に難渋していた。HBVのラミブジン投与によるYMDD出現例と同様のことが、HIV患者では1990年代半ばにすでに起きていた。特に問題となるのが、1カ所のアミノ酸変異の出現で多剤耐性になるということである。例えばラミブジン投与によりHIV逆転写領域にM184Vという変異が出現すると、このウイルス株はザルシタピン(ddC)、アバカビル(ABC)、エムトリシタピン(FTC)といった他の抗HIV剤に対しても薬剤耐性を獲得する。この問題を解決するために1990年代後半からHAART (highly active anti-retroviral therapy)と呼ばれる多剤併用の抗HIV療法が行われるようになり、薬剤耐性株の出現頻度は激減した⁴⁾。

このことからわかるように、B型急性肝炎治療時に特に注意すべき点は、「HBV/HIV重感染者に対して、抗HIV作用を併せ持つ抗HBV核酸アナログは単剤投与してはならない」ということである。HBV/HIV重感染者に対してラミブジン100mg/dayで単剤投与を行うと、HIVに対して不十分な抗ウイルス効果しか持たないので、HIVは容易に薬剤耐性を獲得する。次に抗HIV療法を行おうとしてもすでに多剤耐性を獲得した後ではHAART療法の薬剤選択の選択肢が非常に狭められ、その後のHIVの治療に支障が出てくるのである。抗HIV作用と抗HBV作用を併せ持つ核酸

アナログはラミブジンの他に、テノホビル(TDF)、エムトリシタピン(FTC)が知られていたが(HBVに対する保険適応はなし)、2007年になり新規抗HBV抗ウイルス剤であるエンテカビル(ETV)も抗HIV活性を有することが報告された⁵⁾。米国においてHIV/HBV重感染者に対するHBVの治療としてエンテカビルが投与されたところ、投与2カ月後にはHBVのみならず、HIVのウイルス量も減少し、投与6カ月後にはこの患者のHIVの逆転写領域に、上記ラミブジン投与時と同様のM184Vにmutationが出現していた。つまり抗HIV活性を併せ持つエンテカビルをHBV/HIV重感染者に単剤投与してはならない、ということになる。

従ってB型急性肝炎患者を診たときに重要なことは、抗HBV核酸アナログを投与する前に、患者のHIV感染の無いことを確認することである。成人発症のHBV初感染例では、性交渉による感染の可能性がきわめて高いため、全例HIV検査を施行する必要がある。またHBV持続感染例に対しても、易感染性のある症例や、男性間同性愛者や薬物常用者などはHIV感染の高リスクグループであり、必要に応じてHIV感染の無いことを確認してから、抗HBV核酸アナログの投与をすべきである。検査の結果HBVとHIVの重複感染があり、現段階でHBVに対する治療は必要であるがHIVに対する治療は必要でない場合は、保険では認可されていないが、抗HIV活性を持たないアデフォビルの単剤投与が推奨されている。一方HBVとHIVの双方の治療が必要な場合は、抗HBV活性と抗HIV活性を併せ持つ核酸アナログを含んだHAARTが考慮されるが、HIV陽性であれば、いずれの場合においても血液内科医と相談の上治療薬が決定されるべきである。

文 献

- 1) 熊田博光(主任研究者): 新規のB型肝炎患者の推移とその治療の実態 HBV genotype別にみた急性肝炎からの慢性化の検討 平成16年度—平成18年度 総括・分担研

- 究報告書, 117-122, 厚生労働省科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業 (肝炎分野), 2007
- 2) 熊田博光 (主任研究者): B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究 平成16年度—平成18年度 総括・分担研究報告書, 3-18, 厚生労働省科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業 (肝炎分野), 2007
 - 3) Chayama K, et al: Emergence and takeover of YMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudine therapy and re-takeover by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 27: 1711-1716, 1998.
 - 4) MacArthur RD, et al: A comparison of three highly active antiretroviral treatment strategies consisting of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, protease inhibitors, or both in the presence of nucleoside reverse transcriptase inhibitors as initial therapy (CPCRA 058 FIRST Study): a long-term randomised trial *Lancet* 368: 2125-2135, 2006.
 - 5) McMahon BS, et al: The HBV drug entecavir-effects on HIV-1 replication and resistance. *N Engl J MED* 356: 2614-2621, 2007.
-

ラミブジン投与 B 型肝炎症例の耐性株出現予測における ウイルスマーカーの評価

髭 修平* 荘 拓也* 山本 洋一*
中西 満* 中馬 誠* 浅香 正博*

はじめに

2006年9月にB型慢性肝疾患の新たな治療薬としてエンテカビルが使用可能となった。しかし、本剤に対する耐性はラミブジン耐性変異の存在下に出現することが知られており、すでにラミブジンを投与中の症例に対する治療計画については、ラミブジンの継続あるいは変更で意見が分かれているのが現状である。本稿では、この機会に現在ラミブジン継続中の症例における耐性出現について再検討し、ウイルスマーカー検査値からの予測の可否につき検討結果を示す。

I. B型肝炎治療における 核酸アナログ製剤

B型肝炎に対する抗ウイルス治療として、従来はインターフェロン製剤が投与されてきたが、その後、核酸アナログ製剤が使用可能となった。わが国では、ラミブジンが2000年11

月から慢性肝炎に、2005年9月から肝硬変にも投与可能となった。2004年12月にはラミブジン耐性出現例にアデホビルの併用が認められ、B型肝炎症例に対する長期的なウイルス抑制治療が可能となってきた。さらに、2006年9月にはエンテカビルが「B型肝炎ウイルスの増殖を伴い肝機能の異常が確認されたB型慢性肝疾患におけるB型肝炎ウイルスの増殖抑制」の目的で投与可能となった。さらにわが国ではB型肝炎に保険適応がないものの抗HBV作用を有するHIV治療薬として、tenofovirやemtricitabineがある。また、海外ではtelbivudineも臨床応用されている。これら核酸アナログ製剤は、副作用が少なく、抗ウイルス効果に優れている点から、現在のB型肝炎治療の主流を占めるものであるが、長期投与による耐性出現、肝炎の再燃(breakthrough hepatitis)が臨床的にもっとも大きな問題点である。

エンテカビルは、HBV-DNA量減少効果や耐性出現率の低さにおいてラミブジンより優れた成績が示されており^{1),2)}、今後、わが国では核酸アナログ製剤使用時の第一選択薬となるも

Key words : ラミブジン耐性遺伝子, B型肝炎, HBV-DNA

Shuhei Hige/Takuya Sho/Youichi Yamamoto/Mitsuru Nakanishi/Makoto Chuma/Masahiro Asaka

*北海道大学大学院医学研究科消化器内科学(〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目)

のと考えられている。エンテカビル耐性による肝炎再燃には、ラミブジンに対する主要な変異である YMDD 変異(YIDD あるいは YVDD への変異：M 204 I/V)，またはポリメラーゼの B 領域内の LLAQ から LMAQ への変異 (L 180 M)に加えて、T 184 S/A/I/L, S 202 G/C, M 250 I/V などの変異が必要と考えられている³⁾。実際の海外の臨床試験においても、ラミブジン不応者に対するエンテカビル1日1mg投与の2年後には約9%にウイルス学的リバウンドを認めている。

したがって、現在ラミブジン投与中の症例において、投薬を続行するのかエンテカビルに切り替えるかは、上述の変異出現の点を考慮して判断する必要が出てくる。現時点でウイルス耐性存在の測定が保険適応となっていないため、まず、通常のウイルスマーカーからラミブジン耐性出現について検討する。

II. ラミブジン耐性変異の出現

1. ラミブジン投与後の耐性出現

当科でラミブジンを投与したB型慢性肝疾

患患者160例につき、投与後の経過を示す。対象は、男94例、女66例、平均年齢は47.2歳(20~76歳)、慢性肝炎123例、肝硬変37例、HBe抗原陽性78例、HBe抗体陽性75例であった。ラミブジン投与期間中にHBe抗原陽性者におけるseroconversion(SC)を36例(46.2%)に認めた。一方、変異株によるHBV-DNA再上昇は50例(31.3%)に認めた。Kaplan-Meier法による累積SC達成率と耐性出現率をみると、投与開始半年から1年以内はSC期待度が高いが、1年以降はSC出現と比べ耐性出現が高率になる(図1)。

2. 投与開始前のHBe抗原/抗体

ラミブジン治療開始時点のHBe抗原の測定結果別に、投与後の耐性出現率を示す(図2)。HBe抗原陽性例では治療開始半年後、HBe抗体陽性例では治療開始1年以後から耐性出現の可能性が高くなる傾向が示されている。

3. 投与開始前のHBV-DNA量

ラミブジン治療開始時点のHBV-DNA量と投与後の耐性出現の関連は既報⁴⁾のとおりであ

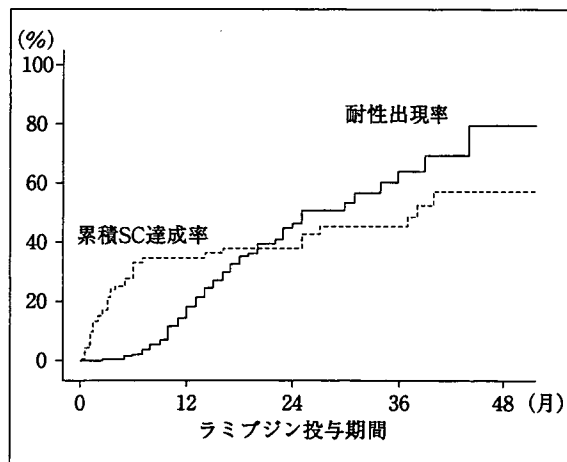


図1 ラミブジン投与後の累積SC達成率と耐性出現率

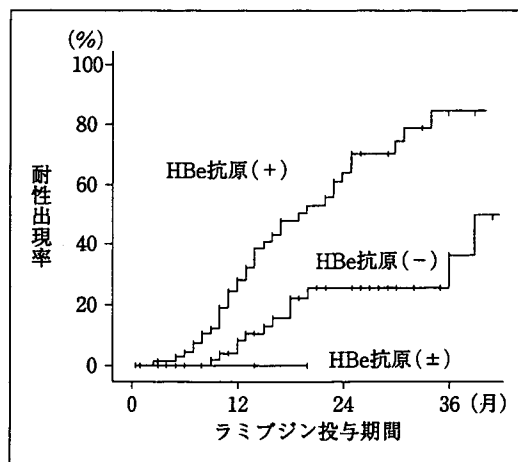


図2 HBe抗原とラミブジン投与後の耐性出現率

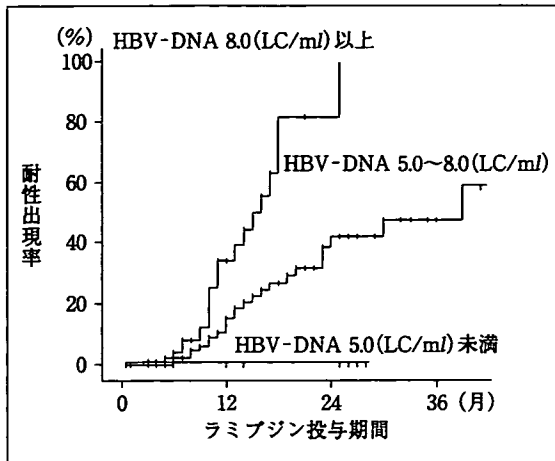


図3 ラミブジン投与開始時のHBV-DNA量と耐性出現率(LC: log copies)

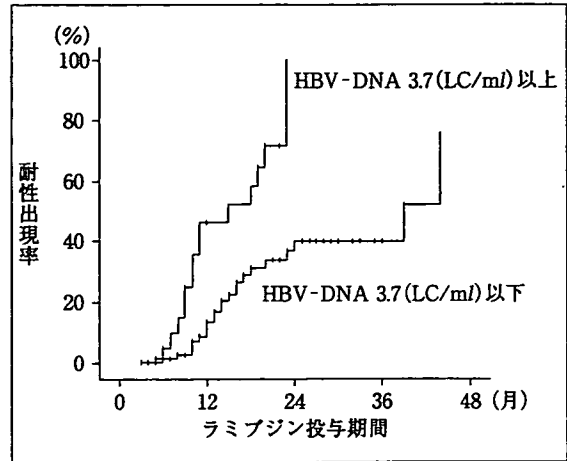


図4 治療開始12週後のHBV-DNA量と耐性出現率(LC: log copies)

るが、今回の検討でも両者に相関を認めた(図3)。開始時のHBV-DNA量が5.0(log copies/ml)未満の症例からは、開始後平均16カ月の経過中に変異出現例を認めていない。一方、治療開始時点でHBV-DNA量が8.0(log copies/ml)以上の症例では、開始後1年で34.2%と高率に変異が出現している。

4. 治療開始後のウイルス量の減少

ラミブジンを投与した後のウイルスレベルは、以後の耐性出現に関連する。治療開始後4週、8週、12週後のHBV-DNA量が3.7(log copies/ml)未満に低下していた症例の開始1年以内の変異出現率は9.1%、12.1%、13.1%であったが、各時期に3.7(log copies/ml)以上であった症例の1年以内の変異出現率は24.4%、35.4%、46.2%と高率であった(図4)。

5. ラミブジン投与例におけるエンテカビルへの切り替えの検討

現在ラミブジンを投与中の症例で、すでに変異株出現により肝炎再燃を認めているものにつ

いては、ラミブジンの継続・アデホビルの追加併用が原則である。

肝炎の再燃を認めていない症例に対する切り替えの可否については、上述したウイルスマーカーを参考に判断することになる。ラミブジンを開始してから短期の症例においては、HBe抗原陽性なら開始後6カ月以内、HBe抗体陽性なら開始後12カ月以内で、HBV-DNA量が持続的に減少し、少なくとも開始12週後までに3.7(log copies/ml)未満に低下している場合には、耐性が出現している可能性は低いことが推測される。ラミブジン治療を1年以上継続している症例に関しては、現在のウイルス量測定法のなかでもっとも感度の高いPCR法で2.6(log copies/ml)未満を持続していれば、耐性が出現している可能性は低いと思われるが、現行の検査のなかでは確実ではない。長期投与中にHBV-DNA量が測定可能域にある症例においては、耐性が出現していなければエンテカビルに変更して耐性出現回避の意義は大きい。一方、すでに耐性を獲得している可能性も高く、正確な判定はできないのが現状である。

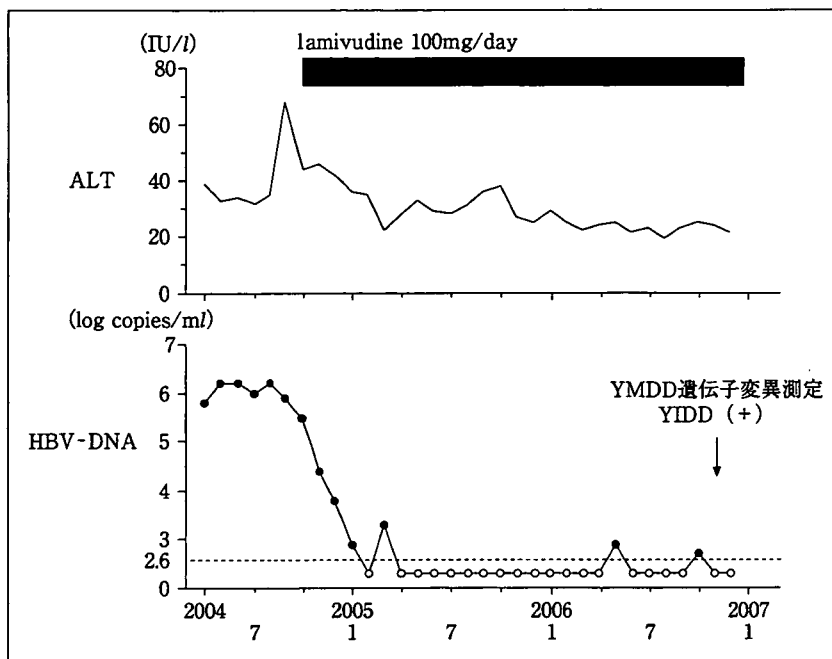


図5 HBV-DNA 測定感度以下の時期にラミブジン耐性が確認された症例

6. 症 例

58歳のB型肝炎硬変，肝細胞癌合併の症例を示す(図5)。2004年10月からラミブジンを通常の用量，用法で開始し，HBV-DNA量は投与開始時の5.5(log copies/ml)から順調に減少し，経過中の間欠的な3回の上昇を除き，PCR法の測定感度以下で推移していた。投与開始約2年後の2006年11月に，投与薬剤変更の可否を検討するために，ラミブジン遺伝子変異の測定を行ったところYIDD株の存在が確認された。

本例でYMDD変異株が確認されたのはPCR法では測定感度以下の検体であった。このような症例では，保険適応内の検査のみでは早期に変異の確認は困難であると思われる。

III. ラミブジン耐性遺伝子の測定

B型肝炎ウイルスのラミブジン耐性遺伝子変

異に関して現行の保険で認可された測定法はない。測定キットとしては，「スマイテストHBV-YMDD変異判定キット」(医学生物学研究所)と「INNO-LiPA HBV DR ver.2」(INNOGENETICS)がある。

前者の「HBV-YMDD変異判定キット」では，YMDD領域の遺伝子変異をPCR-ELMA(PCR-Enzyme linked mini-sequence assay)法を用いて測定する。本法では，PCR法で増幅したHBV-DNAをYMDD領域のアミノ酸モチーフ(野生型のYMDD，変異型のYIDDおよびYVDD)に特異的なプローブを用いて捕捉し，捕捉後のHBV-DNAを鋳型，プローブをプライマーとしてシーケンス反応を行い，プローブにビオチン標識塩基を結合させ，最終的にHRP標識ストレプトアビジンを反応させ，プレート上の発色反応で判定する。

後者のINNO-LiPA(line probe assay)法は，ストリップのニトロセルロース膜に結合さ

せたプローブとの反応で遺伝子変異などを測定する方法である。本法では、ビオチンで標識させた PCR 増幅 DNA を、ストリップに結合させた各変異型に特異的なプローブと反応させ、最終的に ALP 標識ストレプトアビジンを反応させて発色反応で判定する。本法では、YMDD 領域の 204 番目のアミノ酸変異のほかにも、80 番、173 番、180 番、181 番、236 番のアミノ酸変異についても変異の有無を同時に判定できる。

これらの測定は、保険適応の対象となっていないが、感度・特異度において優れた成績を示している。ラミブジン耐性遺伝子の検出は、変異のパターンにより肝障害出現に相違もみられ⁵⁾、臨床的には必要性が高いと思われる。

まとめ

ラミブジン投与中の B 型肝炎患者症例におけるおもな関心事の一つは耐性出現である。投与開始前および治療経過中のウイルスマーカーの評価は耐性出現の予測に有用であり、治療開始後もこれらの評価を繰り返す必要がある。しか

し、早期に変異を検出するために、新しい検査方法の導入が待たれる。

文 献

- 1) Chang, T. T., Gish, R. G., de Man, R., et al.: A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 354; 1001-1010, 2006
- 2) Lai, C. L., Shouval, D., Lok, A. S., et al.: Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 354; 1011-1020, 2006
- 3) Tenney, D. J., Levine, S. M., Rose, R. E., et al.: Clinical emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to lamivudine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48; 3498-3507, 2004
- 4) 髭 修平, 中馬 誠, 山本洋一, 他: B 型慢性肝炎の治療に伴うウイルスマーカーの変動. *臨床消化器内科* 20; 607-611, 2005
- 5) Natsuizaka, M., Hige, S., Ono, Y., et al.: Long-term follow-up of chronic hepatitis B after the emergence of mutation in the hepatitis B virus polymerase region. *J. Viral. Hepatitis* 12; 154-159, 2005

E 型肝炎について 知っておくべきこと

髭 修平

ポイント

- 「輸入感染症」以外に、わが国に「土着」した E 型肝炎ウイルスにより発症する。
- ヒトと動物にともに発症する「人獣共通感染症(zoonosis)」として注目されている。
- ブタ・イノシシなどの肉・レバー・ホルモンなどの生食により感染する可能性がある。
- 感染者は中高年の男性に多く、genotype に地域性や重症度の差がみられる。
- 急性肝炎の原因として、忘れずに鑑別疾患に挙げる必要がある。

この数年間で、わが国における E 型肝炎の「常識」は大きく変化した。従来、わが国における E 型肝炎は、海外で感染し発症する「輸入感染症」と考えられており、発症前の海外渡航歴の有無により可能性の有無を判断することができると思われてきた。しかし、最近の多くの知見から、国内に以前から「土着」している E 型肝炎ウイルス(HEV)株が存在することが明らかになった。さらに、ブタなどの肉・レバーなどの生食による感染の事実などから、「人獣共通感染症」であることも明らかになってきた。稀ながら輸血による感染例も報告されている。わが国における E 型肝炎発症の可能性に関する再認識が重要である。

病態・疫学

経口的に体内に入った E 型肝炎ウイルスは、腸管から血管内に侵入し、門脈経由で肝臓に到達し感染する。肝細胞内で増殖したウイルスは胆汁とともに十二指腸へ流出し、糞便とともに

体外に排泄される。排泄されたウイルスが新たな感染源となり、水系感染の原因となる。

これまでに、東南アジア・中央アジア・アフリカ・中央アメリカなどから 50 以上の大流行が報告されているが、これらの地域は衛生環境の整備が不十分で、雨期の河川の氾濫が流行に関連するものと考えられる。

一方、わが国では、E 型肝炎の流行性発生の報告は認めず、海外で感染した旅行者が発症するものと考えられてきた。しかし、近年、渡航歴のない E 型肝炎の発症が相次いで報告されるようになった。さらに、ブタ・イノシシ・シカなどの肉、レバー、ホルモンなどを生や加熱不十分な状態で摂取して感染をきたした症例も相次いで報告され¹⁾、ウイルスの遺伝子学的検討からも、HEV は人獣共通感染症を引き起こすことが明らかになった。わが国で飼育されているブタの多くが生後 6 カ月齢以前に密集した畜舎内で HEV に感染すること²⁾、ブタとヒトで相同性がほぼ一致する HEV 株が確認されていることなどの事実は、ブタがヒト E 型肝炎

ウイルス発症に関連していることを示唆している。また、ごく稀ではあるが、献血から得られたドナー血液にも HEV-RNA 陽性サンプルを認めており、輸血後肝炎発症の報告もある³⁾。

診断

E 型肝炎の確定診断においてはウイルス学的検査が必要である。検査には、抗体検査とウイルス遺伝子検査があるものの、現時点で保険診療下に測定可能なものがないことが、臨床的な大きな問題点である。抗 HEV 抗体には、IgG 型、IgM 型、IgA 型があり、IgM 型あるいは IgA 型 HEV 抗体陽性、ペア血清による IgG 型 HEV 抗体価の上昇が急性感染の診断に有用である。PCR 法あるいは NAT 法による HEV-RNA の検出は、ウイルスの存在の直接的な確認となる。HEV は、現在までに 4 種類の genotype に分けられ、1 型はアジア・アフリカ、2 型はメキシコやアフリカ諸国、3 型は欧米諸国、4 型は中国、台湾などのアジアでの発生が報告されてきた。これらのタイプによる構造の違いも、HEV の簡便で画一的な検査が確立していない一因となっている。測定検体は血清または糞便を材料とするが、糞便のほうがウイルスの検出期間が長い。最近では測定系の改良により、以前よりも長期にウイルスの検出が可能となってきた。

臨床像

これまで、わが国の E 型肝炎についての網羅的な臨床データは集約されていなかったが、2006 年、雑誌「肝臓」に報告された E 型肝炎感染 254 例の解析結果により、以下のような特徴が明らかにされた⁴⁾。① HEV 感染は全国に浸透している。② 中高年および男性に多い(平均年齢約 50 歳、男女比は 3.5 : 1)。③ わが国

の「土着」HEV の genotype にはタイプ 3 とタイプ 4 があり、タイプ 4 は北海道に多い。④ 高齢ほど重症化しやすい。⑤ genotype 4 のほうが顕性化率、重症化率が高い。⑥ 発生の季節性はない。⑦ 感染経路の推測可能例は約 40 %で、残りの 60 %の感染経路は不明であった。

若年者で症状が軽微な不顕性感染が多いが、発症した場合は高率に黄疸を伴う。2~9 週間(平均 6 週間)の潜伏期の後に、全身倦怠感、食欲不振、発熱、腹痛などが出現する。理学的には、黄疸、肝腫大を認める。通常は、発症から数週間で回復し慢性化することはないが、一部には劇症化することがある。海外における E 型肝炎では、妊娠第三期の妊婦に感染した場合に 10~20 %が劇症化するとされるが、わが国での報告は認めない。また、A 型肝炎ウイルスとの重複感染、あるいは、B 型肝炎や C 型肝炎の患者に E 型肝炎を発症した場合に重症化率が上昇する。なお、HEV 抗体が感染後に長期に陽性を維持するか、さらに終生免疫であるのかは明らかになっていない。

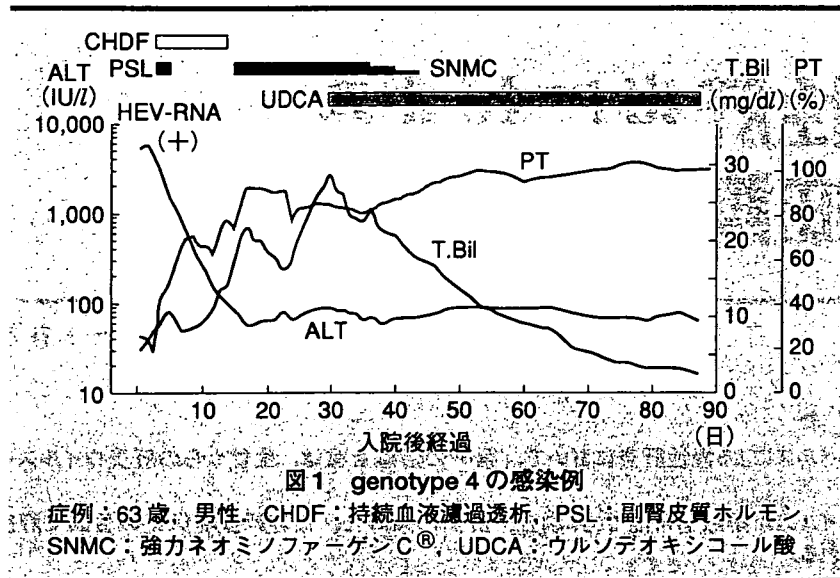
治療・予後

発症後の E 型肝炎に対する特異的な治療法はなく、安静・補液を主体とした一般的な治療を行う。重症化した場合には、さらに集中的な全身管理や肝庇護を行う。わが国でも、劇症化し死亡した症例が報告されている。劇症化例で肝移植術が必要な場合もあり、ほかの劇症肝炎と同様に移植外科との連携が必要である。

予後は一般的には良好で、慢性化することはない。前述した一部の重症化例に留意が必要である。

症例(図 1)

63 歳の男性で genotype 4 の感染例を示す。



2001年4月に38°Cの発熱があり、近医で抗生物質などの投与を受けたが改善せず、前医を受診したところ黄疸を指摘されたため、当科に紹介入院となった。入院3日目に4度の肝性脳症を認めたため、人工呼吸管理下に、持続血液濾過透析、低体温療法、ステロイドパルス療法などの集学的治療を行った。肝移植も考慮されたが上記治療に反応を示し、保存的治療で改善が得られた。黄疸の遷延を認めたがウルソデオキシコール酸投与後に改善傾向を示し、90日後に退院した。事後の病歴聴取で発症前にバーベキューを行ったことが明らかとなったが、関連は不明である。

おわりに

現時点で、わが国のE型肝炎の感染経路については不明な点が多く、診断を確定する手段も保険診療下では存在しないことは、早急に解決すべき問題である。E型肝炎の診断が確定した場合には、感染経路を解明するために、詳細な現病歴や食事歴の再聴取が必要であり、さらに、同様の環境からの他の発症者の可能性も念頭におくことが望まれる。

E型肝炎は国内で感染・発症する疾患であることを再認識すべきである。急性肝障害の鑑別時に、E型肝炎の可能性を念頭におく必要がある。

文献

- 1) Yazaki Y, et al : Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. J Gen Virol 84 : 2351-2357, 2003
- 2) Takahashi M, et al : Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. J Gen Virol 84 : 851-862, 2003
- 3) Fukuda S, et al : Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among Japanese blood donors ; Identification of three blood donors infected with a genotype 3 hepatitis E virus. J Med Virol 73 : 554-561, 2004
- 4) 阿部敏紀, 他 : 本邦におけるE型肝炎ウイルス感染の統計学的・疫学的・ウイルス学的特徴 ; 全国集計254例に基づく解析. 肝臓 47 : 384-391, 2006

肝炎ウイルスキャリアにおける化学療法や分子標的薬は安全か？

中馬 誠・髭 修平

北海道大学大学院医学研究科消化器内科学/ちゅうま・まこと ひげ・しゅうへい

はじめに●

肝炎ウイルス(HBV, HCV)キャリアにおいて、化学療法などによるウイルスの再活性化、急性増悪が临床上問題となるが、その大部分はHBVキャリアである。近年、悪性腫瘍に対して分子標的薬を含めた化学療法のめざましい進歩がある。一方、このことは合併する他疾患のコントロールの重要性を示唆しており、中でもHBVキャリアの急性増悪のコントロールがその後の予後に大きな影響を与える可能性が大きいと考えられる。ラミブジンの投与が普及し、HBVキャリアからの急性増悪についての減少が望まれるところであるが、現状は必ずしもそうではない。本稿ではHBVキャリアにおける化学療法、分子標的薬の安全性について述べる。

HBV キャリアからの重症化●

1. 現状

HBV キャリアからの急性増悪による重症化または劇症化をきたすことはまれではない。特に劇症肝炎をきたした場合、HBV キャリアからの発症例は、亜急性型の経過をたどることが多く予後が不良である。厚生労働省研究班の報告¹⁾では、1998～2002年に発症した劇症肝炎、遅発性肝不全604例のうち、ウイルス性は48%であり、ウイルス性で最も多いのはB型で全体の37%を占めており、キャリアからの発症は13.7%(83例)であった。キャリア例は亜急性型を呈する頻度が高率であり、亜急性型のうちHBV キャリアからの発症は17%であった。また劇症肝炎におけるHBV キャリアからの頻度は、1983～1987年が8%、1988～1992年 が9%、1993～1997年 が14%であったことから、年々増加傾向にあるものと推定される。さらにHBV キャリアからの劇症肝炎の予後は決して満足すべき成績が得られて

いない。内科的治療のみを実施した1998～2002年の症例全体における救命率は、急性型が54%、亜急性型が23%、遅発性肝不全が12%であり、HBV キャリアでは急性型が36%、亜急性型が12%と両群ともに全症例での救命率を大幅に下回っていた。ラミブジンが投与されたHBV キャリア例は2002年に14例登録されていたが、このうち内科的に救命されたのは2例に過ぎず、HBV キャリアから劇症肝炎、遅発性肝不全をきたした場合、内科的治療で救命するのは困難であり、肝移植を念頭においた治療を実施せざるを得ないのが現状であると考えられる。なお、エンテカビルについては、本邦では2006年9月から保険適応となり、重症肝炎に対する治療効果についての成績は現在のところない。

2. 誘因と病態

HBV キャリアからの急性増悪による重症化をきたす誘因は多岐にわたる。その誘因の多くは自然発症例であるが、他の疾患の治療に用いた抗癌剤、ステロイドをはじめとした免疫抑制剤によりHBVの再活性化が生じ、肝炎の急性増悪をきたす症例が存在することは知られている。その発症メカニズムとしてHBVは免疫応答により抑制された状態であり、抗癌剤や免疫抑制剤を使用することで免疫均衡の破綻が生じた結果、HBs抗原の再活性化やHBVの増殖が起きる可能性があると考えられている。なお、分子標的薬については、癌細胞で特異的に発現している分子を標的にすることから、これまでの抗癌剤に比べて癌細胞に対してより選択的に作用することができ、従来の抗癌剤がその作用機序のために抱え続けてきた骨髄抑制などの副作用の発現をおさえられることが期待されている。しかしながら、リツキシマブをはじめとした分子標的薬でも、HBVの再増殖が報告されており²⁾、従来の抗癌剤同様にHBVキャ

●肝炎ウイルスキャリアにおける化学療法は決して安全とはいえない。

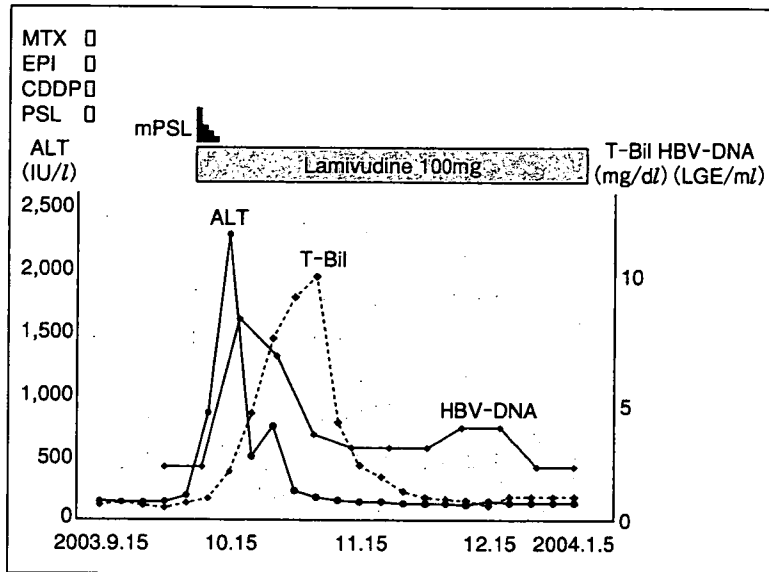


図1 他科にて化学療法施行後，肝機能の増悪あり当科受診となった症例

化学療法後のHBV再活性化，急性増悪と考え，ラミブジン，ステロイドパルス療法施行．重症化はきたさず肝障害改善，またHBV-DNAも検出感度以下になり，1年後にラミブジンの投与を中止．3年後の現在もtransaminaseは安定化しており，HBV再活性化をきたすことなく経過している．

リアに対しての投与は，十分な監視が必要であると考えられる．また副腎皮質ホルモンによる機序としては，糖質コルチコイドはHBV増殖のエンハンサーとしての作用があり，副腎皮質ホルモンの投与で糖質コルチコイドとHBV遺伝子が結合しHBVの増殖が促進されると考えられている．化学療法時に副腎皮質ホルモンを選択しないことで，HBVの再活性化を防ぐことを推奨している報告もある．

HBVキャリアからの重症化または重症化予防に対する治療●

インターフェロンは，種々の宿主免疫機構を介しての抗ウイルス効果，すなわち免疫賦活作用剤，免疫調整剤としてとらえられており，重症化または劇症化に対して多く使用されているが，予防的に投与することはない．最近，強力な抗ウイルス作用を有する核酸アナログ(ラミブジン，エンテカビル)の登場によって，HBVによる肝炎重

症化例の治療の向上や，HBVキャリアに対して抗癌剤や免疫抑制剤を投与する際に，核酸アナログを予防投与することで，再活性化をきたすことなく治療を完遂できることが期待されている．HBVキャリアの急性増悪は定期的に経過観察されていれば，HBVの増殖とそれに伴う肝炎の再燃にあわせて早期に抗ウイルス療法を行って急性増悪を軽快させることが可能であり，抗癌剤などの使用によるHBVの再増殖においても核酸アナログの出現により，事前に定期的な経過観察が可能な症例においては急性増悪への対処は抗ウイルス薬を第一選択可能となったと考えられる．しかし，事前に定期的な経過観察がない症例(図1)や他院から紹介された重症化，劇症化症例の治療では苦慮することが多く，抗ウイルス療法の開始が遅れることもある．それゆえ，ラミブジンの登場にもかかわらず，HBVキャリアからの重症化，劇症化に対しても内科的改善の兆しが見られず，一旦重症肝炎が発症してしまうとラミブジ

◎ HBV キャリアにおいて抗癌剤を使用する際には、核酸アナログ(ラミブジン、エンテカビル)の予防的投与により HBV のウイルス再活性化を抑制することが可能である。一旦重症肝炎が発症してしまうと核酸アナログを投与しても肝不全に至ることもあり、核酸アナログの早期投与が重要である。

表1 HBV キャリア患者における化学療法施行に際してのラミブジンの予防的投与

		患者数		投与抗癌剤	観察期間	HBV 再活性化 n (%)	HBV 最高値	ALT 最高値 (IU/l)
		LAM group	control group					
無作為試験 Lau	悪性リンパ腫	15	15	CHOP 他	治療後 3ヵ月	0 vs. 8 (53.3)	UD vs. 1×10^6 (copies/ml)	正常値 vs. 275
前向き比較試験 Dai	乳癌	11	9	CAF 他	19ヵ月	0 vs. 5 (55.6)	UD vs. 1.2×10^3 (copies/ml)	正常値 vs. 113
Idilman	白血病他	8	10	IDA 他	12ヵ月	0 vs. 5 (50)	UD vs. 30 pg/ml	正常値 vs. 372
Yeo	乳癌	31	61	Anthracycline steroid 他	治療後 2ヵ月	2 (6.5) vs. 19 (31.1)	記載なし	正常値 vs. 87
Yeo	頭頸部癌	16	21	CDDP steroid 他	治療後 2ヵ月	0 vs. 6 (28.6)	記載なし	正常値 vs. 正常値
前向き試験 Dai	乳癌	6	0	CAF 他	治療後 7ヵ月	1 (16.7)	1×10^3 (copies/ml)	50
Sayed	悪性リンパ腫他	10	0	CHOP 他	10ヵ月	0	記載なし	正常値
Hui	悪性リンパ腫他	46	0	Anthracycline steroid 他	治療後 26ヵ月	11 (23.9)	記載なし	正常値
Rossi	悪性リンパ腫他	20	0	CHOP 他	6ヵ月	1 (5)	UD	正常値
Vassiliadis	白血病他	10	0	steroid 他	15ヵ月	0	UD	正常値

UD：測定感度以下

(文献4)より引用)

ンを投与しても肝不全に至り、上述のごとく予後は厳しい。

HBV キャリアからの急性増悪における

核酸アナログの投与時期●

厚生労働省研究班の実施している「劇症肝炎、遅発性肝不全の全国集計」からは、HBV キャリアの急性増悪例を救命するためのラミブジン投与開始指針は明らかにされてはいない。しかしながら、同研究班からの報告³⁾では無症候性キャリアでは、プロトンピン時間が60%以上の症例では全例救命されているのに対し、40%以下では71%が死亡している結果から、プロトンピン時間が60%を境界値として肝不全の程度がこれを超えたら速やかにラミブジンを投与すべきと述

べている。

抗癌剤や免疫抑制剤などによるHBVの再増殖抑制に対してラミブジンを予防的投与する報告は、欧文誌で散見される(表1)⁴⁾。ラミブジン非投与群が、28.6~55.6% HBVの再増殖をきたしたのに対し、投与群では、0~23.9%に抑制されたと述べられている。しかしラミブジンを投与した群でHBVの再増殖をきたしている多くは、ラミブジン投与中止後の再増殖であり、ラミブジン投与中で、HBeAg(-)、HBeAB(+)⁵⁾のHBV無症候性キャリアからHBVの再増殖をきたす例は、ラミブジンによる耐性株の出現以外にきわめてまれと考えられる。一方、抗癌剤や免疫抑制剤を投与する前に、全症例に対して予防的にラミブジンを投与すべきかという点、ラミブジン耐性

HBV 株の出現が問題となり、現在のところ、本邦でもラミブジンの投与時期について明確な指針が出ていないのが現状かと思われる。したがって、HBV キャリアに対して分子標的薬をはじめとした抗癌剤、免疫抑制剤を使用するに際しては、予防的投与を行うか、または十分にモニタリングしながら、transaminaseの上昇またはHBVの増殖が生じた際に早い段階でラミブジンをはじめとした抗ウイルス薬の投与をすべきと思われる。またHBV キャリアからの急性増悪に対するラミブジン投与でのYMDDの変異株の出現やbreakthrough hepatitisおよび投与中止の可能性などに関しては、通常の慢性肝炎と大差が認められない可能性がある。長期予後に関しては、さらに症例数の蓄積と経過観察が必要と考えられる。最近、薬剤耐性HBV株の出現が少なく、よりHBV-DNAの増殖抑制が強い薬剤としてエンテカビルが本邦でも保険適応となった。2006年現在、HBV キャリアにおいて化学療法を施行する際に、エンテカビルによるHBVの再増殖抑制の予防的投与についての報告はみられないが、ラミブジンに比較して耐性株の出現が少ないことから今後エンテカビルによる予防的投与が期待される。

おわりに●

HBV キャリアにおける化学療法は、核酸アナログを予防的に投与すれば、HBV再活性化をきたすことなく治療を遂行することが可能である。しかしながら、化学療法後、肝炎が重症化した後に核酸アナログを投与しても、内科的に救命できない例もあり、HBV キャリアにおける化学療法は決して安全とはいいがたい。化学療法施行前後では、肝機能、HBVのウイルスマーカーの十分な監視が必要である。

文 献

- 1) 藤原研司, 持田 智, 松井 淳: 劇症肝炎, 遅発性肝不全の全国集計(2002年). 厚生労働省特定疾患対策事業「難治性の肝疾患に関する研究班」平成15年度報告書, p.85-106, 2004
- 2) Coiffier, B.: Hepatitis B virus reactivation in patients receiving chemotherapy for cancer treatment: role of Lamivudine prophylaxis. *Cancer Invest* 24: 548-552, 2006
- 3) 持田 智, 藤原研司: HBV キャリアからの重症化, 劇症化に対する治療. *肝臓* 45: 402-406, 2004
- 4) Kohrt, H. E., Ouyang, D. L., Keeffe, E. B.: Systematic review: lamivudine prophylaxis for chemotherapy-induced reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 24: 1003-1016, 2006

C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療とHCV抗体価の変動

髭 修平* 中西 満* 中馬 誠*
山本 義也** 永坂 敦*³ 浅香 正博*

はじめに

C型肝炎ウイルス(HCV)に対する抗体測定系は、HCV発見の端緒となった検査法である。HCV感染の事実(存在あるいは既往)を確認するための標準的な検査法で、通常は診断目的に利用されることが多い。近年、C型慢性肝炎に対しては、インターフェロン(IFN)〔あるいはペグ・インターフェロン(PEG-IFN)〕やリバビリンを用いた抗ウイルス治療が盛んに行われているが、ウイルス学的著効を意味するSVR(sustained virological response)の判定は、通常、治療終了後6カ月経過しなければ困難である。

本稿では、HCV抗体価の変動を、治療中における治療後の効果予測に応用できないか検討を試みた。

I. HCV抗体測定系

HCVの発見は、1988年に米国のChiron社によるHCVの非構造(NS)領域のc100-3と名付けられた合成ペプチドに対する抗体測定系の開発が発端となった。この抗体検査の結果、それまで「非A非B型肝炎」とされていた多くの症例がC型肝炎であることが判明したが、結果的にはgenotype 2型を主とする偽陰性例も含まれ、全体では70%程度の症例の診断に有用であった。

その後開発された「第二世代HCV抗体」測定系では、第一世代抗体で用いられたc100-3抗体以外のNS3領域や構造領域であるcore領域の合成ペプチドも抗原に加えて検出感度を高めた。その結果、検出感度は格段に向上し、偽陽性・偽陰性の出現が著しく減少した。

通常、抗体反応は個人差が大きく、抗体価が生化学的、ウイルス学的指標とは関連しないの

Key words : C型慢性肝炎, インターフェロン治療, HCVコア抗体

Shuhei Hige/Mitsuru Nakanishi/Makoto Chuma/Yoshiya Yamamoto/Atsushi Nagasaka/Masahiro Asaka

*北海道大学大学院医学研究科消化器内科学(〒060-8638 北海道札幌市北区北15条西7丁目)

**市立函館病院消化器内科

*³市立札幌病院消化器科

で、慢性肝炎の経過中に抗体価を繰り返し測定する意義はない。しかし、複数のエピトープを有し抗体価の変動の少ない第二世代抗体においても、感染治癒から長期間経過した症例、あるいは抗ウイルス療法著効後の経過観察例では、抗体価は低値である。また、後述するように、単一のペプチドに対する抗体価は、短期間の治療経過においても有意な変動が観察される。

抗体測定系の経時的変動は軽度で、C型肝炎に対する抗ウイルス治療中のウイルスのダイナミックな変動を表すには不向きであるが、ウイルス核酸測定系に比べて安定した結果が得られる点は有用である。

本稿では、単一のペプチドに対するHCV抗体測定を、抗ウイルス治療中の効果判定予測目的に応用できないか検討した。とくに、近年のC型肝炎「難治例」に対する抗ウイルス治療の標準治療期間は48週間であり、さらに長期投与が必要と思われる症例もある。IFN治療期間中の抗体価の変動から効果予測が可能であれば有用性は非常に高いと思われる。

II. HCVの構造領域・非構造領域に対する抗HCV抗体測定

まず、以前われわれが検討した、IFN治療を行ったC型慢性肝炎患者について、治療経過中の構造領域・非構造領域合成ペプチドに対する抗HCV抗体価の測定結果を示す¹⁾。

治療時期はC型肝炎に対するIFN治療が可能となる以前の1990~1991年であり、IFNは α 型あるいは β 型を(連投および間欠投与を含めて)8週から16週投与した。総投与量は $31,300 \pm 13,800$ (万単位)であった。対象は43例のC型慢性肝炎症例で、男性28例、女性15例で、年齢は 44.3 ± 12.1 歳であった。治療の結果、著効を14例(32.6%)に得た。これらの

症例の、治療開始前・治療終了時・終了6カ月後におけるHCVの構造領域および非構造領域のペプチドに対する抗体価測定を行った。

c100-3, c33-c, core領域のそれぞれに対するペプチド抗体を用いて、IFN治療前、終了時、終了6カ月後の抗体価を測定した。治療開始前の抗体価を100%としたときの経時的な抗体価の変化を、治療効果により著効例と非著効例に分けて示す(図1)。

著効例の、治療終了時/終了6カ月後の抗体価の平均変化率は、c100-3抗体では68.3/37.8%、c33-c抗体では59.9/19.2%、core抗体では83.4/26.6%で、非著効例では、c100-3抗体79.1/226.8%、c33-c抗体では106.6/221.2%、core抗体では90.4/119.0%であった。

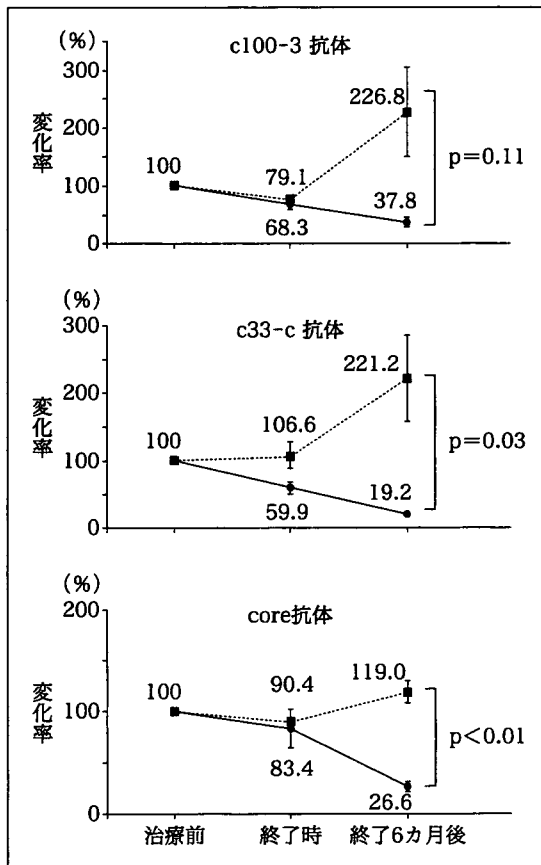


図1 IFN治療の効果とHCV抗体価の変化率
実線が著効例、破線が非著効例の変化を示す。

221.2%, core抗体では90.4/119.0%であった。著効例では経時的に抗体価の低下がみられた。とくに、治療終了6カ月後のcore抗体価が治療前値より50%以上低下した例では、ほとんどが著効例であった。結果的に、治療終了6カ月後の時点で著効群と非著効群の抗体価に有意差がみられた。

これらの検討は、従来型IFNによる半年以内の治療によるものである。すなわち、「終了6カ月後」でも治療開始からは1年以内の時期となる。現在「難治例」とされる1型高ウイルス量例に対する標準治療はPEG-IFNとリバビリンの48週間併用であり、本治療の終了時は従来治療の「終了6カ月後」に近い。もし、治療開始約1年後のこの時期の抗体価が治療効果を反映しているのであれば、治療終了時点で治療効果の予測が可能となり、延長治療が必要な症例の選別にも有用であると期待できる。そこで、現在、臨床的に測定可能なHCVコア抗体の測定により、検討を進めてみた。

Ⅲ. HCV コア抗体による治療経過中の抗体価変動の検討

現在、わが国で臨床的に測定可能なHCVコア抗体は、HCVのcore領域に対応したc22-3蛋白を抗原にしたもので、RIA固相法で測定される。core領域には全長で約190個のアミノ酸がコードされているが、その前半部分に抗原性の高い配列が認められ、c22-3抗体もこの領域をカバーしている。

この抗体を用いて、最近のC型慢性肝炎症例に対するIFN+リバビリン併用治療経過中の抗体価変動を測定した。対象は、IFN α 2b+リバビリンの24週間併用治療例およびPEG-IFN α 2b+リバビリンの48週間併用治療例の2群である。

1. IFN α 2b+リバビリンの24週間併用における治療効果とコア抗体価の変動

24週間のIFN α 2b+リバビリン併用療法を施行したC型慢性肝炎症例43例の、治療開始前、終了時、終了6カ月後の3ポイントのHCVコア抗体価を測定した。

対象は、男性23例、女性20例、年齢は56.0 \pm 6.3歳で、19例がSVRを得た。治療開始時を100%としたときのHCVコア抗体価の変化率は、SVR例では治療終了時68.0%、終了24週間後55.8%、非SVR例では治療終了時69.2%、終了24週間後131.2%であった(図2)。前述した検討と同様に、治療終了24週間後の抗体価変化率には2群に有意差を認め、開始時のコア抗体価から50%以上の低下を示した例も、SVR群では8例(42.1%)に認められたが、非SVR群では50%以上低下例はみられなかった。しかし、治療終了時までの抗体価の変動には2群に差を認めず、終了時に開始時よりもコア抗体価が50%以上低下した症例も、SVR群4例(21.1%)、非SVR群6例(25.0%)と、差がなかった。

2. PEG-IFN α 2b+リバビリンの48週間併用における治療効果とコア抗体価の変動

48週間のPEG-IFN α 2b+リバビリン併用

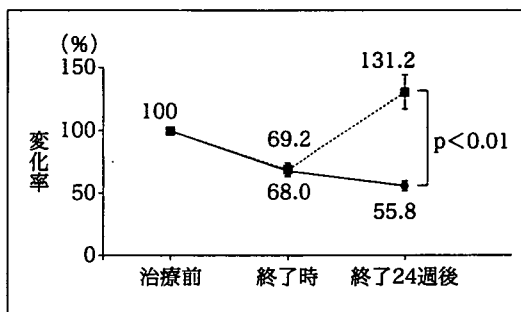


図2 IFN α 2b+リバビリン併用例のHCVコア抗体価変化率
実線がSVR例、破線が非SVR例の変化を示す。

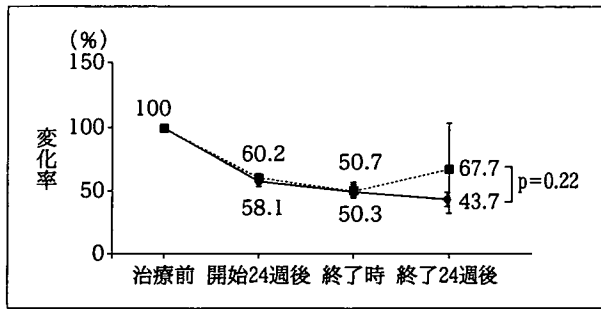


図3 PEG-IFN α 2b+リバビリン併用例のHCV コア抗体価変化率
実線がSVR例，破線が非SVR例の変化を示す。

療法を施行し，効果判定の可能な26例を対象とした。男性14例，女性12例で，年齢は 50.7 ± 10.9 歳。SVRが19例で，非SVR例は7例である。HCV コア抗体は，治療開始前/開始24週間後/治療終了時/終了6ヵ月後の4ポイントで測定した。

治療開始前のHCV コア抗体価を100%とした場合の平均変化率は，SVR例では100/58.1/50.3/43.7%，非SVR例では100/60.2/50.7/67.7%であった(図3)。開始前値より50%以上の抗体価低下を認めた例は，治療開始24週の時点では，SVR例の7例(36.8%)が非SVR例の1例(14.3%)よりも高率の傾向を認めたが，治療終了時では，それぞれ11例(57.9%)，4例(57.1%)で，治療効果の予測に有用な結果は得られなかった。

IV. 考 察

IFN治療終了後のHCV コア抗体測定はHCV排除の確認目的として有用である。治療開始前の抗体価を基準とした抗体価変化率も，治療の反応が良好な例で高率の傾向を示した。24週間治療例の有効性と抗体価変化率との検

討結果から，治療期間が長期化した場合に，治療終了前に抗体価の変化から効果予測へ結びつく可能性も期待された。しかし，残念ながら，難治例のIFN標準治療期間が48週間と長期化した現治療でも，48週間の治療期間内の抗体価測定からは，治療効果判定に有用な結果は得られなかった。とくに，48週間の治療終了時点では，SVR群，非SVR群の両群において，抗体価の平均低下率も50%以上低下例の比率も同等であった。

初期に検討した24週間治療例での著効例に比べて，48週間治療例は難治である症例も含まれ，肝臓内からHCVが完全に排除されてからの期間が短期である可能性も考えられる。著効例においては，治療後の時間の経過とともにHCV抗体価が低下する傾向が示されており²⁾，どの程度の期間経過が判定に妥当であるか，あるいは，より長期間の治療を行った場合の評価などが，今後の検討課題であると思われる。

ま と め

肝臓内からHCVが完全排除された場合にHCVに対する抗体価は経時的に低下する。HCV抗体価の測定は，核酸測定に比べて安定した結果が得られるが，現在の標準治療においては，治療期間中に効果判定の予測に応用することは困難であった。

文 献

- 1) 松嶋 喬，髭 修平，狩野吉康，他：効果判定のマーカー。臨床医 20；1508-1511，1994
- 2) 石川和克，小山富子：スクリーニング検査法としての市販HCV抗体測定法の特徴。日本臨牀 62(増刊号7)；199-207，2004

Original Article

Double filtration plasmapheresis and interferon combination therapy for chronic hepatitis C patients with genotype 1 and high viral load

Kenji Fujiwara,¹ Shuichi Kaneko,² Shinichi Kakumu,³ Michio Sata,⁴ Shuhei Hige,⁵ Eiichi Tomita,⁶ Satoshi Mochida⁷ and The Virus Reduction Therapy Study Group*

¹Yokohama Rosai Hospital, Yokohama, ²Kanazawa University Graduate School of Medicine, Kanazawa, ³Aichi Medical University, Nagakute, ⁴Kurume University School of Medicine, Kurume, ⁵Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, ⁶Gifu Municipal Hospital, Gifu and ⁷Saitama Medical University, Moroyama, Japan

Aim: The efficacy and safety of double filtration plasmapheresis (DFPP) plus interferon (IFN) combination therapy were compared with those of IFN therapy alone in 193 chronic hepatitis C patients having a high hepatitis C virus ribonucleic acid load of difficult-to-treat genotype 1b.

Methods: All patients received either interferon alpha-2b (IFN- α -2b) monotherapy or combination therapies with ribavirin and IFN- α -2b or pegylated interferon alpha-2b (PEG-IFN- α -2b). Each patient individually decided whether to receive concomitant DFPP. DFPP was immediately followed by IFN treatment, and up to five sessions were given during the first week.

Results: Sixty patients decided to receive DFPP. In the DFPP plus PEG-IFN- α -2b therapy group ($n = 30$), viral load reduction at 4 weeks after the start of treatment was greater than in

non-DFPP ($n = 74$) (2.47 vs 1.52, log, $P = 0.010$), and the sustained virus response was also higher (77.8% vs 50.0%), even in cases of re-treated patients (relapsers or non-responders to previous IFN therapies). Adverse events, mild and transient, were observed in 38.3% of all DFPP-treated patients.

Conclusion: DFPP plus IFN combination therapy produced a great reduction of viral load during the early stage of treatment and achieved a high sustained virus response, suggesting that this combination therapy may be a new modality for chronic hepatitis C patients at difficult-to-treat states.

Key words: combination therapy, double filtration plasmapheresis, early viral reduction, non-responder, relapser, sustained virus response

INTRODUCTION

IT IS WELL known that some cases of chronic hepatitis C ultimately progress to hepatic cirrhosis and hepatocellular carcinoma.^{1,2} Over the past 20 years, inter-

feron (IFN) therapy has improved to more effectively eliminate the virus, from IFN-only therapy, to its combination therapy with ribavirin, and to pegylated interferon (PEG-IFN) therapy.³ Nevertheless, even combined therapy with PEG-IFN and ribavirin for 48 weeks is unable to eliminate the virus in some 40% of hepatitis C cases.^{4,5}

Researchers are therefore actively developing new drugs to replace IFN, as well as drugs that can be used in

Correspondence: Professor Shuichi Kaneko, Department of Gastroenterology, Kanazawa University Graduate School of Medicine, 13-1, Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-8640, Japan. Email: skaneko@m-kanazawa.jp

*The Virus Reduction Therapy Study Group: T. Ide, H. Nishida, Kurume University School of Medicine; H. Yokoyama, T. Yamashita, Kanazawa University Graduate School of Medicine; H. Moriwaki, M. Nagaki, Gifu University School of Medicine; J. Sugihara, H. Takahashi, Gifu Municipal Hospital; T. Ishikawa, M. Miyata, K. Nishikawa, Aichi Medical University; S. Nagoshi, S. Sugahara, Saitama Medical University; K. Yamamoto, T. Mizuta, T. Ando, Saga Medical School; Y. Takei, N. Enomoto, H. Tsuda, Juntendo University School of Medicine; Y. Sumino, K. Ishii, Toho University School of

Medicine; H. Saisho, O. Yokosuka, Chiba University Graduate School of Medicine; K. Eguchi, K. Hamasaki, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University; K. Sawada, K. Fukunaga, Hyogo College of Medicine; Y. Arakawa, M. Moriyama, Nihon University School of Medicine; M. Imawari, T. Ito, Showa University School of Medicine.

Received 25 January 2007; revision 22 February 2007; accepted 2 March 2007.

combination with IFN. Also, attempts are being made to physically remove hepatitis C virus (HCV) particles from the blood. Granulocyte apheresis, plasma exchange and hemofiltration have been applied to HCV-infected patients for treatment of cryoglobulinemia and vasculitis, and these modalities are shown to reduce HCV ribonucleic acid (RNA) in the blood during the treatment.^{6–10} Marson *et al.* reported that low-density lipoprotein-cholesterol apheresis and plasma exchange in hypercholesteremia patients with HCV infection reduced the quantity of HCV-RNA in the blood of some cases.¹¹ Ishida *et al.* found that hemodialysis, hemofiltration and peritoneal dialysis in chronic dialysis patients infected with HCV produced significantly lower HCV-RNA levels in the blood.¹² There are reports of combined granulocyte apheresis with IFN therapy for chronic hepatitis C,^{13–15} and also reports claiming that early reduction of the virus is important in the treatment of chronic hepatitis C.^{16,17} Thus, the potential effectiveness of IFN therapy combined with early virus removal by a physical method is of particular interest. Moreover, Sakai *et al.* reported the mechanism of clinical results by plasmapheresis whereby HCV in the blood was related to the treatment effects of IFN therapy, which could be enhanced by removing the virus from the blood.^{18–20}

In the present study, we treated chronic hepatitis C patients with double filtration plasmapheresis (DFPP) in order to reduce the blood levels of HCV-RNA at the early stage of IFN therapy.

METHODS

Patients in the study

THE PATIENTS INCLUDED 89 cases treated with interferon alpha-2b (IFN- α -2b) therapy at 15 facilities in Japan between 2002 and 2004, and 104 cases treated with pegylated interferon alpha-2b (PEG-IFN- α -2b) therapy in 2004 (Table 1). A total of 182 patients underwent liver biopsy in order to clarify the staging and grading of chronic hepatitis C. All patients were confirmed to be HCV-RNA positive with high transaminase levels persisting for 6 months or longer, and their HCV-RNA genotype was 1b, the blood levels of which exceeded 100 KIU/mL, as determined by the Amplicore HCV monitor method (Roche, Tokyo, Japan), prior to the start of corresponding therapies. All patients were negative for hepatitis B surface antigen. Patients' age ranged from 20 and 69 years. Patients with platelet counts $\leq 10 \times 10^4/\mu\text{L}$, leukocyte counts $\leq 3000/\mu\text{L}$, or hemoglobin levels ≤ 12 g/dL were excluded from the

study. Patients were divided into six groups according to the respective methods of treatment as follows: Group 1; five cases treated with DFPP plus IFN- α -2b for 24 weeks. Group 2; 10 cases treated with DFPP plus IFN- α -2b and ribavirin for 24 weeks. Group 3; 59 cases given IFN- α -2b and ribavirin for 24 weeks. Group 4; 15 cases treated with DFPP plus IFN- α -2b for 48 weeks and ribavirin for the first 24 weeks. Group 5; 30 cases treated with DFPP plus PEG-IFN- α -2b and ribavirin for 48 weeks. Group 6; 74 cases given PEG-IFN- α -2b and ribavirin for 48 weeks. The total dose of IFN- α -2b for 24 weeks was 432×10^6 units or more, and more than 864×10^6 units for 48 weeks. The dose of PEG-IFN- α -2b was 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per week, and the dose of ribavirin was either 600 mg/day or 800 mg/day.

Each patient individually decided whether to receive concomitant DFPP. There were no significant differences in patient backgrounds among the six groups. The study was conducted with the written informed consent of individual patients and with the approval of the review boards of the respective medical facilities.

Double filtration plasmapheresis and blood collection

Blood was collected from the peripheral vein for DFPP, and a Plasmaflo™ OP-08W (Asahi Kasei Medical, Tokyo, Japan) was used to separate the blood into plasma and cell components. The virus was then removed from the separated plasma by a second filter (Cascadeflo™ EC-50W; Asahi Kasei Medical) with an average pore size of 30 nm (Fig. 1). For each session, the final volume of treated plasma was 50 mL/kg. The number of sessions and the days when DFPP was given were decided by the physicians, based on the reduced plasma fibrinogen levels during DFPP and patient wishes.

HCV-RNA measurement

The quantity of HCV-RNA was measured by the original Amplicore HCV monitor method (detection limit: 0.5 KIU/mL) for groups 1–4, and by the high-range Amplicore HCV monitor method (detection limit: 5 KIU/mL) for groups 5 and 6. The quantity determined by the original method was converted into a high-range value using a regression formula ($y = 1.3983x - 1.8285$).²¹ The quantity for viral response rate was measured by the qualitative Amplicore HCV monitor (detection limit: 0.05 KIU/mL), and any quantity below the detection limit was taken to be negative.