

length polymorphism method based on specific nucleotide substitutions, as previously reported.<sup>18</sup>

#### Determination of HBV sequences

The sequences of HBV genomes were determined by the direct sequencing method after PCR amplification. Several primers were prepared for amplifying the basic core promoter (nt 1742–1849) and precore regions (nt 1814–1900). The primers for the first-round PCR were 5'-GTC TGT GCC TTC TCA TCT GCC-3' (sense, nt 1553–1573) and 5'-AGA ATA GCT TGC CTG AGT GC-3' (antisense, nt 2060–2079), and the primers for the second-round PCR were 5'-ACG TCG CAT GGA GAC CAC CG-3' (sense, nt 1603–1622) and 5'-GAA AGA AGT CAG AAG GCA AA-3' (antisense, nt 1954–1973). In brief, 5 µl of DNA extracted from serum was added to 4 µl of dNTP, 0.25 µl of TaKaRa Ex Taq (TaKaRa Bio, Shiga, Japan), 5 µl of 10 × Taq polymerase buffer, and 20 pmol of outer sense and antisense primers. The amplification profile was 2 min at 95°C, followed by 30 cycles at 94°C for 15 s (denaturation), 60°C for 45 s (annealing), and 72°C for 45 s (extension). For the second-round PCR, 1 µl of the first PCR product was added to the same reaction buffer with the inner sense and antisense primers but without the outer sense and antisense primers. The second PCR products (10 µl) were analyzed by 3% agarose gel electrophoresis using a molecular marker, and then stained with ethidium bromide. Direct sequencing was performed using an ABI PRISM 3100-Avant Genetic analyzer (Applied Biosystems Japan, Tokyo, Japan). Sequencing analysis was carried out using GENETYX-WIN version 4 (Genetyx, Tokyo, Japan).

#### Statistical analysis

Biological, clinical, and virological parameters determined within 24 h of admission were analyzed. Values for results were expressed as means ± SD. Differences in clinical characteristics among the three patient groups were analyzed by analysis of variance and the  $\chi^2$  test. Differences between two groups were analyzed by the  $\chi^2$  test, Fisher's exact test, or Student's *t*-test. A *P* value of less than 0.05 was considered to be statistically significant. Univariate and multivariate logistic regression analyses were performed using STATVIEW 5.0 for Macintosh (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## Results

#### Patients' characteristics

There were no significant differences among the three groups (AH, SAH, and FH) in age, sex, duration from

onset to admission, history of alcohol intake, or treatment with antiviral and/or immunosuppressive agents (Table 1). Although there was no appreciable difference among the three groups in total bilirubin values on admission, patients with FH had the highest mean aspartate aminotransferase values (3453 IU/l; *P* = 0.0104), the highest alanine aminotransferase values (4555 IU/l; *P* = 0.0144), and the lowest prothrombin activity (15.6%; *P* < 0.0001). However, there was a significant difference in the positivity for HBeAg among the three groups (*P* = 0.0451), and patients with FH had HBeAg on admission less frequently than those with AH (27.3% vs 72.7%; *P* = 0.0240). HBV genotype C predominated in each group (66.7%–81.8%), but there was no discernible difference in the frequency of genotypes/subgenotypes among the three groups. Ten (90.9%) of the 11 patients with FH were treated with plasma exchange, but no patients with AH or SAH received such treatment.

#### Quantitation of serum HBV DNA and serial changes in serum HBV DNA levels

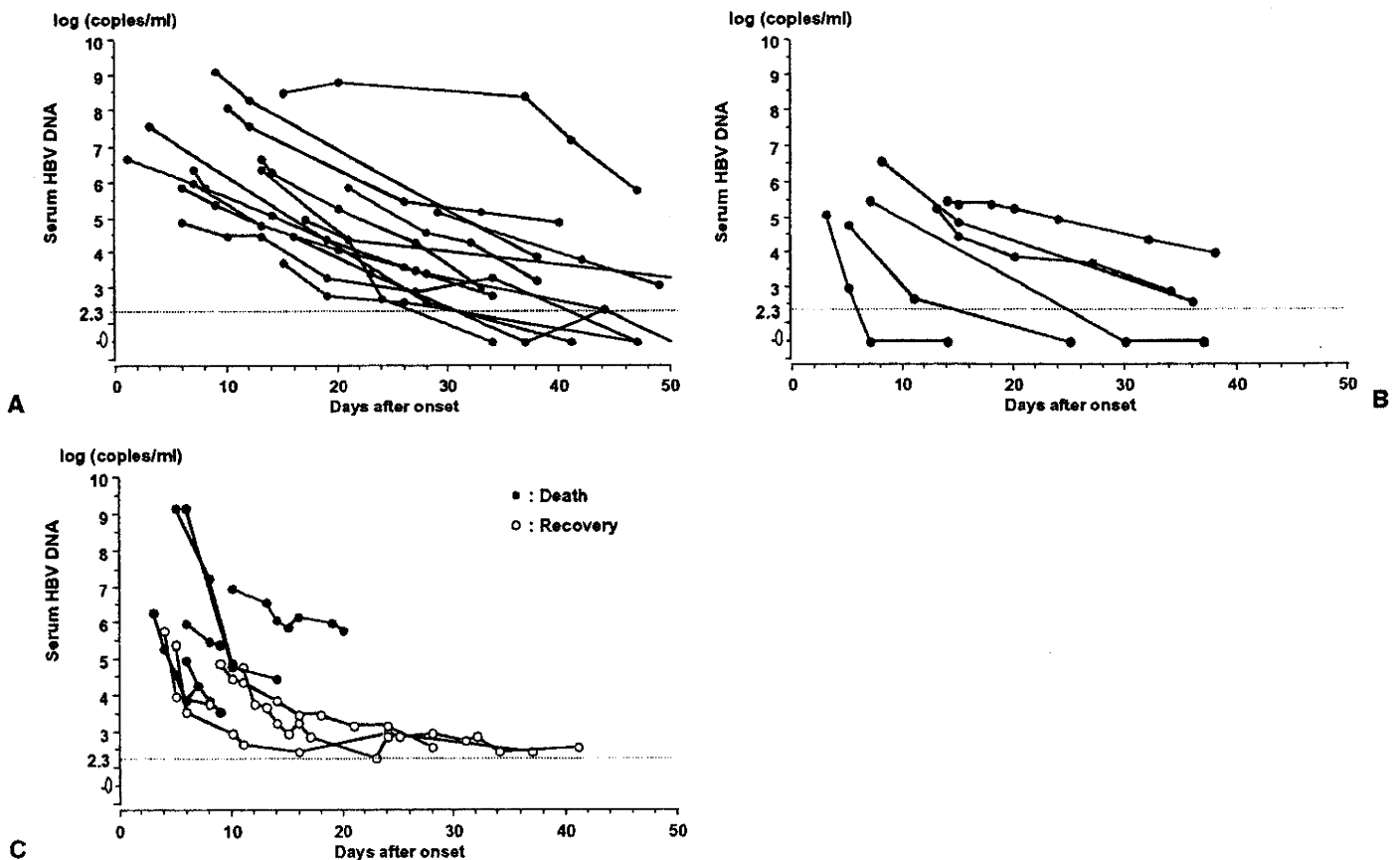
In serum samples obtained within 24 h of admission, HBV DNA levels were  $6.3 \pm 1.8 \log$  (copies/ml) in the AH group,  $5.8 \pm 1.2 \log$  (copies/ml) in the SAH group, and  $6.3 \pm 1.6 \log$  (copies/ml) in the FH group: the difference among the three groups was not statistically significant (*P* = 0.6863). Twenty-one patients who did not receive steroid pulse therapy, antiviral treatment, or plasma exchange (15 with AH and 6 with SAH) and 10 patients with FH who received plasma exchange were serially tested for serum HBV DNA levels (Fig. 1A–C). Serum HBV DNA level was highest on admission in 20 of the 21 patients. In patients with AH, serum HBV DNA level decreased gradually, and HBV DNA remained detectable even 30 days after the clinical onset (Fig. 1A). In patients with SAH, serum HBV DNA level tended to decrease rapidly and it could not be detected in 3 patients (50%) within 30 days from the clinical onset (Fig. 1B). Thus, the negativity rate for serum HBV DNA within 30 days after the clinical onset was significantly different in these two groups (0% vs 50%; *P* = 0.0207). In the 10 patients with FH who were treated with plasma exchange, the serum HBV DNA level decreased rather rapidly within 10 days from the clinical onset, irrespective of whether they had received steroid pulse, and the level further decreased gradually afterwards in 3 patients who recovered (Fig. 1C). The negativity rate of serum HBV DNA in the FH group was not compared with that in the other groups because 7 patients in the group died within 30 days from the disease onset. The HBV DNA level tended to decrease rapidly as the disease became more severe. The mean ± SD decrease of serum HBV DNA levels that were detected

**Table 1.** Clinical differences among patients with AH, SAH and FH

	AH (n = 22)	SAH (n = 9)	FH (n = 11)	P
Age (years)	37.2 ± 18.7	30.0 ± 7.8	39.5 ± 17.0	0.3909
Sex (M/F)	13/9	4/5	5/6	0.6584
Days between onset and admission	11.0 ± 7.9	7.0 ± 4.2	5.8 ± 2.5	0.0593
History of alcohol intake of over 50g ethanol daily	4 (18.2%)	1 (11.1%)	1 (9.1%)	0.7033
Biological data on admission				
HBeAg status				
HBeAg-positive	16 (72.7%)	5 (55.6%)	3 (27.3%)	0.0451
Anti-HBe-positive	13 (59.0%)	5 (55.6%)	9 (81.8%)	0.3624
Total bilirubin (mg/dl)	6.4 ± 4.7	9.3 ± 7.2	8.6 ± 3.1	0.2640
AST (IU/l)	1301 ± 848	2342 ± 1776	3453 ± 3021	0.0104
ALT (IU/l)	2266 ± 1160	3197 ± 2045	4555 ± 3118	0.0144
Prothrombin time (%)	75.6 ± 24.6	37.1 ± 8.0	15.6 ± 10.2	<0.0001
Genotypes/Subgenotype				
A	2 (9.1%)	0	0	0.4226
Ba	1 (4.5%)	1 (11.1%)	0	0.6277
Bj	2 (9.1%)	1 (11.1%)	2 (18.2%)	0.7465
C	16 (72.7%)	6 (66.7%)	9 (81.8%)	0.7350
H	0	1 (11.1%)	0	0.1529
Bj + C	1 (4.5%)	0	0	0.6277
Treatment				
Interferon	1 (4.5%)	0	0	0.6277
Lamivudine	3 (13.6%)	1 (11.1%)	1 (9.1%)	0.9271
Pulse steroid	2 (9.1%)	1 (11.1%)	1 (9.1%)	0.9834
Plasma exchange	0	0	10 (90.9%)	<0.0001

Values for continuous variables are expressed as means ± SD

AH, acute self-limited hepatitis; SAH, severe form of acute hepatitis; FH, fulminant hepatitis; HBeAg, hepatitis B e antigen; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase



**Fig. 1A-C.** Serial changes in serum hepatitis virus B (HBV) DNA level in patients with **A** acute self-limited hepatitis, **B** severe form of acute hepatitis, and **C** fulminant hepatitis

at the first two time points within 10 days from the clinical onset was calculated to be  $0.22 \pm 0.19$  log (copies/ml)/day in the AH patients ( $n = 4$ ),  $1.05$  log (copies/ml)/day in the SAH patient ( $n = 1$ ), and  $0.97 \pm 0.58$  log (copies/ml)/day in the FH patients ( $n = 8$ ), the difference being not statistically significant. Of note, the viremic level in the SAH/FH patients ( $n = 9$ ) decreased significantly more rapidly than that in the AH patients ( $-0.98 \pm 0.54$  vs.  $-0.22 \pm 0.19$  log (copies/ml)/day;  $P = 0.0210$ ).

#### Precore and core promoter mutations of HBV

HBV mutations in the precore and core promoter regions were G1896A (15 patients; 35.7%), G1899A (3 patients; 7.1%), A1762T/G1764A (14 patients; 33.3%), and T1753A/C and/or T1754C/G (14 patients; 33.3%). The frequency of mutations in the precore and core promoter regions was compared among the three groups (Fig. 2). G1896A was significantly more frequent in patients with FH than in those with AH (81.8% vs 9.1%;  $P < 0.0001$ ) and SAH (81.8% vs 44.4%;  $P < 0.05$ ). G1899A was less frequent than G1896A, and there was no significant difference in the frequency of G1899A among the three groups. The double mutation of A1762T/G1764A was significantly more frequent in patients with FH than in those with AH (81.8% vs 13.6%;  $P < 0.0001$ ) and SAH (81.8% vs 22.2%;  $P < 0.05$ ). Moreover, T1753A/C and/or T1754C/G occurred less frequently in patients with AH than in those with FH (13.6% vs 54.5%;  $P < 0.05$ ) and SAH (13.6% vs 55.6%;  $P < 0.05$ ). Mutations in both the precore (G1896A and/or G1899A) and core promoter regions (T1753A/C and/or T1754C/G and/or A1762T/G1764A) occurred more frequently in patients with FH than in those with AH (90.9% vs 9.1%;  $P < 0.0001$ ) and SAH (90.9% vs 33.3%;  $P < 0.05$ ).

#### Variables correlated with FH

To identify possible predictors of the development of FH among all patients studied, 13 potential variables were appropriately dichotomized, as listed in Table 2. Each of the mutations at nt 1753/1754, 1762/1764, 1896, and 1899 was regarded as a separate variable. Of these, seronegativity for HBeAg, G1896A, A1762T/G1764A, and mutations in both the precore and core promoter regions were significantly associated with FH (OR, 5.60; 95% confidence interval [CI], 1.22–25.8;  $P = 0.0269$ , OR, 18.8; 95% CI, 3.19–110;  $P = 0.0012$ , OR, 3.45; 95% CI, 0.82–14.5;  $P = 0.0905$ , and OR, 52.0; 95% CI, 5.38–502;  $P = 0.0006$ , respectively). Mutations in both the precore and core promoter regions had the highest OR among the significant mutations. In multivariate logistic regression analysis, the only independent variable significantly associated with FH was the presence of mutations in

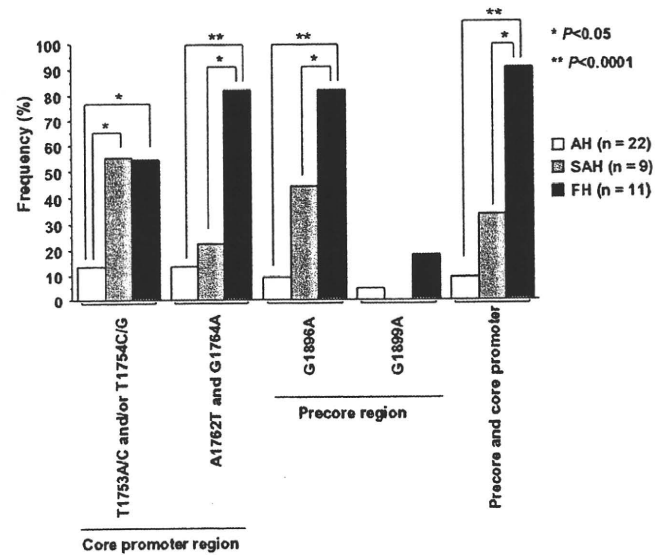


Fig. 2. Frequency of precore and core promoter mutations according to disease severity. AH, acute self-limited hepatitis; SAH, severe form of acute hepatitis; FH, fulminant hepatitis

both the precore and core promoter regions (OR, 42.8; 95% CI, 3.93–467;  $P = 0.0020$ ).

#### Variables correlated with death

To assess variables correlated with death in patients with severe coagulopathy, we conducted a univariate analysis of 13 variables in 20 patients with SAH or FH (Table 3). Of these, only a serum HBV DNA level of more than  $6.0$  log (copies/ml) and mutations in both the precore and core promoter regions were significantly associated with a lack of recovery (OR, 13.8; 95% CI, 1.48–128;  $P = 0.0117$  and OR, 5 820 000; 95% CI, 0–ND;  $P = 0.0048$ , respectively). In addition, there was no significant difference between patients who died and those who recovered in the duration from onset to admission ( $5.0 \pm 1.7$  vs  $7.1 \pm 3.8$  days;  $P = 0.1883$ ), but serum HBV DNA levels on admission were significantly higher in patients who died ( $7.0 \pm 1.6$  vs  $5.6 \pm 1.0$  log [copies/ml];  $P = 0.0293$ ; Fig. 3). Two FH patients with more than  $9.0$  log (copies/ml) of serum HBV DNA were conscious on admission but died of encephalopathy, 13 and 14 days after admission. The multivariate regression analysis did not show significant variables associated with death, most likely due to the small number of cases studied.

#### Discussion

Several virological mechanisms may account for the development of FH in patients with acute HBV infection, but the involvement of HBV viral load in the early

**Table 2.** Univariate analysis of factors correlated with fulminant hepatitis B due to acute HBV infection

	Patients (n)	OR	95% CI	P
Age (years)				
>40	14	2.04	0.49–8.41	0.3253
≤40	28	1		
Sex				
Female	20	1.46	0.37–5.80	0.5399
Male	22	1		
Total bilirubin (mg/dl)				
>6.0	26	3.71	0.69–20.0	0.1282
≤6.0	16	1		
AST (IU/l)				
>2000	14	3.45	0.82–14.5	0.0905
≤2000	28	1		
ALT (IU/l)				
>3000	15	1.75	0.43–7.14	0.4352
≤3000	27	1		
HBeAg seropositivity				
Negative	18	5.60	1.22–25.8	0.0269
Positive	24	1		
HBV DNA (log copies/ml)				
>6.0	17	3.71	0.69–20.0	0.8395
≤6.0	25	1		
HBV genotype				
C	31	1.84	0.33–10.3	0.4861
Others	11	1		
Precore mutations				
G1896A				
Positive	15	18.8	3.19–110	0.0012
Negative	27	1		
G1899A				
Positive	3	6.67	0.54–82.3	0.0620
Negative	39	1		
Core promoter mutations				
T1753A/C and/or T1754C/G				
Positive	14	3.45	0.82–14.5	0.0905
Negative	28	1		
A1762T/G1764A				
Positive	14	23.4	3.84–143	0.0006
Negative	28	1		
Precore and core promoter mutations <sup>a</sup>				
Positive	15	52.0	5.38–502	0.0006
Negative	27	1		

HBeAg, hepatitis B e antigen; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase

<sup>a</sup>Precore and core promoter mutations; mutations in both the precore (G1896A and/or G1899A) and core promoter regions (T1753A/C and/or T1754C/G and/or A1762T/G1764A)

phase of FH has remained obscure. Recent articles reporting the dynamics of viral replication and liver injury in acute self-limited hepatitis B have shown that the onset of clinical symptoms of acute HBV infection coincides with the peak or initial decline in serum HBV DNA levels.<sup>19,20</sup> Our data on the serial changes in serum HBV DNA levels showed that, on admission, the majority of patients studied, had already passed the peak level of serum HBV DNA. However, the duration from onset to admission was not significantly different among the three groups in the study (AH, SAH, and FH). Therefore, comparison of the viral load on admission

among the three groups in the present study seemed to be feasible. Although patients with FH received plasma exchange, steroid pulse, or antiviral therapy, the serum HBV DNA level tended to decrease rapidly within 10 days from the clinical onset as the disease became more severe. This finding may be ascribable to heightened immune responses in the early phase of SAH or FH.

The increased production of HBV in the liver and the resulting excessive presentation of HBV-related epitopes on the surface of hepatocytes to cytotoxic T cells may induce accelerated apoptosis. The hepatocytes that

**Table 3.** Univariate analysis of factors correlated with lack of recovery in patients with SAH and FH

	Patients ( <i>n</i> )	OR	95% CI	<i>P</i>
Age (years)				
>40	6	7.33	0.87–61.3	0.0540
≤40	14	1		
Sex				
Female	11	1.14	0.18–7.28	0.8875
Male	9	1		
Total bilirubin (mg/dl)				
>8.0	10	4.00	0.55–29.1	0.1545
≤8.0	10	1		
AST (IU/l)				
>3000	8	3.00	0.45–20.2	0.2521
≤3000	12	1		
ALT (IU/l)				
>4000	10	1.20	0.19–7.72	0.8485
≤4000	10	1		
HBeAg seropositivity				
Positive	8	1.20	0.19–7.72	0.8485
Negative	12	1		
HBV DNA (log copies/ml)				
>6.0	7	13.8	1.48–128	0.0117
≤6.0	13	1		
HBV genotype				
C	15	2.67	0.24–30.1	0.4016
Others	5	1		
Precore mutations				
G1896A	13	5.14	0.48–55.7	0.1777
Positive	7	1		
Negative				
G1899A	2	2.00	0.11–37.8	0.6440
Positive	2	2.00	0.11–37.8	0.6440
Negative	18	1		
Core promoter mutations				
T1753A/C and/or T1754C/G	11	1.14	0.18–7.28	0.8876
Positive	11	1.14	0.18–7.28	0.8876
Negative	9	1		
A1762T/G1764A	11	9.60	0.88–105	0.0640
Positive	11	9.60	0.88–105	0.0640
Negative	9	1		
Precore and core promoter mutations <sup>a</sup>				
Positive	13	5820000	0-ND <sup>b</sup>	0.0048
Negative	7	1		

HBeAg, hepatitis B e antigen; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase

<sup>a</sup>Precore and core promoter mutations; mutations in both the precore (G1896A and/or G1899A) and core promoter regions (T1753A/C and/or T1754C/G and/or A1762T/G1764A)

<sup>b</sup>Upper limit data of 95% CI were not determined because 100% of patients with lack of recovery showed precore and core promoter mutation

are producing HBV, diminish as the disease severity progresses. Therefore, the circulating HBV DNA level could be highest in AH if the replication activity of HBV is stable. However, to our surprise, the HBV DNA level at presentation did not differ significantly among the three groups in this study. It may be tempting to speculate that the production of HBV virions per hepatocytes in patients with FH may be heightened in patients with severe disease, although the destruction of hepatocytes proceeds swiftly in patients with FH. Therefore, in patients with SAH and FH, we evaluated vari-

ables that were correlated to death, including the serum HBV DNA level and the changing pattern of serum HBV DNA during the clinical course. To find factors affecting the clinical outcome in FH, we carried out univariate analysis in patients with SAH and FH who died and in those who recovered. Although mutations in both the precore and core promoter regions were significantly higher in nonsurvivors than in survivors, there was no difference in the frequency of those mutations, only a significant difference in viral load. Furthermore, all patients with severe coagulopathy and a high

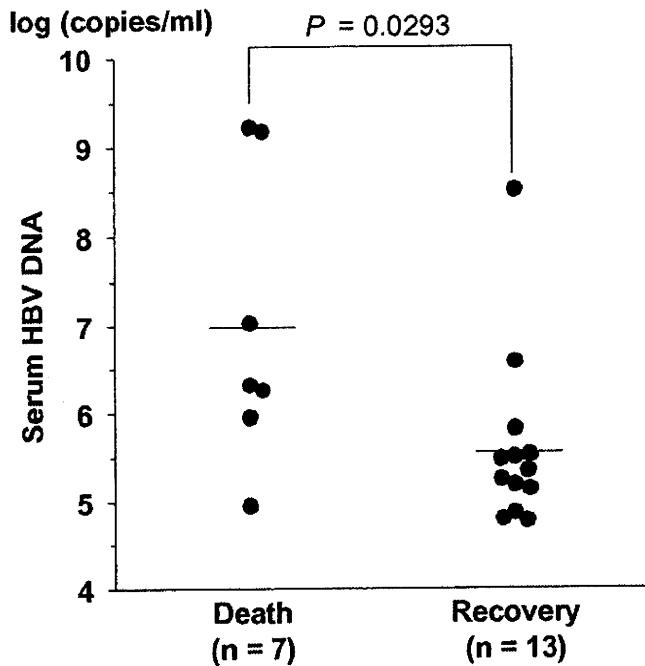


Fig. 3. Serum HBV DNA levels according to outcome among patients with severe form of acute self-limited hepatitis or fulminant hepatitis. The horizontal bars indicate the mean values

viral load, of more than 9.0log (copies/ml), died after being in a hepatic coma, regardless of the absence of encephalopathy on admission. Therefore, when a patient with acute hepatitis B develops severe coagulopathy, viral load is crucial for assessing the prognosis, and it may be beneficial to administer antiviral drugs in the initial phase within 10 days from the clinical onset.

Regarding the significance of the two precore mutations (G1896A and G1899A), it is known that they alter the regulation of HBV transcription and replication by providing a thermodynamically stable stem-loop structure (codons 28 and 29 in the precore region) that is involved in the encapsidation of HBV pregenomic RNA.<sup>4,21,22</sup> In this study, G1896A was predominant among precore mutations, and there were a few patients infected with HBV with the G1899A mutation, which was also accompanied by the G1896A mutation in one patient. These precore mutations in this study were closely correlated with the severity of disease, as described previously,<sup>4,5</sup> whereas there was no appreciable difference in HBV load on admission between patients with mutations in the precore region and those without (data not shown).

As for core promoter mutations, they are clustered within the region from positions 1750 to 1770 of the HBV genome, with the double mutations of A1762T and G1764A, being the most common.<sup>23-30</sup> Various mutations at nt 1753 and nt 1754, which confer the ability to secrete enveloped particles irrespective of the pres-

ence of core promoter mutations (A1762T/G1764A) and enhance HBV replication, were found more frequently in FH than in AH.<sup>31,32</sup> T1753A/C and/or T1754C/G mutations, which were accompanied by the double mutations of A1762T and G1764A in 57% of the patients in this study, occurred significantly more frequently in patients with FH than in those with AH or SAH. To date, most investigators have taken the approach of introducing the core promoter mutations into the background of a wild-type HBV genome and have focused on the double mutations of A1762T and G1764A.<sup>33-35</sup> When introduced into wild-type HBV genomes, the double mutations indeed decreased HBeAg expression level and also enhanced viral genome replication by two- to fivefold.<sup>33,34</sup> The decrease in HBeAg expression level is apparently mediated by a decrease in the precore mRNA transcription level, whereas the mechanism underlying enhanced replication may be more complex, involving both a transcription binding factor and the mutated HBx protein.<sup>35</sup> These findings suggest much-enhanced viral replication associated with FH.

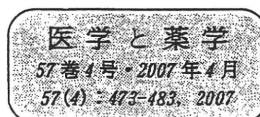
Recently, Ozasa et al.<sup>36</sup> reported that patients with FH showed less positivity for HBeAg and were more frequently infected with Bj than those with AH, and that G1896A and A1762T/G1764A were more frequent in patients with FH than in those with AH. In our current study, although genotype C was predominant in each group and there was no significant difference in the distribution of genotypes/subgenotypes among the three groups, all FH patients with HBV genotype B were of subgenotype Bj. The close association of HBeAg negativity and the presence of G1896A and A1762T/G1764A with FH observed in the present study was confirmatory, compared with the previous study by Ozasa et al.<sup>36</sup> However, our present study revealed that the serum HBV DNA level decreased more rapidly in patients with more severe disease, and this was possibly caused by enhanced immune-mediated apoptotic liver damage. The high viral load in patients with severe coagulopathy increased the risk of mortality; therefore, intensive therapeutic strategies such as liver transplantation should be considered for such patients in the early phase of the disease.

*Acknowledgments.* The authors thank Ms. Fumiyo Endo for technical assistance in the sequencing of HBV DNA, and Ms. Yasuko Motodate for preparing serum samples.

## References

1. Lee WM. Acute liver failure. *N Engl J Med* 1993;329:1862-72.
2. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989;97:439-45.

3. Sato S, Suzuki K, Akahane Y, Akamatsu K, Akiyama K, Yunomura K, et al. Hepatitis B virus strains with mutations in the core promoter in patients with fulminant hepatitis. *Ann Intern Med* 1995;122:241-8.
4. Hasegawa K, Huang JK, Wands JR, Obata H, Liang TJ. Association of hepatitis B viral precore mutations with fulminant hepatitis B in Japan. *Virology* 1991;185:460-3.
5. Liang TJ, Hasegawa K, Rimon N, Wands JR, Ben-Porath E. A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *N Engl J Med* 1991;324:1705-9.
6. Hasegawa K, Huang J, Rogers SA, Blum HE, Liang TJ. Enhanced replication of a hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *J Virol* 1994;68:1651-9.
7. Ogata N, Miller RH, Ishak KG, Purcell RH. The complete nucleotide sequence of a pre-core mutant of hepatitis B virus implicated in fulminant hepatitis and its biological characterization in chimpanzees. *Virology* 1993;194:263-76.
8. Kao J, Chen P, Lai M, Chen D. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology* 2003;124:327-34.
9. Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, Michitaka K, Ishikawa K, Ichida T, et al. A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. *Hepatology* 2001;33:218-33.
10. Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai M, Imazeki F, Kurihara T, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology* 2003;37:19-26.
11. Joh R, Hasegawa K, Ogawa M, Ishikawa K, Iizuka A, Naritomi T, et al. Genotypic analysis of hepatitis B virus from patients with fulminant hepatitis: comparison with acute self-limited hepatitis. *Hepatology* 2003;37:119-24.
12. Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Risk evaluation of viral load elevation and associated liver disease/cancer-in HBV (the REVEAL-HBV) study group. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology* 2006;130:678-86.
13. Brechot C, Bernuau J, Thiers V, Dubois F, Goudeau A, Rueff B, et al. Multiplication of hepatitis B virus in fulminant hepatitis B. *BMJ* 1984;288:270-1.
14. Chan P-C, Chen H-L, Kong M-S, Huang F-C, Lee H-C, Lin C-C, et al. Factors affecting the mortality of pediatric fulminant hepatic failure in relation to hepatitis B virus. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:1223-7.
15. Abe A, Inoue K, Tanaka T, Kato J, Kajiyama N, Kawaguchi R, et al. Quantitation of hepatitis B virus genomic DNA by real-time detection PCR. *J Clin Microbiol* 1999;37:2899-903.
16. Kato H, Orito E, Sugauchi F, Ueda R, Koshizaka T, Yanaka S, et al. Frequent coinfection with hepatitis B virus strains of distinct genotypes detected by hybridization with type-specific probes immobilized on a solid-phase support. *J Virol Methods* 2003;110:29-35.
17. Takahashi M, Nishizawa T, Gotanda Y, Tsuda F, Komatsu F, Kawabata T, et al. High prevalence of antibodies to hepatitis A and E viruses and viremia of hepatitis B, C, and D viruses among apparently healthy populations in Mongolia. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:392-8.
18. Sugauchi F, Kumada H, Sakugawa H, Komatsu M, Niitsuma H, Watanabe H, et al. Two subtypes of genotype B (Ba and B<sub>1</sub>) of hepatitis B virus in Japan. *Clin Infect Dis* 2004;38:1222-8.
19. Whalley SA, Murray JM, Brown D, Webster GJ, Emery VC, Dusheiko GM, et al. Kinetics of acute hepatitis B virus infection in humans. *J Exp Med* 2001;193:847-54.
20. Webster GJ, Reigant S, Maini MK, Whalley SA, Ogg GS, King A, et al. Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanisms. *Hepatology* 2000;32:1117-24.
21. Junker-Niepmann M, Bartenschlager R, Schaller H. A short cis-acting sequence is required for hepatitis B virus pregenome encapsidation and sufficient for packaging of foreign RNA. *EMBO J* 1990;9:3389-96.
22. Lok AS, Akarca U, Greene S. Mutations in the pre-core region of hepatitis B virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:4077-81.
23. Okamoto H, Tsuda F, Akahane Y, Sugai Y, Yoshida M, Moriyama K, et al. Hepatitis B virus with mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J Virol* 1994;68:8102-10.
24. Sterneck M, Gunther S, Santantonio T, Fischer L, Broelsch CE, Greten H, et al. Hepatitis B virus genomes of patients with fulminant hepatitis do not share a specific mutation. *Hepatology* 1996;24:300-6.
25. Friedt M, Gerner P, Lausch E, Trubel H, Zabel B, Wirth S. Mutations in the basic core promoter and the precore region of hepatitis B virus and their selection in children with fulminant and chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999;29:1252-8.
26. Gunther S, Piwon N, Iwanska A, Schilling R, Meisel H, Will H. Type, prevalence, and significance of core promoter/enhancer II mutations in hepatitis B viruses from immunosuppressed patients with severe liver disease. *J Virol* 1996;70:8318-31.
27. Honda A, Yokosuka O, Ehata T, Tagawa M, Imazeki F, Saisho H. Detection of mutations in the enhancer 2/core promoter region of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B virus infection: comparison with mutations in precore and core regions in relation to clinical status. *J Med Virol* 1999;57:337-44.
28. Kidd-Ljunggren K, Oberg M, Kidd AH. Hepatitis B virus X gene 1751 to 1764 mutations: implications for HBeAg status and disease. *J Gen Virol* 1997;78:1469-78.
29. Erhardt A, Reineke U, Blondin D, Gerlich WH, Adams O, Heintges T, et al. Mutations of the core promoter and response to interferon treatment in chronic replicative hepatitis B. *Hepatology* 2000;31:716-25.
30. Takahashi K, Ohta Y, Kanai K, Akahane Y, Iwasa Y, Hino K, et al. Clinical implications of mutations C-to-T1653 and T-to-C/A/G1753 of hepatitis B virus genotype C genome in chronic liver disease. *Arch Virol* 1999;144:1299-308.
31. Parekh S, Zoulim F, Ahn SH, Tsai A, Li J, Kawai S, et al. Genome replication, virion secretion, and e antigen expression of naturally occurring hepatitis B virus core promoter mutants. *J Virol* 2003;77:6601-12.
32. Imamura T, Yokosuka O, Kurihara T, Kanda T, Fukai K, Imazeki F, et al. Distribution of hepatitis B viral genotypes and mutations in the core promoter and precore regions in acute forms of liver disease in patients from Chiba, Japan. *Gut* 2003;52:1630-7.
33. Buckwold VE, Chen M, Ou JH. Interaction of transcription factors RFX1 and MIBP1 with the gamma motif of the negative regulatory element of the hepatitis B virus core promoter. *Virology* 1997;227:515-8.
34. Moriyama K, Okamoto H, Tsuda F, Mayumi M. Reduced precore transcription and enhanced core-pregenome transcription of hepatitis B virus DNA after replacement of the precore-core promoter with sequences associated with e antigen-seronegative persistent infections. *Virology* 1996;226:269-80.
35. Li J, Buckwold VE, Hon MW, Ou JH. Mechanism of suppression of hepatitis B virus precore RNA transcription by a frequent double mutation. *J Virol* 1999;73:1239-44.
36. Ozasa A, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Kang JH, Hige S, et al. Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2006;44:326-34.



C型慢性肝炎に対する  
インターフェロン $\alpha$ -2b (イントロンA<sup>®</sup>),  
リバビリン併用療法の有用性  
—東北地区における多施設共同研究成績—

阿部 弘一・須藤 俊之・棟方 昭博・渡辺 純夫  
後藤 隆・下瀬川 徹・上野 義之・河田 純男  
斉藤 貴史・佐藤由紀夫・大平 弘正・宮崎 豊  
新沢 陽英・鈴木 義広・熊谷 一郎・宮坂 昭生  
鈴木 一幸・東北ウイルス肝炎治療研究グループ

医学と薬学 別刷 Vol. 57 No. 4 2007

Japanese Journal of Medicine and Pharmaceutical Science (Jpn J Med Pharm Sci)

---

自然科学社  
Tel 03-3234-4121



## C型慢性肝炎に対する インターフェロン $\alpha$ -2b (イントロンA<sup>®</sup>), リバビリン併用療法の有用性 —東北地区における多施設共同研究成績—

阿部 弘一<sup>1)</sup>・須藤 俊之<sup>2)</sup>・棟方 昭博<sup>3)</sup>・渡辺 純夫<sup>4)</sup>  
後藤 隆<sup>5)</sup>・下瀬川 徹<sup>6)</sup>・上野 義之<sup>6)</sup>・河田 純男<sup>7)</sup>  
斉藤 貴史<sup>7)</sup>・佐藤由紀夫<sup>8)</sup>・大平 弘正<sup>9)</sup>・宮崎 豊<sup>10)</sup>  
新沢 陽英<sup>11)</sup>・鈴木 義広<sup>11)</sup>・熊谷 一郎<sup>1)</sup>・宮坂 昭生<sup>1)</sup>  
鈴木 一幸<sup>1)</sup>・東北ウイルス肝炎治療研究グループ

### はじめに

1989年にC型肝炎ウイルス(HCV)が発見され<sup>1)2)</sup>, それまで“非A非B型慢性肝炎”とされていた症例の大部分がC型慢性肝炎(C-CH)であることが明らかとなった。さらに, HCV感染者の自然歴より, C-CHの多くは肝硬変から肝癌に至ることも判明してきた<sup>3)~5)</sup>。一方, 1992年よりわが国でもC-CHに対するインターフェロン(IFN)療法が可能となったが, 当時のIFN製剤の使用に際しては投与期間の制限があったことから, とくに難治性とされる遺伝子型Ib

の症例では十分な治療効果が得られなかった経緯がある<sup>6)</sup>。しかしその後, IFNの投与期間の延長が承認され, さらにPEG-IFN $\alpha$ -2b(ペグイントロン<sup>®</sup>)と抗ウイルス薬であるリバビリン(レベトール<sup>®</sup>)の登場とあいまってC-CHに対する治療成績は著しく向上してきている<sup>7)~15)</sup>。

現在, 抗ウイルス療法では2003年より使用可能となったPEG-IFN $\alpha$ -2b製剤とリバビリンの併用療法<sup>12)~15)</sup>が, C-CHに対する標準的治療法としてガイドラインに位置づけられている。しかし, この併用療法は抗ウイルス効果が高い

- 1) 岩手医科大学医学部第1内科 2) 弘前大学医学部消化器・血液・膠原病内科(現 青森県総合検診センター)  
3) 同 消化器・血液・膠原病内科 4) 秋田大学医学部内科学講座消化器内科学分野(現 順天堂大学医学部消化器内科) 5) 同 内科学講座消化器内科学分野 6) 東北大学医学部消化器病態学分野 7) 山形大学医学部消化器病態制御内科学分野 8) 福島県立医科大学第2内科(現 福島県立医科大学健康管理センター)  
9) 福島県立医科大学第2内科 10) 東北公済病院内科 11) 山形県立置賜総合病院内科(現 山形県立日本海病院内科)

Combination therapy of interferon alfa-2b plus ribavirin for 24 weeks in patients with chronic hepatitis C : Results of multicenter trial in Tohoku area of Japan

Koichi Abe et al First Department of Internal Medicine, Iwate Medical University, School of Medicine and Tohoku Viral Hepatitis Therapy and Research Group

**Key words** : hepatitis C virus, chronic hepatitis C, interferon alfa-2b, ribavirin

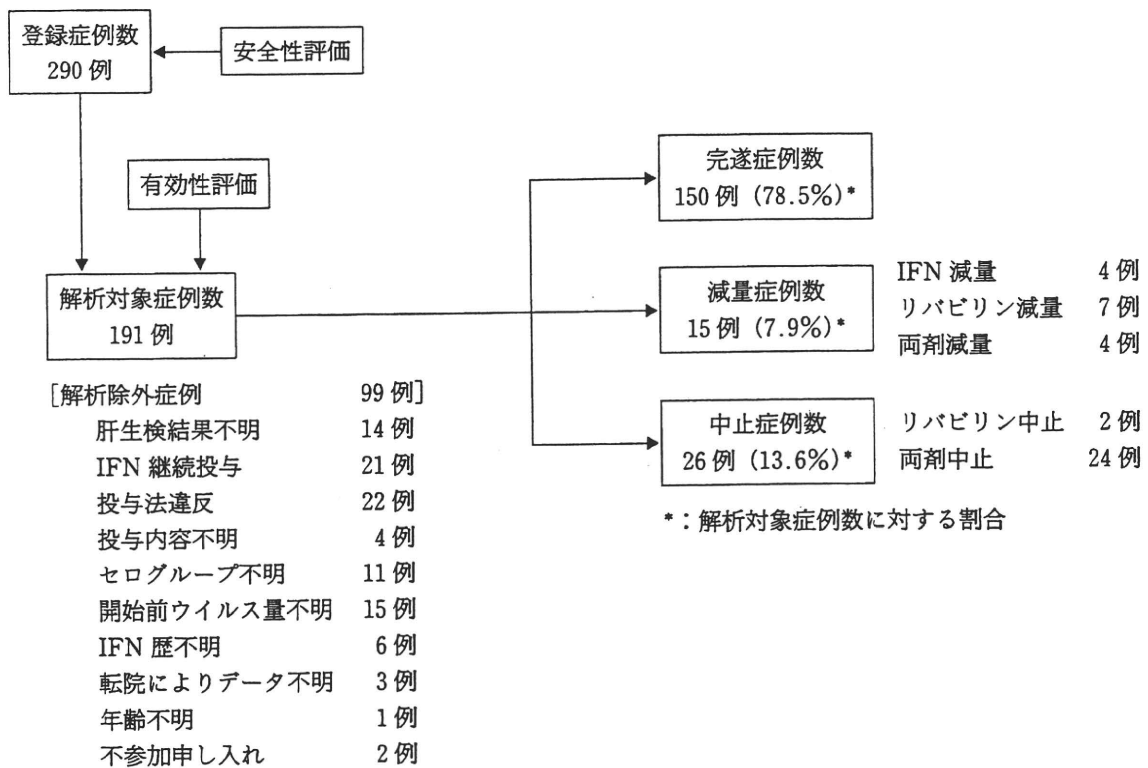


図 1 対象の内訳と治療経過

反面、治療経過中に出現する溶血性貧血や血小板減少などによる治療薬の減量あるいは中止を余儀なくされることも少なくない<sup>16)</sup>。さらに最近では C-CH 患者の高齢化が進んできているところから、年齢、性差、体重、血液生化学検査成績、合併症の有無などを参考にして個々の症例に見合った治療法を選択することが求められている<sup>17)~20)</sup>。

今回、われわれは 2001 年より 2003 年にかけて C-CH に対する IFN $\alpha$ -2b (イントロン A<sup>®</sup>) とリバビリン (レベトール<sup>®</sup>) 併用療法の有用性を検討する東北地区多施設共同研究を行った。この成績は、今後 C-CH 患者に対する抗ウイルス療法を選択する際の有力な情報の一助となるものと思われたため報告する。

## I. 対象と方法

### 1. 対象

本研究は、IFN $\alpha$ -2b とリバビリンの併用療法の有効性と安全性を検討する目的で計画された。対象は、① C-CH 患者で本療法が適応とな

る症例、② 年齢は原則として 20~70 歳、③ 肝癌の否定できる (治療前 6 カ月以内に腹部超音波検査あるいは CT 検査にて肝癌の存在を否定) 症例、④ 原則として治療前に肝生検を施行し CH と確認されている症例である。2001 年 12 月より 2003 年 5 月までに、東北地区において本研究に参加した 38 施設より 290 例の C-CH 患者が登録された。このうち、解析除外症例 99 例を除く 191 例について治療効果を検討した。

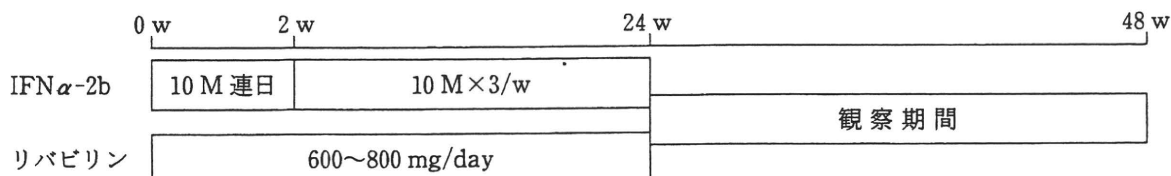
解析除外症例が多数となった要因は、本研究では IFN $\alpha$ -2b の投与量と治療効果の関連を比較することが主目的であることから、投与方法不明症例および投与内容不明症例を厳格に除外したものである。さらに、治療効果に影響を及ぼすと考えられる治療前 HCV RNA 量不明症例およびセログループ不明症例、IFN 歴不明症例も除外した。なお、薬剤減量のなかった治療完遂症例は 150 例 (78.5%)、減量症例 15 例 (7.9%)、中止症例 26 例 (13.6%) であった。その他の除外理由、減量または中止理由を図 1

表 1 患者背景

項 目		10 M 投与群 (n=96)		6 M 投与群 (n=95)		検 定
性 別	男	67		63		p=0.64357 <sup>1)</sup>
	女	29		32		
年 齢 (歳)	中央値 (レンジ)	49.0 (20~72)		57.0 (19~70)		p=0.0013 <sup>2)</sup>
		男	女	男	女	
	<40 歳	13	5	9	1	
	40 歳代	25	6	18	3	
	50 歳代	19	7	19	8	
≥60 歳	10	11	17	20		
体 重 (kg)	中央値 (レンジ)	65.0 (42~96)		65.0 (35~96)		p=0.4928 <sup>2)</sup>
セログループ	セログループ 1	73		75		p=0.7295 <sup>1)</sup>
	セログループ 2	23		20		
HCV RNA 量 (KIU/mL)	<500	32		33		p=0.8793 <sup>1)</sup>
	≥500	64		62		
前治療歴	初 回	35		50		p=0.0292 <sup>1)</sup>
	再投与	61		45		
F 因子	F0	10		5		p=0.53242 <sup>1)</sup>
	F1	21		30		
	F2	37		27		
	F3	19		23		
	F4	1		1		
	未	8		9		
	F0~1	31		35		
F2~4	57		51			
A 因子	A1	28		29		p=0.87196 <sup>1)</sup>
	A2	51		50		
	A3	9		7		
	未	8		9		
	A1	28		29		
A2~3	60		57			
ALT (IU/L)	中央値 (レンジ)	72 (15~458)		81 (24~288)		p=0.1121 <sup>2)</sup>
白血球数 (/mL)	中央値 (レンジ)	5,100 (2,630~9,070)		4,600 (1,240~11,200)		p=0.0942 <sup>2)</sup>
赤血球数 (×10 <sup>4</sup> /mL)	中央値 (レンジ)	457 (332~590)		466 (303~549)		p=0.4620 <sup>2)</sup>
血小板数 (×10 <sup>4</sup> /mL)	中央値 (レンジ)	17.4 (5.9~34.1)		15.1 (6.3~35)		p=0.0178 <sup>2)</sup>
Hb (g/dL)	中央値 (レンジ)	14.7 (11.3~18.2)		14.8 (11.1~18.9)		p=0.5844 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> : Fisher's exact test    <sup>2)</sup> : Wilcoxon

## [10 M 投与群]



## [6 M 投与群]

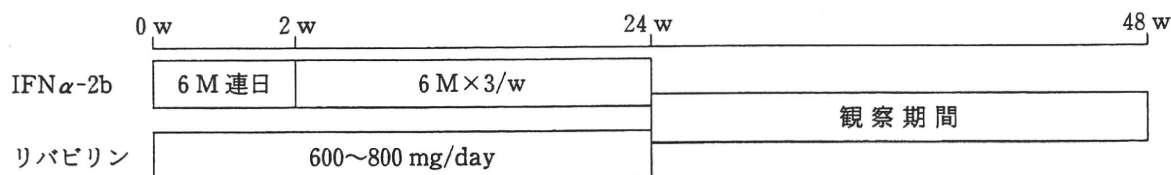


図 2 投与方法

に示す。

患者背景を表 1 に示した。1,000 万単位投与群 (10 M 投与群) と 600 万単位投与群 (6 M 投与群) の両群では、性別、体重、セログループ、治療前 HCV RNA 量に差を認めなかったが、10 M 投与群において年齢が有意に若年であり、前治療歴においても再投与例が有意に多かった。また、肝組織所見および血液生化学検査では血小板数を除いて両群に差を認めなかった。

## 2. 方 法

IFN $\alpha$ -2b およびリバビリンの投与方法を図 2 に示した。投与方法として、IFN $\alpha$ -2b の初回投与量を 10 M 投与群と 6 M 投与群に分け、治療法の選択は各主治医に一任した。また、IFN $\alpha$ -2b とリバビリンの減量・中止基準も両剤の投与ガイドラインに沿って行うことを原則として各主治医に一任した。

治療期間は 24 週間であり、投与終了 24 週間まで観察を行った。HCV RNA の測定は、治療開始 2 週後、24 週後、48 週後の実施を必須とし、HCV RNA の消失状況より治療終了時の HCV RNA 陰性化 (EOT; end of treatment) 率と観察終了時の HCV RNA 陰性化 (SVR; sustained virological response) 率を求めた。

## 3. 統計学的解析

患者背景の有意差検定には Fisher's exact test, Wilcoxon 検定, Mann-Whitney's U 検定

を用い、図中の群間の比較には Fisher's exact test を用いた。なお有意水準を  $p < 0.05$  とした。さらに、HCV RNA の陰性化に寄与する因子を明らかにするために単変量解析を行い、次いでロジスティック回帰による多変量解析を行った。説明変数として投与群 (6 M/10 M)、性別 (男/女)、年齢 (中央値 53 歳)、体重 (中央値 65 kg)、セログループ (1/2)、HCV RNA 量 ( $< 500$  KIU/mL/ $\geq 500$  KIU/mL)、IFN 治療歴 (初回/再投与)、治療完遂度 (減量なし/減量・中止)、F 因子 (0, 1/2, 3, 4)、A 因子 (0, 1/2, 3)、治療前 ALT (中央値 78 IU/L)、治療前赤血球数 (中央値 460 万/mL)、治療前血小板数 (中央値 16 万/mL)、治療前ヘモグロビン濃度 (中央値 15 g/dL) を用いた。

## II. 結 果

### 1. HCV RNA 陰性化率

解析対象全症例 191 例の EOT 率は 68.1% (130/191)、SVR 率は 31.4% (60/191) であった。また、IFN $\alpha$ -2b の投与量別の EOT 率、SVR 率は 6 M 投与群ではそれぞれ 66.3%、25.3%、10 M 投与群ではそれぞれ 69.8%、37.5% と明らかな差異は認めなかった (図 3)。さらに、治療開始 2 週後の HCV RNA 陰性化の有無で EOT 率と SVR 率を検討すると、陰性化例で EOT 率、SVR 率とも有意に高率であった (図

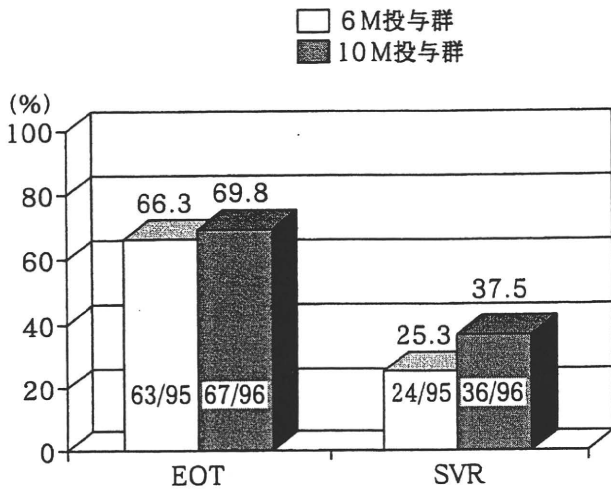


図3 HCV陰性化率  
—全症例・投与群別—

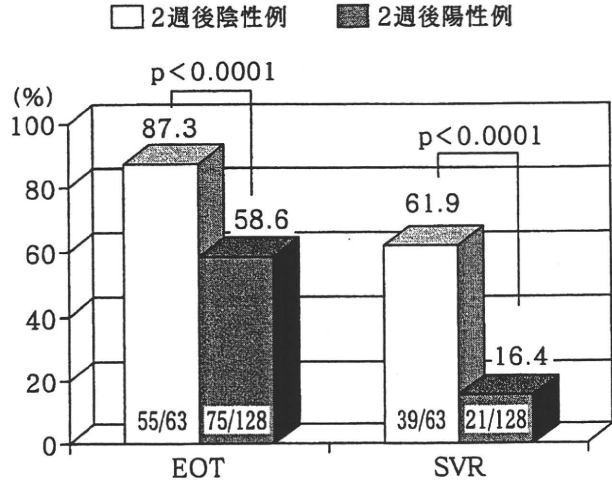


図4 投与開始2週後陰性の有無からみたHCV陰性化率

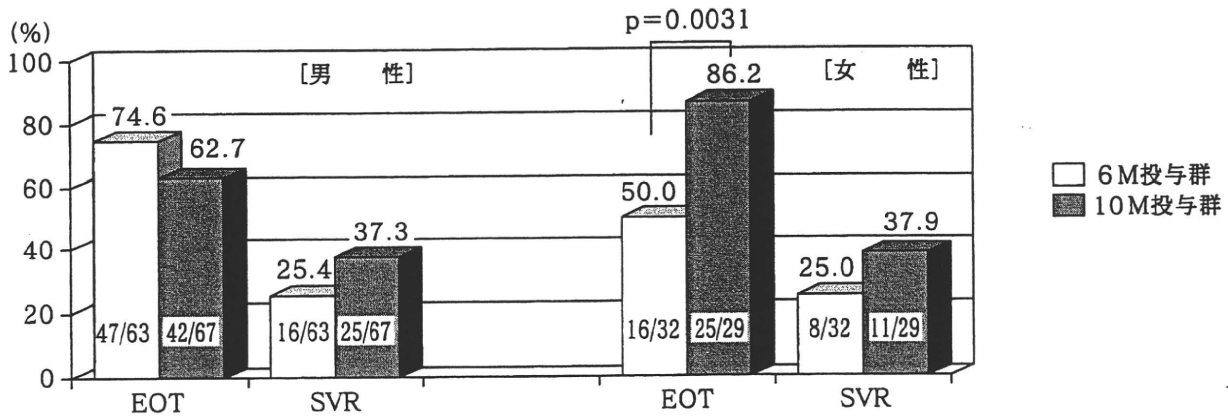


図5 HCV陰性化率—性別・投与群別—

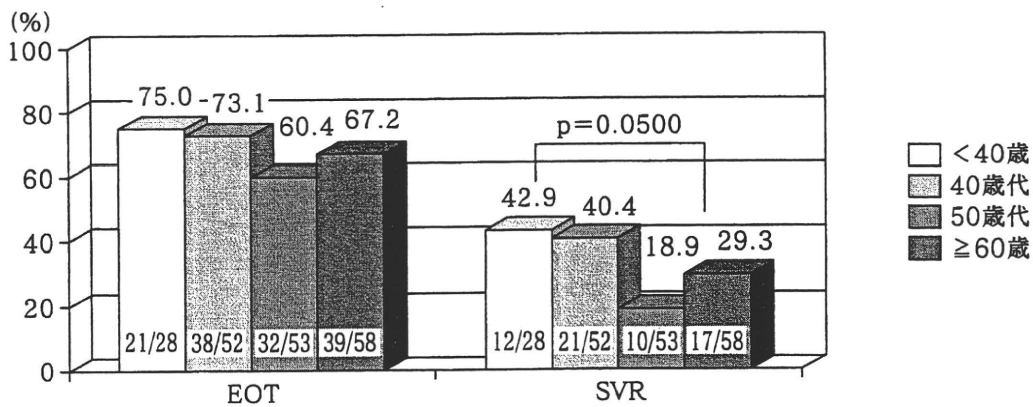


図6 HCV陰性化率—年代別—

4)。なお、データは示さないがIFN $\alpha$ -2bの投与量別には明らかな差異は認めなかった。

性別にみたEOT率は男性68.5%、女性

67.2%、SVR率はそれぞれ31.5%、31.1%であった。次に、性別ごとに投与量別に検討すると、男性では投与群別にEOT率、SVR率に差

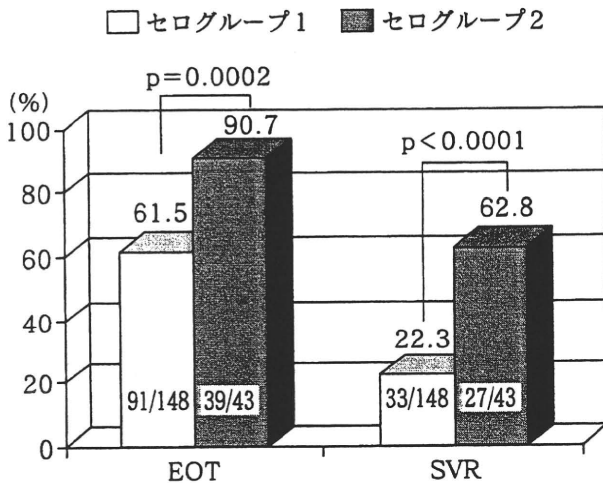


図7 HCV 陰性化率  
—セログループ別—

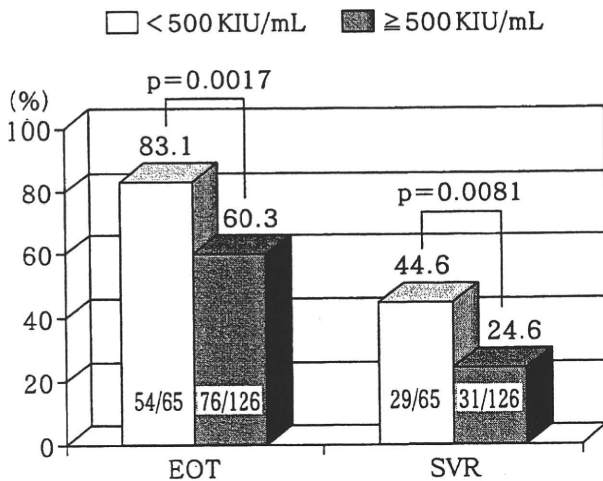


図8 HCV 陰性化率  
—HCV RNA 量別—

異は認めなかったが、女性では10 M 投与群の EOT 率が86.2%であり、6 M 投与群の50.0%に比し有意に高率であった(図5)。

年齢中央値より、53歳未満とそれ以上に分けて HCV RNA の陰性化率を検討したが、EOT 率、SVR 率ともに明らかな差異は認めなかった。年代別(40歳未満、40~49歳、50~59歳、60歳以上)に分けてみると、EOT 率は各年代間に差は認めなかったが、SVR 率は50歳以上になると低い傾向を示した(図6)。さらに、データは示さないが、60歳未満とそれ以上に分けて検討したが、全体での HCV RNA 陰性化率、投

表2 HCV 陰性化率—セログループ・投与群別

セログループ	セログループ1		セログループ2	
	10 M 群	6 M 群	10 M 群	6 M 群
SVR	30.1%	14.7%	60.9%	65%

10 M vs 6 M p=0.0299

Fisher's exact test

与群別の EOT 率、SVR 率に差異は認めなかった。

前治療歴の有無より初回例、再投与例に分けて投与群別に検討した。初回投与例では投与群別に EOT 率、SVR 率には差異は認めなかったが、再投与例では10 M 投与群の SVR 率が有意に高率であった。

セログループ別にみた検討では、EOT 率、SVR 率ともセログループ2で有意に高率であった(図7)。また、セログループ1では10 M 投与群において SVR 率が30.1%と6 M 投与群の14.7%に比し有意に高率であったが、セログループ2では投与群別の SVR 率に差異は認めなかった(表2)。

HCV RNA 量を500 KIU/mL 未満とそれ以上に分けて HCV RNA の陰性化率を検討すると、500 KIU/mL 未満では EOT 率、SVR 率とも500 KIU/mL 以上の症例に比し有意に高率であった(図8)。IFN の投与群別に検討すると、HCV RNA 量が500 KIU/mL 未満の症例では10 M、6 M 投与群ともに EOT 率、SVR 率は高率(6 M 投与群: 81.8%, 39.4%, 10 M 投与群: 84.4%, 50.0%)であり、両投与群に明らかな差異を認めなかった。500 KIU/mL 以上の症例では両投与群ともに EOT 率、SVR 率は低くかつ差異は認めなかった(6 M 投与群: 58.1%, 17.7%, 10 M 投与群: 62.5%, 31.3%)。次に、セログループ1の症例に限って HCV RNA 量別に検討すると、500 KIU/mL 未満の症例では EOT 率、SVR 率とも有意に高率であった(図9)。

治療完遂度との関連では、減量なしの症例と減量した例では HCV RNA 陰性化率に差異は

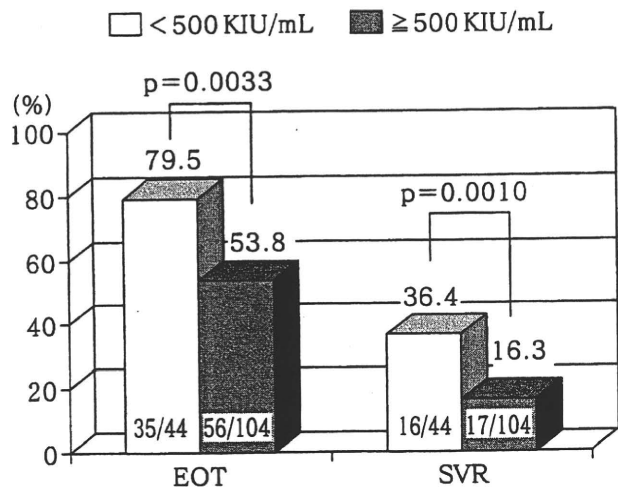


図9 HCV 陰性化率  
—セログループ1・HCV RNA 量別—

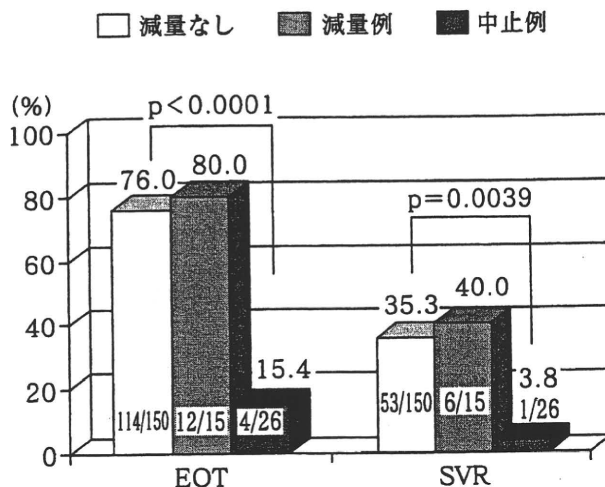


図10 治療完遂度からみた HCV 陰性化率

なかったが、中止例に比して有意に高率であった(図10)。また、減量なしの症例に限定して投与量別に HCV RNA 陰性化率を検討すると、10 M 投与群では 6 M 投与群に比し SVR 率が有意に高率 (6 M 投与群 26.8%, 10 M 投与群 43.0%) であり、セログループ1の症例のみで検討しても同様であった。

次に、肝組織学所見との関連より治療効果を検討した。F 因子別に HCV RNA 陰性化率を検討すると、F0 から F4 に進行するにしたがって EOT 率, SVR 率とも低下し、F2 以上の症例は F0~1 の症例に比して有意に SVR 率が低率であった(図11)。また、A 因子も同様であり、A2~3 の症例は A1 の症例に比し有意に SVR 率が低率であった。なお、F 因子, A 因子とも投与群別に EOT 率, SVR 率を検討したが投与群別には有意差を認めなかった。

□ F0~1    ■ F2~4

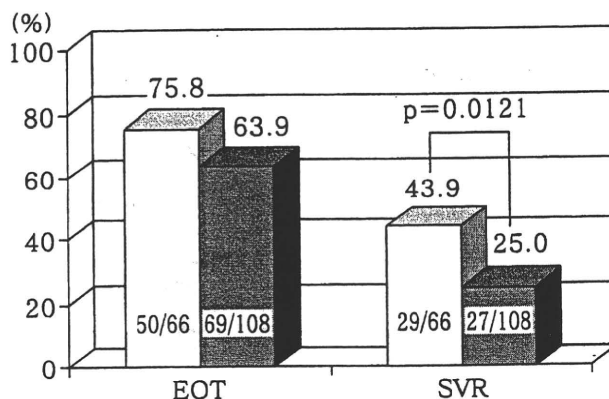


図11 F 因子からみた HCV 陰性化率

最終的な HCV RNA の陰性化率を図12に示した。治療完遂例では有意に 10 M 投与群での SVR 率が高率であった。

## 2. 多変量解析結果

単変量解析ではセログループ, 治療前 HCV RNA 量, F 因子, A 因子, 減量または中止の有無が有意な因子であったが, 多変量解析結果ではセログループと治療前 HCV RNA 量の2因子が有意な因子であった(表3)。

## 3. 有害事象

48例76件の報告があった。その一覧を表4に示した。Hb 減少が最も多く、他の項目も従来の報告と大きな差異はなく、重篤なものは認めなかった。なお、6 M 投与群において肝細胞癌(HCC)2例、肺癌1例の発生を認めたが、いずれも治療薬との因果関係はないものと判断された。

## III. 考案

C-CH に対する抗ウイルス療法の意義は、1) ウイルス消失を目指した治療, 2) 肝発癌抑制を視野に入れた治療, のどちらかを目的としている。従来、難治性といわれたセログループ

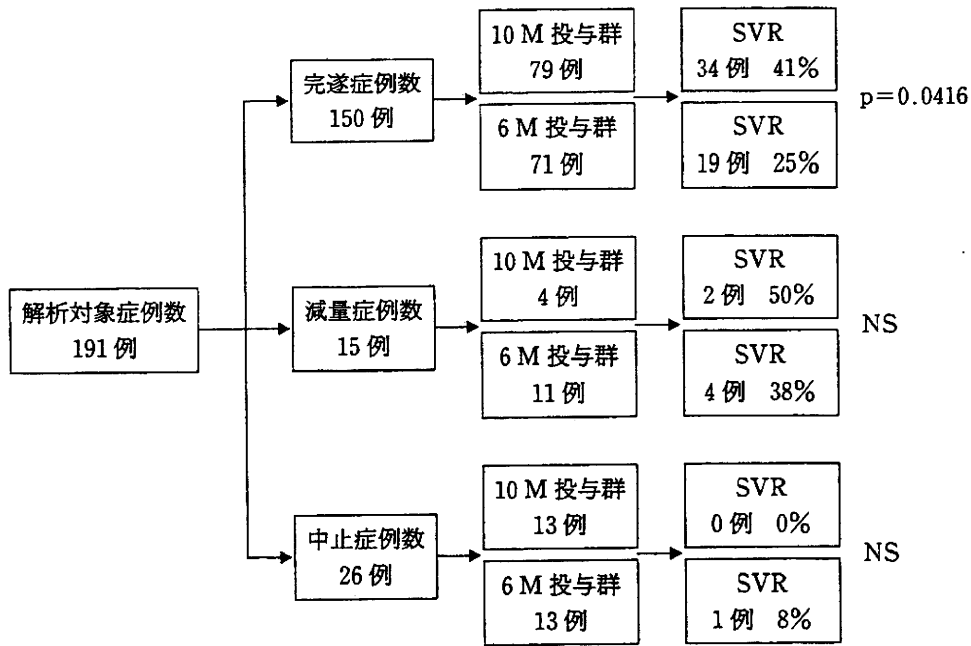


図 12 治療経過別にみた HCV 陰性化率  
Fisher's exact test

表 3 多変量解析結果

要 因	カテゴリー	調整オッズ比	95%信頼区間 (Wald)		p 値
			下限	上限	
セログループ	1/2	5.219	2.310	11.791	<0.0001
HCV RNA 量 (KIU/mL)	<500/≥500	0.430	0.203	0.910	0.0273

表 4 有害事象

項 目	件数	10 M 投与群	6 M 投与群	項 目	件数	10 M 投与群	6 M 投与群
全身倦怠感	5	3	2	発疹, 薬疹	3	2	1
腹痛, 下痢	2	2		紅皮症	1		1
頭痛, 発熱	2	2		皮膚潰瘍	2		2
悪心嘔吐	3	3		DM 悪化	1		1
食欲不振	3	1	2	WBC 減少	3		3
体重減少	2	1	1	RBC 減少	4	3	1
眼底出血	2		2	好中球減少	2		2
不安, 不眠	3	2	1	Hb 減少	15	7	8
痺れ感	1	1		Plt 減少	5	3	2
うつ傾向	3	1	2	顆粒球減少	1	1	
心房細動	1	1		ALT 上昇	1	1	
脱毛	2	2		HCC 発症	2		2
めまい	1	1		LC 発症	2		2
歯肉炎	1	1		肺癌発症	1		1
不定愁訴	1	1		結節性紅斑	1		1



プ1 (遺伝子型 1b の症例) においても PEG-IFN 製剤の登場により SVR 率の向上が報告<sup>12)~15)</sup>され、現在、C-CH に対する抗ウイルス療法は PEG-IFN $\alpha$ -2b とリバビリンの併用療法が標準的治療法としてガイドラインにも示されている。平成 19 年 2 月よりコペガス<sup>®</sup> の保険承認を受けて IFN $\alpha$  の 2a 製剤であるペガシス<sup>®</sup> と 2b 製剤であるペグイントロン<sup>®</sup> の二つの製剤が使用可能となり、これにリバビリンを併用する治療法がさらに普及するものと考えられる。これら両薬剤の併用療法は、基本的にはセログループ 1 あるいは遺伝子型 1b のいわゆる難治性の症例が最も良い適応となるが、最近の高齢化現象に伴い、これらの治療法が実施できない症例も多くなってきている。1992 年の IFN 療法の保険収載以来、約 10 年間は IFN 製剤の 6 カ月投与が標準療法であったが、より長期間の投与が必要との要望を受けて現在は 48 週 (1 年間) あるいはそれ以上の長期投与も可能となってきている。一方では、限りある医療資源を有効に活用する上で、確実に SVR 率が得られる投与期間の検討や発癌抑制を視野に入れた IFN の投与量などの検討が多くなされてきている。

今回検討した IFN $\alpha$ -2b 製剤 (イントロン A<sup>®</sup>) とリバビリン (レベトール<sup>®</sup>) との併用療法は、PEG-IFN 製剤の使用可能となる 2003 年 12 月以前に保険収載された治療法であるが、IFN 単独療法に比べて SVR 率の改善が期待された治療法である<sup>9)~11)</sup>。今回の検討では、単独施設での適応症例が少ないことを考慮して東北地区での多施設共同研究を企画し、保険診療に基づいた標準的治療による有効性を評価した。その結果、対象症例全体、性別、年齢別、セログループ別、HCV RNA 量別、肝組織所見別、などを検討した HCV RNA の陰性化率は、本療法の開発治験時の成績とほぼ同様の結果であった。また、血液生化学検査値の変動も同様であり、重篤な有害事象も認めなかった。さらに、治療効果を左右する因子について多変量解析を行ったが、これまでの報告と同様に HCV のセ

ログループ、HCV RNA 量が有意な因子として抽出された。

今回の集計結果では、IFN $\alpha$ -2b とリバビリンの両薬剤の減量または中止の割合がこれまでの報告に比べて低い傾向を示した。両薬剤の投与量は、患者の症状、血液生化学検査値を参考にして治療ガイドラインに沿って各主治医が減量または中止を決定したが、中止例が少なかったことは各主治医のきめ細かい対応があったものと推定される。また、初めてリバビリン併用療法が可能になったことにより患者自身に期待するところが大きく、できるだけ継続したいという意識が強かったのかもしれない。最近の研究では、両薬剤の中止に至った症例では減量にとどまった症例に比して SVR 率が低率であることが明らかになっている。したがって、治療成績の向上を図るためにはいかにして血球系への副作用を抑えて両薬剤を長期間継続できるかが鍵である。

例えば、リバビリンの投与量は対象症例の体重を目安に初期投与量が決定されるが、年齢や Hb 量を目安に考慮し開始時から減量して使用する方法や<sup>19)</sup>、リバビリンの全身クリアランス (CL/F) を算出しその値を参考にして投与量を決定する方法<sup>20)</sup>などが試みられている。IFN $\alpha$ -2b とリバビリンとの併用療法では、週 3 回の通院が必要となるが、通院回数あるいは注射回数の煩雑さを除けば PEG-IFN $\alpha$ -2b とリバビリンの併用療法とは違った利点もあるものと考えられる。

とくに、今後さらに増加が予想される高齢者の C-CH や肝硬変患者に対しては、血液生化学検査値あるいは自覚症状などをみながら投与量や投与間隔をきめ細かく調節させることも可能であり、有用な治療法として位置づけられる可能性もあると考えられる。

謝辞 本臨床研究に参加された多くの施設ならびに参加協力者に深謝いたします。

付記 論文著者以外に本臨床研究に参加した施

設と研究協力者(登録時の所属施設)を下記に示す。

弘前大学医学部消化器・血液・膠原病内科(坂本十一), 八戸市民病院消化器内科(木皿典宏, 鈴木 稜), 八戸赤十字病院消化器科(桂島忠俊, 小原啓彦), 岩手医科大学医学部第1内科(近藤公亮, 熊谷一郎, 宮坂昭生), 岩手県立福岡(現 二戸)病院消化器内科(山田宏之, 高橋 浩), 岩手県立久慈病院消化器内科(中塚明彦, 大久保勇), 岩手県立中央病院消化器内科(三浦達也, 村上晶彦, 池端 敦, 小野 満), 北上済生会病院内科(曾根克明), 岩手医科大学附属花巻温泉病院内科(佐藤慎一郎), 総合水沢病院内科(妻神重彦), 岩手県立大船渡病院消化器内科(大沢一嘉, 遠藤稔弥), 岩手県立宮古病院消化器内科(大内 健, 稲葉宏次), 盛岡市立病院内科(佐々木清寿), 秋田大学医学部内科学講座消化器内科学分野(大嶋重敏, 三浦光一, 瀬川大輔, 片岡 英, 米山和夫), 市立大森病院消化器科(小野 剛), 雄勝中央病院消化器科(渡辺 淳, 斉藤孝治, 梅村 賢, 武田 忠, 落合浩暢), 公立横手病院消化器科(船岡正人), 公立角館総合病院消化器科(中根邦夫), 秋田県立田沢湖病院内科(藤井公生), 山本組合総合病院消化器科(畠山 昇), 仙北組合病院消化器科(石井透), 平鹿総合病院第1内科(大久保俊治), 東北公済病院内科(宮崎 豊), 仙台医療センター消化器内科(椎名正明), 東北厚生年金病院消化器科(菅野 厚), NTT 東日本東北病院内科(小林芳江), 仙台社会保険病院消化器科(野口光徳), 石巻市立病院消化器科(赤羽武弘), 山形大学医学部消化器病態制御内科学講座(菅原一彦, 渡辺久剛, 伊藤純一, 照井有紀, 安達 徹, 三沢慶子), 山形県立置賜総合病院内科(鈴木義広), 福島県立医科大学第2内科(深谷悦子), 公立岩瀬病院消化器内科(関根健司, 石田浩徳, 今村秀道, 国分政樹, 佐藤浩明), 福島赤十字病院第1内科(黒田聖仁), 福島労災病院消化器科(江尻 豊, 鈴木智浩), 白河厚生総合病院第1内科(岡本裕正)

## 文 献

1) Choo QLM, Kuo G, Weiner AJ et al : Isolation

of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* **244** : 359-362, 1989.

- 2) Kuo G, Choo QL, Alter HJ et al : An assay for circulation antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* **244** : 362-364, 1989.
- 3) 木野山真吾, 山田剛太郎 : C型慢性肝炎の長期予後. *肝胆膵* **37** : 773-778, 1998.
- 4) Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E et al : Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma : analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology* **12** : 671-675, 1990.
- 5) Poynard T, Bedossa P, Opolon P et al : Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* **349** : 825-832, 1997.
- 6) 清澤研道 : C型慢性肝炎とインターフェロン療法. *医学と薬学* **31** : 271-278, 1994.
- 7) Reichard O, Norkrans G, Fryden A et al, Swedish Study Group : Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon  $\alpha$ -2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. *Lancet* **351** : 83-87, 1998.
- 8) McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER et al : Interferon alfa-2b alone or combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* **339** : 1485-1491, 1998.
- 9) Poynard T, Marcellin P, Lee SS et al : Randomised trial of interferon alfa 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alfa 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* **352** : 1426-1432, 1998.
- 10) 飯野四郎, 松橋 喬, 熊田博光 他 : Genotype 1b かつ高ウイルス量のC型慢性肝炎に対するインターフェロン  $\alpha$ -2b と SCH18908 (リバビリン) の併用投与とインターフェロン  $\alpha$ -2b 単独投与との比較—二重盲検群間比較法を用いた用法・用量の検討—. *臨床医薬* **18** : 567-591, 2002.
- 11) 豊田成司, 妻神重彦, 安田清美 他 : インターフェロン無効または再燃したC型慢性肝炎に対するインターフェロン  $\alpha$ -2b と SCH18908 (リバビリン) の併用投与とインターフェロン  $\alpha$ -2b 単独投与との比較—二重盲検群間比較法を用いた併用効果の検討—. *臨床医薬* **18** : 539-563, 2002.

- 12) Manns MP, McHutchison JP, Gordon SC et al : Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C : a randomized trial. *Lancet* **358** : 958-965, 2001.
- 13) Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M et al : Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HVC genotype 2 or 3. *J Hepatol* **40** : 993-999, 2004.
- 14) 飯野四郎, 沖田 極, 小俣政男 他 : Genotype 1b かつ高ウイルス量のC型慢性肝炎に対するPEGインターフェロン $\alpha$ -2bとリバビリン48週併用療法の有効性—インターフェロン $\alpha$ -2bとリバビリン6カ月併用療法とのretrospectiveな比較—. *肝胆膵* **49** : 1099-1121, 2004.
- 15) 熊田博光, 豊田成司, 後藤賢一郎 他 : Genotype 1b かつ低ウイルス量, あるいは genotype 2 のC型慢性肝炎に対するPEGインターフェロン $\alpha$ -2bとリバビリン24週併用療法の有効性—インターフェロン $\alpha$ -2bとリバビリン24週併用療法との比較—. *肝胆膵* **52** : 645-663, 2006.
- 16) Oze T, Hiramastu N, Kurashige N et al : Early decline of hemoglobin correlates with progression ribavirin-induced hemolytic anemia during interferon plus ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* **41** : 862-872, 2006.
- 17) Hayashi J, Kishihara Y, Ueno K et al : Age-related response to interferon alfa treatment in women vs men with chronic hepatitis C virus infection. *Arch Intern Med* **158** : 177-181, 1998.
- 18) Hiramastu N, Oze T, Tsuda N et al : Should aged patients with chronic hepatitis C be treated with interferon and ribavirin combination therapy? *Hepatol Res* **35** : 185-189, 2006.
- 19) 鈴木文孝 : PEG-IFN/リバビリン併用療法の効果を上げるためには ; PEG-IFN $\alpha$ -2bおよびリバビリンの副作用軽減と治癒率向上を目指した治療法. *肝胆膵* **53** : 49-54, 2006.
- 20) 豊田成司 : PEG-IFN/リバビリン併用療法の効果を上げるためには ; 有効性向上に向けた試み. *肝胆膵* **53** : 41-48, 2006.

---

### Abstract

We estimated 191 patients with chronic hepatitis C (C-CH) to receive standard-dose interferon alfa-2b (Intron A<sup>®</sup>, Schering-Plough, Japan ; 600 million units (6 M) or 1,000 million units (10 M) per day) and ribavirin (Rebetol<sup>®</sup>, Schering-Plough, Japan ; 600~800 mg per day) for 24 weeks. All patients were assessed for efficacy, tolerance and safety at the end of weeks 1, 2, 4, and every 4 weeks during treatment and were followed up until 24 weeks after the end of treatment. The primary endpoint was sustained virological response (SVR ; defined as an undetectable HCV RNA level in serum) after 48 weeks. Discontinuation of therapy for adverse events was 13.6% (26/191) for 24 weeks although mild to moderate adverse events were seen in 48 patients. The rate of SVR was 31.4% (60/191) in all patients. However, there was no significant difference for the rate of SVR between the groups administered with 6 M and 10 M of interferon. The rate of SVR in C-CH patients with serogroup 2 was significantly higher compared to the CH patients with serogroup 1. In logistic regression analysis two independent factors were significantly associated with the rate of SVR ; serogroup 2 and viral load (<500 KIU/mL). In conclusion, these results suggest that the combination therapy with Intron A<sup>®</sup> and ribavirin may be safety and tolerance in patients with C-CH.

---

# Genotype1b 高ウイルス量の高齢C型慢性肝炎患者に対する Peg-IFN $\alpha$ -2b + リバビリン併用療法適応の検討

岩手医科大学医学部第一内科  
公立福生病院内科\*

宮坂昭生・及川隆喜・葛西幸穂  
熊谷一郎・遠藤龍人・阿部弘一  
滝川康裕・鈴木一幸・妻神重彦\*

日本高齢消化器医学会誌

Journal of the Japanese Conference of Geriatric Gastroenterology

Vol.10号 No.2 2008-4発行別刷