

B 型肝炎に対する IFN 治療

IFN treatment for hepatitis B

特集

八橋 弘* 長岡 進矢 阿比留正剛
 YATSUHASHI Hiroshi NAGAOKA Shinya ABIRU Seigou

肝炎診療の新たな展開

Key words B 型肝炎 インターフェロン治療 ペグインターフェロン

わが国で B 型慢性活動性肝炎に対するインターフェロン (IFN) の使用が認可されたのは 1986 年であり、すでに 20 年近くの長い歴史のある治療法である。しかし現在も、その治療適応、使用方法、治療効果に関しては、多くの問題点、課題が残されている。

まず、B 型慢性肝炎に対する IFN 投与の適応に関して、保険診療上の規定では HBe 抗原陽性でかつ DNA ポリメラーゼ陽性の B 型慢性活動性肝炎と規定されているが、現在、HBV 増殖マーカーとして DNA ポリメラーゼを測定することはなく、高感度で測定幅の広いリアルタイム PCR 法を用いた HBV-DNA 量の測定が主流となっている。HBe 抗原陽性慢性肝炎例の多くは、PCR 法で $5.0 \log/\text{copies/mL}$ の値を示すが、治療前後の評価項目として HBV-DNA 量の値を把握、モニタリングすることは必須であり、HBV-DNA 量の測定を省略してはならない。また現行の保険診療上の規定では HBe 抗原陰性の B 型慢性活動性肝炎に対する IFN 治療は認められていない。

また IFN 治療期間に関しても、1986 年の承認以後 2000 年までの期間 4 週間以内と制限されていたが、2000 年以後は欧米並みに 24 週間以上の投与が可能となった。また、C 型肝炎治療では主流となっている週 1 回投与の PEG-IFN も、諸外国では B 型肝炎に対する臨床開発が数年前に終了し、中国、台湾、米国では PEG-IFN は B 型慢性肝炎に対する治療薬剤として広く用いられているが、わが国では 2010 年 9 月の時点で臨床開発が終了しておらず、現時点では診療治療薬剤として用いることができない。

本稿では、諸外国での IFN 治療成績と考え方を紹介しながら、今後わが国でも治療の主流となる B 型慢性肝炎に対する PEG-IFN についても言及する。

表1 B型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法の新しい治療効果判定基準
Definition of response to antiviral therapy of chronic hepatitis B (文献1より)

Category of response	
Biochemical (BR)	血清 ALT 値が正常範囲内に低下すること
Virologic (VR)	血清 HBV DNA 量が PCR 法で検出されないレベルまで低下し, HBeAg 陽性例では, HBeAg が消失すること
Primary non-response (not applicable to IFN therapy)	
	治療24週以後の血清 HBV DNA 量の低下 $< 2 \log_{10}$ IU/ml
Virologic relapse	治療終了後, 4 週間隔以上で測定で血清 HBV DNA 量が $1 \log_{10}$ IU/ml 増加すること
Histologic (HR)	治療前の組織所見と比較して, 組織活動性が 2 ポイント以上改善し, 線維化所見が悪化していないこと
Complete (CR)	BR, VR の基準を満たし HBs 抗原が消失すること
Time of assessment	
On-therapy	治療期間中
Maintained	治療中の期間
End of treatment	治療終了時点
Off-therapy	治療終了後
Sustained (SR-6)	治療終了 6 ヶ月の時点
Sustained (SR-12)	治療終了 12 ヶ月の時点

B 型慢性肝炎の治療目標と効果判定

2007年の米国肝臓学会のB型慢性肝炎に対するガイドランには、B型慢性肝炎の治療目標はHBV増殖の持続抑制であり、肝病変の改善であると明記されている¹⁾。本ガイドランには、B型慢性肝炎抗ウイルス治療に関する治療効果判定の分類も示されている(表1)。この分類は、2001年に、まずその基本骨格が提示されたが、その後のB型慢性肝炎の診断法、治療法の進歩に応じて2007年に改編されたものである。その特徴は、ALT値などの生化学所見(biochemical response:BR)、HBV-DNAの動態、HBeAgの消失などのウイルス学的所見(virologic response:VR)、肝生検所見(histologic response:HR)の3つを区分して評価している点にあり、従来、混乱していた治療効果判定項目を整理し、それぞれの要素を独立して評価している点にあり、世界中で広く用いられている。

欧米での治療成績

1. HBeAg 抗原陽性慢性肝炎

過去の15の randomized control study²⁾³⁾では、837人のB型慢性肝炎症例に対してIFN治療が行われ、成人例での meta-analysis 結果が報告されている。無治療群に比して治療群では、HBV-DNAの陰性化(non-PCR)率:17% vs 37%、HBeAgの消失率:12% vs 33%、HBs抗原の消失率:1%と8%の有意な差があったことが報告されている(図1)。また、治療前ALT値が高い例、HBV-DNA量が低い例において治療効果が期待できることが確認されている。

一方、ALT正常例は小児例や若年成人のB型慢性肝炎症例にしばしば見られるが、ALT正常例のVRは10%以下と低く、ALT正常例ではIFN治療は効果が期待できないことから、ALT正常例はIFN治療の対象外と考えられている。また、ALT異常を示す小児例の成績は、成人例とほぼ同じ治療成績で、HBeAgの消失率は、IFN治療群は30%、無治療群は10%と報告されている¹⁾³⁾。

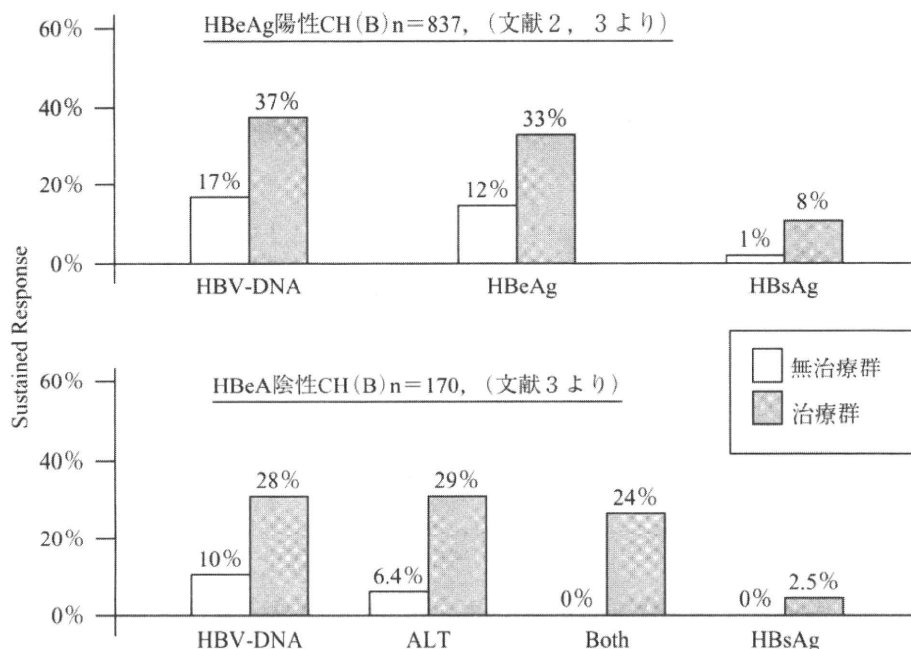


図1 B型慢性肝炎IFN治療効果、無治療例との比較

2. HBeAg抗原陰性慢性肝炎

HBe抗原陰性B型慢性肝炎は、治療前の時点からHBe抗原陰性であることから、HBV-DNAの陰性化(non-PCR)とALT値の正常化の2因子が治療効果評価項目となる。過去に行われた4つのHBe抗原陰性B型慢性肝炎に対するrandomized control study³⁾での治療効果は、治療終了時点でIFN治療群38~90%、無治療群0~37%。治療終了12ヵ月目の時点でIFN治療群10~47% (平均24%)、無治療群0%であったという(図1)。治療効果に関連する因子に関しては、治療前の因子、IFN投与量も治療効果に関係しないも、治療期間(6ヵ月未満よりも12ヵ月治療において治療成績が良い)のみが、持続的治療効果に関係している因子として見出されたという。

HBe抗原陰性B型慢性肝炎IFN治療の問題点は、治療後の肝炎再発例が多い点にあり、治療終了直後に約半数が再燃し、治療終了後5年間にわたって肝炎の再燃化がしばしば生じる。HBeAg抗原陰性のB型慢性肝炎のIFN治療効果は、長期的には15~25%の範囲に留まると推計されている³⁾。



わが国での治療成績

わが国でのHBe抗原陽性のB型慢性肝炎に対するIFN治療成績をまとめたものを図2に提示する。1997年に矢野らが報告した、IFNβ 24週投与と4週投与の無作為投与試験でのHBe陰性化率は、それぞれ17% (6/36)と8.3% (3/36)であり、4週投与群に比して24週投与群で総合的には有用性が高いも、HBe陰性化率では有意差は見られなかったと報告している⁴⁾。一方、VRとBRの観点からの治療効果に関して、Suzukiら⁵⁾はIFNαの24週投与で20% (9/45)、また同施設のAraseら⁶⁾は、IFNαの52週投与で30.7% (16/32)と報告している。これらの治療成績は、対象群の患者背景因子が異なることから単純には比較できないものの、短期投与よりも長期投与で、IFN治療成績が向上することが国内成績からも理解できる。



IFNの投与量、投与スケジュール

IFNαの1回の投与量は、成人例では5 MU~

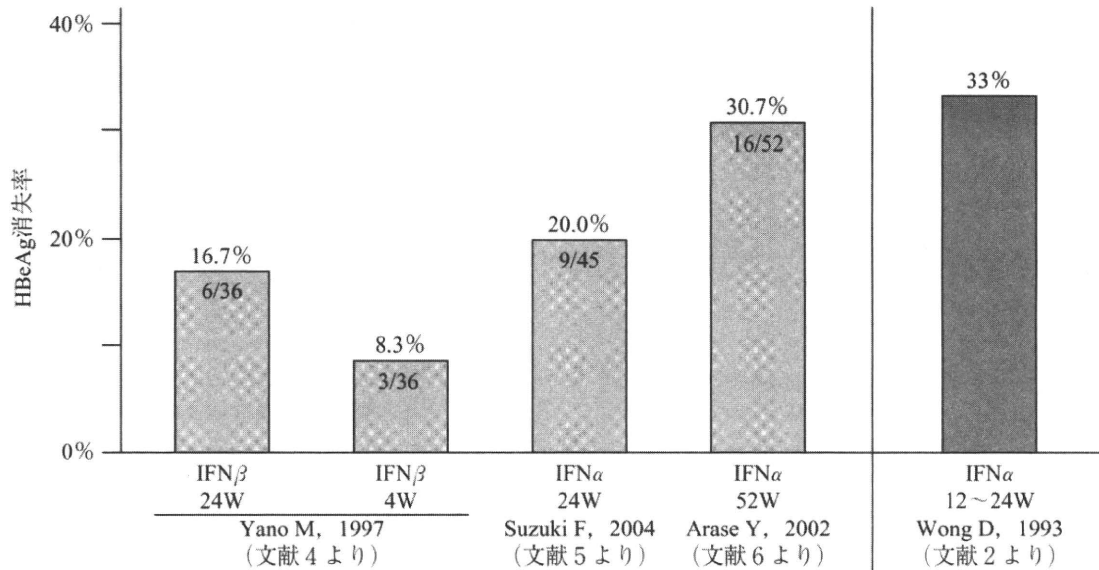


図2 HBeAg陽性B型慢性肝炎に対するIFN治療国内成績と海外成績(HBeAg消失率)

10MUの範囲内で週3回、小児は6MU/m²から最高10MUまで週3回投与が基本である¹³⁾。IFN投与期間は、HBeAg陽性B型慢性肝炎の場合の投与期間は16~24週間である。一方、HBeAg陰性のB型慢性肝炎の場合には、既述したごとく、HBeAg陽性症例に比較して治療終了後の肝炎の再燃が多いことから長期間の投与が必要で、少なくとも12ヵ月間の治療期間が必要と諸外国では考えられている¹³⁾。



PegIFN

PEG-IFNは、従来のIFNにpolyethyleneglycol(PEG)を付加して血中半減期を大幅に延長させた薬剤であり、IFN α 2aに分子量40kDのPEGを付加したPEG-IFN α 2a(Pegasys[®]③)とIFN α 2bに12kDのPEGを付加したPEG-IFN α 2b(Pegintron[®]③)がある。付加されたPEGの分子量が大きいほど、吸収が緩徐となり、クリアランスが低下し、半減期が延長する。おのおのの有効血中濃度はPEG-IFN α 2aが約160時間、PEG-IFN α 2bが約80時間維持する。

B型肝炎に対するPEG-IFNのおもな臨床試験成績を紹介する。Cooksleyらは、第2相試験としてHBe抗原陽性症例へのPEG-IFN α 2aと従来

型IFN α 2aの24週間投与の比較を行い、HBe抗原セロコンバージョン率(HBe抗原-SC率)が、それぞれ32%と25%でPEG群において有意に高いことを報告した⁷⁾。

PEG-IFN α 2aの第3相試験は、HBe抗原陽性、陰性例をそれぞれ、PEG単独投与群、LMV単独群、両者併用群の3群に区分して48週間投与で行われた⁸⁾⁹⁾。HBe抗原陽性例を対象とした試験でのHBe抗原-SC率は、PEG単独群(32%)および併用群(27%)では、LAM単独群(19%)と比較し有意に高い値を示した(図3)。また、PEG単独群と併用群ではそれぞれ約3%の頻度でHBs抗原のセロコンバージョンが認められたが、LAM群ではみられなかったという⁸⁾。HBe抗原陰性例を対象とした試験では、PEG単独群のALT値の正常化率は59%、HBV-DNA量20,000copies/ml未満の頻度は43%であり、LAM単独での29%に比較し有意に高い値を示したという⁹⁾。

これらの成績をまとめると、①PEG単独群とPEGとLAMの併用群では治療効果の差はなく、両者の併用による治療効果の改善は期待できないこと、②HBe抗原陽性例に対するPEG-IFN治療のVR、BR率はそれぞれ約30%と約40%で、HBe抗原陰性例に対するVR、BR率は約40%と約60%であること⁸⁾⁹⁾、③VRとBRをともに満た

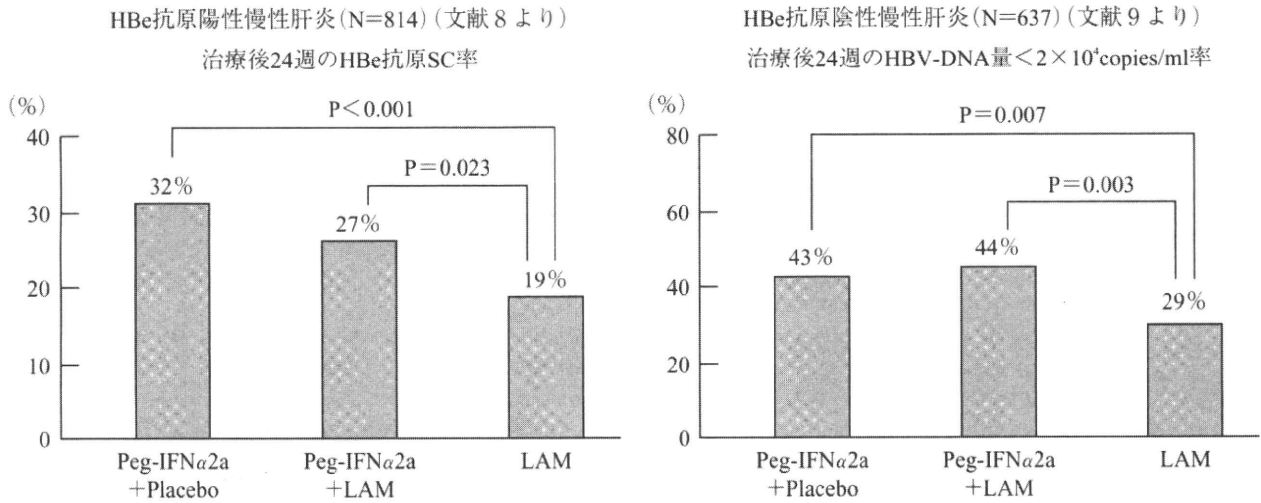


図3 B型肝炎に対するPEG-IFNα2a第3相試験成績

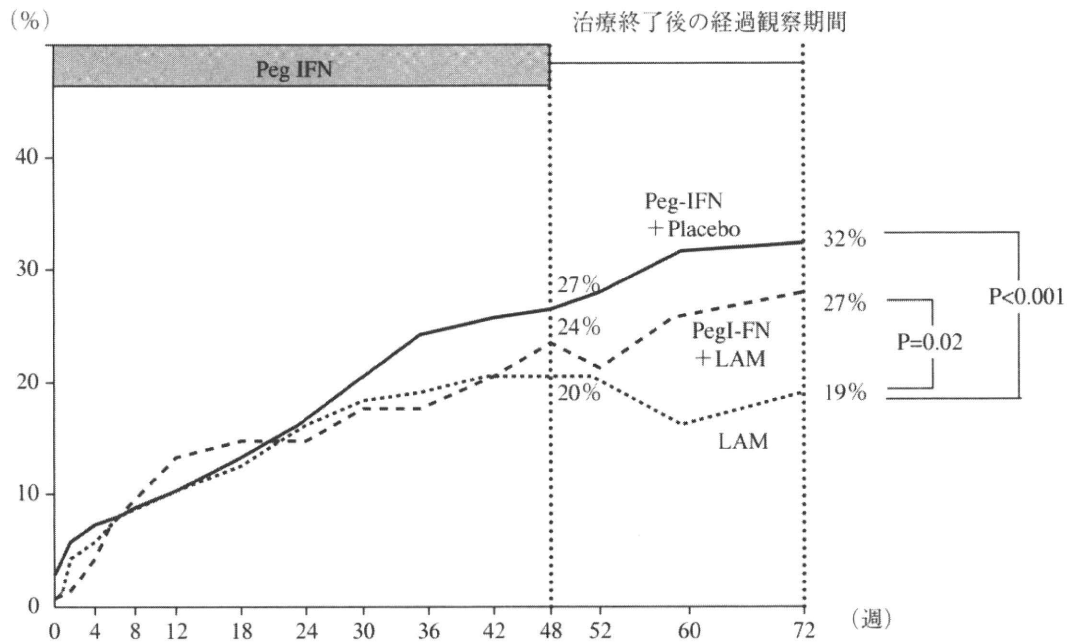


図4 HBe抗原陽性B型肝炎に対するPEG-IFNα2a治療、治療前後でのHBeAg-SC率の推移(n=814)(文献8より)

す combined-response による効果判定では HBe 抗原陽性例では23%, HBe 抗原陰性例では38% である。

数年に及ぶ長期投与が必要な核酸アナログ製剤に比較すると、PEG-IFN の最大の特徴は、原則1年間の治療期間で治療を終了すること、また HBe 抗原-SC 率は30%であり核酸アナログ製剤

の1年投与時点でSC率が20%台にとどまっているのに比して比較的高い値を示している点、また HBs 抗原陰性例が少ない頻度ながらも認めている点にある。

PEG-IFN は、わが国においても承認後は、B型肝炎患者に対して広く用いられることが予想される。

文 献

- 1) Lok AS, McMahon BJ : Chronic hepatitis B. *Hepatology* 45 : 507-539, 2007.
- 2) Wong DK, Cheung AM, O'Rourke K, et al : Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Ann Intern Med* 119 : 312-323, 1993.
- 3) Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH : Management of Hepatitis B 2000, Summary of a Workshop. *Gastroenterology* 120 : 1828-1853, 2001.
- 4) 矢野右人, 石橋大海, 佐田通夫ほか : B型慢性肝炎に対するヒト天然型インターフェロン β (MR-21)の24週間投与効果の検討. *臨床医薬* 13 : 1073-1102, 1997.
- 5) Suzuki F, Arase Y, Akuta N : Efficacy of 6-month interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection in Japan. *J Gastroenterol* 39 : 969-974, 2004.
- 6) Arase Y, Tsubota A, S Satoshi : Randomized, controlled trial of natural interferon- α therapy for e-antigen-positive chronic hepatitis B patients. *Hepatol Res* 23 : 98-104, 2002.
- 7) Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, et al : Peginterferon alpha-2a (40kDa) : an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 10 : 298-305, 2003.
- 8) Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, et al : Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 352(26) : 2682-2695, 2005.
- 9) Marcellin P, Lau GK, Bonino F, et al : Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 351 : 1206-1212, 2004.

わが国におけるHBVキャリア —自然経過、治療の有無を含めて

国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター治療研究部長

八橋 弘

■HBVキャリアとは

HBs抗原が6ヵ月間以上持続陽性を示す者をHBVキャリアと呼ぶ。HBVキャリアの感染経路は垂直感染と水平感染に大別される。垂直感染はいわゆる母子感染であり、HBe抗原陽性の母親からの出産時に感染が成立し、その約90%がキャリア化するとされている。一方、乳幼児期のHBVキャリア成立年齢に関する調査では、3歳以下では約80%、4歳から10歳までの感染では約30%がキャリア化したと報告されている。

成人B型急性肝炎例がキャリア化した場合には、HBV genotype Aの感染の可能性を考慮する必要があるものの、現在のわが国に存在する約130万人のHBVキャリアの主な感染経路は、HBワクチンによる母子感染防止事業が開始される20年以上前の垂直感染と、3歳以下の乳幼児水平感染である。

■HBVキャリアの自然経過

HBVそのものは細胞障害性を有していないことから、HBV持続感染はウイルス、肝細胞、宿主免疫機構の3つの因子のバランスの中で成立する。

HBV持続感染者は、従来は、①Immune tolerance期、②Immune clearance期、③Low replicative期またはintegrated期という3つの時相に分類されていた。しかし、1989年以後、HBe抗原産生に関与するprecore領域やcore promoter領域のHBV遺伝子変異、遺伝子構造と機能に関する知見が集積され、HBe抗原陰性でもウイルスが増殖し肝病変が進展することが確認されたことから、最近では、表1に示すように、ALT値、組織所見、HBVウイルスマーカー(HBV DNA、HBe抗原、HBs抗原)などを評価した上で、①Immune tolerance期、②Immune clearance期(HBeAg⁺ chronic hepatitis B期)、③Low replicative期(Inactive carrier state期)、④Reactivation期(HBeAg⁻ chronic hepatitis B期)、⑤Recovery期という5つの時相に分類し、図1のように表記するようになった^{1,4)}。

■HBe抗原-HBe抗体の セロコンバージョン

Immune clearance期にHBe抗原-HBe抗体のセロコンバージョンが

認められる。B型慢性肝炎を対象とした場合の年間のセロコンバージョン率は、2.7～21.1%/年、平均10%/年と考えられている。HBe抗原-HBe抗体のセロコンバージョンに関わる因子として、①高齢であること、②ALT値が高いこと、③肝炎の急性増悪、④HBV genotype (B>C)、⑤人種(アジア人以外)などが報告されている。ALT値に関しては、18ヵ月の観察期間内にセロコンバージョンが生じる確率は、ALT値が正常値の5倍以上を示した場合は60%、5倍未満の場合は15%と報告されている。ALT値の上昇は、宿主免疫によって感染肝細胞が排除されている状態をあらわし、その後セロコンバージョンが生じ肝炎が沈静化する。ALT値の上昇は予後不良のサインだけでなく、予後良好のサインでもあることを理解すべきである。

■肝硬変への進展

Immune clearance期の長さや炎症の重症度によって肝硬変進展が規定される。B型慢性肝炎からの年間の肝硬変進展率は、HBe抗原陽性B型慢性肝炎で2～6%、HBe抗原陰性

表1 B型慢性肝炎の自然経過の分類

時相	ALT値	肝組織所見	HBV DNA量	HBeAg	HBsAg
Immune tolerance期	正常またはわずかに上昇	軽度の炎症所見、軽度の線維化所見	高レベル (10 ⁸ ~10 ¹¹ copies/mL)	+	+
HBeAg ⁺ chronic hepatitis B期	持続的に上昇	高度の炎症所見、線維化の程度には幅がある	高レベル (10 ⁶ ~10 ¹⁰ copies/mL)	+	+
HBeAg ⁻ chronic hepatitis B期	上昇、しばしば変動	高度の炎症所見、線維化の程度には幅がある	中等度レベル、しばしば変動する (10 ³ ~10 ⁸ copies/mL)	-	+
Inactive carrier state期	正常	炎症所見に乏しい通常、線維化の程度は軽度	低レベルないし検出されないレベル (<10 ⁴ copies/mL)	-	+
Recovery期	正常	炎症所見に乏しく線維化の程度も軽度	血中からは検出されない(肝臓には低レベルで存在)	-	-

B型慢性肝炎で8～10%と報告されており、HBe抗原陰性B型慢性肝炎において肝硬変進展リスクが高い。これは、この対象群が高齢であり、また慢性肝炎の中でも肝線維化進展例が多いことに起因している。

肝硬変進展の危険因子としては、①高齢であること、②男性であること、③HBV増殖が活発であること、④HBV genotypeがCであること、⑤core promoterの変異があること、⑥他のウイルスとの重複感染(HCV、HIV、HDV)、⑦アルコール飲酒などが報告されている。

■肝癌への進展

HBV感染者は、非感染者に比して肝癌発生のハイリスク群である。東アジアなどのHBV高罹患国でのHBVキャリアの年間肝癌発生率は、Inactive carrierで0.2%、肝硬変を伴わない慢性肝炎で1.0%、代償性肝硬変で3.2～4.3%と報告されている。一方、欧州などのHBV低罹患国での年間肝癌発生率は、Inactive carrierで0.02%、肝硬変を伴わない慢性肝炎で0.1%、代償性肝硬変で2.2%と報告されており、同じ病態でもHBV高罹患国と低罹患国では肝癌発生リスクが異なる。

HBV感染者での肝癌発生リスクをまとめたものが図2である^{1,4,5)}。年間肝癌発生率は、Inactive carrierでは0.2%以下、肝硬変を伴わない慢性肝炎では1%以下、代償性肝硬変では2～3%、非代償性肝硬変では7～8%である。

図1 HBVキャリアの自然経過

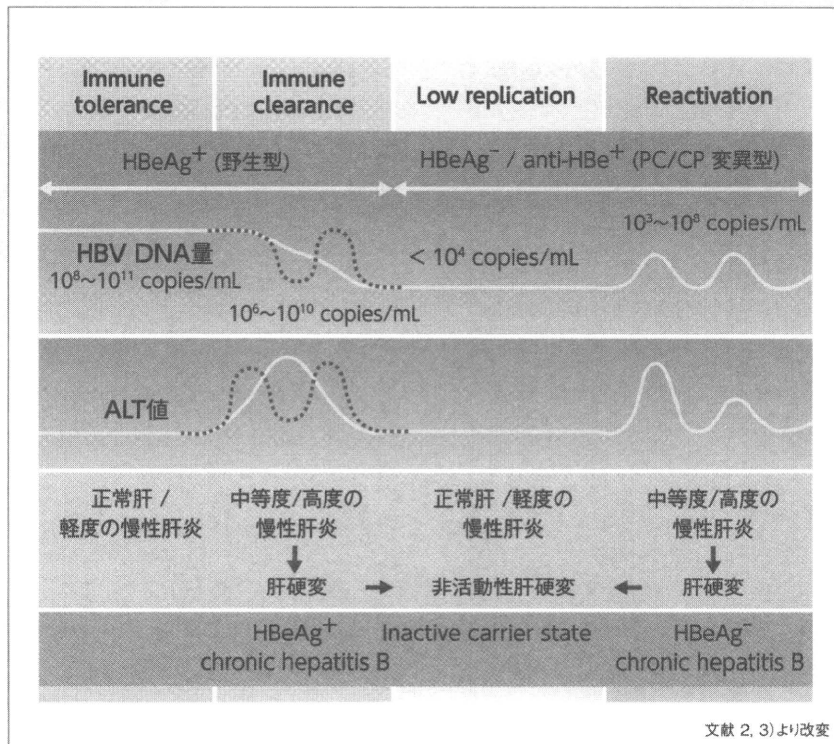
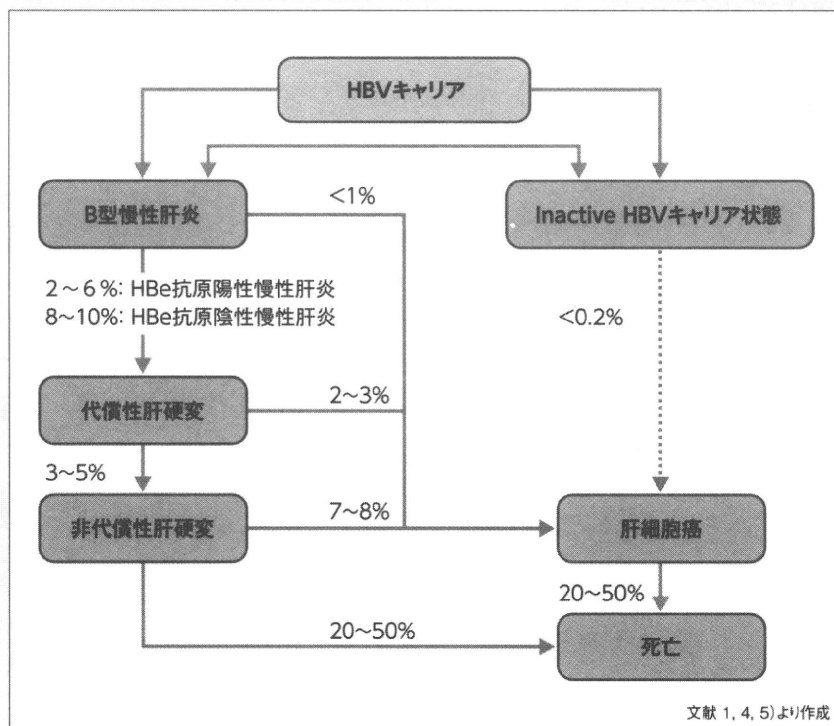


図2 HBVキャリアでの年間肝病変進展率の推定



肝癌進展の危険因子として、①高齢であること、②男性であること、③肝硬変があること、④肝癌の家族歴があること、⑤人種差(アジア人、アフリカ人)、⑥HBV増殖が活発であること、⑦HBV genotypeがCであること、⑧core promoterの変異があること、⑨他のウイルスとの重複感染(HCV、HIV、HDV)、⑩アルコール飲酒、⑪アフラトキシンなどが報告されている⁵⁾。

2006年、台湾から報告されたHBVキャリアを対象とした肝癌発生リスクに関する論文は、肝癌にHBV DNA量が密接に関係していることを示したものと注目されている⁶⁾。本報告では3,653例のHBVキャリアを対象に平均11.4年間観察を行い、経過発癌例を検討している。表2に示すように、全体では男性、HBe抗

原陽性例、肝硬変例、HBV DNA量高値例で肝癌リスクが高いことが確認されているが、注目すべきは、ALT値正常でかつ肝硬変を伴わない集団においても、HBV DNA量高値例では、低値に比して10倍以上肝癌リスクが高いと報告している点である。本報告は、HBVキャリアでの肝癌発生ハイリスク群の囲いこみの方法としてHBV DNA量の測定が有用であること、また抗ウイルス剤を用いての治療介入により持続的にHBV DNA量を低下させることで肝癌抑制の可能性を示唆している。

■HBs抗原-抗体のセロコンバージョン

HBV持続感染者においても一部の者ではHBs抗原が消失、HBs抗体

陽性のRecovery期に移行する。年間のHBs抗原消失率は0.5～2.5%、平均で1.0%で、長期的には25年間で40%消失すると報告されている。HBs抗原の消失は、一般的には予後良好と考えられているが、HBs抗原消失にもかかわらず、肝硬変、肝癌進展例が少なくないという報告もある¹⁾。

■核酸アナログ製剤の肝発癌抑制効果

B型肝炎に対する核酸アナログ製剤による治療では、初回投与例においては薬剤耐性の出現頻度が低いことから、現在ではエンテカビルが第一選択薬剤として位置づけられている⁷⁾。しかしながら、エンテカビルはB型肝炎に対する核酸アナログ製剤としては、ラミブジン、アデホビルに続いて3番目に承

表2 HBVキャリアを対象とした肝癌に関連する危険因子に関する台湾での検討結果

リスク	全対象患者 n=3,653		HBe抗原陰性者 n=3,088		HBe抗原陰性、ALT 値正常、肝硬変を伴 わない者、n=2,925	
	Multivariable- Adjusted HR	P値	Multivariable- Adjusted HR	P値	Multivariable- Adjusted HR	P値
性差:男性	2.1	.001	2.0	.03	1.5	.24
HBe抗原陽性	2.6	<.001				
肝硬変、あり	9.1	<.001	7.9	<.001		
HBV DNA量、 <300 copies/mL(検出感度以下)	1.0	<.001 [§]	1.0	<.001 [§]	1.0	<.001 [§]
HBV DNA量、 10,000~99,999 copies/mL	2.3	.02	2.6	.01	4.5	.001
HBV DNA量、 100,000~999,999 copies/mL	6.6	<.001	6.1	<.001	11.3	<.001
HBV DNA量、 1 million copies/mL以上	6.1	<.001	10.6	<.001	17.7	<.001

§ : For trend

文献 6)より改変

認を得た新しい薬剤であり、エンテカビル長期投与例での治療効果に関する報告は、現時点では少ない。

核酸アナログ製剤が、HBV発癌を抑制し肝予備能を改善させることを無作為試験で示したのはLiawらであり、ラミブジンでの成績を提示している⁸⁾。Liawらは肝線維化がIshak scoreで4点以上の651例を436例のラミブジン投与群と215例のプラセボ群に分けて3年間経過を観察した。2年目の経過にてラミブジン投与群では17例(3.9%)、プラセボ群では16例(7.9%)の肝細胞癌発症が観察され、ラミブジン投与群ではプラセボ群に比べてハザード比が0.49倍(p=0.047)であったと報告している(図3)。

わが国においてもMatsumotoらが、2003年に行われた犬山シンポジウ

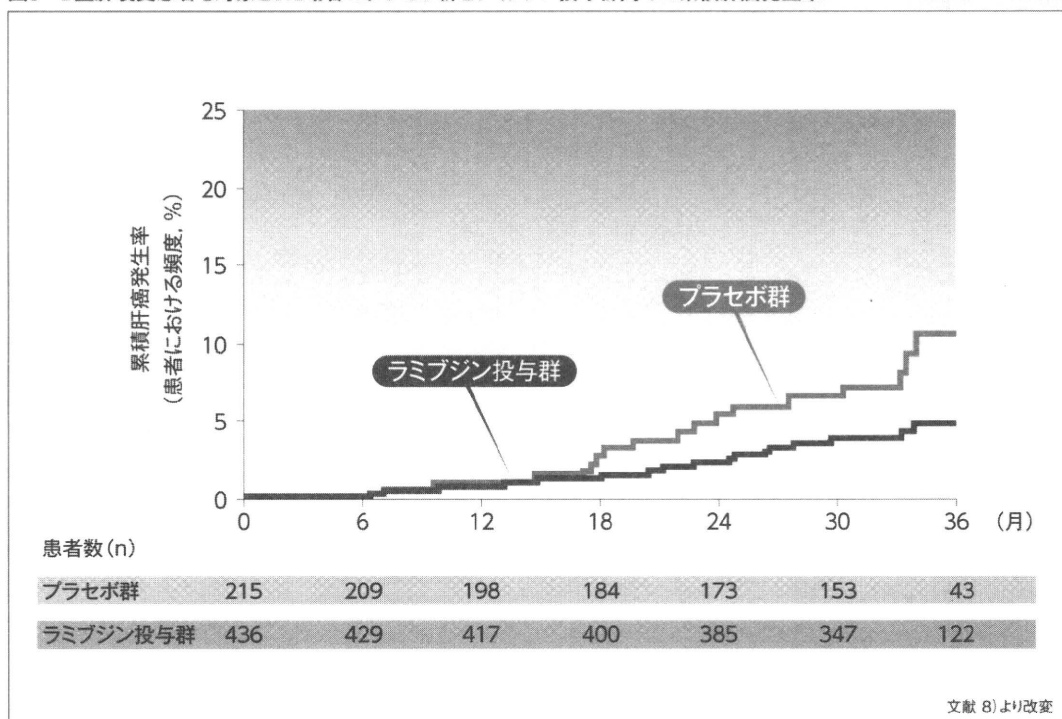
ムでの多施設共同による成績をmatched case-control studyとして解析を行い、肝細胞癌の年間発症率はラミブジン投与群で0.4%/年、

control群で2.5%/年であり、ラミブジン投与群で有意に肝癌発生率が低率(p<0.001)であったと報告している⁹⁾。

参考文献

- 1) 八橋弘、長岡進矢、阿比留正剛. HBVの自然経過と治療方針について. 日消誌 2007; 104(10):1450-1458.
- 2) Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B. Semin Liver Dis 2003; 23(1):47-58.
- 3) Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, et al. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. Hepatology 2007; 45(4):1056-1075.
- 4) Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. Hepatology 2006; 43(2 Suppl 1):S173-181.
- 5) Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, et al. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. Gastroenterology 2004; 127(5 Suppl 1):S35-50.
- 6) Chen CJ, Yang HI, Su J, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. JAMA 2006; 295(1):65-73.
- 7) 厚生労働省研究班によるB型慢性肝炎の治療ガイドライン(2010年3月改訂).
- 8) Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. N Engl J Med 2004; 351(15):1521-1531.
- 9) Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, et al. Efficacy of lamivudine for preventing hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: A multicenter retrospective study of 2795 patients. Hepatol Res 2005; 32(3):173-184.

図3 B型肝炎硬変患者を対象とした場合のプラセボ群とラミブジン投与群間での累積肝癌発生率



ウイルス感染症

B型肝炎ウイルス DNA および核酸検査

Hepatitis B virus DNA and nucleic acid amplification technique

八橋 弘 斐 成寛 長岡進矢 阿比留正剛

Key words : HBV-DNA量, リアルタイム PCR法(Taqman PCR法)

1. 概 説

B型肝炎ウイルス(hepatitis B virus: HBV)遺伝子は、二本鎖の環状DNAから構成されるが、その全周の35-50%は一本鎖であり正確には不完全二本鎖の環状DNAである。(-)鎖と呼ばれる鎖は全周性であり、その長さは約3.2kbである。この(-)鎖には、蛋白質への読み取りがなされるORF(open reading frame)が4つ(S, P, C, X遺伝子)存在し、それぞれ、エンベロープ蛋白をコードするpreS/S遺伝子、コア蛋白HBe抗原をコードするpreC/C遺伝子、DNAポリメラーゼや逆転写酵素をコードするP遺伝子、遺伝子の転写活性を高める調節作用を有するX蛋白をコードするX遺伝子と命名されている(図1)。

HBVは通常のDNAウイルスとは異なり、DNAから直接DNAを複製するのでなく、DNAから一度プレゲノムと呼ばれるRNA鎖が作成され、これを鋳型として逆転写酵素によりDNAが複製されるというレトロウイルス様の複雑な増殖過程を有する。そのため、DNAウイルスでありながらHBVでは高率に遺伝子変異が生じると考えられている。

HBV遺伝子変異と病態との関連に関しては、①S領域、②P領域、③preC/C領域が報告さ

れている。S領域の変異では、HBワクチンで感染防御を行った際に、それをかいくぐって感染する変異株いわゆるエスケープ変異株が知られている。この変異株を有する児では、HBV母子感染予防処置としてHBワクチン接種を行いHBs抗体陽性となってもHBVキャリア化することが報告されているが、我が国で、それが問題となることはまれである。P領域の変異は、抗ウイルス剤であるラミブジン単剤で用いたときに高頻度に出現することが知られている。本薬剤の作用機序となる逆転写酵素活性を担うP遺伝子に特異的なHBV変異株(YMDDモチーフ)であり薬剤耐性との関連が明らかとなっている。preC領域、core領域の遺伝子変異はHBe抗原の産生に関与しており、臨床的には劇症肝炎の発症との関連が報告されており、B型急性肝炎を対象とした場合、変異例では野生型に比して5-6倍、重症化しやすいことが明らかとなっている。

また、HBVには、その遺伝子構造から遺伝子型(genotype: gt)分類が提唱され、現在までAからHの8種類のgenotypeが存在することが確認されている。HBV gtの世界分布によると、欧米ではgt-A、中近東ではgt-D、南米ではgt-F、アジア太平洋地域ではgt-Bとgt-Cが主な型であることが明らかとなった。我が国のB型

Hiroshi Yatsunashi, Sung Kwan Bae, Shinya Nagaoka, Seigou Abiru: Department of Therapeutic Research, National Hospital Organization(NHO) Nagasaki Medical Center 国立病院機構長崎医療センター 治療研究部

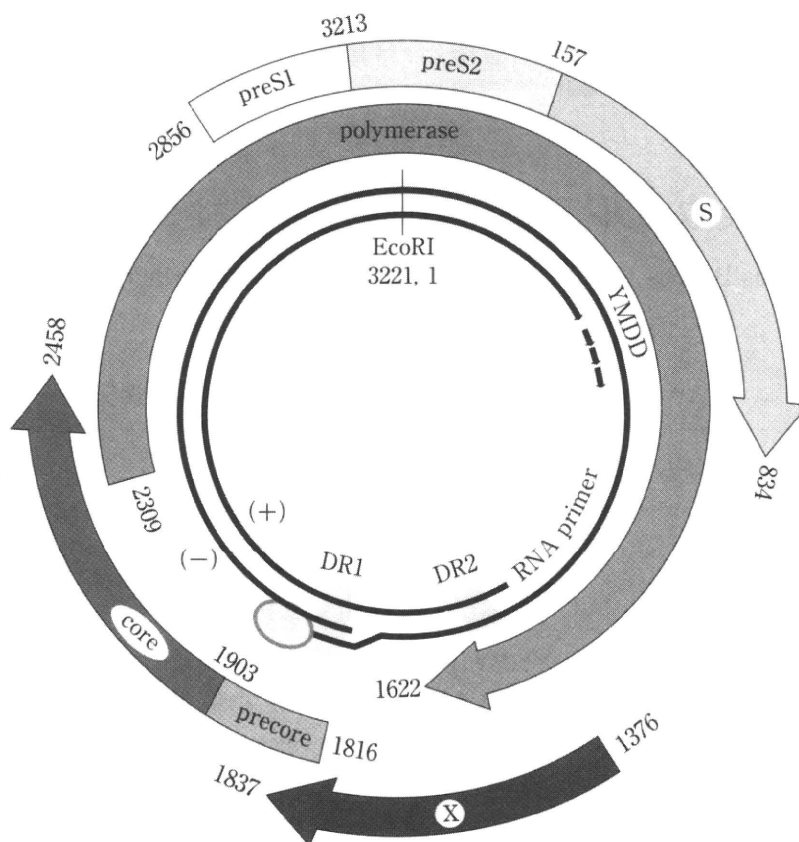


図1 HBV 遺伝子構造

慢性肝疾患における HBV genotype 分布は、沖縄、東北地域では gt-B が珍しくないものの、それ以外の地域では gt-C が 90-95% を占めている。一方、最近の我が国の B 型急性肝炎感染では、特に 2000 年以後 gt-A が急増し 2007 年以後は 50% 以上の頻度を占めるようになっていく。HBV gt の違いにより、B 型肝炎の自然経過や予後、IFN や核酸アナログ製剤の感受性、治療反応性が異なることから、HBV gt は注目されているマーカーとなっているが、2009 年 12 月の時点では研究目的の測定に留まっている。

2. 検査の目的

B 型慢性肝炎の病態は、血液中 HBV-DNA 量の変化と密接に関係する。HBV-DNA 量の増加に伴って、ALT 値の上昇がみられ肝炎の悪化がしばしばみられる。また一方、HBV-DNA の量の減少とともに ALT 値の低下、肝炎の鎮静化が認められる。HBe 抗原量も HBV-DNA 量と

同様にウイルス増殖を示すマーカーであるが、HBe 抗原の一部は HBe 抗体と免疫複合体を形成しながら血液中に存在すること、また最近、HBV-DNA 遺伝子変異により HBe 抗原陰性にもかかわらずウイルス増殖の活発な症例が少なからず認められることから、HBe 抗原に比較して HBV-DNA は他の因子に作用されない安定した HBV 増殖マーカーと考えられている。

また IFN や各種経口抗ウイルス剤の治療中のモニタリング、治療効果判定の方法にも血中 HBV-DNA 量が用いられており、重要な指標である。

2009 年の米国肝臓学会の B 型慢性肝炎に対するガイドライン¹⁾においても、HBV-DNA 量を基準に、経過観察の方法、各種治療法の導入の基準が定められている。具体的には、B 型慢性肝炎の定義の項目の中に、HBV-DNA 量 $5.0 \log \text{ copy/mL}$ ($=20,000 \text{ IU/mL}$) 以上であること、非活動性 HBsAg 陽性キャリアでは

HBV-DNA量 4.0 log copy/mL (=2,000 IU/mL) 未満であること、またHBV-DNA量 4.0-5.0 log copy/mLの範囲の症例では、なかに進行性を有する例があることなどが明記されている。

3. 試料の採取方法、保存状況

通常、患者から採血された血清、血漿の中のHBV-DNAを測定する。採血から測定まで時間を要する場合には検体を冷凍して運搬、保管する。HBV-DNAはRNAウイルスに比較すると容易には分解されず安定している。

4. 測定法と測定感度

HBV-DNA定量法の種類としては、ドットブロットハイブリダイゼーション法、液相(核酸)ハイブリダイゼーション法、分岐鎖DNAプローブ法(branched DNA probe assay)、TMA(transcription mediated amplification)法、アンプリコアモニター法、リアルタイムPCR法(Taqman PCR法)などがあるも、その中でも、リアルタイムPCR法が、最も測定感度が良く、測定範囲も最も広いことから、広く用いられている。

リアルタイムPCR法(Taqman PCR法)の測定原理は、PCR法を基本原理とする核酸増幅法の一種であり、分解により蛍光を発するTaqManプローブを利用して増幅サイクルごとにリアルタイムに増幅の状態をモニターする測定法である。TaqManプローブは、‘レポーター’と呼ばれる蛍光色素と‘クエンチャー’と呼ばれる蛍光を吸収する消光物質が修飾されたオリゴヌクレオチド(DNAの断片)で、PCR増幅領域に結

合し、DNA合成反応時にDNAポリメラーゼ(DNA合成酵素)の作用によって分解されるよう設計されている。増幅反応の進行に伴いTaqManプローブの分解は指数的に進み、消光物質(クエンチャー)から遊離したレポーター色素の蛍光が検出される。またそのタイミングは試料中のターゲット核酸の量に依存する。すなわち、ターゲット核酸の量が多い場合は早期の増幅サイクルで蛍光シグナルが検出され、少ない場合は増幅サイクルの終盤で検出される。これを応用し、増幅サイクルごとに蛍光シグナルを確認することでリアルタイムにターゲット核酸の定量が可能となる。

なおHBV-DNA定量リアルタイムPCR法(Taqman PCR法)の測定範囲、測定感度は、試料が血清(2.1-9.0 log copy/mL)、血漿(1.8-8.8 log copy/mL)かで異なっているので注意を要する。測定結果は、通常log copy/mLで表記する。また国際的には、HBV-DNA濃度は、WHO標準品に基づきIU/mLで表記することが多いも、1IU=5.82 copyの変換係数を用いることにより、copy/mLへと変換することが可能である。

5. 臨床的意義

本稿の概説、目的に記述したごとく、血中HBV-DNA量の測定は、B型慢性肝炎の診断、病態把握、予後の推定、抗ウイルス剤治療中のモニター、治療効果判定などに必要な重要なマーカーである。

特に、抗ウイルス剤を用いての治療中は、最も高感度の検出系、測定条件でHBV-DNA量を把握することが必要である。

■ 文献

- 1) Lok AS, McMahon BJ: Hepatology 50: 661-662, 2009.

Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy

Tsugiko Oze¹, Naoki Hiramatsu^{1,*}, Takayuki Yakushijin¹, Kiyoshi Mochizuki¹, Masahide Oshita², Hideki Hagiwara³, Eiji Mita⁴, Toshifumi Ito⁵, Hiroyuki Fukui⁶, Yoshiaki Inui⁷, Taizo Hijioka⁸, Masami Inada⁹, Kazuhiro Kaytayama¹⁰, Shinji Tamura¹¹, Harumasa Yoshihara¹², Atsuo Inoue¹³, Yasuharu Imai¹⁴, Michio Kato¹⁵, Takuya Miyagi¹, Yuichi Yoshida¹, Tomohide Tatsumi¹, Shinichi Kiso¹, Tatsuya Kanto¹, Akinori Kasahara¹, Tetsuo Takehara¹, Norio Hayashi¹

¹Department of Gastroenterology and Hepatology, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Japan; ²Osaka Police Hospital, Osaka, Japan; ³Kansai Rousai Hospital, Amagasaki, Japan; ⁴National Hospital Organization Osaka National Hospital, Osaka, Japan; ⁵Osaka Koseinenkin Hospital, Osaka, Japan; ⁶Yao Municipal Hospital, Yao, Japan; ⁷Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital, Nishinomiya, Japan; ⁸National Hospital Organization Osaka Minami Medical Center, Kawachinagano, Japan; ⁹Toyonaka Municipal Hospital, Toyonaka, Japan; ¹⁰Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases, Osaka, Japan; ¹¹Minoh City Hospital, Minoh, Japan; ¹²Osaka Rosai Hospital, Sakai, Japan; ¹³Osaka General Medical Center, Osaka, Japan; ¹⁴Ikeda Municipal Hospital, Ikeda, Japan; ¹⁵National Hospital Organization Minami Wakayama Medical Center, Tanabe, Japan

Background & Aims: This study investigated the efficacy and adverse effects of pegylated interferon (Peg-IFN) plus ribavirin therapy in aged patients with chronic hepatitis C (CH-C).

Methods: A total of 1040 naïve patients with CH-C (genotype 1, $n = 759$; genotype 2, $n = 281$), of whom 240 (23%) over 65 years old (y.o.), were treated with Peg-IFN alfa-2b plus ribavirin and assessed after being classified into five categories, according to age.

Results: The discontinuance rate was higher for patients over 70 y.o. (36%), the most common reason being anemia. In the presence of genotype 1, the SVR rate was similar (42–46%) among patients under 65 y.o. and declined (26–29%) among patients over 65 y.o. For patients over 65 y.o., being male (Odds ratio, OR, 3.5, $p = 0.035$) and EVR (OR, 83.3, $p < 0.001$) were significant factors for SVR, in multivariate analysis. The Peg-IFN dose was related to EVR, and when EVR was attained, 76–86% of patients over 65 y.o. achieved SVR. SVR was not achieved (0/35, 0/38, respectively) if a 1-log decrease and a 2-log decrease were not attained at week 4 and week 8, respectively. In the presence of genotype 2, the SVR rate was similar (70–71%) among patients under 70 y.o. and declined among patients over 70 y.o. (43%).

Conclusions: Aged patients up to 65 y.o. with genotype 1 and 70 y.o. with genotype 2 can be candidates for Peg-IFN plus ribavirin therapy. The response-guided therapy can be applied for aged patients with genotype 1.

© 2010 European Association for the Study of the Liver. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Introduction

Pegylated interferon (Peg-IFN) plus ribavirin combination therapy has led to a marked progress in the treatment of chronic hepatitis C (CH-C) [1–4]. However, in aged patients, problems remain with respect to its anti-viral effect and tolerability [5–9]. Recently, the addition of a protease inhibitor to Peg-IFN plus ribavirin combination therapy has been reported, on the one hand, to improve the anti-viral effect, and, on the other hand, to increase side effects, especially severe anemia [10–11].

Therefore, this new therapy does not solve the problems encountered when treating aged patients.

With aging, the progression of liver fibrosis and the occurrence of hepatocellular carcinoma (HCC) have been shown to be accelerated, especially in patients over 60 y.o. [12–14]. In general, the anti-viral therapy can lead to an improvement in liver fibrosis and thus diminish the risk of HCC and ameliorate the prognosis in patients with CH-C [15–21]. Among aged patients, those results are mainly achievable upon eradication of the hepatitis C virus (HCV) [18,21]. Accordingly, the first goal of treatment of aged patients with a high-risk of HCC should be HCV elimination.

Thus, a treatment strategy, aiming at the improvement of the anti-viral efficacy in aged patients, should be established based on detailed large-scale studies.

Some points need to be further elucidated when using the Peg-IFN plus ribavirin combination therapy for the treatment of aged patients with CH-C: (i) the characteristics before treatment

Keywords: Pegylated interferon plus ribavirin therapy; Chronic hepatitis C; Aged patients.

Received 30 April 2010; received in revised form 28 July 2010; accepted 28 July 2010

* Corresponding author. Address: Department of Gastroenterology and Hepatology, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2, Yamadaoka, Suita City, Osaka 565-0871, Japan. Tel.: +81 6 6879 3621; fax: +81 6 6879 3629.

E-mail address: hiramatsu@gh.med.osaka-u.ac.jp (N. Hiramatsu).

Abbreviations: HCV, hepatitis C virus; CH-C, chronic hepatitis C; HCC, hepatocellular carcinoma; Peg-IFN, pegylated interferon; SVR, sustained virologic response; RVR, rapid virologic response; EVR, early virologic response; LVR, late virologic response; NR, non-response; WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; Plt, platelet; G-CSF, granulocyte-macrophage colony stimulating factor.



Research Article

that would lead to the successful elimination of HCV, (ii) the prediction factors of treatment efficacy after the initiation of the therapy, and (iii) the utility of a response-guided therapy established in the treatment.

In the present study, using a large cohort, we aimed at clarifying these points taking into account the patients' age.

Patients and methods

Patients

This study was a retrospective, multicenter trial conducted by the Osaka University Hospital and other institutions participating in the Osaka Liver Forum. A total of 1040 naïve patients with CH-C were enrolled between December 2004 and June 2007. All patients were Japanese, infected with a viral load of more than 10^5 IU/ml, and treated with a combination of Peg-IFN alfa-2b plus ribavirin. Patients were excluded from the study if they had decompensated cirrhosis or other forms of liver disease (alcohol liver disease, autoimmune hepatitis), coinfection with hepatitis B or anti-human immunodeficiency virus. This study was conducted according to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki and informed consent was obtained from each patient.

Treatment

All patients received Peg-IFN alfa-2b (PEGINTRON; Schering-Plough, Kenilworth, NJ, USA) plus ribavirin (REBETOL; Schering-Plough). Treatment duration was 48 weeks for patients with genotype 1 and 24 weeks for those with genotype 2. As a starting dose, Peg-IFN alfa-2b was given once weekly, at a dosage of 1.5 µg/kg, and ribavirin was given at a total dose of 600–1000 mg/day based on body weight (body weight <60 kg, 600 mg; 60–80 kg, 800 mg; >80 kg, 1000 mg), according to a standard treatment protocol for Japanese patients.

Dose reduction and discontinuance

Dose modification followed, as a rule, the manufacturer's drug information on the intensity of the hematologic adverse effects. The Peg-IFN alfa-2b dose was reduced to 50% of the assigned dose when the white blood cell (WBC) count was below $1500/\text{mm}^3$, the neutrophil count below $750/\text{mm}^3$ or the platelet (Plt) count below $8 \times 10^9/\text{mm}^3$, and was discontinued when the WBC count was below $1000/\text{mm}^3$, the neutrophil count below $500/\text{mm}^3$ or the Plt count below $5 \times 10^4/\text{mm}^3$. Ribavirin was also reduced from 1000 to 600 mg, 800 to 600 mg, or 600 to 400 mg when the hemoglobin (Hb) was below 10 g/dl, and was discontinued when the Hb was below 8.5 g/dl. Peg-IFN alfa-2b and ribavirin had to be both discontinued if there was a need to discontinue either of them. No ferric medicine or hematopoietic growth factors, such as epoetin alpha, or granulocyte-macrophage colony stimulating factor (G-CSF), were administered.

Virologic assessment and definition of virologic response

Serum HCV RNA level was quantified using the COBAS AMPLICOR HCV MONITOR test, version 2.0 (detection range 6–5000 KIU/ml; Roche Diagnostics, Branchburg, NJ) and qualitatively analyzed using the COBAS AMPLICOR HCV test, version 2.0 (lower limit of detection 50 IU/ml; Roche Diagnostics). The rapid virologic response (RVR) was defined as undetectable serum HCV RNA at week 4; the early virologic response (EVR) as undetectable serum HCV RNA at week 12; and the late virologic response (LVR) as detectable serum HCV RNA at week 12 and undetectable serum HCV RNA at week 24. Moreover, the sustained virologic response (SVR) was defined as undetectable serum HCV RNA, 24 weeks after treatment.

According to the protocol, genotype 1 patients, with less than a 2-log decrease in HCV RNA level at week 12 compared to the baseline, or with detectable serum HCV RNA at week 24, had to stop the treatment and were regarded as non-response (NR). Treatment discontinuance was evaluated except for those patients who had discontinued the treatment at up to 24 weeks, due to absence of response. Anti-viral efficacy was evaluated, for all study patients, using the intention-to-treat analysis (ITT analysis) and the per protocol analysis (PP analysis) for patients without treatment discontinuation due to side effects, and was assessed considering the definition of EVR or LVR for genotype 1, and RVR or non-RVR for genotype 2, as previously reported [1].

Assessment of drug exposure

The amounts of Peg-IFN alfa-2b and ribavirin, taken by each patient during the full treatment period, were evaluated by reviewing the medical records. The mean doses of Peg-IFN alfa-2b and ribavirin were calculated individually as averages, on the basis of the body weight at baseline: Peg-IFN alfa-2b expressed as µg/kg/week, ribavirin expressed as mg/kg/day.

Statistical analysis

Patients' baseline data are expressed as means \pm SD or median values. To analyze the difference between baseline data, ANOVA or Mantel-Haenszel Chi-square test were performed. Factors associated with the viral response were assessed by univariate analysis using the Mann-Whitney U test or Chi-square test and multivariate analysis using logistic regression analysis. A two-tailed *p* value <0.05 was considered significant. The analysis was conducted with SPSS version 15.0J (SPSS Inc., Chicago, IL).

Results

Patient's profile

Baseline characteristics of the patients categorized by age are shown in Table 1.

Genotype 1 patients (*n* = 759) were distributed into five categories: 266 patients were under 55 y.o. (group 1A), 159 were 55–59 y.o. (group 1B), 149 were 60–64 y.o. (group 1C), 134 were 65–69 y.o. (group 1D), and 51 were 70 y.o. or older (group 1E). With advancing age, the male-to-female ratio and peripheral blood cell count (WBC, neutrophil count, Red blood cell (RBC), Hb, Plt) decreased significantly. Patients with a progression of liver fibrosis (METAVIR fibrosis score 3 or 4) significantly increased with age (Table 1A).

Genotype 2 patients (*n* = 281) were also distributed into five categories: 145 patients were under 55 y.o. (group 2A), 43 were 55–59 y.o. (group 2B), 38 were 60–64 y.o. (group 2C), 41 were 65–69 y.o. (group 2D), and 14 were 70 y.o. or older (group 2E). As observed in genotype 1 patients, the peripheral blood cell count decreased and the ratio of advanced fibrosis (score 3–4) increased significantly with age (Table 1B). For both genotypes, the initial doses of Peg-IFN in patients over 70 y.o. were lower than in those under 70 y.o., this was not the case for the ribavirin doses.

Dose reduction and discontinuance for adverse event

The overall discontinuance rate of treatment was 15% (140/919): 18% (112/639) for genotype 1 and 10% (28/280) for genotype 2, respectively. Table 2 shows the reason for and the rate of treatment discontinuance according to age. The discontinuance rate increased with age, being 10% (36/363) for patients under 55 y.o., 15% (27/182) for patients with 55–59 y.o., 17% (28/169) for patients with 60–64 y.o., 19% (28/147) for patients with 65–70 y.o., and significantly higher, 36%, (21/58) for patients over 70 y.o. The discontinuance of treatment due to hemolytic anemia was significantly higher for patients over 70 y.o. as compared to those under 70 y.o. (<70 y.o., 1% (9/861) vs. \geq 70 y.o., 16% (9/58), *p* <0.0001).

The rate without dose reduction of both drugs decreased with age (<55 y.o., 41% (171/411); 55–59 y.o., 20% (40/202); 60–64 y.o., 26% (48/187); 65–69 y.o., 23% (41/175); \geq 70 y.o., 18% (12/65)). In the presence of genotype 1, the mean dose of Peg-IFN

Table 1. Baseline characteristics of patients.

Patients with genotype 1							
Factor	<55 y.o.	55 - 59 y.o.	60 - 64 y.o.	65 - 69 y.o.	≥70 y.o.	p value	
Number	266	159	149	134	51		
Age (y.o.)	44.4 ± 8.1	56.9 ± 1.4	62.0 ± 1.4	66.8 ± 1.4	71.4 ± 1.7	<0.001	
Sex: male / female	160 / 106	64 / 95	57 / 92	54 / 80	23 / 28	<0.001	
Body weight (kg)	64.6 ± 11.7	58.3 ± 9.4	58.1 ± 9.6	56.3 ± 9.3	56.3 ± 9.2	<0.001	
White blood cells (/mm ³)	5608 ± 1668	4901 ± 1664	4888 ± 1488	5113 ± 1426	4883 ± 1511	<0.001	
Neutrophils (/mm ³)	2923 ± 1214	2425 ± 1031	2559 ± 1155	2535 ± 1017	2599 ± 1149	<0.001	
Red blood cells (×10 ⁶ /mm ³)	454 ± 47	432 ± 38	427 ± 40	424 ± 37	424 ± 46	<0.001	
Hemoglobin (g/dl)	14.4 ± 1.5	13.8 ± 1.2	13.7 ± 1.3	13.6 ± 1.2	13.7 ± 1.4	<0.001	
Platelets (×10 ⁴ /mm ³)	18.6 ± 6.2	16.3 ± 5.7	15.4 ± 5.3	15.1 ± 5.0	14.4 ± 4.2	<0.001	
AST (IU/l)	62 ± 50	62 ± 45	64 ± 46	72 ± 45	64 ± 40	0.295	
ALT (IU/l)	79 ± 68	76 ± 64	73 ± 63	77 ± 58	65 ± 41	0.657	
Serum HCV RNA (KIU/ml)*	1800	1600	1700	1700	1700	0.691	
Histology (METAVIR)‡:	Fibrosis, 0 - 2 / 3 - 4	177 / 19	99 / 20	90 / 19	76 / 28	21 / 9	0.001
	Activity, 0 - 1 / 2 - 3	117 / 79	63 / 56	59 / 50	47 / 57	13 / 16	0.146
Peg-IFN dose (µg/kg/week)¶	1.47 ± 0.14	1.47 ± 0.16	1.46 ± 0.18	1.44 ± 0.18	1.36 ± 0.24	<0.001	
Ribavirin dose (mg/kg/day)¶	11.5 ± 1.1	11.5 ± 1.4	11.5 ± 1.4	11.5 ± 1.7	11.2 ± 2.2	0.65	

Patients with genotype 2							
Factor	<55 y.o.	55 - 59 y.o.	60 - 64 y.o.	65 - 69 y.o.	≥70 y.o.	p value	
Number	145	43	38	41	14		
Age (y.o.)	40.9 ± 8.9	56.7 ± 1.3	62.3 ± 1.4	66.7 ± 1.5	71.8 ± 1.8	<0.001	
Sex: male / female	78 / 67	17 / 26	17 / 21	18 / 23	6 / 8	0.441	
Body weight (kg)	63.4 ± 12.0	59.5 ± 11.5	58.6 ± 11.7	58.5 ± 9.8	55.9 ± 6.8	0.783	
White blood cells (/mm ³)	6011 ± 1965	4874 ± 1346	4982 ± 1210	5079 ± 1877	4414 ± 871	<0.001	
Neutrophils (/mm ³)	3214 ± 1511	2468 ± 971	2576 ± 950	2492 ± 1119	2521 ± 683	0.001	
Red blood cells (×10 ⁶ /mm ³)	454 ± 48	430 ± 42	432 ± 50	430 ± 43	408 ± 48	<0.001	
Hemoglobin (g/dl)	14.3 ± 1.6	13.5 ± 1.3	13.9 ± 1.4	13.9 ± 1.3	13.3 ± 1.2	0.001	
Platelets (×10 ⁴ /mm ³)	21.3 ± 5.4	18.3 ± 6.1	17.0 ± 5.2	15.8 ± 5.4	13.9 ± 4.7	<0.001	
AST (IU/l)	53 ± 59	57 ± 45	55 ± 38	83 ± 48	68 ± 29	0.029	
ALT (IU/l)	65 ± 59	73 ± 70	68 ± 62	105 ± 62	78 ± 43	0.008	
Serum HCV RNA (KIU/ml)*	1700	1100	900	1100	500	0.008	
Histology (METAVIR)‡:	Fibrosis, 0 - 2 / 3 - 4	102 / 0	25 / 3	29 / 2	21 / 9	7 / 1	<0.001
	Activity, 0 - 1 / 2 - 3	68 / 34	18 / 10	18 / 13	9 / 21	5 / 3	0.01
Peg-IFN dose (µg/kg/week)¶	1.48 ± 0.16	1.48 ± 0.14	1.45 ± 0.18	1.46 ± 0.15	1.28 ± 0.26	0.001	
Ribavirin dose (mg/kg/day)¶	11.5 ± 1.1	11.4 ± 1.2	11.5 ± 1.4	11.3 ± 1.6	11.0 ± 1.4	0.55	

*, Data shown are median values.

†, 201 Missing.

‡, 82 Missing.

¶, Initial doses.

during the whole treatment period was lower (1.1 ± 0.3 µg/kg/week) for patients over 70 y.o. than for those under 70 y.o. (1.3 ± 0.3 µg/kg/week) and that of ribavirin decreased with age (<55 y.o., 10.3 ± 1.9 mg/kg/day; 55–59 y.o., 9.8 ± 1.9 mg/kg/day; 60–64 y.o., 9.3 ± 2.3 mg/kg/day; 65–69 y.o., 9.2 ± 2.3 mg/kg/day; ≥70 y.o., 8.5 ± 2.5 mg/kg/day). The same tendency was observed with genotype 2.

Sustained virologic response

In genotype 1 patients, the overall SVR rate was 40% (305/759), being 46% (123/266) for group 1A, 44% (70/159) for group 1B, 42% (62/149) for group 1C, 26% (35/134) for group 1D, and 29% (15/51) for group 1E, following ITT analysis. The same tendency was observed using the PP analysis ($n = 647$). The SVR rates for patients over 65 y.o. were significantly lower than those for patients under 65 y.o. (ITT analysis: ≥65 y.o., 27% vs. <65 y.o.,

44%, $p < 0.0001$; PP analysis: ≥65 y.o., 31% vs. <65 y.o., 50%, $p < 0.0001$) (Fig. 1A). Among genotype 1 patients over 65 y.o., the SVR rate was significantly lower for female patients than for male patients (ITT analysis: male, 40% (31/77) vs. female, 18% (19/108), $p < 0.001$; PP analysis: male, 49% (27/55) vs. female, 20% (18/90), $p < 0.001$).

Moreover, for genotype 2 patients, the overall SVR rate was 78% (220/281), being 88% (128/145) for group 2A, 70% (30/43) for group 2B, 71% (27/38) for group 2C, 71% (29/41) for group 2D, and 43% (6/14) for group 2E, following ITT analysis. The same tendency was observed with the PP analysis ($n = 253$). The SVR rates for patients over 70 y.o. were significantly lower than those for patients under 70 y.o. (ITT analysis: ≥70 y.o., 43% vs. <70 y.o., 80%, $p < 0.0001$; PP analysis: ≥70 y.o., 56% vs. <70 y.o., 85%, $p < 0.05$) (Fig. 1B). Among patients over 70 y.o. with genotype 2, the difference according to gender was not clear because of the small sample.

Research Article

Table 2. Reasons for treatment discontinuation.

Factor	<55 y.o. (n = 363)	55 - 59 y.o. (n = 182)	60 - 64 y.o. (n = 169)	65 - 69 y.o. (n = 147)	≥70 y.o. (n = 58)	Total (n = 919)
Neutropenia	2	3	0	0	0	5
Thrombopenia	1	0	1	1	0	3
Anemia	0	4	3	2	9	18
Fatigue	1	1	3	3	1	9
Gastrointestinal disorder	2	1	0	0	1	4
Cough, Dyspnea	1	0	3	0	0	4
Vertigo	1	0	0	0	3	4
Psychosis (depression)	7 (3)	7 (3)	4 (4)	3 (3)	2 (2)	23
Rash	5	2	5	7	1	20
Thyroid dysfunction	2	0	2	0	0	4
Fundal hemorrhage	0	2	0	2	0	4
Drug-induced hepatitis	3	1	0	0	0	4
Interstitial pneumonia	0	1	0	1	1	3
Cerebral hemorrhage, infarction	2	0	0	1	0	3
Others	9	5	7	8	3	32
Total	36 (10%)	27 (15%)	28 (17%)	28 (19%)	21 (36%)	140 (15%)

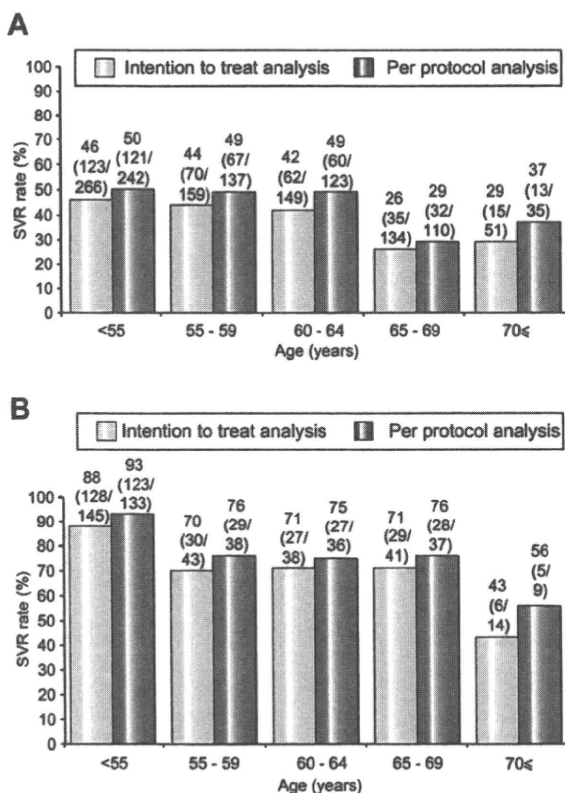


Fig. 1. SVR rate according to age. (A) Genotype 1. (B) Genotype 2.

Timing of HCV RNA negativation for genotype 1, according to age

Treatment responses distributing EVR, LVR, and NR according to age are shown in Fig. 2. The rates of NR were similar in patient groups under 65 y.o. (30–36%), but increased in almost half of

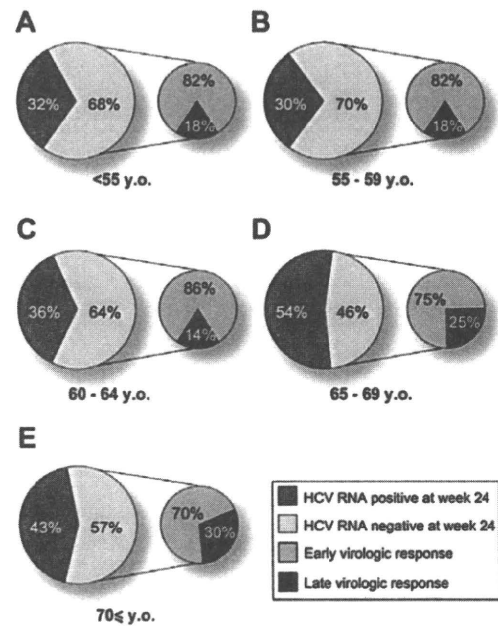


Fig. 2. Antiviral effect during treatment according to age. (A) <55 y.o. (B) 55-59 y.o. (C) 60-64 y.o. (D) 65-69 y.o. (E) ≥70 y.o.

the patients over 65 y.o. ($p < 0.0001$). Moreover, among the virologic responders, the proportion of LVR tended to increase in patients over 65 y.o. (25–30%) compared to patients under 65 y.o. (14–18%) ($p = 0.06$).

SVR rate according to the timing of HCV RNA negativation

SVR rates according to EVR or LVR in genotype 1, and RVR or non-RVR in genotype 2 are summarized in Table 3. Genotype 1 patients with EVR achieved high SVR rates regardless of age; in particular, if EVR had been attained, 76% of patients with 65–69

Table 3. SVR rate according to genotype and viral response in patients responding to PEG-IFN plus ribavirin combination therapy.

Factor	<55 y.o.	55 - 59 y.o.	60 - 64 y.o.	65 - 69 y.o.	≥70 y.o.
Genotype 1					
with EVR, % (n)	85 (114/134)	79 (62/79)	81 (55/68)	76 (29/38)	86 (12/14)
with LVR, % (n)	23 (7/30)	29 (5/17)	46 (5/11)	23 (3/13)	17 (1/6)
Genotype 2					
with RVR, % (n)	93 (57/61)	82 (14/17)	85 (17/20)	92 (11/12)	100 (4/4)
without RVR*, % (n)	96 (22/23)	60 (6/10)	57 (4/7)	50 (4/8)	0 (0/3)

RVR, rapid virologic response.

EVR, early virologic response.

LVR, late virologic response.

*, Serum HCV RNA was detectable at week 4, but undetectable at week 24.

Table 4. Multivariate analysis for the factors associated with SVR among all patients.

Factor	Category	Odds ratio	95% CI	p
Age (y.o.)	<65 / ≥65	0.485	0.295 - 0.799	0.005
Sex	male / female	0.524	0.353 - 0.777	0.001
Platelets (×10 ⁹ /mm ³)	<12 / ≥12	1.780	1.039 - 3.049	0.040
Serum HCV RNA (KIU/ml)	<2000 / ≥2000	0.599	0.401 - 0.896	0.010
Histology (METAVIR): Fibrosis	0 - 2 / 3 - 4	0.599	0.333 - 1.076	0.090

y.o. and 86% of patients over 70 y.o. achieved SVR, and these SVR rates compared favorably with those of younger patients. On the other hand, the SVR rates for patients with LVR ranged from 17% to 46%, which were lower than those for EVR patients in each age group, and no significant differences of SVR rates were found among LVR patients by age.

With genotype 2, patients with RVR achieved high SVR rates ranging from 82% to 100% regardless of age. Even for patients without RVR, 96% of those under 55 y.o. attained SVR, a rate that was significantly higher than that for patients over 55 y.o. (50%, 14/28) ($p < 0.001$).

Factors associated with SVR for genotype 1

The factors associated with SVR were assessed for the variables shown in Table 1. The factors selected as significant by the univariate analysis: age, gender, WBC, neutrophils, RBC, Hb, Plt, aspartate aminotransferase, serum HCV RNA level, the degree of liver fibrosis, and the initial dose of Peg-IFN, were evaluated by multivariate logistic regression analysis. The factor of age over 65 y.o. was the independent factor for SVR ($p = 0.005$), apart from the gender ($p = 0.001$), Plt value ($p < 0.05$), and serum HCV RNA level ($p = 0.01$) (Table 4).

Factors associated with EVR and SVR for patients over 65 y.o. with genotype 1

The results of univariate analysis for EVR among patients over 65 y.o. are shown in Table 5A. Gender, Plt value, and mean dose of Peg-IFN during the first 12 weeks were factors significantly associated with EVR. In multivariate analysis, the mean dose of Peg-IFN during the first 12 weeks was the independent factor for EVR ($p = 0.03$), apart from gender ($p = 0.002$) (Table 5B). The EVR rates were 41% (41/101) in patients who received ≥ 1.2 µg/kg/week on average during the first 12 weeks, and declined to 36% (8/22) in patients given 0.9–1.2 µg/kg/week of Peg-IFN, and

to 14% (3/22) in patients administered with < 0.9 µg/kg/week of Peg-IFN.

The baseline and on-treatment factors, which are correlated with the SVR among the patients over 65 y.o., were assessed by univariate and multivariate analyses. Univariate analysis showed that factors significantly associated with SVR were gender and virologic response (Table 6A), and they were also selected as significant independent factors in multivariate analysis ($p = 0.035$, $p < 0.001$) (Table 6B).

Negative prediction of SVR for patients over 65 y.o. with genotype 1

We tried positive and negative predictions of SVR for aged patients, focusing on the decrease of HCV RNA at treatment week 4 and 8. The SVR rate was 47% (29/62) for patients with more than a 1-log decrease in HCV RNA level at week 4, while no patients with less than a 1-log decrease at week 4 attained SVR (0/35) ($p < 0.0001$). Similarly, 55% (35/64) of patients with more than a 2-log decrease at week 8 attained SVR, whereas no patients with less than a 2-log decrease at week 8 attained SVR (0/38) ($p < 0.0001$).

Discussion

Peg-IFN plus ribavirin combination therapy can improve anti-viral efficacy and is presently recommended as first-line therapy [1–4]. However, with respect to aged patients with CH-C, there have been only a few small-scale cohort studies which reported poor anti-viral effect and poor tolerability in comparison with non-aged patients [5–9]. The problem in the treatment of aged patients with CH-C is most serious in Japan, because HCV carriers in Japan are 10–20 years older than those in the United States and European countries [22]. Therefore, in the present study, we examined the efficacy and prevalence of side effects with a focus on patient's age using a large-scale cohort.

Research Article

Table 5. Factors associated with EVR among patients over 65 y.o.

Univariate analysis				
Factor		EVR	Non-EVR	p value
Number		52	93	
Age (y.o.)		67.9 ± 2.3	67.8 ± 2.5	0.66
Sex: male / female		28 / 24	27 / 66	0.003
White blood cells (/mm ³)		5063 ± 1474	5001 ± 1422	0.76
Neutrophils (/mm ³)		2566 ± 1110	2551 ± 1071	0.87
Red blood cells (×10 ⁶ /mm ³)		426 ± 36	421 ± 38	0.64
Hemoglobin (g/dl)		13.7 ± 1.2	13.5 ± 1.2	0.21
Platelets (×10 ⁴ /mm ³)		16.5 ± 5.5	14.0 ± 4.6	0.009
AST (IU/L)		70 ± 51	70 ± 40	0.49
ALT (IU/L)		76 ± 58	70 ± 41	0.80
Serum HCV RNA (KIU/ml)*		1700	1900	0.62
Histology (METAVIR)†:	Fibrosis, 0 - 2 / 3 - 4	25 / 10	47 / 20	0.54
	Activity, 0 - 1 / 2 - 3	16 / 19	29 / 37	0.52
Peg-IFN dose (µg/kg/week)‡		1.35 ± 0.24	1.25 ± 0.31	0.03
Ribavirin dose (mg/kg/day)‡		10.0 ± 2.2	9.6 ± 2.3	0.40

Multivariate analysis				
Factor	Category	Odds ratio	95% CI	p value
Sex	male / female	0.309	0.149 - 0.644	0.002
Platelets (×10 ⁴ /mm ³)	<12 / ≥12	-	-	N.S
Peg-IFN dose (µg/kg/week)‡	<1.2 / ≥1.2	2.481	1.079 - 5.705	0.03

*, Data shown are median values.

†, 43 Missing.

‡, Mean doses during 0 to 12 weeks.

N.S., not statistically significant.

Table 6. Factors associated with SVR among patients over 65 y.o.

Univariate analysis				
Factor		SVR	Non-SVR	p value
Number		45	100	
Age (y.o.)		68.0 ± 2.4	67.7 ± 2.5	0.45
Sex: male / female		27 / 18	28 / 72	<0.001
White blood cells (/mm ³)		5006 ± 1516	5030 ± 1409	0.81
Neutrophils (/mm ³)		2575 ± 1130	2548 ± 1063	0.96
Red blood cells (×10 ⁶ /mm ³)		427 ± 40	421 ± 36	0.53
Hemoglobin (g/dl)		13.8 ± 1.3	13.5 ± 1.2	0.14
Platelets (×10 ⁴ /mm ³)		16.1 ± 5.6	14.3 ± 4.7	0.09
AST (IU/L)		71 ± 54	69 ± 40	0.47
ALT (IU/L)		76 ± 56	70 ± 43	0.77
Serum HCV RNA (KIU/ml)*		1700	2000	0.51
Histology (METAVIR)†:	Fibrosis, 0 - 2 / 3 - 4	21 / 8	51 / 22	1.00
	Activity, 0 - 1 / 2 - 3	14 / 15	31 / 41	0.66
Peg-IFN dose (µg/kg/week)‡		1.27 ± 0.28	1.23 ± 0.33	0.31
Ribavirin dose (mg/kg/day)‡		8.8 ± 2.1	9.1 ± 2.5	0.38
Virologic response: EVR / non-EVR		41 / 4	11 / 89	<0.001

Multivariate analysis				
Factor	Category	Odds ratio	95% CI	p value
Sex	male / female	0.283	0.088 - 0.914	0.035
Virologic response	EVR / non-EVR	0.012	0.004 - 0.043	<0.001

*, Data shown are median values.

†, 43 Missing.

‡, Mean doses during treatment.

With respect to the side effects and discontinuance rate of treatment in aged patients with CH-C, treated with Peg-IFN plus ribavirin combination therapy, Reddy et al. reported that there was no difference related to the incidence and reason for side effects between non-aged and aged patients [6]. Another paper reported that the incidence of side effects was more frequent in aged patients [5]. In our study, not only the continuance rate without reduction of both drug decreased with age, but also the discontinuance rate of treatment increased with age, with a third of the patients over 70 y.o. discontinuing the treatment. The discrepancy, existing between our results and those reported in the former study cited above, is due to the difference in the number of aged patients enrolled; Reddy's study analyzed a small cohort including only a few cases of patients over 65 y.o. and classified all those over 50 y.o. as aged patients.

Discontinuance of treatment due to progression of anemia was significantly higher in patients over 70 y.o., accounting for 43% (9/21) of the discontinuance in this group. Although the ratio of advanced fibrosis (score 3–4) increased with age, the high discontinuance rate due to anemia among patients over 70 y.o. was similar regardless of the progression of fibrosis (F0-2: <70 y.o., 1% (6/559) vs. \geq 70 y.o., 21% (6/28), $p < 0.0001$; F3-4: <70 y.o., 0% (0/83) vs. \geq 70 y.o., 22% (2/9), $p < 0.0001$). It is possible that poor hematopoietic function and renal function led to the progression of anemia in aged patients. For patients who develop severe anemia, using epoetin alpha or taribavirin, which are ribavirin prodrugs, has been shown to result in a lower incidence of anemia, although no significant increase of SVR has been reported so far, even with the addition of taribavirin to Peg-IFN [23–24].

With genotype 1 patients, the SVR rates were almost equal up to 65 y.o. (49–50%), but decreased to 31% (45/145) among the patients that were over 65 y.o., and even for those who completed the entire treatment schedule in this study. Since the degree of liver fibrosis and drug exposure have been shown to be associated with anti-viral efficacy, the progression of liver fibrosis or decrease of drug exposure with age could account for the reduction of SVR rate among the aged patients. However, the stratified analysis, according to the progression of liver fibrosis and drug exposure, revealed that older patients still yielded low a SVR rate (F0-2, Peg-IFN during the first 12 weeks \geq 1.2 μ g/kg/week: <65 y.o., 55% (143/261) vs. \geq 65 y.o., 33% (15/46), $p < 0.0001$; F0-2, Peg-IFN during the first 12 weeks < 1.2 μ g/kg/week: <65 y.o., 43% (26/60) vs. \geq 65 y.o., 23% (6/26), $p = 0.07$), which means that older patients would be difficult to treat. From our results showing a low SVR rate and a high discontinuance rate for patients over 65 y.o., the genotype 1 patients under 65 y.o. were those who benefited the most from Peg-IFN plus ribavirin combination therapy. The high prevalence of treatment failure (non-SVR) among the aged patients seems to be due to the high populations of NR and LVR (Fig. 2). A high population of LVR is considered to lead to a higher transient response rate among aged patients, since those over 65 y.o. with LVR showed a much higher relapse rate (79%, 15/19) than those with EVR (21%, 11/52) ($p < 0.0001$), as can be seen from Table 3.

In this study, multivariate analysis for SVR, in patients over 65 y.o., showed that the factors associated with SVR were EVR and gender. This indicates that better SVR can be expected even with older patients if EVR is attained and response-guided therapy guidelines can be useful for aged patients. A low SVR rate among aged female patients was as previously reported [7], although the

mechanism remains unclear. This finding suggests that female patients should be treated before 65 y.o.

The next question is how aged patients should be treated in order to attain EVR. We have examined the impact of drug exposure on treatment efficacy [25–26] and reported that Peg-IFN is dose-dependently correlated with EVR [25]. In this study, the dose-dependent efficacy of Peg-IFN for EVR was also revealed in aged patients over 65 y.o., with less than 0.9 μ g/kg/week of Peg-IFN leading to a low EVR rate for aged patients. If patients are difficult to treat with more than 1.2 μ g/kg/week of Peg-IFN, using as much Peg-IFN as possible is desirable, in order to attain higher EVR rates. Accordingly, a reduction of Peg-IFN to 80% may need to be considered, although the manufacturer's drug information recommends reducing the dose of Peg-IFN to 50% of the assigned one. Since reduction of Peg-IFN has been reported to not affect the SVR rate after HCV RNA disappearance [26], using G-CSF for aged patients who develop severe neutropenia can be beneficial, especially in the first 12 weeks.

We also examined the negative prediction of SVR, i.e. an HCV RNA decrease at an earlier point of treatment than the usual prediction at treatment week 12 of a 2-log decrease, among aged patients with CH-C treated by Peg-IFN plus ribavirin combination therapy. We found that none of the patients without a 1-log decrease at week 4 or a 2-log decrease at week 8 could attain SVR, even if the complete treatment duration was given, the negative predictive value (NPV) for SVR equaled 100%. This earlier prediction is applied just as well to aged patients as to non-aged patients in order to avoid additional adverse effects. Recently, a genetic polymorphism near the *IL28B* gene has been reported to be associated with non-response to Peg-IFN plus ribavirin combination therapy [27–29], which is beneficial to patients. Nevertheless, even in the presence of this genetic polymorphism, NPV for SVR remains at 57–87%; 100% accuracy is not guaranteed. Thus, in addition to the pretreatment prediction, an earlier negative prediction for SVR during treatment is also considered to be useful.

We have shown in this study that, in the presence of genotype 2, HCV was easily eliminated even among aged patients; the SVR rates were over 75% for patients who had completed the treatment, and these rates were similar up to 70 y.o. The SVR rate of genotype 2 patients over 70 y.o. was 43%, however, the age limitation of the treatment among patients over 70 y.o. remains unclear, because of the small number of patients enrolled in this study. We have reported that the reduction of treatment drugs had little effect on anti-viral efficacy for patients with genotype 2, meaning that SVR can be attained even with aged patients who are usually given lower drug doses than non-aged patients [30]. Patients under 70 y.o. with genotype 2 should, at least, benefit from this therapy. The SVR rate was maintained among genotype 2 patients being 65–69 y.o., compared to genotype 1 patients. The higher efficacy with shorter treatment duration in genotype 2 aged patients can account for it.

In conclusion, the strategy of a response-guided therapy and an earlier negative prediction for SVR may be beneficial for aged patients, especially those with genotype 1. At present, aged patients up to 65–70 y.o. with CH-C can be candidates for Peg-IFN plus ribavirin combination therapy, if its efficacy and adverse effects are fully taken into account. At the same time, there is an urgent need to establish new treatment procedures, such as combination therapy with protease inhibitor plus polymerase inhibitor without Peg-IFN or ribavirin, for non-responders or patients