

Table 3. Clinical Characteristics of 32 Patients Genotyped by GWAS and 5 SNPs in Strong Linkage Disequilibrium With IL28B,¹¹ Including rs12979860

Patient No.	Response	Age, y	Sex	F stage	ISGs	IL28B	RefSNP (chr pos) Minor allele	rs8105790 (44424341)	rs11881222 (44426763)	rs12979860 (44430627)	rs8099917 (44435005)	rs7248668 (44435661)
								C	G	T	G	A
1	SVR	42	M	1	4.20	83.8		TT	AA	CC	TT	GG
2	SVR	59	M	1	2.62	45.5		TT	AA	CC	TT	GG
3	SVR	41	F	1	1.54	1.3		TT	AA	CC	TT	GG
4	TR	57	M	1	3.18	21.7		TT	AA	CC	TT	GG
5	TR	68	F	1	1.43	20.3		TT	AA	CC	TT	GG
6	SVR	44	M	1	0.97	4.6		TT	AA	CC	TT	GG
7	SVR	61	M	2	2.15	6.1		TT	AA	CC	TT	GG
8	SVR	50	M	2	3.25	66.4		TT	AA	CC	TT	GG
9	SVR	49	M	2	1.25	ND		TT	AA	CC	TT	GG
10	TR	59	F	2	1.29	17.4		TT	AA	CC	TT	GG
11	SVR	48	F	2	1.00	90.2		TT	AA	CC	TT	GG
12	TR	65	F	2	2.86	36.4		TT	AA	CC	TT	GG
13	NR	34	M	3	0.82	17.8		TT	AA	CC	TT	GG
14	SVR	55	M	3	0.83	13.8		TT	AA	CC	TT	GG
15	TR	68	M	3	0.75	20.6		TT	AA	CC	TT	GG
16	SVR	64	M	3	0.94	15.7		TT	AA	CC	TT	GG
17	SVR	67	F	3	1.50	25.7		TT	AA	CC	TT	GG
18	SVR	48	M	4	1.69	7.9		TT	AA	CC	TT	GG
19	NR	66	F	1	4.57	16.5		TC	AG	CT	TG	GA
20	SVR	52	F	1	5.23	29.3		TC	AG	CT	TG	GA
21	NR	55	F	1	8.25	57.2		TC	AG	CT	TG	GA
22	SVR	49	F	1	5.36	ND		TC	AG	CT	TG	GA
23	TR	44	M	1	2.08	7.0		TC	AG	CT	TG	GA
24	NR	63	M	1	2.77	10.5		TC	AG	CT	TG	GA
25	NR	61	F	2	3.98	39.1		TC	AG	CT	TG	GA
26	NR	42	M	2	4.89	5.9		TC	AG	CT	TG	GA
27	SVR	49	M	3	3.31	6.9		TC	AG	CT	TG	GA
28	TR	71	F	3	5.53	27.3		TC	AG	CT	TG	GA
29	TR	63	M	3	3.40	33.5		TC	AG	CT	TG	GA
30	NR	70	F	3	4.78	8.1		TC	AG	CT	TG	GA
31	TR	62	F	3	3.53	14.0		TC	AG	CT	TG	GA
32	NR	56	M	4	7.37	30.8		CC	GG	TT	GG	AA

NOTE. The Pearson correlation of the r^2 estimates for adjacent pairs; rs8099917 vs rs8105790, rs8099917 vs rs11881222, rs8099917 vs rs12979860, and rs8099917 vs rs7248668 = 0.99, 0.99, 0.98, and 0.97, respectively. IL28B, interleukin 28B; GWAS, genome-wide association studies; ISGs, interferon stimulated genes; SNP, single nucleotide polymorphism; SVR, sustained viral response; TR, transient response; NR, no response; M, male; F, female.

To examine further the different hepatic gene expression of patients with the major or minor genotypes, pathway analysis of differentially expressed genes between the 2 groups was performed. By comparing the expression of hepatic genes between patients with the major and minor genotypes, 1359 differentially expressed genes were identified ($P < .01$; 711 genes were up-regulated with the minor genotype, and 648 genes were up-regulated with the major genotype). Pathway analysis of these genes demonstrated that signaling pathways related to interferon action, apoptosis, and Wnt signaling were up-regulated in the liver of patients with the minor genotype, whereas B-cell-, dendritic cell-, and natural killer cell-related genes were up-regulated in the liver of patients with the major genotype (Supplementary Figure 3). These results suggest that IL28B may be involved in innate and adaptive immune responses and that different antiviral signaling pathways might be involved in the liver of patients with different SNPs.

Discussion

Multiple viral and host factors may be related to the treatment response to Peg-IFN and RBV combination therapy. For the viral factors, a higher number of aa substitutions in the ISDR of nonstructural 5A region was strongly associated with a favorable response to IFN- α monotherapy in patients with genotype-1 HCV.⁴

Besides viral factors, host factors such as age, gender, fibrotic stage of the liver, and the presence of steatosis and insulin resistance were associated with the treatment outcome.²⁰ Analysis of hepatic gene expression demonstrated that the up-regulation of ISGs in the liver before treatment may be related to a poor treatment response.⁶⁻⁹ To reveal the underlying mechanism of treatment resistance, 2 reports compared gene expression profiling in the liver before and during therapy and showed that patients with up-regulated ISGs in the liver prior to treatment failed to further induce ISGs following the ad-

Table 4. Comparison of Clinical Factors Between Patients With Major (TT) and Minor (TG+GG) Alleles

Clinical category	TT		TG+GG		Univariate P value	Multivariate odds (95% CI)	Multivariate P value
No. of patients	n = 60		n = 31			—	
Treatment response							
SVR+TR vs NR	51 vs 9		11 vs 20		<.001	—	
Age and gender							
Age, y	56	(30–69)	56	(30–71)	.843	—	
Sex (M vs F)	39 vs 21		19 vs 12		.518	—	
Liver factors							
F stage (F1-2 vs F3-4)	36 vs 24		23 vs 17		.905	—	
A grade (A0-1 vs A2-3)	27 vs 33		20 vs 11		.075	—	
ISGs (Mx, IFI44, IFIT1) (<3.5 vs ≥3.5)	46 vs 14		5 vs 26		<.001	18.1 (3.95–113)	<.001
Laboratory parameters							
HCV-RNA (IU/mL)	2055	(160–5000)	1970	(126–5000)	.602	—	
BMI (kg/m ²)	24.5	(16.3–40.5)	22.9	(19.1–26.6)	.006	—	.077
AST (IU/L)	59	(22–258)	54	(21–283)	.227	—	
ALT (IU/L)	75	(24–376)	60	(18–236)	.077	—	
γ-GTP (IU/L)	61	(4–392)	53	(20–229)	.517	—	.167
WBC (/mm ³)	4450	(2100–11,100)	4600	(2500–8200)	.947	—	
Hb (g/dL)	14.2	(11.4–16.7)	14.5	(11.2–17.2)	.606	—	
PLT (×10 ⁴ /mm ³)	15.4	(7–39.4)	16.2	(9.2–27.7)	.832	—	
TG (mg/dL)	98	(58–248)	131	(30–303)	.053	—	.055
T-Chol (mg/dL)	172	(115–222)	168	(129–237)	.910	—	
LDL-Chol (mg/dL)	84	(42–123)	69	(51–107)	.052	—	.055
HDL-Chol (mg/dL)	44	(18–72)	45	(29–77)	.218	—	
FBS (mg/dL)	95	(59–291)	96	(66–206)	.849	—	
Insulin (μU/mL)	7.5	(0.7–23.2)	9.2	(2–23.2)	.195	—	
HOMA-IR	1.3	(0.3–11.7)	1.2	(0.4–9.6)	.339	—	
Viral factors							
ISDR mutations (≤1 vs ≥2)	38 vs 22		23 vs 7		.194	—	.083
Treatment factors							
Total dose administrated							
Peg-IFN (μg)	3960	(1500–7200)	3840	(1920–5760)	.377	—	
RBV (g)	203	(26–336)	201	(106–268)	.777	—	
Achieved administration rate							
Peg-IFN (%)							
≥80%	41		17		.207	—	
<80%	19		14				
RBV (%)							
≥80%	34		19		.671	—	
<80%	26		12				
Achievement of EVR	40/60 (62%)		9/31 (29%)		<.001	—	

BMI, body mass index; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; IFI44, interferon-induced protein 44; IFIT1, interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1; EVR, early virologic response; γ-GTP, γ-glutamyl transpeptidase; ISDR, interferon sensitivity determining region; Mx1, myxovirus (influenza virus) resistance 1 interferon-inducible protein p78 (mouse); WBC, leukocytes; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; Hb, hemoglobin; RBV, ribavirin; PLT, platelets; TG, triglycerides; TR, transient response; T-chol, total cholesterol; LDL-chol, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-chol, high-density lipoprotein cholesterol; FBS, fasting blood sugar; CI, confidence interval.

ministration of IFN and could not eliminate HCV.^{6,7} We performed a similar analysis and observed that these findings were more evident in liver lobular cells than in infiltrating lymphocytes in the portal area (submitted for publication). Thus, both viral and host factors might be closely related to the treatment response to Peg-IFN and RBV combination therapy. However, the clinical relevance and relationships of these factors have not been fully evaluated. In this study, we validated the clinical significance of the expression of hepatic ISGs on treatment outcome using a relatively large cohort of patients and com-

pared its significance with other viral and host factors. To compare the patients with SVR, TR, and NR, we assessed the overall plausibility of each group using Fisher C statistic,¹⁶ and patients with SVR and TR were grouped together for further analysis.

We examined hepatic gene expression in 91 of 168 patients using the Affymetrix genechip. Expression profiling using 37 representative ISGs (see Materials and Methods), which were selected from gene expression profiling comparing pretreatment and under treatment liver, differentiated 2 groups of

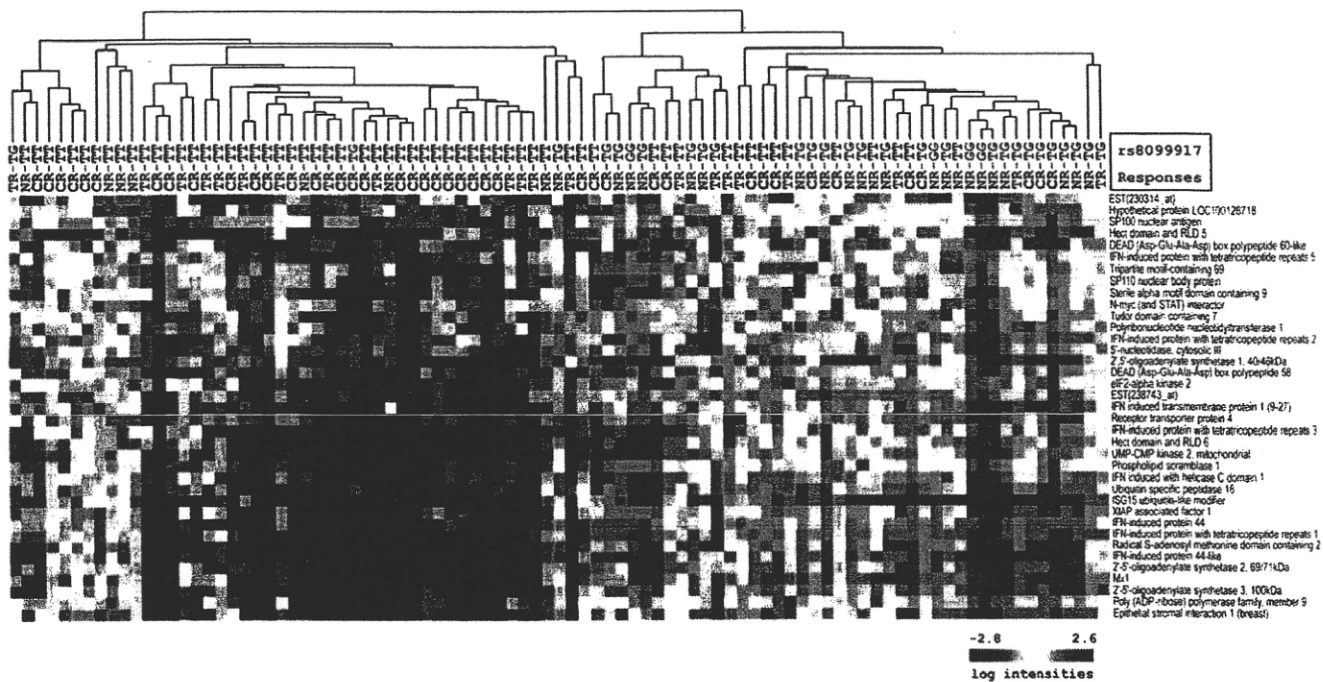


Figure 2. Hierarchical clustering analysis of 91 patients with the defined genotype of IL28B. Responses to therapy (SVR, TR, and NR) and IL28B genotype (TT, TG, or GG) are shown. The structure of the dendrogram and heat map is the same as in Figure 1.

patients: the Up-ISG and Down-ISG groups (Figure 1). The proportion of patients with NR to treatment was significantly higher in the Up-ISGs group.

Multivariate analysis showed that hepatic ISGs (<3.5), fibrosis stage (F1-F2), and ISDR mutations (≥ 2) significantly contributed to the outcome for the SVR+TR group (Table 1). Discriminate analysis using variables selected by multivariable analysis predicted the SVR+TR patients with 82% accuracy and NR patients with 79% accuracy. However, the accuracy decreased to 67% for SVR+TR patients and 53% for NR patients when the expression of hepatic ISGs was removed from the variables (data not shown). Interestingly, the expression of hepatic ISGs was strongly correlated with γ -GTP and weakly correlated with insulin resistance. A recent study describing the association between insulin resistance and poor treatment outcome might be partially explained by this observation.²⁰

In this study, we utilized 3 ISGs (Mx1, IFI44, and IFIT1) out of 15 validated by RTD-PCR. The expression values of these ISGs were higher than those of other ISGs (Supplementary Figure 1A). We averaged these ISGs and set the cut-off value as 3.5 from the ROC curve (Supplementary Figure 1B). The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values on the likelihood of achieving SVR+TR using this cut-off value were 82% (103/125), 72% (31/43), 90% (103/115), and 58% (31/53), respectively. The results were compared with those observed for the 15 ISGs (Supplementary Table 5). These results showed that the 3.5 cut-off value for Mx1, IFI44, and IFIT1 would be valuable for clinical use.

Despite the importance of the expression of hepatic ISGs, viral factors may also allow us to predict the outcome of treatment. Multivariate analysis showed that ISDR mutations

(≥ 2) independently contributed to the treatment outcome, although univariate analysis did not show significance ($P = .07$); therefore, ISDR might be uniquely and differentially involved in treatment resistance.

What causes the differences in the expression of hepatic ISGs? In parallel to the gene expression analysis, a GWAS was applied to identify genomic loci associated with treatment response, and a polymorphism in IL28B was found to predict hepatitis C treatment-induced viral clearance.^{10–12} To examine the relationship between the genetic variation of IL28B and hepatic gene expression, we determined the IL28B polymorphism in 91 patents (Table 3). The patients with the minor genotype (TG or GG) had an increased expression of hepatic ISGs compared with the patients with major genotype (TT) (Figures 2 and 3). In European-Americans, the proportion of major homozygotes is 39% (CC at rs1297986), 49% for heterozygotes (TC), and 12% for minor homozygotes (TT).¹¹ Although the proportion of minor homozygotes was much less in this study (GG, 4%), as reported in a previous study in Japan,¹² more patients are required for proper evaluation. It is interesting that the expression of hepatic ISGs in minor homozygotes (GG) was higher than in heterozygotes (TG) in this study.

The results clearly showed that the differences in the expression of hepatic ISGs before treatment are associated with the IL28B polymorphism and results in different treatment outcomes. Although we could not detect significant differences in the expression levels of IL28B depending on the different SNP, some patients with the major genotype showed a higher expression of IL28B. Because IL28B expression was approximately 10-fold less than the expression of ISGs, the lower

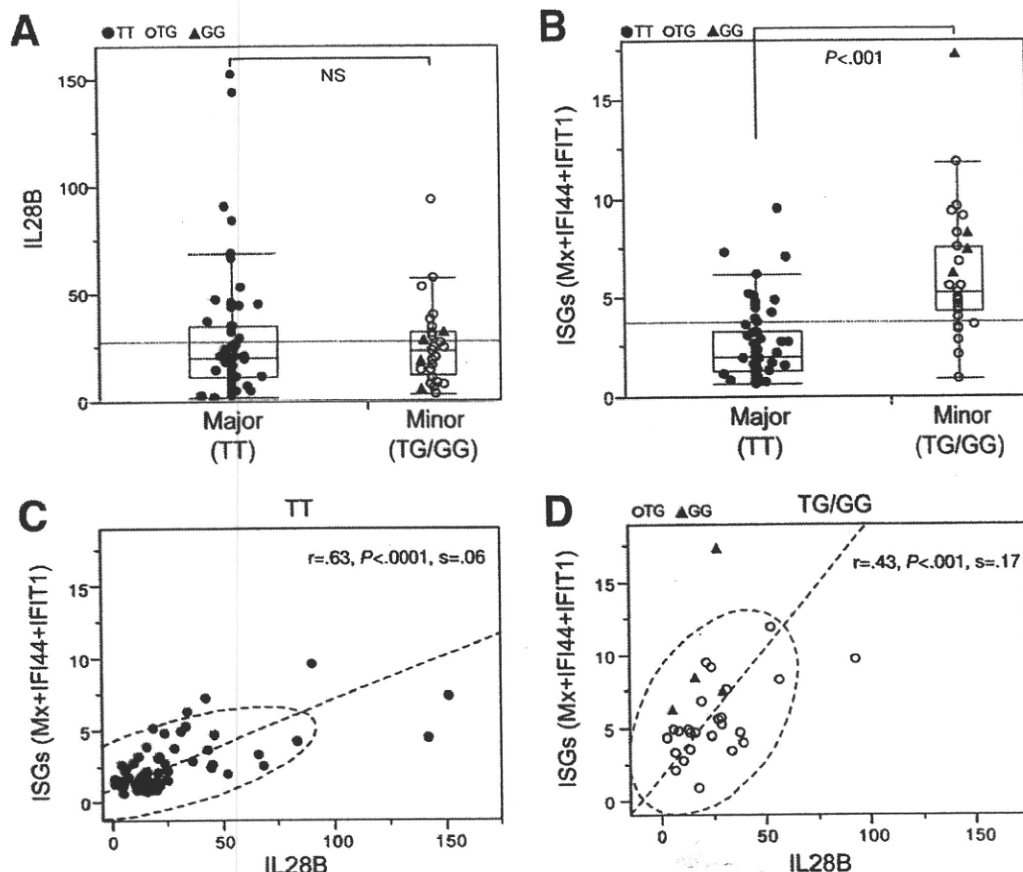


Figure 3. (A) IL28B expression in the liver of 91 patients with the major (TT) or minor (TG or GG) genotype (rs8099917). (B) Expression of ISGs in the liver of patients with the major (TT) or minor (TG or GG) genotype (rs8099917). (C) Relationship between IL28B and ISGs in the liver of patients with the major (TT) genotype (rs8099917). (D) Relationship between IL28B and ISGs in the liver of patients with the minor (TG or GG) genotype (rs8099917).

expression of IL28B may be a reason for the decreased ability to distinguish differences in its expression. Another possibility may be the specificity of the IL28B primers used in this study; because IL28B shares a 98.2% nucleotide sequence homology with IL28A, IL28B specific primers are not available.²¹ When the expression of IL28B and hepatic ISGs were compared, a significant correlation was observed, and, interestingly, IL28B and ISGs derived from different SNPs were correlated in a different way (Figure 3C and D). It appeared that hepatic ISGs were more induced by the reduced amounts of IL28B in patients with the minor genotype. The mechanism behind these findings has yet to be determined; however, IL28B interacts with a heterodimeric class II cytokine receptor that consists of IL-10 receptor β (IL-10R β) and IL-28 receptor α (IL-28R α).^{18,19} It is possible that IL28B could mediate antiviral signaling through IL-10 signaling as well as STAT1 activation. The Th 2 dominant signaling of IL28B may modulate signaling pathways in livers with CH-C and contributes to the different expression of ISGs. Another possibility may be that the cell origin of hepatic ISGs is different. A recent study revealed cell-type specific ISG expression in macrophages and hepatocytes, which could be related to the IFN response.²² As more of the B-cell-, dendritic cell-, and natural killer cell-related genes were up-regulated in the liver of patients with the major genotype, ISGs could be expressed by these cells, whereas they are expressed by hepatocytes in the liver of patients with the minor genotype. It is known that the

induction of ISGs in lymphocytes is lower than that in hepatocytes. The precise mechanism should be investigated further as a different regulatory mechanism for the expression of ISGs may be present.

In conclusion, we presented the clinical relevance of the expression of hepatic ISGs for the treatment outcome of Peg-IFN and RBV combination therapy. The different expressions of hepatic ISGs before treatment might be due to polymorphisms in IL28B. Further studies are required to clarify the detailed pathways of IL28B and hepatic gene expression through molecular biologic and immunologic aspects.

Supplementary Material

Note: To access the supplementary material accompanying this article, visit the online version of *Gastroenterology* at www.gastrojournal.org, and at doi: 10.1053/j.gastro.2010.04.049.

Appendix 1. The Hokuriku Liver Study Group (HLSG) is Composed of the Following Members:

Drs Takashi Kagaya, Kuniaki Arai, Kaheita Kakinoki, Kazunori Kawaguchi, Hajime Takatori, Hajime Sunakosaka (Department of Gastroenterology, Kanazawa University Graduate School of Medicine, Kanazawa); Drs Touru

Nakahama, Shinji Kamiyamamoto (Kurobe City Hospital, Kurobe, Toyama); Dr Yasuhiro Takemori (Toyama Rosai Hospital, Uozu, Toyama); Dr Hikaru Oguri (Koseiren Namerikawa Hospital, Namerikawa, Toyama); Drs Yatsugi Noda, Hidero Ogino (Toyama Prefectural Central Hospital, Toyama, Toyama); Drs Yoshinobu Hinoue, Keiji Minouchi (Toyama City Hospital, Toyama, Toyama); Dr Nobuyuki Hirai (Koseiren Takaoka Hospital, Takaoka, Toyama); Drs Tatsuho Sugimoto, Koji Adachi (Tonami General Hospital, Tonami, Toyama); Dr Yuichi Nakamura (Noto General Hospital, Nanao, Ishikawa); Drs Masashi Unoura, Ryuhei Nishino (Public Hakui Hospital, Hakui, Ishikawa); Drs Hideo Morimoto, Hajime Ohta (National Hospital Organization Kanazawa Medical Center, Kanazawa, Ishikawa); Dr Hirokazu Tsuji (Kanazawa Municipal Hospital, Kanazawa, Ishikawa); Drs Akira Iwata, Shuichi Terasaki (Kanazawa Red Cross Hospital, Kanazawa, Ishikawa); Drs Tokio Wakabayashi, Yukihiko Shiota (Saiseikai Kanazawa Hospital, Kanazawa, Ishikawa); Drs Takeshi Urabe, Hiroshi Kawai (Public Central Hospital of Matto Ishikawa, Hakusan, Ishikawa); Dr Yasutsugu Mizuno (Nomi Municipal Hospital, Nomi, Ishikawa); Dr Shoni Kameda (Komatsu Municipal Hospital, Komatsu, Ishikawa); Drs Hirotoshi Miyamori, Uichiro Fuchizaki (Keiju Medical Center, Nanao, Ishikawa); Dr Haruhiko Shyugo (Kanazawa Arimatsu Hospital, Kanazawa, Ishikawa); Dr Hideki Osaka (Yawata Medical Center, Komatsu, Ishikawa); Dr Eiki Matsushita (Kahoku Central Hospital, Tsubata, Ishikawa); Dr Yasuhiro Katou (Katou Hospital, Komatsu, Ishikawa); Drs Nobuyoshi Tanaka, Kazuo Notsumata (Fukuiken Saiseikai Hospital, Fukui, Fukui); Dr Mikio Kumagai (Kumagai Clinic, Tsuruga, Fukui); Dr Manabu Yoneshima (Municipal Tsuruga Hospital, Tsuruga, Fukui).

References

- 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* 1990;12:671-675.
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
- Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:75-85.
- Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, et al. Mutations in the non-structural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996;334:77-81.
- Okanoue T, Itoh Y, Hashimoto H, et al. Predictive values of amino acid sequences of the core and NS5A regions in antiviral therapy for hepatitis C: a Japanese multi-center study. *J Gastroenterol* 2009;44:952-963.
- Feld JJ, Nanda S, Huang Y, et al. Hepatic gene expression during treatment with peginterferon and ribavirin: identifying molecular pathways for treatment response. *Hepatology* 2007;46:1548-1563.
- Sarasín-Filipowicz M, Oakeley EJ, Duong FH, et al. Interferon signaling and treatment outcome in chronic hepatitis C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:7034-7039.
- Asselah T, Bieche I, Narguet S, et al. Liver gene expression signature to predict response to pegylated interferon plus ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2008;57:516-524.
- Chen L, Borozan I, Feld J, et al. Hepatic gene expression discriminates responders and nonresponders in treatment of chronic hepatitis C viral infection. *Gastroenterology* 2005;128:1437-1444.
- Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009;461:798-801.
- Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461:399-401.
- Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009;41:1105-1109.
- Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19:1513-1520.
- Honda M, Yamashita T, Ueda T, et al. Different signaling pathways in the livers of patients with chronic hepatitis B or chronic hepatitis C. *Hepatology* 2006;44:1122-1138.
- Honda M, Kaneko S, Kawai H, et al. Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology* 2001;120:955-966.
- Shipley B. A new inferential test for path models based on directed acyclic graphs. *Structural Equation Modeling* 2000;7:206-218.
- Favre M, Martin J, Festa-Bianchet M. Determinants and life-history consequences of social dominance in bighorn ewes. *Anim Behav* 2008;76:1373-1380.
- Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, et al. IL-28, IL-29, and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol* 2003;4:63-68.
- Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, et al. IFN- λ mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol* 2003;4:69-77.
- Camma C, Bruno S, Di Marco V, et al. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2006;43:64-71.
- Mihm S, Frese M, Meier V, et al. Interferon type I gene expression in chronic hepatitis C. *Lab Invest* 2004;84:1148-1159.
- Chen L, Borozan I, Sun J, et al. Cell-type specific gene expression signature in liver underlies response to interferon therapy in chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology* 2010;138:942-948.

Received October 9, 2009. Accepted April 14, 2010.

Reprint requests

Address requests for reprints to: Shuchi Kaneko, MD, PhD, Department of Gastroenterology, Graduate School of Medicine, Kanazawa University, Takara-Machi 13-1, Kanazawa 920-8641, Japan. e-mail: skaneko@m-kanazawa.jp; fax: (81) 76-234-4250.

Acknowledgments

The authors thank Nami Nishiyama and Yuki Hatayama for excellent technical assistance.

Participating investigators are listed in Appendix 1.

Conflicts of interest

The authors disclose no conflicts.

Funding

This work was supported in part by a grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

C型肝炎におけるVRADの有用性

Efficacy of VRAD (virus removal and eradication by DFPP) for chronic hepatitis C



酒井明人(写真) 金子周一

Akito SAKAI and Syuichi KANEKO

金沢大学附属病院消化器内科

©2008 年 4 月より二重濾過血漿交換療法(DFPP)が C 型慢性肝炎に保険収載となった。インターフェロン(IFN)療法と組み合わせ、C 型肝炎ウイルス(HCV)粒子をサイズバリアにて効率よく除去し、早期のウイルス量低下を得ることが可能になった。開発試験においては、とくに IFN 療法再燃・無効例に効果が高い。現在問題となっている PEG-IFN- α /Ribavirin 療法の再燃例のみならず、無効例に対しての再治療時に併用することにより、早期のウイルス量低下が得られており、考慮すべき IFN 療法の工夫のひとつである。



C型肝炎, DFPP療法, IFN療法, 早期ウイルス低下, IFN再治療

近年、肝臓死亡は年 30,000 人を超え、また肝疾患死亡も 15,000 人近くあり、毎年約 50,000 人近くが慢性肝疾患を背景として死亡している。このうち C 型肝炎ウイルスが原因と考えられるものが約 70%, 30,000~35,000 人ほどと推定される。C 型慢性肝炎の原因治療としてインターフェロン(IFN)療法が開始されて 20 年近くになり、現在では高額の治療費への補助制度も行われている。ここ数年の治療の進歩はめざましく、PEG(IFN)- α /リバビリン(Ribavirin)併用療法により、難治例の 1 型高ウイルス量症例でも多くの著効例が得られるようになったが、それでも約半数がウイルス学的著効に至らない。

二重濾過血漿交換療法(double filtration plasmapheresis: DFPP)は従来より、おもに疾患関連の免疫グロブリンをはじめとする蛋白を除去することによりその疾患を治療する手段として用いられてきた。2008 年 4 月より DFPP は C 型慢性肝炎に対しても保険適応となった(表 1)。C 型慢性肝炎に対する IFN 療法効果の向上をめざすなかで、薬剤併用といった発想とは違った方向で IFN 療法

表 1 二重濾過血漿交換療法(DFPP)の C 型肝炎に対する保険適応

セログループ 1 前 IFN 治療再燃または無効 高ウイルス量(5.0 LogIU/ml 以上) 5 回を限度
--

の効果を上げることが期待される VRAD (virus removal and eradication by DFPP) を本稿では解説する。

ウイルス除去療法の発想の経緯

IFN 療法のウイルス学的著効(sustained virus response: SVR)率が 1 型高ウイルス量症例では低く、従来の IFN 単独療法では約 10%にすぎなかった。高ウイルス量状態が自然経過ではほとんど変化せず¹⁾、この高ウイルス状態を何らかの方法で是正できないかと考えた。また、C 型慢性肝炎患者血清中の C 型肝炎ウイルス(HCV)粒子は、その浮遊密度により低比重分画(Top)および IgG と免疫複合体を形成する高比重分画(Bottom)の 2 つの分画が存在していると考えられ、感染価や病

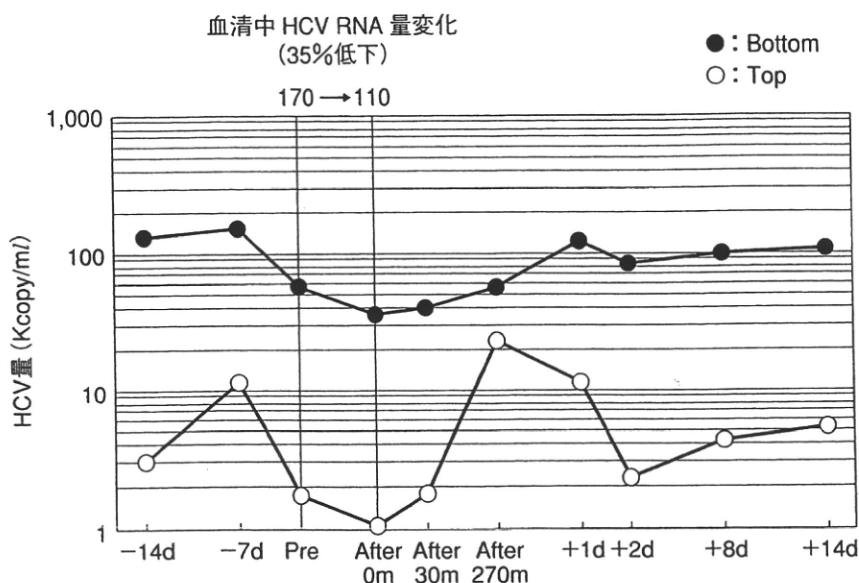


図 1 免疫吸着療法によるHCV感染チンパンジーのHCV RNA量変化

態との関連が報告されてきた^{2,3)}。

著者らはこの浮遊密度で分けられる分画と IFN 療法の効果に着目し、同じウイルス量であっても Bottom が多い症例では、Top が多い症例に比べ IFN 療法の有効性が低いことを報告した⁴⁾。この結果から著者らは、Bottom の HCV 粒子を減らすことで IFN 療法の効きやすい状態にできないかと考えた。基礎的検討を経て、HCV 感染モデルであるチンパンジーに体外循環併用免疫吸着療法を行った⁵⁾。

免疫吸着療法を行う前後で、血清中の HCV RNA は 170 Kcopy/ml から 110 Kcopy/ml と 35% の減少がみられたが、その 270 分後には前値に回復し、翌日にはさらに上昇していた。ウイルス量の推移を Top, Bottom について検討すると、免疫吸着後まず Top の HCV RNA 量が 270 分後に急速に増え、Top : Bottom 比は前値より 10 倍上昇していた。Bottom の HCV RNA 量は翌日をピークに増加し、その後定常状態になっていた(図 1)。このように免疫吸着による選択的 HCV 粒子除去によって HCV RNA 量の減少および HCV 粒子の比重分画比を変化させることが可能であったが、臨床的にはさらに効率のよい HCV 粒子の除去が必要であると考えられた。

腎不全合併 C 型慢性肝炎症例では透析療法前後で HCV RNA 量が減少するという報告が以前からあった⁶⁾が、使用する透析膜の種類に依存する可

能性もあり、効率もよくはなかった⁷⁾。クリオグロブリン血症合併 C 型慢性肝炎 2 症例に血漿交換を行った報告では、血漿交換前後で最大 93.3% の HCV RNA の低下が得られている⁸⁾。理論的には全血漿交換が一番 HCV 粒子除去の効率が良いと考えられるが、臨床的に行うには問題がある。そこで特定の大きさの物質を除去することが可能で、基本的に血液製剤を必要としない DFPP 療法に着目した。HCV 粒子はおよそ直径 55~65 nm とされているので⁹⁾、この大きさの物質を選択的に除去することができれば HCV 粒子を効率よく除去することが可能と考えられる。すでに DFPP 療法に使用されている旭化成メディカル製のカスケードフロー EC-50W は最大膜孔が 30 nm であり、理論的には HCV 粒子が通過できないと考えられ、さらに安全性が確立されている。

DFPP併用IFN- α +Ribavirin併用療法の初期検討

9 例の genotype 1b, 高ウイルス症例に DFPP 併用 IFN- α 2b/Ribavirin 併用療法(24 週)を行った¹⁰⁾。DFPP 療法は大腿静脈にダブルルーメンカテーテルを挿入し、血球成分と血漿の分離をプラズマフロー OP(旭化成メディカル製)で行い、分離された血漿をカスケードフロー EC-50W にて処理し、処理後血漿を血球成分とともに返血した(図 2)。1 本目の IFN は、DFPP 終了 1 時間以内、

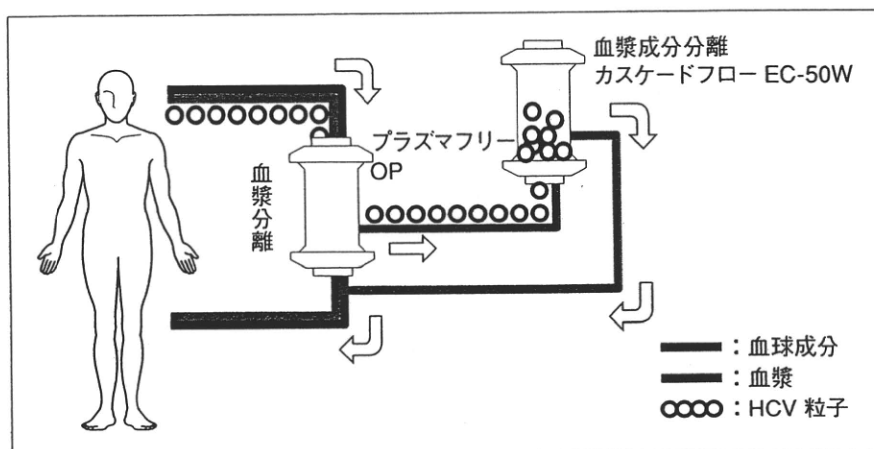


図 2 DFPPフロー図

Ribavirin は DFPP 終了後ただちに投与した。DFPP は 1 日 1 回計 5 日間を目標にしたが、フィブリノゲン値が 100 mg/dl 以下となったときには安全性を考え DFPP 療法は行わなかった。IFN- α 2b は 2 週間連日投与後、週 3 回 22 週間投与を行った。まず、実際にカスケードフロー EC-50W で HCV 粒子が効率よく取れているかをみると、EC-50W 流出口では HCV RNA 量が全例感度以下であり、HCV 粒子は非常に効率よく血漿から除去できることが確認された。治療開始 2 週間後の HCV RNA 低下量は 2.45 ± 1.12 LogIU/ml、2 週間後に 2Log 以上の低下達成率は 9 例中 6 例 (66.7%) であり、同時期に当科で通常の IFN- α 2b/Ribavirin 併用療法を行った 11 例の低下量 1.57 ± 0.95 LogIU/ml ($p=0.073$)、2Log 以上の低下達成率 4 例 (36.4%; $p=0.178$) と比べると、より初期の HCV RNA 量低下が得られる傾向にあった。SVR は DFPP 併用で 2 例 (全症例中 22.2%, 治療完遂例中 33.3%), コントロールで 2 例 (全症例中 18.2%, 治療完遂例中 20.0%) であった。体外循環、DFPP 療法中の重篤な有害事象は認めなかった。

DFPP療法全国試験の成績

DFPP 療法+IFN- α 2b/Ribavirin 併用療法にてより早期の HCV RNA 量の低下が得られることが確認され、現在の主流である PEG-IFN- α 2b/Ribavirin 併用療法に DFPP 療法を加えて、その SVR を含めた治療効果を全国 15 施設で検討した¹¹⁾。ここでは、1 型高ウイルス量 C 型慢性肝炎に DFPP 療法+PEG-IFN- α 2b/Ribavirin 併用療

法を行った群 ($n=30$: DFPP 群) と、通常の PEG-IFN- α 2b/Ribavirin 併用療法を行った群 ($n=74$: コントロール群) の成績を示す。

DFPP 群は 5 回を上限として前述のように行った。2 週間後の HCV RNA 減少量は、DFPP 群では 1.48 Log, コントロール群 1.35 Log, 4 週間後ではそれぞれ 2.43 Log, 2.09 Log であり、DFPP 群がコントロール群より低下しているが、有意差はなかった。背景として、治療歴別にみると再治療例では 2 週間後の減少量は DFPP 群で 1.58 Log, コントロール群 1.17 Log, 4 週間後ではそれぞれ 2.47 Log, 1.52 Log であり、4 週間後の減少量は DFPP 群がコントロール群より有意に低下していた ($p=0.010$)。またそのうち前治療で無効 (前回 IFN 治療期間中に HCV RNA 陰性化得られず) 例でも、統計的差はないものの 2 週間後 DFPP 群で 1.20 Log, コントロール群 0.77 Log, 4 週間後でそれぞれ 2.13 Log, 1.46 Log と、DFPP 群で高いウイルス量低下が得られていた。治療完遂例の SVR 率は DFPP 群 24 例中 17 例 (70.8%), コントロール群 58 例中 29 例 (50.0%) と有意差はないものの ($p=0.094$)、DFPP 群で高い SVR 率が得られた。とくに再治療症例でみると、再燃例では DFPP 群 11 例中 9 例 (81.8%), コントロール群 15 例中 9 例 (60.0%), 無効例でも DFPP 群 7 例中 5 例 (71.4%), コントロール群 7 例中 2 例 (28.6%) とコントロール群より DFPP 群が前回治療時の反応を問わず高い SVR 率が得られた。

表 2 前治療 PEG-IFN- α /Ribavirin 療法例におけるDFPP併用再治療の効果

		前治療無効	前治療再燃
4 週間 後	平均 HCV RNA 減少量 (LogIU/ml)	-1.77 (n=24)	-3.14 (n=23)
12 週間 後	平均 HCV RNA 減少量 (LogIU/ml) 1.2 Log 未満(+)以下 “検出せず”	-2.78 (n=24) 5/23(21.7%) 1/23(4.3%)	-4.76 (n=24) 12/16(75.0%) 7/16(43.8%)

DFPP療法の市販後調査成績

保険収載後、約 1,000 症例に DFPP 併用 IFN 療法が試行され、市販後調査では 200 例以上の情報が集積されている。DFPP 併用 PEG-IFN- α /Ribavirin 療法の行われた 186 例の検討において、副作用では気分不良 5.1%、血圧低下 4.7%、嘔吐 3.8%、嘔気 3.4%が認められ、重篤なものはなく、IFN 療法自体の中止例はいなかった。

有効性についてみると、治療開始 4 週間後の HCV RNA 減少量は未治療例(n=56)3.38 Log、前治療無効例(n=46)2.37 Log、再燃例(n=31)3.08 Log と、治療歴にかかわらず 4 週間で 2 Log 以上の低下が得られていた。

現在問題となっている前治療 PEG-IFN- α /Ribavirin 併用療法を行った症例への再治療効果をみると、再燃例では DFPP 併用にて 4 週間後(n=23)3.14 Log の低下が得られたが、無効例では(n=24)2 Log 低下は得られていない(表 2)。12 週間後では再燃例(n=24)で 75%が Taqman 1.2 Log 未満、43.8%で“検出せず”を達成しており、PEG-IFN- α /Ribavirin 併用療法再燃例においても良好な早期ウイルス陰性化が得られている。前治療無効例(n=16)に対しては 21.7%で Taqman 1.2 Log 未満、“検出せず”達成は 4.3%であった。PEG-IFN- α /Ribavirin 併用療法で HCV RNA 陰性化が得られなかった症例は非常に難治例であるが、再治療として DFPP 療法を併用することにより、約 20%に 12 週で HCV RNA 陰性化が得られた。新規治療薬がまだ承認前である現段階において、DFPP 併用による再治療は PEG-IFN- α /Ribavirin 併用療法無効例に対しても考慮すべき工夫と考えられる。

おわりに

C 型慢性肝炎に対する保険認可されたあらたな治療として DFPP 療法を解説した。とくに再治療例に早期のウイルス量の低下、優れた SVR が示されているがいまだ症例数が少なく、また IFN が効きやすくなる原理も明らかにされていない点が多い。肝移植症例の HCV 再感染を防ぐ可能性、移植後 fibrosing cholestatic hepatitis に対する劇的な効果の興味深い報告¹²⁾もあり、DFPP 併用 IFN 療法の効果が期待される。

文献

- 1) Arase, Y. et al. : Fluctuation patterns of HCV-RNA serum level in patients with chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol.*, **35** : 221-225, 2000.
- 2) Thomssen, R. et al. : Density heterogeneities of hepatitis C virus in human sera due to the binding of beta-lipoproteins and immunoglobulins. *Med. Microbiol. Immunol.*, **182** : 329-334, 1993.
- 3) Hijikata, M. et al. : Equilibrium centrifugation studies of hepatitis C virus : evidence for circulating immune complexes. *J. Virol.*, **67** : 1953-1958, 1993.
- 4) Sakai, A. et al. : Floating density of hepatitis C virus particles and response to interferon therapy. *J. Med. Virol.*, **55** : 12-17, 1998.
- 5) 酒井明人・他 : HCV 感染チンパンジーでの HCV 免疫吸着療法。日本臨牀, **59** : 1374-1378, 2001.
- 6) Okuda, K. et al. : Destruction of hepatitis C virus particles by haemodialysis. *Lancet*, **347** : 909-910, 1996.
- 7) Mizuno, M. et al. : Dialysis-membrane-dependent reduction and adsorption of circulating hepatitis C virus during hemodialysis. *Nephron*, **91** : 235-242, 2002.
- 8) Manzin, A. et al. : Dynamics of hepatitis C viremia after plasma exchange. *J. Hepatol.*, **31** : 389-393, 1999.
- 9) Kaito, M. et al. : Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. *J. Gen. Virol.*, **75** : 1755-1760, 1994.
- 10) Yamashita, T. et al. : Virological effects and safety of combined double filtration plasmapheresis (DFPP) and interferon therapy in patients with

- chronic hepatitis C : A preliminary study. *Hepatol. Res.*, **36** : 167-175, 2006.
- 11) Fujiwara, K. et al. : Double filtration plasmapheresis and interferon combination therapy for chronic hepatitis C patients with genotype 1 and high viral load. *Hepatol. Res.*, **37** : 701-710, 2007.

- 12) Taniguchi, M. et al. : Impact of double-filtration plasmapheresis in combination with interferon and ribavirin in living donor liver Transplant. recipients with hepatitis C. *Transplantation*, **81** : 1747-1749, 2006.

* * *

《よく見かける感染症 ― 診断・治療の最新事情》
ウイルス肝炎の現状と撲滅への取り組み

酒井明人 金子周一

特集 日常診療で診る感染症 ― この疾患を見落とすな

臨床雑誌「内科」第106巻 第5号〔2010年11月号〕別刷

南 江 堂

《よく見かける感染症——診断・治療の最新事情》 ウイルス肝炎の現状と撲滅への取り組み

酒井明人 金子周一*

要 旨

- B 型急性肝炎は、慢性化する可能性のある Genotype A が本邦で広がっている。
- 肝炎ウイルス検査を行ったときは、検査を行ったことと、その結果を確実に伝えてほしい。
- B 型、C 型肝炎ウイルスキャリアはともに肝癌ハイリスクグループであることを伝え、自覚症状がなくとも定期的に通院するよう経過観察の重要性を説く。
- 治療はガイドラインが示されているが、肝進展度の判断・治療必要性など専門医と連携をとることが重要であり、国の診療連携のガイドラインにも示されている。

はじめに●

B 型肝炎ウイルス・C 型肝炎ウイルス感染症は、感染初期の急性肝炎から長い年月を経ての肝硬変・肝癌まで感染者の一生にかかわる問題である。近年ウイルス性肝疾患の診断、治療に関する進歩は目覚ましく、慢性肝炎、肝硬変、そして肝癌に関してのガイドラインも整備されつつある。しかしながら多くのウイルス性慢性肝炎患者は自覚症状に乏しく、検査を受けなければ自分がウイルスキャリアであることがわからない。肝炎にかかわる社会情勢が厳しくなり、国はウイルスキャリアの発掘、医療助成、診療体制の整備、肝炎に関する研究費など多方面にわたるサポートを行っており、2009 年 11 月には肝炎対策基本法が制定

され、肝炎撲滅を目指した新たな局面に入っている。

急性ウイルス(B 型、C 型)性肝炎の現状●

献血事業における核酸増幅検査(NAT)の導入により、輸血後ウイルス性肝炎は激減している。ウインドピリオドの関係で輸血後 B 型肝炎が年間数例報告されているが、C 型肝炎は皆無に等しい。モデル地区を対象とした研究では、輸血をされた 1,755 例中、輸血による感染と判定されたのは B 型肝炎 1 例だけであった¹⁾。よって現在の B、C 型急性肝炎の大部分の感染ルートは、不潔な注射の回し打ちと性行為であると推測される。近年問題となっているのは、主に 30 代以下の世代を中心として Genotype A の B 型肝炎感染が広がっていることである。これはわが国にほとんどみられ

* A. Sakai(准教授), S. Kaneko(教授): 金沢大学附属病院消化器内科。

Table 1. HBV DNA 陽性献血者の Genotype 別陽性例数 (1999～2006 年)

年齢	Genotype							
	A		B		C		その他	
	男	女	男	女	男	女	男	女
10代	3		1	5	18	41	1	
20代	65	1	16	18	109	100	1	4
30代	38	2	14	4	72	35	3	
40代	9		12	3	31	11	1	1
50代	4		15	5	28	10	2	
60代			7	3	20	4		
計	119	3	65	38	278	201	8	5
	122		103		479		13	

[文献2)表4より引用, 改変]

なかったヨーロッパタイプといわれ、成人での感染にもかかわらず慢性化する可能性がある。Table 1 に 1999～2006 年における HBV DNA 陽性献血者の年代、Genotype 別の頻度を示す。20～30 代の 481 例中、106 例 (22.0%) が Genotype A に感染しており、ほとんどが男性である²⁾。学会などの報告でもこれらの群は男性同性愛者が多数を占め、HIV 同時感染の率も高いとされている。

B 型、C 型急性肝炎は、発症前に HBs 抗原、HCV 抗体が陰性であることが確認されていれば診断は容易だが、実際は患者本人も検査されたことがあるかも覚えていないことが多い。班会議報告では、B 型の急性感染の場合は IgM-HBc 抗体が全例陽性であったが、キャリアからの急性増悪例でも 51% で陽性であった³⁾。キャリアからの発症例では、IgM-HBc 抗体価が低値であるが完全な鑑別は困難であり、急性感染例に比べるとキャリアからの発症は重症化することが多い。急性感染と思われてもキャリア例の可能性を否定できない症例には、抗ウイルス療法のタイミングを逃してはならない。ただし事前の問診が大切で、前述の Genotype A が疑われる状況であれば、同意のうえ HIV 検査も行わなければならない。インターフェロンであれば問題ないが、entecavir など核酸アナログ製剤には抗 HIV 作用があり、HIV の耐性

石川県 K 町調査
K 町における肝炎ウイルス検診対象者
(平成 14～19 年)
906 人中 744 人受診 (82.1%)

肝炎検査を受けたことがあるか？

平成 20 年度アンケート調査
20 歳以上全住民 4,543 人中
2,552 人回答 (56.2%)

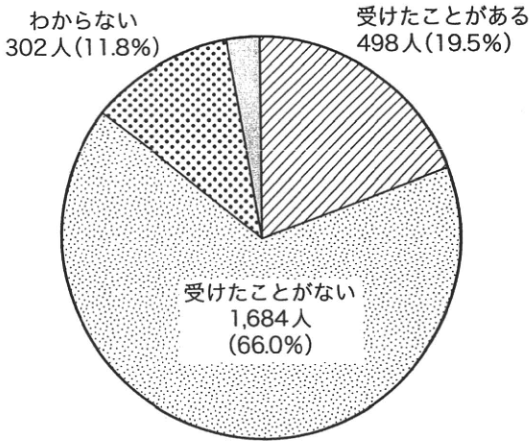


Fig. 1. 石川県 K 町における全住民に対するアンケート調査

を誘導する恐れがある。C 型急性肝炎の場合は発症前陰性が確認されるか、HCV 抗体陰性 HCV RNA 陽性であるか、HCV 抗体価が低く経過中に上昇を認めれば診断できる。発症後 4 ヶ月以降は自然治癒する症例はみられず慢性化に移行すると考えられるので⁴⁾、インターフェロン療法を開始すべきである。

肝炎ウイルス検査の結果を伝えること●

本邦での悪性新生物死亡数の男性第 4 位、女性第 5 位である肝臓を撲滅するには、潜在肝炎ウイルスキャリアの発見、キャリアの医療機関への受診、そして適切な医療 (治療) を行うという 3 つのステップが必要である。肝障害の鑑別、入院時検査、あるいは検診として肝炎ウイルス検査を行うことが多いと考えられるが、陰性であっても患者には「肝炎ウイルス検査」をして「陰性」であったことを伝えてほしい。Fig. 1 に石川県 K 町において全住民対象のアンケート調査を行ったが、同町は肝炎検診受診率が高かったにもかかわらず、肝炎

Table 2. 慢性 B 型肝炎の治療ガイドライン (2010 年度) (35 歳未満)

HBV-DNA	≥ 7 log copies/ml	< 7 log copies/ml
e 抗原陽性	① IFN 長期投与 (24~48 週) ② entecavir*	① IFN 長期投与 (24~48 週) ② entecavir
e 抗原陰性 Plt15 万/ μ l 未満または F2 以上の進行例は ETV	① sequential 療法 (ETV+IFN 連続) ② entecavir	① 経過観察または ETV ② IFN 長期投与 (24 週)

治療対象は ALT 31 IU/l 以上で：

e 抗原陽性は HBV DNA 5 log 以上

e 抗原陰性は 4 log 以上

肝硬変は 3 log 以上

*ETV を使用し e 抗原が陰性化し HBV DNA が陰性化したものは sequential 療法に切り替えて drug free を目指す。

検査を受けたことがあるか？」の問いに、受けたことがあると答えたのは 20% 未満であった。患者は検査を受けても、検診の一検査として陰性であれば忘れてしまうか、あるいは結果自体をインフォームされていないと考えられる。前述の急性肝炎の鑑別で述べたように、「陰性」結果は重要な情報である。

B 型肝炎ウイルスキャリアへの対応●

B 型肝炎ウイルスキャリアは青年期までは ALT が完全に正常な e 抗原陽性無症候性キャリアの状態であり、肝炎発症までは経過観察のみでよい。事前に画像診断で慢性化の徴候がないかチェックしておく必要がある。生化学的所見、ICG 15 分値までがまったく正常な肝硬変もときに存在する⁵⁾。性のパートナーには HBs 抗原抗体を調べ、両者陰性であればワクチン接種を勧める。日常でみる多くの症例は e 抗体陽性無症候性キャリアであると考えられるが、1 回の診察では真に e 抗体陽性無症候性キャリアであるか、reactivation があるか判断することはできないので、ALT 値、e 抗原、e 抗体、HBV DNA 量を測定し、e 抗体陽性無症候性キャリアと思われるものはじめの 1 年は数回これらの項目をチェックしていく必要がある。決して「問題ない」や「治っている」といってはよくなく、肝癌のハイリスクグループであることを伝え、経過観察の重要性を説かねばならない。

Table 3. 慢性 B 型肝炎の治療ガイドライン (2010 年度) (35 歳以上)

HBV-DNA	≥ 7 log copies/ml	< 7 log copies/ml
e 抗原陽性	① entecavir ② sequential 療法 (ETV+IFN 連続)	① entecavir ② IFN 長期投与 (24~48 週)
e 抗原陰性	entecavir	① entecavir ② IFN 長期投与 (24~48 週)

治療対象は ALT 31 IU/l 以上で：

e 抗原陽性は HBV DNA 5 log 以上

e 抗原陰性は 4 log 以上

肝硬変は 3 log 以上

sequential 療法とは核酸アナログ投与により HBV DNA が感度以下になった症例に対し IFN を 4 週間併用し、その後 IFN 単独で 20 週間投与し薬剤を中止する。

肝炎が持続し、e 抗体陽性に転じず、ウイルス量の確かな低下が得られない症例は、C 型慢性肝炎よりも早期に肝病態が進行するために注意が必要である。年齢、ウイルス量、肝病態進展度に応じてインターフェロンや、抗ウイルス薬療法を決めていく必要があり、必要に応じ専門医の助言を仰ぐのが望ましい。治療に関しては厚生労働省班会議より毎年改定されたガイドラインが示されており (Table 2, 3)、本年度より医療費補助があることも患者に伝え、治療の必要性和、とくに核酸アナログ製剤を使用する場合は決して自己中断しないことを守らせないといけない。

Table 4. C 型慢性肝炎の治療ガイドライン(2010 年度)

初回投与	Genotype 1	Genotype 2
高ウイルス量 5.0 log 以上	Peg-IFN α 2a/b ribavirin(48~72 週間) IFN β +ribavirin(48~72 週間)	Peg-IFN α 2b ribavirin(24 週間) IFN β +ribavirin(24 週間)
低ウイルス量 5.0 log 未満	IFN 単独(24 週間) Peg-IFN α 2a(24~48 週間)	IFN(8~24 週間) Peg-IFN α 2a(24~48 週間)

C 型肝炎ウイルスキャリアへの対応●

B 型肝炎同様、自覚症状がなく、たとえ ALT 値が低くとも「問題ない」といってはいけない。肝癌のハイリスクグループであることは B 型肝炎以上である。ALT 値が比較的 low、血小板数が正常でも肝生検をしてみると比較的進行した症例も存在する。当科で肝生検時 ALT 50 IU/l 以下、血小板 17 万/ μ l 以上であった 44 症例の肝生検では、40% 以上が F2 以上の慢性肝炎であった。B 型肝炎と異なり感染防御に有効なワクチンは存在しないが、夫婦間感染率は年間 0.23%、母子感染は報告により差はあるが約 4% であり、B 型に比べ低率である。

C 型肝炎は進展度により肝発癌率が異なり、線維化の軽い F1 であれば年間肝発癌率は 0.5% であるが、F2 で 1.5%、F3 で 5%、F4 すなわち肝硬変では年 8% であり、症例に応じて肝画像検査の頻度を考えなければならない。また高齢になるほど慢性肝炎からの肝癌発症頻度が増えるので、注意が必要である。無用のトラブルを避けるためにも定期的・適切な画像診断が重要である。

C 型慢性肝炎は超高齢者、重度のうつ病、間質性肺炎の合併など一部の症例を除いてはインターフェロン療法が考慮されるべきである。ウイルスの型(セロタイプ)、ウイルス量の測定のうえ、基本はガイドライン(Table 4)に準じた治療が望まれる。現在のペグインターフェロン・ribavirin 併用療法であれば、1 型高ウイルス量症例で約 50%、それ以外であれば 80% 以上で著効(ウイルスの消失)が期待される。インターフェロン療法の

経験が少ない施設では、専門医に説明を含めた治療導入、および定期的な専門医との併診が望まれる。平成 22 年度よりインターフェロン治療費助成上限額がさらに安くなっており(原則月 1 万円)、利用しやすくなっていることも患者に伝えてほしい。

おわりに●

肝癌撲滅のためには、肝炎ウイルスキャリアへの適切なフォロー・治療が重要である。とくに自覚症状がなく、異常がなければ同じことの繰り返しとなり患者は通院を中断する恐れが高い。一医師のみならず、専門医、行政などが一体となって地域で肝炎患者をケアしていく必要がある。「都道府県における肝炎検査後肝炎診療体制に関するガイドライン <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou09/03.html>」には、地域の医療体制、専門医受診の重要性が、「肝炎対策基本法 http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou09/hourei_01.html」には、行政、医療機関、そして国民の役割、責務を掲げているので一読されたい。

文 献●

- 1) 西口修平ほか：輸血に伴うウイルス(HBV, HCV, HIV)感染発生の実態調査。B 型及び C 型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究、厚生労働科学特別研究事業平成 16~18 年度総合研究報告書, p39-43, 2007
- 2) 柚木久雄ほか：核酸増幅検査(NAT)により見出された HBV DNA 陽性献血者の特性。B 型及び C 型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究、厚生労働科学特別研究事業平成 16~18 年度総合研究報告書, p1-4, 2007

- 3) 藤原研司ほか：遅発性(LOHF: late onset hepatic failure)の全国集計(2003年)．難治性の肝疾患に関する研究，厚生労働科学特別研究事業平成16年度研究報告書，p93-107，2005
- 4) Gerlach JT et al: Acute hepatitis C: high rate of both spontaneous and treatment-induced viral clearance. Gastroenterology 125: 80, 2003
- 5) 稲垣 豊ほか：正常肝機能を示す潜在性肝硬変例の臨床病理学的検討．肝臓 27: 305, 1987

INFORMATION

第22回 中之島リウマチセミナー

日時 2010年12月25日(土) 13:30～
12月26日(日) 9:30～

会場 大阪国際会議場(特別会議場 12F)

代表世話人 七川 欽次

テーマ 1) 抗シトルリン蛋白抗体 2010
2) 類骨骨腫のラジオ波焼灼術
3) ウイルス感染とRA治療——特に肝炎ウイルス合併症と生物学的製剤
4) Behçet病 2010
5) 仙腸関節の痛みとその診断
6) 手首の骨折——橈骨遠位端骨折を中心に
その他 24題

会費 20,000円(当日のテキスト，12月25日の懇親会費，12月26日の昼食費用を含みます。また，出席者には講演集「リウマチ病セミナーXXII」を翌年送付いたします。学生および研修医は指導者の証明(1人)があれば10,000円で御参加いただけます。但し，講演集は含まれません)

研修単位 日本リウマチ財団教育研修単位，日本リウマチ学会教育研修会単位

締め切り 2010年11月25日

申込方法 Fax または E-mail に住所・氏名・電話・(Fax・E-mail)を御記入のうえ下記事務局までお申込ください。

事務局 ☎530-0021 大阪市北区浮田2-2-3
行岡病院内 中之島リウマチセミナー事務局 秘書 中川恵子
Tel 06-6371-9921 Fax 06-6371-4199
E-mail: nakanoshima.ra@yukioka.or.jp

今月の症例

輸血の6カ月後に発症したB型急性肝炎の1例

井上 淳¹⁾ 上野 義之¹⁾ 福島 耕治¹⁾ 近藤 泰輝¹⁾
 嘉数 英二¹⁾ 小原 範之¹⁾ 木村 修¹⁾ 涌井 祐太¹⁾
 下瀬川 徹¹⁾ 内田 茂治²⁾

要旨 症例は31歳、女性。6年前より特発性血小板減少症にてプレドニゾロン(PSL)を内服中。出産に伴い血小板輸血を行い、PSLを60mgに増量。その後PSL漸減中にB型急性肝炎を発症した。この時には輸血から6カ月が経過していたが、調査を行ったところ、献血者のうちの一人がその後に再度献血し、HBV DNAが陽転化していたことが判明した。HBVの塩基配列の解析により感染の原因となっていたことが確認された。

[日内会誌 99:1910~1912, 2010]

Key words : B型急性肝炎, 輸血後肝炎, プレドニゾロン

症 例

患者: 31歳、女性。主訴: 肝機能障害。既往歴: 2002年より特発性血小板減少性紫斑病(ITP)にてプレドニゾロン(PSL)内服。2004年、2006年、2008年に出産し、いずれも血小板輸血を受けた(それぞれ120単位、225単位、120単位)。家族歴: 特記事項なし。現病歴: 2008年4月の出産時に当院血液免疫科にてITPに対するPSLを60mgに増量、その後漸減していたが、2008年10月になりAST 95 IU/l、ALT 296 IU/lの肝機能障害を認め、6月は陰性であったHBs抗原が11月の検査で陽性であることが判明し、12月に当科紹介となった。初診時現症: 身長153 cm、体重53 kg、眼瞼結膜に貧血なし、眼球結膜に黄疸なし、表在リンパ節触知せず、心音・呼吸音異常なし、腹部異常所見なし、下腿浮腫なし。初診時検査所見: WBC 9,600/ μ l、RBC 462×10^4 /

μ l、Hb 13.9 g/dl、PLT 7.8×10^4 / μ l、T-Bil 0.7 mg/dl、D-Bil 0.1 mg/dl、AST 77 IU/l、ALT 223 IU/l、ALP 404 IU/l、 γ -GTP 101 IU/l、LDH 206 IU/l、BUN 13 mg/dl、Cr 0.5 mg/dl、TP 6.6 g/dl、Alb 3.6 g/dl、Na 143 mEq/l、K 3.7 mEq/l、Cl 108 mEq/l、CRP 0.2 mg/dl、PT 100.5%、HBs抗原 ≥ 250 IU/ml、HBe抗原1,184.1 index、HBe抗体陰性、HBc抗体15.79 index、IgM-HBc抗体1.8 index、HBV DNA 7.4 log copies/ml。腹部超音波検査では特に異常所見なし。

臨床経過

これまでの経過とIgM-HBc抗体が陽性であることからB型急性肝炎と診断。PSL内服中(15 mgと12.5 mgを隔日投与)であり、HBV DNA量も多く、B型肝炎の重症化・慢性化が懸念された。授乳中であったため、断乳が可能となった。2009年3月よりエンテカビル0.5 mgの内服を開

[第189回東北地方会(2009/09/12)推薦][受稿2010/03/02, 採用2010/03/03]

1) 東北大学病院消化器内科, 2) 日本赤十字社中央血液研究所

A case of acute hepatitis B who had an onset 6 months after blood transfusion.

Jun Inoue¹⁾, Yoshiyuki Ueno¹⁾, Koji Fukushima¹⁾, Yasuteru Kondo¹⁾, Eiji Kakazu¹⁾, Noriyuki Obara¹⁾, Osamu Kimura¹⁾, Yuta Wakui¹⁾, Tooru Shimosegawa¹⁾ and Shigeharu Uchida²⁾ : ¹⁾Division of Gastroenterology, Tohoku University Hospital, Sendai and ²⁾Central Blood Institute, Japanese Red Cross Society, Tokyo.

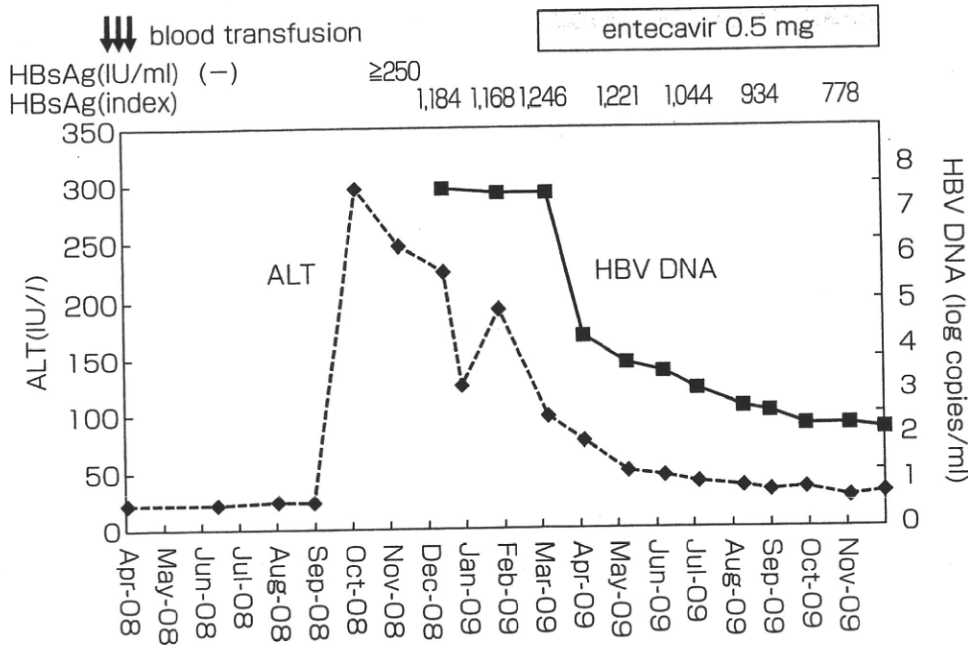


図 1. 臨床経過

始した。その後はHBV DNA, ALTともに低下し経過は良好である (図 1)。

HBVの感染源についてであるが、本患者に輸血した12本の血小板の献血者のうちの一人が当該献血から45日後に再度献血し、この時にHBV DNAが陽転化していたことが判明した。宮城県赤十字血液センターから、遡及調査の結果、「当該血液は個別の核酸増幅検査 (NAT) は陰性であるが、window periodに採血されており、検出限界以下のウイルスが存在する可能性がある」との連絡が当院に入った。この時点 (輸血の2カ月後)での患者のHBs抗原は陰性であったが、輸血から6カ月後の肝炎発症時にはHBs抗原が陽転化していたため血液センターに調査を依頼したところ、①輸血に使用した12本の血液はいずれも血液は個別NAT陰性であること、②患者および陽転時の献血者のHBVの塩基配列に高い相同性があること、などが明らかとなった。

HBVの遺伝子解析はPre-S/S遺伝子を含むP遺伝子前半部1,550塩基 (塩基2,333-3,215/1-667)をダイレクトシーケンス法にて解析した。その結果、1塩基のみに相違があり、それ以外に献血者のHBVにおいて30カ所に2種類の塩基の混

在が認められたが、患者のHBVはいずれもその一方の塩基と一致していた (一部を図2に示す)。このことから、献血者には2株のHBVが共存しており、そのうちの1株が本患者に感染したものと考えられた。いずれのHBV株もgenotypeは日本に最も多いCであった。

考 察

近年、急性B型肝炎の状況に変化が見られている。献血された血液に対する核酸増幅検査 (NAT)の進歩によりwindow periodが短縮され、輸血による感染例は激減している¹⁾。一方、sexual transmitted disease (STD)としての性格が鮮明となっており、欧米型のgenotype AのHBVの感染が都市部を中心に増加している^{2,3)}。さらに、共通した感染経路をもつHIV (human immunodeficiency virus)の重複感染例の増加も危惧されている³⁾。しかし、本症例は輸血以外の感染経路が考えにくかったため、肝炎発症の6カ月前の輸血が原因であることを疑い、詳細な調査にてその関連を証明することができた。

一般にHBVの感染から発症までの潜伏期間は1~6カ月とされており⁴⁾、本症例の潜伏期間は比較的長いものであった。長い潜伏期間を経て

Patient 272 AATTTTCTAGGGGAGCACCCACGTGTCCTGGCCAAAATTGCGAGTCCCCAACCTCCAATCACTCACCAACCTCTTGCTC
 Donor 272

Patient 352 TCCAATTTGCTCCTGGCTATCGCTGGATGTGTCTGCGGCGTTTTATCATATTCTCTTCATCCTGCTGCTATGCCTCATCT
 Donor 352

Patient 432 TCTTGTGGTTCTTCTGGACTACCAAGGTATGTTGCCCGTTTGTCTCTACTTCCAGGAACATCAACTACCAGCACGGGA
 Donor 432R.....

Patient 512 CCATGCAAGACCTGCACGATTCTGCTCAAGGAACCTCTATGTTTCCCTCTTGTGCTGTACAAAACCTTCGGACGGAAA
 Donor 512R.....

Patient 592 CTGCACTTGTATTCCCATCCCATCATCCTGGGCTTTCGCAAGATTCTATGGGAGTGGGCCTCAGTCCGTTTCTCC
 Donor 592R.....

(R=A or G)

図2. HBVのS遺伝子内の部分塩基配列(396塩基)の比較. 上列が本症例, 下列が献血者.

感染が成立した原因としては, 輸血された血液中のHBVが個別NATでも検出できないほど微量であったが, PSL内服中のためにHBVが徐々に増殖したことが推測された. PSLによるHBV増殖の機序としては, 宿主の免疫が抑制されることに加え, HBVに存在するglucocorticoid-responsive elementの作用が考えられている⁵⁾.

最近, HBV既往感染者に免疫抑制薬や抗腫瘍薬を投与した場合にB型肝炎が再活性化する*de novo* B型肝炎と呼ばれる病態があり, 死亡率が高いことが注目されている⁶⁾. この病態は, 治療前にHBs抗体あるいはHBc抗体が陽性の既往感染状態であることを確認できていないと通常のB型急性肝炎との鑑別が難しい場合がある. 免疫抑制薬や抗腫瘍薬などの治療を行っている患者は輸血を受けている場合も多く, 治療中にB型肝炎が生じた場合には現在では頻度は低いと思われるが輸血からの感染の可能性も考慮しなければいけないことが本症例から示唆された. 今回のケー

スは個別NATでも陰性のwindow periodの血液によるHBV感染であり, 献血者がHBV DNA陽性の時期に再度献血したこと, 献血者の陽転時のHBVの遺伝子解析により感染源を特定できたこと, など貴重な症例と考えられ報告した.

文 献

- 1) Candotti D, et al: Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. J Hepatol 51: 798-809, 2009.
- 2) Kobayashi M, et al: Change of hepatitis B virus genotypes in acute and chronic infections in Japan. J Med Virol 80: 1880-1884, 2008.
- 3) 井上 淳, 他: ウイルス感染に合併するHIV感染症の実態と対応. medicina 47: 473-475, 2010.
- 4) Webster GJ, et al: Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanisms. Hepatology 32: 1117-1124, 2000.
- 5) Tur-Kaspa R, et al: Hepatitis B virus DNA contains a glucocorticoid-responsive element. Proc Natl Acad Sci USA 83: 1627-1631, 1986.
- 6) Umemura T, et al: Mortality secondary to fulminant hepatic failure in patients with prior resolution of hepatitis B virus infection in Japan. Clin Infect Dis 47: e52-56, 2008.

ORIGINAL ARTICLE

Infectivity of HBV DNA positive donations identified in look-back studies in Hyogo-Prefecture, Japan

Y. Bouike,^{1,2} S. Imoto,^{1,3} O. Mabuchi,¹ A. Kokubunji,⁴ S. Kai,⁴ M. Okada,⁵ R. Taniguchi,¹ S. Momose,⁶ S. Uchida⁷ & H. Nishio² ¹Department of Science and Technology, Japanese Red Cross Hyogo Blood Centre, Kobe, Japan, ²Department of Epidemiology, Kobe University Graduate School of Medicine, Kobe, Japan, ³Department of Medical Technology, Kobe Tokiwa University, Kobe, Japan, ⁴Department of Transfusion Medicine, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya, Japan, ⁵Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya, Japan, ⁶Japanese Red Cross Society, Blood Service Headquarters, Tokyo, Japan, and ⁷Infectious Disease Research Department, Japanese Red Cross, Central Blood Institute, Tokyo, Japan

Received 30 July 2010; accepted for publication 3 November 2010

SUMMARY

Aims/Objectives: To clarify transfusion incidence of hepatitis B virus (HBV) infected blood negative for mini pool-nucleic acid amplification testing (MP-NAT).

Background: Japanese Red Cross (JRC) blood centres screen donated blood to avoid contamination with HBV. However, a low copy number of HBV may be overlooked.

Methods/Materials: In Hyogo-Prefecture, JRC blood centres screened 787 695 donations for HBV from April 2005 to March 2009. Of these, 685 844 were donations from the repeat donors. To detect the donors with HBV, serological tests, MP-NAT and/or individual donation (ID)-NAT were performed. To detect the recipients with transfusion-transmitted HBV infection (TTHBI), serological analysis and/or ID-NAT were performed.

Results: In this study, 265 of the 685 844 repeat donations were serologically and/or MP-NAT positive for

HBV. Their repository samples from the previous donation were examined in a look-back study; 13 of the 265 repository samples proved ID-NAT positive. Twelve recipients were transfused with HBV-infected blood components derived from 10 of the 13 HBV-infected donors. Only 1 of the 12 recipients was identified as TTHBI case. Seven of the 12 recipients escaped from our follow-up study and 4 recipients were negative for HBV during the observation period.

Conclusion: On the basis of the look-back study among the repeat donors in Hyogo-Prefecture, Japan, donations with HBV-infected blood negative for MP-NAT occurred with a frequency of 13 in 685 844 donations (~1/53 000 donations). However, more than half of the recipients transfused with HBV-infected blood negative for MP-NAT could not be followed up. It is necessary to establish a more cautious follow-up system.

Key words: HBV, ID-NAT, look-back study, MP-NAT, TTHBI.

For the purpose of the prevention of transfusion-transmitted hepatitis B virus infection (TTHBI), Japanese Red Cross (JRC) blood centres have been screening blood with serological tests for hepatitis B surface antigen (HBsAg) since 1972 and for hepatitis B core antibody (HBcAb) since 1989 (Japanese Red Cross NAT Screening Research Group, 2000). Currently, nucleic acid amplification testing (NAT) methods are widely

used in Japan as useful diagnostic tools for virus detection.

In 1999, mini pool (MP)-NAT for hepatitis B virus (HBV) was implemented: MP-NAT with 50-member mini pool samples (50-MP-NAT) had been included in the JRC donor screening system since 2000, but that was replaced by 20-MP-NAT in 2004 (Yugi *et al.*, 2006). The screening system including 20-MP-NAT or individual donation-NAT (ID-NAT) has been the standard method in Japan since 2004. Table 1 shows the HBV tests for donor selection that are now conducted in JRC.

However, it may be impossible to exterminate HBV infections, despite the introduction of sensitive NAT. The current NAT system cannot completely eliminate the risk

Correspondence: Yoshihiro Bouike, MT, Department of Science and Technology, Japanese Red Cross Hyogo Blood Centre, 1-4-5 Wakinohama-Kaigan-dori, Chuo-ku, Kobe city, Hyogo-Prefecture 651-0073, Japan.

Tel.: +81 78 2226522; fax: +81 78 2652655;

e-mail: bouike@hyogo.bc.jrc.or.jp