

cancer 16.0% > lung cancer 15.4% > prostate cancer 10.9% > HCC 7.4%. On the other hand, the outbreak of malignancies in the Japanese female population was observed in the following order in 2005: breast cancer 18.0% > colon cancer 16.2% > gastric cancer 13.6% > lung cancer 9.3% > uterine cancer 6.8%. Our results show that HCC is the most common cause of malignancy, not only in the non-SVR group but also in the SVR group.

Finally, malignancies other than HCC occurred with statistical significance when patients were of advanced age, were smokers, and had T2DM. Our result indicates that smoking enhances lung cancer and colorectal cancer. Many authors have reported that smoking is a direct cause of cancers of the oral cavity, esophagus, stomach, pancreas, larynx, lung, bladder, kidney, and colon.^{30,31} In addition, the present study indicates that T2DM enhances pancreatic cancer with statistical significance and tends to enhance gastric cancer. T2DM showed up to about 1.7-fold increase in development of malignancies other than HCC. A recent meta-analysis of cohort studies have revealed that diabetic patients increase risk of pancreatic cancer, HCC, bladder cancer, non-Hodgkin's lymphoma, colorectal cancer, and breast cancer.³²⁻³⁹

Although the role of T2DM in carcinogenesis remains speculative, the following possible mechanisms have been reported: (1) hyperglycemia increases malignancy risk via increasing oxidative stress and/or activating the rennin-angiotensin system⁴⁰; (2) insulin resistance increases malignancy risk via down-regulation of serine/threonine kinase II to adenosine monophosphate-activated protein kinase pathway⁴¹; (3) reduced insulin secretion increases malignancy risk via down-regulation of sterol regulatory element-binding protein-1c with consequent up-regulation of insulin-like growth factor.⁴²

T2DM is increasing dramatically worldwide over the past decades.⁸ It is estimated that about 7 million people are affected by diabetes mellitus in Japan. Approximately 8%-10% of adults in Japan have T2DM. The risk factors associated with T2DM include family history, age, sex, obesity, smoking, physical activity, and HCV.⁴³⁻⁴⁶ In the near future, T2DM will be increasing in HCV-positive patients.

This study is limited in that it was a retrospective cohort trial. Another limitation is that patients were treated with different types of antiviral therapy for different durations. In addition, T2DM patients were treated with different types of drugs during follow-up. Finally, our cohort contains Japanese subjects only. On the other hand, the strengths of the present study are a

long-term follow-up in the large numbers of patients included.

In conclusion, T2DM causes an approximately 1.7-fold enhancement in the development of HCC and malignancies other than HCC after IFN therapy. Additionally, in T2DM patients, maintaining a mean HbA1c level of <7.0% during follow-up reduced the development of HCC.

Acknowledgment: We thanks Thomas Hughes for editorial assistance.

References

1. Kiyosawa K, Furuta S. Review of hepatitis C in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 1991;6:383-391.
2. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, et al. The natural history of community acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 1992;327:1899-1905.
3. Colombo M, Kuo G, Choo QL, Donato MF, Del Ninno E, Tommasini MA, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1989;2:1006-1008.
4. Hasan F, Jeffers LJ, De Medina M, Reddy KR, Parker T, Schiff ER, et al. Hepatitis C-associated hepatocellular carcinoma. *HEPATOLOGY* 1990;12:589-591.
5. Kew MC, Houghton M, Choo QL, Kuo G. Hepatitis C virus antibodies in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1990;335:873-874.
6. Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, Nakao M, Yabuuchi T, Kitamura T, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N Engl J Med* 1993;328:1797-1801.
7. Ikeda K, Saitoh S, Koida I, Arase Y, Tsubota A, Chayama K, et al. A multivariate analysis of risk factors for hepatocellular carcinogenesis: a prospective observation of 795 patients with viral and alcoholic cirrhosis. *HEPATOLOGY* 1993;18:47-53.
8. Waki K, Noda M, Sasaki S, Matsumura Y, Takahashi Y, Isogawa A, et al.; JPHC Study Group. Alcohol consumption and other risk factors for self-reported diabetes among middle-aged Japanese: a population-based prospective study in the JPHC study cohort I. *Diabet Med* 2005;22:323-331.
9. Yasuda K. Early gastric cancer: diagnosis, treatment techniques and outcomes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18:839-845.
10. Van Gossum A. Guidelines for colorectal cancer screening—a puzzle of tests and strategies. *Acta Clin Belg* 2010;65:433-436.
11. Currie GP, Kennedy AM, Denison AR. Tools used in the diagnosis and staging of lung cancer: what's old and what's new? *QJM* 2009;102:443-448.
12. Maresh EL, Mah V, Alavi M, Horvath S, Bagryanova L, Liebeskind ES, et al. Differential expression of anterior gradient gene AGR2 in prostate cancer. *BMC Cancer* 2010;10:680.
13. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Eng J Med* 2003;348:1625-1638.
14. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84:1361-1392.
15. Cascinu S, Falconi M, Valentini V, Jelic S; ESMO Guidelines Working Group. Pancreatic cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;21(Suppl. 5):v55-v58.
16. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33(Suppl. 1):S62-S69.

17. Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, McOmish F, Yap PL, Sherlock S, et al. Hepatitis C virus genotypes: an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *HEPATOLOGY* 1994;19:13-18.
18. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Sheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *HEPATOLOGY* 1994;19:1513-1520.
19. Fleming TR, Harrington DR, O'Brien PC. Designs for group sequential tests. *Control Clin Trials* 1984;5:348-361.
20. Harrington DR, Fleming TR. A class of rank test procedures for censored survival data. *Biometrika* 1983;62:205-209.
21. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation for incomplete observation. *J Am Stat Assoc* 1958;53:457-481.
22. Cox DR. Regression models and life tables. *J R Stat Soc* 1972;34:248-275.
23. Ikeda K, Saitoh S, Arase Y, K Chayama, Y Suzuki, M Kobayashi, et al. Effect of interferon therapy on hepatocellular carcinogenesis in patients with chronic hepatitis type C; A long-term observation study of 1643 patients using statistical bias correction with proportional hazard analysis. *HEPATOLOGY* 1999;29:1124-1130.
24. Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, Takayanagi M, Yoshioka K, Kakumu S, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. Osaka Liver Disease Study Group. *HEPATOLOGY* 1998;2:1394-1402.
25. Imai Y, Kawata S, Tamura S, Yabuuchi I, Noda S, Inada M, et al. Relation of interferon therapy and hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. Osaka Hepatocellular Carcinoma Prevention Study Group. *Ann Intern Med* 1998;129:94-99.
26. Yoshida H, Arakawa Y, Sata M, Nishiguchi S, Ya M, Fujiyama S, et al. Interferon therapy prolonged life expectancy among chronic hepatitis patients. *Gastroenterology* 2002;123:483-491.
27. Veldt BJ, Chen W, Heathcote EJ, Wedemeyer H, Reichen J, Hofmann WP, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis C cirrhosis and diabetes mellitus. *HEPATOLOGY* 2008;47:1856-1862.
28. Asahina Y, Tsuchiya K, Tamaki N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, et al. Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus infection. *HEPATOLOGY* 2010;52:518-527.
29. Matsuda T, Marugame T, Kamo KI, Katanoda K, Ajiki W, Sobue T. The Japan Cancer Surveillance Research Group. Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2005: based on data from 12 population-based cancer registries in the Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) Project. *Jpn J Clin Oncol* 2011;41:139-147.
30. Boyle P. Cancer, cigarette smoking and premature death in Europe: a review including the Recommendations of European Cancer Experts Consensus Meeting, Helsinki, October 1996. *Lung Cancer* 1997;17:1-60.
31. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, Raimondi S, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA* 2008;300:2765-2778.
32. Everhart J, Wright D. Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer: A metaanalysis. *JAMA* 1995;273:1605-1609.
33. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:369-380.
34. Larsson SC, Orsini N, Brismar K, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of bladder cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* 2006;49:2819-2823.
35. Mitri J, Castillo J, Pittas AG. Diabetes and risk of non-Hodgkin's lymphoma: a metaanalysis of observational studies. *Diabetes Care* 2008;31:2391-2397.
36. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer: a metaanalysis. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1679-1687.
37. Giovannucci E. Metabolic syndrome, hyperinsulinemia, and colon cancer: a review. *Am J Clin Nutr* 2007;86:836S-842S.
38. Larsson SC, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of breast cancer: a metaanalysis. *Int J Cancer* 2007;121:856-862.
39. Hsing AW, Gao Y-T, Chua S, Deng J, Stanczyk FZ. Insulin resistance and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:67-71.
40. George AJ, Thomas WG, Hannan RD. The renin-angiotensin system and cancer: old dog, new tricks. *Nat Rev Cancer* 2010;10:745-759.
41. Shackelford DB, Shaw RJ. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression. *Nat Rev Cancer* 2009;9:563-575.
42. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 1997;89:331-340.
43. Mehta SH, Brancati FL, Strathdee SA, Pankow JS, Netski D, Coresh J, et al. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *HEPATOLOGY* 2003;38:50-56.
44. Imazeki E, Yokosuka O, Fukui K, Kanda T, Kojima H, Saisho H. Prevalence of diabetes mellitus and insulin resistance in patients with chronic hepatitis C: comparison with hepatitis B virus-infected and hepatitis C virus-cleared patients. *Liver Int* 2008;28:355-362.
45. Arase Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Kawamura Y, et al. Sustained virological response reduces incidence of onset of type 2 diabetes in chronic hepatitis C. *HEPATOLOGY* 2009;49:739-744.
46. Thuluvath PJ, John PR. Association between hepatitis C, diabetes mellitus, and race. a case-control study. *Am J Gastroenterol* 2003;98:438-441.

<特別寄稿>

核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のための指針 2012

—厚生労働省「B型肝炎の核酸アナログ薬治療における治療中止基準の作成と治療中止を目指したインターフェロン治療の有用性に関する研究」の報告—

田中 榮司^{1)*} 松本 晶博¹⁾ 鈴木 義之²⁾ 小林万利子²⁾ 田中 靖人³⁾
 新海 登³⁾ 髭 修平⁴⁾ 八橋 弘⁵⁾ 長岡 進矢⁵⁾ 茶山 一彰⁶⁾
 柘植 雅貴⁶⁾ 横須賀 収⁷⁾ 今関 文夫⁷⁾ 西口 修平⁸⁾ 齋藤 正紀⁸⁾
 藤原 圭⁹⁾ 鳥居 信之¹⁰⁾ 平松 直樹¹¹⁾ 狩野 吉康¹²⁾

索引用語： 核酸アナログ薬 治療中止 B型肝炎 肝炎再燃
 HBV cccDNA

はじめに

近年 B 型肝炎の治療に導入された核酸アナログ薬は HBV の増殖を強力に抑制するため、多くの症例で血中 HBV DNA 量は速やかに低下し ALT 値の正常化がもたらされる¹⁾。さらに、組織学的な改善が得られ肝発癌率が低下することや^{2,3)}、経口薬で副作用も少ないことから臨床的に広く使用されている。しかし、核酸アナログ薬を使用してもウイルスを完全に排除することは困難であり、本治療薬には耐性株の出現や治療中止に伴う肝炎の再燃が問題点として残されている⁴⁾。この原因の一つとして、血中の HBV DNA 量が低下しても、HBV

複製の起源となる肝細胞核内の HBV cccDNA 量はほとんど減らず、これが長期に残存することが挙げられている⁵⁾。

B 型肝炎の核酸アナログ薬治療において、同薬の中止はしばしば肝炎の再燃を伴うため、安易な中止はすべきでないとされている。しかし、中止後、いつ頃どのような形で肝炎が再燃するかは必ずしも明らかにされてはいない。また、中止後に肝炎が再燃しない症例や再燃しても軽度で最終的に安定化する症例も少なからず存在するが、この様な症例を効率よく見分ける方法も確立されていない。

我々は、厚生労働省の科学研究費により「B 型肝炎の核酸アナログ薬治療における治療中止基準の作成と治療中止を目指したインターフェロン治療の有用性に関する研究」(平成 21 年度～23 年度)を行い、治療中止後の経過の特徴や肝炎再燃の定義、さらには再燃率の予測を検討した。本稿では、この研究成果を元に「核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のための指針 2012」をまとめたので報告する (Table 1)。本指針は必ずしも核酸アナログ薬の中止を推奨するものではなく、様々な理由により中止を検討する必要がある場合の参考になるよう定めた。

I. 本指針の目指すもの

本指針は、核酸アナログ薬の中止を検討する際に、中止成功の可能性が高い症例や逆に治療を継続すべき症例を明らかにすること、さらに、中止後の経過観察

- 1) 信州大学医学部消化器内科
- 2) 虎の門病院肝臓内科
- 3) 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学
- 4) 北海道大学大学院医学研究科消化器内科
- 5) 独立行政法人国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター
- 6) 広島大学大学院分子病態制御内科学
- 7) 千葉大学大学院医学研究院腫瘍内科学
- 8) 兵庫医科大学肝胆臓内科
- 9) 名古屋第二赤十字病院消化器内科
- 10) 東京女子医科大学消化器内科
- 11) 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学
- 12) 札幌厚生病院消化器科

*Corresponding author: etanaka@shinshu-u.ac.jp

§利益相反申告 横須賀収、田中靖人、西口修平、茶山一彰ニブリストル・マイヤーズ株式会社

<受付日2012年2月1日><採択日2012年2月18日>

Table 1 核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のための指針 2012

I. 本指針の目指すもの

B 型慢性肝炎の核酸アナログ薬治療において、同薬の中止により drug free を目指すことは重要な治療目標の一つである。しかし、同薬の中止によりしばしば肝炎が再燃し、時に重症化することがある。このため、中止に際してはその危険性に十分配慮する必要がある。

核酸アナログ薬治療は HBs 抗原の陰性化を目標とするが、必ずしも容易ではない。このため、HBs 抗原が陰性化しなくても治療の中止を考慮する場合がある。本指針は、このような状況下で核酸アナログ薬を中止し、最終的に非活動性キャリアの状態 (ALT < 30 IU/L かつ血中 HBV DNA < 4.0 log copies/ml) に落ち着くことを目標として作成した。

核酸アナログ薬の中止と継続のどちらが生命予後や肝発癌に対して有利かは現在のところ明らかではない。このため、本指針は様々な理由により中止を検討する必要がある場合の参考になるよう定めた。この際、中止成功の可能性が高い症例を見いだすことや逆に治療を継続すべき症例を明らかにすること、さらに、中止後の経過観察の指標を設定することにより、核酸アナログ薬中止に伴うリスクを極力回避することを目指した。

II. 肝炎再燃に伴う重症化のリスクを回避するための必要条件

重症化のリスクをあらかじめ想定し、これを回避するため、以下を中止の必要条件とした。

1. 核酸アナログ薬中止後には肝炎再燃が高頻度にみられ、時に重症化する危険性があることを主治医、患者共に十分理解している。
2. 中止後の経過観察が可能であり、再燃しても適切な対処が可能である。
(専門医が関与することが推奨される。)
3. 肝線維化が軽度で肝予備能が良好であり、肝炎が再燃した場合でも重症化しにくい症例である。
(肝硬変やこれに近い線維化の進行した慢性肝炎の症例では中止すべきでない。)

III. HBV 増殖能の評価と再燃のリスクを低下させるための条件

1. 核酸アナログ薬中止の必要条件

HBV 増殖能が高い症例では中止後の再燃はほぼ必発である。このような症例で中止を行わないことが肝要であり、このための必要条件を以下に示す。

◇中止時、血中 HBV DNA (リアルタイム PCR 法) が陰性。
◇中止時、血中 HBe 抗原が陰性。

2. 核酸アナログ薬治療期間の条件

核酸アナログ薬治療期間が短いと再燃しやすいため、以下の条件を満たすことが望ましい。

◇核酸アナログ薬投与開始後 2 年以上経過している。

3. ウイルス抗原量のスコア化による再燃の危険性の評価

中止の必要条件 (中止時 HBV DNA 陰性かつ HBe 抗原陰性) を満たす症例について、中止時の HBs 抗原量と HB コア関連抗原量をスコア化し、合計スコアから再燃のリスクを以下の 3 群に分けて予測することが可能である。この予測リスクを参考に中止の可否を決定することにより再燃のリスクを低下させることを目指す。

1.9 log IU/ml 未満 (80 IU/ml 未満)	0	3.0 log U/ml 未満	0
1.9 ~ 2.9 log IU/ml (80 ~ 800 IU/ml)	1	3.0 ~ 4.0 log U/ml	1
2.9 log IU/ml 以上 (800 IU/ml 以上)	2	4.0 log U/ml 以上	2

低リスク群	0	30-90%	中止を考慮しても良い群。ただし、低リスク群でも肝炎再燃症例が存在するため、再燃に対する注意は必須である。
中リスク群	1-2	約 50%	状況によって中止を考慮しても良い群。この群では、中止の条件や方法を今後さらに検討する必要がある。
高リスク群	3-4	10-20%	治療の継続が推奨される群。ただし、35 歳未満では中止成功例が比較的高く 30-40% である。

Table 1 核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のための指針 2012

IV. 中止後の経過観察方法と再治療開始の条件

1. 核酸アナログ薬中止後は定期的にHBV DNA (リアルタイムPCR法) とALTを測定し、HBVの再増殖とこれに伴う肝炎再燃に注意を払う。
2. 中止後の再燃は、中止直後から1年以内が多く、その後徐々に減少し、3年目以降はまれになる。このため、特に中止直後は再燃に対する注意が必要である。具体的には、中止後16週までは2週毎、その後は4週毎の血液検査による経過観察が望ましい。
3. 中止が成功し、最終的に非活動性キャリア状態に落ち着く症例においても、約2/3では一過性のALTまたはHBV DNAの異常値が出現する。このため、中止後の経過観察でALTまたはHBV DNAの異常値が出現しても、軽度の上昇であれば再治療を行わずに経過をみる事が可能である。ただし、以下の条件では、最終的に非活動性キャリア状態に落ち着く可能性は低く、核酸アナログ薬による再治療を考慮する。

◇中止後ALT \geq 80 IU/L またはHBV DNA \geq 5.8 log copies/ml となる場合

V. 注意点と今後の課題

1. 患者の状況は個々に異なる。また、中止の目的や意義も個々に異なるため、実際に中止するか否かの判断は、これらの条件を考慮し主治医が行う。また、中止を考慮する場合は肝臓専門医に相談することが推奨される。
2. 核酸アナログ薬中止後に肝炎が再燃し再投与した場合、中止しなかった場合と比較し核酸アナログ薬耐性株の出現頻度が増加するか否かについては不明である。
3. HBVキャリアでは非活動性キャリア期 (HBV DNAが4.0 log copy/ml未滿かつALTが30 IU/L未滿) となってもまれに肝炎の再燃がみられるので、中止に成功してもキャリアとしての経過観察は継続する必要がある。また、肝発癌に関しても同様に経過観察が必要である。
4. 今後の検討課題としては、核酸アナログ薬中止基準の精度をさらに高めること、本指針で用いた基準を前向き検討で検証すること、インターフェロン併用によるシークエンシャル療法で核酸アナログ薬を積極的に中止しようとする方法の検討などが挙げられる。

の指標を設定することにより、核酸アナログ薬中止に伴うリスクを極力回避することを目指して作成した (Table 1-I)。ここでの中止成功は、最終的に非活動性キャリアの状態、すなわちALTが30 IU/L未滿かつ血中HBV DNAが4.0 log copies/ml未滿に落ち着くこととした。この基準は日本のB型慢性肝炎治療ガイドラインに準拠して設定したが、このような非活動性キャリア状態になると肝病変の進行はなく発癌率も低下することが知られており¹⁰⁾、適切なものと考えられる。

II. 肝炎再燃に伴う重症化のリスクを回避するための必要条件

現状では、核酸アナログ薬中止後の肝炎再燃を十分高い確率で予測することはできない。このため、重症化の危険性⁹⁾が存在することを想定し、重症化防止のための必要条件を設定した (Table 1-II)。肝炎再燃や重症化の危険性を主治医と患者が共に理解していること、さらに、中止後の経過観察体制があり、再燃しても適切な対処が可能であることは当然の条件と考えられる。また、肝硬変やこれに近い線維化の進行した慢性肝炎症例では重症化しやすいこと、さらには将来的に発癌

の危険性が高いことを考慮すると、現状では安易に中止すべきでないと判断した。

III. HBV増殖能の評価と再燃のリスクを低下させるための条件

これまで、核酸アナログ薬中止時にHBV DNAが十分低下しない症例またはHBe抗原陽性の症例では中止後に肝炎が高率再燃することが経験されていたが、本研究班の検討でもこれが科学的に確認された⁹⁾。肝炎再燃を予測するHBV DNA量のcut-off値はROC解析で3.0 log copies/mlであり、これ以上の症例ではほとんど全例が1年以内に再燃したのに対し、3.0 log copies/ml未滿の症例では長期に安定化する症例が30%近く存在した。さらに、HBV DNA量が3.0 log copies/ml未滿の症例に属した場合、HBe抗原陽性例は1年以内に90%以上が再燃したのに対し、HBe抗原陰性例では長期に安定化する症例が少なからず存在した。この結果から、HBV DNA量の十分な低下とHBe抗原の陰性化は中止の必要条件として設定した。ここで、HBV DNA量の十分な低下の基準値については、実際の指針では3.0 log copies/ml未滿ではなく、安全を考慮してリアルタイム

PCR 法で陰性であることとした。

明らかに中止後の肝炎再燃が予測される症例、すなわち、核酸アナログ薬中止時に HBV DNA 量が 3.0 log copies/ml 以上または HBe 抗原陽性の症例を除いて中止後の肝炎再燃と関連する因子をさらに解析すると、核酸アナログ薬治療期間、中止時 HBs 抗原量、中止時 HB コア関連抗原量が有意な因子として算出された⁹⁾。治療期間の cut-off 値は 16 カ月と算出されたため、本指針では余裕をもって 2 年以上経過していることが望ましいとの条件を設定した。

中止時の HBs 抗原量と HB コア関連抗原量については、ROC 解析の結果からそれぞれ 2 つの cut-off 値の存在が示唆され、HBs 抗原量は 1.9 と 2.9 log IU/ml、HB コア関連抗原量は 3.0 と 4.0 log U/ml であった⁹⁾。このことから、Table I-III に示す如く HBs 抗原量と HB コア関連抗原量をスコア化し、総スコアから低リスク群、中リスク群、高リスク群の 3 群を設定した。それぞれの予測成功率は低リスク群が 80~90%、中リスク群が約 50%、高リスク群が 10~20% であった。各群の中で肝炎再燃と関連する因子をさらに検討すると、低リスク群と中リスク群では新しい因子はなかったが、高リスク群では年齢が有意な因子であった。すなわち、予測成功率が 10~20% と低い高リスク群であっても、年齢が 35 歳未満ではこの成功率がやや高く 30~40% であった。

以上の如く、治療期間やウイルスマーカーの結果から核酸アナログ薬中止後の経過を予測することが可能であり、治療中止を計画する際の指標となると考えられた。近年、HBs 抗原量の測定は新しいマーカーとして注目されており、インターフェロン治療効果の予測などに有用なことが報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。一方、HB コア関連抗原量は核酸アナログ薬使用下においても肝細胞核内の HBV cccDNA 量を反映することが報告され¹²⁾¹³⁾、この量が中止後の肝炎再燃と関連することはこれまでも報告されていた¹⁵⁾¹⁶⁾。今回、これらの抗原量の組み合わせが中止の指針作成に有用であった点は興味深い⁹⁾。

IV. 中止後の経過観察方法と再治療開始の条件

核酸アナログ薬中止後の経過観察は、定期的に HBV DNA 量 (リアルタイム PCR 法) と ALT 値を測定することにより行う。中止後の再燃は、中止直後から 1 年以内が多く、その後徐々に減少し、3 年目以降はまれになることが今回の研究で明らかになった⁹⁾。このため、

特に中止直後は再燃に対する注意が必要であると判断した。具体的には、中止後 16 週までは 2 週毎、その後は 4 週毎の血液検査による経過観察が望ましいとした。

肝炎再燃をどのように定義し、中止後の経過観察をどのように行うかは本指針の要点の一つである。最終的に非活動性キャリア状態に落ち着く症例においても、約 2/3 では一過性の ALT または HBV DNA の異常値が出現する。このため、中止後の経過観察で ALT または HBV DNA の異常値が出現しても、軽度の上昇であれば再治療を行わずに経過をみるのが可能である。しかし、どこまでなら経過をみて良いのかの基準はこれまで明らかにされていない。この点を明らかにするため我々は、核酸アナログ薬中止後の ALT 値と HBV DNA 量の推移を平均値と最高値で評価した。この結果、両者とも平均値と最高値の間にきわめて強い相関があることが明らかになった⁹⁾。ROC 解析の結果より、平均 ALT 値の 30 IU/L は最高 ALT 値の 79 IU/L に、一方、平均 HBV DNA 量の 4.0 log copies/ml は最高 HBV DNA 量の 5.7 log copies/ml に相当することが明らかになった。すなわち、中止後に ALT 値が 80 IU/L 以上になる場合は平均値が 30 IU/L を超える可能性が高く、最終的に中止成功の基準を満足しないことが予測される。同様に、中止後の HBV DNA 量が 5.8 log copies/ml 以上となる場合は平均値が 4.0 log copies/ml を超える可能性が高く、中止成功の基準を満足しないことが予測される。これらの結果より、中止後に ALT 値が 80 IU/L 以上、または HBV DNA 量が 5.8 log copies/ml 以上となる場合は最終的に非活動性キャリア状態に落ち着く可能性は低く、核酸アナログ薬による再治療を考慮するとする条件を設けた。この条件設定により、より効率的で具体的な中止が可能になると考えられる。安全を考慮し、主治医の判断でこの基準をより厳しく設定することは可能である。逆に、この基準を緩く設定することも可能であるが、その場合は漫然と経過観察は行わず、何らかの方針を立てて対処することが望ましい。

V. 注意点と今後の課題

核酸アナログ薬中止の指針についてはこれまで率直的なものではなく、その意味で本指針は初めてのものとも言える。しかし、多くは後向きの検討データを基に作成したものであり、まだ不明な点も多く残されている。そのため、注意点や今後の課題を一つの項目としてまとめた (Table I-V)。本指針では核酸アナログ薬の中止に関する判断材料を提供したが、実際に中止す

るかは否かの判断は主治医が行うべきと考える。それは、核酸アナログ薬を継続した場合と中止した場合の長期の予後が必ずしも明らかになっていないことが大きな要因であり、患者の希望と主治医の判断が優先されると考えられる。

中止が成功しなかった場合、核酸アナログ薬を再投与することが選択肢の一つとなる。しかし、この場合、継続投与した場合と比較して耐性株出現率が高くなるか否かについては明らかになっておらず、この点は患者に同意を得ておく必要があると考えられる。

今後の検討課題としては、中止後の肝炎再燃の予測精度を向上させることが一つである。このためには新しい因子の検討が必要であり、候補としては、より高感度なHBV DNA量の測定、HBV RNA量の測定^{[7][8]}、HBV 遺伝子型、HBV 遺伝子変異の検出などが挙げられている。また、今回の指針は後ろ向き研究で作成された基準であり、今後、前向き検討でこれを検証する必要がある。さらに、インターフェロン併用によるシーケンシャル治療で核酸アナログ薬を積極的に中止しようとする方法も今後の重要な検討課題と考えられる。

おわりに

核酸アナログ薬が日本で使用可能になって12年目になるが、本格的な中止の指針作成は今回が最初である。難しい課題であるが、第一歩を踏み出さないことにはその次はない。すなわち、本指針はまだ十分とは言えないが、少なくとも、今後より良いものを作るための出発点になることが期待される。

謝辞：本指針の作成は、厚生労働科学研究費補助金、肝炎等克服緊急対策研究事業（平成21年度～23年度）の助成金により行った。

文 献

- 1) Ghany M, Liang TJ. Drug targets and molecular mechanisms of drug resistance in chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2007; 132: 1574—1585
- 2) 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: 1521—1531
- 3) 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: 173—184
- 4) Lok AS, Zoulim F, Locarnini S, et al. Antiviral drug-resistant HBV: standardization of nomenclature and assays and recommendations for management. *Hepatology* 2007; 46: 254—265
- 5) Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology* 2004; 126: 1750—1758
- 6) Iloeje UH, Yang HI, Su J, et al. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology* 2006; 130: 678—686
- 7) 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: 65—73
- 8) Lim SG, Wai CT, Rajnakova A, et al. Fatal hepatitis B reactivation following discontinuation of nucleoside analogues for chronic hepatitis B. *Gut* 2002; 51: 597—599
- 9) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, et al. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 2012; 42: 139—149
- 10) Chan HL, Wong VW, Tse AM, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1462—1468
- 11) Mouchari R, Lada O, Marcellin P. Chronic hepatitis B: back to the future with HBsAg. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009; 7: 633—636
- 12) Suzuki F, Miyakoshi H, Kobayashi M, et al. Correlation between serum hepatitis B virus core-related antigen and intrahepatic covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B patients. *J Med Virol* 2009; 81: 27—33
- 13) Tanaka E, Matsumoto A, Yoshizawa E, et al. Hepatitis B core-related antigen assay is useful for monitoring the antiviral effects of nucleoside analogue therapy. *Intervirology* 2008; 51(suppl 1): 3—6
- 14) Wong DK, Tanaka Y, Lai CL, et al. Hepatitis B virus core-related antigens as markers for monitoring chronic hepatitis B infection. *J Clin Microbiol* 2007;

- 45: 3942—3947
- 15) Matsumoto A, Tanaka E, Minami M, et al. Low serum level of hepatitis B core-related antigen indicates unlikely reactivation of hepatitis after cessation of lamivudine therapy. *Hepatol Res* 2007; 37: 661—666
- 16) Shinkai N, Tanaka Y, Orito E, et al. Measurement of hepatitis B virus core-related antigen as predicting factor for relapse after cessation of lamivudine therapy for chronic hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2006; 36: 272—276
- 17) Rokuhara A, Matsumoto A, Tanaka E, et al. Hepatitis B virus RNA is measurable in serum and can be a new marker for monitoring lamivudine therapy. *J Gastroenterol* 2006; 41: 785—790
- 18) Hatakeyama T, Noguchi C, Hiraga H, et al. Serum HBV RNA is a predictor of early emergence of the YMDD mutant in patients treated with lamivudine. *Hepatology* 2007; 45: 1179—1186

Guidelines for avoiding risks resulting from discontinuation of nucleos(t)ide analogues in patients with chronic hepatitis B (2012)

Eiji Tanaka^{1)*}, Akihiro Matsumoto¹⁾, Yoshiyuki Suzuki²⁾, Mariko Kobayashi²⁾, Yasuhito Tanaka³⁾, Noboru Shinkai³⁾, Shuhei Hige⁴⁾, Hiroshi Yatsuhashi⁵⁾, Shinya Nagaoka⁶⁾, Kazuaki Chayama⁶⁾, Masataka Tsuge⁶⁾, Osamu Yokosuka⁷⁾, Fumio Imazeki⁷⁾, Shuhei Nishiguchi⁸⁾, Masaki Saito⁹⁾, Kei Fujiwara⁹⁾, Nobuyuki Torii¹⁰⁾, Naoki Hiramatsu¹¹⁾, Yoshiyasu Karino¹²⁾

Key words: nucleos(t)ide analogue discontinuation of treatment hepatitis B
hepatitis relapse HBV cccDNA

Kanzo 2012; 53: 237—242

- 1) Department of Medicine, Shinshu University School of Medicine
- 2) Department of Hepatology, Toranomon Hospital
- 3) Department of Virology and Liver Unit, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences
- 4) Department of Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University
- 5) The Clinical Research Center, NHO Nagasaki Medical Center
- 6) Programs for Biomedical Research, Division of Frontier Medical Science, Department of Medicine and Molecular Science, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University
- 7) Department of Medicine and Clinical Oncology, Graduate School of Medicine, Chiba University
- 8) Division of Hepatobiliary and Pancreatic Diseases, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine
- 9) Gastroenterology Section, Nagoya Daini Red Cross Hospital
- 10) Department of Internal Medicine and Gastroenterology, Tokyo Women's Medical University
- 11) Department of Gastroenterology and Hepatology, Osaka University Graduate School of Medicine
- 12) Department of Gastroenterology, Sapporo Kosei General Hospital

*Corresponding author: etanaka@shinshu-u.ac.jp

<短 報>

ミリプラチン動注化学療法を併用したラジオ波凝固療法

今井 則博*	池田 健次	瀬古 裕也	原 祐
大野 敦司	松本 直樹	川村 祐介	保坂 哲也
小林 正宏	齋藤 聡	瀬崎ひとみ	芥田 憲夫
鈴木 文孝	鈴木 義之	荒瀬 康司	熊田 博光

緒言：これまでに肝細胞癌に対するラジオ波凝固療法（以下 RFA）の壊死巣の拡大のため、肝動脈バルーン閉塞併用、肝動脈化学塞栓術併用での RFA が開発されている。腫瘍、非腫瘍部の動脈血流を遮断する事により、血流による冷却効果を減弱し、より大きな壊死巣が得られるとされている^{1)~3)}。

第三世代白金製剤であるミリプラチンは肝動注により、腫瘍へのリピオドールの滞留と共に抗腫瘍効果を示すため、RFA 前に併用する事により、局所において腫瘍の残存する可能性を減らし、局所再発率を減少できうと考えられる。またリピオドールの動注により、動脈血流が一時的に遮断される為、血流による冷却効果が減弱し、より大きな壊死巣が得られると考えられる。

今回我々は、肝細胞癌に対してミリプラチン肝動注を併用し RFA を施行した症例を対象として、院内研究審査委員会での承認を受け、Retrospective にその有効性を検討した。

対象と方法：2010年1月より2012年1月の間、当院にて肝細胞癌に対してミリプラチン肝動注を併用し RFA を施行した11例(男性6例、女性5例)を対象とした。年齢(中央値)は77歳(59-84歳)、Child-Pughは5点：10例、6点：1例、Stage I：1例、Stage II：8例、Stage III：2例、腫瘍径(中央値)は24mm(14-43mm)、腫瘍数は単発8例、多発3例、55% (6例/11例)は再治療例であった。全症例において十分なインフォームドコンセント、書面での同意の元、ミリプラチン肝動注を併用し RFA を施行した。

治療方法として、血管造影にて標的病変の栄養血管を同定し、マイクロカテーテルを挿入。超音波ガイド下に RFA 電極を穿刺後、マイクロカテーテルよりミリプラチンを動注し、栄養血管での動脈血流の停滞が得られていることが確認出来る時点までミリプラチン動注を施行した。動注直後より RFA 凝固を施行した(Fig.)。

ミリプラチン投与量(中央値)は60mg(20-60mg)、リピオドール投与量(中央値)は3ml(1-3ml)であった。RFA 電極には展開針を用いた。Boston Scientific社 LeVeen Super slim ニードル[®] 3.0cm 3例、Angio Dynamics社 RITA Starburst[®] model 70(3cm) 6例、model 90(5cm) 2例であり、凝固方法として LeVeen 針は4段階展開にて、RITA 針は model 70 では2段階展開、model 90 では4段階展開にて凝固を施行した。治療効果として治療1週間後のダイナミックCTにおいて壊死巣を評価し、以後3-4カ月毎に局所再発、他部位再発の評価を行った。

結果：(1)全症例において一回の RFA にて標的病変に対しての十分な margin を伴う類円形の壊死巣が得られた(Table)。壊死巣の最大直径中央値は42mm(35-80mm)であり、最小直径中央値は34mm(32-60mm)であった。電極の最大展開直径と比較し最大直径で1.4倍(中央値)、最小直径で1.1倍(中央値)の壊死巣拡大が得られた。また腫瘍へのリピオドール沈着により margin の評価が容易であった。

(2)治療後の観察期間(中央値)は12カ月(3-25)であり、観察期間中に RFA 部位の局所再発を認めなかった。11例中3例に他部位での再発を認めたが、RFA 部位と同重区域での再発は認められなかった。

(3)全症例において重篤な副作用を認めず、追加治療、入院期間の延長を要する腹水増加、肝不全を認めなかった。治療前、治療1月後の Child-Pugh スコアにも変化を認めなかった。また再治療のため血管造影を

虎の門病院肝臓センター

*Corresponding author: norihiro.imai@gmail.com

\$ 利益相反申告 熊田博光、池田健次⇒大日本住友製薬(株)

<受付日2012年3月13日><採択日2012年4月5日>

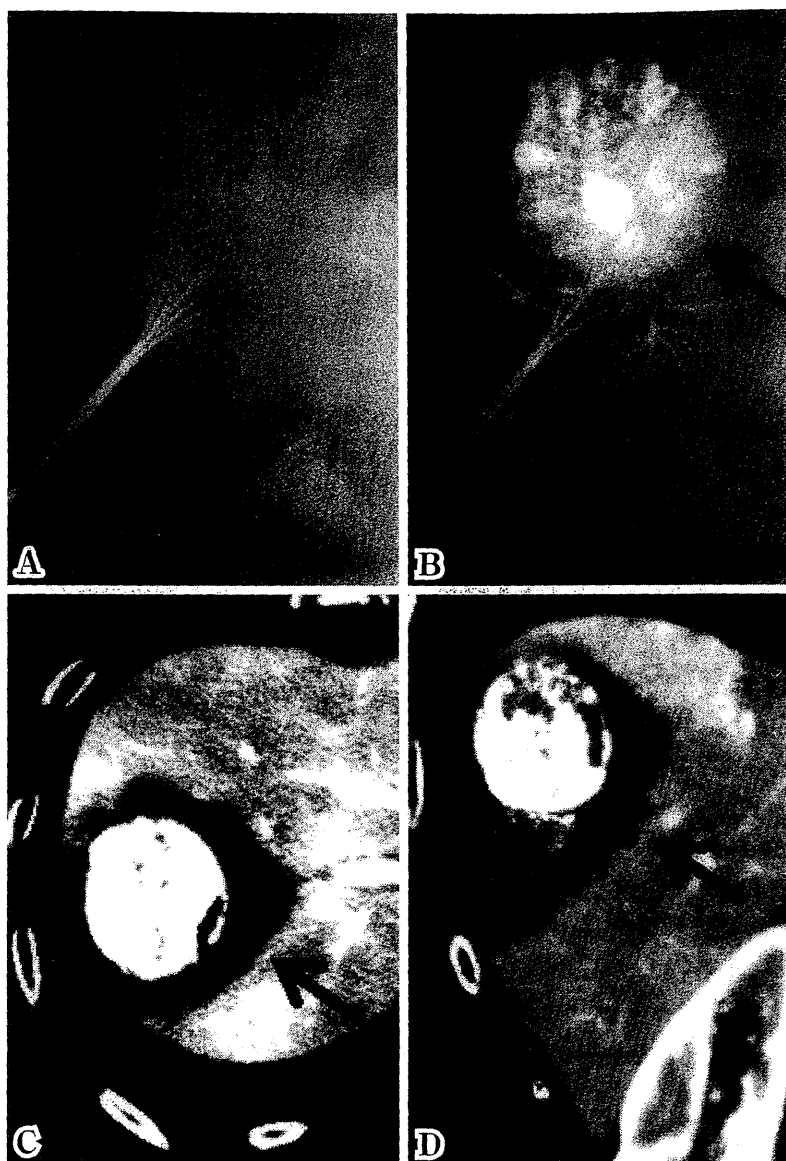


Fig. Patient No. 10

Immediately after transcatheter arterial chemotherapy using miriplatin 60 mg/lipiodol 3 ml from right hepatic artery, we performed radiofrequency ablation using RITA starburst model 90 (5 cm). (A, B) The greatest long-axis and short-axis dimensions of the area coagulated after the combination therapy were 80 mm and 60 mm, respectively. (C, D)

行った3例では動脈狭窄、動脈閉塞、動脈門脈シャント形成、肝葉萎縮などの血管障害を認めなかった。

考察：RFAは、経皮的・局所麻酔下の非侵襲治療であり、治療においては標的病変の全周囲に5mm以上の安全域を確保する事が望ましいとされている。実臨床においては1回のRFAでは十分な壊死巣が得られず、追加治療が必要になる症例が少なくない。その原因と

して壊死範囲の予測が難しく、不整形で小さな壊死範囲となってしまうことが考えられている。一度のRFAで、丸く大きな壊死巣が得られると、在院日数・経済的負担の軽減につながり、身体的侵襲の増加にもよる個人の苦痛が減少すると考えられる。

ミリプラチンは脂溶性白金製剤として白金成分の放射性と共に、全身循環への移行が微量である事が示されており、血管障害の副作用を認めず、投与による

Table Profiles of patients treated with transcatheter arterial infusion chemotherapy using Miriplatin and radiofrequency ablation

Patient No.	Gender	Age (years)	Site	Size (mm)	RFA Device	Miriplatin dosage (mg/ml)	Injection artery	Child-Pugh score (before/after)	Diameter of necrotic area (mm)	Local recurrence (month)	Same subsegment recurrence (month)	Other recurrence (month)
1	Male	59	S3	21	Super slim 30	40/2	PHA	5/5	35*32	-	-	-
2	Male	60	S8	14	Super slim 30	60/3	RHA	5/5	39*33	-	-	-
3	Female	74	S4	22	Super slim 30	60/3	RHA	5/5	36*30	-	-	+
4	Male	81	S8	28	RITA Model 70	60/3	RHA	5/5	44*38	-	-	-
5	Female	84	S8	25	RITA Model 70	40/2	RHA	5/5	42*38	-	-	+
6	Male	65	S6	20	RITA Model 70	60/3	RHA	5/5	38*34	-	-	-
7	Female	77	S8	24	RITA Model 70	20/1	RHA	5/5	42*32	-	-	-
8	Female	75	S8	25	RITA Model 70	60/3	RHA	5/5	45*44	-	-	-
9	Male	78	S6	22	RITA Model 70	24/1.2	RHA	5/5	50*34	-	-	-
10	Female	80	S8	43	RITA Model 90	60/3	RHA	5/5	80*60	-	-	+
11	Male	82	S7	35	RITA Model 90	60/3	RHA	6/6	58*48	-	-	-

Super slim 30; Boston Scientific LeVeen Super slim needle[®] 3.0 cm

RITA Model 70, Model 90; Angio Dynamics RITA Starburst needle[®] model 70 (3.0 cm), model 90 (5 cm)

Child-Pugh score were measured before and 1 month after combination therapy.

篤な副作用は少ないとされているが⁴⁾⁵⁾、局所治療との併用効果についての報告はない。今回の検討において、凝固域は類円形に最大直径で約 1.4 倍、最小直径で約 1.1 倍の凝固域拡大が得られており、ミリプラチン動注による動脈血流の遮断効果と考えられた。治療効果の評価においては、腫瘍へのリピオドール貯留により、壊死範囲と腫瘍の境界が明瞭となり、術後の安全域の評価が容易となると考えられる。また観察期間中に同亜区域内の再発を認めず、ミリプラチン動注により微小な娘結節への抗腫瘍効果が得られる可能性が示唆された。

RFA にミリプラチン肝動注を併用する事により、一回の治療で良好な壊死範囲が得られ、局所治療効果を高め再発を減らす事ができると考えられる。

索引用語：ミリプラチン、肝細胞癌、ラジオ波凝固療法

文献：1) Yamasaki T, Kurokawa F, Shirahashi H, et al. Cancer 2002; 95: 2353—2360 2) De Baere T, Bessoud B, Dromain C, et al. Am J Roentgenol 2002; 178: 53—59 3) Kobayashi M, Ikeda K, Kawamura Y, et al. Liver Int 2007; 27 (3): 353—359 4) Okusaka T, Okada S, Nakanishi T, et al. New Drugs 2004; 22: 169—176 5) Imai N, Ikeda K, Seko Y, et al. Oncology 2011; 80: 188—194

英文要旨

Combination therapy with transcatheter arterial
infusion chemotherapy using miriplatin and
percutaneous radiofrequency ablation for
hepatocellular carcinoma

Norihiro Imai*, Kenji Ikeda, Yuya Seko, Tasuku Hara,
Atsushi Ohno, Naoki Matsumoto, Yusuke Kawamura,
Tetsuya Hosaka, Masahiro Kobayashi, Satoshi Saitoh,
Hitomi Sezaki, Norio Akuta, Fumitaka Suzuki,
Yoshiyuki Suzuki, Yasuji Arase,
Hiromitsu Kumada

Miriplatin is a platinum complex developed to treat hepatocellular carcinoma (HCC) via administration into the hepatic artery as a sustained-release suspension in iodized oil. We retrospectively evaluated the efficacy of combination therapy with transcatheter arterial infusion chemotherapy using miriplatin and percutaneous radiofrequency ablation for HCC in 11 patients. Immediately after transcatheter arterial infusion chemotherapy using miriplatin, we performed radiofrequency ablation. The greatest long-axis and short-axis dimensions of the area coagulated after combination therapy were 42 mm (35-80 mm) and 34 mm (32-60 mm), respectively. During follow-up (median 12 months), there was no recurrence from the same subsegment. No serious adverse events were observed. These results suggested that using the combination therapy, it is possible to finish one treatment session for patient with HCC.

Key words: miriplatin, hepatocellular carcinoma,
radiofrequency ablation

_____ *Kanzo* 2012; 53: 351—354

Department of Hepatology, Toranomon Hospital

*Corresponding author: norihiro.imai@gmail.com

<短 報>

高齢者 C 型慢性肝炎に対するテラプレビル 1500 mg 減量投与のパイロット・スタディ

原 祐^{1)*} 芥田 憲夫¹⁾ 福島 泰斗¹⁾ 瀬古 裕也¹⁾ 川村 祐介¹⁾
 瀬崎ひとみ¹⁾ 保坂 哲也¹⁾ 小林 正宏¹⁾ 斎藤 聡¹⁾ 鈴木 義之¹⁾
 鈴木 文孝¹⁾ 荒瀬 康司¹⁾ 池田 健次¹⁾ 小林万利子²⁾ 熊田 博光¹⁾

はじめに：Telaprevir (TVR)/Peginterferon (PEG)/Ribavirin (RBV) の三剤併用療法は治療期間も短く、高い治癒率が期待される反面、貧血、皮膚障害といった問題点を伴っている^{1)~4)}。我が国の高齢化社会に伴い、C 型肝炎患者も高齢化してきており、高齢者における三剤併用療法により安全かつ効果的な投与方法が検討されるべきである。

対象と方法：当院において三剤併用療法 (TVR12 週/PEG+RBV24 週) を導入した genotype1b・高ウイルス量 (≥ 5.0 LogIU/ml) の 66 歳以上の慢性肝炎症例で、治療開始後 12 週間以上経過した 21 例についての経時的なウイルス陰性化率、ヘモグロビン値 (Hb) の推移について検討した。なおウイルス陰性は、COBAS-TaqManPCR[®]法にて検出せずと定義した。

結果：患者背景は年齢中央値 68 歳 (66-73 歳)、男性/女性 = 12/9 例、初回/再治療 = 4/17 例、Core aa70/91 置換 double wild/non-double wild = 7/14 例、IL28B

rs8099917 TT/non-TT = 13/8 例、HCV-RNA 中央値 6.5 LogIU/mL (5.1-7.3 LogIU/ml), WBC 中央値 4000 /mm³ (2900-7300 /mm³), Hb 中央値 13.9 g/dl (12.5-16.1 g/dl)、血小板中央値 15.2×10^4 /mm³ ($10.2-21.4 \times 10^4$ /mm³) であった。治療は TVR2250/1500 mg = 4/17 例で開始し、TVR1500 mg 群の中で RBV のみ開始時から減量した症例が 8 例、PEG と RBV 両剤を開始時から減量した症例が 5 例存在した。薬物投与量は主治医の判断で決定し、TVR 2250 mg は 1 日 3 回投与 (1 回 750 mg)、TVR 1500 mg は 1 日 2 回投与 (1 回 750 mg) とした。なお PEG と RBV は体重あたりの投与量を通常量とした。TVR 治療継続例における HCV RNA 陰性化率は 1 週/2 週/4 週/8 週/12 週 = 14% (3/21 例) /33% (7/21 例) /85% (17/20 例) /100% (19/19 例) /100% (16/16 例) であり、TVR 投与量別では 2250 mg/1500 mg = 1 週 : 0 (0/4 例) /18% (3/17 例)、2 週 : 25% (1/4 例) /35% (6/17 例)、4 週 : 75% (3/4 例) /88% (14/16 例)、8 週 : 100% (4/4 例) /100% (15/15 例)、12 週 : 100% (2/2 例) /100% (14/14 例) であった。TVR1500 mg 群も 8 週以降で HCV RNA 陰性化率 100% を達成した。TVR 中止に至った副作用の内訳は皮膚症状/貧血/食欲不振 = 2/2/1 例の計 5 例で、TVR2250 mg 群の 50% (2/4 例) に対して、1500 mg 群では 18% (3/17 例) であった。なお TVR のみ中止した 2 例は、RBV 併用療法は継続しており 12 週の時点で HCV RNA 陰性化を維持出来ていた (Table)。治療継続例における経過中の Hb 減少量中央値は、1 週/2 週/4 週/8 週/12 週 = 0.2/1.6/2.7/3.3/3.3 g/dl であった。TVR 投与量別に見た Hb 減少量中央値は 2250 mg/1500 mg = 1 週 (0.6/0.2 g/dl)、2 週 (3.4/1.5 g/dl)、4 週 (4.2/2.5 g/dl)、8 週 (4.6/3.2 g/dl)、12 週 (6.4/3.1 g/dl) であり、2 週以降は 2250 mg 群は 1500 mg 群と比較して有意に減少していた (Mann-Whitney U-test) (Fig.)。)

1) 虎の門病院肝臓センター

2) 虎の門病院肝臓研究室

*Corresponding author: nottask_tasuku@yahoo.co.jp

\$ 利益相反申告：芥田 憲夫 (株) エスアールエル
熊田 博光 (株) エスアールエル、

MSD (株)、 Bristol-Myers Squibb (株)、田辺三菱製薬 (株)、(株) ファーマインターナショナル、大日本住友製薬 (株)、電通サンドラー・アンド・ハネシー (株)

<受付日 2012 年 7 月 5 日 > <採択日 2012 年 8 月 16 日 >

Table Profile at the start of triple therapy of telaprevir with peginterferon and ribavirin, and treatment response.

Case	Age (yr)	Sex	TVR dose (mg)	*Reduction of RBV (mg)	*Reduction of PEG-IFN (μg)	IL28B rs8099917	Core aa70	Previous response	HCV RNA (LogIU/ml)	1W	2W	4W	8W	12W	side effect
1	69	M	1500	-400	-20	TT	Wild	non response	6.3	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
2	69	M	1500	-400	-20	TT	Wild	non response	7.3	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	
3	73	M	1500	-400	-20	TT	Wild	relapse	7.0	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	
4	68	F	1500	-200	-20	TG	Mut	non response	7.0	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
5	68	M	1500	-200	-20	TT	Wild	relapse	6.6	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
6	70	M	1500	-400	0	TT	Wild	relapse	6.0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
7	69	F	1500	-200	0	TG	Mut	relapse	6.7	(+)	(+)	(-)			Skin rash
8	67	F	1500	-200	0	TT	Mut	naïve	6.3	(+)	(-)	(-)	(-)		Anemia
9	67	F	1500	-200	0	TG	Wild	relapse	5.6	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
10	69	F	1500	-200	0	TT	Wild	relapse	6.9	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
11	66	M	1500	-200	0	TG	Mut	naïve	5.8	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	
12	67	F	1500	200	0	TT	Wild	relapse	6.9	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
13	69	F	1500	-200	0	TT	Wild	non response	7.3	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
14	68	M	1500	0	0	TT	Wild	relapse	7.0	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	
15	68	M	1500	0	0	TT	Wild	non response	5.9	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
16	69	F	1500	0	0	TG	Mut	relapse	5.1	(-)	(-)				Anemia
17	69	F	1500	0	0	TG	Mut	non response	6.8	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
18	66	M	2250	0	-20	TT	Mut	relapse	7.0	(+)	(+)	(+)	(-)		Asitia
19	68	M	2250	0	0	TT	Wild	naïve	6.6	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
20	66	M	2250	0	0	TG	Mut	relapse	6.4	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	
21	68	M	2250	0	0	GG	Mut	naïve	5.3	(+)	(-)	(-)	(-)		Skin rash

Case 8, 18: TVR was discontinued due to side effect, but RBV combination therapy was continued.

Case 7, 16, 21: Triple therapy was discontinued due to side effect.

*The reduction dose at the start of treatment was indicated, in comparison to the standard dose of PEG-IFN and RBV adjusted according to body weight.

TVR = telaprevir PEG-IFN = peginterferon RBV = ribavirin Mut = mutant

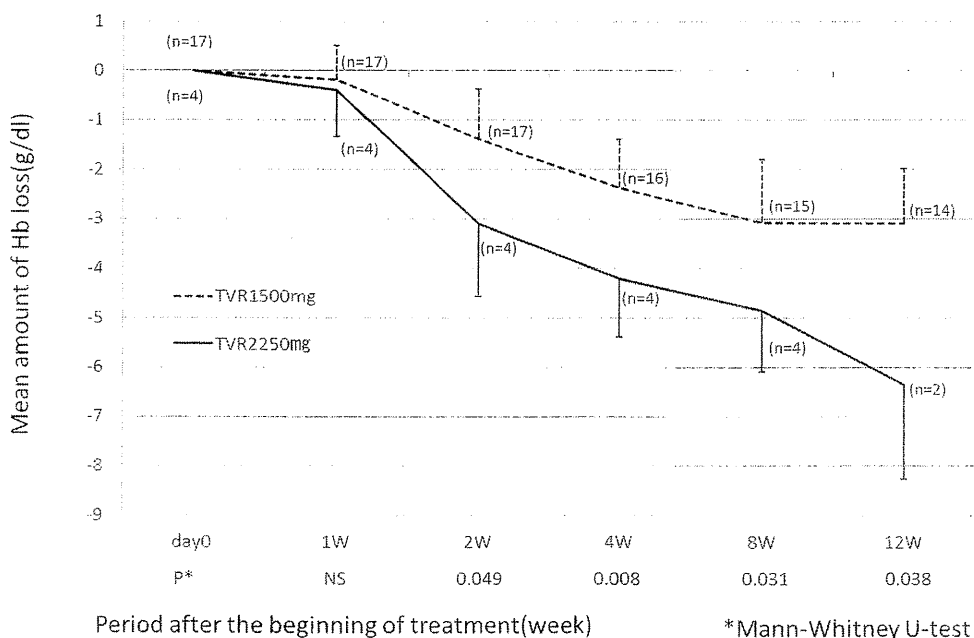


Fig. Loss of hemoglobin in the patients who received telaprevir, peginterferon and ribavirin triple treatment during 12 weeks.

考察：66 歳以上の高齢者において，TVR 1500 mg 減量投与は 2250 mg と比較して貧血の副作用を軽減することが出来た。今回の結果から，TVR 1500 mg 減量投与は高齢化社会における安全かつ効果的な抗ウイルス療法の一選択肢になり得ることが示唆された。今回の成績は，あくまで少数例による治療開始後 12 週間までの成績であるため，より多数例での最終的な SVR 率も含めた検討が今後必要である。

索引用語：テラプレビル，高齢者，HCV

文献：1) Kumada H, Toyota J, Okanou T, et al. *J Hepatol* 2012; 56: 78—84 2) Hayashi N, Okanou T, Tsubouchi H, et al. *J Viral Hepat* 2012; 19: 134—142 3) Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, et al. *Hepatology* 2010; 52: 421—429 4) Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, et al. *Hepatology* 2011; 53: 415—421

英文要旨

A pilot study of triple therapy with telaprevir 1500 mg, peginterferon and ribavirin for elderly HCV patients

Tasuku Hara^{1)*}, Norio Akuta¹⁾, Taito Fukushima¹⁾, Yuya Seko¹⁾, Yusuke Kawamura¹⁾, Hitomi Sezaki¹⁾, Tetsuya Hosaka¹⁾, Masahiro Kobayashi¹⁾, Satoshi Saito¹⁾, Yoshiyuki Suzuki¹⁾, Fumitaka Suzuki¹⁾, Yasuji Arase¹⁾, Kenji Ikeda¹⁾, Mariko Kobayashi²⁾, Hiromitsu Kumada¹⁾

We evaluated the triple therapy with telaprevir (TVR) 1500 mg, peginterferon and ribavirin treatment during 12 weeks on-treatment for elderly patients with chronic hepatitis infected HCV genotype 1b. 17 patients received triple therapy with TVR 1500 mg, and the other 4 patients received TVR 2250 mg. HCV-RNA negative rates in TVR 1500 mg could be achieved 100% after 8 weeks. Furthermore, decreases of hemoglobin levels in TVR 1500 mg were significantly milder than those in TVR 2250 mg. These results suggest that triple therapy with TVR 1500 mg might be one of safety and useful treatment regimens for elderly HCV patients.

Key words: telaprevir, HCV, elderly patients

Kanzo 2012; 53: 624—626

1) Department of Hepatology, Toranomon Hospital, Tokyo, JAPAN

2) Liver Research Laboratory, Toranomon Hospital, Tokyo, JAPAN

*Corresponding author: nottask_tasuku@yahoo.co.jp

Serum manganese superoxide dismutase and thioredoxin are potential prognostic markers for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma

Tsutomu Tamai, Hirofumi Uto, Yoichiro Takami, Kouhei Oda, Akiko Saishoji, Masashi Hashiguchi, Kotaro Kumagai, Takeshi Kure, Seiichi Mawatari, Akihiro Moriuchi, Makoto Oketani, Akio Ido, Hirohito Tsubouchi

Tsutomu Tamai, Hirofumi Uto, Yoichiro Takami, Kouhei Oda, Akiko Saishoji, Masashi Hashiguchi, Kotaro Kumagai, Takeshi Kure, Seiichi Mawatari, Akihiro Moriuchi, Makoto Oketani, Akio Ido, Hirohito Tsubouchi, Department of Digestive and Lifestyle Related Diseases, Human and Environmental Sciences, Health Research, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

Author contributions: Tamai T and Takami Y performed the majority of experiments; Uto H and Tsubouchi H were involved in editing the manuscript; Uto H, Oda K, Saishoji A, Hashiguchi M, Kumagai K, Kure T, Mawatari S, Moriuchi A, Oketani M and Ido A coordinated the collection of and provided all the human material for this work; Tamai T and Uto H designed the study and wrote the manuscript.

Supported by (in part) Grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan, and the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan

Correspondence to: Hirofumi Uto, MD, PhD, Department of Digestive and Lifestyle Related Diseases, Human and Environmental Sciences, Health Research, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544,

Japan. hirouto@m2.kufm.kagoshima-u.ac.jp

Telephone: +81-99-2755326 Fax: +81-99-2643504

Received: April 26, 2011 Revised: August 17, 2011

Accepted: October 14, 2011

Published online: November 28, 2011

Abstract

AIM: To evaluate the clinical significance of oxidative stress markers in patients with hepatitis C virus (HCV)-related hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Sixty-four consecutive patients who were admitted to Kagoshima University Medical and Dental Hospital were enrolled in this retrospective study. All patients had chronic liver disease (CLD) due to infec-

tion with HCV. Thirty patients with HCV-related HCC, 34 with HCV-related CLD without HCC (non-HCC), and 20 healthy volunteers (HVs) were enrolled. Possible associations between serum manganese superoxide dismutase (MnSOD) and thioredoxin (TRX) levels and clinical parameters or patient prognosis were analyzed over a mean follow-up period of 31.7 mo.

RESULTS: The serum MnSOD levels were significantly higher in patients with HCV-related HCC than in patients without HCC ($P = 0.03$) or HVs ($P < 0.001$). Similarly, serum TRX levels were also significantly higher in patients with HCV-related HCC than in patients without HCC ($P = 0.04$) or HVs ($P < 0.01$). However, serum levels of MnSOD and TRX were not correlated in patients with HCC. Among patients with HCC, the overall survival rate (OSR) was lower in patients with MnSOD levels ≥ 110 ng/mL than in patients with levels < 110 ng/mL ($P = 0.01$), and the OSR tended to be lower in patients with TRX levels < 80 ng/mL ($P = 0.05$). In addition, patient prognosis with HCC was poorest with serum MnSOD levels ≥ 110 ng/mL and serum TRX levels < 80 ng/mL. Furthermore, a multivariate analysis using a Cox proportional hazard model and serum levels of five factors (MnSOD, prothrombin time, serum albumin, serum α -fetoprotein (AFP), and serum des- γ -carboxy prothrombin) revealed that MnSOD levels ≥ 110 ng/mL (risk ratio: 4.12, 95% confidential interval: 1.22-13.88, $P = 0.02$) and AFP levels ≥ 40 ng/mL (risk ratio: 6.75; 95% confidential interval: 1.70-26.85, $P < 0.01$) were independent risk factors associated with a poor patient prognosis.

CONCLUSION: Serum MnSOD and TRX levels are potential clinical biomarkers that predict patient prognosis in HCV-related HCC.

© 2011 Baishideng. All rights reserved.

Key words: Oxidative stress; Manganese superoxide dismutase; Thioredoxin; Hepatitis C virus; Hepatocellular carcinoma

Peer reviewers: Assy Nimer, MD, Assistant Professor, Liver Unit, Ziv Medical Centre, BOX 1008, Safed 13100, Israel; Andre Castro Lyra, MD, Associate Professor, Federal University of Bahia, Head, Gastro-Hepatology Unit, Hospital Sao Rafael, Monte Tabor Foundation, Salvador, Bahia 40296 720, Brazil

Tamai T, Uto H, Takami Y, Oda K, Saishoji A, Hashiguchi M, Kumagai K, Kure T, Mawatari S, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Serum manganese superoxide dismutase and thioredoxin are potential prognostic markers for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17(44): 4890-4898 Available from: URL: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v17/i44/4890.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v17.i44.4890>

INTRODUCTION

As a significant cause of global cancer morbidity and mortality, hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth- and seventh-most frequently diagnosed cancer worldwide in men and women, respectively, and is the second- and sixth-most frequent cause of cancer deaths in men and women, respectively^[1]. HCC is most frequently caused by persistent infection with hepatitis C or B virus. Early HCC diagnosis and better treatments have helped to improve the prognosis for patients with HCC. Also, interferon (IFN)-based treatments not only eliminate hepatitis C virus (HCV) infection, but also prevent HCC in patients with chronic hepatitis C (CHC)^[2]. However, IFN-based therapies do not always effectively eliminate HCV infection or prevent HCC. Thus, biomarkers that are indicative of HCC pathological condition would have many clinical benefits, including aiding in the selection of the most appropriate treatment for a patient's disease.

Oxidative stress results from an imbalance in the production of reactive oxygen species (ROS) and the antioxidative defenses that maintain a cellular redox state. ROS include superoxide anions, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and nitric oxide, all of which are indispensable elements in many biochemical processes^[3]. ROS are mainly derived from Kupffer and inflammatory cells in the liver^[4], and upon exposure to other cells are thought to induce apoptosis, necrosis, inflammation, immune responses, fibrosis and tissue regeneration^[5]. In liver disease, there is an overproduction of ROS from endogenous sources such as the mitochondria, peroxisomes, and activated inflammatory cells. In particular, ROS of mitochondrial origin were recently reported to be elevated in patients with alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis (NASH)^[6,7] and HCV-related chronic liver disease (CLD)^[8]. Conversely, cells are protected from oxidative stress by intracellular antioxidants such as glutathione (GSH) and thioredoxin (TRX) and by various antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), GSH peroxidase, catalase, and heme oxygenase-1^[9-11]. Collectively, the rela-

tive expression levels of these molecules may serve as biomarkers for various liver diseases, including HCV-related HCC.

Manganese SOD (MnSOD) is an antioxidant enzyme that catalyzes the dismutation of the highly reactive superoxide anion to O₂ and to the less reactive species H₂O₂. We have previously demonstrated that MnSOD expression was induced in primary cultured hepatocytes that were loaded with hydrogen peroxide *in vitro* and that serum MnSOD levels can be used to distinguish between NASH and simple steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease^[7]. However, the clinical significance of serum MnSOD levels in HCV-related CLD has not been fully investigated.

TRX was originally discovered in *Escherichia coli* as a proton donor for ribonucleotide reductase^[12]. Subsequently, the human TRX gene was cloned as an adult T-cell leukemia-derived factor and was originally described as an interleukin-2 receptor inducer present in the cell culture supernatant of human T-lymphotropic virus type-1 -transformed cells^[13]. TRX expression is induced by various oxidative stressors in patients with acquired immunodeficiency syndrome^[14], Sjögren's syndrome^[15], rheumatoid arthritis^[16], and malignant neoplasms^[17,18]. Previous studies have reported that serum TRX is an oxidative stress marker and that serum TRX levels increase in patients with HCV-related CLD during liver fibrosis progression^[19]. In addition, serum TRX levels are reported to be elevated in patients with NASH compared to patients with simple steatosis^[20]. However, the clinical significance of elevated TRX levels among patients infected with HCV in relation to HCC diagnosis and prognosis has not been elucidated.

In this study, we aimed to clarify the clinical significance of serum levels of MnSOD and TRX in patients with HCV-related CLD, and in particular among patients with HCC.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Sixty-four consecutive patients who were admitted to Kagoshima University Medical and Dental Hospital between December 2006 and November 2008 were enrolled in this retrospective study. All patients had CLD due to an HCV infection and were diagnosed with HCC (30 patients; HCC group) or without HCC (34 patients; non-HCC group). Twenty healthy volunteers (HVs) were also enrolled in this study.

In this study, HCC was diagnosed based on findings from abdominal ultrasound, abdominal computed tomography, and serum levels of α -fetoprotein (AFP) and des- γ -carboxy prothrombin (DCP, also known as PIVKA-II). Patients were excluded from this study if they were positive for hepatitis B surface antigen; other types of hepatitis, including autoimmune hepatitis and alcoholic liver disease; or other malignancies.

The study endpoint was patient death, the available follow-up date, or December 31, 2010. Patient follow-up

periods ranged from 5.1 to 44.6 mo, with a mean observation time of 31.7 mo. Informed consent was obtained from all study patients and healthy controls. This study was approved by the ethical committees of Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences and Kagoshima University Medical and Dental Hospital.

Laboratory markers

The clinical laboratory parameters assessed included platelet count (Plt), prothrombin time (PT), albumin (Alb), total bilirubin (T-Bil), alanine aminotransferase (ALT), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP), AFP and DCP. The serologically defined HCV genotype (HCV serotype) was determined using a serological genotyping assay kit (Immunocheck F-HCV Grouping; International Reagents Co., Tokyo, Japan). If the HCV serotype could not be determined, the HCV genotype was evaluated using the HCV Core Genotype assay (SRL, Tokyo, Japan). HCV genotype 1b was included with serotype I, while genotypes 2a and 2b were included with serotype II. No other HCV genotype was detected in this study population. HCV RNA titers were quantified using either quantitative RT-PCR (Amplicor monitor version 2, Roche, Tokyo, Japan) or the Cobas TaqMan PCR assay (Roche, Tokyo, Japan). Patients were categorized as having a high viral load if their values were 100 KIU/mL or greater based on quantitative RT-PCR analysis, or 5 log IU/mL or more based on the Cobas TaqMan PCR assay.

Evaluation of clinical stage

Hepatic function was assessed in the HCC group using Child-Pugh staging based on both clinical (ascites and encephalopathy) and laboratory (Alb, T-Bil, and PT) parameters. HCC clinical stage was assessed based on a patient's Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) score, which was calculated by adding points for the following four variables: Child-Pugh stage, tumor morphology, AFP value, and portal venous invasion^[21,22]. The Japan Integrated Staging (JIS) system^[23,24], developed by the Liver Cancer Study Group of Japan and based on a combination of Child-Pugh stage and HCC TNM classification, was used to clinically stage HCC.

Serum MnSOD and TRX levels

Serum was obtained from peripheral blood samples by centrifugation at 4000 g for 5 min at room temperature. Serum samples were frozen at -80 °C until further use. Serum MnSOD or TRX levels were measured using the Human Superoxide Dismutase 2 (AbFRONTIER, Seoul, Korea) and human thioredoxin (Redox Bio Science, Kyoto, Japan) ELISAs, respectively.

Statistical analysis

Results are expressed as the mean and standard deviation. *P* values less than 0.05 were regarded as statistically significant. Statistical analyses were performed using the Fischer's exact test or the Mann-Whitney *U* test, as appropriate. The area under the curve (AUC) was calculated for the receiver operating characteristic (ROC) curve in order to measure the overall accuracy of the test. The sensitiv-

Table 1 Patient clinical characteristics

Characteristics	Non-HCC group (n = 34)	HCC group (n = 30)	<i>P</i> value ¹
Age (yr)	62.3 ± 11.0	72.2 ± 7.5	< 0.001
Sex (male/female)	10/24	21/9	< 0.01
Plt (× 10 ⁴ /μL)	17.0 ± 5.5	10.3 ± 5.2	< 0.001
PT (%)	99.7 ± 13.3	77.6 ± 11.8	< 0.001
Alb (g/dL)	4.3 ± 0.4	3.6 ± 0.6	< 0.001
T-Bil (mg/dL)	0.8 ± 0.3	1.5 ± 0.8	< 0.001
ALT (IU/L)	44.8 ± 30.2	52.0 ± 28.2	0.12
γ -GTP (IU/L)	31.3 ± 16.1	56.2 ± 44.3	< 0.01
AFP (ng/mL)	7.2 ± 22.8	85.9 ± 197.6	< 0.001
DCP (mAU/mL)	22.8 ± 14.7	485.5 ± 1982.6	0.001
HCV serotype group (1/2)	18/10 (n = 28)	21/3 (n = 24)	0.06
HCV RNA level (high/low)	28/5 (n = 33)	21/4 (n = 25)	0.99

Data are shown as the mean ± SD. *n*: Number of patients or the number of samples analyzed. ¹Differences between mean values were evaluated using either the Fischer's exact test or the Mann-Whitney *U* test, as appropriate. Plt: Platelet count; PT: Prothrombin time; Alb: Albumin; T-Bil: Total bilirubin; ALT: Alanine aminotransferase; γ -GTP: γ -glutamyl transpeptidase; AFP: alpha-fetoprotein; DCP: des- γ -carboxy prothrombin; HCV: Hepatitis C virus; RNA: Ribonucleic acid.

ity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of diagnostic test were additionally determined according to the protocol described previously^[25]. Differences among the three groups were evaluated using the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison tests. Correlation coefficients were calculated using Spearman's rank correlation analysis. The Kaplan-Meier method was used to estimate death for each parameter that had been identified at enrollment, and the death distribution curves were compared using the log-rank test. Univariate and multivariate analyses of patient outcome risk ratios were performed using Cox's proportional hazards regression analyses. All statistical analyses were conducted using PASW Statistics v. 18 (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS

Patient characteristics and classification according to the presence of hepatocellular carcinoma

Table 1 summarizes the baseline clinical characteristics of the 64 patients who were classified based on the presence or absence of HCC. Age, sex, and clinical laboratory parameters, including Plt, PT, Alb, T-Bil, γ -GTP, AFP and DCP, were significantly different between these two groups.

Serum MnSOD and TRX levels in hepatocellular carcinoma patients

Serum MnSOD levels were significantly higher in patients with HCC compared to patients without HCC (*P* = 0.03) and HVs (*P* < 0.001) (Figure 1A). The serum TRX levels were also significantly higher in the HCC group compared to the non-HCC group (*P* = 0.04) and HV group (*P* < 0.01) (Figure 1B). However, there was no correlation between these two markers in the HCC group (*P* = 0.28, *r* = 0.20) (Figure 1C).

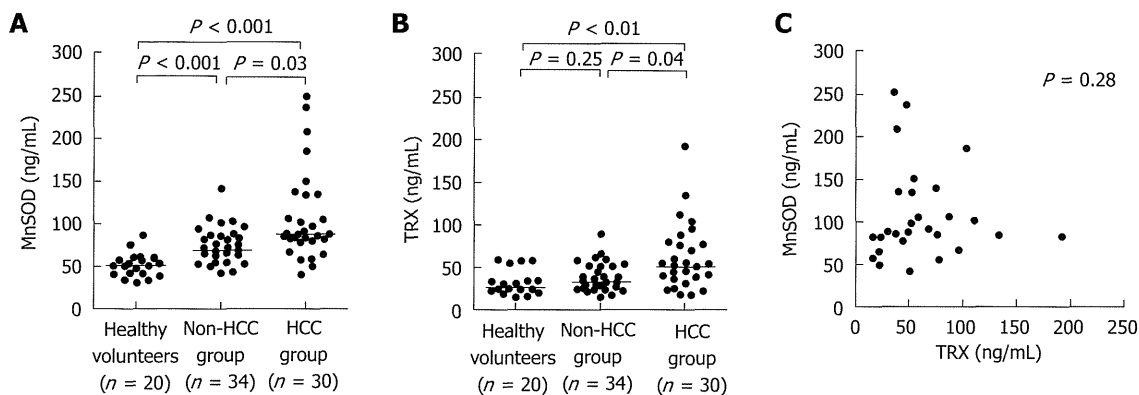


Figure 1 Serum levels of manganese superoxide dismutase and thioredoxin in the hepatocellular carcinoma, non-hepatocellular carcinoma and healthy volunteer groups. A: Serum manganese superoxide dismutase (MnSOD) levels were significantly higher in the hepatocellular carcinoma (HCC) group than in either the non-HCC group ($P = 0.03$) or the healthy volunteers (HV) group ($P < 0.001$); B: Serum thioredoxin (TRX) levels were also significantly higher in the HCC group than in either the non-HCC group ($P = 0.04$) or the HV group ($P < 0.01$); C: No significant correlation was detected between serum MnSOD and TRX levels in the HCC group.

Table 2 Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of manganese superoxide dismutase and α -fetoprotein serum levels for diagnosis of hepatocellular carcinoma in all patients (%)

Factors	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Accuracy
MnSOD (≥ 110 ng/mL)	26.7	97.1	88.9	60.0	64.1
AFP (≥ 40 ng/mL)	33.3	97.1	90.9	62.3	67.2
Combination ¹	46.7	94.1	87.5	66.7	71.9

¹MnSOD ≥ 110 ng/mL and/or AFP ≥ 40 ng/mL. PPV: Positive predictive value; NPV: Negative predictive value; MnSOD: Manganese superoxide dismutase; AFP: α -fetoprotein.

Table 3 Correlation between serum manganese superoxide dismutase or thioredoxin levels and laboratory data in the hepatocellular carcinoma group

Factors	HCC group ($n = 30$)			
	Serum MnSOD levels		Serum TRX levels	
	Correlation coefficient	P value	Correlation coefficient	P value
Age (yr)	-0.97	0.61	0.11	0.55
Plt ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	0.03	0.89	0.66	< 0.001
PT (%)	-0.36	0.05	0.12	0.53
Alb (g/dL)	-0.63	< 0.001	0.19	0.33
T-Bil (mg/dL)	0.25	0.18	0.05	0.79
ALT (IU/L)	0.12	0.52	0.15	0.42
γ -GTP (IU/L)	0.30	0.11	0.28	0.13
AFP (ng/mL)	0.38	0.04	0.11	0.57
DCP (mAU/mL)	0.57	0.001	0.12	0.52

P values were assessed by Spearman's rank correlation analysis. MnSOD: Manganese superoxide dismutase; TRX: Thioredoxin; HCC: Hepatocellular carcinoma; Plt: Platelet count; PT: Prothrombin time; Alb: Albumin; T-Bil: Total bilirubin; ALT: Alanine aminotransferase; γ -GTP: γ -glutamyl transpeptidase; AFP: α -fetoprotein; DCP: des- γ -carboxy prothrombin.

Diagnostic value of serum MnSOD and TRX levels for patients with hepatocellular carcinoma and hepatitis C virus infection

Serum AFP and DCP concentrations are established diagnostic markers for HCC. To evaluate the utility of Mn-

SOD and TRX for the diagnosis of HCC, we measured AFP and DCP expression in addition to MnSOD and TRX expression. In an AUC-ROC analysis, AFP was the strongest diagnostic marker for HCC (AUC-ROC, 0.90). AUC-ROCs for MnSOD, TRX and DCP were 0.73, 0.77 and 0.77, respectively. Additional analyses showed that the accuracy of AFP (≥ 40 ng/mL) for diagnosis of HCC was higher than that of MnSOD (≥ 110 ng/mL) (Table 2), while the combination of AFP and MnSOD was a more accurate marker of HCC than either marker alone.

Association of serum MnSOD or TRX levels with laboratory data in the HCC group

Serum MnSOD levels for the 30 patients in the HCC group were positively correlated with serum AFP and DCP levels and were negatively correlated with serum Alb levels (Table 3). Serum MnSOD levels were also significantly higher in patients with two or more HCC tumors than in patients with a single HCC tumor [average \pm SD (ng/mL), 125.4 ± 50.9 vs 87.4 ± 48.8 , $P = 0.008$], although HCC tumor size was not associated with serum MnSOD levels. In addition, HCC patient serum MnSOD levels increased in parallel with the Child-Pugh stage, CLIP score and JIS score (Figure 2A-C). In contrast, serum TRX levels were only associated with platelet counts (Table 3). Serum TRX levels were not associated with HCC tumor number or size. Furthermore, there were no significant correlations between serum TRX levels for various scores (Figure 2D-F).

Overall survival rate based on serum MnSOD or TRX levels in the HCC group

In the HCC group, the overall patient survival rate was significantly lower ($P = 0.01$) in patients with MnSOD levels ≥ 110 ng/mL compared to patients with levels < 110 ng/mL (Figure 3A). In addition, the overall survival rate tended to be lower ($P = 0.05$) in patients with TRX levels < 80 ng/mL compared to those with levels ≥ 80 ng/mL (Figure 3B). Furthermore, among all HCC groups, patients who had both serum MnSOD levels ≥ 110

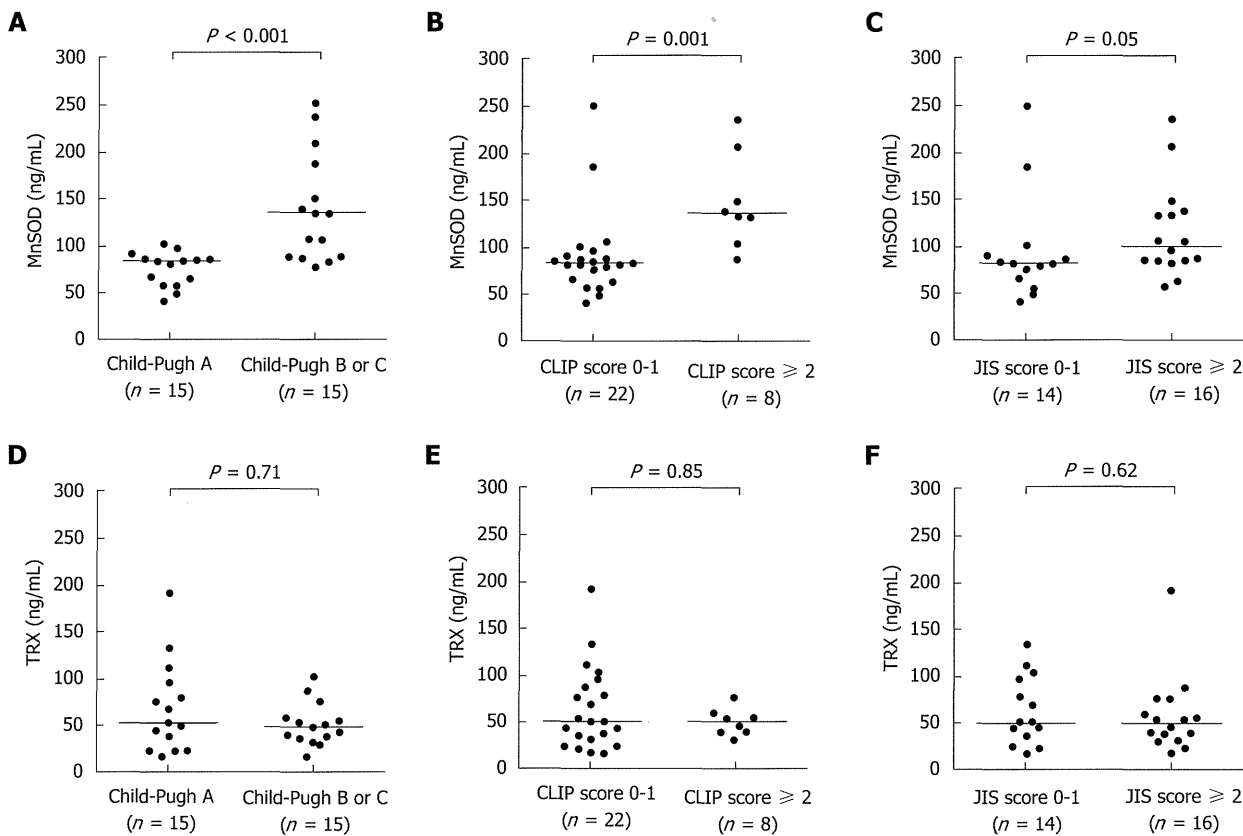


Figure 2 Clinical significance of serum manganese superoxide dismutase and thioredoxin levels in hepatocellular carcinoma. In the hepatocellular carcinoma (HCC) group, differences in serum manganese superoxide dismutase (MnSOD) and thioredoxin (TRX) levels were evaluated based on Child-Pugh stage, cancer of the liver Italian program (CLIP) score and Japan integrated staging (JIS) score. A: Serum MnSOD levels were significantly higher in patients with Child-Pugh B or C compared to those with Child-Pugh A ($P < 0.001$); B: Serum MnSOD levels in patients with a CLIP score of 2 or greater were significantly higher compared to levels in patients with a CLIP score of 0 or 1 ($P = 0.001$); C: In addition, serum MnSOD levels tended to be higher in patients with a JIS score of 2 or greater compared to patients with a JIS score of 0 or 1 ($P = 0.05$); D-F: In contrast, serum TRX levels were not significantly different based on Child-Pugh stage, CLIP score or JIS score.

ng/mL and TRX levels < 80 ng/mL had a significantly poorer prognosis. Conversely, patients with a serum TRX level ≥ 80 ng/mL had a favorable prognosis, regardless of their serum MnSOD level (Figure 3C).

In addition to serum MnSOD and TRX levels, other possible prognostic factors were also investigated in the HCC group. A univariate analysis (log-rank test) revealed that the survival rate was significantly different between patients with high and low levels of MnSOD, PT, Alb, AFP and DCP, but not other factors such as TRX (Table 4). A multivariate analysis using a Cox proportional hazard model and five markers (MnSOD, PT, Alb, AFP and DCP) selected based on the results of the univariate analysis revealed that MnSOD levels ≥ 110 ng/mL and AFP levels ≥ 40 ng/mL were independent risk factors that were associated with a poor patient prognosis (Table 5). In addition, similar results were obtained from a similar multivariate analysis using the same five factors and TRX, supporting the finding that TRX is not an independent risk factor associated with HCC prognosis. Furthermore, patient Child-Pugh stage, CLIP score and JIS score, which were calculated based on several factors including clinical symptoms and laboratory data, were also prognostic factors for patients with HCC (Table 4). A multivariate analysis using the three markers of MnSOD, Child-Pugh

stage and CLIP score indicated that Child-Pugh stage was also a significant prognostic factor (risk ratio: 6.19, 95% confidential interval: 1.33-28.95, $P = 0.02$).

DISCUSSION

HCV infection is the most important known contributor to the etiology of HCC. An increasing incidence of HCC has been largely attributed to a rise in HCV infections in the general population during the last 50 to 60 years^[26]. During HCV infection, ROS production increases and persists throughout the infection. In addition, ROS are thought to play a major role in the pathogenesis of chronic inflammatory changes in the liver, leading to increased hepatic fibrosis and decreased hepatic function. In this study, we have shown that both serum MnSOD and TRX levels are elevated in patients with HCV-related HCC, with no correlation between these two markers. In addition, serum MnSOD and TRX levels were a useful predictor of overall patient survival. Serum MnSOD and TRX levels are reported to be biomarkers of oxidative stress in several diseases, including liver disease^[7,14,17,19,27-29]. There were a small number of enrolled patients in this study and other contributors to liver diseases such as chronic hepatitis B infection should be further evaluated. However, our