

**C型慢性肝炎に対するインターフェロンおよび  
リバビリン併用療法の治療効果に関する検討  
——治療効果予測因子の解析と末梢血リンパ球  
Th1/Th2細胞比率の動態について——**

会澤亮一 安部 宏 松岡美佳  
西野博一 相澤良夫

東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科

(受付 平成15年10月14日)

**THE EFFICACY OF A COMBINATION THERAPY WITH  
INTERFERON-ALFA 2b AND RIBAVIRIN FOR CHRONIC HEPATITIS C  
—— ANALYSIS OF FACTORS ASSOCIATED WITH A SUSTAINED RESPONSE AND  
THE SIGNIFICANCE OF Th1/Th2 RATIO ——**

Ryoichi AIZAWA, Hiroshi ABE, Mika MATSUOKA,  
Hirokazu NISHINO, and Yoshio AIZAWA

*Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine,  
The Jikei University School of Medicine*

Although interferon-alfa monotherapy results in a sustained virologic clearance in some patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection, combination therapy with interferon-alfa 2b and ribavirin might be more effective. However, the factors associated with a sustained response in this combination therapy are unclear. Ribavirin shows immune-modulatory effects that might participate in the clearance of HCV. The aims of this study were to assess the efficacy of a regimen combining ribavirin and high-dose interferon for 24 weeks, to determine factors associated with a sustained virologic response, and to examine whether the T helper (Th) 1 cell/Th 2 cell ratio is correlated with treatment efficacy. The efficacy of combination therapy was assessed in 64 patients with chronic HCV infection (43 with genotype 1b and 21 with genotype 2a/2b). The virologic response was defined as sustained when the polymerase chain reaction was negative for HCV RNA 24 weeks after the end of therapy. The rate of sustained response was 46.9% among all patients (30 of 64 patients), 23.3% (10 of 43 patients) in patients with genotype 1b, and 95.2% (20 of 21 patients) in patients with genotype 2a/2b. Univariate analysis showed that genotype 2a/2b and a polymerase chain reaction negative for HCV RNA 4 weeks after the start of therapy were associated with a sustained virologic response. However, the Th1/Th2 ratio was not correlated with a sustained virologic response.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2004 ; 119 : 87-98)

Key words: chronic hepatitis C, interferon- $\alpha$ 2b, ribavirin, Th1/Th2 ratio

## I. 緒 言

C型慢性肝炎(CH-C)は我が国で最も高頻度に認められる慢性肝炎であり、年率約2-4%が肝硬変に進展し、肝硬変には年率約7%に肝細胞癌が合併することが知られている<sup>1)2)</sup>。したがって、CH-Cの治療は肝硬変や肝細胞癌の予防という観点からも臨床上の重要な課題であり、その最終目標は原因ウイルスであるC型肝炎ウイルス(HCV)を排除することである。

インターフェロン(interferon; IFN)療法は、生化学的および肝組織学的にCH-Cの改善をもたらすとされ<sup>3)4)</sup>、HCV RNAの持続陰性化あるいはalanine aminotransferaseの持続正常化が認められた患者には、肝細胞癌の発生が極めて少ないことが明らかにされている<sup>5)</sup>。本邦では、1992年から6ヵ月間のIFN療法が保険診療として認められ広く実施されてきたが、HCV RNAの持続陰性化率は約30%であり、日本人の患者の約70%を占めるgenotype 1bでは14-18%<sup>6)-9)</sup>に過ぎず、とくに1bでHCV RNAが100 kilo international unit (KIU)/ml以上の高ウイルス量の症例では約5%と著しく低率である。このような難治例に対し、高用量のIFN投与やより長期間の投与が試みられてきたが、IFNの単独療法では有効率の著しい向上はみられなかった。

1972年にWitkowskiら<sup>10)</sup>によって合成されたリバビリン(ribavirin; RBV)は、*in vitro*で抗ウイルス活性を示すプリンスクレオシドアナログ(核酸構造類似体)で、海外ではインフルエンザを含むウイルス性呼吸器感染症、ヘルペス感染症、ラッサ熱、ラウス肉腫、腎症候性出血熱、acquired immunodeficiency syndrome、麻疹などに対し投与されている。RBVには免疫調節作用も認められ、Tヘルパー1細胞(T helper 1; Th1)機能の増強効果が抗ウイルス作用に関与している可能性が指摘されている<sup>11)-20)</sup>。RBV単独投与ではHCV RNA量はほとんど変化しない<sup>21)-23)</sup>が、IFNとの併用によりIFN単独療法と比較して強い抗ウイルス効果を示すことが判明している<sup>24)-26)</sup>。本邦では、2001年12月から6ヵ月間のIFN+RBV併用療法が認可され一般臨床で使用されているが、どのような症例にこの併用療法

の有効性が期待できるかについては必ずしも明らかにされていない。

この研究で、われわれはIFN- $\alpha$ 2b+RBV併用療法の臨床的効果を評価するとともに治療効果に寄与する因子について検討した。また、末梢血CD4陽性細胞のTh1/Tヘルパー2細胞(T helper 2; Th2)比を治療開始前および開始4週目で測定し、Th1/Th2比測定の意義についても検討した。

## II. 対象と方法

### 1. 対象症例

2002年1月から2002年11月までに、東京慈恵会医科大学青戸病院にてIFN- $\alpha$ 2b+RBV併用療法の適応と判断されたCH-C症例のうち、治療実施の同意が得られ治療を開始した77例(平均年齢:50.6歳,19-69歳。男性:54例,女性:23例。1b:51例,2aまたは2b:26例)を対象とした。併用療法は、genotype 1b, genotypeが2aまたは2bの場合はHCV RNAが100 KIU/ml以上または過去のIFN治療が無効であった症例で、IFN単独療法の適応条件を満たす症例を適応とした。

なお、RBVによる溶血性貧血を考慮し<sup>27)28)</sup>、血色素量11.5 g/dl未満の症例は適応から除外した。

本研究は東京慈恵会医科大学倫理委員会に承認され、全症例に本研究の目的および方法を説明し、文書での同意を得た。

### 2. IFN- $\alpha$ 2b+RBV併用療法

IFN- $\alpha$ 2bは、原則として10 Mega単位(MU)を2週間連日投与後に週3回22週間筋肉内に投与した。ただし、genotype 2aの3例,2bの1例では治療開始時より6 MUを用いた。RBVは、体重が60 kg未満の場合は600 mg/day,60 kg以上の場合は800 mg/dayを24週間連日経口投与とした。なお、副作用の発現に応じてIFNおよびRBVは適宜減量した。

Genotype 1b症例ではIFN総投与量が640 MU以上かつRBVが20週間以上併用された例を、genotype 2aまたは2bではIFN総投与量が240 MU以上かつRBVが12週間以上併用投与された例を治療実施例とした。また、これらの投与基準を満たした症例のうち、治療終了6ヵ月後のHCV RNAを測定しえた例を治療有効性の評

価対象とした。上記の投与基準を満たさなかった例は脱落例とし、治療有効性の評価対象から除外した。

なお、この併用療法の有用性の評価にあたっては、治療による有害事象により投与を中止し脱落した症例も含めて検討した。

### 3. 肝生検

血友病患者 2 例を除く 75 例に対して、治療開始前 1 週間以内に肝生検を施行し、肝炎の活動性および線維化の程度を新犬山分類<sup>29)</sup>に従い、それぞれ A0-A3, F0-F4 に分類した。

### 4. 臨床検査

治療前に、RT-PCR 法により HCV genotype を判定するとともに、開始直前にアンプリコア HCV モニター法により血中の HCV RNA を定量した。また、アンプリコア HCV アッセイキットを用いて血中 HCV RNA 定性、alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, 白血球数、ヘモグロビン、血小板数を、治療開始前、治療開始後 4 週目 (week 4: W4), W8, W12, W16, W20, 治療終了時、治療終了後 4 週目 (post 4 week: P4W), P8W, P12W, P24W に測定した。さらに、74 例について W4 の血中 RBV 濃度を高速液体クロマトグラフィー法<sup>30)</sup>を用いて測定した。

### 5. 末梢血 Th1, Th2 細胞比率の測定

47 例について、治療開始前および W4 に末梢血 CD4 陽性細胞の Th1, Th2 細胞比率を、細胞内のサイトカインを直接染色しフローサイトメーター上で細胞内の Th1 および Th2 サイトカインを検出する方法<sup>31)</sup>により測定した。

すなわち、末梢血単核球を  $1 \times 10^6/\text{ml}$  の濃度に調製し、10 ng/ml の酢酸ホルボルミリステート + 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  イオノマイシン + 10 ng/ml プレフェルディン A を加えて 3~5 時間培養した後、単核球を回収洗浄し、1% パラホルムアルデヒドで細胞膜を固定した。この単核球をフルオレセインイソチオシアネート標識抗 IFN- $\gamma$  抗体、フィコエリスリン標識抗インターロイキン-4 (interleukin-4; IL-4) 抗体および R フィコエリスリンインドジカルボキシシアニン標識抗 CD4 抗体を用いて三重染色した。洗浄後にリン酸緩衝液に浮遊させ、フローサイトメーター上で CD4 陽性細胞をゲートで括り、CD4 陽性細胞について IFN- $\gamma$ , IL-4 の陽性陰性をスキャットグラム上で測定した。IFN- $\gamma$  陽性細胞を Th1 細胞、IL-4 陽性細胞を Th2 細胞とし、全 CD4 陽性細胞に対する比率を求め、それぞれ Th1, Th2 細胞比率とした。

### 6. 統計解析

統計解析には Mann-Whitney の U 検定、 $\chi^2$  検定 (少数例では Yates の補正を実施)、または logistic model を用いた univariate analysis を使用し、両側検定で  $p < 0.05$  を統計学的に有意と判定した。

## III. 結 果

### 1. 臨床的背景 (Table 1)

併用療法の投与基準を満たした 65 例のうち 1 例は P24W 以降、受診しなくなったため、この 1 例を除く 64 例 (1b: 43 例, 2a または 2b: 21 例) を治療有効性の評価対象例とした。治療終了後に受診しなくなった例は、患者自身のコンプライア

Table 1. Baseline characteristics of patients

	The number of cases	Sex (Male/Female)	Median (range) of age (year)	Mean (SD) of quantity of HCV RNA (KIU/ml)	The number of case with previously IFN therapy (Male/Female)
Cases suitable for assessment	64	46/18	51 (19-69)	509.3 (275.6)	22/5
Genotype 1b	43	33/10	54 (19-68)	537.8 (274.6)	19/2
Genotype 2a/2b	21	13/8	43 (28-69)	457.1 (269.1)	3/3
Cases dropped out	12	8/4	62.5 (36-67)	495.9 (277.1)	4/3
Genotype 1b	7	6/1	62 (45-65)	615.7 (219.4)	2/1
Genotype 2a/2b	5	2/3	63 (36-67)	327.6 (280.0)	2/2

KIU: kilo international unit

ンスに起因するものと考え、すべての解析から除外することとした。また、脱落例は、12例 (1b: 8例, 2aまたは2b: 4例), 15.8%であった。その内訳は、精神症状の出現、貧血を伴う腎盂腎炎の出現、肺炎の出現が各1例、食思不振および全身倦怠感等による患者の希望が8例、理由は不明だが患者が治療継続中に受診しなくなった例が1例であった。精神症状、貧血を伴う腎盂腎炎、治療中止の申し出があり中止した例では、治療による有害事象の発現が明らかであった。また、肺炎合併例と治療中に受診しなくなった例も治療による有害事象発現の可能性が否定できないため、これら12例はすべて有害事象による治療中止例として取り扱った。

評価対象例のIFN総投与量は1bでは644-800 MU (median: 800 MU), 2aまたは2bでは284-800 MU (median: 800 MU)であった。

評価対象例と脱落例の臨床背景を比較すると、脱落例はやや高齢で女性が多い傾向を認めたが、有意差はなかった。その他の背景因子では、脱落例に2aまたは2bが多く、IFN治療歴を有する例も多い傾向を認めたが、いずれも両者間に有意な差は認めなかった。

## 2. HCV RNA 陰性化率の推移 (Fig. 1)

評価対象例64例中37例 (57.8%), genotype 1bの43例中18例 (42.9%), 2aまたは2bの21例中19例 (90.5%)がW4でHCV RNAの陰性化を認めた。W8およびW12での陰性例は、全体

では、それぞれ50例 (78.1%)と55例 (85.9%)に増加し、1bでは30例 (69.8%)と34例 (79.1%), 2aまたは2bでは20例 (95.2%)と21例 (100.0%)であった。治療終了時には、W12までに陰性化していた55例に加えてW16で初めて陰性化した1b 1例の合計56例 (87.5%)がHCV RNA陰性であった。治療中に陰性化した症例は、全例が治療終了時まで陰性であったが、P4WではHCV RNA陰性例が41例 (64.1%), P8Wでは33例 (51.6%), P12Wでは32例 (50.0%)と減少し、さらにP24Wではgenotype 1bの2例が新たに陽性化したため、HCV RNA陰性例は30例 (46.9%)となった。この30例すべては、W8までにHCV RNAが陰性化した症例であった。

Genotype別では、2aまたは2bで治療終了時に陰性であった21例中1例のみがP4Wで陽性化した。P4Wで陽性化した例は、12Wで初めてHCV RNAが陰性化した例であった。一方、1bでは35例中14例がP4Wで陽性化し、さらにP8Wで8例、P12Wで1例、P24Wでさらに2例が陽性化したため、1bにおけるP24WでのHCV RNA陰性例は43例中10例 (23.3%)のみであった。この10例はすべてW4でHCV RNAが陰性化していた例であった。なお、P12W以降に陽性化した3例の年齢は、19歳、20歳、35歳であり、比較的若年であった。

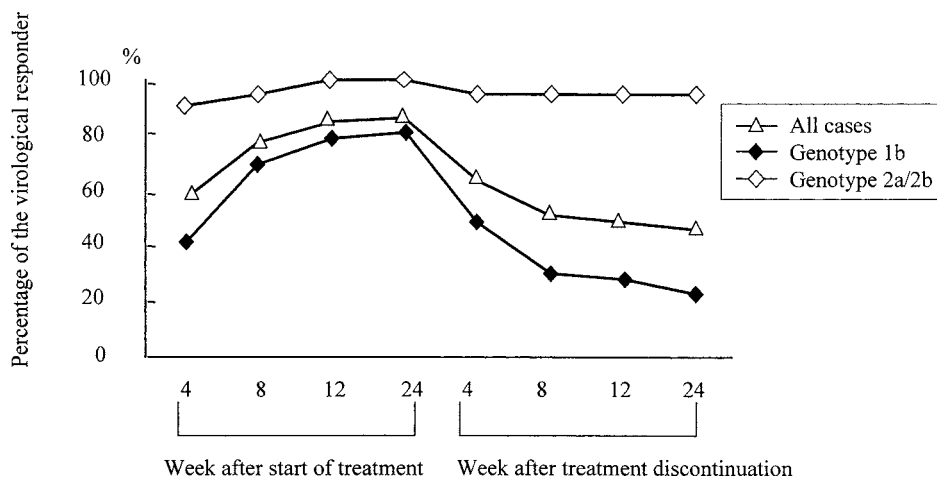


Fig. 1. Changes of the percentage of responder during the follow-up period

### 3. 併用療法の実践的有用性の評価

評価対象例 64 例に有害事象により脱落した 12 例を加え、IFN- $\alpha$ 2b+RBV 併用療法の有用性を評価すると、P24W での HCV RNA 陰性を指標とした有用率は全体では 39.5%、1b は 20%、2a または 2b は 76.9% であった。

### 4. 末梢血 CD4 陽性細胞の Th1, Th2 細胞比率

測定した 47 例中、評価対象となったのは 40 例であった。男性 30 例、女性 10 例で、1b は 28 例、2a または 2b が 12 例、50 歳以下 19 例、50 歳以上が 21 例であった。治療直前の HCV RNA 量により 500 KIU/ml 未満と 500 KIU/ml 以上の 2 群に分けると、500 KIU/ml 未満は 23 例、500 KIU/ml 以上は 17 例であった。男女別、genotype 別、年齢

別およびウイルス量別の、治療前および W4 での測定結果を Table 2 に示す。男女別では W4 の Th1/Th2 比が女性で有意に高値を示し ( $p < 0.05$ )、genotype 別では W4 での Th2 細胞比率が 2a または 2b で有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。年齢別およびウイルス量別の比較では差を認めなかった。

### 5. 治療効果に寄与する因子の検討

P24W の時点まで HCV RNA が持続陰性であった症例を著効例とし、著効に寄与する因子を、年齢、性別、ウイルス量、genotype、過去の IFN 治療歴、W4 における HCV RNA の有無、W4 における血中 RBV 濃度、肝生検組織の F 因子、A 因子および治療開始前、W4、W8、W12 で amino-

Table 2. Th1/Th2 ratio and percentage of Th1 cells and Th2 cells at pre-treatment and 4 weeks after treatment among each groups

	Pre-treatment			4 weeks of treatment		
	median (range) of Th1/Th2 ratio	median (range) of Th1 %	median (range) of Th2 %	median (range) of Th1/Th2 ratio	median (range) of Th1 %	median (range) of Th2 %
Sex						
Male ( $n=30$ )	9.8 (4.8-28.5)	28.8 (20.1-48.5)	3.1 (1.1-5.6)	8.0 (2.1-28.0)	28.2 (12.7-39.2)	3.3 (1.0-10.2)
Female ( $n=10$ )	16.8 (3.2-46.3)	34.5 (20.5-53.6)	2.1 (0.8-7.8)	14.2 (5.4-33.7)	31.9 (13.8-43.4)	2.4 (1.0-4.3)
	NS	NS	NS	$p < 0.05$	NS	NS
Genotype						
1b ( $n=28$ )	10.4 (5.6-46.3)	32.4 (20.5-53.6)	2.9 (0.8-5.4)	10.0 (2.1-33.7)	29.9 (13.8-43.4)	2.7 (1.0-10.2)
2a/2b ( $n=12$ )	8.0 (3.2-26.5)	26.8 (20.1-39.7)	3.1 (1.5-7.8)	6.1 (3.0-19.2)	26.9 (12.7-42.3)	4.3 (2.2-5.0)
	NS	NS	NS	NS	NS	$p < 0.001$
Age						
<50 years old ( $n=19$ )	9.8 (3.2-26.5)	28.1 (20.1-44.7)	3.1 (1.1-7.8)	10.1 (3.0-28.0)	28.0 (12.7-42.3)	2.5 (1.0-6.5)
$\geq 50$ years old ( $n=21$ )	10.4 (4.8-46.3)	31.9 (20.5-53.6)	2.7 (0.8-5.6)	8.3 (2.1-33.7)	29.8 (13.8-43.4)	2.8 (1.0-10.2)
	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Quantity of HCV RNA						
<500 KIU/ml ( $n=23$ )	10.4 (3.2-46.3)	34.1 (20.1-48.5)	2.9 (0.8-7.8)	10.6 (2.1-33.7)	30.0 (12.7-43.4)	2.8 (1.0-10.2)
$\geq 500$ KIU/ml ( $n=17$ )	9.8 (4.8-28.5)	28.3 (20.6-53.6)	3.0 (1.2-5.6)	8.0 (5.1-23.1)	28.4 (15.6-39.2)	3.0 (1.7-5.5)
	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Th 1 : T helper 1 cell      N.S.: not significant  
 Th 2 : T helper 2 cell      KIU : kilo international unit  
 Th1 % : the percentage of T helper 1 cell  
 Th2 % : the percentage of T helper 2 cell

transferases が正常であることの 13 因子から univariate analysis にて抽出した。

その結果, genotype が 2a または 2b であること, W4 で HCV RNA が陰性化することの 2 因子が著効に寄与する有意な因子であった (Table 3). なお, F 因子のスコアが低いこと (線維化が進行していないこと), A 因子のスコアが低いこと (炎症の活動性が低いこと), W12 で aminotransferases が正常であることも著効に寄与する傾向を認めたが, 有意ではなかった。

さらに, genotype 1b の 43 例のみについて, 上述した 13 因子から genotype を除いた 12 因子が著効に関連するか否か検討した。その結果, 著効には W4 の血中 RBV 濃度が 2,000 ng/ml 以下の症例および肝生検組織で F 因子が F 1 以下の症例が有意に多かった (それぞれ  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。また著効例は全例, W4 で HCV RNA が陰性化しており, 治療が著効するためには W4 での HCV RNA 陰性化が重要であることが示された ( $p < 0.001$ ) (Table 4)。著効例では, W4 の血中 RBV 濃度が 1,419-2,739 ng/ml (median: 2,073 ng/ml) であり, 陽性例の 1,564-6,281 ng/ml (median: 2642 ng/ml) と比較して有意 ( $p < 0.05$ ) に低値であった (Table 5)。

#### 6. 末梢血 CD4 陽性細胞の Th1, Th2 細胞比率と治療効果との関連 (Table 6a, 6b)

Th1, Th2 細胞比率を測定し, かつ治療効果が評価し得た 40 例を著効例 (19 例) と非著効例 (21 例) に分けて, 治療開始前および W4 の Th1/Th2 比, Th1 細胞比率, Th2 細胞比率について検討すると, 著効例では W4 の Th1/Th2 比が有意に低く ( $p < 0.05$ ), W4 の Th2 細胞比率は有意に高かった ( $p < 0.05$ )。

しかし, genotype 1b の 28 例のみについて検討すると, 著効例 (7 例) と非著効例 (12 例) の間に有意な差を認めなかった。

## IV. 考 察

IFN- $\alpha$ 2b+RBV 併用療法は, これまで IFN 単独投与療法では極めて難治とされていた genotype1b の高ウイルス量症例にも有効性を示すことが知られている<sup>24)-26)32)33)</sup>。しかし, 治療効果発現機序や治療効果に関連する臨床的な諸因子については, ほとんど明らかにされていない。この研究では, IFN- $\alpha$ 2b+RBV 6ヵ月間併用療法の効果と, その効果に影響を及ぼす諸因子について検討するとともに, RBV の免疫調節機能と治療効果に関係との関連について, 末梢血 Th1/Th2 比を中心に検討した。

CH-C に対する抗ウイルス効果を, 治療終了後

Table 3. Factors associated with a sustained virological response

All cases (n=64)		$\chi^2$	p value	Odds-ratio	95% CI
Age	0: <50 y, 1: $\geq$ 50 y	1.53	0.22	0.54	0.20- 1.45
Sex	0: male, 1: female	0.10	0.76	1.19	0.40- 3.54
Quantity of HCV RNA	0: <500 KIU/ml, 1: $\geq$ 500 KIU/ml	2.05	0.16	0.58	0.34- 1.19
HCV RNA genotype	0: 1b, 1: 2a/2b	33.79	0.0003	66.00	7.84-555.71
Previously treated with IFN	0: (+), 1: (-)	0.71	0.41	1.54	0.56- 4.18
HCV RNA at 4 weeks of treatment	0: (+), 1: (-)	40.08	0.0001	90.62	10.58-776.58
Concentration of ribavirin	0: <2,000 ng/ml, 1: $\geq$ 2,000 ng/ml	0.27	0.61	1.40	0.39- 5.01
F factor		3.49	0.08	0.61	0.35- 1.04
A factor		3.46	0.08	0.42	0.17- 1.08
aminotransferases at pre-treatment	0: W.N.L, 1: elevated	0.04	0.85	0.87	0.20- 3.81
aminotransferases at 4 weeks of treatment	0: W.N.L, 1: elevated	2.27	0.14	0.47	0.17- 1.27
aminotransferases at 8 weeks of treatment	0: W.N.L, 1: elevated	2.67	0.11	0.43	0.15- 1.20
aminotransferases at 12 weeks of treatment	0: W.N.L, 1: elevated	3.98	0.06	0.34	0.12- 1.01

KIU: kilo international unit  
W.N.L: within normal limit

Table 4. Factors associated with a sustained virological response in patients with genotype 1b

Genotype 1b (n=43)	SVR (n=10)	NR (n=33)	$\chi^2$	p value
Sex				
Male	9	24		
Female	1	9	0.50	N.S
Quantity of HCV RNA				
<500 KIU/ml	5	17		
$\geq$ 500 KIU/ml	5	16	0.08	N.S
Previously treated with IFN				
(+)	5	16		
(-)	5	17	0.77	N.S
HCV RNA at 4 weeks of treatment				
(+)	0	25		
(-)	10	8	15.12	$p < 0.001$
Concentration of ribavirin				
<2,000 ng/ml	5	2		
$\geq$ 2,000 ng/ml	5	31	7.89	$p < 0.01$
F factor				
<2	8	12		
$\geq$ 2	1	21	5.86	$p < 0.05$
A factor				
<2	6	11		
$\geq$ 2	3	22	2.02	N.S
aminotransferases at pre-treatment				
W.N.L	0	4		
Elevated	10	29	0.29	N.S
aminotransferases at 4 weeks of treatment				
W.N.L	7	14		
Elevated	3	19	1.36	N.S
aminotransferases at 8 weeks of treatment				
W.N.L	8	17		
Elevated	2	16	1.52	N.S
aminotransferases at 12 weeks of treatment				
W.N.L	8	18		
Elevated	2	15	1.15	N.S

$\chi^2$ :  $\chi^2$  with Yates's correction

SVR: sustained virological responder

NR: non responder

N.S: not significant

KIU: kilo international unit

W.N.L: within normal limit

Table 5. Comparison of age and concentration of ribavirin between SVR and NR

Genotype 1b (n=43)	SVR (n=10)	NR (n=33)	
Median (range) of age (year)	51.5 (41-62)	54.0 (19-68)	NS
Median (range) of concentration of ribavirin (ng/ml)	2,073 (1,419-2,739)	2,642 (1,564-6,281)	$p < 0.05$

SVR: sustained virological responder

NR: non responder

N.S: not significant

Table 6a. Th1/Th2 ratio and percentage of Th1 cells and Th2 cells at pre-treatment and 4 weeks of treatment between SVR and NR

All cases	(n=40)	Pre-treatment			4 weeks of treatment		
		median (range) of Th1/Th2 ratio	median (range) of Th1 %	median (range) of Th2 %	median (range) of Th1/Th2 ratio	median (range) of Th1 %	median (range) of Th2 %
SVR	(n=19)	8.9 (3.2-28.5)	29.0 (20.1-39.7)	3.1 (1.2-7.8)	6.8 (2.1-28.0)	28.0 (12.7-42.3)	4.3 (1.0-10.2)
NR	(n=21)	10.5 (5.6-46.3)	34.2 (20.5-53.6)	2.8 (0.8-5.0)	10.6 (6.0-33.7)	30.6 (13.8-43.4)	2.5 (1.0-4.9)
		NS	NS	NS	p<0.05	NS	p<0.05

Th 1 : T helper 1 cell  
 Th 2 : T helper 2 cell  
 Th1 % : the percentage of T helper 1 cell  
 Th2 % : the percentage of T helper 2 cell  
 SVR : sustained virological responder  
 NR : non responder  
 N.S : not significant

Table 6b. Th1/Th2 ratio and percentage of Th1 cells and Th2 cells at pre-treatment and 4 weeks of treatment between SVR and NR

Genotype 1b	(n=28)	Pre-treatment			4 weeks of treatment		
		median (range) of Th1/Th2 ratio	median (range) of Th1 %	median (range) of Th2 %	median (range) of Th1/Th2 ratio	median (range) of Th1 %	median (range) of Th2 %
SVR	(n=7)	10.2 (6.8-28.5)	29.5 (26.6-36.7)	2.9 (1.1-5.4)	6.8 (2.1-28.0)	28.0 (21.9-33.9)	3.3 (1.0-10.2)
NR	(n=21)	10.5 (5.6-46.3)	34.2 (20.5-53.6)	2.8 (0.8-5.0)	10.6 (6.0-33.7)	30.6 (13.8-43.4)	2.5 (1.0-4.9)
		NS	NS	NS	NS	NS	NS

24 週目までの HCV RNA が持続陰性化した例を著効として判定すると、著効率は、治療効果の評価対象とした 64 例中 30 例の 46.9%, genotype 1b では 23.3%, 2a または 2b では 95.2% であった。また、有用性についての検討でも genotype 1b では 20%, 2a または 2b では 76.9% と、従来の IFN 単独療法の成績を大きく上回る成績であった<sup>5)</sup>。今回、われわれは難治性とされる genotype 1b に対し 6 ヶ月間の併用期間中に可能な限り大量の IFN 投与を試み、IFN 総投与量が 640 MU 以上の症例について治療効果を検討した。従来の報告<sup>32)33)</sup>での IFN 総投与量 482-536 MU より 100 MU 以上大量に投与したが、われわれの著効率は従来の 20% 前後とする報告<sup>32)33)</sup>よりもやや高率ではあるものの、期待したほどの治療成績の向上は得られなかった。Genotype 1b では、治療終了後 8 週目以降に初めて再陽性化した例が 14 例あり、うち 3 例は 12 週目以降に陽性化し、24 週目で

初めて再陽性化した例も 2 例認めた。従来の IFN 単独療法では、治療終了後早期に大多数の症例が再陽性化したことが特徴的であった。また、12 週目以降に陽性化した 3 例はいずれも 40 歳以下であり、若年例では治療効果の判定を慎重に行う必要があると考えられた。RBV の血中半減期は 291 時間とされ<sup>34)</sup>、血中から完全に消失するのに約 6 ヶ月を要するとの報告があることを考慮すると、治療終了後 24 週目で初めて陽転化した 2 例は RBV の消失時期に一致して再陽性化した可能性も考えられ、RBV の抗ウイルス効果を考えるうえで示唆に富む所見と思われた。

今後、genotype 1b に対しては 1 年間の併用療法や 6 ヶ月間の併用療法後にさらに 6 ヶ月間の IFN 単独投与療法を追加するなど、より長期間にわたる治療法の効果を検討する必要があると思われる。実際、1 年間の併用療法では 40% 以上が治



癒するとの報告もある<sup>35)36)</sup>。一方、6ヵ月間の併用療法で20-25%が治癒することを考慮すると、6ヵ月の併用療法終了後に再燃した症例に対して抗ウイルス療法を追加する方法も考えられる。実際にはわれわれは治療終了後8週目以降に陽性化した3例にIFN単独投与を6ヵ月間行い、2例が著効例となったことを確認している。今後、治癒に寄与する因子をより明らかにし、各症例ごとに最も効率の良い治療期間を設定する試みが重要と思われる。

一方、genotype 2a または 2b に対する併用療法の著効率は高率であり、治療効果の判定対象となった症例は1例を除いて全例が著効となった。この結果は、genotype 2a または 2b 症例のHCV RNAを確実に消失させるために、IFN- $\alpha$ 2b+RBV併用療法が極めて有用であることを示すものである。またIFN総投与量が264 MUで、併用期間が3ヵ月でも治癒する例もいたことから、より短期間の併用療法やより少量のIFN投与でも治癒する可能性が示された。Genotype 2a または 2b の著効率が高かった理由として、若年者が比較的多かったこと、初回治療例が多く含まれていたことなどが考えられたが、われわれの結果では年齢やIFN治療歴は治療効果に関係しないため、若年者や初回治療例が含まれていたことが高い著効率に関与したとは考えにくく、この併用療法はgenotype 2a または 2b に対しても第一選択の治療として検討される価値があると考えられた。しかしながら、併用療法には副作用も多く、われわれの検討も含め脱落率は15%前後であり、IFN単独療法の脱落率<sup>32)33)</sup>よりも約1.7倍高率であるため、本併用療法の副作用である貧血や全身倦怠感等に十分注意して実施することが肝要と思われた。これらの結果より、genotype 2a または 2b の症例に対しては、今後、低用量のIFNを用いた短期間の併用療法の意義について検討する必要があると考えられた。

今回の検討で、この併用療法の治療効果に影響をおよぼす因子として、genotype 2a または 2b であること、治療開始4週目でHCV RNAが陰性化することが抽出され、肝生検組織でのF因子およびA因子のスコアが低いこと、治療開始12週目でaminotransferasesが正常であることも治

療効果に寄与する傾向が示された。また、genotype 1bに限った検討では、治療開始4週目でHCV RNAが陰性であること、F因子が低値の例、血中RBV濃度が2,000 ng/ml以下の例が著効例に有意に多く認められたが、治療開始直前のHCV RNA量は治療効果と関連しなかった。既存の報告<sup>35)</sup>とは異なり、血中RBVは低濃度である方がむしろ治療効果が高い可能性があることが示唆されたが、今回の検討では、genotype 1bの症例数が多くないこと、血中RBV濃度は必ずしもトラフ濃度が測定されたわけではないことを考慮すると、この結論を確定するためには今後さらに詳細な検討が必要と考えられた。

CH-CにおいてヘルパーT細胞(Th)のサブセットであるTh1細胞およびTh2細胞や、それらが産生するサイトカインは、HCVの持続感染や病態の進展に関連していると考えられ、RBVはそれらの免疫応答を修飾するとされている<sup>11)-15)</sup>。またCH-Cでは、Th1細胞およびTh2細胞の細胞比率(Th1/Th2比)がIFN単独療法や併用療法の治療効果と密接に関連し、Th1細胞の相対的な増加は治療効果に関係しているとの報告がみられる<sup>16)-20)</sup>。そこで、われわれはTh1およびTh2細胞比率を測定し、治療効果の予測因子としての有用性について検討したが、従来の報告とは異なり、著効例では治療開始4週目のTh1/Th2比は有意に低く、治療開始4週目のTh2細胞比率は有意に高値であった。しかし、治癒困難なgenotype 1bの症例のみで検討すると、Th1/Th2比、Th2細胞比率ともに治療効果との間には明確な関係を認めなかった。今回の検討症例は比較的少数であり、今後さらに治療効果予測因子としてのTh1/Th2比の有用性について検討する必要があると思われた。

## V. 結 語

1. IFN- $\alpha$ 2b+RBV併用療法適応例のうちgenotype 2a または 2b では治療効果が顕著であり、ほとんどの症例にHCV RNAの持続陰性化が認められた。

2. 難治性とされるgenotype 1bでは、IFN総投与量を640 MU以上としても著効率は23.3%に過ぎず、より長期にわたる併用療法などの治療

法の検討が必要と考えられた。

3. IFN- $\alpha$ 2b+RBV 併用療法の治療効果に寄与する因子としては, genotype 2a または 2b, W4 の HCV RNA 陰性化が有意であった。

4. genotype 1b で HCV RNA の持続陰性化が認められた症例では, W4 の HCV RNA 陰性化例と肝生検組織所見の F 因子が 2 以下の症例が多かった。

5. HCV RNA 量は, IFN- $\alpha$ 2b+RBV 併用療法における治療効果には影響を示さなかった。

6. Th1/Th2 比, Th1 細胞比率, Th2 細胞比率は, 治療効果との関係を認めなかった。

## 文 献

- 1) Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R, Doi T, Endo H, Tsuji T, et al. Natural course of chronic hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 240-3.
- 2) Oka H, Kurioka N, Kim K, Kanno T, Kuroki T, Mizoguchi Y, et al. Prospective study of early detection of hepatocellular carcinoma in patient with cirrhosis. *Hepatology* 1990; 12: 680-7.
- 3) Davis GL, Balart LA, Schiff ER, Lindsay K, Bodenheimer HC, Perrillo RP, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. *N Engl J Med* 1989; 321: 1501-6.
- 4) Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C, Melman ML, Murray L, Waggoner J, et al. Recombinant interferon alfa therapy for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1989, 321: 1506-10.
- 5) 西口修平, 仲谷信治, 黒木哲夫. C 型肝炎のインターフェロン療法: インターフェロンによる肝癌の予防. 「C 型肝炎」. 林 紀夫, 清澤研道 編. 東京: 医学書院; 1996. p. 255-9.
- 6) Aiyama T, Yoshioka K, Hirofuji H, Kusakabe A, Yamada M, Tanaka K, et al. Changes in serum hepatitis C virus RNA titer and response to interferon therapy in patient with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2244-9.
- 7) Orito E, Mizokami M, Nakano T, Terashima H, Nojiri O, Sakakibara K, et al. Serum hepatitis C virus RNA level as a predictor of subsequent response to interferon-alpha therapy in Japanese patient with chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1994; 44: 410-4.
- 8) Mizokami M, Orito E, Gibo Y, Suzuki K, Ohba K, Ohno T, et al. Genotype, serum level hepatitis C virus RNA and liver histology as predictors of response to interferon alfa 2-b therapy in Japanese patient with chronic hepatitis C. *Liver* 1996; 16: 23-7.
- 9) Yoshida K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y, Takayanagi M, et al. Detection of hepatitis C virus by polymerase chain reaction and response to interferon-alfa therapy: Relationship to genotypes of hepatitis C virus. *Hepatology* 1992; 16: 293-9.
- 10) Sidwell RW, Huffman JH, Khane GP. Broad-spectrum antiviral activity of Virazole: 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide. *Science* 1972; 177: 705-6.
- 11) Tam RC, Lim C, Bard J, Pai B. contact hypersensitivity responses following ribavirin treatment in vivo are influenced by type 1 cytokine polarization, regulation of IL-10 expression, and costimulatory signaling. *J Immunol* 1999; 163: 3709-17.
- 12) Souvignet C, Zarski JP. Combination treatment for chronic hepatitis C: what is the role of ribavirin? *Fudam Clin Pharmacol* 2000; 14: 321-5.
- 13) Hultgren C, Milch DR, Weiland O, Sallberg M. The antiviral compound ribavirin modulates T helper (Th) 1/Th2 subset balance in hepatitis B and C virus-specific immune responses. *J Gen Virol* 1998; 79 (Pt 10): 2381-91.
- 14) Ning Q, Brown D, Parodo J, Cattral M, Gorczynski R, Cole E, et al. Ribavirin inhibits viral-induced macrophage production of TNF, IL-1, the procoagulant fgl2 prothrombinase Th1 cytokine production but inhibits Th2 cytokine response. *J Immunol* 1998; 160: 3487-93.
- 15) Heagy W, Crumpacker C, Lopez PA, Finberg RW. Inhibition of immune function by antiviral drugs. *J Clin Invest* 1991; 87: 1916-24.
- 16) Tsai SL, Liaw YF, Chen MH, Huang CY, Kuo GC. Detection of Type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implication for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology* 1997; 25: 449-58.
- 17) Fukuda R, Ishimura N, Ishihara S, Chowdhury A, Moriyama N, Nogami C, et al. Intrahe-

- patric expression of pro-inflammatory cytokine mRNA and interferon efficacy in chronic hepatitis C. *Liver* 1996; 16: 390-9.
- 18) Napoli J, Bishop GA, McGinness PH, Painter DM, McCaughan GW. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. *Hepatology* 1996; 24: 759-65.
  - 19) Dumoulin FL, Bach A, Leifeld L, El-Bakri M, Fischer HP, Sauerbruch U, et al. Semi-quantitative analysis of intrahepatic cytokine mRNAs in chronic hepatitis C. *J Infect Dis* 1997; 175: 681-5.
  - 20) Cramp ME, Carucci P, Rossol S, Chokshi S, Maertens G, William R, et al. Hepatitis C virus (HCV) specific immune response in anti-HCV positive patients without hepatitis C viraemia. *Gut* 1999; 44: 424-9.
  - 21) Reichard O, Anderson J, Schvarcz R, Weiland O. Ribavirin treatment for chronic hepatitis C. *Lancet* 1991; 337: 1058-61.
  - 22) DiBisceglie AM, Shindo M, Fong TL, Fried MW, Swain MG, Bergasa NV, et al. A pilot study of ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology* 1992; 16: 649-54.
  - 23) DiBisceglie AM, Conjeevaram HS, Fried MW, Sallie R, Park YP, Yurdaydin C, et al. Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1995; 123: 897-903.
  - 24) Reichard O, Norkrans G, Fryden A, Braconier JH, Sonnerborg A, Weiland O. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alfa 2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. *Lancet* 1998; 351: 83-7.
  - 25) Poynard T, Marcellin P, Lee S, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, et al. Randomized trial in of interferon alfa 2b and ribavirin for 48 weeks or 24 weeks versus interferon alfa 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-32.
  - 26) McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon alfa 2-b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-92.
  - 27) Bodenheimer HC, Lindsay KL, Davis GL, Lewis JH, Thung SN, Seeff LB. Tolerance and efficacy of oral rivavirin treatment of chronic hepatitis C: a multicenter trial. *Hepatology* 1997; 26: 473-7.
  - 28) Franceschi LD, Fattovich G, Turrini F, Ayi K, Brugnara C, Manzato F, et al. Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy with chronic hepatitis C virus infection: role of membrane oxidative damage. *Hepatology* 2000; 31: 997-1004.
  - 29) 市田文弘, 小俣政男, 辻 孝夫, 市田隆文, 井上恭一, 上村朝輝 ほか. 慢性肝炎の肝組織診断基準: 新犬山分類. 第19回犬山シンポジウム記録集: C型肝炎研究の進歩, 肝炎ウイルスの変異, 犬山分類の再検討. 犬山分類記録刊行会 編. 中外医学社: 東京; 1995. p.183-8.
  - 30) 坪田昭人, 鈴木文孝, 荒瀬康司, 松田真理恵, 小林万利子, 佐藤純子ほか. 新たに開発された血中 ribavirin 濃度測定法 (HPLC 法) の有用性に関する検討. *肝臓* 2002; 43: 212-3.
  - 31) Pala P, Hussel T, Openshaw PJ. Flow cytometric measurement of intracellular cytokines. *J Immunol Methods* 2000; 243: 107-24.
  - 32) 豊田成司, 妻神重彦, 安田清美, 泉 並木, 太田裕彦, 佐藤 譲 ほか. インターフェロン無効または再燃した C 型慢性肝炎に対するインターフェロン  $\alpha$ -2b と SCH 18908 (リバビリン) の併用投与とインターフェロン  $\alpha$ -2b 単独投与との比較: 二重盲検群間比較法を用いた併用効果の検討. *臨医薬* 2002; 18: 539-63.
  - 33) 飯野四郎, 松島 喬, 熊田博光, 清澤研道, 各務伸一, 溝上雅史 ほか. Genotype 1b かつ高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対するインターフェロン  $\alpha$ -2b と SCH 18908 (リバビリン) の併用投与とインターフェロン  $\alpha$ -2b 単独投与との比較: 二重盲検群間比較法を用いた用法・用量の検討. *臨医薬* 2002; 18: 565-91.
  - 34) 熊田博光, 泉 並木, 廣瀬雄一. Genotype 1b かつ高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する SCH 18908 (リバビリン) とインターフェロン  $\alpha$ -2b 併用投与時の薬物動態の検討. *臨医薬* 2002; 18: 539-63.
  - 35) Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling MH, Albrecht J. Is an A la Carte combination interferon alfa-2b plus rivavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? *Hepatology* 2000; 31: 211-8.

- 36) Mann MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 958-65.