

博士論文

論文題目 C型肝炎SVR後の肝病変改善度の経時的解析

氏 名 中込 良

目次

第一章	要旨	3
第二章	序文	4
第三章	対象と方法	
3-a)	倫理規定	7
3-b)	対象患者	7
3-c)	肝弾性値測定	8
3-d)	検討した臨床パラメータ	9
3-e)	患者フォローアップ	10
3-f)	統計学的手法	10
第四章	結果	
4-a)	患者背景	12
4-b)	肝弾性値の経時的変化	15
4-c)	肝弾性値上昇に関連する因子	26
4-d)	臨床的因子の経時的変化	29
第五章	考察	35
	謝辞	40
	参考文献	41

第一章 要旨

C型慢性肝炎では、患者は線維化の軽い状態から長い年月をかけて肝硬変に至る。一方でインターフェロン等によりウイルス駆除に成功すると肝線維化が改善することも知られている。現在、C型肝炎治療の分野ではインターフェロンの他、直接作用型抗ウイルス薬も開発され、広く使われ始めている。C型肝炎ウイルス駆除後の肝病変の経時的改善を解析するにあたり、710人のC型肝炎患者について FibroScan[®]を用いて複数回測定した肝弾性値を後向きに検討した。肝弾性値は、抗ウイルス治療未施行患者群では年率 2.2%上昇し、ウイルス駆除成功群では年率 6.5%低下した。これらの結果は、C型肝炎患者の肝弾性値測定は、肝線維化の経時的変化を評価するのに非常に有用である。

第二章 序文

現在C型肝炎ウイルス感染者は全世界的に1億7000万人以上いると言われている[1]。C型肝炎では、初感染の後約70%の確率で慢性化し、一度慢性化するとC型肝炎ウイルス(Hepatitis C virus, HCV)が自然に排除されることは稀である。慢性化したC型肝炎において、肝炎の活動度は患者ごとに異なり、いわゆる無症候性キャリアの状態が長く続くことも稀ではない。肝炎が持続する症例においても、慢性B型肝炎の急性増悪のように急激に重度の肝臓壊死が生じることはなく、一方で肝炎が完全に沈静化することもない[2-4]。肝の炎症に伴って肝の線維化が発生することが知られており、肝線維化は長い年月をかけて徐々に進行し、最終的に肝硬変に至る。中央値で約30年間のC型肝炎ウイルス感染で肝硬変に至るとされており、その期間は性別や感染時の年齢で大きく異なる[5]。

一方で、インターフェロン治療によりC型肝炎ウイルス駆除に成功した場合は、肝線維化の改善が認められたという報告がある[6-9]。Shiratoriらは593人のC型肝炎患者において1年以上の間隔を空けて2回の肝生検を施行し、抗ウイルス治療未施行群、抗ウイルス治療施行後にウイルス学的著効(Sustained virological response, SVR)が得られた群とそうでない群の3群において、肝線維化

を評価した。その結果、抗ウイルス治療未施行群では線維化の進展が認められた一方で、SVR が得られた群では有意に肝線維化が改善した[10]。

肝線維化の評価は生検による組織診断がゴールドスタンダードだが、侵襲を伴うため全患者で行えるものではなく、まして繰り返し施行することは困難である。また、サンプリングエラーや病理診断医間の診断結果のばらつきなども報告されている[11, 12]。このため、非侵襲的な方法で肝線維化を評価することが求められてきた。2000 年代初頭より、肝弾性値を測定することが肝生検の代替手段となり得るとい報告が続き[13-16]、一部では肝生検に対する肝弾性値測定の優位性も示唆されている。我々はC型肝炎患者における肝弾性値は肝細胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)の有効なリスク層別化因子である事を報告した[17, 18]。

C型肝炎ウイルス治療薬としてインターフェロンが長らく用いられてきたが、C型肝炎ウイルスの非構造蛋白(Nonstructural, NS)3/4A、NS5A の機能を阻害する直接作用型抗ウイルス薬(Direct-acting antiviral agents, DAA)が 2014 年に発売され、インターフェロンより優れた SVR 率が得られている[19-22]。また、NS5B 阻害薬である Sofosbuvir を NS5A 阻害薬である Ledipasvir や Ribavirin と組み合わせることで、95%を超える高い SVR 率が得られることも報告されている

[23-28]。インターフェロンでは治療が困難であった高齢者や、線維化の進行した肝硬変患者での SVR が増えることが予想されるが、これら肝発癌の超高危険群においても HCV 駆除が肝発癌の減少をもたらすかについては、いまだ明らかになっていない。また、DAA で得られた SVR 後の肝病変の経過が、インターフェロンでのそれと差異があるのかについても不明である。

DAA による肝病変の経過を検討するにあたり、すでに SVR が得られている C 型肝炎患者の経過を後向きに解析し比較対象とすることで、今後の研究の礎となると考えた。そこで、今回我々は、我々が 2009 年に報告した 866 人の C 型肝炎患者[18]のその後の経過を追い、またそれらの患者に加え、腹部超音波検査ならびに肝弾性値測定を施行した 526 人の C 型肝炎患者を合わせた 1392 人について、SVR 患者ならびに非 SVR 患者の肝弾性値の経時的変化を解析し、肝病変の病態を検討した。

第三章 対象と方法

3-a) 倫理規定

本研究は文部科学省、および厚生労働省によって公表されている疫学研究に関する倫理ガイドラインに則り執り行われている(東京大学医学部倫理委員会承認 0960-(2)および 2058-(1))。

3-b) 対象患者

我々は、2004年12月から2005年1月までに当院消化器内科を受診したHCV抗体陽性患者984人のうち、HCCを有する患者、HCC治療歴のある患者、HBs抗原陽性患者、コントロール不能腹水を有する患者、インターフェロン治療中の患者を除いた866人について、肝弾性値測定後に経過観察を行い、肝発癌リスクが肝弾性値によって層別化できることを報告した[18]。この866人のコホート(以下コホート1)と、これら866人以外に2014年9月から2015年8月までに当院で肝弾性値測定を行ったHCV抗体陽性患者526人(以下コホート2)を検討候補とした。当院での肝弾性値測定が1回以下の患者、初回肝弾性値測定時にすでにHCV RNAが陰性であった患者、肝弾性値測定前にHCCを認めていた患者は除いた。SVRの定義は、抗ウイルス治療終了後24週の時点でHCV RNA

が検出されないこととした。

3-c) 肝弾性値測定

肝弾性値測定は FibroScan[®](Echosens, Paris, France)の M プローブを用いた [13]。FibroScan[®]による肝弾性値測定は侵襲を伴わず、被験者の年齢や性別、基礎疾患に関わらず測定することができる。患者を仰臥位で寝かせ、右上肢を拳上した姿勢で測定する。右肋間にプローブをあて、プローブによって発せられた単回のせん断波速度を 4MHz の超音波で測定する。測定値は以下の式によって算出される。 $E = 3\rho V_s^2$ (E: 弾性値、 ρ : 組織密度、 V_s : 伝搬速度)。一般に振動は硬い弾性体では速く伝わり、柔らかい弾性体ではゆっくり伝わるという原理を利用し数値化している。肝弾性値の単位は kPa で表示され、中央値ならびに四分位範囲が得られる。上限は 75 kPa であり下限は 1.5 kPa である。100 人以上の患者について測定経験のある医師または検査技師が測定した。測定時間は概ね 3 分程度であり、各測定は 10 回以上測定し、60%以上の成功率のものを採用した。

3-d) 検討した臨床パラメータ

本研究では下記に列挙する臨床パラメータについて検討した。年齢、性別、body mass index (BMI)、肝弾性値、総ビリルビン値、アルブミン値、aspartate aminotransferase (AST)値、alanine transaminase (ALT)値、alkaline phosphatase (ALP)値、gamma-glutamyltransferase (GGT)値、血小板数、prothrombin 時間(PT)、alpha-fetoprotein (AFP)値、糖尿病の有無、抗ウイルス治療の有無。複数回測定した肝弾性値について、初回測定値、最終測定値を採用し、肝弾性値の年率変化率を以下の式に従って計算した。

$$\text{年率変化率} = \left(\frac{\text{最終測定値}}{\text{初回測定値}} \right)^{\frac{1}{\text{観察期間}}}$$

また SVR が得られた患者については、抗ウイルス治療開始前 1 年以内の測定、SVR 確認後 1 年以内の測定がある場合も検討対象とした。各臨床パラメータは肝弾性値初回測定日前後 1 週間の測定値を採用し、AST 値、ALT 値、血小板数、AFP 値については、肝弾性値の最終測定日前後 1 週間の測定値も検討した。糖尿病の診断は既往歴、治療の有無、随時血糖 ≥ 200 mg/dL に基づき行った[29]。

3-e) 患者フォローアップ

初回肝弾性値測定日を経過観察開始日とし、2015年2月28日時点までの経過を後ろ向きに解析した。肝癌診療ガイドラインに従い、3-6か月おきに腫瘍マーカーを含む血液検査ならびに腹部超音波検査を行い、超音波検査にて肝腫瘍を認めた時点、またはAFPの上昇時に造影CT検査を施行した[30]。HCCの診断は肝ダイナミックCTに基づき、早期濃染、後期染まり抜けを呈する結節をHCCとした[31, 32]。HCCを発症した患者は、HCC診断前の最終肝弾性値測定日までを観察期間とした。

3-f) 統計学的手法

量的変数について、年齢は平均値±標準偏差、その他は中央値および四分位範囲(interquartile range, IQR)で表記した。質的変数については個数および割合(%)で表記した。有意差検定について、カテゴリ変数に関してはPearsonの χ^2 検定、またはFisherの直接確率検定を用いた。群間比較は連続変数に関してはt検定またはWilcoxon検定を用いた。

対象患者全体、SVRが得られた患者群、SVRが得られなかった患者群での肝弾性値の変化を検討し、年率変化率を計算した。SVRが得られなかった患者

群においては抗ウイルス治療の有無に分けた検討も行った。肝弾性値悪化に関連する因子を検討するため、SVRの有無、各種臨床的・身体的因子を独立変数として単変量ロジスティック回帰分析を行い、その後P値が0.05未満になった因子と既報で有意である因子を用いて多変量解析を行った。この際の量的変数のカットオフ値は中央値を採用した。単変量解析・多変量解析の結果はオッズ比(odds ratio, OR)、および95%信頼区間(confidence interval, CI)で表記した。SVRが得られている患者の中で、抗ウイルス治療前1年以内の測定、SVR確認後1年以内の測定がある患者については4点の肝弾性値について検討した。

また、肝弾性値の変化とあわせてAST、ALT、血小板数、AFPの変化も同様に対象患者全体、SVRが得られた患者群、SVRが得られなかった患者群、SVRが得られなかった患者群における抗ウイルス治療の有無で群分けして検討した。

統計解析はR software(version 3.1.1; <http://www.R-project.org>)を用いて行った。

すべての解析は両側検定で行い、P値0.05未満を統計学的有意水準とした。

第四章 結果

4-a) 患者背景

コホート1 866人と、コホート2 526人を合わせた1392人のうち、除外基準に当てはまる682人を除き、710人を解析対象とした(図1)。患者背景を表1に示す。非SVR群が556人、SVR群が154人であり、非SVR群では抗ウイルス治療歴があるもののSVRに至らなかった患者が86人(15.5%)いた(表1)。

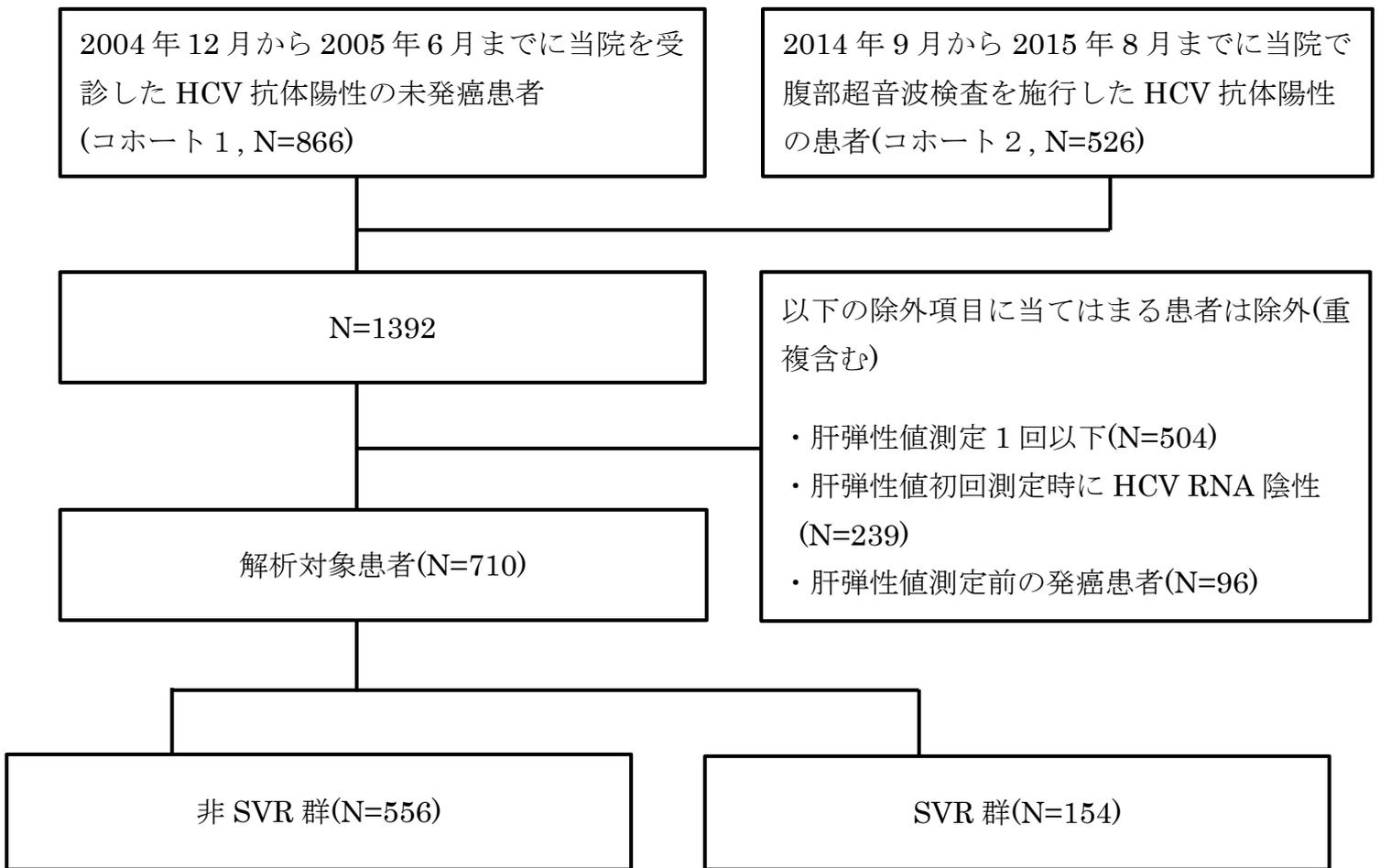


図 1. 対象患者選定の過程

表 1. 患者背景

	非 SVR 群	SVR 群	P 値
	N = 556	N = 154	
年齢 (年)	66.5 ± 11.5	57.8 ± 9.0	<0.001
性別 男性, n (%)	237 (42.6)	88 (57.1)	0.001
BMI (kg/m ²)	22.1 (20.3-24.2)	23.5 (23.2-25.3)	<0.001
初回肝弾性値 (kPa)*	7.0 (4.9-11.1)	8.0 (5.7-12.0)	0.23
ビリルビン (mg/dL)*	0.8 (0.6-1.0)	0.8 (0.6-1.0)	0.18
アルブミン (g/dL)*	4.1 (3.8-4.3)	4.1 (3.9-4.3)	0.07
AST (U/L)*	37 (27-58)	45 (30-66)	0.007
ALT (U/L)*	36 (24-59)	57 (32-90)	<0.001
ALP (U/L)*	200 (162-258)	202 (162-250)	0.26
GGT (U/L)*	28 (19-48)	38 (26-64)	<0.001
血小板数 (×10 ⁴ /μL)*	16.7 (11.8-21.5)	16.7 (13.4-20.1)	0.79
PT (%)*	95.0 (83.3-100)	97.2 (83.2-100)	0.41
AFP (ng/mL)*	4.0 (2.0-7.0)	4.9 (3.0-7.8)	0.57
糖尿病の有無, n (%)	67 (12.1)	11 (7.1)	0.04
抗ウイルス治療, n (%)	86 (15.5)	154 (100)	<0.001

略号 SVR; sustained virological response, BMI; body mass index, AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine transaminase, ALP; alkaline phosphatase, GGT; gamma-glutamyl transpeptidase, PT; prothrombin time, AFP; alpha-fetoprotein

* 四分位範囲

4-b) 肝弾性値の経時的変化

対象患者全体において、肝弾性値の推移を検討した。肝弾性値初回測定値と最終測定値の2点を結んだスパゲッティプロットを図2に示す。観察期間中央値6.1年間で、肝弾性値は710人中357人(50.3%)で上昇、353人(49.7%)で低下していた。年率変化率の中央値は1.001であり、つまり肝弾性値は年0.1%上昇していた(図2)。

SVRの有無で分けて解析すると、非SVR群では、観察期間中央値6.0年間で、肝弾性値は556人中357人(59.7%)で上昇、224人(40.3%)で低下し、中央値で年1.8%上昇していた(図3)。またSVR群では、観察期間中央値6.7年間で、肝弾性値は154人中25人(16.2%)で上昇、129人(83.8%)で低下し、中央値で年6.5%低下していた(図4)。

非SVR群のうち86人の患者で観察期間中の抗ウイルス治療歴があったため、非SVR群において抗ウイルス治療の有無に着目して2群に分けて解析した。抗ウイルス治療歴のない患者群では観察期間中央値6.0年間で、肝弾性値は470人中290人(61.7%)で上昇、180人(38.3%)で低下し、中央値で年2.2%上昇していた(図5)。抗ウイルス治療歴はあるがSVRに至らなかった患者群は、観察期間中央値6.0年間で、肝弾性値は86人中42人(48.8%)で上昇、44人(51.2%)で低下し、

中央値で年 0.1%低下していた(図 6)。

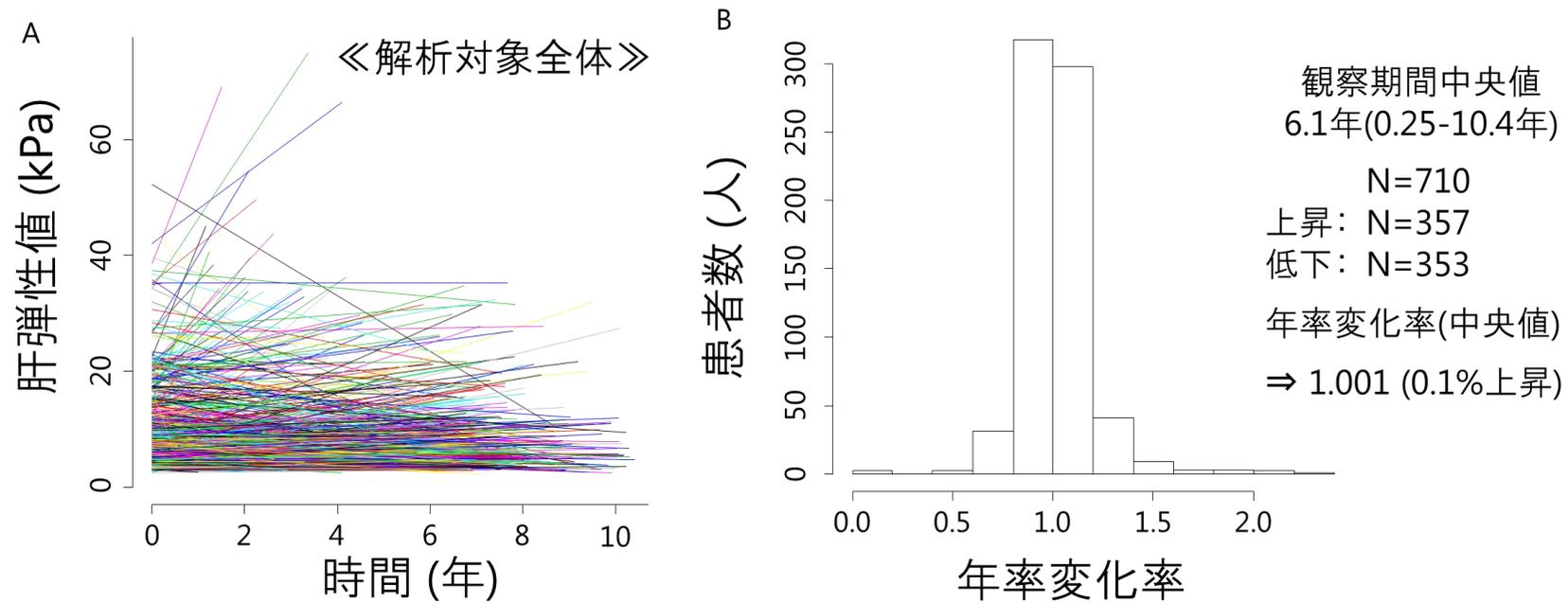


図 2. 対象患者全体の肝弾性値: 初回測定値と最終測定値のスパゲッティプロット、年率変化率のヒストグラム

(A) 横軸に観察期間(年)、縦軸に肝弾性値(kPa)を表示。

(B) 横軸に年率変化率、縦軸に患者数(人)を表示。

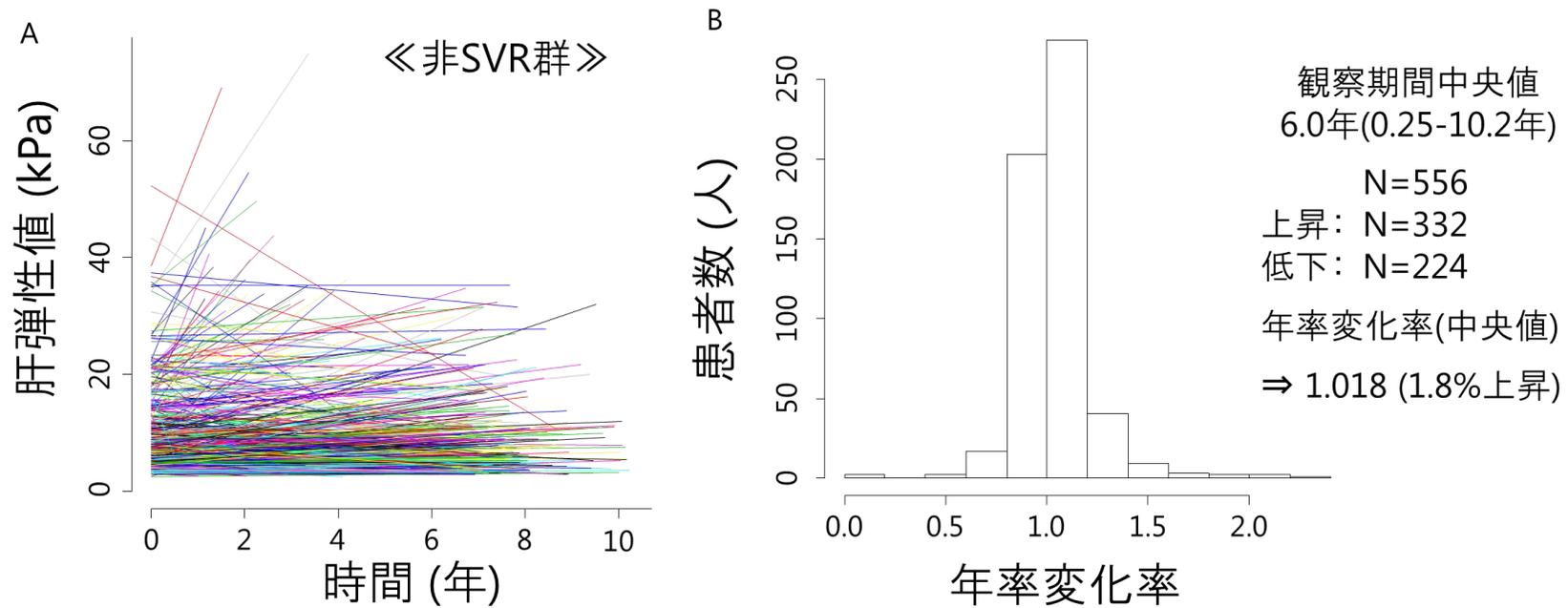


図 3. 非 SVR 群の肝弾性値: 初回測定値と最終測定値のスパゲッティプロット、年率変化率のヒストグラム

(A) 横軸に観察期間(年)、縦軸に肝弾性値(kPa)を表示。

(B) 横軸に年率変化率、縦軸に患者数(人)を表示。

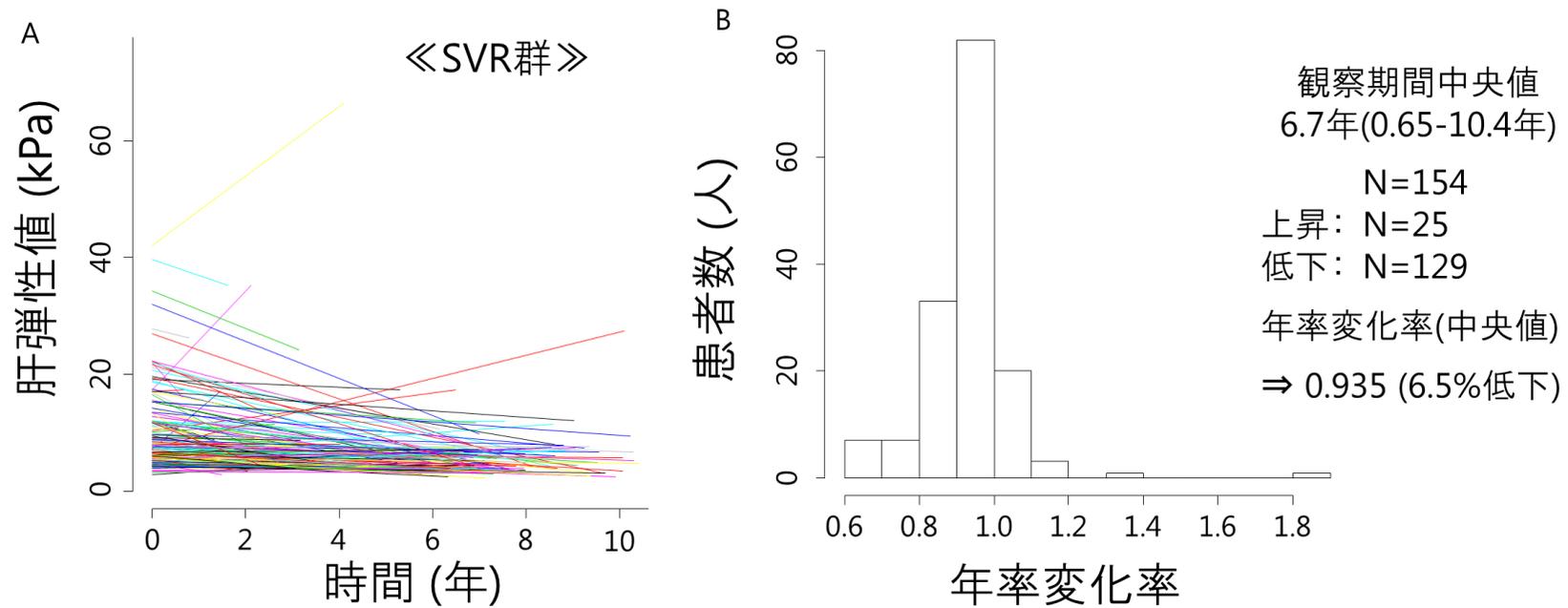


図 4. SVR 群の肝弾性値: 初回測定値と最終測定値のスパゲッティプロット、年率変化率のヒストグラム

(A) 横軸に観察期間(年)、縦軸に肝弾性値(kPa)を表示。

(B) 横軸に年率変化率、縦軸に患者数(人)を表示。

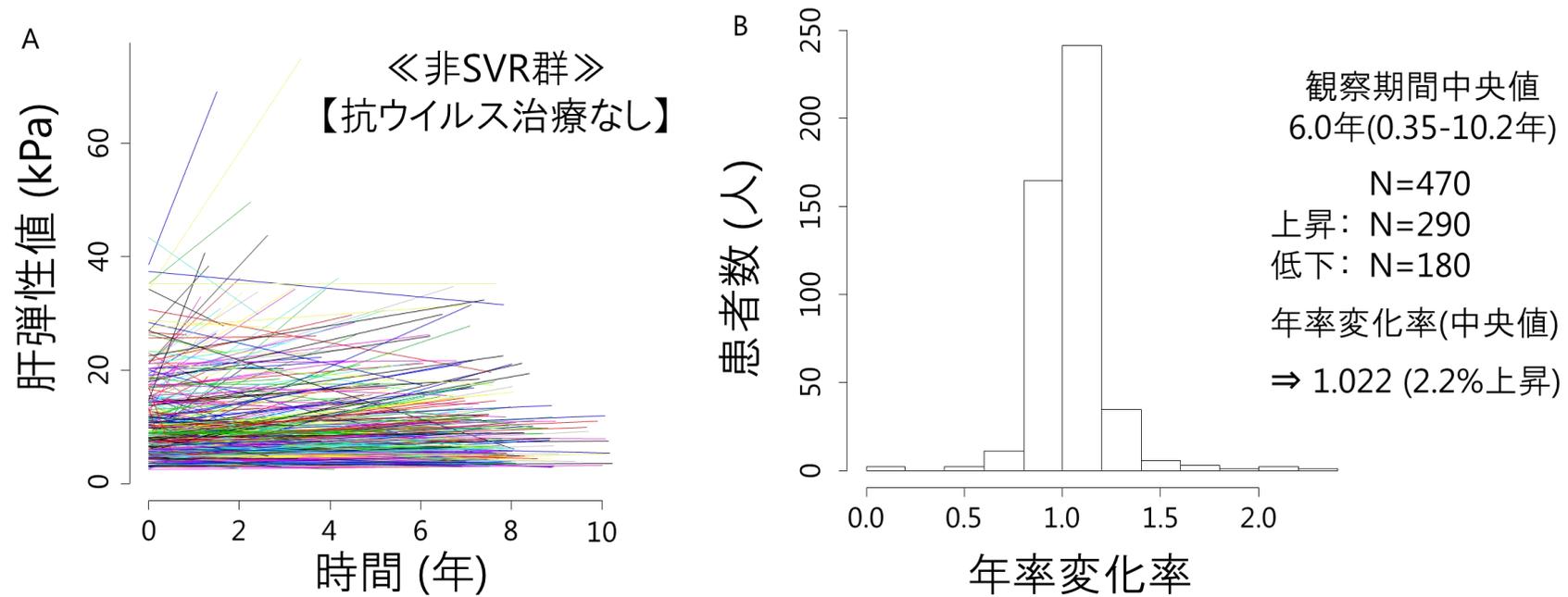


図 5. 非 SVR 群の抗ウイルス治療未施行患者の肝弾性値: 初回測定値と最終測定値のスパゲッティプロット、年率変化率のヒストグラム
 (A) 横軸に観察期間(年)、縦軸に肝弾性値(kPa)を表示。
 (B) 横軸に年率変化率、縦軸に患者数(人)を表示。

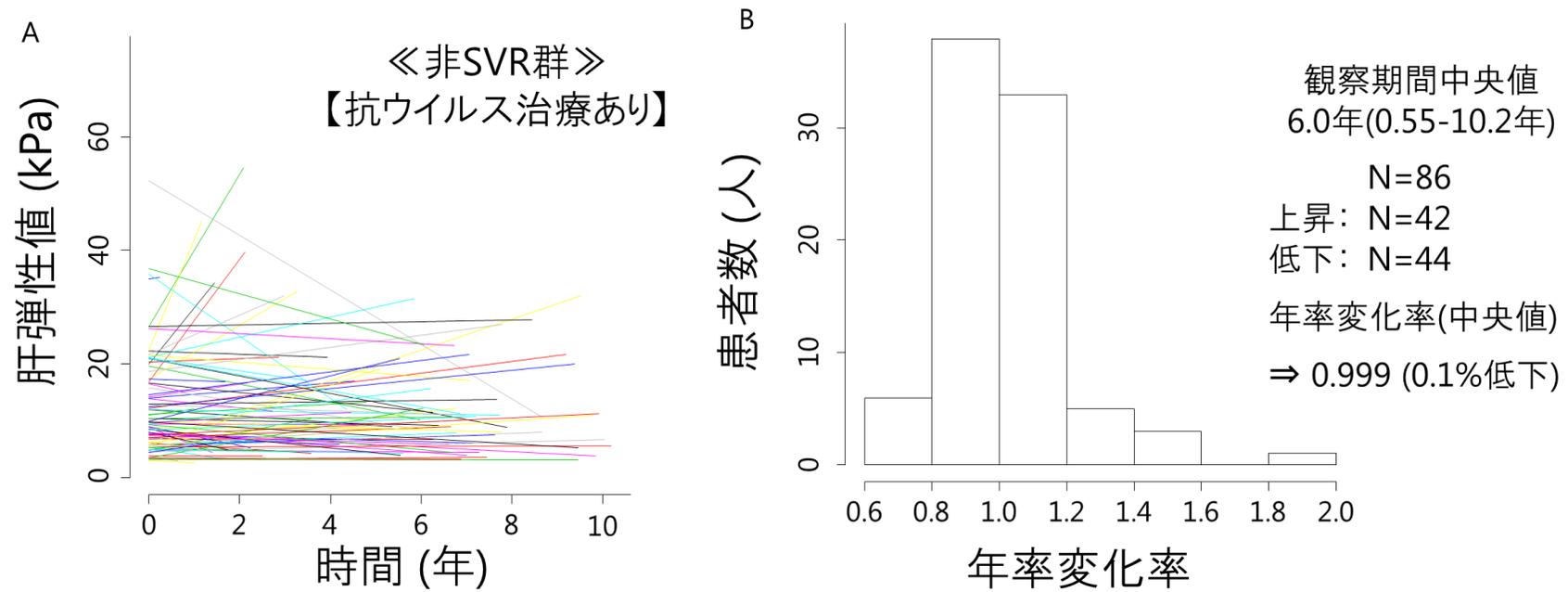


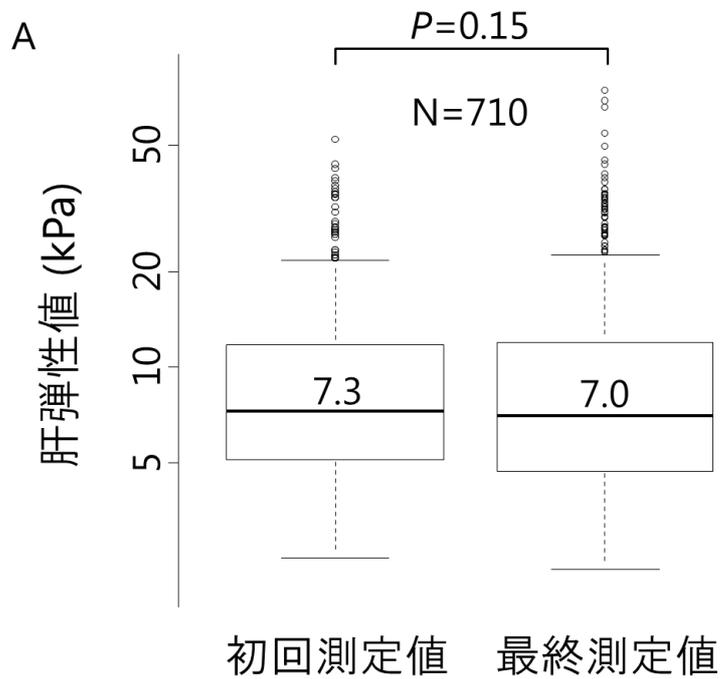
図 6. 非 SVR 群の抗ウイルス治療施行患者の肝弾性値: 初回測定値と最終測定値のスパゲッティプロット、年率変化率のヒストグラム
 (A) 横軸に観察期間(年)、縦軸に肝弾性値(kPa)を表示。
 (B) 横軸に年率変化率、縦軸に患者数(人)を表示。

次に肝弾性の初回測定値、最終測定値のボックスプロットを示す(図 7)。対象患者全体では、肝弾性値の初回測定値、最終測定値に有意な差は認めなかったが($P=0.15$)、非 SVR 群、SVR 群で解析すると非 SVR 群は有意に上昇しており、SVR 群は有意に低下していた(共に $P<0.001$)。

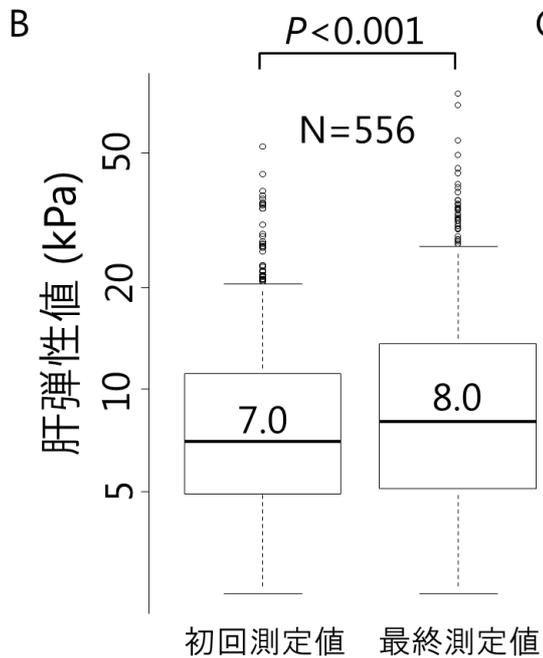
また、非 SVR 群の抗ウイルス治療の有無について分けて解析すると、抗ウイルス治療未施行群では有意な上昇を認めたが($P<0.001$)、抗ウイルス治療施行群では有意な上昇は認められなかった($P=0.50$)(図 8)。

SVR 群で抗ウイルス治療前 1 年以内の肝弾性値測定ならびに、SVR 確認後 1 年以内の肝弾性値測定があった 22 人について解析した。初回測定値と最終測定値との間で有意に低下しており($P=0.02$)、また初回測定値と SVR が確認された後 1 年以内の測定値についても有意に低下していた($P=0.02$)。SVR 確認後 1 年以内の肝弾性値と最終測定値の間には有意な差は認めなかった($P=0.13$)(図 9)。

《解析対象患者全体》



《非SVR群》



《SVR群》

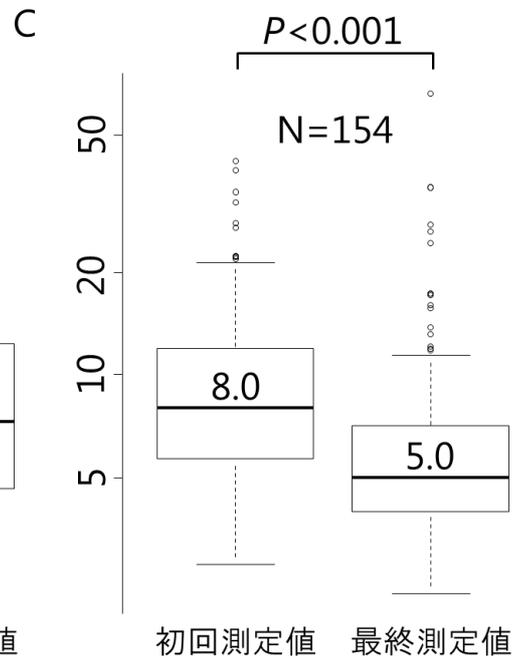


図 7. 肝弾性値; 初回測定値と最終測定値のボックスプロット
縦軸(肝弾性値)は対数表示。(A) 対象患者全体。(B) 非 SVR 群。(C) SVR 群。

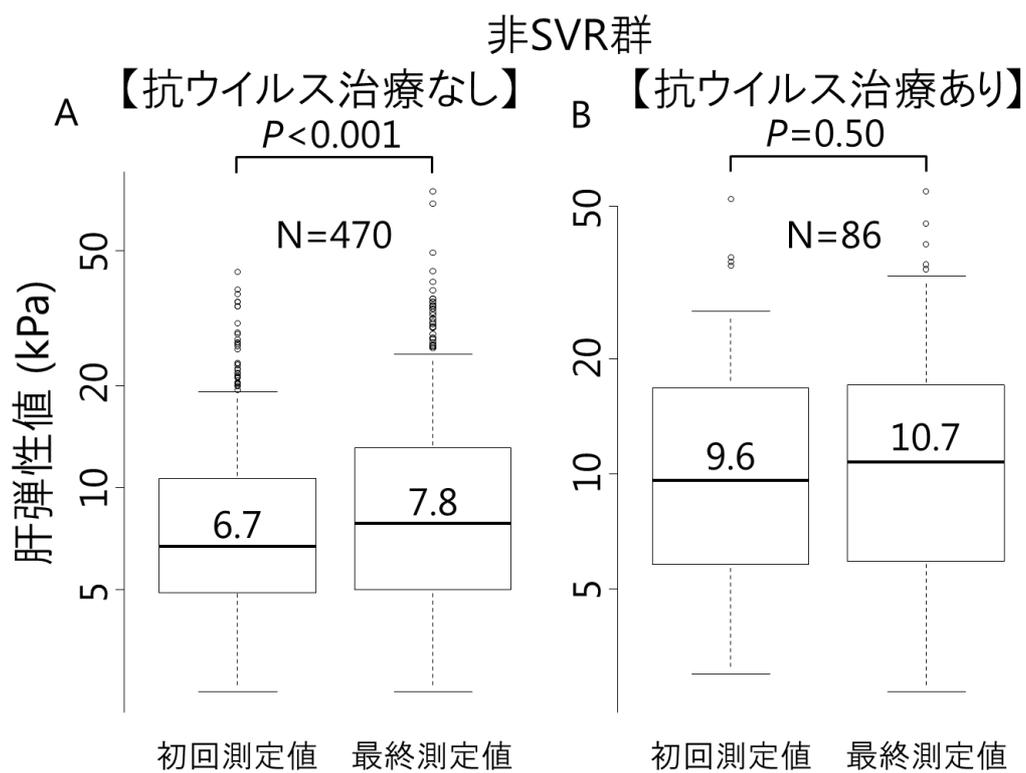


図 8. 肝弾性値; 非 SVR 群における抗ウイルス治療有無の二群に分けた初回測定値と最終測定値のボックスプロット

縦軸(肝弾性値)は対数表示。(A) 抗ウイルス治療未施行群。(B) 抗ウイルス治療施行群。

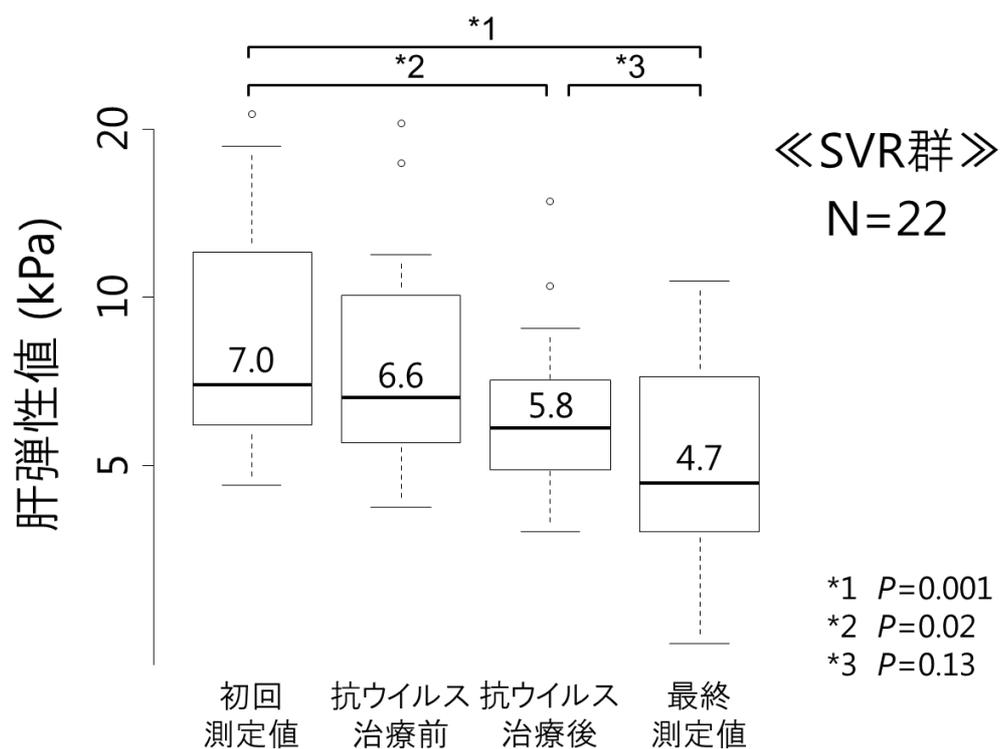


図 9. 肝弾性値: SVR 群における肝弾性値の 4 点測定

縦軸(肝弾性値)は対数表示。初回測定値、抗ウイルス治療前 1 年以内の測定値、SVR 後 1 年以内の測定値、最終測定値の 4 回の測定の経時的変化。

4-c) 肝弾性値上昇に関連する因子

肝弾性値上昇に関連する因子についてロジスティック回帰分析で単変量解析を行った。単変量解析では、SVRの有無、年齢 >64 歳、初回肝弾性値 >7.3 kPa の 3 つの因子が有意に関連しており、またそれらの因子に加えて線維化進展因子と報告されている性別[33]、ALT、糖尿病の有無を含めて多変量解析を行うと、SVRの有無(OR=0.13, 95% CI, 0.08-0.22; $P < 0.001$)、初回弾性値 >7.3 kPa(OR=0.50, 95% CI, 0.35-0.71; $P < 0.001$)と肝線維化改善の間に有意な関連を認めた(表 2)。

次に非 SVR 群、SVR 群のそれぞれの群について同様の解析を行った。非 SVR 群では初回弾性値 >7.3 kPa(OR=0.55, 95% CI, 0.37-0.80; $P=0.002$)と ALT >39 U/L(OR=1.48, 95% CI, 1.01-2.16; $P=0.04$)との間に有意な関連を認め、SVR 群では初回弾性値 >7.3 kPa(OR=.24, 95% CI, 0.09-0.64; $P=0.004$)との間に有意な関連を認めた(表 3A, 3B)。

表 2. 肝弾性値上昇に関連するリスク因子

変数	単変量解析			多変量解析		
	OR	95% CI	P	OR	95% CI	P
SVR 有 vs 無	0.13	0.08-0.20	<0.001	0.13	0.08-0.22	<0.001
年齢 >64 歳	1.63	1.21-2.19	0.001	1.25	0.89-1.74	0.20
男性 vs 女性	1.19	0.88-1.60	0.26	0.96	0.69-1.33	0.79
BMI >22.4 kg/m ²	0.87	0.65-1.17	0.37			
初回弾性値 >7.3 kPa	0.56	0.41-0.75	<0.001	0.50	0.35-0.71	<0.001
ビリルビン >0.8 mg/dL	1.16	0.86-1.57	0.32			
アルブミン (g/dL)	0.74	0.50-1.10	0.14			
AST >38 U/L	0.72	0.97-1.30	0.85			
ALT >39 U/L	0.81	0.60-1.08	0.16	1.33	0.94-1.89	0.11
ALP >201 U/L	0.99	0.74-1.33	0.94			
GGT >30 U/L	1.01	0.75-1.36	0.94			
血小板数 >17.1×10 ⁴ /μL	1.04	0.78-1.40	0.78			
PT >95.0%	0.82	0.61-1.11	0.20			
AFP >4.0 ng/mL	0.79	0.59-1.06	0.11			
糖尿病有 vs 無	1.49	0.92-2.40	0.11	1.44	0.85-2.42	0.18

略号 SVR; sustained virological response, BMI; body mass index, AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine transaminase, ALP; alkaline phosphatase, GGT; gamma-glutamyl transpeptidase, PT; prothrombin time, AFP; alpha-fetoprotein

表 3A. 肝弾性値上昇に関連するリスク因子(非 SVR 群)

変数	多変量解析		
	odds	95% CI	<i>P</i>
年齢 >64 歳	1.29	0.90-1.84	0.17
男性 vs 女性	0.98	0.68-1.40	0.93
初回弾性値 >7.3 kPa	0.55	0.37-0.80	0.002
ALT >39 U/L	1.48	1.01-2.16	0.04
糖尿病有 vs 無	1.53	0.87-2.68	0.14

略号 SVR; sustained virological response, ALT; alanine transaminase

表 3B. 肝弾性値上昇に関連するリスク因子(SVR 群)

変数	多変量解析		
	odds	95% CI	<i>P</i>
年齢 >64 歳	0.69	0.24-2.02	0.50
男性 vs 女性	0.66	0.26-1.67	0.38
初回弾性値 >7.3 kPa	0.24	0.09-0.64	0.004
ALT >39 U/L	0.55	0.22-1.40	0.21
糖尿病有 vs 無	0.56	0.06-5.42	0.62

略号 SVR; sustained virological response, ALT; alanine transaminase

4-d) 臨床的因子の経時的変化

肝弾性値測定前後 1 週間で施行された血液検査を用いて、肝弾性値測定日
前後 1 週間での血小板数、AST、ALT、AFP について検討した。これら 4 つの因
子の初回測定値と最終測定値の増減について 1)対象患者全体、2)非 SVR 群、SVR
群に分けて、3)非 SVR 群における抗ウイルス治療の有無に分けてそれぞれ検討
した。2)、3)では Wilcoxon 検定を用いて群間比較も検討した。

血小板数は、対象患者全体では有意な変化を認めなかったが、非 SVR 群で
 $1.2 \times 10^4/\mu\text{L}$ 低下し、SVR 群で $1.7 \times 10^4/\mu\text{L}$ 上昇していた(それぞれ $P=0.045$ 、 $P=0.03$)。
群間比較では $P=0.02$ で有意差は認めなかった。また非 SVR 群の中で抗ウイルス
治療を行わなかった患者群でも有意に低下しており ($P=0.03$)、抗ウイルス治療の
有無での群間比較でも有意差を認めた($P=0.05$)(図 10)。AST は、対象患者全体、
SVR 群で有意に低下しており(いずれも $P<0.001$)、その他の検討では有意差は認
めなかった。SVR の有無、抗ウイルス治療の有無での検討ではいずれも両群間
に有意差を認めた(図 11)。ALT は AST と同様、対象患者全体、SVR 群で有意に
低下しており(いずれも $P<0.001$)、また非 SVR 群でも有意に低下していた
($P=0.003$)。AST 同様に群間比較でも有意差を認めた(図 12)。AFP は対象患者全
体では有意な変化を認めなかったが、SVR 群のみでの検討で有意に低下してい

た($P<0.001$)。また非 SVR 群において抗ウイルス治療を行わなかった患者群は有意に上昇($P=0.016$)し、抗ウイルス治療を行った患者群は有意に低下していた($P=0.018$)。群間比較では SVR の有無では有意差を認めたが、抗ウイルス治療の有無での検討では有意差は認めなかった(図 13)。

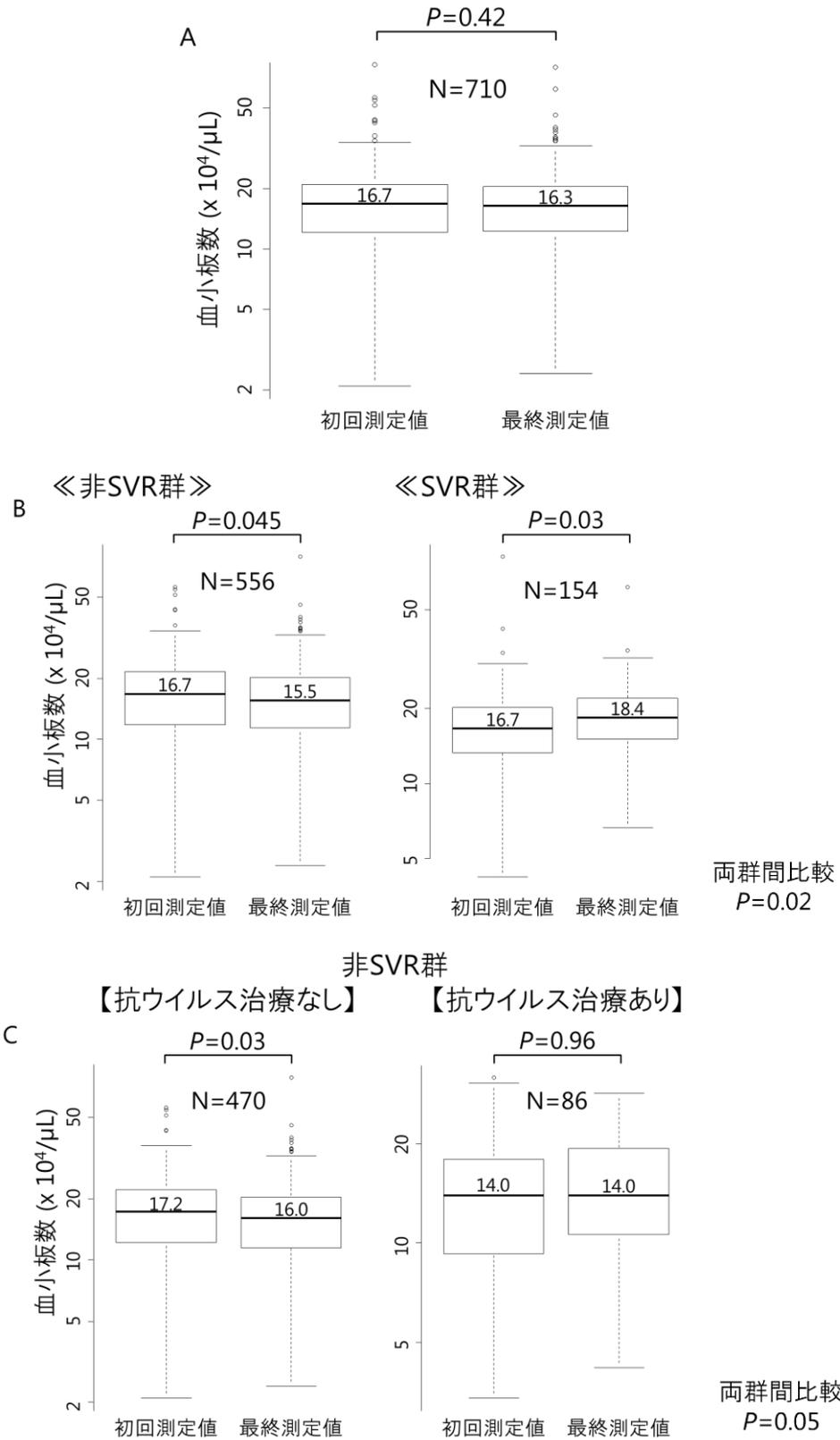


図 10. 血小板数; 初回測定値と最終測定値のボックスプロット
 縦軸(血小板数)は対数表示。(A) 対象患者全体。(B) 非 SVR 群、SVR 群の検討。
 (C) 非 SVR 群の抗ウイルス治療有無の検討。

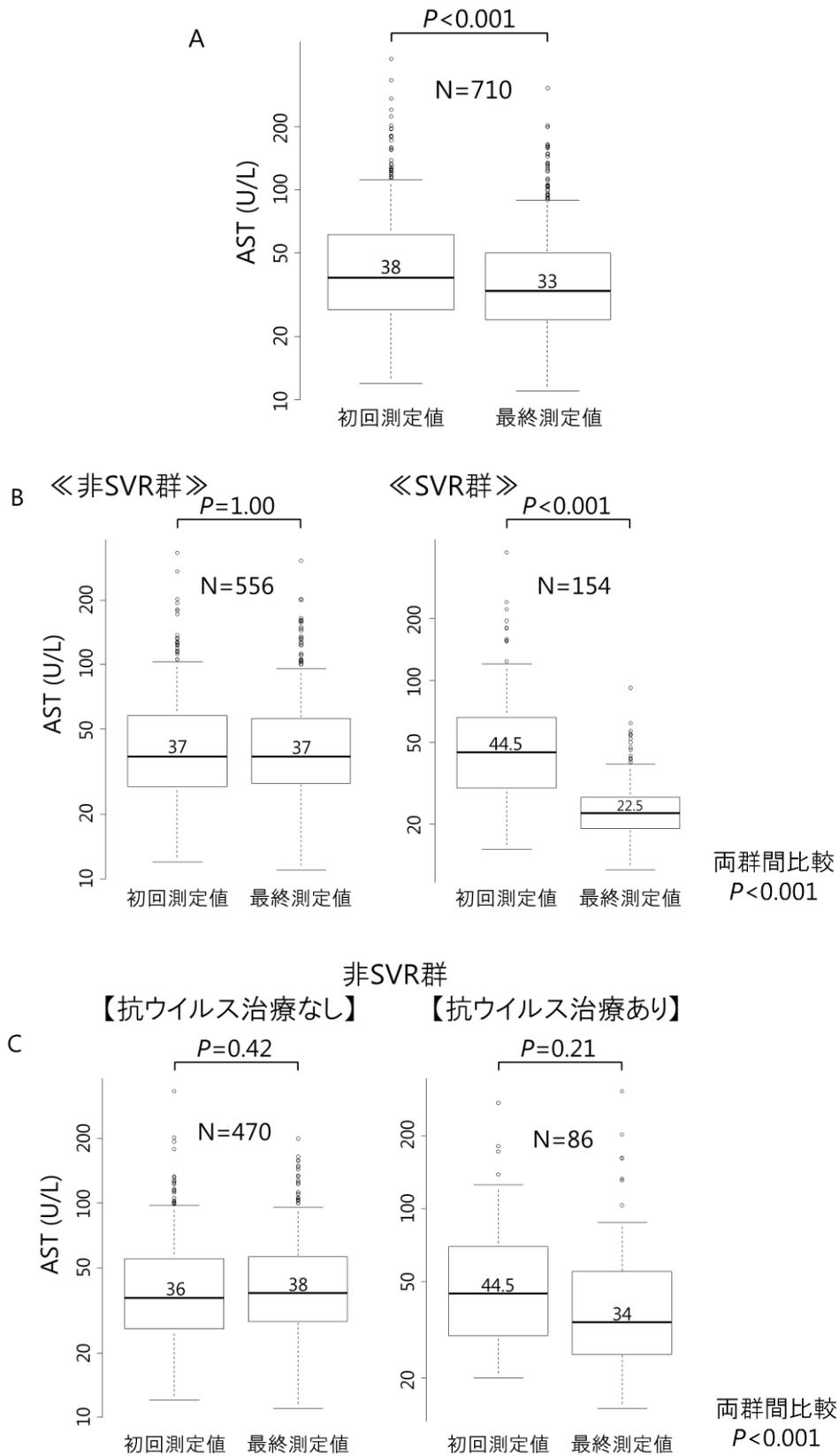


図 11. AST; 初回測定値と最終測定値のボックスプロット

縦軸(AST)は対数表示。(A) 対象患者全体。(B) 非 SVR 群、SVR 群の検討。(C) 非 SVR 群の抗ウイルス治療有無の検討。

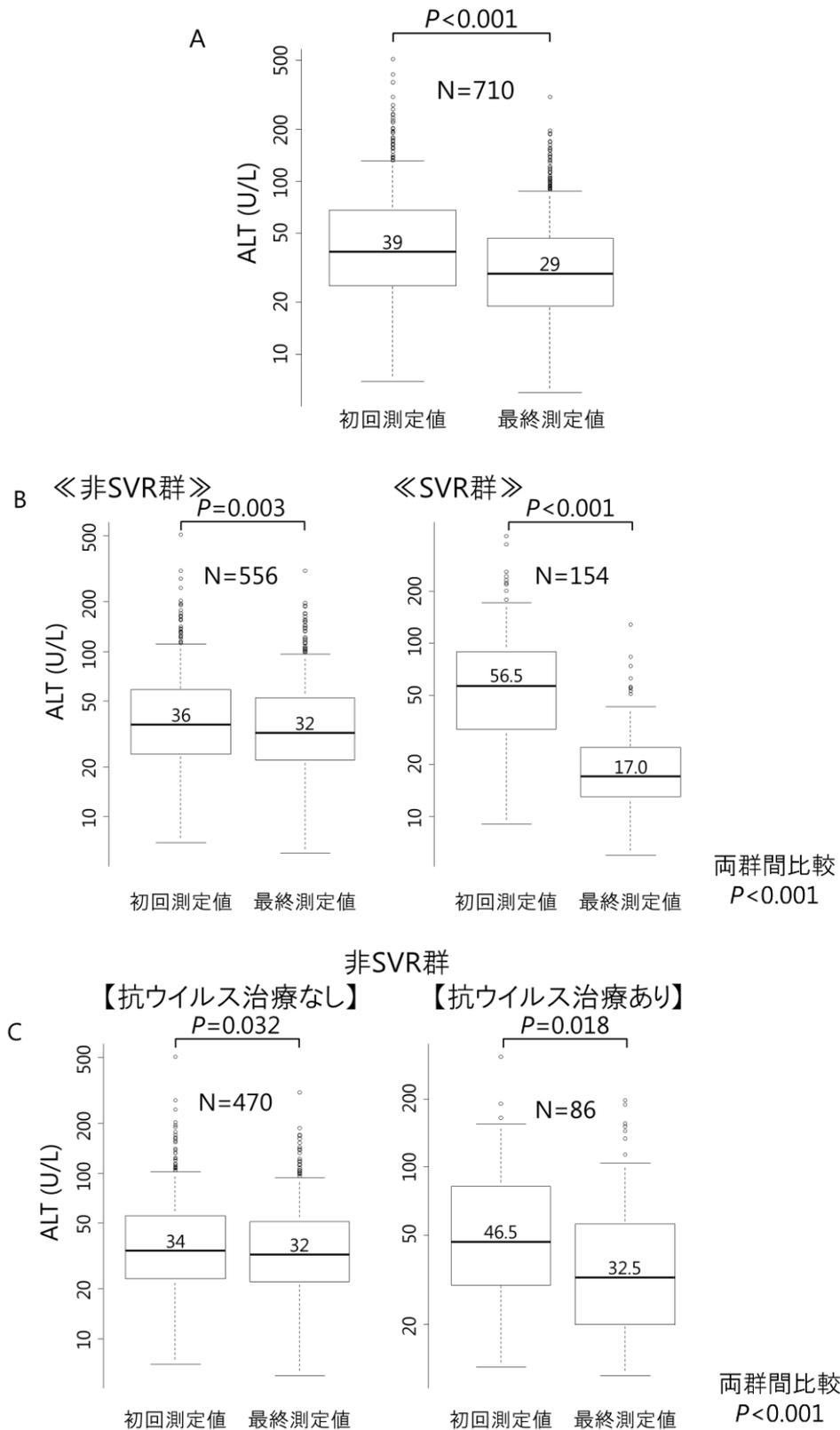


図 12. ALT; 初回測定値と最終測定値のボックスプロット

縦軸(ALT)は対数表示。(A) 対象患者全体。(B) 非 SVR 群、SVR 群の検討。(C) 非 SVR 群の抗ウイルス治療有無の検討。

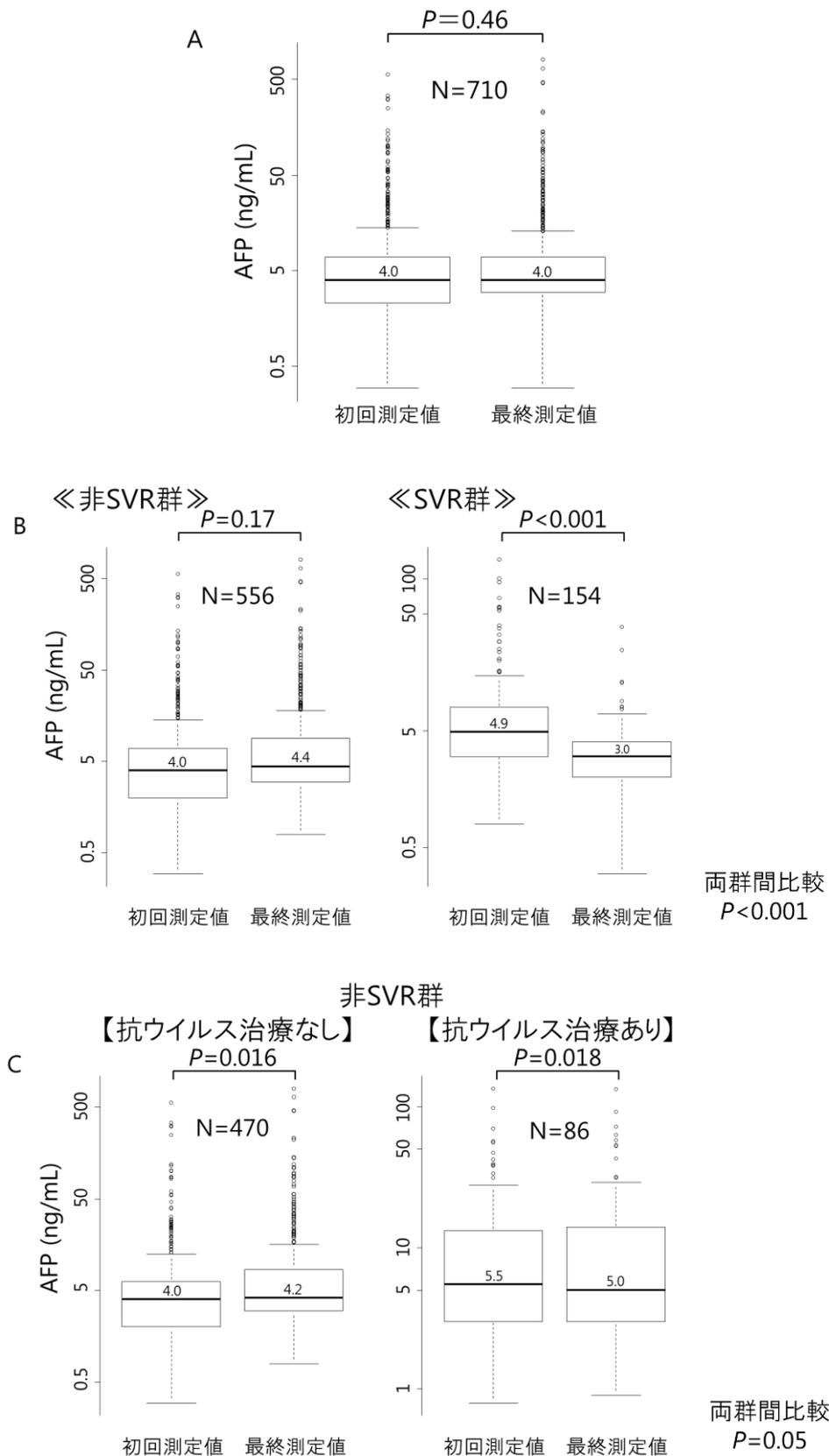


図 13. AFP; 初回測定値と最終測定値のボックスプロット

縦軸(AFP)は対数表示。(A) 対象患者全体。(B) 非 SVR 群、SVR 群の検討。(C) 非 SVR 群の抗ウイルス治療有無の検討。

第五章 考察

肝生検による肝線維化の評価には、病理診断を元に 5 段階に分類した METAVIR 分類がある[34]。METAVIR 分類による肝線維化ステージと肝弾性値には強い相関関係があることが報告されており[13-15]、肝弾性値の経時的変化を解析することで、肝線維化の経時的評価につながると考えられた。

本研究では 710 人の C 型肝炎患者の肝弾性値の経時的変化を解析した。本邦では C 型肝炎患者と肝弾性値の関連についての報告は多く存在するが、710 人という規模でのコホートは見られず、また観察期間中央値 6.1 年の報告も全世界的にも多くはない[35-37]。C 型肝炎患者を非 SVR 群、SVR 群に分けて解析し、肝弾性値がそれぞれ年率 1.8% 上昇、6.5% 低下していたことが分かった。非 SVR 群では抗ウイルス治療の有無でも検討し、抗ウイルス治療未施行群では年率 2.2% 上昇し、施行群では年率 0.1% 低下した。Poynard らは C 型肝炎患者の抗ウイルス治療未施行時の肝生検結果を用いて、C 型肝炎患者における肝線維化の進展速度を検討し、METAVIR 分類において年率 0.133 段階上昇すると述べている[5]。また Shiratori らは C 型肝炎患者において肝生検を複数回施行し、抗ウイルス治療の有無、抗ウイルス治療施行後の SVR の有無によって 3 群に分けて肝線維化ステージの変化を検討した。生検間隔 3 年以上の患者において肝線維化

ステージは SVR 群では年率 0.88 段階低下し、抗ウイルス治療未施行の非 SVR 群は年率 0.59 段階上昇し、抗ウイルス治療施行の非 SVR 群では 0.15 段階上昇していた[10]。今回、本研究で得られた抗ウイルス治療未施行非 SVR 群の肝弾性値の年率変化率(年率 2.2% 上昇)について考えると、10 年間の経過では肝弾性値が 7 kPa の患者は 8.7 kPa、10 kPa の患者では 12.4 kPa になると想定され、これらの値は METAVIR 分類ではそれぞれ F1 が F2~F3 への上昇、F2~F3 が F3~F4 への上昇に当てはまる[13-15]。SVR 群の肝弾性の年率変化率(年率 6.5% 低下)について考えると、10 年間の経過では肝弾性値が 15 kPa の患者は 7.7 kPa、10 kPa の患者では 5.1 kPa になると想定され、それぞれ F4 が F2 への低下、F2~F3 が F1 への低下に当てはまる。この結果は Shiratori らの報告と概ね合致する[10]。

肝弾性値の経時的変化に関連する因子として、非 SVR 群、SVR 群ともに初回弾性値 >7.3 kPa が得られた。FibroScan[®]による肝弾性値測定は、肝線維化の非常に軽い群の測定精度に限界があると一般に考えられており、線維化の軽い群においては、軽微な線維化の改善を検出することが困難であると推定される。

今回の研究では、血小板、AST、ALT、AFP の臨床的因子について経時的変化を解析した。血小板数において、抗ウイルス治療のない非 SVR 群では有意に

低下し、SVR 群では有意に上昇していた(いずれも $P=0.03$)。そして同観察期間、同患者群における肝弾性値の経時的変化は同様に有意な上昇ならびに有意な低下を認めていた(いずれも $P<0.001$)。このことは、肝弾性値測定が行われる以前は、肝線維化の進展を把握する際には血小板数が有用であるとされていたが[38, 39]、肝弾性値も血小板数と同様に優れた指標になり得ることを示している。

抗ウイルス治療施行非 SVR 群において AST、ALT、AFP は低下していた(図 11、12、13)。非 SVR 群全体ならびに抗ウイルス治療未施行非 SVR 群の肝弾性値については有意に上昇しているが(いずれも $P<0.001$)、抗ウイルス治療施行非 SVR 群では有意差はなかった($P=0.50$)。インターフェロン治療後は、HCV 駆除に成功しなかった場合でも肝逸脱酵素が改善することがあり、Biochemical response と言い、この 3 つの臨床パラメータの結果と同群の肝弾性値の結果は非 SVR 群に Biochemical responder が含まれていることを示唆している[40, 41]。

本研究では以下のような Limitation が存在する。第一に、後ろ向き研究であること。脱落して測定できなかった患者の中には比較的経過が良好であるものが多く含まれている可能性がある。今回解析対象とした 710 人の患者のうちコホート 1 は、478 人であった(67.3%)。元々コホート 1 は 866 人であるため 866 人中 388 人(44.8%)が脱落していた。第二に大学病院という高度医療機関単施設

での検討であり、C型肝炎患者の中でも比較的病勢進行の速い患者が選択された可能性が考えられる。また、患者背景から分かるように病勢進行の速い患者に抗ウイルス治療が行われる傾向があり、抗ウイルス治療未施行群は、比較的進行の遅い患者が含まれている可能性がある。第三に今回のコホートでは組織診断が行われていない点である。肝の線維化の進展と肝弾性値が相関しているという既報[13-15]は存在するが、今回のコホートにおける実際の肝線維化進展度合いについては肝弾性値から推測せざるを得ない。

近年、DAA の出現によりインターフェロンと比較し高い SVR 率が期待できる状況となったが、インターフェロン不適応・不応・不耐などの患者において、DAA で得られた SVR により肝線維化がインターフェロン同様改善するのかは分かっていない。さらにはインターフェロン同様肝発癌抑制効果が認められるかについても今後の検討を要する。本研究において、抗ウイルス治療により SVR が得られた患者については肝弾性値の改善が認められ肝病変の改善が示唆されたが、DAA による SVR 例について現在データを集積中である。すでに当院における抗ウイルス治療未施行の C 型肝炎患者に対して、スクリーニングの肝弾性値測定を開始しており、今後 DAA 終了後の肝弾性値測定を随時行う予定である。今回得られたデータは、DAA 後の線維化改善評価の対照として用いる予定であ

る。

結論として、C型肝炎患者の肝弾性値の経時的解析は、肝線維化の変化を評価するのに非常に有用である。さらにはDAAによるSVRという未知の病態の解明にも役立つことが期待される。

謝辞

本研究をまとめるにあたり、ご指導ご鞭撻を賜りました東京大学消化器内科
小池和彦教授に謹んで御礼を申し上げます。

本研究の遂行にあたり以下の先生方に特に多大なるご協力を賜りましたこと
を以下に記し、深く感謝申し上げます。

東京大学 消化器内科

建石 良介先生、近藤 真由子先生、佐藤 雅哉先生、南 達也先生、榎奥 健一郎
先生、中川 勇人先生、浅岡 良成先生、近藤 祐嗣先生

最後に本研究は東京大学消化器内科の皆様のご支援とご協力の賜物でありま
す。皆様に深く御礼を申し上げたく存じます。本当にありがとうございました。

参考文献

- [1] D. L. Thomas, C. L. Thio, M. P. Martin, Y. Qi, D. Ge, C. O'Huigin, J. Kidd, K. Kidd, S. I. Khakoo, G. Alexander, J. J. Goedert, G. D. Kirk, S. M. Donfield, H. R. Rosen, L. H. Tobler, M. P. Busch, J. G. McHutchison, D. B. Goldstein, and M. Carrington, "Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus," *Nature*, vol. 461, no. 7265, pp. 798-801, Oct 8, 2009.
- [2] M. J. Alter, D. Kruszon-Moran, O. V. Nainan, G. M. McQuillan, F. Gao, L. A. Moyer, R. A. Kaslow, and H. S. Margolis, "The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994," *N Engl J Med*, vol. 341, no. 8, pp. 556-62, Aug 19, 1999.
- [3] T. J. Liang, B. Rehermann, L. B. Seeff, and J. H. Hoofnagle, "Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C," *Ann Intern Med*, vol. 132, no. 4, pp. 296-305, Feb 15, 2000.
- [4] K. Kiyosawa, T. Umemura, T. Ichijo, A. Matsumoto, K. Yoshizawa, A. Gad, and E. Tanaka, "Hepatocellular carcinoma: recent trends in Japan," *Gastroenterology*, vol. 127, no. 5 Suppl 1, pp. S17-26, Nov, 2004.
- [5] T. Poynard, P. Bedossa, and P. Opolon, "Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups," *Lancet*, vol. 349, no. 9055, pp. 825-32, Mar 22, 1997.
- [6] O. Reichard, H. Glaumann, A. Fryden, G. Norkrans, R. Schvarcz, A. Sonnerborg, Z. B. Yun, and O. Weiland, "Two-year biochemical, virological, and histological follow-up in patients with chronic hepatitis C responding in a sustained fashion to interferon alfa-2b treatment," *Hepatology*, vol. 21, no. 4, pp. 918-22, Apr, 1995.
- [7] L. Chemello, L. Cavalletto, C. Casarin, P. Bonetti, E. Bernardinello, P. Pontisso, C. Donada, F. Belussi, S. Martinelli, and A. Alberti, "Persistent hepatitis C viremia predicts late relapse after sustained response to interferon-alpha in chronic hepatitis C. TriVeneto Viral Hepatitis Group," *Ann Intern Med*, vol. 124, no. 12, pp. 1058-60, Jun

- 15, 1996.
- [8] E. K. Manesis, C. Papaioannou, A. Gioustozi, G. Kafiri, J. Koskinas, and S. J. Hadziyannis, "Biochemical and virological outcome of patients with chronic hepatitis C treated with interferon alfa-2b for 6 or 12 months: a 4-year follow-up of 211 patients," *Hepatology*, vol. 26, no. 3, pp. 734-9, Sep, 1997.
- [9] S. L. George, B. R. Bacon, E. M. Brunt, K. L. Mihindukulasuriya, J. Hoffmann, and A. M. Di Bisceglie, "Clinical, virologic, histologic, and biochemical outcomes after successful HCV therapy: a 5-year follow-up of 150 patients," *Hepatology*, vol. 49, no. 3, pp. 729-38, Mar, 2009.
- [10] Y. Shiratori, F. Imazeki, M. Moriyama, M. Yano, Y. Arakawa, O. Yokosuka, T. Kuroki, S. Nishiguchi, M. Sata, G. Yamada, S. Fujiyama, H. Yoshida, and M. Omata, "Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy," *Ann Intern Med*, vol. 132, no. 7, pp. 517-24, Apr 4, 2000.
- [11] B. Maharaj, R. J. Maharaj, W. P. Leary, R. M. Cooppan, A. D. Naran, D. Pirie, and D. J. Pudifin, "Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsy of the liver," *Lancet*, vol. 1, no. 8480, pp. 523-5, Mar 8, 1986.
- [12] A. Regev, M. Berho, L. J. Jeffers, C. Milikowski, E. G. Molina, N. T. Pyrsopoulos, Z. Z. Feng, K. R. Reddy, and E. R. Schiff, "Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection," *Am J Gastroenterol*, vol. 97, no. 10, pp. 2614-8, Oct, 2002.
- [13] L. Sandrin, B. Fourquet, J. M. Hasquenoph, S. Yon, C. Fournier, F. Mal, C. Christidis, M. Ziol, B. Poulet, F. Kazemi, M. Beaugrand, and R. Palau, "Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis," *Ultrasound Med Biol*, vol. 29, no. 12, pp. 1705-13, Dec, 2003.
- [14] L. Castera, J. Vergniol, J. Foucher, B. Le Bail, E. Chanteloup, M. Haaser, M. Darriet, P. Couzigou, and V. De Ledinghen, "Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver

- biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C,” *Gastroenterology*, vol. 128, no. 2, pp. 343-50, Feb, 2005.
- [15] M. Ziol, A. Handra-Luca, A. Kettaneh, C. Christidis, F. Mal, F. Kazemi, V. de Ledinghen, P. Marcellin, D. Dhumeaux, J. C. Trinchet, and M. Beaugrand, “Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C,” *Hepatology*, vol. 41, no. 1, pp. 48-54, Jan, 2005.
- [16] P. Nahon, G. Thabut, M. Ziol, M. T. Htar, F. Cesaro, N. Barget, V. Grando-Lemaire, N. Ganne-Carrie, J. C. Trinchet, and M. Beaugrand, “Liver stiffness measurement versus clinicians' prediction or both for the assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C,” *Am J Gastroenterol*, vol. 101, no. 12, pp. 2744-51, Dec, 2006.
- [17] R. Masuzaki, R. Tateishi, H. Yoshida, H. Yoshida, S. Sato, N. Kato, F. Kanai, Y. Sugioka, H. Ikeda, S. Shiina, T. Kawabe, and M. Omata, “Risk assessment of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients by transient elastography,” *J Clin Gastroenterol*, vol. 42, no. 7, pp. 839-43, Aug, 2008.
- [18] R. Masuzaki, R. Tateishi, H. Yoshida, E. Goto, T. Sato, T. Ohki, J. Imamura, T. Goto, F. Kanai, N. Kato, H. Ikeda, S. Shiina, T. Kawabe, and M. Omata, “Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography,” *Hepatology*, vol. 49, no. 6, pp. 1954-61, Jun, 2009.
- [19] K. Chayama, S. Takahashi, J. Toyota, Y. Karino, K. Ikeda, H. Ishikawa, H. Watanabe, F. McPhee, E. Hughes, and H. Kumada, “Dual therapy with the nonstructural protein 5A inhibitor, daclatasvir, and the nonstructural protein 3 protease inhibitor, asunaprevir, in hepatitis C virus genotype 1b-infected null responders,” *Hepatology*, vol. 55, no. 3, pp. 742-8, Mar, 2012.
- [20] A. S. Lok, D. F. Gardiner, E. Lawitz, C. Martorell, G. T. Everson, R. Ghalib, R. Reindollar, V. Rustgi, F. McPhee, M. Wind-Rotolo, A. Persson, K. Zhu, D. I. Dimitrova, T. Eley, T. Guo, D. M. Grasela, and C. Pasquinelli, “Preliminary study of two antiviral agents for hepatitis C

- genotype 1,” *N Engl J Med*, vol. 366, no. 3, pp. 216-24, Jan 19, 2012.
- [21] Y. Suzuki, K. Ikeda, F. Suzuki, J. Toyota, Y. Karino, K. Chayama, Y. Kawakami, H. Ishikawa, H. Watanabe, W. Hu, T. Eley, F. McPhee, E. Hughes, and H. Kumada, “Dual oral therapy with daclatasvir and asunaprevir for patients with HCV genotype 1b infection and limited treatment options,” *J Hepatol*, vol. 58, no. 4, pp. 655-62, Apr, 2013.
- [22] G. T. Everson, K. D. Sims, M. Rodriguez-Torres, C. Hezode, E. Lawitz, M. Bourliere, V. Loustaud-Ratti, V. Rustgi, H. Schwartz, H. Tatum, P. Marcellin, S. Pol, P. J. Thuluvath, T. Eley, X. Wang, S. P. Huang, F. McPhee, M. Wind-Rotolo, E. Chung, C. Pasquinelli, D. M. Grasela, and D. F. Gardiner, “Efficacy of an interferon- and ribavirin-free regimen of daclatasvir, asunaprevir, and BMS-791325 in treatment-naive patients with HCV genotype 1 infection,” *Gastroenterology*, vol. 146, no. 2, pp. 420-9, Feb, 2014.
- [23] E. J. Gane, C. A. Stedman, R. H. Hyland, X. Ding, E. Svarovskaia, W. T. Symonds, R. G. Hindes, and M. M. Berrey, “Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C,” *N Engl J Med*, vol. 368, no. 1, pp. 34-44, Jan 3, 2013.
- [24] I. M. Jacobson, S. C. Gordon, K. V. Kowdley, E. M. Yoshida, M. Rodriguez-Torres, M. S. Sulkowski, M. L. Shiffman, E. Lawitz, G. Everson, M. Bennett, E. Schiff, M. T. Al-Assi, G. M. Subramanian, D. An, M. Lin, J. McNally, D. Brainard, W. T. Symonds, J. G. McHutchison, K. Patel, J. Feld, S. Pianko, D. R. Nelson, P. Study, and F. Study, “Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options,” *N Engl J Med*, vol. 368, no. 20, pp. 1867-77, May 16, 2013.
- [25] E. Lawitz, A. Mangia, D. Wyles, M. Rodriguez-Torres, T. Hassanein, S. C. Gordon, M. Schultz, M. N. Davis, Z. Kayali, K. R. Reddy, I. M. Jacobson, K. V. Kowdley, L. Nyberg, G. M. Subramanian, R. H. Hyland, S. Arterburn, D. Jiang, J. McNally, D. Brainard, W. T. Symonds, J. G. McHutchison, A. M. Sheikh, Z. Younossi, and E. J. Gane, “Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection,” *N Engl J Med*, vol. 368, no. 20, pp. 1878-87, May 16, 2013.

- [26] N. Afdhal, K. R. Reddy, D. R. Nelson, E. Lawitz, S. C. Gordon, E. Schiff, R. Nahass, R. Ghalib, N. Gitlin, R. Herring, J. Lalezari, Z. H. Younes, P. J. Pockros, A. M. Di Bisceglie, S. Arora, G. M. Subramanian, Y. Zhu, H. Dvory-Sobol, J. C. Yang, P. S. Pang, W. T. Symonds, J. G. McHutchison, A. J. Muir, M. Sulkowski, P. Kwo, and I. O. N. Investigators, "Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection," *N Engl J Med*, vol. 370, no. 16, pp. 1483-93, Apr 17, 2014.
- [27] N. Afdhal, S. Zeuzem, P. Kwo, M. Chojkier, N. Gitlin, M. Puoti, M. Romero-Gomez, J. P. Zarski, K. Agarwal, P. Buggisch, G. R. Foster, N. Brau, M. Buti, I. M. Jacobson, G. M. Subramanian, X. Ding, H. Mo, J. C. Yang, P. S. Pang, W. T. Symonds, J. G. McHutchison, A. J. Muir, A. Mangia, P. Marcellin, and I. O. N. Investigators, "Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection," *N Engl J Med*, vol. 370, no. 20, pp. 1889-98, May 15, 2014.
- [28] S. Zeuzem, G. M. Dusheiko, R. Salupere, A. Mangia, R. Flisiak, R. H. Hyland, A. Illeperuma, E. Svarovskaia, D. M. Brainard, W. T. Symonds, G. M. Subramanian, J. G. McHutchison, O. Weiland, H. W. Reesink, P. Ferenci, C. Hezode, R. Esteban, and V. Investigators, "Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3," *N Engl J Med*, vol. 370, no. 21, pp. 1993-2001, May 22, 2014.
- [29] K. G. Alberti, and P. Z. Zimmet, "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation," *Diabet Med*, vol. 15, no. 7, pp. 539-53, Jul, 1998.
- [30] B. Daniele, A. Bencivenga, A. S. Megna, and V. Tinessa, "Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma," *Gastroenterology*, vol. 127, no. 5 Suppl 1, pp. S108-12, Nov, 2004.
- [31] G. Torzilli, M. Minagawa, T. Takayama, K. Inoue, A. M. Hui, K. Kubota, K. Ohtomo, and M. Makuuchi, "Accurate preoperative evaluation of liver mass lesions without fine-needle biopsy," *Hepatology*, vol. 30, no. 4, pp. 889-93, Oct, 1999.

- [32] J. Bruix, M. Sherman, and A. A. f. t. S. o. L. D. Practice Guidelines Committee, "Management of hepatocellular carcinoma," *Hepatology*, vol. 42, no. 5, pp. 1208-36, Nov, 2005.
- [33] H. Yoshida, Y. Shiratori, M. Moriyama, Y. Arakawa, T. Ide, M. Sata, O. Inoue, M. Yano, M. Tanaka, S. Fujiyama, S. Nishiguchi, T. Kuroki, F. Imazeki, O. Yokosuka, S. Kinoyama, G. Yamada, and M. Omata, "Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. IHIT Study Group. Inhibition of Hepatocarcinogenesis by Interferon Therapy," *Ann Intern Med*, vol. 131, no. 3, pp. 174-81, Aug 3, 1999.
- [34] P. Bedossa, and T. Poynard, "An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group," *Hepatology*, vol. 24, no. 2, pp. 289-93, Aug, 1996.
- [35] N. Obara, Y. Ueno, K. Fukushima, Y. Nakagome, E. Kakazu, O. Kimura, Y. Wakui, O. Kido, M. Ninomiya, T. Kogure, J. Inoue, Y. Kondo, M. Shiina, T. Iwasaki, T. Yamamoto, and T. Shimosegawa, "Transient elastography for measurement of liver stiffness measurement can detect early significant hepatic fibrosis in Japanese patients with viral and nonviral liver diseases," *Journal of Gastroenterology*, vol. 43, no. 9, pp. 720-728, Sep, 2008.
- [36] Y. Nitta, N. Kawabe, S. Hashimoto, M. Harata, N. Komura, K. Kobayashi, Y. Arima, H. Shimazaki, T. Nakano, M. Murao, N. Ichino, K. Osakabe, H. Aoki, Y. Hosoe, H. Sugiyama, T. Nishikawa, and K. Yoshioka, "Liver stiffness measured by transient elastography correlates with fibrosis area in liver biopsy in patients with chronic hepatitis C," *Hepatology Research*, vol. 39, no. 7, pp. 675-684, Jul, 2009.
- [37] H. Morikawa, K. Fukuda, S. Kobayashi, H. Fujii, S. Iwai, M. Enomoto, A. Tamori, H. Sakaguchi, and N. Kawada, "Real-time tissue elastography as a tool for the noninvasive assessment of liver stiffness in patients with chronic hepatitis C," *Journal of Gastroenterology*, vol. 46, no. 3, pp. 350-358, Mar, 2011.

- [38] E. Ono, Y. Shiratori, T. Okudaira, M. Imamura, T. Teratani, F. Kanai, N. Kato, H. Yoshida, S. Shiina, and M. Omata, "Platelet count reflects stage of chronic hepatitis C," *Hepatology Research*, vol. 15, no. 3, pp. 192-200, Aug, 1999.
- [39] A. Pohl, C. Behling, D. Oliver, M. Kilani, P. Monson, and T. Hassanein, "Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection," *Am J Gastroenterol*, vol. 96, no. 11, pp. 3142-6, Nov, 2001.
- [40] J. Y. N. Lau, M. Mizokami, T. Ohno, D. A. Diamond, J. Kniffen, and G. L. Davis, "Discrepancy between Biochemical and Virological Responses to Interferon-Alpha in Chronic Hepatitis-C," *Lancet*, vol. 342, no. 8881, pp. 1208-1209, Nov 13, 1993.
- [41] M. L. Shiffman, C. M. Hofmann, E. B. Thompson, A. FerreiraGonzalez, M. J. Contos, A. Koshy, V. A. Luketic, A. J. Sanyal, A. S. Mills, and C. T. Garrett, "Relationship between biochemical, virological, and histological response during interferon treatment of chronic hepatitis C," *Hepatology*, vol. 26, no. 3, pp. 780-785, Sep, 1997.