

原 著

C型肝硬変症例における肝細胞癌の発生に対する インターフェロン治療の効果

柿原 幸司¹⁾, 持田 智¹⁾, 大西 久仁彦²⁾, 藤原 研司¹⁾

Effect of Interferon Therapy on the Development of Hepatocellular Carcinoma in Liver Cirrhosis Patients with Hepatitis C Virus Infection

Koji Kakihara¹⁾, Satoshi Mochida¹⁾, Kunihiro Ohnishi²⁾, Kenji Fujiwara¹⁾ (¹⁾ Third Department of Internal Medicine, Saitama Medical School Moroyama, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan, ²⁾ Ohnishi Clinic, Tsurugashima-shi, Saitama 350-2202, Japan)

Interferon (IFN) has been widely used as an useful antiviral agent for HCV-related chronic hepatitis patients to block the development to cirrhosis which often complicates hepatocellular carcinoma (HCC). However, its efficacy for cirrhotic patients is still equivocal. In 63 patients with HCV-related cirrhotic patients, the effect of IFN therapy on the occurrence of HCC was evaluated. The patients were allocated into IFN-therapy group and control group according to patients' will. IFN- α or IFN- β was basically administered for 6 months or 6 weeks at various doses. There was no difference in demographic and clinical features between both groups. HCC occurred in 6 of 39 patients (15%) in the IFN-therapy group during the observation period (IFN group; 44.0 ± 5.3 months, Control group; 42.4 ± 5.0 months) but in 9 of 24 patients (38%) in the control group ($p < 0.05$). The survival rate was also significantly improved in the IFN-therapy group. There were 7 of the 39 IFN-therapy group patients who showed sustained normal levels of serum GPT activity and no detectable HCV-RNA, but none of the control group patients ($p < 0.05$). In these patients of the IFN-therapy group, serum albumin levels and platelet and WBC counts were significantly higher at the end of the observation period than before the IFN therapy, but such increases were not seen in the IFN-therapy group patients who did not show normalization in serum GPT activity and HCV-RNA. Cox's multi-variate regression analysis revealed that alcohol intake, serum HCV-RNA levels and IFN therapy were significant factors related to the HCC occurrence in both groups. There were two patients who developed complications associated with the IFN therapy, but completely reversed after its discontinuation. In conclusion, IFN therapy may be an advisable candidate for HCV-related cirrhotic patients whose serum HCV-RNA levels were rather low to block the occurrence of HCC.

Keywords: Interferon (IFN) therapy, C type-related cirrhosis, Hepatocellular carcinoma (HCC)

J Saitama Med School 2002;29:205-211

(Received August 22, 2002)

緒 言

わが国における死亡原因の第一位は悪性新生物であり、総死亡者数の30%余りを占めている。しかも、近年、その数は次第に増え、特に肺癌と肝細胞癌の増加が目立っている。肝癌はこの25年間で3倍に増え、悪性新生物による死亡者数の第三位を占めるに至った。平成11年には33,000人余りがこれにより死亡している¹⁾。

肝細胞癌の原因はわが国では約95%が肝炎ウイ

ルスとされ、C型肝炎ウイルス(HCV)によるものが70~80%を占めている²⁾。わが国には約200万人のHCV感染者が存在すると推測される³⁾。これらには、肝組織所見が正常な無症候性キャリアは稀であり⁴⁾、大部分は炎症細胞の浸潤と線維化が持続して、20~25年の経過で慢性肝炎から肝硬変に至る^{5,6)}。肝硬変まで進展した症例は、年率5~7%の頻度で肝細胞癌を合併するため^{7,9)}、今後も肝細胞癌症例は増加の一途を辿るものと推測されている¹⁰⁾。従って、HCV感染に起因する肝細胞癌は、今や「国民病」と見なされており、その対策が国家的な課題となっている。しかし、肝硬変に至ると一般には不可逆的とされ、肝細胞癌の合併

1) 埼玉医科大学第三内科学教室 2) 大西内科
[平成14年8月22日受付]

を予防する方策は存在していないのが実情である。

インターフェロン (IFN) は抗ウイルス及び免疫賦活化作用を有するサイトカインで, α , β , γ の3種類が存在する。このうち IFN- α と β が抗ウイルス作用が強く, HCV に対する治療薬として臨床応用されている。わが国では, HCV 感染者のうち慢性肝炎症例に対して保険診療での投与が認められており, IFN- α は 6~10 MU を 2 週連日投与後 22 週間にわたって週 3 回投与するのが, IFN- β は 6 MU を 6~8 週間連日投与するのが一般的である。これら標準的な治療法の効果は IFN- α , β の何れの製剤を用いても同等で, 約 30% の症例で投与中止後も 6 ヶ月以上にわたって, 血清 HCV-RNA の陰性化が維持される¹¹⁻¹⁹⁾。これら症例は「著効例」と呼ばれ, HCV は体内から完全に排除されたものと見なしている。IFN 治療により HCV が排除されると慢性肝炎から肝硬変への進展は停止し, 肝線維化の程度が軽減する場合もある⁷⁾。また, 肝細胞癌の発生率も 1/5~1/20 と大幅に減少するため⁷⁾, その撲滅には慢性肝炎の段階で IFN 治療を実施することが重要である。一方, わが国では肝細胞癌の高危険群である C 型肝硬変に対して, 保険診療で IFN を投与することができない。従って, C 型肝硬変症例では, IFN 治療が肝細胞癌の発生を抑制するかどうかはいうまでもなく, その抗ウイルス効果や副作用に関しても, 一定の見解が得られていないのが現状である。

本論文では, この点を明らかにする目的で, HCV 感染者で肝組織学的検査により肝硬変症と診断された患者を対象として, 本人の希望により IFN 治療を施行した患者と非施行の患者に分け, 両者における肝細胞癌の発生と予後を中心に比較した。さらに, その発生を修飾する因子についても検討した。

対象及び方法

対 象

平成 4 年 4 月から平成 5 年 6 月に埼玉医科大学第三内科に入院し, 超音波ガイド下に肝生検を施行して, 組織学的に肝硬変と診断された 63 例 [男 35 例, 女 28 例, 年齢 57.7 ± 6.93 (平均 $\pm$ 標準偏差)]。全例, 血清 HBs 抗原陰性で血清 HCV 抗体, 及び HCV-RNA が陽性である。

治 療

IFN 治療に関して, 文書によるインフォームド・コンセントを行い, 治療を希望した 37 例に IFN を投与した (IFN 群)。11 例は IFN- β (フェロン: 東レ, 東京) 6 MU を連日 6 週間投与し, 26 例は IFN- α [n-IFN- α (スミフェロン: 住友製薬, 大阪) 3~6 MU, 5 例, IFN- α -2a (キャンフェロン: 武田薬品, 大阪) 3~9 MU, 4 例,

IFN- α -2b (イントロン A: シェーリング・プラウ, 東京) 3~10 MU, 17 例] を 2 週間連日投与後 22 週間にわたって週 3 回投与した。また, IFN 治療を希望しなかった 26 例は対照群として経過観察した。何れの群の患者も原則的に 3 ヶ月毎に超音波断層法を施行し, 腫瘍性病変が認められた場合は CT, 血管造影等の画像診断, ないしは生検による組織学的検索によって, 肝細胞癌の診断を行った。

ウイルス学的検索

血清 HCV-RNA の有無は 5'-非翻訳領域をプライマーとする RT-PCR 法で評価し²⁰⁾, その量は multicyclic PCR 法で測定し, 10^6 copy/mL で表示した²¹⁾。HCV の genotype は岡本らの方法により測定した²²⁾。

解析方法

IFN 群は, 投与終了後 1 年以上にわたり血清 ALT 値が正常で, かつ血清 HCV-RNA が陰性を持続した症例を「完全寛解例」とし, その他を「非寛解例」とした。

IFN 群と対照群, ないし完全寛解例と非寛解例の背景因子 unpaired t-test ないし χ^2 -test で比較検定した。また, 肝細胞癌発生率は Kaplan-Meier 法で評価し, これに寄与する要因は log-rank test で単変量解析を行った上で, Cox 多重回帰分析で判定した。その際, 予測因子は, 性別 (男: 女), 年齢 (60 歳以上: 未満), 輸血歴 (無: 有), 飲酒歴 (無: 有), Child-Pugh 値 (6 以上: 5 以下), 血清 HCV-RNA 量 (10^7 copy/mL 以上: 10^6 copy/mL 以下), HCV genotype (1b: 2a ないし 2b) と分類した。

結 果

患者背景及び肝生検施行時の血液検査成績は, IFN 群と対照群との間で差異を認めなかった (Table 1)。両群とも大部分の症例で Child-Pugh 値が grade A で, 末梢血血小板数も平均値が 10 万 mm^3 以上と肝予備能が良好であった。また, 血清 HCV-RNA 量は平均値が 10^7 copy/mL 台と高ウイルス量症例が多く, その genotype は 1b 型が大部分を占めていた。

IFN 群は 44.0 ± 5.3 ヶ月 (平均 $\pm$ 標準偏差), 対照群は 42.4 ± 5.0 ヶ月にわたって経過を観察した。この間の血液検査成績は IFN 群では変化が見られなかった。しかし, 対照群では末梢血血小板数が有意に低値となった (Table 2)。また, IFN 群は 39 例中 7 例 (18%) で血清 HCV-RNA の陰性化が持続して完全寛解例と判断されたが, 対照群の 24 例には陰性化した症例は認められなかった (Table 3)。なお, IFN 群では治療中に甲状腺機能低下症と鬱状態がそれぞれ 1 例づつ出現したが, 治療中止により回復した。

IFN 群で完全寛解例と非寛解例の患者背景や治療

Table 1. Demographic and Clinical Features in IFN and Control Groups

	IFN group (n=39)	Control group (n=24)
Sex (Male : Female)	19 : 20	15 : 9
Age (years)	56.5 ± 7.7	59.5 ± 6.8*
Child-Pugh score (A : B)	33 : 6	19 : 5
Total bilirubin (mg/dL)	0.7 ± 0.3	0.9 ± 0.5
Albumin (g/dL)	4.1 ± 0.4	3.9 ± 0.5
AST (IU/L)	88 ± 61	79 ± 47
ALT (IU/L)	114 ± 72	97 ± 67
WBC (×10 ³ /mm ³)	5.2 ± 1.3	4.8 ± 1.2
RBC (×10 ⁴ /mm ³)	442 ± 54	428 ± 58
Platelet (×10 ⁴ /mm ³)	12.0 ± 4.7	10.8 ± 3.6
HCV-RNA level (10 ³ copy/mL)	7.2 ± 2.0	7.3 ± 2.0
HCV genotype(1b : 2a : 2b)	30 : 7 : 2	20 : 4 : 0

*mean ± SD

Table 2. Laboratory Tests before IFN Treatment and at the End of Observation in IFN and Control Groups

	IFN group (n=39)		Control group (n=24)	
	before	at the end	before	at the end
Total bilirubin (mg/dL)	0.7 ± 0.3	1.3 ± 3.2	0.9 ± 0.5	0.9 ± 0.6*
Albumin (g/dL)	4.1 ± 0.4	4.1 ± 0.6	3.9 ± 0.5	3.9 ± 0.5
ALT (IU/L)	114 ± 72	96 ± 93	97 ± 67	74 ± 50
WBC (×10 ³ /mm ³)	5.2 ± 1.3	5.5 ± 1.6	4.8 ± 1.2	4.4 ± 1.3
Platelet (×10 ⁴ /mm ³)	12.0 ± 4.7	13.1 ± 5.1	10.8 ± 3.6	9.3 ± 3.5 [#]

Observation period (month : mean ± SD) : IFN group ; 44.0 ± 5.3, Control group ; 42.4 ± 5.0,

* mean ± SD, [#] p < 0.05 vs before treatment

前の血液検査成績を比較した。血清 HCV-RNA 量は完全寛解例が非寛解例に比して有意に低値であったが、HCV の genotype や肝機能検査値には差異を認めなかった (Table 4)。また、治療前と最終観察時における血液検査値を比較すると、完全寛解例では血清 ALT 値が正常化し、血清アルブミン濃度と末梢血血小板数が有意に増加していた (Table 5)。しかし、非寛解例では何れの血液検査値も経過中不変であった。

Table 3. The Number of Patients in which Serum HCV-RNA Disappeared during the Follow-up Period

	IFN group (n=39)	Control group (n=24)
The number of the patients (%)	7 (18%) [#]	0 (0%)
Follow-up period : months	44.0 ± 5.3	42.4 ± 5.0*

* mean ± SD, [#] p < 0.01 vs control group**Table 4.** Demographic and Clinical Features of Complete Responders (CR) and Non-Responders (NR) in IFN Group

	CR (n=7)	NR (n=32)
Sex (Male : Female)	2 : 5	17 : 15
Age (years)	57.8 ± 7.7	56.2 ± 7.9*
Child-Pugh score (A : B)	6 : 1	29 : 3
Total bilirubin (mg/dL)	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.4
Albumin (g/dL)	4.0 ± 0.4	4.1 ± 0.4
AST (IU/L)	76 ± 29	91 ± 66
ALT (IU/L)	110 ± 52	115 ± 76
WBC (×10 ³ /mm ³)	5.3 ± 1.2	5.4 ± 1.2
Platelet (×10 ⁴ /mm ³)	9.6 ± 2.0	12.5 ± 4.9
HCV-RNA level (10 ³ copy/mL)	4.9 ± 1.3	7.8 ± 1.7 [#]
HCV genotype(1b : 2a : 2b)	3 : 3 : 1	27 : 4 : 1

*mean ± SD, [#] p < 0.01 vs CR

対照群は 24 例中 9 例 (38%) で経過観察時までに肝細胞癌が出現した。一方、IFN 群では肝細胞癌が見られたのは 39 例中 6 例 (15%) と少なく、特に完全寛解例の 7 例には 1 例も存在しなかった (Table 6)。また、Kaplan-Mayer 法で評価した累積発癌率と生存率は、IFN 群が完全寛解例、非寛解例ともに対照群に比して有意に低値であった (Fig. 1)。

肝発癌に寄与する要因を log-rank test で単変量解析したところ、p 値は性別 : 0.25, 年齢 : 0.10, 輸血歴 : 0.53, 飲酒歴 : 0.11, Child-Pugh 値 : 0.03, 血清 HCV-RNA 量 : 0.06, HCV genotype : 0.14, IFN 療法の有無 : 0.003 であった。従って、Child-Pugh 値、血清 HCV-RNA 量、IFN 療法の有無の 3 要因が、肝細胞癌の発生に影響を与える可能性があると考えられた。しかし、Cox 回帰分析で多変量解析すると、飲酒歴 (p = 0.03)、血清 HCV-

Table 5. Laboratory Tests before Treatment and at the End of Observation in Complete Responders (CR) and Non-Responders (NR) in IFN Group

	CR (n=7)		NR (n=32)	
	before	at the end	before	at the end
Total bilirubin (mg/dL)	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.3	1.5 ± 3.6*
Albumin (g/dL)	4.0 ± 0.4	4.5 ± 0.4 [#]	4.1 ± 0.5	4.0 ± 0.6
ALT (IU/L)	109 ± 53	18 ± 10 [#]	116 ± 79	114 ± 95
WBC (×10 ³ /mm ³)	4.4 ± 1.2	5.9 ± 2.6 [#]	5.4 ± 1.2	5.4 ± 1.4
Platelet (×10 ⁴ /mm ³)	9.3 ± 2.6	15.0 ± 4.7 [#]	12.7 ± 5.1	12.7 ± 5.2

Observation period (month: mean±SD) : CR ; 44.1±5.5, NR ; 43.3±5.6, * mean±SD, [#] p<0.01 vs before treatment

Table 6. Incidence of Hepatocellular Carcinoma (HCC) in Complete Responders (CR) and Non-Responders (NR) in IFN and Control Groups

	IFN group (n=39)		Control group (n=24)
	CR (n=7)	NR (n=32)	
Patients developing HCC	0 (0%)	6 (18%)	9 (38%)
Follow-up period : months	44.0 ± 5.3		42.4 ± 5.0

* mean±SD

RNA 量 ($p = 0.02$) 及び IFN 療法の有無 ($p = 0.05$) が、独立した有意な要因として抽出された。それぞれのリスク比は、飲酒家は非飲酒家に対して 4.1, 血清 HCV-RNA 量が 10^7 copy/mL 以上の症例は 10^6 copy/mL 以下に対して 15.8, IFN 施行例は未施行例に対して 0.3 であった (Table 7)。

考 案

本研究では、IFN 治療を施行した C 型肝硬変症例は非施行症例に比して、肝細胞癌の累積発生率が有意に低く、生存率も高いことが明らかになった。また、IFN 治療例のうち完全寛解症例は、非寛解例に比して治療前の血清 HCV-RNA 量が有意に低値であり、最終観察時には血清アルブミン濃度、末梢血血小板数及び白血球数が治療前に比して有意に上昇することが判明した。

一般に、薬物治療の効果を評価する目的では、患者を治療群と非治療群に無作為に割付けて、両群間で比較検討する方法が最も信頼度が高いとされて

Table 7. Factors affecting the Development of Hepatocellular Carcinoma in Liver Cirrhosis Patients with Hepatitis C Virus Infection

Factors	χ^2	P value	Risk ratio (95%CI)
Sex		0.70	1.29 (0.35 - 4.77)
Age		0.10	2.26 (0.86 - 5.92)
Blood transfusion		0.62	0.78 (0.28 - 2.15)
Alcohol intake		0.03	4.12 (1.13 - 15.05)
Child-Pugh score		0.19	2.02 (0.70 - 5.86)
HCV-RNA level		0.02	15.76 (1.63 - 152.13)
HCV genotype		0.38	2.79 (0.28 - 27.67)
IFN treatment		0.05	0.33 (0.11 - 0.99)

Cox's multi-variate regression analysis was performed using factors classified as follows ; sex (male : female), age (60 years old or more : less than 60), history of blood transfusion (none : exist), history of alcohol intake (none : exist), Child-Pugh score (6 or more : 5 or less), serum HCV-RNA level (10^7 copy/mL or more : 10^6 copy/mL or less), HCV genotype (1b : 2a or 2b)。

いる。この点、本研究では患者の割付が無作為でなかったが、患者の希望に応じて治療を実施しているため、大きなバイアスは生じないと考えられる。実際、IFN 群と対照群では、患者の背景や肝生検時の血液検査成績に差異は認められなかった (Table 1)。

IFN 群では肝細胞癌の累積発癌率が対照群に比して有意に低値であった (Fig. 1)。完全寛解例のみならず、ウイルス排除の達成できなかった非寛解例でも対照群より発癌率が低かったことは、IFN 治療の発癌予防効果を示すものとして注目される。生存率も IFN 群が対照群より有意に高かったが、肝硬変患者の死因は大部分が肝細胞癌による癌死であることを考慮すると、これも発癌予防効果を反映した所見と考えられよう。このことは、Cox 回帰分析でも IFN 治療の有無が肝発癌に影響する独立した有意の要因として抽出された事実からも支持されるものである (Table 7)。同様の成績は西口等²³⁾、池田等²⁴⁾によっても報告されている。

IFN 治療により完全寛解に至った症例は非寛解症例に比して治療前の血清 HCV-RNA 量が低値であった (Table 4)。C 型慢性肝炎でも IFN 治療の効果を規定

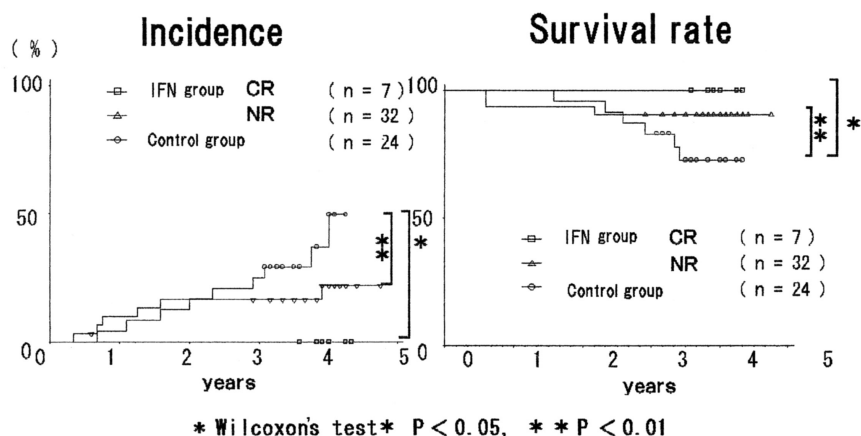


Fig. 1. Incidence of Hepatocellular carcinoma (HCC) and Survival Rate in Complete Responders (CR) and Non Responders (NR) in IFN group and in Control Group.

する要因としては HCV-RNA 量が最も重要であることが明らかになっており¹⁹⁾, 肝硬変症例でもこの点は同様であると考えられた. 我々の検討では, 完全寛解例からは肝細胞癌の発生は今のところ 1 例も認められていない (Table 6, Fig. 1). C 型慢性肝炎では, 進展度が新犬山分類で F1 ないし F2 の場合は IFN 治療で完全寛解が得られると肝発癌はほとんど見られないが, F3 では発癌リスクは低下するものの無視できないことが報告されている⁷⁾. 従って, IFN 治療で完全寛解した C 型肝炎硬変症例における肝発癌率に関しては, 更に多数の症例で検討を加える必要があると言えよう. しかし, 完全寛解例では肝発癌率が大幅に低下することは今回の検討からも明らかであり, 肝硬変まで進展している症例であっても血清 HCV-RNA 量の低値の症例は, 肝細胞癌の予防を目的に IFN 治療の適応になると考えられる. なお, Cox 回帰分析では, 肝発癌に影響する因子として血清 HCV-RNA 量が抽出されたが (Table 7), その意味付けに関しては今後の検討が必要である.

IFN 治療が肝発癌予防に有効である理由は何であろうか. 完全寛解例ではウイルスが排除されるため, IFN 治療後は新たな肝癌細胞クローンの発生が抑制されることが考えられる. しかし, ウイルス感染が持続している非寛解例でも効果があるという事実を説明することはできない. C 型肝炎慢性疾患では組織学的進展度 (staging) が高度になるに従って, 肝細胞癌の発生率が上昇する⁷⁾. 本研究では, 血清 HCV-RNA の持続陰性化と血清 ALT 値の正常化をもって完全寛解と定義した. これらの症例は経過観察中に血清アルブミン濃度, 末梢血血小板数及び白血球数の有意な上昇が認められた (Table 5). 一方, 対照群では経過観察中に末梢血血小板数が有意に低下したが (Table 2), IFN で治療した非寛解例では治療前と不変であった

(Table 5). IFN 治療を施行した C 型肝炎硬変症例における血清アルブミン濃度の上昇は西口等²³⁾によっても観察されている. 血清アルブミン濃度は肝細胞の合成能を, 末梢血血小板数や白血球数は門脈圧亢進に伴う脾機能亢進を反映しており, 何れも慢性肝疾患の進展度の評価に有用である. 従って, IFN 治療を実施すると非寛解例であっても肝線維化の進展が抑制され, これが肝発癌率の低下に繋がっている可能性がある. C 型肝炎慢性疾患患者では IFN 治療によりウイルスは排除されない場合でも血清 ALT 値が低下または正常化する場合があることが知られている²⁵⁾. 肝の壊死, 炎症が抑制されれば肝線維化の程度も軽度となり, 肝硬変への進展を遅らせることが可能である. C 型肝炎慢性疾患における IFN 治療の意義は, ウイルス駆除ばかりでなく, この点にもあるとされている. また, その結果, 肝再生が活発になり, 肝細胞の機能が改善することはあり得ることである. 肝硬変においても同様の効果があったとすれば, 肝細胞の機能回復をもたらした可能性はあろう. しかし, 今回の検討では非寛解例では最終観察時の血清 ALT 値は治療前と差異が認められなかった (Table 5). 非寛解例で肝線維化の進展が抑制された原因の解明は今後の課題である.

IFN 治療を施行した患者では, 2 例で副作用と推測される甲状腺機能低下症及び抑鬱状態が観察された. 何れの副作用も慢性肝炎に対する IFN 治療で観察されるものであり, 治療中止によって回復した. 従って肝硬変患者における安全性は慢性肝炎患者と同等と推測される. しかし, 今回の検討では Child-Pugh 分類が grade C の症例は含まれておらず, 肝不全が高度の場合の安全性に関しては, 今後の検討が必要である.

以上から, C 型肝炎硬変症例では肝細胞癌発生の予防を目的に, IFN 治療は試みる価値があるものと結論された.

References

- 1) 厚生労働省大臣官房統計情報部編. 人口動態統計 上巻. 東京: 厚生労働省大臣官房統計情報部; 1999: p. 65-7.
- 2) 山岡義生, 有井滋樹, 井上恭一, 沖田極, 神代正道, 小林健一, 他. 第14回全国原発性肝癌追跡調査報告(1996~1997). 肝臓 2000; 41: 799-811.
- 3) 吉澤浩司. 日本の慢性肝炎の現状. 慢性肝炎診療のためのガイドライン 平成12年度. 東京: (社)日本肝臓学会; 2000. p. 4-5.
- 4) Naito M, Hayashi N, Hagiwara H, Hiramatsu N, Akinori K, Hideyuki F, et al. Serum hepatitis C virus RNA quantity and histological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels. *Hepatology* 1994; 19: 871-5.
- 5) Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Gibo Y, Toshizawa K, Nakano Y, et al. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology* 1990; 12: 671-5.
- 6) Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R, Doi T, Endo H and Takao T. Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1993;88: 240-3.
- 7) Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, Arakawa Y, Ide T, Sata M, et al. Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. *Ann Intern Med* 1999; 131: 174-81.
- 8) Oka H, Kurioka N, Kim K, Kanno T, Kuroki T, Mizoguchi Y, et al. Prospective study of early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Hepatology* 1990; 12: 680-7.
- 9) 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* 18: 47-53, 1993.
- 10) 田中英夫, 津熊秀明. 日本の肝がんの特徴: 男女別にみた疫学的特徴. 肝がん白書 平成11年度. 東京: (社)日本肝臓学会; 1999. p 10-7.
- 11) Iino S, Hino K, Kuroki T, Suzuki H, and Yamamoto S. Treatment of chronic hepatitis C with high-dose interferon α -2b. A multi-center study. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 612-8.
- 12) Yokosuka O, Kato N, Hosoda K, Ito Y, Imazeki F, Ohto M, et al. Efficacy of longterm interferon treatment in chronic liver disease evaluated by sensitive polymerase chain reaction assay for hepatitis C virus RNA. *Gut* 1995; 37: 721-6.
- 13) Yamada G, Takatani M, Kishi F, Takahashi M, Doi T, Tsuji T, et al. Efficacy of interferon alfa therapy in chronic hepatitis C patients depends primarily on hepatitis C virus RNA level. *Hepatology* 1995; 22: 1351-4.
- 14) Orito E, Mizokami M, Suzuki K, Ohba K, Ohno T, Mori M, et al. Loss of serum HCV-RNA at week 4 of interferon- α therapy is associated with more favorable long-term response in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1995; 46: 109-15.
- 15) Mochida S, Ohnishi K, Matsuo S, Kakihara K, and Fujiwara K, et al. Effect of alcohol intake on the efficacy of interferon therapy in patients with chronic hepatitis C as evaluated by multivariate logistic regression analysis. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20: 371A-7A.
- 16) Hagiwara H, Hayashi N, Kasahara A, Oshita M, Katayama K, and Naito M, et al. Long-term biochemical and virological response to natural interferon- α in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1001-7.
- 17) Imai Y, Kawata S, Tamura S, Ito N, Seki K, Nishiuchi M, et al. Recombinant interferon α -2a for treatment of chronic hepatitis C: Results of a multi-center randomized controlled dose study. *Liver* 1997; 17: 88-92.
- 18) Kobayashi Y, Watanabe S, Konishi M, Yokoi M, Kakehashi R, Kaito M, et al. Quantitation and typing of serum hepatitis C virus RNA in patients with chronic hepatitis C treated with interferon- β . *Hepatology* 1993; 18: 1319-25.
- 19) Fujiwara K, Mochida S, Matsuo S, Ogata I, Hayashi S, Sato Y. Randomized control trial of interferon- β injections at 12-h intervals as a therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology Res* 1998; 12: 240-51.
- 20) Inui A, Fujisawa T, Komatsu H. Rapid detection of hepatitis C virus by direct reverse transcription-polymerase chain reaction. *Intern Hepatol Commun* 1995; 3: 126-30.
- 21) Ishiyama N, Ishimi N, Takahashi S, Igarashi H, Nakajima H, Saito S, et al. Multicyclic RT-PCR法によるC型肝炎ウイルスゲノムのコピー数の定量とmodified CRT-PCRとの比較. 肝臓 1992; 33: 506-7.
- 22) Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S, Kurai K, Akahane Y, Sugai Y, et al. Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific

- primers: application to clinical surveys and tracing infectious sources. *J Gen Virol* 1992; 73: 673-39.
- 23) Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S, Morimoto H, Takeda T, Nakajima S, et al. Randomised trial of effects of interferon- α on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 1995; 346:1051-5.
- 24) Ikeda K, Saitoh S, Kobayashi M, Suzuki Y, Suzuki F, Tsubota A, et al. Long-term interferon therapy for 1 year or longer reduces the hepatocellular carcinogenesis rate in patients with liver cirrhosis caused by hepatitis C virus: a pilot study. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 406-15.
- 25) Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, Hiramatsu N, Sasaki Y, Kakumu S, et al. Clinical characteristics of patients with chronic hepatitis C showing biochemical remission, without hepatitis C virus eradication, as a result of interferon therapy. The Osaka Liver Disease Study Group. *J Viral Hepatitis*. 2000; 7: 343-51.