原 著

順天堂医学 43 (2)
p. 280~292 (1997)小児のC型慢性肝炎に対するインターフェロン
治療効果の臨床病理学的検討A clinicopathological study of efficacy of interferon
therapy in children with chronic hepatitis C尾 上 昌 弘^{*1) 2)}

MASAHIRO ONOUE, M.D.

目的：小児のC型慢性肝炎に対するインターフェロン (IFN) 治療効果の予測因子および長期予後を臨床病理学的に検討する。

対象と方法：天然型の IFN- α (24週間；計 800万単位/kg) を投与し、その効果が判定可能なC型慢性肝炎患児26例を対象とした。

IFN 治療効果は、投与終了後6ヵ月以内に血清トランスアミナーゼ (ALT) 値が正常化し以後も6ヵ月にわたり正常、かつ持続的に血清 HCV-RNA 陰性例を著効 (CR群12例)、それ以外を非著効 (NCR群14例) と判定した。

肝針生検はIFN療法を開始前6ヵ月以内 (全例) および、終了後2年 (9/26例) で行った。生検所見をヨーロッパ分類および、Modified Histology Activity Index (Modified HAI) スコアで評価し、胆管障害・リンパ球胞形成・好酸体壊死・脂肪変性、および鉄沈着も検索した。

結果：肝生検所見 (IFN治療前) をIFN治療効果別に比較すると、①ヨーロッパ分類上の各組織型は両群間で有意差がなかった。②Modified HAI スコアは、壊死炎症反応、線維化およびTotal のいずれも両群間で有意差がなかった。③胆管障害・好酸体壊死および脂肪変性はNCR群に、またリンパ球胞形成はCR群に高率にみられたが、いずれも両群間で有意差がなかった。一方、鉄沈着はNCR群 (57%) がCR群 (8%) と比較して有意に高率にみられた ($p=0.009$)。これら5項目の組織所見のうち3項目以上を保有する症例およびリンパ球胞形成を除いた4項目中2項目以上を保有する症例は、CR群 vs. NCR群でそれぞれ0% vs. 36%・8% vs. 71%とNCR群に有意に高率にみられた ($p=0.021 \cdot 0.001$)。

IFN 治療前後で肝生検所見を比較し得た9例 (CR 7例・NCR 2例) のうち8例 (CR 7例・NCR 1例) で組織進行度が改善していたが正常化例はなかった。

結論：小児のC型慢性肝炎に対するIFN治療効果は、病理組織学的に鉄沈着と組織所見の保有項目数により予測可能であり、著効例での組織学的改善には治療終了後2年以上の期間が必要である。

キーワード：小児，C型慢性肝炎，インターフェロン，肝組織所見

Key words: children, chronic hepatitis C, interferon, liver histology

* 1) 順天堂大学医学部病理学第一講座

* 2) 自衛隊中央病院小児科

* 1) Department of Pathology (I), Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

* 2) Department of Pediatrics, Self Defense Forces Central Hospital, Tokyo, Japan

[Oct. 4, 1996 原稿受領] (Nov. 28, 1996 掲載決定)

緒 言

C型慢性肝炎は、成人では自然治癒がほとんど期待できず緩徐ではあるが確実に進行し、感染から20~30年の経過で肝硬変さらに肝癌に至る^{1) 2)}。このためインターフェロン(以下IFNと略)療法が導入されたが、その著効率は20~30%である^{3) 4)}。IFN効果を規定する因子としてC型肝炎ウイルス(以下HCVと略)の遺伝子型(genotype)・血清HCV-RNA量、あるいは肝組織進行度などが報告されている^{5)~10)}。

一方、小児のC型慢性肝炎は成人例と比較して、①自然治癒症例がある(約10%)^{11) 12)}、②基礎疾患に血液・悪性腫瘍があり、免疫抑制剤投与歴や頻回の輸血歴を有する症例が多い^{11) 13)}、③基礎疾患や治療歴の相違により組織学的進行度が異なるものの^{11) 14) 15)}、進展例が少ない^{11) 15) 16)}、④IFN療法の著効率は40~50%程度^{17)~22)}と高く、副作用も軽い^{17)~22)}、などの特徴がある。しかし、小児例ではIFN療法の効果予測因子として、臨床的には血清HCV-RNA量²⁰⁾が、病理組織学的には鉄沈着¹⁸⁾が重視されているのみで、いまだ十分に検討されていない。

そこで筆者は、小児のC型慢性肝炎に対するIFN療法の効果予測因子を明らかにする目的で主に治療前の肝生検所見を、また追跡肝生検が可能であった例ではIFN療法前後での組織所見を詳細に検討した。

対象と方法

1. 対象

1990年10月から1995年8月の約5年間にIFN療法を開始した小児C型慢性肝炎30例のうち、肝生検未実施(血友病)1例・IFN治療期間不足(脱落例)1例・IFN治療効果の判定期間不足2例の計4例を除いた26例を対象とした。対象例は全例とも肝生検前6ヵ月以上にわたり血清トランスアミナーゼが高値(ALT値 $>30\text{IU}/\text{ml}$)で、HCV抗体および血清HCV-RNAも陽性で、病理

組織学的にも慢性肝炎であった。また、これらはB型肝炎、サイトメガロ、Epstein-Barrなどのウイルス感染がなく、ウイルソン病などの代謝疾患、あるいは自己免疫性肝炎にも罹患していない。

対象児はいずれも初診時16歳未満の小児であり、男児18例・女児8例であった。IFN療法の開始時年齢は5~19歳(平均9.8歳)であった。基礎疾患として血液・悪性腫瘍が19例あり(以下A群と略)、内訳は急性白血病が15例、重症再生不良性貧血・神経芽細胞腫・肝芽腫および血球貪食症候群がそれぞれ1例であった。これらはいずれも、不特定多数のドナーから頻回に輸血され、抗癌剤などの免疫抑制剤も投与されていた。A群を除いた残りの7例(以下B群と略)は、先天性心疾患5例・溶血性尿毒症症候群・なし(母児感染疑い)がそれぞれ1例であった。輸血例は6例(複数回1例・1回5例)で、散発例(母児感染疑い例)が1例であった(表-1)。

HCV感染時期は血清トランスアミナーゼ値の変動から正確に決定するのは困難であったが、大部分の症例が基礎疾患の寛解導入時の1ヵ月以内に輸血されており、この時期をHCV推定感染時(年齢)とした。なお輸血は日本赤十字血液センターが第二世代のHCV抗体による献血スクリーニングを開始する1992年以前に行われた。

2. IFN療法

天然型IFN- α (住友製薬あるいは大塚製薬)の10万単位/kg/日(最大600万単位)を連日2週間、その後、週3回22週間投与した(総投与量800万単位/kg)。

効果判定は、IFN投与を終了後6ヵ月以内に血清トランスアミナーゼ値が正常化し、それ以降も6ヵ月にわたり正常で、かつ持続的に血清HCV-RNAが陰性であったものを著効(以下complete response: CRと略)、それ以外を非著効(以下non-CR: NCRと略)とした。

3. 肝の病理組織学的検索

肝生検は患児あるいは患家に書面で同意を得た後に、18Gのシユアーカット針(TSK Laboratory; Japan)を用いて経皮的に肝組織を採取した。

表-1 患児背景

1. 年齢 (IFN開始時):	5~19歳 (9.8±4.0歳*)
2. 性別	: 男児 18例, 女児 8例
3. 推定感染経路	: 輸血関連 25例 母児感染 1例
4. 基礎疾患	: 血液・悪性腫瘍 (A群) 19例 ^a 非血液・悪性腫瘍 (B群) 7例 ^b
a 免疫抑制剤投与歴あり	* Mean ± SDで表示
b 免疫抑制剤投与歴なし	

検体はホルマリン固定、脱水およびパラフィン包埋し、約3μmの薄切切片を作成後、Hematoxylin-Eosin (HE), Azan-Mallory, Periodic Acid-Schiff (PAS), ジアスターゼ消化-PAS (D-PAS), 鍍銀, および鉄 (Perls' Prussian Blue) の6種類の染色を施した。

A群では基礎疾患の治療終了後2年以上を経過した時点で肝生検を実施し、生検後6ヵ月以内にIFN療法を開始した。推定感染時から肝生検時まででは平均6年であった。また、9例ではIFN療法の終了後2年を経過した時点で追跡肝生検を施行した。

肝生検所見は、ヨーロッパ分類²³⁾、およびSchvarczら²⁴⁾によってmodifyされたKnodellら²⁵⁾のHistology Activity Index (以下 Modified HAIと略、表-2) スコアを用いて組織進行度を評価した。Modified HAI スコアはカテゴリーI~Ⅲのスコアを合計した壊死炎症反応スコア、カテゴリーⅣの線維化スコア、およびカテゴリーI~Ⅳのスコアを合計したTotalスコアの3種類で表示した。

さらに、胆管障害・リンパ嚢胞形成・好酸体壊死・脂肪変性、および鉄沈着の5項目について、それぞれの重症度をgradingした (表-3)。すなわち、いずれの項目とも所見なしをGrade 0とし、リンパ嚢胞形成については明らかな胚中心がないが境界明瞭なリンパ球の集簇、あるいは嚢胞

形成をGrade 1、胚中心をもつリンパ嚢胞形成をGrade 2とした。その他の4項目は門脈域あるいは小葉内での分布程度によりGrade 1, 2とした。なお、胆管障害はリンパ球浸潤・上皮の重層化・核の濃縮・細胞質の空胞化や好酸性変化とした。

4. ウイルス学的検索

第二世代のHCV抗体は、Abbott HCV EIA 2nd Generationにて測定した。HCV遺伝子型 (genotype) は、コア領域の型特異的プライマーを用いたRT nested-PCR法 (Okamoto ら²⁶⁾) により決定した。血清HCV-RNAの定性は5'末端非翻訳領域にプライマーを置いたRT nested-PCR法²⁷⁾により、血清HCV-RNAの定量はmulti-cyclic RT-PCR法 (Ishiyama ら²⁸⁾) により現血清あるいは-70℃の保存血清を用いて測定した。なお、RT nested-PCR法のHCV-RNA検出限界は、multicyclic RT-PCR法との比較で10³コピー/mlであった。IFN治療開始前の血清HCV-RNA量は、3ヵ月以内の検体を用いた。

5. 統計処理

測定値は平均値±標準偏差で表示し、測定値にはt検定を、比率にはカイ二乗検定を用いて、危険率が0.05~0.1を有意ではないが傾向ありとし0.05未満を有意とした。

結 果

1. IFN治療効果別の臨床所見 (IFN治療前) の比較

対象26例のうち、CRが12例 (46%)・NCRが14例 (54%)であり、基礎疾患別のCR率は、A群で32% (6/19例)・B群で86% (6/7例)であった。CR群とNCR群との間でIFN治療前の臨床所見を比較すると (表-4)、CR群はA群例およびHCV genotype II型例がそれぞれに有意に少なく (p=0.014, 0.033)、血清HCV-RNA量が有意に低値であり (p=0.041)、血清ALT値が有意に高かった (p=0.008)。

2. IFN治療効果別の肝生検所見 (IFN治療前) の比較

表-2 Modified Knodell HAI スコア
(Schvarcz ら, 1991)

点数	I 削り取り壊死 +/- 架橋壊死	II 小葉内の変性 壊死	III 門脈域の炎症	IV 線維化
0	None	None	None	None
1	Mild PMN ($<10\%$)	Mild ($<1/3$ of lobules or nodules)	Mild ($<1/3$ of portal tracts)	Fibrous portal expansion
2	Mild to Moderate ($10\sim25\%$)		Mild to moderate increase of infla- mmatory cells	Fibrous portal expansion with incomplete septa
3	Moderate PMN ($25\sim50\%$)	Moderate ($1/3\sim2/3$ of lobules or nodules)	Moderate ($1/3$ to $3/2$ of portal tracts)	Bridging fibrosis (P-P/C-P)
4	Marked PMN ($>50\%$)	Marked ($>2/3$ of lobules or nodules)	Marked ($>2/3$ of portal tracts)	Cirrhosis
5	Moderate PMN+BN			
6	Marked PMN+BN			
10	Multilobular necrosis			

表-3 組織所見の grading

Grade	0	1	2
胆管障害	None	$<1/3$ of portal tracts	$\geq 1/3$ of portal tracts
リンパ球形成	None	definite aggregation or follicles without germinal centers	lymphoid follicles with germinal centers
好酸体壊死	None	present in some of lobules	present in all of lobules
脂肪変性	None	$<1/3$ of lobules	$\geq 1/3$ of lobules
鉄沈着	None	$<1/3$ of portal tracts and lobules	$\geq 1/3$ of portal tracts and lobules

(1) ヨーロッパ分類による予測

CR群はCPH 3/12例 (25%)・CAH2A 8/12例 (67%), NCR群はそれぞれ5/14例 (36%)・8/14例 (57%)と、いずれの群もCAH2Aが高率にみられたが、両群間でCPH・CAH2A・2B

のいずれの組織型も有意差はなかった (表-5)。

(2) Modified HAI スコアによる予測

壊死炎症反応・線維化、および Total のいずれにおいてもスコアが高くなるにつれてNCR群の方がCR群と比較して高率にみられた。壊死炎症

表-4 IFN治療効果別の臨床所見(IFN療法前)の比較

	CR (n=12)	NCR (n=14)	p value
1. IFN開始時年齢(歳)	8.9 ± 3.0 *	10.5 ± 4.7 *	.30
2. 推定感染期間(年)	3.8 ± 1.7 *	4.4 ± 2.0 *	.43
3. 性別：女児	4 (33%)	4 (29%)	.79
4. 基礎疾患：A群	6 (50%)	13 (93%)	< .05
5. HCV genotype ^a ：II型(含混合感染)	6 (55%)	12 (92%)	< .05
6. 血清HCV-RNA量 ^b (Log ₁₀ コピー/ml)	6.3 ± 2.1	7.7 ± 1.3 *	< .05
7. 血清ALT (IU/L)	103.2 ± 45.1 *	55.7 ± 33.6 *	< .01

a : Okamotoらの分類(CRの1例, NCRの1例は未検) * Mean ± SDで表示
b : multicyclic RT-PCR法(Ishiyamaら)

表-5 IFN治療効果別の組織像(ヨーロッパ分類, IFN療法前)の比較

	CR (n=12)	NCR (n=14)	p value
CPH	3 (25%)	5 (36%)	.56
CAH2A	8 (67%)	8 (57%)	.62
CAH2B	1 (8%)	1 (7%)	.91

C P H : chronic persistent hepatitis
CAH2A : chronic aggressive hepatitis (moderate)
CAH2B : chronic aggressive hepatitis (severe)

反応スコア6または7はNCR群が4/14例(29%)・CR群が0/12例(0%)とNCR群が有意に高率(p=0.044)であったが、その他のスコアでは両群間に有意差はなかった(表-6)。また、各スコアの平均値はCR群 vs. NCR群でそれぞれ4.0 ± 2.1 vs. 5.2 ± 3.1・1.2 ± 0.6 vs. 1.3 ± 0.6・5.3 ± 2.7 vs. 6.5 ± 3.7で有意差がなかった(p=0.27・0.88・0.34)。

(3) 胆管障害・リンパ嚢形成・好酸体壊死・脂肪変性、および鉄沈着の5項目の組織所見による予測

胆管障害・好酸体壊死、および脂肪変性はCR群 vs. NCR群でそれぞれ4/12例(33%) vs. 9/14例(64%)・1/12例(8%) vs. 2/14例

(14%)・1/12例(8%) vs. 4/14例(29%)といずれの組織所見ともNCR群に多かったが有意差がなかった(表-7)。リンパ嚢形成は、CR群で5/12例(42%)・NCR群で3/14例(21%)とCR群に多かったが有意差がなかった(表-7)。一方、鉄沈着はCR群で1/12例(8%)・NCR群で8/14例(57%)とNCR群に有意に多かった(p=0.009)(表-7)。また、鉄沈着例(計9例)はいずれもA群に属していた。A群において、CR群とNCR群との間で鉄沈着の有所見例を比較すると、それぞれ1/6例(17%)・8/13例(62%)とNCR群に多い傾向(p=0.068)があった。

5項目の組織所見の保有項目数ごとの症例数をCR群とNCR群との間で比較すると、複数(2項目以上)の組織所見を有する症例はCR群で4/12例(33%)・NCR群で10/14例(71%)とNCR群に多い傾向にあった(表-8)。とくに、5項目中いずれか3項目以上を有する症例はCR群で0/12例(0%)・NCR群で5/14例(36%)とNCR群に有意に多く(p=0.021)、5項目の組織所見のうち唯一CR群に高率にみられたリンパ嚢形成を除いた4項目中いずれか2項目以上を有する症例も、CR群で1/12例(8%)・NCR群で10/14例(71%)とNCR群に有意に多かった(p=0.001)(表-8)。

表-6 IFN治療効果別のModified HAIスコアの (IFN療法前)の比較

(1)壊死炎症反応スコア				
スコア	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
2~3	6 (50%)	4 (29%)		.26
4~5	5 (42%)	5 (35%)		.76
6~7	0 (0%)	4 (29%)		< .05
8≤	1 (8%)	1 (7%)		.91

(2)線維化スコア				
スコア	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
1	10 (84%)	11 (79%)		.76
2	1 (8%)	2 (14%)		.64
3	1 (8%)	1 (7%)		.91
4	0 (0%)	0 (0%)		—

(3)Totalスコア				
スコア	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
3~4	6 (50%)	4 (29%)		.24
5~6	4 (34%)	5 (35%)		.61
7~8	1 (8%)	2 (14%)		.56
9~10	0 (0%)	2 (14%)		.28
11≤	1 (8%)	1 (7%)		.72

3. IFN療法前後での肝生検所見の比較

IFN療法の終了後2年を経過した時点で肝生検を実施し得た9例中7例はCR例で、残りの2例はNCR例であった(図-1, -2, -3). Modified HAIスコアのうち、壊死炎症反応スコアはCR例では全例、NCR例では1例の計8例がスコア2まで改善したが(図-1, -2), 残りの1例はスコア7から8へわずかに増悪していた(図-3). 線維化スコアはCR例では4例・NCR例では1例の計5例のみでしか改善せず、残りの4例(CR 3例・NCR 1例)では不変と、壊死炎症反応スコアに比べ改善例が少なかった(図-1). Totalスコアの変化は壊死炎症反応スコアと同様に、改善8例(CR 7例・NCR 1例), 軽度の増悪1例であったがスコア0, すなわち正常化例はなく, Minimal change (3例)あるいはヨーロッパ分類上のCPH (5例)であった(図-1). 鉄沈着はIFN療法前に9例中2例(CR 1例・NCR 1例)にみられ、いずれもIFN療法後も残存していた。

表-7 IFN治療効果別の組織所見(IFN療法前)の比較

(1)胆管障害				
grade	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
1	3 (25%)	6 (43%)		.34
2	1 (8%)	3 (21%)		.37
有所見例	4 (33%)	9 (64%)		.12

(2)リンパロ胞形成				
grade	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
1	2 (17%)	2 (14%)		.87
2	3 (25%)	1 (7%)		.21
有所見例	5 (42%)	3 (21%)		.27

(3)好酸体壊死				
grade	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
1	1 (8%)	2 (14%)		.64
2	0 (0%)	0 (0%)		—
有所見例	1 (8%)	2 (14%)		.64

(4)脂肪変性				
grade	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
1	0 (0%)	1 (7%)		.35
2	1 (8%)	3 (21%)		.36
有所見例	1 (8%)	4 (28%)		.19

(5)鉄沈着				
grade	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
1	0 (0%)	4 (29%)		< .05
2	1 (8%)	4 (29%)		.19
有所見例	1 (8%)	8 (58%)		< .01

表-8 IFN治療効果別にみた組織所見*の保有項目数(IFN療法前)の比較

保有項目数	CR (n=12)	NCR (n=14)	p	value
0	4 (33%)	4 (29%)		.79
1	4 (33%)	0 (0%)		< .05
2	4 (33%)	5 (36%)		.90
3	0 (0%)	4 (29%)		< .05
4	0 (0%)	1 (7%)		.35
5	0 (0%)	0 (0%)		—
2≤	4 (33%)	10 (71%)		.05
3≤	0 (0%)	5 (36%)		< .05
2≤**	1 (8%)	10 (71%)		< .01

*胆管障害・リンパロ胞形成・好酸体壊死・脂肪変性および鉄沈着の5項目

**リンパロ胞形成を除いた4項目での保有項目数

図-1 IFN治療前後での Modified HAI スコアの変化

考 察

1. 臨床所見によるIFN治療効果の予測

今回の検討より、C型慢性肝炎に対するIFN療法により治癒を期待できる症例(著効例)は46%であった。従来の小児例での報告^{17)~19)}と比べIFNの投与方法あるいは対象の例数や基礎疾患に相違はあるが、IFN治療効果は同様であり、成人例(20~30%)^{3)~10)}に比し高率であった。この差は、小児例は感染期間が短いためHCVの変異が少ないこと、免疫能が成人とは若干異なっていることが推測されているが^{17) 20)}、十分に解明されていない。

IFN療法は高額であるにもかかわらず、効果の不十分な症例も多数存在する^{3) 4)}。そこで、IFNのより適切な適応基準を設定する目的でIFN療法の効果予測因子が検討されている。本検討では、CR群はNCR群と比較してHCV genotypeのⅡ型が有意に少なく、また血清HCV-RNA量が有意に低値であった。このように、小児例ではこの2因子はIFN療法のウイルス学的な効果予測因子として重要であった。成人例でもHCVのgenotype(Ⅱ型以外)^{8)~10)}および低ウイルス量^{8)~10)}がIFN著効の条件としてほぼ確実となっている。

筆者の検討では治療前の血清ALT値がCR群で有意に高値であり、宿主側の効果予測因子として重要であった。成人例では性²⁹⁾・感染期間⁹⁾・

図-2 CR例(患児 K.M. 12歳 女児 推定感染期間3年)のIFN療法前後での肝生検標本(H.E.染色)

治療前(写真上):門脈域は線維増生を伴った軽度から中等度の細胞浸潤により拡大し、削り取り壊死も軽度から中等度にみられる。小葉内には線維がわずかに侵入し、肝細胞は軽度に腫大している。
(壊死炎症反応 5*, 線維化 2*)

治療後(写真下):門脈域は軽度の線維増生と細胞浸潤を、小葉内は軽度の肝細胞の腫大を残存している。
(壊死炎症反応 2*, 線維化 1*)

*Modified HAI スコア

治療前の血清トランスアミナーゼ値⁷⁾などが報告されている。また、基礎疾患別にIFN治療効果を比較すると、A群にはNCR例が、B群にはCR例がそれぞれ有意に多かった。A群では基礎疾患自体、抗癌剤などの免疫抑制剤、および複数のドナーからの頻回輸血により、旺盛なHCVの増殖やHCV以外の要因による肝障害をきたしていた可

図-3 NCR例(患児 H.Y. 12歳 男児 推定感染期間3年)のIFN療法前後での肝生検標本(H. E. 染色)

治療前(写真上): 門脈域は線維増生を伴った著明な細胞浸潤により拡大し、削り取り壊死は軽度から中等度に見られる。小葉内には線維がわずかに侵入し、肝細胞は軽度に腫大している。

(壊死炎症反応 7*, 線維化 2*)

治療後(写真下): 門脈域の著明な細胞浸潤, 中等度の削り取り壊死, 小葉内へのわずかな線維の侵入および肝細胞の軽度の腫大が見られる。

(壊死炎症反応 8*, 線維化 2*)

*Modified HAI スコア

能性がある^{14) 15)}。これらの影響が基礎疾患の治療終了後どの程度持続するかは不明である¹⁵⁾。

以上より、小児のC型慢性肝炎に対するIFN治療効果の臨床上の予測因子としてHCVのgenotypeとウイルス量・血清ALT値、および基礎疾患が重要と考えられるが、この4因子は互に関

連している可能性が高く、今後は症例数を増やして多変量解析を行い検討する必要がある。

2. 病理組織所見によるIFN治療効果の予測

(1) ヨーロッパ分類による予測

本検討では、CR群とNCR群との間でCPH・CAH2A、およびCAH2Bの各組織別のIFN治療効果に有意差はなかった。Martinot-Peignouxら⁹⁾は成人のC型慢性肝炎144例をCPH・CAH、およびCAH with cirrhosisに分けてIFN治療効果を比較したが、各組織型別に有意差がなかったとしている。一方、CPHのIFN効果はCAH2AやCAH2Bと比較して良好であるとの報告¹⁰⁾もある。このようにヨーロッパ分類によるIFN効果の予測に関して一定の見解はなく、小児例でもヨーロッパ分類での効果予測は困難であった。しかし、CR群ではCPHよりむしろCAH2Aが多かったこと、IFN治療前の血清ALT値はCR群に有意に高率であったことから、著効を得るためにはある程度の炎症反応が必要と考えられた。

(2) Modified HAIスコアによる予測

Total・壊死炎症反応、および線維化のいずれのスコアともCR群とNCR群との間で有意差はなく、各段階のスコアの症例数を両群間で比較しても壊死炎症反応スコアが6または7以外では有意差はなかった。したがって、小児例ではIFN療法の効果予測にModified HAIスコアは有用ではなかった。成人例では壊死炎症反応よりも線維化がIFN療法の効果に差をもたらすとの報告^{6) 29) 30)}が多い。その原因として線維化の進展に伴う小葉構築の歪みによってIFNの薬理動態が変化することが推測されている³⁰⁾。小児例では、HAIのTotalスコアをIFN著効6例と非著効8例とで比較し有意差がなかったとの報告¹⁹⁾がある。小児のC型慢性肝炎例は成人例と比較して組織進展度が軽く¹⁶⁾、本検討でも、線維化スコアが2未満の症例は24/26例(92%)と高率であり、IFN治療効果別の線維化スコアに差が現れなかったと考えられた。

(3) 5項目の組織所見による予測

成人のC型慢性肝炎に特徴的な病理組織所見と

して、胆管障害・リンパ嚢胞形成・好酸体壊死、および脂肪変性などがある^{5) 31) 32)}。これら4項目のうちリンパ嚢胞形成はCR群に、その他の3項目はNCR群に高率にみられたが両群間で有意差がなく、4項目のいずれとも単独ではIFN療法の効果予測因子として重要ではなかった。リンパ嚢胞形成はHCV感染肝細胞に対するリンパ球による免疫反応を示唆する所見であり³³⁾、IFNは抗ウイルス作用のほかに宿主の免疫賦活作用も有している³⁴⁾。したがって、リンパ嚢胞形成例ではIFN投与により肝障害が増悪し、リンパ嚢胞形成はIFN抵抗性を示唆すると予想された。しかし、今回の検討ではリンパ嚢胞形成8例中5例はIFN著効例であり、IFNの効果を得るには宿主にHCV排除機構としての免疫反応が、ある程度は必要であることが示唆された。

最近、肝組織中の鉄沈着や鉄含有量がIFN療法の効果を規定する因子として注目されている^{18) 35) ~ 37)}。筆者の検討では鉄沈着の有所見例はNCR群に有意に多かった。Clementeら¹⁸⁾も基礎疾患にサラセミアがあり、IFN療法を行った小児のC型慢性肝炎51例についての検討で、肝組織中の鉄沈着の程度と鉄含有量は正の相関を示し、鉄沈着の程度が少ない例にIFNのresponderが多いとし、成人例でも同様の報告^{35) ~ 37)}がある。したがって、IFN療法の効果予測に肝組織中の鉄沈着は重要な因子と考えた。鉄沈着例は全例とも頻回の輸血歴を有するA群に属しており、この鉄沈着は、輸血によると考えられた。

また、胆管障害・リンパ嚢胞形成・好酸体壊死・脂肪変性、および鉄沈着の5項目について対象例ごとの保有項目数をCR群とNCR群との間で比較すると、いずれか3項目以上を有する例はNCR群のみであり、リンパ嚢胞形成を除いた4項目中いずれか2項目以上を有する例はNCR群に有意に多かった。したがって、5項目の組織所見の保有項目数もIFNの効果予測因子として考慮する必要がある。

3. IFN療法の病理組織学的な予後

IFN療法のウイルス学的および肝機能的な著効

例では組織学的にも壊死炎症や線維化は改善することが知られている^{3) 4) 17) 19)}。今回、IFN治療前と治療終了後2年を経過した時点での肝生検所見を比較し得た9例のうちCRは7例、NCRは2例であった。CR例では壊死炎症反応は全例で、線維化は4例でのみ改善していたが、正常化例はなくCPHあるいはMinimal changeであった。成人例でもIFN療法の終了後1~2年を経過した時点では、肝の実質炎や削り取り壊死は消失するが門脈域の炎症細胞浸潤や線維化が残存し正常化例は少ないという^{38) 39)}。したがって、IFN著効例での病理組織学的な治療判定にはIFN療法の終了後2年以上の経過を要すると考えられた。一方、NCR2例のうち1例では壊死炎症反応スコアがわずかに増悪していた。これは、IFN療法の直後には改善しその後増悪したのか、あるいは緩徐に増悪したのか、不明である。今後も肝生検を含めた慎重な経過観察が必要である。

結 論

1. 小児のC型慢性肝炎に対するIFN療法の効果予測因子として、

① 臨床的には、ウイルス側の因子としてHCV genotype、および治療前の血清HCV-RNA量が、宿主側の因子として基礎疾患および治療前の血清ALT値が重要であった。

② 病理組織学的には鉄沈着ならびに5項目の組織所見の保有項目数が重要であった。しかし、ヨーロッパ分類や肝組織進行度の半定量的評価法ではIFN療法の効果予測は困難であった。

2. IFN療法を終了後、2年の経過で肝生検所見（とくに壊死炎症反応）は改善していたが正常化例はなく、逆に増悪傾向を示す例（非著効例）もあり、肝生検を含めた経過観察が必要と考えた。

稿を終えるにあたり、ご指導・ご校閲を賜りました病理学第一講座の須田耕一教授に深謝致します。また、直接ご指導をいただきました防衛医科大学小児科の藤澤知雄講師に謝意を表するとともに、病理組織学的検索に多

大のご指導をいただいた乾 道夫客員教授, ウイルス学的検索をしていただいた防衛医科大学小児科の乾あやの博士にお礼申し上げます。

なお本稿の要旨は, 第22回日本小児栄養消化器病学会 (1995年10月 京都), 第99回日本小児科学会学術集会 (1996年4月 熊本) および第85回日本病理学会総会 (1996年4月 東京) にて発表した。

参考文献

- 1) Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, *et al.* : Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma : Analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology*, 1990 ; **12** : 671~675.
- 2) Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R, *et al.* : Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.*, 1993 ; **88** : 240~243.
- 3) Davis GL, Balart LA, Schiff ER, *et al.* : Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alpha : A multicenter randomized, controlled trial. *N Engl J Med.*, 1989 ; **321** : 1501~1506.
- 4) Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C, *et al.* : Recombinant interferon alfa therapy for chronic hepatitis C ; A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med.*, 1989 ; **321** : 1506~1510.
- 5) Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis GL, *et al.* : Pathological diagnosis of chronic hepatitis C : A multicenter comparative study with hepatitis B. *Gastroenterology*, 1993 ; **104** : 595~603.
- 6) Uchida T, Taira M, Shikata T, *et al.* : Histological difference between complete responders and non-responders to interferon therapy of the livers of patients with chronic hepatitis C. *Acta Pathol Jpn.*, 1993 ; **43** : 230~236.
- 7) Serfaty L, Giral P, Loria A, *et al.* : Factors predictive of the response to interferon in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.*, 1994 ; **21** : 12~17.
- 8) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki T, *et al.* : Viral and host factors that contribute to efficacy of interferon- α_{2a} therapy in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.*, 1994 ; **39** : 1273~1280.
- 9) Martinot-Peignoux M, Marcellin P, Pouteau M, *et al.* : Pretreatment serum hepatitis C virus RNA levels and hepatitis C virus genotype are the main and independent prognostic factors of sustained response to interferon alfa therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 1995 ; **22** : 1050~1056.
- 10) Ishibashi K, Kashiwagi T, Tanaka Y, *et al.* : Predictive factors for efficacy of interferon therapy in chronic hepatitis type C. *Hepato-Gastroenterol.*, 1995 ; **42** : 535~541.
- 11) 尾上昌弘, 乾あやの, 大川貴司, 他 : 小児C型慢性肝炎の臨床・病理学的検討——基礎疾患別の自然経過を中心として. *日児誌*, 1996 ; **100** : 31~38.
- 12) Bortolotti F, Jara P, Diaz C, *et al.* : Posttransfusion and community-acquired hepatitis C in childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 1994 ; **18** : 279~283.
- 13) 藤沢知雄, 白木和夫 : 小児のC型慢性肝炎に関する多施設合同調査——長期追跡例の臨床的検討. *日児誌*, 1994 ; **98** : 806.
- 14) Inui A, Fujisawa T, Miyagawa Y, *et al.* : Histologic activity of the liver in children with transfusion-associated chronic hepatitis C. *J Hepatol.*, 1994 ; **21** : 748~753.
- 15) 乾あやの : 小児におけるC型慢性肝炎の病理組織学的検討——B型慢性肝炎との比較検討を含めて. *順天堂医学*, 1995 ; **41** : 338~348.
- 16) 鹿毛政義 : 慢性B型・C型肝炎の病理——成人との比較. *小児内科*, 1995 ; **27** : 497~501.
- 17) Ruiz-Moreno M, Rua MJ, Castillo I, *et al.* : Treatment of children with chronic hepatitis C with recombinant interferon- α ; A pilot

- study. *Hepatology*, 1992 ; **16** : 882~885.
- 18) Clemente MG, Congia M, Lai ME, *et al.* : Effect of iron overload on the response to recombinant interferon- α treatment in transfusion-dependent patients with thalassemia major and chronic hepatitis C. *J Pediatr.*, 1994 ; **125** : 123~128.
 - 19) Bortolotti F, Giacchino R, Vajro P, *et al.* : Recombinant interferon- α therapy in children with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 1995 ; **22** : 1623~1627.
 - 20) Fujisawa T, Inui A, Ohkawa T, *et al.* : Response to interferon therapy in children with chronic hepatitis C. *J Pediatr.*, 1995 ; **127** : 660~662.
 - 21) Komatsu K, Fujisawa T, Inui A, *et al.* : Efficacy of interferon in treating chronic hepatitis C in children with a history of acute leukemia. *Blood*, 1996 ; **87** : 4072~4075.
 - 22) Iorio R, Pensati P, Porzio S, *et al.* : Lymphoblastoid interferon α treatment in chronic hepatitis C. *Arch Dis Child.*, 1996 ; **74** : 152~156.
 - 23) International Group : Acute and chronic hepatitis revisited. *Lancet*, 1977 ; **ii** : 914~919.
 - 24) Schvarcz R, Glaumann H, Weiland O, *et al.* : Histological outcome in interferon α -2b treated patients with chronic posttransfusion non-A, non-B hepatitis. *Liver*, 1991 ; **11** : 30~38.
 - 25) Knodell RG, Ishak KG, Black WC, *et al.* : Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*, 1981 ; **1** : 431~435.
 - 26) Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S, *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** : 673~679.
 - 27) Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, *et al.* : Detection of hepatitis C virus RNA by a two-stage polymerase chain reaction with two pairs of primers deduced from the 5' - noncoding region. *Jpn J Exp Med.*, 1990 ; **60** : 215~222.
 - 28) Ishiyama N, Katayama K, Ishimi N, *et al.* : Quantitative detection of hepatitis C virus RNA by multicyclic RT-PCR. *Int Hepatol Commun.*, 1993 ; **1** : 72~79.
 - 29) Causse X, Godinot H, Chevallier M, *et al.* : Comparison of 1 or 3MU of interferon α -2b and placebo in patients with chronic non-A, non-B hepatitis. *Gastroenterology*, 1991 ; **101** : 497~502.
 - 30) Tsubota A, Chayama K, Ikeda K, *et al.* : Factors predictive of response to interferon- α therapy in hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 1994 ; **19** : 1088~1094.
 - 31) Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, *et al.* : The pathology of hepatitis C. *Hepatology*, 1992 ; **15** : 567~571.
 - 32) Bach N, Thung SN, Schaffner F : The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis ; A comparative analysis. *Hepatology*, 1992 ; **15** : 572~577.
 - 33) Gerber MA : Pathobiologic effects of hepatitis C. *J Hepatol.*, 1995 ; **22** (Suppl 1) : 83~86.
 - 34) Jonas MM : Interferon- α for viral hepatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 1996 ; **23** : 93~106.
 - 35) Van Thiel DH, Friedlander L, Fagioli S, *et al.* : Response to interferon α therapy is influenced by the iron content of the liver. *J Hepatol.*, 1994 ; **20** : 410~415.
 - 36) Barton AL, Banner BF, Cable EE, *et al.* : Distribution of iron in the liver predicts the response of chronic hepatitis C infection to interferon therapy. *Am J Clin Pathol.*, 1995 ;

- 103** : 419~424.
- 37) Olynyk JK, Rajender Reddy K, Di Bisceglie *et al.* : Hepatic iron concentration as a predictor of response to interferon alfa therapy in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 1995 ; **108** : 1104~1109.
- 38) Shindo M, Arai K, Sokawa Y, *et al.* : Hepatic hepatitis C virus RNA as a predictor of a long-term response to interferon- α therapy. *Ann Intern Med.*, 1995 ; **122** : 586~591.
- 39) Reichard O, Glaumann H, Fryden A, *et al.* : 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*, 1995 ; **21** : 918~922.

Original Paper

Summary

A clinicopathological study of efficacy of interferon therapy in children with chronic hepatitis C

Objective : To identify predictors influencing the response to interferon (IFN) therapy in children with chronic hepatitis C (CH-C) and to assess histological findings of the liver long after IFN therapy.

Patients and Methods : Twenty-six children with CH-C who received natural IFN alfa therapy for 6 months (total dose : 8MU/kg), were divided into two groups : 12 patients showing a complete response (CR) and 14 patients with a partial response (PR). "CR" was defined as normalization of serum alanine aminotransferase (s-ALT) and the disappearance of hepatitis C virus ribonucleic acid (HCV RNA) from serum within 6 months after the cessation of therapy and continuing for at least 6 months thereafter. "PR" was defined as any other pattern of s-ALT and serum HCV RNA.

Liver biopsies were performed within 6 months before IFN therapy in all 26 children, and again 2 years after therapy in 9 of the children. Liver histology was categorized according to the standard criteria and Knodell's index of histological activity with some modifications (Modified HAI). Moreover, the frequency of five histological features (bile duct damage, lymphoid follicles and/or aggregates, acidophil bodies, steatosis and iron deposition) were examined.

Results : There were no significant differences on conventional histological diagnosis or in modified HAI for total, necroinflammation and fibrosis between the CR group and the PR group. Bile duct damage, acidophil bodies and steatosis were frequently observed in the PR group, while lymphoid follicles and/or aggregates were frequently recognized in the CR group. However, there were no significant differences in each of the four histological features between the two groups. However, there was

a significant difference ($p=0.009$) in the frequency of liver iron deposition between the CR group (8%) and the PR group (58%). Significantly fewer patients in the CR group showed more than three of these five histological features compared to those in the PR group (0% vs 36%, $p=0.021$). There were also significantly fewer children in the CR group showing more than two of these four histological features excluding lymphoid follicles and/or aggregates compared to those in the PR group (8% vs 71%, $p=0.001$). Of the 9 children (CR : 7 cases, PR : 2 cases) who underwent liver biopsies 2 years after the cessation of IFN therapy, 8 (CR : 7 cases, PR : 1 case) showed an improved histological diagnosis.

Conclusions : These results suggest that the response to IFN therapy in children with CH-C is influenced by hepatic iron deposition and a combination of several histological features. A period of more than 2 years after the cessation of therapy was necessary to determine histological remission in the CR group.

Key words : children, chronic hepatitis C, interferon, liver histology

MASAHIRO ONOUE, M. D. *1) 2)

*1) *Department of Pathology (I), Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan*

*2) *Department of Pediatrics, Self Defense Forces Central Hospital, Tokyo, Japan*