

表1 免疫吸着療法前後の血清生化学検査の経過

	WBC (/mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	Plts. (10 ⁴ /mm ³)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	LDH (IU/L)	ALP (IU/L)	r-GTP (IU/L)	CPK (IU/L)	IgG (mg/dl)
-14d	10000	16.8	51.6	23.1	26	48	650	264	239		3117
-7d	10300	17.4	53.6	19.2	21	55	652	280	251		3414
Pre	6400	17.6	53.8	21.1	29	66	831	287	247	241	3540
After 0m	28700	17.8	55.9	10.7	30	62	890	298	226		2852
30m	30700	17.7	54.7	18.7	31	67	991	303	243		2934
270m	17100	17.5	54.2	19.5	114	78	1548	300	245		3127
+1d	13200	16.5	50.2	14.7	203	84	1591	242	200	4950	3013
+2d	11500	16.1	49.1	18.0	157	100	1260	268	227	2388	2894
+4d	11800	15.6	48.5	21.3	63	93	842	253	231		2984
+8d	8900	15.6	47.9	21.5	30	76	706	267	237		2893
+14d	8700	15.9	48.5	23.7	25	56	754	261	211	144	3045

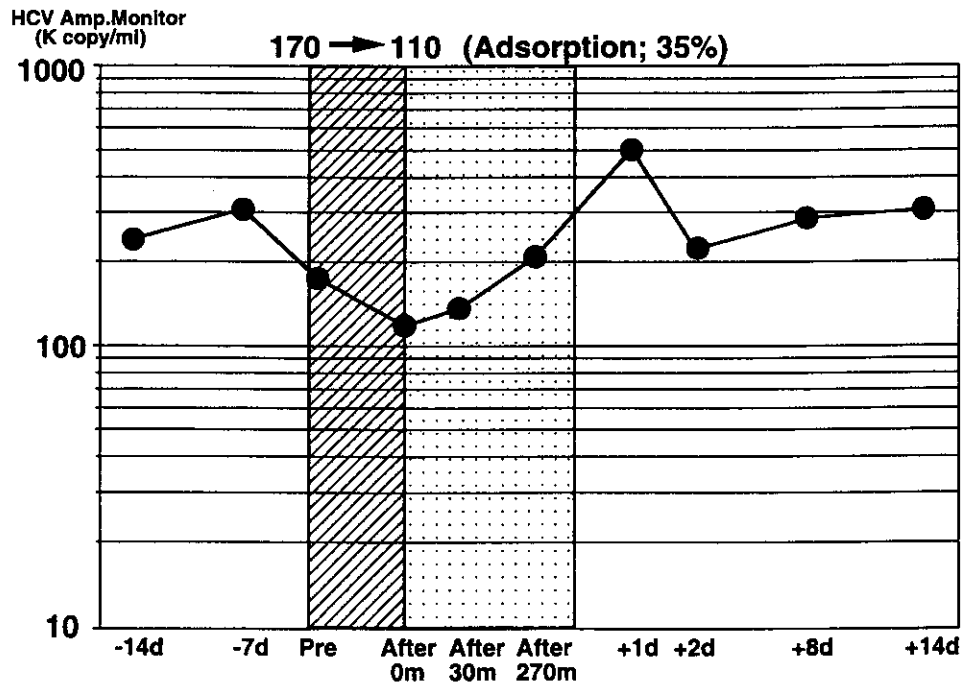


図2 免疫吸着療法前後のHCV RNA量の経過

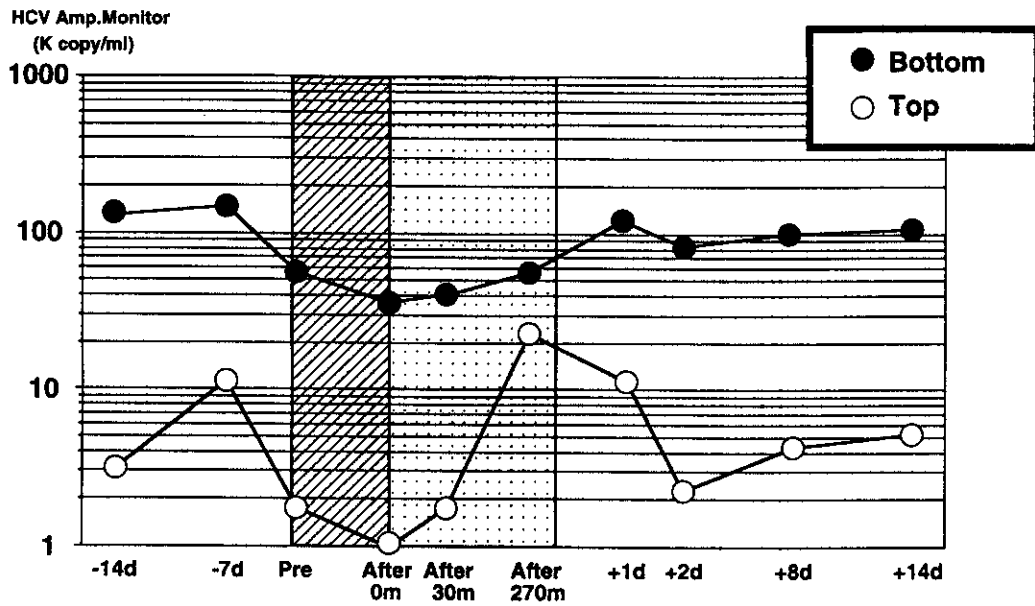


図3 免疫吸着療法前後のHCV RNA量の経過 (Top:Bottom)

結 語

HCV感染チンパンジーに体外循環併用免疫吸着療法を行い、安全に施行しえた。全血漿を2回処理し、35%の吸着率を得た。しかしながら早期に Free virion が上昇、HCV RNA 量が回復するため吸着能力の向上、併用療法の検討が必要と考えられた。

C型慢性肝炎における樹状細胞の機能

大阪大学大学院分子制御治療学、病態情報内科学

林 紀夫

協同研究者： 巽 智秀、考藤達哉

背景

細胞障害性T細胞 (CTL) はウイルス感染細胞の排除において最も重要なエフェクター細胞だが、多くのC型肝炎患者においてCTLが存在するにもかかわらずC型肝炎ウイルスは排除できないことが多いということが知られている。このことは、C型肝炎ウイルス特異的CTLの誘導が、C型肝炎患者において不十分である可能性を示唆する。ヘルパーT細胞には、Th1とTh2のサブセットがあることが知られているが、このヘルパーT細胞の分化には、抗原提示細胞より産生されTh1への分化を誘導するIL-12や、T細胞から産生されTh2への分化を誘導するIL-4やIL-10が重要なサイトカインであると考えられている。抗原提示細胞は抗原特異的免疫反応の中心に位置し、CTLの誘導において重要な役割を果たしている。樹状細胞(DC)は生体における抗原提示細胞のひとつだが、DCはHLA class I及びHLA class II、costimulatory moleculeであるB7-1、B7-2を強発現し、免疫反応において重要なサイトカインであるIL-12やTNF α を産生し、さらに生体において最も強力な抗原提示能があることが知られている。しかしながら、C型肝炎の病態における、DCの関与は今だ明らかではない。

目的

本研究ではC型肝炎患者における樹状細胞機能を評価することを目的とした。

方法

24人のHCV抗体陽性かつ血清中HCV-RNA陽性者を対象に検討を行い、コントロールとしては年齢を合わせた14人の健康成人を用いた。DCはヒト末梢血中の前駆細胞よりGM-CSFとIL-4を用いて誘導し、以下の検討を行った。抗原特異的なT細胞反応を検討するために、DCをautologousなT細胞と培養し、その際にHCV-core抗原あるいはインフルエンザA抗原をパルスし、T細胞のサイトカイン産生能をELISA法にて検討した。次にallogeneicなCD4陽性T細胞とDCによる混合リンパ球反応(MLR)を施行し、³Hの取り込みによるT細胞の増殖能とサイトカイン産生能を評価することでDCのアロ抗原刺激能を検討した。

結果

1) DCの表面マーカー

C型肝炎患者DC群 (以下HCV-DC群) 及び健康成人DC群 (以下N-DC群) のDCを用いて、表面マーカーをフローサイトメトリーにて検討した。HLA-class I、HLA-class II、CD11c、CD40、CD54、CD80の発現は両群で差を認めなかったが、CD86の発現はHCV-DC群はN-DC群に比べて弱発現であった (表1)。

表1 C型肝炎患者DCおよび正常成人DC表面の各分子の発現

	N-DC (n=10)	HCV-DC (n=13)
HLA-ABC	402 ± 54	352 ± 26
HLA-DR	582 ± 312	530 ± 257
CD11c	40 ± 11	52 ± 18
CD40	28 ± 6	24 ± 5
CD54	65 ± 7	69 ± 10
CD80	14 ± 6	14 ± 2
CD86	40 ± 18	18 ± 8*

Values are expressed as mean ± SD of net fluorescence intensities; which is the ratio between mean fluorescence intensity (MFI) of stained sample and MFI of the control sample.

*: p<0.05 vs N-DC

2) DCによる抗原特異的T細胞反応

大多数の日本人が感作されていると考えられるインフルエンザA抗原の刺激およびHCV-core抗原の刺激によるT細胞反応中のサイトカインの産生を検討した。N-DCではインフルエンザA抗原のパルスによってIL-12p40, IL-2, IFN- γ の産生が増加したが、HCV-core抗原のパルスではサイトカイン産生を認めなかった。一方HCV-DCでは、インフルエンザA抗原のパルスによってIL-12p40, IL-2, IFN- γ の産生が増加し、N-DCと同様の傾向を認めたが、HCV-core抗原では、IL-12p40, IL-10, IFN- γ の産生が増加したが、インフルエンザA抗原に比べてIFN- γ の産生の増加は弱い傾向があり、さらにIL-10の産生が著明であることからTh2サイトカイン優位の反応であると考えられた(表2)。

3) DCとallogeneicなCD4T細胞による混合リンパ球反応
allogeneicなCD4T細胞とDCによる混合リンパ球反応

(以下MLR)を施行し、³Hの取り込みを評価することでDCのアロ抗原刺激能を検討した。HCV-DCのMLRは、N-DCのMLRに比べて有意に低下しており、このことはC型肝炎患者の樹状細胞のアロ抗原刺激能の低下が示唆された(図1)。MLRにおいて産生されるサイトカインをELISA法にて検討した。IL-12p70, IL-12 p40, IL-2, IL-10の産生量は各群の間に差を認めなかった。IFN- γ 産生はC型肝炎患者のMLRでは健康成人のMLRに比して有意に抑制されていた(表3)。さらにMLR施行時にTh1系のサイトカインであるIL-2, IL-12及びIFN- γ を添加したところ、IL-2およびIL-12では濃度依存性にMLRの回復を認めた。またIFN- γ の添加では有意ではないもののMLRの回復の傾向を認めました(図2)。以上の結果はIL-2およびIL-12がHCV-DCの刺激能の抑制の解除に重要なサイトカインであることが示唆された。

表2 DCによる抗原特異的T細胞反応におけるサイトカイン産生

		IL-12 p70	IL-12 p40	IL-2	IL-4	IL-10	IFN- γ
N-DC (n=8)	unpulsed	<3	925 (241-1001)	35 (31-41)	<2	25 (13-39)	4 (0-11)
	+ INF-A	<3	5589 ¹ (4587-7546)	166 ¹ (61-239)	<2	100 (77-123)	1032 ² (404-1499)
	+ HCV-core	<3	2015 (533-4217)	18 (10-22)	3.2 (0-7.5)	3 (0-101)	33 (0-74)
HCV-DC (n=8)	unpulsed	<3	1001 (0-3584)	31 (0-53)	<2	0 (0-4)	<2
	+ INF-A	<3	2392 ³ (670-5267)	117 (14-327)	<2	40 (6-79)	279 ³ (0-7019)
	+ HCV-core	<3	3937 ³ (270-7713)	60 (18-102)	1.2 (0-2.4)	171 ⁴ (0-829)	48 ³ (0-228)

Values are expressed as median, pg/ml (range).

The values below the thresholds are determined to be 0 (zero).

¹: p<0.01 vs. -unpulsed N-DC, ²: p<0.05 vs. -unpulsed N-DC,

³: p<0.05 vs. -unpulsed HCV-DC, ⁴: p<0.01 vs. -unpulsed HCV-DC (Mann-Whitney U test).

表3 allogeneic MLRにおけるサイトカイン産生

	IL-12 p70	IL-12 p40	IL-2	IL-4	IL-10	IFN- γ
N-DC (n=8)	<3	688 (141-775)	112 (36-234)	<2	105 (39-131)	442 (0-861)
HCV-DC (n=8)	<3	712 (612-951)	74 (44-128)	<2	79 (75-83)	<2

Values are expressed as median, pg/ml (range).

The values below the thresholds are determined to be 0 (zero).

*: p<0.01 vs. HCV-DC (Mann-Whitney U test).

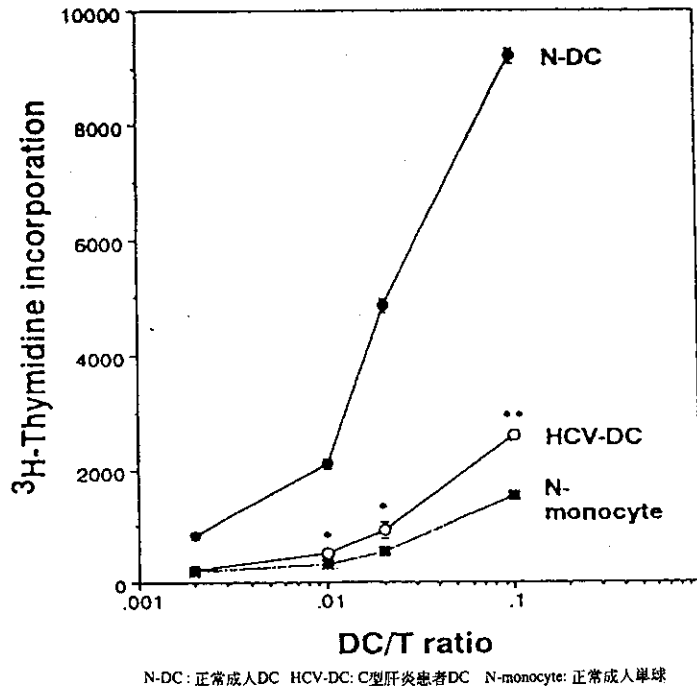


図1 allogeneic MLRにおけるDCのアロ抗原刺激能

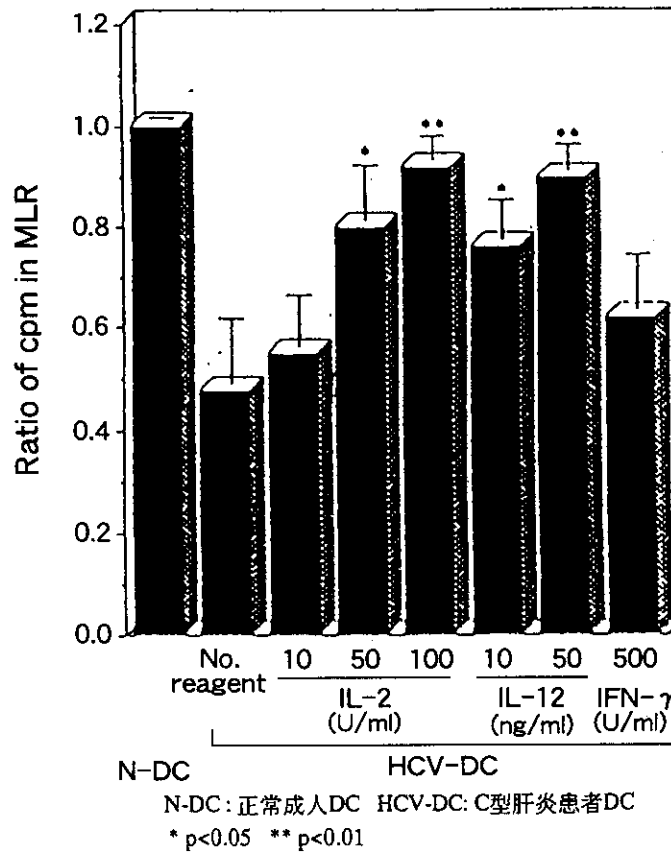


図2 サイトカインの添加によるMLRの回復

結論、考案

C型肝炎ウイルスに対する免疫反応を効果的に誘導できないことの一因に、C型肝炎患者の樹状細胞機能の低下が

示唆された。さらにIL-12、IL-2のサイトカインによる樹状細胞の抗原提示能の回復は、C型肝炎ウイルスに対するCTL誘導への応用を示唆するものであった。

口腔病変におけるHCVの局在

久留米大学第二内科 佐田 通夫

協同研究者:

同 先端がん治療研究センター

口腔外科 長尾由実子

我々は、口腔癌と口腔扁平苔癬 (OLP) 組織からHCV RNAの検出を試み同部位にウイルスが存在することを報告した¹⁾。今回は、口腔癌とOLP患者の血清中と組織中から各々検出される HCV RNA の E1-E2 領域の全アミノ酸配列の差異について検討を行った。

対象と方法

当大学第2内科及び口腔外科で診断、加療された口腔癌 (61才女性) 1例、OLP (69才女性) 1例の病変部生検組織と血清からHCV RNAの検出を試みた。患者はC型慢性肝炎で加療中であり、HCV抗体並びに血清HCV RNAはいずれも陽性であった。口腔病変からの HCV RNA の検出は、RT-PCR法を用いて (+) 鎖と (-) 鎖 HCV RNA の検出を行った。

さらに、口腔病変 (口腔癌とOLP) と血清中から検出された HCV RNA の E1-E2 領域の全アミノ酸配列を決定し、血中と組織中のHCV RNAが同一のものであるか否かについての検討を行った。

結 果

口腔癌とOLP組織中から、(+) 鎖と (-) 鎖 HCV RNA が検出された。各々の患者の組織と血清から得られたPCRプロダクトのE1-E2領域のシーケンスを行いアミノ酸配列を決定したが血清中から検出された HCV RNA の E1-E2領域のアミノ酸配列と組織中でのアミノ酸配列は、異なるものであった。

結 論

RT-PCR法を用いたHCVゲノムの検出は、高感度にHCVの存在を証明する唯一の方法であるが、組織からのHCV RNAの検出においては血液の混入などその結果の解析には慎重でなければならない。またHCVはフラビウイルスに近縁の (+) 極性の一本鎖RNAウイルスであることから、HCVは感染組織内において、(-) 鎖 RNA を鋳型にして増殖しているとされている。したがって、組織内で増殖しているHCVをより確実に検出するには、(-) 鎖 HCV RNA の検出が有用と考えられている²⁾。今回我々は、OLP組織並びに口腔癌組織中に (+) 鎖と (-) 鎖のHCV RNAを検出した。この結果からすぐに口腔組織内

でHCVの感染や増殖が起きているとは結論できない。そこで、我々は血清と組織中で各々検出されたHCV RNAのE1-E2領域の全アミノ酸配列を決定し比較した。その結果、血清中と組織中では検出されるHCV RNAのアミノ酸配列が異なっていることを確認した。このことは、組織から検出されたHCV RNAが、血液のコンタミネーションによるものではないことを示している。したがって、今回の口腔組織における (-) 鎖HCV RNAの検出は、口腔粘膜内におけるHCVの増殖を証明したものと考えている。今後、HCVによる口腔病変出現のメカニズムをさらに明らかにする必要がある。

引用文献

1. Nagao Y, Sata M, Kameyama T: Hepatitis C virus RNA detection in oral lichen planus tissue. *Am J Gastroenterol* 93: 850, 1998
2. Sherker AH, Twu JS, Reyes GR, et al: Presence of viral replicative intermediates in the liver and serum of patients infected with chronic hepatitis C virus. *J Med Virol* 39:91-96, 1993

健常人と非A-G型肝疾患における TTVの検出と、インターフェロン 治療からみたTTV

虎の門病院消化器科 熊田 博光
協同研究者：茶山一彰、池田健次

TTウイルス(TTV)の病因的意義と、ウイルス学的特徴を明らかにするために、以下の2点に関する検討を行った。(1)、健常人、及び非A、非B、非C型肝炎患者におけるTTV感染の実態と臨床的特徴。(2)、インターフェロン投与時のTTVの経時的変動と予後。

対象と方法

健常人(健康診断で肝機能異常のない看護婦)25例、非A-G型急性肝炎26例、非A-G型慢性肝疾患78例を対象として調査を行った。方法は、open reading frame (ORF) 1の一部の配列を検出するprimer (Nishizawa et al.による) (outer primer sense 5'-GCAGCAGCATATGGATATGT-3', antisense 5'-TGACTGTGCTAAAGCCTCTA-3', inner primer 5'-sense CATAACATGAATGCCAGGC-3', antisense 5'-GTACTTCTTGCTGGTGAAT-3')と、5' noncoding regionのprimer (outer primer sense 5'-GCTACGTCCTAACCACGTG, antisense 5'-GCCAGTCCCGAGCCGAATT-3', inner primer sense 5'-GGGTCTACGTCCTCATATAAGT, antisense 5'-GACTTCGGTGTGTAAACTCACCT-3')を使用し、nested PCRによる検出を行った。ORF1のprimerはgenotype 1のTTVを検出し、5' noncoding regionのprimerはそれ以外のgenotypeも含めて多くのgenotypeを検出するprimerである。塩基配列の決定はinner primerをそれぞれsequencing primerとし、dye terminatorを使用してdirect sequencingにより決定した。TTV DNAの濃度はlimited dilutionにより行った。G型肝炎ウイルス(HGV)の検出は、同様に5' noncoding regionのprimerを使用したnested PCRにより行った。インターフェロン投与例はTTV DNAが保存血清の検査で陽性であることが判明したserological group 2の16例とした。

成 績

1. TTVの検出頻度-HGVとの比較

(1) 健常人におけるTTV、HGVの検出

TTV DNAはORF 1のprimerを使用したnested PCRにより、健常人25例中3例(12%)に検出された。3例とも肝機能異常はなく、輸血歴なども認められなかった。HGVは全例陰性であった。一方、5' noncoding regionのprimerを

使用すると、TTV DNAは25例中21例(84%)と高頻度に認められた。

(2) 急性肝炎症例27例中、TTVは3例(11%)において認められた。一方HGV RNAが検出された症例は認められなかった。TTV陽性の3例と、陰性の24例では明らかな差異は認められなかったが、3例中1例は6ヶ月以上GPTの異常が持続し、慢性の経過をとった。他の2例はその後1.5年、5年間の経過観察でトランスアミナーゼの再上昇は認めていない。

(3) 非B、非C型慢性肝疾患におけるHGV RNA、TTV DNAの検出頻度とその特徴。慢性肝疾患78例について、HGV RNA、TTV DNAの検出例別にその臨床背景を表1に示した。78例中、TTV陽性例は9例(11.5%)、HGV RNA陽性例は11例(14.1%)に認められた。HGV陽性例、TTV陽性例では、両者陰性例に比較し有意に男性が多かった(表1)。また、輸血歴はHGV RNA陽性例で有意に多かった(表1)。γ-GTPがGPTより高い症例は、TTV、HGV陽性例でより多い傾向にあったが、その差は有意ではなかった。GPTの変動型については3者間で特に差はみられなかった。

(4) HGV RNA、TTV DNA陽性、陰性別にみた組織学的進行度。図1にTTV陽性例、HGV陽性例、両者陰性例の組織学的診断について示した。TTV陽性例、両者陰性例では各段階の肝疾患が連続的に存在したのに対して、HGV陽性例ではF1-F3の慢性活動性肝炎の症例が存在しないことが特徴的であった。

2. TTV 陽性C型慢性肝炎症例のインターフェロン投与後の経過

表2に示したように、多くの症例でHCV、TTVともにウイルス量が減少した。しかし、症例6-8のように、HCVが速やかに陰性化しているにもかかわらず、TTVの減少が極めて不良である症例も認められた。Nishizawa et al(1)により報告されたprimerを使用すると、genotype 1aのTTVが増幅されると予想されたが、このことを確認するために、PCRで増幅されたDNA断片の塩基配列を決定した。図2に示すように、得られた塩基配列はすべてgenotype 1aのものであった。ここで、インターフェロンによってTTVが陰性化した症例では、prototypeのTTV 1aと比較して、変異が多い症例が見られたことから、さらに分子系統樹による解析を行った。図3に示すように、TTVが持続陰性化した症例では、prototype 1aと隔たった症例が多く、陰性化例と非陰性化例の1aとの遺伝学的距離は非陰性化例が有意に隔たっているという結果が得られた。

インターフェロン投与終了後のALTの変動を、TTV、HCVの陰性化の有無別に図4にまとめた。HCVが持続陰性化しなかった症例ではほぼ全例でALTが上昇したのに

表1 TTV,HGV陽性、陰性別にみた非B、非C型慢性肝疾患症例の特徴

背景因子、臨床的特徴	TTV 陽性 (n=9)	HGV 陽性 (n=11)	両者陰性 (n=58)	P
年齢 (range[median])	48-89 [65]	30-76 [53]	27-75 [49]	NS
性別 (男:女)	7:2	10:1	28:30	0.014
輸血歴	1/9 (11%)	6/11 (55%)	8/58 (17%)	0.0057
γGTP>GPT	7/9 (78%)	10/11 (91%)	34/58 (59%)	NS
GPT変動型(1:2:3:4)*	3:3:0:3	1:8:1:1	11:26:7:14	NS

* 1:正常あるいは軽度の異常値(75IU/l未満)、2:低値異常値で変動(100KU/l未満)、3:低値から時々スパイク状に上昇、4:高値異常(100IU/l以上が多い)。

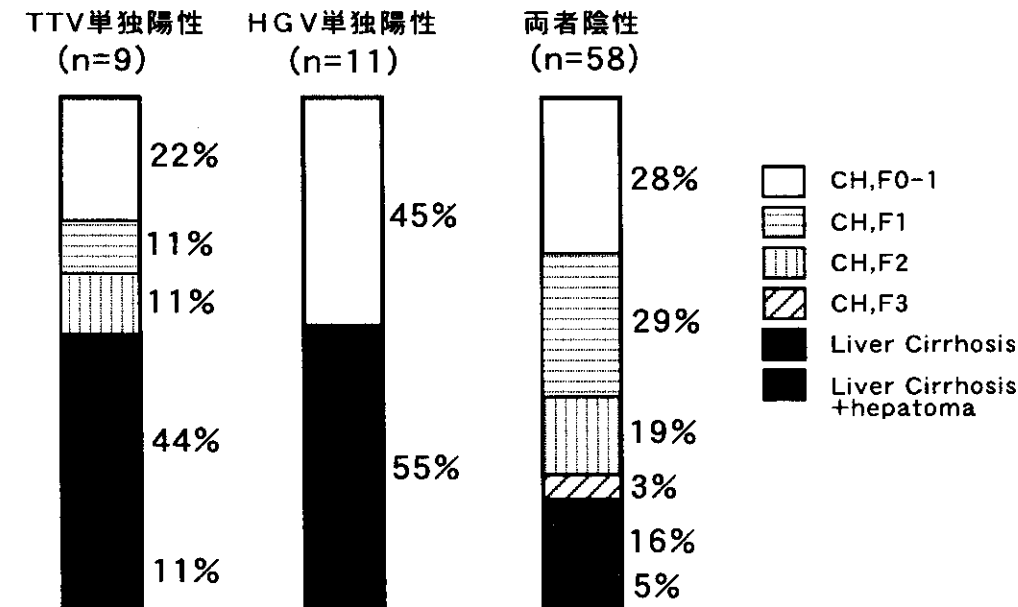


図1 TTV,HGVの陽性、陰性別にみた肝病変の程度

対し、HCVが陰性化した症例ではTTVの持続陰性化、非陰性化に関わらずALTが持続正常化した。このことから、TTVは持続感染例においては肝細胞障害性がないか、あっても極めて弱い可能性が考えられた。

考 察

トランスアミナーゼが全く正常な健常者にも、ORF1領域のprimerを使用したPCRでTTV DNAが陽性の症例が存在すること、C型肝炎ウイルス(HCV)との共感染例にお

いて、HCVが陰性化すればTTV DNAが再陽性化してもトランスアミナーゼの上昇を認めた症例はなかったことから、少なくともhealthy carrierといった状態でTTVを保持している例が存在することは確実であろうと予測される。EBウイルスのように、初感染時のみに肝細胞障害を来すのか、あるいは、まれにしか捕らえられないようなperiodicな急性増悪により、進行するような肝細胞障害性を有するのか、あるいは肝細胞障害性は全くないのか、今後明らかにすべき課題である。インターフェロン感受

表2 competitive PCRによるC型肝炎ウイルス(HCV)とTT virusの経時的変動

No.	HCV					TTV					治療後のALT
	投与前	1週	2週	終了時	6ヶ月後	投与前	1週	2週	終了時	6ヶ月後	
1	4.0	-	-	-	-	2.0	-	-	-	-	正常
2	6.0	-	-	-	-	4.5	+	+	-	-	正常
3	+	n.a.	n.a.	-	-	+	n.a.	n.a.	-	-	正常
4	5.5	-	-	-	-	4.5	-	-	-	-	正常
5	+	n.a.	n.a.	-	-	+	n.a.	n.a.	-	-	正常
6	6.5	-	-	-	-	4.5	4.5	4.0	+	+	正常
7	5.0	-	-	-	-	4.5	4.5	4.0	5.5	+	正常
8	6.0	-	-	-	-	4.5	4.5	3.5	4.5	+	正常
9	6.0	3	-	-	-	3.0	-	-	+	+	正常
10	7.0	3.0	2.5	4.5	+	2.0	-	-	-	-	異常
11	+	n.a.	n.a.	+	+	+	n.a.	n.a.	-	-	異常
12	7.0	5.0	5.0	+	+	4.5	4.0	4.0	4.5	+	異常
13	4.0	+	-	+	+	5.5	+	-	-	+	正常
14	6.0	+	-	4.5	+	5.0	4.5	5.5	5.5	+	正常
15	6.5	4.0	3.5	-	+	4.5	+	+	+	+	異常
16	+	n.a.	n.a.	+	+	+	n.a.	n.a.	+	+	異常

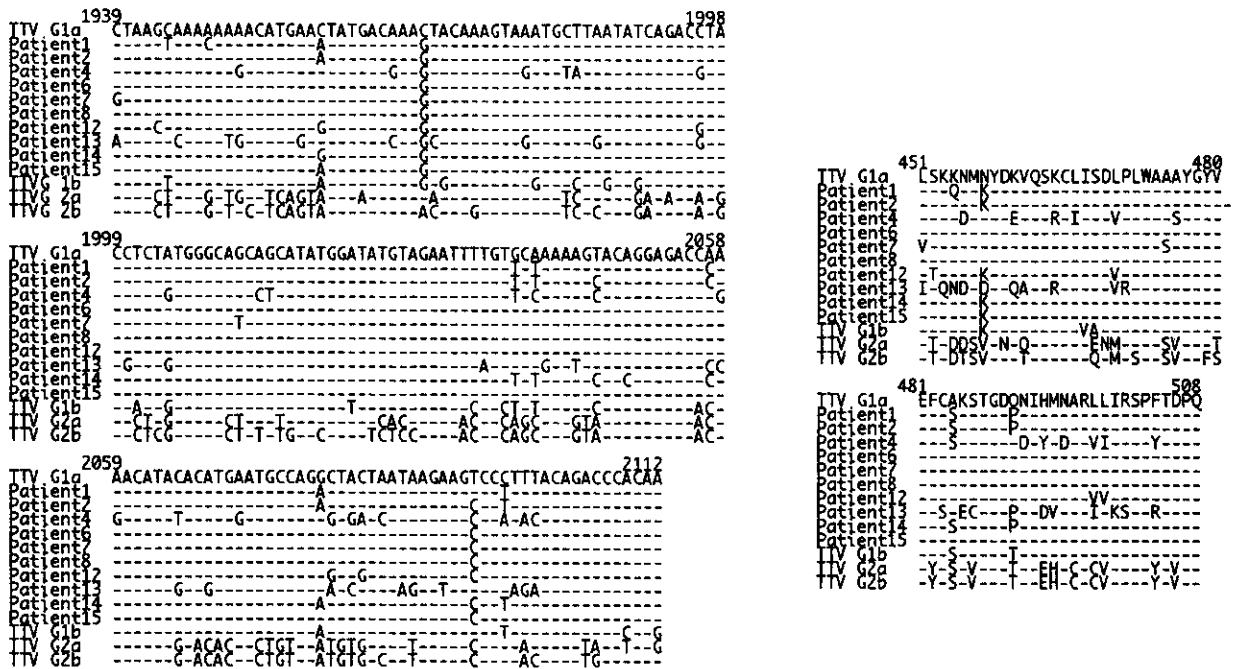


図2 TTV ORF1の塩基配列(左)とアミノ酸配列(右)

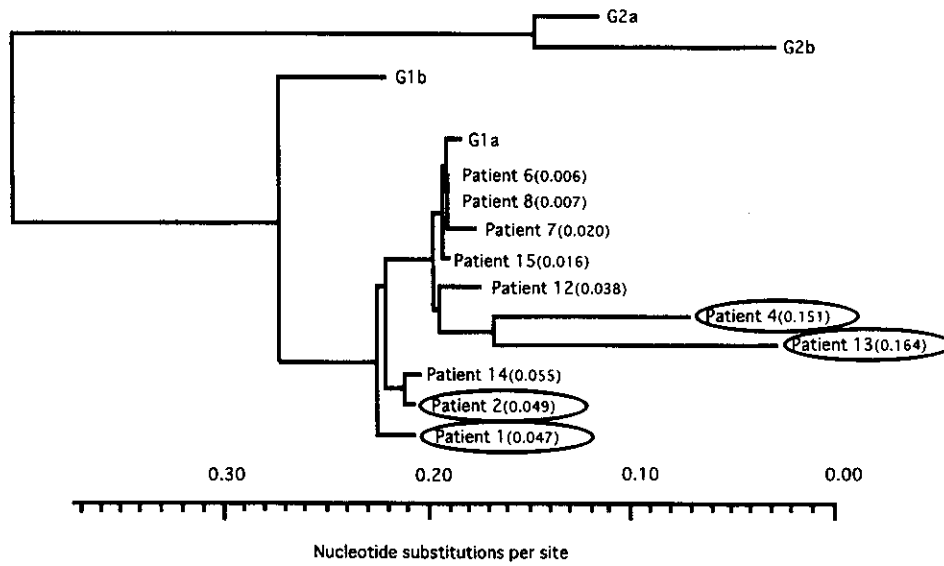


図3 TTVの配列(図2)に基づく分子系統樹。丸印がTTV持続陰性化例

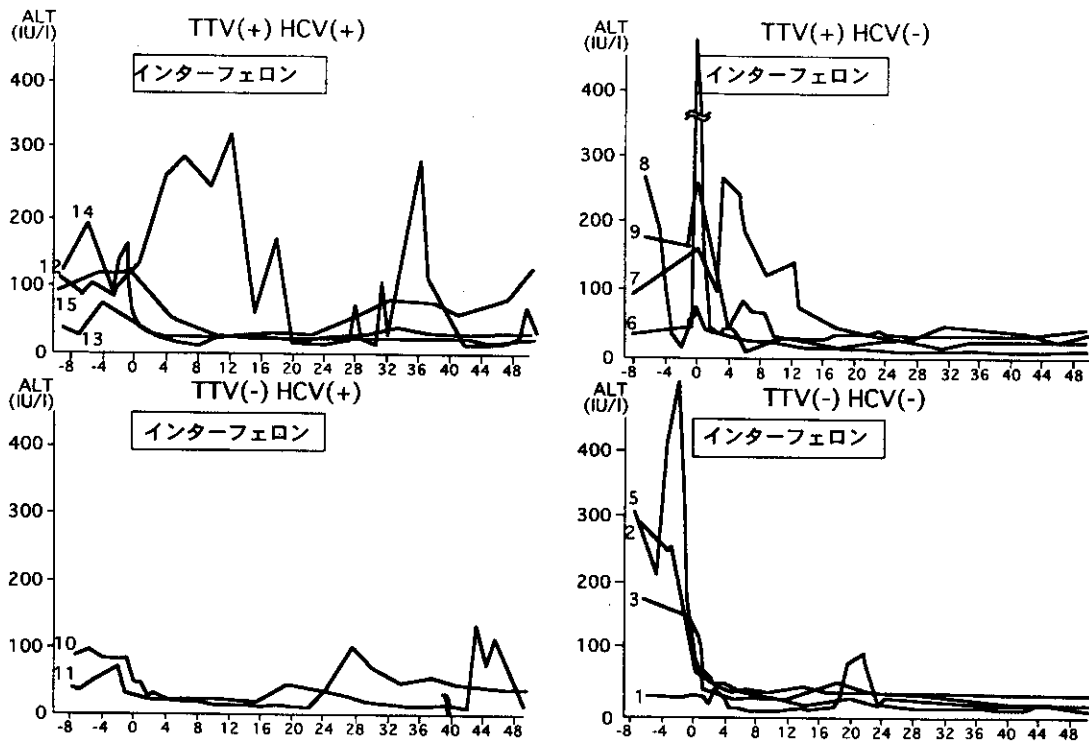


図4 インターフェロン投与中、投与後のALTの変動

性に関しても、サブタイプ、strainによって異なっている可能性が考えられた。病原性は別にしても、持続感染するウイルスのインターフェロン抵抗性のメカニズムなどを研究して行く上での好材料であると考えられる。

文 献

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al : Biochem Biophys Res Commun 241 : 92-97,1997
2. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al : Hepatol Res 10 : 1-16,1998
3. Chayama K, Kobayashi M, Tsubota A, et al : Journal of General Virology, in press

各種分泌液におけるTTV-DNAの有無の検討

愛媛大学第三内科 恩地 森一

協同研究者:

堀池典生、道堯浩二郎

松原 寛

目 的

1997年非A-G型輸血後肝炎症例の血清中より検出されたTTV¹⁾は劇症肝炎、慢性肝炎の40%、献血者中の12%に認めると報告された²⁾が、その後高いホモロジーを有する領域でのプライマー設定により92%と非常に高い頻度で検出されることが示され³⁾、血液感染以外の感染経路の存在が疑われている。既に血清中TTV-DNA陽性者では便及び胆汁中にもその存在が示され、経口感染の可能性が示唆されている⁴⁾。今回我々は、感染経路解明の一助として血清中TTV-DNA陽性者における各種分泌液中についてTTV-DNAの存在の有無を検討した。

対象及び方法

肝機能検査正常、HBs抗原、HCV抗体陰性の健常成人39名(男性18名、女性21名、年齢24-42歳)の血清及び血清中TTV-DNA陽性者のうちボランティア11名(男性10名、女性1名)で採取した唾液、便、精液、涙液、尿、汗を対象とした。分泌液各200 μ lあるいは200 μ gよりDNAを抽出し、GenBankに登録されたTTV-DNAのホモロジーの高い部(ORF2の中央付近)より設定した2セットのプライマーを用いnested PCR法によりTTV-DNAを検出した。

1st. F5 5'-MTS TGC TTC GTG CCC CGC AA-3'

(sense, nt 477-496)

R253 5'-CGS CGT CTC CTT ACR TTT CTG-3'

(antisense, nt 705-725)

2nd. F8 5'-TGC TTC GTG CCC CGC AAA AYC C-3'

(sense, nt 480-501)

R222 5'-GGC GTC TAG CAG GTC TGC GTC T-3'

(antisense, nt 675-694)

M = A, C S = G, C R = A, G Y = C, T

成 績

健常成人39名におけるTTV-DNA陽性率は59.0%(23名)であった。同検体についてOkamotoらの方法では10.3%(4名)に検出された。

各種分泌液における検討では、唾液、便、精液、涙液において11例全例陽性(精液は10例)、尿、汗では全

例陰性であった。鼻汁及び膿分泌物について各1例ずつ検討を行ったが、いずれも陰性であった。

考 察

今回我々の検討で、TTV-DNA陽性率は健常成人で約60%と比較的高率を示し、プライマーの設定部位により陽性率に差違を生じることが改めて示された。

HBVにおいては血液感染のみでなく性交によっても感染が成立することが一般に知られているが、今回の検討で血清中TTV-DNA陽性者全例で唾液、便、涙液、精液中でTTV-DNAが検出されたことより、これらの体液が感染源となりうる可能性が示唆された。今後、同体液中のTTV-DNA濃度、今回検討した領域における遺伝子変異について検討していく予定である。

結 論

1. GenBankに登録されたTTV-DNAよりホモロジーの高い部から設定したプライマーによる健常成人の血清中TTV-DNA陽性率は59.0%であった。
2. 血清中TTV-DNA陽性者は全例で唾液、便、涙液、精液中にTTV-DNAが検出され、尿、汗には検出されなかった。

文 献

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al: A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 241:92-7, 1997
2. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al: Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatology Res* 10:1-16, 1998
3. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, et al: Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepatology Res* 12:233-9, 1998
4. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, et al: Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *Journal of Med. Virology* 56:128-32, 1998

TTVの便中排泄

山梨医科大学第一内科 赤羽 賢浩

協同研究者：

同 内藤成子、井上泰輔

坂本 稔、相野田隆雄

宮崎吉規

自治医科大学予防生態 岡本宏明

はじめに

原因不明の輸血後肝炎患者から、はじめて分離されたTTウイルス¹⁾は、transfusion-transmitted virusとも別称され、blood-borne virusであることは論は待たないが、わが国の献血者の12%が TTV DNA 陽性であることから²⁾、blood-borne以外の感染経路を検討する必要があると考え、TTVの便中排泄を検討した。

対象並びに方法

山梨医科大学第一内科に入院中のTTV DNA陽性患者5例を対象とした。糞便は15% suspensionに調整し、2回

遠心を繰り返し、その上清を検出材料とした。TTV DNAの検出は Okamoto らの報告に準じ²⁾、semi-nested PCRにより行った。

結果並びに考察

血清中に TTV DNA を検出した5例中3例の糞便中に TTV DNAを検出した。糞便中にTTV DNAが検出された症例は血清中のTTV DNA量が多く、genotypeは血清中のそれと一致した(表1)。糞便中にTTV DNAが検出された3例では、血清中と糞便中の TTV DNA の塩基配列をN22領域の222塩基対につき比較した。その結果、各症例はoriginalのN22 cloneと比較すると、2%、15%、38%異なっていたが、各症例毎では血清中のTTVと糞便中のTTVは全く一致した。血清中のTTV DNAが最も高値を示した1例を経過観察すると、この症例では血清中のTTV DNAが変動し、それに並行して糞便中のTTV DNAも変動した(図1)。

以上より、TTVは糞便中にも排泄されており、fecal-oralにも感染する可能性があるものと考えられた。

表1 TTV DNA in Feces from Patients Who had TTV DNA in Serum

No	Name	Age	Sex	Diagnosis	TTV in Serum		TTV in Feces	
					10 ^N	genotype	10 ^N	genotype
1	MR	69	M	LC / HCC (C)	4	1a	5	1a
2	KM	67	F	LC / HCC (C, G)	2	non-1a	1	non-1a
3	HM	83	M	LC / HCC (B)	1	non-1a	1	non-1a
4	KM	51	M	LC / HCC (B)	1	1a	(-)	
5	HM	53	M	LC / HCC (C, B)	1	1a	(-)	

Case : MR, 69 y.o. M LC + HCC

94.7 LC (C), Varix
 95.11 HCC
 96.2 Segmentectomy
 97.3 Recurrence (TAE)

TTV	Serum :	4+ 4+ 2+	1+ (-)
	Feces :	5+ 3+	(-)

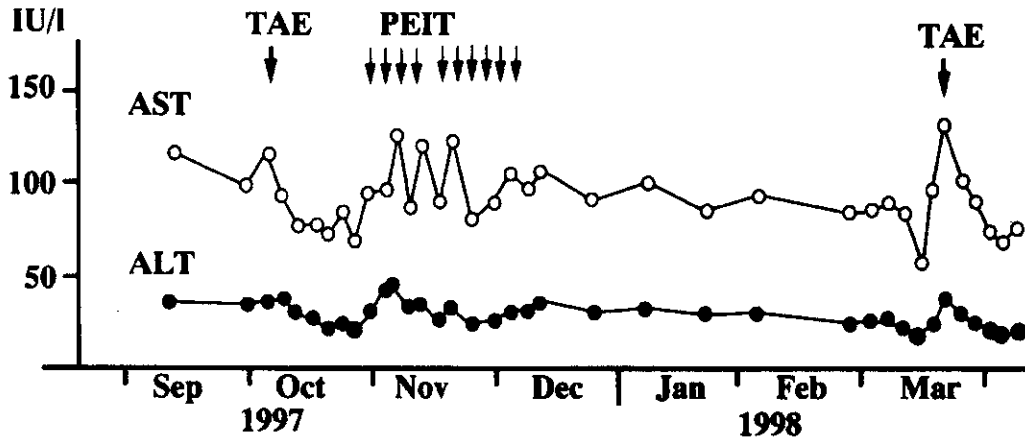


図1 TTV DNA陽性の1例

文 献

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al: A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 241:92-97,1997
2. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al: Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepato Res* 10:1-16,1998

透析患者ならびに慢性肝疾患患者における T T V 感染状況の検討

山口大学第一内科 沖田 極
協同研究者： 日野啓輔

目 的

1997年、本邦において原因不明の輸血後肝炎患者から新たなDNAウイルスとして、TTウイルス(TTV, Transfusion Transmitted Virus)が発見され、非A-非G型劇症肝炎や慢性肝疾患の約半数で検出されている。一方で献血者においても12%の陽性率を示すなど、これまでの肝炎ウイルスとは異なる傾向を示しているが、TTV感染の実態とその意義については未だ不明の点が多い。そこで、肝炎ウイルス感染のhigh risk groupのひとつである透析患者ならびに慢性肝疾患患者におけるTTVの感染状況を検討し、他の肝炎ウイルスとの異同について考察する。

対象および方法

当科での慢性肝疾患患者221例(C型166例、B型45例、非B非C型10例)と山口県宇部市の2カ所の血液透析施設より集められ、HBV、HCV、HGV感染のスクリーニングが行われた244症例のうち、任意に抽出された60症例についてTTVの感染状況を検討した。TTVの検出はOkamotoらのプライマー(sense primers: NG059、NG061、antisense primer: NG063)を用いたseminested PCR法により行った。

成 績

I 透析患者

透析患者におけるTTV以外の種々の肝炎ウイルスマーカーの陽性率は、HBs抗原2.5%、HCV抗体22.1%、HCV RNA13.9%、HGVE2抗体7.8%、HGV RNA4.5%であった。これに対し、TTVDNAは60例中18例(30%)に検出され、HBV、HCV、HGVの各ウイルスマーカーの検出率に比べ高率であった。

TTVDNA陽性者、陰性者間で年齢、性差、輸血歴、透析期間、肝炎ウイルス(HBV、HCV、HGV)重複感染の有無に関して差を認めなかった。年齢層別のTTVDNA陽性率は40歳未満で66.7%、40-49歳で40%、50-59歳で33.3%、60-69歳で23.1%、70歳以上で20%であり、年齢とともに陽性率は低下した。HCV RNA陽性者の平均透析期間は11.4±6.9年で陰性者の6.3±9.6年にくらべ有意に長く、HGV RNAについても同様で、陽性者(9.8±6.4年)は陰性者(6.0±5.2年)より平均透析期間が長かった。こ

れに対し、TTVDNA陽性者(6.8±6.5年)と陰性者(7.7±6.1年)の間には差を認めなかった。

II 慢性肝疾患患者

TTVDNA陽性率は53/221(24%)で、透析患者のそれと差を認めなかった。疾患別では慢性肝炎13/85(16%)、肝硬変16/52(30%)、肝細胞癌25/73(34%)で、慢性肝疾患の進展に伴い、TTV陽性率は高くなる傾向を認めしたが、同時に加齢とともにその陽性率も上昇した。これは透析患者と対照的であった。また、組織学的検討を行ったB型、C型慢性肝炎においてTTV陽性、陰性間ではgrading、stagingともに差を認めなかった。

考 察

透析患者におけるTTVDNA陽性者と陰性者の比較では、年齢、性差のみならず、輸血歴、透析期間、他の肝炎ウイルスとの重複感染率でも差が認められなかった。これは、同一施設の透析患者においてHGV感染者はHCV抗体陽性率が有意に高かった成績とは対照的で、HBV、HCV、HGVとは異なる感染経路が示唆された。TTVは血液中からだけでなく、糞便中からも検出されることが報告されており、この点もHBV、HCV、HGVの感染経路とは同一でないことを明確に示している。一方、慢性肝疾患患者での検討ではTTV感染が慢性肝疾患の進展に与える意義については明確でなかったが、これまでのところTTVのgenotypeは世界中で少なくとも6種類存在することが明らかにされており、分子系統樹における異なるgenotype間の距離も極めて大きいことが報告されている。従って、今後肝疾患におけるTTV感染の意義を明らかにしていくためには、genotypeを同定したうえでの検討が重要と考えられる。

結 語

透析患者、慢性肝疾患患者におけるTTVDNA陽性率はほぼ同率であった。TTVDNA陽性者、陰性者の臨床的背景の検討からは、TTVの感染経路は他の肝炎ウイルス(HBV、HCV、HGV)とは異なる可能性が示唆された。肝疾患におけるTTV感染の意義については更なる検討が必要と考えられた。

文 献

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi, et al: A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 241: 92-97, 1997
2. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al: Molecular

cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatology* 10: 1-16, 1998

3. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, et al : Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J Med Virol* 56 : 128-132, 1998
4. Tanaka Y, Mizokami M, Orito E, et al : New genotypes of TT virus (TTV) and a genotyping assay based on restriction fragment length polymorphism. *FEBS letter* 437: 201-206, 1998

散発性急性肝炎におけるTTV-DNA 検出

国立長崎中央病院 臨床研究部 矢野 右人
協同研究者：

八橋 弘、MDC Parquet、松本武浩
井上長三、古賀満明

目 的

散発性急性肝炎におけるTTV感染の関与を明らかにする目的で、NonA-G型散発性急性肝炎患者を対象に検討をおこなった。

方 法

1989年から1995年の期間、国立病院急性肝炎共同研究班登録症例で、血清学的、遺伝子診断学的にA-G型肝炎ウイルス感染が否定され、2ポイント以上血清が保存されている散発性急性肝炎症例66例（男性28例、女性38例、平均年齢41±14歳）を対象とした。コントロールとして、肝機能正常で、かつ各種肝炎ウイルスマーカー陰性の病院職員50例を用いた。血液中のTTV-DNA検出は、岡本らの報告しているNG059,NG061,NG063 primerを用い、Nested PCRで検出した。²⁾

結 果

NonA-G型散発性急性肝炎患者では66例中17例(26%)、コントロールである病院職員では、50例中17例(34%)に血液中TTV-DNAが検出された。散発性急性肝炎患者でTTV-DNAが検出された17例(TTV-DNA+ve group)と検出されなかった49例(TTV-DNA-ve group)の2群に分けて、その臨床的特徴を分析すると、平均年齢では+ve groupは37±15歳、-ve group 42±14歳で有意な差は見られなかったが、40歳以下の対象の比率は、+ve groupは77%、-ve groupは39%と有意な差が認められた。(P<0.05) 性差に関して男性が、+ve groupは82%、-ve groupは29%と有意な差が認められた。(P<0.001) ALTの最高値、Total Bilirubinの最高値、凝固系を基準にした肝炎の重症度に関しては、いずれも+ve groupと-ve groupの間に有意な差は認められなかった。

TTV-DNAが検出された17例で、最低1ヶ月から最高4年間経過を観察した。17例中3例では、ALT値の正常化とともにTTV-DNAの血中からの陰性化が見られたが、うち2例は、その後再出現が認められ、一過性感染が確認された例は1例のみであった。17例中14例では、多くの症例で発症1ヶ月以内にALT値の正常化が見られたが最終観察時点で持続的に血中TTV-DNAが検出された。

考 察

本邦の散発性急性肝炎患者の約24%は、依然原因が不明であり、最近発見されたTTVが、その起因ウイルスとなりうるか否かが注目されている。¹⁾ 今回の検討では、NonA-G型散発性急性肝炎患者66例中17例(26%)の血液中にTTV-DNAが検出され、このウイルス感染による急性肝炎症例が存在することが示唆された。しかし、肝障害を有さないコントロール群の34%の例でも血液中にTTV-DNAが検出されていることから、単にTTV-DNAの検出率をもって急性肝炎の起因ウイルスか否かを議論するには限界がある。TTV-DNAが検出された17例の経過を見ると、肝機能と連動してウイルス動態が変化した例と考えられる例は多くとも3例のみであった。残りの14例においては、TTV初感染後、C型急性肝炎後の遷延化、HCVキャリアー化と同様な病態が生じたとも考えられるが、コントロール群の検出率の高さから判断すると、これらの14例の多くは、急性肝炎発症以前からTTV-DNA陽性であったと推定される。散発性急性肝炎では輸血後急性肝炎とは異なり、発症前の血液が採取されていることは極めて稀である。TTV-DNAは健常者にも高率に検出される常在ウイルスと考えられ、初感染か否か、急性肝炎の起因ウイルスか否かの見極めには、抗体診断が必要である。

現時点の結論として、TTV初感染により急性肝炎を発症したと考えられるのは、NonA-G型散発性急性肝炎66例中多くとも3例(5%)のみで、TTV感染が原因不明の急性肝炎の起因ウイルスである頻度は極めて低いものと考えられる。

文 献

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al : A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 241: 92-97, 1997
2. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al : Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol Res* 10: 1-16, 1998

肝細胞癌におけるHGV, TTVの関与

大阪市立大学第三内科

黒木 哲夫

協同研究者:

- 第三内科 西口修平、榎本 大、田中基晴
福田勝彦、田守昭博、羽生大記
武田 正、塩見 進、関 守一
第二生化学 矢野善久、大谷周造
第二外科 久保正二、広橋一裕、木下博明

はじめに

本邦における肝細胞癌による死亡は年間約3万人で、悪性腫瘍による死亡原因の第3位を占めている。この数字は20年前の約4倍に相当し、今後も増え続けると考えられており2005年には男女とも胃癌を抜いて悪性腫瘍による死亡原因の第1位となることが予想されている。本邦における肝細胞癌の大部分はHBV、HCVによる慢性肝炎・肝硬変を母地として発生することが知られているが、少数例ではこれらの既知の肝炎ウイルスの感染がみられない症例も存在する。近年、輸血後肝炎の原因ウイルスとしてHGV¹⁾、TTV²⁾が相次いで発見されたが、その臨床的意義についてはいまだ不明な点も多く残されている。特にこれらのウイルスが肝細胞癌の発生にどのような役割を果たしているかを解明することは、臨床的にも疫学的にも重要な問題である。

対象と方法

1991年から1997年までに当院第二外科にて外科的肝切除を施行した肝細胞癌312例中、HBs抗原、HCV抗体がともに陰性であった28例(9%)を対象とした。患者血清はすべて手術直前に採取し-80℃で保存したものをを用い、HBs抗原はEIA (International Reagents Corp., Kobe) を用いて、HCV抗体は第二世代または第三世代のELISA (Ortho Diagnostic System, Tokyo) を用いて測定した。HBV関連マーカーについては、さらにHBc抗体をradioimmunoassay (Dinabot, Tokyo) にて、HBV DNAをprecore/core領域のプライマーを用いたPCRにて³⁾、それぞれ検出した。また、HGV RNAは5'-untranslated regionに設定したプライマーを用いて⁴⁾、TTV DNAはOkamotoらが報告したプライマー (NG061/NG063、以下第二世代) と⁵⁾、Takahashiらが報告したプライマー (T801/T935、以下第三世代) を用いて⁶⁾、PCRにて検出した。TTVについては、本邦の一般献血者集団においても高率に感染が見られることがこれまで報告されており^{6,7)}、対照群としてHBs抗原、HCV抗体がともに陰性の慢性肝炎36例、肝硬

変5例、一般献血者50例においても検討した。TTV陽性例の一部についてはPCR産物の塩基配列をunweighted-pair grouping method with arithmetic meansにて分子系統樹解析し、これまでに報告されたstrainとの比較によってgenotypeも検討した。

結 果

対象とした肝細胞癌312例中、241例(77%)はHCV抗体陽性、49例(16%)はHBs抗原陽性、うち6例(2%)は両者陽性であった。HBs抗原、HCV抗体がともに陰性であったその他の28例中、Hbc抗体陽性は17例(61%)で、うち2例(7%)は200倍希釈でも陽性の高力価であった。HBV DNAは3例(11%)で陽性であり、Hbc抗体高力価陽性の2例はともにHBV DNA陽性であった。HGV RNAは全例で陰性であった。TTV DNAは、肝細胞癌28例のうち11例(39%)が第二世代のプライマーで陽性、17例(61%)が第三世代のプライマーで陽性、合計22例(79%)がいずれかで陽性であった(表1)。いずれかの方法で陽性と判定された22例とその他の陰性例6例の臨床的背景因子を比較した(表2)。TTVの陽性例では陰性例に比べて肝組織所見でgradingの進展が有意にみられた。第二世代のプライマーで陽性であった11例と第三世代のプライマーでのみ陽性であった11例の臨床的背景因子の比較を示した(表3)。第二世代のプライマーで陽性であった症例は第三世代のプライマーでのみ陽性であった症例に比べて有意に輸血症を持つものや大量飲酒者の割合が高く、肝組織所見ではstagingの進展がみられた。第二世代のプライマーでTTV DNA陽性であった症例のうちgenotypeを検討した21例(一般献血者9例、慢性肝炎9例、肝硬変2例、肝細胞癌1例)ではOkamotoらの1a型が8例、1b型が9例、2型が4例であった。肝硬変2例、肝細胞癌1例はいずれも1b型であった。第三世代のプライマーでTTV DNA陽性であった症例のうち45例(一般献血者26例、慢性肝炎14例、肝硬変3例、肝細胞癌2例)についても同様の検討を試みたが、PCRで増幅された領域の塩基配列は保存性が高くgenotype分析に不向きであると思われた。

考察・結論

われわれはこれまでに劇症肝炎、C型慢性肝炎、肝細胞癌患者を対象とした検討でHGVが肝障害に参与している可能性は極めて低いことを報告してきた^{6, 8, 9, 10}。肝細胞癌に関する今回のより多数例での検討でも、HBs抗原、HCV抗体がともに陰性の症例にはHGV陽性例はみられなかったことから、HGVは肝細胞癌の発生には関与しないと思われる。

TTVについての今回の検討では、PCRプライマーとし

てOkamotoらが報告した第二世代のものTakahashiらが報告した第三世代のものをを用いた。検討した全119例(一般献血者50例、慢性肝炎36例、肝硬変5例、肝細胞癌28例)のうちTTV DNA陽性例は第二世代のプライマーで33例、第三世代のプライマーで96例であり、第三世代のプライマーで陽性であったもののうち、6例を除くすべてが第二世代のプライマーでも陽性であった。すなわちTakahashiらの報告している通り第三世代のプライマーを用いたPCRの方が検出感度が高いと思われる。この検出感度の違いに関係する因子としてはTTV DNA量やgenotype等が考えられる。第二世代のプライマーを用いたPCRで、HBs抗原、HCV抗体がともに陰性の慢性肝疾患患者と一般献血者でのTTV陽性率はそれぞれ35%(24/69)、18%(9/50)と前者において有意に高値を示した。しかし第三世代のプライマーを用いたPCRで両群のTTV陽性率はそれぞれ83%(57/69)、78%(39/50)と非常に高値を示し、有意差を認めなかった。つまり本邦には肝障害の有無に関わらず非常に多数のTTV感染者が存在し、感染者の大多数ではTTVは肝障害に關与していないものと考えられる。一方、肝細胞癌症例のうち第三世代のプライマーでのTTV DNA陽性例では陰性例に比べて肝組織所見において有意にgradingの進展がみられたことから、TTVが肝臓の炎症に何らかの影響を及ぼしている可能性も否定できない。また第二世代のプライマーと第三世代のプライマーのPCRの検出感度違いがgenotypeの違いによるものだとすれば、第二世代のプライマーで検出できるTTVは特定のgenotypeに限られているのかもしれない。一般に、ある種のウイルスではgenotypeの違いが病原性に影響することが知られている。TTV DNAが第二世代のプライマーで検出できた例は第三世代のプライマーでしか検出できなかった例に比べて肝組織所見において有意にstagingの進展がみられたことや、第二世代のプライマーでTTV DNA陽性であった肝硬変、肝細胞癌の症例がいずれも1b型であったことは、genotypeの違いによって肝病態の進展に差があることを示しているのかもしれない。この点については今後より多数例での検討が必要である。

表1 非B非C型慢性肝疾患患者と一般献血者におけるTTVDNA陽性率

primers generation	No. of subjects with TTV DNA (%)		
	2nd	3rd	2nd and/or 3rd
Patients with chronic liver disease (n=69)	24 (35%)	57 (83%)	57 (83%)
Chronic hepatitis (n=36)	11 (31%)	31 (86%)	31 (86%)
Liver cirrhosis (n=5)	2 (40%)	4 (80%)	4 (80%)
Hepatocellular carcinoma (n=28)	11 (39%)	17 (61%)	22 (79%)
Volunteer blood donors (n=50)	9 (18%)	39 (78%)	40 (80%)

表2 TTVDNA陽性例と陰性例の臨床的背景因子の比較

	TTV + (n=22)	TTV - (n=6)	p value
Age (yr)*	62.9 ± 6.0	52.4 ± 16.0	N.S.
Sex (M : F)‡	17 : 5	6 : 0	N.S.
Transfusion‡	3 (17%)	2 (33%)	N.S.
Alcohol Abuse‡	6 (27%)	1 (17%)	N.S.
ALT (IU/L)**	53 (44, 80)	52 (37, 68)	N.S.
T-Bil (mg/dl)*	1.0 ± 0.3	0.8 ± 0.2	N.S.
Albumin (g/dl)*	3.7 ± 0.4	3.8 ± 0.1	N.S.
AFP (≥20ng)‡	6 (27%)	3 (50%)	N.S.
Grading**	1 (1, 2)	0 (0, 1)	.048
Staging**	3 (1, 4)	0 (0, 3)	N.S.
Differentiation			N.S.
Well	1	1	
Moderately	15	5	
Poorly	6	0	

*Mean ± SD, **Median (25 and 75 percentiles), ‡No. of patients (%).

N.S., not significant.

表3 第二世代のPCRでのTTVDNA陽性例と第三世代のPCRのみでのTTVDNA陽性例の臨床的背景因子の比較

primer generation			
2nd	TTV +	TTV -	
3rd	TTV + or -	TTV +	
	(n=11)	(n=11)	p value
Age (yr)*	61.1 ± 4.0	64.2 ± 7.2	N.S.
Sex (M : F)†	10 : 1	7 : 4	N.S.
Transfusion‡	3 (27%)	0 (0%)	.050
Alcohol Abuse‡	5 (45%)	1 (9%)	.038
ALT (IU/L)**	52 (43, 85)	55 (45, 74)	N.S.
T·Bil (mg/dl)*	1.1 ± 0.4	0.9 ± 0.2	N.S.
Albumin (g/dl)*	3.7 ± 0.5	3.7 ± 0.3	N.S.
AFP (≥20ng)‡	2 (18%)	4 (36%)	N.S.
Grading**	2 (1, 2)	1 (0, 2)	N.S.
Staging**	4 (3, 4)	2 (0, 3)	.014
Differentiation			N.S.
Well	1	0	
Moderately	8	7	
Poorly	2	4	

*Mean±SD, **Median (25 and 75 percentiles), †No. of patients (%).

N.S., not significant.

参考文献

1. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, et al : Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature Med* 1: 564-569, 1995
2. Linnen J, Wages J Jr, Zhang-Keck Z-Y, et al : Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science* 271: 505-508, 1996
3. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al : A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 241: 92-97, 1997
4. Minamitani S, Nishiguchi S, Kuroki T, et al : Detection by ligase chain reaction of precore mutant of hepatitis B virus. *Hepatology* 25: 216-222, 1997
5. Kubo S, Nishiguchi S, Kuroki T, et al : Poor association of GBV-C viremia with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 27: 91-95, 1997
6. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al : Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepato Res* 10: 1-16, 1998
7. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, et al : Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepato Res* 12: 233-239, 1998
8. Kuroki T, Nishiguchi S, Tanaka M, et al. Does GBV-C cause fulminant hepatitis in Japan? *Lancet* 347:908, 1996
9. Tanaka M, Nishiguchi S, Tanaka T, et al : Prevalence of GBV-C and hepatitis G virus variants in patients with fulminant hepatic failure in Japan. *J Hepatol* 27: 966-972, 1997
10. Enomoto M, Nishiguchi S, Fukuda K, et al : Characteristics of patients with hepatitis C virus with and without GB virus C/hepatitis G virus co-infection and efficacy of interferon alfa. *Hepatology* 27: 1388-1393, 1998

HBs抗原およびHCV抗体陰性の肝細胞癌例のTTV感染

聖マリアンナ医科大学内科・臨床検査医学

飯野 四郎

協同研究者： 四柳 宏、鈴木通博

橋詰清江

目的

日本の肝細胞癌の大部分はB型およびC型肝炎ウイルス感染の結果によると考えられているが、以下に述べるように約10%の例はHBs抗原およびHCV抗体が陰性であり、一般に非B非C (NBNC) 型HCCと呼ばれている。

本研究はこのNBNC HCCに新しく発見されたGBV-C/HGVおよびTTVが関係するかどうかを血清および肝組織を用いて検討することを目的とした。

方法

症例はHCC 460例中、上記定義に合致する48例 (10.4%) とした。これら48例の中から血清および肝組織が保存され、遺伝子分析に耐える検体が存在する26例で検討した (図1)。

HBs抗体およびHBc抗体はDainabot社のEIAキットを用いて測定した。GBV-C/HGV RNAの検出は既報と同様の方法でPCR法で行った²⁾。TTV DNAの検出はN22を用いる方法³⁾およびTakahashiの方法⁴⁾に従ってPCR法で行った。HBV DNAの検出は既報⁵⁾に従い、X領域、C領域に設定したprimerを用いたPCR法で行った。

結果

HBc抗体陽性例は3例、うち2例がHBs抗体陽性であった(表1)。

Takahashi primerによるTTV DNA陽性例は26例中22例(84.6%)であった。この22例中11例(50%)がN22のprimerでTTV DNA陽性であった。N22陽性のうち2例ではHBV DNAがすべての検体で陰性で、TTVがHCCの原因である可能性があった。GBV-C/HGV RNA陽性の3例のうち2例がN22陽性であった。

HBV DNAは血清および肝組織、肝癌組織に比較的高い頻度で検出され、HBVマーカー陰性例であってもHBV感染が比較的多くみられることが示された。

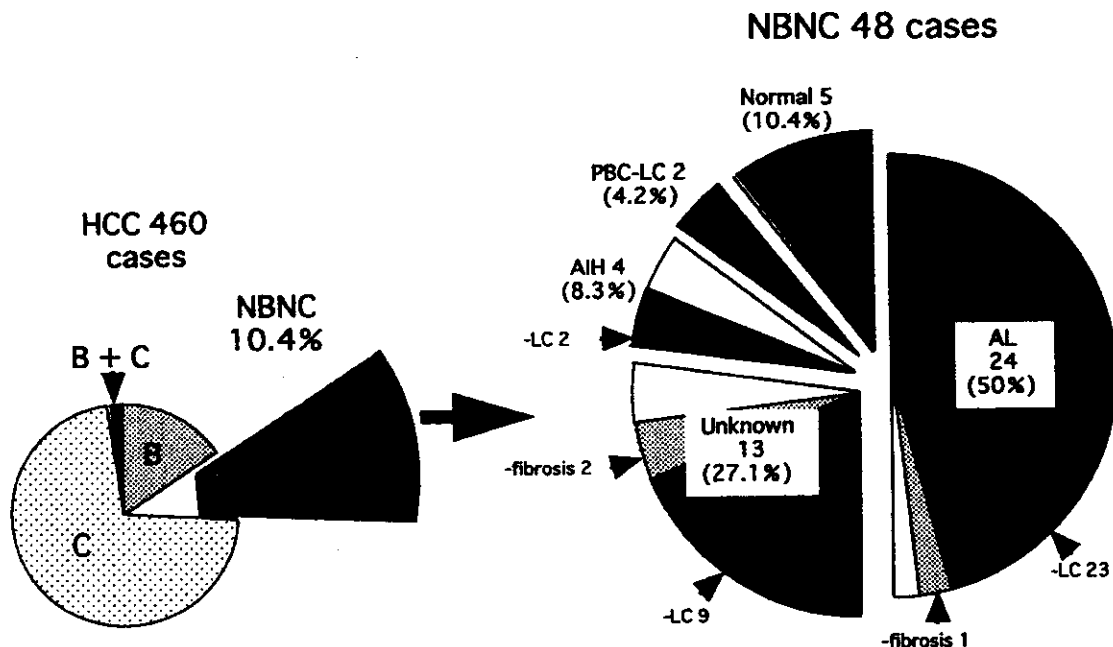


図1 Etiology of non-B non-C Hepatocellular carcinoma (NBNC-HCC)