

認められている。診断時点より発癌までの期間で発癌率を計算し、観察期間中にインターフェロンを使用した症例はその時点でうち切りデータとした。

発癌率の計算はKaplan-Meier法で行ったが、多変量解析に基づく発癌ハザード推定や発癌率の推定はCox比例ハザードモデルで行った。単変量・多変量解析で優位であった項目を上位より複数種類選択し、これで比例ハザード法でシミュレーションを行った。

## C. 研究結果

### 1. C型慢性肝炎と肝硬変との臨床的鑑別

対数変換項目を使用して統計学的に妥当性の高い判別式は、 $z = 0.120 \times \gamma$ グロブリン(%) +  $0.423 \times \log(\text{ヒアルロン酸}(\mu\text{g/L})) - 0.059 \times \text{血小板}(\text{万}/\text{mm}^3) - 0.364 \times \text{性別}(\text{男}=1, \text{女}=2) - 3.953$  となり、 $z$ 値が正值であれば肝硬変、負値であれば慢性肝炎と判別された。

臨床的には対数変換項を使用した計算は煩雑であるので、変数をすべて無変換のまま使用した「実用的判別式」も同時に作成した。実用的には、 $z = 0.124 \times \gamma$ グロブリン(%) +  $0.001 \times \text{ヒアルロン酸}(\mu\text{g/L}) - 0.075 \times \text{血小板数}(\text{万}/\text{mm}^3) - 0.413 \times \text{性別}(\text{男}=1, \text{女}=2) - 2.005$  が最終的な判別式となった。数種類のvalidation studyを行なった結果、後者の実用的判別式で、慢性肝炎の91.7%、肝硬変の86.5%が正しく判別され、全体の正診率は91.2%であった。

### II. C型肝硬変患者での詳細な発癌率予測とシミュレーション

C型肝硬変763例全例からの肝細胞癌発癌率は、5年28.3%、10年53.9%、15年70.1%、20年74.0%であった。これら肝硬変症例からの発癌に寄与する独立要因をCox比例ハザードモデルで検討すると、性別(女のハザード比:0.58、 $P =$

0.0002)、年齢(55歳以上のハザード比:1.67、 $P = 0.0006$ )、AFP値(20ng/ml以上のハザード比:1.52、 $P = 0.0035$ )、血小板数(10.0万/mm<sup>3</sup>未満のハザード比:0.68、 $P = 0.0068$ )、ICG15分値(30%以上のハザード比:1.41、 $P = 0.014$ )の5因子が挙げられた。

これら4条件が最も不利条件(発癌しやすい要因を4つとも有する)であると、5年発癌率は53%、10年発癌率は84%と推定され、一方すべて有利条件であれば、5年発癌率は12%、10年発癌率は26%と推定された(表1、表2)。

## D. 考察

わが国の肝細胞癌の最も大きな原因はC型肝炎ウイルスであり、その発癌リスクの推定は一般臨床にとって非常に重要である。とりわけ、慢性肝炎から肝硬変を臨床的に見分けることは、肝癌のハイリスクグループ設定の上で欠くことのできない重要な臨床判断となる。ここでは、腹腔鏡肝生検といった侵襲検査ではなく、一般的な採血検査のみから、この鑑別がどの程度確実に行えるかを検討した。慢性肝炎と肝硬変との比率にもよるが、一定期間に入院した全症例についての検討では、両者を91.2%正しく判別できた。以前にも同様の検討はあるが、ヒアルロン酸のような線維化マーカーを用い、また腹腔鏡肝生検をgolden standardとした検討はこれまでになく、信頼性の高い判別式であると考えられる。肝硬変を一般採血検査から診断できると、慢性肝炎から肝硬変への移行時期・移行率を計算することができたり、治験に際して肝硬変症例を効率的に集積できたりするなどの応用がより簡単にできる。

C型肝硬変症例での累積肝癌発癌率は、さまざまの症例をまとめて、一般に10年で50~70%とされているが、同じ肝硬変の中にも症例毎に発癌リスクの小さ

い例や大きい例が存在する。ここでは、この患者に即した発癌率を多変量解析の結果から、できるだけ実際に近い数値を提示することを目的として検討した。最終的には、性別・γグロブリン、血小板、ヒアルロン酸の4個のパラメータのみを使用して、Cox 比例ハザードモデルによるシミュレーションからの作図で個々の患者の発癌リスクを算出した。この結果、推定10年発癌率は、個々の患者について最小で16%、最大で84%と予測できることが判明した。これら発癌高危険群であるC型肝硬変をさらに細分化して、超高危険群を明らかにすることにより、医師側に発癌リスクを再認識させるとともに、将来的には患者へのより正確な情報開示が可能と考えられる。また、発癌抑制治療などにおいて、超高危険群の層別化を行うことができれば、薬剤効果などを客観的に確認することが可能になるものと考えられる。

#### E. 結論

C型慢性肝疾患にはその進行程度により様々の程度の発癌率が計算されるが、まず、慢性肝炎か肝硬変かの診断をつけることが大切で、両者の判別が効率的に行える判別式を作成した。C型肝硬変は高危険群であるが、これに4つのパラメータを考えることで、より詳細な発癌率の推定が可能となった。

#### F. 健康危険情報:なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Ikeda K, Saitoh S, Kobayashi M, Suzuki Yi, Tsubota A, Suzuki F, Arase Y, Murashima N, Chayama K, Kumada H. Distinction between chronic hepatitis and liver cirrhosis in patients with hepatitis C virus infection. Practical discriminant function using common laboratory data.

Hepatol Res 2000; 18: 252 - 266.

Ikeda K, Saitoh S, Suzuki Y, Kobayashi M, Tsubota A, Koida I, Arase Y, Fukuda M, Chayama K, Murashima N, Kumada H. Disease progression and hepatocellular carcinogenesis in patients with chronic viral hepatitis ----- A prospective observation of 2215 patients. J Hepatology, 28: 930-938, 1998.

Ikeda K, Saitoh S, Koida I, Arase Y, Tsubota A, Chayama K, Kumada H. A multivariate analysis of risk factors for hepatocellular carcinogenesis ---- A prospective observation of 795 cases with viral and alcoholic liver cirrhosis. Hepatology, 18: 47-53, 1993.

##### 2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況:なし

表1. 男性C型肝炎硬変症例での5年・10年発癌率推定

5年・10年発癌率		AFP(ng/ml)			
		19 以下	20 以上		
血小板	9.9万以下	25	52	39	69
	10.0万以上	19	40	29	56

年齢  
54歳以下

5年・10年発癌率		AFP(ng/ml)			
		19 以下	20 以上		
血小板	9.9万以下	38	67	53	84
	10.0万以上	28	55	41	72

年齢  
55歳以上

表2. 女性C型肝炎硬変症例での5年・10年発癌率推定

5年・10年発癌率		AFP(ng/ml)			
		19 以下	20 以上		
血小板	9.9万以下	17	35	25	50
	10.0万以上	12	26	18	39

年齢  
54歳以下

5年・10年発癌率		AFP(ng/ml)			
		19 以下	20 以上		
血小板	9.9万以下	23	48	37	66
	10.0万以上	18	38	27	53

年齢  
55歳以上

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

C型慢性肝炎の自然経過（輸血歴を有する者での検討）

分担研究者 矢野 右人 国立長崎中央病院長

研究要旨 C型慢性肝炎の自然経過を明らかにする目的で、感染時期の同定が可能な輸血歴を有する者 469 名を対象に解析をおこなった。発癌に寄与する独立危険因子は初診時年齢、肝線維化の進展度、輸血からの期間、過度のアルコール飲酒の 4 因子で、発癌例の 88%は 60 代以降に発癌した。輸血後 C型慢性肝炎からの発癌例では輸血時年齢に関係なく 60 歳以後に発癌する。

共同研究者：八橋 弘、浜田久之  
(国立長崎中央病院臨床研究部、内科)

A. 研究目的

C型慢性肝炎の自然経過を明らかにする為に、感染時年齢の同定が可能な輸血歴を有する者を対象として、生命予後、発癌率、発癌の危険因子について検討した。

B. 研究方法

解析対象は、1982 年から 1998 年までに当院に入院した HCV-RNA 陽性でかつ輸血歴の明確な C型慢性肝炎患者で初診時肝癌症例を除いた 469 名である。（輸血時平均年齢 30 歳、初診時平均年齢 54.7 歳、男女比 0.94、平均観察期間  $5.5 \pm 4.7$  年）。436 例（93%）に肝生検施行し、145 例（30.9%）に IFN 治療を施行した。対象例の発癌について調査し輸血からの期間、危険因子との関係を検討した。累積肝癌発生率は Kaplan-Meier 法によって算出し Log-rank (Mantel-Cox) にて検定した。危険因子を Cox 比例ハザードモデルにより単変量および多変量解析をおこなった。危険因子は性、輸血時年齢（30 歳以上、以下）、初診時年齢（56 歳以上、以下）、輸血から初診までの期間（26 年以上、以下）、アルコール飲酒量（50g/日×5 年以上、以下）、肝生検所見（F3 以上、以下）、IFN の治療の有無、初診時 TB（1mg/dl 以上、以下）、ALT、AST、ALP、PT、血小板（10

万以上、以下）である。

（倫理面への配慮）

肝生検を施行するにあたり、患者からの informed consent を文書にて確認した。

C. 研究結果

初診時から最終観察日までの平均は  $5.5 \pm 4.7$  年で、456 例中 27 例が肝疾患由来の死因で死亡し、肝癌発生は 52 例（11.1%）に認めた。累積肝癌発生率は観察期間 5 年（5.2%）、10 年（18%）、15 年（37%）、であった（図 1）。発癌に寄与する因子として、単変量解析で有意差が認められた危険因子は T-bil 値 1.0 以上と未満（リスク比 (RR)=2.21、 $P=0.004$ ）、血小板数 10 万以上と未満（RR=3.30、 $P<0.0001$ ）、アルコール飲酒量 50g/日×5 年以上と未満（RR=2.66、 $P=0.008$ ）、IFN 治療の有無（RR=4.02、 $P=0.003$ ）、輸血から初診時までの期間 26 年以上と以下（RR=8.92、 $P<0.0001$ ）、肝線維化の程度 F3 以上と未満（R=8.17、 $P<0.0001$ ）、初診時年齢 56 歳以上と未満（R=12.3、 $P<0.0001$ ）の 7 因子であった。多変量解析ではアルコール飲酒量（RR=2.219、 $P=0.04$ ）、輸血から初診までの期間（R=4.56、 $P=0.001$ ）、肝線維化の程度（R=4.38、 $P=0.001$ ）、初診時年齢（R=7.84、 $P<0.0001$ ）の 4 因子に有意差が認められた。

52 例の発癌例での発癌時平均年齢は  $65 \pm 4.8$  歳、range 58-79 歳であり、52 例中 60 歳以下の発癌は 4 例のみであった（図 2）。発癌例で、輸血時年

年齢と発癌までの期間との相関をみたところ、逆相関が認められた ( $R=0.8378$ ,  $P<0.001$ ) (図 3)。40 歳以後に輸血を受けて感染した者は全例 ( $n=7$ ) 25 年以内に発癌するのに対し、40 歳未満に輸血を受けて感染した者は全例 ( $n=45$ ) 25 年以上の期間を要した。

D. 考察 E. 結論

輸血歴を有する C 型慢性肝炎患者の検討では、発癌に寄与する独立危険因子は初診時年齢、肝線維化の進展度、輸血からの期間、過度のアルコール飲酒の 4 因子であった。

発癌例の 88% は 60 代以降に発癌しており、輸血後 C 型慢性肝炎からの発癌例では輸血時年齢に関係なく 60 歳以後に発癌する。

G. 研究発表

2. 学会発表

「C 型慢性肝炎の自然経過 (輸血歴を有する者での検討)」

浜田久之・八橋弘・大畑一幸・松本武浩  
大黒学・井上長三・古賀満明・矢野右人  
第 87 回日本消化器病学会総会  
東京 2001.4.18-20.

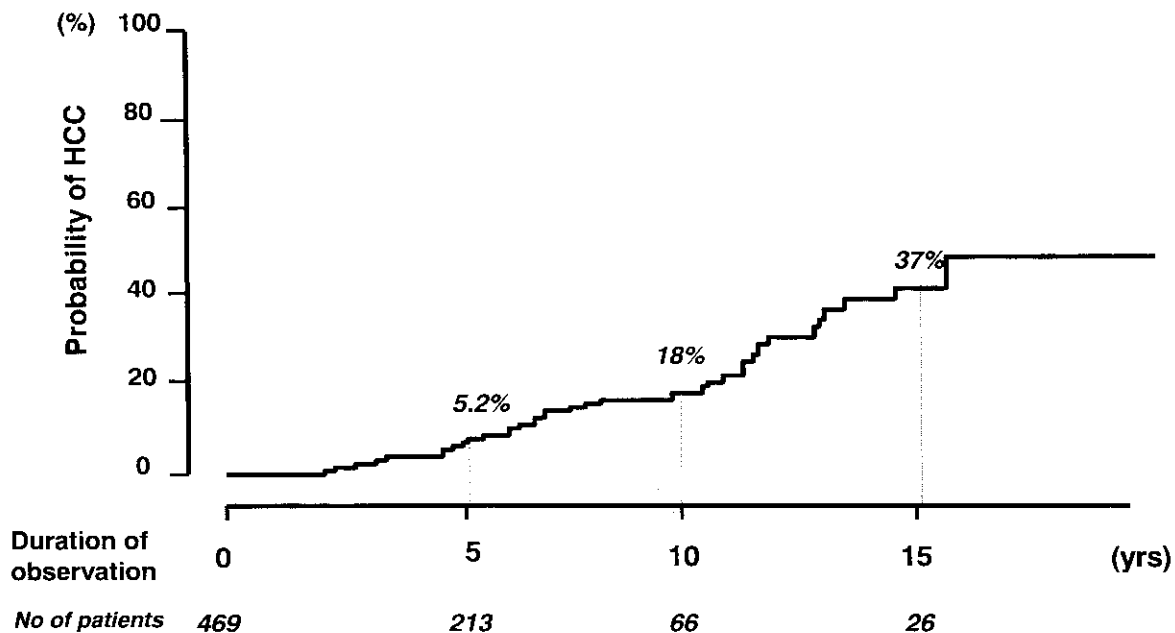


Fig 1. Cumulative probability for developing HCC in patients with chronic hepatitis C with history of blood transfusion ( $n=469$ )

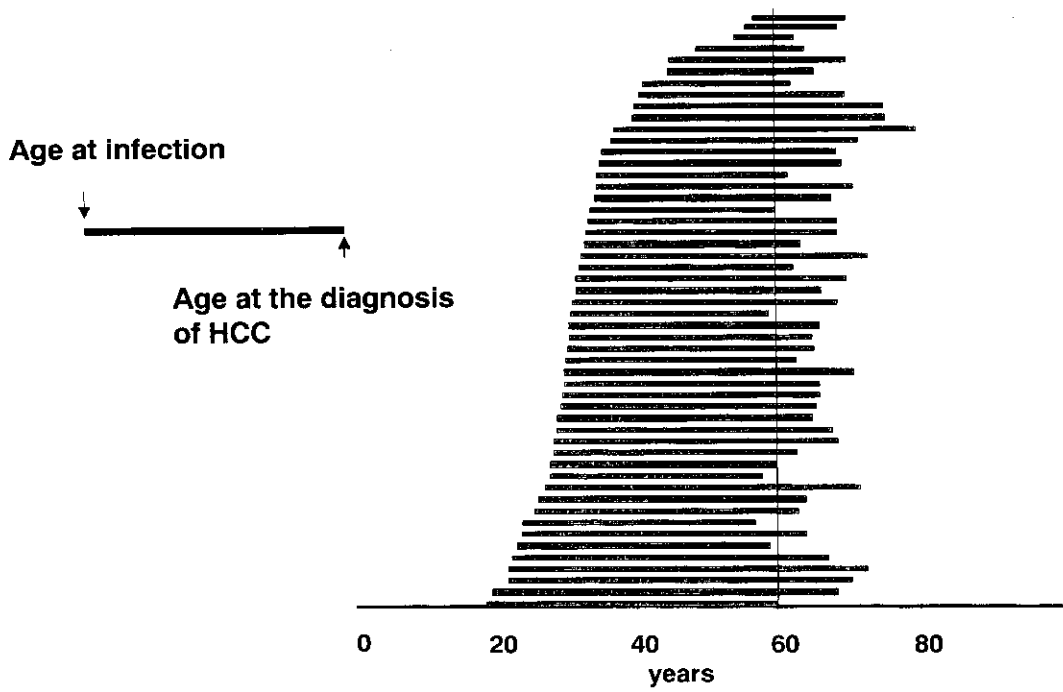


Fig 2. Age at infection and at diagnosis of HCC in 52 patients

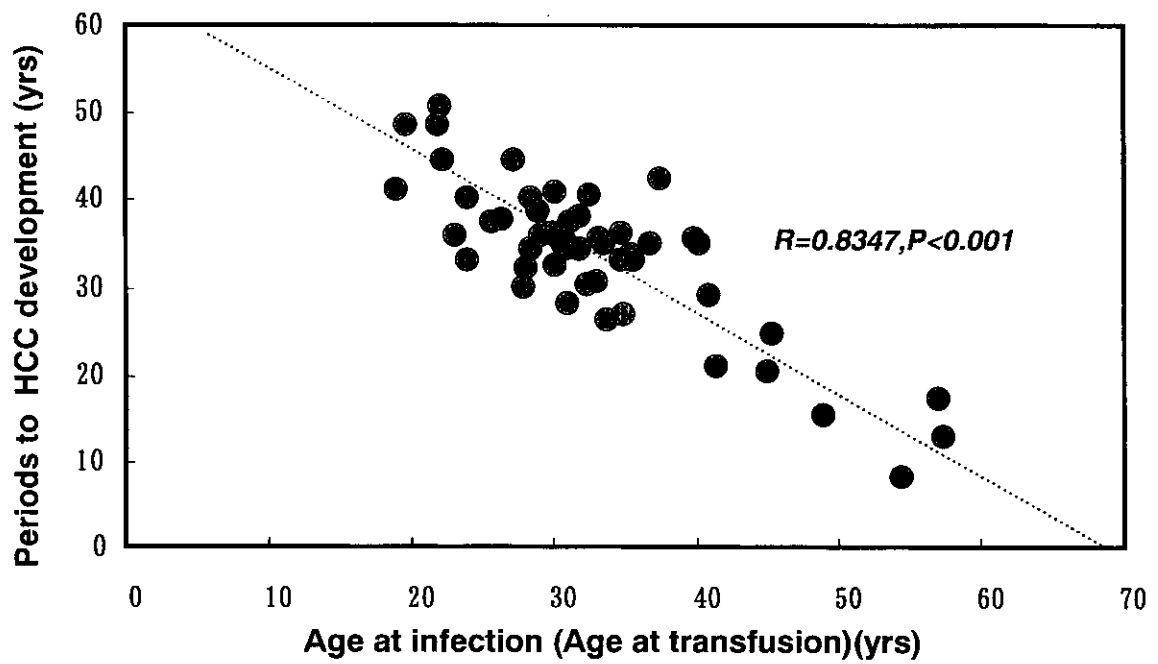


Fig 3. Relationship between age at infection and periods of HCC development in 52 HCC patients

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
「非A非B型肝炎の臨床的総合研究に関する研究班」  
分担研究報告書

慢性C型肝炎患者におけるインスリン抵抗性の検討

分担研究者 各務伸一 愛知医科大学第一内科 教授

研究要旨

慢性C型肝炎患者におけるインスリン抵抗性をHOMA(Homeostasis model assessment)指数を用いて検討し、どのような因子がインスリン抵抗性に関与しているかを検討した。糖尿病(DM)と診断されていない、F1・F2 stageの症例においてもインスリン抵抗性は増加しており、血清AST値と血清TNF $\alpha$ 値がHOMA指数と有意な相関関係を示した。慢性C型肝炎患者においては従来から指摘されている肝の線維化に伴う糖利用障害だけでなく、肝細胞の炎症がインスリン抵抗性の増加に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

慢性肝疾患と糖尿病との関わりは以前から指摘されている。最近になり欧米より慢性HCV感染が糖尿病発症の危険因子であることを示唆する論文が相次いで発表されているが、肝炎ウイルス感染と糖尿病発症との関連については、その因果関係は未だ不明な点が多い。すでに我々はHCV-RNA陽性患者707例、HBsAg陽性患者159例を対象とした調査において我が国においてもHCV-RNA陽性患者の糖尿病合併率がHBsAg陽性患者のそれに比べて有意に多いことを報告した(20.8% vs 11.9%,  $p < 0.02$ )。糖尿病発症には膵臓の $\beta$ 細胞からのインスリン分泌の低下と、インスリン抵抗性の上昇が重要な役割を果たしていることが報告されている。そこで今回我々は慢性C型肝炎患者におけるインスリン抵抗性を検討し、どのような因子がインスリン抵抗性に関与しているかを検討した。

B. 研究方法

慢性C型肝炎患者43例(男性20例、女性23例)を対象とした。採血は12時間以上の絶食状態にある患者より行った。採取した血液を用いてインシュリン値、glucose濃度をはじめとする諸因子を測定し、一部は血清に分離した後-80度で凍結保存してTNF $\alpha$ の測定に供した。DM治療中の症例や、2回以上空腹時血糖126mg/dlまたは随時血糖200mg/dl以上を示した症例、あるいは血中HbA1c 6.5%以上の症例をDM例とした。高血糖を来し易い薬剤を服用中の症例など、今回の調査に影響する因子を有すると考えられる症例は除外した。肝炎のstagingは、6ヶ月以内に行われた肝生検材料の組織診断を基本としたが、肝生検が行われていない症例では血小板数を簡便な目安とする分類法により、 $15 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以上をF1、 $13 \times 10^4/\mu\text{l} \sim 15 \times 10^4/\mu\text{l}$ をF2、 $10 \times 10^4/\mu\text{l} \sim 13 \times 10^4/\mu\text{l}$ をF3、 $10 \times 10^4/\mu\text{l}$ 未満をF4と分類した。HOMA指数は次の式により算出した。HOMA-R = fasting serum insulin (mU/ml) x fasting plasma glucose

(mmol/l) / 22.5 (Matthews DR, et al. Diabetologia 28: 412-419, 1985)

#### (倫理面への配慮)

患者にはあらかじめ口頭にて調査内容を説明し、十分な理解を得た上で採血を行った。

#### C. 研究結果

F1・F2に分類された症例は19例、F3・F4に分類された症例は24例であった。F1・F2に分類された19例のうちすでにDMと診断されている症例が2例(11%)、また、F3・F4に分類された24例中DMと診断されている症例が11例(46%)存在した。DMと診断されている症例(n=30)と診断されていない症例(n=13)間で、Body mass index (BMI), AST値, ALT値, コリンエステラーゼ値, 総蛋白量, アルブミン値, 総コレステロール値, 血色素量, 血小板数, HOMA指数, HbA1c値, インスリン値, 血糖値, 血清TNF $\alpha$ 値, およびHCV-RNA量の比較を行ったところ、HbA1c値(p<0.0001)と血糖値(p<0.0001)のみに有意差を認めた。次に、F1・F2群(n=19)とF3・F4群(n=24)の間で同様の比較を行ったところ、コリンエステラーゼ値, アルブミン値, 血小板数, HOMA指数, インスリン値, および血糖値に有意差を認めたがHbA1c値には有意差を認めなかった。さらに、DMと診断されていない症例に着目し、F1・F2群(n=17)とF3・F4群(n=13)の間で同様の比較を行ったところ、コリンエステラーゼ値, アルブミン値, 血小板数には同様に有意差を認めたが、血糖値とHbA1c値には有意差は認めなかった。HOMA指数はF3・F4群ではF1・F2群に比べて有意に高かった(1.71 $\pm$ 1.00 vs 6.55 $\pm$ 5.66, p=0.0023)(Fig. 1)。どの

ような因子がHOMA指数の上昇に関与しているかを調べるために、BMI, AST値, ALT値, コリンエステラーゼ値, 総蛋白量, アルブミン値, 総コレステロール値, 血色素量, 血小板数, HbA1c値, 血清TNF $\alpha$ 値, およびHCV-RNA量の各因子とHOMA指数との相関係数を算出したところ、DMと診断されていないF1・F2群においてAST値(相関係数=0.713, p=0.0013)および血清TNF $\alpha$ 値(相関係数=0.730, p=0.0008)のみに有意な正の相関関係を認めた(Fig. 2)。F3・F4群ではいずれの因子も有意な相関関係を認めなかった。

#### D. 考察

従来から慢性肝疾患の終末像ともいえる肝硬変症と、糖尿病あるいは耐糖能異常の関係については様々な報告がなされており、肝の線維化が進むことによる糖利用度の低下などが耐糖能異常に大きく関与していると考えられている。これまでに我々が行った、前進的変数増減法によるDM発症に関連する因子の検討でも、性(男であること)と肝硬変症を有することが有意に関与することが分かっている。今回の我々の検討では、肝の線維化が進んでいないF1・F2の慢性C型肝炎患者においてもインスリン抵抗性の軽度の上昇がみられ、さらにそのインスリン抵抗性の上昇には肝細胞障害の1つの指標であるAST値と炎症性サイトカインの1つであるTNF $\alpha$ 値が関与していることが明らかになった。このことは肝の線維化に伴って進行する糖利用度の低下やインスリン抵抗性の上昇という機序以外に、炎症性の肝細胞障害によるインスリン抵抗性の上昇という新しい機序がDM発症に関与している可能性を示唆するものである。慢性B型肝炎患者や他の機序による肝炎症例において今回と同様の検討を行うことによ



り、慢性肝疾患とDMとの関わりはさらに詳しく解析され、HCV感染とDM合併との直接的な因果関係が明らかになると考えられる。

#### E. 結論

肝の線維化が進んでいないF1・F2の糖尿病非合併慢性C型肝炎患者においてもインスリン抵抗性の上昇がみられ、そのような症例においては肝細胞障害の1つの指標であるAST値と炎症性サイトカインの1つであるTNF $\alpha$ 値がインスリン抵抗性の上昇に関与していた。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

当該研究に関するものはなし。

##### 2. 学会発表

当該研究に関するものはなし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。

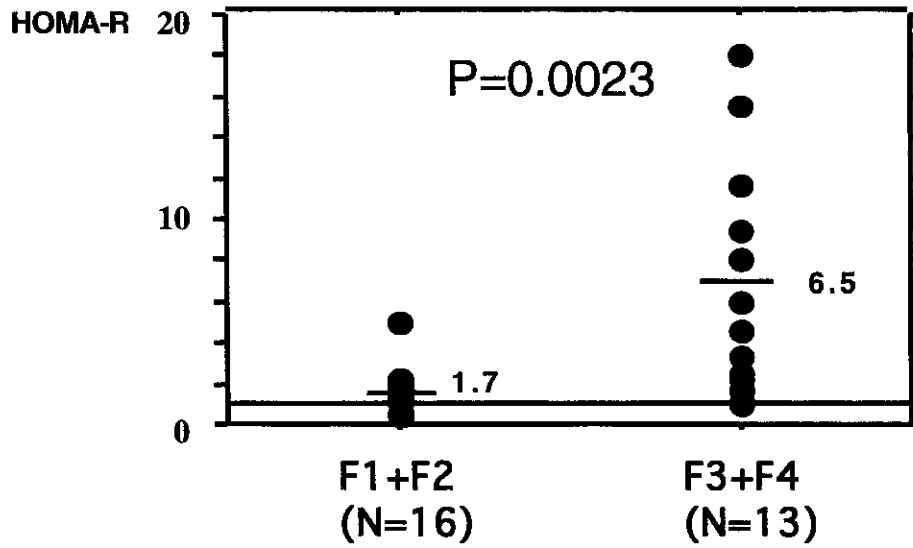


Fig 1. Relationship between HOMA-R and staging of hepatitis among non-diabetic patients

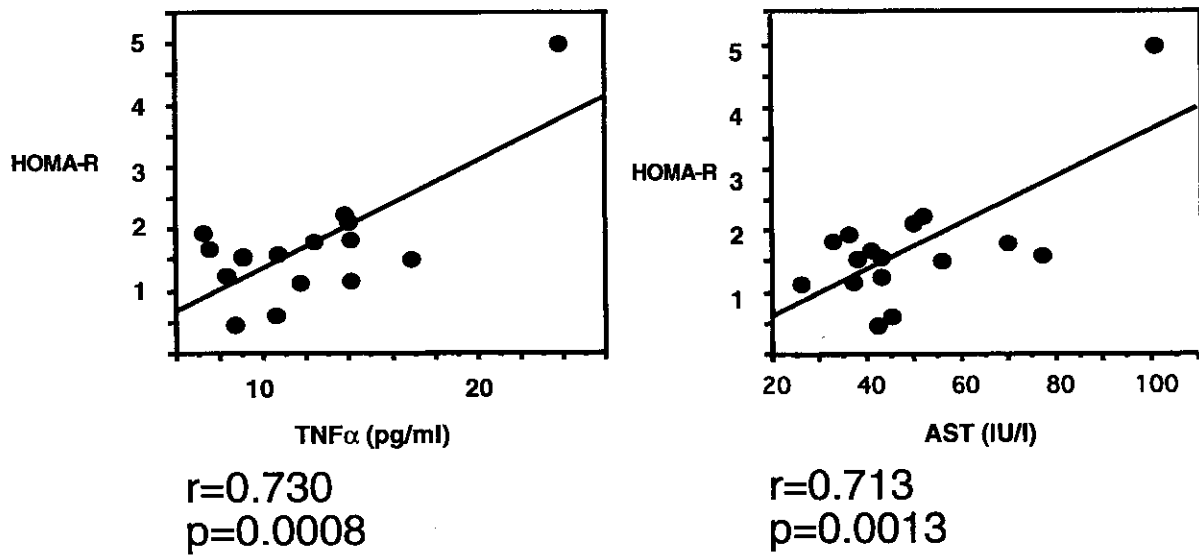


Fig 2. Relationship between HOMA-R and serum TNF  $\alpha$ /AST

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

HCV感染症における口腔扁平苔癬(OLP)とカルジオリピン抗体に関する研究

分担研究者：久留米大学第二内科学 佐田通夫

（共同研究者：久留米大学先端癌治療研究センター・肝癌部門 長尾由実子）

研究要旨：HCV感染症における抗カルジオリピン抗体（anticardiolipin antibodies, aCL）とクリオグロブリンの陽性率を検討した。aCLの有無は、HCV感染の有無により決定づけられるが、クリオグロブリンについてはHCV感染の有無で有意な違いは認められなかった。aCLが陽性となる関連因子は、HCV感染症の有無並びに肝疾患の進行度であり、年齢、性別、口腔扁平苔癬(OLP)の存在の有無には関係なかった。

A. 研究目的

HCV感染症には抗カルジオリピン抗体（anticardiolipin antibodies, aCL）やクリオグロブリンの陽性率が高いことがわかってる。我々は、HCV感染症のあるOLPにaCL並びにクリオグロブリンがどの程度認められるのかという検討を行った。

B. 研究方法

HCV感染のあるOLPグループ（OLP-HCV+ve, group 1）28人、HCV感染のないOLPグループ（OLP-HCV-ve, group 2）22人、OLPのないHCV感染者グループ（non-OLP-HCV+ve, group 3）33人、コントロールグループ（healthy volunteers, group 4）50人で、全133人を対象にした。なお、グループ間の性別並びに平均年齢には有意差はなく一致している。これらの対象者全員にaCL（IgG, IgM）並びにクリオグロブリンをELISA法で測定した。

なお倫理面への配慮として、GCPに即して各患者に研究の目的その他を書面にて示し、それぞれからインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

グループ1（OLP-HCV+ve）、グループ2（OLP-HCV-ve）、グループ3（non-OLP-HCV+ve）、グループ4（コントロール）のaCL陽性率は各々32.1%、18%、36.3%、8%であった。グループ1と3のaCL陽性率は、コントロールグループよりも有意に高率であった（グループ1;  $p = 0.02$  vs コントロールグループ, グループ3;  $p < 0.01$  vs コントロールグループ）。クリオグロブリンについてはグループ間で有意な違いは認められなかった。

D. 考察

以上の結果から、aCLの有無は、HCV感染の有無により決定づけられると思われた。

E. 結論

aCLが陽性となる関連因子は、HCV感染症の

有無並びに肝疾患の進行度に左右され、年齢や性別またOLPの存在の有無には左右されなかった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nagao Y, Tsubone K, Kimura R, et al: High prevalence of anticardiolipin antibodies in patients with HCV-associated oral lichen planus. J Hepatol 2001 (in press)

2) Harada M, Fujisawa Y, Sakisaka S, et al: High prevalence of anticardiolipin antibodies in hepatitis C virus infection: lack of effects on thrombocytopenia and thrombotic complications. J Gastroenterol 35: 272-277, 2000

3) Nagao Y, Sata M, Noguchi S, et al: Detection of hepatitis C virus RNA in oral lichen planus and oral cancer tissues. J Oral Pathol Med 29: 259-266, 2000

4) Nagao Y, Sata M, Masayoshi K, et al: Histopathological and immunohistochemical study of oral lichen planus-associated HCV infection. Eur J Int Med 11: 277-282, 2000

5) Nagao Y, Sata M, Fukuizumi K, et al: High incidence of oral lichen planus in an HCV hyperendemic area. Gastroenterology 119: 882-883, 2000

6) Nagao Y, Seki N, Tamatsukuri S, et al: Detection of hepatitis C virus in saliva before and after scaling of dental calculus. The Journal of The Japanese Association for Infectious Diseases 74: 961-965, 2000

7) 吉澤浩司、中西敏夫、舛田一成, et al: HCV 検診で発見された HCV キャリアを対象とした腹部超音波検診および口腔粘膜疾患検診. 広島

医学 53: 1201-1204, 2000

2. 学会発表

1) 長尾由実子、佐田通夫、亀山忠光, et al:  
口腔扁平苔癬ならびに口腔癌組織からの HCV RNA  
の検出 第54回日本口腔科学会総会  
2000/6/12 東京

2) 長尾由実子、佐田通夫、劉 文憲, et al:  
HCV 高感染地区における口腔扁平苔癬の発生状況  
—前向き研究— 第45回日本口腔外科学会総会  
2000/10/12 千葉

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

覚醒剤濫用に関連した若年者のC型肝炎の流行に関する研究

分担研究者：久留米大学第二内科学 佐田通夫  
（共同研究者：久留米大学第二内科学 権藤和久、神代龍吉）

研究要旨：6人の青少年がC型肝炎に罹患しているのが分かり、その感染ルートを調べたところ、6人は全て友人関係にあり、覚醒剤の回し打ち（静脈内注射）により感染がひろがったことが推定された。HCVの型も6人中4人は同じserogroup 2で一致した。さらにHCVのシークエンス解析して感染ルートの確定が必要であると共に、このような流行例の医学的解析と適切な治療を通じて、青少年の健全な育成のために役割りの一端を担うべきと考えられる。

A. 研究目的

最近発生したC型肝炎の小流行（6例）において感染のルートを明らかにし、インターフェロンによる早期の治療開始の効果を判定する。

B. 研究方法

6例のC型肝炎に対して血清学的なHCVの検索、肝生検による肝組織学的変化、インターフェロンによる治療効果とくに慢性化防止について検討した。

C. 研究結果

患者と検索結果

最初に受診したのは症例1（T.A.）17才、女性。覚醒剤（静注、消毒なし）を開始して約5ヶ月。全身倦怠感で受診し、急性C型肝炎と診断された。入院時のHICVRNAは26KIU/ml。セログループは判定不能。インターフェロン治療を開始して1週間目のHICVRNAは陰性化した。現在も治療継続中。症例2（Y.Y.）は18才男性で、覚醒剤使用歴は約5ヶ月。全身倦怠感で受診。症例1と同じ注射器を使用した。急性C型肝炎と診断された。HICVRNAは0.7KIU/ml。セログループは判定不能。肝生検ではA2F1。インターフェロン治療を開始して4ヶ月後の現在もHICVRNAは陰性で治療継続中。症例3

（K.T.）は20才男性で、約1年前から覚醒剤を使用していた。腹痛を主訴に受診。肝生検ではA2F1、慢性肝炎の診断であった。HICVRNAはセログループ2、310KIU/mlで、インターフェロン投与を開始して1週後のRNAは消失したが、その後うつ症状で治療は現在中断されている。症例4（K.S.）は17才男性で、検診にて肝機能異常を発見された。覚醒剤使用歴は1年未満。HICVRNAはセログループ2、440KIU/ml。症例5（M.M.）は15才ころに初めて覚醒剤を使用。自覚症状はなかったが、刑務所での採血で肝炎が判明したため、出所後医療機関に入院。HICVRNAはセログループ2、380KIU/ml。症例6（K.E.）は16才女性。上記の症

例が肝炎であることを知り、自分で医療機関を受診してHICV抗体陽性（HICVRNA0.5mcq/ml以下）とわかったが、ASTは16IU/l、ALTも11IU/lと肝障害はなかった。覚醒剤使用歴は6ヶ月以内で、症例1（T.A.）と同じ注射器を使用した。6人とも顔見知りであり、全員にシンナー使用歴もある。入れ墨はなかった。

D. 考察

6例は全員顔見知りであり、うち3人は同じ注射器を使って覚醒剤を静注しており、また時間的経過から、6例のC型肝炎には関連性が疑われる。また結果が得られた4例のHICVRNAのセログループが全てグループ2であったこともそれを強く示唆する結果と思われる。但し、症例4は覚醒剤使用歴が2年に近く、この間の人的交流が不明なことや、セログループ判定不能の症例もあり、関連性をいうには慎重でなければならない。HCVのシークエンス解析と系統樹の検討などから、関連を明らかにする必要がある。慢性肝炎例でなくとも、肝炎発症からの期間が短い例では、慢性化を防止するために、急性期の肝炎の推移をみて、インターフェロンによる治療を考慮することが必要である。

E. 結論

注射による薬物濫用は肝炎ウイルスの伝播をきたし、なかでもC型肝炎は初期の症状に乏しく、発見が困難である。医療従事者はこのような流行例の医学的解析と適切な治療を通じて、青少年の健全な育成のために役割りの一端を担うべきと考えられる。

F. 健康危険情報

覚醒剤の回し打ち等の不潔行為はC型肝炎の蔓延の危険がある。C型肝炎は、初期症状に乏しいので症状からの発見が困難で、適切な初期治療ができない場合がおおい。若年者のこのような行為は将来、肝硬変や肝癌の増加につながる。青少年に対し

て、そのような行為の危険性を啓蒙する必要がある。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Shimauchi Y, Tanaka M, Koga K, et al: Clinical characteristics of patients in their 40s with HCV antibody-positive hepatocellular carcinoma. Alcohol Clin Exp Res 24: 64s-67s, 2000

2) Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, et al: Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. Ann Intern Med 132: 517-524, 2000

3) Ide T, Kumashiro R, Toyoda N, et al: Second generation amplicor-HCV monitor assay: clinical features and predictors of the response to interferon. Hepatol Res 18: 230-238, 2000

4) Murashima S, Kumashiro R, Ide T, et al: Effect of interferon treatment on serum 2', 5'-oligoadenylate synthetase levels in hepatitis C-infected patients. J Med Virol 62: 185-190, 2000

5) Tian-Cheng Li, Jing Zhang, Shinzawa H, et al: Empty virus-like particle-based enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to hepatitis E virus. J Med Virol 62: 327-333, 2000

##### 2. 学会発表

1) Ide T, Kumashiro R, Toyoda N, et al: Second generation amplicor HCV monitor assay, clinical features and predictors of the response to interferon. DDW-2000 (American Association for the Study of Liver Diseases) 2000/5/21 San Diego, USA

2) 井出達也、神代龍吉、古賀郁利子, et al: C型慢性肝炎の低ウイルス量例に対する短期およびリバウンドインターフェロン療法の効果 第36回日本肝臓学会総会 2000/6/8 福岡

3) 神代龍吉、井出達也、佐田通夫, et al: C型慢性肝炎に対するインターフェロン $\alpha$ と $\gamma$ 併用時の血中サイトカインの変化 第21回日本炎症学会 2000/7/4 東京

4) 島内義弘、田中正俊、黒松亮子, et al: 若年者(40才台)のHCV抗体陽性肝細胞癌の臨床的特徴 第2回九州肝癌研究会 2000/9/30 福岡

5) 村島史朗、神代龍吉、井出達也, et al: 生化学的著効例(Biochemical Responder)におけるQuasispeciesとウイルス量の経時的变化 DDW-Japan(第4回日本肝臓学会大会) 2000/10/25 神戸

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし

2. 実用新案登録: なし

3. その他: なし

表1. 急性C型肝炎小流行の患者背景

症例	年齢、性	発症または発見日	覚醒剤使用期間	臨床症状	備考	
1	T.A.	17才、女性	2000.8.5	6ヶ月以内	倦怠感	
2	Y.Y.	18才、男性	2000.8.10	6ヶ月以内	倦怠感	T.A.と同じ注射器
3	K.T.	20才、男性	2000.8.31	12ヶ月以内	腹痛	
4	K.S.	17才、男性	2000.10.12	12ヶ月以内	なし(検診で異常)	
5	M.M.	17才、男性	2000.12.6	24ヶ月以内	なし(検診で異常)	
6	K.E.	16才、女性	2001.2.7	6ヶ月以内	なし(自己受診で異常)	T.A.と同じ注射器

表2. 急性C型肝炎患者の入院時検査とインターフェロン効果

症例	肝生検	ウイルス量	Serogroup	臨床診断	IFN効果	
1	T.A.	26KIU/ml	判定不能	急性肝炎	1週後消失、継続中	
2	Y.Y.	A2F1	0.7KIU/ml	判定不能	急性肝炎	4ヶ月後消失のまま
3	K.T.	A2F1	310KIU/ml	2	慢性肝炎	1週後消失、うつ症状で中断
4	K.S.		440KIU/ml	2	慢性肝炎	
5	M.M.		380KIU/ml	2	慢性肝炎	
6	K.E.		<0.5Meq/ml	2	AST16 IU, ALT11 IU	

## 新しい HCV コア抗原測定系の開発と応用

分担研究者 清澤研道 信州大学医学部第二内科教授  
共同研究者 田中栄司 信州大学医学部第二内科講師

**研究要旨：**HCV ウイルス血症の定性・定量的測定は C 型肝炎の診断、インターフェロン治療効果の予測や効果判定、病態の解明に有用である。今回、高感度かつ定量性に優れた第二世代の HCV コア抗原測定系を開発し、その臨床的有用性を検討した。HCV コア抗原測定系の感度は 97%、特異性は 100%であり、PCR 法を用いた AMPLICOR 定性法に比較しやや優れていた。本 HCV コア抗原量と HCV RNA 量（AMPLICOR 定量法）との間には有意の正の相関があり、定量範囲も 15~100,000 fmol/L と広範囲であった。臨床的には C 型急性および慢性肝炎の診断およびインターフェロン治療の効果予測や抗ウイルス効果のモニターに有用であった。本 HCV コア抗原測定に必要な血清量は 100  $\mu$ l と微量であり、さらに簡便で安価であることより、本 HCV コア抗原測定系は臨床的に極めて有用と考えられる。

### A. 研究目的

HCV ウイルス血症の定性・定量的測定は C 型肝炎の診断、インターフェロン治療効果の予測や効果判定、病態の解明に有用である。現在、数々のウイルス定量法が開発され臨床で使用されている。今回、感度が PCR を用いた方法に匹敵する第二世代の HCV コア抗原測定系を開発し、その臨床的有用性を検討したので報告する。

### B. 研究方法

対象 1 は、C 型慢性肝炎 75 例と非ウイルス性肝疾患・健常者 132 例。対象 2 は、検診等で HCV 抗体陽性を指摘された 167 例。対象 3 は、インターフェロン  $\alpha$  900 万単位を 2 週連続投後、週 3 回で 22 週間投与された C 型慢性肝炎 48 例（完全著効 14 例、非完全著効 34 例）。対象 4 は、C 型急性肝炎の 17 例。本研究に当たり、血清の採取、保存、測定に関しては患者の同意を得た。また、データの解析やまとめに関しては患者のプライバシーに十分配慮した。

測定方法のフローチャートを図 1 に示した。血清検体量は 100 $\mu$ l であり、これに前処理液 50 $\mu$ l を加えインキュベートする。次に、前処理した検体 150 $\mu$ l から 100 $\mu$ l を取り、コア抗体を固相したマイクロプレー

トに加え、サンドイッチ EIA の操作を行う。最終的に、コア抗原量は化学発光値から検量線を用いて判定する。

血清中 HCV RNA の検出は、nested RT-PCR 法と AMPLICOR 定性法（第一世代）で行い、定量は AMPLICOR 定量法（第一世代）で行った。

血清検体の使用に際しては各患者より文書による同意を得た。

### C. 研究結果

C 型慢性肝炎 75 例でのコア抗原陽性は 97%と極めて高率であった。非ウイルス性肝疾患と健常者 132 例での陽性はなく、特異性も優れていた。

検診で HCV 抗体陽性を指摘された 167 例を対象として、nested RT-PCR 法、AMPLICOR 定性法（第一世代）、コア抗原法の三法でウイルス血症の検出感度を検討した（図 2）。167 例中いずれかの方法でウイルス血症が陽性なのは 129 例（77%）であった。

HCV RNA 量とコア抗原量との相関を図 3 に示した。両者の間に有意で正の相関があり、さらに、コア抗原測定系は 15-数万 fmol/L までの広い定量域を持っていた。

C 型慢性肝炎インターフェロン治療例 48



例について、治療効果の予測およびモニターリングにおける有用性を検討した。治療開始前のコア抗原量は、完全著効例（中央値 209、範囲 31-5978 fmol/L）は非完全著効例（中央値 2352、範囲 62-43062 fmol/L）に比較して有意に低い傾向がみられた。（ $P < 0.002$ ）。図 4 はインターフェロン治療前、治療中および治療後のコア抗原陽性率を完全著効例と非完全著効例で比較したものである。治療開始 4 週目と終了時の陽性率は完全著効例で有意に低率であった。さらに、治療終了後 24 週では、完全著効例では全例陰性、非完全著効例では全例陽性であった。

C 型急性肝炎の 17 例の初診時の血清を用いた検討では、HCV 抗体陽性率が 69%（11/17）、nested RT-PCR 法による HCV RNA 陽性率が 94%（16/17）、HCV コア抗原陽性率が 94%（16/17）であり、コア抗原は PCR 法と同じ陽性率を示した。コア抗原陰性の 1 例は HCV RNA 陰性で HCV 抗体陽性であり、この症例ではウイルスが比較的早期に排除されたものと考えられる。図 5 は急性肝炎発症前より経過観察可能であった C 型輸血後肝炎の 1 例である。コア抗原は急性肝炎発症以前より陽性であり、その量は HCV RNA 量とほぼ平行して推移した。

#### D. 考案

第二世代コア抗原測定系の HCV ウイルス血症検出感度は、nested RT-PCR 法に比較しやや劣るものの 97%と高率であった。また、AMPLICOR 定性法と比較ではコア抗原測定系がやや優れており、臨床応用可能と考えられた。定量性に関しては HCV RNA 量と有意の相関があり、コア蛋白量はウイルス量を反映していると考えられた。さらに定量域も広く、優れた定量法である。

インターフェロン治療の完全著効例と非完全著効例の比較では、治療前コア蛋白量は有意に前者で低く、治療効果の予測に有用と考えられた。さらに、治療中と治療終

了後のコア抗原陽性率は両群間で有意の差があり、第二世代コア抗原測定系は治療効果のモニターにも有用と考えられた。

C 型急性肝炎では HCV 抗体が遅れて陽性となるため早期診断にはウイルス血症の証明が必要である。C 型急性肝炎 17 例の初診時の血清を用いた検討では、コア抗原は 1 例を除き全例陽性であった。コア抗原陰性の 1 例は HCV RNA 陰性で HCV 抗体陽性であり、この症例ではウイルスが比較的早期に排除されたものと考えられる。このように、第二世代コア抗原測定系は C 型急性肝炎の早期診断にも有用であると考えられる。

#### E. 結論

新しく開発された第二世代 HCV コア抗原測定系は基本的に抗原抗体反応の測定系であり、遺伝子学的手法を用いた測定系に比較し安価で簡便である。さらに、感度、特異性、定量性に優れている。臨床的には C 型急性および慢性肝炎の診断およびインターフェロン治療の効果予測や抗ウイルス効果のモニターに有用であった。以上より、本 HCV コア抗原測定は C 型肝炎の臨床上極めて有用と考えられる。

#### F. 研究発表

1. Tanaka T, Lau JYN, Mizokami M, et al. Simple fluorescent enzyme immunoassay for detection and quantification of hepatitis C viremia. *J Hepatol* 1995; 23: 742-745.
2. Kashiwakuma T, Hasegawa A, Kajita T, et al. Detection of hepatitis C virus specific core protein in serum of patients by a sensitive fluorescence enzyme immunoassay (FEIA). *J Immunol Method* 1996; 190: 79-89.
3. Tanaka E, Kiyosawa K, Matsumoto A, et al. Serum levels of hepatitis C virus core protein in patients with chronic hepatitis C treated with interferon Alfa. *Hepatology* 1996; 23: 1330-1333.
4. Aoyagi K, Ohue C, Iida K, et al. Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1802-1808.
5. Tanaka E, Ohue C, Aoyagi K, et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA. *Hepatology* 2000; 32: 388-393.

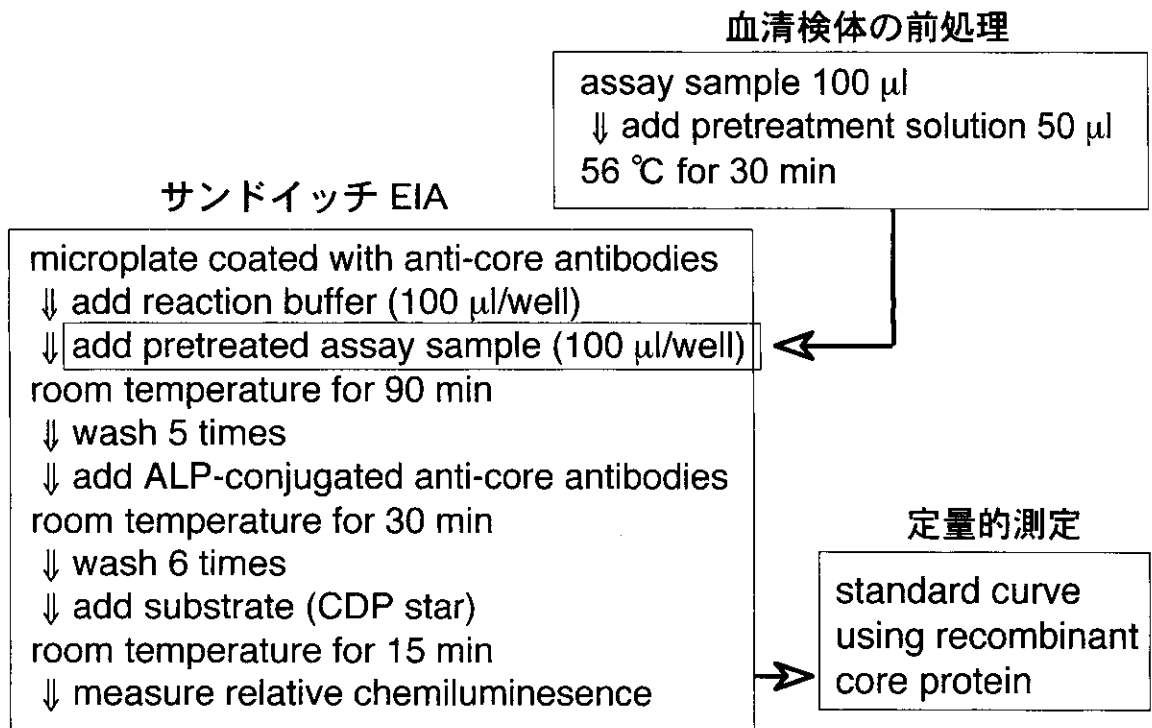
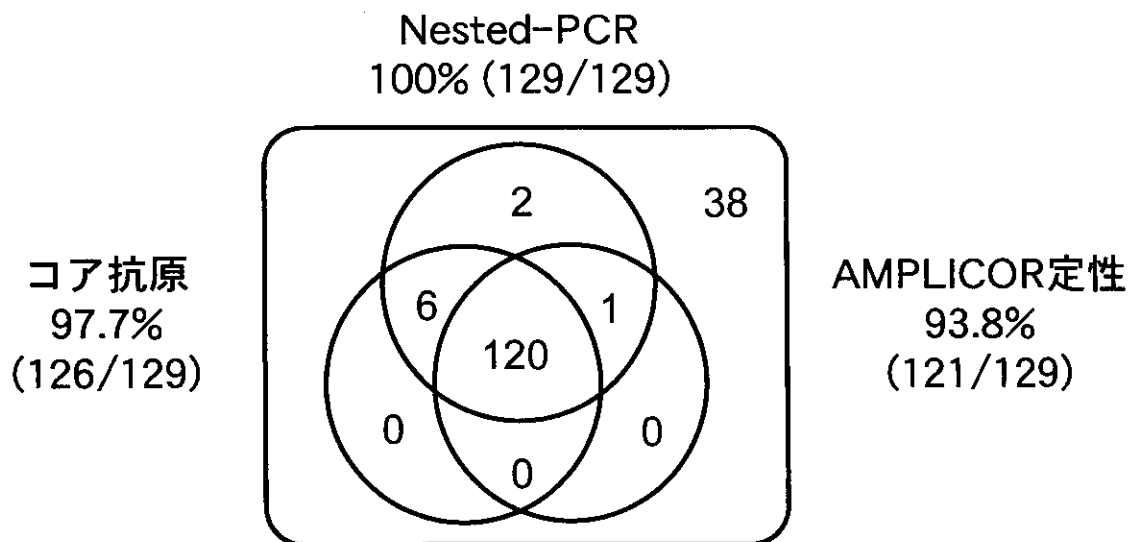


図1. HCVコア抗原測定の実際



総数 = 167、ウイルス血症陽性 = 129

図2. HCV抗体陽性者（検診）でのウイルス血症の検出

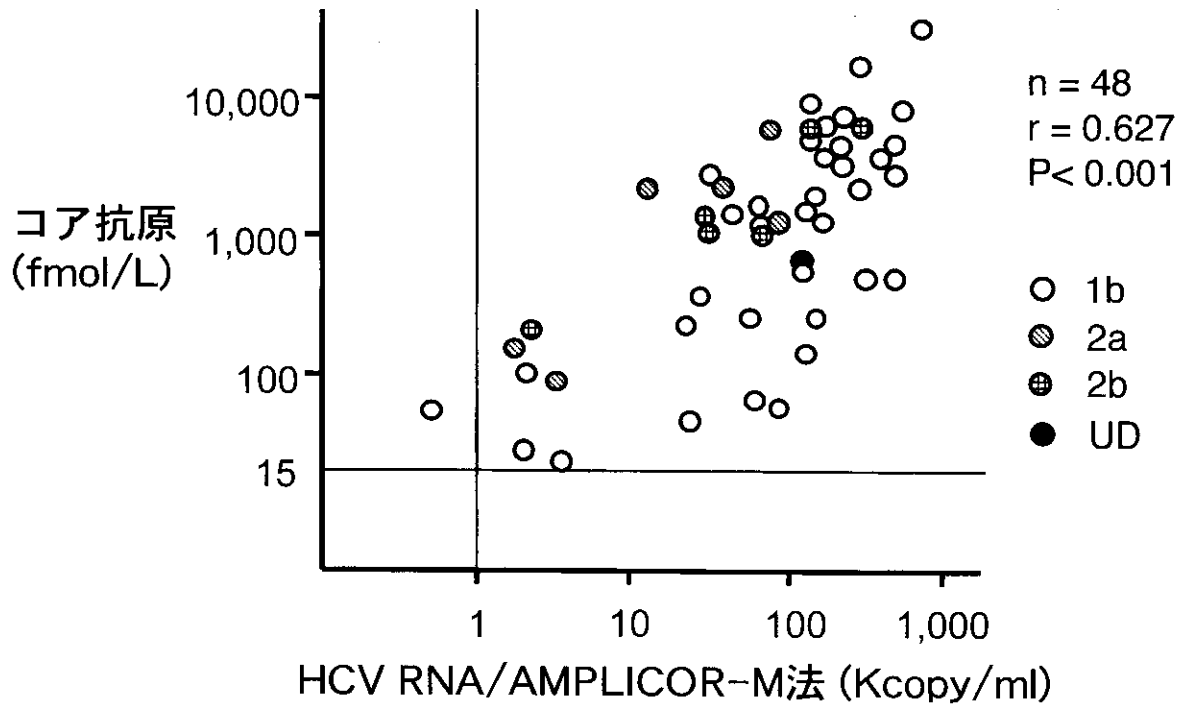
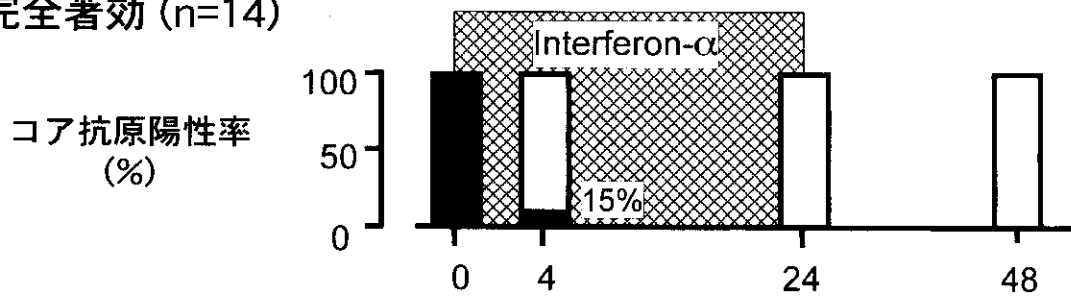


図3. HCVコア抗原量とHCV RNA量の相関

完全著効 (n=14)



非完全著効 (n=14)

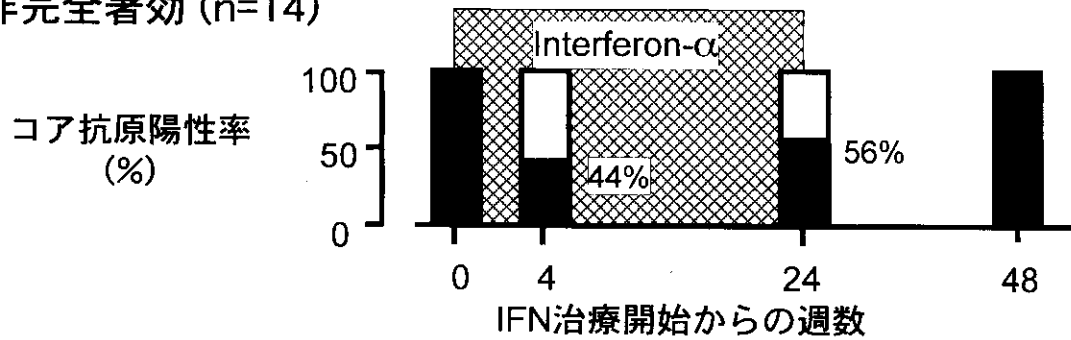


図4. C型慢性肝炎IFN治療でのHCVコア抗原の推移

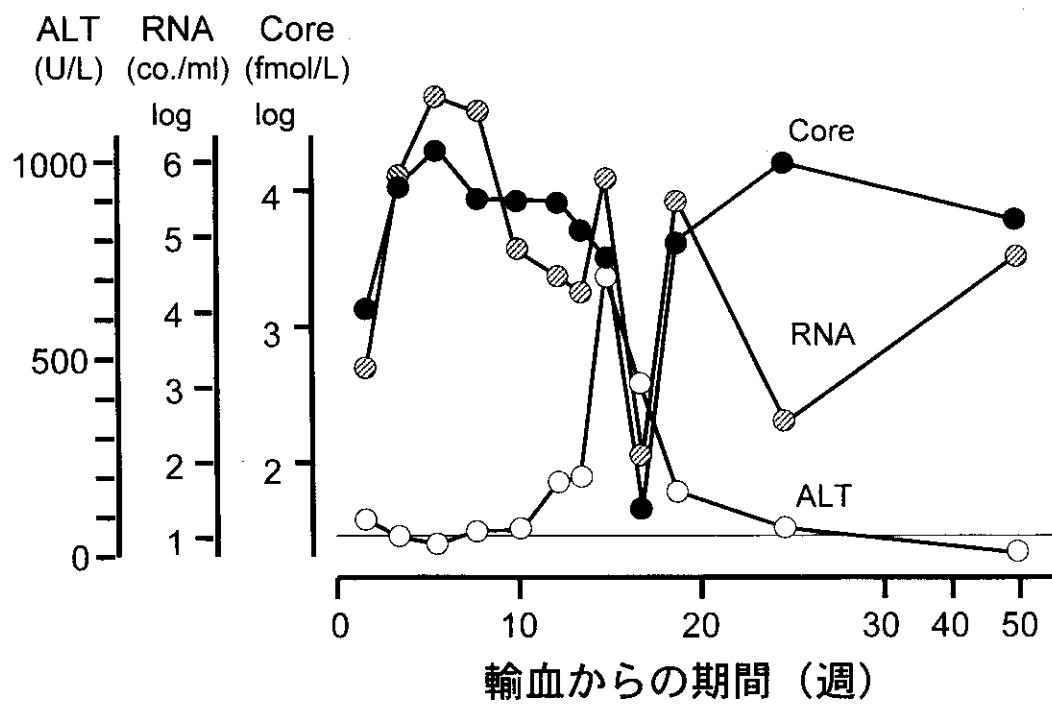


図5. 輸血後C型肝炎例でのHCV RNAとコア抗原量の推移