

- 量的解析と治療効果の関連. 第 27 回日本バイオレオロジー学会年会 (東京).
- 8). 成田高三郎、中野聖士、住江博明、今村甲彦、吉貝浩史、峯苔智明、酒井輝文、平井賢治、佐田通夫. HCV キャリアの肝細胞癌 (HCC) に Hodgikin lymphoma を合併した一例. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 9). 宗篤史、権藤和久、小野哲二郎、都田憲司、里雅博、今村賢一郎、佐田通夫. C 型肝硬変に合併した胃悪性リンパ腫の一例. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 10). 古賀裕之、石井邦英、田口順、神代龍吉、安倍弘彦、佐田通夫. インターフェロンリバピリン併用療法により膜性増殖性糸球体腎炎が改善した慢性 C 型肝炎の 1 例. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 11). 長尾由実子、佐田通夫. 扁平苔癬とインターフェロン治療 — 組織学的長期予後とリスク症例 — . 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 12). 権藤和久、小野哲二郎、都田憲司、里雅博、今村賢一郎、佐田通夫. インターフェロン・リバピリン併用療法中に毛孔性紅色粧糠疹を発症した C 型肝炎の 1 例. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 13). 井上欣哉、石井邦英、白土睦人、有松秀敏、井上欣哉、實藤俊昭、田口順、梶原雅彦、安倍弘彦、佐田通夫. インターフェロン・リバピリン併用療法中に急性膵炎を発症した C 型肝炎の 4 例. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 14). 村島史朗、田中正俊、中野優子、服巻誠、重松聡江、由谷茂、中島裕、原田和徳、佐田通夫. 血清 AFP 高値の C 型肝炎に対するインターフェロン治療は AFP 値を有意に減少させる. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 15). 井出達也、神代龍吉、古賀郁利子、有永照子、緒方啓、久持顕子、田中一雄、桑原礼一郎、佐田通夫. 当科における 70 才以上の C 型肝炎疾患に対する IFN 治療例の検討. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 16). 石井邦英、白土睦人、有松秀敏、井上欣哉、實藤俊昭、田口順、梶原雅彦、安倍弘彦、佐田通夫. 高齢 C 型肝炎に対するインターフェロン療法の効果と問題点. 第 83 回日本消化器病学会九州支部例会 (久留米).
- 17). 桑原礼一郎、有永照子、福泉公仁隆、森田恭代、村島史朗、緒方啓、田中一雄、久持顕子、古賀郁利子、井出達也、神代龍吉、佐田通夫. Lamivudine 耐性株出現後の肝機能悪化に対する Adefovir dipivoxil の効果. 第 8 回九州肝不全研究会 (福岡).
- 18). 神代龍吉、井出達也、長尾由実子、佐田通夫. HCV Hyperendemic area からみた肝癌撲滅戦略. 第 63 回日本癌学会学術総会 (福岡).
- 19). 井出達也、田中一雄、日野照子、古賀郁利子、久持顕子、緒方啓、桑原礼一郎、

- 神代龍吉、佐田通夫. C 型慢性肝炎に対する IFN α 2b + ribavirin 併用療法の臨床的検討. DDW-Japan (第 46 回日本消化器病学会大会) (福岡).
- 20). 村島史朗、田中正俊、中野優子、服巻 誠、重松聡江、由谷茂、中島裕、原田和徳、佐田通夫. AFP が高値を示す C 型慢性肝炎におけるインターフェロン投与による AFP 値の減少. DDW-Japan (第 8 回日本肝臓学会大会) (福岡).
- 21). 関律子、岡村孝、田中一雄、井出達也、日野照子、久持顕子、古賀郁利子、古賀裕之、緒方啓、桑原礼一郎、神代龍吉、丸山徹、藤野武彦、佐田通夫. C 型慢性肝疾患患者における赤血球変形能の定量的解析. DDW-Japan (第 8 回日本肝臓学会大会) (福岡).
- 22). 桑原礼一郎、神代龍吉、佐田通夫. ラミブジン開始時の肝予備能低下例は耐性株出現後に増悪にする. DDW-Japan (第 8 回日本肝臓学会大会、第 46 回日本消化器病学会大会 合同) (福岡).
- 23). 白土睦人、石井邦英、田口 順、有松秀敏、井上欣哉、實藤俊昭、梶原雅彦、安倍弘彦、佐田通夫. C 型慢性肝炎 IFN 著効 5 年後に発症した急性 E 型肝炎の 1 症例. 第 84 回日本消化器病学会九州支部例会、第 78 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会 合同 (福岡).
- 24). 和田有希、永松洋明、石田祐介、光武良崇、向笠道太、佐谷学、島松秀一、角野通弘、平城守、吉田博、佐田通夫. インターフェロン著効後 13 年で肝細胞癌を発症した Dubin-Johnson 症候群合併慢性 C 型肝炎の 1 例. 第 84 回日本消化器病学会九州支部例会、第 78 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会 合同 (福岡).
- 25). 古賀裕之、井出達也、緒方 啓、桑原礼一郎、田中一雄、久持顕子、日野照子、古賀郁利子、神代龍吉、佐田通夫. genotype 1b, C 型慢性肝炎の IFN α -2b + ribavirin 併用療法における HCV viral kinetics と治療反応性の検討. 第 84 回日本消化器病学会九州支部例会、第 78 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会 合同 (福岡).
- 26). Kuwahara R, Kumashiro R, Koga Y, Murashima S, Arinaga T, Hisamochi A, Tanaka K, Ogata K, Koga H, Ide T, Sata M. Correlation between mutation patterns in HBV polymerase region and the severity of breakthrough hepatitis during lamivudine therapy. 39th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (Berlin, Germany).
- 27). Kawaguchi T, Nagao Y, Yoshida T, Tanaka K, Ide T, Harada M, Kumashiro R, Sata M. Causal relationship between hepatitis C virus infection and the development of type 2 diabetes mellitus in a hepatitis C virus hyperendemic area. 55th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (Boston, USA).
- 28). Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M,

- Hisamoto T, Nagao Y, Ide T, Taniguchi E, Kumemura H, Hanada S, Maeyama M, Baba S, Koga H, Kumashiro R, Ueno T, Ogata H, Yoshimura A, Sata M. Hepatitis C core down-regulates insulin receptor substrate (IRS) 1 and IRS2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3 in HEPG2 cells. 55th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (Boston, USA).
- 29). Seki R, Okamura T, Ide T, Maruyama T, Fujino T, Uyesaka N, Sata M. Eicosapentaenoic acid (EPA) attenuates the anemia due to ribavirin/interferon a treatment in patients with chronic hepatitis C. The American Society of Hematology (46th Annual Meeting and Exposition) (San Diego, USA).
- 30). Seki R, Okamura T, Ide T, Sata M, Maruyama T, Fujino T, Uyesaka N. Quantitative studies on the filterability of erythrocytes from patients with chronic liver diseases. 第 27 回日本バイオレオロジー学会 (東京).

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表
2004年度の論文発表リスト

書籍

	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
1	Sata M.	Lamivudine therapy of hepatitis B in Japan.	Omata M, Okita K, eds	Therapy for viral hepatitis and prevention of hepatocellular carcinoma.	Springer	東京	2004	p. 32-3

雑誌

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
2	長尾山実子, 千葉逸朗, 花田通夫.	歯学部並びに歯科衛生工学校の学生を対象に実施した B 型及び C 型肝炎に対する意識調査.	感染症学雑誌	78	551-565	2001
3	Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M, Hisamoto T, Nagao Y, Ide T, Taniguchi E, Kumemura H, Harada S, Maeyama M, Baba S, Koga H, Kumashiro R, Ueno T, Ogata H, Yoshimura A, and Sata M.	Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3.	Am J Pathol	165	1499-1508	2001
4	Ito K, Tanaka Y, Orito E, Hirashima N, Ide T, Hino T, Kumashiro R, Kato A, Nukaya H, Sakakibara K, Mukaide M, Ito H, Sata M, Ueda R, Mizokami M.	Predicting relapse after cessation of lamivudine monotherapy for chronic hepatitis B virus infection.	Clin Infect Dis	38	190-195	2001
5	Yoshida H, Tateishi R, Arakawa Y, Sata M, Fujiyama S, Nishiguchi S, Ishibashi H, Yamada G, Yokosuka O, Shiratori Y, Omata M.	Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C.	Gut	53	125-130	2001
6	Nagao Y, Tanaka K, Kobayashi K, Kumashiro R, Sata M.	Analysis of approach to therapy for chronic liver disease in an HCV hyperendemic area of Japan.	Hepatol Res	28	30-35	2001
7	Kato H, Sugauchi F, Ozasa A, Kato T, Tanaka Y, Sakugawa H, Sata M, Hino K, Onji M, Okanooue T, Tanaka E, Kawata S, Suzuki K, Hige S, Ohno T, Orito E, Ueda R, Mizokami M.	Hepatitis B virus genotype G is an extremely rare genotype in Japan.	Hepatol Res	30	199-203	2001
8	Nagao Y, Tanaka K, Kobayashi K, Kumashiro R, Sata M.	A cohort study of chronic liver disease in an HCV hyperendemic area of Japan: a prospective analysis for 12 years.	Int J Mol Med	13	257-265	2001
9	Yano M, Hayashi H, Yoshida K, Kohgo Y, Saito H, Niitsu Y, Kato J, Iino S, Yotsuyanagi H, Kobayashi Y, Kawamura K, Kakumu S, Kaito M, Ikoma J, Wakusawa S, Okanooue T, Sumida Y, Kimura F, Kajiwara E, Sata M, Ogata K.	A significant reduction in serum alanine aminotransferase levels after 3-month iron reduction therapy for chronic hepatitis C: a multicenter, prospective, randomized, controlled trial in Japan.	J Gastroenterol	39	570-571	2001
10	Tanaka Y, Yeo AE, Orito E, Ito K, Hirashima N, Ide T, Sata M, Mizokami M.	Prognostic indicators of breakthrough hepatitis during lamivudine monotherapy for chronic hepatitis B virus infection.	J Gastroenterol	39	769-775	2001
11	Kuwahara R, Kumashiro R, Murashima S, Ogata K, Tanaka K, Hisamochi A, Hino T, Ide T, Tanaka E, Koga Y, and Sata M.	Genetic heterogeneity of the precore and the core promoter region of genotype C hepatitis B virus during lamivudine therapy.	J Med Virol	72	26-31	2001

12	Takao Y, Yamada A, Yutani S, Sata M, and Itoh K.	Antibody reactive to a hepatitis C virus (HCV)-derived peptide capable of inducing HLA-A2 restricted cytotoxic T lymphocytes is detectable in a majority of HCV-infected individuals without HLA-A2 restriction.	Microbiol Immunol	48	507-517	2001
13	Yoshida T, Ogata H, Kamio M, Joo A, Shiraishi H, Tokunaga Y, Sata M, Nagai H, and Yoshimura A.	SOCS1 is a suppressor of liver fibrosis and hepatitis-induced carcinogenesis.	J Exp Med	199	1701-1707	2001
14	Kuwahara R, Kumashiro R, Inoue H, Tanabe R, Tanaka E, Hino T, Ide T, Koga Y, Sata M.	Adefovir Dipivoxil as a treatment for hepatic failure caused by lamivudine-resistant HBV strains.	Dig Dis Sci	49	300-303	2001
15	Nagao Y, Sata M.	Hepatitis C virus and lichen planus	J Gastroenterol Hepatol	19	1101-1113	2001
16	Nagao Y, Kawaguchi T, Ide T, Kumashiro R, Sata M	Exacerbation of oral erosive lichen planus by combination of interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C.	Int J Mol Med	15	237-241	2005

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野） 分担研究報告書

HBV DNA と HBV コア関連抗原量測定による HBe 抗原セロコンバージョンの解析

分担研究者 田中榮司 独立行政法人 信州大学医学部消化器内科 助教授

研究要旨：HBe 抗原の SC 後、HBV DNA が陰性化する症例と陽性で持続する症例での質的差について検討した。B 型慢性肝炎の SC 症例 24 例を対象とした。SC の前後で HBV DNA 量と HBV コア関連抗原量を経時的に測定することにより、SC には二つの機序があることが明らかとなった。すなわち、HBV DNA が陰性化する群ではウイルス増殖が低下した結果、HBe 抗原の産生が低下し SC に至る。これに対し、HBV DNA が陽性で持続する群ではウイルス増殖は低下せず、この代わりに Pre-C や CP 変異が HBe 抗原の産生を低下させ SC に至る。SC の機序は一様ではなく、これらの解析は B 型肝炎の病態を理解する上で重要と思われる。

共同研究者

清澤研道 信州大学医学部消化器内科 教授
松本晶博 信州大学医学部消化器内科 助手

A. 研究目的

B 型慢性肝炎では、HBe 抗原のセロコンバージョン (SC) 後、一般に血中 HBV DNA は陰性化し肝炎は鎮静化する。しかし、一部の症例では HBV DNA は陽性で持続し、そのような症例では陰性化例に比較して予後が悪いことが知られている。今回、SC 後に HBV DNA が陰性化する症例と陽性で持続する症例のウイルス学的な差について、HBV DNA のみならず HBV コア関連 (HBVcr) 抗原量を測定して解析した。

B. 研究方法

経過中に SC し、前後 3 年間の保存血清が使用可能であった B 型慢性肝炎 24 例を対象とした。内訳は男性 17、女性 7 で年齢の中央値は 39 歳であった。肝硬変、肝細胞癌を合併する症例は除外した。

血中 HBV DNA 量は PCR 法 (2.6-7.6 log copy/ml) で測定し、上限を超える場合は正常血清で 10 または 100 倍に希釈して再測定を行った。血中 HBVcr 抗原量は我々のグループで開発した CLEIA 法にて測定した (3-log U/ml)。

HBe 抗原産生量を低下させるプレコア (Pre-C) とコアプロモーター (CP) 変異はゲノムサイエンス社製キットを使用して判定した。

(倫理面への配慮)

血清検体の採取、保存、ウイルス肝炎研究での使用、個人情報の守秘に関しては十分な説明を行い、書面による同意を得た。

C. 研究結果

対象 24 例中、SC 後 HBV DNA が陰性化したのは 6 例 (DNA-群)、陽性であったのは 18 例 (DNA+群) であった。両群間での比較では、年齢中央値 (37 vs. 39 歳)、男女比 (4:2 vs. 13:5)、IFN 治療歴 (50% vs. 50%) に差はなかった。遺伝子型は全例 C であった。

図 1 に HBV DNA 量と HBVcr 抗原量の推移を 2 群

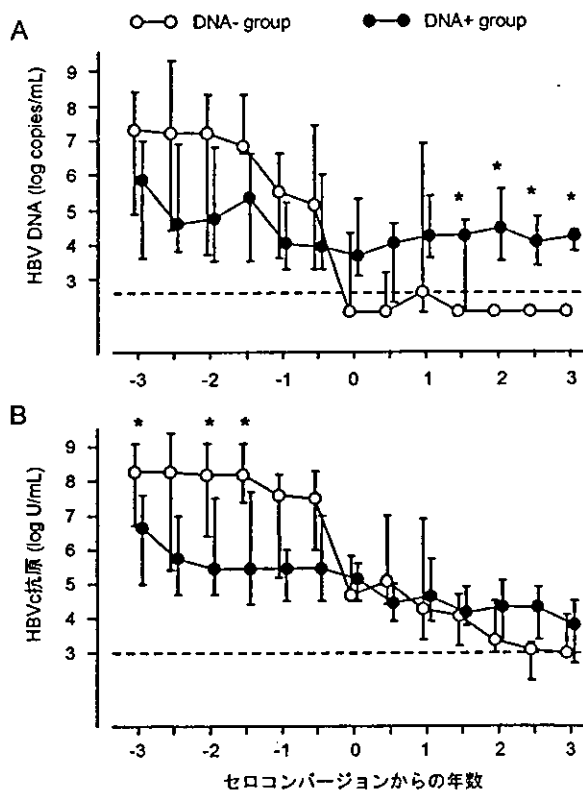


図1 HBV DNA量とHBVcr抗原量の推移の比較：DNA-群 vs. DNA+群

間で比較した。SC 前の HBV DNA 量は両群間で差はなかった。DNA-群では SC 前後に HBV DNA 量は速やかに低下し検出感度以下したのに対し、DNA+群での低下は軽微であり、SC 後は DNA+群で有意に高値であった。HBVcr 抗原は、SC 前では DNA-群は DNA+群に比較し有意に高値であった。DNA-群の HBVcr 抗原量は SC 前後で速やかに低下したのに対し、DNA+群では緩徐な低下であった。この結果、SC 後

では両群間で差はみられなかった。

図2にPre-CおよびCP変異の出現率の比較を示した。DNA+群ではPre-C変異の出現率は徐々に増加したのに対しDNA-群では全く出現せず、SC後2と3年後には有意の差がみられた。CP変異は、DNA-群ではSCの3年前からすでに高率であり、DNA-群と比較して有意差がみられた。この傾向はSC後2年まで同様に持続した。

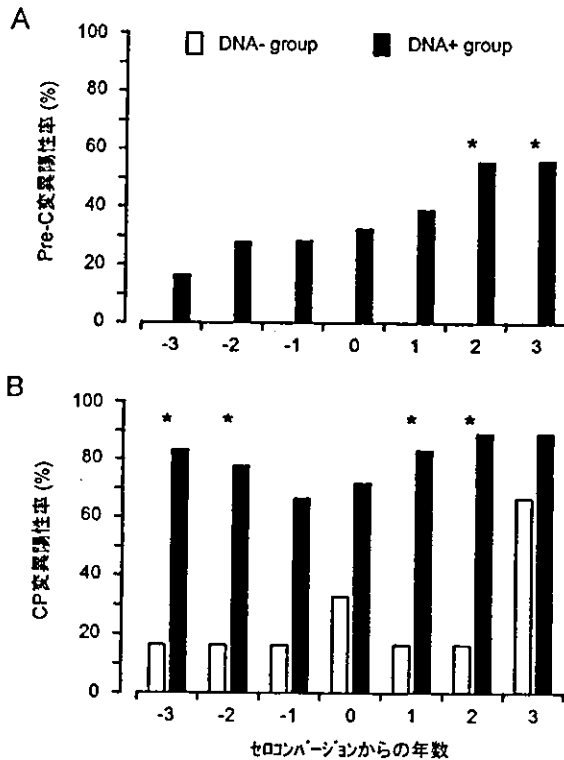


図2 Pre-C変異とCP変異陽性率の比較：DNA-群 vs. DNA+群

D. 考察

HBe抗原のSC後、HBV DNAが陰性化する症例と陽性で持続する症例ではその後の肝硬変への進展率や肝癌合併率が異なることが報告されている。このため、今回の検討では、この2群間でSCに質的な差がないか検討した。

HBe抗原はHBVのコア遺伝子でコードされる

HBe抗原とHBe抗原を同時に測定する系である。しかし、血中ではHBe抗原はHBe抗原に比較して明らかに大量に存在しており、HBe抗原量は主にHBe抗原量を反映していると考えられる。

DNA-群とDNA+群は共にSCに際してHBe抗原量は低値となっており、SCに際してHBe抗原量が低値となるのは普遍的な現象と考えられる。DNA-群ではSCに際してHBV DNA量が十分低下していることから、HBV増殖低下の結果HBe抗原の産生が低下しSCに至ったと考えられる。これに対し、DNA+群ではHBVの増殖は十分には低下しておらずHBe抗原量の低下をこれに求めることはできない。DNA+群ではHBV増殖が保たれているものの、Pre-CやCP変異が高率であり、これらの変異がHBe抗原の産生低下に大きく寄与したと考えられる。

以上のように、SC後HBV DNAが陰性化する症例と陽性で持続する症例ではSCのウイルス学的機序が異なることが示唆された。HBe抗原のSCはB型肝炎患者にとっては重要なイベントであり、これまで同一であると考えられていたものに質的差があることが明らかとなった。また、HBe抗原量の測定は、このような病態解析に有用であることが示唆された。

E. 結論

HBe抗原のSCには、HBV増殖の低下伴うものとPre-CやCP変異の出現に伴うものの二つの異なる機序があることが明らかになった。また、HBe抗原量の測定は、このような病態解析に有用であることが示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 学会発表

三澤倫子、松本晶博、田中榮司、他：HBe抗原セロコンバージョン後もB型肝炎が沈静化しない症例のウイルス学的特徴 第8回日本肝臓学会大会（福岡）。

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

業績

1. Muto H, Tanaka E, Matsumoto A, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Nagano Interferon Treatment Research Group. Type of human leukocyte antigen and changes in HCV core antigen concentration for predicting efficacy of Interferon- α treatment in patients with chronic hepatitis C: Analysis by a prospective study. **J Gastroenterol** 39: 674-680, 2004
2. Tanaka N, Ishida F, Tanaka E. Ribavirin-induced pure red-cell aplasia during treatment of chronic hepatitis C. **New Engl J Med** 350:1264-1265, 2004
3. Kato N, Sugauchi F, Ozasa A, Kato T, Tanaka Y, Sakugawa H, Sata M, Hino K, Onji M, Okanoue T, Tanaka E, Kawata S, Suzuki K, Hige S, Ohno T, Orito E, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotype G is an extremely rare genotype in Japan. **Hepatol Res** 30:199-203,2004
4. Imai Y, Kasahara A, Tanaka H, Okanoue T, Hiramatsu N, Tsubouchi H, Yoshioka K, Kawata S, Tanaka E, Hino K, Hayashi K, Tamura S, Itho Y, Sasaki Y, Kiyosawa K, Kakumu S, Okita K, Hayashi N. Interferon therapy for aged patients with chronic hepatitis C: improved survival in patients exhibiting a biochemical response. **J Gastroenterol** 39:1069-1077, 2004
5. Kasahara A, Tanaka H, Okanoue T, Imai Y, Tsubouchi H, Yoshioka K, Kawata S, Tanaka E, Hino K, Hayashi K, Tamura S, Itho Y, Kiyosawa K, Kakumu S, Okita K, Hayashi N. Interferon treatment improves survival in chronic hepatitis C patients showing biochemical as well as virological responses by preventing liver-related death. **J Viral Hepatitis** 11:148-156, 2004
6. Kiyosawa K, Umemura T, Ichijo T, Matsumoto A, Yoshizawa K, Gad A, Tanaka E. Hepatocellular carcinoma: recent trends in Japan. **Gastroenterology** 127:S17-S26, 2004

「感染病態班研究」

研究課題名：HBV キャリアーのステージ分類とその経時的推移

分担研究者：加藤道夫 国立病院機構大阪医療センター 消化器科

要旨：HBV キャリアーには様々な病態が存在するが、明瞭なステージ分類が存在せず、客観的な病態把握が困難である。そこで HBV マーカー、ALT 値、年齢および発癌リスクによる HBV キャリアーのステージ分類を考案し、それに基づく治療方針について検討した。ステージ 0：HBe (e) 抗原陽性 ALT 正常値持続の無症候性キャリアー。ステージ I：e 抗原陽性 ALT 異常値で HBV-DNA (DNA) 量が $10^{7.6}$ copies/mL 以上 (若年例：ステージ Ia、高年例：ステージ Ib)。ステージ II：e 抗原陽性 ALT 異常値で DNA が $10^{7.6}$ copies/ml 未満 (若年例：ステージ IIa、高年例：ステージ IIb)。ステージ III：e 抗原陰性、DNA 10^5 copies/mL 以上。ステージ IV：e 抗原陰性、DNA 10^5 copies/mL 未満。ステージ V：HBs 抗原が消失した状態。今回考案したステージ分類は HBV キャリアーの病期の把握と治療選択に有用と考える。

A. 研究目的 HBV キャリアーのそれぞれが現在どの病期にいるのか、発癌リスクはどの程度であるのか、積極的な治療の必要性はあるのか、そしてあるならどのような治療を選択すべきかという問いに明確に対処できるステージ分類が存在せず、客観的な病態把握が困難である。そこで、今回 B 型肝炎発癌抑止を目的とした適切な抗ウイルス治療の選択に向けての、HBV マーカーと発癌リスクよりみた HBV キャリアーのステージ分類を試みた。

B. 研究方法 1995 年 11 月以降に当院を初診した HBV キャリアー 207 例を対象とした。対象の性別は男性 138 例、女性 69 例で、平均年齢はそれぞれ 44.3 ± 13.4 歳、 42.8 ± 15.6 歳であった。ステージ分類の根拠は HBs 抗原の有無、HBe 抗原の有無、HBV-DNA 量、年齢、ALT 値、組織学的診断および発癌リスクとした。また、統計学的解析は χ^2 検定および t 検定を用いた。

C. 研究結果 HBV キャリアーの clinical stage (HB ステージ) を 8 ステージに分類した。

HB ステージ 0：HBs 抗原陽性 HBe 抗原陽性 ALT 正常値持続のいわゆる無症候性キャリアーの状態。対象 (表 2) 中のステージ 0 群は 9 例 (4.3%) で、発癌数は 0 であった。

HB ステージ I：HBs 抗原陽性 HBe 抗原陽性 ALT 異常値 (持続正常以外) で

HBV-DNA 量が $10^{7.6}$ copies/mL 以上の高ウィルス群。若年例（男性：30 歳未満、女性：35 歳未満）をステージ Ia、高年例（男性：30 歳以上、女性：35 歳以上）をステージ Ib とする。ステージ Ia 群は 23 例（11.1%）で発癌数は 0 であった。一方、ステージ Ib 群は 44 例（21.3%）、このうちの発癌数は 3 例（6.8%）と発癌リスクを有する。

HB ステージ II：HBs 抗原陽性 HBe 抗原陽性 ALT 異常値（持続正常以外）で HBV-DNA 量が $10^{7.6}$ copies/mL 未満の低ウィルス群。若年例をステージ IIa、高年例をステージ IIb とする。ステージ IIa 群は 10 例（4.8%）とステージ I からステージ IV まででは初診患者に占める割合は最も少ない。ステージ IIb 群は 31 例（15.0%）で、発癌例は 10 例、初診時以降の発癌率は 12.5%（3/24）と発癌リスクが極めて大である。

HB ステージ III：HBs 抗原陽性 HBe 抗原陰性、HBV-DNA 10^5 copies/ml 以上の pre-core mutant 株の replication が持続している群である。対象に占める割合は 23.7%（49 例）と全ステージ中最大である。発癌リスクは極めて大（発癌例は 20 例、初診時以降の発癌率は 21.6%（8/37））である。

HB ステージ IV：HBs 抗原陽性 HBe 抗原陰性、HBV-DNA 10^5 copies/ml 未満のいわゆる臨床的治癒の状態である。41 例（19.8%）と多数を占め、初診時以降の発癌例を 1 例認めたが、発癌リスクとしては極めてまれである。

HB ステージ V：HB キャリアー（HBs 抗原陽性の時期が確認されている例）で HBs 抗原が消失した状態である。HB ステージ IV と同様、発癌リスクは極めてまれである。

HBe 抗原陰性の HB ステージ III と HB ステージ IV の平均年齢はそれぞれ、 53.1 ± 9.7 歳、 45.6 ± 15.7 歳と HB ステージ IV が有意（ $p < 0.01$ ）に若年齢であり、性別も HB ステージ III は男性 38 例、女性 11 例であったが、HB ステージ IV では男性 21 例、女性 20 例と女性は有意（ $p < 0.01$ ）にステージ III 例が少なかった。また、ALT 値も HB ステージ III 117.2 ± 112.3 IU/L、HB ステージ IV 41.0 ± 39.7 IU/L とステージ IV が有意（ $p < 0.001$ ）に低値であった。

肝生検を行った 60 例の組織学的診断と HB ステージとの関係を見ると、ステージ Ia は線維化ステージ（F）0,1 例が F2 以上例より多数を占めたが、ステージ Ib とステージ IIa では F0,1 例と F2 以上例がほぼ同数で、ステージ IIb とステージ III では F2 以上例が多数を占めた。Ib vs IIb、Ia+Ib vs IIa+IIb、Ia+IIa vs Ib+IIb でそれぞれ有意差（ $p < 0.05$ ）を認めた。grading と HB ステージには有意な関係を認めなかった。尚、ステージ 0、ステージ IV およびステージ V の症例は肝生検の必要性を認めず、施行していない。

発癌率の性差は、男性 24.6%（138 例中 34 例）、女性 10.1%（69 例中 7 例）で男性が有意に発癌率が高率（ $p < 0.02$ ）であった。発癌例の年齢分布は 50 歳

代が 55.0%と最も多く、60 歳代、40 歳代がそれぞれ 17.5%、15.0%で 40 歳未満は 25 歳と 35 歳の 2 例のみであった。また、発癌確認時の ALT 値は 30IU/L 未満が 6 例 (15.0%)、40IU/L 未満 12 例 (30.0%) および 50IU/L 未満 19 例 (47.5%) と ALT 低値例が約半数を占めた。

D.考察 B 型慢性肝炎に対する治療法として IFN 長期投与、ラミブジン治療が保険適応となり、アデフォビル、エンテカピルの治験が進行中である。また、HB ワクチンによる治療成績も報告されている。このような状況下において、それらの抗ウイルス剤による治療の適応を HB キャリアーの経過における発癌リスクから考慮することが、B 型肝炎発癌抑制の観点からみて極めて重要であると考えられる。そのためには HB キャリアーの経過を客観的に表すことが必要であり、今回、HBV マーカー、血清トランスアミナーゼ値、および発癌リスクを基準とした HB ステージ分類を提案した。組織学的診断については対象中の肝生検施行例 60 例の検討より、staging はその進展と HB ステージで有意な関係があり、HB ステージより staging をある程度類推することが可能と考えられる。すなわち、発癌リスクの高いステージⅡb やステージⅢでは F2 以上の症例が大半を占め、発癌リスクの低いステージⅠa では F0,1 が多数を占める。ステージⅠb、Ⅱb、Ⅲは全例抗ウイルス治療の対象と考えられるが、ステージⅠa、Ⅱa で staging が進行していない症例では、経過観察のみで自然経過による HBeAg,Ab seroconversion を待つという選択肢も存在する。その判断には組織学的診断が重要であるので、生検を行った症例には HB ステージと新犬山分類をⅠb (A1F1) のように併記することが適切ではないかと考える。

HBV マーカーと肝発癌との関係について、我々はインターフェロン治療を施行した症例 (平均年齢 35 歳) の検討より HBe 抗原持続陽性例は HBe 抗原消失例に比し有意に B 型肝炎発癌率が高く、できるだけ若年齢の間に HBe 抗原を消失させる必要性について報告した。池田らも B 型肝炎硬変例の検討より肝硬変診断時に HBe 抗原陽性例は陰性例に比べ発癌率が高い傾向を示し、HBe 抗原陰性例での発癌は HBV-DNA 陽性 (間歇的陽性も含めて) 例にのみ認められ、持続陰性例には 1 例も認められなかったと報告している。今回の検討は対象の平均年齢が約 45 歳と比較的高齢のため HBe 抗原消失例が多数を占め、HBe 抗原陰性、HBV-DNA 陽性例であるステージⅢが最も高い発癌率を示した。B 型慢性肝疾患においては HBe 抗原持続陽性例が最も発癌リスクが高く、HBe 抗原陰性に seroconversion しても pre C mutant の増殖が続く HBV-DNA 陽性例も高い発癌リスクを有し、HBV-DNA 持続陰性になってはじめて発癌リスクから回避されると考えられる。

Chu らは HBe 抗原陰性 B 型慢性肝炎の治療について、HBV-

DNA 10^5 copies/mL 以上は抗ウイルス治療の必要があるが、 10^5 copies/mL 未満ではその必要がないと報告している。抗ウイルス治療対象の境界を HBV-DNA 量 10^4 copies/mL、 10^5 copies/mL のいずれにするかは発癌リスクを考慮するうえで極めて重要なポイントと考えられるため、この HB ステージ分類を作成するにあたっても詳細に検討した。 10^4 copies/mL 以上を治療対象にした場合、発癌例の発生を防止させることができる程度期待できるが、過大に治療対象を増やしてしまうマイナス面が大きく、また、 10^5 copies/mL を境界とした場合の方が性別、年齢、ALT 値、血小板数および発癌率の各因子の有意差が 10^4 copies/mL を境界とした場合よりもおしなべて強くであるため 10^5 copies/mL が妥当と考えた。すなわち、HBe 抗原陰性で HBV-DNA 10^5 copies/mL 以上のステージⅢは 10^5 copies/mL 未満のステージⅣに比し、男性に多く ($p<0.01$)、ALT は高値 ($p<0.001$)、血小板数は低値 ($p<0.001$) で発癌率は高率 ($p<0.05$) であった。特筆すべきは平均年齢がステージⅢ例がステージⅣ例に比し有意に高齢 ($p<0.01$) であることで、ステージⅢとステージⅣはステージⅢからステージⅣへと移行するという時間的経過の差ではなくて、病態の異なる集団と考えられる。

HBV キャリアーの大多数が歩む臨床的治癒の状態へのコースはステージⅠa からステージⅡa となり、その後短期間ステージⅢを経由した後速やかにステージⅣに移行するものと考えられる。そしてステージⅣが長期間続いた後 HBs 抗原が消失し、ステージⅤとなる。一方、B 型肝炎発癌ハイリスク群はステージⅠa からステージⅠb、ステージⅡb と進行し、HBe 抗原が陰性化してステージⅢまでは到達するが HBV の増殖は持続し、ステージⅣに至ることはない。臨床的治癒コースの各ステージにおける初診時の血小板数と発癌リスクは、ステージ 0、Ⅰa、Ⅱa およびⅣでそれぞれ 20.4 万,0%、20.1 万,0%、18.1 万,0% および 19.3 万,2.9% とほとんど変化を認めないが、B 型肝炎発癌ハイリスクコースにあたるステージⅠb、Ⅱb およびⅢではそれぞれ 16.5 万,6.8%、15.4 万,16.7% および 14.4 万,23.1% とステージの移行に従っての血小板数の低下と発癌率の増加が認められ、ステージⅠb、Ⅱb およびⅢのキャリアーに対する抗ウイルス治療の必要性が強く示唆される。

B 型肝炎発癌抑止のためには、HBV キャリアーがどの病期にいるかを診断することが肝要である。我々が提唱したこの HB ステージ分類はその診断に極めて有用で、治療適応例には早期に適切な抗ウイルス治療を開始し、発癌例を一名でも減少させたいと考えている。

F.健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato M, Yuki N, Kaneko A, Yamamoto K, Masuzawa M, Hayashi N : Changes in virus loads and precore mutations in chronic hepatitis B patients treated with 4 weeks of daily interferon alfa-2a therapy. *Hepatol Res.*28 : 73-78, 2004
- 2) Hiramatsu N, Kasahara A, Nakanishi F, Toyama T, Tsuji M, Tsuji S, Kanto T, Takehara T, Kato M, Yoshihara H, Naito M, Katayama K, Hijioka T, Hagiwara H, Kubota S, Oshita M, Meren H, Masuzawa M, Hruna Y, Mita E, Suzuki K, Harashi N : The significance of interferon and ribavirin combination therapy followed by interferon monotherapy for patients with chronic hepatitis C in Japan. *Hepatol Res.*29 : 142-147, 2004
- 3) 加藤道夫, 伊与田賢也, 結城暢一, 山本佳司, 分島一, 里見絵理子, 道田知樹, 林紀夫 : HBV マーカーと発癌リスクよりみた HBV キャリアのステージ分類 —適切な抗ウイルス治療の選択に向けて—. *肝臓.*45 : 581-588, 2004
- 4) 西田真佐夫, 嶋田志美, 斉藤誠, 加藤道夫, 長谷川健次, 国立神戸病院薬剤科, 国立舞鶴病院薬剤科, 国立病院大阪医療センター薬剤科, 同消化器科 : C 型慢性肝炎に対するインターフェロン α -2b とリバビリン併用療法におけるヘモグロビン減少に関する検討. *医療薬学.*30 : 53-58, 2004
- 5) 加藤道夫 : くり返し Two-step Interferon Rebound Therapy が奏功した難治性 C 型慢性肝炎の 1 例. *治療学.*38 : 73-75, 2004
- 6) 加藤道夫, 結城暢一, 伊与田賢也, 山本佳司, 林紀夫 : ウイルス性肝炎 (上) —基礎・臨床研究の進歩— I. C 型肝炎ウイルス(HCV) C 型慢性肝炎の治療 Two-step interferon rebound therapy とその適応. *日本臨床.*62:497-501, 2004
- 7) 伊与田賢也, 加藤道夫 : ウイルス性肝炎 (上) —基礎・臨床研究の進歩— I. C 型肝炎ウイルス(HCV) C 型慢性肝炎の治療 C 型慢性肝炎に対する IFN 再治療の成績とその適応. *日本臨床.*62:502-505, 2004
- 8) 結城暢一, 加藤道夫 : ウイルス性肝炎 (下) —基礎・臨床研究の進歩— HBV replication のマーカーとしてのウイルス関連蛋白 HBV-related proteins as a marker of viral replication. *日本臨床.*33-35, 2004
- 9) 加藤道夫 : ラミブジン長期投与中に YMDD 変異ウイルスが出現したが、追加治療なしで安定している症例. *B 型慢性肝炎・肝硬変治療症例集—抗ウイルス薬/ラミブジン・アデホビルピボキシル.*24-26, 2004
- 10) Kakiuchi Y, Yuki N, Iyoda K, Sugiyasu Y, Kaneko A, Kato M : circulating

soluble Fas levels in patients with hepatitis C virus infection and interferon therapy. J Gastroenterol.39:1189-1195,2004

2.学会発表

「HB キャリアーのステージ分類と治療戦略」平成 16 年 4 月 23 日 第 90 回
日本消化器病学会シンポジウム（仙台）

H.知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業 分担研究報告書

HBs 抗原消失後の HBV 関連ウイルスマーカーの変化

分担研究者 荒瀬康司 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 消化器科

研究要旨：B 型慢性肝疾患において HBs 抗原消失後 5 年以上経過した 70 例の HBs 抗原消失後の HB 関連ウイルスマーカー(HBs 抗体累積出現率、HBc 抗体価の変化、nested polymerase chain reaction (PCR)法での HBV-DNA 陽性率)につき検討した。HBs 抗原消失後の HBs 抗体累積陽性率は 5 年 67.4%、10 年 84%であった。また 200 倍希釈での HBc 抗体価 (平均) は HBs 抗原消失時 5.9、5 年後 1.9、10 年後 1.1 であった。HBs 抗原消失後の HBV-DNA 陽性率は HBs 抗原消失時 71.4% (50/70)、5 年後 20%(14/70)、10 年後 16.7%(3/17)であった。70 例中 2 例で肝癌発症がみられた。これら 2 例は HBs 抗原消失前すでに肝硬変で HBs 抗原サブタイプが adwr, ayr と本邦では特殊形であった。

共同研究者

熊田博光 虎の門病院 副院長
小林万利子 虎の門病院 肝臓研究室

A. 研究目的

B 型慢性肝疾患において HBs 抗原陰性がみられた症例は通常予後良好と考えられる。しかしながら HBs 抗原陰性化後肝発症をきたす例もまれながら存在し、HBs 抗原陰性、HBs 抗体陽性例からの移植後 B 型肝炎の発症をみたとの報告もなされている。そこで HBs 抗原消失後長期的にフォローされた症例での HBV-DNA の存在につき検討した。

B. 研究方法

(検討 1) HBs 抗原消失後の HB 関連ウイルスマーカーの長期的変化

1977 年から 2000 年までの間に HBs 抗原陽性且つ HCV-抗体陰性の慢性肝疾患と診断され経過中に RIA 法にて HBs 抗原が陰性化し HBs 抗原陰性化後 5 年以上フォローした 70 例を対象とした。HBs 抗原消失時点での症例の背景は年齢の中央値 53 歳(30-82 歳)、男女比 55:15、総蛋白 7.4(6.6-8.8)g/dl、アルブミン 4.2(3.4-5.1)g/dl、総ビリルビン 0.7(0.2-1.7)g/dl、AST21(11-71)IU/L、ALT16(6-101)IU/L、血小板 17.3(6.1-39)万/ μ l、HBV genotype は A3 例、B7 例、C45 例、D1 例、測定不能例 6 例であった。HBs 抗原陰性化後の経過観察期間は平均 8.1 (5.2-23.6) 年であった。HBs 抗原消失後次の項目につき検討した。(1)HBs 抗体(RIA 法)累積出現率、(2)HBc 抗体価(CLIA 法)の変化、(3)HBV-DNA 陽性率：プライマーとしては HBV の 4 遺伝子領域のうち Core および X の 2 遺伝子領域をターゲットとした nested polymerase chain reaction (PCR)法にて検出した。Core ないし X いずれかのプライマーで陽性となった場合を HBV-DNA 陽性とした。

(検討 2) 肝癌発症例の検討

対象とした 70 例中 2 例で HBs 抗原消失後肝癌の発生がみられた。これら肝癌発症のみられた症例の背景に

つき検討した。

C. 研究結果

(検討 1) ①HBs 抗体累積陽性率および HBc 抗体価の変化：HBs 抗原消失後の HBs 抗体累積陽性率は 5 年 67.4%、10 年 84%であった。また 200 倍希釈での HBc 抗体価 (平均) は HBs 抗原消失時 5.9、5 年後 1.9、10 年後 1.1 であった。②HBV-DNA の陰性化率：HBV-DNA 陽性率は HBs 抗原消失時 71.4% (50/70)、5 年後 20%(14/70)、10 年後 16.7%(3/17)であった。

(検討 2) 肝癌発症例の検討

70 例中、計 2 例で肝癌発症がみられた。これら 2 例は HBs 抗原消失後 4.8 年、5.8 年後の時点で肝癌発症したが、①HBs 抗原消失前すでに肝硬変までの進展がみられていたこと、②HBs 抗原サブタイプが adwr, ayr と本邦では特殊形であること、③家族歴に肝硬変、肝癌例を有した、等の背景を有していた。

D. 考察

HBs 抗原消失後の HBV-DNA は減少し、現在日常臨床で頻用されている核酸増幅(TMA 法)、Amplicor-M 法では通常陰性と判定される。そこでさらに高感度な nested PCR 法で HBs 抗原消失後の HBV-DNA につき検討した。その結果、HBs 抗原消失後 5 年ないし 10 年経過後も少数の症例では HBV-DNA の存在が示唆された。このような例に免疫抑制剤等を投与すればウイルスの再増殖を来しうると考えられる。また HBs 抗原消失後長期経過後も極微量の HBV-DNA が存在する症例の背景については現時点で明確ではないが、今後検討すべき事項と考えられる。

次に HBs 抗原消失後の肝癌発症に関しては HCV 合併、高齢、組織学的進展等が危険因子と報告されてきた。今回の検討ではこれ以外に HBs 抗原サブタイプが特殊であること、家族歴に肝硬変、肝癌を有すること等の関与が示唆された。HBs 抗原消失後すべての患者さんを定期的にフォローすることは医療経済上問題であり、今後肝発癌危険群の絞込み等が必要に

なると考えられる。

E. 結論

HBs 抗原消失後の5ないし10年経過しても一部の症例では血清 HBV-DNA は高感度な nested PCR 法にて陽性であった。今後は、このように長期的に HBV-DNA 陽性が継続する症例の背景等の検討が必要と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Akuta N, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Kobayashi M, Kumada H. Long-term outcome following HbsAg seroclearance in patients with chronic hepatitis B. *A J M* 2005;11 (in press).

2) Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Akuta N, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Kumada H. Wild-type Precore and Core-promoter Sequences in Patients with Acute Self-limited or Chronic Hepatitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2004; 1; 53-59.

3) Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Akuta N, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Kumada H. Infection with hepatitis B virus genotype A in Tokyo, Japan during 1976 through 2001" *Journal of Gastroenterology* 2004; 39; 844-850.

G. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

分担研究報告書

研究分担者：大矢博昭

分担研究課題：全自動分析装置の改良

研究目的：

研究内容：小型化と感度向上を目指した ESR モジュールの試作

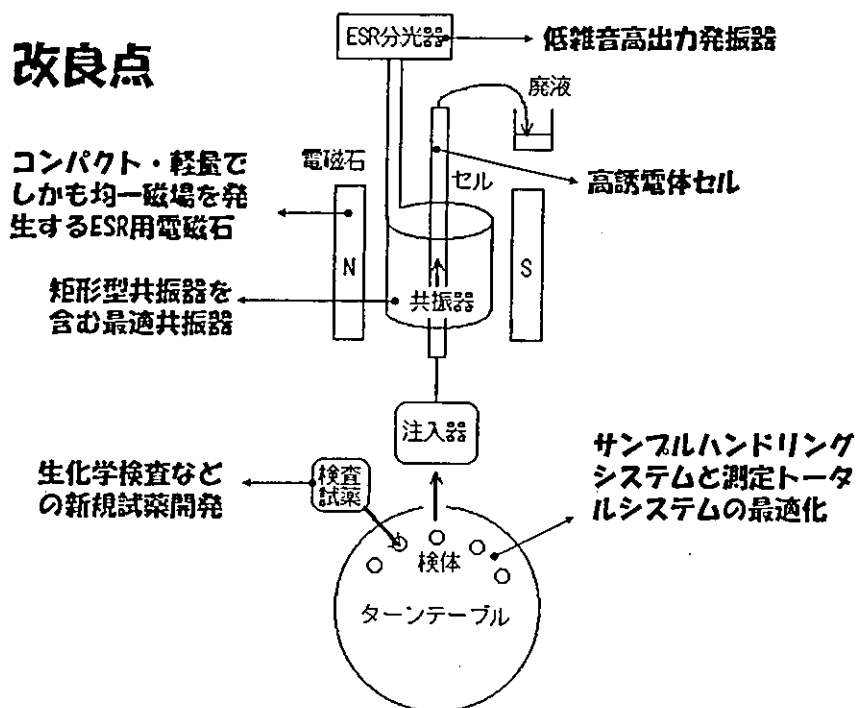
開発目標：◎コンパクトで高感度検出の ESR モジュールを新規に開発

◎ 現有自動 ESR 免疫装置の 10 倍の感度達成

研究方法

図 1 に現有の自動 ESR 免疫装置の模式図とその改良点を図示する。現有装置に組み込まれた ESR 検出部はユニバーサル型市販の装置で本計測に必要な要素が多く含まれている。本研究では極力 unnecessary な要素をなくし、必要な高感度とコンパクト化を目的として設計・試作した。具体的に改良点として、1) 試料挿入部である空洞共振器の形状を円筒型から矩形型にする、2) 最も嵩張り、しかも重い磁気回路部に希土類永久磁石を採用し、必要な磁場掃引に最小限の磁場コイルを付置する、3) 試料容器の石英セルの代わりに高誘電

図 1 現有の自動 ESR 免疫装置の模式図とその改良点



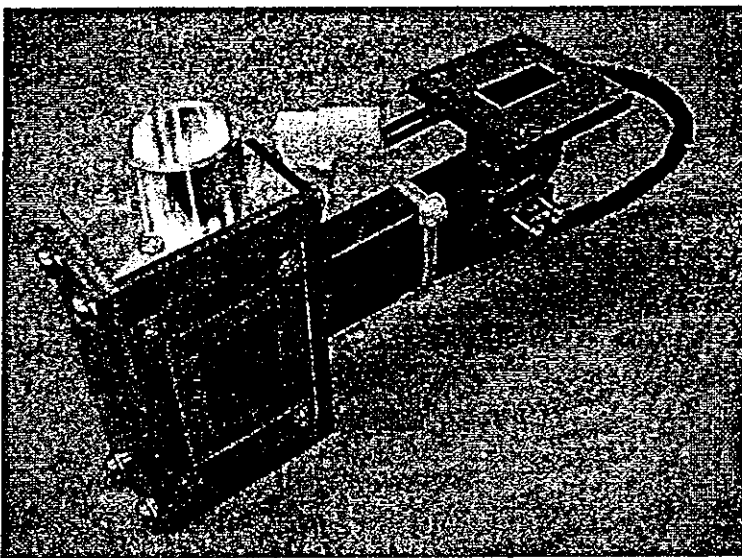
体のサファイアセルを用いる、4) マイクロ波回路の中でも特に嵩張るミキサー（マイクロ波検波）をプリント基盤化する、5) 100mW 以上の高電力、低雑音のマイクロ波発信器を採用する。

結 果

1) 矩形型空洞共振器

矩形型空洞共振器の概観を図 2 に示す。市販の円筒型共振器では奥行きが 50mm 以上であるが、本器は 27mm に押さえられ、しかも性能が変わらないという好結果を得た。これにより、磁気回路の磁極間隔が半分以下に抑えられ、磁石のコンパクト化を可能にした。

図 2 矩形型空洞共振器の概観。



2) 磁気回路部

最も嵩張り、しかも最も重い磁気回路部に希土類永久磁石（ネオマック）を採用し、必要な磁場掃引に最小限の磁場コイルを付置して、磁気回路の小型化を図った。共振器のスリム化が図られたことにより、磁場間隔を 30mm に抑えることが出来て、シミュレーションにより重量を 10kg に軽減できる見通しになった。従来品の重量 250kg から一挙に 10kg に軽減できることは、本研究推進の大きな弾みになっている。

3) 試料容器

試料容器の石英セルの代わりに高誘電体のサファイアセルを用いて、高感度化を図った。セルに高誘電体を用いれば高感度化が図られることは十分予想されるが、課題は材料に含まれる不純物にある。サファイアは石英よりも 3 倍の高誘電体であるが不純物が含有しやすいという欠点を持つ。単結晶サファイア製造メーカよりサンプルを取り寄せ、材料テス

トの結果、鏡面加工と最高洗淨の結果、石英よりも優れた材料が入手できることが判明した。目下、当材料を用いて、ESR 測定用セルを製作中である。

4) マイクロ波回路

マイクロ波回路の中でも特に嵩張るミキサー（マイクロ波検波部品）をプリント基盤化（IC化）した。図3に従来品と新規に作成したミキサーの図を示す。サイズにして約1/4、重量にして約1/50に軽減された。テストの結果、S/Nは従来品に匹敵していることが判明した。今後、逐次、サーキュレータ、その他をIC化してマイクロ波回路全体をIC化する予定である。

5) 高電力、低雑音のマイクロ波発振器

100mW以上の高電力、低雑音のマイクロ波発振器を採用した。本装置で計測するニトロキシドラジカルは高電力ほど信号が大きい。従って、100mW以上の高電力発振器（米国より取り寄せ中）を用いると現有装置に比べて約4倍の高感度性が期待される。

図3 従来品（下）と新しく開発されたミキサー（上）。

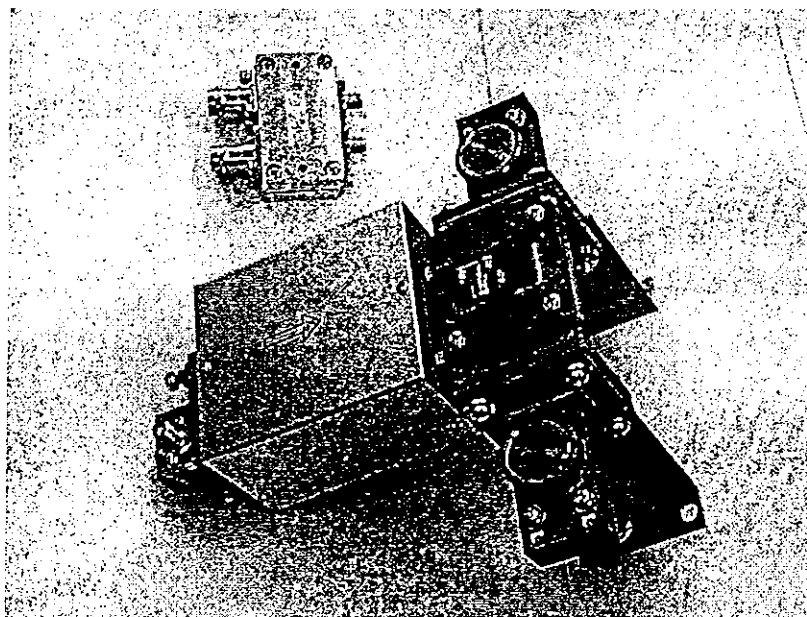
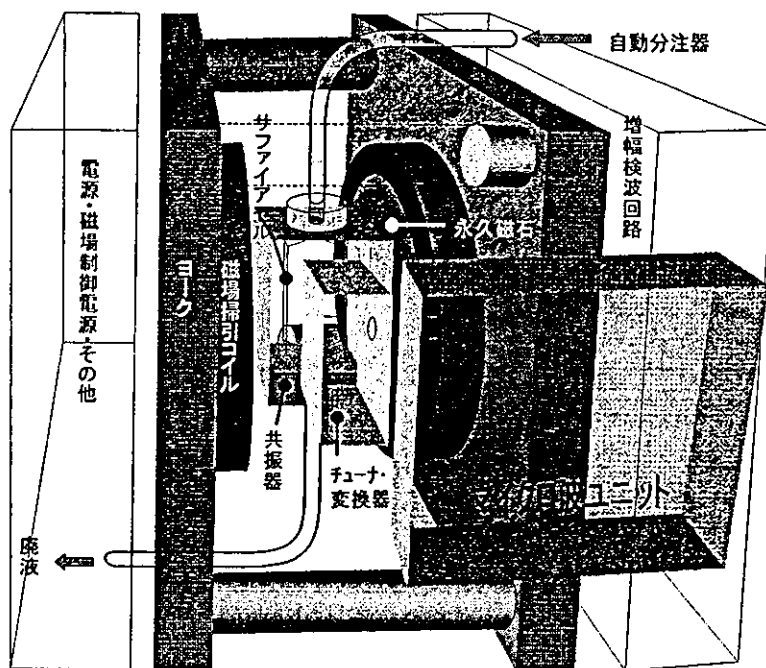


図4 モジュール型 ESR 装置の完成予想図。



上記要素技術を組み込んだ完成予想図を図4に示す。希土類永久磁石を組み込んだ磁気回路を中央に配置し、左にその制御電源を、右にマイクロ波検波、信号増幅回路を配置する。前面にマイクロ波回路を配置し、これらの制御およびデータ収集・解析はすべてPCによる制御とし、そのプログラムを目下製作中である。

まとめ

- 1 B,C型肝炎、生化学検査、などのニトロキシドラジカル測定に最適化した軽量高感度のモジュール型 ESR 装置を製作中である。
- 2 総重量は 20kg 前後と見込まれる。
- 3 感度は現有装置の約 4 倍を今年度中に達成したい。
- 4 大きさは 200×200×300mm³ と見込まれる。
- 5 ラジカルセンサーとしてモジュール化のみならずニトロキシドラジカル専用の卓上型高感度 ESR 装置としても使用可能な方策を講じる予定である。

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許

発明人:大矢博昭、山下盛久、「電子スピン共鳴用矩形型共振器」(出願)、出願人:キー