

## Patients and methods

### Patients

The subjects were 66 patients with chronic HCV infection (39 men and 27 women; age, 27–80 years [median, 59 years]) and 30 controls without ongoing HCV infection (21 men and 9 women, age 26–73 years [median, 56 years]). No significant difference was seen in sex ( $P = 0.426$ ) or age ( $P = 0.761$ ) distribution between the two groups. The 66 HCV carriers had been persistently positive for serum HCV RNA for more than 6 months. During the entire follow-up, none of the patients displayed any confounding etiology of liver disease, such as hepatitis B virus, autoimmune markers, or alcohol abuse ( $>25$  g/day). Sera were obtained from all patients, and liver biopsy specimens could be obtained from 35 patients at the time of serum collection. After enrollment, 15 of the chronic hepatitis C patients (10 men and 5 women, age 33–63 years [median, 45 years]) were assigned to two different regimens of 4-week enhanced IFN induction therapy. Eight patients (group A) were treated with a high dose of IFN- $\alpha$ 2a (Roferon-A; Nippon Roche, Tokyo, Japan; 9MU/daily for 4 weeks, followed by 9MU/thrice weekly; total dose, 720–1206 MU [median, 941 MU]). The remaining 7 patients (group B) received a high dose of IFN- $\beta$  (Feron; Toray Industries, Tokyo, Japan; 3MU/twice a day for 4 weeks, followed by 6MU/thrice weekly; total dose, 276–636 MU [median, 384 MU]). Using stored serum samples obtained at 0, 1, 2, 4, and 8 weeks after initiation of the induction therapy, we investigated changes in serum alanine aminotransferase (ALT) activity, HCV RNA, and sFas levels.

Sera were also obtained from the 30 control subjects. The controls consisted of 8 healthy individuals without serum HCV RNA and HCV antibody, 8 serum HCV RNA-negative but HCV antibody-positive healthy individuals with no history of IFN therapy, and 14 nonviremic HCV antibody-positive patients who had been successfully treated with IFN therapy for chronic hepatitis C. Patients in the last group had remained negative for serum HCV RNA for 0.7–8.0 years (median, 4.0 years) after the end of previous IFN therapy. All serum samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  without thawing until use. The study was approved by the local Research Ethics Committee, in accordance with the 1975 Declaration of Helsinki, and all the patients provided written informed consent.

### Laboratory testing

HCV antibody was tested with a third-generation enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Ortho Diagnostic Systems, Tokyo, Japan). Serum HCV RNA

was detected by a polymerase chain reaction assay (Amplicor HCV Monitor; Roche Diagnostics, Tokyo, Japan) and quantified using a branched DNA (bDNA) assay (Quantiplex HCV-RNA; Chiron, Emeryville, CA, USA). HCV RNA-positive serum samples were subjected to HCV genotyping with the genotype-specific NS4 antibody assay (Immucheck-HCV Gr; International Reagent, Kobe, Japan), which is based on a comparison between antibody responses to the two genotype-specific NS4 antigens (C14-1 and C14-2).

### Detection of sFas

Serum sFas levels were measured by ELISA (Medical and Biological Laboratories [MBL], Nagoya, Japan).<sup>12,13</sup> Serum sFas was first captured by polyclonal antibody to an intracellular sequence of human Fas (KDITSDSENSNFRNEIQSLV), and then detected by monoclonal antibody to an extracellular epitope (KCRCKPNFFC). Thus, the assay is theoretically expected to detect a complete sFas molecule composed of the extracellular and intracellular domains of Fas-Receptor, but is unlikely to detect incomplete cleaved forms of Fas-Receptor, which can be released following the destruction of Fas-expressing cells. In order to quantify the sFas levels, human Fas (GenBank accession no. CAA45250) was expressed in WR19L-12a cells, and standard Fas protein was purified from the membrane fraction. The assay was performed according to the manufacturer's instructions. In brief, a 96-well plate coated with the polyclonal antibody was incubated with 100  $\mu\text{l}$  of fivefold diluted serum samples and standard Fas protein (0–2 ng/ml) at room temperature for 1 h. After thorough washing, the plate was further incubated with the peroxidase-conjugated monoclonal antibody at room temperature for 1 h. The plate was then washed, and a solution containing tetramethyl benzidine was added. After 30-min incubation, the reaction was stopped, and the optical density at 450 nm was measured. All assays for sFas were done in duplicate, and the concentration of sFas was determined from the standard curve. High levels of sFas were quantified using diluted serum samples.

### Histological evaluation

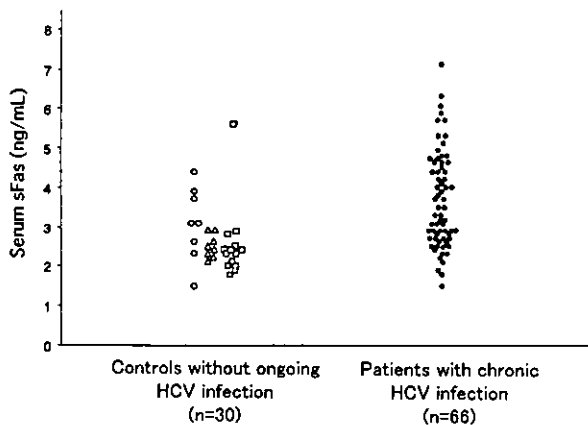
Liver biopsy specimens were fixed in formalin and embedded in paraffin for routine staining with hematoxylin-eosin. All specimens were examined by the same experienced pathologist, who was unaware of the biochemical, serological, and virological data. Biopsy specimens were semiquantitatively evaluated by the histological activity index described by Knodell et al.<sup>14</sup>

### Statistical analysis

All data values are expressed as means  $\pm$  SD. For numeric variables, group comparisons were performed by the Wilcoxon nonparametric test. The  $\chi^2$  test or Fisher's exact test was used for categorical variables. Correlations between the variables were calculated using Spearman rank order correlations. A value of  $P < 0.05$  (two-tailed) was considered to indicate significance. For multivariate analysis, multiple logistic regression analysis, with a stepwise procedure, was performed with the computer program, SAS 8.02 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

### Results

Figure 1 shows serum sFas levels in relation to the presence of ongoing HCV infection. The 66 chronic HCV carriers had significantly higher levels of sFas ( $3.8 \pm 1.3$  ng/ml) than the 30 controls without ongoing HCV infection ( $2.7 \pm 0.8$  ng/ml;  $P < 0.001$ ). In the control group, remote history of HCV infection exerted no impact on sFas levels. Serum sFas levels were  $2.5 \pm 0.3$  ng/ml for the serum HCV RNA-negative but HCV antibody-positive healthy individuals who were spontaneously cleared of HCV. The levels were compatible

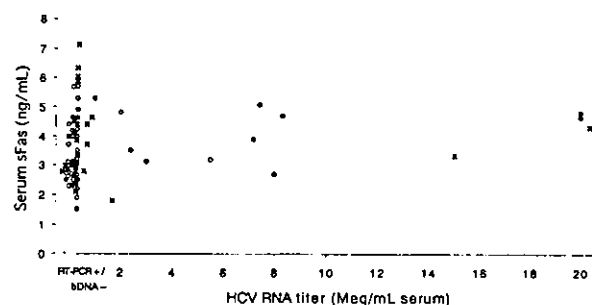


**Fig. 1.** Serum sFas levels in 66 patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection were compared with those in 30 controls without ongoing HCV infection ( $3.8 \pm 1.3$  vs  $2.7 \pm 0.8$  ng/ml;  $P < 0.001$ ). The controls consisted of 8 healthy individuals without serum HCV RNA and HCV antibody (open circles), 8 serum HCV RNA-negative but HCV antibody-positive healthy individuals without interferon (IFN) therapy (open triangles), and 14 patients who had remained negative for serum HCV RNA for 0.7–8.0 years (median, 4.0 years) after the end of IFN therapy for chronic hepatitis C (open squares). The levels of serum soluble Fas-Receptor (sFas) were  $3.1 \pm 0.9$ ,  $2.5 \pm 0.3$ , and  $2.5 \pm 0.9$  ng/ml for these three control groups, respectively, with no significant difference

with those for healthy individuals with no HCV markers ( $3.1 \pm 0.9$  ng/ml). sFas levels were equally low in chronic hepatitis C patients who had been clear of serum HCV RNA for 0.7–8.0 years (median, 4.0) after the end of IFN therapy ( $2.5 \pm 0.9$  ng/ml). No relation of sFas levels with time after IFN therapy was evident in these patients. No correlation was seen between sFas levels and age in the chronic HCV carriers ( $r = 0.007$ ;  $P = 0.954$ ) or the control subjects ( $r = 0.103$ ;  $P = 0.579$ ).

The elevation of circulating sFas levels in chronic HCV infection was investigated in relation to virological, biochemical, and histological characteristics. In the 66 chronic HCV carriers, sFas levels had no relation to HCV replicative levels, assessed by serum HCV RNA titers (Fig. 2). This was also the case when the correlation was analyzed for each HCV genotype. sFas levels were  $3.6 \pm 1.2$  ng/ml for the 19 patients infected with genotype 1,  $3.6 \pm 1.1$  ng/ml for the 22 patients with genotype 2, and  $3.8 \pm 1.4$  ng/ml for the remaining 25 patients with undetermined genotype(s), with no significant differences among the values. On the other hand, a significant correlation was found between serum sFas levels and ALT activity ( $r = 0.440$ ;  $P < 0.001$ ; Fig. 3). In 35 chronic HCV carriers, the circulating sFas levels were also correlated with liver histological findings (Fig. 4). A significant correlation was revealed between sFas levels and the total grading score ( $r = 0.403$ ;  $P = 0.019$ ), whereas no correlation was evident between sFas levels and the staging score ( $r = 0.321$ ;  $P = 0.057$ ). As for correlations with necroinflammatory scores, sFas levels showed a correlation with piecemeal necrosis ( $r = 0.556$ ;  $P = 0.001$ ), but not with lobular necrosis and inflammation ( $r = 0.224$ ;  $P = 0.192$ ) or portal inflammation ( $r = 0.316$ ;  $P = 0.066$ ).

Changes in serum sFas levels during 8 weeks of enhanced induction treatment with type 1 IFNs were



**Fig. 2.** Relation of serum sFas levels with serum HCV RNA titers and HCV genotypes in the 66 patients with chronic HCV infection. Serum sFas levels had no relation to serum HCV RNA titers and HCV genotypes. Solid circles, patients with genotype 1; open circles, patients with genotype 2; crosses, patients with undetermined genotype

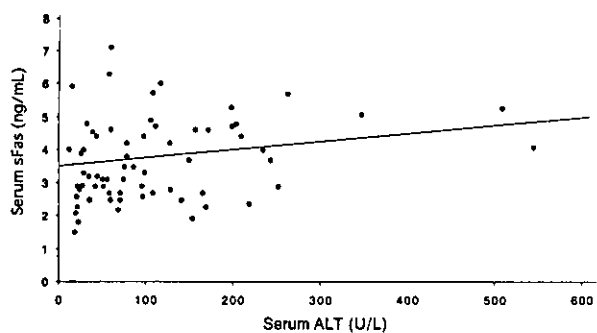


Fig. 3. Relationship between serum sFas levels and serum alanine aminotransferase (ALT) levels in the 66 patients with chronic HCV infection ( $r = 0.440$ ;  $P < 0.001$ )

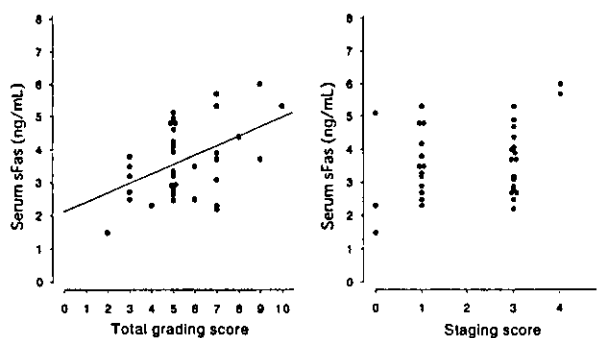


Fig. 4. Relationship between serum sFas levels and histological findings in 35 patients with chronic HCV infection. Serum sFas levels showed a correlation with the total grading score ( $r = 0.403$ ;  $P = 0.019$ ), but not with the staging score ( $r = 0.321$ ;  $P = 0.057$ )

investigated in 15 chronic hepatitis C patients (Fig. 5). The pretreatment viral load ranged from less than 0.5 to 20.0 Meq/ml (median, 3.0 Meq/ml). Genotypes 1 and 2 were found in 9 and 6 patients, respectively. Of the 8 patients treated with IFN- $\alpha$ 2a (group A), serum HCV RNA was cleared during the treatment in 7 patients. In these virological responders, no significant change was seen in serum sFas levels at weeks 1, 2, 4, and 8 as compared with the baseline level ( $3.7 \pm 0.9$  ng/ml). Thus, HCV clearance was not accompanied by a decrease in serum sFas levels. Serum ALT activity was normalized in 4 virological responders, but remained elevated in the other 3. In group B, the 7 patients received enhanced induction treatment with IFN- $\beta$ . A virological response was achieved during the treatment by 6 patients. Despite HCV clearance, the virological responders showed an increase in sFas levels after the initial intensive treatment (3MU/twice a day for 4 weeks;  $4.5 \pm 0.9$  at baseline vs  $7.1 \pm 1.3$  ng/ml at week 4;  $P = 0.018$ ). The levels returned to the baseline after the subsequent treatment (6MU/thrice weekly for 4

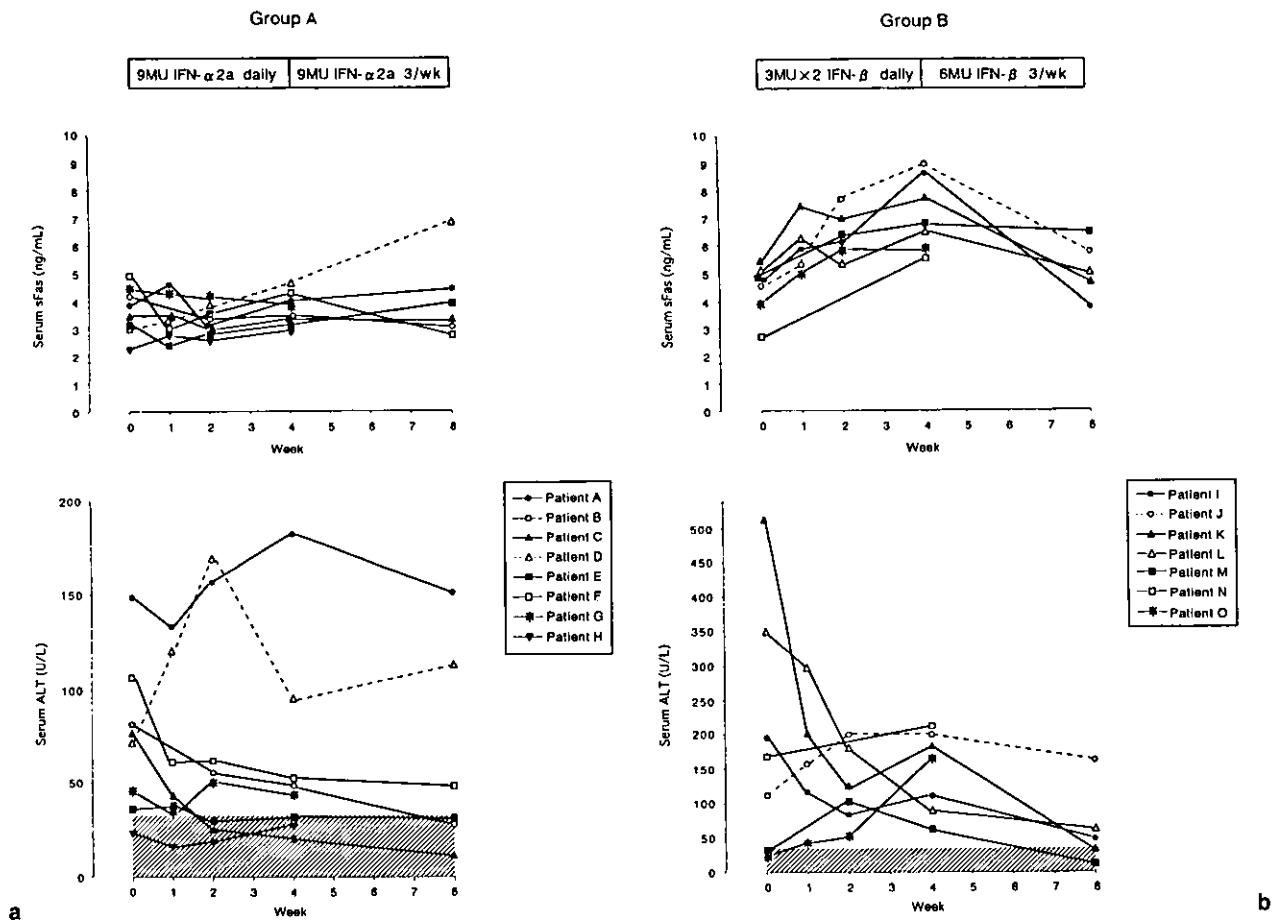
weeks). In parallel with the elevation of sFas levels, serum ALT activity was also elevated in the absence of HCV viremia in 5 of the 6 virological responders.

A sustained virological response, defined as serum HCV RNA clearance at 6 months posttreatment, was achieved by five patients (four patients in group A and one patient in group B). Table 1 shows the clinical and virological characteristics of the sustained virological responders and those of the patients showing no sustained virological response. A significant difference was observed only for the pretreatment viral load. All sustained virological responders had a low pretreatment viral load of less than 0.5 Meq/ml, whereas the levels ranged from less than 0.5 to 20.0 Meq/ml (median, 7.3 Meq/ml) in patients with no sustained virological response ( $P = 0.014$ ). Pretreatment serum sFas levels were the same for patients with a sustained virological response and those without ( $4.5 \pm 0.6$  vs  $3.8 \pm 1.0$  ng/ml;  $P = 0.089$ ). Multivariate analysis also showed only the pretreatment viral load to be predictive of a sustained virological response ( $P = 0.038$ ).

## Discussion

Currently available information suggests that apoptosis-inducing death ligands and corresponding receptors mediate cell death in human liver diseases. Thus, knowledge regarding how this system functions may help in developing rational therapeutic strategies to ameliorate clinical liver diseases. Apoptosis-inducing death receptors belong to the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Fas-Receptor (APO-1/CD95), one of the death receptors, has a single membrane-spanning domain and is expressed in hepatocytes. The particular importance of the Fas-Receptor in chronic hepatitis C has been amply documented.<sup>1,2</sup> Hepatic Fas-Receptor expression has been shown to be upregulated in HCV infection, with a close correlation to the necroinflammatory grade. The Fas-Receptor-mediated apoptotic pathway may also play a significant role in the pathogenesis of other forms of liver injury. An alternatively spliced soluble form of the Fas-Receptor without the transmembrane-spanning domain is produced by Fas-expressing hepatocytes and is considered to serve to bind Fas ligand on cytotoxic T cells, thereby minimizing liver injury.<sup>7-9</sup> However, its clinical relevance has not been well explored.

The present study demonstrated that patients with chronic HCV infection had higher levels of circulating sFas than healthy individuals without previous HCV exposure and patients who had a remote history of HCV infection but had been cleared of HCV spontaneously or following IFN therapy. sFas levels in chronic HCV infection had no relation to HCV replication



**Fig. 5a,b.** Changes in serum sFas and ALT levels during 8 weeks of enhanced IFN therapy for chronic hepatitis C. **a** Eight patients (patients A–H) received 9 megaunits (MU) of IFN- $\alpha$ 2a daily for 4 weeks, followed by the same dose thrice a week for the subsequent 4 weeks (*group A*). **b** The other patients (patients I–O) received 3MU of IFN- $\beta$  twice a day continuously for 4 weeks, and then 6MU of IFN- $\beta$  thrice a week for 4 weeks (*group B*). The *Solid* and *dashed* lines in **a** and **b** indicate patients who were negative and positive for serum HCV RNA, respectively, at the end of treatment. In the end-of-treatment virological responders, serum sFas levels showed no significant change during IFN- $\alpha$ 2a therapy in group A, while the levels increased following the initial 4-week intensive IFN- $\beta$  therapy in group B ( $4.5 \pm 0.9$  before treatment vs  $7.1 \pm 1.3$  ng/ml at 4 weeks;  $P = 0.018$ ) and returned to the baseline levels at 8 weeks. Serum sFas elevation at 4 weeks was associated with serum ALT elevation observed during IFN- $\beta$  therapy. *Shaded areas* indicate the normal range of serum ALT activity

and genotypes, but were correlated with biochemical and histological disease activity. Serum sFas levels measured by the assay we used have been shown to correlate with hepatic Fas expression.<sup>10</sup> Hepatic Fas expression in chronic hepatitis C is particularly prominent at the advancing edge of piecemeal necrosis.<sup>1</sup> sFas levels were also correlated with the severity of necro-inflammatory reactions, especially that of piecemeal necrosis. Collectively, the data obtained suggest the upregulation of hepatic Fas expression and the involvement of the Fas-mediated pathway in HCV-related liver injury. In contrast with experimental studies, sFas in our study failed to protect hepatocytes against Fas-

mediated liver injury. This discrepancy may be attributable to the amount of circulating sFas protein. The inhibition of Fas-Receptor-mediated liver injury by sFas has been reported in mice which were given very large amounts of sFas.<sup>8</sup> Serum sFas levels in mice could have been much higher than those observed in humans, and the levels in chronic hepatitis C patients may not be enough to inhibit the apoptosis caused by Fas ligand on cytotoxic T lymphocytes and its soluble form. Further studies are necessary to clarify the impact of sFas on the Fas-mediated pathway in humans. Thus far, elevation of sFas levels in chronic HCV infection has also been reported,<sup>10</sup> but controversy remains.<sup>11</sup> The

**Table 1.** Factors predictive of a sustained virological response to IFN therapy with 4-week enhanced induction treatment for chronic hepatitis C

Characteristics	Sustained response (n = 5)	No sustained response (n = 10)	P
Age (years)	50 ± 12 52 (37–63)	47 ± 9 45 (33–58)	0.540
Sex (M/F)	4/1	6/4	0.600
Serum sFas (ng/ml)	4.5 ± 0.6 4.4 (3.7–5.3)	3.8 ± 1.0 3.7 (2.3–5.1)	0.178
HCV genotype (1/2)	1/4	8/2	0.089
Serum HCV RNA titer (Meq/ml)	<0.5 (<0.5)	7.3 (<0.5 to 20.0)	0.014
Serum ALT (U/l)	177 ± 189 105 (43–508)	108 ± 103 75 (21–345)	0.327
Histological grading score	7.4 ± 2.3 8 (5–10)	5.0 ± 1.5 5 (3–7)	0.072
Histological staging score	2.2 ± 1.1 3 (1–3)	1.7 ± 1.3 1 (0–3)	0.463
Total IFN dose (MU)	863 ± 302 891 (384–1206)	611 ± 271 597 (276–990)	0.111

Values are given as means ± SD and medians (ranges)

different findings may be attributable to differences in the necroinflammatory grade of the study populations and the different sFas assays used.

In the present study, changes in sFas levels following type 1 IFN administration were investigated. IFN- $\alpha$  and IFN- $\beta$ , members of the type 1 IFN family, are currently used to treat a number of infectious diseases and cancers. A growing number of chronic hepatitis C patients have been treated with type 1 IFNs, but the effectiveness of these agents is often limited due to adverse side effects. The pathophysiological mechanisms have not been well defined. Type 1 IFN-induced hepatotoxicity is one of such adverse effects and causes serum ALT elevation in patients with a virological response. Recently, several studies showed that the antiviral effects were more pronounced in patients treated twice daily with IFN- $\beta$  compared with once-daily dosing, but that IFN-induced liver injury was more common with the twice-daily treatment protocol.<sup>15,16</sup> The present study showed that virological response to high-dose type 1 IFN therapy was not accompanied by a reduction of sFas levels and that serum ALT levels were likely to remain elevated, despite the clearance of circulating HCV RNA. Interestingly, sFas levels in virological responders increased during intravenous twice-daily treatment with IFN- $\beta$ , and the increase was accompanied by an exacerbation of biochemical disease activity.

Acute hepatopathy with elevated serum aminotransferase levels has also been reported in sheep treated with twice-daily administration of IFN tau, a type 1 IFN, and apoptosis was shown to play a critical role in the IFN tau-induced hepatotoxicity.<sup>4</sup> Type 1 IFNs can affect the expression of various genes and induce apoptosis, but the mechanism of the type 1 IFN-induced apoptosis

remains to be explored. Thus far, regulatable expression of the IFN-induced double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR, has been shown to trigger apoptosis, possibly through upregulation of the Fas-Receptor.<sup>17,18</sup> The data obtained in our study support this hypothesis. Elevation of sFas levels and serum ALT activity in virological responders to IFN indicates IFN-induced upregulation of hepatic Fas-Receptor expression and its involvement in type 1 IFN-induced hepatotoxicity. Again, we found that sFas exerted no apparent inhibition of Fas-mediated liver injury during IFN therapy, thus raising further questions as to whether the Fas-mediated pathway is controlled by sFas in humans. Recently, it has been reported that upregulation of sFas can be induced in the very early phase of IFN therapy.<sup>11</sup> Further studies are necessary to work out sFas dynamics in more detail during various treatment regimens.

At present, it remains to be worked out whether sFas levels in chronic hepatitis C are relevant to the therapeutic efficacy of IFN. In the present study, the majority of the patients achieved an end-of-treatment virological response after the enhanced IFN treatment, irrespective of the pretreatment patient characteristics. However, a sustained virological response was related to only the pretreatment viral load. Thus, it was shown that pretreatment circulating sFas levels have little impact on the final therapeutic outcome when patients are subjected to enhanced IFN therapy. Finally, it is likely that upregulation of the Fas-mediated pathway also occurs in other types of liver injury and is accompanied by changes in serum sFas levels. More studies are necessary to address this issue and to further our understanding of sFas.

## References

- Hiramatsu N, Hayashi N, Katayama K, Mochizuki K, Kawanishi Y, Kasahara A, et al. Immunohistochemical detection of Fas antigen in liver tissue of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994;19:1354-9.
- Okazaki M, Hino K, Fujii K, Kobayashi N, Okita K. Hepatic Fas antigen expression before and after interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1996;41:2453-8.
- Mita E, Hayashi N, Iio S, Takehara T, Hijioka T, Kasahara A, et al. Role of Fas ligand in apoptosis induced by hepatitis C virus infection. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;204:468-74.
- Kim HT, Stoica G, Bazer FW, Ott TL. Interferon tau-induced hepatocyte apoptosis in sheep. *Hepatology* 2000;31:1275-84.
- Cascino I, Fiucci G, Papoff G, Ruberti G. Three functional soluble forms of the human apoptosis-inducing Fas molecule are produced by alternative splicing. *J Immunol* 1995;154:2706-13.
- Papoff G, Cascino I, Eramo A, Starace G, Lynch DH, Ruberti G. An N-terminal domain shared by Fas/Apo-1 (CD95) soluble variants prevents cell death in vitro. *J Immunol* 1996;156:4622-30.
- Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP, Brauer MJ, Kiefer MC, et al. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 1994;263:1759-62.
- Kondo T, Suda T, Fukuyama H, Adachi M, Nagata S. Essential roles of the Fas ligand in the development of hepatitis. *Nat Med* 1997;3:409-13.
- Krams SM, Fox CK, Beatty PR, Cao S, Villanueva JC, Esquivel CO, et al. Human hepatocytes produce an isoform of Fas that inhibits apoptosis. *Transplantation* 1998;65:713-21.
- Iio S, Hayashi N, Mita E, Ueda K, Mochizuki K, Hiramatsu N, et al. Serum levels of soluble Fas antigen in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 1998;29:517-23.
- Yoneyama K, Goto T, Miura K, Mikami K, Ohshima S, Nakane K, et al. The expression of Fas and Fas ligand, and the effects of interferon in chronic liver diseases with hepatitis C virus. *Hepatology* 2002;24:327-37.
- Seishima M, Takemura M, Saito K, Sano H, Minatoguchi S, Fujiwara H, et al. Highly sensitive ELISA for soluble Fas in serum: increased soluble Fas in the elderly. *Clin Chem* 1996;42:1911-4.
- Endo S, Inada K, Takakuwa T, Kasai T, Yamada Y, Wakabayashi G, et al. Nitrite/nitrate (NOx) and sFas antigen levels in patients with multiple organ failure. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996;92:253-6.
- Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-5.
- Shiratori Y, Perelson AS, Weinberger L, Imazeki F, Yokosuka O, Nakata R, et al. Different turnover rate of hepatitis C virus clearance by different treatment regimen using interferon-beta. *J Hepatol* 2000;33:313-22.
- Asahina Y, Izumi N, Uchihara M, Noguchi O, Tsuchiya K, Hamano K, et al. A potent antiviral effect on hepatitis C viral dynamics in serum and peripheral blood mononuclear cells during combination therapy with high-dose daily interferon alfa plus ribavirin and intravenous twice-daily treatment with interferon beta. *Hepatology* 2001;34:377-84.
- Balachandran S, Kim CN, Yeh WC, Mak TW, Bhalla K, Barber GN. Activation of the dsRNA-dependent protein kinase, PKR, induces apoptosis through FADD-mediated death signaling. *EMBO J* 1998;17:6888-902.
- Donze O, Dostie J, Sonenberg N. Regulatable expression of the interferon-induced double-stranded RNA dependent protein kinase PKR induces apoptosis and Fas receptor expression. *Virology* 1999;256:322-9.

病診連携における最新ウイルス肝炎の診療

●診断法

B型肝炎ウイルスマーカーの意味とその選択法、  
これを用いた臨床診断

原 田 英 治<sup>\*1</sup> 矢 倉 道 泰<sup>\*2</sup> 上 司 裕 史<sup>\*2</sup> 時 田 元<sup>\*2</sup>  
田 中 晃 久<sup>\*2</sup> 福 井 秀 雄<sup>\*2</sup> 多 賀 谷 健<sup>\*2</sup> 亀 井 宏 治<sup>\*2</sup>

Key Words

B型肝炎ウイルス  
B型急性肝炎  
B型慢性肝炎  
HBV  
HBV DNA

<sup>\*1</sup> 独立行政法人国立病院機構東京病院統括診療部  
<sup>\*2</sup> 同・消化器科

はじめに

肝炎ウイルス感染症としてのB型肝炎は、B型肝炎ウイルス(HBV)の急性感染および持続感染としてとらえることができる。その診断は肝機能検査とHBVおよび感染宿主が産生した各種HBV関連抗原・抗体(B型肝炎ウイルスマーカー)の測定によってなされる。HBV遺伝子(HBV DNA)の種々の変異の出現は、ウイルスの増殖能およびHBVに対する宿主の免疫応答に種々の変化をきたし、HBV感染の病態を変化させる。変異を含んだHBV遺伝子の解析、各種HBV関連抗原、抗体の検出により、HBV感染の病態をより正確に把握することができる。

B型肝炎ウイルスの構造

B型肝炎ウイルスはHBs抗原という外被(殻)にHBc抗原という芯(core抗原)が包まれた構造をもち、肝内のみで増殖する。core粒子内部にHBV遺伝子(HBV DNA)とDNAポリメラーゼおよび逆転写酵素を含有する。

血液中には、HBc抗原がHBs抗原に覆わ

れた42nmの完全なHBV粒子(発見者の名前をとってDane粒子ともいう)と、それ以外に外被(殻)であるHBs抗原のみが管状粒子および小型球形粒子(直径22nm)となって存在する(図1)。管状および小型球形粒子はHBV DNAを持たず増殖能はなく、感染性はない。

HBV DNAは約3,200塩基対からなる不完全環状二本鎖DNAであり、pre-S/S、pre-core/core(pre-C/C)、P、Xのアミノ酸に翻訳可能な4つの遺伝子領域・転写読解枠(open reading frame)が存在する。

HBVの増殖

不完全二本鎖のDNAを持つHBVは感染後核内で、DNAポリメラーゼの働きにより完全な二本鎖環状になり閉環する。この閉環二本鎖DNA(ccc DNA)を鋳型にmRNAが合成される。その後、mRNAを鋳型にHBs抗原やHBe抗原などの抗原タンパク質が産生される。それと同時にRNA依存性DNAポリメラーゼの逆転写活性により二本鎖DNAが合成される(図2)。

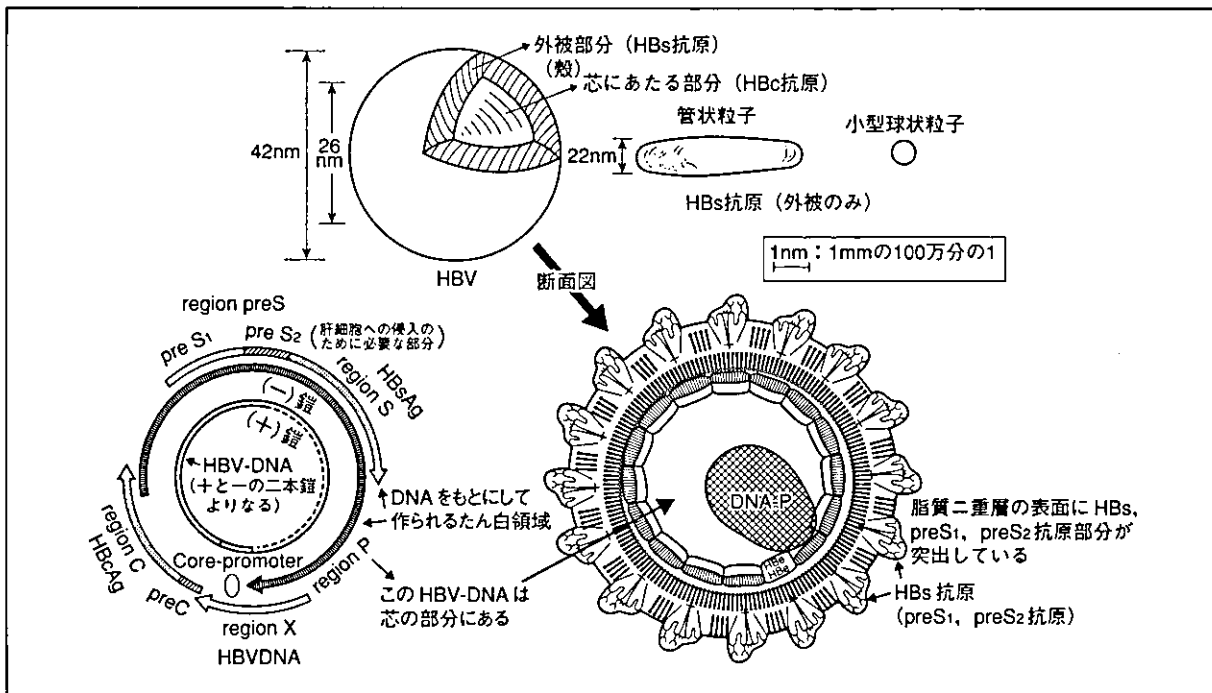


図1 HBV-DNAの構造とたん白コード領域—B型肝炎ウイルスの模型  
 (Galibert F: Nature 281:646-650, 1979 を一部改変) (西岡久壽彌によるものを改変)

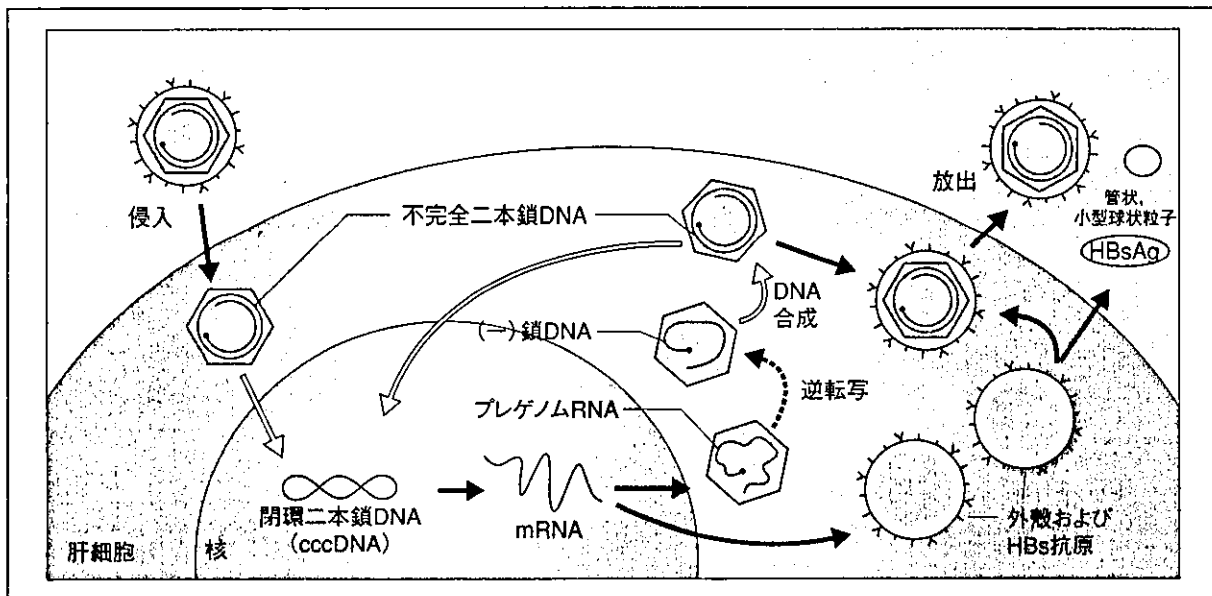


図2 HBVの増殖過程

### B型肝炎ウイルスマーカーとその検出 (表1)

HBV感染の指標 (B型肝炎ウイルスマーカー) として、肝組織内、血液中のHBV DNA, 粒子蛋白としてHBc抗原, HBs抗原,

可溶性蛋白としてHBe抗原, さらにHBV関連DNAポリメラーゼ活性がある. 血液中のHBc抗原, 肝組織中のDNAポリメラーゼ活性は通常の方法では検出されない. さらに, 感染個体が免疫応答により産生する各種抗原蛋白に対する抗体が検出される. 各種抗原・



表1 B型肝炎ウイルスマーカーの臨床的意義

HBs 抗原	HBV 感染状態
HBs 抗体	
HBc 抗体	過去の HBV 感染, 中和又は感染防禦抗体
	過去の HBV 感染 (多くの場合 HBs 抗体陽性)
IgM-HBc 抗体	HBV 感染状態 (ほとんどの場合 HBs 抗原陽性)
	B 型急性肝炎とその後数カ月, B 型慢性肝炎の急性増悪期
HBe 抗原	B 型急性肝炎時
	血中 HBV 多い (感染性強い)
HBe 抗体	肝炎例では肝炎の持続性, HBV 増殖のマーカー
	血中 HBV 少ない (感染性弱い), 肝炎例少ない
HBV 関連 DNA-P	血中 HBV 量を示す, 抗ウイルス効果の指標
HBV DNA	
	HBV 増殖のマーカー

(日本消化器病学会肝機能研究班: 肝疾患におけるウイルスマーカーの選択基準 (3 版), 日本消化器病学会雑誌 98:206-213, 2001 より引用, 一部改変)

抗体 (HBs 抗原・HBs 抗体, HBc 抗体, HBe 抗原・HBe 抗体) は, 通常免疫血清学的方法により検出される。凝集反応 (PHA 法, RPHA 法, PA 法, HI 法), ラジオイムノアッセイ法 (RIA 法), 酵素抗体法 (EIA 法), 化学発光免疫測定法 (CLIA), 化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) などで測定される。

血中 HBV DNA は分子ハイブリダイゼーション法 (Dot-blot または液相ハイブリダイゼーション), 分岐 DNA プローブ法, さらに検出感度を高めるため核酸増幅法と化学発光を利用した HPA (hybridization protection assay) 法を組み合わせた TMA (transcription mediated amplification) 法や PCR 法で検出される。HBV 関連 DNA ポリメラーゼ活性は, 放射性同位元素標識デオキシリボヌクレオチドを基質として DNA 合成反応を行い測定するが, その活性が不安定であることと感度が低いことから HBV DNA に置き換わっている。

### B型肝炎ウイルスマーカーの臨床的意義 (表2)

#### 1. HBs 抗原と HBs 抗体

HBs 抗原は HBV の外被蛋白で, 血液中には HBV 粒子および管状粒子, 小型球形粒子

として存在する。血液中 HBs 抗原が陽性であることは, HBV 感染が現在成立し, その個体の肝組織に HBV が存在していることを示す。B 型急性肝炎, 無症候性 HBV キャリア, B 型慢性肝疾患などである。

HBs 抗体は HBV に対する感染防禦抗体 (中和抗体) である。HBs 抗体陽性は過去に HBV 感染が成立したか, HB ワクチン接種により HBs 抗体が産生されていることを示す。

HBs 抗原と HBs 抗体の共存が認められることがあるが, HBs 抗原とサブタイプの異なる HBs 抗体 (サブタイプ特異抗原決定基に対する抗体) の存在, HBV 変異株 (escape mutant) の出現などが推定される。

#### 2. HBc 抗原と HBc 抗体

HBc 抗原は HBs 抗原で被覆されているので, 通常, 遊離の状態では血液中には存在しないので検出されない。

HBc 抗体は HBc 抗原に対する抗体で, 既往の感染および現在の HBV 感染いずれでも検出される。

IgG 型 HBc 抗体として検出されるが, 抗体価の高低により既往感染か HBV 感染中かの区別が可能である。低抗体価陽性は既往の感染を示し, HBs 抗体も陽性の場合が多い。

表 2

B 型肝炎ウイルスマーカーと基準値		—保険適応外：▲—		
HBs 抗原	8 倍未満 (-) (PA 法) 0.05 IU/ml 未満 (-) (CLIA) 0.5 IU/ml 未満 (-) (CIA) 1.00 S/N 未満 (-) (EIA) 1.0 COI 未満 (-) (CLEIA) 1.0 COI 未満 (-) (RIA) 2.0 S/N 未満 (-) (M-EIA)			
HBs 抗体	4 倍未満 (-) (PA) 8 倍未満 (-) (PHA) 10.0 mIU/ml 未満 (EIA)			
HBc 抗体	64 倍未満 (-) (PHA)			
HBe 抗原	4 倍未満 (-) (RPHA) (-) (RIA)			
HBe 抗体	4 倍未満 (-) (HI) (-) (RIA)			
	(RIA 法)	陰性	判定保留	陽性
HBc 抗体	inhibition%	29.9 以下	30 ~ 69	70 以上
IgM-HBc 抗体	cut off index	0.9 以下		1.0 以上
HBe 抗原	cut off index	0.9 以下	1.0 ~ 1.9	2.0 以上
HBe 抗体	inhibition%	29 以下	30 ~ 69	70 以上
HBV-DNA	3.0 pg/ml 未満 (液相ハイブリダイゼーション法) 2.6LOG コピー/ml 未満 (PCR 法) 0.7 Meq/ml 未満 (分岐 DNA プローブ法) 3.7 LGE/ml 未満 (TMA-HPA 法)			
HBV-DNA ポリメラーゼ	30cpm 未満 (RIA 法) 20cpm 以下 (Kaplan 変法)			
HBV-DNA	pre-core 遺伝子, core promoter 遺伝子の変異 (wild, mutant の比率) ▲ラミブジン耐性遺伝子 (PCR 法) (YMDD 野生型: Met-YMDD, 変異型: Val-YVDD, Ile-YIDD)			
▲ HBVgenotype	A ~ F (PCR 法) (EIA 法)			

HBV キャリア, さらに B 型慢性肝炎では高抗体価陽性を示す. RIA 法, EIA 法で 200 倍稀釈血清による阻止率 70%以上, PHA 法で  $2^{12}$  倍以上, HI 法で  $2^8$  倍以上を高抗体価とする.

### 3. IgM-HBc 抗体

B 型急性肝炎では抗体価が上昇する. HBs 抗原が早期に消失した場合でも本抗体価の上昇で B 型急性肝炎の診断が可能である. HBV キャリアの急性増悪時, B 型慢性肝炎の急性

増悪時にも低抗体価で陽性となることがある.

### 4. HBe 抗原と HBe 抗体

HBe 抗原は HBV の増殖に伴って, HBV 粒子とは別に, 可溶性抗原蛋白として血液中に放出される. HBe 抗原を産生する HBV は野生株 (wild type) であり, HBV DNA の遺伝子配列に変異は存在しない. HBe 抗原が陽性であることは血液中に変異のない野生株の HBV が存在し, 感染性が高いことを示す.

HBe 抗原陽性の無症候性キャリアは肝炎を発症する可能性があり、慢性肝炎では肝炎の活動性が高い例が多い。

HBe 抗体は HBe 抗原に対する抗体であり、HBe 抗原の産生の低下、停止後に血液中に検出される。B 型急性肝炎では回復期から検出される。HBV キャリアでは pre-C あるいは core promoter 遺伝子に変異が生じた変異株 (mutant type) が存在し、このようなキャリアでは HBe 抗原から HBe 抗体への転換 (SC) が起こっている。血液中 HBV 量は低下し、肝炎は鎮静化している例が多い。

**5. HBV DNA と HBV 関連 DNA ポリメラーゼ (DNA-P) 活性**

HBV DNA は HBV 遺伝子であり、DNA-P は core 粒子内に存在し、HBV 粒子の多寡の指標となる。血液中の HBV 量を示し、肝組織における HBV の増殖状態を反映する。B 型急性肝炎では潜伏期から病初期に検出される。B 型慢性肝炎では肝炎の増悪に先行して増量する。抗ウイルス剤の適用、効果測定の指標となる。

**6. HBV genotype (ジェノタイプ)**

B 型肝炎ウイルスはその遺伝子配列の系統的近縁性から現在までのところ A ~ H 型までの 8 つのジェノタイプに分類されている。アジアでは B と C が、欧米では A と D が中

心である。日本人では約 7 ~ 8 割がジェノタイプ C で残り 1 ~ 2 割がジェノタイプ B であり、ジェノタイプ A は稀である。このジェノタイプによって臨床的特性が異なる可能性が最近指摘されている。B 型慢性肝炎ではジェノタイプ C に比べてジェノタイプ B はより若年で HBe 抗体への転換 (SC) が起こり肝炎が鎮静化する例が多い。一方、B はさらに本邦に多い Bj と他のアジアの地域に多い Ba に分類されるという報告がある。Ba は若年で肝癌を発症する率が高いとする報告がある。急性 B 型肝炎では A が 20% 以上みられる地域がある。外国人との性的接触により感染した可能性が示唆されている。また A では肝炎が遷延慢性化したり、免疫抑制剤などを使用していない状態でもキャリア化する可能性が報告されている。

**7. HBV 変異株**

① HBs 抗原をコードしている S 領域の遺伝子配列の 433 番目の塩基が、G から A に変わることによって、対応する 145 番目のアミノ酸残基がグリシンからアルギニンに変化した変異株の存在が明らかにされた (図 3)。この変異株は、従来のワクチンで生体に能動的に作らせた HBs 抗体とは反応しないワクチンエスケープミュータントであり、我が国でも母児感染防御失敗例にこの変異株の存在が明らかにさ

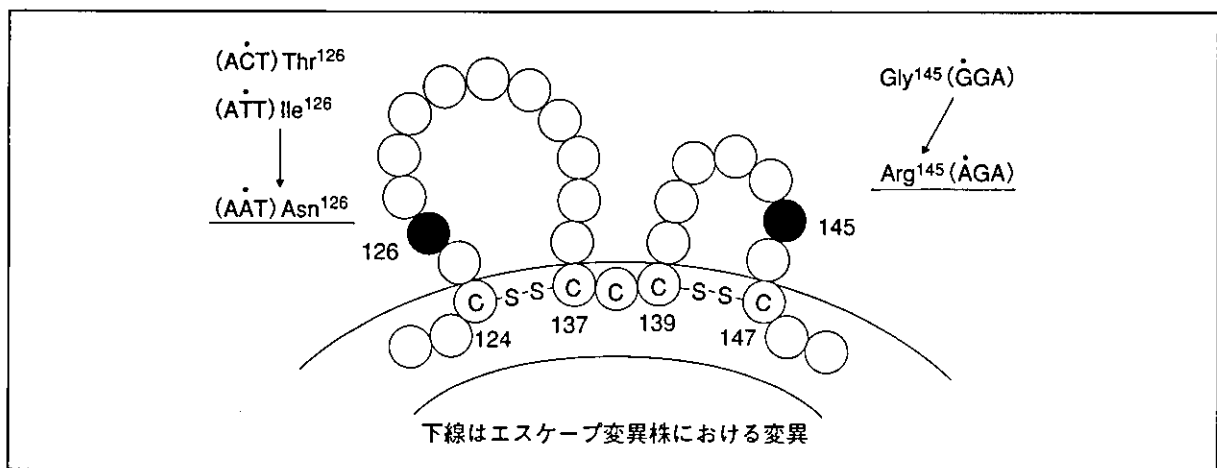


図 3 HBs 抗原の共通抗原基におけるアミノ酸変異

れた。この他に126番目のスレオニンまたはイソロイシンがアスパラギンに置換されている変異株の存在も指摘されている。対策としては、HBVが肝表面に接着侵入する際に必要とされるレセプター部分のプレS抗原を含んだ遺伝子組換えワクチンの使用で、能動的にプレS2抗体を作らせれば感染を防禦できることがわかっている。

②HBV遺伝子のpre-core領域の1896番目の遺伝子配列がG→Aへ変異することで、HBe抗原の産生が出来なくなる。これを契機に、感染宿主であるHBVキャリアはHBe抗原陽性からHBe抗体へと転換する（SC：セロコンバージョン）、pre-core遺伝子の変異はtranslation（翻訳）の過程で、core promoter遺伝子の変異はtranscription（転写）の過程でそれぞれHBe抗原の産生の抑制に参与する。

多くはこの状態で肝炎が鎮静化し、無症候性キャリアとなる。しかし、このpre-core変異株の感染を受けると劇症肝炎となる場合がある。また、HBe抗体陽性でもpre-core変異株の増殖によりウイルス増殖が起こる例がある。この場合、肝病変は進行性である。また、core領域やcore-promoter領域の変異も肝病変

の進展と関連していることが報告されている。

③最近では、抗ウイルス薬であるラミブジン抵抗性が、polymerase領域のYMDDモチーフの変異、すなわちYVDDあるいはYIDDに変化することで起こるとされている。

### B型肝炎ウイルスマーカーを用いた臨床診断

B型肝炎ウイルスには2つの異なった感染後の経過があることを理解しておく必要がある。第1は免疫機構が充分発達した成人に感染した場合の経過であり、第2は免疫機構の発達が未成熟の乳幼児（6歳以下）に感染した場合の経過である。

(1)成人においては一過性の急性肝炎を起こし数カ月の経過で自然治癒し、ウイルスキャリアとなることは稀である（図4）。すなわち、感染後40日から最長1年の潜伏期の後HBs抗原が出現する。やや遅れ、肝逸脱酵素であるALTが上昇し、肝炎の症状である全身倦怠、食欲不振が起こる。その間ウイルス増殖が盛んであることを示すHBV DNA、DNAポリメラーゼ、HBe抗原が出現し、肝

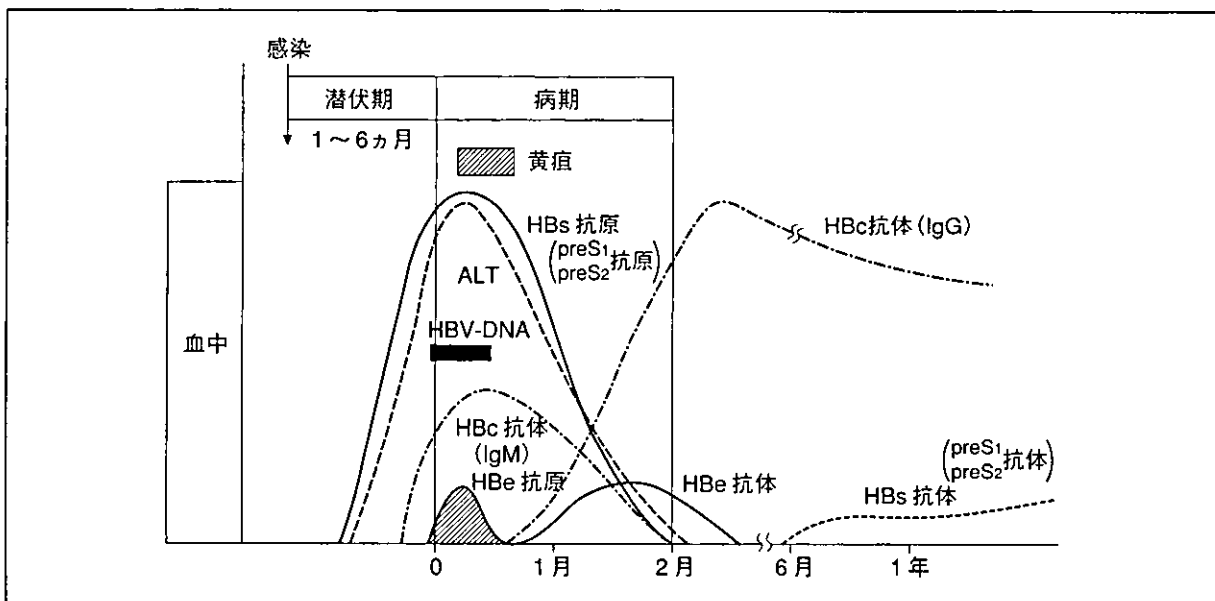


図4 B型急性肝炎におけるウイルスマーカーの変動

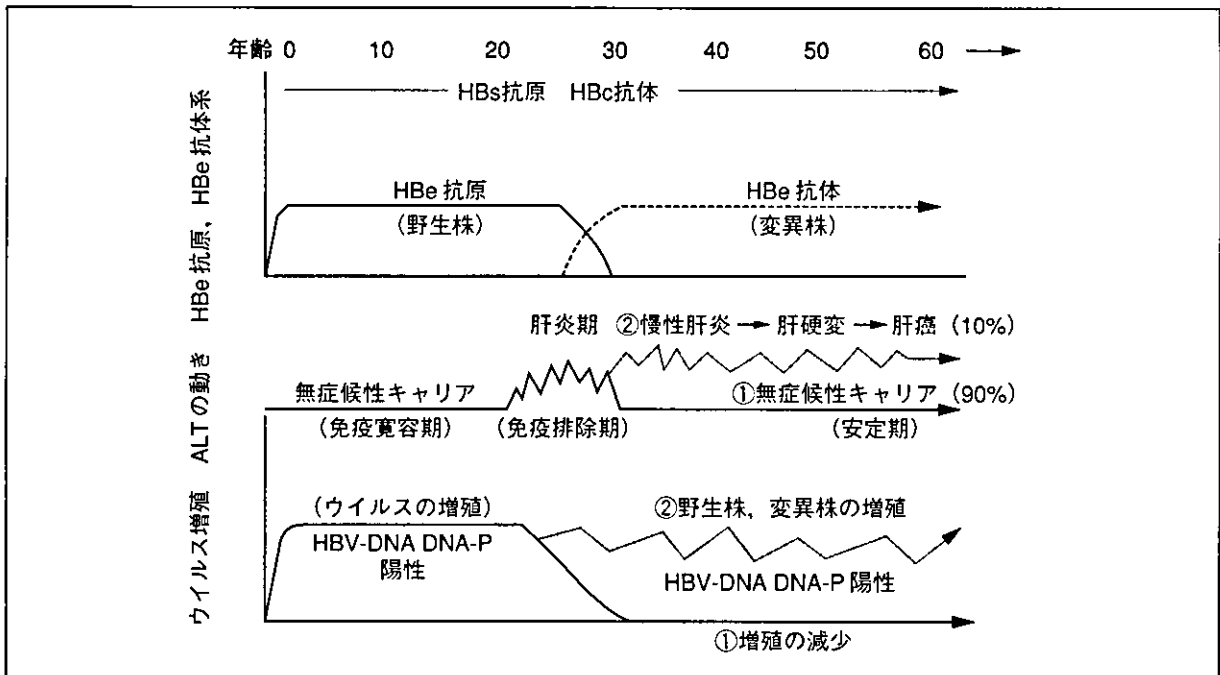


図5 B型肝炎ウイルスキャリアの自然経過

機能の改善とともにこれらは消失し、前後してHBe抗体、IgM型HBc抗体とそれに引き続きIgG型HBc抗体の出現がみられる。中和抗体であるHBs抗体は、数カ月後に陽性となる。HBs抗体はかなりの期間持続するので、一度肝炎にかかり抗体を獲得したものは二度と感染しない。

(2) 乳幼児の感染においては、肝炎は不顕性で症状が軽いか全くないが、容易にウイルスキャリアとなる(図5)。最初HBe抗原陽性、HBV DNA、DNAポリメラーゼが陽性のウイルスの増殖の強い時期ではあるが、肝障害のない無症候性キャリアの時期がある(免疫寛容期)。肝炎ウイルスに対する免疫能が回復した結果、肝障害が起こる肝炎期を経て(免疫排除期)、HBe抗原陽性からHBe抗体への転換(SC)が起こりウイルスの増殖能の低下したHBe抗体陽性の肝障害のない無症候性キャリアに再びなり、その後は一生大過なく過ごす(安定期)。この経過はキャリアの9割以上にみられ、いわばキャリアのたどる自然経過である(図5中①の経過)。しかし、

残りの1割はHBe抗原陽性のまま、あるいはHBe抗体陽性で変異株の増殖がみられる状態で肝障害が持続し、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌へと進行する(図5中②の経過)。

(3) B型急性肝炎とHBVキャリアからの急性増悪との鑑別：無症候性HBVキャリアからの急性増悪では、急性肝炎様の臨床症状と検査成績を示すことがある。そこでB型急性肝炎との鑑別が重要となる。発症初期のIgM-HBc抗体価が高値陽性(カットオフ値が2.5~5.0以上)で、200倍希釈HBc抗体陰性もしくは低抗体価陽性ならば急性肝炎、IgM-HBc抗体陰性もしくは低抗体価陽性で、200倍希釈HBc抗体価が高値陽性ならばキャリアからの急性増悪と鑑別できる。

また、健康成人のB型急性肝炎では持続感染の成立はまれであり、回復期にはHBs抗原が陰性化するが、キャリアからの急性発症ではトランスアミナーゼ値が正常化あるいは低下した後もHBs抗原は持続陽性であるので、2~3カ月の経過観察により両者の鑑別が出来る。

## まとめ

B型肝炎ウイルスマーカーの種類とその診断意義について述べた。上記マーカーにより病態の把握は可能であるが、予後に関するマーカーの開発の研究は進行中であり、さらに新たな治療薬に対する適応と治療効果判定のためのマーカーなどが開発されつつある。

## 文献

- 1) 三田村圭二：分子肝臓病学 B型肝炎ウイルスゲノムの全塩基配列。日本臨牀 51:257-261, 1993
- 2) 三田村圭二：慢性肝炎診療マニュアル。B型肝炎の検査・診断, p.30-37, 2001

## 著者連絡先

(〒204-8585)  
清瀬市竹丘 3-1-1  
独立行政法人国立病院機構東京病院統括診療部・消化器科  
原田英治

# 急性肝炎の最近の動向と対処法

矢倉道泰<sup>1)</sup> 原田英治<sup>2)</sup> 独立行政法人国立病院機構東京病院 1) 消化器科医長 2) 統括診療部長

○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○  
 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○  
 ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

## SUMMARY

肝機能が高値異常で発見された場合の鑑別疾患として頻度の多いものから A 型や B 型急性肝炎, B 型慢性肝炎の急性増悪, 薬剤性肝炎, 急性アルコール性肝炎, 若年者ではサイトメガロウイルス感染, EB ウイルス感染, 中年女性では自己免疫性肝炎の急性発症などをまず疑い, その他胆石肝炎, 胆管癌, 膵頭部癌による閉塞性黄疸, C 型, E 型急性肝炎, shock liver などとも考慮する. 本稿では以上の疾患について最近の動向を含め解説した.

## I

## 急性ウイルス性肝炎

### 概念・頻度

急性ウイルス性肝炎は肝炎ウイルスが肝細胞内で特異的に増殖することによって引き起こされる急性炎症であり, 肝細胞以外で増殖するウイルスによる急性肝障害は特殊なタイプの肝炎として区別される. 現在まで A~E 型肝炎ウイルスの存在が明らかになっている. 1~2%は劇症化するので早期の診断と予測, 的確な肝補助療法が重要である. 国立病院急性肝炎研究班の調査によると 1980 年から 1997 年までのわが国の散発性急性肝炎の発生状況は総患者 3,052 例中, A 型が 1,321 例 (43.3%), B 型が 751 例 (24.6%), C 型が 249 例 (8.2%), その他が 731 例 (24%) で A

型が最も多い<sup>1)</sup>. D 型ないし E 急性肝炎はまれであるが E 型肝炎は最近, わが国で報告が相次いでいる.

### ① A 型肝炎

#### a. 疫学

最近の特徴として, 冬から春に多い季節発生であったのが 1 年を通じて発生するようになり感染様式の多様性を示唆している. また罹患年齢の上昇とそれに伴う重症化の増加があげられる. 約 20 年前までは 40 歳以上では 90%以上が HA 抗体をもっていたが最近では衛生環境の改善により 40 歳代でも 20%以下に低下している. 一度感染す

ると永久免疫が成立し、再感染はみられない。

#### b. 感染経路

ウイルスで汚染された飲食物（生の魚介類や A 型の高浸淫地域である東南アジア、中国、南米からの輸入生鮮食品）を介した経口感染、あるいは飲食物を介さない直接の経口感染もある。男性同性愛者・両性愛者の oral-anal-contact の性行為が感染経路としてあげられ、男性同性愛者の流行も報告されている。欧米ではすでに STD と認識されている。家族内発生もあるが小児では症状がでにくく血液検査をしないと診断がつかないこともある。キャリアはいないので血液を介する感染はない。肝炎発症前後の患者糞便中に多量に排泄され、これが感染源になるため患者が発症した時点ではすでにほかに感染させた可能性がある。患者から排泄された HAV は発症後 3 ヶ月間を経過しても検出されることがある。

#### c. 臨床症状

HAV そのものには殺肝細胞作用はなく、T 細胞を介した免疫応答で肝細胞破壊が起こる。B 型や C 型肝炎と比べて発症期に 38℃ 以上の発熱をみる事が多く、食思不振、悪心、嘔吐などの消化器症状が強いのが特徴である。

#### d. 経過

通常は良好で 2～3 ヶ月で治癒する。高齢者や慢性肝疾患を合併しているものでは重症化の頻度が高くなるので注意を要する。一つは A 型肝炎そのものの重症化、劇症化であり、ほかは肝外合併症による全身状態の悪化である。HIV 感染者に発生した場合は血清中の HAV 存続期間が非 HIV 感染者よりも長く、肝機能が正常化しても存続する。

#### e. 肝外合併症

肝臓以外の臓器にも異常のみられることがある。腎障害は 20～30% にみられ軽度から急性腎不全までさまざまである。血液疾患として再生不

良性貧血、赤芽球癆、血小板減少症、自己免疫性溶血性貧血、その他、肺炎、胸膜炎、心筋炎、ギランバレー候群などの報告がある。エンドトキシン、サイトカイン、免疫複合体などの関与が考えられている。

#### f. 診断

IgM 型 HA 抗体が陽性となるが発症より 1 週間後では 10～20% の症例で陰性のため注意を要する。TTT 高値となる。潜伏期間は 2～6 週間とされ、ウイルス量が多いほど短い。

#### g. 予防

HAV 高浸淫地域への旅行者、長期滞在者、A 型肝炎患者家族、A 型肝炎流行時の周囲住民幼稚園・保育園従事者などでは A 型肝炎ワクチンが勧められる。1 回 0.5 μg を皮下あるいは筋注で行い 2～4 週間の間隔で 2 回接種すれば 6 ヶ月以上、最小感染阻止濃度以上の抗体価が得られる。さらに 6 ヶ月間以上の間隔で第 3 回目の接種を行えば 5 年以上、上記濃度は維持される。副反応は全体で 5% にみられ局所の疼痛、発赤と全身倦怠感である。最近、Koff らは、A 型肝炎や C 型肝炎を有する B 型肝炎の重複感染は、単独のウイルス肝炎よりも重症な肝障害を引き起こすため、HAV と HBV のワクチンは HCV 感染と診断された患者にはルーチンに投与されるべきであると述べている<sup>2)</sup>。

## ② B 型肝炎

#### a. 疫学

HBV はその遺伝子配列の系統的近縁性から A～G 型までの 7 つの genotype に分類されている。genotype A は北ヨーロッパ、genotype B、C は東アジア、genotype D は広く世界に分布しとくに地中海、genotype E は西サハラ、genotype F はアメリカ大陸に多い。日本人の 7～8 割が genotype C で残りが genotype B で A はまれで



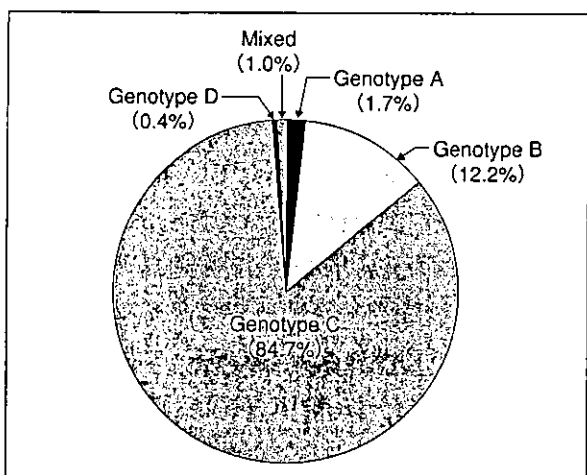


図1 日本人のHBV genotype の分布  
(文献3)より引用)

ある<sup>3)</sup>(図1), genotype Cの占める割合は九州から東北にかけてだんだん少なくなっている(沖縄: genotype B/C 60%/39%, 北海道: genotype B/C 96%/2%)。この genotype によって臨床的特性が大きく異なることが示されている<sup>4)</sup>。しかし急性肝炎に限ってみると2割前後が genotype Aで関東に多く、外人との接触機会が多いからではないかと推測されている。この genotype に感染すると成人でも、また免疫抑制剤を使わなくても遷延化することが指摘されている。なぜこの genotype が遷延化するかについては今のところ不明である。

#### b. 感染経路

非経口感染であり、感染源としては血液が主であるが、唾液、尿、便、精液も感染源になりうる。しかし通常はハネムーン肝炎やツーリスト肝炎と呼ばれ性交渉による感染が多い。HBe 抗原陽性者からの配偶者間感染では結婚後半年以内に10~20%が急性肝炎を発症するが慢性化することはなく、残りも一過性の不顕性感染で終わることが多い<sup>5)</sup>。

#### c. 臨床症状

感染しても症状がはっきりせず気づかれないこ

とがほとんど(不顕性感染)で症状があつて来院する顕性感染は20%である。その内容は38℃以上の発熱をみることもあるがA型より少ない。全身倦怠感、食思不振、悪心、嘔吐などの消化器症状もA型より軽いことが多い。

#### d. 診断

過去にHBs 抗原陰性であった人がIgM型HBc抗体陽性かつHBc抗体低力価で診断される。ただしIgM型HBc抗体はB型慢性肝炎の急性増悪でも陽性になることがあるためHBc抗体価の測定が必要である。すなわち慢性肝炎からの急性増悪ではHBc抗体価は高値であり、初感染では低力価である。またB型急性肝炎ではHBs 抗原が1~2ヵ月で消失する。

#### e. 経過

通常は宿主側の免疫応答によるウイルス排除によりほとんどの症例で発症後約3ヵ月以内に血清トランスアミナーゼ値は正常化するが1~2%で劇症肝炎になる。感染源のHBV precore 領域や core promoter 領域の変異が関係する。HIV 感染や担癌状態、抗癌剤使用例、糖尿病合併例、高齢者などでは慢性化・キャリア化することがある。また肝炎の急性期に安易にプレドニゾンやグリチルリチン製剤(強力ネオミノファーゲンC<sup>®</sup>)を使用して免疫を抑制するとウイルスの排除を妨げ遷延化する場合がある。

#### f. 肝外合併症

レイノー現象、糸球体腎炎、胸膜炎、心筋炎、関節炎、sicca 症候群などの報告がある。

#### g. 予防

HBV 感染針刺し事故では24時間以内にHBIGの投与、感染源がHBe 抗原陽性で感染力が強い場合はHBワクチンを1ヵ月後、3ヵ月後、6ヵ月後の3回併用投与する。

## ③ C型肝炎

### a. 疫学

HBV に比べ血中ウイルス量は1万～100万分の1にすぎず、B型肝炎よりも明らかに感染の頻度が低いにもかかわらずHCV初感染後、70%が慢性化する。

### b. 感染経路

B型肝炎同様、非経口感染であり、感染源としては血液が主であるが唾液、尿、便、精液も感染源になりうる。輸血、針刺し事故、刺青、覚醒剤の回しうちなどで感染することが多い。夫婦間感染は約3%でまれとされているがわれわれは最近、5組の夫婦間感染を経験した<sup>6)</sup>。興味あることにそれらのうち4組は64～77歳という高齢でしかも結婚してから39～50年も経過していた。性交渉も月に1～2回ありほかの感染経路も否定的であった。HCVの遺伝子解析でE1領域の96.3～99.5%の相同性がみられ、感染後HCV抗体の上昇がみられた。全身倦怠感、褐色尿などの顕性感染が2人、ほかの2人は検診で肝機能異常がみつかった。なぜ高齢になってから感染したかは不明だが、高齢に伴う性器粘膜の萎縮、免疫力の低下などが考えられた。Akahaneらも同様に結婚期間が長ければ長い程、夫婦間感染の割合は増加すると報告している<sup>7)</sup>。

### c. 診断

肝炎発症以前のHCV抗体陰性で上述のような感染の機会があり、HCV-RNAが陽性であること。HCV抗体は発症後陽転するまでに1～3ヵ月かかり、その後抗体価は徐々に上昇してくる。

### d. 経過と治療

HCV感染後の慢性化率は70%であり、慢性化した場合はHCVの自然排除はまれである。急性C型肝炎から慢性肝炎への移行は、多峰性のトランスアミナーゼの上昇、HCV-RNAの持続高値

を認める例に多く、発症後3ヵ月以上経過してもトランスアミナーゼが正常化せずHCV-RNAが陽性であった場合、インターフェロン(IFN)療法を行うことが望ましいとされている<sup>8)</sup>。Gerlachらは60例のC型急性肝炎を報告し、51例が有症状のうち46例は無治療で経過をみて24例が3ヵ月以内にウイルスがクリアされた。一方、無症状であった9例は全例、慢性化した。3ヵ月以上HCVが消失しない例にIFNを投与し91%にウイルスの消失を認め、その効果はgenotypeやウイルス量に無関係であった<sup>9)</sup>。

## ④ D型肝炎

### a. 疫学

HBVキャリアの多いアフリカや地中海に多い。HDV自身では増殖不能な欠陥ウイルスであるためにHBVと常に共存している。したがってHBVキャリアへの重複感染、あるいはHBVと同時感染により感染が成立する。わが国ではHBVキャリアにおける $\delta$ 抗体陽性率は約1%と少ないが、その多くは持続感染である。重複感染ではB型慢性肝炎の急性増悪や肝硬変への早期の進展をきたす。同時感染では一過性の急性肝炎で終わることが多い。D型急性肝炎ではB型急性肝炎単独に比べて劇症化を起こす頻度が高い。劇症化率は重複感染で10～20%、同時感染で2～20%と報告されている。

### b. 感染経路

B、C同様に非経口感染であり、感染源としては血液が主であるが、性的接触、唾液、尿、便、精液も感染源になりうる。

### c. 診断

HDV抗体を測定する。HDV抗体はHBc抗体に相当すると考えられている。その他、IgM型HDV抗体、HDV-RNAなどのマーカーがある。

## ⑤ E型急性肝炎

### a. 疫学

HEV抗体はブタ、ヒツジ、ウシ、ニワトリ、ネズミ、サルなどの動物で検出される。最近、日本固有のE型肝炎ウイルスによる感染が野生シカや野生イノシシ、ブタレバー生食を介して発生し、いわゆる zoonosis (人畜共通感染症) の可能性を示唆する報告が相次いでいる。わが国の多施設で1991～2001年の間に原因不明の急性肝炎であった90人の保存血清を調べた結果、13%がE型肝炎であった。日本では「東高西低」でとくに北海道に多い。

### b. 感染経路

経口感染で腸管から門脈を経て肝臓に達し、肝細胞で増殖し胆汁として腸管から糞便とともに体外へ排出される。かつてはHEVの浸淫地域への旅行で感染し帰国後に発病する「輸入感染症」として知られていたが最近、輸入によらない肝炎の報告が相次いでいる。HEVのウイルス血症の持続期間は発症から2～3週間程度であるので輸血やdrug abuseによる感染もありうる。日本では2002年に不顕性感染のwindow期献血による輸血後E型肝炎が発生した。家族内感染は非常に

少ないとされている。性交渉による感染を示唆する報告もある。A型肝炎では二次感染が頻発するのにE型肝炎ではまれであり、その理由は不明である。

### c. 症状

全身倦怠感、食思不振、吐き気、などの消化器症状や高熱などA型肝炎に類似している。発黄率は80%前後である。

### d. 診断

潜伏期は2～7週間でA型肝炎よりやや長い。IgM型HE抗体は発症後2～6週間で陰転し、IgGクラスは数年～数十年陽性が持続するとされる。浸淫地域への渡航歴と除外診断。HEV抗体の測定あるいはHEV-RNAの確認によりなされる。

### e. 予後

自然経過で約1～2ヵ月で治癒し慢性化しない。2～3%に重症肝炎がみられる。死亡率は1～2%でA型肝炎よりも高い。流行地での発症年齢は15～40歳と比較的若い成人に集中している。妊婦が妊娠後期に発症した場合は劇症肝炎の発生率が高く死亡率が20～30%に及ぶ。日本での劇症肝炎の発症は20例に満たないが中年以上の男性に多く、妊婦は一人もない。

## II

## 鑑別診断 (表1)

急性ウイルス性肝炎の臨床像は起因ウイルスにより若干異なるものの臨床症状から鑑別は困難である。鑑別診断として常に念頭に置くべき疾患には次のものがある (表2)。

### ① 肝炎ウイルス以外のウイルス性感染症

#### a. EBウイルス感染

唾液、膣分泌物などに存在することから、経

口、性交で感染する。輸血による感染はない。病初期にはviral capsid antigen (VCA) IgM型抗体、early antigen (EA) IgG型抗体陽性、EBNA抗体陰性を確認する。末梢血では白血球増加、とくに異型リンパ球を認めLDHが高値となる。慢性化することはない。

#### b. サイトメガロウイルス感染

唾液、尿、膣分泌物などの体液や血液に存在し、経口、性交、輸血で感染する。初感染後潜

表1 急性ウイルス性肝炎の鑑別

起因ウイルス	A型	B型	C型	D型	E型
頻度	43%	25%	8%	1%以下	1%以下
遺伝子型	RNA	DNA	RNA	RNA	RNA
潜伏期	2～6週	1～6ヵ月	2～16週	1～6ヵ月	2～7週
好発季節	冬～春	1年中	1年中	1年中	1年中
好発年齢	20～40歳	20～30歳	全年齢	20～30歳	若年成人
感染経路	糞口	血液	血液	血液	糞口
家族内感染	+	+	+	+	-
診断	IgMHA 抗体	HBs 抗原 IgMHBc 抗体	HCV 抗体 HCV-RNA	IgG, IgM HDV 抗体	HEV 抗体 HEV-RNA
慢性化	まれ	+	+	+	-
キャリアの存在	-	+	+	+	-
予防	HA ワクチン	HB ワクチン HBIG	-	HBV の予防	-

表2 急性肝障害をきたす疾患

1. 急性ウイルス性肝炎 (A,B,C,D,E型)
2. その他のウイルス感染症 (サイトメガロウイルス, EBウイルス)
3. 薬剤性肝炎
4. 急性アルコール性肝炎
5. 自己免疫性肝炎の急性発症, 増悪
6. 胆石肝炎
7. 胆管癌, 膵頭部癌による閉塞性黄疸
8. shock liver

伏感染し, 免疫能の低下時に再活性化する。IgM型抗体陽性ないしペア血清でCMV補体結合性抗体価の有意な上昇がみられることによりなされる。

## ② 薬剤性肝炎

薬物の服用の既往が重要である。発疹, 好酸球の増加, リンパ球幼弱化試験を行う。胆汁うっ帯型, 肝細胞障害型, 混合型がある。

## ③ 急性アルコール中毒

飲酒歴が重要。γ-GTPの著明な上昇, AST優位な血清トランスアミナーゼ値の上昇。断酒によりいずれも速やかに改善する。重症例ではサイトカインにより1万/μL以上の白血球高値, 発熱を伴う。

## ④ 胆石肝炎

胆石発作に伴う血清トランスアミナーゼ値の上昇で2,000IU/Lを越えることもある。γ-GTPの上昇の程度はALPのそれに比べて大きく, かつ血清トランスアミナーゼ値に比べて比較的長期に残存する。総胆管結石の乳頭部嵌頓による肝細胞の変性・壊死である。エンドトキシンショックへ進展する可能性があり, 胆管閉塞が早期に解除されれば血清トランスアミナーゼ値も急速に減少する。腹痛が強く半数に腹膜刺激症状を伴う。腹痛に伴って変動する血清トランスアミナーゼ値の上昇や, 速やかに消退する場合は本症を疑う。

## ⑤ 胆管癌, 膵頭部癌による閉塞性黄疸

黄疸や褐色尿に気づき受診する。画像診断が必須である。

## ⑥ 胆嚢炎

発熱, 右季肋部痛, 白血球増多の3兆候が診断のてがかりとなる。

## ⑦ 自己免疫性肝炎の急性発症

以前に全く肝障害を認めなかった人が突然, 急