

応に関しては一定の見解が得られていないのが現状である。特に HIV 合併患者においては IFN 治療の治療効果が低く問題となっている。そこで今回われわれは genotype1 型および genotype2 型の高ウイルス量に対する IFN とリバビリン併用療法において投与前の ALT 値が正常例と上昇例とのウイルス学的効果の違いについて検討した。

## B. 方法

名古屋大学付属病院および関連施設において IFN  $\alpha$ 2b : 600~1000 万単位 (2 週間連日投与後週 3 回間歇投与を 22 週以上) + リバビリン : 600~800mg 分 2/日・(24 週投与) が開始された 390 例中、投与終了後 6 カ月経過観察が可能であった 381 例を検討した。また genotype 別に ALT 正常例 (40 IU/ml 以下、治療開始前 6 ヶ月間基準値内) 16 例と ALT 上昇例 365 例を比較検討した。

また HIV 陰性の凝固系障害者に対する IFN 単独治療 39 人と IFN (PegIFN を含む) リバビリン併用療法 14 人とを比較検討。また HIV 陽性の凝固系障害者に対する IFN 単独治療 8 人と IFN (PegIFN を含む) リバビリン併用療法 5 人の治療成績を比較検討した。

## C. 結果

381 例中 257 例が男性、124 例が女性であった。平均年齢は  $53.4 \pm 11.2$  歳、HCV genotype は 1 型が 275 例、1 型が 91 例、その他が 6 例であった。HCVRNA 量は平均  $745.2 \pm 651.0$  KIU/ml であった。また、初回治療が 178 例、2 回目治療は 137 例であった。genotype1 において ALT 正常群 (n=9)

と ALT 異常群 (n=274) 間の背景は投与時年齢、性別、血小板値、HCVRNA 値、肝生検の A 因子、F 因子に有意な違いはなかった。ALT 値は ALT 正常群で  $29.8 \pm 5.0$ 、ALT 異常群で  $99.8 \pm 92.3$  と有意な違いを認めた ( $P < 0.0001$ )。1 型における著効率は ALT 正常例と ALT 上昇例では PP 解析において 50.0% (2/4)、32.8% (66/201) であり有意な差は認められなかった。ITT 解析において 22.2% (2/9)、25.5% (66/259) であり有意な差は認められなかった。

また genotype2 において ALT 正常群 (n=7) と ALT 異常群 (n=85) 間の背景は投与時年齢、性別、血小板値、HCVRNA 値、肝生検の A 因子、F 因子に有意な違いはなかった。ALT 値は ALT 正常群で  $24.4 \pm 7.1$ 、ALT 異常群で  $114.1 \pm 107.5$  と有意な違いを認めた ( $P < 0.0001$ )。2 型における著効率は ALT 正常例と ALT 上昇例では PP 解析において 80.0% (4/5)、86.4% (57/66) であり有意な差は認められなかった。ITT 解析において 57.1% (4/7)、74.0% (57/77) であり有意な差は認められなかった。

ALT 正常例に投与した場合の投与終了後 6 ヶ月間に ALT 異常 (投与前の基準値の 2 倍以上、すなわち 80IU/ml 以上) となった症例は 1 型 0% (0/9)、2 型 14.3% (1/7) であり合計では 6.3% (1/16) であった。

凝固障害患者に対する IFN 単独治療 (HIV 陰性患者) 39 人の平均年齢は  $33.1 \pm 10.9$ 、HCV genotype は 1a が 5 例、1b が 4 例、2b が 1 例、3a が 5 例であった。HCVRNA 量は平均  $250.4 \pm 293.4$  KIU/ml であった。IFN 単独療法では SVR 率は 48.7% (19/39) であった。一方、IFN (PegIFN を含む) とリバビリン

併用療法 (HIV 陰性患者) 14 人の平均年齢は  $45.9 \pm 10.0$ 、HCV genotype は 1a が 2 例、1b が 3 例、1b+2b が 1 例、2a+1b が 1 例、2b が 1 例、3a が 6 例であった。HCVRNA 量は平均  $687.4 \pm 467.7$  KIU/ml であった。IFN (PegIFN を含む) とリバビリン併用療法では SVR 率は 78.6% (11/14) であった。

HIV 陽性患者 24 例では 91.7% (22/24) が HCV 重複感染そのうち 58.3% (14/24) は HAART により HIVRNA 感度以下であった。22 例中 2 例で HAART 中に HCVRNA 自然消失がみられた。8 例に IFN 単独治療、8 例に IFN+リバビリン併用療法が行われていた。

IFN 単独治療 (HIV 陽性患者) 8 人の平均年齢は  $32.0 \pm 8.4$ 、HCV genotype は 1a が 4 例、1b が 2 例、3a が 2 例であった。HCVRNA 量は平均  $338.3 \pm 272.8$  KIU/ml、治療前 CD4 値は  $388.8 \pm 142.6$  であった。IFN 単独療法では SVR 率は 12.5% (1/8) であった。

IFN+リバビリン併用療法 (HIV 陽性患者) 5 人の平均年齢は  $37.8 \pm 2.8$ 、HCV genotype は 1a が 4 例、3a が 1 例であった。HCVRNA 量は平均  $849.8 \pm 583.2$  KIU/ml であった。投与前 CD4 値は  $353.8 \pm 89.6$  であり、SVR は今のところ得られていない。ただ、現在投与中の ALT 正常例の 2 例では 1 例で 8 週でのウイルスの陰性化が見られ、もう一例では治療終了時の HCVRNA 陰性化が見られており著効が得られるかもしれない。また 3a 型の患者の 1 人と 4a の患者は投与 12 週で HCVRNA の陰性化が認められている。

#### D. 考案

Genotype1 型において、PP, ITT 解析とも

に ALT 正常例と ALT 異常例の間に著効率の有意な差は認められなかった。また、Genotype2 型においても、PP, ITT 解析ともに ALT 正常例と ALT 異常例の間に著効率の有意な差は認められなかった。投与前 ALT 正常例に対して IFN 投与によりウイルスが陰性にならず、さらに ALT 上昇してしまうような場合が問題となるが、ALT 正常例で 16 例投与したうち 6 例が著効となり、著効とならなかった症例のうち 1 例のみで GPT が 80 以上に上昇した、この上昇した症例では数ヶ月の経過で ALT 値は改善した。

HIV を除く凝固障害を合併する C 型慢性肝炎患者に対する併用療法において IFN 単独療法では著効率は 48.7%、IFN (PegIFN を含む)・リバビリン併用療法では 78.6%と高率であり C 型慢性肝炎における効果と変わらなかった。

HIV を合併した C 型慢性肝炎患者では CR は 1 例のみであり著効率は低かった。

HIV を合併した ALT 正常例の C 型慢性肝炎患者では現時点では HCVRNA の陰性化が持続しており、今後その効果が期待される。

#### E. 結論

ALT 正常例に対する IFN リバビリン併用療法では、genotype に関わらず、ALT 異常例と同様の著効率がえられた。投与終了後に ALT の上昇が起こったのは 16 例中 1 例であった。HIV 感染患者において IFN 単独治療及び併用療法において現時点では効果が低かったが、若年者、ALT 正常例への投与を含めた PegIFN+リバビリンの併用療法の投与法の工夫により著効率が向上されることが期待される。

## F. 研究発表

### 論文発表

1) Honda T, Toyoda H, Hayashi K, Katano Y, Yano M, Nakano I, Yoshioka K, Goto H, Yamamoto K, Takamatsu J. Ribavirin and use of clotting factors in patients with hemophilia and chronic hepatitis C. JAMA 2005;293(10): 1190-1192

2) Toyoda H, Honda T, Katano Y, Goto H, Takamatsu J. Clearance of GB virus C during highly active antiretroviral therapy and course of HIV disease progression in HIV-infected patients with hemophilia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2005;24(9): 645-646

3) Yamamoto K, Honda T, Matsushita T, Kojima T, Takamatsu J. Anti-HCV agent, ribavirin, elevates the activity of clotting factor VII in patients with hemophilia: a possible mechanism of decreased events of bleeding in patients with hemophilia by ribavirin. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2006;4(2):469-470

## HIV感染症に合併する肝疾患に関する研究

## Ⅱ. 分担研究報告書

## 首都圏におけるB型急性肝炎の実態

分担研究者 四柳宏 東京大学医学部附属病院感染制御部特任講師

研究要旨：首都圏で1994年から2002年までに経験した急性肝炎135症例の臨床的・ウイルス学的特徴について調べた。感染経路は同性間性交渉が4分の1、異性間性交渉が4分の3であった。Genotype Aに感染している症例が30%を占めた。Genotype Aの症例はGenotype Cの症例に比べ、特に同性間性交渉の男性に多く認められた。また、新規HBVキャリアの16%がGenotype Aに感染しており、type Aの感染が拡大していることが判明した。

## A. 研究目的

B型急性肝炎の症例は最近増加傾向にあり、その原因の一つに本邦ではこれまでなかったGenotype Aの広がりが考えられている。特にHIV合併感染例ではGenotype Aの頻度が高い。そこで、B型急性肝炎の感染経路やHBV Genotypeについて首都圏の症例を対象に検討した。さらにGenotype間での臨床像の違いについても検討を行うこととした。

## B. 研究方法

1994年から2005年までの12年間に首都圏3施設で診療の行われたB型急性肝炎全135例（男性106例、女性29例）を対象とした。HBV Genotypeは、HBV ジェノタイプ判定キット（ゲノムサイエンス研究所）にて測定し、判定困難な症例は血清からHBV遺伝子のpreS1領域（nt2902-3091）のPCR産物の塩基配列を決定し判定した。

## C. 研究結果

## (1) 感染経路の年次別推移

年時別の感染経路を（表1）に示す。感染経路が推定可能であったのは計88例であり、その内訳は同性間性交渉 22%、異性間性交渉 75%、医療処置等 3%であった。感染経路の比率には、大きな変動は見られなかった。

## (2) Genotypeの年次別推移

年時別のHBV Genotypeの分布を（表2）に示す。HBV Genotypeは109例で決定可能であり、その内訳はtype A 39%、type B 10%、type C 50%、type D 1%であった。

## (3) 同性間性交渉例、異性間性交渉例でのGenotype Aの割合

同性間性交渉例17例におけるtype Aの割合は65%、異性間性交渉例におけるtype Aの割合は30%、パートナーが不特定の場合に限ると45%であった。

## (4) Genotype間での臨床像の相違

年齢はtype A  $28.7 \pm 8.6$ 、type B  $30.6 \pm 5.0$ 、type C  $29.8 \pm 9.3$ であり、Genotype間で差異は認められなかった。男性の割合はtype A 97%、type B 75%、type C 66%であり、type Aはtype Cに比べ、男性の割合が多かった（ $p < 0.01$ ）。

ALTの最高値はtype A 1970、type B 2437、type C 2437（単位：IU/L）であり、type Aはtype Cに比べ、ALT値が低かった（ $p = 0.002$ ）。一方血清ビリルビンの最高値はtype A 9.9、type B 7.5、type C 9.4（単位mg/dL）であり、Genotype間で差異は認められなかった。

ウイルス側因子として初診時のHBVDNA量、HBs抗原消失が確認できるまでの期間にGenotype間で差があるかどうか検討したが、差異は認められなかった。なお、type Aの1例（4%）とtype Cの1例（2%）とが慢性肝炎へ移行した。

## (5) 新規HBVキャリアのGenotype

1998年以降新たにHBVキャリアと判明した38例に関し、HBV Genotypeを調べた。type A 16%、type B 39%、type C 45%であった。

## D. 考察

B型急性肝炎は性交渉関連感染症の代表である。今回の検討で目立ったのは同性間性交渉により感染したと思われる症例が22%を占めていたことである。こうした症例のHBV Genotypeは、type Aが3分の2を占めることも判明した。

Genotype AのB型急性肝炎の症例はALTの最高値がtype Cの症例に比べて低いにもかかわらず、ビリルビン値即ち肝細胞障害の程度は同様である。これは肝炎の経過が遷延することを示唆する成績である。今回の検討ではHBs抗

原の消失までの時間に関してGenotype間での差異は認められなかったが、既報の全国調査では、差異が認められている。従ってtype Aに感染した場合、慢性化のリスクが他のGenotypeに比べ、高いと考えられる。新規HBVキャリアの中にtype Aの症例が16%認められるという結果はこの仮説を支持するものである。

HBVの感染力はHIVよりも強いことを考慮すると、B型急性肝炎患者の増加はHIV感染例の増加の予兆と考えることも可能である。HIV感染例でのB型慢性肝疾患の進展はHIV非感染例に比べて速い。若年層に対する性感染症の啓蒙の中にB型肝炎を含めることの重要性を本研究は教えている。

#### E. 結論

首都圏におけるB型急性肝炎は若年男性を中心にGenotype Aの症例が増加しており、慢性化する症例も増えてきている。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yotsuyanagi H, Okuse C, Yasuda K, Orito E, Nishiguchi S, Toyoda J, Tomita E, Hino K, Okita K, Murashima S, Sata M, Hoshino H, Miyakawa Y, Iino S; Japanese Acute Hepatitis B Group. Distinct geographic distributions of hepatitis B virus genotypes in patients with acute infection in Japan. J Med Virol. 2005;77:39-46.

##### 2. 学会発表

1) 本邦のB型急性肝炎におけるHBV Genotypeの分布に関する検討 第42回日本臨床分子医学会学術総会

#### 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。

## HIV感染症に合併する肝疾患に関する研究

## Ⅱ. 分担研究報告書

Tacrolimus による C 型肝炎病態への介入：肝発癌抑制へ向けて

分担研究者： 森屋恭爾 東京大学医学部（病）・講師

研究要旨： C 型肝炎ウイルス(HCV)感染は慢性肝炎、肝硬変、肝癌へと到る一連の事象以外に、脂肪肝ならびに脂質代謝異常、糖代謝異常といった代謝異常を引き起こし、肝発癌等の病態への影響も示唆されている。私たちは、マウスモデルを用いて、C 型肝炎では脂質や糖の代謝異常が発生することを示してきた。この動物モデルでは、炎症不在下に酸化ストレス産生が増加しており肝発癌に関与しているが、この酸化ストレス発生はミトコンドリアの機能異常によることが推察されている。今回私たちは、ミトコンドリア保護作用をもつ Tacrolimus (FK506)を HCV コア遺伝子発現トランスジェニックマウスに投与し、脂質代謝、糖代謝および酸化ストレス産生への影響を検討した。3ヶ月間の Tacrolimus の投与によって、コアマウスにおける肝脂肪化、インスリン抵抗性は著明に改善された。また、低容量の Tacrolimus によっても同様の効果があることも明らかになった。免疫低下作用を発揮しない低容量の Tacrolimus を投与することによって、HCV 感染症における肝脂肪化やインスリン抵抗性発生、酸化ストレス産生が抑制され、C 型肝炎における肝癌を含む病態進行の抑制あるいは病態の改善が期待される。

#### A. 研究目的

C 型慢性肝炎と 2 型糖尿病の間の関連性が、疫学的研究のみならず、実験的なシステムにて確認されてきている。また、脂質代謝異常と C 型肝炎の関連性は以前から指摘されてきている。これらの代謝異常で注目すべきことは、慢性肝炎すなわち肝の線維化速度との関係である。すなわち、肝脂肪化やインスリン抵抗性の強い慢性 C 型肝炎患者においては、線維化の進行速度が大きく、これらの代謝異常が C 型肝炎の悪化因子であることが指摘されてきている。

慢性 C 型肝炎の治療は、現在のところイ

ンターフェロンを中心とした抗ウイルス薬によって行なわれてきている。リバビリン併用ペグ・インターフェロンによって、1 型高ウイルス量の患者の 50% 近くで HCV 排除が可能となってきたが、残りの 50% の人では HCV 排除は現在不可能である。したがって、ウイルス排除できない状態で慢性肝炎の病態を改善させる方法が切望されている。そのような治療法が見いだされれば、慢性 C 型肝炎の進行、肝癌の発生の予防が可能となり、厚生労働行政上、経済上の意義は極めて大きいと考えられる。

## B. 方法

HCVのコア遺伝子を導入されたトランスジェニックマウスを用いて以下のような解析を行なった。

マウスはSPF下で通常の餌を与えられた。対照として正常littermateが用いられた。必要に応じて高カロリー（脂肪）食（Oriental Yeast Co, Ltd. Tokyo, Japan）を2ヶ月間与えた。カロリーは高カロリー食では4.70 kcal/g、普通食は3.56 kcal/gであった。なお、動物実験にあたっては、当施設のガイドラインに則り動物愛護上の配慮を十分に払い、倫理面で問題が生じないように行なった。

HCV コア遺伝子導入トランスジェニックマウス（3ヶ月齢♂）に対し、Tacrolimus（FK506）（0.1mg/kg）ならびに placebo を週3回、筋肉注射にて投与を行なった。同様に非トランスジェニック兄弟マウスについても、3ヶ月齢♂に対しTacrolimus あるいは placebo の投与を行った後、肝臓の脂質量、構成脂肪酸量、血糖値、インスリン値を検討した。なお、Tacrolimus あるいは placebo の投与期間は3ヶ月間である。

また、上記量の1/5 および1/25 量の Tacrolimus 投与下での検討も行なった。

## C. 結果

（1）コア遺伝子導入トランスジェニックマウスに認められた、①肝組織中の脂肪量の増加、②構成脂肪酸に占める C16:1、C18:1 などの不飽和脂肪酸の増加が、Tacrolimus 投与によって、placebo 投与群の非トランスジェニック兄弟マウスと同様

のレベルまで改善した。

（2）インスリン抵抗性増強も、Tacrolimus 投与によって、placebo 投与群の非トランスジェニック兄弟マウスと同様のレベルまで改善した。

（3）低容量 Tacrolimus 投与によって、コア遺伝子トランスジェニックマウスにおけるインスリン抵抗性は有意に低下した。

（4）Tacrolimus 投与群の非トランスジェニック兄弟マウスでは、血清インスリン値が低下していた。

（5）Tacrolimus 投与時の肝内細胞遺伝子発現を DNA アレイにて検討したところ、コア遺伝子トランスジェニックマウス、対照マウスのいずれにおいても発現が連動して増減する遺伝子が多かったが、Tacrolimus 投与時に対照マウスとコア遺伝子トランスジェニックマウスでは増減の挙動の異なる細胞遺伝子群が見いだされた。現在、これらの遺伝子についての詳細を検討中である。

## D. 考察

HCV コア蛋白による肝臓の脂肪化にはミトコンドリア障害が関与していることが強く示唆されている。Tacrolimus は核カルシニューリンへの作用とともにミトコンドリア機能保護作用をもつことが示唆され、広く臨床への応用が行われつつある。今回の我々のデータから、Tacrolimus により HCV コア蛋白による脂質代謝異常（今回の検討では肝脂肪化）が改善していることが初めて示された。ミトコンドリア保護作用によるものであるか否かは、今後の検討を要する。また、血清インスリン値低下作用

については、コア蛋白存在の有無にかかわらず Tacrolimus が有している事が示唆された。

また、低容量の Tacrolimus によって同様の効果をもたらされたことは、今後のヒトへの応用を期待させるものであり、さらに本研究を推し進めたい。

#### E. 結論

Tacrolimus によって、C型肝炎における肝臓の脂肪化、インスリン抵抗性が抑制されることが示唆された。免疫抑制作用を示さない低容量の Tacrolimus 投与によって、HCV 感染症により引き起こされる肝脂肪化等の代謝異常の抑制が可能であることが示された。肝脂肪化やインスリン抵抗性の肝病変進行への影響を考慮すると、その病態解明と病変進行の予防に極めて重要な発見といえる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Koike K, Moriya K. Metabolic aspects of hepatitis C: steatohepatitis distinct from NASH. *J Gastroenterol* 2005;40:329-336.
- 2) Koike K. Steatosis in chronic hepatitis C: fuel for overproduction of oxidative stress? *J Gastroenterol* 2005;40:664-665.
- 3) Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Tsutsumi T, Shinzawa S, Makuuchi M, Kokudo N, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Moriya K, Koike K. Hepatitis C virus core protein exerts an inhibitory effect on suppressor of

cytokine signaling (SOCS)-1 gene expression. *J Hepatol* 2005;43:757-763.

- 4) Koike K. Hepatitis C as a metabolic disease: implication for the pathogenesis of NASH. *Hepatol Res* 2005;33:145-150.
  - 5) Koike K. Molecular basis of hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis: lessons from animal model studies. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:S132-S135.
  - 6) Koike K. Hepatitis C virus infection presenting with metabolic disease by inducing insulin resistance. *Intervirology* 2006;49:51-57.
  - 7) Koike K, Miyoshi H. Oxidative stress and hepatitis C viral infection. *Hepatol Res* 2006;34:65-76.
  - 8) Koike K. Oxidative stress and apoptosis in hepatitis C: the core issue. *J Gastroenterology* 2006 in press.
- ##### 2. 学会発表
- 1) Matsuura, Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, Suzuki T, Koike K, Miyamura T.: Involvement of PA28gamma in the development of insulin resistance in the HCV core gene transgenic mice. P18, 12th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Montreal, 2005.
  - 2) Miyoshi H, Moriya K, Shinzawa S, Fujie H, Todoroki T, Tsutsumi T, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Suzuki T, Miyamura T, Koike K: Alteration in fatty acid enzyme activities induced by HCV core protein: analysis using HepG2 cells, p130, 12th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Montreal, 2005.



- 3) Koike K, Moriya K, Miyoshi H, Fujie H, Shintani Y, Shinzawa S: Treatment of HCV-associated progressive liver disease with Tacrolimus: Trial using a mouse model. P540A, 56<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, 2005.
- 4) K Koike. Pathogenesis of HCV-associated HCC. 4<sup>th</sup> JSH Single Topic Conference “HCC”.2005 Awajishima.
- 5) K Koike. Metabolic Aspects of HCV-Associated HCC. International Symposium on Energy Metabolism and Oxidative Stress in Liver Pathophysiology. Tokyo 2005.
- 6) Koike K. Molecular Basis of HCV-associated hepatocarcinogenesis: Lessons from Animal Model Studies. 2nd AGA-JSGE Joint Meeting “Hepatitis C: Clinic-Basic Interface” Tokyo 2005.
- 7) Koike K. HCV-associated hepatocarcinogenesis. 5<sup>th</sup> Sino-Japan Hepato- Pancreato- Biliary Symposium. Beijing 2005.
- 8) 森屋恭爾、三好秀征、新澤靖子、藤江 肇、新谷良澄、藤永秀剛、等々力徹、小池和彦、FK506 は HCV による脂質代謝、糖脂質代謝を改善する. 41 回日本肝臓学会総会,大阪,2005

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## HIV感染症に合併する肝疾患に関する研究

### Ⅱ. 分担研究報告書

#### HIV/HBV 重複感染者の状況と HBV 感染早期の治療

分担研究者 髭 修平 北海道大学病院第三内科・講師

協力研究者 吉田 繁 北海道大学病院検査部

研究要旨：当院を受診した HIV 感染者における HBV の重複感染状況を調査し、HCV との重複感染症例と比較検討した。さらに、HBV genotype も測定し、感染経路との関連も検討した。HIV の感染経路が、経時的に血液製剤から性行為感染症例への比率を増加させている状況に関連し、HBV の重複感染でも性行為感染由来の症例が増加してきている。HIV 感染に加え、HBV の genotype が A である例が増加傾向にあり、HBV の持続感染化例が目立っている。感染早期に HBV 排除を目的とした抗ウイルス治療は有意義と考えられるが、以後の HIV 治療計画に支障を来さないための注意が必要であり、現実的で有効な治療計画の標準化が必要である。

#### A. 研究目的

B 型肝炎ウイルス (HBV) の genotype は、わが国では主として genotype C、次いで genotype B が多いが、これらの成人感染では、免疫不全状態を除き一過性の感染 (急性肝炎あるいは劇症肝炎) で終息する self-limited disease である。近年、HBV 急性感染の起因ウイルスについて genotype A の症例の増加傾向が報告され、成人例でも遷延化、慢性化する可能性が指摘されている。また、genotype A の感染源についても、海外あるいは外国人からの感染から国内への広がりも確

#### B. 研究方法

2005 年 12 月までに当院を受診した HIV 感染者 121 名のうち、HBV および HCV

認められてきた。HIV あるいは HBV に対する抗ウイルス療法においては核酸アナログに対する耐性ウイルス出現の可能性があり、双方の治療に制限を受けることも考えられる。したがって、HIV 感染者への HBV の急性感染において、慢性化が懸念される場合には、積極的にウイルス排除を図る事が重要であると思われる。本研究では、当院における HIV/HBV 重複感染者の状況を報告し、さらに、HBV の急性、重複感染と思われる症例に対する早期の抗ウイルス療法についても合わせて報告する。

感染の有無を測定した 107 例を対象として HBV 感染状況を調査し、HBV 関連マーカー、HBV genotype を測定した。同

様に HCV 感染状況を調査し、HCV 関連マーカーを測定し、HBV 陽性例と比較検討した。HBV 関連マーカーは、HBs 抗原、HBc 抗体を測定し、HBs 抗原陽性例では、HBe 抗原、HBe 抗体、HBV DNA 量 (PCR 法) を測定した。HBV genotype は、pre S1 領域 HBV 遺伝子の 479 塩基の配列を direct sequence 法により同定した (sense primer: TCACCATATTCTTG GGAACAAGA: nt 2823-2845、anti-sense primer : TTCCTGAACTGGAG CCACCA: nt 80-61)。HCV 関連マーカーは、抗 HCV 抗体を測定し、陽性例では HCV RNA 量 (PCR 法) を測定した。HIV と肝炎ウイルスの重複感染例に関しては同意を取得し、個人が特定できないよう配慮した。

### C. 研究結果

対象とした 107 症例の HIV 感染経路は、血液製剤が 35 名、性行為感染が 66 名、3 名が 2 次感染、その他が 3 名であった。

そのうち、HIV/HBV 重複感染を認めたものは 12 例 (11.2%) であった。HIV 感染経路別では、血液製剤で 4 例 (11.4%)、製剤以外で 8 例 (11.1%) であった (図 1)。一方、HIV/HCV の重複感染を認めたのは 37 例 (35.6%) であった。HIV 感染経路別では、血液製剤で 33 例 (94.3%)、製剤以外で 4 例 (5.6%) であった (図 2)。

当院初診時期により、I 期 (1995 年以前)、II 期 (1996 年から 2000 年)、III 期

(2001 年から 2005 年) の 3 期に分けた場合に、新規受診者における血液製剤由来の患者数は、I 期は 13 例中 11 例 (84.6%)、II 期は 34 例中 16 例 (47.1%)、III 期は 60 例中 8 例 (13.3%) と減少傾向を示し、性行為による感染者が増加している (図 3)。HCV 重複感染例の比率は、I 期は 13 例中 11 例 (84.6%)、II 期は 34 例中 17 例 (50.0%)、III 期は 60 例中 9 例 (15.0%) と、血液製剤関連患者受診比率と強く関連していた (図 4)。HBV 重複感染例は、I 期は 13 例中 1 例 (7.7%)、II 期は 34 例中 5 例 (14.7%)、III 期は 60 例中 6 例 (10.0%) で、一定の傾向を認めなかった (図 4)。

HIV/HBV 重複感染を認めた 12 例のウイルス学的検査結果を示す (表 1)。4 例が血友病を有し、性行為感染による HIV 感染者が 7 例、HIV の 2 次感染者が 1 例であった。3 例で HCV 抗体も同時に陽性を示したが、全例、血友病あるいは 2 次感染者であった。血友病を合併していた 4 例中、2 例のみで HBV マーカーの確認が可能であったが、どちらも HBe 抗原陰性、HBV-DNA 量低値であった。1 例のみ genotype 測定が可能であったがタイプ C であった。性行為感染による HIV 感染者 7 例は全て 2000 年以降の受診者であった。検査結果あるいは経過から HBV に関して成人感染であるのが 5 例で、残りの 2 例も成人感染は否定できなかった。50 代の異性間性的接触症例のみが HBe 抗原陰性、HBe 抗体陽性、HBV-DNA 量

低値であった。その他の 6 例は、全て同性間性的接触症例で、かつ HBe 抗原陽性、HBV-DNA 量高値であった。さらに、HBV の precore 領域および core promoter 領域の測定が可能であった 5 例全例で、両領域ともに野生株の結果であった。HBV の genotype は、4 例が Ae、1 例が C、1 例が H であった。最近の急性感染例も含まれるが、これらの 6 例全例で経過中での HBs 抗原の陰性化は認められず、慢性の経過を示している。

HIV に重複した genotype A の HBV 急性感染と診断された 2 例に対し、急性期での治癒 (HBs 抗原/抗体レベルでの seroconversion) を目的としてインターフェロン治療を施行した。

症例 1 は、献血時に HIV/HBV の陽性を指摘され、同月、当科を初診した。初診時に IgM HBc 抗体が 11.0 (cut off index) と高値であり、HBV の急性感染と考えられた。HBV genotype を測定しタイプ A であったことから、HBV 感染の遷延化・慢性化を懸念し、治療を開始した。開始前の肝生検組織所見は A2F2 の所見であり、既に線維化が進行していた。治療開始時期が ALT の正常化後となり、治療は当初は IFN  $\beta$  300 万単位を 4 週間は週 6 回、以後、週 3 回で投与し、後半の 8 週間は IFN  $\alpha$  600 万単位を週 3 回で投与したが、HBe 抗原、HBe 抗体、HBV-DNA 量はほとんど変化を認めなかった。

症例 2 は、初診 2 か月前に献血で

HBV/HIV の陽性を指摘され、当科を初診した。IgM HBc 抗体が 30.8 (cut off index) と高値であり、HBV の急性感染と考えられたが、肝生検では A2F2 の所見であり、組織所見上は既に慢性肝炎の所見であった。IFN  $\beta$  300 万単位を 4 週間は週 6 回、以後、週 3 回で投与中であるが、治療開始 2 か月で HBe 抗原は 5.4 (S/N)、HBV-DNA 量は 3.1 (log copies/ml) と低下傾向を認める段階にある。

#### D. 考察

HIV 感染と B 型または C 型などの肝炎ウイルスの感染は、血液製剤の使用や性行為感染など感染経路に類似性があり、重複感染を生ずる可能性が考えられるが、その実態には経時的な変化が認められる。当院を受診した HIV 感染者に感染経路は、1990 年代前半には大部分が血液製剤からの感染であったが、2001 年以降では、逆に、性行為関連の感染が 9 割近くを占めるようになってきている。HIV 感染に重複して認めた肝炎ウイルスの感染率の年代別の変遷について、HCV の感染率は、前述の血液製剤由来の感染比率とほとんど同様の傾向を示し、HIV および HCV が陽性であった血液製剤が感染に関与した可能性を示唆している。一方、HBV 重複感染は、いずれの時期もほぼ 10%前後で、経時的な感染率に変化を認めなかった。しかし、HIV/HBV 重複感染者の受診時期と感染原因を検討した結果では、

時期による差異を認めた。すなわち、1990年代の重複感染者には血液製剤使用に由来する症例が多く、2000年以降の重複感染者は性行為感染が多数を占めていた。さらに、測定可能な症例でのHBV genotypeも、最近の症例ではタイプAeが多い傾向を認めた。1980年代以前の血液製剤使用者では製剤由来のHBV感染の可能性が高いが、さらに、HBVの垂直感染率も現在よりも高率であったことも一因として考えられる。垂直感染症例はHIV感染経路とは別に幼少時に既に感染をきたし、HBe抗体陽性、HBV-DNA量低値など、既にウイルスの活動性が低下し安定化した例が多い。一方、最近の重複感染者では、性行為に伴う成人感染から慢性化したと考えられる例が多いと思われる。従来、わが国の成人HBV感染は、免疫不全状態を除き一過性の感染（急性肝炎あるいは劇症肝炎）で終息するself-limited diseaseであると考えられてきたが、HIV感染に伴う免疫不全がウイルス排除を困難にしている可能性もある。さらに、HBV genotypeの検討から、従来の日本人に多いタイプCあるいはBではなく、慢性化の可能性が報告されているタイプAの感染例が多くなっている最近の状況も関連していると考えられる。

HIVあるいはHBVに対する抗ウイルス療法においては核酸アナログに対する耐性ウイルス出現の可能性があり、双方の治療に制限が生じる場合も起こりうる。近年のHIV感染者へのHBV急性感染の

場合、HIV感染合併による免疫能の低下、genotype Aの感染である可能性、などから、HBV感染が慢性化する可能性があり、前述したように、以後の治療や予後に影響を及ぼす可能性がある。したがって、急性期にHBV排除の目的で抗ウイルス治療を行なうことは有意義と考えられる。今回報告したHBV急性感染に対するインターフェロン治療例においては、今後のHIV治療への影響が出ないように核酸アナログ製剤を使用しなかった。症例1では、現時点で十分な効果が示されていないが、治療開始のタイミングが遅く既にキャリアー化していた可能性も考えられた。今後は、ペグインターフェロンの導入やアデホビルの投与について検討する必要があると考えられた。

HIV/HBV重複感染症例の経過を再評価すると、特に性行為感染例の一部においては、HIV、HBVともに感染からの期間が短く、HBVによる急性肝炎を発症していたと推測される例もみられた。今後は、HBs抗原陽性例、肝障害出現例では、IgM HBc抗体やHBV genotypeなどの検索を行ない、感染早期にHBV排除の可能性を検討すべきと考えられた。

今回、インターフェロン治療経過を報告した2症例は、いずれもIgM HBc抗体が高値(11.0、30.8 C.O.I)であり、HBVの急性感染と診断したが、肝生検の結果ではF2の線維化をきたしていた。両者ともHIVに対する治療はまだ必要のない状態で免疫能も保たれており、薬剤性など

の可能性も否定的であった。症例1では1年前に肝障害の指摘を受けているが、感染状況からは複数回のHBV感染の可能性もあり、IgM HBc抗体高値例でも先行したHBV感染(異なる genotype による場合など)の可能性も検討課題であると思われた。

#### E. 結論

HIV感染に重複するHBV感染率は変化を認めていないが、性行為関連に由来するHIV/HBV(特に genotype A)重複持続感染者は増加傾向にある。HBVの感染早期のHBV排除を目的とした抗ウイルス治療では、HIV治療計画に支障を来さないための注意が必要であり、現実的で有効な治療計画の標準化が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Onozawa M, Hashino S, Izumiyama K, Kahata K, Chuma M, Mori A, Kondo T, Toyoshima N, Ota S, Kobayashi S, Hige S, Toubai T, Tanaka J, Imamura M, Asaka M. Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogenic hematopoietic stem cell transplantation patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation* 2005 ; 79: 616-619.

2) Natsuizaka M, Hige S, Ono Y, Ogawa K, Nakanishi M, Chuma M, Asaka M, Yoshida S. Long-term follow-up of chronic hepatitis B after the emergence of mutations in the hepatitis B virus polymerase region. *Journal of Viral Hepatitis* 2005 ; 12: 154-159.

3) 曾我部進、橋野聡、小野澤真弘、守田玲菜、太宰昌佳、夏井坂光輝、小野雄司、泉山康、中馬誠、近藤健、髭修平、大野稔子、渡部恵子、石津明洋、浅香正博. HIV・HCV重複感染の治療経過中、急速に致死的肝不全を来した血友病Aの1例. *日本エイズ学会誌* 2005 ; 7 : 37-42.

4) 髭修平、中馬誠、山本洋一、夏井坂光輝、中西満、浅香正博. B型慢性肝炎の治療に伴うウイルスマーカーの変動. *臨床消化器内科* 2005 ; 20 : 607-611.

5) 髭修平、小原俊央、中西満、小川浩司、中馬誠、浅香正博. B型肝炎ウイルスの precore および core promoter 領域の変異と臨床的意義. *臨床消化器内科* 2005 ; 20 : 1445-1449.

6) 髭修平、小原俊央、中西満、小川浩司、中馬誠、浅香正博. C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療と2'-5'オリゴアデニル酸合成酵素(2-5AS)の変動. *臨床消化器内科* 2005 ; 20 : 1849-1854.

##### 2. 学会発表

1) 山本洋一、髭修平、高木貴久子、幡有、中西満、小川浩司、中馬誠、浅香正博. B型肝炎硬変および肝癌に対するラミブジン

治療の検討. 第 91 回日本消化器病学会  
総会 2005.4.15 東京都

2) 山本洋一、髭修平、幡有、高木貴久子、  
中馬誠、吉田繁、浅香正博. Lamivudine  
耐性 B 型慢性肝障害に対する Adefovir  
併用療法の検討. 第 41 回日本肝臓学会  
総会 2005.6.16 大阪市

3) 小川浩司、小原俊央、中西満、中馬誠、  
永坂敦、髭修平、浅香正博. リバビリン  
先行インターフェロン併用療法における  
NS5A-ISDR 領域の検討. 第 9 回日本肝  
臓学会大会 2005.10.6 神戸市

#### G. 知的所有権の取得状況

該当なし

## HIV感染症に合併する肝疾患に関する研究

## Ⅱ. 分担研究報告書

HIV/HCV 重複感染血友病患者における肝線維化進展に及ぼす HAART の影響  
—FibroScan を用いた検討—

分担研究者 正木 尚彦 国立国際医療センター消化器科 医長

**研究要旨** : HIV/HCV 重複感染者における肝線維化の進展が HAART 導入後も HCV 単独感染者に比べて加速されるか否かについて、HIV/HCV 重複感染血友病患者 (HIV 群) 33 例と HCV 単独感染非血友病患者 (non-HIV 群) 24 例を対象とし、FibroScan を用いて検討した。肝硬度は腹部超音波所見が normal、non-advanced、advanced stage と進展するにつれて、両群ともに有意に高値を示したが、各 stage において両群間に有意差はなかった。HCV 感染時期が推定可能な non-HIV 群 9 例および HIV 群 23 例において肝線維化進展速度 (KPa/年) を算出したところ、前者で  $0.32 \pm 0.17$ 、後者で  $0.38 \pm 0.70$  となり、両群間に有意差を認めなかった。以上から、HAART 導入により HIV が良好にコントロールされている HIV/HCV 重複感染者における肝線維化進展速度は、HCV 単独感染者と大差のないことが示唆された。

## A. 研究目的

血友病を有する HIV 陽性患者ではほぼ全例が C 型肝炎ウイルスに重複感染しており、これらの患者では HAART により HIV のコントロールが改善しているにもかかわらず、むしろ肝硬変への進展・肝細胞癌合併などの肝病変の存在が予後規定因子としてクローズアップされている。しかし、HCV 単独感染に比べて HIV/HCV 重複感染における肝線維化の進展が加速されるとの知見は、主として HAART 導入以前のものであり、1996 年以降の HAART 導入後の現状は明らかではない。さらに、血友病患者の場合には、肝線維化評価法の gold standard である肝針生検の施行は、凝固因子製剤を大量に前投与しても安全性を確保することが必ずしも容易ではない。今回、非侵襲的な肝硬度測定法である FibroScan (エコセンス社) を用いて、肝線維化進展に及ぼす HAART の影響について検討した。

## B. 研究方法

対象は、血友病に合併した HIV/HCV 重複感染患者 33 例 (HIV 群 : 全例男性、平均年齢  $39 \pm 11$  歳、血友病 A28 例/B5 例、うち 2 例は HBV との重複感染)、および HCV 単独感染非血友病患者 24 例 (non-HIV 群 :

男性/女性 = 12 例/12 例、平均年齢  $69 \pm 13$  歳) である。15 年以上の経験を有する肝臓専門医 2 名が B モード腹部超音波検査 (AUS) 施行時に、FibroScan (エコセンス社製) を用いて肝硬度 (Stiffness) を 10 回測定し、その中央値を Stiffness (KPa) とした。同時に、肝線維化マーカー (P-III-P, IV 型コラーゲン, ヒアルロン酸)、血小板数 (PLT)、CD4 数、血清 Alb, ALT を測定した。HCV 感染時期が推定しうる患者において、肝線維化進展速度 (KPa/年) を下記の計算式に基づいて算出した。

$$R = [\text{Stiffness}_{\text{measured}}] - [\text{Stiffness}_{\text{normal liver}}] / \text{Duration of HCV infection}$$

研究の趣旨、ならびに解析に際しては個人が特定できないよう十分に配慮することを口頭にて説明し、患者の同意を得た。

## C. 研究結果

1) FibroScan 施行時の各種背景因子 (表) : HIV 群のすべての患者は、1996 年以降 HAART 療法 (highly active antiretroviral therapy) により良好にコントロールされており、33 例中 23 例において HIV RNA 量は 50 copy/ml 以下に低下していた。ゲノタイプを測定しえた 21 例中 7 例は本邦ではまれな 1a 型な



いし 3a 型に感染していた。AUS 所見、肝線維化マーカー値から、肝病変のより進展した患者が non-HIV 群の方に含まれていることが分かる。

2) 両群における肝硬度 (図 1) : Stiffness は AUS 所見 (normal ; non-advanced ; advanced) の順に、non-HIV 群では  $5.4 \pm 2.2$  (N=3) ;  $11.1 \pm 5.7$  (N=7) ;  $22.0 \pm 9.5$  (N=14)、HIV 群では  $7.5 \pm 2.7$  (N=9) ;  $11.1 \pm 6.0$  (N=16) ;  $28.1 \pm 21.3$  (N=8) と肝病変の進展とともに有意に高値であった ( $P=0.003$  and  $P=0.004$ , by Kruskal-Wallis test)。尚、各 AUS 所見において、non-HIV 群と HIV 群と間に有意差は認められなかった。従来の肝線維化マーカー (P-III-P、IV-coll、hyaluronic acid) および PLT と比較して、Stiffness は AUS 所見の advanced stage と non-advanced stage との分離に最も有用であることが判明した。

3) 肝線維化進展速度 (R 値 : 図 2) : non-HIV 群では 9 例において輸血年齢が判明した。うち 2 例はインターフェロン (IFN) 治療 (IFN 単独、IFN- $\alpha$  2b/ribavirin 併用) を受けたがいずれも著効 (sustained virological response : SVR) は得られていない。一方、non-HIV 群では血友病に対するきわめて頻回の凝固因子製剤投与を受けており、正確な HCV 感染時期は不明であるが、最初の製剤投与年齢と想定し、23 例において R 値を計算した。このうち、12 例が IFN 治療 (IFN 単独 3 例、IFN- $\alpha$  2b/ribavirin 併用 5 例、Pegylated IFN- $\alpha$  2a4 例) を受けており、4 例 (33%) で SVR を得ている。図 2 に示すごとく、non-HIV 群と HIV 群との間に明らかな有意差を認めなかった ( $0.32 \pm 0.17$  対  $0.38 \pm 0.70$  ;  $P=0.125$ , by Mann-Whitney *U* test)。さらに、HIV 群において R 値と IFN 治療効果との対比をみると、IFN 治療例 (12 例) と非治療例 (11 例) との間に有意差はなく ( $0.34 \pm 0.50$  対  $0.43 \pm 0.90$  ;  $P=0.710$ )、また、SVR 例 (4 例) と non-SVR 例 (7 例) との間にも統計学的な有意差は認められなかった ( $0.08 \pm 0.10$  対  $0.52 \pm 0.60$  ;  $P=0.252$ )。

#### D. 考察

平成 16 年度の分担研究では、血友病に合併した

HIV 陽性慢性肝疾患患者における非侵襲的肝線維化評価法として、FibroScan がきわめて有用であることを報告した。non-HIV の C 型慢性肝疾患患者を対照とした今回の研究においても、腹部超音波所見による advanced stage と non-advanced stage との鑑別能は、従来の肝線維化マーカー (P-III-P、IV 型コラーゲン、ヒアルロン酸) や血小板数と比較して、FibroScan による Stiffness の測定が最も優れていた (図 1)。さらに興味あることには、HAART 導入により HIV のコントロールが良好なこれら患者群では、HCV による肝線維化進展速度は non-HIV 群と同等であった。同様の結果は、米国軍人を対象とした Kramer らの研究 [Am J Gastroenterol, 2005] や、フランス人を対象とした Marine-Barjoan らの研究 [AIDS, 2004] でも報告されているが、一方、スペイン人を対象とした Martinez-Sierra らの検討 [Clin Infect Dis, 2003] では HAART による効果はなかったとされている。また、非核酸系の逆転写酵素阻害剤である nevirapine が重複感染者における肝線維化進展を反って促進させるとする Aranzabal らの報告もある (Clin Infect Dis, 2005)。今回の検討では、IFN 治療歴の有無や治療効果 (著効か無効か) によって肝線維化進展速度には統計学的有意差が認められなかったが、これは症例数が少なく、算出した R 値にバラツキがあったこと、IFN 治療後の観察期間が短いことなどが関与した可能性もあり、今後のさらなる症例の蓄積が必要であろう。

#### E. 結論

C 型肝炎ウイルス感染による肝線維化進展速度は、HAART 導入により HIV が良好にコントロールされている HIV/HCV 重複感染者の場合には HCV 単独感染者と同等であることが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Naohiko Masaki, et al. Usefulness of elastometry in evaluating the extents of liver fibrosis in hemophiliacs coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency

virus. Hepatol Res (*in press*).

年6月.

## 2. 学会発表

1) 正木尚彦. エラストメーターの実施経験と有用性. 第18回高度先進医療研究会総会、東京、2003年2月.

2) 正木尚彦ほか. 血友病に合併した HIV/HCV 重複感染者における肝線維化進展度の非観血的評価法—FibroScan の有用性. 第91回日本消化器病学会総会、東京、2005年4月.

3) 正木尚彦ほか. HIV 陽性慢性肝病変の肝線維化評価法に関する検討—腹部超音波検査と FibroScan の比較—. 第41回日本肝臓学会総会、大阪、2005

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 non-HIV 群と HIV 群との対比

測定項目	non-HIV 群 (N=24)	HIV 群 (N=33)	P 値
Age	69±13	39±11	0.000 <sup>a</sup>
Gender(M/F)	12/12	33/0	0.000 <sup>b</sup>
Albumin(g/dl)	4.0±0.4	4.3±0.3	0.004 <sup>a</sup>
ALT(U/L)	60±45	67±54	NS <sup>a</sup>
PLT(x10 <sup>4</sup> /μl)	12.5±5.2	19.0±8.6	0.003 <sup>a</sup>
CD4 counts(/μl)	n.d.	442±230	
P-III-P (U/ml)	1.2±0.3	0.9±0.3	0.003 <sup>a</sup>
IV-coll (ng/ml)	8.3±3.1	6.2±2.7	0.013 <sup>a</sup>
Hyaluronic acid (ng/ml)	335±399	210±190	NS <sup>a</sup>
HCV genotype (1/1a/1a+1b/1b/2a/2b/3a/3a+2b)	2/0/0/8/1/2/0/0	4/4/1/5/3/2/1/1	
modified AUS stage (normal/non-advanced/advanced)	3/7/14	9/16/8	0.032 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Mann-Whitney *U* test, <sup>b</sup>Fisher's exact test, <sup>c</sup>Pearson's  $\chi^2$  test, n.d.=not determined, NS=not significant. The abbreviations used are: ALT, alanine aminotransferase; PLT, platelet counts; P-III-P, procollagen type III peptides; IV-coll, 7S domain of type IV collagen; AUS, abdominal ultrasound.

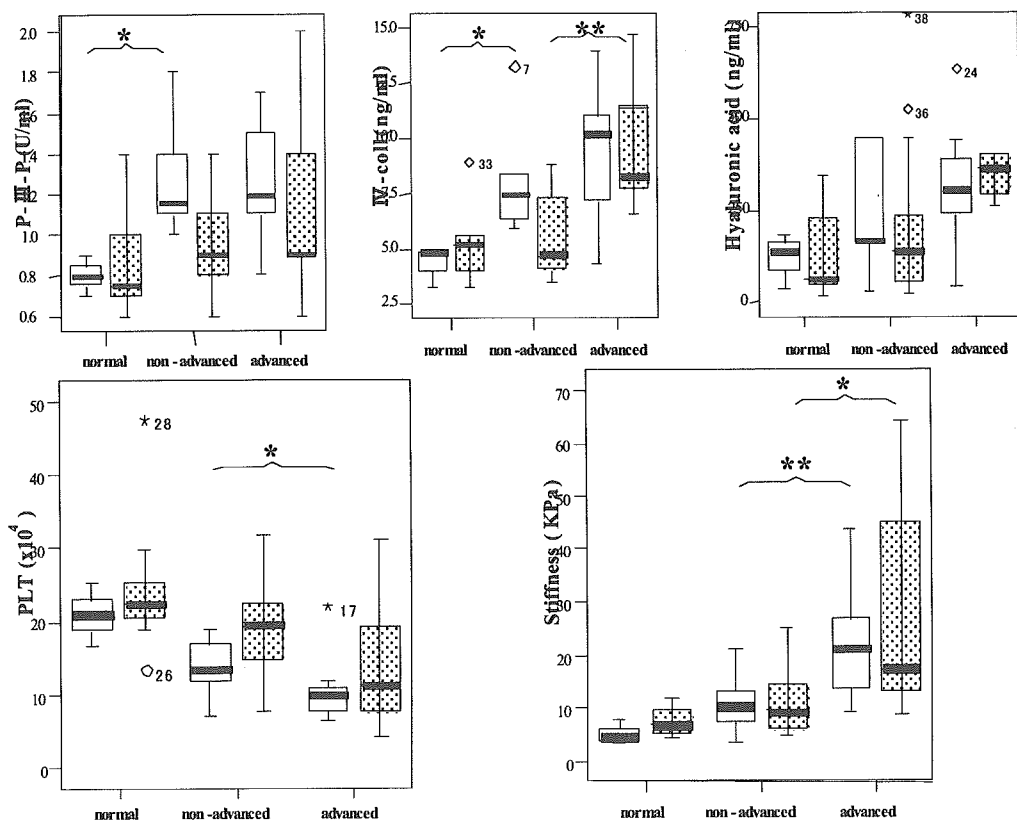


図1 肝線維化マーカー、血小板数および Stiffness と腹部超音波所見との対比 箱ひげ図の open box が non-HIV 群、dotted box が HIV 群で、腹部超音波所見は normal、non-advanced、advanced の3段階に分類した (\*P<0.05、\*\*P<0.01 by Mann-Whitney *U* test)。

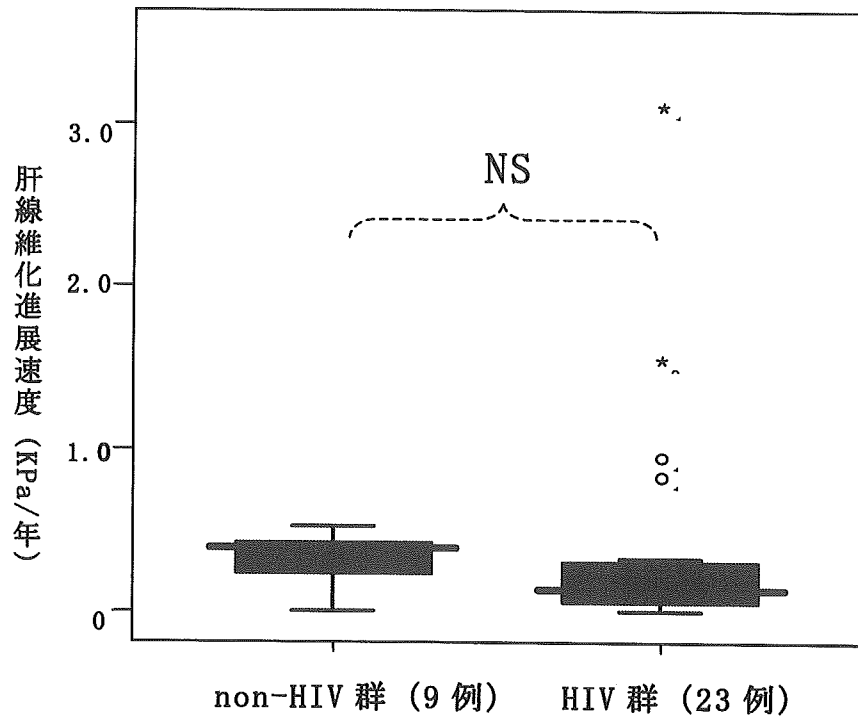


図2 non-HIV 群および HIV 群における肝線維化進展速度の比較