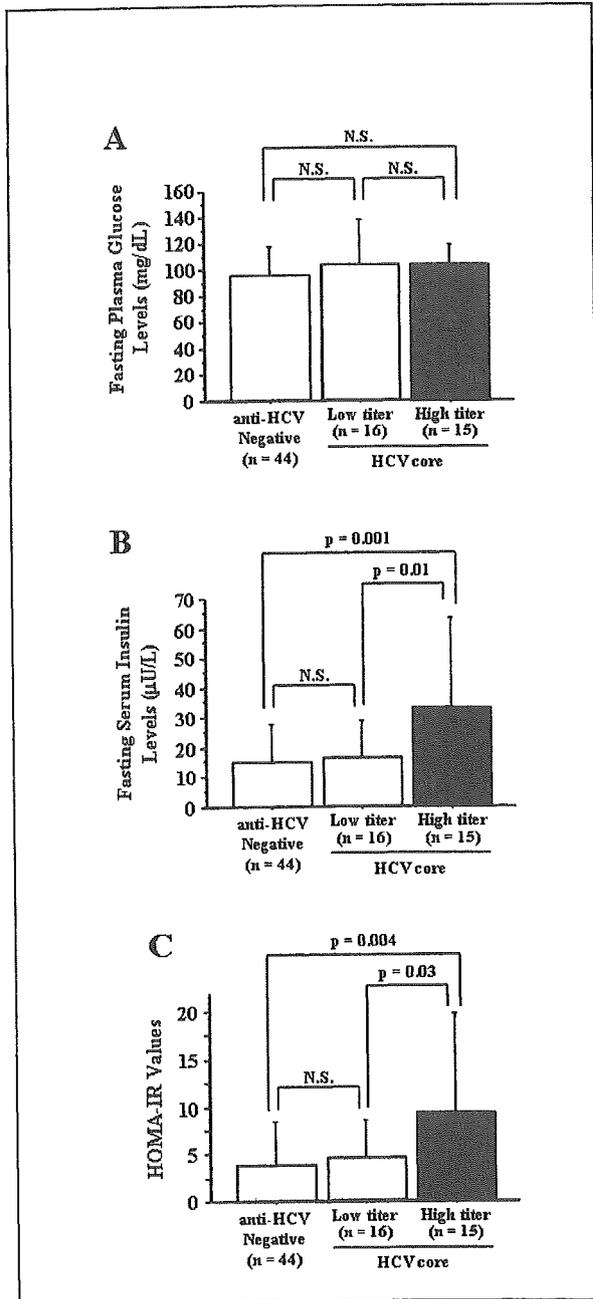


titer 群に比べ、優位に高値であった(図 3B、C)。

図3



7年間の経過観察後(2002年)、同地区における住民検診よりC型肝炎ウイルス感染者と2型糖尿病の因果関係をケース・コホート研究にて検討した。anti-HCV 陽性者(29名)の糖尿病発症率は無作為に抽出した anti-HCV 陰性者(42名)の糖尿病の発症率に比べ約3倍高値を示したが、

統計学的には優位差を認めなかった(Relative Risk 3.62, P = 0.08, C. I. 0.83 - 20.89)。しかし、anti-HCV 陽性者を HCV core 抗原量にて層別化を行ったところ、HCV core high titer 群(15名)では anti-HCV 陰性者に比べ、5.6倍糖尿病の発症率が高く、統計学的にも優位な差として認められた(Relative Risk 5.60, P = 0.02, C. I. 1.41 - 37.42)(表1)。

表1

anti-HCV	HCV core Titer	Total Number	Number of Persons with Diabetes	P Value	Relative Risk	95% Confidence Interval
Negative		42	2		1	
Positive		29	5	0.08	3.62	0.81 to 20.89
Positive	Low	14	1	0.73	1.50	0.66 to 3.41
Positive	High	15	4	0.02	5.60	1.41 to 37.42

Note: Subjects with anti-HCV positive were categorized according to HCV core titer into 2 groups: ≥ 300 fmol/L, high titer

D. 考察並びに結論

C型肝炎ウイルス高感染地区における一般住民を対象とした研究においても、C型肝炎ウイルス感染者は非感染者に比べインスリン抵抗性が強いことが明らかとなった。また、HCV core 抗原が high titer を示す住民は anti-HCV 陰性者に比べ糖尿病を高率に発症することが明らかとなった。昨年度、我々が明らかにした「C型肝炎ウイルスによるインスリン抵抗性発現の分子機序」と併せて、C型肝炎ウイルスそのものが糖尿病発症の要因となりうることを明らかにした。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Exacerbation of oral erosive lichen planus by combination of interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. Nagao Y,

- Kawaguchi T, Ide T, Kumashiro R, Sata M. *Int J Mol Med* 15: 237-241, 2005.
- 2) Causal relationship between hepatitis C virus core and the development of type 2 diabetes mellitus in a hepatitis C virus hyperendemic area: a pilot study. Kawaguchi T, Nagao Y, Tanaka K, Ide T, Harada M, Kumashiro R, Sata M. *Int J Mol Med* 16: 109-114, 2005.
 - 3) Extrahepatic manifestations and insulin resistance in an HCV hyperendemic area. Nagao Y, Kawaguchi T, Tanaka K, Kumashiro R, Sata M. *Int J Mol Med* 16: 291-296, 2005.
 - 4) Risk factors for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C after sustained response to interferon. Ikeda M, Fujiyama S, Tanaka M, Sata M, Ide T, Yatsuhashi H, Watanabe H. *J Gastroenterol* 40: 148-156, 2005.
 - 5) Molecular evolutionary analyses implicate injection treatment for schistosomiasis in the initial hepatitis C epidemics in Japan. Tanaka Y, Hanada K, Orito E, Akahane Y, Chayama K, Yoshizawa H, Sata M, Ohta N, Miyakawa Y, Gojobori T, Mizokami M. *J Hepatol* 42: 47-53, 2005.
 - 6) Distinct geographic distributions of hepatitis B virus genotypes in patients with acute infection in Japan. 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. *J Med Virol* 77: 39-46, 2005.
 - 7) Quantitative studies on the impaired filterability of erythrocytes from patients with liver cirrhosis. Seki R, Okamura T, Maruyama T, Tanaka K, Ide T, Kage M, Sata M, Uyesaka N. *日本バイオレオロジー学会誌* 19: 50-59, 2005.
 - 8) Timing of interferon therapy and sources of infection in patients with acute hepatitis C. Ogata K, Ide T, Kumashiro R, Kumada H, Yotsuyanagi H, Okita K, Akahane Y, Kaneko S, Tsubouchi H, Tanaka E, Moriwaki H, Nishiguchi S, Kakumu S, Mizokami M, Iino S, Sata M. *Hepato Res* 34: 35-40, 2006.
 - 9) C型肝炎ウイルス持続感染者に対する薬物療法 - インターフェロン療法の普及とその現状 -. 長尾由実子、佐田通夫、鈴木史雄、野林晴彦、川上 裕. *政策研ニュース* 19: 21-23, 2006.
2. 学会発表
- 1) Minoru Itou, Tetsuharu Oriishi, Eitaro Taniguchi, Takumi Kawaguchi, Takato Ueno, Michio Sata. A gut hormone, glucagon-like peptide-1, associated with HCV-induced insulin resistance. 40th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL) 2005/4/13-17 (Paris, France).
 - 2) Takafumi Yoshida, Hisanobu Ogata, Takao Hisamoto, Hiroto Kumemura, Shinichiro Hanada, Eitaro Taniguchi, Takumi Kawaguchi, Shinji Baba, Michiko Maeyama, Hironori Koga, Masaru Harada, Takato Ueno, Akihiko Yoshimura, Michio Sata. The sprouty-related protein, spread, a novel

- therapeutic way for HCC. 40th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL) 2005/4/13-17 (Paris, France).
- 3) Reiiichiro Kuwahara, Ryukichi Kumashiro, Tatsuya Ide, Yuriko Koga, Teruko Hino, Akiko Hisamochi, Kazuo Tanaka, Kei Ogata, Hiroyuki Koga, Yukari Takao, Michio Sata. The selection of the patients with risk of developing hepatic failure after the emergence of lamivudine-resistant HBV. 40th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL) 2005/4/13-17 (Paris, France).
 - 4) Nobuhiro Uyesaka, Ritsuko Seki, Takashi Okamura, Kazuo Tanaka, Tatsuya Ide, Masayoshi Kage, Michio Sata, Toru Maruyama. Quantitative studies on the impaired filterability of erythrocytes from patients with liver cirrhosis .2th International Congress of Biorheology and 5th International Conference on Clinical Hemorheology 2005/5/30-6/3 (Chongqing, China).
 - 5) Toru Maruyama, Ritsuko Seki, Takashi Okamura, Kazuo Tanaka, Tatsuya Ide, Michio Sata, Nobuhiro Uyesaka. Eicosapentaenoic acid improves the impaired filterability of erythrocytes from chronic hepatitis patients treated with interferon plus ribavirin. 12th International Congress of Biorheology and 5th International Conference on Clinical Hemorheology 2005/5/30-6/3. (Chongqing, China).
 - 6) 井出達也、神代龍吉、佐田通夫. 高齢者に対するインターフェロンリバビリン併用療法の問題とその対策. DDW-Japan (第9回日本肝臓学会大会、第47回日本消化器病学会大会、第43回日本消化器集団検診学会大会合同) 2005/10/5-6 (神戸).
 - 7) Shuji Sumie, Takumi Kawaguchi, Eitaro Taniguchi, Mina Kurogi, Eiji Ando, Ryoko Kuromatsu, Hironori Koga, Takuji Torimura, Ryukichi Kumashiro, Masamichi Kojiro, Michio Sata. Down-regulated SH2-containing inositol phosphatase (SHIP)-2 expression in HCC and hyperinsulinemia are involved in prognosis of men with HCV infection. 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) 2005/11/11-15 (San Francisco, USA).
 - 8) Takumi Kawaguchi, Eitaro Taniguchi, Tatsuya Ide, Yumiko Nagao, Chikatoshi Yanagimoto, Hiroto Kumemura, Shinichiro Hanada, Michiko Maeyama, Hironori Koga, Ryukichi Kumashiro, Michio Sata. Clearance of HCV improves insulin resistance, beta cell function, and hepatic expression of insulin receptor substrated 1 and 2. 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) 2005/11/11-15 (San Francisco, USA).
 - 9) Minoru Itou, Tetsuharu Oriishi, Takumi Kawaguchi, Eitaro Taniguchi, Shuji Sumie, Tatsuya Ide, Takato Ueno, Atsushi Toyonaga, Michio Sata. Down-regulated a gut hormone, glucagon-like peptide-1, in patients with

- HCV infection. 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) 2005/11/11-15 (San Francisco, USA).
- 10) 日野照子、井出達也、神代龍吉、古賀郁利子、久持顕子、緒方 啓、久原孝一郎、佐田通夫. C型肝炎進行例に対する脾臓摘出後のインターフェロン治療の試み. 第 86 回日本消化器病学会九州支部例会、第 80 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会 合同 2005/11/18-19 (熊本).
 - 11) 村島史朗、田中正俊、加藤美幸、藤木 啓、村上直孝、中島 裕、由谷 茂、原田和徳、松本 敦、孝富士喜久生、佐田通夫. 血症板減少を示す代償性C型肝炎において摘脾後にインターフェロン治療可能となった症例の検討. 第 86 回日本消化器病学会九州支部例会、第 80 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会 合同 2005/11/18-19 (熊本).
 - 12) 井出達也、神代龍吉、佐田通夫. ラミブジン耐性株に対するアデフォビル単独療法の臨床的検討. 第 36 回日本肝臓学会西部会 2005/11/25-26 (鈴鹿).
 - 13) 川口 巧、谷口英太郎、佐田通夫. Direct segmental multi-frequency bioelectric impedance assay を用いた肝硬変患者の栄養評価. 第 36 回日本肝臓学会西部会 2005/11/25-26 (鈴鹿).
 - 14) 歯学部並びに歯科衛生士学校の学生を対象に実施した B 型及び C 型肝炎に対しての意識調査. 長尾由実子、千葉逸朗、佐田通夫. 第 79 回日本感染症学会総会 2005/4/14-15 (名古屋).
 - 15) C 型肝炎における二重濾過血漿交換 (DFPP) によるウイルス減量導入療法の試み. 井出達也、佐田通夫、西田秀美、玉置清志、奥田誠也. 第 11 回日本アフェレシス学会九州地方会 2005/4/24 (福岡).
 - 16) C 型肝炎における赤血球変形能と治療の影響. 関 律子、岡村 孝、井出達也、神代龍吉、佐田通夫、藤野武彦、上坂伸宏、丸山 徹. 日本膜学会第 27 年会 2005/5/19-20 (東京).
 - 17) HCV 陽性肝細胞癌根治後の再発予防を目的とした IFN 使用可能例の検討. 黒松亮子、安東栄治、高田晃男、福嶋伸良、住江修治、田中正俊、佐田通夫. 2005/6/2 (千葉).
 - 18) リンパ腫の化学療法後に肝不全死した HBe 抗体陽性 ASC の 1 例. 白土睦人、本田和、斎藤文彦、今村甲彦、杉山 元、神代龍吉、佐田通夫、西田秀美、坂本照夫. 第 31 回日本急性肝不全研究会. 2005/6/15 (大阪).
 - 19) ラミブジン治療による肝硬変患者の食道静脈瘤の形態変化. 古賀裕之、井出達也、於保和彦、有永照子、桑原礼一郎、緒方 啓、田中一雄、久持顕子、古賀郁利子、神代龍吉、豊永 純、佐田通夫. 第 41 回日本肝臓学会総会. 2005/6/17 (大阪).
 - 20) C 型肝炎治療中に骨盤内膿瘍を形成し S 状結腸に穿破した一例. 是此田博子、日野照子、唐原 健、鶴田 修、吉森健一、河野弘志、緒方健二、井出達也、久持顕子、古賀裕之、神代龍吉、豊永 純、佐田通夫. 第 79 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会. 2005/6/17-18(沖縄).

- 21) 細胞性および液性免疫によって認識される C 型肝炎ウイルス抗原ペプチドの同定. 田村眞由美、山田 亮、高尾由香里、小松誠和、由谷 茂、井出達也、佐田通夫、伊東恭悟. 第 64 回日本癌学会学術総会. 2005/9/14. (札幌).
- 22) HCV 関連肝細胞癌におけるインスリン抵抗性(糖代謝異常)の意義. 住江修治、安東栄治、鳥村拓司、長岡 栄、佐田通夫. 第 64 回日本癌学会学術総会. 2005/9/14 (札幌).
- 23) インターフェロン療法が奏効した小児の B 型慢性肝炎の 1 例. 石井邦英、田口 順、梶原雅彦、實藤俊昭、馬場真二、安倍弘彦、井上欣哉、神代龍吉、佐田通夫. 第 86 回日本消化器病学会九州支部例会、第 80 回日本消化器内視鏡学会九州支部例会 合同. 2005/11/19 (熊本).
- 24) 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. 和田有希、永松洋明、石田祐介、光武良崇、向笠道太、佐谷 学、角野通弘、吉田 博、佐田通夫. 第 10 回筑後肝癌研究会. 2005/1/29 (久留米).
- 25) IFN 著効後に発症した肝細胞癌に対する肝切除によって無再発生存中の 4 例についての検討. 石田祐介、永松洋明、牛島知之、和田有希、光武良崇、佐谷 学、角野通弘、平城 守、吉田 博、佐田通夫. 第 36 回日本肝臓学会西部会. 2005/11/26 (鈴鹿).
- 26) インターフェロン (IFN) およびリバビリン併用療法に対する治療抵抗性 HCV のウイルス学的解析: IRES 領域の塩基配列および翻訳活性比較による検討. 緒方 啓、柏木孝仁、岩橋 潤、小原道法、佐田通夫、濱田信之. 第 28 回日本分子生物学会年会. 2005/12/7 (福岡).
- G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

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
1	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	Vol. 15, No. 2	237-241	2005
2	Kawaguchi T, Nagao Y, Tanaka K, Ide T, Harada M, Kumashiro R, Sata M.	Causal relationship between hepatitis C virus core and the development of type 2 diabetes mellitus in a hepatitis C virus hyperendemic area: a pilot study.	Int J Mol Med	Vol. 16, No. 1	109-114	2005
3	Nagao Y, Kawaguchi T, Tanaka K, Kumashiro R, Sata M.	Extrahepatic manifestations and insulin resistance in an HCV hyperendemic area.	Int J Mol Med	Vol. 16, No. 2	291-296	2005
4	Ikeda M, Fujiyama S, Tanaka M, Sata M, Ide T, Yatsuhashi H, Watanabe H.	Risk factors for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C after sustained response to interferon.	J Gastroenterol	Vol. 40, No. 2	148-156	2005
5	Tanaka Y, Hanada K, Orito E, Akahane Y, Chayama K, Yoshizawa H, Sata M, Ohta N, Miyakawa Y, Gojobori T, Mizokami M.	Molecular evolutionary analyses implicate injection treatment for schistosomiasis in the initial hepatitis C epidemics in Japan.	J Hepatol	Vol. 42, No. 1	47-53	2005
6	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	Vol. 77, No. 1	39-46	2005
7	Seki R, Okamura T, Maruyama T, Tanaka K, Ide T, Kage M, Sata M, Uyesaka N.	Quantitative studies on the impaired filterability of erythrocytes from patients with liver cirrhosis.	日本バイオレオロジー学会誌	Vol. 19, No. 1	50-59	2005
8	Ogata K, Ide T, Kumashiro R, Kumada H, Yotsuyanagi H, Okita K, Akahane Y, Kaneko S, Tsubouchi H, Tanaka E, Moriwaki H, Nishiguchi S, Kakumu S, Mizokami M, Iino S, Sata M.	Timing of interferon therapy and sources of infection in patients with acute hepatitis C.	Hepato! Res	Vol. 34	35-40	2006
9	長尾由美子, 佐田通夫, 鈴木史雄, 野林晴彦, 川上裕.	C型肝炎ウイルス持続感染者に対する薬物療法-インターフェロン療法の普及とその現状-	政策研ニュース	Vol. 19	21-23	2006

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 RNA 測定とその臨床的意義

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：血中 HBV RNA の測定系を開発し、その臨床的意義を検討した。血清をシヨ糖密度勾配で分画し、HBV DNA、HBV RNA、HBVc 抗原を測定した成績では、いずれのピークも一致し、HBV RNA を遺伝子として持つ HBV 粒子が血中に存在することが明らかとなった。Lamivudine 投与開始後、HBV DNA 量は速やかに低下したのに対し、HBV RNA 量と HBVc 抗原量は徐々に低下した。HBV RNA 量は、HBVc 抗原量と HBV DNA 量の両方と良い相関を示した。ただし、Lamivudine 治療中は HBV DNA 量との比は変化した。今回の検討から、HBV RNA を遺伝子として持つ HBV 粒子が流血中に存在し、血中 HBV RNA 量は肝細胞中の cccDNA 量を反映するマーカーであることが示唆された。

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 型慢性肝炎はしばしば活動性の病態を呈し、急速に肝硬変へ進展し、肝細胞癌の合併も高率となる。このような病態では Lamivudine (LAM) などの抗ウイルス薬が有効であり、速やかな HBV DNA 量の低下と肝炎の鎮静化がみられる。しかし、LAM 治療では耐性株出現による肝炎再燃の問題や中止時期が明確ではないなどの問題点が残されている、LAM の治療効果のモニターは血中 HBV DNA の測定で行われる。しかし、これが検出感度以下に低下しても、LAM 耐性株出現や治療中止後の肝炎の再燃は希ではない。我々は、これまで HBV コア関連抗原 (HBVc 抗原) の測定が LAM 治療効果のモニターに有用であることを報告してきた。今回は、新しいマーカーとして血中 HBV RNA の測定を行い、その意義を検討したので報告する。

B. 研究方法

LAM 治療を行った B 型慢性肝炎 24 例を対象とした。内訳は男性 18、女性 6 で年齢の中央値は 55 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 HBVc 抗原量 (3-log U/ml) と HBV コア抗原量 (HBVc 抗原) は我々のグループで開発した GLEIA 法にて測定した。血中 HBV RNA は、まず抽出した核酸を DNAase で処理し HBV DNA を除去した。その後、HBV RNA を逆転写して DNA とした後、Real-time PCR 法で定量的に測定した。特異性の確認は、DNAase 処理後、逆転写を行わずに測定することにより行った。すなわち、HBV DNA が残存している場合はこれで陽性となるが、DNAase 処理が十分であれば陰性となる。

(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

LAM 投与開始後の HBV DNA (□)、HBV RNA (▲)、HBVc 抗原 (○) の推移を図 1 に示した。HBV DNA 量は LAM 投与開始後速やかに低下したのに対し、HBVc 抗原量の低下は緩徐であった。HBV RNA 量の推移は HBVc 抗原量と類似しており、緩徐に低下した。治療開始前、HBV RNA 量は HBV DNA 量に比較し 100 分の 1 以下であったが、治療開始 2 ヶ月でのその量は類似し、6 ヶ月では逆転した。

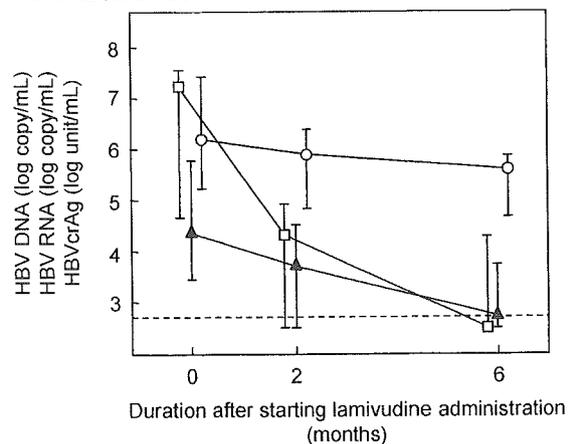


図1：LAM治療開始後のHBV DNA量、HBV RNA量、HBVc抗原量の推移。

図 2 に、HBV RNA 量と HBV DNA 量および HBVc 抗原量との相関を示した。LAM 投与前では、両者とも有意の正の相関がみられた。LAM 投与開始 2 ヶ月でも両者と有意の正の相関がみられた。しかし、HBVc 抗原量との相関直線の角度に大きな変化はみられなかったのに対し、HBV DNA 量との相関直線はねる傾向がみられた。これは、HBV RNA 量に対し HBV DNA 量が相対的に低くなるためであった。

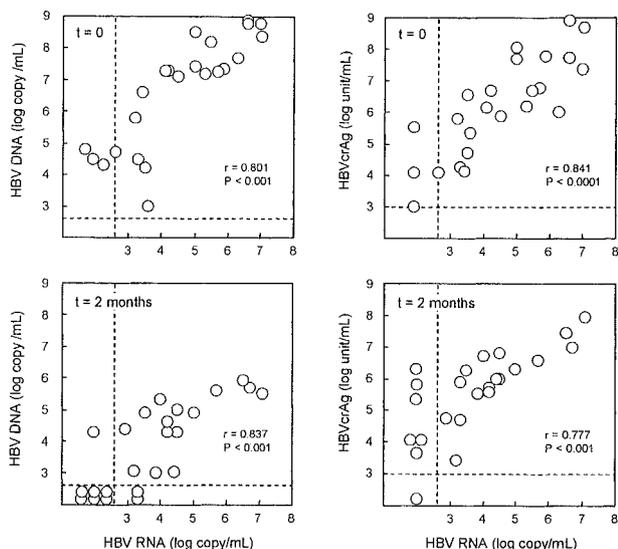


図2：HBV RNA量とHBV DNA量およびHBVcr抗原量との相関。
LAM治療開始前と開始2ヶ月での検討。

図3に、患者血清をシヨ糖密度勾配で分画し、HBV DNA量、HBV RNA量、HBVcr抗原量を測定した成績を示した。LAM投与前、三つの量のピークは一致しており、HBV RNAがウイルス粒子内に存在することが示唆された。

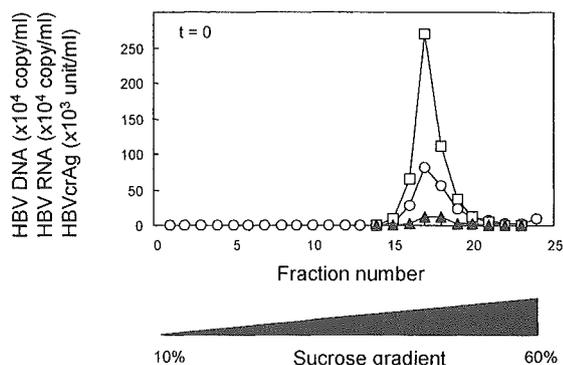


図3：HBV RNAの存在様式に関するシヨ糖密度勾配法による検討。

D. 考察

HBVはDNAウイルスであるが、その複製過程において、肝細胞核内にあるcccDNAからpregenomic RNAが転写され、さらにこれが逆転写されてgenomic DNAと

なる。通常、Virionはgenomic DNAとなつてから流血中に放出されるので、血中ではDNAウイルスとして認識される。通常の状態では血中のHBV RNA量はHBV DNA量の100分の1以下と考えられる。しかし、今回の検討でHBV RNAを遺伝子としてもつウイルス粒子が血中に存在していることが明らかとなった。

LAMは逆転写酵素阻害剤であり、pregenomic RNAがDNAに逆転写されるのを阻害する。このため、LAM投与開始後、血中のHBV DNA量は速やかに低下する。これに対し、HBVcr抗原とHBV RNA量の低下は緩徐であった。これは、LAMはcccDNAからのpregenomic RNAやmRNAの転写を抑制しないことが原因と考えられる。LAM治療における耐性株の出現や中止後の肝炎再燃の問題には肝細胞中のcccDNAが大きく関与している。このため、このcccDNA量を反映する血中マーカーが必要とされてきた。

我々は、これまで血中HBVcr抗原量が肝細胞中cccDNA量を反映するマーカーであり、LAM耐性株出現の予測や治療中止時期の決定に有用であることを報告してきた。今回、LAM治療下において、血中HBV RNA量はHBVcr抗原量と類似した動態を示した。前述した理論的背景を加味すると、血中HBV RNAは肝細胞中のcccDNA量を反映する新しいマーカーとしての可能性が示唆された。また、今回の成績は、我々がこれまで報告してきたHBVcr抗原のデータも裏付けるものである。

今後の展開としては、さらに多数例についてHBV RNAを測定しLAM治療効果との関連を検討する必要がある。

E. 結論

HBV RNAを遺伝子として持つHBV粒子が流血中に存在する。血中HBV RNA量は測定可能であり、肝細胞中のcccDNA量を反映するマーカー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

松本晶博、田中榮司、清澤研道：B型慢性肝炎の長期ラミブジン治療における問題点と対策 第9回日本肝臓学会大会（神戸）。

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. Son XH, Rokuhara A, Tanaka E, Gad A, Mutou H, Matsumoto A, Yoshizawa K, Kiyosawa K. Nucleotide mutations associated with hepatitis B e antigen negativity. *J Med Virol* 76:170–175, 2005
2. Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, Kiyosawa K, Kumada H, Omata M, Okita K, Hayashi N, Okanoue T, Iino S, Tanikawa K, and the Inuyama Hepatitis Study Group. Efficacy of lamivudine for preventing hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: A multicenter retrospective study of 2,795 patients. *Hepatology Research* 32:173–184, 2005
3. Kimura T, Ohno N, Terada N, Rokuhara A, Matsumoto A, Yagi S, Tanaka E, Kiyosawa K, Ohno S, Maki N. Hepatitis B virus DNA-negative Dane particles lack core protein but contain a 22-kDa precore protein without C-terminal arginine-rich domain. *J Biol Chem* 280:21713–21719, 2005
4. Rokuhara A, Sun X, Tanaka E, Kimura T, Matsumoto A, Yao D, Yin L, Wang N, Maki N, Kiyosawa K. Hepatitis B virus core and core-related antigen quantitation in Chinese patients with chronic genotype B and C hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 20:1726–1730, 2005
5. Tanaka E, Matsumoto A, Suzuki F, Kobayashi M, Mizokami M, Tanaka Y, Okanoue T, Minami M, Chayama K, Imamura M, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Yotsuyanagi H, Kawata S, Kimura T, Maki N, Iino S, Kiyosawa K, and HBV Core-Related Antigen Study Group. Measurement of hepatitis B virus core-related antigen is valuable for identifying patients who are at low risk of lamivudine resistance. *Liver Int* 26:90–96, 2006
6. Misawa N, Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, Yoshizawa K, Umemura T, Maki N, Kimura T, Kiyosawa K. Patients with and without loss of hepatitis B virus DNA after hepatitis B e antigen seroconversion have different virological characteristics. *J Med Virol* 78:68–73, 2006

「B型及びC型肝炎ウイルスの新たな感染予防法の確率のための感染病態解明に関する研究班」

研究課題名：HCV キャリアの進展、非進展に関する臨床的検討

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

A. 要旨：輸血歴を有する HCV キャリア 261 例を対象に、肝機能進展と非進展に関する臨床的検討を行った。初診時 50 歳未満の群と輸血より初診までの期間が 30 年未満の群が有意に血小板数が多数であった。肝機能非進展例は輸血より初診までの期間が 30 年未満では約 40% であるが、10 年で 10% ずつ減少し、40 年以上経過すると、約 20% に低下する。HCV 持続感染例における肝機能進展例、非進展例の割合は 80%：20% と肝機能非進展例で終始する可能性は少なく、肝機能良好な若年例に対しても積極的に IFN 治療を導入する必要があると考えられる。HCC 発症の有無に関しては、輸血より初診までの期間は全く関係なく、輸血時および初診時の年齢が高齢であるほど HCC 発症の危険性が高くなる成績であった。

B. 研究目的 HCV 感染例が辿る自然経過について、その約 30% が一過性感染で終わることは周知の事実である。しかし、その他の約 70% について、肝硬変、肝細胞癌 (HCC) まで進展するキャリアと軽度の慢性肝炎で終始するキャリアの比率等については、一定の見解が得られていない。今回、それら進展例と非進展例に関する臨床的検討を行い、肝機能良好の C 型慢性肝炎に対するインターフェロン (IFN) 治療導入の適否について考察した。

C. 研究方法 対象は 1982 年 4 月以降に当院を初診した輸血歴を有する HCV キャリア 261 例である。性別は男性 124 例、女性 137 例で、年齢は 23 歳～84 歳 (平均 60.4 歳) であった。セログループはセログループ 1 119 例、セログループ 2 38 例、不明 37 例で、HCC の発症が確認されている例が 57 例、非発症が確認されている例が 167 例、不明 37 例であった。検討因子は輸血時年齢、初診時年齢、輸血より初診までの期間、初診時血小板数、HCC 発症の有無および性別、セログループである。肝機能非進展の定義は血小板数 $17.0 (x10^4/mm^3)$ 以上で、かつ HCC 非発症例とし、統計学的解析は χ^2 検定および t 検定を用いた。

D. 研究結果 対象の輸血時年齢、初診時年齢および輸血より初診までの期間の

平均はそれぞれ、29.3歳、60.4歳および31.1年であった。輸血時年齢と初診時血小板数との関係では、初診時血小板数は20歳未満、20-29歳、30-39歳および40歳以上の4群で差をみとめなかった。一方、初診時年齢と初診時血小板数との関係では、初診時血小板数 ($\times 10^4/\text{mm}^3$) は50歳未満 18.6 ± 7.5 、50-59歳 14.9 ± 6.8 、60-69歳 15.1 ± 6.3 および70歳以上 12.6 ± 5.2 で、50歳未満群は他の3群*に比し、また、50-59歳群は60-69歳群**、70歳以上群*に比し、有意 (* $p < 0.01$ ** $p < 0.05$) に多数であった。輸血より初診までの期間と初診時血小板数との関係でも、30年未満群は40年以上群に比し、有意 ($p < 0.01$) に多数であった。HCC発症の有無と輸血時年齢、初診時年齢および輸血より初診までの期間との関係についての検討では、輸血時年齢はHCC発症群 33.2 ± 10.6 、HCC非発症群 26.9 ± 11.8 とHCC発症群は非発症群に比し、輸血時年齢は有意 ($p < 0.001$) に高齢であった。初診時年齢もHCC発症群 65.6 ± 8.2 、HCC非発症群 58.9 ± 11.3 とHCC発症群は非発症群に比し、有意 ($p < 0.0001$) に高齢であった。一方、輸血より初診までの期間はHCC発症群、非発症群で全く差を認めなかった。性別、セログループ別では、初診時血小板数、HCC発症の有無の両者とも差を認めなかった。輸血より初診までの期間と肝機能非進展例との検討では、肝機能非進展例は30年未満群では39.8% (43/108)、30-39年群28.3% (26/92) および40年以上群19.6% (12/61) であった。

E. 考察 IFN治療の進歩により、セログループ1で高ウイルスの難治性C型慢性肝炎でも約50%のHCV排除が可能になってきた。肝機能良好なとくに若年例(50歳未満)に対して、すぐにIFN治療を開始するかどうかは、未だ議論なあるところである。そのような若年の肝機能良好例がその後どのように推移するかは、治療を考える上できわめて重要な問題と考えられる。今回、輸血歴を有するHCVキャリアの経過について検討し、肝機能非進展例の比率を算出した。肝予備能の指標を、最も簡便な血小板数で代表させると、初診時50歳未満の群と輸血より初診までの期間が30年未満の群が有意に血小板数多数で、それ以上になると急速に減少する可能性が示唆された。肝機能非進展例を血小板数 $17.0 (\times 10^4/\text{mm}^3)$ 以上でHCC非発症例と定義すると、輸血より初診までの期間が30年未満では約40%が非進展例であるが、10年で10%ずつ減少し、40年以上経過すると、約20%に低下する。輸血以外での感染例の感染年齢は定かではないが、10歳から30歳までが多数と推測すると、今回の対象は感染時期がやや高齢にシフトしている可能性があり、非輸血例では、肝機能非進展例の割合はもう少し低くなるのが推察される。昨今は、全く肝機能正常の症例でも紹介受診される例が多く、病院受診例に肝機能進展例が極端に多いとは考えにくく、HCVキャリアにおける肝機能進展例、非進展例の割合は80%:20%、

HCV 感染例全体では、一過性感染例 30%、肝機能非進展例 15%および進展例 55%と推察する。よって、肝機能良好な若年例に対しても積極的に IFN 治療を導入する必要があると考えられる。HCC 発症の有無に関しては、初診時血小板数とは異なり輸血より初診までの期間は全く関係なく、輸血時および初診時の年齢が高齢であるほど HCC 発症の危険性が高くなる成績であった。国立長崎医療センターでも同様の報告がなされており、高齢とくに 60 歳以上では HCC 発症に十分な注意が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 加藤道夫：アデホビル. 臨床消化器内科. 20：613-620, 2005
- 2) 加藤道夫：B 型慢性肝炎治療の最前線 インターフェロン療法. 総合臨牀. 54：541-547, 2005
- 3) 伊与田賢也, 結城暢一, 山本佳司, 加藤道夫：最新医学・別冊 新しい診断と治療の ABC 27 消化器 3 ウイルス性肝炎 急性肝炎の診断と治療(各論):(2) B 型急性肝炎と B 型慢性肝炎急性増悪. 最新医学社：80-87. 2005
- 4) 金子 晃, 久保光彦, 渡辺晋一郎, 東谷光庸, 山本守敏, 巽 信之, 中間昭弘, 尾下正秀, 片山和宏, 井上敦雄, 春名能通, 吉原治正, 久保田真司, 三田英治, 鈴木都男, 加藤道夫, 肱岡泰三, 萩原秀紀, 平松直樹, 林 紀夫：原発性胆汁性肝硬変に対する bezafibrate 療法の有効性と問題点. 肝臓. 46：200-207, 2005
- 5) Yuki N, Matsumoto M, Tadokoro K, Mochizuki K, Kato M, Yamaguchi T：Significance of liver negative-strand HCV RNA quantitation in chronic hepatitis C. J Hepatol. 44：302-309, 2006
- 6) 加藤道夫：B 型慢性肝炎の病態をどう把握し、治療方針を立てるか？. Medical Practice. 23：51-55, 2006

2. 学会発表

- 1) 0-2 ratio、0-4 ratio を用いた Peg-IFN α 2b/Ribavirin 併用治療効果予測. 第 36 回日本肝臓学会西部会シンポジウム. (鈴鹿 2005. 11. 25, 26)

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

研究要旨：B型急性肝炎の慢性化の頻度およびその背景につき genotype 面から検討した。対象 125 例のうち慢性化は 15 例(12%)、非慢性化は 110 例であった。慢性化率を genotype 別に見ると genotype A 21.4%(9/42)、genotype B 5.9%(1/17)、genotype C 7.4%(4/54)であった。genotype A で血清 HBV-DNA レベルが減少しにくい機序を調べるために HBV-DNA の複製に関与すると報告されている ϵ 領域の塩基配列、熱力学的安定性を Nearest neighbor base-pair model(最近接塩基対モデル)、Jacobson-Stockmayer method、熱力学の第 II 法則にて検討した。その結果、genotype A の ϵ 領域は熱力学的に genotype B,C に比し約 100 倍安定であり、genotype A は生体側因子により、破壊されにくく HBV DNA の複製が持続し易いと考えられた。

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

Jacobson-Stockmayer method にて ϵ 形成に必要な Gibbs の free energy を算出し、次いで熱力学の第 II 法則より、安定化係数を比較した。

A. 研究目的

B 型肝炎ウイルス (HBV) はそのウイルスの遺伝子構造によって A~H までの genotype に分けられる。本邦では従来、genotype B 及び C が主体であったが、近年、genotype A が都市部を中心に漸増してきており、慢性化がときにみられている。今回、B 型急性肝炎の慢性化の頻度およびその背景につきウイルス側因子を中心に検討した。

B. 研究方法

(検討 1) 慢性化の頻度・要因の検討：対象は過去 30 年間に HBS 抗原陽性の急性肝炎と診断された 125 例とした。慢性化を急性肝炎発症 6 か月後の HBs 抗原および HBe 抗原陽性例と定義し、これらの 125 例での慢性化の頻度およびその臨床背景につき検討した。125 例の内訳は性では男性 101 例(81%)、年齢中央値 33 歳(範囲 12-74 歳)、最高 AST1200(58-5230) IU/L、最高 ALT1768(62-5756) IU/L、最高総ビリルビン値 8.7(0.5-40.4) mg/dl、HBs 抗原力価 (RPHA) 1024(32→8192)、最高 HBV-DNA (TMA) 6.8(<3.7→8.7) LEG/ml、最高 anti-IgMHBc 7.2(3.2-9.6)、初診時 HBe 抗原陽性 93 例(74%)、genotype では A42 例、B17 例、C54 例であった。

統計学的検討では Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis test を用い、 $P < 0.05$ を有意差有りとした。慢性化をきたす因子の検討には Logistic regression analysis による多変量解析を用いた。慢性化をきたした因子の検討には宿主側背景(性、年齢、トランスアミン・総ビリルビン値等の血液生化学的検査値)、ウイルス側背景 (genotype、HBs 抗原力価、HBV DNA 量、IgM HBC 力価) 等を用いた。

(検討 2) HBV の Encapsidation signal (ϵ) 領域の安定性の検討：HBV-DNA の複製に重要と考えられる ϵ 領域の安定性に関しては、各種 genotype 毎に Direct sequence 法にてその二次元構造を解析し、Nearest neighbor base-pair model(最近接塩基対モデル)、

(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した。

C. 研究結果

(検討 1) 慢性化の頻度：症例 125 例のうち慢性化例は 15 例(12%)、非慢性化例は 110 例であった。慢性化率を genotype 別に見ると genotype A 21.4%(9/42)、genotype B 5.9%(1/17)、genotype C 7.4%(4/54) であり、genotype A 例での慢性化率は高率であった。genotype 別にみた HBV-DNA の最高値、その 2 週後の値 (LEG/ml) は、それぞれ genotype A 7.5、6.3、genotype B 6.8、5.0、genotype C 6.9、4.0 であった。genotype A では genotype B および C に比し高値が継続した。2) ϵ 領域の熱力学的安定性：ウイルスの DNA 複製に重要と考えられる ϵ 領域の塩基変異を HBe 抗原陽性時期でみると genotype A は慢性化 5 例、非慢性化例 10 例とも 1850 番目が A、1858 番目が C であり、genotype B 5 例、C 7 例は 1850 番目および 1858 番目が全例 U であった。 ϵ 領域の Gibbs の free energy を算出すると genotype A では中央値が -30.9 Kcal/mol で genotype B および C では中央値 -27.8 Kcal/mol であった。熱力学の第 II 法則 $K = \exp(-\Delta G/RT)$, $R = \text{gas constant}, 1.987, T = \text{absolute temperature} = 273 + 37$ にて ϵ 形成の平衡定数を算出すると genotype A では 6.11×10^{21} で、genotype B および C では 3.99×10^{19} B であった。熱力学的には genotype A の方が B, C に比し 100 倍 ϵ 領域を形成しやすいと算出された。

D. 考察

今回の検討では、genotype A は genotype B および C に比し血清 HBV-DNA レベルの減少が緩徐である傾向がみられた。genotype A で血清 HBV-DNA レベルが

減少しにくい機序を調べるために HBV-DNA の複製に関与すると報告されている ϵ 領域での塩基配列、熱力学的安定性を検討した。その結果、genotype A の ϵ 領域は熱力学的に genotype B, C に比し約 100 倍安定であると計算された。 genotype A においてこの ϵ 領域が安定ということは生体側因子により、破壊されにくく HBV DNA の複製が持続し易いと考えられた。

E. 結論

B 型急性肝炎の慢性化についてウイルス側因子からみると genotype A では HBV-DNA の減少が緩徐であった。今後宿主側の免疫学的要因等をふくめた検討が必要である。

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) Suzuki Y, Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Hosaka T, Sezaki H, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Matsuda M, Watahiki S, Sato J, Kumada H. Persistent of acute interferon with hepatitis B virus genotype A and treatment in Japan. Journal of Medical Virology 2005; 76: 33-39.

2) Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Suzuki Y, Hosaka T, Sezaki H, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Matsuda M, Watahiki S, Sato J, Kumada H. Clinical and virological outcomes of patients chronically infected with hepatitis B virus genotype A in Japan. Journal of Medical Virology 2006; 78: 60-67.

2. 学会発表

1) 小林万利子、熊田博光 1976 年から 2003 年までの日本人の HBs 抗原陽性患者の変遷 第 41 回日本肝臓学会総会 肝臓 2005; Supplement (1) 46: A83.

2) 小林万利子、熊田博光 HBV genotype 別にみた Lamivudine 投与例の検討 第 9 回日本肝臓学会大会 肝臓 2005; Supplement (1) 46: A385.

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。

分担研究報告書

ラジカルイムノアッセイ法による HBs 抗原測定の特異性について

分担研究者 青山 正明 山形県産業技術振興機構 研究開発部

1. はじめに

ラジカルイムノアッセイ法は最終生成物を安定ラジカルとするペルオキシダーゼと過酸化水素の高感度検出系である¹⁾。検出器として ESR 装置を使用するため処理能力は限定されるが、応用は極めて広範囲に及ぶ。本測定系は原理的に S/N 特性に優れるため低濃度の測定を得意としている。この特性を生かし、我々はこれまでにラジカルイムノアッセイ法を、従来法では検出困難な低レベルの HBs 抗原の検出²⁾³⁾、天然水中の過酸化水素の検出ならびにスギ花粉飛散開始前における微量な大気中 Cry j 1 の検出⁴⁾に応用してきた。ここでは、ラジカルイムノアッセイ法により検出された低レベルの HBs 抗原の特異性について検討する。

2. 試薬

ルミパルス II HBsAg 用固相担体、ルミスポット栄研 HBs 抗原キットは、各試薬メーカーより購入した。既知濃度の HBs 抗原血清ならびに HBs 抗原希釈用人血清は栄研化学社より提供を受けた。HBs 抗原スクリーニング試薬はオーソクイックチェイサー HBsAg を使用した。

3. 実験方法

吸収抗体として富士レジオ社のルミパルス II HBsAg キットの固相担体を使用した。サンプル中に存在する微量の HBs 抗原が他キットの固相担体により除去されれば、両キットは同じ抗原を認識しており、抗原の検出、非検出は測定系の感度によるものと判断される。

3-1. ルミパルス II フェライト担体の回収方法

担体カートリッジにリン酸緩衝液 (0.1M, pH7.0, 2%BSA 含有) 400 μ l を添加し、フェライト担体を均一に分散させた後、全量をガラス試験管に回収する。4 カートリッジ分

のフェライト担体溶液をガラス試験管に回収した後、ネオジ磁石によりフェライト担体を一カ所に集中させる。不要な水溶液はアスピレーターにより吸引除去してフェライト担体を回収した。

3-2. HBsAg 吸収試験

フェライト担体 (4 テスト分) にリン酸緩衝液 (0.1M, pH 7.0, 2%BSA) 50 μ l を添加した後 HBsAg 標準液あるいは試料血清 200 μ l を加え、室温で 30 分間反応させた。ネオジ磁石にてフェライト担体を一カ所に集中させた後、上清 250 μ l を回収して吸収試験後のサンプルとした。

3-3. 測定試料ならびに精密測定

山形大学医学部に通院している慢性肝炎患者で緩解を繰り返している 11 検体を測定対象とした。スクリーニング検査の結果 2 例が 10 ng/ml 以上、9 例がネガティブと判定されたため、精密測定は 9 例に対して実施した。

精密測定はルミスポット栄研 HBs 抗原キットの測定方法に準じて行った。但し反応時間は 1st ステップ 60 分 (RT)、2nd ステップ 60 分 (RT)、酵素反応 (37°C) 60 分にて行った。1st ステップ反応時には独自に開発した攪拌装置を使用し反応効率を向上させている。酵素反応液の 1 テストあたり組成は、超純水 60 μ l、MOP 緩衝液 (0.05M, pH6.5, H₂O₂ 0.015% 含) 100 μ l、*p*-Acetamidophenol (20mM) 30 μ l、DTPA (5mM) 10 μ l、1-Hydroxy-2,2,5,5-tetramethyl-3-imidazoline-3-oxide (HTIO, 5mM) 10 μ l である。シグナル強度の測定は日本電子社製 ESR 装置 FR30 を用いて行った。

4. 結果ならびに討論

0.1ng/ml の標準血清に対して吸収試験を実施した場合、80% 以上の HBs 抗原がフェライト担体に捕捉されることが確認された(図 1)。同様に 9 例の患者血清を測定したところ、一例にて低レベルの HBs 抗原 (0.051ng/ml) が検出された。本血清を標準血清と同様にフェライト担体にて処理した場合の値は 0.0025 ng/ml であった。その時のスタンダードカーブを図 2 に示した。これは吸収操作により 95% の抗原が除去されたことを意味する。他キットの担体にて抗原が除去されることより、両キット測定対象は同一であり、検出、非検出は測定系の感度の差と判断された。今後低レベルキャリアーの症例数を増やすと共にその臨床的意義について検討していく予定である。



図 1. HBs 抗原吸収試験
左: 吸収試験前 (0.1ng/ml),
右: 吸収試験後

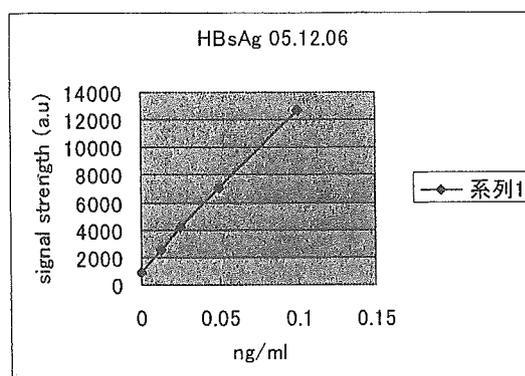


図 2. HBs 抗原スタンダードカーブ

5. 参考文献

- 1) M. Aoyama, M. Shiga, H. Ohya, and H. Kamada. A novel ESR method for horseradish peroxidase activity using a combination of *p*-acetamidophenol and hydroxylamine, and its application to enzyme immunoassays. *Anal.Sci.* 14, 1107-1113 (1998).
- 2) T. Matsuo, H. Shinzawa, H. Togashi, M. Aoki, K. Sugahara, K. Saito, T. Saito, T. Takahashi, I. Yamaguchi, M. Aoyama, and H. Kamada. Highly sensitive hepatitis B surface antigen detection by measuring stable nitroxide radical formation with ESR spectroscopy. *Free Radic Biol Med.* 25, 929-935 (1998).
- 3) M. Aoki, T. Saito, H. Watanabe, T. Matsuo, K. Saito, H. Togashi, S. Kawata, K. Ishikawa, M. Aoyama, H. Kamada and H. Shinzawa. Clinical significance of a highly sensitive enzyme immunoassay of hepatitis B surface antigen using a novel electron spin resonance technique. *Free Radic Biol Med.* 25, 929-935 (1998).
- 4) 青山正明、高橋裕一：ESR ラジカル免疫アッセイ法による Cry j 1 の超高感度測定法の開発、アレルギー、53(10), 1088-1090 (2004).

C型肝炎多発地区における肝検診およびHCV抗体陽性者に対する逐年検診で得られた結果についての検討。

山形県立日本海病院内科 新澤陽英、置賜総合病院内科 鶴飼克明、山形大学医学部第二内科 斉藤孝治、斎藤貴史、富樫整、河田純男

はじめに

C型肝炎は慢性肝炎となり、また肝硬変へ進展し、さらに肝癌を合併してくる問題となる疾患である(1)。診療機関においてはC型慢性肝炎の病態はかなり検討されてきている。その多くは肝機能障害を有し、あるいは何らかの自覚症状を有する方々を対象とした検討である。一方、C型肝炎は自覚症状に乏しいものであり、また肝機能障害を呈しないC型肝炎ウイルス(HCV)感染者も少なくない(2)。したがって、診療機関におけるC型肝炎の病態についての検討結果は必ずしもHCV感染の病態のすべてを反映したものとはいえない。

ところで、C型肝炎には多発地区があり(3)、山形県のR町もそのひとつである(4)。私どもはそのR町において1991年より1995年の5年間で行ったC型肝炎の検診で1078人にHCV抗体を検出した。その後、1996年よりこれらのHCV抗体陽性者を対象として、毎年肝機能検査ならびにHCVRNA検査そして超音波検査を行ってきた。今回は、C型肝炎多発に夫婦感染が関係しているか、また逐年検診から得られたHCV感染の消長、さらに逐年での超音波肝検診の意義について報告する。

対象と方法

対象は山形県R町において1991年より1995年の5年間の検診でHCV抗体が検出された1078人(男422人、女656人)である。なお、HCV抗体の検出HCV EIAII Abbott(Dainabot Tokyo)で行った。HCV抗体陽性者に対してはNested polymerase chain reaction(PCR)(5)法にてHCVRNAの検出を行った。

夫婦共にHCVRNA陽性者についてはHCV genotypeを検出した(6)。さらにHCV genotypeが一致する夫婦11組については領域の遺伝子配列を決定、系統樹を作成し(7)、近縁関係について検討した。

HCVRNA陽性に対しては1996年より年1回の血液検査と腹部超音波検査を行った。血液検査はGOT, GPT, γ GTP, ZTT検査とHCVRNA検査を行った。

結果

妻がHCV抗体陽性者の夫の陽性率は43.7%と妻がHCV抗体陰性者の夫の陽性率8.1%に比較し、有意($p < 0.00001$)に低率であった。しかし、HCVRNAが共に陽性の夫婦は108組あった。そのうちgenotypeが一致した夫婦は53組であった。Genotypeが一致した夫婦11組の系統樹で見た遺伝子配列の近縁関係で一致したものはなかった(Fig.1)。

逐年検診で、HCVRNA陽性者の中で、年率0.5%~2.0%の頻度でインターフェロン治療によらずHCVRNAが陰性となる症例が認められた(Table1)。しかし、その一部には

HCVRNA が再び陽性となり、その後また、陰性となるものが認められた (Table2)。なお、再陽性となった 3 例について再陽性時の HCVRNA について、陰性となる前の HCVRNA との比較検討を系統樹を作成し (7) で行ったところ、同じウイルスであることが確認した。

超音波検診では 15 例の肝癌が発見された。平均で年率 0・7% の発見率であった。15 例のうち 7 例は 3cm 以下の肝癌であった。また、生存率は 1 年 100%、5 年は 50% を超えていた (Fig.2) であった。

考案

HCV の性的接触による感染については HIV 感染者などの特殊な場合を除いては、必ずしも一致した見解が得られていない。C 型肝炎多発地区においては HCV 抗体でみると、HCV 抗体が夫婦共に陽性者が多く、一見 HCV が性的接触により感染したような印象を受ける。しかし、genotype や系統樹を用いた検討によれば、C 型肝炎多発地区では夫婦間感染の可能性は認められなかった。このことは HCV が性的接触を介して感染する可能性は極めて低いものと考えられた。まして、家族内感染により、HCV 感染が拡大した可能性はないものと思われた。

C 型慢性肝炎例ではインターフェロン治療などの抗ウイルス療法によらず HCVRNA が陰性となることは極めてまれとされている (8)。しかし、今回の逐年での検討では、HCVRNA が抗ウイルス療法によらず 15 例で陰性となった。HCV が検出されないことがすなわち HCVRNA の消失と断定できないが、難治性といわれる HCV 感染でも自然治癒の可能性が有りうるものと思われた。しかし、一部には再度 HCVRNA が陽性となるものがあり、なお経過観察が重要と思われた。

超音波による 1 年に 1 度の肝癌早期発見のための肝検診については肯定的意見は少ない。今回の私どもの C 型肝炎多発地区での 1 年に一度の超音波による肝検診では多数の早期癌が発見され、生存率も遜色のないものであった。超音波による逐年肝検診は、C 型肝炎多発地区では意義のあるものと思われた。

結論

HCV 感染多発地区においては夫婦共に HCV 感染者が多く認められたが分子生物学的検討では、夫婦間感染による感染を示唆する所見は得られなかった。

HCV がインターフェロン治療などの抗ウイルス療法により、血液中から検出されない例がまれならず認められた。C 型肝炎が自然治癒する可能性があるものと思われたがなお、経過を慎重に見るべきものと思われた。

年に 1 度の超音波による肝癌検診でも、比較的多くの肝癌が発見された。C 型肝炎多発地区ではこのような超音波による逐年肝検診も実施する意義があることが示唆された。

文献

- (1) Silini E, Bono F, Cividini A, Cerino A, Bruno S, Rossi S et al.

Differential distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with and without liver function abnormalities.

Hepatology,1995;21:285-290

- (2) Kuboki M, Shinzawa H, Shao L, Ishibashi M, Yoshii E, Suzuki K, Saito K, SDaito T, Togashi H, Tkahashi T et al. A cohort study of hepatitis C virus (HCV) infection in an HCV epidemic area of Japan: age and sex-related seroprevalence of anti-HCV antibody, frequency of viremia, biochemical abnormality and histological changes. Liver, 1999;19:88-96
- (3) Sata M, Nakano H, Tanikawa K. Epidemiology of hepatitis C virus infection in Japan. Kan Tan Sui (Japan),1992;24:47-53
- (4) Ishibashi M, Shinzawa H, Kuboki M, Tsuchiya H, Takahashi T. Prevalence of inhabitants with anti-hepatitis C virus antibody in an area following an acute hepatitis C epidemic: Age and area-related features. J Epidemiology 1996;6:1-7
- (5) Okamoto H, Okada S, Sugiyama Y, Tanaka T, Sugai Y, Akahane Y, Machida A, Mishiro S, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. Detection of hepatitis C virus RNA by a two-stage polymerase chain reaction with two pair of primers deduced from the 5'-noncoding region. Jap J Exp Med,1990;60:215-222
- (6) Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S, Kurai K, Akahane Y, Sugai Y, Tanaka T, Sato K, Tsuda F, Miyakawa Y, et al. Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers :application to clinical surveys and tracing infectious sources. J Gen Virol,199;73:673-679
- (7) Ina Y, ODEEN. A program package for molecular evolutionary analysis and database search of DNA and amino acid sequences. Comput Appl Biosci 1994;10:11-12
- (8) Watanabe H, Saito T, Shinzawa H, Okumoto K, Hattori E, Adachi T, Takeda T, Sugahara K et al. Spontaneous elimination of serum hepatitis C virus(HCV) RNA in chronic HCV carriers: A population-based cohort study. J Med Virol 2003;71:56-61