

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)  
B型及びC型肝炎の疫学及び健診を含む肝炎対策に関する研究班  
班長研究協力報告書

出生年別にみた児童におけるHBVキャリア率及びHBV自然感染の年次推移

班長研究協力者 小山 富子 財団法人岩手県予防医学協会県南センター次長  
佐々木純子 財団法人岩手県予防医学協会医療技術部課長補佐  
高橋 和明 東芝病院  
岩手県予防医学協会ウイルス肝炎対策専門委員会

研究要旨

HBV母子感染防止開始前（Ⅰ群）、治験によるHBV母子感染防止実施期間（Ⅱ群）、公費負担によるHBV母子感染防止対策事業実施期間（Ⅲ群）に分けてそれぞれの期間に出生した児童のB型肝炎ウイルス（HBV）キャリア率を見ると、Ⅲ群は0.01～0.04%とⅠ群の1/20に低下していた。またHBVキャリア率の低下に伴い、HBs抗体陽性率も低下傾向を示し、さらにHBs抗体陽性群に占めるHBc抗体陽性率も低下していることが確認された。

A. 研究目的と方法

1.HBIGとHBVaccineによるB型肝炎ウイルス（HBV）母子間感染防止事業の効果判定を目的として、静岡県並びに岩手県の児童におけるHBV関連の血清マーカーを測定し、出生年別にHBV母子感染防止開始前（Ⅰ群）、治験によるHBV母子感染防止実施期間（Ⅱ群）、公費負担によるHBV母子感染防止対策事業実施期間（Ⅲ群）の3群に分けて比較した。

Universal Vaccinationを含む今後のHBV感染防止対策の基礎資料とする。

2.岩手県における治験によるHBV母子感染防止実施状況、並びに公費負担によるHBV母子感染対策事業実施率を示した。

3.HBV関連マーカーの検出は、次の方法により行った。

HBs抗原…R-PHA法、HBs抗体…PHA法、HBc抗体…PHA法

4.倫理面への配慮：集計用データは、個人を特定できる氏名・生年月日等の属性情報を削除して用

いた。また集計用のコンピュータは、パスワードにより管理され、研究者以外が閲覧できないことから、倫理面の問題はないと判断した。

B. 研究結果

1.静岡県における出生年度別HBs抗原・抗体陽性率について

表1に示すとおり出生年別にHBV母子感染防止開始前（Ⅰ群）、治験によるHBV母子感染防止実施期間（Ⅱ群）、公費負担によるHBV母子感染防止対策事業実施期間（Ⅲ群）の3群に分けてHBs抗原・抗体陽性率を算出し比較した。

HBs抗原陽性率は、Ⅰ群0.20%（7/3,446）、Ⅱ群0.16%（77/46,993）、Ⅲ群0.01%（2/23,792）と、Ⅲ群の陽性率が他2群に比べ低下していた。（ $p<0.001$ ）

HBs抗体陽性率もⅠ群0.96%（33/3,466）、Ⅱ群0.55%（260/46,993）、Ⅲ群0.21%（51/23,792）とHBs抗原陽性率の低下に伴い低下が認

められた。(p<0.001)

## 2.岩手県におけるHBV母子感染防止実施状況について

岩手県において、1981年に治験によるHBV母子感染防止第1例が実施され、1985年には39例の治験による母子感染防止が実施された。

1986年からは公費負担によるHBV母子感染防止が全面実施された。1986年～1992年の妊婦HBs抗原検査受診率は96.0%(100,286/104,493)、HBs抗原陽性率は1.2%(1,242/100,286)、HBe抗原陽性率20.7%(257/1,242)であった。妊婦スクリーニング検査により把握されたHBs抗原陽性かつHBe抗原陽性であった妊婦より出生した257人のHigh Risk児への感染防止は100%実施された。(表2)

## 3.岩手県における出生年度別HBs抗原・抗体陽性率について

表3に示すとおり、出生年度別に3群に分けてHBs抗原・抗体陽性率を算出し比較した。

HBs抗原陽性率はI群0.75%(78/10,437)、II群0.22%(46/20,812)、III群0.04%(24/56,212)と、着実に低下しており3群間に有意な差が認められた。(p<0.001)

また、HBs抗体陽性率もI群1.52%(159/10,437)・II群0.79%(165/20,812)・III群0.96%(537/56,212)とI群に比べII群、III群は有意な低下を認めた。(p<0.001)

## 4.岩手県におけるHBs抗体陽性者のHBc抗体陽性率

I群、II群、III群のHBs抗体陽性者におけるHBc抗体陽性率を見ると、81.9%(127/155)、43.3%(68/157)、11.0%(59/536)と低下していた。(p<0.001)

## C. 考察

岩手県のHBV母子感染防止は、1981年に1例の治験による防止が行なわれ、その数は年々増加し、公費負担によるHBV母子感染防止対策事業

を開始する前年である1985年には39例の治験による感染防止が実施された。

1986年に開始した公費負担によるHBV母子感染防止対策事業においては、妊婦スクリーニング実施率は96.0%であった。1992年までにスクリーニングによって発見されたHBs抗原陽性かつHBe抗原陽性であった妊婦257人から出生したHigh Risk児の感染防止は、全例に実施された。その結果HBV母子感染防止開始前に出生した児のHBs抗原陽性率が0.75%であったものが、治験実施期間は0.22%に低下し、さらに公費負担によるHBV母子感染防止対策事業全面実施された1986年以降に出生した児においては0.04%と、感染防止開始前の1/20に低下していた。

静岡県においても同様に、HBV母子感染防止開始前0.20%であったものが、公費負担による全面実施後は、0.01%と岩手県と同様に1/20に低下していた。

これにより、両県ともに公費負担によるHBV母子感染防止対策事業は効果的に実施されたことが確認された。

また、HBs抗体陽性率も両県ともにHBV母子感染防止開始前に比べ、治験実施期間、公費負担による全面実施後の陽性率が低下していた。

さらに、岩手県においてHBs抗体陽性の児の中に占めるHBc抗体陽性率を見ると、HBV母子感染防止開始前は81.9%と自然感染例が多かったものが、治験実施期間は43.3%に、さらに公費負担による全面実施後は11.0%と明らかな低下が認められた。

HBV母子感染防止によって、HBVキャリアの減少が認められるとともに、HBs抗体陽性率も減少し、更にHBs抗体陽性の児の中に占めるHBc抗体陽性率が減少したことから、HBV自然感染が減少したものと推測された。また、HBV母子感染防止が全面実施されたことにより、その効果は顕著になったものと思われた。

## D. 結論

1. 静岡、岩手の両県において、HBV 感染予防開始前、治験実施期間、公費負担による全面実施期間の3群に分けてそれぞれの期間に出生した小学生のHBV 関連の血清マーカーを測定した。

2. その結果両県ともに公費負担による全面実施以降に出生した群ではHBs 抗原陽性率は、0.01～0.04%まで減少していた。

3. また、岩手県ではHBs 抗体陽性率の減少とともに、HBs 抗体陽性群に占めるHBc 抗体陽性率も減少(HBV 自然感染例の減少)がみられる点が注目された。

表1 出生年度別HBs抗原・抗体陽性率－静岡県－

出生年	検査数	HBs抗原陽性率		HBs抗体陽性率	
		検査数	(%)	検査数	(%)
感染防止開始前 ～1979	3,446	7	(0.20)	33	(0.96)
治験実施期間 1980～1984	46,993	77	(0.16)	260	(0.55)
母子感染防止対策事業実施 1985～	23,792	2	(0.01)	51	(0.21)
合計	74,231	86	(0.12)	344	(0.46)

表2 岩手県におけるHBV母子感染防止実施状況－1981年～1992年－

出生年度	出生数	HBs抗原検査		HBs抗原陽性		HBe抗原		母子感染防止		
		受診者数	%	陽性数	(%)	陽性数	(%)	実施数	(%)	
治験による感染防止	1981	18,600	ND	ND		ND		1		
	1982	18,581	ND	ND		ND		12		
	1983	19,582	ND	ND		ND		18		
	1984	18,043	ND	ND		ND		29		
	1985	17,232	10,628	(61.7)	ND		ND		39	
母子感染防止対策事業実施	1986	16,536	15,872	(96.0)	244	(1.4)	47	(19.3)	47	(100.0)
	1987	15,567	15,205	(97.7)	241	(1.6)	60	(24.9)	60	(100.0)
	1988	15,410	14,282	(92.7)	166	(1.2)	40	(24.1)	40	(100.0)
	1989	14,548	14,541	(99.9)	179	(1.2)	25	(14.0)	25	(100.0)
	1990	14,254	13,997	(98.2)	161	(1.2)	42	(26.1)	42	(100.0)
	1991	14,270	13,245	(92.8)	136	(1.0)	21	(15.4)	21	(100.0)
	1992	13,908	13,144	(94.5)	115	(0.9)	22	(19.1)	22	(100.0)
合計	104,493	100,286	(96.0)	1,242	(1.2)	257	(20.7)	257	(100.0)	

表3 出生年度別HBs抗原・抗体陽性率—岩手県—

	出生年度	検査数	HBs抗原		HBs抗体	
			陽性	(%)	陽性	(%)
感染防止実施前	1978	2,666	26	(0.98)	52	(1.95)
	1979	4,212	27	(0.64)	72	(1.71)
	1980	3,559	25	(0.70)	35	(0.98)
	小計	10,437	78	(0.75)	159	(1.52)
治験実施期間	1981	2,541	12	(0.47)	30	(1.18)
	1982	1,594	4	(0.25)	12	(0.75)
	1983	3,847	6	(0.16)	17	(0.44)
	1984	6,206	11	(0.18)	58	(0.93)
	1985	6,624	13	(0.20)	48	(0.72)
	小計	20,812	46	(0.22)	165	(0.79)
母子感染防止対策事業実施期間	1986	6,775	3	(0.04)	41	(0.61)
	1987	6,505	4	(0.06)	62	(0.95)
	1988	6,310	2	(0.03)	58	(0.92)
	1989	6,436	2	(0.03)	46	(0.71)
	1990	6,023	1	(0.02)	67	(1.11)
	1991	6,211	1	(0.02)	62	(1.00)
	1992	6,044	2	(0.03)	72	(1.19)
	1993	6,004	8	(0.13)	63	(1.05)
	1994	5,904	1	(0.02)	66	(1.12)
	小計	56,212	24	(0.04)	537	(0.96)

表4 HBs抗体陽性者のHBc抗体陽性率－出生年度別－

	出生年度	HBs抗体陽性数	HBc抗体	
			陽性数	(%)
感染防止開始前	1978	49	40	(81.6)
	1979	72	64	(88.9)
	1980	34	23	(67.6)
	小計	155	127	(81.9)
治験実施期間	1981	30	23	(76.7)
	1982	12	9	(75.0)
	1983	14	6	(42.9)
	1984	58	18	(31.0)
	1985	43	12	(27.9)
	小計	157	68	(43.3)
母子感染防止対策事業実施期間	1986	41	10	(24.4)
	1987	61	11	(18.0)
	1988	58	9	(15.5)
	1989	46	6	(13.0)
	1990	67	6	(9.0)
	1991	62	7	(11.3)
	1992	72	2	(2.8)
	1993	63	5	(7.9)
	1994	66	3	(4.5)
	小計	536	59	(11.0)

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）  
B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究班  
分担研究報告書

輸血に伴う肝炎ウイルス感染の実態調査  
—モデル地区（岩手県、大阪市、松山市）を設定した受血者の全数調査—

厚生労働省「ウイルス肝炎の疫学研究班」受血者全数調査プロジェクト（略称）

分担研究者	西口 修平	兵庫医科大学 内科
	柚木 久雄	日赤中央血液研究所 核酸増幅検査部
	阿部 弘一	岩手医科大学 内科
研究協力者	柴田 弘俊	大阪府赤十字血液センター
	谷口 繁	岩手県赤十字血液センター
	大野 尚文	おおの消化器内科
	松坂 俊光	愛媛県赤十字血液センター
研究協力機関	日赤 NAT 研究グループ	中央血液研究所
		血漿分画センター
		血液管理センター

#### 研究要旨

標記の分担研究者及び研究協力者を中心に昨年度に引き続き、当該地域の受血者の全数調査を継続して行なった。2006年3月末までに、計1,024例の受血者の輸血後3か月目および輸血前に採取、保存した血清の解析を終了し、9例のHBV DNA陽転例、2例のHCV RNA陽転例を見出した。なお、HBV DNAの陽転が認められた9例中1例は輸血に用いた血液が感染源となったHBV感染であるとの因果関係が立証された（関係当局へは届出済）が、他の症例については因果関係は立証されるには至っていない。

一方、輸血前、後の検査で、HBV、（HCV）への感染が完全に否定され、輸血本数が12本以下であった単発輸血症例、247例の受血者に対応する献血者1,009例の献血時の保管検体を確保し、各種のHBVマーカーの検出を開始した。

#### A. 研究目的

輸血を受けた患者（受血者）の追跡調査を行ない、得られた成績を血液製剤の更なる安全性向上のための基礎的資料として提示することを目的とする。

#### B. 研究方法

昨年度に引き続き、受血者の輸血前、後の血清中のHBV DNA、HCV RNA、（HIV RNA）を検出し、輸血に伴う陽転の

有無を確定する。

陽転が認められた場合には、該当する献血者の献血時の保管検体にまで遡って調査し、輸血血液を感染源とする感染であるか否かの因果関係を確定する。

一方、上記の追跡調査の結果、特に輸血に伴うHBV感染が完全に否定され、かつ輸血血液本数が12本以下、単発の輸血例であるという条件を満たした受血者に対応する献血者の献血時の保管血清を確保し、各種のHBVマーカーを検出、測定し、その特性の解明を試みる。

## C. 結果

### (1) 受血者の追跡調査結果 (途中経過)

2006年3月までに、計1,024例の受血者の輸血後3か月目の血清を確保し、HBV DNA、HCV RNA、HIV RNAの検出を終了した。

HBV DNA、HCV RNA、HIV RNAの陽性数は、それぞれ32例、89例、0例であった。次いで、輸血前の保存血清を追加して調査した結果、HBV DNAが検出された32例中23例(71.9%)、

HCV RNAが検出された89例中87例(97.8%)は輸血前からHBV DNA、HCV RNAが陽性(キャリア)であり、輸血後に陽転した例はHBVについては9例、HCVについては2例であることが明らかとなった(表-1)。なお、HBV DNA、HCV RNA、HIV RNAの検査数が異なるのは、採取できた受血者の血清量に限りがあったため、優先順位を設定し、HBV、HCV、HIVの順に検査を行ったことによる。

輸血前、後の検査で、HBV DNAの陽転が確認された9例、HCV RNAの陽転が確認された2例の解析結果は表-2に示した通りである。

なお、輸血した血液が感染源となったHBV感染であることが確認された輸血後B型肝炎(因果関係立証例)は、既に関係当局に届出を済ませている。HCV陽転例も含めて、この1例以外の例では、これまでのところ、輸血した血液が感染源になったとの因果関係は認められていない。

表1. 受血者の全数調査成績

— 2003.11~2005.5 —  
岩手、大阪、愛媛

検査項目 (NAT)	輸血後 3ヶ月目の 検査数	陽性数 (%)	うち キャリア (輸血前検査で陽性数)	うち、 陽転数 (輸血前検査で陰性数)
HBV DNA	1,024	32 (3.1)	23 (2.2)	9 (0.9)
HCV RNA	1,000	89 (8.9)	87 (8.7)	2 (0.2)
HIV RNA	976	0	0	0

N=1,024: 中間集計

**表2. 輸血後HBV、HCV陽転例の解析結果**  
(途中経過)

**HBV.....9例**

- 1例 61♂：輸血後B型肝炎（輸血用血液からの感染）  
 献血者血清（保管検体）中のHBV DNA } 塩基配列一致  
 受血者血清中のHBV DNA } 【陽転済】
- 1例 74♀：HBV感染晩期からの再活性化？  
 献血者血清（保管検体） 全例 HBV DNA 陰性  
 受血者 輸血前血清 HBc抗体 陽性（2<sup>3</sup>HI価）
- 7例：77♂、60♀、71♂、57♀、81♂、89♀、67♀：【解析中】

**HCV.....2例**

72♀、63♂：検体採取時、contaminationの可能性：【検証中】

**表3. 感染源とはならなかったことが確定した**  
献血者1009例の特性の解析手順

<b>献血者 1009例</b>	下記の受血者に該当する献血者の献血時の保管検体（血清）
<b>受血者 247例</b>	
輸血後の検査	: HBV DNA 陰性 : HBVの血清学的マーカーの全てが陰性
輸血本数	: 単発輸血、献血本数12本以下
<b>検査項目</b>	HBc抗体 (HI, AxSYM <sup>®</sup> ) HBs抗体 (PHA, AxSYM <sup>®</sup> ) HBV DNA (individual NAT, 濃縮後NAT) 陽性例 ⇒ copy/ml の測定 その他 必要に応じて追加

**(2) 該当する献血者の調査（途中経過）**

輸血前、後の検査で、HBV、（HCV）への感染が完全に否定され、輸血本数が12本以下であった単発輸血症例247例の受血者と、これに対応する献血者1,009例の血清を選別した。該当する全ての献血者の献血時の血清を対象として、表-3に示した手順により、各種のHBVマーカーの検査を行っているところである。

とを確定した247例の受血者に対応する献血者の献血時の保管検体を確保し、各種のHBVマーカーの検索をすすめている。本調査、研究が終了した段階では、感染論的evidenceに基づいた輸血の安全性向上のための基礎的資料を提示することが可能になると考えている。

**D. 結論と考察**

2006年3月末までに1,024例の受血者の検査を終え、1例の輸血後B型肝炎例（因果関係立証例）を見出した。また、輸血に伴うHBV、（HCV、HIV）の感染がないこ

**E. 健康危険情報**

特記すべきことなし

**F. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）  
B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究班  
分担研究報告書

**B型急性肝炎における劇症肝炎での Precore/Core-promoter 変異  
あるいは慢性化に対する HBV genotype の影響**

分担研究者 名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子情報医学 溝上雅史

**研究要旨**

HBV genotype は地域特異性や特異的遺伝子変異が存在しており、その臨床像の違いに影響を及ぼしていると考えられている。B型急性肝炎の経過の違いは Host 側, Virus 側の因子が関与していると考えられるが、まだ十分に明らかになっていない。今回、劇症化、慢性化の HBV genotype による影響と *in vitro* での Precore/Core-promoter 変異に伴う HBV 増殖の影響を検討した。1982年から2004年までにB型急性肝炎で治療した301症例につき検討を行った。全体としては、慢性化は1%と稀であったが、genotype別に検討すると、抗ウイルス剤未使用例での慢性化は HBV/Ae が他の genotype と比べて有意に高率であった(9%[2/23] vs. 0.5%[1/198],  $p=0.029$ )。劇症肝炎40例と急性肝炎261例の間で臨床的、ウイルス学的検討を行ったところ、劇症肝炎は急性肝炎に比べてより高齢であり(44.7±16.3 vs. 36.0±14.3歳,  $p<0.0005$ )、より男性に少なく(43% vs 71%,  $p=0.0005$ )、より発症初期の HBe 抗原陽性率が低率であった(23% vs. 60%,  $p<0.0001$ )。各病態における HBV genotype の頻度は、HBV/Ae において劇症肝炎の頻度が有意に低率であり(0% vs. 33%,  $p=0.05$ )、逆に HBV/Bj において有意に高率であった(30% vs. 4%,  $p<0.0001$ )。Core-promoter 2 重変異(A1762T/G1764A)、Precore ストップ codon 変異(G1896A)はいずれも劇症肝炎において有意に高頻度に認められた(それぞれ 50% vs. 17%,  $p=0.0001$ , 53% vs. 9%,  $p<0.0001$ )。多変量解析を用いた検討では HBe 抗原陰性、HBV/Bj, G1896A 変異が有意に寄与する因子であった( $p<0.05$ )。HBV/Bj の *in vitro* 複製モデルを用いた検討では、A1762T/G1764A 2 重変異、あるいは G1896A 変異株は、野生株に比べ HBV の複製亢進が認められ、このような株の初感染がより強い免疫反応を惹起する可能性が考えられた。

共同研究者氏名

小笹 貴士, 杉山真也, 田中靖人, 折戸悦朗, 宮川侑三

各施設共同研究者

姜貞憲, 髭修平, 倉光智之, 鈴木一幸, 田中榮司, 岡田俊一, 時田元, 朝比奈靖浩, 井上和明, 各務伸一, 平嶋昇, 岡上武, 村脇義和, 日野啓輔, 恩地森一, 八橋弘, 佐久川廣

## A. 研究目的

HBV genotype は地域特異性や特異的遺伝子変異が存在しており, その臨床像の違いに影響を及ぼしていると考えられている。B型急性肝炎において, その多くは自然に治癒するが, 一部は劇症化, 慢性化の経過をたどる。この経過の違いはHost側, Virus側の因子が関与していると考えられるが, まだ十分に明らかになっていない。そこで今回 B型急性肝炎における劇症化, 慢性化のHBV genotypeによる影響と, *in vitro*でのPrecore/Core-promoter 変異に伴うHBV増殖の影響を検討した。

## B. 研究方法

全国 17 施設で 1982 年から 2004 年までに B 型急性肝炎, 劇症肝炎で治療した症例中, 初期血清が保存されている 336 例を対象とした。HBV genotype/subgenotype は ELISA 法、PCR-RFLP 法にて決定した。HBV genotype G (HBV/G) については G specific primer を用いた PCR 法にて決定した。Precore/Core-promoter 領域の塩基配列

は PCR 及び直接塩基配列決定法で決定した。各種臨床データ, 遺伝子変異につき検討した。Precore/Core-promoter 領域の変異においては HBV/Bj 及び Ce の HBV 複製クローンを作成し, その変異による HBV 複製の影響を *in vitro* で検討した。

## C. 研究結果

Genotype の決定できなかった 28 例有効なデータの得られなかった 7 例を除いた 301 例で検討を行った。HBV genotype Aa/Ae/Ba/Bj/Cs/Ce/D/G はそれぞれ 10 (3%)/33 (11%)/22 (7%)/22 (7%)/11 (4%)/192 (64%)/5 (2%)/6 (2%) であった。劇症肝炎 40 例と経過を追えなかった 5 例を除いた 256 例中, 慢性化例を 3 例 (1%) に認め, 内訳は Ae 2 例, Ba 1 例であった。さらにラミブジン治療の有無別に慢性化を検討するとラミブジン投与例 (n=35) からは慢性化を認めず, 慢性化例はすべてラミブジン無治療例 (n=221) から出現しておりそれぞれ HBV/Ae 2/23 (9%), HBV/Ba 1/19 (5%) であった。無治療例での慢性化は HBV/Ae が他の genotype と比べて有意に高率であった (9% [2/23] vs. 0.5% [1/198], p=.029)。

次に劇症肝炎 40 例と急性肝炎 261 例の間で臨床的, ウイルス学的検討を行ったところ, 劇症肝炎は急性肝炎に比べてより高齢であり (44.7±16.3 vs. 36.0±14.3 歳, p<.0005), より男性に少なく (43% vs 71%, p=.0005), より発症初期の HBe 抗原陽性率が低率であった (23% vs. 60%, p<.0001)。各病態における HBV genotype の頻度は, HBV/Ae において劇症肝炎の頻度が有意に低率であり (0% vs. 33%,

p=.05), 逆に HBV/Bj において有意に高率であった(30% vs. 4%, p<.0001).

Core-promoter 2 重変異(A1762T/G1764A), Precore ストップ codon 変異(G1896A)はいずれも劇症肝炎において有意に高頻度に認められた(それぞれ 50% vs. 17%, p=.0001, 53% vs. 9%, p<.0001). 同様に T1753C/A/G and/or T1754C/A/G 変異, G1899A 変異も劇症肝炎において有意に高頻度であった(それぞれ p=.0003, p<.0001).

劇症化に寄与するウイルス側因子(HBe 抗原, HBV genotype, Core-promoter から Precore 領域の変異)を, 多変量解析を用いて検討すると HBe 抗原陰性, HBV/Bj, G1896A 変異が有意に寄与する因子であった(p<0.05).

HBV/Bj の複製クローンを作成し, *in vitro* で Precore/Core-promoter 変異による HBV 複製の影響を Southern blotting 解析などを用いて検討した結果, A1762T/G1764A 2 重変異, あるいは G1896A 変異株は, 野生株に比べ HBV の複製亢進が認められた.

#### D. 考察

B 型急性肝炎の慢性化率は 0%から 12%と報告に大きな差が認められている. Genotype 別にその慢性化率を検討すると, HBV/Ae が他の genotype と比較して有意に慢性化率が高く, genotype と関わっている可能性が考えられた. また, 慢性化はラミブジン未使用例から出現しており, ラミブジン投与により慢性化の予防が可能であった.

HBV/Bj が有意に高率に劇症化しており,

一方 HBV/Ae においては 1 例も認めなかった. アジアでは劇症化と

Precore/Core-promoter 変異の間に密接な関係があるとの報告がなされる一方, 欧米ではその関係に否定的な報告が多い. これは, アジアと欧米の genotype の分布の違いによるものと考えられる. 多変量解析では HBe 抗原陰性, HBV/Bj, G1896A 変異が有意な危険因子であった.

*in vitro* において HBV 複製効率は野生株に比べ, A1762T/G1764A 2 重変異, あるいは G1896A 変異の存在する株のほうが亢進しており, このような株の初感染がより強い免疫反応を惹起する可能性が考えられた.

#### E. 結論

B 型急性肝炎において HBV genotype の違いにより臨床経過に相違があることを明らかにした. 今後, ウイルス側因子のみではなく, 生体側因子においても検討していく必要があると思われる.

#### G. 研究発表

Influence of Genotypes and Precore/Core-promoter Mutations on Fulminant of Acute Infection with Hepatitis B Virus. Ozasa A. Tanaka T. Orito E. Mizokami M. Hepatology (revised).

小笹 貴士、田中 靖人、溝上 雅史  
本邦における B 型急性肝炎の HBV genotype の変遷と臨床的検討  
第 13 回日本消化器関連学会週間, 2005

年 10 月 5-8 日，神戸  
(肝臓)

#### **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。

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）  
B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究班  
分担研究報告書

## HBV genotype C における Core promoter 領域の変異と肝病態との関係

分担研究者 名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子情報医学 溝上雅史

### 研究要旨

本邦の慢性 B 型肝炎キャリアのほとんどの症例は母親からの垂直感染により成立し、成人期に HBe 抗原から HBe 抗体へのセロコンバージョンをおこし、予後良好の無症候性キャリアへと移行する。一方、一部の症例においてはトランスアミナーゼの異常が持続し、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌へと移行する。これらの臨床経過の違いは B 型肝炎ウイルス (HBV) 側の因子が大きく関与していると考えられる。今回、我々は臨床病態とウイルス変異の関係をより明らかにするために、本邦に広く分布し予後不良とされる HBV genotype C (HBV/C) 症例において、年齢、性別をマッチさせた患者一対照研究を行い、basic core promoter (BCP) の変異(T1762/A1764)に alpha box 1653 番目の C から T への変異(T1653)が加わることにより肝癌発生に関与することを発見した。

共同研究者氏名

伊藤清顕、田中靖人、折戸悦朗

### A. 研究目的

東アジアにおいて大部分を占める genotype C の B 型肝炎キャリアのほとんどの症例は母親からの垂直感染により成立し、大部分が成人期に一過性に肝機能障害を起こすが、HBe 抗原から HBe 抗体への seroconversion をおこし、予後良好の無症候性キャリアへと移行する。一方、一部の症例においては seroconversion 後も肝機能障害が持続し、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌へと移行する。この違いに関して B 型肝炎ウイルス (HBV) 側の因子が

関与していると考えられる。しかし、これまでのウイルス変異と臨床病態との関連にかかわる研究においては背景因子である年齢、性別、HBe 抗原の状態、HBV genotype 等に bias を認めた。そこで、各種臨床病態とウイルス変異の関係をより明らかにするために、全例 HBe 抗体陽性、genotype C の症例において年齢、性別をマッチさせた患者一対照研究を行った。

### B. 研究方法

対象患者は多数の施設との共同研究により、年齢、性別をマッチさせた HBe 抗体陽性、genotype C 症例 120 例（無症候性キャリア 40 例、慢性肝炎 40 例、肝癌 40 例）を収集し解析した。肝癌症例に関

しては HBe 抗体陽性の genotype Aa 10 例、Ae 13 例、Ba 20 例、Bj 20 例、C 15 例、D 13 例を日本、香港、アメリカなどから収集し解析した。それぞれの症例に関して血清 100 l より血清中 DNA を抽出し、HBV の core promoter 領域を nested PCR 法で増幅した。さらに PCR 産物を direct sequence 法により塩基配列を決定した

### C. 研究結果

ALT、HBV DNA に関しては無症候性キャリアにおいて他病態と比較して有意に低く、血小板に関しては肝癌症例において他病態と比較して有意に低い結果であった。

HBV 変異に関しては 1653 番目の C から T への変異のみが無症候性キャリアで 25%、慢性肝炎で 35%、肝癌で 70% と肝癌と無症候性キャリア、慢性肝炎の間で有意差を認めた。Basic core promoter の 1762 番目と 1764 番目のそれぞれ A から T、G から A への二重変異に関しては各病態とも高頻度に認め、有意差は認めなかった。また 1753 変異、1896 変異に関しては有意差を認めなかった。

次に、肝癌に対する予測因子を性別、HBV DNA 量、ALT 値、血小板数、1653 変異、1753 変異、1762/1764 変異、1896 変異に関して多変量解析で検討した。結果は ALT 高値：[相対危険度 (95%信頼区間)、P 値]=[12.56 (3.05-51.77)、0.0001]、血小板低値：[11.51 (3.47-38.21)、0.0001]、1653 変異：[5.05 (1.56-16.35)、0.007] が予測因子として認められた。

さらに各国から収集した肝癌症例を genotype ごとに HBe 抗体陽性肝癌のみで検討した。1653 変異に関しては genotype C において 66.7% と他の genotype と比較して高頻度に認められた。1762、1764 の二

重変異は genotype Ba (85%) および genotype C (86.7%) に高頻度に認められた。また、1896 変異に関しては、genotype Bj や D で高頻度に認め、genotype Aa および Ae においては変異型を 1 例も認めなかった。

### D. 考察

今回の患者一対照研究を行った結果、これまで肝癌への進展との関係が報告された 1762/1764 の basic core promoter の二重変異は genotype C ではいずれの病態にも高頻度に存在し、各病態間での差は認めなかった。むしろ、basic core promoter の変異は加齢に伴う現象と考えられた。また、これまでに肝癌症例において 1653 番目の C から T への変異および 1753 番目の T から C、A または G への変異を高頻度に認めるとの報告がされているが、今回の HBe 抗体陽性例のみの検討では 1653 変異のみが病態の進展とのかかわりを認め、1753 変異は差を認めなかった。また、1653 変異は多変量解析においても肝癌の予測因子の一つとして有意差を認めた。多変量解析でも 1762/1764 の二重変異は肝癌の予測因子とはならなかったが、他の genotype と比較して悪性度の高い genotype C に高頻度に認められることから、必ずしも病態との関係性を認めないというわけではなく、genotype C は肝癌発生のハイリスクグループであると予測された。

HBe 抗体陽性の肝癌において、各 genotype 間での HBV 変異に関して検討した結果、1653 変異は genotype C に高頻度に認められた。また、genotype Ba と C において 1762/1764 二重変異が高頻度に認められた。1653 番はエンハンサー II の box に位置しており、C から T への変異は TCTTACATAAGA から TCTTATATAAGA と変化し完全なパリン

ドローム構造となる。また完全ではないにしても TATA box と相似した配列となるため、各種転写因子との結合、エンハンサーとしての働きが増強すると考えられる。また、この 1653 の C から T への変異は X 蛋白の 94 番目のアミノ酸をヒスチジンからチロシンへと変化させるため X 蛋白を介した発癌との関連も考えられる。

#### E. 結論

1762/1764 変異に 1653 変異が加わることにより肝癌の発生が増加すると考えられた。これらの変異を持つ HBV が感染している患者に対しては抗ウイルス療法を強く勧めるべきである。1653 変異の機能解析を *in vitro* および *in vivo* ですすめる必要があると考えられた。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

T1653 Mutation in the Box Alpha Increases the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Genotype C Ito K, Tanaka Y, Ozasa A, Sugiyama M, Ozasa A, Fujiwara K  
Sugauchi F, Kato T, Yuen MF, Lai CL, Gish R, Orito E, Ueda R, Mizokami M  
*Clin Infect Dis.* 2006 Jan 1;42(1):1-7

##### 学会発表

T1653 Mutation in the Box Alpha Increases the Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Ito K, Tanaka Y, Ozasa A, Sugiyama M, Ozasa A, Fujiwara K  
Sugauchi F, Kato T, Yuen MF, Lai CL, Gish R, Orito E, Ueda R, Mizokami M

Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases.  
San Francisco, November, 2005.

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。

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）  
B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究班  
分担研究報告書

HBV 感染および occult HBV 感染の肝癌発癌に及ぼす影響

分担研究者	池田健次	虎の門病院消化器科
研究協力者	熊田博光	虎の門病院消化器科

**研究要旨：**

Occult HBV 感染は、HBs 抗原は陰性であるが血液中もしくは肝組織中に HBV DNA (PCR 法) が検出される状態と定義されており、これまでに症例対照研究では肝細胞癌の発癌と関連があるとされている。今回 C 型肝硬変 142 例、非 B 非 C 型肝硬変 82 例について、コホート研究を行い、それぞれの群での occult HBV 感染の発癌に及ぼすリスク比 (ハザード比) を求めた。

C 型肝硬変 142 例中、血清 HBxDNA および HBcDNA とともに陽性であったのは 25 例 (17.6%) で、陽性例・陰性例からの肝癌発癌率は 10 年で 69%、66% と同様に、多変量解析でも発癌ハザード比は 0.87 であった。一方、非 B 非 C 型肝硬変 82 例では、9 例 (11.0%) が DNA 陽性で、陽性例・陰性例からの肝癌発癌率は 5 年が 27%、12%、10 年が 100%、18% と、occult DNA 感染例で有意に発癌率が高かった。多変量解析では、性別・HBV DNA 陽性・総飲酒量・年齢・糖尿病合併が発癌率に独立に寄与し、HBV DNA 陽性は 8.25 の発癌ハザードを示した。

C 型肝硬変では大きな影響がないものの、非 B 非 C 型肝硬変では、occult HBV 感染が発癌率を有意に上昇させた。

**A. 研究目的**

Occult HBV 感染は、HBs 抗原は陰性であるが血液中もしくは肝組織中に HBV DNA (PCR 法) が検出される状態と定義されているが、HBs 抗原陽性状態とは異なり、トランスアミナーゼが変動するような肝炎は起こさない。しかし、非 B 非 C 型肝細胞癌とされる患者の症例対照研究では occult HBV 感染の頻度が高く、種々の病態のなかで唯一、発癌との関連が示唆されている。Occult HBV 感染のある患者について、肝細胞癌発癌の観点でコホート研究を行い、種々の病態別に実際の発癌リスク・発癌ハザードを求めた。

**B. 研究方法**

対象は 1987 年から 1991 年までの間に、腹腔鏡肝生検にて確定診断された C 型肝硬変 142 例と、1976 年から 1998 年までに腹腔鏡肝生検で診断された非 B 非 C 型肝硬変 82 例とした。

HBV DNA の測定は Yotsuyanagi らの方法により、HBx、HBc の各部分に primer を設定し、nested polymerase chain reaction により行った。Occult HBV 感染は、HBxDNA、HBcDNA の両者ともに陽性である例とした。

**C. 研究結果**

1) C 型肝硬変 142 例の背景と occult HBV 感染の頻度：年齢の中央値は 59 歳 (範囲：32 歳～86 歳) で、男：女は 93：49 であった。AST の中央値は

54IU/L、ICG15 分値は 29%、血小板数の中央値は 9.7 万であった。HBV DNA (HBc、HBx ともに)陽性例は 25 例で、全体の 17.6%であった。

HBV DNA が陽性であった 25 例では男性比率が 20 : 5 と高く (P=0.09)、AST の中央値は 43IU/L と陰性例の 57.5IU/L に比しやや低い傾向 (P=0.16)、血小板数も 9.3 万/mm<sup>3</sup> と陰性例 9.9 万/mm<sup>3</sup> に比しやや低い傾向 (P=0.09) にあった。またビリルビン値の中央値は 1.4mg/dl と高く、陰性例の 1.1mg/dl に比べ有意に高値であった (P=0.04)。

2) C 型肝硬変からの発癌率と occult HBV 感染の影響 : HBV DNA 陽性の 25 例と陰性の 117 例について、Kaplan-Meier 法により累積発癌率を比較した。5 年発癌率はそれぞれ 48%、40%、10 年発癌率は 69%、66%で、両群の発癌率に有意な差はなかった (P=0.80)。多変量解析では、ICG15 分値が 25%以上で発癌ハザード比 1.92 (P=0.003)、男性でハザード比 1.62 (P=0.039) が挙げられた。HBVDNA 陽性は有意ではなかったが、この予測モデルに強制投入すると HBVDNA 感染は発癌ハザード比 0.87 (P=0.65) で発癌率には影響しなかった。

3) 非 B 非 C 型肝硬変 82 例の背景と occult HBV 感染の頻度 : 年齢の中央値は 58 歳 (範囲 : 34 歳~80 歳)で、男 : 女は 67 : 15 であった。総飲酒量が 500kg の大酒家は 47 例 (57.3%) 含まれた。AST の中央値は 38IU/L、ICG15 分値は 33%、血小板数の中央値は 10.7 万であった。HBV DNA (HBc、HBx ともに)陽性例は 9 例で、全体の 11.0%であった。

HBV DNA が陽性であった 9 例では男性比率が 8 : 1 とやや高かった (P=0.55)、ビリルビン値の中央値は 0.9mg/dl で、陰性例の 1.3mg/dl に比べやや低値であった (P=0.14)。

4) 非 B 非 C 型肝硬変からの発癌率と occult HBV 感染の影響 : HBV DNA

陽性の 9 例と陰性の 73 例について、Kaplan-Meier 法により累積発癌率を比較した。5 年発癌率はそれぞれ 27%、12%、10 年発癌率は 100%、18%で、両群間に発癌率の差を認めた (log-rank test, P=0.0078)。多変量解析では、男性で発癌ハザード比 15.4 (P=0.005)、HBVDNA 陽性のハザード比 8.25 (P=0.003)、総飲酒量 500kg 以上 (ハザード比 7.19、P=0.003)、年齢 (ハザード比 3.98、P=0.035)、糖尿病合併 (ハザード比 3.89、P=0.022) が挙げられた。HBVDNA 陽性は発癌に関して有意で、非 B 非 C 型肝硬変からの発癌率を 8.25 倍高めることがわかった。

#### D. 考察

1980 年代から HBs 抗原陰性の肝細胞癌にも HBVDNA の組み込みがみられ、発癌との関連を示唆する報告がなされているが、HBV の直接の発癌作用についてはまだ明らかになっていない。

HBs 抗原陰性でありながら、肝組織や血清中から HBVDNA が検出される状態は occult HBV 感染の状態と広く認識されており、これまでに種々の病態との関連が報告されている。このうち、症例対照研究による肝細胞癌発癌との関連が多く報告されており、いずれもオッズ比により示される発癌促進要因として示されている。しかし、肝癌症例からみるこれらの研究では、発癌におよぼす occult HBV 感染の影響力 (リスク比) が算出されることはなかった。そこで、この研究では C 型肝硬変および非 B 非 C 型肝硬変をそれぞれ独立したコホートとして観察し、これからの発癌率に及ぼす occult HBV 感染のインパクトについて検討した。

検討の結果、HCV 関連肝硬変からの発癌には血清 HBVDNA のみ陽性の状態は影響しなかったが、非 B 非 C 型肝硬変からの発癌には occult HBVDNA 陽性状態は明らかに発癌促進的であり、リスク比 8.25

倍を示した。C型では発癌促進作用が見られなかった理由としては、C型肝硬変からの発癌率が本来非常に高いために、相対的に弱い発癌作用しかない occult HBV 感染が目立った影響を示さなかったことが考えられる。

Occult HBV 感染の状態がなぜ発癌促進的であるのか基礎的なことは不明である。今後はより簡便な抗 HBc 抗体や抗 HBs 抗体との関連をその力価の検討などから行っていくことが臨床的な有用性につながるものと考えられる。

#### E. 結論

C型肝硬変では大きな影響がないものの、非B非C型肝硬変では、occult HBV 感染が発癌率を有意に上昇（リスク比：

8.25）させた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 論文発表

##### 1. 論文発表

投稿予定(J Med Virol 投稿中)

##### 2. 学会発表

アメリカ肝臓学会 (AASLD)

2005年11月13日(サンフランシスコ)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許取得 なし

##### 2. 実用新案登録 なし

##### 3. その他

厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）  
B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究班  
分担研究報告書

献血を契機に見出された HCV キャリアの肝病態とその経年的推移

分担研究者 田中純子<sup>1) 3)</sup>、吉澤浩司<sup>1) 3)</sup>  
研究協力者 片山恵子<sup>1)</sup>、小宮裕<sup>1)</sup>、水井正明<sup>2) 3)</sup>

- 1) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学
- 2) 広島県赤十字血液センター
- 3) 広島県肝炎調査研究会

**研究要旨**

1992年から2003年までの間に、広島県赤十字血液センターにおいて献血を契機に見出されたHCVキャリア1,020例を対象として広島県肝炎調査研究会に参画する各主治医の協力のもとに病院初診時の臨床診断名と、5年以上にわたって追跡が可能であった408例の肝病態の推移を再調査した。

その結果、1) 病院初診の段階で1,020例中530例(52.0%)が慢性肝炎、5例(0.5%)が肝硬変、1例が肝がん、1例が急性肝炎と診断されていた。2) 初診の段階で慢性肝炎と診断された530例のうち、診断時点において、直ちに治療を開始すべきであると判断されていた例は242例(45.7%)、当面は経過を観察するだけで良いと判断されていた例は223例(42.1%)、処置不明であった例は65例(12.3%)であった。3) 5年以上の経過観察が可能であった408例のうち、この間にインターフェロン治療を受けていなかった211例では、5例が肝がんへ、6例が肝硬変へ進展していた。また、この間にインターフェロン治療を受けていた197例では、7例が肝がんへ、10例が肝硬変へ進展していた。なお、病態が進展していたこれらの17例はいずれも、インターフェロン治療に対する無反応例(non-responder)であったことが明らかとなっている。なお、インターフェロン治療により197例中、62例でHCVキャリア状態からの離脱が認められた。

**A. 研究目的**

自覚症状がないまま、献血を契機に見出されたHCVキャリアの発見時の肝の病態と、その後の経年的な自然経過を明らかにすることを目的として調査を行なった。

**B. 対象と方法**

広島県赤十字血液センターにおいて、1992年から2003年までの間に献血を契機に見出され、広島県肝炎研究会に参画する

県内の20の病院の肝臓専門医を受診した1,020例を対象とした。このうち、初診の時点から5年以上の経過観察が可能であった408例についてはより詳細な肝病態の年次推移を再調査し、解析した。

広島県肝炎調査研究会に参画する病院名、肝臓病専門医師名は表-1に示した通りである。

### C. 結果

#### (1) 1,020例の初診時の臨床診断

1,020例中、530例(52.0%)が慢性肝炎、5例(0.5%)が肝硬変、1例が肝がん、1例が急性肝炎と診断されており、

残りの483例(47.4%)は、血液生化学検査、画像検査上異常を認めないと診断されていた。

慢性肝炎と診断された530例のうち、主治医により直ちに治療を開始すべきであると判断されていた例は242例(45.7%)であり、当面は経過を観察するだけで良いと判断されていた例は223例(42.1%)、処置不明例は65例(12.3%)であった。

男女別に分けてみると、慢性肝炎と診断された例は男性では62.6%(299/478)、女性では42.6%(231/542)であった(図-1)。

**表1. 広島県肝炎調査研究会**

安佐市民病院	辻 恵二	広島鉄道病院	横山 達司
県立安芸津病院	三浦 敏夫	国立呉病院	竹崎 英一
県立広島病院	北本 幹也	国立大竹病院	折免 滋雄
呉市医師会病院	荒瀬 桂子	国立福山病院	坂田 達朗
呉共済病院	山口 修司	三菱三原病院	寺面 和史
広島大学附属病院	中西 敏夫	庄原赤十字病院	鎌田 耕治
広島記念病院	中村 利夫	中国労災病院	丸橋 暉
広島市民病院	井上 純一	中電病院	田村 徹
広島赤十字・原爆病院	相光 汐美	日本鋼管福山病院	吉田 智郎
広島総合病院	石田 邦夫	尾道総合病院	大林 諒人

広島県赤十字血液センター

