

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型肝炎ウイルスの新たな感染予防法の確立のための
感染病態解明に関する研究

平成18年度 研究報告書

主任研究者 河田 純男

平成19年（2007）4月

目次

I. 総括研究報告	1
班長報告 (河田 純男)	2
II. 分担研究報告	13
1. B型慢性肝炎におけるHBV-DNA量 (real time PCR法) の推移とALT異常との関連 (鈴木 一幸)	14
2. B型・C型肝炎ウイルス感染病態に関する研究 (佐田 通夫)	20
3. HBVコア関連抗原によるB型慢性肝炎に対するLamivudine 治療中止および耐性株出現後のウイルス動態解析 (田中 榮司)	27
4. ラミブジン耐性B型慢性肝炎に対するアデホビル治療 のIVR規定因子について (加藤 道夫)	29
5. B型肝炎ウイルス感染後の慢性化に関与する因子の 解析 (荒瀬 康司)	34
6. ラジカルイムノアッセイ法によるHBs抗原測定法のさ らなる高感度化 (青山 正明)	39
7. C型肝炎多発地区での肝検診により発見されたHCV 抗体陽性者における肝癌罹患率の検討 (新澤 陽英)	44
8. 超高感度HBs抗原測定にて見える病態 —HBs抗原自然 消失例とエジプト・アラブ共和国の肝疾患患者を対象に (富樫 整)	51
9. HCVの感染経過に関与する宿主要因の検討 (斎藤 貴史)	55
10. C型肝炎ウイルス (HCV) 持続感染における血清 Adiponectin値の意義 (林 純)	59
11. C型慢性肝炎における脂質由来低分子化合物の酸化ス トレスマーカーとしての意義 (今井 康陽)	71
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	79
IV. 研究成果の刊行物・別刷	87

I. 総括研究報告

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

主任研究者 河田 純男 山形大学消化器病態制御内科学教授

研究要旨：B型及びC型肝炎ウイルスの感染病態を解明するために、本研究班ではとくに感染成立にかかわるウイルス要因と遺伝素因に着目した。

- (1) B型肝炎では低ウイルス量の感染病態を検討するために、新規蛋白定量法であるラジカルイムノアッセイ法を応用した HBs 抗原の超微量自動化測定法を開発した。本法により HBV DNA 量が10コピー/mlの低ウイルス量状態であっても HBs を高感度に検出可能になっている。本法の特異性についてはすでに確認しており、実用化に向けた測定の迅速化が図られている。低ウイルス感染状態の臨床的意義を明らかにするために、HBs 抗原自然消失例を検討し、本法による超微量測定により、これらの症例で長期間にわたり血中に低濃度HBが持続することが明らかとなった。また、海外（エジプト）症例について検討した。本法は潜在性B型肝炎の臨床的意義を解明する上で有用であると考えられた。
- (2) C型肝炎ではウイルス感染感受性遺伝子を明らかにし、感染防御さらには治療法開発へ資することを目指している。具体的には HCV 抗体陽性者を RNA 陽性（持続感染者）と RNA 陰性（既感染者）に分け、生体防御にかかわる遺伝子の SNP について検索した。その結果、候補として10遺伝子（SULT2B1, AP1B1, IFNAR2, IFI27, IFI41, PRL, CD4, TGFB1, LTBP2, TNFRSF1A）を既に報告した。さらに、感染感受性遺伝子として、HCV が肝細胞表面に最初に吸着するヘパラン硫酸プロテオグリカンへ硫酸基を転移する一酵素をコードする遺伝子、コレステロール生合成系の一酵素をコードする遺伝子に着目し、機能解析を含めて

HCV感染感受性への関与について検索した。また、既にプロラクチン遺伝子が感染感受性遺伝子であることを報告しているが、プロラクチンがHCV感染における免疫担当ホルモンとして作用していることを明らかにした。

- (3) HCV genotype 1b において、高発がん株が存在することを見出した。すなわち、HCV NS3 領域の N-末端 120 アミノ酸残基を決定し、その2次構造より A グループと B グループに分け、いわゆる retrospective/prospective study により B グループで有意に累積発がん率が高いことを示した。

<分担研究者 (班員) >

鈴木 一幸 岩手医科大学第一内科 教授
佐田 通夫 久留米大学医学部第二内科 教授
田中 栄司 信州大学医学部内科学第二 助教授
加藤 道夫 国立大阪医療センター消化器科 医長
荒瀬 康司 虎の門病院消化器内科 医長
青山 正明 山形県産業技術振興機構 研究開発部プロジェクトリーダー
新澤 陽英 山形県立日本海病院 院長
富樫 整 山形大学保健管理センター 教授
斉藤 貴史 山形大学医学部消化器病態制御内科学 助教授

<研究協力者 (班友) >

林 純 九州大学大学院医学研究院感染環境医学 教授
今井 康陽 市立池田病院 副院長

A. 研究目的

B 型及び C 型肝炎は慢性化し、長年月を経て肝硬変に進展し、さらには肝細胞がんの発症に至る。しかも本邦における肝炎ウイルスキャリアーは数百万人を数え、肝疾患死亡者は増加の一途を辿っている。さらには新規の感染者は増加傾向にある。しかし、B 型及び C 型肝炎ウイルスの感染病態、とくに感染

成立にかかわるウイルス要因と遺伝素因については必ずしも明らかではない。

1. ウイルスの感染病態を解明するために、まず感染成立にかかわるウイルス要因と遺伝素因について検討する（冨樫班員、斉藤班員）。

(1) ラジカルイムノアッセイ法による HBs 抗原測定法の特異性を確立し、さらなる高感度化を行う（青山班員）。

(2) B 型肝炎においては低ウイルス量の血液を媒介とした感染成立とその病態を解明する（冨樫班員）。

(3) さらに、B 型肝炎ウイルスキャリアーにおける低ウイルス病態について検索する（冨樫班員）。

(4) C 型肝炎においてはウイルス感染感受性遺伝子を明らかにし、感染防御さらには治療法開発へ資する（斉藤班員）。

2. HBcr 抗原測定法の開発と感染病態の解明を行う。とくにHBVコア関連抗原によるB型慢性肝炎に対する Lamivudine 治療中止および耐性株出現後のウイルス動態解析を行う（田中班員）。

3. HCV における高発がん株の検索を行う（斉藤班員）。

4. ウイルス動態と感染病態との関連を検討する。

(1) 慢性 B 型肝炎におけるHBV-DNA量 (real-time PCR) の推移と ALT 異常との関連について検索する（鈴木班員）。

(2) ラミブジン耐性B型慢性肝炎に対するアデホビル治療の I V R 規定因子について検討する（加藤班員）。

(3) B 型急性肝炎で慢性化した症例におけるウイルス要因を検討する（荒瀬班員）。

(4) 新しい酸化ストレスマーカー（脂質由来低分子化合物）を検索する（今井班友）。

5. 地域検診による HCV 感染様態の解析を行う。

(1) インスリン抵抗性とHCV関連肝細胞癌患者の予後と関連を解明する（佐田班員）。

(2) 一般住民検診における HCV キャリアーにおける肝機能異常にかかわる生活習慣等の解析を行う。とくに、血中アディポネクチンとの関連を明らかにする（林班友）。

- (3) C型肝炎多発地区における肝検診の長期経過、とくに肝癌発症率について検討する（新澤班員）。

B. 研究方法

1. 感染成立にかかわるウイルス要因および遺伝素因

- (1) B型肝炎の感染成立におけるウイルス要因を検索するために超高感度全自動化 HBs 抗原分析装置を開発し、さらなる高感度化のために、新しい誘導体を使用する（青山班員）。
- (2) 生体サンプルを使用して本装置の精度を検証する（富樫班員）。
- (3) 上記全自動分析装置を使用して低ウイルス病態の解析を行う。対象としては、通常の測定法(EIA)により HBs 抗原が陰性であると確認された健常ボランティア、HBs 抗原自然消失例、C型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患患者およびエジプト人C型慢性肝炎患者における HBs 抗原陽性率を検討する（富樫班員）。
- (4) C型肝炎ウイルス感染感受性候補遺伝子を検索する。山形県某町のC型肝炎ウイルス感染者が集積している地区において15年前より肝検診を行っているが、これらの地域住民に呼びかけ自発的な参加により SNP 解析を施行する。（本研究は国の倫理指針に準拠して行った。とくに SNP 解析は山形大学倫理委員会の承認を受けており、かつ被験者の自発的な参加により、書面による同意を得て施行し、サンプルは直ちに匿名化を行い、個人情報保護に万全を期した。）また、HCV感染感受性候補遺伝子に関する機能解析を行う（斉藤班員）。

2. ウイルス動態と感染病態

- (1) ラミブジン投与中止または耐性株出現後の肝炎再燃時期予測における HBV コア関連抗原 (HBVcrAg) 量の有用性を HBV DNA 量と比較検討した（田中班員）。
- (2) HCV genotype 1 の NS3 領域における N 末端アミノ酸残基 120 を決定し、サブグループ化する（斉藤班員）。
- (3) B型慢性肝炎 148 例について、経過中の HBV DNA 量と肝機能

(ALT) との関係を検討した (鈴木班員)。

(4) ラミブジン耐性のB型慢性肝炎に対しアデホビルを導入した24例を対象として、早期反応(IVR)を規定する因子を検索した(加藤班員)。

(5) B型急性肝炎の慢性化に寄与する要因につき検討した(荒瀬班員)。

(6) C型慢性肝炎症例において、瀉血療法前後で血漿ヒドロキシリノール酸およびヒドロキシコレステロールを測定して、酸化ストレスマーカーとしての有用性を検討する(今井班友)。

3. 地域検診とHCV感染病態

(1) HCV関連肝細胞癌74例(すべて男性)において、インスリン抵抗性と予後の関連を検討した(佐田班員)。

(2) 山形県におけるC型肝炎コホートにおける肝細胞癌の発症率について検討する(新澤班員)。

C. 研究成果

1. 感染成立にかかわるウイルス要因および遺伝素因

(1) 超高感度自動化 HBs 抗原分析装置を開発し、さらにp-アセタミドフェノール誘導体の開発、酵素反応液の最適化、抗原濃縮方法の開発により、高感度化が可能になった(青山班員)。

(2) 生体サンプルを用いて、HBV DNA 10コピー/ml以下の低ウイルス量においてHBs抗原を検出可能であることを示した(富樫班員)。

(3) いわゆる HBs 抗原陽性例を除く正常人ボランティア434人において3.0%の低濃度 HBs 抗原を検出した。低濃度陽性率は、非B非C肝硬変で約8%、非B非C肝細胞癌で約10%であった。低濃度 HBs 抗原陽性例に real-time PCR を行い、HBV DNA を検出すると、正常人では0%、C型慢性肝炎で約26%、非B非C肝硬変で20%、非B非C肝細胞癌で約33%であった。また、HBs抗原自然消失例14例において、5年後で半数以上の症例で低濃度HBs抗原が検出された。さらに、エジプト人C型慢性肝炎症例において約60%にHBs抗原を検出した(富樫班員)。

(4) HCV の感染感受性 (防御) に係わる宿主要因を明らかにする目的で、平成 16、17 年度に引き続き検討を行った。ヘパラン硫酸プロテオグリカンの糖鎖硫酸化に関与する酵素 NSTD 1~4 遺伝子について、SNP 解析を行ったが、NSTD 3 遺伝子において、有意の LD ブロックを見出した。また、脂質ラフト形成にかかわるコレステロール生合成系の一酵素をコードする TM7SF2 遺伝子のエクソン領域でアミノ酸置換を伴う codingSNP で有意差のある遺伝子多型を見出した。さらに、血清プロラクチンは HCV 感染者では非感染者に比し高値であること、C 型慢性肝炎患者の PBMC では健常者のそれに比し mRNA の発現が亢進していること、健常者 PBMC を *in vitro* 産生 HCV 粒子で刺激すると、mRNA 発現が亢進することが明らかになり、プロラクチンが HCV 感染感受性に関与することが示唆された (斉藤班員)。

2. ラミブジン中止後の再発肝炎の約 80% は HBVcrAg 量の上昇期と一致しており、これ以前に肝炎再燃は見られなかった。HBV DNA 量は常に HBVcrAg 量と同時か先に再上昇していた。HBVcrAg 量の再上昇以前に肝炎再燃はなく、治療中止や耐性株出現後、HBVcrAg 量の変化がない場合は再治療の開始を待つことができると考えられた (田中班員)。
3. HCV genotype 1b の NS3 領域のサブグルーピングを行い、いわゆる retrospective/prospective study の結果から、B グループの感染者では A グループに比較して有意に累積発がん率が高いことが示唆された (斉藤班員)。
4. ウイルス動態と感染病態の関連を検討することにより、
 - (1) 肝炎期においては HBV DNA 量が ALT 異常のおおよその指標になりうると考えられた (鈴木班員)。
 - (2) ラミブジン治療における早期反応 (initial virological response, IVR) 群は非 IVR 群に比し、有意に HBV DNA 量が低値であり ($P < 0.05$)、AST/ALT 値は高値であった ($P < 0.01$)。アデホビルで耐性を起こすと報告されているアミノ酸変は IVR を規定していなかった。多くの症例で、早期反応はその後の長期経過観察での反応と相

関していた（加藤班員）。

- (3) B型急性肝炎の慢性化を規定する因子は①免疫抑制剤使用、②遺伝子型A、FおよびH③ALT値が1000IU/L未満の症例であった（荒瀬班員）。
- (4) 酸化ストレスマーカーとして、ヒドロキシリノール酸およびヒドロキシコレステロールを測定し、瀉血療法後の酸化ストレス改善の評価に有用であることが分かった（今井班友）。

5. 地域検診による感染病態の解析の結果、

- (1) HCV関連肝細胞癌において、インスリン抵抗性を有する群はインスリン抵抗性のない群に比べ累積生存率が有意に低下していた（ $P < 0.036$ ）。また、多変量解析においてもインスリン抵抗性は独立した予後因子であった（佐田班員）。
- (2) HCV持続感染81例の検討から、血清アディポネクチン値にかかわる有意な独立因子は年齢、男性、空腹時IRI、血清HCV RNAであった。血清アディポネクチンの低下はHCV感染と関連し、インスリン抵抗性を惹起していることが示唆された（林班友）。
- (3) 15年間に追跡されたHCV抗体要請者885人の中から男性35人、女性23人が肝細胞癌を発症した。全体では、5.1/1000人年、男性では8.5/1000人年、女性では3.2/1000人年と有意に男性で発がん率が高かった（ $P < 0.01$ ）。発がんに寄与する因子として、男性、ALT異常、genotype 1bが挙げられた（新澤班員）。

D. 考察

B型およびC型肝炎ウイルスの感染病態を明らかにするために、それぞれウイルス要因と宿主要因を検討し、C.研究成果に示すような結果を得た。これらの知見は今後の病態解明に資すると考えられる。とくに、感染感受性遺伝子の検索は、HCV感染における遺伝的素因が関与することを明らかにし、さらに新規の抗ウイルス薬の開発につながると期待される。

E. 結論

B型およびC型肝炎ウイルスの感染病態を解明するために、3年計画3年目は、とくに感染成立にかかわるウイルス要因と遺伝素因について検討し、以下の結果を得た。

- 1) 超高感度全自動化 HBs 抗原分析装置を開発し、その特異性を確認し、さらに高感度化を行った。
- 2) 本装置を使用して、HBV DNA 10コピー/ml以下の低ウイルス量の血液においても HBs 抗原が検出できる可能性を示し、潜在性B型肝炎の病態解明に役立つことが推測された。
- 3) HCV genotype 1bにおけるNS3領域のサブグループの中に高発がん性のものがあることが示唆された。
- 4) C型肝炎ウイルス感受性候補遺伝子をSNP解析から抽出し、今年度はヘパラン硫酸プロテオグリカンへ硫酸基を転移するNSTD酵素遺伝子のSNPとコレステロール生合成にかかわる酵素遺伝子TM7SF2のSNPが見出された。また、プロラクチンがHCV感染感受性に関与することが示唆された。
- 5) コア関連HBVcrAg量測定はラミブジン投与中止後の肝炎再燃を予測するのに有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kimura T, Saito T, Muramatsu M, Kawata S, et al. Association of transforming growth factor- β 1 functional polymorphisms with natural clearance of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 2006; 193: 1371-1374.
2. Okumoto K, Saito T, Onodera M, Sakamoto A, Tanaka M, Hattori E, Haga H, Ito JI, Sugahara K, Saito K, Togashi H, Kawata S. Serum levels of stem cell factor and thrombopoietin are markedly decreased in fulminant hepatic failure patients with a poor prognosis. *J Gastroenterol Hepatol* in press, 2007.

3. Togashi H, et al. Separate analysis of asialoglycoprotein receptors in the right and left hepatic lobes using ^{99m}Tc-GSA SPECT in patients with acute hepatic damage. *Hepatol Res* 2006; 36: 130-138.
4. Suzuki A, Togashi H, et al. Characteristics of three cases of hepatocellular carcinoma showing enhanced ^{99m}Tc-GSA accumulation by SPECT analysis. *Hepatol Res* in press 2007.
5. Rokuhara A, Matsumoto A, Tanaka E, Umemura T, Yoshizawa K, Kimura T, Maki N, Kiyosawa K. Hepatitis B virus RNA is measurable in serum and can be a new marker for monitoring lamivudine therapy. *J Gastroenterol* 2006; 41: 785-790..
6. Tanaka E, Matsumoto A, Kiyosawa K, et al. Measurement of hepatitis B virus core-related antigen is valuable for identifying patients who are at low risk of lamivudine resistance. *Liver Int* 2006; 26: 90-96.
7. Misawa N, Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, Yoshizawa K, Umemura T, Maki N, Kimura T, Kiyosawa K. Hepatitis B virus DNA after Hepatitis B e antigen seroconversion have different virological characteristics. *J Med Virol* 2006; 78: 68-73.
8. Matsumoto A, Tanaka E, Tanaka Y, Mizokami M, Minami M, Okanoue T, Yatsushashi H, Nagaoka S, Nakaoka S, Maki N, Kiyosawa K. Low serum level of hepatitis B virus core-related antigen indicates unlikely reactivation of hepatitis after cessation of lamivudine therapy. *Hepatol Res* in press 2007.
9. Yuki N, Matsumoto M, Kato M, et al. Significance of liver negative-strand HCV RNA quantitation in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 23: 51-55.
10. Ito K, Tanaka Y, Orito E, Kato M, Mizokami M, et al. T1653 mutation in the box alpha increases the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus genotype C infection. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1-7.

11. Izumi N, Hiramatsu N, Kato M, Kasahara A, Hayashi N, et al. Juvenile hepatocellular carcinoma with congestive liver cirrhosis. *J Gastroenterol* 2006; 40: 204-208.
12. Hiramatsu N, Oze T, Kato M, Ishibashi K, Hayashi N, et al. Should aged patients with chronic hepatitis C be treated with interferon and ribavirin combination therapy? *Hepatol Res* 2006; 35: 185-189.
13. Oze T, Hiramatsu N, Kato M, Hayashi N, et al. Early decline of hemoglobin correlates with progression of ribavirin-induced hemolytic anemia during interferon plus ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2006; 41: 862-872.
14. Ozasa A, Tanaka Y, Suzuki K, et al. Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2006; 44: 326-334.
15. Hara S, Hoshino Y, Suzuki K, Kimura H, et al. Association of virus infected-T cell in severe hepatitis caused by primary Epstein-Barr virus infection. *J Clin Virol* 2006; 35: 250-256.
16. Inoue J, Nishizawa T, Suzuki K, Okamoto H, et al. Analysis of the full-length genome of genotype 4 hepatitis E virus isolates from patients with fulminant or acute self-limited hepatitis E. *J Med Virol* 2006; 78: 476-484.
17. Tanaka Y, Takahashi K, Orito E, Suzuki K, Mizokami M, Mishiro S, et al. Molecular tracing of Japan-indigenous hepatitis E viruses. *J Gen Virol* 2006; 87: 949-954.
18. Kobayashi M, Suzuki F, Arase Y, Kumada H, et al. Clinical and virological outcomes of patients chronically infected with hepatitis B virus genotype A in Japan. *J Med Virol* 2006; 78: 60-67.
19. Yoshida Y, Saito Y, Imai Y, Niki E, et al. Levels of lipid peroxidation in human plasma and erythrocytes : comparison between fatty acids and cholesterol. *Lipids* in press 2007.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許出願

「C型肝炎ウイルス感染者の経過に関する遺伝子およびその利用」

特許出願番号：特願 2004-13667

識別番号：No. 504026465

II. 分担研究報告

B 型慢性肝炎における HBV-DNA 量(real time PCR 法)の推移と ALT 異常との関連

分担研究者 鈴木一幸 岩手医科大学第一内科 教授

研究要旨：

定期的に経過観察されている B 型慢性肝炎 148 例について、経過中の HBV-DNA 量と肝機能(ALT)との関係を検討した。HBV-DNA 量が経過中常に 1.0×10^7 コピー/ml 以上を示す群 8 例(I 群)、HBV-DNA 量が経過中常に 1.0×10^5 コピー/ml 未満を示す群 56 例(III 群)、I 群及び III 群以外の 84 例(II 群)に分けると、ALT 異常($ALT \geq 31IU/ml$)は、I 群では 87.5%、II 群では 77.4%、III 群では 53.6%であり、各群とも 35 才以上の例が多かった。II 群の中で HBV-DNA 量が 3Log 以上変動し、肝炎期の 7 例では 1.0×10^5 コピー/ml 未満ではほとんど ALT 異常を認めず、それもウイルス量減少時に認められた。肝炎期においては、HBV-DNA 量が ALT 異常のおおよその指標になりうると考えられた。

共同研究者

阿部弘一 岩手医科大学第一内科
講師
宮坂昭生 岩手医科大学第一内科
助手
熊谷一郎 岩手医科大学第一内科
助手
妻神重彦 奥州市総合水沢病院
肝臓科
岩手医科大学第一内科
非常勤講師

られている。そこで、当科症例を用いて、HBV-DNA 量と肝機能値との関連、特に慢性期の中でも免疫応答が起きてウイルス量変動していると思われる時期の HBV-DNA 量と肝機能値 (ALT)との関連について検討した。

B. 研究方法

2002 年より 2006 年までに岩手医科大学第一内科において定期的経過観察(年 4 回以上の検査を受けた症例)されている B 型慢性肝炎症例のうち、今回の検討項目のデータが揃っている 148 例を対象とした。

これら対象を HBV-DNA 量が経過

A. 研究目的

血中 HBV-DNA 量は B 型慢性肝炎の病態と密接な関係にあることは知

中 1.0×10^7 コピー/ml 以上の群 8 例(I 群)、HBV-DNA 量が経過中 1.0×10^5 コピー/ml 未満の群 56 例(III 群)、I 群及び III 群以外の群 84 例(II 群)に分けて比較検討した。

HBV-DNA 量の定量は real time PCR 法にて行った。肝機能値は ALT で評価し、経過中の最高値で検討した。ALT は「平成 17 年度 B 型慢性肝炎の治療ガイドライン」の基準値に準じて、30IU/ml 以下を正常、正常値上限の 1.5 倍 (46IU/ml) 以上を高値、その間 (31~45IU/ml) 低値として分類した。年齢は 2006 年 12 月 31 日現在とし、治療ガイドラインに準じて 35 才未満と 35 才以上に分類した。HBV の genotype の測定は、ゲノムサイエンス社の HBV ジェノタイプ判定キットを用いた。

C. 研究結果

1) 患者背景

各群の背景因子を表 1 に示した。

表1. 患者背景

	I群	II群	III群	計
症例数	8	84	56	148
年齢 (才)	32.1±10.7	49.1±11.0	52.8±14.0	49.6±13.0
男:女	1:7	45:39	31:25	77:71
genotype				
A:B:C	1:0:7	1:19:64	6:6:44	8:25:115

症例数は、I 群が 8 例、II 群が 84 例、III 群が 56 例であった。年齢は、I 群で最も若年であった。男女比では I 群で女性の割合が高かった。

ウイルス学的背景では、genotype はいずれの群でも C が多く、次いで B であった。genotype A はそれぞれの群に少数例存在し、III 群で多い傾向が認められた。

2) ウイルス量と年齢、ALT の関係

各群における年齢と ALT の関係を表 2~4 に示した。

表2. I群: HBV-DNA 1.0×10^7 コピー/ml \leq

年齢	肝機能値 (ALT)			
	~30 (IU/ml)	31~45 (IU/ml)	46~ (IU/ml)	
<35才	1例 (12.5%)	2例 (25.0%)	2例 (25.0%)	5例 (62.5%)
35才 \leq			3例 (37.5%)	3例 (37.5%)
	1例 (12.5%)	2例 (25.0%)	5例 (62.5%)	8例

表3. II群: I群及びIII群以外(ウイルス量中程度or変動あり)

年齢	肝機能値 (ALT)			
	~30 (IU/ml)	31~45 (IU/ml)	46~ (IU/ml)	
<35才	3例 (3.6%)	1例 (1.2%)	5例 (6.0%)	9例 (10.8%)
35才 \leq	16例 (19.0%)	17例 (20.2%)	42例 (50.0%)	75例 (89.2%)
	18例 (22.6%)	19例 (21.4%)	47例 (56.0%)	84例

表4. III群: HBV-DNA 1.0×10^6 コピー/ml $>$

年齢	肝機能値 (ALT)			
	~30 (IU/ml)	31~45 (IU/ml)	46~ (IU/ml)	
<35才	2例 (3.6%)	1例 (1.8%)	2例 (3.6%)	5例 (9.0%)
35才 \leq	24例 (42.8%)	14例 (25.0%)	13例 (23.2%)	51例 (91.0%)
	26例 (46.4%)	15例 (26.8%)	15例 (26.8%)	56例

I 群では ALT 異常 (ALT \geq 31IU/ml) を示す症例が 8 例中 7 例(87.5%)であった。

II 群では ALT 異常を示す症例が 84 例中 66 例(77.4%)であった。この群では、治療の有無も関与するが、ウイル

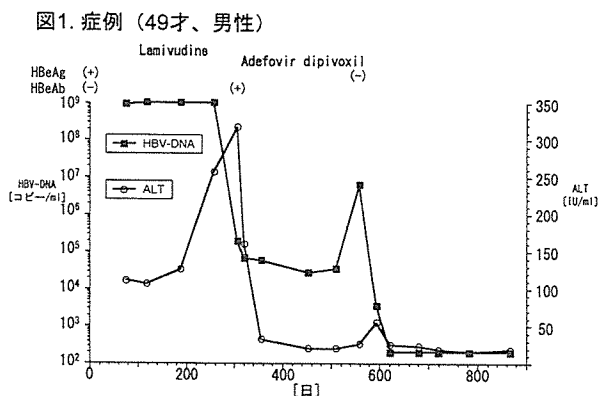
ス量がある程度安定して経過（変動が2Log以下）し、ALTの変動もある程度落ち着いている症例と、ウイルス量が大きく変動（変動が3Log以上）し、それに伴いALTの変動がみられる症例とが混在していた。

III群ではALT異常を示す症例が56例中30例(53.6%)であった。ALT異常を認める症例のうち、約7割の症例に腹部USで脂肪肝の所見を認め、HBV以外の要因がALT異常に関与している可能性が示唆された。

3) HBV-DNA量が大きく変動（変動が3Log以上）した症例でのウイルス量とALTの関係

II群において、HBV-DNA量が大きく変動（変動が3Log以上）した症例を用いてHBV-DNA量の推移とALTの推移の関係を調べた。対象は、II群の中で観察期間前後1年以内にseroconversionを認めた7例とした。なお、検査値は肝庇護療法によるALTへの影響を排除するため、未治療または肝庇護剤未投与の時期の検査値を用いて検討した。

代表的な1例(49才、男性)を図1に示す。HBV-DNA量が 1.0×10^9 コピー/ml以上でHBeAg陽性、HBeAb陰性であり、ALT100IU/l前後で推移していた。ALTが急激に250IU/lまで上昇し、急性増悪を認めたため

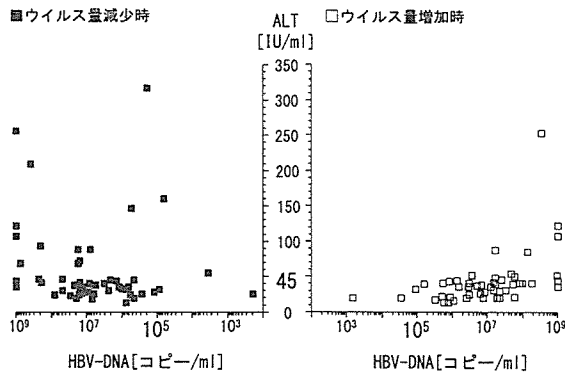


Lamivudineを投与した。約1ヶ月後にHBV-DNA量は3Log以上の減少を示したが、ALT値は更に上昇を認めた。しかし、更に1ヶ月後には減少に転じており、その後HBV-DNA量は 1.0×10^5 コピー/ml未満でしばらく経過したが、その間ALT値は30IU/l以下で推移した。その後再びHBV-DNA量は上昇したためAdefovir dipivoxilを追加投与し、後に減少した。ALTはHBV-DNA量の減少を始めたところで上昇し、次いでHBV-DNA量に遅れて低下した。

次に、HBV-DNA量が大きく変動した症例7例において、ウイルス量が変動した時のHBV-DNA量とALTの関係を図2に示す。

ウイルス量減少時は、HBV-DNA量が 1.0×10^5 コピー/ml以上の時にはALT46IU/ml以上を示すポイントが存在し、HBV-DNA量 1.0×10^5 コピー/ml未満になるとALT46IU/ml以上を示すポイントがほとんどみられなくなる。また、逆にウイルス量増加時は、HBV-DNA量が 1.0×10^5 コピー

図2. HBV-DNA量の増減とALTの関係



/ml 未満の時には ALT 46IU/ml 以上を示すポイントがなく、HBV-DNA 量が 1.0×10^5 コピー/ml 以上になると ALT 46IU/ml 以上を示すポイントがみられてくる。以上のことから、HBV-DNA 量 1.0×10^5 コピー/ml を境に ALT が正常 (または低値) となる、すなわち肝炎が沈静化することが考えられた。

D. 考察

今回の検討より、HBV-DNA 量が変動する症例では 1.0×10^5 コピー/ml 未満ではほとんど ALT 異常を認めず、それもウイルス量減少時に認められた。

HBV-DNA 量と肝炎の安定との関連については未だ一定の基準は示されていないが、アメリカの NIH で 2000 年に開かれた 'Management of Hepatitis B' のワークショップではウイルス量が 1.0×10^5 コピー/ml 以下ならば肝炎は安定しているとする提案がある。また、加藤らの報告 (肝臓

45 巻 11 号:581-588,2004) では HBV キャリアのステージ分類として、HBe 抗原陰性症例の HBV-DNA 量 (PCR 法) が 5.0Log コピー/ml 未満の場合、肝炎離脱期経過観察群として定期的経過観察を要するとしている。今回の検討はこれらの報告を当科症例で確認する形となったが、今後の日常診療において、抗ウイルス療法を行う場合には「HBV-DNA 量 1.0×10^5 コピー/ml」が肝炎沈静化 (ALT 正常化) 一つの目安になると考えられた。しかし、HBV genotype との関連や発癌のリスクとの関連については更に今後の検討が必要である。

E. 結論

肝炎期においては、HBV-DNA 量が ALT 異常のおおよその指標となりうると考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

学会発表

- 1) 宮坂昭生、阿部弘一、鈴木一幸、熊谷一郎、滝川康裕、加藤章信：年齢による B 型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法. 第 92 回日本消化器病学会 2006 年 4 月 22 日 (於北九州)
- 2) 阿部弘一、葛西幸穂、熊谷一郎、宮

坂昭生、妻神重彦、滝川康裕、加藤章信、鈴木一幸 : C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン α -2b およびリバビリン併用療法時の早期治療効果予測 : 投与開始1週間の viral dynamics からの検討 第42回日本肝臓学会総会, 2006年5月25日(於京都)

3) 佐藤慎一郎、熊谷一郎、三浦義明、佐藤 亮、宮坂昭生、阿部弘一、鈴木一幸、増田友之 : B型慢性肝疾患の病態とその進展に対する肥満の影響に関する検討 第42回日本肝臓学会総会, 2006年5月25日(於京都)

4) 宮坂昭生、阿部弘一、葛西幸穂、熊谷一郎、妻神重彦、加藤章信、鈴木一幸、石川和克 : B型慢性肝炎に対するインターフェロン/ラミブジン併用療法の臨床的検討 : ラミブジン単独療法との比較 第42回日本肝臓学会総会, 2006年5月25日(於京都)

5) 宮坂昭生、葛西幸穂、熊谷一郎、妻神重彦、阿部弘一、滝川康裕、加藤章信、鈴木一幸 : C型慢性肝炎に対するPEG-IFN α 2b とリバビリン治療1週目の viral dynamics と治療不応例の検討 第10回日本肝臓学会大会, 2006年10月11日(於札幌)

6) 熊谷一郎、阿部弘一、葛西幸穂、宮坂昭生、妻神重彦、滝川康裕、加藤章信、鈴木一幸、石川和克 : 高齢の難治性C型慢性肝炎患者に対する Peg-IFN α 2b, リバビリン併用療法の有用性

と問題点 第36回日本肝臓学会東部会, 2006年12月8日(於東京)

論文発表.

1. Ozasa A, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Kang-JH, Hige S, Kuramitsu T, Suzuki K, et al. Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. Hepatology 2006 ; 44(2):326-334
2. Hara S, Hoshino Y, Naitou T, Nagano K, Iwai M, Suzuki K, Yamamoto K, Nagasaka T, Morishima T, Kimura H. Association of virus infected-T cell in severe hepatitis caused by primary Epstein-Barr virus infection. J Clin Virol 2006; 35:250-256
3. Inoue J, Nishizawa T, Takahashi M, Aikawa T, Mizuo H, Suzuki K, Shimosegawa T, Okamoto H. Analysis of the full-length genome of genotype4 hepatitis E virus isolates from patients with fulminant or acute self-limited hepatitis E. J Med Virol 2006; 78(4):476-484
4. Tanaka Y, Takahashi K, Orito E, Karino Y, Kang JH, Suzuki K, Matsui A, Hori A, Matsuda H, Sakugawa H,