

2. HCV 感染

1) HCV 感染の「確診」「疑診」例

調査期間内に HCV 感染の「確診」と判定した例は 10 例、「疑診」と判定した例は 4 例見いだされた。

「確診」と判定した 10 例の中から典型例 2 例を選び出して図 5 に示した。いずれも HCV 抗体陽転時の抗体価の上昇と、血清中への HCV RNA の出現が確認されている。

「疑診」と判定した 4 例の中から 2 例を選び出して図 6 に示した。HCV 抗体の陽転、および抗体価の上昇は認められるものの、陽転時の血清中の HCV RNA が確認できないため、新規感染の「疑診」と判定した。

2) HCV 感染の新規発生率

HCV 感染の「確診」10 例のみを新規感染例とみなした場合、献血者集団における HCV 感染の新規発生率は 10 万人年あたり 1.2 人 (95%CI: 0.6~2.1 人/10 万人年)、「疑診」4 例も含めた 14 例を新規感染例とみなした場合でも 10 万人年あたり 1.6 人 (95%CI: 0.9~2.7 人/10 万人年) と、HBV と同様に極めて低率に止まっている事が明らかとなった。

上記の計 14 例を性別および新規感染と判定された時点の年齢別に並びかえてみると、まず、性別では 14 例中男性は 4 例、女性は 10 例であり、HBV に比べて相対的に高い年齢層における感染例 (14 例中 8 例は 40 歳以上) が多く認められるという特徴があることが明らかとなった (表 3)。

なお、1992-1995 年の 3 年間にわたって献血者集団 (広島県赤十字血液センター) を対象に行った HCV 感染の新規発生率調査 (既に報告済み) では、新規感染者は 3 名 (♂28yo, ♀23yo, ♀40yo: 3 名中 2 人が女性) であり、新規発生率は 10 万人年あたり 1.78 人であった。

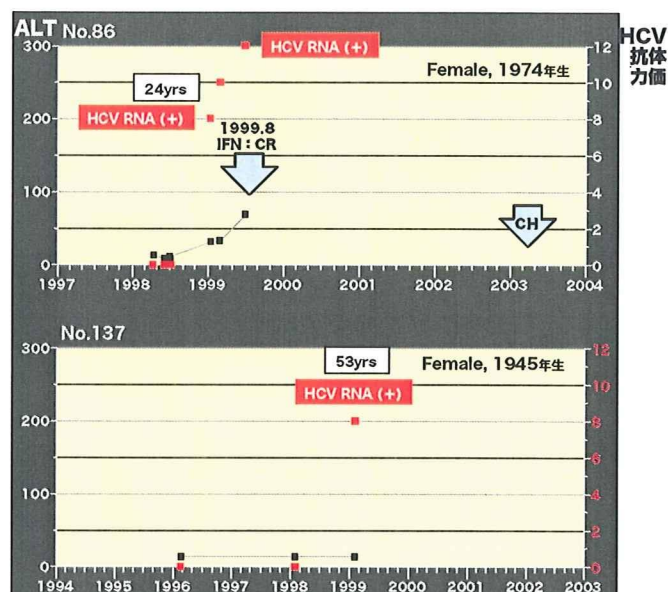


図 5. HCV の「新規感染 確診」例

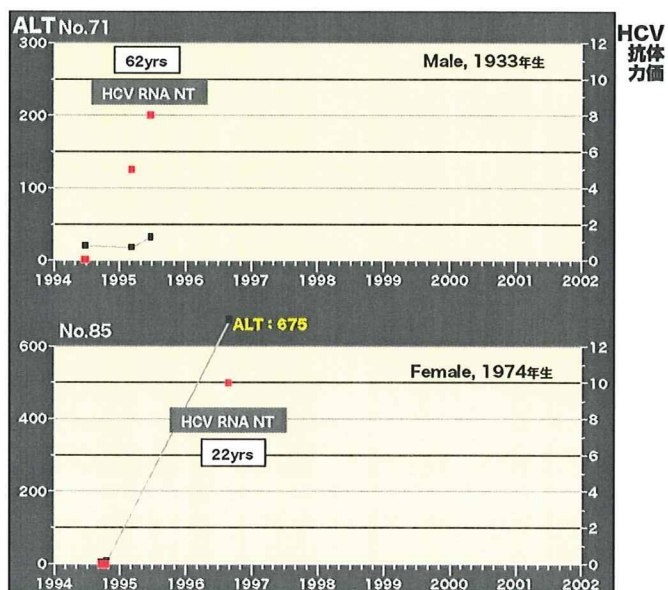


図 6. HCV の「新規感染 疑診」例

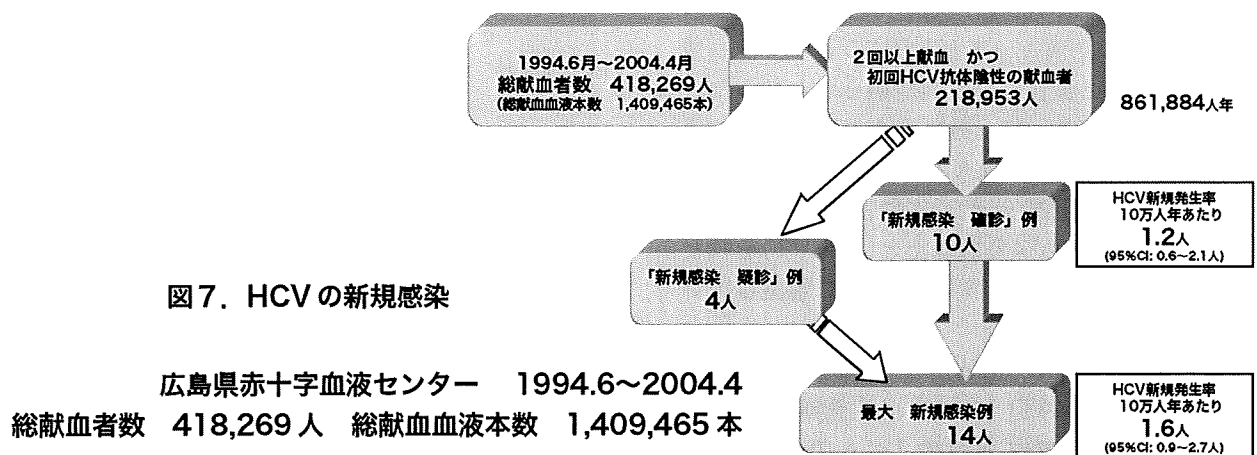


表3. HCV感染時の年齢

出生年	対象数	新規感染例 (max) (対10万人年)(95%CI)	新規感染 確認時 年齢
1976以後 生まれ	42,618	1 (1.0) (0.0~5.3)	28
'66-'75 生まれ	63,349	4 (1.6) (0.4~4.2)	22,25,28,29
'56-'65 生まれ	45,375	1 (0.5) (0.0~2.7)	35
'46-'55 生まれ	41,555	5 (2.6) (0.8~6.0)	46,49,50,52,52
'36-'45 生まれ	22,333	2 (2.1) (0.3~7.4)	53,54
1935以前 生まれ	3,723	1 (7.4) (0.2~41.2)	62
全 体	219,028	14 (1.6) (0.9~2.7)	

下線：女性

D. 結論と考察

HBV感染の新規発生率について

1994年から2004年までの調査期間内に、11人のHBVの「新規感染 確認」例が見出された。この数値をもとに算出すると、献血者集団におけるHBVの新規感染発生率は10万人年あたり、1.3人(95%CI, 0.6人~2.3人/10万人年)となる。なお、この11人のうち、男性は8人(1.7人/10万人年)、女性は3人(0.8人/10万人年)であった。

上記の「確認」例にHBVの「新規感染 疑診」例11人を加えた計22人をもとに計算すると、HBV感染の新規発生率は、10万人年あたり、2.5人(95%CI, 1.6人~3.9人/10万人年)となり、最大限に見積もっても極めて低率に止まっている事が明らかとなった。この22例のうち、男性は15人(3.2人/10万人年)、女性は7人(1.8人/10

万人年)であり、いじれも若い年齢層に偏在していた。

なお、2000年2月から開始された核酸増幅検査(NAT)により、広島県赤十字血液センターでは上記の22人の他にHBV DNA陽転例が2例見出されている。

HCV感染の新規発生率について

上記の調査期間内に、10人のHCVの「新規感染 確認」例が見出された。この数値をもとに算出すると、献血者集団におけるHCVの新規感染率は10万人年あたり、1.2人(95%CI, 0.6人~2.1人/10万人年)となる。なお、この10人のうち、男性は2人(0.4人/10万人年)、女性は8人(2.0人/10万人年)であった。

HCVの「新規感染 疑診」例4人を加えた14人をもとに計算すると、HCV感染の新規発生率は、10万人年あたり、1.6人

(95%CI, 0.9 人～2.7 人/10 万人年) となり、最大限に見積もっても HBV のそれよりも更に低率に止まっている事が明らかとなった。この 14 例のうち、男性は 4 人 (0.9 人/10 万人年)、女性は 10 人 (2.5 人/10 万人年) であり、新規感染と判定された時点の年齢は 14 例中 8 例が 40 歳以上と、HBV のそれと比べると相対的に高い年齢層に偏在している点が注目された。

なお、2000 年 2 月から開始された核酸増幅検査 (NAT) により、広島県赤十字血液センターでは上記の 14 人の他に HCV RNA 陽転例が 2 例見出されている

以上をまとめると、我が国の健常者集団における HBV 感染および HCV 感染の新規発生率は最大限に見積もっても 10 万人年あたり、それぞれ、2.5 人および 1.6 人と算出され、NAT により見いだされたウインドウ期の新規感染例を加えても、一般健常者集団での HBV 感染・HCV 感染の新規発生はごく稀にしか起こっていないことが明らかとなった。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし

F. 知的財産の出願・登録状況

なし

厚生労働省 肝炎等克服緊急対策研究事業
B型およびC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究
平成18年度 分担研究報告

核酸増幅検査(NAT)により見出されたHBV DNA陽性献血者の特性
－ 717例のHBV DNA陽性の献血者血液を対象とした分子ウイルス学的解析 －

分担研究者 柚木久雄¹⁾
研究協力者 室川宏之¹⁾、大戸哲史¹⁾、長谷川隆¹⁾、中平誠司¹⁾、伊藤直文¹⁾、
鈴木光¹⁾、星友二¹⁾、福田俊洋¹⁾、
1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所 核酸増幅検査部

研究要旨

1999年7月から2006年12月までの間に、核酸増幅検査(Nucleic Acid Amplification Test : NAT)により見出されたHBV DNA陽性の全ての献血者、計717例の血液を対象として分子ウイルス学的、及びウイルス血清学的手法により解析した。その結果、1) HBV DNA陽性者数は30歳代以下の若い世代に偏っていること(550/717 : 76.7%)。2) 30歳代以下の若い世代では、HBV DNAのみが検出される「HBV感染早期群」が殆どを占めていること(543/550 : 98.7%)。3) 30歳代以下の若い世代を中心に、これまでわが国ではほとんど見られないとされてきたジェノタイプAのHBV感染が広がりつつあり、特に20～30歳代のHBV DNA陽性の献血者481例についてみると、このうちの106例(22.0)がジェノタイプAに感染していること。4) 一方、40歳以上の世代では、HBV DNAと共に(低力価の)HBc抗体も同時に検出される、いわゆる「HBV感染晩期群」が多く見られること(40歳代12/67 : 17.9%、50歳代35/64 : 54.7%、60歳代29/34 : 85.3%)。が明らかとなった。

A. 研究目的

献血時の核酸増幅検査(Nucleic Acid Amplification Test : NAT)によりHBV DNA陽性と判定された全ての献血者の血液を対象として、分子ウイルス学的、及びウイルス血清学的手法により解析し、近年のわが国におけるHBV感染の特性を解明する糸口を得ることを目的とした。

B. 研究方法

1999年7月から2006年12月までの間に、NATにより見出されたHBV DNA陽性の全ての献血者、計717例の血液を対象として、(1) HBV DNA陽性者の性、年齢分布、(2) HBVのジェノタイプ、(3) HBVの血中濃度、(4) HBc抗体の共存について調査した。

C. 結果

(1) NATによるHBV DNA、HCV RNA、HIV RNA検出数の推移

NATに供する検体のプールサイズは、1999年7月から2000年1月までの500本プール期、2000年2月から2004年8月までの50本プール期、2004年8月から現在に至る20本プール期と変遷してきた。

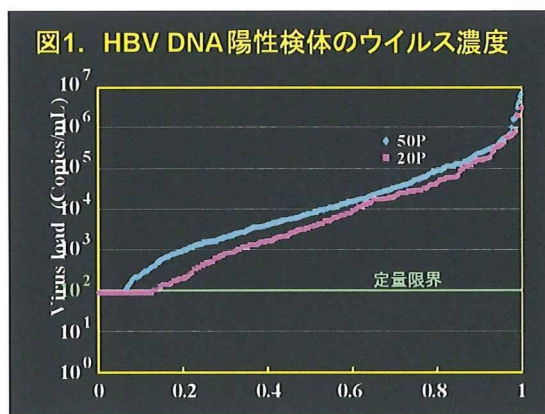
各期ごとのHBV DNA、HCV RNA、HIV RNA陽性血液の検出数と陽性率を表1に示した。

表1. NATで検出された HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA 陽性数					
— 1999.7.1～2006.12.31 —					
期間	プール サイズ	検体数	陽性数 (陽性率)		
			HBV DNA	HCV RNA	HIV RNA
1999.7～2000.1	500	2,140,207	19 1/113,000	8 1/270,000	0
2000.2～2004.8	50	24,702,784	473 1/52,000	72 1/340,000	8 1/3,100,000
2004.8～2006.12	20	11,784,989	225 1/52,000	23 1/510,000	5 1/2,400,000
計		33,735,075	717	103	13

本調査研究ではこのうちHBV DNA陽性と判定された全ての献血者715例の血液を対象として解析を試みた。

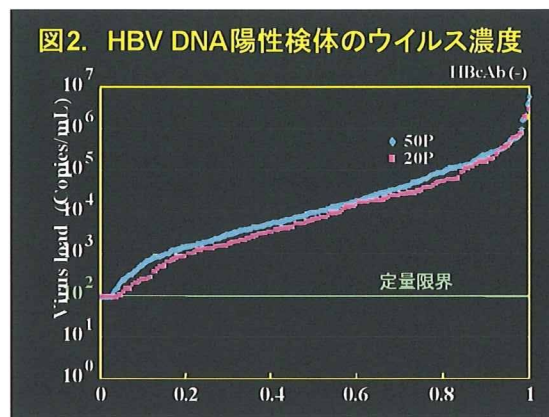
(2) プールサイズによるHBV DNA陽性検体のウイルス濃度の変化

50プール、および20プールで検出されたHBV DNA陽性検体を全体を1としてウイルス濃度順に並べたものを図1に示した。



ウイルス濃度が1,000コピー/mL以上の検体ではプロットが直線となっていた。これはHBVが感染早期では指数関数的に増殖していることを反映しているものと考えられる。

20プールでは定量限界(100コピー/mL)未満の血液を含めウイルス低濃度の血液の比率が50プールに比べ高かった。20プールになってHBc抗体陽性の感染晩期と考えられる血液の全体に占める比率が20%と50プール期の2倍に増加していたため感染初期のHBc抗体陰性の血液に限定して図2に示した。



20プールで見られたウイルス低濃度の血液が殆どなくなり、50,20プールのプロットはほぼ一致した。このことはプールサイズを20に減少することによる効果は主としてHBVが低濃度である感染晩期の血液の検出にあるといえる。

感染初期の血液を検出する効果は1,000コピー/mLのところでは20プールの方が0.05右にシフトしていた。これは約5%検出能が上昇したことを示している。

(3) 年齢、性別にみたHBV DNA陽性献血者の分布

HBV DNA陽性の献血者数は30代以下の若い世代に偏っており、この世代におけるHBV DNA陽性の献血者は全体の76.7%

(550/717)を占めている点が注目された。
 なお、性別に分けてみると10代では女性の
 ほうが多いが、他の全ての年代では男性の
 ほうが多いという特徴が見られた(表2)。

表2. 性別・年齢別 HBV DNA 陽性数

- 1999.7~2006.12 -

年齢	HBV DNA 陽性数	HBV DNA 陽性数	
		Male	Female
10~19	69	23	46
20~29	314	191	123
30~39	168	127	41
40~49	68	53	15
50~59	64	49	15
60~69	34	27	7
計	717	470	247

(4) 年齢別にみた「HBV感染早期群」と 「HBV感染晚期群」の占める比率

HBV DNAが検出された717例中HBc抗
 体検査が可能であった715例について解析
 した。30代以下の若い世代ではHBV DNA
 が検出された550例中543例(98.7%)が
 HBV DNAのみが検出される(HBc抗体が
 共存しない)「HBV感染早期群であった。こ
 れに対し、40歳以上の世代では、40~49歳
 で17.9%(12/67)、50~59歳で54.7%(35/64)、
 60歳以上では85.3%(29/34)を、低力価の
 HBc抗体(2⁺HI価未満)が共存するいわゆ
 る「HBV感染晚期群」が締めている点が注
 目された(表3)。

表3. HBV DNA陽性献血者715例における
年齢別HBc抗体陽性率

- JRC 2006.12 -

年齢	HBV DNA 陽性数	HBc抗体 陽性(%)
10~19	69	2 (2.6)
20~29	314	3 (1.0)
30~39	167	2 (1.2)
40~49	67	12 (17.9)
50~59	64	35 (54.7)
60~69	34	29 (85.3)
計	715	83 (11.6)

不明:2例

* HBc抗体陽性: by AxSYM

(5) 年齢別、地域別にみたHBVジェノタ イプの分布

主として30代以下の若い世代を中心と
 して、これまでわが国ではほとんどみられ
 ないとされてきたジェノタイプAのHBV
 感染が広がりつつある点が注目された。特
 に20~30歳代のHBV DNA陽性者481例を
 抽出してみると、このうちの106例(22.0%)
 がジェノタイプAのHBVに感染していた。
 またジェノタイプA122例中119例(97.5%)
 が男性と、ジェノタイプA,Bに比べ性別に
 大きな偏りがあることが注目された(表4)。

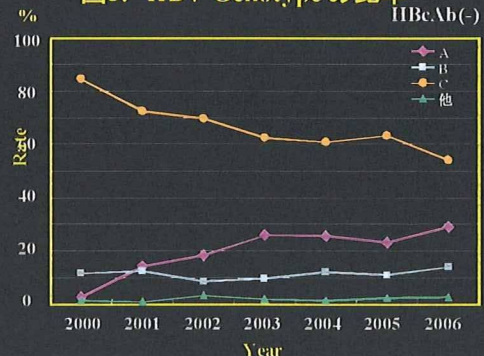
表4. Genotype 別HBV DNA陽性例数

~2006.12.31

年齢	Genotype											
	A		B		C		D		E		II	
	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性
10代	3		1	5	18	41	1					
20代	65	1	16	18	109	100	1	3		1		
30代	38	2	14	4	72	35	2				1	
40代	9		12	3	31	11		1			1	
50代	4		15	5	28	10	1				1	
60代				3	20	4						
計	119	3	65	38	278	201	5	4	0	1	3	0
	122		103		479		9		1		3	

HBV DNA陽性献血者のうちでHBc抗
 体陰性の感染早期群でジェノタイプA,B,C
 の比率の年次変化を図3に示した。

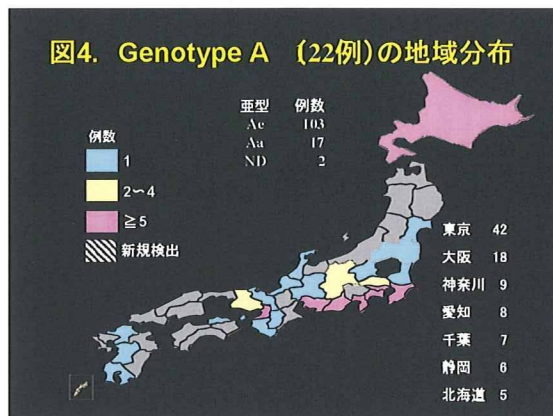
図3. HBV Genotype の比率



ジェノタイプAの比率は2000年に2.3%
 であったが比率が上昇し、2003年には

26.0%になり、2006年は29.2%であった。反対にジェノタイプCの比率は2000年に84.6%であったものが2006年には54.2%にまで減少した。一方ジェノタイプBは10%前後であり変動していなかった。

ジェノタイプAのHBV感染者の地域分布を図4に示した。図4に示されるように東京、大阪、神奈川、愛知、千葉、静岡、北海道など大都市及びその近隣の地域を中心に広がりが見られる一方、栃木、岡山などの地方でも今年度新たに見出されるなど、徐々に地方都市にも広がりがつつある点が注目された。



また、分子ウイルス学的解析が可能であった120例についてみると、このうちの103例が欧米型、17例がアジア・アフリカ型であることが明らかとなった。

D. 結論と考察

NATにより見出されたHBV DNA陽性の全ての献血者を対象として、その特性を調査した。その結果、若い世代では「HBV感染早期群」がほとんどを占めるのに対し、中高年世代では「HBV感染晚期群」が多くを占めること、若い世代にこれまでほとん

ど見られないとされてきたジェノタイプAのHBV感染が広がりつつあることが明らかとなった。これらの結果は、わが国の血液製剤等の安全性の確保、安全性の向上を図る上での重要な基礎的資料となるのみならず、今後のわが国におけるHBV感染の新たな広がりとその特性を解明するための貴重な手がかりを与えてくれるものであると考えられる。

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

厚生労働省 肝炎等克服緊急対策研究事業
B型およびC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究
平成 18 年度 班長研究協力者 研究報告

チンパンジーを用いたHCV感染初期における宿主免疫応答解析

班長研究協力者 菅野雅元 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科・教授)

研究要旨：

ウイルス性肝炎の予防・診断・治療・疫学などに関する、臨床および基礎研究や対策を考える上で、免疫学の立場からのアプローチを加えることにより、研究班全体の広がりをも基礎から臨床、そして疫学、予防医学までと幅を広げることを目指している。

肝炎ウイルス（B型、C型）は免疫系を介した急性・慢性の炎症性肝疾患を引き起こす。ウイルス性肝炎の自然治癒・慢性化を決定する要因の一つとして、宿主側の免疫反応が重要であることは論を待たない。考え方・背景として、最近の免疫学の基本思想の進化を考慮に入れる事が重要である。「我々の免疫機構は何を監視するために出来ているか」という問いに対する答えが、20世紀は「免疫は生体防御反応である」、または「免疫系は自己・非自己識別機構である」という考えであった。しかし、21世紀になり、自然免疫系の重要性が認識されるに従い「Stranger and Danger仮説」という考え方が登場してきた。つまり、ウイルス性肝炎の際の宿主応答を理解するのに、従来のリンパ球中心の宿主反応系に基づく理解から、21世紀型の新しい考え方に基づき見直す必要がある。そのような感染論の大前提として個体レベルで、「まず感染初期に、どのような宿主免疫反応が起きているのか？」という問いに対する答え（観察）が最も重要である。そのような感染初期の宿主免疫応答系の理解があつて初めて、その後の慢性肝炎状態の免疫系の解析が成り立つ。

本研究課題では、チンパンジーを用い、感染初期の免疫担当細胞の動態を観察・解析することから開始した。その結果、本年度の研究から、(1) 抗体産生・肝障害の出現よりも早く、ウイルス感染後約1週間で樹状細胞の活性化が検出される事が分かった。また、(2) 感染コースの選択（自然治癒コースと持続感染コース）、特定の樹状細胞のHCVゲノムの取り込み・活性化、その後のNK細胞の活性化、末梢血中のI型IFN量の間に相関があることが判明した。このように宿主側の免疫系の初期反応と感染コースの相関性が意味するところは大きく、今後の詳細な解明が予防・治療に貢献出来ると考える。

A. 研究目的

生体が脅威にさらされた時には、我々の免疫系は次の2つの質問に直面する。質問1「反応すべきか否か?」、質問2「反応するとしたら、どんな種類の反応をすれば良いか?」。

特に質問1については、

(1) 古典的な「自己・非自己モデル」では異物（外来の非自己）の場合に反応がYESになると考えられてきた。

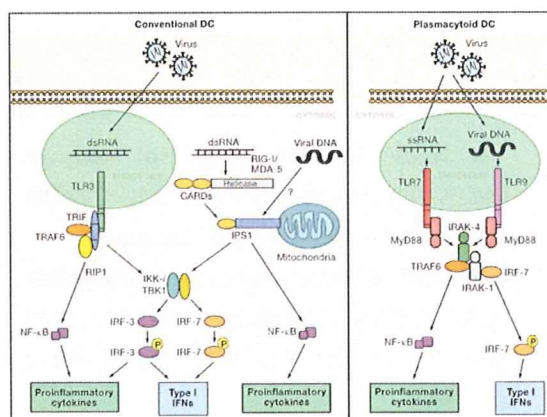
(2) 最近の「Pattern - Recognition - Receptor (PRR)モデル」; Strangerモデル」では、その脅威は細菌・ウイルス由来のPAMPs (pathogen - associated molecular patterns)が抗原提示細胞 (APC) 上のToll-like Receptors (TLRs)によって感知され、その場合に反応がYESになると考えられている。

(3) 「Dangerモデル」では、その脅威が細胞障害・ストレスなどのダメージ、傷ついた組織由来

の Danger シグナル、つまり APC を活性化させる様なシグナル、の場合に免疫反応が YES になると考えられている。

C型肝炎ウイルス感染に対する宿主免疫応答を考えるうえで、今までは感染機序を古典的な免疫学理論 (1) をもとに、リンパ球中心の「自己・非自己」、「抗体産生機序」、「Th1/Th2 バランス」等で主に理解しようとしていた。しかし「ウイルス性肝炎の症状、および病態」を考えるうえでは、従来の考え方だけでは、感染コースの選択や、「なぜ慢性化するのか?」といった問いに答えることに無理があることが分かってきた。そこで最近の免疫学理論 (2) や (3)、つまり、「自然免疫系の重要性」、「樹状細胞群の重要性」、「Stranger & Danger 仮説」なども考慮に入れた上で、ウイルス性肝炎などで「生体の免疫応答系になぜスイッチが入ってしまうのか?」「自然治癒コースと慢性感染コースを決定している宿主側要因は何か?」という疑問への新しい解答を探る試みが必要である。

特に、免疫系の入り口として重要な抗原提示細胞群 (代表として樹状細胞群) は自然免疫系と獲得免疫系という 2 つの反応システムの境界面・接点に当たる細胞群であり、さらに、Toll-Like Receptor (TLR)、RIG-I をはじめとする多くのセンサーを発現していることから、その反応性が注目されている。(図 1)



(図 1) 2種類の樹状細胞による RNA ウイルスの検出の

方法。従来の myeloid DC (ここでは conventional DC) と plasmacytoid DC における感染への応答機構の違いを示している。特に mDC では RIG-I が、pDC では TLR が重要である。

このような、感染初期の宿主側の反応を解析することは、ヒト・臨床サンプルでは不可能であり、HCV が感染可能な唯一の動物であるチンパンジーを用いた解析系で行う事が必須 (Gold Standard) である。小型原猿類のツパイを用いる実験系も存在するが、宿主側の免疫応答を解析するモデルとしては不明である。

チンパンジーを用いた動物感染実験の利点として、以下のような点が上げられる。

1. 自然に HCV が感染する唯一の動物モデルであること
2. 計算されたウイルス摂取量を用いた感染初期の解析が可能
3. バイアスをかけずに、無作為に選んだ個体を用いて感染実験が行える点。ヒトの臨床研究では、臨床症状を呈したヒトのみが対象であり、asymptomatic なヒトは除外されてしまう。

上記のような利点を踏まえ、チンパンジーを用いた動物実験系を解析することで、ウイルス性肝炎の免疫学的な側面の解析を行うことを目標としている。未知の領域ではあるが、今までの免疫学理論とは別の観点から、不明な点を多く残しているウイルス性肝炎の病態の基礎を解析していきたい。

B. 研究方法

ヒト以外で RNA ウイルスである HCV 感染に感受性を持つ事が知られている唯一の実験動物 (チンパンジー) を用いた感染実験によって得られる感染価 (Chimpanzee infectious dose/ml:CID/ml) と、核酸増幅検査 (NAT) により in vitro で定量値として表示される C型肝炎ウイルス量 (HCV RNA 量、copy/ml)、との関係を明

らかにする実験系を用いた（吉澤）。そこで HCV の絶対量 100 コピーおよび 8.4×10^6 コピーの HCV を接種する実験系を用い、定期的に（週 2 回）末梢血を採血する。血清を用いて抗体価、肝障害マーカーとしての ALT/AST 値、HCV コピー数、等を測定する（吉澤）。

このような実験系を用い、樹状細胞、T 細胞、NK 細胞、B 細胞の細胞数、活性化した細胞の割合などの変動を Flow Cytometry を用いてその経過を測定する。樹状細胞(CD11c+) の活性化マーカー (CD86+または HLA-DR+)、T 細胞 (CD3+)、NK 細胞(CD56+)、B 細胞活性化(CD19+)は、それぞれの Lineage マーカー+活性化マーカー (CD69+など) で測定する。初期実験では、樹状細胞、T 細胞、NK 細胞の活性化が正確に検出された。それぞれの細胞集団のサブセット解析、自然免疫系・獲得免疫系の制御細胞群の解析を行う

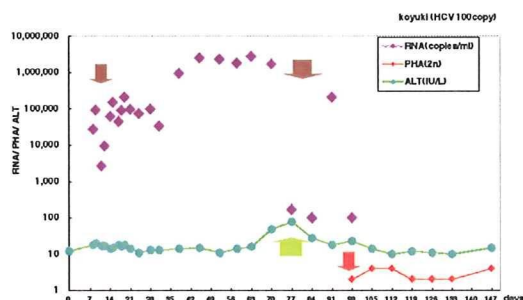
(倫理面への配慮)

チンパンジーを用いた実験は、倫理委員会で審査され、許可されたものであり、倫理面の審査も問題がないとされた。

C. 研究結果

実験 1；

HCV を 100copy 接種し、自然治癒コースを辿ったチンパンジー、および 8.4×10^6 copy 接種し、持続感染コースを辿ったチンパンジー、の 2 種類の感染実験を得ることが出来た。一例として、自然治癒コースの HCV コピー数の推移と、血清中の抗体価、肝障害マーカーとしての ALT/値、の測定結果は下記の様であった（前年度報告済み）。



(図 2) HCV RNA コピー数、抗体価、肝障害マーカーの推移。HCV コピー数が 11 日目と 84 日目に減少する。抗体価は 98 日目から検出される。

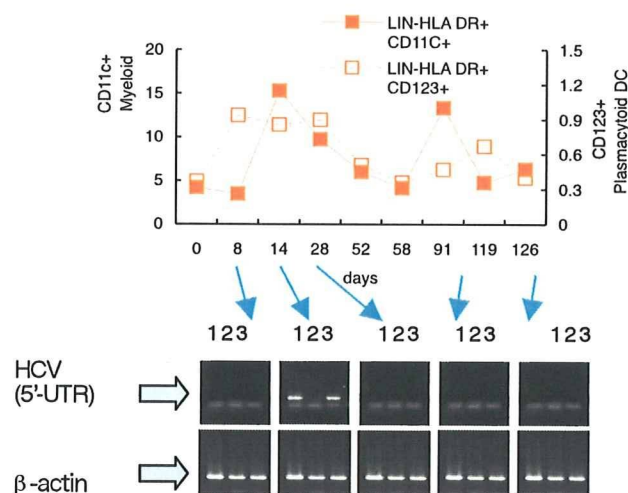
実験 2； 樹状細胞の活性化およびその推移

チンパンジーから採血し、そのバフィーコートから細胞を回収し、樹状細胞の活性化した細胞の割合などの変動を Flow Cytometry を用いてその経過を測定した。樹状細胞は myeloid DC (mDC) と plasmacytoid DC (pDC) の大きく 2 種類のサブセットに分類される事が知られている。そこでそれぞれのサブセットの DC の活性化の割合を、自然治癒コース、持続感染コースのチンパンジーの末梢血サンプルを用いて検討したところ図 4、図 5 の様になった。つまり、自然治癒コースでは、初期（1 週間以内）にまず pDC の活性化が起き、mDC の活性化は、それから約 1 週間遅れることが分かった。一方、持続感染コースでは、pDC の活性化が 28 日目、mDC の活性化が 38 日目ごろに観測された。自然治癒コースのような感染初期の DC 細胞群の活性化は観察されなかった。

樹状細胞 (DC) は抗原提示細胞でもあるので、ウイルスを取り込んで、リンパ球へ提示している事が予想される。では HCV 感染に伴い活性化しているこれらの樹状細胞群は、HCV を取り込み（食べて）活性化することで、自然免疫系の活性化（サイトカイン産生等）を介して、獲得免疫系の活性化を起こしているのであろうか？これらの可能性を検討するために、それぞれの樹状細胞サブセットから HCV ゲノムが検出できるかどうかを HCV の 5'-UTR の PCR-Primer を用いた RT-PCR を行い検討した (図 3)。これらの実験結果から明らかとなった事は、

- ・ HCV 感染初期において、樹状細胞が HCV を取り込んで（食べて）活性化している。これが HCV の DC への「感染」かどうかは不明。
- ・ HCV を取り込んでいる樹状細胞サブセットは Plasmacytoid DC であり、一般的な樹状細胞である Myeloid DC は HCV を取り込んでいない。

- ・さらに驚いたことは、持続感染コースで同様の実験を行ったところ、どの時期においても、pDC、mDC、両方の樹状細胞とも HCV ゲノムが検出されなかった。



(図3) 100copy 接種し、自然治癒コースを取った場合。Plasmacytoid DC だけが HCV を取り込んでいる。しかもそれは感染初期の pDC だけであり、その後のどの時期の pDC、mDC ではウイルスゲノムの取り込みを介さずに樹状細胞の活性化が起きている。

1: All DC

2: mDC: Lin-, CD11c+

3: pDC: Lin-, CD123+

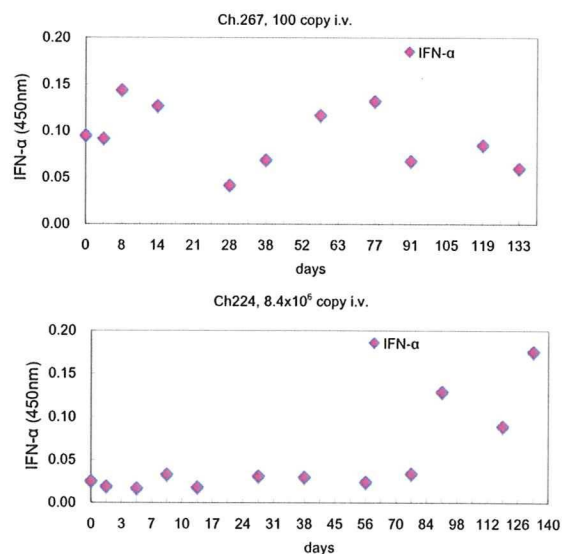
活性化マーカーとして HLA-DR+ を用いている

実験3: T/B 細胞、NK 細胞の活性化の推移

次に、同様に T 細胞、B 細胞、NK 細胞について、同様に活性化マーカーとして CD69 を用いて活性化の推移を検討した。その結果、興味深い事に、肝障害の後や、抗体産生の開始前に NK 細胞や T 細胞の活性化が確認できた。特に NK 細胞の活性化が顕著に確認できた。自然治癒コースと持続感染コースを比較した場合に、最も大きな差は、NK 細胞の活性化が、持続感染コースではほとんど観測されないことであった。

実験4: 末梢血中の I 型インターフェロンの測定。

次に、血清中の I 型インターフェロン (alpha) を測定した。(図4) 保存してある血清サンプルを用い ELISA 法にて測定したところ、予想どおり、自然治癒コースでは、pDC 内に HCV-RNA 量が検出された8日、および RNA 量が一過性に低下する 77-84 日後にインターフェロン- α の産生量が高く検出された。しかし慢性化コースでは、感染初期にインターフェロンの血中濃度は高くなり、77日以降になって初めて上昇した。このことは、初期に HCV ゲノムを取り込んで活性化していた pDC が別名 IPC(Interferon Producing Cell)と言われているインターフェロン産生能力の高い細胞であることから、予想された結果であった。しかしこの血中の IFN の産生細胞はこの実験だけでは不明である。



(図4) HCV を100コピー摂取した Ch267 (自然治癒コース) と、 8.4×10^6 コピー摂取した Ch224 の末梢血中の IFN-alpha 量

D. 考察

今年度までの、チンパンジーを用いた HCV 研究

で、明らかとなった自然治癒コース(急性:100copy接種)と持続感染コース(慢性:8.4x10⁶copy接種)での、宿主初期免疫応答の大きな違いは

(1) 自然治癒(急性感染)コースでのみ plasmacytoid DC (pDC)がウイルスゲノムを取り込み、感染後1週間で活性化していた。Myeloid DC (mDC)の活性化は2週間目で観察できたが、HCVの取り込みは見られなかった。

(2) 持続(慢性)感染コースでは、pDC, mDC共に、初期活性化は検出できず、4-5週間後の活性化が観察できた(しかし、HCVの取り込み無し)。

(3) NK細胞の顕著な活性化が自然治癒コースでのみ検出できた。NK細胞の活性化の有無と感染コースの選択(自然治癒、持続感染)の相関関係の存在が確認できたが、因果関係は不明。

(4) pDCのHCV取り込み、DCの初期活性化、NK細胞の活性化、この3つのパラメーターの因果関係は不明であるが、相関していることは明らかである。

(5) なぜ大量摂取(8.4x10⁶ copy)した場合に、DCがHCVを取り込むことが出来ない様に見えるのか? この機能不全(抑制)が、自然治癒コースを取ることが出来ない要因であると考えられる。

(6) 自然治癒コースでは、8日目、および77-84日後に末梢血中のインターフェロン- α の量が多く検出された。しかし慢性化コースでは、感染初期にインターフェロンの血中濃度は高くなり、77日以降になって初めて上昇した。自然治癒コースの8日目、77日目は、それぞれ、pDC内にHCV-RNA量が検出された時期、HCV-RNA量が一過性に低下した時期に一致した。

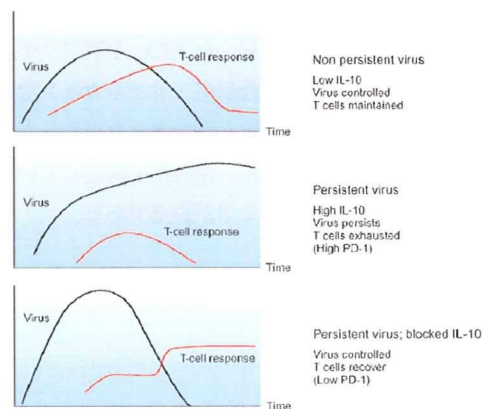
自然治癒コースで、感染初期にHCVゲノムを取り込んでいる事が判明した Plasmacytoid DCは、別名 Interferon Producing Cell (iPC)とも呼ばれる細胞であり、主にI型IFNを産生する。このことを合わせて考えると、day14前後にMyeloid DCが活性化しているのは、Plasmacytoid DCが産生するI型IFN等による2次的作用である可能性が高

い。同様に感染後期(day91)で、もう一度Myeloid DCが活性化しているのも、炎症によるサイトカイン産生や肝障害等の自己組織破壊「Dangerシグナル」などによる2次的なものと考えられ、HCV感染初期のPlasmacytoid DCによる、HCVの取り込み(+それに続く抗原提示?)とは全く別の機構による、感染の2次的免疫反応と考えることができる。このような感染後の2次・3次的反応が樹状細胞にフィードバックされる事により、免疫反応・炎症の継続および反応の増幅が継続して起きていると考えられる。

HCV持続感染(慢性肝炎)から肝硬変(および肝臓ガン)への推移に関しては、NK細胞の活性化が大きな役割をしている可能性が論じられている。今回の研究から、そのNK細胞活性と感染初期の樹状細胞の活性化(HCVの取り込み)の有無、との間に相関があることが示唆された。

最近、DCとNKの相互作用(Cross-Talk)が、抗ウイルス免疫に対する監視機構として非常に重要であるという報告が出されている(Nature Immunol 2005, J.Exp.Med. 2005 など)。そのような観点から今回の解析結果を考えると、やはりDC-NKの相互作用(リンク)が感染コースを規定している可能性が考えられる。

また、IL-10の量が感染の慢性化に直結しているという報告もあるが、これらの抑制性サイトカインの測定はこれからである(図5)。



(図5) IL-10 と感染コース

E. 結論

HCV 感染初期の宿主免疫応答の理解のために行ったチンパンジーを用いた感染実験から、多くの結論・示唆が生まれそうである。特に、「Stranger and Danger」に基づいた考え方、自然免疫系（樹状細胞やNK細胞）の重要性の認識、などは本研究の基礎となる最も重要な発想法である。今回判明した重要な知見として、HCV 感染初期に樹状細胞群の Plasmacytoid DC サブセットが HCV を取り込んで（食べて）活性化している事（おそらく、抗原提示、IFN 産生を行っている）。しかし、最も代表的な従来型樹状細胞群（Myeloid DC）は HCV を取り込んで活性化しているわけではなく、2 次的な反応である可能性が高い。宿主の免疫反応系の入口の段階で、既に直接 HCV を取り込み活性化する樹状細胞群と、2 次的に活性化する樹状細胞群に別れていることが分かった。さらに、大量にウイルスを接種した場合の持続感染コースでは樹状細胞の活性化が大幅に遅れ、しかもウイルスを取り込んで活性化する初期反応タイプではないこと（つまり 2 次的な活性化）が判明した。このような感染初期における樹状細胞群のウイルスを取り込んでの活性化、それに続く NK 細胞の活性化、感染コースの選択（自然治癒・持続感染コース）が、密接に関係していることが分かった。最近のチンパンジーを用いた HCV 予防ワクチンの研究から、初期の免疫反応・サイトカインなどの誘導と、感染の慢性化が別であった事からも分かるように、急性期反応、慢性化を決定している反応を区別して解析する事が重要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

. Nitta T, Nasreen M, Seike T, Goji A, Ohigashi I, Miyazaki T, Ohta T, Kanno M, and Takahama Y. IAN family critically regulates survival and development of T Lymphocytes **PLoS Biology**4(4) April 2006

2. 学会発表 など

- ・菅野雅元 教育講演 「血球系細胞とエピジェネティックス」 第45回 日本血液学会 中四国地方会 広島 2006年3月4日
- ・菅野雅元 教育講演 「Stranger & Danger 仮説」とアレルギー疾患の悪化因子 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京国際フォーラム 2006年11月2日-4日
- ・Y Ninomiya, Y Nakachi, M Kanno, Y Okazaki The screening for cloning of liver x receptor ligand-inducible genes that function suppression of inflammatory gene expression in lipopolysaccharide-activated macrophage. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOEBM Congress, Kyoto, 18-23 June 2006
- ・M Kanno, M Kimura, Y Nakatani, R Kanno , Epigenetic regulation of tumorigenicity by imbalance between Polycomb repressive complexes, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOEBM Congress, Kyoto, 18-23 June 2006
- ・劉蘭蘭 菅野理恵子、井上洋子、高路修、山本昇壯、菅野雅元 アトピー性皮膚炎の悪化因子と組織障害・Danger 仮説 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会 京王プラザホテル 2006年5月30日-6月1日
- ・宮崎正輝、加藤裕子、河本宏、菅野理恵子、菅野雅元 Quantity control of Polycomb group Mel-18 protein by ubiquitin pathway play a role in thymocytes proliferation after beta-selection. 第36回日本免疫学会 大阪国際会議場 2006年12月11-13日

- ・ 加藤裕子、宮崎正輝、糸井まなみ、黒木利明、河本宏、雨貝孝、菅野理恵子、菅野雅元 The regulation of Ink4a/Arf gene expression by Bmi-1/Polycomb complex in plays a crucial role in thymocytes development (1) 第36回日本免疫学会 大阪国際会議場 2006年12月11-13日
- ・ 郭芸、宮崎正輝、菅野理恵子、菅野雅元 The regulation of Ink4a/Arf gene expression by Bmi-1/Polycomb complex in plays a crucial role in thymocytes development (2) 第36回日本免疫学会 大阪国際会議場 2006年12月11-13日
- ・ 井上洋子、片山恵子、菅野理恵子、吉澤浩司、菅野雅元 Early immune responses of hepatitis C virus(HCV) onfection on chimpanzee 第36回日本免疫学会 大阪国際会議場 2006年12月11-13日
- ・ 劉蘭蘭、菅野理恵子、井上洋子、中山宏文、菅野雅元 Danger hypothesis-based new approach to analyze deteriorating factors for allergic skin disease 第36回日本免疫学会 大阪国際会議場 2006年12月11-13日
- ・ 菅野雅元、池田拓弘、大下純子、井上洋子、菅野理恵子、中谷喜洋、山口佳之 ポリコーン蛋白質複合体による乳腺・乳ガン幹細胞の増殖制御 第65回 日本癌学会 パシフィコ横浜 2006年9月28日-30日

H知的財産権の出願・登録状況

特になし

研究協力者

井上洋子 (広島大学 医学部・教務員)

菅野理恵子 (広島大学 医学部 助手)

厚生労働省 肝炎等克服緊急対策研究事業
B型およびC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究
平成18年度 分担研究報告

B 型慢性肝炎に対する治療介入と長期予後に関する研究

分担研究者 池田健次 虎の門病院肝臓センター部長

研究要旨：

B 型慢性肝疾患の臨床経過に及ぼす核酸アナログ製剤使用の効果とその疫学的インパクトを、多数例・長期経過観察により調査した。B 型慢性肝疾患 3674 例のうち、734 例にラミブジンが使用され、非使用例との間で、肝癌発癌率・累積生存率に差があるか否かを検討した。5 年・10 年肝癌発癌率は、ラミブジン使用例で 3.1%、4.0%、非使用例で 4.4%、9.5% であり、ラミブジン使用例の方が低い傾向であった ($P=0.14$)。5 年・10 年生存率は、ラミブジン使用例で 98.5%、97.2%、非使用例で 97.0%、91.1% であり、ラミブジン使用例で有意に生存率が高かった ($P<0.0001$)。年齢・性別・肝線維化の共変量で補正しても、ラミブジンを使用しないと死亡ハザード比が 1.98 ($P=0.012$) で有意な独立要因であった。核酸アナログ使用可能となり、入院加療例の減少、肝癌抑制、肝疾患死亡の減少、一定程度の治療費増加がもたらされと考えられる。

A. 研究目的

B 型慢性肝炎は、核酸アナログ製剤の登場により、活動性肝炎・肝硬変進行例でも外来通院により治療が可能になり、インターフェロンと肝底保護薬しかなかった時代に比べ、その予後が大きく変化しているものと考えられる。本研究は、入院・肝生検を要しない安定した B 型慢性肝炎も含めた B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染者全体の予後と、核酸アナログ製剤であるラミブジンの及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

対象は 1974 年より 2005 年までの間に当院肝臓センター（消化器科）専門外来を受診した HBs 抗原陽性・HCV 抗体陰性の 3674 例とした。初診時年齢は 0 歳～86 歳にわたり、平均 39.3 歳（標準偏差 12.9 歳）、男性 2546 例・女性 1128 例であった。3674 例の初診時診断は、無症候性キャリアおよび F0 の肝炎（肝生検未施行含む）496 例、chronic persistent hepatitis (CPH) 126 例、chronic aggressive hepatitis 2A (CAH2A) 591 例、CAH2B 354 例、CAH+lobular distortion 210 例、肝生検のない「慢性肝炎」722 例、肝硬変 312

例、肝細胞癌 134 例、急性肝炎その他の病態 135 例であった。肝硬変の診断は、腹腔鏡肝生検以外に臨床診断例・非代償期症例を含んでいる。

3674 例に行われた治療は重複を含み、ステロイド離脱療法 307 例、インターフェロン 536 例、ラミブジン 734 例であった。以下の計算は、ステロイド離脱療法およびインターフェロン治療を行った既往歴がある症例も採択して検討したが、ラミブジン投与群で他のステロイド離脱・インターフェロン投与がなされた症例はその時点で打ち切りデータとした。

B 型慢性肝疾患初診から発癌までの発癌率、生存率の計算 (Kaplan-Meier 法) は、無治療例では初診時より、ラミブジン使用例ではラミブジン投与開始日を起点として算出した。ラミブジンが発癌率、生存率に及ぼす影響については、時間依存性 Cox 比例ハザードモデルを使用し、観察開始（当院初診時）を起点とし、ラミブジン使用開始までの期間を「待ち時間」として時間依存性共変量に扱った。

C. 研究結果

1) ラミブジン使用の有無別にみた粗肝癌発癌率：ラミブジン投与例・非投与例別に、累積

肝細胞癌発生率を比較した。3年・5年・7年・10年肝癌発生率は、投与例で2.2%、3.1%、4.0%、4.0%であったが、非投与例では2.3%、4.4%、6.2%、9.5%で、投与群で粗発癌率は低い傾向であった(P=0.14)。

2) ラミブジン使用の有無別に見た生存率：

ラミブジン投与例・非投与例別に、累積生存率を比較した。3年・5年・7年・10年生存率は、投与例で99.1%、98.5%、98.1%、97.2%であったが、非投与例では98.6%、97.0%、94.9%、91.1%で、投与群の生存率は有意に高かった(P<0.0001)。

累積生存率の比較を、慢性肝炎症例と肝硬変症例(N=2485)に分けて検討した。慢性肝炎症例について3年・5年・7年・10年生存率をみると、ラミブジン投与群では99.8%、99.6%、99.4%、99.1%であり、ラミブジン非投与群では、99.5%、98.9%、97.4%、94.8%でラミブジン投与群での生存率が高かった(P<0.0001)。肝硬変症例(N=301)について、同様に3年・5年・7年・10年生存率をみると、ラミブジン投与群では96.3%、94.6%、92.2%、88.8%であり、ラミブジン非投与群では、91.5%、80.5%、70.9%、54.2%で、ラミブジン投与群での生存率改善が著しかった(P<0.0001)。

3) B型慢性肝疾患からの肝癌発癌に寄与する独立要因：HBs抗原陽性B型慢性肝疾患からの肝癌発癌に寄与する独立要因を多変量解析で検討した。時間依存性変数を用いた比例ハザードモデルを使用し、ステップワイズ法での最終段階での変数は、(1)性別(男性のハザード比7.25、P=0.001)、(2)肝線維化(F2-3のハザード比2.25、P=0.002、F4のハザード比4.66、P<0.001)、(3)初診時年齢(35歳以上のハザード比3.93、P<0.001)、(4)初診時eAg(陽性例のハザード比2.00、P=0.005)で、4つの因子が独立要因であった。これに、ラミブジン治療の有無の要因を強制投入すると、ラミブジン治療のない症例のハザード比は1.68(P=0.084)で、有意水準には達しなかったが、ラミブジン投与例では「発癌抑制的」であった。

4) B型慢性肝疾患の生存率に寄与する独立要因：HBs抗原陽性B型慢性肝疾患からの肝癌発癌に寄与する独立要因を多変量解析で検討した。時間依存性変数を用いた比例ハザードモデルを

使用し、ステップワイズ法での最終段階での変数は、(1)初診時年齢(35歳以上のハザード比5.55、P<0.001)、(2)肝線維化(F2-3のハザード比2.18、P<0.001、F4のハザード比6.68、P<0.001)、(3)ラミブジン治療(治療なしのハザード比1.98、P=0.012)、(4)性別(男性のハザード比1.75、P=0.009)で、ラミブジン治療を含む4つの因子が独立要因であった。ラミブジン投与は、発癌率とは別に生存率向上に寄与した。

D. 考察

抗ウイルス剤としてインターフェロンしか使用できなかった時代から、核酸アナログ製剤が使用可能な時代となり、B型肝炎感染の疫学的調査・把握に関して、さまざまな変化が見られるようになった。

強い抗ウイルス作用のもと、トランスアミナーゼの低下・肝病変の進行防止が可能となるとともに、副作用の少ない内服製剤であるため、外来診療で投薬が可能となった。このことは、入院加療患者の減少、腹腔鏡肝生検により組織学的確定診断の行われる症例の減少をもたらした、「入院加療費の減少」に至ると考えられる。一方、通院医療費に関しては、インターフェロン治療の減少を伴ってはいるが、核酸アナログ製剤は長期に及ぶため、最終的には社会全体で一定の増加に至ると考えられる。

入院なく肝生検なく、慢性肝疾患として一まとめに外来診療される症例が増えるとはいえ、肝癌発癌率は抑制傾向となり、全体の生存率も向上することが明らかとなった。

核酸アナログ製剤の第一選択としてラミブジンからエンテカビルに変更されつつある現在、阿德フォビル・ラミブジン併用治療症例が一定数になった時点で、核酸アナログ製剤出現による費用効果関係についての再検討が必要である。

E. 結論

核酸アナログ製剤が使用可能となり、B型慢性肝疾患患者での発癌率の低下・生存率上昇が期待される。疫学的には、核酸アナログ製剤内服下での安定した「無症候性キャリア」状態の患者の増加が多数見られるB型肝炎社会となることが推定される。

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 (Journal of Hepatology)

2. 学会発表

アジア太平洋肝臓学会 (APASL)

2007 年 3 月 (京都)

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

厚生労働省 肝炎等克服緊急対策研究事業
B型およびC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究
平成 18 年度 分担研究報告

**B 型肝炎ウイルス遺伝子型 C1/C2 における肝細胞癌に寄与する
遺伝子変異パターン**

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

【目的】B 型肝炎ウイルス (HBV) の遺伝子型 C1/C2 における enhance II/core promoter, precore 領域の遺伝子変異と肝発癌(HCC)への関与を多施設 (多国籍) で検討する。【方法】年齢、性別、HBeAg 陽性率、臨床病期をマッチさせた HBV/C 陽性例 328 症例 (日本、香港及び中国) を用いた cross-sectional study である。【成績】1) C1 (n=52) と C2 (n=97) 群の HCC を比較すると、年齢、性別、HBeAg 陽性率には有意差はないが、タイプ特異的変異が存在した。すなわち、C1 では V1753、T1856、A1898、C2 では T1653、T1858、A1896 変異を有意に認めた。2) HBeAg 陽性 C1 では、V1753 のみ有意な変異であった。一方、HBeAg 陽性 C2 では T1653 のみが、HBeAg 陰性 C2 では T1653、V1753 が HCC に寄与する有意な遺伝子変異であった。3) 症例全体での HCC に関与する因子は、男性、50 歳以上、HBeAg 陽性、subgenotype C2、T1653、V1753、T1762/A1764、A1896 が関連因子として示された。【結論】HBeAg の有無、subgenotype C1/C2 によって HCC に寄与する因子が異なることから、これらの因子を組み合わせた HBV 関連 HCC の囲い込みが可能と思われた。

共同研究者氏名

田中靖人、向出雅一、伊藤清顕、杉山真也、折戸悦朗、泉並木、朝比奈靖浩、加藤道夫、Yuen MF, Lai CL.

異 ; T1653 (box α /enhancer II), V1753, T1762/A1764 (Basic core promoter), A1896 (Precore stop codon)及び T1856, T1858, A1896, A1899 (epsilon loop)を多施設 (多国籍) 共同研究で検討する。

A. 研究目的

最近分類が可能となった B 型肝炎ウイルス (HBV) の遺伝子型 C1/C2 のウイルス学的・臨床的特徴を調べるため、遺伝子型 C1 及び C2 症例を用いて、B 型肝炎の病態と関連性が示されている特異的変

B. 研究方法

対象は HBV/C 陽性例 328 症例 (日本、香港及び中国) を用いた。年齢、性別、HBeAg 陽性率、臨床病期をマッチさせた遺伝子型 C1 (n=118, 48.0 yrs, 81% male) と

C2 (n=210, 50.6 yrs. 78% male)を用いた cross-sectional study である。亜型分類は既報(Hepatol Res, 2005)の PCR-RFLP 法を用い、HBV 遺伝子変異はダイレクトシーケンス法により決定した。統計解析は SPSS (ver. 12)を用いて行った。

C. 研究結果

C1, C2 の臨床病期(ASC/CH/HCC)は、それぞれ 19/47/52 (44%), 29/85/97(46%)で有意差は見られなかった。1) C1(n=52)と C2(n=97)群の HCC を比較すると、年齢、性別、HBeAg 陽性率には有意差はないが、タイプ特異的変異が存在した。すなわち、C1 では V1753, T1856, A1898, C2 では T1653, T1858, A1896 変異を有意に認めた。2) C1/C2 と HBeAg 別に HCC に関与する遺伝子変異を単変量で解析すると、HBeAg 陽性 C1 では、V1753 (P=0.0092)のみ有意な変異であったが HBeAg 陰性 C1 では有意な変異を認めなかった。一方、HBeAg 陽性 C2 では T1653 (P=0.0056)のみが、HBeAg 陰性 C2 では T1653 (P=0.0046)、V1753 (P=0.016)、A1896 (逆相関) が HCC に寄与する有意な遺伝子変異であった。3) 症例全体での HCC に関与する因子を調べるため、SPSS-Multinomial Logistic Regression により解析した結果、男性 (OR 2.3, P=0.014), 50 歳以上 (OR 3.1, P<0.0001), HBeAg 陽性 (OR 2.3, P=0.005), subgenotype C2 (OR 6.2, P=0.018), T1653 (OR 3.7, P<0.0001), V1753 (OR 3.0, P=0.001), T1762/A1764 (OR 2.7, P=0.01), A1896 (OR 0.3, P=0.001)が関連因子として示された。

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 basal core promoter の二重変異に加えて、T1653 や V1753 変異が HCC に寄与する有意な因子であった。

これまでも肝癌症例において 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、今回の検討では、subgenotype や HBe 抗原の有無も含めて、患者一対照研究を行い、検証した。

特に、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

今回の結果から、HCC に関与する因子としては、男性、50 歳以上、HBeAg 陽性、genotype C2, T1653, V1753, T1762/A1764, A1896(逆相関)が示され、さらに HBeAg の有無、subgenotype C1/C2 によって HCC に寄与する因子が異なることから、これらの因子を組み合わせた HBV 関連 HCC の囲い込みが可能と思われた。

G. 研究発表

論文発表

Tanaka Y, Mukaide M, Orito E, Yuen MF, Ito K, Kurbanov F, Sugauchi F, Asahina Y, Izumi N, Kato M, Lai CL, Ueda R, Mizokami M, et al. Specific Mutations

in Enhancer II/Core Promoter of
Hepatitis B Virus Subgenotypes C1/C2
Increase the Risk of Hepatocellular
Carcinoma.
J Hepatol. 45(5):646-53. 2006.

Tanaka Y, Orito E, Yuen MF, Mukaide M,
Sugauchi F, Ito K, Ozasa A, Sakamoto T,
Kurbanov F, Lai CL, Mizokami M. Two
Subtypes (Subgenotypes) of Hepatitis B
Virus Genotype C: A Novel Subtyping
Assay Based on Restriction Fragment
Length Polymorphism. Hepatol Res.
33(3):216-224. 2005.

学会発表

向出雅一、田中靖人、伊藤清顕、折戸悦
朗、泉並木、朝比奈靖浩、加藤道夫、上
田龍三、溝上雅史

B型肝炎ウイルス遺伝子型 C1/C2 におけ
る肝細胞癌に寄与する遺伝子変異パター
ン—多施設共同研究

第10回日本肝臓学会大会、平成18年10
月11-12日。札幌。

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。