

らず医療側の教育や、一次医療機関と肝臓専門医のいる病院との病診連携が重要と考えられた。

(なお、本事業は茨城県特対事業との共同作業である。)

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Inoue Y, Homma M, Matsuzaki Y, Shibata M, Matsumura T, Ito T, Kohda Y. Erythrocyte ribavirin concentration for assessing hemoglobin reduction in interferon and ribavirin combination therapy. *Hepatol. Res.*, 2006;34:23-27.
2. Ikegami T, Matsuzaki Y, Al Rashid M, Ceryak S, Zhang Y, Bouscarel B. Enhancement of DNA topoisomerase I inhibitor-induced apoptosis by ursodeoxycholic acid. *Mol. Cancer Ther.* 2006;5:68-79.
3. Hirayama T, Honda A, Matsuzaki Y, Miyazaki T, Ikegami T, Doy M, Xu G, Lea M, Salen G. Hypercholesterolemia in rats with hepatomas: increased oxysterols accelerate efflux but do not inhibit biosynthesis of cholesterol. *Hepatology* 2006;44:602-611.
4. Zhang Y, Ikegami T, Honda A, Miyazaki T, Bouscarel B, Rojkind M, Hyodo I, Matsuzaki Y. Involvement of integrin-linked kinase in carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* 2006;44:612-622.
5. Matsuzaki Y, Honda A. Dehydroepiandrosterone and its derivatives: potentially novel anti-proliferative and chemopreventive agents. *Curr. Pharm. Des.* 2006;12:3411-3421.

6. Honda A, Yamashita K, Numazawa M, Ikegami T, Doy M, Matsuzaki Y, Miyazaki H. Highly sensitive quantification of 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one in human serum by LC-ESI-MS/MS. *J. Lipid Res.* 2007;48:458-464.
7. Honda A, Mizokami Y, Matsuzaki Y, Ikegami T, Doy M, Miyazaki H. Highly sensitive assay of HMG-CoA reductase activity by LC-ESI-MS/MS. *J. Lipid Res.* 2007 [Epub ahead of print].

2. 学会発表

1. Ikegami T, Zhang Y, Honda A, Miyazaki T, Bouscarel B, Matsuzaki Y. Enhancement of anti-proliferative effect of SN-38 by ursodeoxycholic acid through modification of epidermal growth factor receptor activation. 第99回米国癌学会 2006.
2. Zhang Y, Ikegami T, Miyazaki T, Honda A, Bouscarel B, Matsuzaki Y. Bile acid-induced p38 phosphorylation enhances cellular spreading capacity of the hepatic myofibroblast-like cell. 第107回米国消化器病学会 2006.
3. Miyazaki T, Doy M, Honda A, Ikegami T, Bouscarel B, Matsuzaki Y. The role of regulatory T (Tr) cells on liver pathology in the graft versus host reaction (GVHR) model mouse. 第107回米国消化器病学会 2006.
4. Miyazaki T, Matsuzaki Y, Honda A, Ikegami T, Zhang Y, Bouscarel B. Influence of the mitochondrial taurine transporter expression on hepatic

- mitochondria number in CCL₄-induced liver disease. 第107回米国消化器病学会 2006.
5. 平山 剛, 本多 彰, 宮崎照雄, 池上 正, 土井幹雄, 松崎靖司. ラット肝細胞癌 (Morris hepatoma 7777)移植ラットにおける高コレステロール血症の発症メカニズムに関する検討. 第42回日本肝臓学会総会 2006.
 6. 池上 正, 張 一寧, 本多 彰, 松崎靖司. 胆汁酸はp38のリン酸化を介しMyofibroblast-like Cellの運動能を亢進する. 第42回日本肝臓学会総会 2006.
 7. Miyazaki T, Doy M, Honda A, Ikegami T, Unno R, Bouscarel B, Matsuzaki Y. Relationship between the liver pathology and the regulatory T (Tr) cells expression in a graft versus host reaction (GVHR) mouse model. 第5回日本肝臓学会シングルトップピックカンファレンス 2006.
 8. Honda A, Hirayama T, Matsuzaki Y, Miyazaki T, Ikegami T, Doy M, Xu G, Lea M, Salen G. Hypercholesterolemia in rats with hepatomas: increased oxysterols accelerate cholesterol efflux but do not inhibit cholesterol biosynthesis nor stimulate bile acid production. 第19回International Bile Acid Meeting(Falk Symposium) 2006.
 9. Zhang Y, Ikegami T, Miyazaki T, Honda A, Rojkind M, Bouscarel B, Matsuzaki Y. Bile acid enhance cellular motility of the hepatic myofibroblast-like cell through the regulation of p38/JNK signaling. 第19回 International Bile Acid Meeting(Falk Symposium) 2006.
 10. 本多 彰, 土井幹雄, 山下幸和, 沼澤光輝, 池上 正, 松崎靖司, 宮崎浩. LC-MS/MSによる血中胆汁酸合成マーカーの高感度分析. 第28回胆汁酸研究会 2006.
 11. Honda A, Doy M, Nakano T, Bando Y, Matsuzaki Y, Miyazaki H. Proteomic profiling of formalin-fixed pathological tissues by mass spectrometry (I). 第21回日本薬物動態学会年会 2006.

G. 知的財産権の出願、登録状況
なし

石川県肝炎検診システムの有効性の検討

分担研究者 金子周一 金沢大学大学院医学系研究科消化器内科教授

研究要旨：石川県ではC型肝炎協議会をつくり、石川県下の市町村ではほぼ統一した形で肝炎ウイルス検診を実施してきた。フォローアップ事業での患者状況把握により、経年的に改善された石川県肝炎ウイルス検診システムが患者の継続受診を促し、C型肝炎へのインターフェロン療法施行率上昇につながる事が明らかとなった。肝臓専門医を中心として各地域ごとの保健所・医師会・かかりつけ医で一体となった肝炎診療ネットワークを継続することとなった。

A. 研究目的

平成14年よりC型肝炎ウイルスおよびB型肝炎ウイルスに対する肝炎ウイルス検診が老人保健法にもとづいて実施されている。石川県では肝炎検診協議会を通じ県下統一した精密検査方法を指定し、検診精度の向上を図ってきた。さらに平成17年より全県下の肝炎診療ネットワークを構築するために保健所ごとに6つの拠点において、医師会主導の肝炎検診事例検討会を行なうこととした。本研究では石川県の5年間の肝炎検診への取り組みの成果と以後の問題点をフォローアップ事業の結果を通じて検討した。

B. 研究方法

肝炎検診協議会を通じて、石川県における検診方法を継続検討している。石川県では精密検査担当医を指定しないものの、精密検査依頼書の県下統一、精密検査手引きの作成、全症例に対する事例検討会を行い、検診精度の向上に成果を上げた。

1) 肝炎検診協議会で検診で見出された症例の精密検査後の受診・経過観察・治療状況を保健士およびかかりつけ医双方からのフォローアップ事業により把握し、5年間の石川県肝炎検診システムの有効性を検討する。2) この結果を踏まえて精密検査後の経過観察方法、治療についても理解を深め徹底させるために、石川県医師会と共同し、保健所および医師会の地域毎に肝炎ウイルスキャリアの診療ネットワークを構築する。

C. 研究結果

1) 肝炎検診協議会

平成14～17年に引き続き平成18年度は1度の協議会を開催した。平成14～17年度検診の問題点を明らかにし、18年度の検診の方針を定めた。問題点として事例検討会・講演会などの開催主体を各地域医師会としたために保健所がバックアップが足りなくなった地域がみられたため、肝炎検診協議会では今後も県健康福祉部、保健所が今後も医師会と共同で肝炎検診事業にかかわっていくことが確認された。

2) 肝炎検診後の受診・経過観察・治療状況

平成14年度から開始された肝炎検診にて見出された症例の状況を保健士・かかりつけ医双方からのフォローアップ事業より検討した。

継続して医療機関で経過観察されているのはC型肝炎では平成14年検診受診症例で1年後50.2%、2年後54.0%、3年後56.8%、平成15年症例で1年後64.6%、2年後57.9%、平成16年症例で1年後55.4%であった。一方B型肝炎では平成14年検診受診症例で1年後34.6%、2年後44.7%、3年後41.5%、平成15年症例で1年後43.7%、2年後33.9%、平成16年症例で1年後42.3%であり無症候性キャリアと診断される頻度の多いB型肝炎症例で経過観察されなくなる症例が多いことが明らかとなった。また自分の判断で受診しなくなった脱落例はC型肝炎で平成14年検診受診症例で1年後6.9%、2年後5.7%、3年後5.3%、平成15年症例で1年後2.7%、2年後2.1%、平成16年症例で1年後3.5%であり、B型肝炎では平成14年検診受診症例で1年後18.1%、2年後8.6%、3年後7.4%、平成15年症例で1年後7.9%、2年後4.3%、平成16年症例で1年後3.9%であった。平成14年に比べると平成15、16年では自己判断脱落率が減少していると考えられた。一方保健士、かかりつけ医双方でフォローアップ事業を行なっているが、受診状況が把握できない症例が平成14年検診受診症例で1年後36.0%、2年後39.1%、3年後32.2%、平成15年症例で1年後32.2%、2年後38.6%、平成16年症例で1年後42.1%であり、B型肝炎では平成14年検診受診症例で1年後40.4%、2年後39.4%、3年後39.4%、平成15年症例で1年後42.7%、2年後56.7%、平成16年症例で1年後50.4%であった。

C型肝炎についてはインターフェロン療法の施行率が低いことが問題となっている。このため事例検討会・講演会などで治療についての知識啓蒙を行ってきた。各年ごとのC型肝炎に対するインターフェロン療法施行率を検討すると、平成14年131例中5例(3.8%)、平成15年164例

中 14 例 (8.5%)、平成 16 年 102 例中 24 例 (23.5%) と徐々にインターフェロン療法施行率が上昇していた。さらに初年度インターフェロン療法が導入されなくとも、以後に導入されたのは平成 14 年症例で 1 年後 6.9%、2 年後 9.9%、平成 15 年症例で 1 年後 14.6% であり検診で見出された症例全体にインターフェロン治療が検討されていることが明らかとなった。

3) 診療ネットワーク

各医師会では肝臓専門医を中心として検討会、講演会を行い肝炎ウイルスキャリアの経過観察の仕方、治療法をより浸透させた。とくに検診では高齢症例が多いこともあり、高齢者 C 型慢性肝炎に対するインターフェロン療法についての講演を各地域で行なった。

D. 考察

石川県では県健康福祉部、保健所、医師会、学術経験者が協議会を設立して、方針を決定している。

精密検査担当医を特に指定していない石川県において、検診で見出された症例の経過観察の方法、治療法について全県下でレベルアップされるように、また患者が脱落せず継続して医療機関にかかれるよう検診システムを構築してきた。

フォローアップ事業でみると初年度より以後で脱落例が減少していることから、診断の手引き、患者受診勧奨用パンフレット作成などを行ってきたことにより継続受診率が上がることが示された。受診当初に患者に正しい知識を啓蒙することが以後の脱落をふせぐことに役立つと考えられた。保健士・かかりつけ医双方からのフォローアップ事業にもかかわらず検診後の状況が把握できない症例が 4 割前後いることが今後の課題である。

治療法に関しても問題となっている C 型肝炎へのインターフェロン療法の施行率は経年的に上昇しており、経過観察している医師への知識普及も進んできているものと思われ、事例検討会、講演会が有効であった。今後、肝臓専門医を中心とした各地区医師会と保健所の診療ネットワークを構築し、各地区でのかかりつけ医、肝臓専門医、保健所の連携により継続して肝炎症例のフォローされることが期待される。

E. 結論

継続して改善してきた肝炎検診システムが検診後の脱落をふせぐことにつながった。また医師への正しい知識が普及がインターフェロン療法施行率を上昇させることも明らかとなった。各地域ごとの肝炎診療ネットワークを継続することとなった。

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) Nakamoto Y, Mizukoshi E, Tsuji H, Sakai Y, Kitahara M, Arai K, Yamashita T, Yokoyama K, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, and Kaneko S. Combined therapy of transcatheter hepatic arterial embolization with intratumoral dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma: clinical safety. Clin Exp Immunol. Feb;147(2):296-305. 2007.
- 2) Tsuchiyama T, Nakamoto Y, Sakai Y, Marukawa Y, Kitahara M, Mukaida N, and Kaneko S. Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. J Immunol. Jan 1;178(1):574-83. 2007.
- 3) Honda M, Yamashita T, Ueda T, Takatori H, Nishino R, and S Kaneko. Different signaling pathways in the livers of patients with chronic hepatitis B or chronic hepatitis C. Hepatology. Nov;44(5):1122-38. 2006.
- 4) Yamashita T, Arai K, Sakai A, Mizukoshi E, Sakai Y, Kagaya T, Nakamoto Y, Honda M, Wada T, Yokoyama H, and S Kaneko. Virological effects and safety of combined double filtration plasmapheresis (DFPP) and interferon therapy in patients with chronic hepatitis C: A preliminary study. Hepatol Res. 2006 Nov;36(3):167-75, 2006.
- 5) Inamura K, Tsuji H, Nakamoto Y, Suzuki M, and Kaneko S. Transgenic mice aberrantly expressing pyruvate dehydrogenase complex E2 component on biliary epithelial cells do not show primary biliary cirrhosis. Clin Exp Immunol. Jul;145(1):93-100, 2006.
- 6) Nakamoto Y, Kaneko S. Analysis of intrahepatic lymphocyte subsets in a transgenic mouse model of immune-mediated hepatocarcinogenesis. J Exp Clin Cancer Res. Mar;25(1):55-7, 2006.
- 7) Mizukoshi E, Nakamoto Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Tsuji H, Kuzushima K, Takiguchi M, and Kaneko S. Cytotoxic T cell responses to human telomerase reverse transcriptase in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatology. Jun;43(6):1284-94, 2006.
- 8) Shimakami T, Honda M, Kusakawa T, Murata

T, Shimotohno K, Kaneko S, and Murakami S.
Effect of hepatitis C virus (HCV) NSSB -
nucleolin interaction on HCV replication with
HCV subgenomic replicon. J Virol. Apr;
80(7):3332-40, 2006.

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

研究協力者： 佐田通夫 久留米大学医学部内科学講座消化器内科部門 教授
同大学医学部消化器疾患情報講座 教授
長尾由実子 久留米大学医学部消化器疾患情報講座 助教授

HCV感染者へのインターフェロン療法に関する実態調査

研究要旨：平成14年度より肝炎ウイルスの節目・節目外検診が始まり、現在検診後の治療ネットワークの構築が進められている。平成16年度の全国調査において、検診後の二次精密検査後にインターフェロン（IFN）治療を実際に受けている患者や住民は少ないと考えられている。しかし、C型肝炎ウイルス（HCV）感染者に対するIFN療法の普及率が全国的になぜ低いのか根拠のある大規模調査は行われていないのが現状である。

私共は、HCV感染者におけるIFN療法の適用有無について患者と医師における認識を分析した。対象は、ある町に在住のHCV感染者として通院する患者254名とその患者を診察している医師254名である。8医療機関が調査に協力し、病院（専門医）と診療所（専門医ではない）の通院先別に集計した。患者と医師の各々に、患者属性、診断名、合併症、IFN治療が実施されていない理由等についてアンケート調査を行った（患者と医師は各々ペアとなり調査に参加）。

病院よりも診療所に通院する患者の方が、高齢者が多く肝臓疾患の病期が進展していた。医師アンケートによる患者通院先別の集計結果では、IFN治療の実施率は、病院では78.2%（79/101例）、診療所では15.7%であり、約5倍の差を認めた。また医師がIFN療法を患者に説明した割合は、診療所では43.1%（66/153例）、病院では88.1%（89/101例）、医師がIFN療法を患者に推奨した割合は、診療所では38.6%（59/153例）、病院では90.1%（91/101例）であった。診療所では、C型慢性肝炎のみの診断に対して45.7%（37/81）の患者がIFN治療を勧められていなかったが、病院では同疾患に対してIFN治療を勧められていない患者は5.2%（4/77）に留まっていた。また、診療所では合併症を持つ60.5%（69/114）の患者にIFN治療を勧めていなかったが、病院では合併症の有無にかかわらずIFN治療を勧めていた。患者アンケートによる結果では医師からIFN療法を推奨されているにもかかわらず治療を断った理由は、副作用を心配する理由が最も多かった。専門医と専門医ではない医師の間で、情報を共有する環境や患者に適切な施設で治療を受けさせる仕組みを地域の中で考える必要がある。一方、患者自身も積極的に医師とコミュニケーションを行う必要があると考えられた。

A. 研究目的

平成14年度よりC型肝炎等緊急総合対策の一環として、地域住民を対象とした肝炎ウイルス検診(HCV並びにHBV)が開始され、現在検診後の治療ネットワークの構築が進められている。平成16年度の全国調査において、検診後の二次精密検査後に、何らかの治療を受けた人は28%であり、そのうちIFN治療を受けた割合は18%であったと報告されており、IFN治療を実際に受けている患者や住民は少ないと考えられる

(沖田極. 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 ウイルス検診要精検者の二次医療機関への受診状況に関する全国調査)。しかし、HCVキャリアに対するIFN療法の普及率が全国的になぜ低いのか、根拠のある大規模調査は行われておらず、その打開策も提唱されていないのが現状である。

多くの患者がIFN治療を受けられるようにするためには、医師が患者にIFN療法を説明し、さらに推奨する必要がある。しかし、治療へのプロセスには患者の同意が必要である。今回、私どもはある地区におけるC型肝炎ウイルス感染患者及び担当医師へアンケート調査を実施することにより、上記の一連のプロセス(説明→推奨→治療)とIFN治療の受療状況を把握するための調査を行った。

B. 研究方法

私共は、HCV感染者におけるIFN療法の適用有無について患者と医師における認識を分析した。対象は、ある町に在住のHCV感染者として通院する患者254名とその患

者を診察している医師254名である。8医療機関が調査に協力し、病院(専門医)と診療所(専門医ではない)の通院先別に集計した。患者と医師の各々に、患者属性、診断名、合併症、IFN治療が実施されていない理由等についてアンケート調査を行った(患者と医師は各々ペアとなり調査に参加)。方法は図1の要領で行い、図2の内容を調査した。

図1

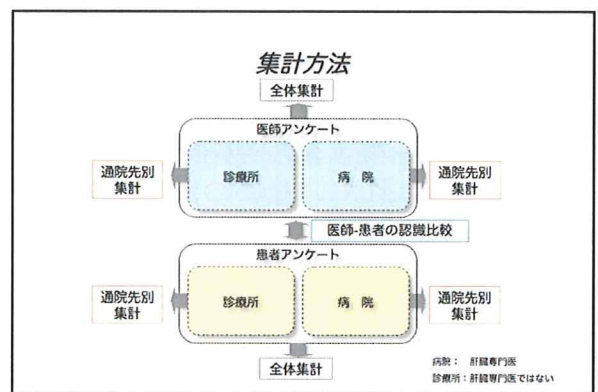
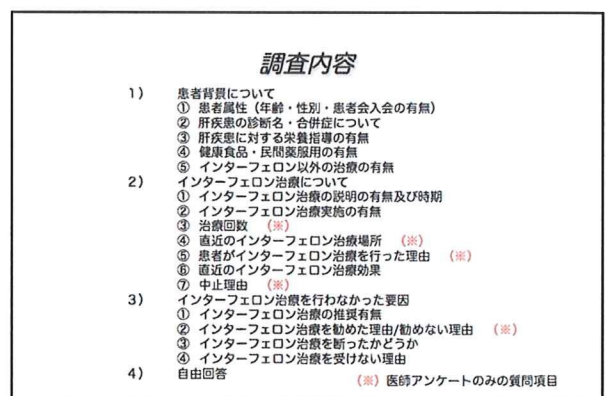


図2

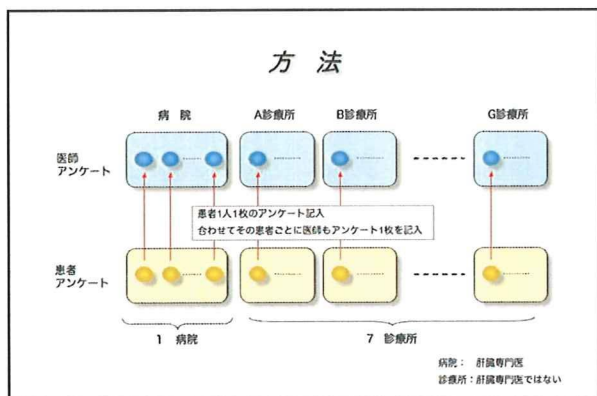


病院へ通院する患者は60歳代が最も多いのに対し、診療所へ通院する患者は70歳代が最も多かった。また、肝疾患名としてはC型慢性肝炎の占める割合が74.4%、C型肝硬変18.4%、C型肝炎8.7%、無症候性HCVキャリア5.5%であった(複数回答)。合

併症を有する患者は全体の 74.4%であったが、診療所と病院に通院する患者における合併症の比率に差は認められなかった。

本アンケート調査の実施機関は 2005 年 10 月 1 日から 2006 年 2 月 28 日までであり、その後集計と分析を行なった (図 3)。

図 3



(倫理面への配慮)

本調査へ参加した住民には、主治医より目的と方法を文書で説明し同意の上、参加した。アンケートは、医師も患者も無記名で実施した。

C. 研究結果

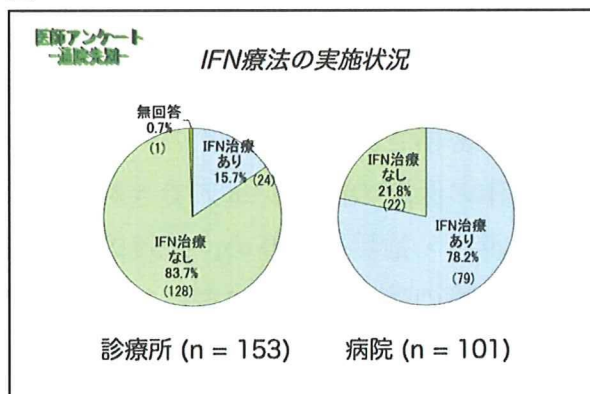
(1) IFN 療法の実施状況

IFN 療法の実施率は、病院 (専門医) では 78.2% (79/101 例)、診療所 (専門医ではない) では 15.7%であり、約 5 倍の差を認めた (図 4)。医師が IFN 療法を患者に説明した割合は、診療所では 43.1% (66/153 例)、病院では 88.1% (89/101 例) であった。さらに、医師が IFN 療法を患者に推奨した割合は、診療所では 38.6% (59/153 例)、病院では 90.1% (91/101 例) であった。

また診療所では、C型慢性肝炎のみの診断に対して 45.7% (37/81) の患者が IFN

治療を勧められていなかったが、病院では同疾患に対して IFN 治療を勧められていない患者は 5.2% (4/77) に留まっていた。また、診療所では合併症を持つ 60.5% (69/114) の患者に IFN 治療を勧められていなかったが、病院では合併症の有無にかかわらず IFN 治療を勧めていた。

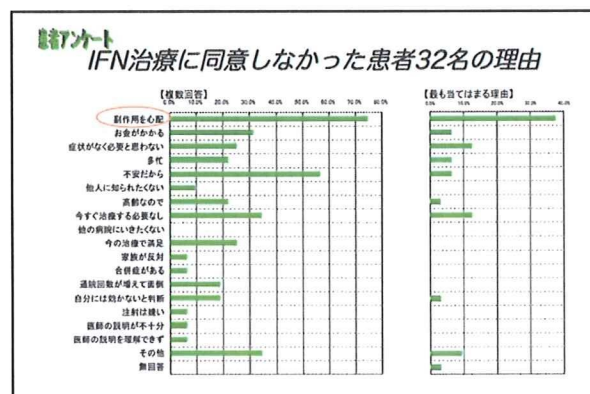
図 4



(2) IFN 治療に同意しなかった患者の理由

医師から IFN 治療を推奨されたにもかかわらず断った理由は、治療を断った理由は、副作用を心配する理由が最も多かった (図 5)。患者が IFN 療法に同意しなかった理由における医師と患者の認識の一致率は、「副作用が心配」であり 86.7%であった。しかし、「お金がかかる」といった経済的な問題に対する一致率は 50%以下と低かった。

図 5



D. 考察

診療所に通院する患者に対する IFN 療法の説明実施率 (43.1%), 推奨率 (38.6%), 受療率 (15.7%) は, いずれも病院 (それぞれ 88.1%, 90.1%, 78.2%) と比較し低値であった。この理由としては, 診療所に通院する患者は, 病院に通院する患者よりも年齢層が高く, 肝疾患が進展していたこと, さらに専門医と非専門医との間に判断の違いがあることが考えられる。病院 (肝臓専門医) で蓄積されてきた多くのノウハウが地域全体の医師の間でシェアできれば, IFN 療法の説明・推奨率を高め, 最終的に患者の IFN 治療の受療率向上に寄与できるのではないかと思われる。

E. 結論

診療所内の医師の努力だけで IFN 療法をさらに普及させていくことは困難であると思われる。患者が適切な場所で治療できるように, 専門医と非専門医とで協議し, 病院と診療所の間で連携を図ることが重要である。専門医と非専門医の間で情報を共有または相談できる環境 (場), ならびに患者に適切な施設で治療を受けさせられるような仕組みづくりを地域の中で考えていく必要があると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tanaka K, Nagao Y, Ide T, Kumashiro R, Sata M. Antibody to hepatitis B core antigen is associated with the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-infected persons: a 12-year

prospective study. *Int J Mol Med* 2006; 17: 827-832.

2. Ohtsubo K, Oku E, Imamura R, Seki R, Hashiguchi M, Osaki K, Yakushiji K, Yoshimoto K, Ogata H, Nagamatsu H, Ando E, Shimamatsu K, Okamura T, Sata M. Simultaneous hepatic relapse of non-Hodgkin's lymphoma and hepatocellular carcinoma in a patient with hepatitis C virus-related cirrhosis. *Acta Haematol.* 2006; 116: 266-271.
3. Wang Y, Takao Y, Harada M, Yutani S, Ide T, Sata M, Itoh K, Yamada A. New epitope peptides derived from hepatitis C virus (HCV) 2a which have the capacity to induce cytotoxic T lymphocytes in HLA-A2+ HCV-infected patients. *Microbiol Immunol.* 2006; 50: 857-865.
4. Taniguchi E, Kawaguchi T, Shimada M, Kuwahara R, Nagao Y, Otsuka M, Iwasaki S, Matsuda T, Ibi R, Shiraishi S, Itou M, Oriishi T, Kumashiro R, Tanaka S, Saruwatari Y, Sata M. Branched-chain amino Acid supplementation complements conventional treatment for spontaneous bacterial peritonitis. *Digest Dis Sci* 2006; 51:1057-1060.
5. Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Akiyoshi J, Itano S, Otsuka M, Iwasaki S, Matsuda T, Ibi R, Shiraishi S, Oriishi T, Tanaka S, Saruwatari Y, Sata M. Appearance-specific satiety increases appetite and quality of

- life in patients with metastatic liver tumor: a case report. *Kurume Med J* 2006; 53: 41-46.
6. Murashima S, Tanaka M, Haramaki M, Yutani S, Nakashima Y, Harada K, Ide T, Kumashiro R, Sata M. A decrease in AFP level related to administration of interferon in patients with chronic hepatitis C and a high level of AFP. *Dig Dis Sci*. 2006; 51: 808-812.
 7. Nagao Y, Kawasaki K, Sata M. Insulin resistance and lichen planus in patients with HCV-infectious liver diseases. *J Gastroen Hepatol* in press.
 8. 長尾由実子, 佐田通夫. 肝癌の発症予防-その対策と治療-. 筑紫医師会報 2006; 30: 41-45.
 9. 長尾由実子, 鈴木史雄, 野林晴彦, 川上裕, 佐田通夫. 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 2006; 19: 21-23.
 10. 長尾由実子, 鈴木史雄, 野林晴彦, 川上裕, 佐田通夫. 優れた薬物療法のさらなる普及をめざして -C型肝炎ウイルス感染者におけるインターフェロン療法の受療の現状と考察-. リサーチペーパーシリーズ 2006; 32: 1-81.
 11. 佐田通夫, 長尾由実子. C型肝炎はなぜ怖いのか. 五絃舎 東京 2006; 131-143.
 12. 佐田通夫. Q6 最近口内炎がよく出ます。肝臓が悪いことと関係があるのでしょうか? 南山堂 東京 2006; 18-20.
 13. 佐田通夫. Q55 キャリアの血液に触れたのですが, どのように対処したらよいでしょうか? 南山堂 東京 2006; 180-182.
 14. 長尾由実子, 佐田通夫. C型肝炎患者が専門医に聞く 88の質問. 新興医学出版社 東京 2006; 1-129.
- ## 2. 学会発表
1. Ando E, Kuromatsu R, Tanaka M, Fukushima N, Takata A, Sumie S, Nagaoka S, Inoue K, Akiyoshi J, Kurogi J, Tajiri N, Torimura T, Ueno T, Sata M. Surveillance program for early detection of hepatocellular carcinoma in Japan. Result of specialized department of liver disease. The 41st Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Vienna, Austria, 2006.
 2. Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Oriishi T, Sata M. Body cell mass, a useful new marker assessing nutritional status and severity of disease in patients with liver cirrhosis. Digestive Disease Week-2006 107th Annual Meeting of The American Association for the Study of Liver Diseases, Los Angeles, 2006.
 3. Tanaka K, Nagao Y, Ide T, Kumashiro R, Sata M. Antibody to hepatitis B core antigen is associated with the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-infected

people; a 12-year prospective study. 11th World Congress on Advances in Oncology and 9th International Symposium on Molecular Medicine. Crete, Greece, 2006.

4. 犬塚貞孝, 池上素樹, 池田 悟, 榊宗徳, 田中俊彦, 土橋清高, 松尾功, 森 倫人, 西田多津子, 岩崎亮二, 古川次男, 古賀満明, 有島恒明, 長尾由実子, 佐田通夫. 佐賀県南部医療圏(杵藤地区)における肝癌撲滅を目指した取り組み. 第76回日本感染症学会 西日本地方会総会, 岡山, 2006.
5. 川口 巧, 住江修治, 佐田通夫. C型肝炎ウイルス(HCV)感染をともなう耐糖能異常の機序と意義. 第14回日本消化器関連学会週DDW-Japan, 札幌, 2006.
6. 伊藤 実, 居石哲治, 川口 巧, 谷口英太郎, 上野隆登, 豊永 純, 佐田通夫. 糖代謝調節消化管ホルモン(GLP-1)のC型慢性肝炎における変化. 第14回日本消化器関連学会週DDW-Japan, 札幌, 2006.
7. 安東栄治, 黒松亮子, 佐田通夫. 早期肝細胞癌における血小板数の予後への影響と脾摘後インターフェロン(IFN)療法の有用性. 第14回日本消化器関連学会週DDW-Japan, 札幌, 2006.
8. 安東栄治, 黒松亮子, 田中正俊, 高田晃男, 福嶋伸良, 住江修治, 黒木淳一, 長岡 栄, 田尻能祥, 秋吉順史, 井上欣哉, 鳥村拓司, 佐田通夫. 初発肝細胞癌および再発肝細胞癌のスクリーニングにお

ける定期的腫瘍マーカー測定の有
用性. 第42回日本肝癌研究会, 東
京, 2006.

G. 知的所得権の所得状況

なし

ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルスの感染の研究

分担研究者 茶山一彰 広島大学大学院医歯薬学総合研究科

研究要旨：分担研究者らはこれまでに本班研究において、マウス肝臓が高度にヒト肝細胞に置換された、ヒト肝細胞キメラマウスに野生型や変異株型のB型およびC型肝炎ウイルスを投与し、持続感染させることに成功してきた。このモデルマウスは抗ウイルス剤の効果判定に有用であり、さらにはウイルス蛋白の機能解析にも有用である。今年度は、この研究をさらに発展させB型肝炎ウイルスのリバースジェネティクス、さらには、C型肝炎ウイルスのリバースジェネティクスの系を確立することができた。これらの系はB型、C型肝炎ウイルスのウイルス学的解析、各種耐性ウイルスに対する治療薬の効果判定、感染の成立、予防に関する研究に有用なものであるになると考えられる。

A. 研究目的

分担研究者らは患者血清の投与による肝炎ウイルスに感染する小動物モデルを確立し、研究を行ってきた。これは、ヒト肝細胞を移植した免疫不全マウスに移植した、ヒト肝細胞キメラマウスを用いたモデルであり、ラミブジンやインターフェロン投与の治療効果の判定にも有用であることを報告してきた。さらに、B型肝炎ウイルスのリバースジェネティクスの系も確立し、YMDDモチーフに変異のない新たな変異株も発見し、そのラミブジン耐性の計測において、キメラマウスの系がきわめて有用であることを示した。今回は、さらに、C型肝炎ウイルスのリバースジェネティクスの系も確立することを目的として研究を行った。さておらず、生体内における感染・複製のメカニズムの解明は困難である。本研究は、マウス肝臓が高度にヒト肝細胞に置換されたヒト肝細胞キメラマウスを用いて肝炎ウイルス感染マウスを作製し、肝炎ウイルスの基礎的研究に有効利用することを目的とする。

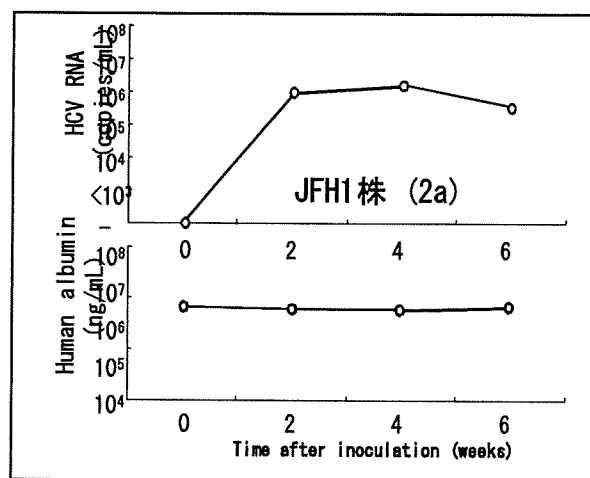
B. 研究方法

Albプロモーター下にuPAを高発現し、生後、肝細胞がアポトーシスを起こす Alb-uPA Tgマウスと重症免疫不全であるSCIDマウスを交配させたuPA-SCIDマウスにヒト肝細胞を経脾的に投与し、マウス肝臓が高度にヒト肝細胞に置換された、ヒト肝細胞キメラマウス（以後キメラマウスと略す）を使用した。キメラマウスへ国立感染症研究所、脇田博士から供与されたJFH1株を使用して、in vitro transcriptionによりRNAを合成した。このRNAをelectroporationによりHuh7細胞株にトランスフェクションした。培養上清に産生されたウイルスを経静脈的に投与した。

C. 結果

図に示すように、投与後2週間目からHCV RNAが陽性となり、その後もほぼ同様のウイルス血症が持続した。このウイルス血症となったマウスの血清をナイーブなマウスに投与すると、やはり感染が成立し、ヒト、チンパンジーでのみ可能であった感染、パッセージの実験がウイルスクローンを用いた系で可

能となったといえる。



この結果を受けて、さらに他のgenotypeのウイルスの感染も試みることにした。金沢大学、金子教授との共同研究により、チンパンジーに対してinfectiousであることが明らかにされているCV-H77Cクローンを用いて実験を行った。このウイルスはJFH1とは異なり、細胞株でウイルス粒子を作ることは明らかでないため、キメラマウスの腹部に麻酔下に小切開を加え、in vitro transcriptionによりRNAを合成したものを直接キメラマウスの肝臓に接種した。その結果、同様に、接種2週後から定量可能なウイルス血症が認められるようになり、また、パッセージも可能であった。

D. 考察

genotype 2a, genotype 1aでのリバースジェネティクスの系を構築することができた。今後、日本に最も多く、インターフェロン抵抗性であるgenotype 1bについても、同様の系の構築を行うことが急務と考えられる。

E. 結論

キメラマウスを用いてB型肝炎ウイルスおよびC型肝炎ウイルスのリバースジェネティクスの

系を構築することができた。リバーシジェネティクス法により種々の変異ウイルスを血中に有するマウスの作製が可能であり、生体内における肝炎ウイルスの分子生物学的な検討に、広く応用が可能であると思われる。特に、薬物耐性の研究には重要な価値を有すると考えられる。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hatakeyama T, Noguchi C, Hiraga N, Moril N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Kawakami Y, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Kawakami H, Yatsuji H, Aisaka Y, Kohno H, Aimitsu S, Chayama K. Serum HBV-RNA is a Predictor of Early Emergence of YMDD Mutant in Patients. Treated with Lamivudine Hepatology 2007, in press
2. Noguchi C, Hiraga N, Mori N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Yatsuji H, Shirakawa K, Takaori-Kondo A, Chayama K. J Gen Virol. 2007; 88:432-40.
3. Uka K, Aikata H, Takaki S, Shirakawa H, Jeong SC, Yamashina K, Hiramatsu A, Kodama H, Takahashi S, Chayama K. Clinical features and prognosis of patients with extrahepatic metastases from hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2007;21:13:414-20.
4. Ohishi W, Fujiwara S, Suzuki G, Kishi T, Sora M, Matsuura S, Hakoda M, Tatsukawa Y, Yamada M, Chayama K. Feasibility of freeze-dried sera for serological and molecular biological detection of hepatitis B and C viruses. J Clin Microbiol. 2006;44:4593-5.
5. Yatsuji H, Noguchi C, Hiraga N, Mori N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Tateno C, Yoshizato K, Suzuki F, Kumada H, Chayama K. Emergence of a novel lamivudine-resistant hepatitis B virus variant with a substitution outside the YMDD motif. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:3867-74.
6. Kohno H, Aimitsu S, Kitamoto M, Aisaka Y, Kawakami H, Chayama K. Prolonged negative HCV-RNA status led to a good outcome in chronic hepatitis C patients with genotype 1b and super-high viral load. Intervirology. 2006;49:362-9.

7. Arataki K, Kumada H, Toyota K, Ohishi W, Takahashi S, Tazuma S, Chayama K. Evolution of hepatitis C virus quasispecies during ribavirin and interferon-alpha-2b combination therapy and interferon-alpha-2b monotherapy. Intervirology. 2006;49:352-61.
8. Nabeshima Y, Tazuma S, Kanno K, Hyogo H, Iwai M, Horiuchi M, Chayama K. Anti-fibrogenic function of angiotensin II type 2 receptor in CC14-induced liver fibrosis. Biochem Biophys Res Commun. 2006;346:658-64.
9. Umehara T, Sudoh M, Yasui F, Matsuda C, Hayashi Y, Chayama K, Kohara M. Serine palmitoyltransferase inhibitor suppresses HCV replication in a mouse model. Biochem Biophys Res Commun. 2006;346:67-73.
10. Tanaka E, Matsumoto A, Suzuki F, Kobayashi M, Mizokami M, Tanaka Y, Okanoue T, Minami M, Chayama K, Imamura M, Yatsushashi H, Nagaoka S, Yotsuyanagi H, Kawata S, Kimura T, Maki N, Iino S, Kiyosawa K; 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. 2006;26:90-6.

2. 学会発表

1. 川上由育、茶山一彰. C型肝炎のPEG-IFN、リバビリン併用療法の現状と新たな展開. 第92回日本消化器病学会総会、北九州、2006
2. 森奈美、茶山一彰. B型慢性肝疾患に対する抗ウイルス療法の治療選択. 第92回日本消化器病学会総会、北九州、2006
3. 今村道雄、茶山一彰. ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝炎ウイルス感染モデル. 第2回肝免疫・ウイルス・フロンティア、名古屋、2006
4. 今村道雄、茶山一彰. モデルマウスを用いた肝炎ウイルスの分子生物学的検討. 第42回日本肝臓学会総会、京都、2006
5. 野口千笑、茶山一彰. HBVのG to A hypermutationのAPOBEC3G発現による増加. 第42回日本肝臓学会総会、京都、2006
6. 脇浩司、茶山一彰. 肝細胞と肝星細胞の不死化の試み. 第42回日本肝臓学会総会、

- 京都、2006
7. 高橋 祥一、茶山一彰. 当院における HIV/HCV 重複感染の現況. 第 42 回日本肝臓学会総会、京都、2006
 8. 八辻寛美、茶山一彰. YMDD motif に変異のない lamivudine 耐性 HBV genome の解析. 第 42 回日本肝臓学会総会、京都、2006
 9. 川上由育、茶山一彰. C 型肝炎の PEG-IFN, リバビリン併用治療の現状と新たな展開. 第 92 回日本消化器病学会総会、札幌、2006
 10. 川上由育、茶山一彰. 当科におけるペガシスの臨床研究について. 第 3 回中国 C 型肝炎研究会、岡山、2006
 11. 川上由育、茶山一彰. 高齢者における 2 型高ウイルス量の C 型肝炎に対する IFN 療法の適応. 第 10 回日本肝臓学会大会、札幌、2006
 12. 山科敬太郎、茶山一彰. Adefovir 内服による薬剤性 Fanconi 症候群・低リン血症により歩行困難を来した Lamivudine 耐性 B 型肝炎硬変の 1 症例. 第 10 回日本肝臓学会大会

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし

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 研究報告

ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いたHBVの感染実験
—チンパンジーの代替感染実験系としての有用性と、定量的感染実験系としての応用—

分担研究者 吉澤 浩司¹⁾、田中 純子²⁾、柚木 久雄³⁾
研究協力者 片山 恵子¹⁾、田淵 文子¹⁾、水井 正明³⁾、松倉 晴道⁴⁾、
丸山 功⁵⁾、島田 卓⁵⁾

1) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学

2) 日赤中央研究所

3) 広島県赤十字血液センター

4) 大阪府赤十字血液センター

5) (株)フェニックス・バイオ

研究要旨

ヒト肝細胞置換キメラマウス（以下キメラマウスと記す）を用いてHBVの感染実験を行ない、以下のことを明らかにした。

- 1) チンパンジーに接種した場合の感染価（chimpanzee infectious dose:CID）が $\sim 10^1$ （16～28）コピー（in-vitroで測定したHBV DNA量に換算して表示したHBV量：以下コピーと表示）であることが確定しているHBV感染早期（HBc抗体陰性期）の血清をキメラマウスに接種した場合の感染価（50% Mouse infectious dose:MID₅₀）は $\sim 10^0$ （1.2～4.6）コピー、すなわち1/10CID相当であること。
- 2) HBV感染の中～後期（HBc抗体高力価陽性、免疫複合体形成期）の血清を接種した場合のMID₅₀は $\sim 10^2$ （120～140）コピー、すなわち、感染成立にはHBV感染早期の血清を接種材料とした場合の約100倍のウイルス量が必要であること。

以上の成績は、キメラマウスは（1）HBVの感染に対してチンパンジーと同等、もしくはそれ以上の感受性を有していること、（2）HBVの定量的感染実験系として、様々な研究分野への応用の可能性があること、を示していると言える。

A. 研究目的

これまで、肝炎ウイルス（HBV、HCV）の感染実験には専らチンパンジーが用いられてきた。

しかし、わが国では、様々な理由から2006年3月末日をもってチンパンジーに対する一切の侵襲的な実験研究を実施することは禁止されるに至った。

そこで、ヒト肝細胞置換キメラマウス

（以下キメラマウスと記す）が、肝炎ウイルス（HBV、HCV）の定量的感染実験系として利用可能であるか否かを明らかにすることを目的として本研究を行なった。

本年度は特にHBVの感染実験系としての有用性を評価することに重点を置いた実験を行なった。

B. 対象と方法

1. ヒト肝細胞置換キメラマウス

ヒト肝細胞置換キメラマウス（以下キメラマウスと記す）は高置換率（69-86%）の個体、計19匹を選別して用いた。

置換に用いたヒト肝細胞は Lot No BD 51（7匹）と Lot No BD 61（12匹）の2種類、キメラマウスの実験開始時の体重は13.0~15.7gである。

2. 接種材料

genotype A の HBV（HBV 感染早期のヒト新鮮凍結血漿：fresh frozen plasma：FFP）を接種し、HBV に感染したチンパンジー No246 の経過中の血清（感染早期（I）と感染中～後期（II））を接種材料として用いた（図-1）。

血清は感染性の減弱を最少限に抑えるために、採血後直ちに血清を分離、1ml ずつに分注した後に液体窒素にて瞬間凍結し、使用するまでの間-80℃のディープフリーザー中に保存した。

1) 接種材料（I）：HBV 感染早期の血清

FFP 接種後 57 日目、HBc 抗体陰性、HBV DNA 量 2.6×10^6 コピー/ml の血清を接種材料（I）とした。なお、この血清はチンパンジーに接種した場合の感染価（chimpanzee infectious dose:CID）が $\sim 10^1$ （16~28）コピー（HBV DNA 量に換算して表示した HBV 量：以下コピーと表示）であることが既に確定している^{1) 2)}ものである。

2) 接種材料（II）：HBV 感染中～後期の血清

FFP 接種後 243 日目、HBc 抗体高力価陽性、HBV DNA 量 2.8×10^6 コピー/ml の血清を接種材料（II）とした。

なお、この血清については、チンパンジーに接種した場合の感染価（CID）は未確定である。

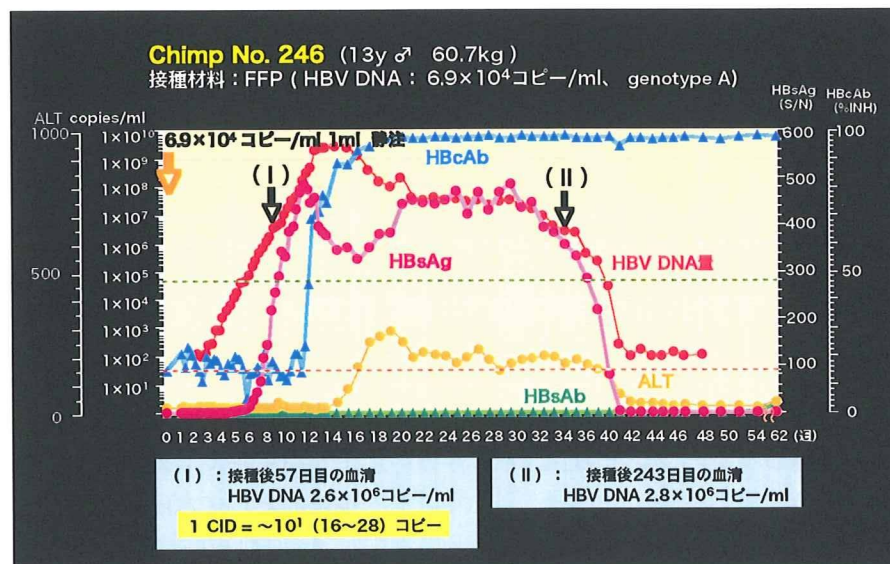


図-1. HBV 感染の経過と接種材料（I），（II）採取の時期

3) 接種材料の希釈

接種材料 (I)、(II) をそれぞれ 37°C の温浴槽内で穏やかに融解し、それぞれをヒト肝細胞未置換同種マウスのプール血清を用いて $10^1 \sim 10^5$ 倍まで段階的に希釈した。

接種材料 (I) については、ヒト肝細胞 Lot No BD 51 置換キメラマウスへの接種用と、Lot No. BD61 置換キメラマウスへの接種用を別々に、その都度希釈して準備した。

なお、接種材料 (I)、(II) の融解は各段階希釈サンプル作製時の 1 回限りとし、必要量を使用した後の残余の血清はその都度廃棄した。

希釈したサンプルはそれぞれ直ちに各 250ul ずつに分注し、液体窒素により瞬間凍結後、使用するまで -80°C のディープフリーザー中に保存した。

保存した各希釈サンプルのうちの各 1 本は HBV DNA の定量のために用いた。また、

1 匹のキメラマウスへの接種のためにはそれぞれ 1 本ずつのサンプルを用いた。なお、各希釈サンプルについても 37°C の温浴槽内での融解は 1 回限りとし、それぞれの目的ごとに使用した後の血清はその都度廃棄した。

4) 各段階希釈サンプル中の HBV DNA の定量

HBV DNA の定量は Taq Man PCR に拠った。接種材料 (I) (BD 51 置換キメラマウスへの接種用、および BD 61 置換キメラマウスへの接種用) の各段階希釈サンプル中の HBV DNA の定量結果と、接種材料 (II) の各段階希釈サンプル中の HBV DNA の定量結果は表-1、表-2、表-3 に示した通りである。3 者とも 10^4 倍希釈 (10^2 コピー/ml) まで 10^N 倍ずつに正しく希釈されていることが確認されたことから、 10^5 倍希釈サンプル中の HBV DNA 量は 10^1 コピー/ml 相当であるものとして以下の感染実験を行なった。

表-1. 接種材料 (I) の希釈と各サンプル中の HBV DNA の定量値 -1-

- BD51置換キメラマウスへの接種用サンプルの調整 -

接種材料 (I) : Chimp246由来の血清、HBV感染早期 (HBc抗体陰性期)

希釈倍率	原血清	$\times 10^1$ 倍	$\times 10^2$ 倍	$\times 10^3$ 倍	$\times 10^4$ 倍	$\times 10^5$ 倍
	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	(10^1 コピー/ml相当)
HBV DNA 定量値	2.6×10^6	1.2×10^5	1.3×10^4	1.2×10^3	1.2×10^2	NT

同種マウス血清により希釈。
Taq Man PCRによりHBV DNA定量。

表-2. 接種材料（Ⅰ）の希釈と各サンプル中のHBV DNAの定量値 -2-

- BD61置換キメラマウスへの接種用サンプルの調整 -

接種材料（Ⅰ）：Chimp246由来の血清、HBV感染早期（HBc抗体陰性期）

稀釈倍率	原血清	×10 ¹ 倍	×10 ² 倍	×10 ³ 倍	×10 ⁴ 倍	×10 ⁵ 倍
	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml (10 ¹ コピー/ml相当)
HBV DNA 定量値	2.6×10 ⁶	NT	4.6×10 ⁴	2.7×10 ³	3.4×10 ²	2.3×10 ¹

同種マウス血清により希釈。
Taq Man PCRによりHBV DNA定量。

表-3. 接種材料（Ⅱ）の希釈と各サンプル中のHBV DNAの定量値

接種材料（Ⅱ）：Chimp246由来の血清、
HBV感染中～後期（HBc抗体高力価陽性期）

稀釈倍率	原血清	×10 ¹ 倍	×10 ² 倍	×10 ³ 倍	×10 ⁴ 倍	×10 ⁵ 倍
	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml	コピー/ml (10 ¹ コピー/ml相当)
HBV DNA 定量値	2.8×10 ⁶	3.5×10 ⁵	2.6×10 ⁴	2.7×10 ³	2.0×10 ²	NT

同種マウス血清により希釈。
Taq Man PCRによりHBV DNA定量。

3. 感染成立に必要な最少HBV量 (50% Mouse infectious dose: MID₅₀) を決定するための実験

1) 接種材料（Ⅰ）の調製

ヒト肝細胞 Lot No BD 51 置換キメラマウス計7匹中3匹には10⁴倍希釈サンプル、すなわち、120～130コピー/mlを100ul：HBV DNAの絶対量として12～13コピー相当ずつ、4匹には10⁵倍希釈サンプル、すなわち、12～13コピー/mlを100ul：HBV DNAの絶対量として1.2～1.3コピー相当ずつを、それぞれ経尾静脈的に接種し、経過を観察した。

また、ヒト肝細胞 Lot No BD 61 置換キメラマウス計6匹中3匹には10⁴倍希釈サンプル、すなわち、230～460コピー/ml

を100ul：HBV DNAの絶対量として23～46コピー相当ずつ、他の3匹には10⁵倍希釈サンプル、すなわち、23～46コピー/mlを100ul：HBV DNAの絶対量として2.3～4.6コピー相当ずつをそれぞれ経尾静脈的に接種し、経過を観察した。

2) 接種材料（Ⅱ）の接種

ヒト肝細胞 Lot No BD 61 置換キメラマウス計6匹中3匹には10³倍希釈サンプル、すなわち、2000～3500コピー/mlを100ul：HBV DNAの絶対量として200～350コピー相当ずつ、他の3匹には10⁴倍希釈サンプル、すなわち、200～350コピー/mlを100ul：HBV DNAの絶対量として20～35コピー相当ずつをそれぞれ経尾静脈

的に接種し、経過を観察した。

C. 結果

1. 接種材料 (I) を接種したキメラマウス

接種材料 (I) から調製したサンプル 1CID 相当、すなわち、120~130 コピー/ml のサンプル 100ul : HBV DNA の絶対量として 12~13 コピー相当を接種した肝細胞 Lot No BD 51 置換キメラマウス 3 匹中 3 匹、および 230~460 コピー/ml のサンプル 100ul : HBV DNA の絶対量として 23~46 コピー相当を接種した肝細胞 Lot No BD 61 置換キメラマウス 3 匹中 3 匹では、接種後 4 週、5 週、および 6 週目の末梢血中に HBV DNA が検出され、HBV の感

染が確認された。

一方 1/10CID 相当を接種したキメラマウスでは、同様に 7 匹中 4 匹で HBV の感染が確認された。感染が成立した 4 匹中 1 匹、および 3 匹中 3 匹は、それぞれ 12~13 コピー/ml のサンプル 100ul : HBV DNA の絶対量として 1.2~1.3 コピー相当を接種したヒト肝細胞 Lot No BD 51 置換キメラマウス、および、23~46 コピー/ml のサンプル 100ul : HBV DNA の絶対量として 2.3~4.6 コピー相当を接種した Lot No BD 61 置換キメラマウスである。なお、感染が成立しなかった Lot No BD 51 置換キメラマウス 4 匹中 3 匹はその後 7 週、8 週目まで追跡しても、末梢血中に HBV DNA は検出されなかったことを確認した。

表-4. 接種材料 (I) の接種による感染成立に必要な最少 HBV 量の決定

— MID₅₀ : 50% Mouse Infectious Dose と
CID : Chimpanzee Infectious Dose との対比 —

置換した ヒト肝細胞 Lot No.	接種 HBV 量 (HBV DNA 量に換算)	接種 HBV 量 (CID との対比)	マウス 感染数/接種数
BD51	~10 ¹ (12~13) コピー ¹⁾	1 CID 相当	3/3
	~10 ⁰ (1.2~1.3) コピー ²⁾	1/10 CID 相当	1/4
BD61	~10 ¹ (23~46) コピー ³⁾	1 CID 相当	3/3
	~10 ⁰ (2.3~4.6) コピー ⁴⁾	1/10 CID 相当	3/3

1) 接種材料 (I) 10⁴倍希釈 ~10² (120~130) コピー/ml を、100ul 尾静脈より静注 : 1 CID 相当
2) 接種材料 (I) 10⁵倍希釈 ~10¹ (12~13) コピー/ml を、100ul 尾静脈より静注 : 1/10 CID 相当
3) 接種材料 (I) 10⁴倍希釈 ~10² (230~460) コピー/ml を、100ul 尾静脈より静注 : 1 CID 相当
4) 接種材料 (I) 10⁵倍希釈 ~10¹ (23~46) コピー/ml を、100ul 尾静脈より静注 : 1/10 CID 相当

2. 接種材料 (II) を接種したキメラマウス

接種材料 (II) から調製した 2000~3000 コピー/ml のサンプル 100ul : HBV DNA の絶対量として 200~350 コピーを接種したヒト肝細胞 Lot No BD 61 置換キメラマウス 3 匹のうちの 1 匹では接種後 4 週、5 週、および 6 週目の末梢血中に HBV DNA が検出され、HBV の感染が確認された。6 週目までの末梢血中に HBV DNA が

検出されなかった他の 2 匹、および 200~350 コピー/ml のサンプル 100ul : HBV DNA の絶対量として 20~35 コピーを接種した 3 匹のキメラマウスでは、接種後 8 週目まで毎週 1 回の頻度で追跡したものの、末梢血中の HBV DNA は検出されなかったことから HBV の感染は成立しなかったと判定した。

表-5. 接種材料(Ⅱ)の接種による感染成立に必要な最少HBV量の決定
—免疫複合体形成期のHBV陽性血清の感染価の低下度—

接種材料(Ⅱ) : Chimp246由来の血清、
HBV感染の中～後期 (HBc抗体 高力価陽性)

置換した ヒト肝細胞Lot No.	接種HBV量 (HBV DNA量に換算)	マウス 感染数/接種数
BD61	~10 ² (200~350) コピー ¹⁾	1/3
	~10 ¹ (20~35) コピー ²⁾	0/3

1) 接種材料(Ⅱ) 10³倍稀釈 ~10³ (2000~3500) コピー/mlを、100ul 尾静脈より静注 : 接種材料(Ⅰ)の100倍量
2) 接種材料(Ⅱ) 10⁴倍稀釈 ~10² (200~350) コピー/mlを、100ul 尾静脈より静注 : 接種材料(Ⅰ)の10倍量

D. 結論と考察

ヒト肝細胞高度(69%以上)置換キメラマウスは、置換に用いた肝細胞のLotの如何にかかわらずHBVの感染に対してチンパンジーと同等、もしくはそれ以上の感受性を有することが明らかとなった。

また、HBV感染早期及び感染の中～後期、すなわち免疫複合体形成期の血清を接種材料とした感染実験の結果から、この小動物は定量的感染実験系としても優れている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

G. 文献

1. 吉澤浩司他
感染成立に必要な最少HBV量(コピー/ml)の決定
「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」平成16年度報告書. PP93-96
2. 吉澤浩司他
チンパンジーを用いたHBV(ジェノタイプC)の感染実験—感染成立に必要な最少HBV量の決定—
「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」平成17年度報告書.