

- and Yoshiharu Matsuura: Biological significance of nuclear localization of Japanese encephalitis virus core protein. ditto.
- 54) Takayuki Abe, Shyu-hei Taguwa, Yuhki Kaname, Kohji Moriishi, Osamu Takeuchi, Kawai Taro, Tatsuya Kanto, Norio Hayashi, Shizuo Akira, and Yoshiharu Matsuura: Modulation of Toll-like receptor signaling in immune cells by expression of hepatitis C virus non-structural proteins. . ditto.
- 55) 岡本 徹、西村順裕、市村 徹、鈴木哲朗、宮村達男、森石恆司、松浦善治: C型肝炎ウイルスの複製における FKBP8 の役割、第 54 回日本ウイルス学会総会、名古屋、2006.
- 56) 阿部隆之、田鍬修平、要 祐喜、森石恆司、考藤達哉、林 紀夫、審良静男、松浦善治: C型肝炎ウイルス蛋白質による免疫細胞における自然免疫シグナルの阻害機構の解析、同上。
- 57) 田鍬修平、岡本 徹、阿部隆之、森 嘉生、森石恆司、松浦善治: C型肝炎ウイルスの複製に関与する新規宿主因子の解析、同上。
- 58) 森 嘉生、山下哲生、田中佳典、森石恆司、松浦善治: カテプシン L によってコア蛋白質がプロセスされない日本脳炎ウイルスの性状、同上。
- 59) 津田祥美、森 嘉生、阿部隆之、山下哲生、岡本 徹、市村 徹、森石恆司、松浦善治: 核小体蛋白質 B23 は日本脳炎ウイルスのコア蛋白質と結合しウイルス複製に関与する、同上。
- 60) 谷 英樹、菰田泰正、山下哲生、松尾栄子、岡本 徹、森石恆司、考藤達哉、林 紀夫、松浦善治: HCV エンベロープ遺伝子を組み込んだ組換え VSV、同上。
- 61) 山下哲生、海野英明、森 嘉生、森石恆司、月原富武、吾郷昌信、松浦善治: 日本脳炎ウイルスの RNA ヘリケースドメインの X 線結晶構造解析、同上。
- 62) 森石恆司、森屋恭爾、宮本大伸、鈴木哲朗、宮村達男、小池和彦、松浦善治: HCV コア蛋白質による脂肪酸合成促進と肝細胞癌発症における PA28 γ の役割、同上。
- 63) 松永朋子、谷 英樹、佐藤 薫、森石恆司、藤原晴彦、松浦善治: カイコ幼虫へ遺伝子導入可能な水疱性口内炎ウイルスベクターの開発、同上。
- 64) 松浦善治、森屋恭爾、田中啓二、宮村達男、鈴木哲朗、小池和彦、森石恆司: C型肝炎ウイルスによる脂肪肝および肝癌発症における PA28 γ の役割、第 65 回日本癌学会学術総会、横浜、2006.
- 65) 溝呂木ふみ、島田 貴、野里明代、他: C型肝炎ウイルス (HCV) 抗体陽性 B 細胞リンパ腫の臨床的検討。第 68 回日本血液学会、第 48 回日本臨床血液学会合同総会。2006 年 10 月 7 日。福岡。
- 66) Shoji I, Shirakura M, Murakami K, Ichimura T, Suzuki R, Suzuki T, Fukuda K, Shimoji T, Sato S, Fukasawa M, Yamakawa Y, Nishijima M, and Miyamura T. E6AP-mediated ubiquitylation and degradation of HCV core protein. 12th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Paris, July 1-5, 2006.
- 67) 2) Fukuda K, Shoji I, Shirakura M, Murakami K, Suzuki T, Wakita T, Mizumoto

- K, and Miyamura T. Molecular determinants of E6AP-dependent degradation of hepatitis C virus core protein. 13th International Meeting on Hepatitis C Virus & Related Viruses, Cairns, Australia, August 27 – 31, 2006
- 68) E6AP依存性HCV core蛋白分解の分子認識機構の解析. 福田浩一郎、勝二郁夫、白倉雅之、村上恭子、下地徹、阿部克俊、奈須純一、高橋由利絵、鈴木哲朗、脇田隆字、水本清久、宮村達男、第54回日本ウイルス学会、2006年11月19-21日、名古屋。
- 69) E6AP依存性HCV core蛋白分解によるウイルス産生調節機構. 勝二郁夫、村上恭子、白倉雅之、市村徹、鈴木亮介、鈴木哲朗、福田浩一郎、下地徹、佐藤慈子、深澤征義、
- 70) 西村知裕、笠間由里、小原道法、小原恭子 C型肝炎ウイルス全長遺伝子発現継代細胞におけるp53の翻訳後修飾 第43回日本ウイルス学会九州支部総会 久留米 2006.
- 71) 笠間由里、高野貴士、西村知裕、齋藤誠、小原道法、小原恭子 C型肝炎ウイルス複製抑制抗体の樹立 第43回日本ウイルス学会九州支部総会 久留米 2006
- 72) 齋藤誠、小原恭子 HCVによるDHCR24発現誘導機序の解明：DHCR24 遺伝子の転写制御機構の解析 第43回日本ウイルス学会九州支部総会 久留米 2006.
- 73) 高野貴士、小原恭子、関貴弘、黄瑛、甲斐知恵子 肝癌治療用麻疹ウイルスベクター特異性の検討 第43回日本ウイルス学会九州支部総会 久留米 2006.
- 74) 小原恭子、西村知裕、齋藤誠、甲斐知恵子、小原道法 C型肝炎ウイルスによる酸化ストレス応答因子の修飾 第65回日本癌学会学術総会 横浜 2006.
- 75) 小原道法、習田昌祐、塗谷秀子、小原恭子 C型肝炎ウイルスと肝臓がん シンポジウム 感染発がんの共通性と特異性 第65回日本癌学会学術総会 横浜 2006.
- 76) 高野貴士、齋藤誠、甲斐知恵子、小原恭子 C型肝炎ウイルス関連腫瘍抗原 p70 の解析 第65回日本癌学会学術総会 横浜 2006.
- 77) 西村知裕、笠間由里、小原道法、小原恭子 C型肝炎ウイルス全長遺伝子発現継代細胞におけるp53の翻訳後修飾 第54回日本ウイルス学会学術集会 名古屋 2006.
- 78) 齋藤 誠、小原恭子 C型肝炎ウイルスによる新規腫瘍関連分子DHCR24の発現誘導機序の解明 第54回日本ウイルス学会学術集会 名古屋 2006.
- 79) 高野貴士、甲斐知恵子、小原恭子 肝癌関連抗原P30の解析 第54回日本ウイルス学会学術集会 名古屋 2006.
- 80) 佐藤宏樹、本間玲子、関貴弘、米田美佐子、三浦竜一、池田房子、小原恭子、渡辺慎哉、甲斐知恵子 麻疹ウイルス感染後の宿主細胞遺伝子発現の包括的解析 第54回日本ウイルス学会学術集会 名古屋 2006.
- 81) 井上義久、佐藤宏樹、米田美佐子、小原恭子、甲斐知恵子 麻疹ウイルスN遺伝子mRNAの5'非翻訳領域を介した翻訳制御機構の解析 第54回日本ウイルス学会学術集会 名古屋 2006.
- 82) 齋藤誠、小原恭子 C型肝炎ウイルスによる新規腫瘍関連分子 DHCR24 の発現誘導機序の解明 日本分子生物学会2006フォーラム 名古屋 2006.
- 83) Tsukiyama-Kohara, K., Izumi, K., Huang, Y., Takano, T., Nishimura, T., Kohara, M., and Kai, C. HEPATITIS C VIRUS POSITIVE HEPATOCELLULAR CARCINOMA

ASSOCIATED ANTIGEN. "20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress" Kyoto, 2006.

84) Tsukiyama-Kohara, K., Nishimura, T., Kasama, Y., Shuda, M., and Kohara, M. 24-dehydrocholesterol reductase; a novel target of Hepatitis C virus and oxygen stress in hepatocytes. "13th International Meeting on Hepatitis C & Related viruses" Australia, 2006.

85) Tsukiyama-Kohara, K. Molecular Basis of Hepatocarcinogenesis aggravated by Hepatitis C virus "The 22nd International Kumamoto Medical Bioscience Symposium

86) The 3rd Japna-China Cooperative Life Science Symposium in Kumamoto, Asia-Africa International Network Symposium in Kumamoto of JSPS Asia and Africa Science Platform Program" Kumamoto, 2006.

9. 知的所有権の出願・取得状況

なし

肝炎ウイルス感染の肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究
分担研究報告書

扁平苔癬とC型肝炎ウイルス

分担研究者 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

研究協力者 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

研究： 扁平苔癬とC型肝炎ウイルス

研究要旨：C型肝炎ウイルス（HCV）は、肝疾患だけでなく肝外病変を引き起こす。本研究の目的は、扁平苔癬患者におけるHCV感染率ならびにHCV感染者における扁平苔癬の有病率を明らかにすることである。久留米大学病院を受診し病理組織学的に口腔扁平苔癬と診断された患者について肝疾患の精査を行なうと、HCV感染率は62%であった。対象者の肝疾患の有病率は78.2%であり正常者は22.2%に留まっていた。肝疾患の内訳ではC型慢性肝炎が50%と最も多かった。

一方、九州北部の住民検診によるHCV感染者における扁平苔癬の有病率は、16.1%～23.8%であった。扁平苔癬だけでなくその他の肝外病変である甲状腺機能異常症、関節リウマチ、糖尿病の有病率もHCV非感染者よりもHCV感染者で高率であった。同地区の住民検診において、HCV非感染者に比べHCV感染者では7年間の経過観察で新規に糖尿病を発症する率が3.62倍であった。さらに肝外病変を合併しているHCV感染者は、肝外病変もHCV感染もない者に比べて、7年前のインスリン抵抗性が有意に上昇していたことを証明した。

久留米大学病院に通院するHCV感染患者87名について検討すると、扁平苔癬の有病率は19.5%、糖尿病21.8%、高血圧28.8%、甲状腺機能異常症20.7%、肝外悪性腫瘍9.2%であった。最も多く認められた口腔扁平苔癬の部位は頬粘膜であり、皮膚では下肢であった。C型慢性肝疾患に高頻度に認められる扁平苔癬を早期発見し、早期治療を行うことは、患者や住民の生活のQOLを向上させることにも繋がることを予想され、今後の方策や啓発を探ることを実施したい。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス（HCV）は、肝細胞以外の細胞や臓器にも感染し増殖する。HCVは肝臓以外の疾患を引き起こし（肝外病変）、その代表的な疾患としてクリオグロブリン血症、膜性増殖性糸球体腎炎、シェーグレン症候群、悪性リンパ腫、晩発性皮膚ポルフィリン症、多発性筋炎、扁平苔癬、糖尿

病などがある。私どもでは『肝炎ウイルス感染の肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究』に関する研究において、扁平苔癬とHCVに関する基礎的並びに臨床的検討を課題とし今年度は扁平苔癬患者におけるHCV感染率およびHCV感染者における扁平苔癬の有病率を検討した。

まず扁平苔癬患者におけるHCV感染については、1993年11月～1994年4月までに

久留米大学病院を受診病理組織学的に口腔扁平苔癬と診断された 45 名の患者を対象に肝疾患の精査を実施した。

一方、HCV 感染者における扁平苔癬の有病率の検討は、九州北部で実施した住民検診と久留米大学病院を受診した HCV 感染者を対象に検討した。

B. 研究方法

久留米大学病院を受診病理組織学的に口腔扁平苔癬と診断された 45 名の患者について血液生化学検査、肝炎ウイルスマーカーの測定、腹部エコー検査を行い、一部の患者に肝生検と腹部 CT 検査を施行した。

また九州北部の某町における住民検診では、1999 年と 2002 年の肝外病変の比較を行うと共に、2002 年に検診を受けた住民について 7 年前のインスリン抵抗性を検討した。2002 年の住民検診では、住民 139 名を対象に（男性 51 名，女性 88 名，平均年齢 60.6 歳±13.1），インタビューを行うと共に身長と体重測定，BMI 値，血液生化学検査，肝炎ウイルスマーカー（HCV 抗体，HBs 抗原）並びに HCV RNA の検索，口腔粘膜疾患の検索を行い，異常が認められた住民には腹部超音波検査もしくは口腔粘膜の生検を施行した。インタビューの内容としては，健康状態・かかりつけ医・医療機関で受けている肝疾患の治療法・内服薬の種類・肝外病変の種類について聴取した。139 名のうち 80 名（HCV 抗体陽性者 35 名，HCV 抗体陰性者 45 名）については，耐糖能異常の有無（グルコース，HbA1c，インスリン値，HOMA 指数）を検索した。なお，対象住民へは，調査の目的と方法について説明し，同意と

承諾の下で調査を実施した。さらに 1999 年に同町で肝臓病・口腔粘膜検診を受けた 190 名の住民データと 2002 年に検診を受けた住民データについて，肝外病変の有病率を比較検討した。さらに 2002 年に肝臓病検診を受けた 139 名の住民のうちの 80 名について (i) HCV 感染者で肝外病変を合併している住民グループ（HCV 感染+肝外病変有り，20 名）(ii) HCV 感染者で肝外病変を合併していないグループ（HCV 感染+肝外病変なし，15 名）(iii) HCV 非感染者で肝外病変がある住民グループ（HCV 感染なし+肝外病変有り，16 名）(iv) HCV 非感染者で肝外病変がないグループ（HCV 感染なし+肝外病変なし，29 名）に分けた。これらの 4 つのグループの 7 年前つまり 1995 年時に得られた保存血清を使用し，インスリン抵抗性を測定した。

一方，久留米大学病院に通院する患者での検討では，次のような患者を対象にした。1988.4 月～2005.8 月までの間に，慢性肝疾患として久留米大学消化器病センターを初めて受診した 105,984 人のうち，特定の肝臓専門医一名が診察した 9,396 名の患者で，その後 2006.4 月までに定期的に通院を続けている HCV 抗体陽性患者は 522 名であった。522 名のうち肝外病変（扁平苔癬，糖尿病，甲状腺機能異常，肝外悪性腫瘍）が精査できた 87 名の患者を対象とした。ただし，HBs 抗原陽性者，IFN 治療歴のある者や治療中の患者，自己免疫肝炎患者を除いた患者を対象とした。対象患者に対し血液生化学検査，肝炎ウイルスマーカーの測定，腹部エコー，肝生検，腹部 CT 検査，上部消化管，下部消化管の検査，甲状腺精査，口

腔粘膜精査，皮膚の精査を行なった。

(倫理面への配慮)

対象住民へは，調査の目的と方法について説明し，同意と承諾の下で調査を実施した。対象患者においても同様に説明し，承諾の下で精査を行なった。

C. 研究結果

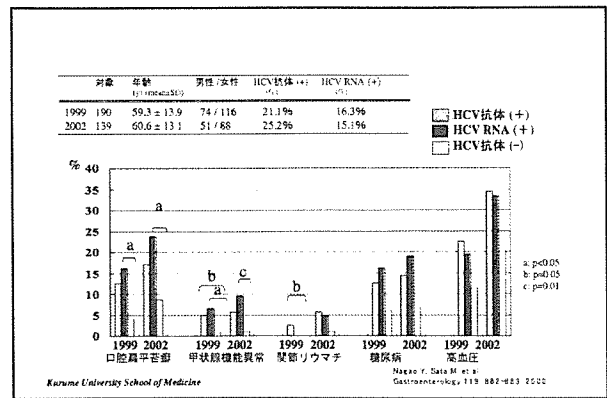
(1) 扁平苔癬患者における HCV 感染率

HCV 抗体陽性率は 62%，HCV RNA 陽性率は 60%であった。肝疾患は全体の 78%の患者に認められ，その内訳は C 型慢性肝炎 50%，B 型慢性肝炎 7%，C 型肝硬変 4%，C 型肝癌 4%，無症候性 HCV キャリア 2%，B 型並びに C 型慢性肝炎 2%であり，その他アルコール性肝障害 7%，体質性黄疸 2%であった。正常者 22%であった。

(2) HCV 感染者における扁平苔癬の有病率 (住民検診による検討)

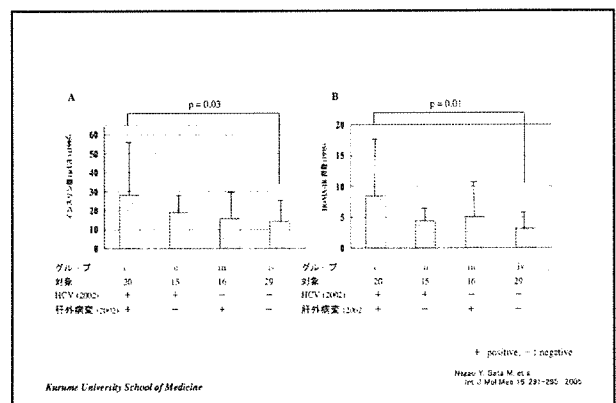
九州北部の某町の住民を経時的に検診した結果，1999年並びに2002年の対象者は，各々190名，139名であった。1999年並びに2002年の HCV 抗体陽性率は，各々21.1%と25.2%，HCV RNA 陽性率は16.3%と15.1%であった。HCV RNA 陽性者での扁平苔癬の有病率は，1999年では16.1%，2002年では23.8%であり，いずれも HCV RNA 陰性者における扁平苔癬の有病率よりも有意に高率であった。扁平苔癬以外の肝外病変 (甲状腺機能異常，関節リウマチ，糖尿病，高血圧症) においても，HCV キャリアでの肝外病変の発現率が，HCV ノンキャリアでの発現率よりも高率であった。(図1)。

図1 住民検診における肝外病変の発現率



さらに2002年に検診を受けた139名の住民のうちの80名についてHCV感染の有無と肝外病変の有無により4つのグループに分類し (i, ii, iii, iv, 4つのグループ間の年齢と性差に有意差なし)，各々のグループにおける7年前つまり1995年時に得られた保存血清を使用し，インスリン抵抗性を測定すると，HCV 感染のある肝外病変有病者グループ (i) は，HCV 感染も肝外病変もないグループ (iv) と比較し，有意にインスリン抵抗性が高かった。(i) (ii) (iii) (iv) のインスリン値は，各々28.3 ± 30.1, 19.2 ± 9.6, 15.8 ± 15.1, 14.5 ± 11.9であり，HOMA-IR 指数は，各々8.5 ± 10.1, 4.5 ± 2.3, 5.1 ± 6.7, 3.2 ± 2.9であった (図2)。

図2 肝外病変とインスリン抵抗性



(3) HCV 感染者における扁平苔癬の有病率 (久留米大学病院への通院患者による検討)

HCV 感染患者における精査では、肝外病変の有病率は各々下記の結果であった。扁平苔癬の有病率:19.5%, 糖尿病の有病率:21.8%, 高血圧症の有病率:28.8%, 甲状腺機能異常症の有病率:20.7%, 肝外悪性腫瘍の有病率:9.2%。対象患者 87 名のうち扁平苔癬を認めた 17 名における発現部位は表 1 に示す通り、口腔が 24 部位(頬粘膜 76.5%, 下唇 35.3%, 上唇 11.8%, 歯肉 5.9%, 舌 5.9%) に及び下肢皮膚 23.5%, 上腕皮膚 5.9%, 体幹皮膚 11.8%, 咽頭粘膜 5.9%, 膣粘膜 5.9%であった。口腔皮膚以外の生検については、咽頭は耳鼻咽喉科、膣粘膜は婦人科医によって施行した。

表 1 扁平苔癬を有する患者 17 名の発現部位

扁平苔癬を有する患者17名の発現部位						
No	性別	年齢	肝疾患	皮膚	口腔	その他
1	M	71	CH	上腕		
2	M	80	CH	体幹		
3	F	70	LC		歯肉	びらん
4	M	72	LC		下唇	線状
5	F	64	LC	下肢	頬粘膜 上唇, 下唇	びらん
6	M	66	CH		頬粘膜 上唇, 下唇	びらん
7	M	59	CH		頬粘膜	びらん+線状
8	M	66	CH	下肢	頬粘膜 下唇	線状
9	M	57	CH		頬粘膜	線状
10	M	50	CH		頬粘膜 下唇, 舌	びらん
11	F	77	CH		頬粘膜	萎縮
12	F	75	CH		頬粘膜	線状
13	M	92			頬粘膜 下唇	びらん
14	F	93		下肢	頬粘膜	萎縮+びらん
15	M	41	CH		頬粘膜	線状
16	M	58		体幹	頬粘膜 口腔	びらん
17	F	53	CH		頬粘膜	線状

口腔扁平苔癬:24部位(頬粘膜 76.5%, 下唇 35.3%, 上唇 11.8%, 歯肉 5.9%, 舌 5.9%)
 下肢皮膚 23.5%, 上腕皮膚 5.9%, 体幹皮膚 11.8%, 咽頭粘膜 5.9%, 膣粘膜 5.9%

Kumamoto University School of Medicine
Nagao Y, Sata M, et al.
J Gastroenterol Hepatol in press

D. 考察

HCV は、慢性肝疾患や肝癌に起因しているだけでなく、肝外病変を引き起こすことが知られている。これまでに、我々は HCV core 蛋白が suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3) を誘導し、肝癌の発生に直接関与していることを肝癌細胞株

および HCV core 蛋白トランスジェニックマウスを用い証明した。更に C 型慢性肝炎では、他の肝疾患患者に比べてインスリン抵抗性の病態が高頻度にみられることも証明した。本課題では、扁平苔癬患者には肝疾患の合併率が高く、とくに HCV 感染率が 62% と高率であること、HCV 感染者は、非感染者よりも肝外病変の合併率が高いこと、HCV 感染者における扁平苔癬の有病率は、住民検診では 16.1%~23.8%, 通院患者では 19.5% であること、肝外病変を合併している HCV 感染者は、肝外病変も HCV 感染もない者に比べて、インスリン抵抗性が上昇していることを証明した。

本課題は、C 型慢性肝疾患患者によく見られる前癌状態として認識されている扁平苔癬の発症機序をより明らかにするものである。慢性肝疾患や肝癌だけでなく種々の肝外病変を早期発見し、早期治療を行うことは、患者や住民の生活の質 (QOL) を向上させることにも繋がるのが予想される。

E. 結論

HCV は、肝疾患だけでなく肝外病変を引き起こす。慢性肝障害や肝癌の発生予防だけにとどまらず様々な肝外病変に関与する合併症の対策は、HCV キャリアである住民や患者にとって QOL の低下や医療費の負担軽減につながるものである。

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, Yakushiiji 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
来ます。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
たらよいのでしょうか?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. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 住江修治, 黒松亮子, 安東栄治,
高田晃男, 福嶋伸良, 鳥村拓司,
佐田通夫. C 型慢性肝炎に合併し
た肝悪性リンパ腫の一例. 第 42 回
日本肝癌研究会, 東京, 2006.

9. 池園 友, 火野坂淳, 安倍満彦, 春田 剛, 和田史孝, 安東栄治, 黒松亮子, 坂本雅晴, 鳥村拓司, 佐田通夫. 肝内に同時期に発生した肝細胞癌と悪性リンパ腫の1例. 第274回日本内科学会九州地方会, 鹿児島, 2006.
10. 倉岡 圭, 奥雄一朗, 宮原健輔, 澤田昌幸 酒見亮介, 是此田博子, 安東栄治, 黒松亮子, 坂本雅晴, 佐田通夫. 高度進行肝細胞癌と胃癌の同時重複癌の治療奏効例. 第274回日本内科学会九州地方会, 鹿児島, 2006.

G. 知的所得権の所得状況

なし

肝炎ウイルス感染の肝外病変の基礎的及び臨床的包括研究
分担研究報告書

C型肝炎におけるインスリン抵抗性成立機序に関する研究

分担研究者 岡上 武 京都府立医科大学大学医学研究科
消化器病態制御学 教授

研究要旨：C型肝炎（CHC）の肝外病変としてインスリン抵抗性（IR）や糖尿病が高頻度に合併し、肝脂肪化を介して肝病態進展や肝癌発症の危険因子となる可能性が指摘されている。現在のところ IR には HCV 側と宿主側の因子が関与すると考えられているが、CHC の肝病態促進因子である酸化ストレスも分子レベルでインスリンシグナルを阻害することが報告されている。197名の非肥満 CHC 症例（BMI < 25kg/m²）で IR 指数（HOMA-IR）と酸化ストレスマーカー（血清チオレドキシニン：Trx）を検討したが、いずれも stage、grade、steatosis(%)と正に相関し、HOMA-IR と Trx は線維化進展の独立した促進因子であった。一方、単変量解析で HOMA-IR は stage、grade、steatosis(%)、Trx、BMI、ALT 値、中性脂肪と正に相関したが、多変量解析では Trx、grade、ALT 値が HOMA-IR の独立した説明変数であった。さらに、101名の肝生検組織から mRNA を抽出して Trx の発現を定量（RT-PCR 法）した結果、発現レベルは HOMA-IR と正に相関した。この集団で BMI は HOMA-IR と有意に相関しなかった。全ての症例について糖・脂質代謝異常や高血圧の合併について調べた結果、これらの生活習慣病関連因子の合併数は HOMA-IR や線維化進展度と正に相関していた。19名の症例に瀉血を実施して HOMA-IR と Trx の変化を調べると、いずれも瀉血後は有意に改善した。以上の成績から、IR の進展にはウイルスや宿主以外に酸化ストレスが重要な役割を果たしている可能性が考えられる。さらに、肝酸化ストレス制御は CHC の肝病態のみならず、IR を基盤とする生活習慣病の進展を阻止する上で合理的な治療戦略となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

C型肝炎（CHC）では糖尿病や肝脂肪変性が高率に合併し、肝病態進展や肝発症の促進因子となる可能性が指摘されている。HCV 遺伝子 3a 型は肝脂肪化を直接誘導すると考えられるが、これ以外の遺伝子型ではウイルスタンパクや宿主側の因子（肥満や遺伝的素因）がインスリン抵抗性（IR）を惹起して肝脂肪化を促進すると考えられている。一方、CHC では酸化ストレスが肝病態促進因子として関与しているが、酸化ストレスも IR の原因として重要なことが近年明らかにされ

つつある。本研究では HCV3a 型以外で肥満のない症例を対象に、IR 成立に寄与する因子と生活習慣病の進展との関連性を解析した。

B. 研究方法

1) 肥満（BMI < 25kg/m²）や糖尿病を合併していない 197名の CHC 症例で HOMA-IR（空腹時血糖値 mg/dl × 血中インスリン濃度 μU/ml ÷ 405）と血清チオレドキシニン値（Trx）を測定し、BMI、肝機能検査、肝生検組織（stage、grade、steatosis、鉄蓄積スコア）と

型 3a の症例は除外した。

2) 101 名の肝生検組織から mRNA を抽出し、RT-PCR 法を用いて Trx の発現レベルを定量した。

3) 19 名の CHC 症例で瀉血を実施し、治療前後で HOMA-IR と Trx の変化を比較した。

(倫理面への配慮)

対象者には研究参加についての利益と危険性を十分に説明し、文書による同意を得た。被験者のデータは個人情報保護の観点から連結可能無作為化により保管し、ネットワークから隔絶した状態で管理した。

C. 研究結果

197 名 (男女比=66 : 131) の血液生化学検査結果を表 1 に示す。53 名に IFN 治療歴があり、高ウイルス量の症例が多く、セロタイプは I 型が 150 名で II 型が 47 名であった。肝生検組織は表 2 に示すように 96 名 (48.7%) に肝脂肪化を認めたが、軽度 (脂肪沈着 10% 未満) の症例が多かった。65 名の肝組織中には鉄の過剰蓄積が認められた。

HOMA-IR の分布を stage と grade 別に調べると (図 1)、F score ($r = 0.394$, $p < 0.001$) や A score ($r = 0.395$, $p < 0.001$) と正の相関関係を認めた。Trx の分布も同様に F score ($r = 0.392$, $p < 0.001$) や A score ($r = 0.327$, $p < 0.005$) と正に相関していた (図 1)。肝脂肪化面積 (%) は HOMA-IR ($r = 0.346$, $p < 0.001$) や Trx ($r = 0.349$, $p < 0.005$) と正に相関し、F score ($r = 0.409$, $p < 0.001$) や A score ($r = 0.380$, $p < 0.001$) とともに正に相関していた (図 2)。対象を F2 以下の軽度線維化群と F3 以上の高度線維化群に分けて血液検査所見を比較すると (表 3)、ALT 値、血小板数、4 型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸、血清フェリチン値、HOMA-IR、Trx で有意差が認められた。これらの変数で多変量解析を行った結果、HOMA-IR と Trx が線維化進展の独立した

説明変数であった (表 3)。

次に、HOMA-IR と相関する因子を単変量で解析した結果、Trx、F score、A score、肝脂肪化面積、BMI、ALT 値、中性脂肪が有意であった (表 4)。これらの変数で重回帰分析を行った結果、Trx、A score、ALT 値が HOMA-IR の独立した説明変数であった。さらに、101 名の肝組織中の Trx 発現レベルは HOMA-IR と正に相関していた (図 3) ($r = 0.273$, $p = 0.014$)。この集団で BMI は HOMA-IR と相関する傾向を認めたが、有意ではなかった (図 3) ($r = 0.199$, $p = 0.077$)。

全ての症例で生活習慣病関連因子について糖代謝異常 (空腹時血糖値 ≥ 110 mg/dl)、脂質代謝異常 (中性脂肪 ≥ 150 mg/dl または HDL コレステロール < 40 mg/dl または薬物療法中)、高血圧 (薬物療法中) の有無を検索した。その結果、これらの因子の合併数は HOMA-IR と正に相関し (図 4) ($r = 0.286$, $p < 0.001$)、因子の合併数は F score と正に相関した (図 4) ($r = 0.227$, $p < 0.001$)。

最後に、19 名の症例で瀉血による抗酸化ストレス療法を実施し、血清フェリチン値、ALT 値、HOMA-IR、Trx の変化を調べた (図 5)。その結果、血清フェリチン値の改善と同時に (409.5 [125 - 1028] vs 20 [20 - 53], $p < 0.001$)、ALT 値 (42.5 [27 - 121] vs 29.5 [24 - 53], $p < 0.001$)、HOMA-IR (3.5 [0.9 - 4.6] vs 2.4 [0.8 - 3.7], $p = 0.022$)、Trx (36.1 [20.2 - 79.4] vs 26.7 [18.1 - 32.7], $p = 0.023$) はいずれも有意に改善した。

D. 考察

CHC では高率に肝脂肪変性が合併し、肝病態進展に重要な役割を果たすと考えられている。肝脂肪化には HCV (3a 型) の直接作用や、TNF α や宿主側因子による IR が原因とされている (Charlton et al. Hepatology 43; 1177-1186, 2006)。本研究では遺伝子型を

I または II 型に限定し、インスリン感受性に与える宿主側の因子（肥満や糖尿病）は除外した。それにもかかわらず線維化や炎症の進展と共に HOMA-IR は有意に増悪し、脂肪蓄積が肝細胞の 10% 未満の症例も含めて約 50% の症例に肝脂肪変性を伴っていた。一方、血中の HCV-RNA レベルは HOMA-IR と相関しなかったため、IR にはウイルスや宿主以外の要因が関与する可能性が強く示唆された。

本研究分担者らは CHC に IR や肝外病変が合併する原因の一つとして酸化ストレスに着目した。近年、酸化ストレスは糖尿病の促進因子となることが注目されている。酸化ストレスは JNK を活性化させ、インスリン受容体基質（IRS-1、2）のセリンリン酸化を促進してシグナルを阻害することが報告されている（Houstis et al. *Nature* 440; 944-948, 2006）。実際、HOMA-IR と Trx の分布を stage や grade 別に比較すると、いずれも病態進展に伴って増悪しており、単変量解析で HOMA-IR と Trx は有意に相関した。さらに、HOMA-IR と相関する全ての因子で多変量解析を行った結果、Trx は HOMA-IR と相関する独立した因子であった。一方、Trx は体内に広く発現し、酸化ストレスで誘導されるストレス応答タンパクであるため、血中レベルの値が肝酸化ストレス応答を反映しているかは不明である。これを明らかにする目的で 101 名の肝生検組織で Trx の発現量を調べた。その結果、発現レベルは HOMA-IR と有意に相関し、BMI と HOMA-IR には有意な相関関係が認められなかった。これらの結果は肝酸化ストレス障害が IR の増悪因子であることを裏付ける成績と考えられる。

対象を軽度ならびに高度線維化群に分けて解析すると、酸化ストレスと IR はそれぞれ高度線維化の独立した説明変数であった。酸化ストレスはそれ自身が肝細胞死や線維

化の促進因子である。しかし、HOMA-IR、Trx、肝脂肪化面積が相互に相関したことから、IR と酸化ストレスは互いに影響を受けながら肝病態を進展させる可能性が示唆された。すなわち、肝細胞の脂肪変性が酸化ストレスを誘導し、逆に酸化ストレスが IR と肝脂肪化の原因となる悪循環を形成し、その結果で肝病態が促進される可能性が考えられる。この病態モデルは非アルコール性脂肪肝炎（NASH）にも類似する。実際、CHC は NASH と組織学的に類似しており、NASH の発症モデルである「two hit theory」は CHC の病態にも共通する可能性がある。逆に言えば、CHC の IR 進展メカニズムは NASH の発症基盤である生活習慣病の進展にも共通する可能性が考えられる。本研究の成績では CHC の生活習慣病関連因子の合併数は HOMA-IR や F score と密接に関連していた。

肝組織中の鉄過剰蓄積は活性酸素の発生源となることから、除鉄は酸化ストレスの改善に有効な治療法である。瀉血は CHC の病態改善に有効であるが、インスリン感受性についての効果は十分に解明されていない。本研究では瀉血による Trx と HOMA-IR の変化を比較し、いずれも有意に改善することが確認された。しかし、これらの成績は短期的な成績であるため、実際に抗酸化ストレス療法が CHC の肝外病変を改善させるか否かは不明である。これを明らかにするためにはより長期的な追跡調査が必要である。

E. 結論

1. C 型肝炎のインスリン抵抗性や生活習慣病の合併には酸化ストレスが密接に関与している。
2. 瀉血などの抗酸化ストレス療法は C 型肝炎の肝外病変の進展を抑制する有効な治療法になる可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okanoue T, Makiyama A, Nakayama M, Sumida Y, Mitsuyoshi H, Nakajima T, Yasui K, Minami M, Itoh Y. A follow-up study to determine the value of liver biopsy and need for antiviral therapy for HCV carriers with persistently normal serum aminotransferase. *J Hepatol* 43: 599-605, 2005
- 2) Okanoue T, Minami M, Makiyama A, Sumida Y, Yasui K, Itoh Y. Natural course of symptomatic hepatitis C virus-infected patients and hepatocellular carcinoma after interferon therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 3: S89-S91, 2005
- 3) Nakajima T, Moriguchi M, Katagishi T, Sekoguchi S, Nishikawa T, Takashima H, Kimura H, Minami M, Itoh Y, Kagawa K, Tani Y, Okanoue T. Premature telomere shortening and impaired regenerative response in hepatocytes of individuals with NAFLD. *Liver Int* 26: 23-31, 2006
- 4) Harano Y, Yasui K, Toyama T, Nakajima T, Mitsuyoshi H, Minami M, Hirasawa T, Itoh Y, Okanoue T. Fenofibrate, a peroxisome proliferators-activated receptor alpha agonist, reduces hepatic steatosis and lipid peroxidation in fatty liver Shionogi mice with hereditary fatty liver. *Liver Int* 26: 613-620, 2006
- 5) Makiyama A, Itoh Y, Yasui K, Mori K, Okita M, Nakayama M, Yamaoka J, Minami M, Nakajima T, Okanoue T. First phase viral kinetic parameters and prediction of response to interferon alpha-2b/ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 36: 94-99, 2006

2. 学会発表

- 1) 光吉博則, 伊藤義人, 中島智樹, 安居幸一郎, 南祐人, 光藤章二, 岩井眞樹, 吉田憲正, 片岡慶正, 岡上 武. C型肝炎における酸化ストレスとインスリン抵抗性の解析. 第103回に本内科学会総会, 横浜, 2006.
- 2) 光吉博則, 伊藤義人, 岡上 武. ウルソデオキシコール酸はミトコンドリア起因性酸化ストレスを制御して肝細胞アポトーシスを抑制する. 第42回日本肝臓学会総会, 京都, 2006.
- 3) 光吉博則, 伊藤義人, 岡上 武. ウルソデオキシコール酸による酸化ストレスシグナル制御の検討. DDW-Japan 2006, 札幌, 2006.
- 4) H. Mitsuyoshi, Y. Itoh, T. Okanoue. Ursodeoxycholic acid protects liver mitochondria against oxidative stress and inhibits hepatocyte apoptosis via suppression of the JNK pathway. 57th Annual Meeting of the American Association for the study of Liver Diseases, Boston, 2006.

G. 知的所有権の取得状況

なし

表 1 BMI<25kg/m² の C 型肝炎患者 197 名

年齢	55.5	±	11.8
性別：男/女	66	/	131
BMI (kg/m ²)	21.6	±	2.1
IFN 歴：有/無	53	/	144
HCV-RNA (KIU/ml)	1300		(5-7030)
プロタイプ：I/II	150	/	47
AST (IU/L)	21.6	±	2.1
ALT (IU/L)	71.7	±	56.1
γ-GTP (IU/L)	49.1	±	46.6
中性脂肪 (mg/dl)	97.4	±	54.1
血小板数 (万)	17.8	±	5.5
血清フェリチン (ng/ml)	115		(20-1098)
HOMA-IR	2.0	±	1.3
血清 Trx (ng/ml)	29.2	±	14.5

mean ± S.D., median (range)

表 2 肝生檢組織像

F score : 0 / 1 / 2 / 3 / 4	3 / 76 / 74 / 41 / 3
A score : 0 / 1 / 2 / 3	3 / 87 / 81 / 26
Steatosis(%) :	
none	99
10%未滿	47
30%未滿	40
30%以上	9
Iron score : 0 / 1 / 2 / 3	125 / 35 / 19 / 11

表 3 非肥満者における高度線維化予測因子の解析

	軽度線維化群	高度線維化群	univariate	multivariate	Odds ratio
年齢	57.0 (27 - 70)	57.5 (36 - 66)	0.113	-	-
性別：男/女*	50 / 103	16 / 28	0.718	-	-
BMI (kg/m ²)	21.3 (16.5 - 24.7)	22.3 (19.3 - 24.8)	0.302	-	-
IFN 歴：有/無*	40 / 113	13 / 31	0.701	-	-
血清 ALT (IU/L)	52 (17 - 194)	88 (33 - 298)	< 0.001	0.957	-
血清中性脂肪 (mg/dl)	70 (32 - 209)	85 (44 - 131)	0.321	-	-
血小板数 (万/ μ l)	17.2 (5.3 - 29.8)	12.7 (5.9 - 22.5)	< 0.001	0.185	-
4型コラーゲン7S(ng/ml)	4.1 (2.4 - 7.6)	5.4 (3.4 - 6.8)	< 0.001	0.102	-
ヒアルロン酸(ng/ml)	26 (9 - 556)	105 (28 - 480)	< 0.001	0.263	-
血清フェリチン (ng/ml)	112 (20 - 318)	132 (20 - 410)	0.008	0.554	-
HOMA-IR	1.4 (0.2 - 4.8)	3.5 (0.7 - 6.6)	< 0.001	0.025	1.1
Trx (ng/ml)	25.6 (10.0 - 43.7)	35 (18.2 - 83.4)	0.001	0.029	2.439

univariate: Mann-Whitney's U test (*Fisher's exact probability test), multivariate: logistic regression

analysis

表 4 インスリン抵抗性予測因子の解析

	相関係数	univariate	multivariate
血清 Trx	0.266	0.034	0.004
F score	0.394	<0.001	0.159
A score	0.395	<0.001	0.024
steatosis	0.346	<0.001	0.053
BMI	0.222	0.008	0.659
血清 ALT	0.326	<0.001	0.012
血清中性脂肪 (mg/dl)	0.299	0.02	0.085

univariate: Spearman's test, multivariate: multiple regression analysis

図1 HOMA-IRとTrxの分布

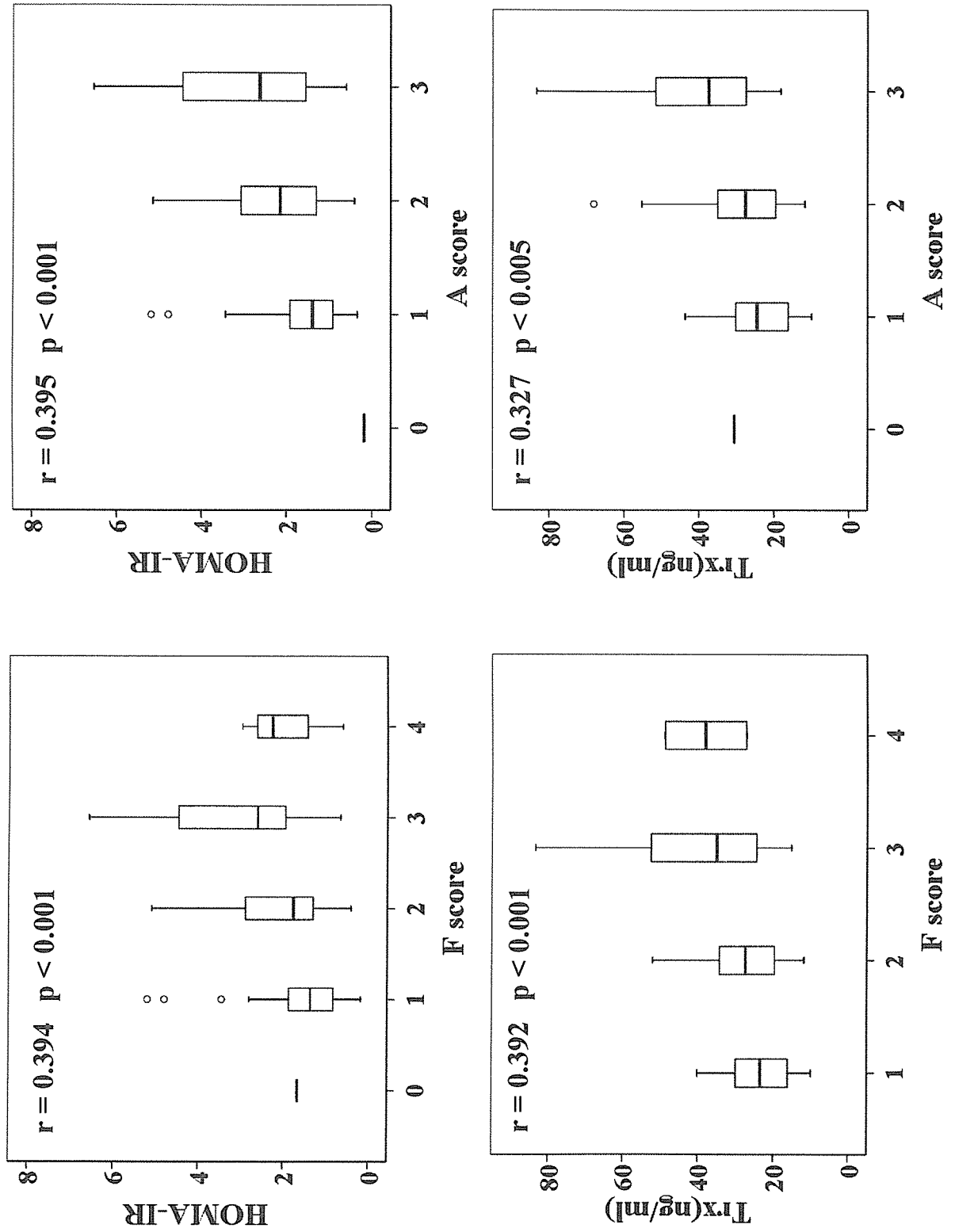


図2 インスリン抵抗性と酸化ストレスによる肝脂肪変性促進と肝病態進展

