

ウイルス肝炎の臨床へのアプローチ

その2

肝癌撲滅をめざしたウイルス肝炎の 治療戦略

八橋 弘

国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター治療研究部/やつはし・ひろし

はじめに

わが国には、約150万人から200万人のHCV(C型肝炎ウイルス)キャリア、約100万人のHBV(B型肝炎ウイルス)キャリアが存在すると推定されている。一方わが国の年間肝癌死亡者数は3万4千人を超し、主要悪性新生物死亡順位で、男性では第3位、女性では第4位に位置している。その肝癌死亡者の約80%がHCV感染、約10%がHBV感染に由来する。わが国ではHCV感染者は非感染者に比較して千倍以上、HBV感染者は百倍以上の肝癌リスクを有する。わが国のウイルス感染対策は肝癌対策であるといい換えても過言ではなく、ウイルス肝炎治療の目標、治療介入目的は、これらの肝炎ウイルス感染者の肝癌抑止、肝癌撲滅にある。しかしながら、これらの肝炎ウイルスキャリアが一様に発癌するのではなく、個々の患者により発癌リスクは大きく異なる。

本稿では、HCV感染、HBV感染の自然経過を振り返りながら、個々の患者の発癌リスクを正確に理解したうえで、ウイルス排除と発癌抑止の観点から、治療介入の意義を考察する。

C型肝炎の自然経過

図1に約20年の経過でC型慢性肝炎から肝硬変へ進展し発癌した症例を示す。この症例では観察期間の20年間に10回肝生検を施行したが、その所見の推移をstage(肝線維化stage)とactivity

(炎症の程度)に分けて示している。まずstageの推移は初回肝生検時F1、以後9年間はF1のまままで推移するも1985年から1988年にかけてF1からF2、F4(肝硬変)に急速に進行し、肝硬変進展5年目に発癌した。一方、activityの推移は、ALTの推移と連動しながらstageの変化に先行する形で持続的に上昇し肝硬変進展後は逆に低下した。C型慢性肝炎進展例の典型的経過とは、図1の症例のように30歳代、40歳代の慢性肝炎の初期の時期にはALT値の変動にもかかわらず肝線維化stageの進行はみられないが、50歳を超えた時期から急速に肝線維化stageが進行して肝硬変へ移行し、60歳前後で発癌する。

C型慢性肝炎の自然経過、発癌リスクを、肝線維化stageを指標に表現したものが図2である。すなわち、HCV持続感染者は、肝機能障害すなわち肝細胞の破壊と再生を繰り返しながら、F0からF1、F2、F3、F4(肝硬変)へと20年から30年以上かけてゆっくり階段を昇るように進展し、最終的には肝硬変を経由して肝癌が発生する。自験例での肝線維化stage別年間発癌率の成績は、F0:1.2%、F1:1.3%、F2:3.4%、F3:5.7%、F4:7.8%であり、stageの進展とともに肝発癌のリスクも上昇する。肝線維化stageは、発癌の確率、発癌までの時間を推定する上で有用な指標であり、HCV持続感染者は可能な限り肝生検を行って発癌のリスクを把握することが望ましい。肝生検が困難な場合は、血小板数、肝線維化マ-

- わが国には、約 150 万人から 200 万人の HCV キャリア、約 100 万人の HBV キャリアが存在する
- 肝癌死亡者の約 80% が HCV 感染、約 10% が HBV 感染に由来する。
- 非感染者に比較して HCV 感染者は千倍以上、HBV 感染者は百倍以上の肝癌リスクを有する。

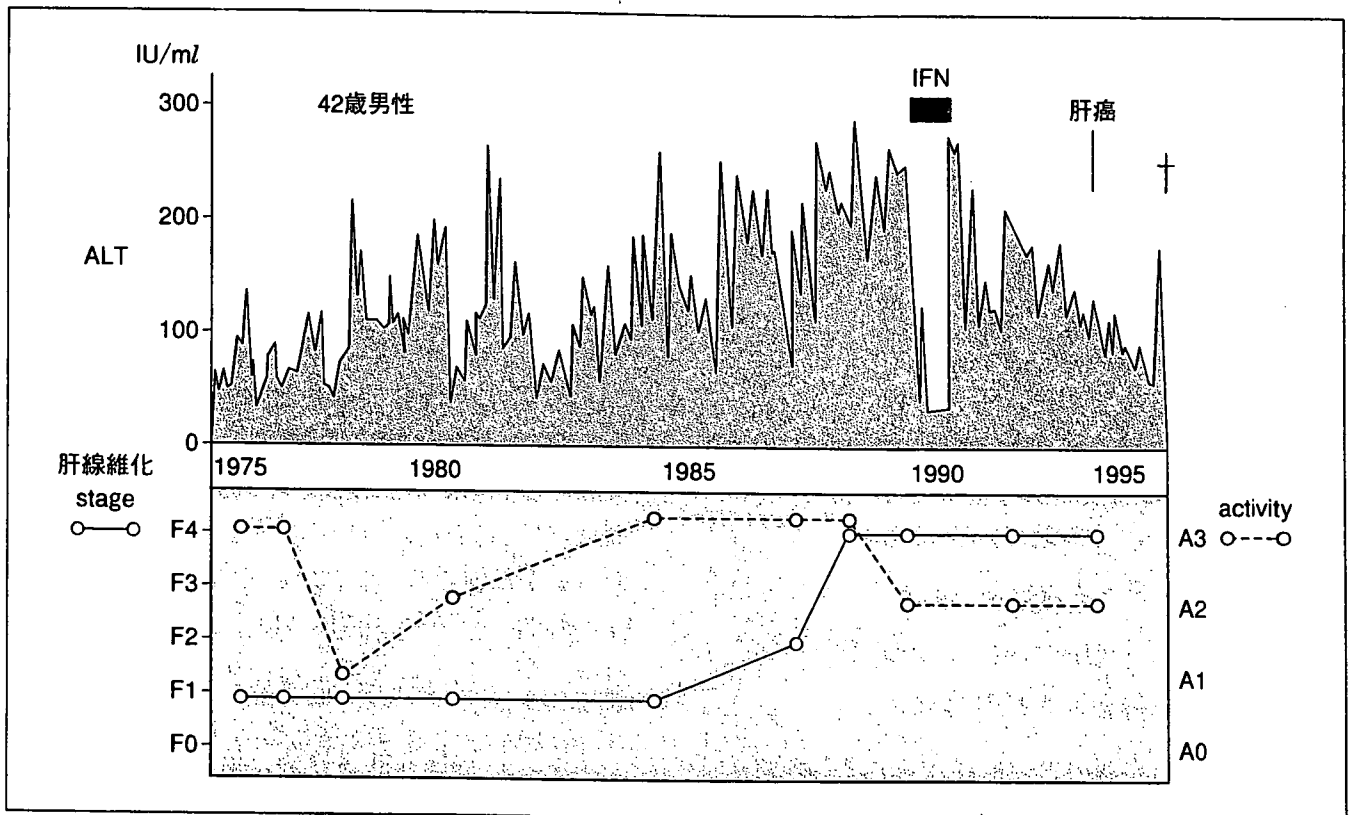


図1 C型慢性肝炎から肝硬変、肝癌へと進展した1例

カーを測定することで、肝線維化 stage の推定はある程度は可能である。

一方、C型慢性肝炎から肝硬変進展に寄与する因子として以下の項目が報告されている¹⁾。① 感染時年齢が40歳以上、② 男性、③ 過剰なアルコール飲酒(エタノール換算で1日50g以上)、④ 輸血による感染(薬物常用者と比較して)、

⑤ HBV、HIV との重複感染などである。C型慢性肝炎患者が自然治癒することはきわめてまれではあるが、C型慢性肝炎患者が全員、肝硬変、肝癌に進展するのではないことも明らかとなっている。Poynardら¹⁾によると、C型慢性肝炎患者の33%は20年以内に肝硬変に進展するも、31%は肝硬変に進展しないか進展するとしても50年

- 肝線維化 stage は、発癌の確率、発癌までの時間を推定する上で有用な指標となる。
- C型慢性肝炎が自然治癒することはきわめてまれである。
- C型慢性肝炎患者の約30%は肝硬変に進展し、一度肝硬変に進展した場合は年率7~8%の確率で肝癌が発生する。

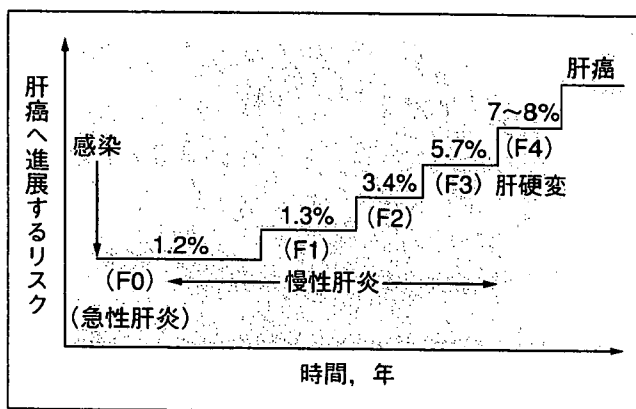


図2 C型慢性肝炎の自然経過，線維化stageと年間発癌率

以上の時間を要すると推定している。

C型肝炎の治療目標，治療戦略と インフォームドコンセント

C型慢性肝炎患者の自覚症状は乏しく慢性肝炎のまま進展しないことが約束されるならば，C型慢性肝炎患者の生命予後，QOLは健常者と同等と考えられる。しかし，C型慢性肝炎が自然治癒することはきわめてまれで，慢性肝炎患者の約30%は20年から30年の経過のうちに肝硬変に進展し，一度肝硬変に進展した場合は年率7~8%の確率で肝癌が発生する。その進展の仕方は様でなく，特に年齢の因子によって進展速度が異なる。一般にC型慢性肝炎の進展速度は，50歳まではほとんど進展がみられないかきわめて緩徐だが，50歳前後ごろから急速に肝線維化が進展，

肝硬変へと移行する。肝癌発生の平均年齢は60~65歳である。また，多量飲酒により肝線維化の進展速度は早まり肝硬変へ移行する確率が高まるとともに肝癌発生までの期間が短縮することも指摘されている。

C型慢性肝炎という病気を患者に理解させ説明するポイントとして，①慢性肝炎のまま進展せず発癌しなければ生命予後は健常者と同じである，②C型慢性肝炎が自然治癒することはきわめてまれである，③C型慢性肝炎患者の約30%は20~30年の経過で肝硬変に進展する，④肝硬変進展後は高率に癌化する，⑤多量飲酒は病気の進展を加速する，などがあげられる。上記の内容を説明した上で，通院，検査の必要性を説き，禁酒，節酒および規則正しい生活など指導を行う。

さらにC型慢性肝炎患者に対しては可能な限り肝生検を施行して肝線維化stageを明らかにする。肝線維化stageを把握することで，慢性肝炎の進展度，発癌のリスクが明確となり，個々の患者に対して細やかな治療方針を決定することがはじめて可能となる。

インターフェロン(IFN)療法を行う場合には，その治療目的を明確に患者に説明しなければならない。すなわち①ウイルス駆除を目的とする，②発癌抑止を目的とする，といった説明である。IFNは高価な薬剤で副作用の出現率が高いなどのデメリットを有する一方で，C型慢性肝炎の治

- C型肝炎に対するIFN治療目標は、ウイルス駆除、発癌抑止の二つに大別される。
- IFN少量長期投与法は、ウイルスの排除を目的とせず、肝線維化進展抑止、発癌抑止を目的とした治療である。ALT値、AFP値を治療効果指標とする。

癒、進展阻止を可能にするというメリットも有している。IFN療法に関する患者への説明としては、IFN療法をすることのメリット、デメリット、IFN療法をしないことのメリット、デメリットを患者に説明した上で、IFN療法に関して患者からインフォームドコンセントを得なければならない。そのためには、個々の患者の肝線維化stageから現在の慢性肝炎の進展度、発癌のリスクを明確にし、またウイルス量、HCV遺伝子型やHCVサブグループからIFN治療効果を予測する。また各IFN治療法の特徴を十分に理解することが必要である。さらに個々の患者ごとに予期される副作用も十分考慮した上で、これらの因子を総合的に評価し、最終的にIFN療法の是非と具体的な治療法を選択、決定する。

進展抑止、発癌抑止をめざしたC型肝炎に対するIFN治療(IFN少量長期療法と肝硬変に対するIFN治療)

ペグIFN/Rib併用療法無効例、副作用の観点からペグIFN/Rib併用療法の導入が困難な高齢者、発癌リスクの高い肝線維化高度進展例に対する新たな治療法としてIFN少量長期投与法が試みられている。ウイルスの排除を目的とせず、肝線維化進展抑止、発癌抑止を目的とした治療である。その治療の理論背景は以下の二つに大別される。①IFNを抗炎症剤として用いて、ALT値の持続正常化、肝線維化進展抑止を目指す。②IFN

には、細胞増殖抑制効果があり、肝癌細胞にも作用してその増殖を抑制する、アポトーシスを誘導する、新生血管発育を抑制する、といった作用がある。①を治療目標とする場合にはALT値を指標とし、②の場合にはAFPなどの腫瘍マーカーを指標として、それぞれの治療法の効果を評価する。

また、2004年4月からC型肝炎硬変患者に対するIFNβの投与が、一部の患者において保険診療上可能となった。C型肝炎硬変患者のウイルス駆除を目的とするも開発試験の成績では、仮にIFNβ投与でウイルスが排除されなくとも持続的にALT値が低いbiochemical responder例では肝癌発生が長期に抑止されたことが示されている。

B型肝炎の自然経過

HBVそのもの自体は細胞障害性を有していない。HBV持続感染は、ウイルス、肝細胞、宿主免疫機構の三つの因子のバランスの中で成立する。HBV持続感染者の自然経過は、ウイルスの量、炎症所見、年齢などを考慮した上で、1) immune tolerance 期、2) immune clearance 期、3) low replicative 期 または integrated 期 という三つの時相に分類される(図3)²⁾。

1. immune tolerance 期

この時期は、いわゆる肝機能正常のHBe抗原陽性無症候性キャリアとしてとらえられている。HBV増殖は活発でHBV-DNA量も最も高い時期

- B型肝炎の自然経過は、1) immune tolerance 期, 2) immune clearance 期, 3) low replicative 期の三つの時相に分類される。

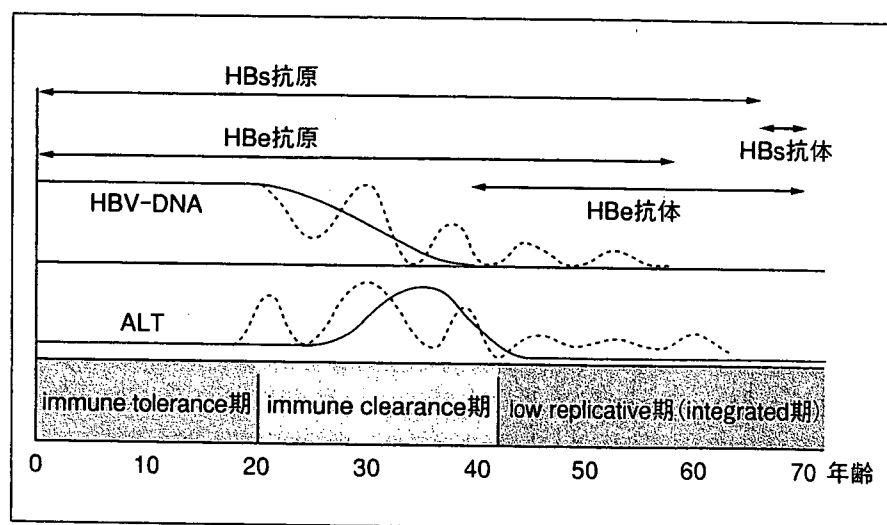


図3 HBV持続感染者の自然経過
(文献2)より)

だが、ウイルス抗原に対する宿主サイドの認識が成立していない免疫寛容の状態であることから、肝組織所見は正常か、炎症所見はあってもきわめて軽微である。垂直感染でHBV持続感染が成立した場合、15歳前後までこのような時期が持続する。

2. immune clearance 期

HBVに対する感染個体の免疫応答、細胞性免疫が活性化しサイトカインなどの誘導により肝炎が発症する時期である。著しい肝機能障害を呈しながらHBV感染肝細胞が徐々に排除され、HBV増殖が低下しHBV-DNA量が減少する時期である。いわゆる慢性肝炎の時期であり、年齢としては15歳から35歳の時期に相当する。この免疫排除の時期に、激しい肝炎が生じた場合には患者の

中には肝不全症状を呈することがある。激しい肝炎の後には、しばしばHBe抗原-HBe抗体のセロコンバージョンが認められる。

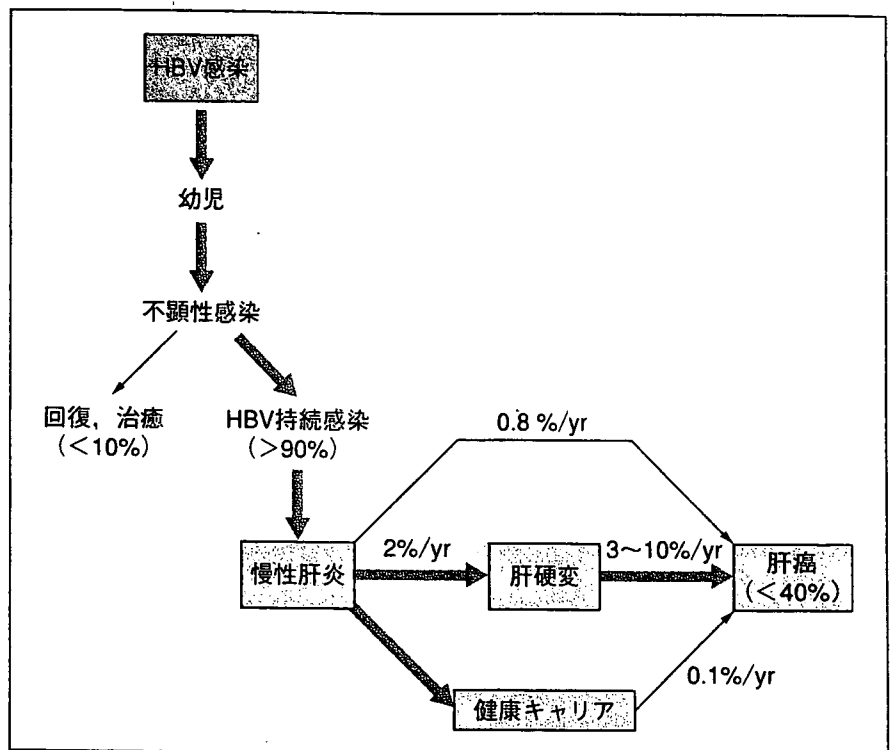
肝組織所見では慢性肝炎時期の炎症が軽い場合は軽度の線維化を残すのみで治癒するが、激しい炎症が10年前後ほど長期間持続した場合、肝線維化は高度となり肝硬変に進展する。肝炎の急性増悪に伴う肝小葉改築の程度と広がりとその持続期間が、肝疾患の予後を決定すると考えられる。

3. low replicative 期(integrated 期)

HBVに対する宿主免疫が優位になり、肝臓のほとんどのウイルス感染細胞が排除され、HBe抗原陰性、HBe抗体陽性のセロコンバージョンが持続しALT値も持続正常を示す時期である。この時期ではHBV増殖は停止もしくは著しく低

- 無症候性キャリアからの年間の肝硬変進展率は約1%、B型慢性肝炎からの年間の肝硬変進展率は約2%で累積肝硬変進展率は5.5年で15%と報告されている。
- 年間肝癌進展率はHBV無症候性キャリアでは0.1~0.4%、B型慢性肝炎では0.5~0.8%、肝硬変では3~10%と報告されている。

図4 幼少期にHBV持続感染が成立した者の長期自然経過
(文献4)より)



下しHBV-DNAはPCR法によってのみ検出される程度である。肝細胞のゲノム内のHBs遺伝子が組み込み、もしくは微量のウイルスの存在によりHBs抗原は陽性となる。肝組織所見では炎症所見は鎮静化しており、HBe抗原の再出現や、HBe抗原陰性HBV-DNA陽性のHBV変異ウイルスによる活動性肝炎の場合などの例外を除くと、一般的にはB型肝炎の臨床的寛解とみなされる。

この時期を経過した後、一部の患者では、HBs

抗原が消失し、HBs抗体陽性のintegrated期となる。HBVキャリア成人例におけるHBs抗原の年間消失率は約1%である。

B型肝炎からの肝硬変と肝癌への進展

immune clearance期の長さや炎症の重症度によって肝硬変進展が規定される。無症候性キャリアからの年間の肝硬変進展率は約1%、B型慢性肝炎からの年間の肝硬変進展率は約2%で累積肝硬変進展率は5.5年で15%と報告されている。

- 肝癌進展の危険因子として、1) 年齢、2) ウイルスの増殖状態(HBV-DNA量, HBe抗原の有無)、3) 肝硬変の有無、4) 性差、5) 飲酒、6) 喫煙、などが報告されている。
- B型肝炎の治療効果の判定の項目は、ALT値の正常化、HBeAgの消失、HBeAgのセロコンバージョン、HBV-DNAの陰性化(non-PCR)、肝組織所見の改善などである。

表1 B型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法の新しい治療効果判定基準

category of response	
biochemical (BR)	血清ALT値が正常範囲内に低下すること
virologic (VR)	血清HBV-DNA量が、非増幅法で検出されないレベル(<10 ⁵ copies/ml)にまで低下し、治療前HBeAg陽性例ではHBeAgが陰性化すること
histologic (HR)	治療前の肝生検所見と比較して、組織活動性スコアが少なくとも2ポイント以上低下していること
complete (CR)	BRとVRの基準を満たし、かつHBsAgが消失していること
time of assessment	
on-therapy	治療期間中
maintained	治療中の期間
end of treatment	治療終了時点
off-therapy	治療終了後
sustained (SR-6)	治療終了後6ヶ月の期間
sustained (SR-12)	治療終了後12ヶ月の期間

(文献3)より)

肝硬変進展の危険因子としては、1) 亜急性の肝不全症状や組織所見で bridging necrosis を伴う肝炎の急性増悪、2) 患者の年齢(40歳以上)、が重要であり40歳以上で bridging necrosis を伴う肝炎の場合は肝硬変に進展しやすいも、若年の患者では bridging necrosis を伴う肝炎であってもその後HBe抗原-HBe抗体のセロコンバージョンが得られれば組織変化が改善することが多いといわれている³⁾。

HBV持続感染者は肝癌進展のハイリスク群であり、Taiwanでは非感染者に比較して98~223倍のリスクがあると報告されている。年間肝癌進展率は無症候性キャリアでは0.1~0.4%、B型慢

性肝炎では0.5~0.8%、肝硬変では3~10%と報告されている(図4)⁴⁾。肝癌進展の危険因子として、①年齢、②ウイルスの増殖状態(HBV-DNA量, HBe抗原の有無)、③肝硬変の有無、④性差、⑤飲酒、⑥喫煙、などが報告されている^{3,4)}。

B型肝炎の治療目標, 効果判定, 治療戦略

HBV感染では、HCV感染とは異なり、その複雑な感染、ウイルス増殖様式から体内からのHBVの完全排除は困難である。B型慢性肝炎の治療目標はHBV増殖の持続抑制と肝病変の改善とする考えかたが基本となる。治療効果の判定の

- ウイルス肝炎での肝発癌の条件, プロセスをまとめると
1) HBV, HCV 持続感染である, 2) 炎症を伴う, 3) 肝硬変をベースとして高率に発癌する, の3点に集約される.
- 慢性肝炎から肝癌への進展を阻止する方法として, 1) HBV, HCV 持続感染を断ち切る, 2) 炎症を鎮静化させる, 3) 肝硬変に進展させない, ことなどが発癌阻止に有効である.

項目として, ALT 値の正常化, HBeAg の消失, HBeAg のセロコンバージョン, HBV-DNA の陰性化(non-PCR), 肝組織所見の改善などがあげられる(表1). B型肝炎の治療法としては, IFNとラミブジン, アデホビル, エンテカビルなどの核酸誘導体からなる抗ウイルス剤に大別される.

ウイルス肝炎から肝癌への進展阻止

肝癌発生機序として従来からいくつかの仮説が唱えられているが, 疫学的, 臨床的な観点からウイルス肝炎での肝発癌の条件, プロセスをまとめると ① HBV, HCV 持続感染である, ② 炎症を伴う, ③ 肝硬変をベースとして高率に発癌する, の3点に集約される. よって慢性肝炎から肝癌への進展を阻止する方法としては, ① まず原因となる HBV, HCV 持続感染を断ち切る. ② ウイ

ルス排除が困難な場合には炎症を鎮静化させることを目指す. いずれにしても ③ 各種薬剤治療により前癌病変ともいえる肝硬変に進展させないことが発癌阻止に有効である.

文 献

- 1) Poynard, T., Bedossa, P., Opolon, P. : Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 349 : 825-832, 1997
- 2) Lok, A. S. F. : Treatment of chronic hepatitis B. *J Viral Hep* 1 : 105-124, 1994
- 3) Lok, A. S. F., McMahon, B. J. : Chronic hepatitis B. *Hepatology* 34 : 1225-1241, 2001
- 4) Chu, C. M. : Natural history of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 15 (suppl) : 25-30, 2000

C型肝炎ウイルス抗体キット 『Eテスト「TOSOH」II (HCVAb)』の 基礎的および臨床的検討

国立長崎医療センター 臨床研究センター 治療研究部

八橋 弘・浜田るみこ・福田 実可
矢野 公士・阿比留正剛

はじめに

1989年、米国 Chiron 社の Choo らにより HCV の遺伝子断片がクローニングされ、非構造 (NS) 3, 4 領域の C100-3 抗体での測定系が開発された。この測定系により、非 A 非 B 肝炎の病原ウイルスとして HCV が同定された¹⁾²⁾。HCV は、全長約 9.5 kb の 1 本鎖 (+) RNA ゲノムを持つウイルスで、ゲノム構造は、5'-非翻訳、翻訳領域、3'-非翻訳の領域からなる。約 3000 のアミノ酸残基からなる翻訳領域は構造蛋白として、コア蛋白 C、エンベロープ蛋白 (E1, E2/NS1)、非構造蛋白として、NS2, NS3, NS4, NS5 がある。

その後、ゲノム各領域のクローニングが行われ、リコンビナント抗原および合成ペプチド抗原が作製されたことから HCV 抗体検査法が種々開発され、今日では HCV 抗体検査によって、C型肝炎のスクリーニングや診断などに応用されている。

HCV 抗体測定系は、まず C100-3 を用いた第一世代抗体 (NS 抗体) 測定系が開発されたが、

偽陰性や偽陽性を示す欠点があったことから現在ではほとんど用いられなくなっている。第二・第三世代抗体測定系は、コア領域、NS3, NS4 および NS5 (第三世代のみ) のリコンビナント抗原を用いた測定系であり、複数の抗原を用いることで第一世代の HCV 抗体測定系と比較して感度、特異度ともに向上したことから、HCV 診断スクリーニングに適している。

一方、Yagi ら³⁾はわが国に分布している HCV の HCV 抗体が認識する抗原部分 (エピトープ) を解析した結果、genotype 1b と genotype 2a のコア、NS3 および NS4 領域から、HCV 抗体が認識する 9 種類のエピトープの遺伝子を組み合わせ、一つのポリペプチドとして発現させたエピトープキメラ抗原 (C50 抗原) を開発した (図 1)。このエピトープキメラ抗原の技術で作成された C50 抗原を用いた EIA 法による HCV 抗体測定結果が C型肝炎の診断において高い有用性を持つことは、多くの文献で報告されている^{4)~6)}。

栄研化学 (株)、東ソー (株) および (株) 先端生命科学研究所の共同で、このエピトープキメラ抗原

Fundamental evaluation and clinical efficacy of HCV antibody measurement assay

Hiroshi Yatsuhashi et al *Clinical Research Center, National Hospital Organization, Nagasaki Medical Center*

Key words : エピトープキメラ抗原 (C50 抗原), HCV 抗体, Eテスト「TOSOH」II (HCVAb), AIA-600 II

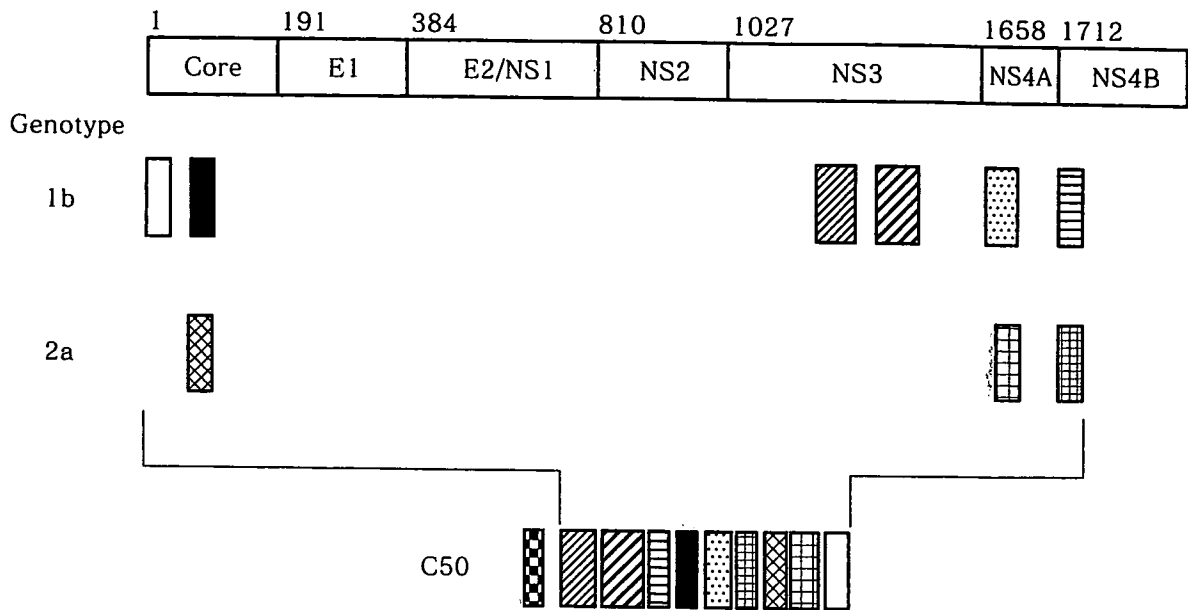
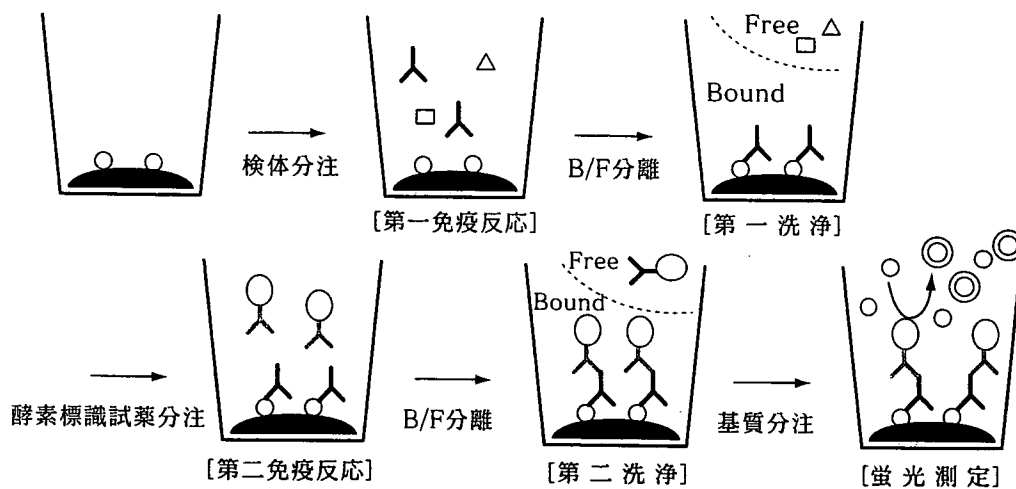


図 1 C50 抗原を構成するエピトープペプチドの HCV ゲノム上の配置








-  : 抗原固定化磁性ビーズ
-  : 酵素標識抗体
-  : 検体 (HCV抗体)
-  : 酵素基質 (4MUP)
-  : 酵素反応生成物 (4MU)

図 2 2ステップサンドイッチ FEIA 法の原理

を使用し、蛍光酵素免疫測定法 (FEIA 法) を測定原理 (図 2) とした HCV 抗体検出試薬である E テスト「TOSOH」II (HCVAb) (以下、E テスト) を開発した⁷⁾。

今回、われわれはこの E テストの性能を基礎的、臨床的に検討し、特に肝炎スクリーニング法としての有用性を検討したので報告する。

I. 対象および方法

1. 対 象

対象は、国立長崎医療センターの血液センターでスクリーニングされ、第二世代 HCV 抗体 (PHA 法) 陽性と判定された供血者 180 例と健常者 40 例である。

2. 方 法

HCV 抗体の測定は、E テストを添付文書に従って AIA-600 II (東ソー (株) 製) を用い、Index 値 1.0 以上を陽性とした。

E テストの基礎的検討としては、1. 同時再現性・日差再現性、2. 希釈直線性、3. 既承認試薬との陽性率の比較、相関性および感度、4. 特異度、についての検討を行った。さらに 5. HCV 抗体価とウイルス血症との関連性および HCV 抗体検査 2 法の力価間での比較、6. C 型肝炎スクリーニング法としての有用性、についての検討を行った。3., 5., 6. の検討では、HCV 抗体検査は同じエピトープキメラ抗原 (C50 抗原) を使用しているイムチェック・F-HCV C50 Ab「コクサイ」(以下、イムチェッ

ク)、HCV-RNA 定性検査はアンプリコア HCV v2.0 (ロシュ・ダイアグノスティックス (株))、HCV Core 抗原検査はルミスポット「栄研」HCV 抗原 (栄研化学 (株)) を用いた。

II. 結 果

1. 同時再現性・日差再現性の検討

3 濃度の陽性コントロールを各々 5 回連続測定した同時再現性の検討では CV 2.0~3.3% であった (表 1)。HCV 抗体陰性検体および陽性供血者 4 検体を用いて 5~6 日間測定した日差再現性の検討では CV 5.0~10.5% であった (表 2)。同時再現性、日差再現性ともに良好な成績が得られた。

表 1 同時再現性 (単位: Index)

測定回数	コントロール-L	コントロール-M	コントロール-H
1	2.44	9.08	24.45
2	2.28	9.24	26.66
3	2.42	9.08	26.16
4	2.37	8.75	26.25
5	2.35	9.09	26.14
Mean	2.372	9.048	25.932
SD	0.063	0.180	0.855
CV (%)	2.7	2.0	3.3

表 2 日差再現性 (単位: Index)

測定日	検体 1	検体 2	検体 3	検体 4	検体 5
1	<L	1.98	2.26	29.60	337.32
2	<L	1.99	2.25	28.94	340.61
3	<L	1.79	2.85	33.91	379.76
4	<L	1.95	2.34	33.04	370.98
5	<L	2.05	2.58	34.89	374.61
6	<L			37.33	
Mean		1.952	2.456	32.952	360.656
SD		0.098	0.257	3.199	20.079
CV (%)		5.0	10.5	9.7	5.6

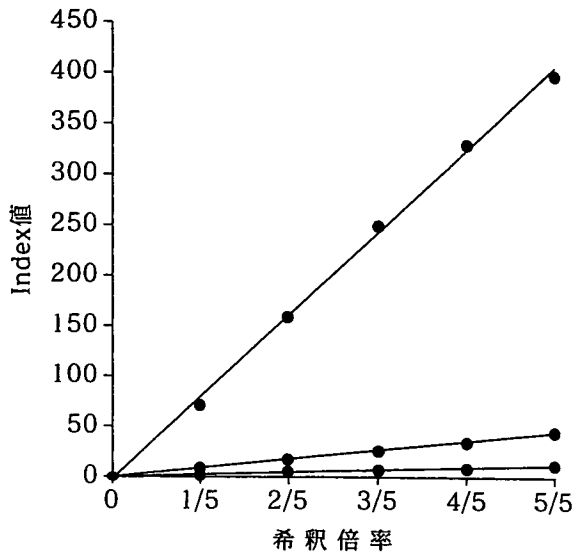


図 3 希釈直線性

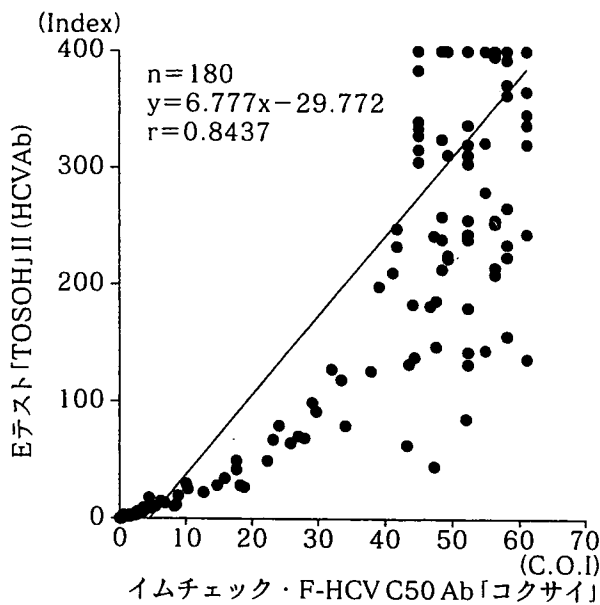


図 4 イムチェック・F-HCV C50 Ab「コクサイ」と Eテスト「TOSOH」II (HCVAb) の相関

2. 希釈直線性の検討

HCV 抗体濃度の異なる 3 種 (Index 値 12.0, 44.9, 396.5) のプール検体を用い専用希釈液にて 5 段階希釈系列を作成して測定した結果, いずれの検体でも原点を通る希釈直線性が確認された (図 3)。

表 3 陽性率の比較

測定法	陽性例 (陽性率%)
E テスト「TOSOH」II (HCVAb)	171 (95.0)
イムチェック・F-HCV C50 Ab 「コクサイ」	170 (94.4)
HCV-RNA 定性検査	128 (71.1)
HCV Core 抗原検査	121 (67.2)

表 4 イムチェック・F-HCV C50 Ab「コクサイ」との判定比較

		E テスト「TOSOH」II (HCVAb)		
		陽性	陰性	合計
イムチェック・F-HCV C50 Ab 「コクサイ」	陽性	170	0	170
	陰性	1	9	10
	合計	171	9	180

一致率 : 99.4%

3. 既承認試薬との陽性率の比較, 相関性および感度の検討

供血者 180 例について, E テストとイムチェックの陽性率を比較するとともに, HCV-RNA 定性検査と HCV Core 抗原検査の結果との関連を検討した。HCV 抗体陽性例 (率) は, 180 例中, E テストは 171 例 (95.0%), イムチェックは 170 例 (94.4%) でほぼ同等であり, PHA 法で陽性と判定された 180 例では 2 法ともほぼ陽性であった。HCV-RNA 定性検査陽性例 (率) は 128 例 (71.1%), HCV Core 抗原検査陽性例 (率) は 121 例 (67.2%) で 2/3 以上が陽性であった (表 3)。E テストとイムチェックの乖離例は 1 例のみで一致率は 99.4% であった (表 4)。乖離の 1 検体は, E テストで陽性かつイムチェックで陰性であり, E テストの Index 値は 2.26 と低値で, HCV-RNA 定性検査は陰性であった。なお, イムチェックに対する E テストの相関性は $y =$

表 5 HCV-RNA 定性検査との判定比較

		E テスト「TOSOH」II (HCVAb)		
		陽性	陰性	合計
HCV-RNA 定性検査	陽性	128	0	128
	陰性	43	9	52
	合計	171	9	180

表 6 HCV Core 抗原検査との判定比較

		E テスト「TOSOH」II (HCVAb)		
		陽性	陰性	合計
HCV Core 抗原検査	陽性	121	0	121
	陰性	50	9	59
	合計	171	9	180

表 7 HCV 抗体価別の HCV-RNA 定性検査陽性率と HCV Core 抗原検査陽性率

E テスト「TOSOH」II (HCVAb) の抗体価 (Index)	例数	HCV-RNA 定性検査陽性例数 (陽性率%)	HCV Core 抗原検査陽性例数 (陽性率%)
1 以上 50 未満	27	2 (7.4)	2 (7.4)
50 以上 300 未満	47	37 (78.7)	35 (74.5)
300 以上	97	89 (91.8)	84 (86.6)
合 計	171	128 (74.9)	121 (70.8)

6.777x-29.772, r=0.8437 (図4)であった。一方、HCV-RNA 定性検査または HCV Core 抗原検査で陽性の検体では E テストもすべて陽性となり、E テストで HCV 抗体陰性検体では、HCV-RNA 定性検査が陽性や HCV Core 抗原検査が陽性であった例はみられなかった(表5, 6)。

以上のように HCV 抗体陽性率は、同じエプトープキメラ抗原を使用しているため、ほぼ同等であり相関性も良好であった。また、ウイルス血症の検出において感度も良好であった。

4. 特異度の検討

健常者 40 例では E テストはすべて陰性を示し、良好な結果が得られた。

5. HCV 抗体価とウイルス血症との関連性および HCV 抗体検査 2 法の力価間での比較

供血者 180 例のうち、E テストで HCV 抗体陽性と判定した 171 検体を用いて、ウイルス血症との関連を検討した。171 検体中、128 検体

(74.9%) が HCV-RNA 定性検査で陽性で、121 検体 (70.8%) が HCV Core 抗原検査で陽性であった。さらに、E テストの HCV 抗体価 Index で 1 以上 50 未満、50 以上 300 未満、300 以上の群に分けて、HCV-RNA 定性検査を用いてウイルス血症の割合を検討したところ、HCV 抗体価 Index で 1 以上 50 未満の検体では、27 検体中 2 検体 (7.4%)、50 以上 300 未満の検体では、47 検体中 37 検体 (78.7%)、300 以上の検体では、97 検体中 89 検体 (91.8%) であった。同様に HCV Core 抗原検査を用いてウイルス血症の割合を検討したところ、HCV 抗体価 Index で 1 以上 50 未満の検体では、27 検体中 2 検体 (7.4%)、50 以上 300 未満の検体では、47 検体中 35 検体 (74.5%)、300 以上の検体では、97 検体中 84 検体 (86.6%) であった(表7)。HCV 抗体価 Index で 1 以上 50 未満では、ウイルス血症の割合は 7.4% と低頻度であったのに対し、HCV 抗体価 Index で 50 以上では、ウイルス血症の割合は 74% 以上と高頻度で

表 8 イムチェック・F-HCV C50 Ab「コクサイ」と E テスト「TOSOH」II (HCVAb) の力価の関係

	高力価	中力価	低力価	陰性
イムチェック・F-HCV C50 Ab「コクサイ」 単位：C.O.I	50 以上	10 以上 50 未満	1 以上 10 未満	1 未満
E テスト「TOSOH」II (HCVAb) 単位：Index	300 以上	50 以上 300 未満	1 以上 50 未満	1 未満

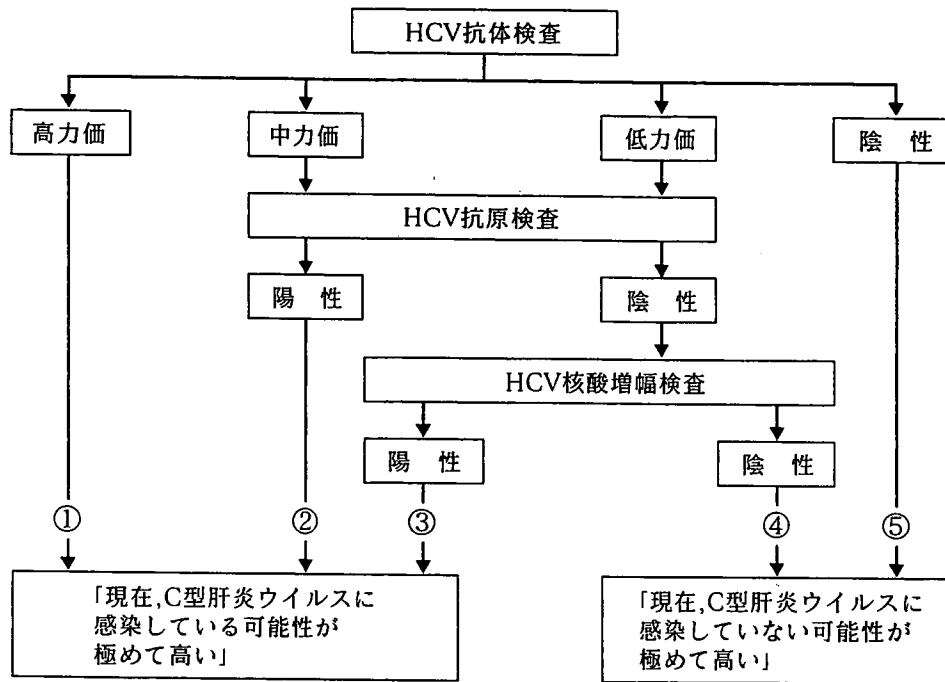


図 5 HCV 検診の手順 (平成 15 年度改訂)

図中の数字は、表 9 の数字に相当

あった。

一方、HCV 抗体検査 2 法の力価間の関係は、前述した E テストの力価の範囲をそれぞれ低力価、中力価、高力価とすると表 8 のとおりであり、力価別の Index 値の境界値は、E テストがイムチェックの 5~6 倍となり、図 4 の相関関係とほぼ一致していた。ウイルス血症の割合およびイムチェックとの力価間の関係から、E テストの力価別の Index 値の境界値は妥当と思われた。

6. C 型肝炎スクリーニング法としての有用性についての検討

平成 14 年度から厚生労働省では肝炎ウイルス検診を節目検診、節目外検診として実施してきた。平成 15 年度からは HCV のスクリーニング法として、HCV 抗体検査、HCV Core 抗原検査、HCV-RNA 定性検査の 3 つを組み合わせ、効率よく HCV 感染者を検出する方法が行われている (図 5)。今回の検討に用いた供血者 180 例の母集団である受診者は推定 16,000 例であり、この例を用い HCV のスクリーニング法に当てはめ、シミュレーションを行った。

表9 ルミスポット‘栄研’HCV抗体とEテスト「TOSOH」II (HCVAb)のHCVスクリーニング法の結果比較

対象受診者：推定16,000人

カッコ内は該当する人数

	ルミスポット‘栄研’HCV抗体	Eテスト「TOSOH」II (HCVAb)
① HCV抗体検査が高力価の割合	0.64% (102人)	0.61% (97人)
② HCV抗体検査が中力価または低力価かつHCV抗原検査が陽性の割合	0.19% (30人)	0.23% (37人)
③ HCV抗体検査が中力価または低力価かつHCV抗原検査陰性かつHCV-RNA定性検査陽性の割合	0.01% (2人)	0.01% (2人)
④ HCV抗体検査が中力価または低力価かつHCV抗原検査陰性かつHCV-RNA定性検査陰性の割合	0.22% (35人)	0.22% (35人)
⑤ HCV抗体検査が陰性の割合	98.94% (15,831人)	98.93% (15,829人)

シミュレーションに用いた検査法は、HCV抗体検査がEテスト、HCV Core抗原検査がルミスポット‘栄研’HCV抗体、HCV-RNA定性検査がアンプリコアHCV v2.0である。そのシミュレーションの結果とHCV抗体検査のみ、すでに運用されている承認試薬のHCV Ab測定キット「ルミスポット‘栄研’HCV抗体」に代えたシミュレーションの結果⁸⁾と比較した。表9のとおり、ほぼ同様の比率となり、Eテストを用いて、効率よくHCV感染者をスクリーニングすることが可能と考えられた。

III. 考 察

C型肝炎ウイルス抗体キット『Eテスト「TOSOH」II (HCVAb)』の測定法に関する基礎的検討結果からは、同時再現性、日差再現性、希釈直線性、既承認試薬との相関性、感度は、いずれも良好であることが確認された。また、健常者検体を用いて行った特異度に関する検討でも良好な結果が得られた。

HCV抗体価とウイルス血症との関連についての検討では、HCV-RNA定性検査やHCV Core抗原検査のいずれを用いても、HCV抗体価とウイルス血症の間には相関関係が確認され、HCV抗体価Indexで1以上50未満の低力

価では、ウイルス血症の割合は7.4%と低頻度であったのに対し、HCV抗体価Indexで50以上の中力価以上では、ウイルス血症の割合は74%以上であった。今回の検討のようにHCV低力価の対象者では、頻度としては少ないもののウイルス血症者がいることから、HCV抗体陽性者は抗体価にかかわらず、必ず最も高感度の測定系であるHCV-RNA定性検査を用いてウイルス血症の確認を行わなければいけない。しかしながらEテストでIndex 50以上の中力価以上の抗体価を示したものは高頻度で対象者にウイルス血症が確認されており、中力価以上の対象者では、そのウイルス血症者の検出頻度を前提にして、次の精密検査を行うことがHCVのスクリーニング法としては効率がよいと考えられる。

結 論

今回の基礎的検討結果からC型肝炎ウイルス抗体キット『Eテスト「TOSOH」II (HCVAb)』は、安定した測定系であることが確認できた。また本キットでのHCV抗体価Indexとウイルス血症との間には良好な相関関係が得られた。本キットは、日々の臨床の現場でのHCV感染者の診断法、また肝炎ウイルス検診

に用いても、有用性の高い検査法であると考えられた。

文 献

- 1) Choo QL et al : Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244 : 359-362, 1989.
- 2) Kuo G et al : An assay for circulating anti-bodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244 : 362-364, 1989.
- 3) Yagi S et al : An epitope chimeric antigen for the hepatitis C virus serological screening test. *Biol Pharm Bull* 19(10) : 1254-1260, 1996.
- 4) 飯野四郎 他 : 新しい組み換え抗原 (C50) を用いた HCV 抗体検出試薬イムチェック・F-HCV C50 Ab の検討. *医学と薬学* 36(4) : 835-841, 1996.
- 5) 倉田 満 他 : 新しい組み換え抗原 (C50) を用いた HCV 抗体測定試薬 (イムチェック・F-HCV C50 Ab) の性能評価. *医学と薬学* 36(4) : 829-834, 1996.
- 6) 日野邦彦 他 : エピトープキメラ抗原を用いた HCV 抗体検出試薬「ルミスポット「栄研」HCV 抗体」の検討. *医学と薬学* 40(1) : 127-133, 1998.
- 7) 西野主真 他 : 全自動エンザイムイムノアッセイ装置「AIA-600 II」を用いた HCV 抗体測定の検討. *医学と薬学* 55(6) : 935-941, 2006.
- 8) 八橋 弘 : 独立行政法人国立病院機構 長崎医療センター検討データ, 2005.

* * *

《 B型肝炎の自然史・病態理解》

B型肝炎の自然経過

八橋 弘 長岡進矢*

要 旨

- B型肝炎の自然経過は、ALT値、組織所見、HBV ウイルスマーカー(HBV-DNA、HBeAg、HBsAg)などを評価したうえで、① immune tolerance 期、② immune clearance 期(HBeAg⁺ chronic hepatitis B 期)、③ low replication 期(inactive carrier state 期)、④ reactivation 期(HBeAg⁻ chronic hepatitis B 期)、⑤ recovery 期、という五つの時相に分類する。
- HBV-DNA量は、B型肝炎の自然経過、発癌リスクを考えるうえでの重要な指標である。

HBV キャリアの感染経路

HBs 抗原が6ヵ月間以上持続陽性を示す者を、HBV キャリアと呼ぶ。HBV キャリアの感染経路は、垂直感染と水平感染に大別される。垂直感染はいわゆる母子感染であり、HBe 抗原陽性の母親からの出産時に感染が成立し、その約90%がキャリア化するといわれている。一方、乳幼児期のHBV キャリア成立年齢に関する調査では、3歳以下では約80%、4~10歳までの感染では約30%がキャリア化したと報告されている¹⁾。

現在のわが国に存在する約130万人のHBV キャリアの感染経路は、HB ワクチンによる母子感染防止事業が開始される20年以上前の垂直感染例と、3歳以下での乳幼児水平感染例が大多数を占めている。

HBV キャリアの自然経過の分類

HBV そのものは細胞障害性を有しておらず、HBV 持続感染はウイルス、肝細胞、宿主免疫機構

の三つの因子のバランスの中で成立する。HBV 持続感染者は、ALT 値、組織所見、HBV ウイルスマーカー(HBV-DNA、HBe 抗原、HBs 抗原)などを評価したうえで、① immune tolerance 期、② immune clearance 期(HBeAg⁺ chronic hepatitis B 期)、③ low replication 期(inactive carrier state 期)、④ reactivation 期(HBeAg⁻ chronic hepatitis B 期)、⑤ recovery 期、という五つの時相に分類し、Fig. 1 のように表記する^{2~4)}。

1. immune tolerance 期

この時期は、いわゆる肝機能正常のHBe 抗原陽性無症候性キャリアとして捉えられている。HBV 増殖は活発で、HBV-DNA量は $10^8 \sim 10^{11}$ copies/ml という高値を示し、ウイルス抗原に対する宿主サイドの認識が成立していない免疫寛容の状態であり、肝組織所見は正常か、炎症所見はあってもきわめて軽微である。垂直感染でHBV 持続感染が成立した場合、15歳前後までこのような時期が持続する。

2. immune clearance 期(HBeAg⁺ chronic hepatitis B 期)

HBV に対する感染個体の免疫応答、細胞性免疫

* H. Yatsushashi(部長), S. Nagaoka: 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター。

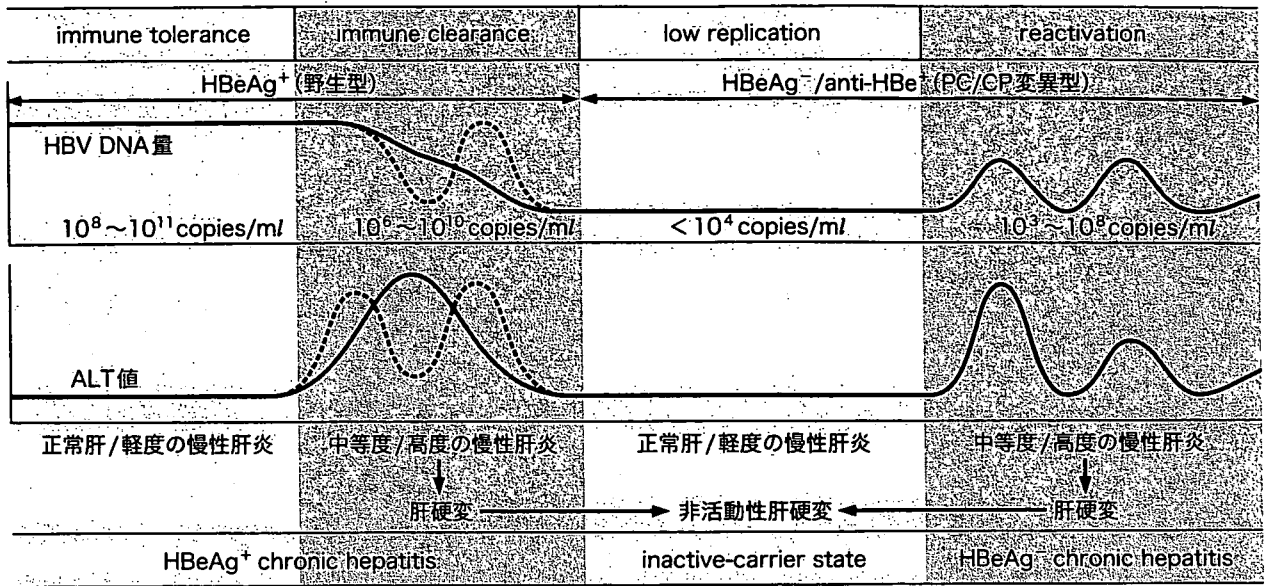


Fig. 1. HBV 持続感染者の自然経過

[図の構成は文献2), HBV DNA量は文献1)より引用]

が活性化し、サイトカインなどの誘導により肝炎が発症する時期である。ALT 高値持続の著しい肝機能障害を呈しながら、HBV 感染肝細胞が徐々に排除されることから、immune tolerance 期に比して HBV 増殖はやや低下し、HBV-DNA 量は $10^6 \sim 10^{10}$ copies/ml の範囲内の値を示す。いわゆる HBe 抗原陽性の慢性肝炎の時期であり、年齢としては 15~35 歳の時期に相当する。この免疫排除の時期に激しい肝炎が生じた場合には、患者の中には肝不全症状を呈することがある。激しい肝炎のあとには、しばしば HBe 抗原陰性、HBe 抗体陽性のセロコンバージョンが認められる。

肝組織所見に関しては、慢性肝炎時期の炎症が軽い場合は軽度の線維化を残すのみで治癒するが、激しい炎症が長期間持続した場合、肝線維化は高度となり肝硬変に進展する。

3. low replication 期 (inactive carrier state 期)

HBV に対する宿主免疫が優位になり、HBe 抗原陰性、HBe 抗体陽性のセロコンバージョンが持続し ALT 値も持続正常を示す時期である。この時期では HBV 増殖は HBV-DNA 量 10^4 copies/ml 以下に持続低下し、HBV-DNA は PCR 法で検出される程度である。肝細胞のヒトゲノム内に

HBV 遺伝子は組み込まれ、もしくは微量のウイルスの存在により HBs 抗原は陽性となる。肝組織所見に関しては、炎症所見は沈静化し、reactivation 期に移行しない限り組織進展はなく、発癌リスクも低下する。一般的には、B 型肝炎の臨床的寛解とみなされている。

4. reactivation 期 (HBeAg⁻ chronic hepatitis B 期)

一度、low replicative 期に移行した例の約 20~30% の例では、自然経過、もしくは免疫抑制薬の使用などが誘因となって HBV が再増殖し、ALT 値の変動がはじまる。この時期を、最近では reactivation 期、ないし、HBeAg⁻ chronic hepatitis B 期と命名するようになった。HBe 抗原産生に関与する precore (PC) 領域や core promoter (CP) 領域の HBV 遺伝子変異を伴っていることから、HBe 抗原は陽転化せず、HBV 増殖は HBV-DNA 量 $10^3 \sim 10^8$ copies/ml の中等度の範囲で変動する。肝組織所見に関しては、HBeAg⁺ chronic hepatitis よりも激しい炎症所見を示す例がみられ、ときに致死的な肝不全状態を示すこともある。現在では、reactivation 期 (HBeAg⁻ chronic hepatitis B 期) の患者は、肝硬変、肝癌進展のハイリスクであると

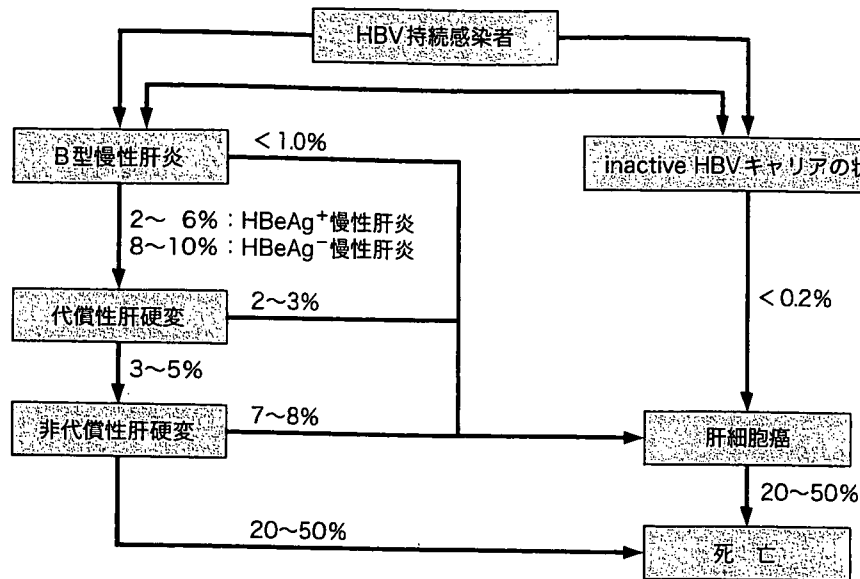


Fig. 2. HBV 持続感染者での年間肝病変進展率の推定

[文献3)より引用]

考えられている。

5. recovery 期

low replication 期を経過したあと、一部の患者では HBs 抗原が消失し、HBs 抗体陽性の recovery 期となる。PCR 法を用いても血中 HBV-DNA は検出されない例がほとんどであり、血液生化学所見、組織所見ともに改善を示す。B 型肝炎ウイルスキャリア成人例における HBs 抗原の年間消失率は、0.5~2.5% で、平均 1.0% 前後と考えられている。

HBe 抗原陰性、HBe 抗体陽性のセロコンバージョン●

immune clearance 期に、HBe 抗原陰性、HBe 抗体陽性のセロコンバージョンが認められる。B 型肝炎慢性肝炎を対象とした場合の年間のセロコンバージョン率は、2.7~21.1%/yr、平均 10%/yr と考えられている。HBe 抗原陰性、HBe 抗体陽性のセロコンバージョンに関わる因子として、① 高齢であること、② ALT 値が高いこと、③ 肝炎の急性増悪、④ HBV genotype (B>C)、⑤ 人種(アジア人以外)、などが報告されている³⁾。

肝硬変への進展●

immune clearance 期の長さや炎症の重症度によって、肝硬変進展が規定される。B 型肝炎慢性肝炎からの年間の肝硬変進展率は、HBe 抗原陽性 B 型肝炎慢性肝炎で 2~6%、HBe 抗原陰性 B 型肝炎慢性肝炎で 8~10% と報告されており、HBe 抗原陰性 B 型肝炎慢性肝炎において肝硬変進展リスクが高い。これは、この対象群が高齢であり、また慢性肝炎の中でも肝線維化進展例が多いことが原因である³⁾。

肝硬変進展の危険因子としては、① 高齢であること、② 男性であること、③ HBV 増殖が活発であること、④ HBV genotype が C タイプであること、⑤ core promoter の変異があること、⑥ 他のウイルスとの重複感染(HCV, HIV, HDV)、⑦ 飲酒、などが報告されている³⁾。

肝癌への進展●

HBV 感染者は、非感染者に比して肝癌発生のハイリスク群である。東アジアなどの HBV 高罹患国での HBV キャリアの年間肝癌発生率は、inactive carrier で 0.2%、肝硬変を伴わない慢性肝炎で 1.0%、代償性肝硬変で 3.2~4.3% と報告され

Table 1. HBV キャリアを対象とした肝発癌に関連する危険因子に関する台湾での検討結果

リスク	全対象患者 (n= 3,653)		HBeAg 陰性者 (n= 3,088)		HBeAg 陰性, ALT 値正常, 肝硬変を伴わない者 (n= 2,925)	
	multivariable adjusted HR	p 値	multivariable adjusted HR	p 値	multivariable adjusted HR	p 値
性差：男性	2.1	0.001	2.0	0.03	1.5	0.24
HBeAg 陽性	2.6	<0.001				
肝硬変あり	9.1	<0.001	7.9	<0.001		
HBV DNA 量： <300 copies/ml(検出感度以下)	1.0	<0.001	1.0	<0.001	1.0	<0.001
HBV DNA 量： 10,000~99,999 copies/ml	2.3	0.02	2.6	0.01	4.5	0.001
HBV DNA 量： 100,000~999,999 copies/ml	6.6	<0.001	6.1	<0.001	11.3	<0.001
HBV DNA 量： 1 million copies/ml 以上	6.1	<0.001	10.6	<0.001	17.7	<0.001

[文献6)より引用]

ている。一方、欧州などの HBV 低罹患国での年間肝発癌発生率は、inactive carrier で 0.02%、肝硬変を伴わない慢性肝炎で 0.1%、代償性肝硬変で 2.2% と報告されており、同じ病態でも HBV 高罹患国と低罹患国とでは肝発癌発生リスクが異なる⁵⁾。

HBV 感染者での肝発癌発生リスクをまとめたものが、Fig. 2 である。年間肝発癌発生率は、inactive carrier では 0.2% 以下、肝硬変を伴わない慢性肝炎では 1% 以下、代償性肝硬変では 2~3%、非代償性肝硬変では 7~8% である³⁾。

肝発癌進展の危険因子として、① 高齢であること、② 男性であること、③ 肝硬変があること、④ 肝発癌の家族歴があること、⑤ 人種差(アジア人、アフリカ人)、⑥ HBV 増殖が活発であること、⑦ HBV genotype が C タイプであること、⑧ core promoter の変異があること、⑨ 他のウイルスとの重複感染(HCV, HIV, HDV)、⑩ 飲酒、⑪ アフラトキシン、などが報告されている³⁾。

2006 年、台湾から報告された HBV キャリアを対象とした肝発癌発生リスクに関する論文は、肝発癌に HBV-DNA 量が密接に関係していることを示したものと注目されている⁶⁾。3,653 人の HBV キャリアを平均 11.4 年間にわたって、観察を行い、経過発癌例を検討した。Table 1 に示すよ

うに、全体では、男性、HBeAg 陽性例、肝硬変例、HBV-DNA 量高値例で肝発癌リスクが高いことが確認されているが、注目すべき点は、ALT 値正常でかつ肝硬変を伴わない集団においても、HBV-DNA 量高値例では、低値に比して 10 倍以上、肝発癌リスクが高いと報告している点である。

本論文は、HBV キャリアでの肝発癌発生ハイリスク群の囲い込みの方法として HBV-DNA 量の測定が有用であること、また抗ウイルス薬を用いての治療介入での肝発癌発生抑制の可能性を示唆している。

文 献

- 1) Hoofnagle JH et al : Review. Management of hepatitis B : summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 45 (4) : 1056, 2007
- 2) Fattovich G. : Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 23 : 47, 2003
- 3) Yim HJ, Lok AS : Natural history of chronic hepatitis B virus infection : what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology* 43 [2 Suppl 1] : S173, 2006
- 4) Lok AS, McMahon BJ : Chronic hepatitis B. *Hepatology* 45 (2) : 507, 2007
- 5) Fattovich G et al : Hepatocellular carcinoma in cirrhosis : incidence and risk factors. *Gastroenterology* 127 [Suppl 1] : S35, 2004
- 6) Chen CJ et al : Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 295 : 65, 2006