

HBV の自然経過と治療方針について

八 橋 弘 長 岡 進 矢 阿比留 正 剛¹⁾

要旨: HBV キャリアーの自然経過は① Immune tolerance 期, ② Immune clearance 期, ③ Low replicative 期, ④ Reactivation 期, ⑤ Recovery 期の 5 つの時相に分類される。B 型肝炎の治療目標は, HBV 増殖の持続抑制, 肝病変の改善であり, 最終的には, 肝硬変進展, 肝癌進展, 肝不全への進展を抑制することである。HBV-DNA 量は, B 型肝炎の自然経過と治療を考える上での重要な指標である。

索引用語: B 型肝炎, 自然経過, HBV-DNA 量, 肝硬変, 肝癌

I HBV キャリアーの感染経路, 初感染例での持続感染の頻度

HBs 抗原が 6 カ月間以上持続陽性を示す者を HBV キャリアーと呼ぶ。HBV キャリアー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% がキャリアー化するとされている¹⁾²⁾。一方, 乳幼児期の HBV キャリアー成立年齢に関する調査では, 3 歳以下では約 80%, 4 歳から 10 歳までの感染では約 30% がキャリアー化したと報告されている³⁾。

成人水平感染例でのキャリアー化率は欧米では約 2~10%⁴⁾といわれているが, わが国では腎不全や免疫不全などの特殊な状況をのぞき, 極めてまれであり, 最近までは 1% 以下と考えられてきた。このような欧米とわが国との成人水平感染例での慢性化の頻度, HBV キャリアー化率の頻度の違いの理由として, 最近, HBV genotype の違いによることが示唆されている⁵⁾⁶⁾。すなわち欧米の HBV キャリアーの HBV genotype 分布では A タイプが多いのに対し, わが国の HBV キャリ

アーでの HBV genotype 分布は C タイプ 80~90%, B タイプ 10~20% であり, A タイプは 1~2% と極めてまれである⁷⁾。一方, 2000 年以後, わが国で発症した B 型急性肝炎例での HBV genotype A タイプの発生頻度は, HBV 感染のグローバル化, 感染経路の多様化を反映し, 年々その比率が増加し 30% 以上の頻度を示している。わが国で発症した HBV genotype A タイプ感染成人日本人例においても肝炎が遷延化し, キャリアー化したという例が相次いで報告され⁵⁾⁶⁾, 現在では, わが国においても欧米と同様, HBV genotype A タイプの成人初感染例では約 10% がキャリアー化すると考えられている。

成人 B 型急性肝炎例がキャリアー化の場合には HBV genotype A タイプの感染の可能性を考慮する必要があるも, 現在のわが国に存在する約 130 万人の HBV キャリアーの感染経路は, HBV 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 歳以下の乳幼児水平感染例が大多数を占めている。

II HBV キャリアーの自然経過

HBV そのものは細胞障害性を有していないこ

1) 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター
Natural course and recommendations of therapy for HBV infection
Hiroshi YATSUHASHI, Shinya NAGAOKA and Seigou ABIRU¹⁾

1) National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, Clinical Research Center

Table 1. B型慢性肝炎の自然経過の分類 (文献14から引用)

時相	ALT 値	肝組織所見	HBV DNA 量	HBeAg	HBsAg
Immune Tolerance 期	正常またはわずかに上昇	軽度の炎症所見, 軽度の線維化所見	高レベル (10 ⁸ to 10 ¹¹ copies/ml)	(+)	(+)
HBeAg+ ve Chronic Hepatitis B 期	持続的に上昇	高度の炎症所見, 線維化の程度には幅がある	高レベル (10 ⁶ to 10 ¹⁰ copies/ml)	(+)	(+)
HBeAg- ve Chronic Hepatitis B 期	上昇, しばしば変動	高度の炎症所見, 線維化の程度には幅がある.	中等度レベル, しばしば変動する (10 ³ to 10 ⁸ copies/ml)	(-)	(+)
Inactive Carrier State 期	正常	炎症所見に乏しい 通常, 線維化の程度の軽度	低レベルないし 検出されないレベル (< 10 ⁴ copies/ml)	(-)	(+)
Recovery 期	正常	炎症所見に乏しく 線維化の程度も軽度	血中からは検出されない (肝臓には低レベルで存在)	(-)	(-)

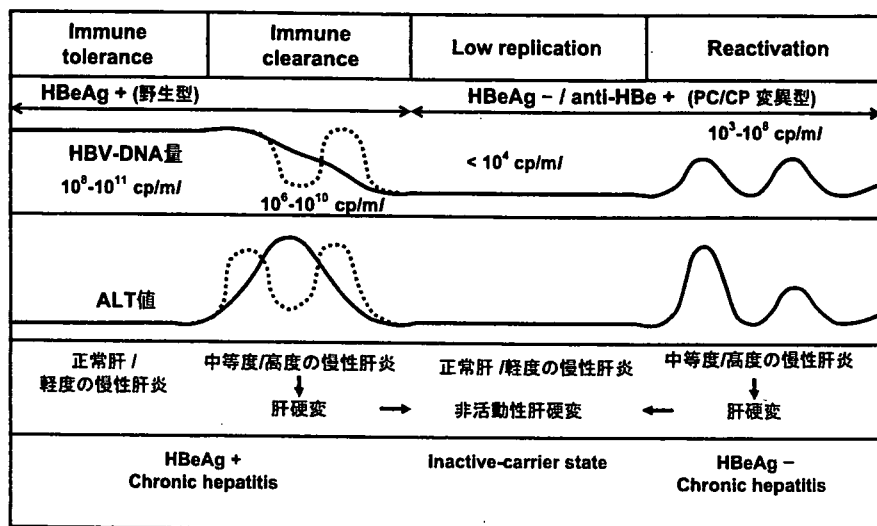


Figure 1. HBV 持続感染者の自然経過 (図は文献12を引用, HBV-DNA 量は文献14の値を引用した.)

とから, HBV 持続感染はウイルス, 肝細胞, 宿主免疫機構の3つの因子のバランスの中で成立する. HBV 持続感染者は, 従来は, ① Immune tolerance 期, ② Immune clearance 期, ③ Low replicative 期または integrated 期という3つの時相に分類されていた^{8)~11)}. しかし, 1989 年以後, HBe 抗原産生に参与する PreCore 領域や Core Promoter 領域の HBV 遺伝子変異, 遺伝子構造と機能に関する知見が集積され, HBe 抗原陰性でもウイルスが増殖し肝病変が進展することが確認されたことから, 最近では, Table 1 に示すように, ALT 値, 組織所見, HBV ウイルスマーカー (HBV-DNA, HBeAg, HBsAg) などを評価した上で, ① Immune tolerance 期, ② Immune clearance

期 (HBeAg+ ve chronic hepatitis B 期), ③ Low replicative 期 (Inactive carrier state 期), ④ Reactivation 期 (HBeAg- ve chronic hepatitis B 期), ⑤ Recovery 期という5つの時相に分類し, Figure 1 のように表記するようになった^{12)~14)}.

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ーとしてとらえられている. HBV 増殖は活発で HBV-DNA 量は 10⁸⁻¹¹ 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極めて軽微である. 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+ ve chronic hepatitis B 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。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^{6-10} copies/ml の範囲内の値を示す。いわゆる HBeAg 陽性の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。肝炎の急性増悪にともなう肝小葉改築の程度と広がりとその持続期間が, B 型慢性肝疾患の予後を決定すると考えられる。

3. Low replicative 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見なされている。

4. Reactivation 期 (HBeAg- ve chronic hepatitis B 期)

1 度, Low replicative 期に移行した例の約 20~30% の例では, 自然経過, もしくは免疫抑制剤

の使用などが誘引となって, 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- ve 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 領域や Core Promoter 領域の HBV 遺伝子変異をともなっていることから HBe 抗原は陽転化せず, HBV 増殖は HBV-DNA 量 10^{3-8} 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+ ve chronic hepatitis よりも激しい炎症所見を示す例がみられ, 時に致死的な肝不全状態を示すこともある。HBV genotype B, C, D 感染者では HBV genotype A 感染者に比較して Reactivation 期を示す例が多いと報告されている。現在では, Reactivation 期 (HBeAg- ve 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考えられるようになった。

5. Recovery 期

Low replicative 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 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ー成人例における HBs 抗原の年間消失率は 0.5% から 2.5%, 平均 1.0% 前後と考えられている¹³⁾。

III HBe 抗原-HBe 抗体のセロコンバージョン

Immune clearance 期に HBe 抗原-HBe 抗体のセロコンバージョンが認められる。B 型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%/年, 平均 10%/年と考えられている^{15)~21)}。HBe 抗原-HBe 抗体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^{22)~26)} (Table 2)。ALT 値に関しては, 18 カ月の観察期間内にセロコンバージョンが生じる確率は, ALT 値が正常値の 5 倍以上を示した場合は 60%, 5 倍未満の場合は 15% と報告されている²⁷⁾。ALT 値の上昇は, 宿主免

疫によって感染肝細胞が排除されている状態をあらわし、その後セロコンバージョンが生じ肝炎が沈静化する。ALT値の上昇は予後不良のサインだけでなく、予後良好のサインでもあることを理解すべきである⁹⁾。

IV 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型慢性肝炎からの年間の肝硬変進展率は、HBe Ag陽性B型慢性肝炎で2~6%、HBe Ag陰性B型慢性肝炎で8~10%と報告されており^{28)~31)}、HBe Ag陰性B型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に起因している。

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、③HBV増殖が活発であること、④HBVgenotypeがCタイプであること、⑤Core 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アルコール飲酒、などが報告されてい

Table 2. 自然経過でのHBeAgのセロコンバージョンに関わる因子 (文献13から引用)

高齢者*
ALT値高値*
肝炎の急性増悪*
HBVgenotype (B > C)
人種 (アジア人以外)

*強いエビデンスあり。

る^{32)~38)} (Table 3)。

V 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キャリアーの年間肝癌発生率は、Inactive carrierで0.2%³⁹⁾、肝硬変をともなわな慢性肝炎で1.0%⁴⁰⁾⁴¹⁾、代償性肝硬変で3.2~4.3%^{42)~44)}と報告されている。一方、欧州などのHBV低罹患国での年間肝癌発生率は、Inactive carrierで0.02%^{45)~47)}、肝硬変をともなわな慢性肝炎で0.1%^{48)~53)}、代償性肝硬変で2.2%⁴⁹⁾⁵³⁾と報告されており、同じ病態でもHBV高罹患国と低罹患国では肝癌発生リスクが異なる。

HBV感染者での肝癌発生リスクをまとめたものがFigure 2³⁾³²⁾である。年間肝癌発生率は、Inactive carrierでは0.2%以下、肝硬変をともなわな慢性肝炎では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。

肝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肝癌の家族歴がある、⑤人種差(アジア人、アフリカ人)、⑥HBV増殖が活発であること^{54)~57)}、⑦HBVgenotypeがCタイプであること、⑧Core promoterの変異があること⁵⁸⁾⁵⁹⁾、⑨他のウイルスとの重複感染(HCV, HIV, HDV)、⑩アルコール飲酒⁶⁰⁾、⑪アフラトキシンなどが報告されている³²⁾ (Table 4)。

2006年、台湾から報告されたHBVキャリアーを対象とした肝癌発生リスクに関する論文⁵⁷⁾は、肝発癌にHBV-DNA量が密接に関係しているこ

Table 3. 肝硬変進展に関わる因子 (文献13から引用)

宿主因子	ウイルス因子	環境因子
高齢者* (感染期間が長い)	HBV複製、増殖の活発な状態*	重複感染 (HCV*, HIV, HDV)
男性*	HBVgenotype (C > B)*	アルコール飲酒*
免疫状態	HBV変異 (Core promoter 変異)	糖尿病†
		肥満†

*強いエビデンスあり。

†今後の検証が必要。

Table 4. 肝癌進展に関わる因子 (文献 13 から引用)

宿主因子	ウイルス因子	環境因子
高齢者 (感染期間が長い)*	HBV 複製, 増殖の 活発な状態*	重複感染 (HCV *, HIV, HDV)
男性*	HBV genotype (C > B)	アルコール飲酒*
肝硬変*	HBV 変異 (Core promoter 変異)	アフラトキシン
肝癌の家族歴*	X 遺伝子 transactivation	喫煙 †
人種 (アジア人, アフリカ人)		糖尿病 †
		肥満 †

*強いエビデンスあり.
†今後の検証が必要.

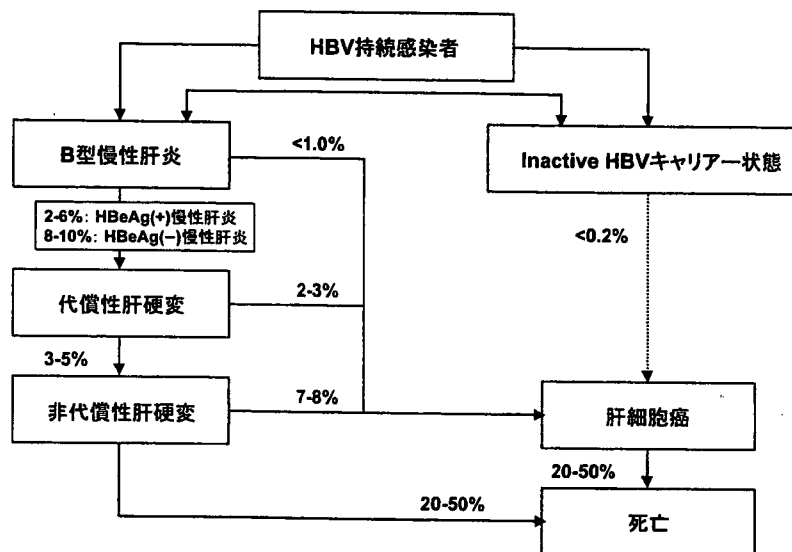


Figure 2. HBV 持続感染者での年間肝病変進展率の推定 (文献 13. 32 から引用)

とを示したものとして注目されている。3653 名の HBV キャリアーを平均 11.4 年間、観察をおこない、経過発癌例を検討した。Table 5 に示すように、全体では、男性、HBeAg 陽性例、肝硬変例、HBV-DNA 量高値例で肝癌リスクが高いことが確認されている。

注目すべき点は、ALT 値正常でかつ肝硬変をとまな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 倍以上肝発がんリスクが高いと報告している点である。本論文は、HBV キャリアーでの肝癌発生ハイリスク群の囲いこみの方法として HBV-DNA 量の測定が有用であること、また抗ウイルス剤を用いての治療介

入により持続的に HBV-DNA 量を低下させることでの肝癌発生抑制の可能性があることを示唆している。

VI HBs 抗原-抗体のセロコンバージョン

HBV 持続感染者においても一部の者では HBs 抗原が消失、HBs 抗体陽性の Recovery 期に移行する。年間の HBs 抗原消失率は 0.5% から 2.5%^{13)61)~65)}、長期的には 25 年間で 40% 消失する⁶⁶⁾と報告されている。HBs 抗原の消失例は、一般的には予後良好^{67)~69)}と考えられているが、HBs 抗原消失にもかかわらず、肝硬変、肝癌進展例が少なくないという報告⁷⁰⁾もある。

Table 5. HBV キャリアー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 (文献 57 から)

リスク	全対象患者 N = 3653		HBeAg 陰性者 n = 3088		HBeAg 陰性, ALT 値正常, 肝硬変をともなわない者, n = 2925	
	Multivariable- Adjusted HR	P 値	Multivariable- Adjusted HR	P 値	Multivariable- Adjusted HR	P 値
性差：男性	2.1	.001	2.0	.03	1.5	.24
HBeAg 陽性	2.6	< .001				
肝硬変, あり	9.1	< .001	7.9	< .001		
HBV DNA 量, < 300 copies/mL (検出感度以下)	1.0	< .001	1.0	< .001	1.0	< .001
HBV DNA 量, 10000 ~ 99999 copies/mL	2.3	.02	2.6	.01	4.5	.001
HBV DNA 量, 100000 ~ 999999 copies/mL	6.6	< .001	6.1	< .001	11.3	< .001
HBV DNA 量, 1 million copies/mL 以上	6.1	< .001	10.6	< .001	17.7	< .001

VII. B 型肝炎の治療方針

B 型肝炎の治療目標は、HBV 増殖の持続抑制、肝病変の改善であり、最終的には、肝硬変進展、肝癌進展、肝不全への進展を抑制することである⁷¹⁾。治療効果の判定の項目として、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挙げられる⁷¹⁾。実際の治療では、個々の症例の B 型肝炎の自然経過を推定した上で、治療対象、治療開始時期、治療方法、治療期間などを決定する。具体的には① HBeAg の有無、② ALT 値が正常値の 2 倍以上か否か、③ HBV-DNA 量が $10^{4.5}$ copies/ml 以上か否か、などの点を治療開始の指標とする⁷¹⁾。これらの HBeAg、ALT 値、HBV-DNA 量の 3 つの指標の中でも、最近、自然経過における HBV-DNA 量測定的重要性が明らかとなり、またラミブジンを用いて HBV 増殖を持続抑制することで肝癌発生が抑制されたという報告⁷²⁾⁷³⁾も重なったことから、HBV-DNA 量は、B 型肝炎の自然経過と治療を考える上での重要な指標と認識されるようになった。

2006 年 9 月以後、わが国でも、初回投与例に対しては薬剤耐性出現頻度の少ないエンテカピルの使用が可能となった。エンテカピルを用いて長期間 HBV の増殖を抑制すること、これらの抗ウ

イルス剤を用いて、B 型肝炎の自然経過を修飾、介入することは、理論上可能である。しかし一方で、エンテカピルの数年間に渡る長期投与の効果、副作用などに関してはエビデンスが集積されておらず、適正な治療期間、薬剤中止時期なども不明である。また長期に渡る高額な薬剤費用負担の問題もある。B 型肝炎の治療に関して、解決しなければいけない課題は、まだまだ多く残されている。

文 献

- 1) Okada K, Kamiyama I, Inomata M, et al: e antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *N Engl J Med* 294; 746-749: 1976
- 2) Beasley RP, Trepo C, Stevens CE, et al: The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. *Am J Epidemiol* 105; 94-98: 1977
- 3) 福田信臣, 小島峯雄, 足立信幸, 他: 乳幼児における HB ウイルス carrier 成立年齢について. *肝臓* 19; 936-941: 1978
- 4) Sherlock S: The natural history of hepatitis B. *Postgrad Med J* 63; 7-11: 1987
- 5) 新妻宏文, 石井元康, 小島敏明, 他: HBV genotype A の急性感染からキャリアー化した成人例の検討. *肝臓* 40; 346-349: 1999
- 6) 菊地健太郎, 宮川 浩, 阿部和裕, 他: HBV genotype A 初感染後, キャリアー化した夫より夫婦

- 間感染した妻の急性 B 型肝炎の 1 例. 肝臓 39; 533-538: 1998
- 7) Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, et al: A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Japan HBV Genotype Research Group. *Hepatology* 33; 218-223: 2001
 - 8) Chu CM, Karayiannis P, Fowler MJ, et al: Natural history of chronic hepatitis B virus infection in Taiwan: studies of hepatitis B virus DNA in serum. *Hepatology* 5; 431-434: 1985
 - 9) Chu CM: 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
 - 10) Nicoll A, Locarnini S: Review: Present and future directions in the treatment of chronic hepatitis B infection. *J Gastroenterol Hepatol* 12; 843-854: 1997
 - 11) Lok AS, Lai CL: Acute exacerbations in Chinese patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. Incidence, predisposing factors and etiology. *J Hepatol* 10; 29-34: 1990
 - 12) Fattovich G: Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 23; 47-58: 2003
 - 13) 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); 173-181: 2006
 - 14) Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, et al: Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 45; 1056-1075: 2007
 - 15) Liaw YF, Chu CM, Su IJ, et al: Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 84; 216-219: 1983
 - 16) Alward WL, McMahon BJ, Hall DB, et al: The long-term serological course of asymptomatic hepatitis B virus carriers and the development of primary hepatocellular carcinoma. *J Infect Dis* 151; 604-609: 1985
 - 17) Viola LA, Barrison IG, Coleman JC, et al: The HBe antigen-antibody system and its relationship to clinical and laboratory findings in 100 chronic HBsAg carriers in Great Britain. *J Med Virol* 8; 169-175: 1981
 - 18) Liaw YF, Chu CM, Huang MJ, et al: Determinants for hepatitis B e antigen clearance in chronic type B hepatitis. *Liver* 4; 301-306: 1984
 - 19) Sheen IS, Liaw YF, Tai DI, et al: Hepatic decompensation associated with hepatitis B e antigen clearance in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 89; 732-735: 1985
 - 20) Fattovich G, Rugge M, Brollo L, et al: Clinical, virologic and histologic outcome following seroconversion from HBeAg to anti-HBe in chronic hepatitis type B. *Hepatology* 6; 167-172: 1986
 - 21) Lok AS, Lai CL, Wu PC, et al: Spontaneous hepatitis B e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 92; 1839-1843: 1987
 - 22) McMahon BJ, Holck P, Bulkow L, et al: Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Intern Med* 135; 759-768: 2001
 - 23) Yuen MF, Yuan HJ, Hui CK, et al: A large population study of spontaneous HBeAg seroconversion and acute exacerbation of chronic hepatitis B infection: implications for antiviral therapy. *Gut* 52; 416-419: 2003
 - 24) Liaw YF: Hepatitis flares and hepatitis B e antigen seroconversion: implication in anti-hepatitis B virus therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 18; 246-252: 2003
 - 25) Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al: Hepatitis B virus genotypes and spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in Taiwanese hepatitis B carriers. *J Med Virol* 72; 363-369: 2004
 - 26) Chu CJ, Hussain M, Lok AS: Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology* 122; 1756-1762: 2002
 - 27) Liaw YF: Current therapeutic trends in therapy for chronic viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 12; 346-353: 1997
 - 28) Liaw YF, Tai DI, Chu CM, et al: The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology* 8; 493-496: 1988
 - 29) Fattovich G, Brollo L, Alberti A, et al: Long-term follow-up of anti-HBe-positive chronic active hepatitis B. *Hepatology* 8; 1651-1654: 1988
 - 30) Brunetto MR, Oliveri F, Rocca G, et al: Natural course and response to interferon of chronic hepatitis B accompanied by antibody to hepatitis B e antigen. *Hepatology* 10; 198-202: 1989
 - 31) Fattovich G: Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 23; 47-58: 2003
 - 32) Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, et al: Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk

- factors. *Gastroenterology* 127 (Suppl 1) : 35-50 : 2004
- 33) Iloeje UH, Yang HI, Su J, et al : Viral load not serum ALT is the primary predictor of progression to cirrhosis in persons chronically infected with HBV : results from a long-term prospective study. *J Hepatol* 42 Suppl : 180 : 2005
- 34) Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al : Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 118 : 554-559 : 2000
- 35) Sumi H, Yokosuka O, Seki N, et al : Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology* 37 : 19-26 : 2003
- 36) Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, et al : A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Japan HBV Genotype Research Group. *Hepatology* 33 : 218-223 : 2001
- 37) Liaw YF, Chen YC, Sheen IS, et al : Impact of acute hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 126 : 1024-1029 : 2004
- 38) Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R, et al : HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). *Lancet* 360 : 1921-1926 : 2002
- 39) Hsu YS, Chien RN, Yeh CT, et al : Long-term outcome after spontaneous HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 35 : 1522-1527 : 2002
- 40) Liaw YF, Tai DI, Chu CM, et al : Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic type B hepatitis. A prospective study. *Gastroenterology* 90 : 263-267 : 1986
- 41) Lin SM, Sheen IS, Chien RN, et al : Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 29 : 971-975 : 1999
- 42) Liaw YF, Lin DY, Chen TJ, et al : Natural course after the development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis : a prospective study. *Liver* 9 : 235-241 : 1989
- 43) Oon CJ : Long-term survival following treatment of hepatocellular carcinoma in Singapore : evaluation of Wellferon in the prophylaxis of high-risk pre-cancerous conditions. *Cancer Chemother Pharmacol* 31 : 137-142 : 1992
- 44) Ikeda K, Saitoh S, Suzuki Y, et al : Interferon decreases hepatocellular carcinogenesis in patients with cirrhosis caused by the hepatitis B virus : a pilot study. *Cancer* 82 : 827-835 : 1998
- 45) de Franchis R, Meucci G, Vecchi M, et al : The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 118 : 191-194 : 1993
- 46) Bellentani S, Dal Molin G, Miglioli L, et al : Natural history of HBV infection : a 9 years follow-up of the Dionysos cohort. *J Hepatol* 36 : 228 : 2002
- 47) Manno M, Cammà C, Schepis F, et al : Natural history of chronic HBV carriers in northern Italy : morbidity and mortality after 30 years. *Gastroenterology* 127 : 756-763 : 2004
- 48) Fattovich G, Brollo L, Giustina G, et al : Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis type B. *Gut* 32 : 294-298 : 1991
- 49) Di Marco V, Lo Iacono O, Cammà C, et al : The long-term course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 30 : 257-264 : 1999
- 50) Mazzella G, Saracco G, Festi D, et al : Long-term results with interferon therapy in chronic type B hepatitis : a prospective randomized trial. *Am J Gastroenterol* 94 : 2246-2250 : 1999
- 51) Brunetto MR, Oliveri F, Coco B, et al : Outcome of anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients : a long term cohort study. *J Hepatol* 36 : 263-270 : 2002
- 52) Niederau C, Heintges T, Lange S, et al : Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 334 : 1422-1427 : 1996
- 53) Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyannis SJ : The long-term outcome of interferon-alpha treated and untreated patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 34 : 306-313 : 2001
- 54) Yang HI, Lu SN, Liaw YF, et al : Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 347 : 168-174 : 2002
- 55) Yu MW, Yeh SH, Chen PJ, et al : Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma : a prospective study in men. *J Natl Cancer Inst* 97 : 265-272 : 2005
- 56) Tang B, Kruger WD, Chen G, et al : Hepatitis B viremia is associated with increased risk of hepatocellular carcinoma in chronic carriers. *J Med Virol* 72 : 35-40 : 2004
- 57) Chen CJ, Yang HI, Su J, et al : Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 295 : 65-73 : 2006
- 58) Baptista M, Kramvis A, Kew MC : High prevalence of 1762 (T) 1764 (A) mutations in the basic

- core promoter of hepatitis B virus isolated from black Africans with hepatocellular carcinoma compared with asymptomatic carriers. *Hepatology* 29; 946-953: 1999
- 59) Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al: Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology* 124; 327-334: 2003
- 60) Yuan JM, Govindarajan S, Arakawa K, et al: Synergism of alcohol, diabetes, and viral hepatitis on the risk of hepatocellular carcinoma in blacks and whites in the U.S. *Cancer* 101; 1009-1017: 2004
- 61) Villeneuve JP, Desrochers M, Infante-Rivard C, et al: A long-term follow-up study of asymptomatic hepatitis B surface antigen-positive carriers in Montreal. *Gastroenterology* 106; 1000-1005: 1994
- 62) Furusyo N, Hayashi J, Sawayama Y, et al: Hepatitis B surface antigen disappearance and hepatitis B surface antigen subtype: a prospective, long-term, follow-up study of Japanese residents of Okinawa, Japan with chronic hepatitis B virus infection. *Am J Trop Med Hyg* 60; 616-622: 1999
- 63) Kato Y, Nakao K, Hamasaki K, et al: Spontaneous loss of hepatitis B surface antigen in chronic carriers, based on a long-term follow-up study in Goto Islands, Japan. *J Gastroenterol* 35; 201-205: 2000
- 64) Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, et al: Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology* 13; 627-631: 1991
- 65) Da Silva LC, Madruga CL, Carrilho FJ, et al: Spontaneous hepatitis B surface antigen clearance in a long-term follow-up study of patients with chronic type B hepatitis. Lack of correlation with hepatitis C and D virus superinfection. *J Gastroenterol* 31; 696-701: 1996
- 66) Chu CM, Liaw YF: HBsAg seroclearance in asymptomatic carriers of high endemic areas: appreciably high rates during a long-term follow-up. *Hepatology* 45; 1187-1192: 2007
- 67) Liaw YF, Chen YC, Sheen IS: Spontaneous clearance of hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection confers a favorable response. *Hepatology* 29; 296-297: 1999
- 68) Fattovich G, Giustina G, Sanchez-Tapias J, et al: Delayed clearance of serum HBsAg in compensated cirrhosis B: relation to interferon alpha therapy and disease prognosis. *European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP)*. *Am J Gastroenterol* 93; 896-900: 1998
- 69) Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, et al: Long-term outcome after hepatitis B surface antigen seroclearance in patients with chronic hepatitis B. *Am J Med* 119; 9-16: 2006
- 70) Huo TI, Wu JC, Lee PC, et al: Sero-clearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. *Hepatology* 28; 231-236: 1998
- 71) Lok AS, McMahon BJ: Chronic hepatitis B. *Hepatology* 45; 507-539: 2007
- 72) Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, et al: Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 351; 1521-1531: 2004
- 73) Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, et al: Efficacy of lamivudine for preventing hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: A multicenter retrospective study of 2795 patients. *Hepatol Res* 32; 173-184: 2005

(論文受領, 平成 19 年 7 月 10 日)
 (受理, 平成 19 年 7 月 11 日)

<原 著>

B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患における肝USスコアを用いた肝癌発生率の推定

西浦 哲哉¹⁾ 渡辺 秀明¹⁾ 河野 義彦¹⁾ 伊東 正博¹⁾³⁾
 長岡 進矢³⁾ 大畑 一幸³⁾ 矢野 公士^{3)*} 藤本 俊史²⁾³⁾
 八橋 弘³⁾ 松岡陽治郎²⁾ 石橋 大海³⁾

要旨: 【目的】肝臓の辺縁, 表面, 実質の各項目を超音波検査にて評価し, 各項目をスコア化して求めた肝USスコアがB型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患の肝癌発生率の推定において有用であるかどうか検討する. 【方法】B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患 (HBV-CLDs) 患者 376 例を対象とし, 肝USスコア <6.0, ≥6.0 かつ <7.0, ≥7.0 群とに分類し肝癌発生率を検討した. 【結果】Kaplan-Meier 法にて求めた発癌発生率曲線で, <6.0 群からの発癌率は 1.3%, ≥6.0 かつ <7.0 群からは 2.0%, ≥7.0 群からは 5.0% と肝癌発生率に差を認めた. また, 多変量解析による肝発癌因子の解析では, 肝USスコア ≥7.0 が $p=0.0173$, ハザード比 6.046 と, 検討した全ての因子に比し最もハザード比が高く有意であった. 【結論】HBV-CLDs の肝癌発生予測において肝USスコアは簡便且つ有用な発癌の予測因子となりうる.

索引用語: B型肝炎ウイルス 肝細胞癌 超音波 高周波プローブ

はじめに

我が国においては, 肝細胞癌 (HCC) の 95% は, C型肝炎ウイルス, あるいは B型肝炎ウイルスの持続感染に基づく慢性肝炎, 肝硬変から発生している, 肝細胞癌症例の内訳では 75~80% が C型肝炎ウイルスの持続感染者からの, 10~15% が B型肝炎ウイルスの持続感染者からの発症とされている¹⁾. HBV 持続感染者は HCC 進展のハイリスク群であり, 年間肝癌発生率は, 無症候性キャリアで 0.1%, 慢性肝炎 (F1~F3) で 0.5~1.0%, 肝硬変 (F4) では 2.5~10.0% の発癌率があると推定されている^{2)~5)}.

肝硬変の確定診断においては通常肝生検で得られた組織標本の病理学的検索により評価されるが, 肝生検は腹腔内出血をはじめとして種々の偶発症を併発する可能性がある侵襲的な検査であり, 外来で簡便に実施

できる検査ではない. しかも, 明らかな肝硬変症例に対しての肝生検は通常行われないので, 肝硬変に至った症例間での肝癌発生率の差異についての報告はみられない. 超音波検査は, HCC をはじめとして肝腫瘍の診断に必須の診断技術である. び慢性肝疾患の診断に関しても, 肝硬変あるいは慢性肝炎の診断法として種々の評価法^{6)~10)}が報告されているが, 線維化ステージ診断に関しては有用かつ客観的な評価法は確立していなかった. 我々は, 肝臓の辺縁, 表面, 実質の各項目を超音波診断装置を用いて評価し, 各項目をスコア化して総合点を肝USスコアとし, 肝生検病理組織線維化診断 (新犬山分類) との相関を求めた. その結果, 両者に良好な相関を得ることができ, 慢性肝疾患の簡便で客観的な線維化ステージ分類が超音波診断で肝USスコアを使用することにより可能であることを報告した¹¹⁾. 今回, 腹部超音波検査にて経過観察を行うことが可能であった B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患患者 376 例を対象とした肝癌発生率の非侵襲的かつ簡便な予測において, 我々が提唱している肝USスコアによる評価法 (Nishimura et al., 2005) が有用であるかどうかを検討した.

1) 国立病院機構長崎医療センター研究検査科

2) 国立病院機構長崎医療センター放射線科

3) 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター

*Corresponding author: kyano-kkr@umin.ac.jp

<受付日2006年12月15日><採択日2007年4月3日>

対象と方法

2002年3月から2006年5月の約4年2カ月間に、国立病院機構長崎医療センターで腹部超音波検査を行ったB型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患患者376例(男性235例,女性141例,平均年齢48.4歳)を対象とした。観察期間は4.0~49.9カ月(平均29.4カ月)である。

使用した超音波診断装置はATL社製HDI-5000-sonoCTで、プローブは低周波コンベックスプローブC5-2(周波数2~5MHz)と高周波リニアプローブL12-5(周波数5~12MHz)を用いた。肝臓超音波所見の評価は、既報の肝USスコア¹¹⁾に従い、肝辺縁の鈍化の程度、肝実質エコー密度の粗造化の程度、肝表面不整度の3項目について以下のように分類した。肝辺縁の鈍化の程度は、肝辺縁が先鋭のものをgrade-0、先端部分だけが鈍化したものをgrade-1、全体に丸みを帯びたものをgrade-2と定義分類した。肝表面不整度の判定は、高周波・低周波プローブ両方ともに肝表面エコーが平滑なものをgrade-0、高周波プローブにて明らかな不整所見を認めるが低周波プローブでは明らかな不整所見を観察されないものをgrade-1、高周波・低周波プローブ両方ともに肝表面に不整所見を認めるものについて低周波プローブによる観察で軽度から中等度の不整所見を認めるものをgrade-2、高度の肝表面凹凸不整所見を認めるものをgrade-3と定義し分類した。肝実質のエコー密度については、高周波・低周波プローブ両方ともに肝実質が均一なものをgrade-0、高周波プローブにて肝実質に明らかな粗造化所見を認めるが低周波プローブでは明らかな粗造化所見は認めないものをgrade-1、高周波・低周波プローブ両方ともに粗造化所見を認めるものについて低周波プローブによる観察で軽度から中等度の不整所見を認めるものをgrade-2、高度の肝実質粗造化所見を認めるものをgrade-3と定義し分類した。所見は肝右葉、左葉別に評価し、grade-0を0点、grade-1を1点、grade-2を2点、grade-3を3点とし、3項目の点数を合計した、この左右別合計点の平均値を肝USスコアの値とした。肝USスコアの値は初診時の値を用いた。超音波所見の判定は日本超音波医学会の認定超音波検査士で、腹部超音波検査を5年以上経験したものの2名で行い、全てダブルチェックを行った。判定が分かれる症例やエコーウインドウが取れず判定が難しいものは、今回の研究対象から除外した。肝癌の診断は、3カ月間隔で超音波ないし造影CTを行い、いずれかで腫瘍が疑われた場合には、相互に検討を行い、必要に応じて腫瘍生検による確定診断を行った。解析方

法については、観察期間(月)、肝臓超音波所見、および肝癌発生の有無を算出し肝癌発生率を評価した。肝臓超音波所見の値により群分けし、各群ごとの肝癌発現曲線をKaplan-Meier法を用いて作成して肝癌発生率を推定した。これらの群間における肝癌発生率の有意差検定はLog rank testを用いた。

また、肝発癌に寄与する因子の解析目的のため、血小板数、血清生化学値(血清アルブミン値、総コレステロール値、T-Bil, ALT, AFP)、B型肝炎ウイルスマーカー(HBeAg, HBV-DNA)、性別、年齢および肝臓超音波所見について、比例ハザードモデル(Coxの回帰モデル)を用いて多変量解析をおこない検討した。

結果

1. 肝臓超音波所見の各因子の発癌率比較

肝USスコアを構成する各因子(肝辺縁の鈍化の程度、肝実質エコー密度の粗造化の程度、肝表面不整度の3項目)について観察数などから中央値(grade-2)を用いて2分しgrade-2より小を低値群、grade-2以上を高値群とし発癌率を比較検討した。Log rank testによる有意差検定では、肝臓辺縁($p=0.0017$)、表面($p<0.0001$)、実質($p=0.0011$)といずれも有意に発癌との関係を認めた。

2. 肝USスコア別の発癌

観察期間中に、対象症例のうち22例(5.8%)に肝癌発生を認めた。また発癌例全て飲酒歴のある症例は無かった。発癌例の平均年齢は55.6歳(35~81歳)、非発癌例354例の平均年齢は47.9歳(11~83歳)であった。観察期間中の肝USスコア別の発癌例は、肝USスコアが0~2.5までの症例(0/115例)(平均観察期間26.4カ月)には認められず、3.0~3.5では1/50例(2.0%)(平均観察期間33.0カ月)、4.0~4.5では2/42例(4.8%)(平均観察期間29.1カ月)、5.0~5.5では0/33例(0%)(平均観察期間32.5カ月)、6.0~6.5では4/53例(7.5%)(平均観察期間28.7カ月)、7.0~7.5では8/48例(16.7%)(平均観察期間32.1カ月)、8では7/35例(20.0%)(平均観察期間28.8カ月)であった(Fig.1)。

3. 肝USスコア ≥ 6.0 (肝硬変群)および < 6.0 (非肝硬変群)間での発癌率比較

以前我々が行った進行慢性肝炎(F3)と肝硬変(F4)の判別における肝USスコアの検討¹²⁾で、肝USスコア6.0以上での肝硬変(F4)の陽性感度、特異度、陽性尤度比は、それぞれ98%、91%、11.05と良好な結果であった。この結果をもとに肝USスコア6.0以上と6.0未満とに2分し検討した。観察数は肝USスコア < 6.0 が240

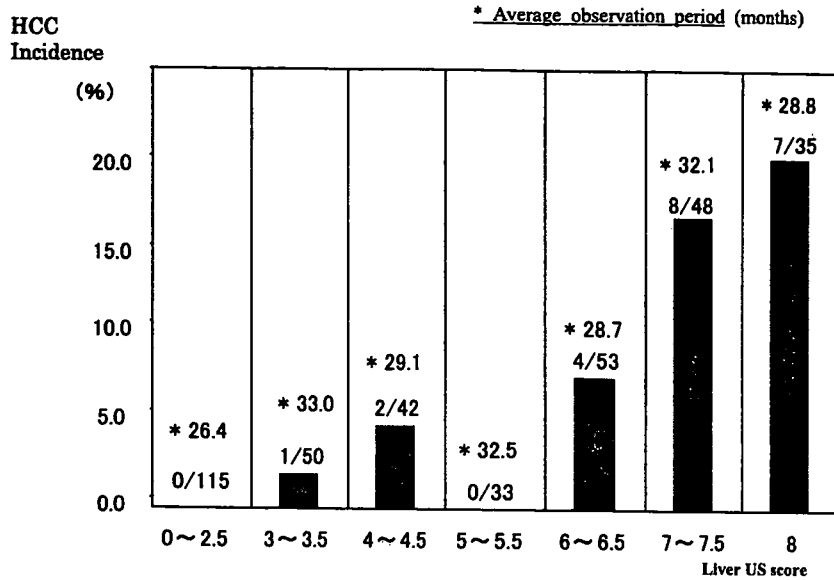


Fig. 1 Incidence of HCC according to the US score.

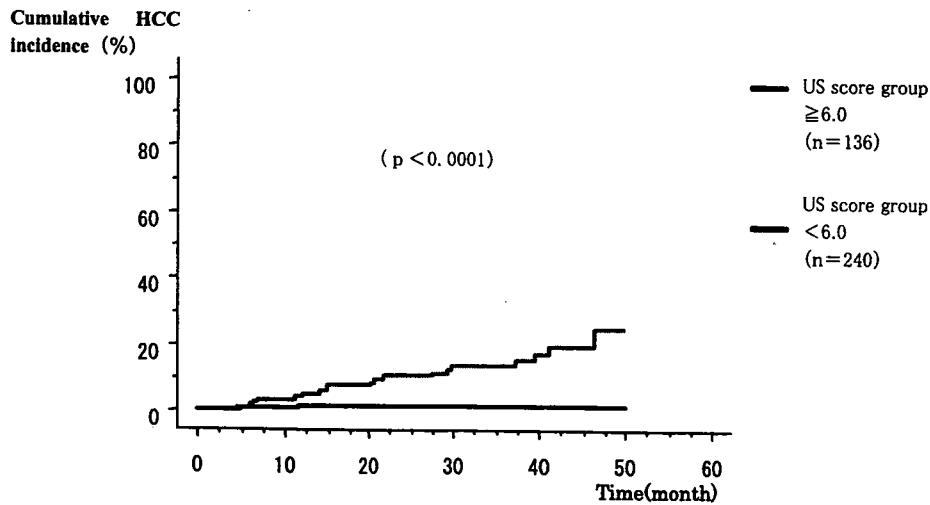


Fig. 2 The accumulated occurrence rate of HCC according to the grading of the US score. score < 6.0 and score \geq 6.0.

例, ≥ 6.0 が 136 例であり, 肝癌発生数は肝 US スコア < 6.0 が 3/240 例 (1.3%), ≥ 6.0 が 19/136 例 (13.9%) であった. 肝癌発生曲線を Fig. 2 に示す. 肝 US スコア ≥ 6.0 は < 6.0 に比べ有意に発癌率が高く, 両群間に有意な差を認めた. ($p < 0.0001$). また年率発癌率は肝 US スコア < 6.0 で 1.3%, ≥ 6.0 で 3.9% であった.

4. 肝 US スコア < 6.0 (非肝硬変群), ≥ 6.0 かつ < 7.0 (肝硬変低値群), ≥ 7.0 (肝硬変高値群) の 3 群間における発癌率比較

肝癌発生率が高値を示した肝 US スコア ≥ 6.0 (肝硬変群) について, < 7.0 を肝硬変低値群, ≥ 7.0 を肝硬変

高値群とに 2 分し, 3 群に分け検討した. 観察数は肝 US スコア < 6.0 が 240 例, ≥ 6.0 かつ < 7.0 が 53 例, ≥ 7.0 が 83 例であり, 肝癌発生数は肝 US スコア < 6.0 が 3/240 例 (1.3%), ≥ 6.0 かつ < 7.0 が 4/53 例 (7.5%), ≥ 7.0 が 15/83 例 (18.0%) であった. 3 群における肝癌発生曲線を Fig. 3 に示す. 3 群に層別化が可能であり, 肝 US スコア < 6.0 よりも ≥ 6.0 かつ < 7.0, 肝 US スコア ≥ 6.0 かつ < 7.0 よりも ≥ 7.0 において発癌率が高い傾向が認められた. 各群間の Log rank test では, 肝 US スコア < 6.0 と ≥ 7.0 では $p < 0.0001$, また < 6.0 と ≥ 6.0 かつ < 7.0 では $p = 0.0057$ と有意差を認めた. しかし \geq

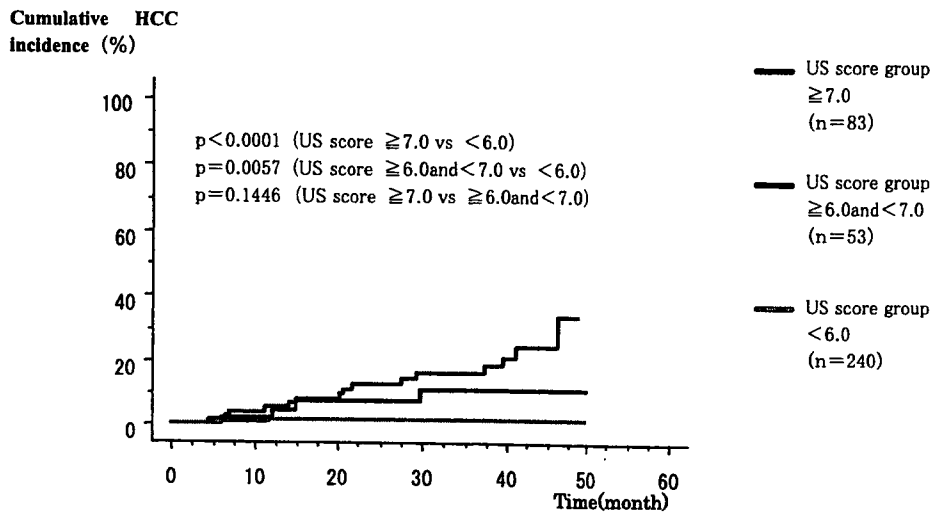


Fig. 3 The accumulated occurrence rate of HCC according to the grading of the US score. score < 6.0, and (score ≥ 6.0 and < 7.0), and score ≥ 7.0 .

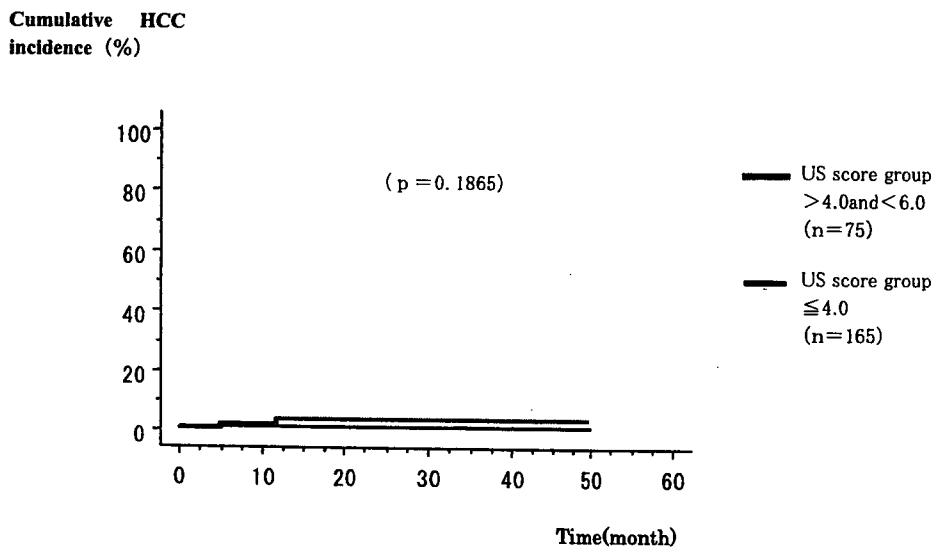


Fig. 4 The accumulated occurrence rate of HCC according to the grading of the US score. score ≤ 4.0 , and (score > 4.0 and < 6.0).

6.0 かつ < 7.0 と ≥ 7.0 では $p = 0.1452$ と差を認めなかった。また、年率発癌率は肝 US スコア < 6.0 からは 1.3%、 ≥ 6.0 かつ < 7.0 からは 2.0%、 ≥ 7.0 からは 5.0% であった。

5. 肝 US スコア < 6.0 (非肝硬変群) における発癌率検討

肝 US スコア < 6.0 (非肝硬変群) においては、観察数や発癌例などから肝 US スコア ≤ 4.0 と > 4.0 に 2 分し検討した。観察数は肝 US スコア ≤ 4.0 が 165 例、> 4.0 かつ < 6.0 が 75 例であり、肝癌発生数はスコア ≤ 4.0 が 1/165 例、スコア > 4.0 かつ < 6.0 が 2/75 例であった。

肝癌発生曲線を Fig. 4 に示す。2 群間の発癌曲線では、有意な差は認めなかった。

6. 肝発癌に寄与する因子の解析

肝発癌に寄与する因子の解析目的で、血小板数、血清生化学値(血清アルブミン値、総コレステロール値、T-Bil, ALT, AFP)、B型肝炎ウイルスマーカー(HBeAg, HBV-DNA)性別、年齢および肝 US スコア(3 群)の 11 項目に関し、多変量解析をおこなった結果、肝発癌に寄与する因子 ($p < 0.05$) としては、肝 US スコア [($p = 0.0173$, ハザード比 6.046), ($p = 0.0334$, ハザード比 5.769)], 性別(男性 > 女性, $p = 0.0442$, ハザード

Table 1 Multivariate analysis for factors independently associated with HCC occurrence

		Hazard Ratio	95%CI	P value
Sex	Female	1	1.032-11.004	0.0442
	Male	3.370		
Age (yr)	< 65	1	0.549-7.030	0.2989
	≥ 65	1.965		
Albumin (g/dl)	≥ 4.3	1	0.555-8.371	0.2669
	< 4.3	2.156		
Total Cholesterol (mg/dl)	≥ 180	1	0.253-1.979	0.5099
	< 180	0.708		
Total bilirubin (mg/dl)	< 1.0	1	0.183-1.479	0.2203
	≥ 1.0	0.520		
ALT (IU/L)	< 40	1	0.173-1.212	0.1160
	≥ 40	0.459		
PLT ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	≥ 15	1	0.454-7.570	0.3900
	< 15	1.854		
AFP (ng/ml)	< 30	1	1.036-8.669	0.0427
	≥ 30	2.997		
HBeAg	(-)	1	0.444-3.223	0.7226
	(+)	1.197		
HBVDNA (Logcopies/ml)	< 5.0	1	1.170-14.996	0.0277
	≥ 5.0	4.189		
US Score	< 6.0	1	1.148-28.994	0.0334
	≥ 6.0, < 7.0	5.769		
	≥ 7.0	6.046		

ド比 3.370), AFP 30 以上 ($p=0.0427$, ハザード比 2.997) および HBV-DNA 5.0 以上 ($p=0.0277$, ハザード比 4.189) の 4 項目であった (Table 1). また血小板数および血清アルブミン値は, 今回の検討では中央値を用いて層別化した, 肝硬変を考慮して血小板数を $10 \times 10^4/\text{mm}^3$, 血清アルブミン値を 3.5g/dl にて層別化し検討したが発癌リスクとしては残らなかった.

肝 US スコアと同一条件で肝臓超音波所見の各因子 (肝臓辺縁, 表面, 実質) それぞれについて多変量解析 (中央値 grade-2 で層別化) を行った結果, 肝臓辺縁 $p=0.1043$, 肝実質 $p=0.0985$, 肝表面 $p=0.0398$, ハザード比 3.785 であり, 肝表面因子で発癌との関連が観測された.

考 察

今回の検討では肝 US スコア 6.0 未満の“非肝硬変群”からの年間発癌率は 1.3%, また肝 US スコア 6.0 以上の“肝硬変群”からは 3.9% であった. また Log rank test

による有意差検定でも $p<0.0001$ と有意差が得られ肝 US スコアによる簡便な発癌率の推定に有用であることが示された. さらに今回は, 肝 US スコアにおける“肝硬変群” (肝 US スコア 6.0 以上) について ≥ 6.0 かつ < 7.0 を肝硬変低値群, ≥ 7.0 を肝硬変高値群と群分けし発癌曲線を検討した結果, 発癌曲線において明らかな差を認め, 肝硬変低値群からは 2.0%, 肝硬変高値群からは 5.0% という年間発癌率の違いが得られた. この肝硬変低及び高値両者間の Log rank test による解析では両群間に差を認めなかったが, 肝 US スコア“肝硬変群”での肝癌発生例において, スコア 6.0~6.5 の 4/53 例 (7.5%) に比し, スコア 7~7.5 では 8/48 (16.7%) と発癌率が高く, 特に肝 US スコア 8.0 という肝生検を行うまでもなく肝硬変と診断がつくような高度の超音波所見を示した症例においては 7/35 例 (20.0%) と肝癌発生率が最も高く, 肝 US スコアが上昇するに従い発癌率が上昇する傾向があるのは明らかであり, 病理組織学的に分

類困難な肝硬変群の発癌率を肝USスコアを用いることで推定できる可能性があると考えられた。非侵襲的かつ簡便に肝硬変群を分類判定し、肝USスコア高値群をハイリスク群として短期間隔で定期スクリーニングすることで、早期にHCCを検出し、治療を行いうる機会が増えるものと思われる。

以前の検討において慢性肝障害患者における肝実質エコー所見がHCC発生の危険因子となるという報告¹³⁾¹⁴⁾があるが、今回の検討では肝臓超音波所見の各因子の発癌率比較においてgreade-2以上を高値群とし発癌率を比較検討した結果、3項目(肝辺縁鈍化、肝実質エコー密度の粗造化、肝表面不整度)とともに両群間に有意な差を認め統計学的有意差も得られたことから肝実質エコー所見のみならず肝辺縁や表面の超音波所見も肝癌発生因子として重要である可能性が示された。また多変量解析において3項目のうち有意差が得られたのは肝表面所見($p=0.0398$, ハザード比3.785)のみであり、B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患では肝表面の超音波所見も肝癌発生因子として重要であると考えられた。今回の検討においては、これら3項目の肝臓超音波所見の各因子を統合し算出した肝USスコアが【($p=0.0173$, ハザード比6.046), ($p=0.0334$, ハザード比5.769)】と全ての因子に比し最もハザード比が高く、肝癌発生予測において極めて重要な因子であると考えられた。

HBV感染に伴う肝細胞癌ではHCV感染に比較して、肝病変の軽微な状態に肝細胞癌が発生する危険も少ないことが指摘されている¹⁵⁾。我々が以前行ったC型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患における肝USスコアを用いた肝癌発生率の検討では、慢性肝炎レベル(F1~3)を示す肝USスコア6.0未満において、肝USスコア ≤ 4.0 と >4.0 との2群間の比較において、明らかな発癌曲線の差を認め、慢性肝炎レベルにおいても肝線維化上昇(USスコア上昇)とともに発癌率が直線的に上昇することが示されている(投稿中)。しかしB型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患においては、発癌曲線に統計学的有意差は得られなかった。このことから、B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患では肝硬変群と非肝硬変群との発癌率の違いは明らかであるが、非肝硬変群において新犬山分類による肝線維化にともなって直線的に発癌率が上昇するとは限らないと考えられる。

肝癌に関連する因子として、肝臓超音波所見以外には、性別(男性>女性)、AFP高値、HBV-DNA高値がHCCとの関連が強いことが示された。その中でもHBV-DNA高値は肝癌に関連する因子として重要であるとの

報告がある¹⁶⁾が、今回の検討でも肝USスコアに次いでハザード比4.189と高く、B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患においては重要な肝癌発現因子であると考えられた。

肝USスコア算出は超音波機器の性能に依存する可能性があり、異なる機器でどの程度再現性のあるスコア値が算出されるかどうかは今のところ不明である。しかしながら、高周波と低周波のプロブを使い分けることにより客観性が増し検査者間の誤差が少なくなることは以前の検討¹¹⁾で明らかになっており、同一施設内で同一の検査者が同一機器で観察することにより十分な再現性が期待できると考えられる。また、超音波検査は非侵襲的検査であるため、より多数の症例を対象とすることができ、より緻密な発癌率の解析が行えると思われる。今回は初診時の肝USスコアのみについての検討を行ったが、今後スコアの経時的変化による肝癌発生率の検討を加味した研究も必要と思われる。

結 論

B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患患者の肝USスコア別の肝癌発生率の検討にて、肝USスコア <6.0 (非肝硬変群)からの年率発癌率は1.3%、 ≥ 6.0 (肝硬変群)では3.9%であった。さらに ≥ 6.0 (肝硬変群)において、 <7.0 からは2.0%、 ≥ 7.0 からは5.0%と肝癌発生率に差を認めた。また今回検討した項目に関して肝癌発生に寄与する因子としては肝USスコア高値が最も大きく、B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患の肝癌発生予測において肝USスコアは有用であると考えられた。

文 献

- 1) 第17回全国原発性肝癌追跡調査報告(2002~2003), 日本肝癌研究会編, 日本肝癌研究会肝癌追跡調査委員会, 京都, 2006, p45-46
- 2) Ikeda K, Saitoh S, Koida I, et al. A multivariate analysis of risk factor for hepatocellular carcinoma—A prospective observation of 795 cases with viral and alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 1993; 18: 47-53
- 3) Ikeda K, Saitoh S, Suzuki Y, et al. Interferon decreases hepatocellular carcinogenesis in patients with cirrhosis caused by the hepatitis B virus: a pilot study. *Cancer* 1998; 82: 827-835
- 4) Merican I, Guan R, Amarapuka D, et al. Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 1356-1361

- 5) Chu CM. History of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 25—30
- 6) Hung C-H, Lu S-N, Wang J-H, et al. Correlation between ultrasonographic and pathologic diagnoses of hepatitis B and C virus-related cirrhosis. *J Gastroenterol* 2003; 38: 153—157
- 7) Khan KN, Yamasaki M, Yamasaki K, et al. Proposed abdominal sonographic staging to predict severity of liver diseases: analysis with peritoneoscopy and histology. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 554—564
- 8) Gaiani S, Gramantieri L, Venturoli N, et al. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. *J Hepatol* 1997; 27: 979—985
- 9) Simonovsky V. The diagnosis of cirrhosis by high resolution ultrasound of the liver surface. *Br J Radiol* 1999; 72: 29—34
- 10) Ferral H, Male R, Cardiel M, et al. Cirrhosis: diagnosis by liver surface analysis with high-frequency ultrasound. *Gastrointest Radiol* 1992; 17: 74—78
- 11) Nishiura T, Watanabe H, Ishibashi H, et al. Ultrasound evaluation of the fibrosis stage in chronic liver disease by the simultaneous use of low and high frequency probes. *Br J Radiol* 2005; 78: 189—197
- 12) 西浦哲哉, 渡辺秀明, 石橋大海, 他. 進行慢性肝炎 (F3) と初期肝硬変 (F4) の鑑別における肝 US スコアの有用性. *超音波医学* 2006; 33: 655—663
- 13) Fukuda H, Ebara M, Kobayashi A, et al. Parenchymal echo patterns of cirrhotic liver analysed with a neural network for risk of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 915—921
- 14) Tarao K, Hoshino H, Shimizu A, et al. Patients with ultrasonic coarse-nodular cirrhosis who are anti-hepatitis C virus-positive are at high risk for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1995; 75: 1255—1262
- 15) Noguchi K, Nakashima O, Nakashima Y, et al. Clinicopathologic study on hepatocellular carcinoma negative for hepatitis B surface antigen and antibody to hepatitis C virus. *Int J Nul Med* 2000; 6: 661—665
- 16) Ohata K, Hamasaki K, Toriyama K, et al. High viral load is a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 670—675

Prediction of the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection by an ultrasonographic fibrosis scoring system

Tetsuya Nishiura¹⁾, Hideaki Watanabe¹⁾, Yoshihiko Kouno¹⁾, Masahiro Ito¹⁾³⁾,
Shinya Nagaoka³⁾, Kazuyuki Ohata³⁾, Koji Yano³⁾*, Toshifumi Fujimoto²⁾³⁾,
Hiroshi Yatsuhashi³⁾, Yohjiro Matsuoka²⁾, Hiromi Ishibashi³⁾

Background/Aims: This study was aimed at seeing whether an ultrasonographic scoring system for fibrosis-related changes of edge, surface and texture of the liver would be useful to predict future development of hepatocellular carcinoma (HCC) in patients with hepatitis B virus-associated chronic liver disease (HBV-CLD). **Methods:** A total of 376 patients with HBV-CLD were evaluated by the US score at entry, and followed up prospectively (mean observation period was 29.4 months; 4.0-49.9) for the occurrence of HCC by US or helical CT at three-month intervals. **Results:** The annual incidence of HCC was 1.3%, 2.0%, and 5.0% in non-cirrhosis (US score < 6.0), mild cirrhosis (6.0-7.0) and severe cirrhosis (> 7.0), respectively. A multivariate proportional hazard model revealed that the middle and high US scores were independently associated with HCC occurrence ($p = 0.0334$, hazard ratio; 5.769 and $p = 0.0173$, hazard ratio; 6.046, respectively). **Conclusion:** The US scoring was clearly and strongly associated with the occurrence of HCC in patients with HBV-CLD. Such a scoring system is useful in the management of HBV-CLDs.

Key words: hepatitis B virus (HBV) hepatocellular carcinoma (HCC) ultrasonography
high frequency probe

Kanzo 2007; 48: 264—271

-
- 1) Clinical Laboratory, National Hospital Organization (NHO) Nagasaki Medical Center, Nagasaki, Japan
 - 2) Department of Radiology, National Hospital Organization (NHO) Nagasaki Medical Center, Nagasaki, Japan
 - 3) Clinical Research Center, National Hospital Organization (NHO) Nagasaki Medical Center, Nagasaki, Japan
- *Corresponding author: kyano-kkr@umin.ac.jp



高感度HCV抗原測定用試薬「ARCHITECT HCV Ag」の 基礎的・臨床的評価*

熊田博光¹⁾ 清澤研道²⁾ 小林万利子³⁾ 小山富子⁴⁾
田中榮司²⁾ 中尾瑠美子⁵⁾ 松本晶博²⁾ 安田清美⁶⁾
八橋 弘⁵⁾ 吉澤浩司⁷⁾ 飯野四郎⁶⁾

Key Words : HCV core antigen, chemiluminescent immunoassay, interferon therapy monitoring

はじめに

現在、わが国のC型肝炎ウイルス(hepatitis C virus : HCV)の感染者は約150~200万人存在すると推定されている。HCV感染では、感染のごく初期には自然経過でのウイルス排除が起こりうるが、約70%の感染者はキャリア化する。HCVキャリアは、自覚症状に乏しく自身の感染に気づかない患者も少なくない。一度C型慢性肝炎になると自然治癒することは稀であり、病変進行は比較的遅いものの、20~30年にわたる長期の持続感染で肝硬変や肝細胞癌へ進展する。現在その肝癌が日本人の死亡原因の第三位を占めるに至っているが、その成因の約80%がHCVによるものである。したがって、潜在的HCVキャリアを拾い出し、適切な治療を施してHCVを駆除することが肝硬変への進展を抑制し、ひいては肝癌発生率および肝癌による死亡率の低下につながる事となる。このため、わが国のC型

慢性肝炎および肝癌対策として平成14年度より老人保健法による住民検診などのC型肝炎ウイルス検診が導入され、現在HCVキャリアの掘り起こしが行われつつある。

一方、医療機関を受診したC型慢性肝炎患者に対しては主にHCVを生体内から排除する根治療法としてインターフェロン(IFN)による抗ウイルス療法が用いられている。この治療を効果的に行うためには治療開始前および治療期間中のHCV量を正確に把握することが重要であり、抗ウイルス療法の経過観察および治療効果判定には、主に血中のHCV RNA量によるモニタリングが汎用されている¹⁾。近年、IFNと併用することにより、より高い抗ウイルス効果が得られることが確認されたPeg-IFN α 2b/リバビリン併用療法が保険適応(2004年12月)となり、治療の場導入された。このような新たな治療方法の広がりに伴い、従来ではウイルス排除が困難であったジェノタイプ1bかつ高ウイルス量の難治性C型

* Evaluation of a highly sensitive chemiluminescent immunoassay "ARCHITECT HCV Ag" for HCV core antigen. (Received September 4, 2007; accepted September 14, 2007)

¹⁾ Hiromitsu KUMADA, M.D.: 国家公務員共済組合連合会虎の門病院肝臓センター〔〒105-8470 東京都港区虎の門2-2-2〕; Department of Hepatology, Toranomon Hospital, Tokyo 105-8470, JAPAN

²⁾ Kendo KIYOSAWA, M.D., Eiji TANAKA, M.D. & Akihiro MATSUMOTO, M.D.: 信州大学医学部消化器内科

³⁾ Mariko KOBAYASHI, B.S.: 国家公務員共済組合連合会虎の門病院肝臓研究室

⁴⁾ Tomiko KOYAMA, Ph.D.: 財団法人岩手県予防医学協会県南センター

⁵⁾ Rumiko NAKAO, M.S. & Hiroshi YATSUHASHI, M.D.: 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター

⁶⁾ Kiyomi YASUDA, M.D. & Shiro IINO, M.D.: 医療法人社団静山会清川病院内科

⁷⁾ Hiroshi YOSHIKAWA, M.D.: 広島大学大学院歯歯薬学総合研究科疫学疾病制御学

慢性肝炎患者に対しても抗ウイルス療法が適用されるようになり、高濃度域から低濃度域までの広い測定レンジをもつ測定法による正確な定量値が求められるようになった。このため現在では、高濃度域HCV RNA定量法(ハイレンジ法)がHCV RNA定量オリジナル法(従来法)とともに治療経過観察や効果予測に利用されている²⁾。

近年、HCV RNA定量法と同様の動きをする検査法としてHCVコア抗原測定法が開発³⁾され、HCV RNA定量法と良好な相関性を呈することから治療経過観察など臨床の場で利用されている⁴⁾⁵⁾。現在のHCVコア抗原測定法は、HCV RNA定量法に比較して測定値の再現性や測定に用いる検体の安定性などに優れている^{6)~8)}が、検出感度が十分とはいえない。さらに現在のHCVコア抗原測定法は、検体中のHCVからコア抗原を抽出し、共存する抗コア抗原抗体を変性・失活させる用手法による煩雑な検体前処理工程等が存在し、操作性などに問題を抱えている。

最近、従来のHCVコア抗原測定法に比較して高感度であり、検体前処理工程を含めて全工程が自動化された化学発光法(Chemiluminescent immunoassay: CLIA)を測定原理とした新たなHCVコア抗原測定試薬「ARCHITECT HCV Ag(以下、CLIA法)」(アボットジャパン株式会社)が開発された。今回われわれは多施設共同による研究会を組織して、この試薬の基礎的および臨床的評価を行ったので報告する。

対 象

1. 基礎的検討

測定内再現性検討には、2濃度(50 fmol/l, 300 fmol/l)の陽性コントロールを用いた。5日間にわたる測定間再現性(トータルCV)検討には、5濃度の陽性コントロールおよび陽性パネル血清(50~7,500 fmol/l)を用いた。

希釈感度および希釈直線性の検討には、HCV RNA陽性が確認された検体(3例)を正常人プール血清で等倍希釈して検討した。

2. 臨床的検討

(1)セロコンバージョン検体を用いた感染初期検体の検討

感染初期検体における感度の検討として米国

ZeptoMetrix社より購入した4ロットのHCVセロコンバージョンパネル血漿(以下、セロコンバージョンパネル)を用いた。

(2)対照法との検出率の比較

CLIA法と、対照法であるオースHCV抗原IRMA(オース・クリニカル・ダイアグノスティック株式会社、以下、IRMA法)、ルミスポット栄研HCV抗原(栄研化学株式会社、以下、CLEIA法)、およびアンプリコアGT HCVモニター(ロシュ・ダイアグノスティック株式会社、以下、RNA定量法)との検出率比較検討には、それぞれ388検体(清川病院の186例、信州大の73例、長崎医療センターの129例)、202検体(信州大の73例、長崎医療センターの129例)、617検体(清川病院の186例、信州大の73例、長崎医療センターの129例、虎の門病院の229例)のHCV RNA陽性検体を用いた。

(3)対照法との相関性検討

CLIA法とIRMA法、CLEIA法、およびRNA定量法との相関性試験には、各測定法の測定範囲内を示す385検体、186検体、735検体を用いた。

(4)抗ウイルス療法における治療経過観察および治療効果予測の検討

IFNによる抗ウイルス療法の治療経過観察および治療効果予測の検討には、清川病院、信州大学、長崎医療センターおよび虎の門病院にて抗ウイルス療法を受けた72症例、451採血ポイント(内治療開始直後2日までの46症例、212ポイント含む)を用いた。

(5)現行C型肝炎ウイルス検診検査との一致率および特異性検討

現行C型肝炎ウイルス検診検査との一致率および検診検体群における特異性検討には、岩手県予防医学協会にて2005年12月より2006年4月にかけてC型肝炎ウイルス検診を受けた5,027検体を用いた。

方 法

1. CLIA法

CLIA法は、アクリジニウム標識抗HCVコア抗原マウスモノクローナル抗体と磁性粒子(マイクロパーティクル)上に固相化された抗HCVコア抗原マウスモノクローナル抗体を使用したCLIAによるサンドイッチ法を原理としている(図1)。検

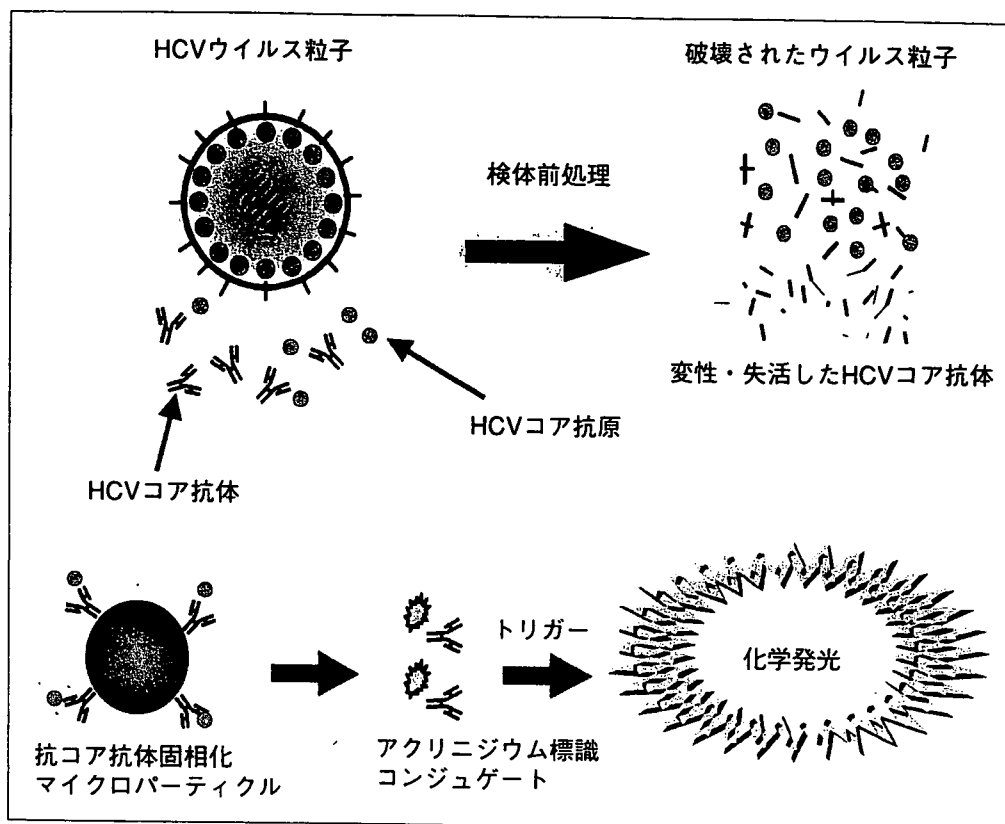


図1 CLIA法測定原理

体前処理を含めた測定に関わるすべてのステップは、ARCHITECT[®]アナライザーi2000で行われる。

まず、前処理液1および前処理液2により検体中のウイルス粒子の破壊、HCVコア抗原の抽出および検体中に存在するHCVコア抗体の不活化が行われる。次にアッセイ希釈液およびマイクロパーティクルを加えると、検体中のHCVコア抗原は、抗HCVコア抗原マウスモノクローナル抗体固相化磁性粒子と反応する。次にアクリジニウム標識抗HCVコア抗原マウスモノクローナル抗体を含むコンジュゲートを加えると、抗HCVコア抗原マウスモノクローナル抗体固相化磁性粒子-HCVコア抗原-アクリジニウム標識抗HCVコア抗原マウスモノクローナル抗体のサンドイッチ型の結合物を形成する。未反応のアクリジニウム標識抗HCVコア抗原マウスモノクローナル抗体を除去し、過酸化水素を含むプレトリガーおよびトリガーを加えると、アクリジニウムが化学反応により発光する。

発光量は、検体中に存在するHCVコア抗原量に比例するので、あらかじめ既知濃度の標準液を用いて作成した検量線から検体中のHCVコア

抗原濃度が自動的に算出される。

CLIA法のカットオフ値は3.00 fmol/lであり、測定上限は20,000 fmol/lである。なお20,000 fmol/lを超えるHCVコア抗原検体についてはARCHITECT[®]アナライザーでの自動希釈による測定が可能である。

2. IRMA法

IRMA法(カットオフ値: 20 fmol/l)の測定は、外部検査センターへ依頼し、同試薬添付文書に従い行われた。

3. CLEIA法

CLEIA法(カットオフ値: 20 fmol/l)の測定は、外部検査センターへ依頼し、同試薬添付文書に従い行われた。

4. HCV RNA測定

RNA定量法(カットオフ値: 0.5 KIU/ml)およびHCV RNA定性法(アンプリコアHCV v2.0; ロシュ・ダイアグノステック株式会社, 以下, RNA定性法)の測定は、外部検査センターへ依頼し、同試薬添付文書に従い行われた。

5. 統計解析

測定結果の有意差検定は、Student-t検定を用い