

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 抗体測定系に比較して感度、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て、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

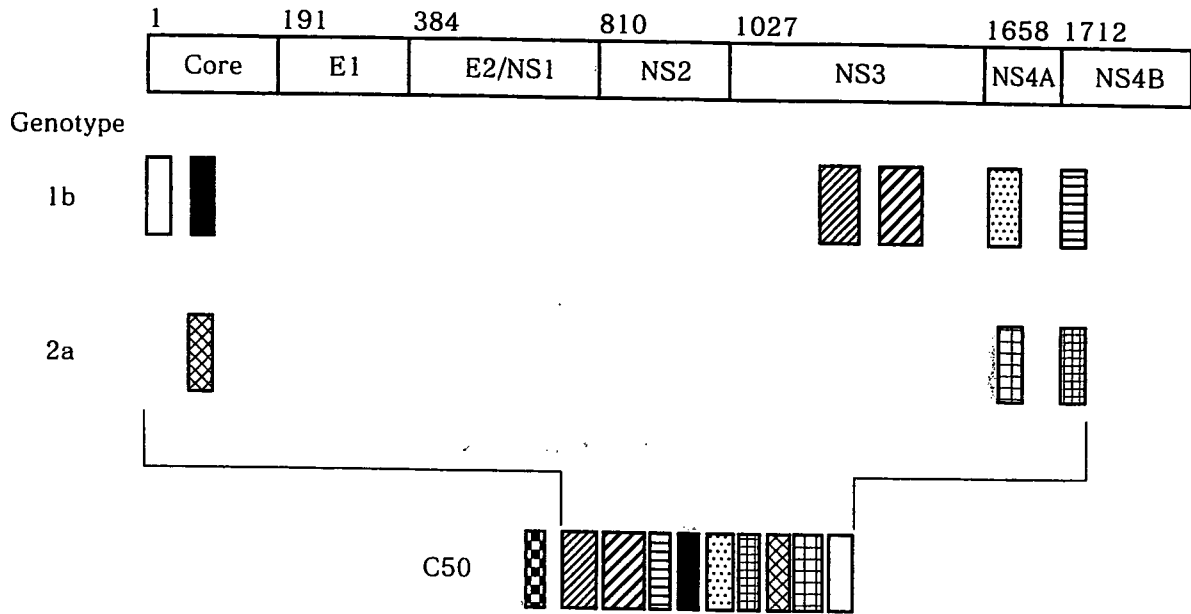
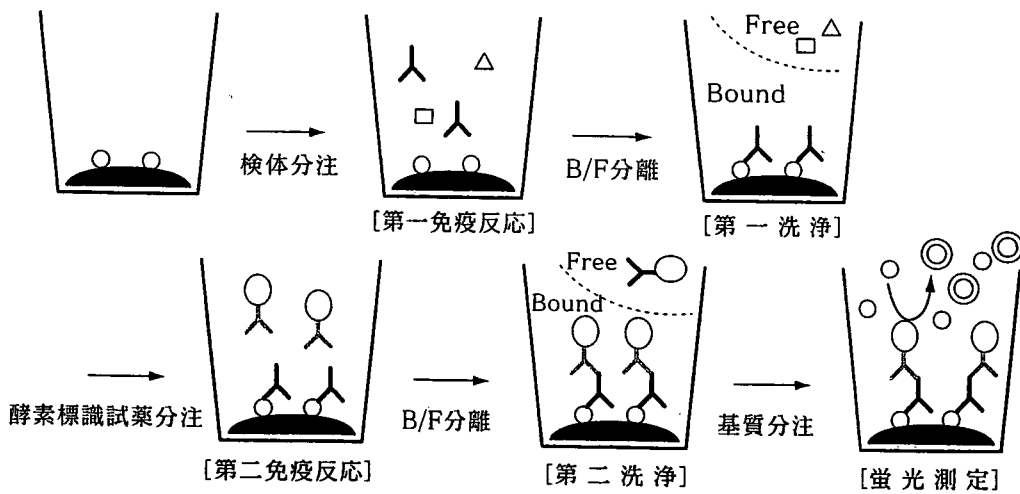


図1 C50抗原を構成するエピトープペプチドのHCVゲノム上の配置








-  : 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

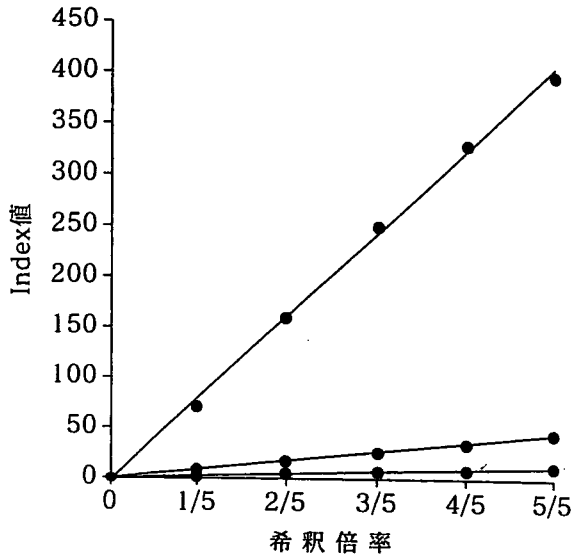


図 3 希釈直線性

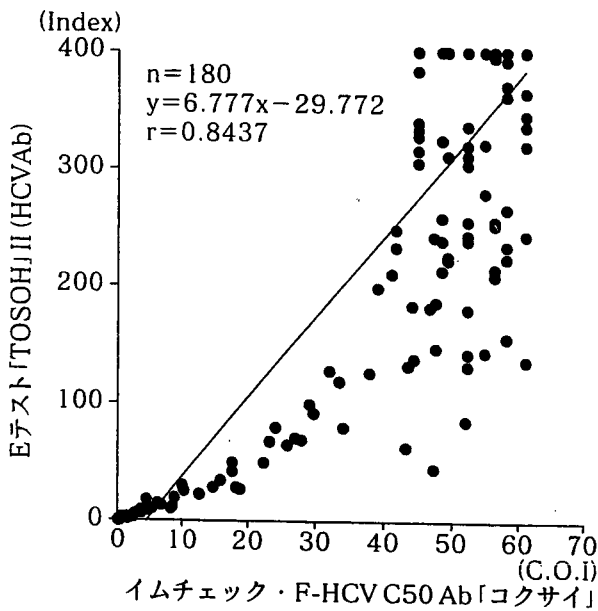


図 4 イムチェック・F-HCV C50 Ab「コクサイ」と E テスト「TOSOH」II (HCVA b) の相関

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 (HCVA b)	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 (HCVA b)		
		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)

6.777 x - 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、同じエピ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

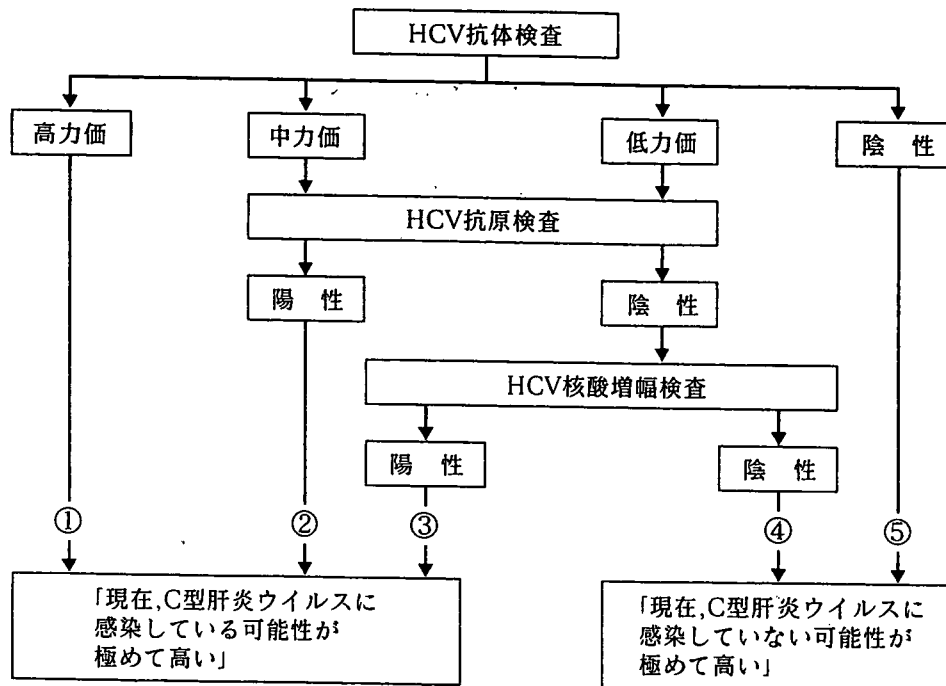


図 5 HCV 検診の手順 (平成 15 年度改訂)

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ならない。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. Yatsunashi (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。

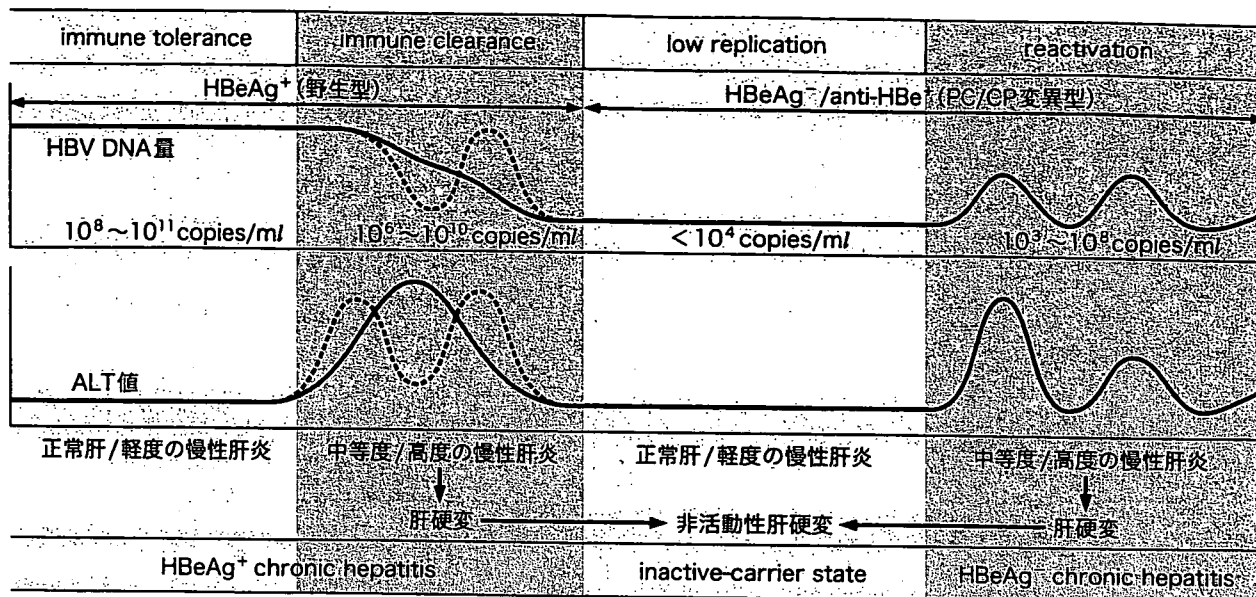


Fig. 1. HBV 持続感染者の自然経過

[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 抗原産生に参与する 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

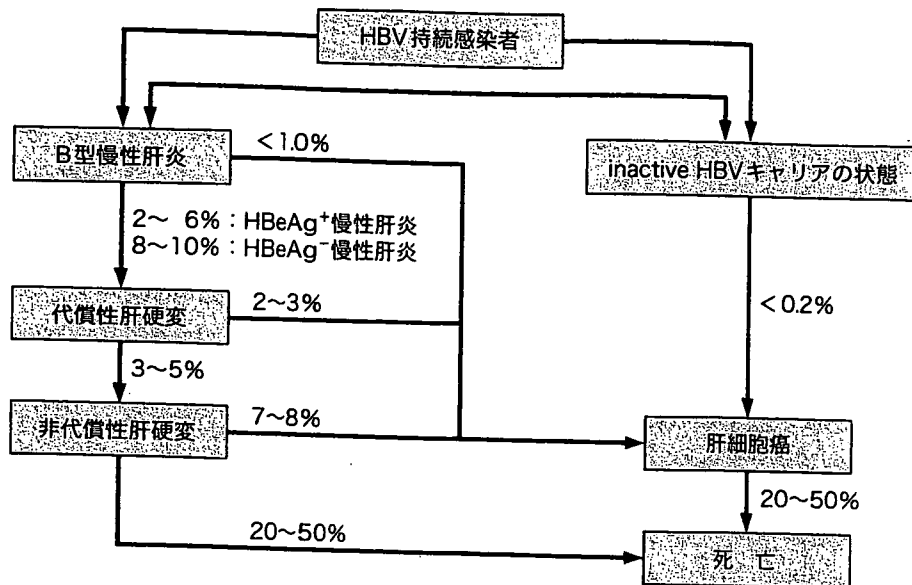


Fig. 2. HBV 持続感染者での年間肝病変進展率の推定

[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、HBs 抗体陽性の セロコンバージョン

immune clearance 期に、HBs 抗原陰性、HBs 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。HBs 抗原陰性、HBs 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して注目されている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

今月のテーマ ● B型肝炎の治療

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いわれている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)	(-)	(-)

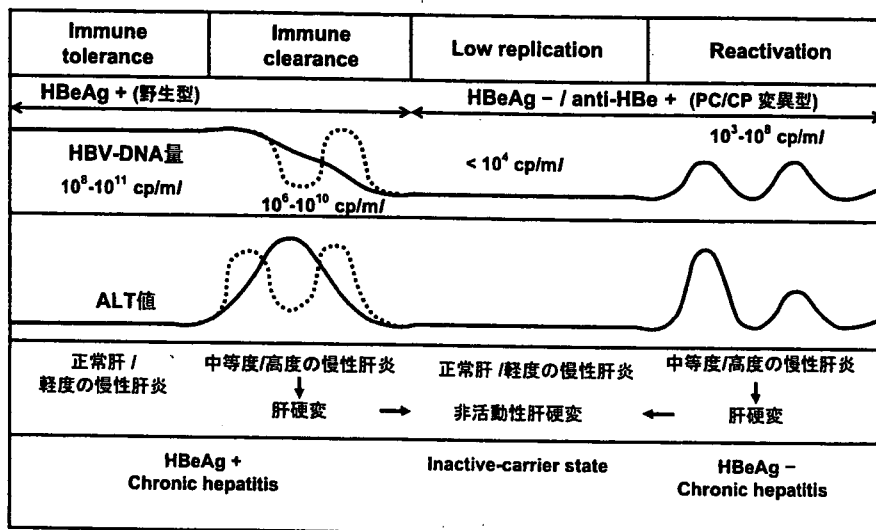


Figure 1. HBV 持続感染者の自然経過 (図は文献12を引用, HBV-DNA量は文献14の値を引用した.)

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 抗原産生に関与する 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、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*
HBV genotype (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⁾、肝硬変をともしない慢性肝炎で 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)}、肝硬変をともしない慢性肝炎で 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 2¹³⁾³²⁾ である。年間肝癌発生率は、Inactive carrier では 0.2% 以下、肝硬変をともしない慢性肝炎では 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。

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)、⑥ HBV 増殖が活発であること^{54)~57)}、⑦ HBV genotype が C タイプであること、⑧ Core 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*	HBV genotype (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.

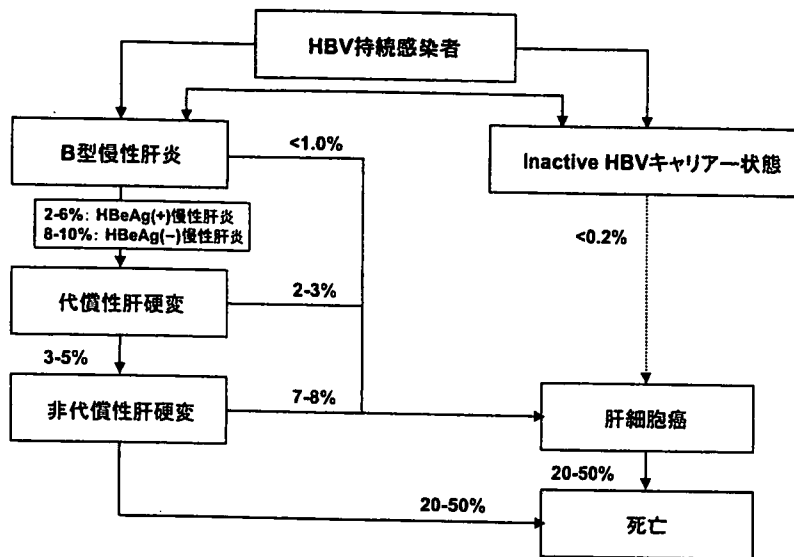


Figure 2. HBV 持続感染者での年間肝病変進展率の推定 (文献 13. 32 から引用)

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もし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止の可能性を示唆している。

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, 肝硬変をとまわらない者, 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 量測定の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