

- 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 )

&lt;原 著&gt;

## 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<sup>1)</sup> 渡辺 秀明<sup>1)</sup> 河野 義彦<sup>1)</sup> 伊東 正博<sup>1,3)</sup>  
 長岡 進矢<sup>3)</sup> 大畑 一幸<sup>3)</sup> 矢野 公士<sup>3)\*</sup> 藤本 俊史<sup>2,3)</sup>  
 八橋 弘<sup>3)</sup> 松岡陽治郎<sup>2)</sup> 石橋 大海<sup>3)</sup>

**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<sup>1)</sup>。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<sup>2)~5)</sup>。

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<sup>6)~10)</sup>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<sup>11)</sup>。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<sup>11)</sup>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は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 $\geq 6.0$ (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<sup>12)</sup>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

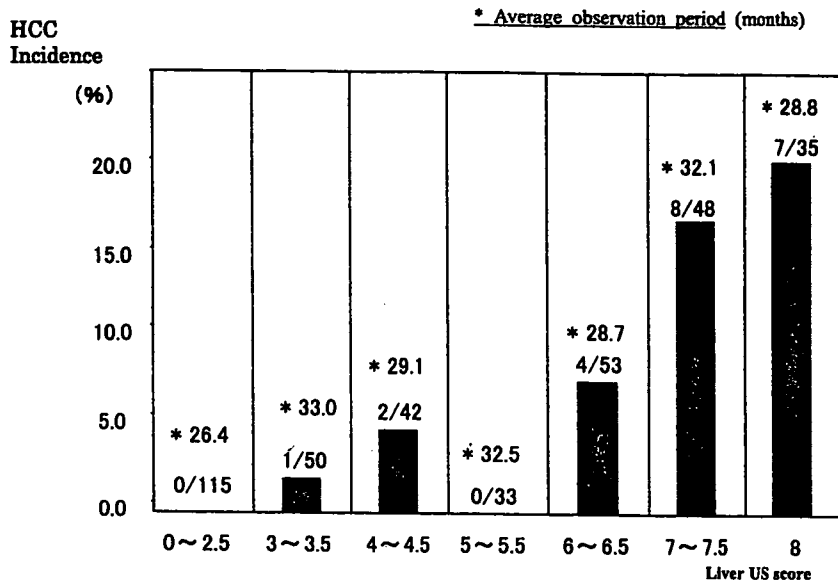


Fig. 1 Incidence of HCC according to the US score.

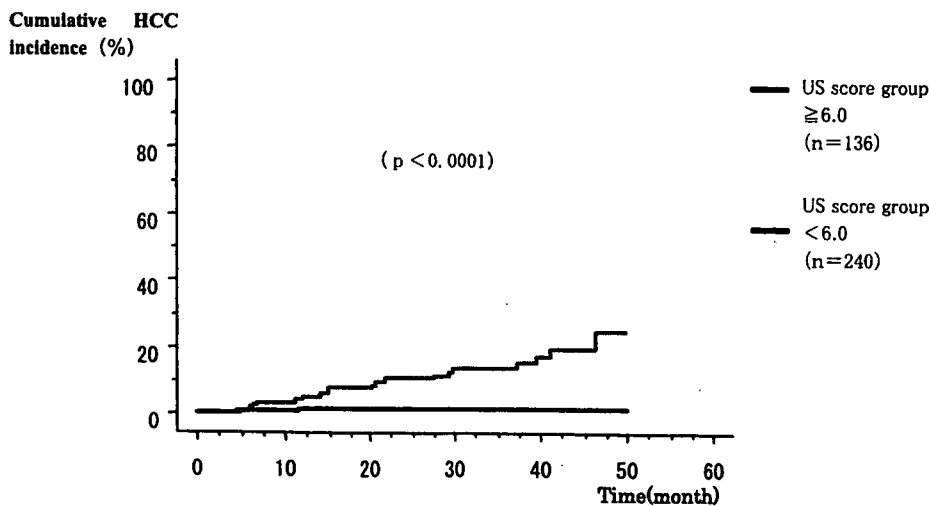


Fig. 2 The accumulated occurrence rate of HCC according to the grading of the US score. score < 6.0 and score ≥ 6.0.

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 ≥

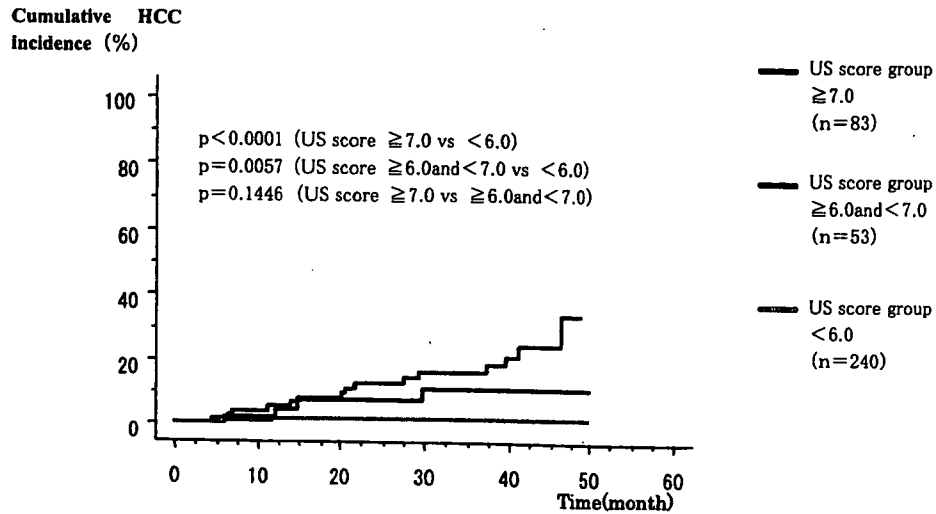


Fig. 3 The accumulated occurrence rate of HCC according to the grading of the US score. score < 6.0, and (score  $\geq 6.0$  and < 7.0), and score  $\geq 7.0$ .

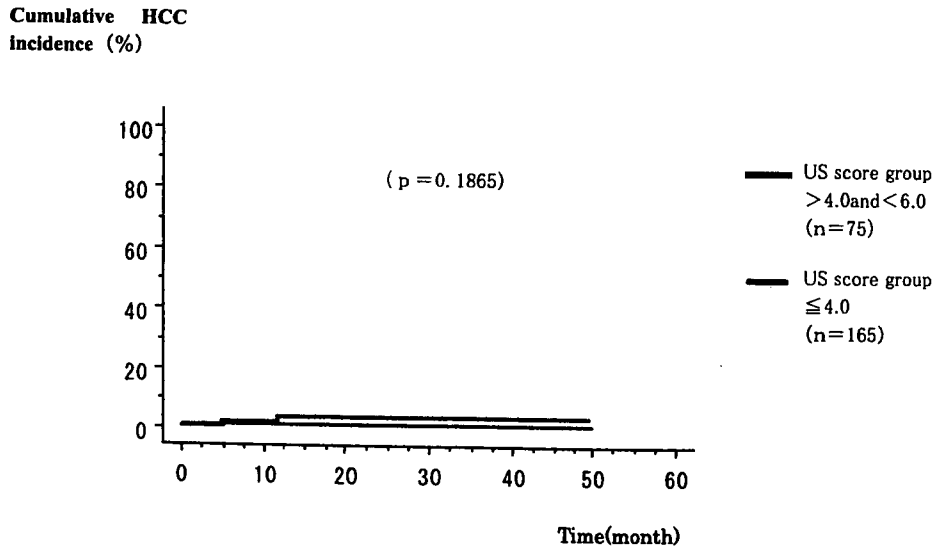


Fig. 4 The accumulated occurrence rate of HCC according to the grading of the US score. score  $\leq 4.0$ , and (score > 4.0 and < 6.0).

6.0 かつ < 7.0 と  $\geq 7.0$  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%,  $\geq 6.0$  かつ < 7.0 からは 2.0%,  $\geq 7.0$  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  $\leq 4.0$  と > 4.0 に 2 分し検討した。観察数は肝 US スコア  $\leq 4.0$  が 165 例、> 4.0 かつ < 6.0 が 75 例であり、肝癌発生数はスコア  $\leq 4.0$  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が, 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  $\geq 6.0$  かつ  $< 7.0$  を肝硬変低値群,  $\geq 7.0$  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”での肝癌発症例において, 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<sup>13)14)</sup>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grade-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<sup>15)</sup>。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 $\leq 4.0$ 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<sup>16)</sup>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ープ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<sup>11)</sup>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%、 $\geq 6.0$ (肝硬変群)では3.9%であった。さらに $\geq 6.0$ (肝硬変群)において、 $<7.0$ からは2.0%、 $\geq 7.0$ 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, Amarapura 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) Terao 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 Nephrol* 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 Nishiura<sup>1)</sup>, Hideaki Watanabe<sup>1)</sup>, Yoshihiko Kouno<sup>1)</sup>, Masahiro Ito<sup>1)3)</sup>,  
Shinya Nagaoka<sup>3)</sup>, Kazuyuki Ohata<sup>3)</sup>, Koji Yano<sup>3)\*</sup>, Toshifumi Fujimoto<sup>2)3)</sup>,  
Hiroshi Yatsunami<sup>3)</sup>, Yohjiro Matsuoka<sup>2)</sup>, Hiromi Ishibashi<sup>3)</sup>

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

**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<sup>1)</sup>。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 $\alpha$ 2b/リバビリン併用療法が保険適応(2004年12月)となり, 治療の場へ導入された。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)

<sup>1)</sup> 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

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

<sup>3)</sup> 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

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

<sup>5)</sup> 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

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

<sup>7)</sup> Hiroshi YOSHIZAWA, M.D.: 広島大学大学院医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<sup>2)</sup>。

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<sup>3)</sup>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<sup>4)5)</sup>。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<sup>6)~8)</sup>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、対照法であるオーソHCV抗原IRMA(オーソ・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

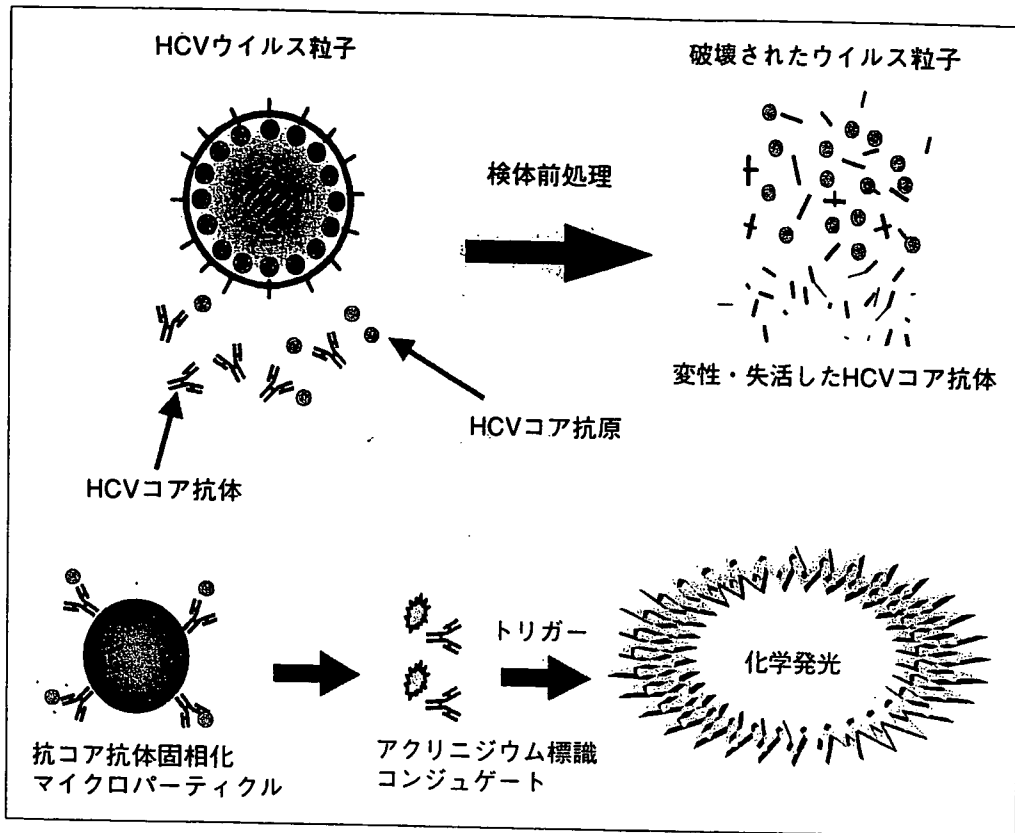


図1 CLIA法測定原理

体前処理を含めた測定に関わるすべてのステップは、ARCHITECT<sup>®</sup>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<sup>®</sup>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

表 1 CLIA法再現性

a. 測定内再現性(10重測定)

	陽性コントロール1 (50 fmol/l)	陽性コントロール2 (300 fmol/l)
CV(%)	3.9	5.4

b. 測定間再現性(トータルCV: 2重測定×2回測定×5日)

	陽性コントロール1 (50 fmol/l)	陽性コントロール2 (300 fmol/l)	低濃度パネル (60 fmol/l)	中濃度パネル (300 fmol/l)	高濃度パネル (7.500 fmol/l)
CV(%)	4.9	3.1	5.7	4.4	7.0

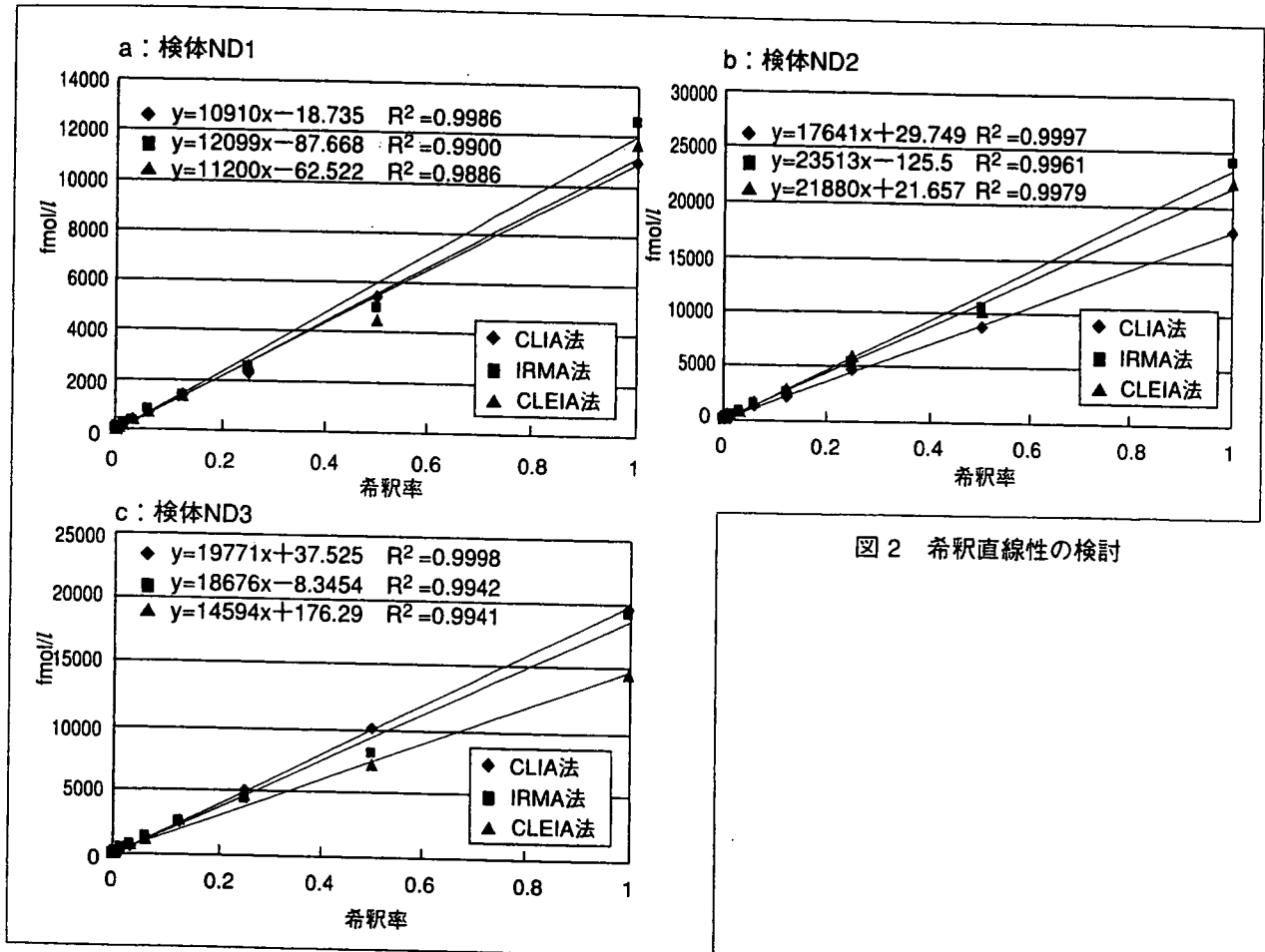


図 2 希釈直線性の検討

た. また測定方法間の検出率の有意差検定には, McNemar testを用いた.

結 果

1. 基礎的検討

(1) 再現性

2濃度の陽性コントロールを用いて10回連続測定した測定内再現性の結果, および5濃度の陽性コントロールおよび陽性パネル血清を用いた測定間再現性(トータルCV)の結果を表1-a, bに示す. 変動係数(CV%)は, 測定内では3.9-5.4%,

測定間トータルCVでは3.1-7.0%と良好な結果を示した.

(2) 希釈感度

CLIA法は良好な直線性を示し(図2), 他の2つの現行HCVコア抗原測定法に比較して4倍から8倍高い希釈感度(陽性であった最大希釈ポイント)を示した(表2).

2. 臨床的検討

(1) 臨床感度

a) セロコンバージョンパネルにおける感度検討に用いた4ロットのセロコンバージョン

表2 HCVコア抗原測定系における希釈感度比較

	希釈	CLIA法		IRMA法		CLEIA法	
		fmol/l	% Recovery	fmol/l	% Recovery	fmol/l	% Recovery
検体ND-1	2^0	10979.50		12600		11700	
	2^1	5436.33	99.0%	5000	79.4%	4470	74.4%
	2^2	2314.32	84.3%	2500	79.4%	2590	88.5%
	2^3	1392.75	101.5%	1350	85.7%	1340	91.6%
	2^4	699.55	101.9%	763	96.9%	687	93.9%
	2^5	360.76	105.1%	347	88.1%	385	105.3%
	2^6	186.27	108.6%	208	105.7%	177	96.8%
	2^7	97.32	113.5%	99	100.6%	102	111.6%
	2^8	45.55	106.2%	49	99.6%	41	89.7%
	2^9	24.10	112.4%	25	101.6%	23	100.6%
	2^10	11.00	102.5%	11		9	
	2^11	5.69	106.1%	8		0	
	2^12	2.65		4		0	
2^13	0.7		5		0		
検体ND-2	2^0	17708.27		24100		22200	
	2^1	8661.90	97.8%	10500	87.1%	10100	91.0%
	2^2	4666.48	105.4%	5250	87.1%	5940	107.0%
	2^3	2211.29	99.4%	2570	85.3%	2840	102.3%
	2^4	1155.45	104.4%	1370	91.0%	1540	111.0%
	2^5	635.87	114.9%	746	99.1%	697	100.5%
	2^6	327.72	118.4%	355	94.3%	408	117.6%
	2^7	162.76	117.6%	196	104.1%	182	104.9%
	2^8	82.63	119.5%	91	96.7%	94	108.4%
	2^9	43.47	125.7%	47	99.9%	38	87.6%
	2^10	23.29	134.6%	20	85.0%	21	96.9%
	2^11	10.24	118.4%	10		0	
	2^12	5.17	119.5%	7		0	
2^13	2.33		5		0		
検体ND-3	2^0	19658.68		19300		14600	
	2^1	10154.09	103.3%	8120	84.1%	7250	99.3%
	2^2	5101.30	103.8%	4330	89.7%	4600	126.0%
	2^3	2529.08	102.9%	2620	108.6%	2640	144.7%
	2^4	1299.45	105.8%	1340	111.1%	1250	137.0%
	2^5	667.28	108.6%	723	119.9%	704	154.3%
	2^6	329.10	107.1%	402	133.3%	313	137.2%
	2^7	157.33	102.4%	198	131.3%	166	145.5%
	2^8	83.16	108.3%	109	144.6%	78	136.8%
	2^9	44.06	114.8%	48	127.3%	35	122.7%
	2^10	21.21	110.5%	23	122.0%	19	
	2^11	10.61	110.5%	10		0	
	2^12	6.31	131.5%	6		0	
2^13	2.82		4		0		

パネルのうち、3パネルにおいてCLIA法は、IRMA法、CLEIA法、RNA定量法と同じ採血ポイントから陽性を示した。他の1パネル(ロット: HCV9054)においてCLIA法は、対照3法に比較して1採血ポイント(22日)早く陽性として検出した(表3)。また、ZeptoMetrix社の添付データシート中のHCV抗体との比較では、CLIA法は、

検討したすべてのパネルにおいて2~6採血ポイント(22-34日)、平均27日早く検出した。

#### b) HCV RNA陽性検体の検出率

HCV RNA陽性検体を用いたCLIA法と各対照法との検出率の比較結果を表4-a, b, cに示す。388例を用いたCLIA法とIRMA法との比較では検出率はそれぞれ98.7%(383/388)、95.6%(371/388)で

表3 セロコンバージョンパネルにおける感度比較

パネルロット	HCV抗体	CLIA法	IRMA法	CLEIA法	RNA定量法
HCV6213	37日目	11日目	11日目	11日目	11日目
HCV6222	40日目	17日目	17日目	17日目	17日目
HCV9054	77日目	52日目	74日目	74日目	74日目
HCV9055	65日目	31日目	31日目	31日目	31日目

各測定法において陽性を示した最初の採血日

表4 HCV RNA陽性検体の検出率

a: IRMA法との比較			b: CLEIA法との比較			c: RNA定量法との比較		
HCV RNA陽性388例	IRMA法		HCV RNA陽性202例	CLEIA法		HCV RNA陽性617例	RNA定量法	
	+	-		+	-		+	-
CLIA法	+	371	CLIA法	+	188	CLIA法	+	609
	-	12		-	11		-	0
		0			3			5
		5						3

$P=0.0005$ で検出率に有意差あり

$P=0.0010$ で検出率に有意差あり

$P=0.0625$ で検出率に有意差なし

あり, CLIA法はIRMA法に比較して有意に高い検出率であった( $P=0.0005$ ). 202例を用いたCLIA法とCLEIA法との比較では検出率はそれぞれ98.5% (199/202), 93.1% (188/202)であり, CLIA法はCLEIA法に比較して有意に高い検出率であった( $P=0.0010$ ). 617例を用いたCLIA法とRNA定量法との比較では検出率はそれぞれ98.7% (609/617), 99.5% (614/617)であり, CLIA法とRNA定量法の検出率に有意差はなかった( $P=0.0625$ ).

#### (2) 既存HCVコア抗原測定法およびRNA定量法との相関性

CLIA法とIRMA法およびCLEIA法との相関性を検討したところ, 相関係数( $r$ )は0.942, 0.960であり良好であった(図3-a, b). また, RNA定量法との相関係数( $r$ )は0.887であり良好であった(図3-c).

#### (3) IFNによる抗ウイルス療法の経過観察および効果予測

##### a) 抗ウイルス剤投与直後(1日)の経時的変化と減少率

IFNによる抗ウイルス療法を受けた46症例のうち治療開始前および治療1日目のポイントを測定しえた43症例につき, CLIA法およびRNA定量法を用いて, 治療前から1日目の変化につき検討した. CLIA法, RNA定量法とも1日目で陰性化した症例はみられなかったが, 2 log以上低下した症例は, 両測定法とも同症例1例(2.3%)であった(表5). 1 log以上2 log未満の低下は, CLIA

法, RNA定量法それぞれ46.5% (20症例)および34.9% (15症例)であった. 1 log未満の低下であったものはCLIA法, RNA定量法それぞれ48.8% (21症例)および60.5% (26症例)であった. なお, 両測定法とも治療前に比較して上昇した症例が同症例1例(2.3%)みられた.

CLIA法およびRNA定量法における治療開始前から治療1日までの変動を図4-aおよび図4-bにそれぞれ示す. CLIA法における治療前の値は, 92.82-13731.28 fmol/l(平均値; 4371 fmol/l, 中央値; 2944 fmol/l), 治療1日の値は, 12.76-3020.67 fmol/l(平均値; 640 fmol/l, 中央値; 274 fmol/l)であった. 同様にRNA定量法における治療前の値は, 120-2000 KIU/ml(平均値; 706 KIU/ml, 中央値; 640 KIU/ml), 治療1日の値は, 4.7-860 KIU/ml(平均値; 201 KIU/ml, 中央値; 150 KIU/ml)であった. CLIA法およびRNA定量法とも治療前の値に比較して治療1日の値は, 統計学的に有意に低下していた( $P<0.001$ ).

##### b) 抗ウイルス療法でのウイルス量の変動

C型慢性肝炎患者のIFN抗ウイルス療法におけるウイルス量変動の代表例を示す(図5). 症例KM09は, ジェノタイプ1b型, 治療前高ウイルス量の難治例であったが, 抗ウイルス療法(Peg-IFN/リバビリン併用療法)により治療終了時に陰性化し, その後も継続的ウイルス排除(SVR)となった症例である. 治療開始12週目までCLIA法は陽性であったが, IRMA法では4週目まで, RNA定量

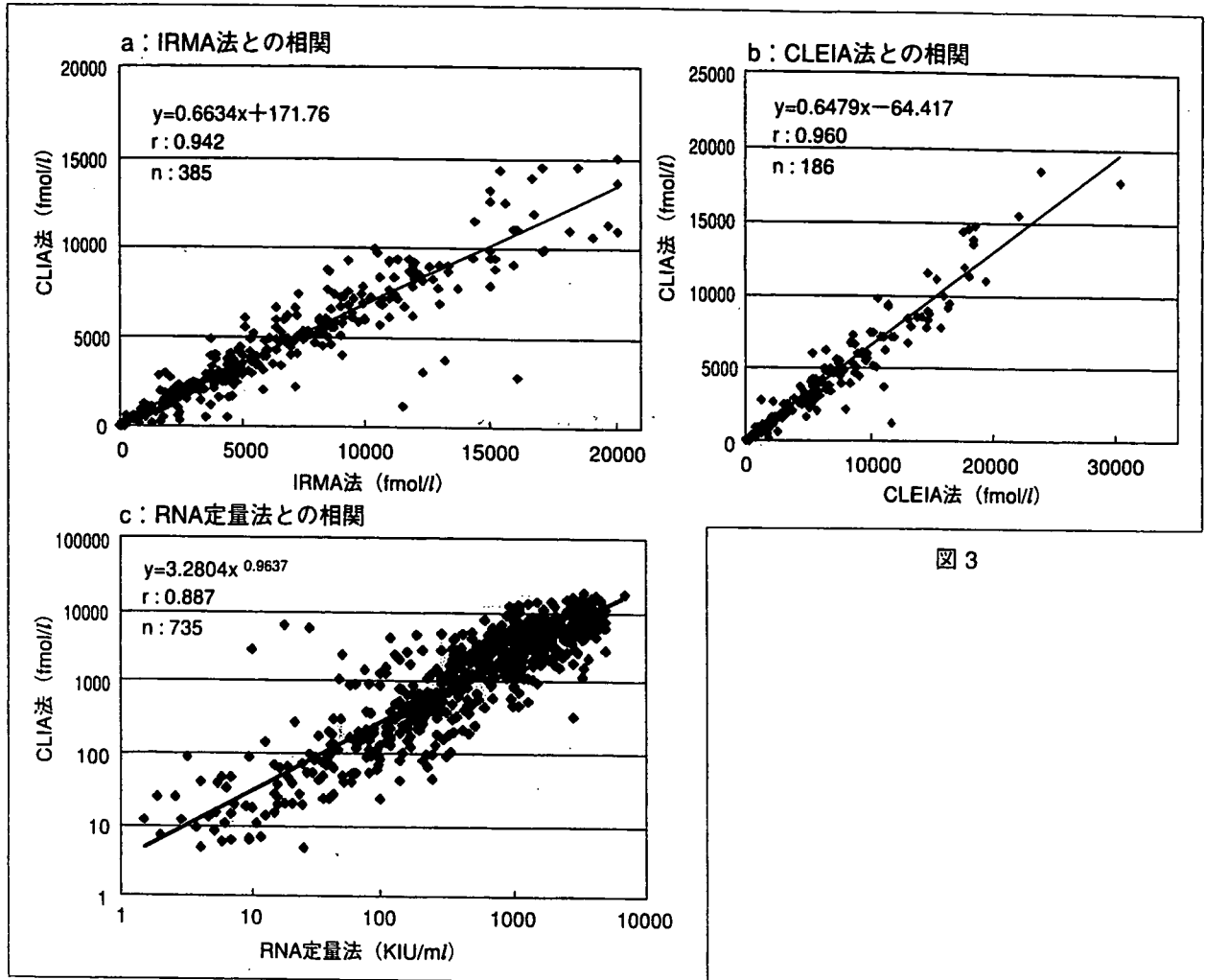


図 3

表 5 抗ウイルス剤投与直後(1日)の変化量

測定法	各変動を示した症例数の比率(症例数)				合計
	2 log以上の低下	1 log以上2 log未満	1 log未満の低下	上昇	
CLIA法	2.3% (1)	46.5% (20)	48.8% (21)	2.3% (1)	43
RNA定量法	2.3% (1)	34.9% (15)	60.5% (26)	2.3% (1)	43

法は8週目まで陽性であり、各測定間で乖離がみられた。なお、RNA定性法では12週まで陽性であることが確認されている。

上記症例を含めた抗ウイルス療法26症例におけるウイルス陰性化時期のまとめを表6に示す。26症例におけるIRMA法との比較では、CLIA法は9症例で1採血ポイント以上長く陽性が続き、17症例で同じ採血ポイントで陰性化した。CLIA法がIRMA法に比較して早期のポイントで陰転化した症例はみられなかった。乖離した9症例各ポイントともRNA定性法、RNA定量法のいずれかあるいは両方で陽性が確認されている。

合計6症例におけるCLEIA法との比較では、CLIA法は1症例で1採血ポイント以上長く陽性が続き、5症例で同じ採血ポイントで陰性化した。CLIA法がCLEIA法に比較して早期のポイントで陰転化した症例はみられなかった。乖離した1症例各ポイントともRNA定性法、RNA定量法のいずれかで陽性が確認されている。

合計26症例におけるRNA定量法との比較では、CLIA法は5症例で1採血ポイント以上長く陽性が続き、5症例で1採血ポイント早く陰性化し、その他16症例では同じ採血ポイントで陰性化した。両測定法で乖離のみられた10症例各ポイン



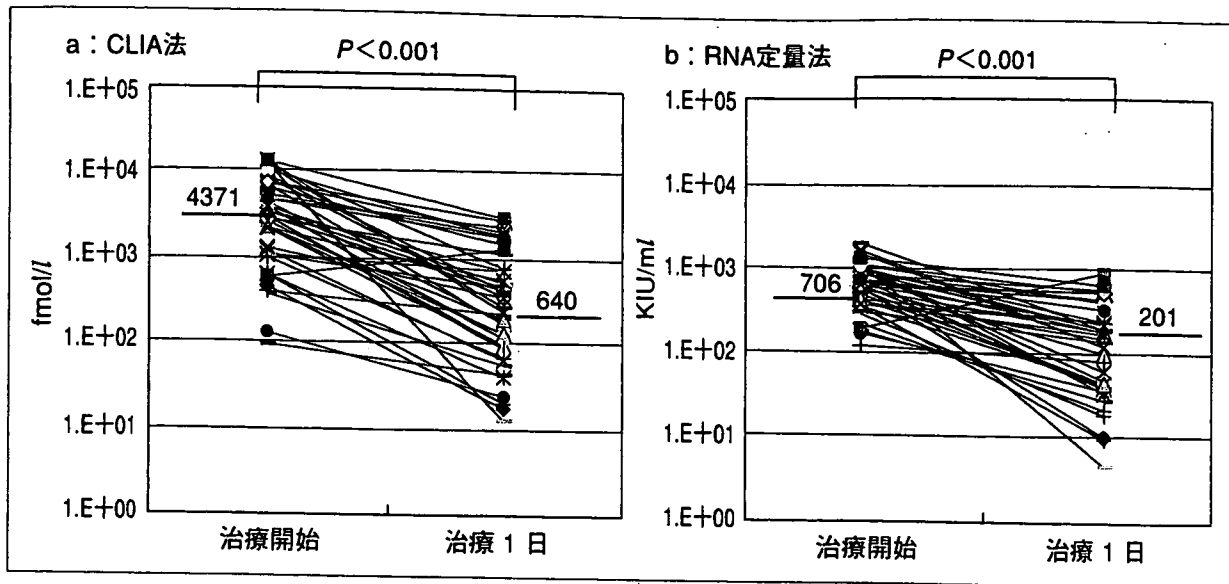


図4 抗ウイルス剤投与直後のウイルス量変化

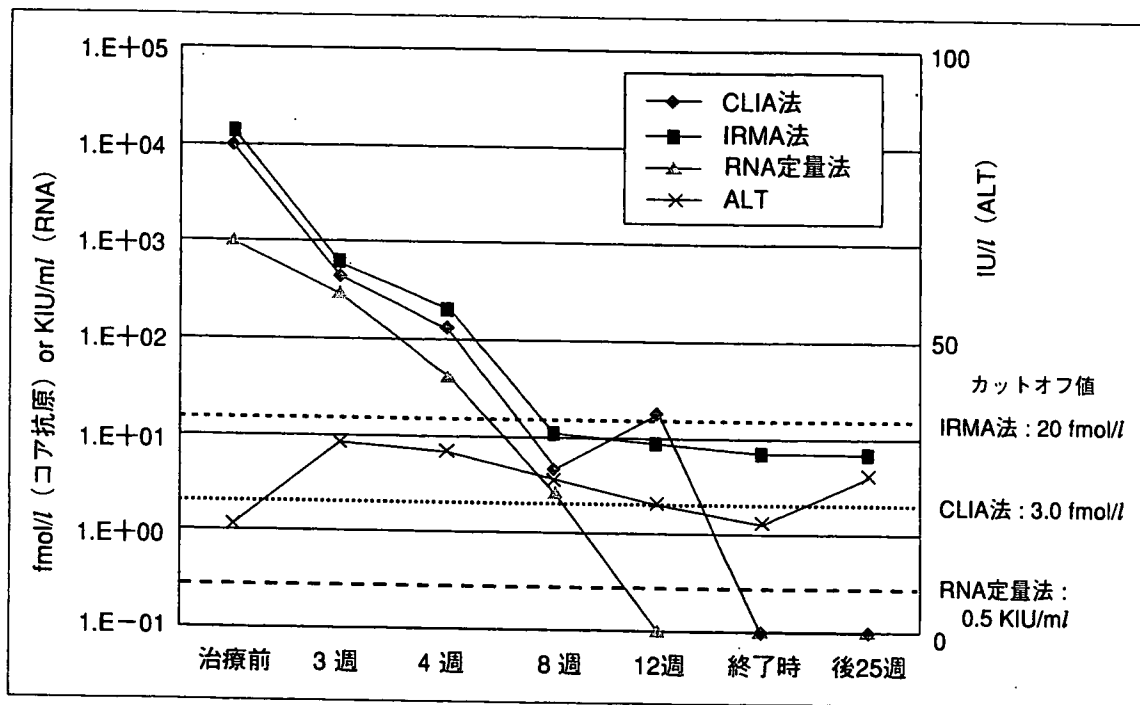


図5 抗ウイルス療法著効例におけるウイルス量変動(KM-09)

トともRNA定性法で陽性が確認されている。

c) 治療前のウイルス量と抗ウイルス療法効果  
 治療前のウイルス量と治療効果について、前項検討の26症例のうち、治療前ポイントを測定しえた19症例をSVR(治療終了後継続著効)、non-SVR(無効あるいは再燃)に分類したところSVRが11例、non-SVRが8例であった。SVR群における治療前ウイルス量をみると、CLIA法では120.75-10026.80 fmol/l(平均値; 2448 fmol/l, 中央値;

536 fmol/l), IRMA法では174-15600 fmol/l(平均値; 4128 fmol/l, 中央値; 835 fmol/l), RNA定量法では98-2700 KIU/ml(平均値; 569 KIU/ml, 中央値; 200 KIU/ml)であった(図6-a, b, c)。Non-SVR群では、CLIA法は344.79-11086.71 fmol/l(平均値; 4499 fmol/l, 中央値; 3852 fmol/l), IRMA法では344-13500 fmol/l(平均値; 5931 fmol/l, 中央値; 4965 fmol/l), RNA定量法では60-5000 KIU/ml(平均値; 1470 KIU/ml, 中央値; 1000

表6 各測定法によるウイルス陰性化時期の比較

CLIA法が右の対照法と比較して	対照法		
	IRMA法	CLEIA法	RNA定量法
遅れて陰性化した(長く陽性であった)症例数	9*1	1*1	5*2
同時に陰性化した症例数	17	5	16
早期に陰性化した症例数	0	0	5*2
症例合計	26	6	26

\*1 RNA定性法あるいはRNA定量で陽性が確認されている  
 \*2 RNA定性法で陽性が確認されている

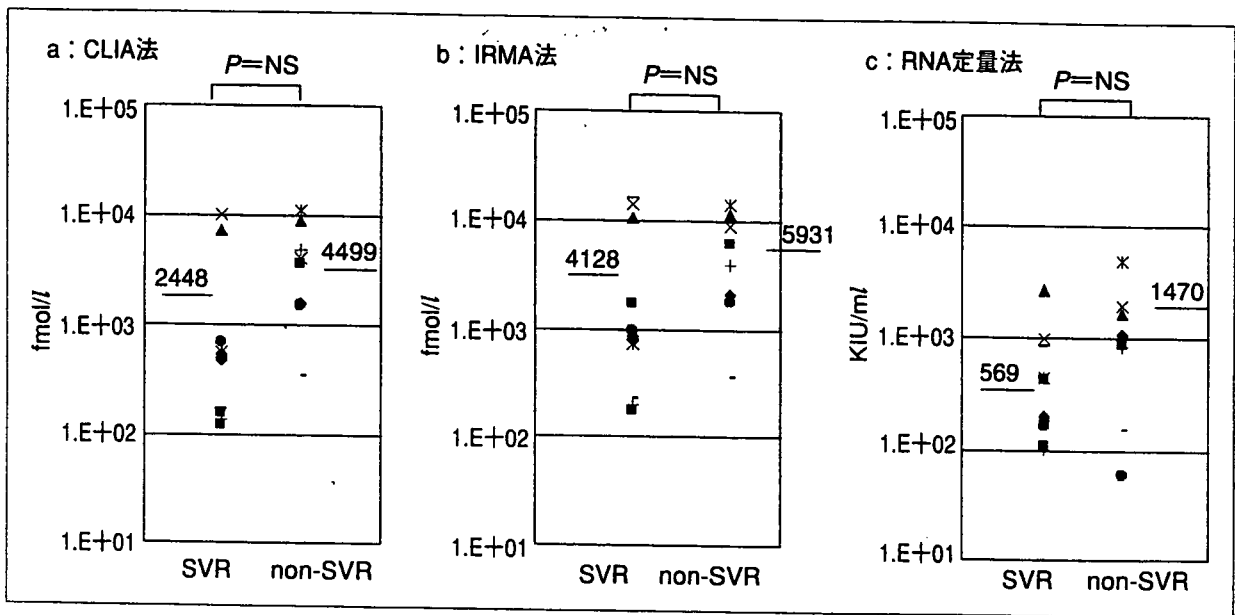


図6 各測定法における治療前ウイルス量

KIU/ml)であった。SVR群とnon-SVR群における治療前ウイルス量を比較するとCLIA法, IRMA法, RNA定量法ともSVR群よりもnon-SVR群で治療前ウイルス量が高い結果であったが統計学的に有意な差はみられなかった。

これら19症例につきCLIA法およびRNA定量法の治療効果予測につき検討した(表7)。治療前ウイルス量が, C型慢性肝炎の治療ガイドライン(厚生労働省研究班)上の低ウイルス量(HCVコア抗原では300 fmol/l未満, RNA定量法では100 KIU/ml未満)に相当する症例はCLIA法では4例存在し, すべてSVRであった。よって300 fmol/lを指標とした場合のCLIA法のpositive predictive value (PPV)は100%(4/4)であった。またRNA定量法での低ウイルス量症例は2例みられ, うち1例がSVRであったことより, RNA定量法のPPVは50%(1/2)であった。一方, CLIA法において300

fmol/l以上を示した治療前高ウイルス量症例は15例存在し, うち8例がnon-SVRであった。よってCLIA法のnegative predictive value (NPV)は53%(8/15)であった。またRNA定量法で100KIU/ml以上の高ウイルス量症例は17例みられ, うち7例がnon-SVRであったことより, RNA定量法のNPVは41%(7/17)であった。

d) 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

岩手県予防医学協会にて2005年12月から2006年4月にC型肝炎ウイルス検診を受診した5,027例の検診検体をCLIA法にて測定したところ, 陽性は24例, 陰性は5,003例であった。CLIA法で陽性を示した24例は, 現行検診検査法でHCVキャリアと判定された24例と一致した(表8)。よってCLIA法による判定と現行検診検査法による判定の一致率は100%(5027/5027)であり, また検

表7 治療開始前のウイルス量による治療効果予測

治療開始前のウイルス量	CLIA法		RNA定量法	
	SVR	non-SVR	SVR	non-SVR
低ウイルス量症例*1	4	0	1	1
高ウイルス量症例*2	7	8	10	7
PPV(コア抗原で300 fmol/l 未満, RNAで100KIU/ml未満を指標とした場合)	100% (4/4)		50% (1/2)	
NPV(コア抗原で300 fmol/l 以上, RNAで100KIU/ml以上を指標とした場合)	53% (8/15)		41% (7/17)	

\*1 コア抗原で300 fmol/l未満, あるいはRNA定量法で100KIU/ml未満の症例数(厚生労働省研究班ガイドラインによる)

\*2 コア抗原で300 fmol/l以上, あるいはRNA定量法で100KIU/ml以上の症例数(厚生労働省研究班ガイドラインによる)

表8 現行検診検査法とCLIA法の判定一致率

一致率：100% (5027/5027)		現行検診検査法	
		HCVキャリア	非HCVキャリア
CLIA法	HCVキャリア	24	0
	非HCVキャリア	0	5003

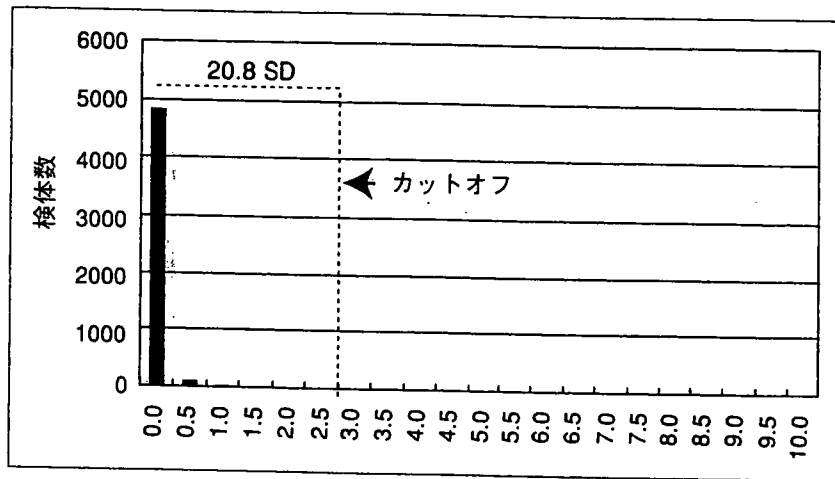


図7 陰性検診検体の分布

診検体群における特異性も100% (5003/5003)であった。つぎに陰性検体群の分布を図7に示す。CLIA法のカットオフ3.00 fmol/lは陰性群より十分離れている(20.8 SD)ことが確認された。

考 察

HCVコア抗原の測定は、HCV RNA定量法と同様にHCVウイルス量を反映する測定法として開発され、HCV RNAと良好な相関性を示すことから抗ウイルス療法のモニタリングや治療効果判定など臨床応用されている。しかしながら既存のHCVコア抗原測定法は、測定感度の点で十分とは言えず、また検体前処理などの煩雑な用

法の工程が必要であり測定結果までに時間を要することなどもあり、性能や操作性などに問題を抱えていた。このため高感度化かつ検体前処理を含めた工程が簡略化(自動化)された新しいHCVコア抗原測定法であるCLIA法が開発された。今回われわれが検討したCLIA法は、全自動免疫測定装置ARCHITECT®アナライザ-i2000/i2000SRを用いることにより従来は用手法で行われていた検体前処理を含めたすべての工程が自動化され、短時間(約37分)で結果を得ることができる新しいHCVコア抗原測定法である<sup>9)</sup>。CLIA法は、3.00 fmol/lから20,000 fmol/lまでの広い測定範囲をもつ。

陽性コントロールおよび陽性パネル血清を用いたCLIA法の同時および測定間再現性は低濃度域から高濃度域まで良好な結果を示した。またHCV RNA陽性検体を用いた希釈試験では良好な直線性を示し、従来のHCVコア抗原法(IRMA法およびCLEIA法)に比較して高い希釈感度を示した。また、IRMA法、CLEIA法、およびRNA定量法と良好な相関性を示した。以上よりCLIA法は低濃度域から高濃度域の広い測定範囲にわたり十分な再現性・定量性をもつことが示された。このことからCLIA法を用いた測定ではRNA定量法で見られるオリジナル法とハイレンジ法の両者を使い分ける必要や両測定値の乖離などの問題<sup>10)11)</sup>はないと考えられる。

HCV RNA陽性群におけるCLIA法の検出率は、既存のHCVコア抗原であるIRMA法およびCLEIA法に比較して有意に高く、またRNA定量法と同等であった。また4ロットのセロコンバージョンパネルを用いた検討では1ロットのパネルにおいてCLIA法は、IRMA法、CLEIA法、およびRNA定量法よりも早期に検出した(他の3ロットは同じポイントから陽転)。以上よりCLIA法の臨床感度は既存のHCVコア抗原に比較して高く、RNA定量法と同等であることが示された。

つぎに治療開始から抗ウイルス剤投与直後(1日)の経時的变化を検討したところ、CLIA法ではRNA定量法と同様に投与後1日で有意に値が低下し、IFNの第1相効果を反映することが明らかとなった。変化率をみるとCLIA法では、RNA定量法と比較して大きな変化を示す症例が多く存在していた。IFN投与後のHCV動態には投与直後の第1相(約24時間までの急激なウイルス量減少)と第2相(24時間以降の緩徐な減少)がみられ<sup>12)</sup>、その動きにより以降の治療効果予測の可能性が報告されている<sup>13)</sup>。既述したようにCLIA法は十分な定量性を備えた高濃度域までの広い測定範囲を持っており、また結果が得られるまでの時間も約37分と短時間であることから、よりタイムリーなIFN第1相での治療効果および第2相以降の治療効果予測が可能となると考える。

さらに抗ウイルス療法におけるウイルス排除(陰性化)時期について検討したところ既存のHCVコア抗原測定法であるIRMA法およびCLEIA法で

は感度の差により治療中早期に陰性化、あるいは治療終了後再燃時期確認が遅れる場合がみられたが、CLIA法はRNA定量法と同程度のウイルス陰性化および再燃時期を示した。なおCLIA法を用いた場合も、RNA定量法同様に陰性化時にRNA定性法での確認が必要と考える。

C型慢性肝炎に対するIFNによる抗ウイルス療法ではウイルスジェノタイプ、治療前ウイルス量等と治療効果が密接に関連しており、ウイルス量が少ないほどIFNによるウイルス排除効果が得やすいことが報告されている。治療前から治療終了後までの経過観察ができた19症例の検討でも統計学的には有意ではなかったもののSVR群ではnon-SVR群に比較してCLIA法を含めたすべての測定法において治療前ウイルス量は低い結果であった。

さらに治療前ウイルス量と治療効果(SVR; 11症例, non-SVR; 8症例)について検討を加えた。厚生労働省研究班C型肝炎診療ガイドライン上の区分である高ウイルス量と低ウイルス量に分類したところ、CLIA法による判定では300 fmol/l未満の治療前低ウイルス例4症例すべてがSVRとなり(PPV; 100%)、また300 fmol/l以上の治療前高ウイルス例15例のうち、8症例がnon-SVRであった(NPV; 53%)。一方RNA定量法による判定では2例の治療前低ウイルス例(100 KIU/ml未満)のうち1例がSVRであり(PPV; 50%)、また17例の治療前高ウイルス例(100 KIU/ml以上)のうち7症例がnon-SVRであった(NPV; 41%)。このように治療前ウイルス量の高・低で評価したところCLIA法はRNA定量法に比較して高いPPV, NPVを示した。治療前のHCVコア抗原量が低いほど抗ウイルス療法による治療効果が良好であり、SVR率が高いことが報告されている<sup>14)15)</sup>。今回の結果より治療前のCLIA法の値も同様に治療効果判定因子になりうる可能性が示唆された。今後さらに症例数を増やし確認が必要と考える。

5,027例のC型肝炎検診検体を用いた検討でCLIA法は良好な特異性を示し、また陰性群の分布からカットオフ値3.00 fmol/lまで十分に離れており、既述の臨床感度や治療モニタリングの結果と合わせ、CLIA法のカットオフ値設定の妥当性が確