

表 1

Baseline characteristics

	Hepatitis virus-positive†			Hepatitis virus-negative		
	n=1,236		p**	n=18,576		p**
	Serum ALT level			Serum ALT level		
	<30 IU/L	≥30 IU/L		<30 IU/L	≥30 IU/L	
Number	802	434		16,528	2,048	
Age (years)*	58.3 (7.8)	58.2 (7.6)	0.41	57.3 (8.2)	55.4 (7.9)	0.001
Gender Men (%)	39.9	56.5	0.001	32.0	52.1	0.001
Current smoker (%)	24.0	29.8	0.001	15.7	23.5	0.001
Ethanol intake ≥150 g/week (%)	14.0	18.8	0.02	13.3	25.4	0.001
Body mass index ≥27 kg/m ² (%)	10.6	13.4	0.30	11.0	26.4	0.001
Coffee intake, daily (%)	8.7	8.2	0.21	9.6	7.5	0.36

*, means (SD); **, p for difference; ALT, alanine aminotransferase; † anti-HCV-positive and/or HBsAg-positive.

表 2

Hazard ratios (HR) and 95% confidence intervals (CI) of hepatocellular carcinoma by serum liver enzyme level

	Person-years	No. of cases	HR*	(95%CI)
Serum ALT level				
<30 IU/L	205,509	20	1.0	
≥30 IU/L	28,507	89	13.5	(8.0- 22.0)
Serum AST level				
<30 IU/L	202,065	15	1.0	
≥30 IU/L	31,951	94	14.3	(8.0- 25.8)
Serum GGT level				
<60 IU/L	218,544	70	1.0	
≥60 IU/L	15,472	39	5.5 **	(3.5- 8.8)

* Adjusted for hepatitisvirus positivity (negative, positive), sex, years of age at baseline (40-49, 50-59, 60-69 years) and study area (six PHC areas), weekly ethanol intake (none, 1-149g, 150g and more), body mass index (<23.0 kg/m², 23.0-24.9, 25.0-26.9, 27.0-29.9, ≥30.0) and coffee intake (almost never, 1-4 days/week, almost every day).

** HR = 2.1, 95%CI (1.3-3.3) after further adjustment for ALT level

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transferase

表 3

Hazard ratios (HR) and 95% confidence intervals (CI) of HCC incidence by serum ALT level

	Person-years	No. of cases	HR	(95%CI)	P for trend
Serum ALT level					
Total* (n=19,812)					
-29 IU/L	205,509	20	1.0		
30-69 IU/L	25,361	48	10.5	(6.0- 18.3)	
70-99 IU/L	2,087	18	25.2	(12.7- 49.7)	
100- IU/L	1,059	23	43.9	(22.7- 84.8)	0.001
Virus-positive** (n=1,236)					
-29 IU/L	9,341	10	1.0		
30-69 IU/L	3,406	41	12.0	(5.8- 24.9)	
70-99 IU/L	571	17	25.6	(11.3- 58.1)	
100- IU/L	481	19	37.1	(16.3- 84.2)	0.001
HCV** (n=757)					
-29 IU/L	4,724	6	1.0		
30-69 IU/L	2,543	37	11.4	(4.7- 27.2)	
70-99 IU/L	485	16	25.1	(9.8- 64.8)	
100- IU/L	425	18	35.0	(13.4- 91.4)	0.001
HBV** (n=499)					
-29 IU/L	4,744	4	1.0		
30-69 IU/L	933	6	18.5	(3.7- 93.1)	
70- IU/L	165	2	35.0	(4.2- 293.1)	0.001
Virus-negative** (n=18,576)					
-29 IU/L	196,167	10	1.0		
30-69 IU/L	21,956	7	6.5	(2.2- 18.8)	
70- IU/L	2,095	5	60.5	(19.5- 187.9)	0.001

* Adjusted for hepatitis-virus positivity (negative, positive), sex, years of age at baseline (40-49, 50-59, 60-69 years) and study area (six PHC areas), weekly ethanol intake (none, 1-149g, 150g and more), body mass index (<23.0 kg/m², 23.0-24.9, 25.0-26.9, 27.0-29.9, ≥30.0) and coffee intake (almost never, 1-4 days/week, almost every day).

** Adjusted for sex, years of age at baseline (40-49, 50-59, 60-69 years) and study area (six PHC areas), weekly ethanol intake (none, 1-149g, 150g and more), body mass index (<23.0 kg/m², 23.0-24.9, 25.0-26.9, 27.0-29.9, ≥30.0) and coffee intake (almost never, 1-4 days/week, almost every day).

ALT, alanine aminotransferase; HCV, anti-HCV-positive; HBV, HBsAg-positive

表 4

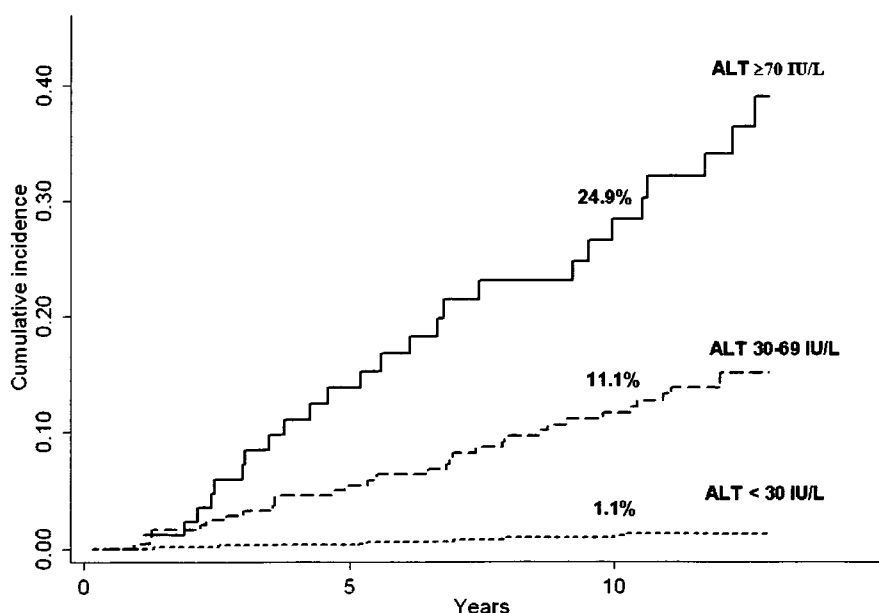
Hazard ratios (HR) and 95% confidence intervals (CI) of HCC incidence by serum ALT level and virus positivity

		Person-years	No. of cases	HR*	(95%CI)	P for trend
Serum ALT level						
Virus-negative**	<30 IU/L	196,167	10	1.0		
	30- IU/L	24,050	12	9.4	(3.9- 22.3)	
Virus-positive	<30 IU/L	9,341	10	15.2	(6.1- 37.6)	
	30-69 IU/L	3,406	41	180.5	(89.4- 364.2)	
	≥70 IU/L	1,052	36	454.2	(221.5- 931.2)	0.001

* Adjusted for gender, years of age at baseline (40-49, 50-59, 60-69 years) and study area (six PHC areas), weekly ethanol intake (none, 1-149g, 150g and more), body mass index (<23.0 kg/m², 23.0-24.9, 25.0-26.9, 27.0-29.9, ≥30.0) and coffee intake (almost never, 1-4 days/week, almost every day).

ALT, alanine aminotransferase; **neither anti-HCV nor HBsAg.

图 1. Cumulative incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) among hepatitis virus-positive subjects by serum alanine aminotransferase (ALT) level.



Cumulative incidence of HCC at 10 years was 1.1% for subjects with ALT < 30 IU/L, but 11.0% and 27.2% for those with ALT 30-69 IU/L and ALT ≥70 IU/L, respectively. Elevated ALT levels showed a statistically significant association with the risk of HCC compared to normal ALT levels (ALT < 30 IU/L) after adjustment for age, sex, study area, smoking status, ethanol intake, body mass index, and coffee intake.

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

地域住民コホート集団におけるC型肝炎ウイルス感染者の
肝臓がん発生関連要因の検討
—血清SOD活性、IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、sFas、TGF-β1レベルと
肝臓がんリスクとの関連—

分担研究者 若井 建志 名古屋大学大学院医学系研究科 予防医学/医学推計・判断学

研究要旨 地域住民コホート集団において、コホート内症例対照研究により、肝臓がんリスクと関連する血清マーカーを検討した。抗C型肝炎ウイルス抗体陽性者に分析対象者を限定した場合、抗体の有無を交絡要因として調整した場合ともに、血清SOD活性値およびsFas濃度と肝臓がんリスクとの間に正の関連が認められ、血清IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、TGF-β1レベルと肝臓がんリスクとの間には負の関連がみられた。

研究協力者

黒沢 洋一 鳥取大学医学部医学科健康政策医学教授
小谷 和彦 鳥取大学医学部医学科健康政策医学助手
柴田 彰 久留米大学医学部公衆衛生学准教授
玉腰 暁子 愛知医科大学医学部公衆衛生学准教授

りを探索することを目的に、酸化ストレス関連因子としてSOD(superoxide dismutase)活性、成長因子としてIGF(insulin-like growth factor)-I、IGF-IIおよびIGFBP(insulin-like growth factor binding protein)-3、アポトーシス関連因子としてsFas(soluble Fas)、TGF(transforming growth factor)-β1を取り上げ、C型肝炎ウイルス感染を考慮した上で、肝臓がんリスクとの関連をコホート内症例対照研究により検討した。

B. 研究方法

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス感染者における肝臓がん発生には、酸化ストレスの増加、成長因子の変化、アポトーシスの抑制などが関与している可能性が指摘されている。そこで本研究では、肝臓がん発生リスクを予測する血清マーカー、また肝臓がん発生機序の手がかり

研究対象者など

本研究の対象者は、文部科学省の助成による大規模コホート研究(JACC Study [the Japan Collaborative Cohort Study])の参加者、45調査地区、110,792人(ベースライン時点で40~79歳)のうち、

表1 分析対象者の性年齢分布(分析対象者全体[HCV Abデータあり]、およびHCV Ab陽性者。年齢はベースライン時点)

年齢	分析対象者全体								HCV Ab陽性者のみ							
	男				女				男				女			
	症例		対照		症例		対照		症例		対照		症例		対照	
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
40-49	2	2.9	186	6.6	1	2.3	166	6.7	1	2.0	12	4.9	0	0.0	9	3.9
50-59	15	22.1	789	28.0	9	20.5	468	18.8	13	26.5	71	29.1	5	17.2	51	22.0
60-69	35	51.5	1,540	54.7	25	56.8	1,196	48.0	25	51.0	135	55.3	18	62.1	109	47.0
70-79	16	23.5	299	10.6	9	20.5	660	26.5	10	20.4	26	10.7	6	20.7	63	27.2
合計	68	100.0	2,814	100.0	44	100.0	2,490	100.0	49	100.0	244	100.0	29	100.0	232	100.0

1988-1990年に実施されたベースライン調査時に研究用の血清試料を提供した37調査地区、39,242人から選択された。同研究では、死亡およびがん罹患のリスクと血清SOD活性、IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、sFas、TGF- β 1レベルとの関連を検討するため、1997年までの死亡例および1999年までに判明したがん罹患例を症例、それ以外から症例と性、年齢、調査地区を一致させた対象者を対照とした、コホート内症例対照研究を実施した。死亡者は死亡小票の閲覧(全地域)、がん罹患者は地域がん登録との照合、主要病院での調査により把握(37地区中22地域)した。血清試料は測定までの間、-80°Cで保存され、測定は血清SOD活性が改良亜硝酸塩法、血清IGF-I、IGF-II、IGFBP-3がImmuno-radiometric assay法、血清sFasがELISA法、TGF- β 1が定量sandwich enzyme immunoassay法によった。

一方、同研究では同時に、2003年までの肝臓がん死亡者および2001年までの肝臓がん罹患者を症例、それ以外から症例と性、年齢、調査地区を一致させた対象者を対照とした、コホート内症例対照研究により肝臓がんリスクと関連する血清マーカーを検討した。さらに抗C型肝炎ウイルス抗体(HCV Ab[第3世代])陽性者における検討を行うため、症例以外から約11,000例を選択して血清HCV Abを測定し対照に追加した。

今回の分析対象者は、上述の2つのコホート内症例対照研究の両方で対象となり、かつHCV Abを測定し得た者であり、症例が112例(うち罹患同定例60例)、対照は5,304例である。肝臓がんの既往歴を持つ者は除外した。

統計学的解析

分析にあたっては、対照の血清SOD活性、IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、sFas、TGF- β 1レベルの各四分位にもとづいて症例を分類し、第1四分位に対する第2~4四分位のオッズ比を算出することにより、血清SOD活性、IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、sFas、TGF- β 1と肝臓がんリスクとの関連を検討した。今回の分析では、元のコホート内症例対照研究におけるマッチングが崩れているため、オッズ比の算出にはunconditional logistic modelを用いた。オッズ比は性、年齢、地域、HCV Abを調整したもの、および性、年齢、地域、HCV Ab、喫煙、飲酒、糖尿病既往歴、

BMI、コーヒー飲用を調整したもの(多変量調整オッズ比)を求めた。またHCV Ab陽性者に限定した分析も実施した。傾向性の検定は、第1~4四分位を0, 1, 2, 3とスコア化した変数をモデルに含めることにより行い、結果をtrend pとして示した。

(倫理面での配慮)

ほとんどの調査地区では対象者から個別にインフォームドコンセントを取得した。いくつかの地区については、研究目的とデータの秘密保持を地区の代表者に説明した上で、集団単位でインフォームドコンセントを得た。本研究については、名古屋大学医学部倫理委員会ならびに鳥取大学医学部倫理委員会(保存血清の追加測定について)の承認を得た。

C. 研究結果

表1に分析対象者の性年齢分布を、分析対象者全体およびHCV Ab陽性者について示す。症例の60.7%を男性が占めた。また症例の69.6%、対照の9.0%がHCV Ab陽性であった。

分析対象者全体では(表2)、血清SOD活性値が高いほどオッズ比が上昇する傾向が明らかであり(最高4分位の多変量調整オッズ比5.21、95%信頼区間2.09-13.0)、血清sFasについても最高4分位で有意に高いオッズ比(同5.49、2.39-12.6)を示した。一方、IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、TGF- β 1はすべて血清レベルが高いほどオッズ比が顕著に低下し、最高4分位の多変量調整オッズ比はそれぞれ0.14(95%信頼区間0.06-0.31)、0.01(同0.00-0.09)、0.03(同0.01-0.11)、0.11(同0.05-0.26)であった。喫煙、飲酒、糖尿病既往、BMI、コーヒー飲用を調整した場合と調整しない場合との間では、オッズ比に明らかな差は認めず、これらの要因による交絡は小さかった。

HCV Ab陽性者に分析対象者を限定した場合(表3)も限定しない場合と同様に、血清SOD活性値およびsFas濃度と肝臓がんリスクとの間に正の関連が認められ、逆に血清IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、TGF- β 1レベルと肝臓がんリスクの間には負の関連がみられた。とくにsFasとTGF- β 1については、分析対象者全体(表2)の場合よりも関連が強く、最高4分位の多変量調整オッズ比は、sFasでは15.8(95%信頼区間4.95-50.5)、TGF- β 1では0.02(同0.00-0.09)であった。

表2 ベースライン時点の血清SOD活性、IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、sFas、TGF-β1濃度四分位(Q1-Q4)別肝臓がんオッズ比(HCV Abデータのある対象者)

	症例数 ^{a)}				オッズ比(95% CI) ^{b)}				Trend					
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	P	Q1	Q2	Q3	Q4	P
SOD活性	6	16	32	58	1.00	1.88 (0.72-4.94)	3.35 (1.34-8.33)	5.19 (2.10-12.8)	<0.0001	1.00	2.04 (0.77-5.41)	3.30 (1.31-8.35)	5.21 (2.09-13.0)	<0.0001
IGF-I	62	26	14	10	1.00	0.51 (0.30-0.87)	0.29 (0.15-0.55)	0.15 (0.07-0.32)	<0.0001	1.00	0.47 (0.27-0.82)	0.27 (0.14-0.53)	0.14 (0.06-0.31)	<0.0001
IGF-II	92	11	8	1	1.00	0.17 (0.09-0.33)	0.12 (0.06-0.26)	0.01 (0.00-0.10)	<0.0001	1.00	0.16 (0.08-0.32)	0.12 (0.06-0.26)	0.01 (0.00-0.09)	<0.0001
IGFBP-3	84	17	9	2	1.00	0.30 (0.17-0.53)	0.16 (0.08-0.33)	0.03 (0.01-0.13)	<0.0001	1.00	0.25 (0.14-0.45)	0.14 (0.07-0.30)	0.03 (0.01-0.11)	<0.0001
sFas	7	8	12	83	1.00	1.04 (0.37-2.94)	1.33 (0.51-3.48)	6.14 (2.71-13.9)	<0.0001	1.00	0.99 (0.35-2.80)	1.27 (0.48-3.35)	5.49 (2.39-12.6)	<0.0001
TGF-β1	81	15	7	7	1.00	0.22 (0.12-0.40)	0.10 (0.05-0.24)	0.11 (0.05-0.26)	<0.0001	1.00	0.22 (0.12-0.41)	0.10 (0.05-0.24)	0.11 (0.05-0.26)	<0.0001

a) 対照数は5,304の約1/4(測定値の同値が多いため、厳密に4等分ではない)

b) 性・年齢・地域・HCV Abをunconditional logistic modelにより調整

c) 性・年齢・地域・HCV Ab・喫煙・飲酒・糖尿病既往・BMI・コーヒー飲用をunconditional logistic modelにより調整

Cut off(それぞれQ1/Q2, Q2/Q3, Q3/Q4): SOD活性 2.2, 2.5, 3.0 U/ml, IGF-I 91, 120, 150 ng/ml, IGF-II 500, 580, 660 ng/ml, IGFBP-3 2.40, 2.86, 3.34 μg/ml,

sFas 1.8, 2.2, 2.7 ng/ml, TGF-β1 31.2, 36.4, 41.9 ng/ml.

表3 ベースライン時点の血清SOD活性、IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、sFas、TGF-β1濃度四分位(Q1-Q4)別肝臓がんオッズ比(HCV Ab陽性者のみ)

	症例数 ^{a)}				オッズ比(95% CI) ^{b)}				Trend					
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	P	Q1	Q2	Q3	Q4	P
SOD活性	7	11	22	38	1.00	1.60 (0.59-4.35)	3.61 (1.41-9.25)	4.54 (1.80-11.4)	0.0002	1.00	1.84 (0.65-5.20)	2.84 (1.07-7.53)	4.07 (1.58-10.5)	0.002
IGF-I	30	30	12	6	1.00	0.92 (0.49-1.75)	0.44 (0.20-0.98)	0.15 (0.05-0.40)	<0.0001	1.00	0.74 (0.36-1.50)	0.43 (0.18-1.03)	0.12 (0.04-0.35)	<0.0001
IGF-II	59	14	4	1	1.00	0.22 (0.12-0.44)	0.06 (0.02-0.19)	0.01 (0.00-0.09)	<0.0001	1.00	0.19 (0.09-0.40)	0.04 (0.01-0.14)	0.01 (0.00-0.08)	<0.0001
IGFBP-3	46	24	8	0	1.00	1.16 (0.66-2.05)	0.41 (0.19-0.93)	0.00	<0.0001	1.00	1.16 (0.63-2.15)	0.42 (0.18-0.99)	0.00	<0.0001
sFas	4	4	11	57	1.00	1.13 (0.27-4.80)	2.72 (0.81-9.17)	15.5 (5.09-47.1)	<0.0001	1.00	1.04 (0.24-4.57)	2.41 (0.69-8.37)	15.8 (4.95-50.5)	<0.0001
TGF-β1	51	18	5	2	1.00	0.26 (0.13-0.51)	0.06 (0.02-0.17)	0.02 (0.00-0.09)	<0.0001	1.00	0.23 (0.11-0.50)	0.05 (0.02-0.16)	0.02 (0.00-0.09)	<0.0001

a) 対照数は476の約1/4(測定値の同値が多いため、厳密に4等分ではない)

b) 性・年齢・地域をunconditional logistic modelにより調整

c) 性・年齢・地域・喫煙・飲酒・糖尿病既往・BMI・コーヒー飲用をunconditional logistic modelにより調整

Cut off(それぞれQ1/Q2, Q2/Q3, Q3/Q4): SOD活性 2.3, 2.6, 3.1 U/ml, IGF-I 76, 110, 140 ng/ml, IGF-II 430, 520, 610 ng/ml, IGFBP-3 2.06, 2.52, 3.10 μg/ml,

sFas 2.0, 2.5, 3.2 ng/ml, TGF-β1 28.2, 34.1, 39.3 ng/ml.

D. 考察

本研究の問題点として、別の目的で行われたコホート内症例対照研究データの再解析であるため、症例と対照が計画的にサンプリングされていないことが挙げられる。しかし統計学的解析では交絡要因を調整していること、また血清マーカーと肝臓がんリスクとの関連が非常に強かったことから、分析対象者選択の問題のみで観察された関連を説明することは困難と思われる。

肝細胞癌組織やがん周辺の「正常」組織においては SOD 活性が低下しているとの報告がある (Am J Gastroenterol 1997; 92: 2260-2263) にもかかわらず、今回の研究では血清 SOD 活性値が高いほど肝臓がんオッズ比が高かった。TNF (tumor necrosis factor)- α により誘導される肝腫瘍細胞のアポトーシスは、SOD による処理で抑制されるとする実験結果もあり (Cell Biol Int 2001; 25: 1213-1219)、SOD 活性の上昇がアポトーシスを抑制し、むしろ発がん促進的に作用したのかも知れない。ただし SOD は肝細胞内に存在するため、血清レベルはたんに肝障害の程度を反映していた可能性も否定できない。

血清 IGF-I、IGFBP-3 は肝細胞癌患者で減少しているとする報告は過去にもあり (Int J Cancer 2000; 87: 118-121, Clin Endocrinol 2003; 59: 699-706)、血清 IGF-I が肝臓がん発生に先行して低下したとする追跡研究の報告もある (Cancer 2002; 95: 2539-2545)。これらの報告は血清 IGF-I、IGFBP-3 レベルが肝臓がんリスクと負に関連した今回の結果を支持するものであり、肝障害による IGF-I、IGFBP-3 の産生低下も一因と考えられる。ところが血清 IGF-II に関しては、肝細胞癌患者で健常者よりも高値であったとの報告があり (Scand J Gastroenterol 2005; 40: 68-75)、今回の結果とは一致しない。また成人では IGF-II の肝臓での発現は抑制されており、通常は脳、腎臓、膵臓、筋肉で産生されていると言われている。したがって、発がん前後の血中 IGF-II レベルの変化も含め、今後コホート研究のデータをさらに蓄積する必要があると思われる。

sFas に関しては、肝腫瘍細胞が自らは Fas の発現を抑制する一方、周囲の肝細胞の sFas 産生を促進することで、Fas/Fas ligand 系を介するアポトーシスをまぬがれているとする仮説が提唱されている (Hepatology 1999; 30: 413-421)。実際、肝細胞癌患

者では血清 sFas レベルが上昇していることが一貫して観察されている (Clin Exp Immunol 1998; 112: 166-171, Cytokine 2000; 12: 811-814, World J Gastroenterol 2003; 9: 2671-2675)。本研究で血清 sFas 高値で高い肝臓がんオッズ比が認められたことはこの仮説と矛盾せず、sFas は肝臓がんリスクの血清マーカーとして有力であるだけでなく、肝臓がんの機序を考える上でも重要であろう。

一方、TGF- β 1 については、肝細胞癌患者で健常者よりも血清 (Cytokine 2000; 12: 811-814, Scand J Gastroenterol 2002; 37: 233-238) または尿中 (Scand J Gastroenterol 1997; 32: 254-260) 濃度が高いとする先行研究があり、今回の所見と単純には一致しない。ただし腫瘍の大きさと血清レベルは逆相関するとの報告もあり (Scand J Gastroenterol 2002; 37: 233-238)、発がん後に TGF- β 1 レベルが減少し、TGF- β 1 による腫瘍細胞のアポトーシスが抑制される可能性も考えられる。

E. 結論

抗 C 型肝炎ウイルス抗体陽性者に分析対象者を限定した場合、抗体の有無を交絡要因として調整した場合ともに、血清 SOD 活性値および sFas 濃度と肝臓がんリスクとの間に正の関連が認められ、血清 IGF-I、IGF-II、IGFBP-3、TGF- β 1 レベルと肝臓がんリスクとの間には負の関連がみられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Wakai K, Kurozawa Y, Shibata A, Fujita Y, Kotani K, Ogimoto I, Naito M, Nishio K, Suzuki H, Yoshimura T, Tamakoshi A for the JACC Study Group. Liver cancer risk, coffee and hepatitis C virus infection: a nested case-control study in Japan. Br J Cancer 2007; 97: 426-428.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

- 【研究1】 C型肝炎ウイルスと occult B型肝炎ウイルスまたはヒト成人 T細胞白血病ウイルスとの重感染による肝細胞癌罹患リスク
- 【研究2】 C型慢性肝炎患者に対するコーヒーを用いた肝の消炎作用評価のためのクロスオーバー介入研究

分担研究者 田中英夫
愛知県がんセンター研究所 疫学・予防部 部長

研究要旨:【研究1】大阪府赤十字血液センターで献血をした①occult HBV (HBs抗原陰性かつ HBc抗体強陽性かつ HBs抗体陰性)と HCV との重感染者 127 人、② HTLV-1 と HCV との重感染者 104 人、③HCV 単独感染者 1,927 人を大阪府がん登録資料を用いて平均 98 ヶ月追跡し、肝細胞癌 (HCC) 罹患リスクを比較検討した。HCV 単独感染者の罹患リスクを基準にした調整ハザード比は occult HBV との重感染者で 0.23 (95% CI=0.03-1.65)、HTLV-1 との重感染者で 1.12 (95% CI=0.35-3.60)と、有意なリスクの増加を認めなかったことから、occult HBV および HTLV-1 は、HCV の持続感染による HCC の発症過程を促進するとは考えにくかった。

【研究2】コーヒーの摂取量が肝疾患有病者における ALT 値と負の相関を示すこと、およびコーヒーの摂取量と肝発癌リスクおよび肝癌による死亡率との間に負の量反応関係が見られるとする複数の疫学研究報告がある。このため、C型慢性肝炎の標準治療が普及していないベトナム国において、同患者 50 人を対象とし、ALT 値を指標としたクロスオーバーデザインによる介入研究(1日カフェイン量にして 350mg のインスタントコーヒーを8週間投与)を企画した。現在、ハノイ医科大学とその関連施設において、対象候補者を選定している。

研究協力者

田中政宏: 大阪府立成人病センター調査部 課長
Le Tran Ngoan: Dept. Occupational Health,
Hanoi Medical University

研究1: C型肝炎ウイルスと occult B型肝炎ウイルス
またはヒト成人 T細胞白血病ウイルスとの重感染による
肝細胞癌罹患リスク

A. 研究目的

献血を契機に自覚症状なく C型肝炎ウイルス (HCV)に感染していたことがわかった集団(約 70%が血清トランスアミナーゼ正常の無症候性キャリア)における肝細胞癌 (HCC) 累積罹患率については、既に報告した(Tanaka H, et al. Int. J. Cancer 2004)。また、同じ報告の中で、HBs 抗原陽性の HBV 重感染者では、HCC のリスクが、各々の単独感染のときに比

べて super additive に上昇することを、コホートデータで初めて報告した。一方、HBs 抗原陰性かつ HBc 抗体陽性かつ HBs 抗体陰性の、いわゆる occult HBV 感染と HCV 持続感染との重感染については、これが HCV 単独の持続感染に比べて、そのリスクを修飾するかどうかについては必ずしも明らかではない。また、HCV と HTLV-1 の重感染者における HCC 罹患をエンドポイントとしたコホート研究の報告はない。そこで、コホートデータを用いてこれら重感染者の HCC 罹患率を HCV 単独感染者と比較し、重感染がもたらす HCC 発症のインパクトを評価する。

B. 研究方法

1. 対象

1991 年～93 年に大阪府赤十字血液センターで献血をした 667,461 人(1,235,926 献血)のうちで、40 歳～64 歳、大阪府在住者を対象とした。このことから、①HCV 抗体強陽性者(2nd PHA 法:2¹²≤)、②①かつ HBs 抗原陽性者(PHA 法)、③①かつ

HBs 抗原陰性 HBc 抗体陽性かつ HBs 抗体陰性者、④①かつ HTLV-1 抗体陽性者(PA 法:2⁴≤)、⑤全てのウイルスマーカー陰性者、を抽出した。

2. 追跡

対象者の献血者ファイルの性、生年月日、住所、姓の第1字を使用し、大阪府がん登録資料にある HCC 罹患リストと記録照合し、対象者の 2000 年末日までの HCC 罹患を把握した。

3. 解析

初回献血日を観察開始日、HCC 罹患日または 2000 年末日を観察終了日として人年法で上記5群の HCC 累積罹患率を計測した。また、HCV 単独感染群に対する、上記②, ③, ④群の HCC 罹患相対危険度を Cox 比例ハザードモデルにより算出した。観察開始時の肝の炎症の強さおよび肝機能を調整するため、献血時検査項目のうち、Alanin amino transferase (ALT) および血清コレステロール値を調整した。

(倫理面での配慮)

表1. 対象者の観察開始時(献血時)属性

	GROUP				
	HCVのみ+ n=1927	HCV&HBs+ n=25	HCV&HBc+ n=127	HCV&HTLV1+ n=104	陰性 n=150379
献血時平均年齢 (SD)	51.1 (6.5)	50.0 (6.4)	50.8 (6.1)	52.1 (6.6)	48.6 (6.1)
性別	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)
男	987 51.2	16 64.0	78 61.4	55 52.9	81694 54.3
女	940 48.8	9 36.0	49 38.6	49 47.1	68685 45.7
ALT	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)
29KU以下	1318 68.4	16 64.0	85 66.9	76 73.1	142795 95.0
30-59	425 22.1	9 36.0	25 19.7	20 19.2	6928 4.6
60KU以上	184 9.5	0 0.0	17 13.4	8 7.7	656 0.4
コレステロール※	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)	(人) (%)
低	250 13.0	8 32.0	26 20.5	18 17.3	4154 2.8
中低	600 31.1	10 40.0	35 27.6	31 29.8	26880 17.9
中高	602 31.2	5 20.0	33 26.0	30 28.8	52998 35.2
高	475 24.6	2 8.0	33 26.0	25 24.0	66347 44.1

※コレステロール<低: 139mg/dl以下, 中低: 140-169mg/dl, 中高: 170-199mg/dl, 高: 200mg/dl以上>

本研究の実施にあたっては、大阪府立成人病センターおよび大阪府赤十字血液センターの倫理審査委員会にて研究計画の承認を得た。対象者を1人1件にする作業および追跡作業に必要であった個人情報情報は、同作業が終了した時点で消去した。

C. 研究結果

表1に対象者の観察開始時属性を示す。5つのグ

ループとも平均年齢は 49 歳～52 歳とほぼ同じであった。ALT 値の分布は、全てのウイルスマーカー(抗体)が陰性のグループでは ALT が 25 Karumen Unit (KU) 以下の正常値を示す者が 95%で、60 KU 以上の者が 0.4%であった。これに対し、他の4つのグループは、25 KU 以下の者の割合が 64%～73%と、その割合が低かった。血清コレステロール値が 139 mg/dl 以下の低値を示す者の割合は1つ以

表2. 対象者の追跡結果. 肝細胞癌累積罹患率

	GROUP				
	HCVのみ+ n=1927	HCV&HBs+ n=25	HCV&HBc+ n=127	HCV&HTLV1+ n=104	陰性 n=150379
平均観察期間(月) (最短-最長)	98.2 (2-119)	85.9 (6-102)	99.1 (7-119)	97.1 (30-118)	96.7 (0-106)
HCC罹患数	53人	3人	1人	3人	27人
HCC罹患時平均年齢 (SD)	59.9 (5.4)	49.7 (11.2)	48.0 —	61.7 (8.6)	62.7 (4.4)
累積罹患率/10万人年	336	1677	95.3	357	2.2

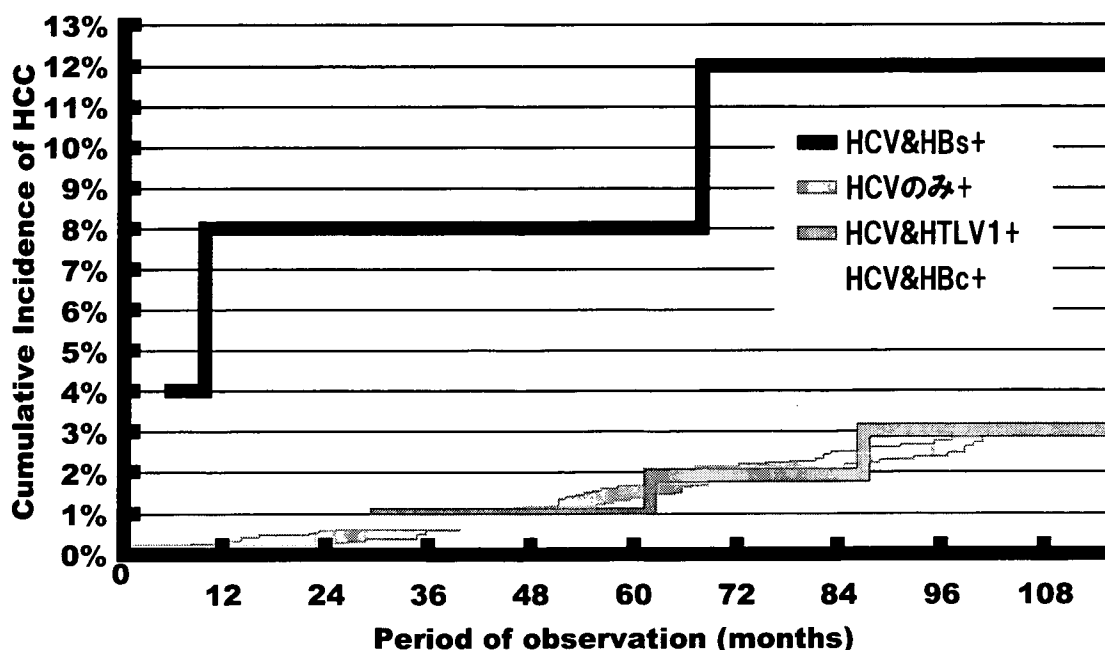


図1. C型肝炎ウイルス(HCV)単独感染者とB型肝炎ウイルス、HTLV-1に重感染したHCV感染者の肝細胞癌累積罹患率

上のウイルスマーカー(抗体)が陽性の4つのグループでは13%~32%と、全て陰性のグループの2.8%と比べて明らかに高かった(表1)。

平均観察期間は86月~99月であった(表2)。HCCに罹患した者は全体で87人で、罹患時の平均年齢は、HCVとHBVの重感染(第2グループ)者で50歳と、他のグループに比べて低かった。10万人年あたりの累積罹患率はHCVのみ陽性グループ336、HCV陽性かつHBs抗原陽性グループ1677、HCV陽性かつHBs抗体陽性かつHBs抗体陰性グループ95.3、HCV陽性かつHTLV-1抗体陽性グループ357、全てのウイルスマーカー(抗体)陰性グループ2.2であった(表2)。図1に第1~4グループにおけるHCC累積罹患曲線(カプランマイヤー法)を示す。

表3にHCVのみ陽性グループにおけるHCC罹患リスクを基準とした時の、調整ハザード比を示す。性・年齢のみを調整した場合、これにALT値を加えた場合、および血清コレステロール値をも調整に加えた場合のいずれにおいても、HBs抗原陽性重感染者では、有意なリスクの上昇を認めた(ハザード比

4.3~5.4)。これに対し、HBs抗体陽性の重感染者ではハザード比が0.23~0.26、HTLV-1陽性の重感染者では0.99~1.30と、HCVのみ陽性グループに比べて有意なリスクの上昇を認めなかった(表3)。

D. 考察

HCV感染者でHBs抗原陽性のHBVとの重感染を起こしている者では、HCV単独感染者に比べてHCCの罹患リスクが増強されることは、これまで著者らの報告を含め、ほぼconvincingな証拠が固まった。Prevalenceがこれよりも大きい、HBVのoccult感染(HBs抗原、HBs抗体がともに陰性で、HBc抗体が陽性)との重感染でも、HCCの罹患リスクが増強するかについては、現在のところあまり明らかではない。Ikedaらは、C型HCCの罹患リスクに関して、C型肝炎患者でHBc抗体陽性の者では、陰性の者に比べて1.58倍、有意に高いリスクを示したが、一方、C型肝炎患者においては、HBc抗体陽性であっても陰性の者とほとんどHCCの罹患リスクは変わらないことを、コホート研究で示した(Ann Intern Med 2007, vol.146)。

表3. 重感染によるHCVキャリアの肝細胞癌罹患リスクの変化

	n	HCC	性, 年齢 調整	性, 年齢, ALT 調整	性, 年齢, ALT, コレステロール 値調整
HCVのみ+	1927	53	1.00 (-)	1.00 (-)	1.00 (-)
HCV&HBs+	25	3	4.30 (1.34-13.80)	5.38 (1.64-17.68)	4.30 (1.30-14.20)
HCV&HBc+	127	1	0.26 (0.04-1.87)	0.23 (0.03-1.65)	0.23 (0.03-1.65)
HCV&HTLV1+	104	3	0.99 (0.31-3.17)	1.30 (0.40-4.16)	1.12 (0.35-3.60)

性(男/女), 年齢(40-49/50-54/55-59/60-64),
ALT(29KU以下/30-59/60KU以上),
コレステロール値(139mg/dl以下/140-169/170-199/200mg/dl以上)

我々の対象者の過半数は、献血時の ALT 値から推測して、HCV 無症候性キャリアだと考えられ、重感染による罹患リスクの増強を認めなかった。Ikedaらの報告が、HBs抗体陽性の occult HBV 重感染が HCV 持続感染者における HCC 罹患リスクを増強するとしても、その作用の出現は、肝硬変になった後からであることを示唆するものとするれば、我々の今回の結果と必ずしも矛盾するものではない。

次に、HCV と HTLV-1 との重感染については、コホート研究による罹患リスク比の計測は今回が初めてであると思われる。HIV との重感染で見られるような、HTLV-1 との重感染が免疫能を低下させ、そのことが HCC の罹患リスクの増強につながる可能性を考えていたが、結果は、HCV 単独感染者罹患リスクと比べて、ほとんど変わらなかった。HTLV-1 と重感染している C 型慢性肝炎患者に対するインターフェロン療法の短期効果および HCC 発症抑制効果の評価については、九州地方を中心に今後の評価が期待される。

E. 結論

大阪府赤十字血液センターで献血をした①occult HBV (HBs抗原陰性かつ HBc抗体強陽性かつ HBs抗体陰性) と HCV との重感染者 127 人、②HTLV-1 と HCV との重感染者 104 人、③HCV 単独感染者 1,927 人を大阪府がん登録資料を用いて平均 98 ヶ月追跡し、肝細胞癌 (HCC) 罹患リスクを比較検討した。HCV 単独感染者の罹患リスクを基準にした調整ハザード比は occult HBV との重感染者で 0.23 (95% CI=0.03-1.65)、HTLV-1 との重感染者で 1.12 (95% CI=0.35-3.60) と、有意なリスクの増加を認めなかったことから、occult HBV および HTLV-1 は、HCV の持続感染による HCC の発症過程を促進するとは考えにくかった。

研究2:C 型慢性肝炎患者に対するコーヒーを用いた肝の消炎作用評価のためのクロスオーバー介入研究

A. 研究目的

ここ数年、日本およびイタリア、ギリシャで行なわれた複数のコホート研究の結果は、コーヒー摂取が肝がんの予防につながる可能性を示唆している。コーヒーによる肝がん予防の作用機序を説明するものとして、コーヒーの肝における抗炎症作用が示唆されており、肝機能障害を有する住民を対象とした米国での大規模断面調査では、コーヒーの摂取量と肝での炎症の強さとの間に負の相関を認めている。

コーヒー摂取が抗炎症効果を持つことが確認できれば、有効量以上のコーヒーの摂取を勧奨することにより、日本のみならず途上国においても慢性肝炎の悪化を防ぎ、肝がんを予防できる可能性が生まれる。本研究ではコーヒー摂取がウイルス性肝障害の進行を抑制する効果を持つかどうかを慢性肝炎の標準治療が普及していないヴェトナム国において慢性 B・C 型肝炎患者を対象に検証する。

B. 研究方法

慢性肝炎に対する薬物治療が普及していないベトナム共和国をフィールドとし、研究デザインはクロスオーバーデザインによる介入研究とする。慢性肝炎疑い例として共同研究施設に紹介された患者 80 名に対して、ウイルス学的検査および腹部超音波検査等によって、一定の条件をみたす慢性 B 型・C 型肝炎患者を同定する。このうち説明同意を得ることのできた患者を2群に分け、開始時期をずらして研究用にパックしたインスタントのコーヒーを毎日 5 杯を8週間継続して摂取させ、コーヒー摂取の開始から、2週ごとに採血する。介入開始から8週時点でコーヒーの摂取を禁止し、その後 2 週ごとに計 4 回採血する。介入前介入中、介入終了後の血清トランスアミナー

ぜ値の変化および2群間の介入期と非介入期における同値の差異を指標としてコーヒーの抗炎症効果 およびその持続期間の効果を評価する。 表1に対象者の抽出条件を示す。Criteria A, B, C

表1. 対象者の選定条件

Study participants are those who meet all of the Criteria A, B and C below

Criteria A: Patients with lab-confirmed, HCV-RNA positive, chronic active hepatitis C, aged from 30 to 59 years.

Criteria B: blood-chemistry index of liver function, platelets, and HBs Ag/HIV Ab status; all of conditions below

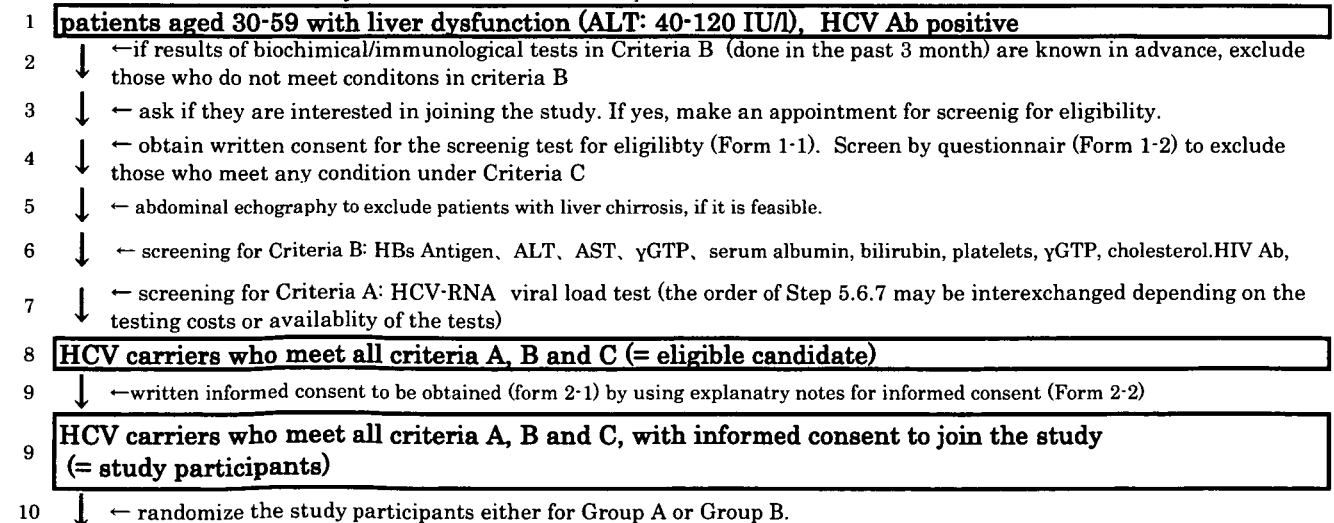
- 1) ALT : 40-120 IU/l, 2) ALT/AST >1, 3) γ GTP < 50 IU/l, 4) serum total cholesterol > 130 mg/dl, 5) blood platelets > 100,000/ μ l, 6) serum bilirubin < 2.0 mg/dl, 7) serum albumin > 3.5g/dl, 8) HIV Ab negative, and 9) HBs Ag negative.

Criteria C: Exclusion criteria: without any one of conditions below;

- 1) liver cirrhosis of uncompensated stage suspected by physical examination (for example, presence of ascites) or abdominal echography (presence of liver atrophy) (reason for exclusion: the potential coffee effect is unlikely to show)
- 2) current heavy alcohol-drinker (alcohol consumption > 1 liter of beer everyday or equivalent level of alcohol consumption = 50g per day)
- 3) current heavy coffee-drinker (4 or more cups per day) (reason for exclusion: abstaining from coffee may be difficult)
- 4) under medication against hepatitis (reason for exclusion: the potential coffee effect is likely to be masked)
- 5) potential inability to comply with drinking coffee as an intervention (due to dislike of coffee, mental illness, low intelligence, lack of family support, etc.)
- 6) current intravenous drug user (self-claimed or those whom a physician suspect to be),
- 7) excessive obesity (Body mass index > 30) (reason for exclusion: the potential coffee effect is likely to be masked)
- 8) presence of gall stone or peptic ulcer (reason for exclusion: the potential of coffee side effect)

図1. 対象者を抽出する手順

Flow chart for the interventional study on coffee intake and chronic hepatitis C in Vietnam: a randomized crossover clinical trial



を全て満たした者を対象者とし、候補者はハノイ医科大学およびその関連病院の外来および入院患者から得る。また、図1に対象者を抽出する手順を示す。

次に、介入および測定の内容と手順を、図2-A、図2-Bに示す。図2-Aは、エントリーphase終了直後からコーヒーを飲用してもらうGroup Aに対する介入および測定の内容と手順であり、図2-Bは、エントリーphaseの後に8週間の観察期間を設けた後にコーヒーを飲用してもらうGroup Bのそれである。

本研究で用いるクロスオーバー試験のダイヤグラムを図3に示す。2週間の間隔で測定するALT値について、1) A1期(Group Aの介入期) v.s. B1期(Group Bの観察期)、2) A1期+B2期(Group Bの介入期) v.s. A3期(Group Aのwash out期の後の観察期 + B1期)、3) A1期+A3期 v.s. B1期+B2

期の3通りの比較を行い、コーヒーによる肝の抗炎症作用を評価する。

介入に用いるコーヒーは、日本国内で市販されているインスタントコーヒー5杯分(カフェイン量にして350mg)を、研究用一杯分毎に包装し、1日5杯分を1つのビニール袋に入れた。対象者が毎日の飲用数を記録し、残ったコーヒーの袋を研究補助員が回収して毎日の使用量を把握することとした。

(倫理面での配慮)

本研究計画は大阪府立成人病センター倫理審査委員会で承認を得た。コーヒーの摂取は、文献的にカフェイン依存が形成するとされている1日500mgよりも少ない350mgに止めた。2週間毎の採血時に不眠等の副作用をチェックし、現地の協力医師の判断で、減量、中止できることとした。

図2-A. 介入および測定の内容と手段 (Group A)

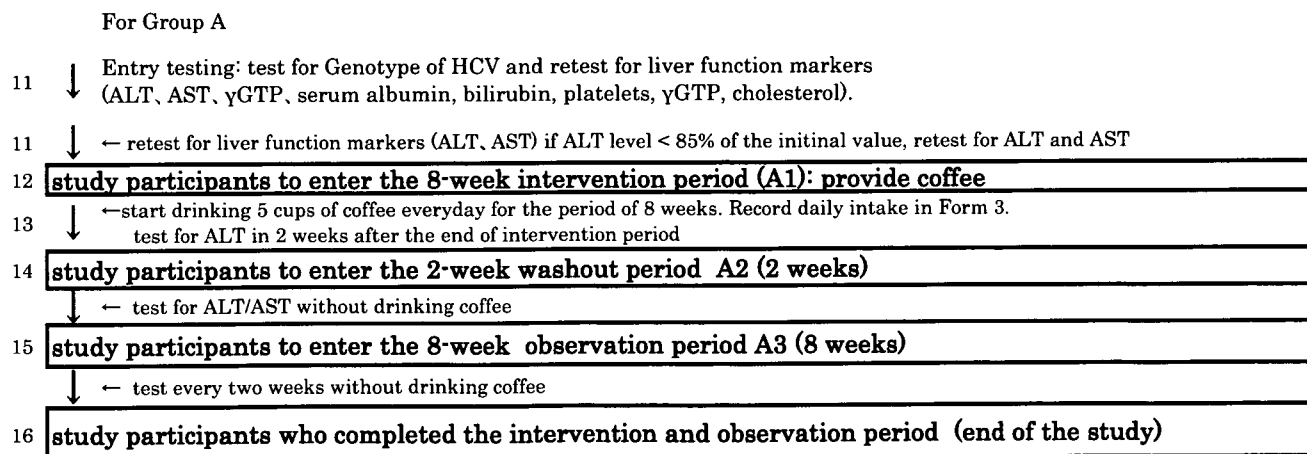
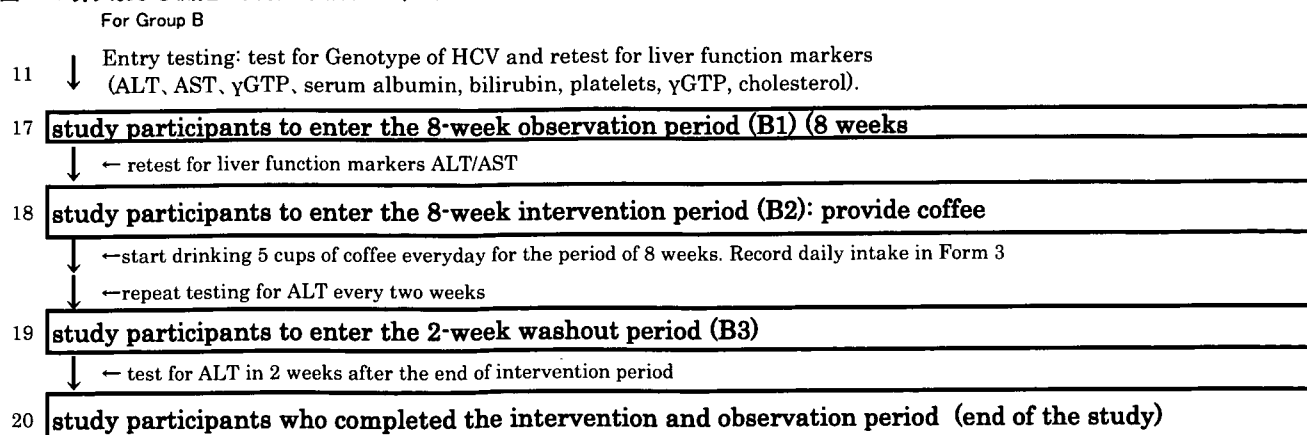
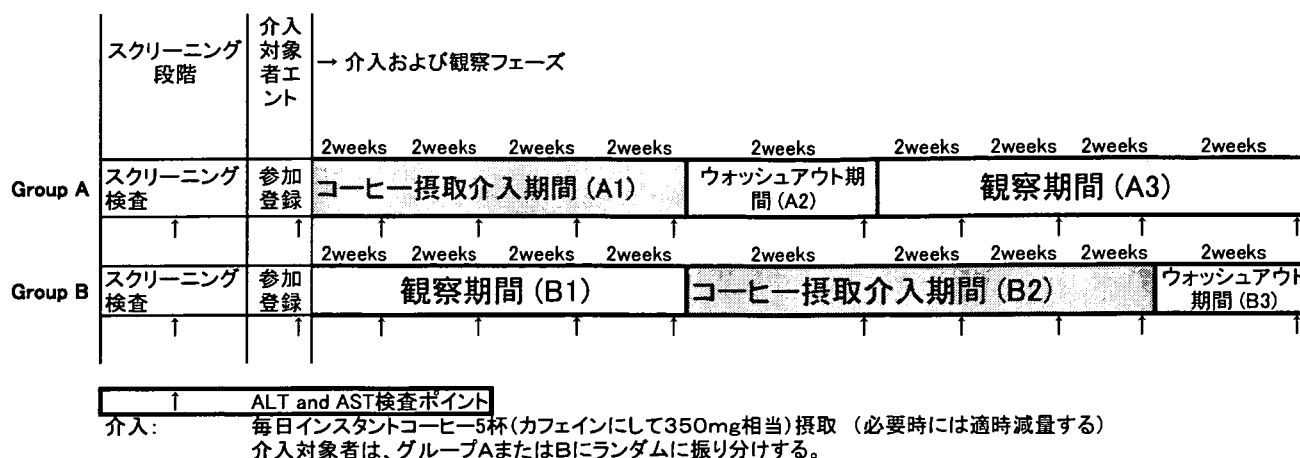


図2-B. 介入および測定の内容と手段 (Group B)





ALTの変化は以下で評価する: 1) A1 and B1, 2) (A1 and B2) and (A3 and B1), 3) A1 と A3、B1 と B2

図3. 本研究でのクロスオーバー試験のダイアグラム

表2. 平成19年12月時点における対象候補者リスト, ヴェトナム.

List#	age	sex	illness	past/current chem tested	date blood	HCV Ab (+)	HCV RNA (+)	HIV (-)	HBsAg (-)	ALT (40-120 IU/l)	ALT/AST >1	Cholesterol (>130 mg/dl)	Bilirubin (<1.6 mg/dl)	Albumin (>3.6 g/dl)	Platelets (x1k) (>100,000 /ml)
25	30	1	injured	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	37	1.7	3.9	22.5	45.5	228	
11	30	1	injured	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	44	0.6	4.6	10.3	42.5	186	
14	30	1	kidney stone	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	46	1.8	3.3	12.3	41.8	113	
4	42	1	gall stone	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	48	1.7	3.9	14.0	38.8	187	
19	34	2	injured	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	50	1.4	3.9	14.3	40.0	128	
27	30	1	stomach	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	58	1.5	3.5	14.3	41.6	218	
10	42	1	gall stone	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	61	0.7	5.1	20.3	37.9	190	
7	50	1	kidney stone	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	62	1.0	3.4	7.8	37.5	88	
26	46	1	healthy	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	82	1.6	4.5	19.9	41.9	254	
28	55	2	kidney	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	83	1.4	4.4	6.5	42.4	183	
31	30	1	injured	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	98	1.9	3.7	29.4	46.1	180	
18	64	1	healthy	8-Aug-07	pos	pos	neg	neg	99	0.8	2.9	9.4	42.8	96	
45	30	1	brain	19-Nov-07	pos	pos	neg	pos	38	1.0	4.4	13.6	41.9	189	
49	30	1	injured	19-Nov-07	pos	pos	neg	neg	44	0.8	4.7	20.8	41.9	221	
50	41	1	stomach	19-Nov-07	pos	pos	neg	neg	55	1.1	4.1	7.2	42.8	86	
43	30	1	gall stone	19-Nov-07	pos	pos	neg	neg	58	1.4	4.1	13.1	44.5	225	
37	30	1	injured	19-Nov-07	pos	pos	neg	neg	74	1.7	5.6	5.8	47.8	190	
41	55	1	healthy	19-Nov-07	pos	pos	neg	neg	77	0.7	6.8	13.5	36.9	216	
40	68	1	prostate	19-Nov-07	pos	pos	neg	neg	82	0.7	3.8	20.0	39.5	127	

C. 進捗状況

現在、対象候補者の選定作業を進めている。平成19年12月時点における対象候補者のリストを表2に示す。ヴェトナムでの倫理審査委員会の判断待ち(平成20年3月時点)であり、承認を得次第、介入を開始する。

D. 結論

コーヒーの摂取量が肝疾患有病者における ALT 値と負の相関を示すこと、およびコーヒーの摂取量と

肝発癌リスクおよび肝癌による死亡率との間に負の量反応関係が見られるとする複数の疫学研究報告がある。このため、C 型慢性肝炎の標準治療が普及していないヴェトナム国において、同患者 50 人を対象とし、ALT 値を指標としたクロスオーバーデザインによる介入研究(1日カフェイン量にして 350mg のインスタントコーヒーを8週間投与)を企画した。現在、ハノイ医科大学とその関連施設において、対象候補者を選定している。

E. 研究発表

論文発表

1. Tanaka H, Uera F, Tsukuma H, Ioka A, Oshima A. Distinctive change in male liver cancer incidence rate between the 1970s and 1990s in Japan: comparison with Japanese-Americans and US whites. *Jpn J Clin Oncol.* 37(3):193-6. 2007.
2. 田中英夫. 特定健診における肝機能異常値の評価. 総合臨床. 2008(印刷中).

学会発表

1. Tanaka H, Imai Y, Ito Y, Ioka A, Tsukuma H. Hepatocellular carcinoma incidence rate in ages of 50 to 79 has been decreased in the Japanese population: a population based survey. IACR. Slovenia. 2007.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
分担研究報告書

病院受診者集団の肝炎ウイルス感染者におけるウイルス感染関連疾患の
発生要因に関する疫学的検討

分担研究者 田中恵太郎 佐賀大学医学部社会医学講座予防医学分野 教授

研究要旨

環境要因(喫煙および飲酒)、宿主要因(薬物代謝酵素・サイトカインの遺伝子多型)および感染症(HTLV-I・HBV・*Helicobacter pylori*)が相互的に肝発癌に及ぼす影響について、症例対照研究の手法で検討した。肝細胞癌患者群 209 名、病院対照群(一般外来受診者)275 名、慢性肝疾患群(慢性肝炎・肝硬変患者)381 名の三群を比較検討した。この結果、慢性肝疾患患者において、より最近の喫煙が肝癌リスクを上昇させる事が明らかとなり、慢性肝疾患患者においても禁煙を勧奨する事が重要と考えられた。現在までに喫煙関連癌との関連が検討されてきた CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2E1, GSTM1, NAT2 の遺伝子多型の内、CYP1A2-2964G/A 多型が現在喫煙者あるいは現在多飲者において肝癌リスクと関連しており、またこの多型が現在喫煙あるいは多飲によるリスクを大きく修飾する事が明らかになった。CYP1A2 によって代謝される化学物質が肝発癌に重要な役割を果たしている可能性がある。前炎症性サイトカインである IL-1 β および TNF- α の遺伝子多型 *IL-1B-31C/T*, *TNF-A-1031C/T* および *TNF-A-308G/A* について検討を行った結果、非飲酒者および現在喫煙者において *IL-1B-31C/T* 多型が肝癌リスクに関連しており、この遺伝子型の違いによって飲酒および喫煙が肝癌リスクに及ぼす影響が異なる可能性が示唆された。抗 HTLV-I 抗体、抗 HBc 抗体および抗 *Helicobacter pylori* 抗体の内、抗 HTLV-I 抗体のみが肝癌リスクと関連している可能性が示唆され、より大規模な疫学研究による検証が望まれる。

I. 症例対照研究による肝細胞癌と喫煙の関連の検討(詳細については巻末添付文献参照: Hara M, et al. Case-control study on cigarette smoking and the risk of hepatocellular carcinoma among Japanese. *Cancer Sci* 2008; 99: 93-97)

A. 研究目的

わが国における肝細胞癌(以下、肝癌)の 9 割以上に C 型肝炎ウイルス感染あるいは B 型肝炎ウイルス感染が関与している。しかし、肝発癌は多段階発癌であり、他の環境要因や遺伝的素因によっても影

響を受ける事が報告されており、喫煙はその候補の一つである。

最近、国際癌研究機関(IARC)は肝癌を喫煙関連癌に分類した。しかし、次の問題がまだ十分に解決されていない。まず第一に、多くの疫学研究(特に症例対照研究)において喫煙と肝癌リスクの間の量反応関係が明確でない点がある。第二に、多くの研究(特にコホート研究)において最も重要な危険因子である肝炎ウイルス感染が考慮されていない点がある。第三に、肝炎ウイルス感染の有無によって喫煙

関連の肝癌リスクが異なる可能性(交互作用)が十分に解明されていない点がある。このため、肝癌予防の観点からどういう集団(健常者、肝炎ウイルス感染者、慢性肝疾患患者など)に禁煙を勧奨すべきかが明確でない。

本症例対照研究では、通常の病院対照群(一般外来受診者)の他に、肝癌合併のない慢性肝疾患群も対照群に設定して、喫煙と肝癌の関連に関する検討を行うと共に、上記の三点の問題に関する検討を行った。

B. 研究方法

対象者は全て、調査時点で年齢が40~79歳の佐賀県居住者に限定した。肝癌群は、2001年1月~2004年3月に確定診断を受けた初発の肝細胞癌患者209名であり、佐賀医科大学代謝内分泌科と佐賀県立病院好生館内科の入院・外来患者から選定した(協力率92%)。

対照群は、1)病院対照群(一般外来受診者)256名、2)慢性肝疾患群(肝癌の合併のない者)381名の二群からなる。病院対照群は、2001年5月~2003年4月に佐賀医科大学総合外来を受診した者(新患)であり、肝癌患者は除外し、年齢分布が肝癌群にできる限り近づく様に選定した(協力率73%)。この結果275名の参加者を得たが、外来受診時点で喫煙関連疾患に罹患していた19名(癌7名、虚血性心疾患2名、慢性閉塞性肺疾患5名、慢性咽頭炎・喉頭炎2名、胃潰瘍3名)を除外した256名を解析の対象とした。

慢性肝疾患群は、2001年9月~2004年3月に肝癌群と同じ診療科を受診した慢性肝炎患者298名と肝硬変患者83名の合計381名であり、肝癌を合併している者および特殊型肝硬変(胆汁性・自己免疫性・寄生虫性・うっ血性・代謝性など)の者は除外した(協力率96%)。

調査員(看護師)が自記式調査票と面接により喫煙・飲酒などの生活習慣に関する調査を行い、また採血してHBs抗原(CLIA法)と第二世代抗HCV抗体(EIA法)を測定した。

データ解析は unconditional logistic regression model を用いて、性、年齢(40-49, 50-59, 60-69, 70-79)、多飲歴(1日あたり日本酒換算3合以上・10年以上の飲酒歴あり, なし)、HBs抗原、抗HCV抗体を補正して、肝癌罹患に対する喫煙習慣のオッズ比(OR)と95%信頼区間(CI)を推定した。

(倫理面での配慮)

研究計画は、佐賀医科大学および佐賀県立病院好生館の倫理審査委員会の承認を受けた。また、調査員が説明文書を用いて研究参加に関する諸条件に関する説明を行い、対象者からあらかじめ書面による研究参加の同意を得た上で、調査を実施した。

C. 研究結果

性別の人数は、肝癌群(HCC)は男141名・女68名、病院対照群は男167名・女89名、慢性肝疾患群(CLD)は男205名・女176名であった。中央年齢は、肝癌群69歳、病院対照群61歳、慢性肝疾患群61歳であった。HBs抗原陽性者の割合は肝癌群9%、病院対照群2%、慢性肝疾患群9%、抗HCV抗体陽性者の割合は肝癌群86%、病院対照群8%、慢性肝疾患群86%であった。多飲歴がある者の割合は、男性では肝癌群33%、病院対照群13%、慢性肝疾患群17%、女性では肝癌群4%、病院対照群1%、慢性肝疾患群2%であった。現在喫煙者の割合は、男性では肝癌群47%、病院対照群34%、慢性肝疾患群37%、女性では肝癌群4%、病院対照群3%、慢性肝疾患群6%であった。

Fig. 1に喫煙習慣別に見た肝癌の補正オッズ比を示した。肝癌群と病院対照群の比較では、現在喫煙者にリスク上昇傾向を認めるが統計学的に有意な関

連ではなかった。一方、慢性肝疾患群との比較では、現在喫煙者に統計学的に有意なリスク上昇が見られた(OR = 2.5, 95%CI 1.4-4.6)。Fig. 2 に生涯喫煙量(pack-years)による肝癌の補正オッズ比を示した。どちらの対照群との比較でも量反応関係がはっきりせず(P trend = 0.43)、少量(1-19 pack-years)あるいは中等量(20-39 pack-years)のカテゴリーで最も肝癌リスクが高い傾向が観察された。

上述の様に現在喫煙者に肝癌リスク上昇が見られるが既往喫煙者にリスク上昇が見られず、また生涯喫煙量との関連がはっきりしないことから、より最近の喫煙がリスク上昇に関与している可能性が示唆された。この可能性を定量的に検討するために、喫煙期間を過去 40 年間、過去 20 年間、過去 10 年間、過去 5 年間と区分して、それぞれの期間における pack-years 別の肝癌リスクを推定した。この結果、肝癌群と病院対照群との比較ではどの期間でも統計学的に有意ではないが、肝癌群と慢性肝疾患群との比較(Fig. 3)で過去 10 年間あるいは過去 5 年間の pack-years の量反応関係が有意となった。この量反応関係は最近の喫煙になる程明瞭であり、特に過去 5 年間の喫煙量については強い関連が観察された。過去 5 年間に全く吸わなかった者を基準とした場合、1-4 pack-years の者のオッズ比は 1.9 (95%CI 1.1-3.6)であり、5 pack-years 以上の者のオッズ比は 2.8(95%CI 1.5-5.2)と推定された。

D. 考察

本研究では、肝癌群と慢性肝疾患群との比較において、より最近の喫煙が肝癌リスク上昇と関連しているという結果が得られた。肝癌群と病院対照群との比較で上記の関連がはっきりしなかった点については、病院対照群においては肝炎ウイルス感染者が少なかったために、HBs 抗原と抗 HCV 抗体の統計学的な補正が推定値を不安定にした事も一因となって

いると推測される。

現在までに行われた喫煙と肝癌に関する疫学研究の多くで量反応関係が明瞭でなかったが、本研究においても生涯喫煙量との間に量反応関係は観察されなかった。しかし肝癌群と慢性肝疾患群との比較で、より最近の喫煙ほど肝癌リスクと強く関連しており、量反応関係が明瞭になる傾向があった。この事は、最近の喫煙習慣の変化が喫煙と肝癌の関連に大きな影響を与え、この結果生涯喫煙量やかなり以前の喫煙習慣との量反応関係が歪んでしまう可能性を示唆する。

Hirayama および Tsukuma らは、大規模な追跡研究の結果に基づいて、喫煙が肝癌進展の末期に関与する可能性を示唆しているが、我々の結果はこの可能性を支持している。多段階肝発癌の観点からは、喫煙はイニシエーションというよりもプロモーションあるいはプログレッションに関与しているものと推測される。

喫煙と肝癌に関する疫学研究の多くにおいては肝炎ウイルス感染が考慮されていないが、本研究は肝癌群と慢性肝疾患群の比較において、肝炎ウイルス感染を補正した上で最近の喫煙が肝癌リスク上昇と関与している事を明らかにした。病院対照群との比較では、肝炎ウイルス感染を補正すると喫煙との関連が明らかでなくなった点については上述の通りであり、この問題を解決するためにはより多数の病院対照群の調査が必要になる。しかし、肝癌患者の大部分が慢性肝疾患患者から発生してくるという臨床的観察に基づけば、その様な多数の病院対照群を調査するよりも、肝炎ウイルスキャリアあるいは慢性肝疾患患者を対象集団とみなした研究デザインの方がより実際的な情報が得られるものと考えられる。

本研究においては、HBs 抗原と抗 HCV 抗体の両方が陰性である肝癌患者 17 名のみであり、喫煙と肝炎ウイルス感染の交互作用に関する検討(たとえば

肝炎ウイルス感染のない者においても喫煙によるリスク上昇があるかどうか)は行えなかった。しかし、主に HCV 感染に由来する慢性肝疾患患者において喫煙が肝臓リスクを増大させる事が明らかになり、慢性肝疾患患者においてはできる限り早く禁煙させる事が肝臓予防につながる可能性が示唆された。

E. 結論

慢性肝疾患患者において、より最近の喫煙が肝臓リスクを上昇させる事が明らかとなり、まだ臨床医あるいは一般の人々には広く認知されていないが、慢性肝疾患患者においても禁煙を勧奨する事が重要と思われる。

II. 症例対照研究による肝臓と薬物代謝酵素

(CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2E1, GSTM1, NAT2)の遺伝子多型の関連の検討

A. 研究目的

前年度に Cytochrome P450 1A2 (CYP1A2)および N-acetyltransferase 2 (NAT2)に関する結果を既に報告した。CYP1A2 および NAT2 はタバコの煙に含まれる芳香族アミンやヘテロサイクリックアミンなどの発癌物質の代謝活性化と解毒に関わる酵素である。

一方、芳香族アミンやヘテロサイクリックアミンは、タバコの煙に含まれる発癌物質としては量が少なく、従来からタバコの煙中により多く含まれる芳香族炭化水素が特に肺癌との関連において注目されてきた。芳香族炭化水素の代謝活性化(第 I 相)に関わる代表的な酵素は CYP1A1 であり、解毒(第 II 相)に関わる代表的な酵素は Glutathione S-transferase μ 1 (GSTM1)であり、これらの酵素の遺伝子多型が喫煙に関連した肝臓発癌に関与している可能性がある。また、タバコ煙中には他の発癌物質としてニトロソアミンが含まれており、この代謝活性化に関わる酵素として

CYP2A6 および CYP2E1 が知られており、これらの遺伝子多型と肝臓の関連も興味を持たれる。

今回の研究では、前年度の結果を踏まえて、新たに CYP1A1, CYP2A6, CYP2E1 および GSTM1 を解析結果に加え、各遺伝子多型が肝臓リスクに関連しているかどうかを総合的に検討すると共に、各遺伝子多型と喫煙が肝臓リスクに及ぼす相互作用について検討を加えた。

B. 研究方法

対象者は、前述の肝臓群 209 名、病院対照群(一般外来受診者、喫煙関連疾患に罹患していた者 19 名の除外なし)275 名および慢性肝疾患群(肝臓の合併のない者)381 名である。

バフィーコートから DNA を抽出して、CYP1A1 *MspI* 多型 (3'-flanking region)、CYP1A2 *DdeI* 多型 (5'-flanking region, G-2964A)、CYP2A6 *AccII* および *Eco8II* 多型 (functional allele [CYP2A6*1A, CYP2A6*1B] と whole-deletion allele [CYP2A6*4C] の有無を判別)、CYP2E1 *RsaI* 多型 (5'-flanking region, C-1019T)、NAT2 *Asp718*, *TaqI* および *BamHI* 多型 (functional allele [NAT2*4] と non-functional allele [NAT2*5, NAT2*6, NAT2*7]の有無を判別)については、polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)法で決定した。GSTM1 多型 (homozygous deletion [null genotype] と non-null genotype) は PCR 法で決定した。なお、遺伝子多型の判定結果の信頼性を検討するため、ランダムに選択した 10%の検体について再度同一方法で遺伝子型決定を行って、結果が一致するかどうかを確認した。また、異なる遺伝子型と判定された数件の検体について direct sequencing を行って、結果が一致するかどうかを確認した。

データ解析は unconditional logistic regression