

model を用いて、性、年齢 (40-49, 50-59, 60-69, 70-79)、飲酒歴 (非飲酒、既往飲酒、現在飲酒)、喫煙歴 (非喫煙、既往喫煙、現在喫煙)、HBs 抗原、抗 HCV 抗体を補正して、各遺伝子型別のオッズ比 (OR) と 95% 信頼区間 (CI) を推定した。

(倫理面での配慮)

前述の通りである。

C. 研究結果

Table 1, Fig. 4, Fig. 5 に各遺伝子型別の補正オッズ比を示した。統計学的に有意な関連が見られた遺伝子多型はなかった。しかし、肝癌群と慢性肝疾患患者の比較で、*CYP1A2* G-2964A 遺伝子多型のみが肝癌リスクと関連する傾向が観察され (P trend = 0.10, Table 1, Fig. 5)、変異型アレル (A allele) を持つ者にリスクが低下する傾向を認めた。この関連を、現在喫煙の有無別に検討すると (**Fig. 6**)、現在喫煙者においてこの関連が非常に強くなる傾向があったが (P trend = 0.003)、現在喫煙していない者においてはその様な関連は見られなかった (P trend = 0.91)。また、現在喫煙のオッズ比を *CYP1A2* 遺伝子型別に検討すると (**Fig. 7**)、野生型ホモ接合体 (G/G 型) の者において現在喫煙のオッズ比が 4.3 (95%CI 2.1-8.8) と有意に上昇しているのに対して、ヘテロ接合体 (G/A 型) あるいは変異型ホモ接合体 (A/A 型) の者では現在喫煙のオッズ比は 1.3 (95%CI 0.6-3.0) と有意に上昇していなかった。現在喫煙と *CYP1A2* 遺伝子型の交互作用は統計学的に有意であった (P interaction = 0.002)。

CYP1A2 は、MEOS (microsomal ethanol oxidizing system) に関与してエタノールの代謝に関わっているとする報告があるため、飲酒と *CYP1A2* 遺伝子多型との交互作用についても検討を行った (**Fig. 8, Fig. 9**)。この結果、現在多飲者 (一日あたり日本酒換算 2 合以上) において *CYP1A2* 遺伝子多型と肝癌リスク

の関連は統計学的に有意だが (P trend = 0.01)、現在多飲していない者においてはその様な関連は見られなかった (P trend = 0.30) (**Fig. 8**)。また、野生型ホモ接合体 (G/G 型) の者において現在多飲のオッズ比が 11.4 (95%CI 2.6-49.7) と著明に有意に上昇しているのに対して、ヘテロ接合体 (G/A 型) あるいは変異型ホモ接合体 (A/A 型) の者では現在多飲のオッズ比は 3.9 (95%CI 1.1-13.3) にとどまった (P interaction = 0.01) (**Fig. 9**)。

CYP1A2 以外の遺伝子多型と喫煙・飲酒の間には、明らかな交互作用は観察されなかった。また、肝癌群と病院対照群との比較では、どの遺伝子多型についても有意な関連は得られず、また喫煙・飲酒との交互作用も明らかでなかった。

D. 考察

本年度は、前年度の *CYP1A2* および *NAT2* の検討に加えて、肺癌などの喫煙関連癌で検討されてきた *CYP1A1*, *CYP2A6*, *CYP2E1* および *GSTM1* の遺伝子多型の検討について合わせて検討したが *CYP1A2* 以外には統計学的に有意な結果は得られず、また喫煙・飲酒との交互作用も明らかでなかった。*CYP1A2* に関する結果は、基本的には前年度の報告と同様であるが、喫煙ばかりでなく飲酒との間にも交互作用が見られた点は興味深い。まだ十分に検討されていないものと思われるが、*CYP1A2* の遺伝子型によってエタノールによる酵素誘導が異なる可能性があり、今後の検討が必要である。

本研究で検討した薬物代謝酵素は、それぞれに特異的な基質を持っており、今回 *CYP1A2* に特異的に喫煙との間の交互作用が観察された点は注目に値する。タバコ煙中に含まれる発癌物質の内、*CYP1A2* によって代謝活性化を受ける物質 (芳香族アミン、ヘテロサイクリックアミン、あるいは未知の *CYP1A2* の基質) が肝発癌に重要な役割を果たして

いる可能性がある。

E. 結論

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 G-2964A 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。

III. 症例対照研究による肝癌と *IL-1B* および *TNF- α* 遺伝子多型の関連の検討

A. 研究目的

肝発癌リスクは、肝臓での炎症の重症度と共に増大する事が知られている。慢性炎症は様々な炎症性メディエーターの作用によって引き起こされるが、インターロイキン-1 β (IL-1 β) や腫瘍壊死因子- α (TNF- α) などの前炎症性サイトカインが炎症に関連した発癌に重要な役割を果たしている可能性が報告されている。近年、幾つかの疫学研究が IL-1 β や TNF- α の遺伝子多型が肝癌リスクに影響を与えている事を報告した。

一方、飲酒や喫煙は肝癌の危険因子である事が知られているが、同時に炎症性サイトカインの産生にも影響を与える事が報告されており、肝発癌における IL-1 β ・TNF- α の遺伝子多型と飲酒・喫煙の交互作用にも興味を持たれる。本研究では、前述の症例対照研究に基づいて、IL-1 β と TNF- α の遺伝子多型が肝癌リスクに及ぼす影響と飲酒・喫煙との交互作用について検討を加えた。

B. 研究方法

対象者は、前述の肝癌群 209 名、病院対照群(一般外来受診者)275 名および慢性肝疾患群(肝癌の合併のない者)381 名である。IL-1B の遺伝子多型(-31C/T)は、polymerase chain reaction with confronting two-pair primers (PCR-CTPP)法で決定した。TNF-A の遺伝子多型(-1031C/T および -308G/A)は、PCR-CTPP 法(-1031C/T)あるいは PCR-RFLP 法(-308G/A)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 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)、喫煙歴(非喫煙、既往喫煙、現在喫煙)、HBs 抗原、抗 HCV 抗体を補正して、各遺伝子型別のオッズ比(OR)と 95%信頼区間(CI)を推定した。

(倫理面での配慮)

前述の通りである。

C. 研究結果

IL-1B-31C/T, TNF-A-1031C/T, TNF-A-308G/A 遺伝子多型の各遺伝子型の分布を Fig. 10 に示した。IL-1B-31 遺伝子型については、T/T型が肝癌群にやや多い傾向を認めたが統計学的に有意でなく、その他の遺伝子型については差がなかった。

Fig. 11 に IL-1B-31 遺伝子型別の肝癌の補正オッズ比を示した。C/C型を基準とした C/T型、T/T型のオッズ比は、病院対照群と比較した場合 0.8(95%CI 0.4-2.0)、1.3(95%CI 0.5-3.7)、慢性肝疾患群と比較した場合 1.5(95%CI 0.9-2.4)、1.5(95%CI 0.9-2.5)で

あり、統計学的に有意な関連は見られなかった。病院対照群との比較では他にも特筆すべき関連は観察されなかったため、以後は肝癌群と慢性肝疾患群を比較した結果について示す。

飲酒習慣の有無別に見た *IL-1B-31* 遺伝子の補正オッズを **Fig. 12** に示した。C/C 型を基準とした C/T 型、T/T 型のオッズ比は、非飲酒者においてはそれぞれ 1.7 (95%CI 0.8-3.8)、2.5 (95%CI 1.1-5.8) (P trend = 0.03) と統計学的に有意な量反応関係が見られたのに対して、既往飲酒者あるいは現在飲酒者においては 1.3 (95%CI 0.7-2.4)、1.1 (95%CI 0.5-2.2) (P trend = 0.79) と有意な関連は見られなかった。また、*IL-1B-31* 遺伝子型別に多飲歴 (日本酒換算 3 合 10 年以上) のオッズ比を検討すると (**Fig. 13**)、C/C 型の者では多飲歴のオッズ比が 5.7 (95%CI 1.7-18.9) と著明な上昇が見られたのに対して、C/T 型の者では 3.1 (95%CI 1.4-7.2)、T/T 型の者では 0.8 (95%CI 0.3-2.3) と T allele が増える毎に段階的に低下していく傾向が観察された。

喫煙習慣の有無別に見た *IL-1B-31* 遺伝子の補正オッズを **Fig. 14** に示した。C/C 型を基準とした C/T 型、T/T 型のオッズ比は、非喫煙者あるいは禁煙者においては 1.5 (95%CI 0.9-2.7)、1.3 (95%CI 0.7-2.5) (P trend = 0.44) と有意な関連が見られなかったのに対して、現在喫煙者においては 1.5 (95%CI 0.6-3.9)、2.5 (95%CI 0.8-8.0) (P trend = 0.11) と上昇する傾向が観察された。また、*IL-1B-31* 遺伝子型別に現在喫煙のオッズ比を検討すると (**Fig. 15**)、C/C 型の者では現在喫煙のオッズ比が 1.6 (95%CI 0.5-5.0) と有意な上昇が見られなかったのに対して、C/T 型の者では 2.2 (95%CI 1.1-4.6)、T/T 型の者では 5.7 (95%CI 1.9-16.7) と T allele が増える毎に段階的に増大していく傾向が観察された。

この他、*TNF-A-1031C/T* 遺伝子多型と肝癌リスクの関連および飲酒・喫煙との交互作用についても検

討したが有意な結果は得られなかった。また、*TNF-A-308G/A* 遺伝子多型については A allele の頻度が非常に少なく十分な検討を行えなかった。

D. 考察

本研究では、*IL-1B-31* 遺伝子多型単独での肝癌リスクへの影響は明確ではないが、非飲酒者あるいは現在喫煙者において T allele を有する者の肝癌リスクが増大する傾向を認めた。*IL-1B-31C/T* 多型はプロモーター領域のいわゆる TATA ボックスを形成する遺伝子多型であり、T allele の方が転写開始因子との結合能が約 5 倍高い事が報告されている。したがって、T allele の方が肝臓における IL-1 β 産生の増大につながりやすく、その結果肝癌リスクの増大につながるメカニズムが考えられる。中等度の飲酒が NF- κ B を抑制する事により IL-1 β および TNF- α の産生を抑制したという報告や、多量の飲酒が NF- κ B の活性を抑制する事により IL-1 β および TNF- α によって誘導されるサイトカインの産生を減少させたとする報告がある。逆に、喫煙については IL-1 β の産生を亢進させる事が報告されている。上述の *IL-1B-31* 遺伝子多型と飲酒・喫煙との交互作用は、このような飲酒・喫煙の影響が関与しているのかもしれない。

E. 結論

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。

IV. 症例対照研究による肝癌と HTLV-I, HBV および *Helicobacter pylori* 感染の関連の検討

A. 研究目的

肝癌の原因として C 型肝炎ウイルス(HCV)および B 型肝炎ウイルス(HBV)の持続感染が主要な役割を果たしているが、近年他の感染症が肝癌リスクに影響を及ぼす可能性が報告されている。まず第一に human T-cell leukemia virus type I(HTLV-I)感染である。これは HTLV-I 感染の浸淫地区で HCV 関連肝癌患者において、対照群(HCV 関連慢性肝疾患患者)よりも抗 HTLV-I 抗体陽性率が高率であったとする報告から検討される様になった。第二に HCV と HBV の重複感染である。これは HCV 関連肝癌患者(HBs 抗原は陰性)において、対照群(HCV 関連慢性肝疾患患者)よりも抗 HBc 抗体が高率であったとする報告から検討される様になった。HCV 感染が単独で関与している様に見える肝癌でも、HBV の潜伏感染が重要な役割を果たしているとする考え方である。第三にピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) 感染である。これは、肝癌組織中から polymerase chain reaction により *H. pylori* の DNA が検出されたとする報告から検討される様になった。

本研究では、前述の症例対照研究における保存血漿を用いて上述の三つの感染症マーカー(抗 HTLV-I 抗体、抗 HBc 抗体および抗 *Helicobacter pylori* 抗体)と肝癌リスクの関連を検討した。

B. 研究方法

対象者は、前述の肝癌群 209 名、病院対照群(一般外来受診者)275 名および慢性肝疾患群(肝癌の合併のない者)381 名である。これらの対象者の保存血漿(-80℃にて凍結保存)を用いて、以下の三つの感染症マーカーを測定した。抗 HTLV-I 抗体はまず particle agglutination 法で一次検査を行い、陽性検体について western blotting 法(gp46, p19, p24 および p53 の存在の有無を確認)にて確認検査を行った。抗 HBc 抗体については chemiluminescent

immunoassay 法にて測定した。抗 *H. pylori* 抗体は enzyme immunoassay 法にて IgG 抗体を測定した。

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)、喫煙歴(現在喫煙あり、なし)、HBs 抗原、抗 HCV 抗体を補正して、各感染症マーカー陽性者のオッズ比(OR)と 95%信頼区間(CI)を推定した。

(倫理面での配慮)

前述の通りである。

C. 研究結果

Fig. 16 に病院対照群、慢性肝疾患群および肝癌群における抗 HTLV-I 抗体陽性率を示した。肝癌群の陽性率は 10%と病院対照群(5%)あるいは慢性肝疾患群(5%)よりも高い値を示した($P = 0.05$)。抗 HTLV-I 抗体陽性者の補正オッズ比は、肝癌群と病院対照群の比較では 1.03(95%CI 0.29-3.66)、肝癌群と慢性肝疾患群との比較では 1.84(95%CI 0.90-3.74, $P = 0.09$)であり、後者で上昇する傾向が見られた。

Fig. 17 に各群における抗 HBc 抗体陽性率を示した。抗 HBc 抗体陽性率は肝癌群に高率(36%)であり($P < 0.001$)、慢性肝疾患群(29%)と比較しても高率の傾向にあった($P = 0.10$)。しかし、抗 HBc 抗体陽性者の補正オッズ比は、肝癌群と病院対照群の比較では 0.97(95%CI 0.47-1.98)、肝癌群と慢性肝疾患群との比較では 1.09(95%CI 0.74-1.62)であり、どちらの比較でも上昇は見られなかった。**Fig. 18** は抗 HCV 抗体陽性・HBs 抗原陰性の対象者に限定して、慢性肝疾患群および肝癌群の抗 HBc 抗体陽性率を示したものであり、肝癌群の陽性率(31%)は慢性肝疾患群の陽性率(24%)よりも高い傾向であった($P = 0.07$)。しかし、この比較での抗 HBc 抗体陽性者の補

正オッズ比は 1.17(95%CI 0.77-1.77)であり、特に年齢の補正の影響が大きく、抗 HBc 抗体陽性者のリスク上昇は観察されなかった。

Fig. 19に各群における抗 *H. pylori* 抗体陽性率を示した。予想に反して、抗 *H. pylori* 抗体陽性率は肝癌群に低率(57%)であった(P = 0.05)。抗 *H. pylori* 抗体陽性者の補正オッズ比は、肝癌群と病院対照群の比較では 0.67(95%CI 0.33-1.37)、肝癌群と慢性肝疾患群との比較では 0.80(95%CI 0.55-1.18)であり、どちらの比較でも有意な関連は見られなかった。

D. 考察

本研究では、抗 HTLV-I 抗体陽性者において肝癌リスクが上昇する傾向を認め、以前の報告と一致する結果であった。この関連については、肝炎ウイルス感染と HTLV-I 感染の両方の浸淫地区でなければ検討が困難であり、世界の中でも日本の九州地域以外では検討が困難である事が推測される。対象者数をさらに増やした検討が望まれる。また肝癌リスクへの関与のメカニズムについても更なる検討が必要である。

抗 HBc 抗体については、従来の報告と一致して、慢性肝疾患群あるいは病院対照群のどちらと比較しても肝癌患者に高率の傾向を認め、これは抗 HCV 抗体陽性・HBs 抗原陰性の慢性肝疾患患者に限定しても同様であった。しかし、他の要因(特に年齢)を補正するとオッズ比の上昇は見られず、他の要因がこの関連に交絡している可能性を示唆する。近年、慢性肝疾患患者の追跡研究で他の要因を補正しても抗 HBc 抗体陽性者に肝癌リスク上昇が見られたる報告もあるが、少なくとも我々の結果はこの関連を支持していない様に思われる。

抗 *H. Pylori* 抗体については、予想に反して肝癌群に低率である傾向を認め、補正オッズ比は統計学

的に有意でなかった。この関連について、我々の結果は否定的と思われる。

E. 結論

本研究では、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た。そのメカニズムの検討も含めて、今後より大規模な疫学研究による検証が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hara M, Tanaka K, et al. Case-control study on cigarette smoking and the risk of hepatocellular carcinoma among Japanese. *Cancer Sci* 2008; 99: 93-97

2) 田中恵太郎. 生活習慣と肝臓がん. *BIO Clinica* (印刷中).

2. 学会発表

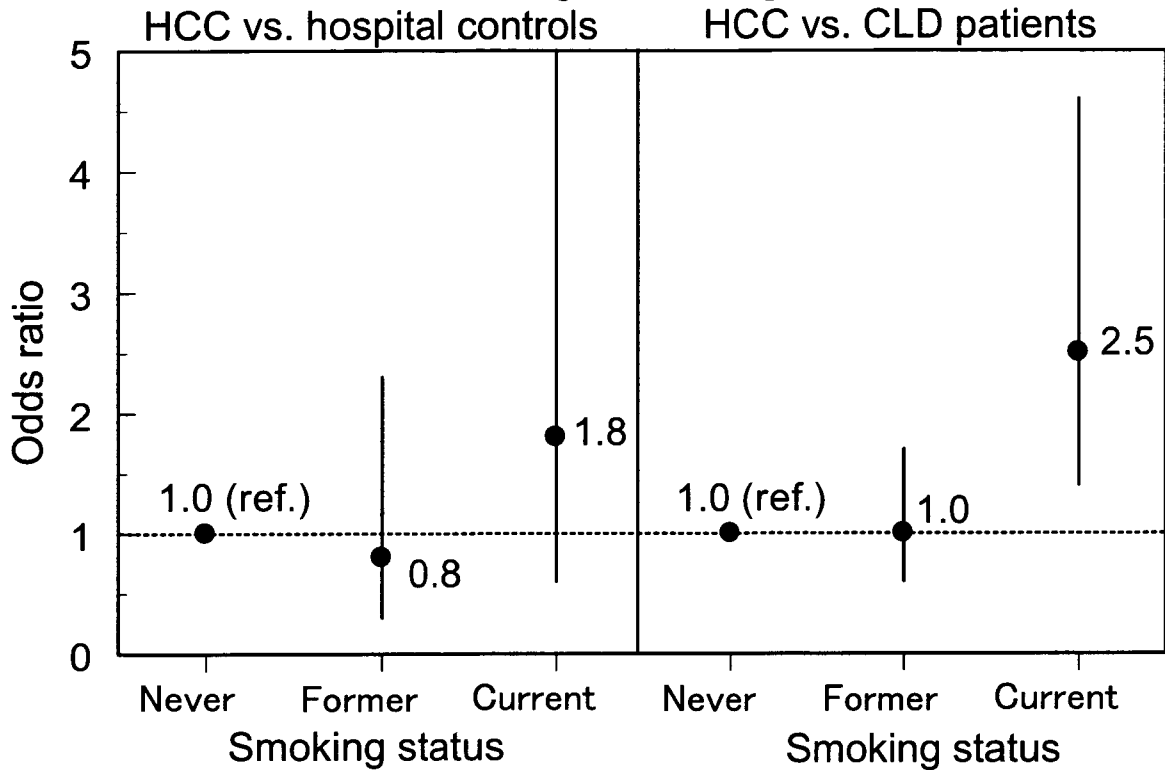
1) 田中恵太郎. 肝炎ウイルス対策と生活習慣改善による肝がん予防. 第27回日本医学会総会(シンポジウム). 2007, 4, 6.

2) Imaizumi T, Tanaka K, et al. *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2A6*, *CYP2E1*, *GSTM1* and *NAT2* polymorphisms and hepatocellular carcinoma: a case-control study. 第66回日本癌学会学術総会. 2007, 10, 5.

H. 知的財産権の出願・登録状況

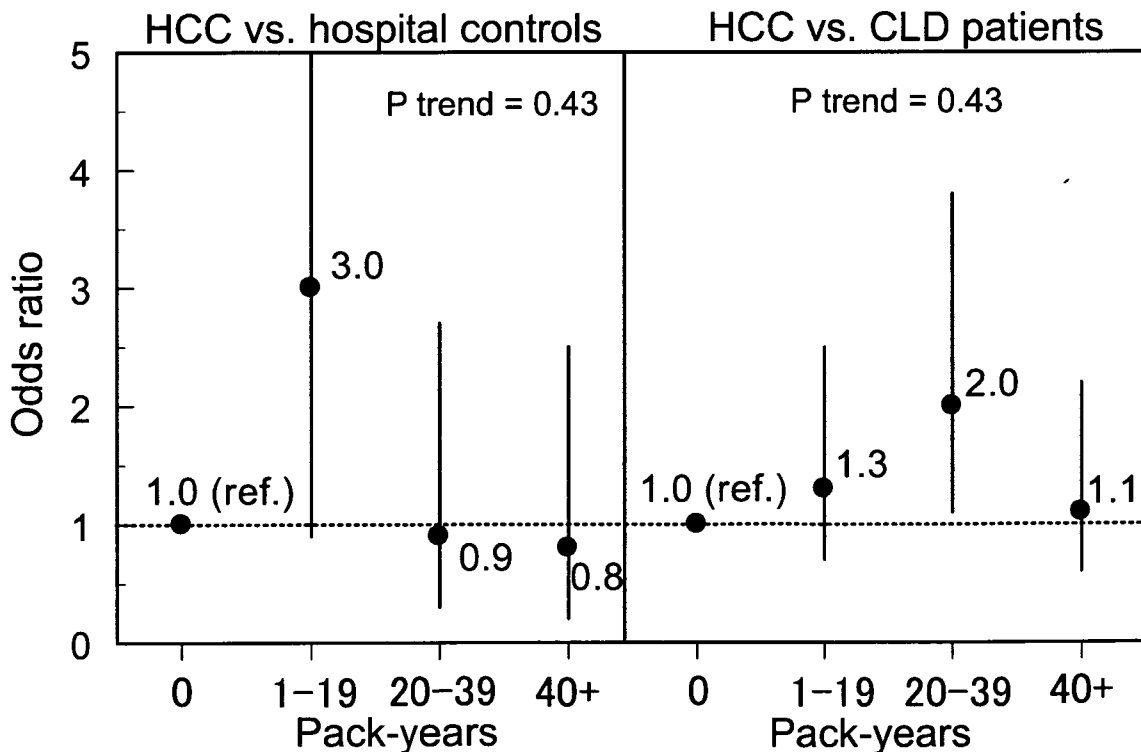
なし

Fig. 1. Adjusted odds ratios* (and 95% confidence intervals) of HCC according to smoking status



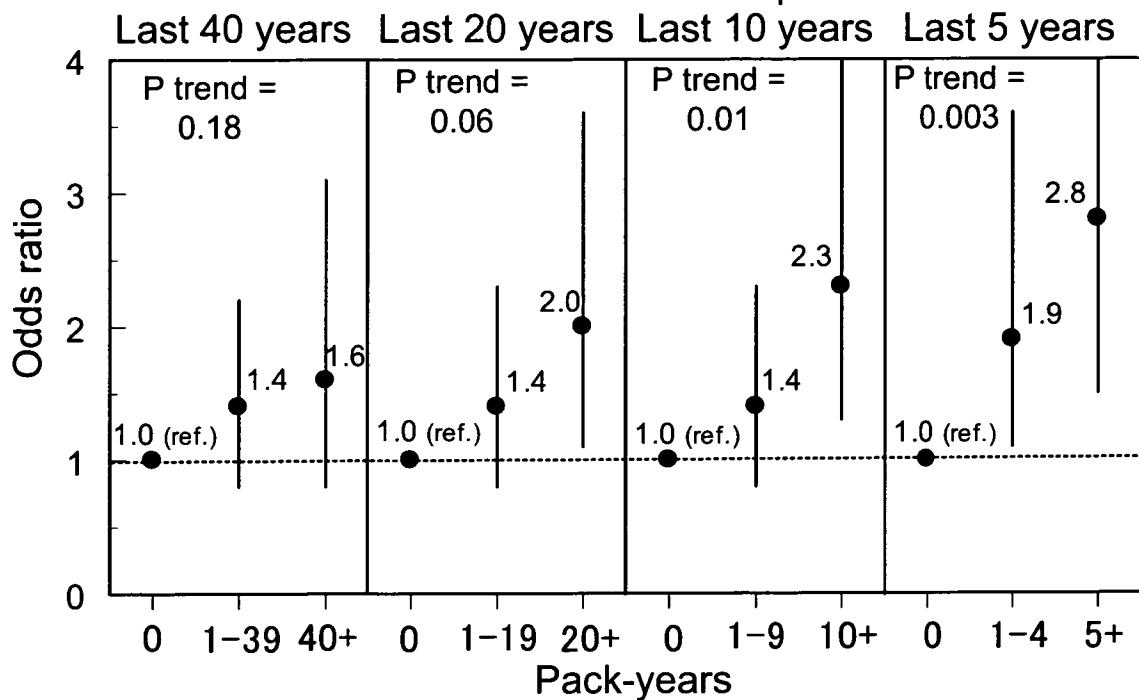
*Adjusted for sex, age, HBsAg, anti-HCV and heavy drinking history

Fig. 2. Adjusted odds ratios* (and 95% confidence intervals) of HCC according to pack-years during lifetime



*Adjusted for sex, age, HBsAg, anti-HCV and heavy drinking history

Fig. 3. Adjusted odds ratios* (and 95% confidence intervals) of HCC according to pack-years during different time periods —209 HCC cases vs. 381 CLD patients—



*Adjusted for sex, age, HBsAg, anti-HCV and heavy drinking history

Table 1. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) of HCC for *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2A6*, *CYP2E1*, *NAT2* and *GSTM1* polymorphisms

Genotype	HCC cases vs. CLD patients		HCC cases vs. Hospital controls	
	No. cases/controls	OR ^a (95% CI)	No. cases/controls	OR ^a (95% CI)
<i>CYP1A1</i> Wild-type	81/143	1.0 (reference)	81/111	1.0 (reference)
<i>CYP1A1</i> Heterozygote	96/180	1.1 (0.7-1.7)	96/114	1.5 (0.6-3.6)
<i>CYP1A1</i> Variant homozygote	32/58	1.3 (0.6-2.5)	32/50	1.5 (0.5-4.9)
		P trend= 0.54		P trend= 0.42
<i>CYP1A2</i> Wild-type	121/204	1.0 (reference)	121/150	1.0 (reference)
<i>CYP1A2</i> Heterozygote	75/140	0.8 (0.5-1.3)	75/106	0.5 (0.2-1.3)
<i>CYP1A2</i> Variant homozygote	13/37	0.5 (0.2-1.1)	13/19	0.6 (0.1-3.2)
		P trend= 0.10		P trend= 0.19
<i>CYP2A6</i> Wild-type	141/234	1.0 (reference)	141/166	1.0 (reference)
<i>CYP2A6</i> Heterozygote	55/132	0.6 (0.4-1.0)	55/97	0.7 (0.3-1.4)
<i>CYP2A6</i> Variant homozygote	13/15	1.2 (0.5-3.0)	13/12	0.9 (0.2-3.7)
		P trend= 0.27		P trend= 0.43
<i>CYP2E1</i> Wild-type	127/241	1.0 (reference)	127/173	1.0 (reference)
<i>CYP2E1</i> Heterozygote	73/125	1.3 (0.8-1.9)	73/89	1.4 (0.7-3.1)
<i>CYP2E1</i> Variant homozygote	9/5	1.3 (0.5-3.6)	9/13	0.9 (0.2-4.9)
		P trend= 0.23		P trend= 0.56
<i>NAT2</i> Rapid ^b	95/178	1.0 (reference)	95/131	1.0 (reference)
<i>NAT2</i> Intermediate ^b	98/168	1.0 (0.7-1.5)	98/120	1.2 (0.6-2.5)
<i>NAT2</i> Slow ^b	16/35	0.7 (0.3-1.4)	16/24	1.1 (0.3-4.0)
		P trend= 0.41		P trend= 0.73
<i>GSTM1</i> Non-null	99/184	1.0 (reference)	99/120	1.0 (reference)
<i>GSTM1</i> Null	110/197	0.9 (0.6-1.3)	110/155	0.6 (0.3-1.2)

^a Adjusted for sex, age, smoking, drinking, HBsAg and anti-HCV.

^b Acetylator phenotype predicted from the *NAT2* genotype.

Fig. 4. Adjusted odds ratios (and 95% confidence intervals) of HCC for *CYP1A1*, *CYP2A6*, *CYP2E1*, *NAT2* and *GSTM1* polymorphisms —209 HCC cases vs. 381 CLD patients—

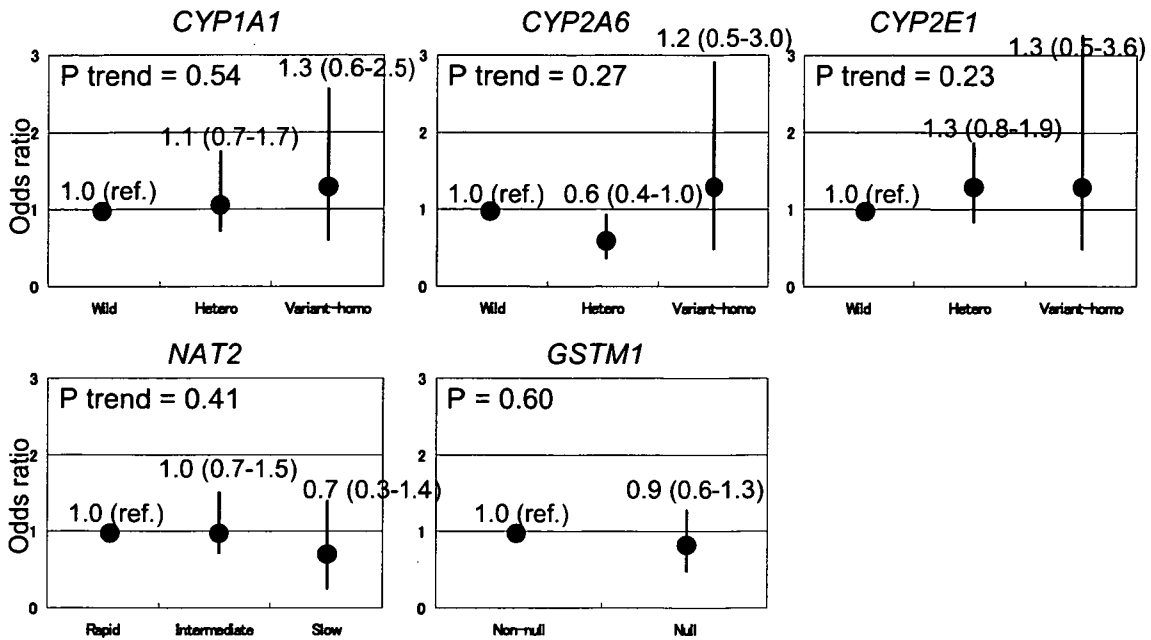


Fig. 5. Adjusted odds ratios (and 95% confidence intervals) of HCC for *CYP1A2* G-2964A polymorphism —209 HCC cases vs. 381 CLD patients—

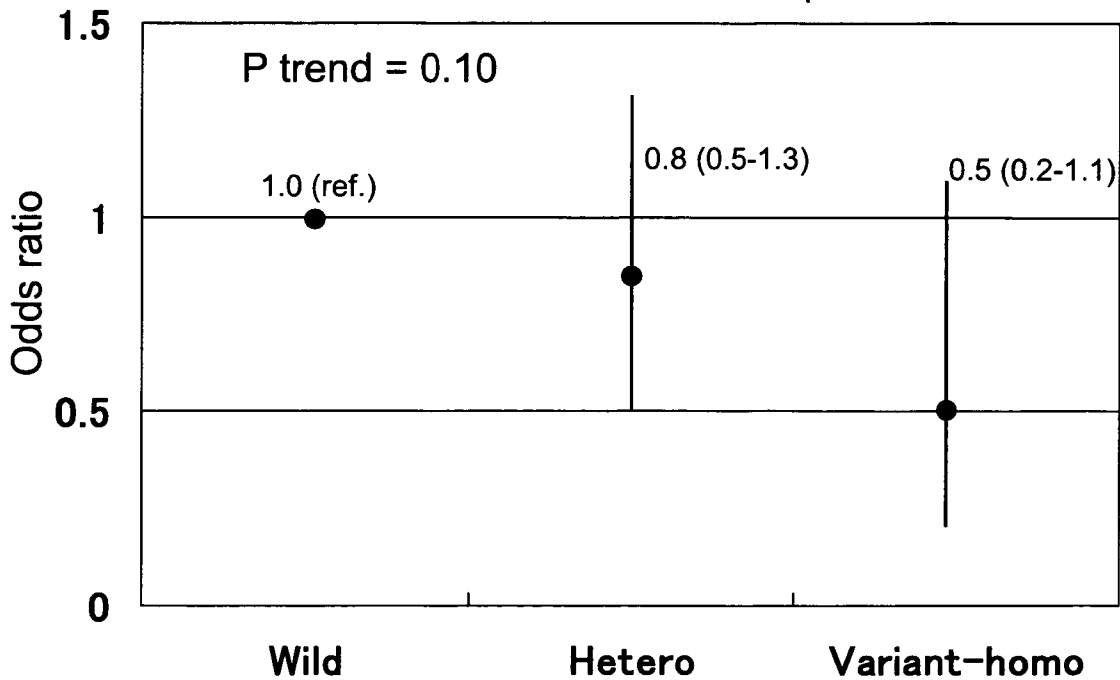


Fig. 6. Adjusted odds ratios (and 95% confidence intervals) of HCC for *CYP1A2* G-2964A polymorphism by current smoking —209 HCC cases vs. 381 CLD patients—

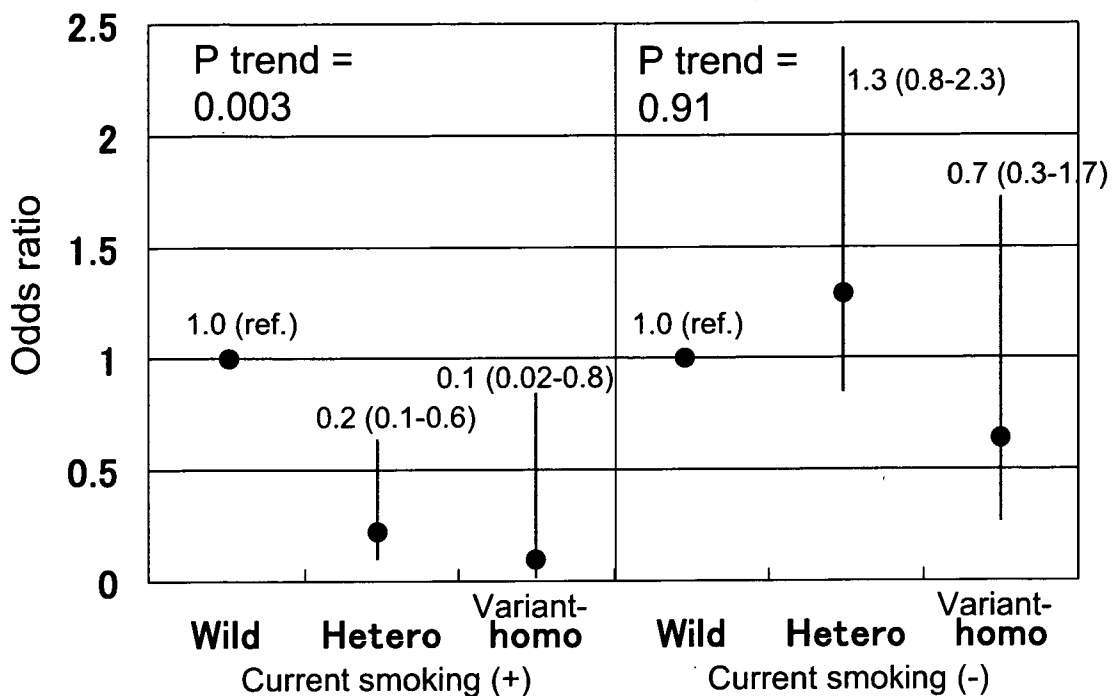


Fig. 7. Interaction between *CYP1A2* G-2964A polymorphism and current smoking (sm) on HCC risk —209 HCC cases vs. 381 CLD patients—
P interaction = 0.002

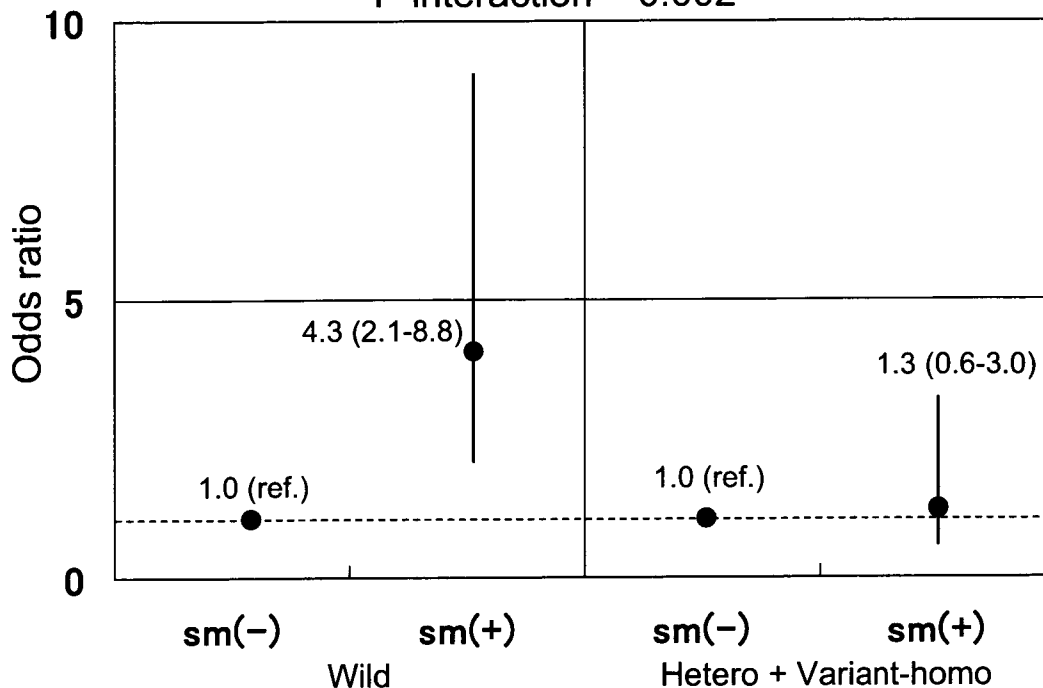


Fig. 8. Adjusted odds ratios (and 95% confidence intervals) of HCC for *CYP1A2* G-2964A polymorphism by current drinking
 —209 HCC cases vs. 381 CLD patients—

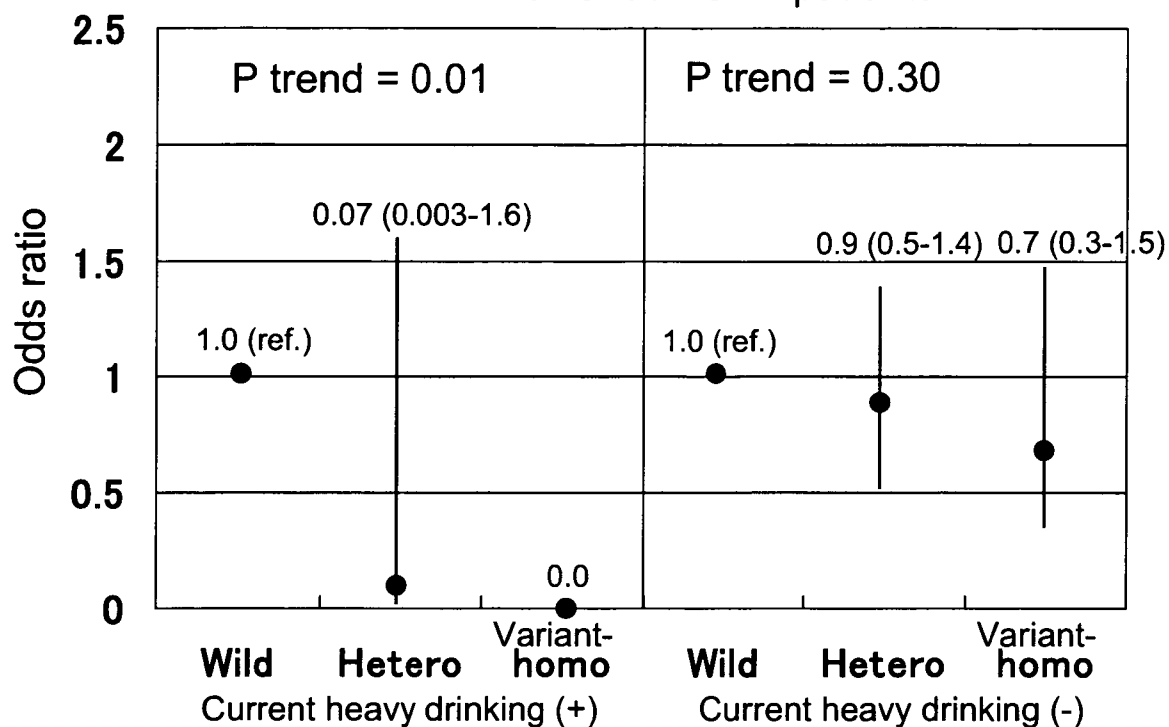


Fig. 9. Interaction between *CYP1A2* G-2964A polymorphism and current heavy drinking (cd) on HCC risk
 —209 HCC cases vs. 381 CLD patients—

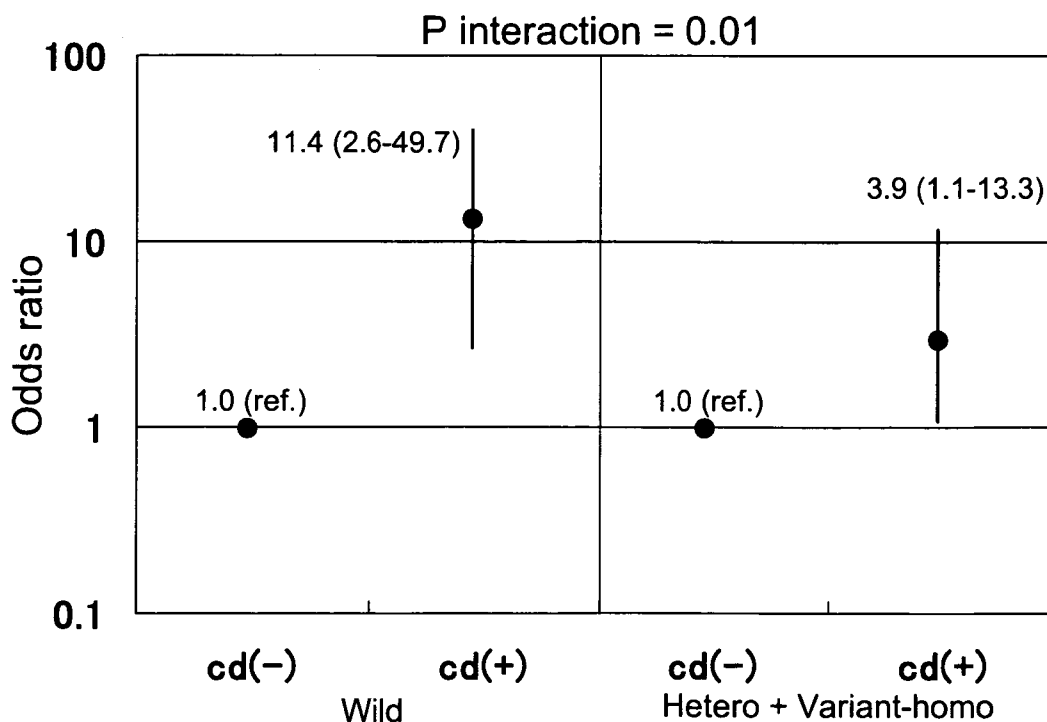


Fig. 10. Genotype distributions of *IL-1B* and *TNF-A*

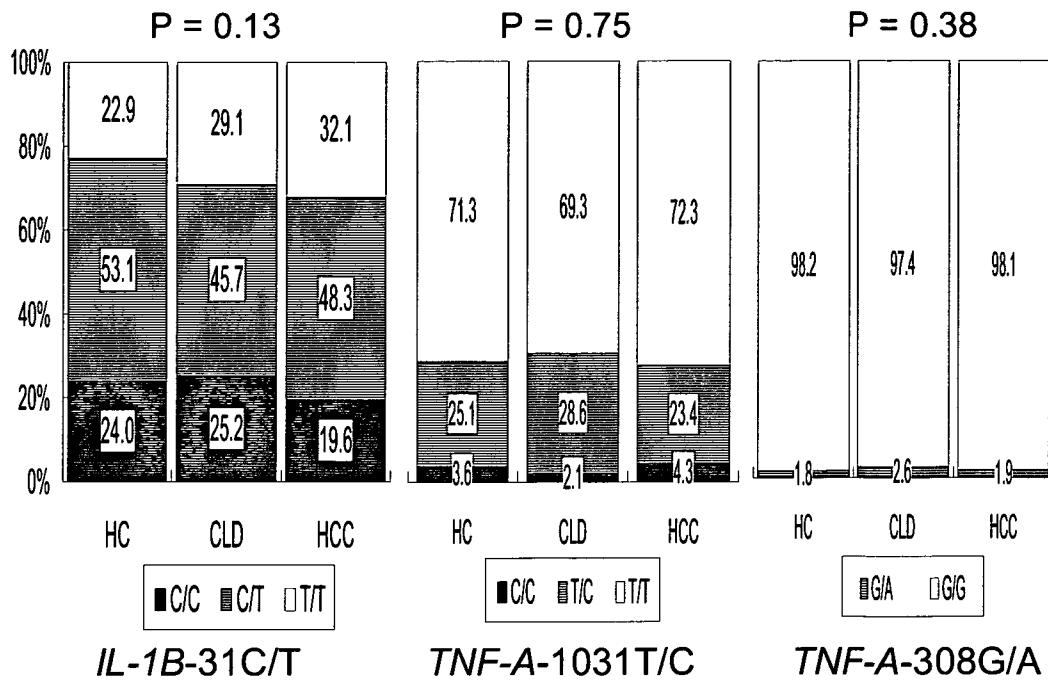
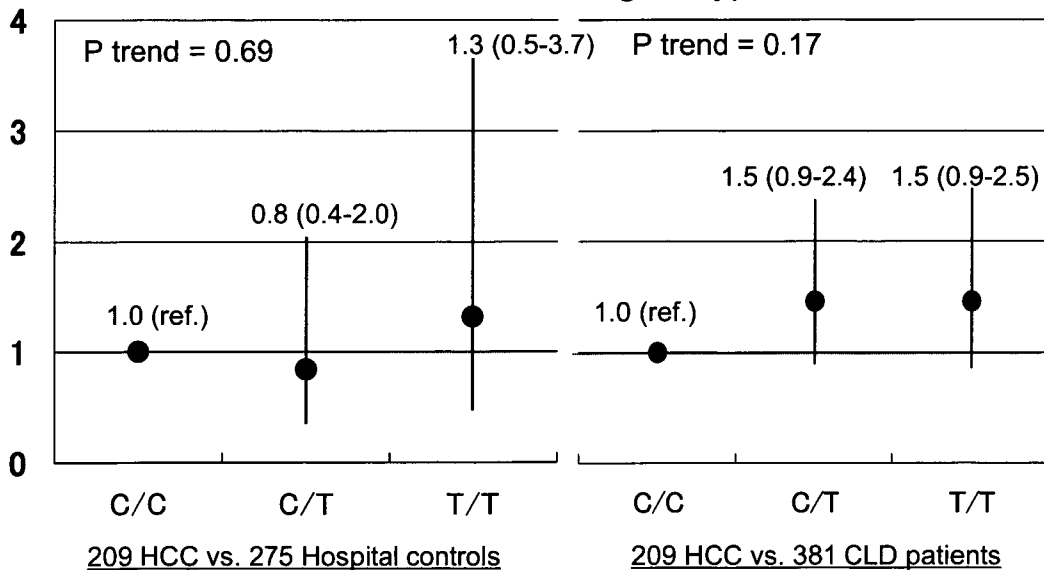


Fig. 11. Adjusted odds ratios* (and 95% confidence intervals) of HCC for *IL-1B*-31 genotype



*Adjusted for sex, age, heavy drinking, smoking, HBsAg, and HCVAb

Fig. 12. Adjusted odds ratios (and 95% confidence intervals) of HCC for *IL-1B-31* genotype by drinking status

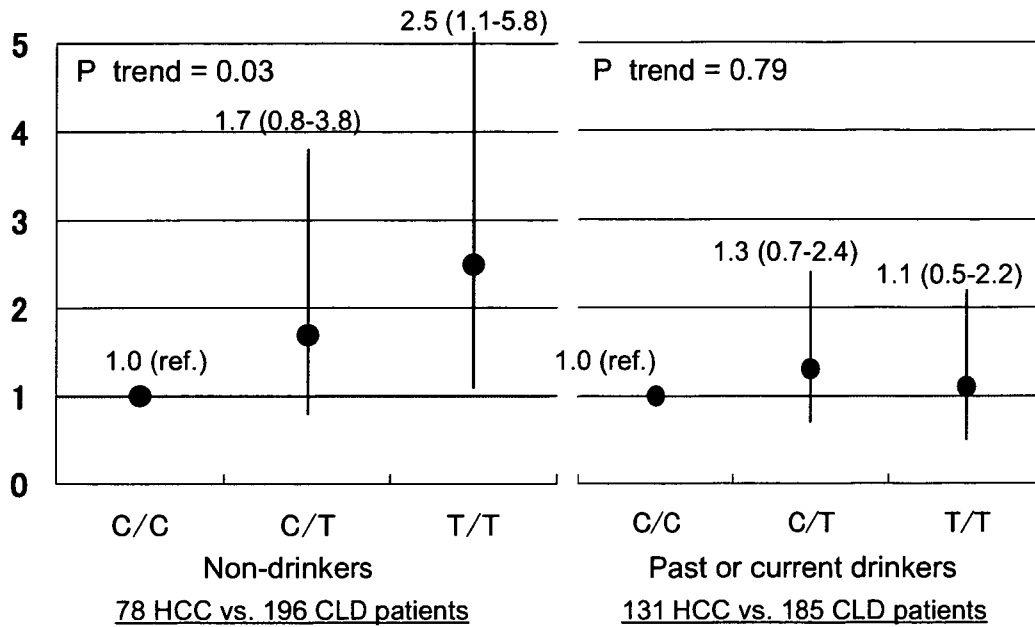


Fig. 13. Interaction between *IL-1B-31* genotype and heavy drinking history (HD) on HCC risk

209 HCC cases vs. 381 CLD patients

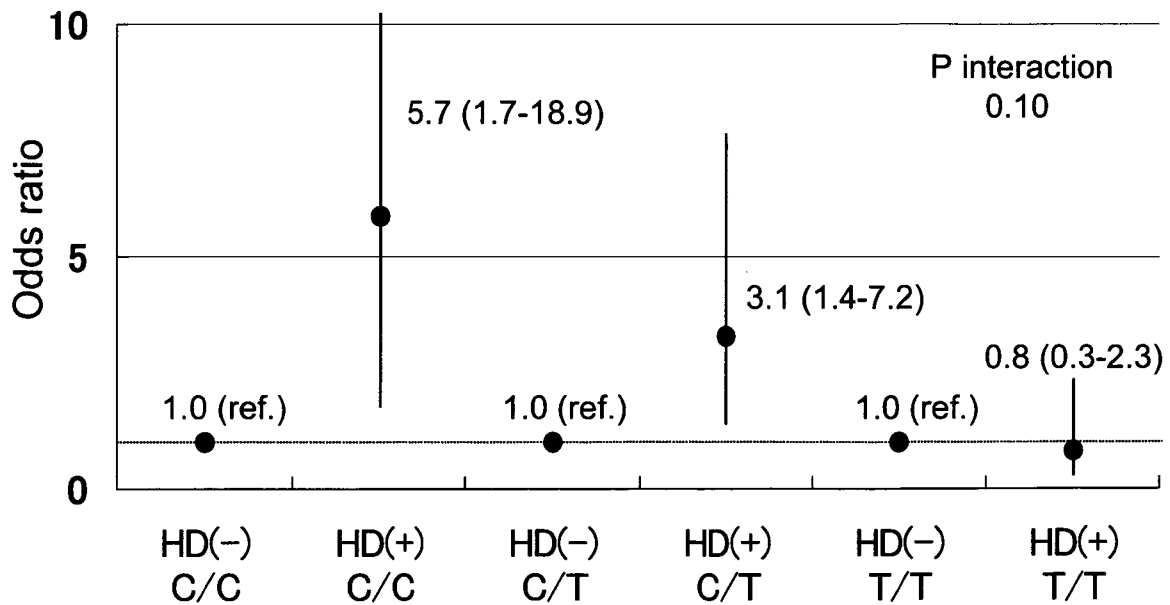


Fig. 14. Adjusted odds ratios (and 95% confidence intervals) of HCC for *IL-1B-31* genotype by smoking status

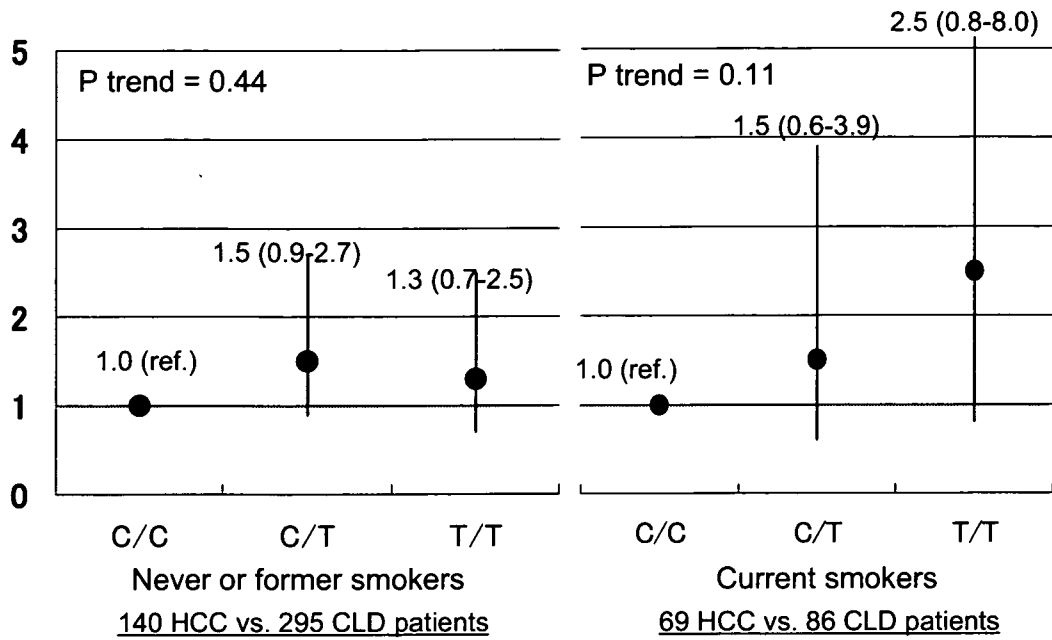


Fig. 15. Interaction between *IL-1B-31* genotype and current smoking (CS) on HCC risk

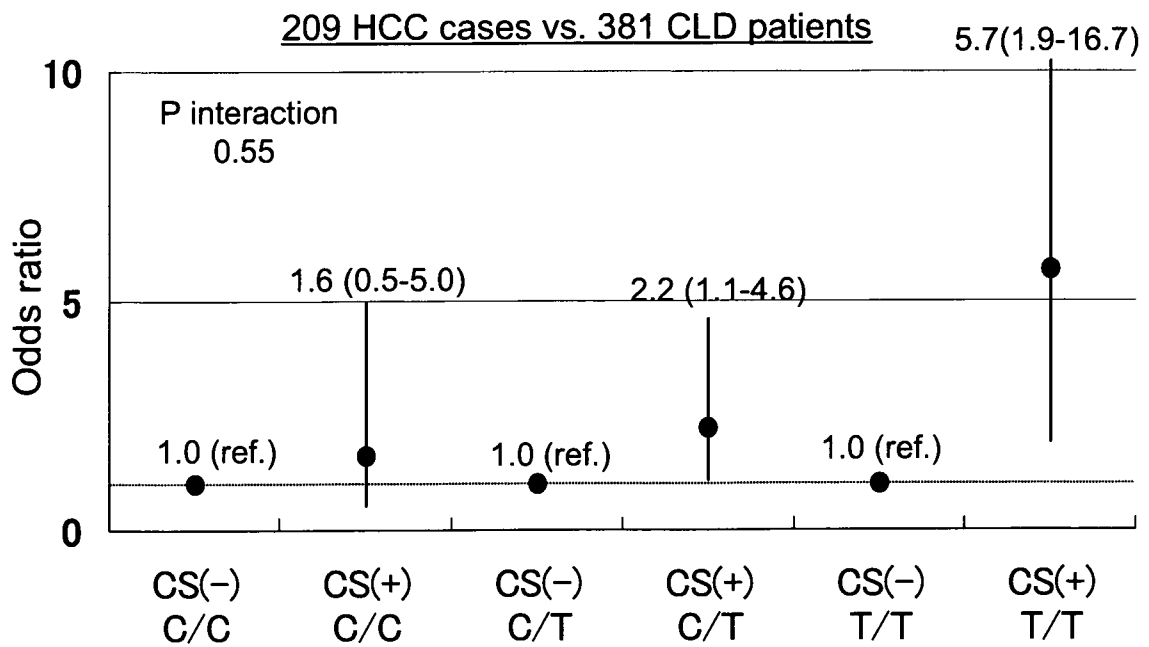


Fig. 16. Antibody to HTLV-I among hospital controls, CLD patients and HCC cases

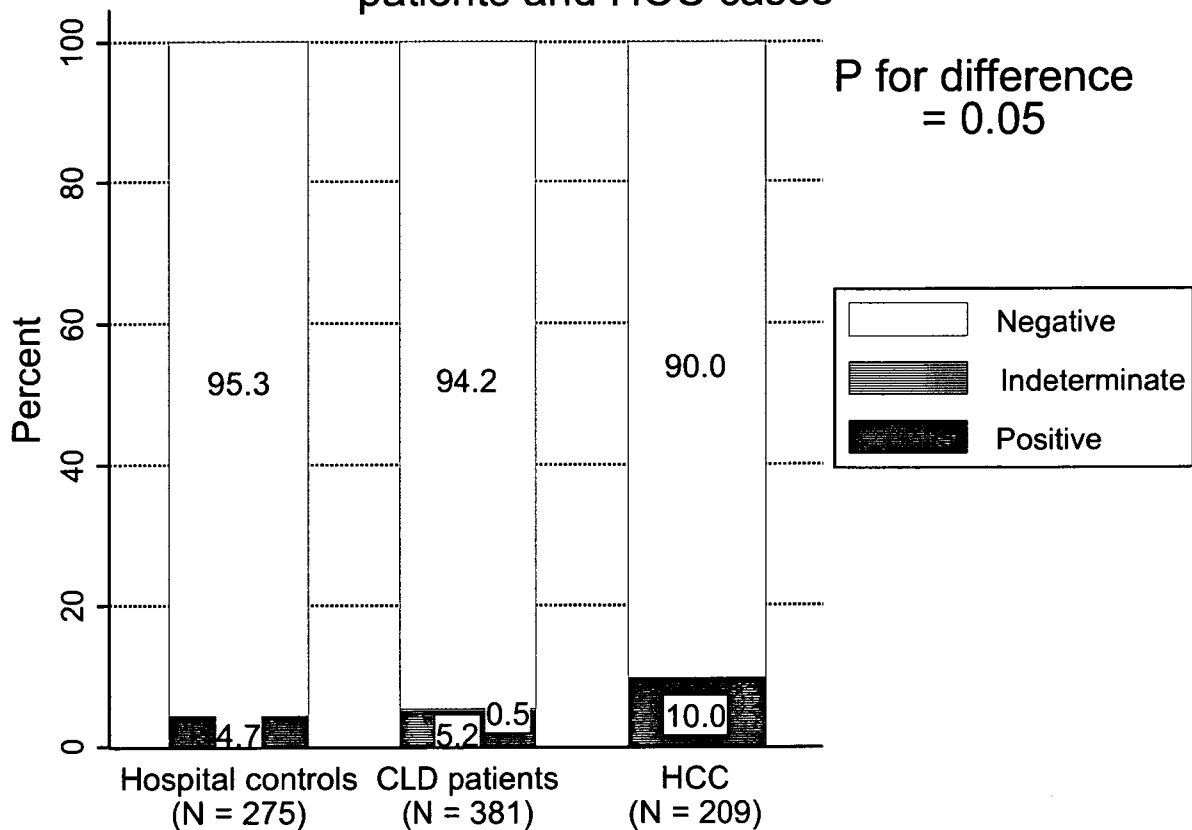


Fig. 17. Antibody to hepatitis B core antigen among hospital controls, CLD patients and HCC cases

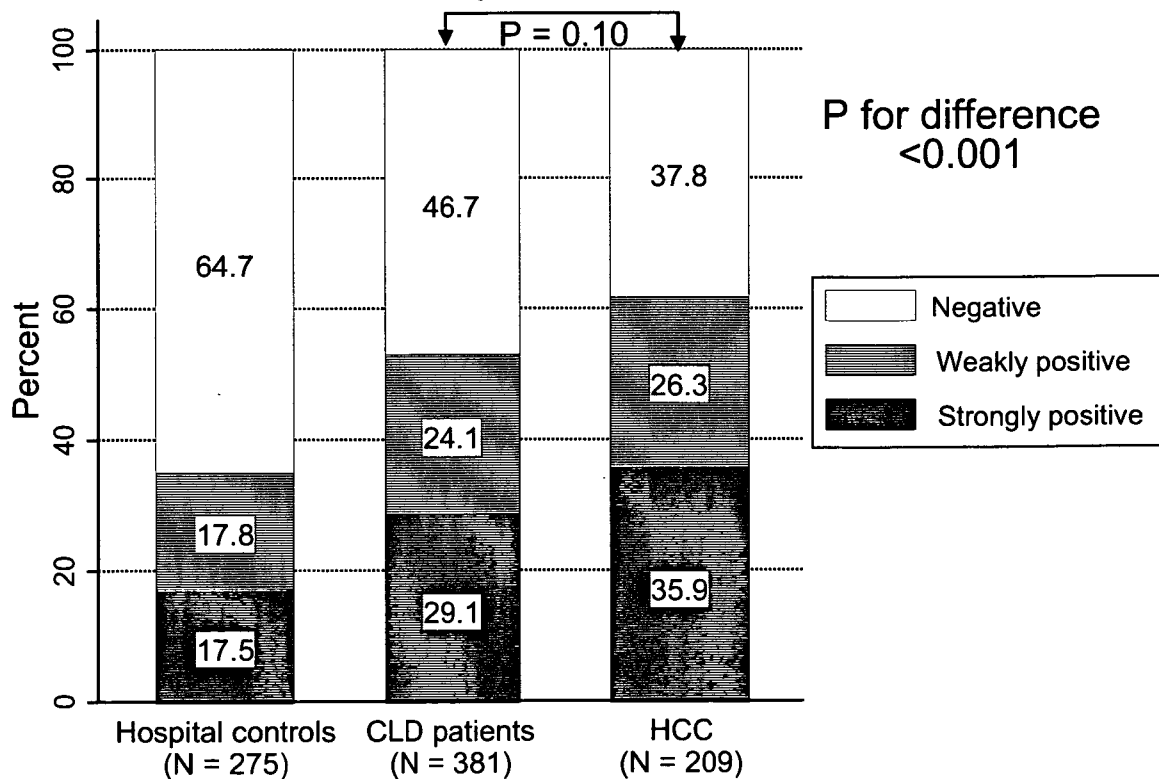


Fig. 18. Antibody to hepatitis B core antigen among CLD patients and HCC cases anti-HCV(+) and HBsAg(-) subjects

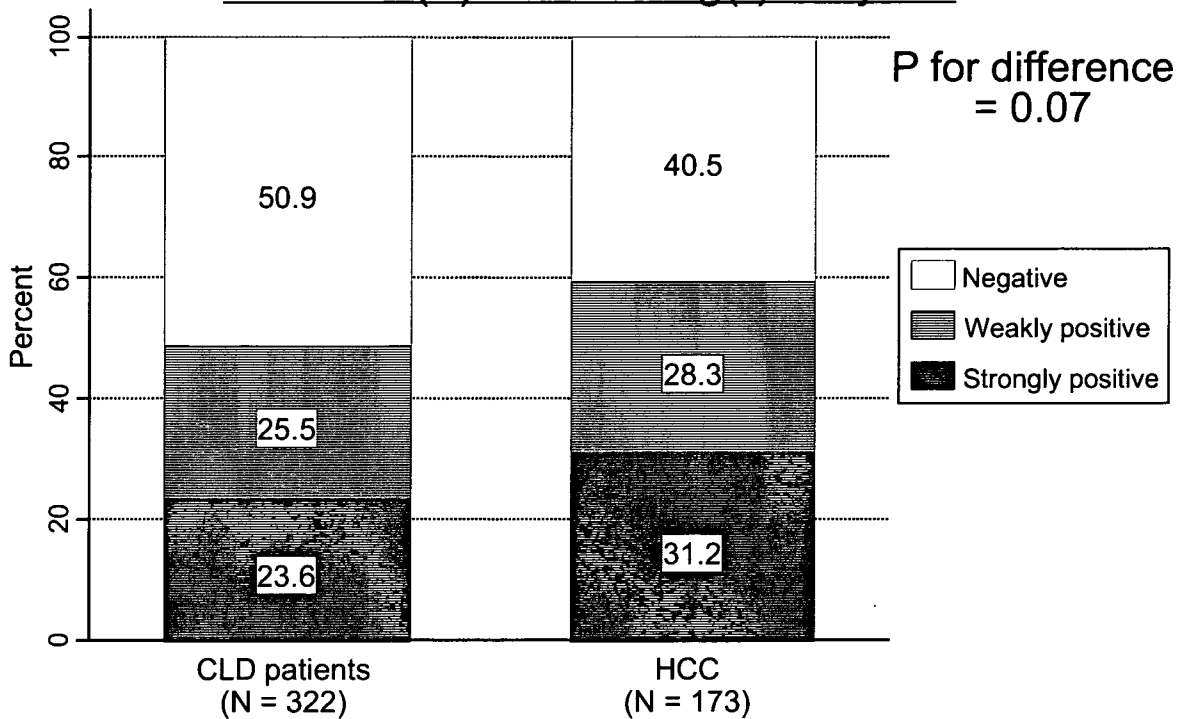
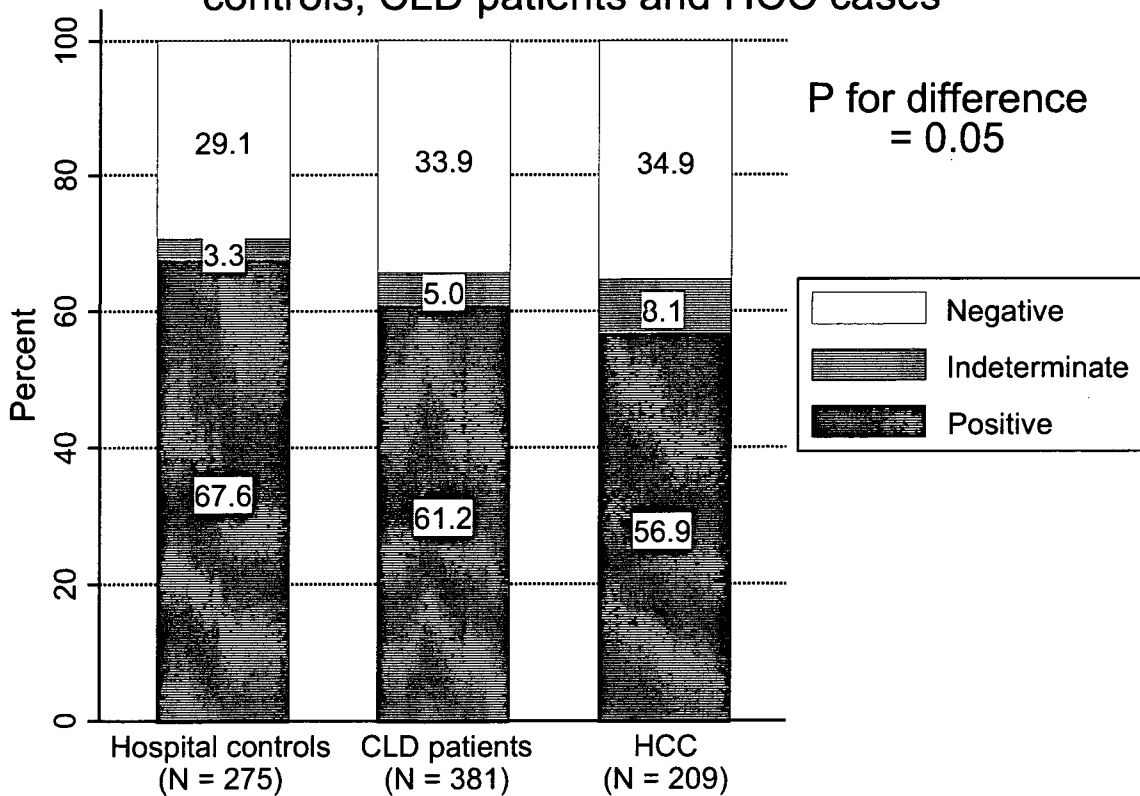


Fig. 19. Antibody to *Helicobacter pylori* among hospital controls, CLD patients and HCC cases



病院受診者集団における
「C型肝炎ウイルス関連肝硬変」の関連要因についての検討

分担研究者 廣田 良夫 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学教授

研究要旨

C型肝炎ウイルス（HCV）感染者における肝疾患の病態・予後に関する検討を行うため、病院を受診する HCV-RNA 陽性者を対象とした前向きコホート研究を実施している。今回、ベースラインデータを用い、「HCV 関連肝硬変」と関連する要因について、横断研究デザインによる検討を行った。

対象者の候補は、大阪市立大学医学部附属病院肝胆膵内科外来を受診する HCV-RNA 陽性者（新患およびすでに通院中の患者）である。生活習慣・生活環境等に関する情報は、自記式質問票により収集した。特に食習慣については、すでに妥当性が検証されている、佐々木らの「簡易版自記式食事歴法質問調査票（BDHQ: brief-type self-administered diet history questionnaire）」を使用した。臨床情報は、診療録より転記した。

結果指標は、半定量的腹部超音波スコアにより診断した「肝硬変の存在」とした。ロジスティック回帰モデルにより、各要因のオッズ比（OR）および 95%信頼区間（95%CI）を算出した。

対象者候補 649 人のうち、本研究に同意した者は 495 人（76%）であった。今回の解析対象は、診療録から半定量的腹部超音波スコア所見が得られた 478 人を対象とした。このうち、「肝硬変あり」と診断された者は 95 人（20%）であった。

1) HCV 関連肝硬変と性差、および女性ホルモンの関連

男性に対する女性の OR は有意に低下した（OR:0.52, 95%CI:0.28-0.94）。女性に限定して検討した結果、初潮年齢が若いほど、あるいは閉経年齢が高齢であるほど OR が低下し、後者については傾向性が有意であった（Trend P: 0.048）。さらに、初潮から閉経までの年数の検討で最も鮮明な負の関連を認めた（34 年未満に対する、34-37 年の OR:0.80, 95%CI:0.36-1.78; 38 年以上の OR:0.28, 95%CI:0.10-0.72; Trend P: 0.013）。

過去の研究では、エストロゲンによる肝線維化予防効果が報告されている。本研究結果により、内因性エストロゲン優位の状態が長期間続くことが、HCV 関連肝硬変に予防的であると考えられた。

2) HCV 関連肝硬変とコーヒー、緑茶、紅茶摂取の関連

緑茶およびコーヒーの高頻度摂取で OR の有意な低下を認めた（それぞれ、「週に 3 杯以下」に対する「週に 4 杯以上」の OR:0.33, 95%CI:0.12-0.83; 「ほとんど飲まない」に対する「1 日に 1 杯以上」の OR:0.43, 95%CI:0.21-0.89）。紅茶の高頻度摂取も肝硬変に対する OR を低下させる傾向があり、境界域の有意差を示した（Trend P: 0.094）。

コーヒー飲料別に検討した結果、Drip coffee 摂取では、OR の有意な低下を認めた（「ほとんど飲まない」に対する「1日に1杯以上」の OR:0.38, 95%CI:0.15-0.95）。しかし、instant coffee や decaffeinated coffee では関連を認めなかった。

カフェイン含有飲料である緑茶、紅茶、コーヒーで同様の傾向を認めた。さらに、コーヒー飲料別の解析でカフェインを含む Drip coffee のみで OR の低下を認めたことは、カフェインと肝硬変の負の関連を示唆しているのかもしれない。

3) HCV 関連肝硬変と食物摂取頻度・摂取栄養素の関連

水分摂取量が多いほど肝硬変に対する OR は低下した(第 1 三分位に対する第 3 三分位の OR:0.47, 95%CI:0.23-0.91)。また、飲酒により OR は低下した(OR:0.41, 95%CI:0.17-0.86)。みそ汁摂取頻度、柑橘類、柑橘類・かき・いちご・キウイ以外の果物の摂取頻度、ショ糖摂取量、炭水化物摂取量については、肝硬変と正の関連を認めた(第 1 三分位に対する第 3 三分位の OR: 1.82 ~2.42)。

ショ糖摂取および炭水化物摂取と肝硬変の関連については、ショ糖は果糖を含んでいることを考慮すると、果物由来の炭水化物摂取により肝硬変発生のリスクが上昇するという過去の報告と矛盾する結果ではない。さらに、本研究において認められた、柑橘類や柑橘類・かき・いちご・キウイ以外の果物の摂取頻度が多いほど肝硬変に対する OR が上昇するという結果も説明できると考える。しかしながら、果物の摂取は肝細胞癌のリスクを低下させるという報告や、肝硬変患者において夜食での炭水化物摂取が予後を改善することを示唆する報告もある。本研究が横断研究であることから、reverse causality の可能性も否定できない。これらの関連についてはさらなる検討が必要である。

研究協力者

- ・ 福島 若葉（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学 助教）
- ・ 大藤 さとこ（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学 助教）
- ・ 佐々木 八千代（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学 大学院生）
- ・ 田守 昭博（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科学 准教授）
- ・ 榎本 大（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科学 講師）
- ・ 西口 修平（兵庫医科大学内科学肝・胆・膵科 教授）

共同研究者

- ・ 佐々木 敏（東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻社会予防疫学 教授）

A. 研究目的

本邦における肝細胞癌の年齢調整罹患率は国際的に見ても高く¹⁾、約 70%が C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染に起因すると言われて²⁾。近年は、海外においても HCV 関連肝細胞癌の罹患率および死亡率の上昇が示唆されている^{3,4)}。しかし、対象を HCV 感染者に限定した過去の研究は、主たる目的をインターフェロン等の治療効果の評価におく臨床研究が圧倒的に多く、曝露変数として生活習慣・生活環境要因に着目した疫学研究はごくわずかである。

上記の背景を考慮し、C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染者における肝疾患の病態・予後について、生活習慣・生活環境要因も含めた検討を行うため、病院受診者を対象とした疫学研究を実施している。具体的には、病院を受診す

る HCV 感染患者を対象に、生活習慣・生活環境要因に関する情報および臨床情報を収集し、血清中の各種バイオマーカーを測定する。さらに同意が得られた少数例においては全血より DNA を抽出し、遺伝子多型を解析する。これらの要因と登録時の肝疾患活動度・進展度の関連について、横断研究デザインによる検討を行う。その後、前向きコホート研究デザインにより、肝細胞癌および肝疾患関連死亡に対する予測因子の解明に取り組む。

今回、ベースラインデータを用い、「HCV 関連肝硬変」と関連する生活習慣・生活環境要因について、横断研究デザインによる検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

1) 対象集団（コホート）の設定

対象者の候補は、大阪市立大学医学部附属病院肝胆膵内科外来を受診する HCV-RNA 陽性者（新患およびすでに通院中の患者）である。

除外基準は、①他の肝疾患を合併している者（B型肝炎ウイルス感染、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、特発性門脈圧亢進など）、②すでに肝細胞癌を発生した者、③IFN 投与中の者、④その他主治医が不相当と判断した者、である。

本研究について、文書による同意を得た者を対象者として登録した。

2) 登録時の情報収集

【生活習慣・生活環境等に関する情報】

自記式質問票により収集した。特に食習慣については、すでに妥当性が検証されている、佐々木らの「簡易版自記式食事歴法質問調査票（BDHQ: brief-type self-administered diet history questionnaire）」を使用した。その他、

曝露要因として着目した項目は以下の通りである。

- ① 肝疾患、非 A 非 B 肝炎、C 型肝炎の初回指摘時年齢
- ② 疾病保有状況および治療状況
- ③ 輸血歴、手術歴、血液製剤投与歴、針治療歴、不潔針による静脈注射歴、刺青歴
- ④ 生活習慣（飲酒習慣、喫煙習慣、運動習慣、食習慣など）
- ⑤ 生活環境（職歴、学歴、疲労状況など）
- ⑥ 閉経状態、初潮・閉経年齢、ホルモン補充療法施行歴・経口避妊薬内服歴

【臨床情報】

診療録より転記した。

- ① 理学所見（肝性脳症、腹水、黄疸の有無）
- ② 血液検査所見
- ③ 腹部超音波所見
- ④ 胃内視鏡所見
- ⑤ インターフェロン治療歴
- ⑥ 投薬状況

3) 結果指標

登録時に収集する臨床情報のうち、「肝硬変の存在」を結果指標とした。肝硬変の有無は、すでに妥当性が検証されている半定量的腹部超音波スコア⁵⁾により診断した。

4) 統計解析

登録時の「肝硬変の存在」を従属変数とし、ロジスティック回帰モデルにより、各要因のオッズ比（OR）および 95%信頼区間（95%CI）を算出した。独立変数のうち、特に明確なカットオフ値が存在しない要因のカテゴリー化は解析対象全員の三分位にて行った。

各種栄養素の摂取量は BDHQ により収集した情報から推定し、密度法によるエネルギー補正を行った。また、解析においては、摂取エネ

ルギーについて最大値から 5%、最小値から 5%の対象者を除外した。

HCV 感染年齢は、輸血時年齢あるいは手術時年齢から推定した。輸血時・手術時年齢が複数報告された場合、最も若い年齢を採用した。

(倫理面への配慮)

本研究への参加については、文書による説明を行い、文書による同意を得た。また、不利益を被ることなく参加を拒否できる機会を保障した。

本研究計画は、「疫学研究に関する倫理指針」に則り、大阪市立大学大学院医学研究科倫理委員会において承認された。

C. 研究結果および考察

対象者候補 649 人のうち、本研究に同意した 495 人 (76%) から、生活習慣・生活環境要因に関する情報および臨床情報を収集した。

1) 参加者と非参加者の特性

非参加者 154 人と比較して、参加者 495 人は有意に高齢であった (年齢の中央値: 62.1 歳 vs. 65.9 歳, $P=0.0007$)。しかし、性差については有意差を認めなかった (男性の割合: 40% vs. 40%, $P=0.952$)。

今回の解析対象は、診療録から半定量的腹部超音波スコア所見が得られた 478 人とした。このうち、「肝硬変あり」と診断された者は 95 人 (20%) であった。

C-1. HCV 関連肝硬変と性差、および女性ホルモンの関連

1) 結果

Table A-1 に、性、年齢、疾病保有状況をはじめとする基本的特性と肝硬変の関連を示す。

単変量解析の結果、男性と比較すると、女性の OR は有意に低下した。一方、統計学的に有意な OR の上昇を示した要因は、高齢、肥満、糖尿病、高血圧、過去の IFN 治療歴、であった。推定 HCV 感染年齢から算出した推定感染期間については、年数が長くなるに伴い OR の点推定値が上昇したが、傾向性は有意ではなかった。

多変量解析は、単変量解析で $P<0.2$ であった変数をモデルに含めて行った。推定 HCV 感染期間については対象者の約 30%が欠損値であったため、まず、当該変数を除く要因で調整を行った (Model 1)。その結果、女性の OR の低下は、単変量解析結果と同様に有意であった。しかし、推定 HCV 感染期間でさらに調整した結果 (Model 2)、性差については関連を認めなくなった。この OR の変化について検討するため、HCV 感染期間が推定可能であった者 332 人と欠損値であった者 146 人について、肝硬変の有無別に男性の割合を比較した (表 A-2)。

対象者全員の検討では、肝硬変「なし」群と比較すると、「あり」群の男性の割合は 49%であった。しかし、HCV 感染期間が欠損値であった者における男性の割合は、肝硬変「なし」群と比較して、「あり」群で 77%と有意に高かった。その結果、HCV 感染期間が推定可能であった者に限定すると、肝硬変「あり・なし」にかかわらず、性差を認めなくなった。つまり、HCV 感染期間が推定可能である者に限った解析では、対象者全員での検討と比較して性差に大きな偏りが生じたため、男性に対する女性の OR 低下を過小評価し、関連が不明瞭になったと考えられる。従って、Table A-1 の検討では、Model 1 の結果を採用した。

Table A-1 で認められた性差と肝硬変の関連を詳細に検討するため、女性に限定して、性ホルモン動態と関連すると考えられる変量につ

いて解析した (Table A-3)。単変量解析の結果、初潮年齢が若いほど、あるいは閉経年齢が高齢であるほど OR が低下し、両者ともに傾向性が有意であった。さらに初潮から閉経までの期間について検討した結果、年数が長いほど OR が低下し、傾向性も有意であった。

多変量解析では、Table A-1 と同じく、推定 HCV 感染期間を調整変数から除いたモデル (Model 1)、加えたモデル (Model 2) による検討を行った。初潮年齢、閉経年齢については関連がやや不鮮明になったものの、初潮から閉経までの期間についての傾向性は 2 つのモデルにおいて有意に保たれていた。

2) 考察

過去の研究によると、男性と比較して女性は HCV 関連肝硬変のリスクが低いことが報告されている。本研究においても肝硬変に対する性差の影響が示唆され、これまでの研究結果と一致するものである。

性差と肝硬変の関連に関する過去の研究では、ホルモン補充療法により肝硬変のリスクが低下するとの報告もあり、エストロゲンによる肝線維化予防効果が示唆されている。さらに、エストロゲンの種類により効果が異なるとの研究結果から、より自然なホルモン動態を生じうる natural estrogen が有効であるとの解釈も存在する。本研究において女性に限定した検討では、初潮から閉経までの期間と肝硬変の関連が最も鮮明であった。従って、エストロゲン優位の状態が自然な状況で長期間続くことが、肝硬変に予防的であるとの示唆を支持するものと考えられる。

ただし、肝癌を結果指標として関連要因を検討した過去の研究では、エストロゲンがリスク要因であるとの報告も多いことに注意すべきである。HCV 感染者においては肝線維化進展だけではなく肝癌発生も懸念されるため、予後

の改善にはエストロゲンが効果的であると一律的に解釈することは不適切と考える。しかし、これら 2 つの予後に対するエストロゲンの効果の違いは、HCV 感染者における肝線維化進展と肝癌発生のメカニズムが異なることを示唆するものかもしれない。

C-2. HCV 関連肝硬変とコーヒー、緑茶、紅茶摂取との関連

1) 結果

コーヒー摂取をはじめとする、生活習慣因子と肝硬変との関連を Table B-1 に示す。単変量解析の結果、BMI 高値、糖尿病既往、で肝硬変に対する OR の上昇を認めた。一方、飲酒、毎日 1 杯以上のコーヒー摂取、で肝硬変に対する OR の低下を認めた。

性、年齢、IFN 治療歴、BMI、糖尿病既往、喫煙、飲酒、緑茶、紅茶、コーヒー摂取の各因子を多変量解析モデルに加えた結果 (model 1)、BMI 高値による OR の上昇は統計学的に有意であったが、糖尿病既往による OR の上昇は境界域の有意差にとどまった。また、飲酒による OR の低下は統計学的に有意であった。コーヒー高頻度摂取では肝硬変に対する OR が低下する傾向を認めたが、統計学的有意性はなかった。

さらに、肝硬変との関連が示唆されている HCV 感染期間を調整変数に加えた解析では (model 2)、結果がより明瞭となった。BMI、糖尿病既往による OR の上昇は統計学的に有意であった。また、緑茶およびコーヒーの高頻度摂取で OR の有意な低下を認めた。紅茶の高頻度摂取も肝硬変に対する OR を低下させる傾向があり、境界域の有意差を示した。

コーヒー飲料別に検討した結果を Table B-2 に示す。単変量解析および多変量解析の結果、Drip coffee 摂取では、OR の有意な低下