

4 B型肝炎に対する「核酸アナログ療法」

国立病院機構長崎医療センター治療研究部 八橋 弘

わが国でB型慢性肝炎に対して使用可能な核酸アナログ抗ウイルス薬は、ラミブジン (LMV)、アデホビル (ADV)、エンテカビル (ETV) の3種類です。ETVは、LMVに比較してより強い抗ウイルス効果を発揮し、初回投与例での薬剤耐性ウイルスの出現頻度は1%前後と低いことから、35歳以上でかつ自然治癒し難いと判断したB型慢性肝炎例では、治療薬の第一選択となっています。

B型肝炎の治療法の変遷

はじめに、わが国のB型肝炎の治療法の変遷について紹介します(表1)。

1. 免疫調節療法

免疫調節療法とは、ウイルス増殖を直接抑制するのではなく、宿主免疫を賦活させることで肝炎の沈静化を試みる方法です。1981年、虎ノ門病院の熊田先生らが考案したステロイド離脱療法、1994年に薬剤保険承認された、内因性のインターフェロン(IFN) γ の産生を誘導させるプロパゲルマニウム(セロシオン[®])、1994年にフランスでその試みが始まったB型肝炎(HB)ワクチン療法などがあります。

2. ウイルス増殖抑制療法

(1) IFN治療

B型肝炎に対するIFN治療は、1986年にIFN β が、1988年にはIFN α が承認されました

表1：わが国のB型肝炎の治療法の変遷

1. 免疫調節療法

- (1) ステロイド離脱療法：1981年-熊田ら
- (2) プロパゲルマニウム(セロシオン[®])：1994年-
- (3) HBワクチン療法：1994年-

2. ウイルス増殖抑制療法

- (1) 従来型のIFN
 - (IFN β 〈フエロン[®])：1986年～)
 - (IFN α 〈スミフェロン[®]、オーアイエフ[®]など)：1988年～)
- (2) 抗ウイルス薬
 - ①ラミブジン(LMV, ゼフィックス[®])：2000年11月～
 - ②アデホビル(ADV, ヘプセラ[®])：2004年12月～
 - ③エンテカビル(ETV, バラクルード[®])：2006年9月～
- (3) Peg-IFN α -2a
臨床試験中

▶ 35歳以下の若年 B 型慢性肝炎患者は、IFN を第一選択薬とする。

▶ 35歳以上の B 型慢性肝炎患者は、核酸アナログ抗ウイルス薬を第一選択薬とする。

が、両薬剤とも数年前まで1ヵ月間の短期投与しか認められず、治療効果も不十分でした。しかし、現在では4～6ヵ月の長期投与が可能となり、IFNが自然経過よりも肝炎の治療を促進するという考えから、35歳以下の若年 B 型慢性肝炎患者さんでは、IFN は第一選択薬となっています。一方、C 型肝炎治療の主流となっている、週

1回投与でも血中濃度が持続する Peg-IFN での B 型慢性肝炎治療は、現在臨床試験が進行中であり、近い将来わが国でも使用できる見込みです。

(2) 核酸アナログ抗ウイルス薬治療

核酸アナログ抗ウイルス薬は2000年以後、ラミブジン (LMV)、アデホビル (ADV)、エンテカビル (ETV) の順に使用が可能となりました。わが国ではすでに数万人の B 型慢性肝炎患者さんに対して、これら抗ウイルス薬が投与されています。35歳以上の B 型慢性肝炎患者さんは、一般的には自然治癒し難いことが明らかとなっており、核酸アナログ抗ウイルス薬は、これらの対象者においても肝炎治療効果が確実であることから、現在では B 型慢性肝炎治療法の主流となっています。



ラミブジン (LMV)

1. LMV って？

LMV は、本来 HIV に対する抗ウイルス薬の開発の過程で作られた核酸誘導体です。HBV に対してもウイルス増殖抑制効果を示すことが明らかとなり、1992 年頃から B 型慢性肝炎に対して使用され始め、本邦でも 2000 年 11 月に保険適応薬剤として認可されました。

2. LMV の使い方

(1) 用法および用量

B 型慢性肝炎に対する LMV の用法・用量は、成人には 100mg 1日1回 経口投与となっていますが、投与期間の明確な規定はなく、通常は数年にわたって服用し続けます。保険診療上の適応は、「B 型肝炎ウイルスの増殖を伴う肝機能の異常が確認された B 型慢性肝炎患者」と規定されており、治療前の HBV-DNA 量を確認する必要があります。HBe 抗原陰性でも ALT 値異常を伴い、HBV-DNA 量が 4.5～4.0 Log copies/mL 以上の例では、投与が可能です。また、慢性肝炎だけでなく、肝硬変症例にも投与可能です。

▶ LMVの長期投与により、B型肝炎ウイルスの遺伝子変異が生じ、薬剤耐性となることが知られている。

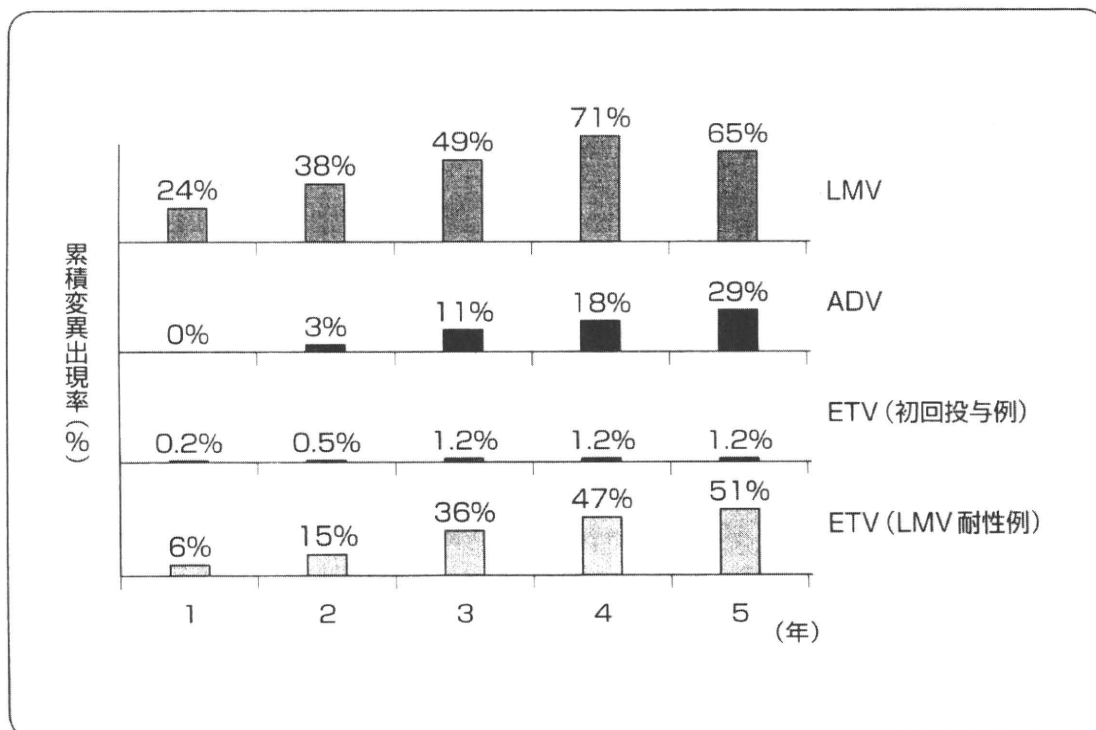


図1：各種抗ウイルス薬長期使用時のHBVポリメラーゼ領域の遺伝子変異の出現頻度^{1,2)}
 LMVによるYMDD変異出現の頻度は、投与1年目24%、2年目38%、3年目49%、4年目71%と報告されている。
 ADV単独投与例では、2年目3%、3年目11%、4年目18%、5年目29%のADV耐性ウイルスの出現が報告されている。

ETVでは、初回投与では5年目でも1.2%のETV耐性ウイルス出現率であるが、LMV耐性例に対するETV投与では2年目15%、3年目36%、4年目47%、5年目51%の頻度でETV耐性ウイルスが出現する。

(文献1, 2)より引用)

(2) 再燃と耐性ウイルス

LMVのウイルス増殖抑制効果は強力ですが、LMV治療症例の多くは、投与を中止することにより、ウイルスが増殖するとともに肝炎が再燃するため、LMV単独投与でのウイルス排除、治癒は期待し難いと考えられています。LMVにより血液中のウイルスの増殖を抑えることができても、肝細胞内のウイルスの鋳型は容易には排除されないことが、本薬剤中止後の再燃と関係していると考えられています。

またLMVの長期投与により、B型肝炎ウイルスの遺伝子変異が生じ、薬剤耐性となることが知られており、変異出現例の約半数の症例で肝炎が再燃することが明らかとなっています。LMVによるYMDD変異出現の頻度は、投与1年目24%、2年目38%、3年目49%、4年目71%と報告されています(図1)。

▶ LMV, ETVの適応は, ①自然治癒する可能性が低くなる35歳以上の例, ②35歳未満でも肝組織病変の進んだ例.

▶ ADVはLMVとの併用投与が推奨されている.

(3) 適応は?

自然治癒する可能性が低くなる35歳以上の例や, 35歳未満でも肝組織病変の進んだ患者さんでは, LMVやETV投与の良い対象と考えられています. しかし, 一度服用を開始すると, 数年間の長期投与が必要となることから, どの患者さんにいつから投与するのかなどは, 肝臓専門医が最終判断すべきと考えます. 投与開始時のHBV-DNA量が少ない(7 Log copies/mL以下)患者さん, ALT値が正常範囲上限の2~5倍以上と高値の患者さんでは, 投与継続期間が長くなるほどHBe抗原のセロコンバージョン(S. C)率が高くなることが報告されています. 肝移植時の予防的投与, 急性肝炎, 劇症肝炎は保険適応外となっていますが, 医学的に有効であることは明らかであり, 劇症化が予想される急性肝炎や劇症肝炎および慢性肝炎の急性増悪例に対して治療する際には, 早期に投与開始すべきです. 化学療法施行時のHBVキャリアへの予防投与も保険適応外となっていますが, 劇症化の予防に有用であり, 早期に投与開始することが望ましく, 学会レベルでは投与が推奨されています.

3. 副作用は?

副作用としては, HIV感染症患者さんを対象とした高用量使用の場合に, 汎血球減少, 肺炎などの報告がありますが, B型肝炎患者さんを対象とした場合の主な副作用は, 頭痛と倦怠感程度で, 実際に使用した印象からは, ほとんどの例で自覚症状を呈する副作用はみられません.

アデホビル(ADV)

1. ADVって?

LMVに対する薬剤耐性(YMDD変異ウイルス出現)に対する治療法として, 本邦でも2004年12月からADVが使用可能となりました.

保険診療上, ADVはLMVとの併用投与とADV単独投与ともに認められていますが, ADV単独の投与はADV耐性ウイルスが少なからず出現することから, ADVはLMVとの併用投与が推奨されています.



- ▶ ADVの副作用は腎機能障害である。
- ▶ ETVの特徴は、ETV耐性ウイルスの出現頻度が極めて低いことである。

2. ADVの使い方

ADVの用法・用量は、成人には10mg 1日1回 経口投与です。30mg以上の過量投与例では、腎機能障害が出現しやすくなることが報告されており、安全性の観点から10mgがB型慢性肝炎治療の至適用量となっています。

現時点では、両薬剤間で交叉耐性を示した例の報告は極めて少なく、LMVとADVの両薬剤を併用投与することでYMDD変異出現例においても持続的な抗ウイルス効果が期待されます。

投与量が10mgと制限されているためか、ADV投与後のHBV-DNA量の低下の仕方は、一般的にLMVとして比較して緩徐となっています。

3. 副作用は？

重大な副作用として腎機能障害、腎不全、乳酸アシドーシス、および脂肪沈着による重度の肝腫大(脂肪肝)などが報告されています。

エンテカビル(ETV)

1. ETVって？

ETVは2006年9月に保険適応薬剤として認可されました。ETVの最大の特徴は、LMV耐性がない初回投与例では、ETV耐性ウイルスの出現頻度が極めて低いことです(図1)。ETVはLMVに比して明らかに薬剤耐性出現頻度が低いことから、現在では初回投与例での第一選択薬として位置づけられています。なおLMV耐性を持つ症例へのETV投与では、2年で約15%、5年で51%の頻度でETV耐性ウイルスが出現すると報告されています(図1)。

2. ETVの使い方

ETVの用法・用量は、通常、成人には0.5mg 1日1回 経口投与です。食事の影響により薬物の吸収率が低下するため、空腹時(食後2時間以降かつ次の食事の2時間以上前)に患者さんに服用していただきます。

なお、LMV不応(LMV投与中にB型肝炎ウイルス血症が認められる、またはLMV耐性ウイルスを有するなど)患者さんには、ETV 1mgを1日1回 経口投与することが認めら



▶ LMV 不応患者に対する ETV 投与は、ETV 耐性ウイルスの出現頻度が高いことから原則行わない。

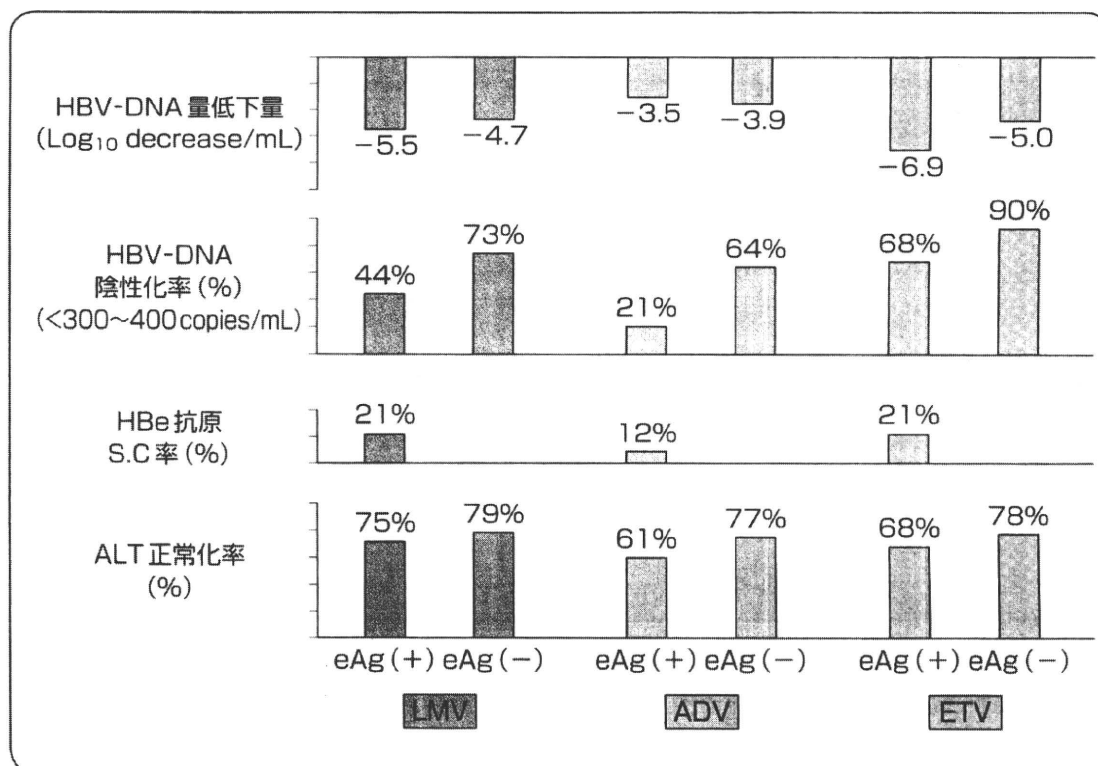


図2：各種抗ウイルス薬の治療効果の比較。48週目の治療効果

(文献3)より引用)

れていますが、ETV 耐性ウイルスが出現しやすくなることから、筆者は特別な事情がない限り、現時点では本対象者には投与を行っていません。

3. ETV, LMV, ADVを比べると…?

海外で行われた LMV, ADV と ETV の比較試験では、HBV-DNA 量低下率、HBV-DNA 陰性化率、ALT 正常化率、組織学的改善率等は、ETV が有意に優れていることが報告されています(図2)。

4. 副作用は？

副作用は他の2剤と同様、重篤なものとしては、服用中断後の肝機能値の再悪化、乳酸アシドーシス、脂肪沈着による重度の肝腫大があり、軽微なものとしては、胃腸障害(下痢、悪心、便秘、上腹部痛)、倦怠感、鼻咽頭炎、筋硬直、神経系障害、頭痛、浮動性め

- ▶ 妊婦または妊娠している可能性のある患者に対する ADV, ETV 投与による胎児への安全性は確立していない。

まいなどが報告されていますが、LMVと同様に本剤投与中、自覚症状を呈する副作用はほとんど認められません。腎排泄型の薬剤ですので、腎機能低下患者さんでは、投与間隔を延長するなどして調節します。

5. 妊娠している患者さんにはどうすればよい？

妊婦または妊娠している可能性のある患者さんに対しては、HIV患者さんに対する投与経験から LMV の胎児に対する安全性は、ほぼ確立していますが、ADV, ETV の場合、胎児に対する影響が危惧されるため、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合のみにすべきと言われていています。妊婦または妊娠している可能性のある患者さんには ETV を原則投与せず、そのような状況下には、一時的に LMV に変更するなどの対応を行うようにしています。

● 参考文献 ●

- 1) Ghany M.G., Doo E.C. : Antiviral resistance and hepatitis B therapy. *Hepatology*, 2009, 49 (5 Suppl) : S174-184
- 2) Tenney D.J., Rose R.E., et al. : Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology*, 2009, 49 : 1503-1514
- 3) Dienstag J.L. : Benefits and risks of nucleoside analog therapy for hepatitis B. *Hepatology*, 2009, 49 (5 Suppl) : S112-121

● 新人研修医へひとこと ●

研修医からみると、肝臓病学は、理屈が多く、とっつきにくい、難しいとされているようです。私は、肝臓病学とは予測の学問であり、推理小説に似ていると思っています。肝臓屋さんとは、患者さんの5年後、10年後を言い当てる占い師のようなもの。五感を駆使しながら、科学的に患者さんの未来、将来などを予測します。

Further Reading

- ① ワシントン初期研修医必携マニュアル, 箕輪良行(監訳), メディカル・サイエンス・インターナショナル, 2003
- ☞ 普通のマニュアル本には書いてないことで、初期研修医が研修を乗り越えていくために大切なことがよく書かれている。まさに「虎の巻」といえる一冊。

■ 著者プロフィール

八橋 弘・Yatsuhashi Hiroshi



長崎医療センター治療研究部長, 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学専攻肝臓病学講座教授(併任)。愛媛県八幡浜市出身。長崎で医学を学び、今は長崎空港に近い大村市(長崎医療センターの所在地)に居を構える。

HCV 抗体検出試薬「エクルーシス試薬 Anti-HCV」 を用いた HCV 感染リスク層別化に関する性能評価

国立病院機構 長崎医療センター
臨床研究センター

八 橋 弘

はじめに

現在、わが国における肝癌死亡者数は年間3万2千人を越し、肝癌は主要悪性新生物死亡順位の男性では第3位、女性では第4位に位置しており、その肝癌死亡者の約80%はHCV感染に由来している。また、わが国には約150万人から200万人のHCVキャリアーが存在すると推定されており、HCV感染者は非感染者に比較して1,000倍以上の肝癌リスクを有することも明らかとなっている。このような状況下において、無症候性C型肝炎ウイルスキャリアーの早期発見と早期治療介入の重要性が唱えられ、ウイルス肝炎、肝癌対策の一環として40歳以上の全国民を対象とした5歳ごとの「節目検診」および、過去に肝機能異常を指摘された者、ALT異常者などの感染リスクが高い希望者を対象とした「節目外検診」が2002年度より5カ年にわたって実施された。この「節目検診」および「節目外検診」の受診者数は合計約860万人に上り、新たに約10万人のHCVキャリアーが見出されたことから、HCV抗体検査を用いた検診スクリーニングの効果があったと考えられる¹⁾。

HCV抗体検査の始まりは、1989年米国Chiron社が非構造領域(c100-3)を用いた第一世代HCV抗体検査法を開発したことに端を発するが、その後、HCV全塩基配列が解明されるとともに、core領域とNS3およびNS4領域の複合抗原を用いた第二世代HCV抗体検査法が確立され、さらにはNS5領域の抗原を加えた第三世代のHCV抗体検査法が臨床導入されている。第一世代では十分な臨床感度を有しておらず、HCV感染の約70%しか捉えられなかったが、第二、第三世代ではほぼ100%のHCV感染が捉えられるようになり²⁾、今日の臨床現場におけるスクリーニング検査も、第二世代、もしくは第三世代の抗体検出試薬が主流となっている。

一方で、HCV抗体陽性者には感染状態(HCV RNA陽性)と既往感染(HCV RNA陰性)が存在し、一般的に感染状態の患者血清中のHCV抗体価は高く、既往感染者の抗体価は低いことから³⁾⁴⁾、HCV抗体検査において得られる抗体価(C.O.I)を評価することで、ウイルス血症か否かの推測は可能であり、日常診療においても初診時の抗体価は、感染状態か既往感染かの推測に用いられている。先述のHCV節目検診、

Evaluation of Elecsys Anti-HCV for the risk stratification of HCV viremia patient

Hiroshi Yatsunashi National Hospital Organization Nagasaki Medical Center

Key words : Elecsys Anti-HCV, Lumipulse Ortho HCV II, classification with antibody titer, viremia

リコンビナント抗原
 合成ペプチド抗原

Assay	Structure of HCV gene							
	5'	core	E1	E2/NS1	NS3	NS4	NS5	3'
ECL HCV		9aa - 48aa 			1192aa - 1457aa 	1689aa - 1743aa 		

図 1 ECL HCV 使用抗原領域

節目外検診においても抗体価を利用した検診フローチャートが用いられていた⁵⁾。

このように、抗体価は感染状態の予測に有用であり、既存の各抗体検出試薬においては、すでに抗体価とウイルス血症との関係に関する報告が多数なされている^{6)~8)}。

既述のような背景を鑑み、今回われわれは新たに開発された電気化学発光免疫測定法 (CLEIA 法) を原理とする「エクルーシス試薬 Anti-HCV」(ロシュ・ダイアグノスティックス社: 以下ロシュ社) における、抗体定量性能とウイルス血症との関係に関して検討を行ったので報告をする。

I. 材料および方法

1. 材 料

国立病院機構 長崎医療センターにて管理、保管を行っている HCV 抗体陽性および陰性パネル (n=181) を用いて評価を行った。なお、当パネル検体は過去の研究において認識抗原領域は特定されているとともに、セロタイプおよび「アンプリコア HCV v2.0 定性: 以下 PCR 法」(ロシュ社) の結果を得た検体である。なお、本検討実施までは -60℃ にて凍結保存しておいた。

2. 被 検 試 薬

本検討に用いた HCV 抗体検出用試薬「エクルーシス試薬 Anti-HCV: 以下 ECL HCV」は、ロシュ社から供給されている電気化学発光免疫測定法の原理に基づく全自動測定装置「エクルーシス 2010」[cobas e411]「モジュラーアナ

リテイクス E170」[cobas e601] の専用試薬であり、いずれの装置でも共通のプロトコールに基づいて分析が進められ、約 18 分で測定が完了する。測定結果はカットオフインデックス (C.O.I) で表示され、C.O.I < 0.9 : 陰性, 0.9 ≤ C.O.I < 1.0 : 判定保留, 1.0 ≤ C.O.I : 陽性と判定する。ECL HCV は、検出側にルテニウム標識 HCV 抗原を、固相側にビオチン化 HCV 抗原を用いており、これらの HCV 抗原で検体中に存在する抗 HCV 抗体をサンドイッチすることで免疫複合体を形成させる、いわゆる 1 step サンドイッチ法を原理としており、理論上は抗 HCV IgM 抗体の検出も可能である。

使用抗原は、ルテニウム標識抗原、ビオチン化抗原ともに core (合成ペプチド抗原)、NS3 (リコンビナント抗原)、NS4 (合成ペプチド抗原) に対応する 3 種類の抗原が用いられており、使用されている抗原領域から第二世代に分類される試薬となっている (図 1)。

なお、測定についてはエクルーシス 2010 を用い、添付文書に従い実施した。

3. 対 照 HCV 抗 体 検 出 試 薬

比較対照とする HCV 抗体検査には、ワイドレンジを有し、その抗体価からウイルス血症の予測に広く用いられている「ルミパルス オース HCV II: 以下 LP HCV」(オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス社: 以下オーソ社) を用いた。なお、測定に関しては検査センターへ依頼し、検体は凍結保存にて輸送した。

4. 定 性 判 定 一 致 率

先述の検体 (n=181) について ECL HCV と

表 1 LP HCV と ECL HCV における判定結果

		LP HCV		合 計
		陽 性	陰 性	
ECL HCV	陽 性	171	3	174
	陰 性	0	7	7
合 計		171	10	181

判定一致率：178/181=98.3%

表 2 両試薬間での乖離 3 例

S/N	ECL HCV (C. O. I) (判定)	LP HCV (C. O. I) (判定)	ARC HCV (C. O. I) (判定)	RIBA テスト	c22 (RIA) (C. O. I) (判定)	c33 (RIA) (C. O. I) (判定)	c100 (RIA) (C. O. I) (判定)	c200 (RIA) (C. O. I) (判定)	HCV セロ タイプ	PCR 定性
70	101.7 (+)	0.8 (-)	1.3 (+)	未実施	1.3	0.2	0.4	0.2	I	NEG
84	1.05 (+)	0.1 (-)	<0.1 (-)	NEG	0.0	0.0	0.0	0.0	(-)	NEG
91	158.3 (+)	0.3 (-)	0.7 (-)	c22(p) + 判定保留	0.8	0.1	0.1	0.0	(-)	NEG

LP HCV の両試薬で測定を実施し、定性結果における判定一致率を算出した。なお、判定不一致を示した検体に関しては、「アーキテクト HCV：以下 ARC HCV」(アボット ジャパン社), 「カイロン HCV RIBA テスト III：以下 RIBA テスト」(オース社) を用いて追加試験を実施するとともに、予め確認済みの各抗原領域に対する抗体試験結果 (RIA 法) および PCR 法の結果を参照し評価した。

5. 定量性能評価と抗体価 3 群分類評価

ECL HCV と LP HCV とともに陽性を示した検体 (n=171) において、両試薬間の相関性を確認するとともに、得られた相関性の結果から ECL HCV を用いて低、中、高抗体価に分類する際の区分け C. O. I を暫定的に設定し、両試薬を用いて分類した際の一致率と各群における PCR 陽性率に関する評価を行った。

また、ECL HCV と LP HCV の両試薬で高抗体価群に分類された検体のうち、希釈試験の実施に十分な検体量が残存していた 3 検体を用い

て希釈直線性試験を行った。なお、検体の希釈に関してはエクルーシス検体希釈液 (専用検体希釈液) を用いた。

II. 結 果

1. 定性判定一致率

当研究に用いた 181 例での定性試験の結果を表 1 に示す。ECL HCV, LP HCV とともに陽性を示したものが 171 例、ともに陰性を示したものが 7 例となり、全体一致率は、178 例/181 例=98.3% となった。なお乖離を示した 3 例はともに ECL HCV のみ陽性であった。当 3 例に関し、ARC HCV, RIBA テストにおける追加試験結果ならびに、過去に実施した各抗原領域に対する抗体試験結果 (RIA 法) と PCR 法の結果を表 2 に示す。

2. C. O. I の相関性と抗体価による 3 群分類評価

ECL HCV と LP HCV とともに陽性を示した 171 例において、C. O. I による相関性を確認し

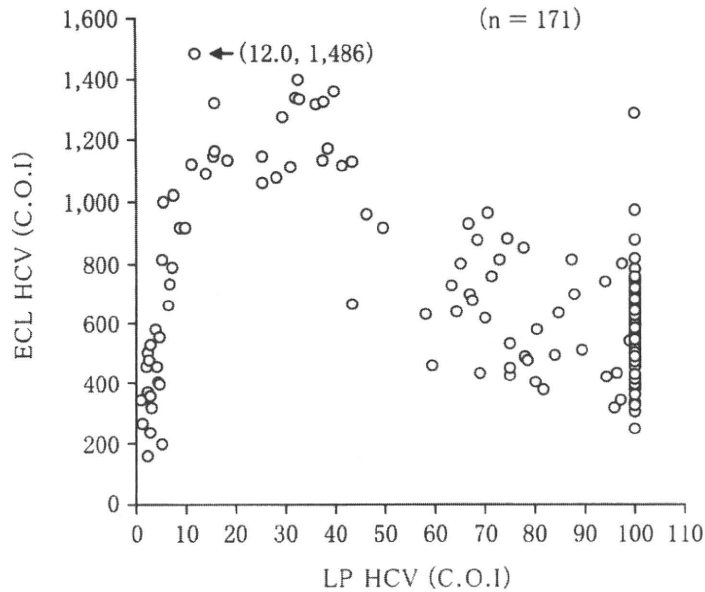


図2 LP HCV (C.O.I) と ECL HCV (C.O.I) における相関

たところ、ECL HCV では抗体過剰と思われるフック現象による C.O.I の低値化が認められ、C.O.I : 1,486 (LP HCV C.O.I : 12.0) をピークに、LP HCV の C.O.I 上昇に伴い ECL HCV では C.O.I の低下が確認された (図2)。なお、最も低値を示したものでは、C.O.I : 247.1 (LP HCV $100 \leq$ C.O.I) まで低下したが、偽陰性を呈することはなかった。

ECL HCV における抗体過剰現象を検証するために、同 171 検体を専用検体希釈液にて 100 倍希釈し、再測定後に得られた C.O.I に希釈倍数を乗じた換算値 (希釈後測定値 \times 100 倍 : 以下 100 倍希釈換算値) にて改めて相関性を確認したところ、フック現象は解消され、高濃度域まで良好な直線性が得られることが確認された。また LP HCV の抗体価分類値を基に、得られた相関関係から、ECL HCV においては低抗体価群を $1.0 \leq$ C.O.I $< 1,000$ 、中抗体価群を $1,000 \leq$ C.O.I $< 20,000$ 、高抗体価群を $20,000 \leq$ C.O.I とすることで、LP HCV による 3 群分類と良好な一致率となることが推測された (図3)。そこで、当 decision level (表3) を用いて HCV ウイルス血症の予測が可能か否かについて検討したところ、PCR 法陽性検体は高抗体価域に集中し、低抗体価域には PCR 法陽性検体

は存在していないことが確認された (図4)。併せて、LP HCV にて推奨されている 3 群分類 C.O.I に準じて分類したものと、今回設定した ECL HCV での 3 群分類 C.O.I により分類したものとで分類一致率を算出したところ、陰性結果を含む 181 例中 167 例が一致し、一致率は 92.3% (表4) となった。また LP HCV により 3 群分類された各群の PCR 法陽性率と ECL HCV を用いて 3 群分類された各群における PCR 法陽性率は、高抗体価群においては ECL HCV が 97.4%、LP HCV が 97.5%、中抗体価群は ECL HCV が 47.4%、LP HCV が 35.3%、低抗体価群はともに 0.0% となり、いずれの抗体価群においても同等の PCR 法陽性率を示した (表5)。

さらに、ECL HCV、LP HCV 両試薬において高抗体価群に分類された検体の中から、希釈直線性試験の実施に十分な検体量が残存していた 3 検体 (ECL HCV C.O.I : 73,560, 68,120, 56,440) を用いて、ECL HCV における希釈直線性を確認したところ、3 検体ともに希釈倍数に伴い C.O.I の低値化が認められ、良好な希釈直線性を有することが確認された (図5)。

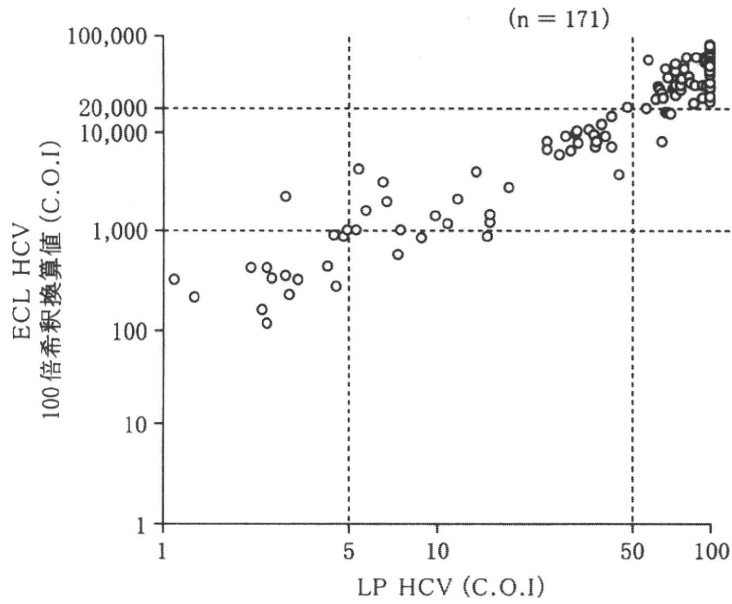


図 3 LP HCV (C.O.I) と ECL HCV 100 倍希釈換算値 (C.O.I) における相関

表 3 LP HCV と ECL HCV それぞれにおける抗体価 3 群分類 C.O.I

	陰 性	判定保留	陽性低抗体価	陽性中抗体価	陽性高抗体価
LP HCV (C.O.I)	$C.O.I < 1.0$	—	$1.0 \leq C.O.I < 5.0$	$5.0 \leq C.O.I < 50.0$	$50.0 \leq C.O.I$
ECL HCV 100 倍希釈換算値 (C.O.I)	$C.O.I < 0.9$	$0.9 \leq C.O.I < 1.0$	$1.0 \leq C.O.I < 1,000$	$1,000 \leq C.O.I < 20,000$	$20,000 \leq C.O.I$

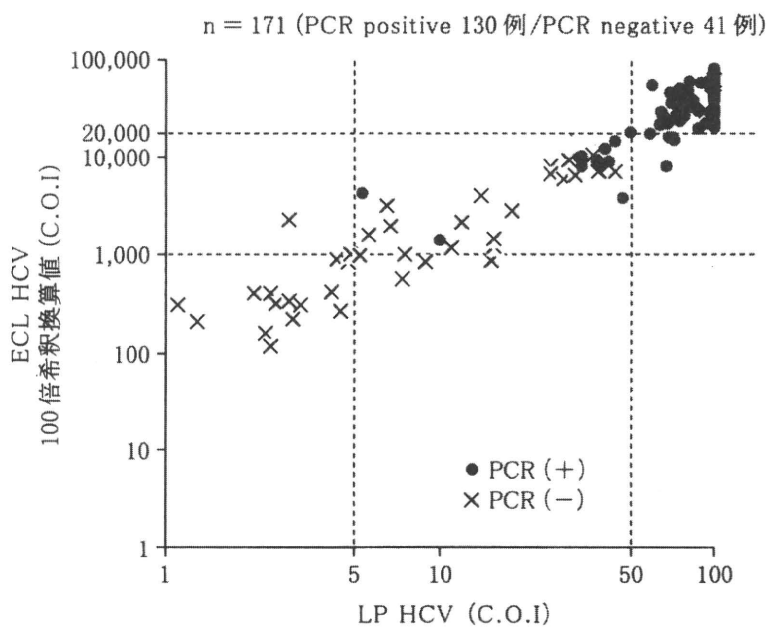


図 4 LP HCV (C.O.I) と ECL HCV 100 倍希釈換算値 (C.O.I) における相関と各検体の PCR 法結果

表 4 LP HCV と ECL HCV における陰性判定を含めた抗体価群分類一致率

		LP HCV				合 計
		高抗体価 ($50 \leq C. O. I$)	中抗体価 ($5 \leq C. O. I < 50$)	低抗体価 ($1 \leq C. O. I < 5$)	陰 性	
ECL HCV 100倍 希釈換算値	高抗体価 ($20,000 \leq C. O. I$)	115	0	0	0	116
	中抗体価 ($1,000 \leq C. O. I < 20,000$)	6	30	2	0	38
	低抗体価 ($1.0 \leq C. O. I < 1,000$)	0	4	15	2	21
	陰 性	0	0	0	6	6
合 計		122	34	17	8	181

一致率 : $167/181 = 92.3\%$

表 5 ECL HCV と LP HCV の各抗体価群における PCR 法陽性率

		PCR		合 計	PCR 陽性率 (%)
		陽 性	陰 性		
ECL HCV 100倍希釈換算値	高抗体価 ($20,000 \leq C. O. I$)	112	3	115	97.4
	中抗体価 ($1,000 \leq C. O. I < 20,000$)	18	20	38	47.4
	低抗体価 ($1.0 \leq C. O. I < 1,000$)	0	18	18	0.0
合 計		130	41	171	—

		PCR		合 計	PCR 陽性率 (%)
		陽 性	陰 性		
LP HCV	高抗体価 ($50.0 \leq C. O. I$)	118	3	121	97.5
	中抗体価 ($5.0 \leq C. O. I < 50.0$)	12	22	34	35.3
	低抗体価 ($1.0 \leq C. O. I < 5.0$)	0	16	16	0.0
合 計		130	41	171	—

III. 考 察

HCV 抗体検査は、試薬に使用している抗原領域の違いはもちろんのこと、同じ遺伝子領域に対する抗原を用いても、患者血清中の HCV

抗体の多様性により、特にカットオフ値付近の検体では判定が異なることが多数報告されており、試薬を検討する際においてはその点を踏まえた臨床的観点からの評価が重要である。

今回われわれは新たに開発された ECL HCV

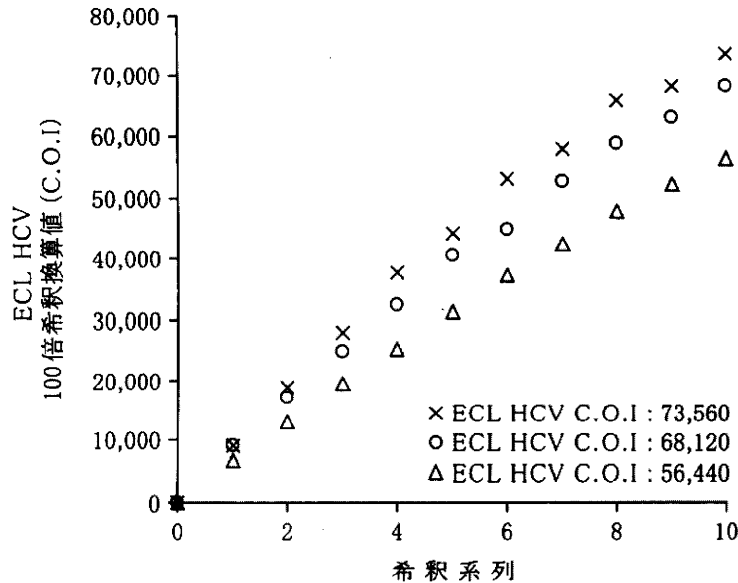


図5 100倍希釈後検体を用いたECL HCVにおける希釈直線性

の基礎的性能評価として、ECL HCVと既存試薬LP HCVの両試薬間における定性判定一致率と、定量的相関性および両試薬を用いて抗体価を3群に分類した際の一致率に関する検討を行った。評価に用いた181例における定性判定での全体一致率は $178/181=98.3\%$ と満足のいく一致率を示したが、ECL HCV陽性、LP HCV陰性での乖離が3例存在し、1例(S/N70)は追加試験のARC HCV陽性、過去に実施したc22抗原(core)陽性、セロタイプ判定I、PCR法陰性などの背景から、ECL HCVはLP HCVと比較しcore領域に対する反応性が高く、既往感染における残存抗体により陽性を示したものと考えられた。また1例(S/N84)は、ARC HCV、RIBAテスト、各抗原領域に対するRIA法、PCR法のいずれも陰性であったことから、ECL HCVの非特異反応による偽陽性もしくはECL HCVに使用している抗原に対しのみ反応性を有する抗体の存在が示唆された。残りの1例(S/N91)は、ARC HCV陰性、各抗原領域に対するRIA法はいずれも陰性、PCR法陰性であったが、RIBAテストではc22(p)が2+の判定保留であったことから、1例目の乖離と同様に既往感染における残存抗体により陽性と

なった可能性が考えられた。今回の比較検討結果から、ECL HCVの陽性検体におけるC.O.Iは、他法に比べ極めて高い値を示す傾向があり、使用抗原と反応する抗体がわずかでも存在すると、強いシグナルを示すことが推測された。

HCV抗体検査はウイルスの検出が目的ではなく、いわゆる感染抗体の検出が目的であるため、HCV抗体陽性は感染状態の可能性を意味するが、HCV抗体検出用試薬の高感度化に伴い、先述のような既往感染による残存抗体や非特異的反応などにより試薬間での判定不一致を示す例も少なくない。すなわち、HCV抗体検査試薬間において発生する低抗体価域での判定乖離は避けられない現象であり、このような場合、ごく早期感染例を除いて临床上は未感染状態の可能性が高いことを念頭に入れておく必要がある。

一方、HCV感染とHCV抗体価の関係においては、一般的に感染状態のPCR法陽性患者ではHCV抗体は高力価を持続し、寛解後のPCR法陰性患者ではHCV抗体価は低値となるため、初診時でのHCV抗体陽性例は、定性判定と併せて抗体価を評価することでHCV感染状態にあるか、既往感染によるHCV抗体陽性が

の推測をすることが可能である。つまり、初診時に HCV 抗体陽性を示した場合はその抗体価を確認し、高抗体価であれば感染状態にあり、低抗体価であれば過去の感染もしくは偽陽性であろうと予測する。このように HCV 抗体検査は単に陽性、陰性の定性的結果のみならず、その抗体価も診断上重要な情報の1つとなっていることから ECL HCV の定量性能を評価したところ、ECL HCV では原倍の検体を用いた測定の場合は、試薬特性である抗体との高反応性ゆえにフック現象が認められ、感染リスク層別化のための3群分類は困難であると思われたが、陽性検体については専用希釈液を用いて100倍希釈することでフック現象は解消され、抗体価上昇に伴い C.O.I は直線的に上昇し、ウイルス血症を予測するための低・中・高抗体価による3群分類が可能となった。すでに、日常臨床において HCV 抗体定量試薬として広く用いられている LP HCV を用いた3群分類の検討結果と、ECL HCV 100倍希釈換算値をもとに3群分類を行った結果を比較したところ、陰性判定を含む全体一致率は92.3%と満足のいく結果が得られている上、各抗体価群における PCR 法陽性率も、LP HCV と ECL HCV とで同等の陽性率を示していることから、ECL HCV においても陽性検体は100倍希釈をすることで抗体価の3群分類は可能になるものと思われた。

加えて、100倍希釈された検体をさらに専用希釈液を用いて希釈直線性を確認したところ、良好な希釈直線性を示すことが確認された。このことは、抗ウイルス療法の治療著効群例 (SVR) にみられる治療経過に伴う HCV 抗体価の低下についても、ECL HCV では100倍希釈換算値を用いることで把握することがおおむね可能であると考えられた。

HCV 抗体測定用試薬は、臨床診断薬各メーカーからすでに数種類のキットが供給されているが、それぞれの測定原理や使用抗原は異なっており、導入にあたっては試薬の特徴を把握することが重要である。ECL HCV は18分での迅速測定が可能であるが、定量測定による感染

リスク層別化のための3群分類においては、陽性を呈した検体を希釈再検する必要がある。ただし、実際のルーチン検査においては、初検における再検査の実施や陽性検体の頻度を鑑みると、ECL HCV による日常診療における迅速検査の有用性は高く、緊急検査や大量処理を要する検査センターなどでの対応も可能と思われ、HCV スクリーニング試薬の1つとして有用なものであると考えられた。

結 語

今回われわれは新たに開発された ECL HCV について、既存の LP HCV を対象試薬として、判定一致率、定量性能比較および低・中・高抗体価群への3群分類の可否について評価を実施した。定性判定一致に関しては、全体一致率98.3%と満足のいくものであり、抗体価3群分類においても ECL HCV の100倍希釈換算値を用いた場合、 $1.0 \leq \text{C.O.I} < 1,000$, $1,000 \leq \text{C.O.I} < 20,000$, $20,000 \leq \text{C.O.I}$ により分類することで LP HCV と同等にウイルス血症の予測が可能であった。

しかし、今後さらに評価対象検体数を増やして当 decision level の妥当性と定量性能を再評価することも重要と思われる。また、その他に基本性能評価として測定精度やセロコンバージョンパネルを用いた感度試験、妊婦や自己免疫疾患患者などの偽陽性を呈しやすい患者群による特異性評価などの追加実施も重要なポイントであり、今後の検討課題としたい。

末筆となるが、HCV 診断において HCV 抗体価はウイルス血症の予測にすぎず、既往感染や HCV 抗体測定における偽陽性の問題、また過去の検討においては低抗体価群においても HCV RNA 法陽性を示す検体の存在も確認されていることなどから⁸⁾、HCV 抗体陽性者は必ずウイルス血症の有無を確認することが重要であり、C型肝炎感染の確定診断法としての HCV RNA 検査の代替検査として用いてはならないことを記しておく。

文 献

- 1) 田中純子 他：HCV 感染の疫学の変化：現況と将来. 肝胆膵 57(5) : 707-715, 2008.
- 2) 田中榮司：HCV 関連マーカー測定法の進歩. 臨床検査 46(3) : 243-257, 2002.
- 3) 矢野右人 他：HCV 抗体. 治療 75(4) : 1103-1109, 1993.
- 4) 田中 武：C型肝炎ウイルス関連抗体. 日本臨牀 57 : 350-352, 1999.
- 5) 日本肝臓学会編：慢性肝炎の治療ガイド 2008.
- 6) 市後香織 他：Counting Immunoassay を原理とする HCV 抗体測定. 日本臨床検査自動化学会誌 27(3) : 209-213, 2002.
- 7) 利光昭次 他：検診受診者群におけるルミバルスプレストによる HCV 抗体検出の評価. 医学と薬学 60(6) : 853-861, 2008.
- 8) 八橋 弘 他：C型肝炎ウイルス抗体キット「Eテスト「TOSOH」II (HCV Ab)」の基礎的および臨床的検討. 医学と薬学 58(3) : 459-466, 2007.

* * *

1

B 型肝炎の病態解明最前線

(1) HBV 感染症の自然史

八橋 弘* 長岡 進矢*
斐 成寛* 阿比留正剛*

Key words: HBV キャリア, 自然経過, 肝癌, HBV-DNA 量

要旨

HBV キャリアの自然経過は, ① Immune tolerance 期, ② Immune clearance 期 (HBeAg⁺ chronic hepatitis B 期), ③ Low replicative 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される。最近, HBV 発癌の危険因子として, 高 HBV-DNA 量であることが明らかとなり注目されている。

I. HBV キャリアの感染経路, 初感染例での持続感染の頻度

この項のポイント

- 日本の HBV キャリアのおもな感染経路は, 20 年以上前の垂直感染と 3 歳以下の乳幼児水平感染である。

HBs 抗原が 6 カ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,

*国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター治療研究部

(〒856-8562 長崎県大村市久原 2-1001-1)

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。

成人 B 型急性肝炎例がキャリア化の場合には, HBV genotype A の感染の可能性を考慮する必要がある。しかし, 現在のわが国に存在する約 130 万人の HBV キャリアのおもな感染経路は, 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と 3 歳以下の乳幼児水平感染である。

II. HBV キャリアの自然経過

この項のポイント

- HBV キャリアの自然経過は, 五つの時相に分類される。

HBV そのものは細胞障害性を有していないことから, 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なかで成立する。HBV キャリアは, 従来は, ① Immune tolerance 期, ② Immune clearance 期, ③ Low replicative 期または integrated 期, という三つの時相に分類されていた。しかし, 1989 年以後, HBe 抗原産生に關与する pre-

表1 B型慢性肝炎の自然経過の分類

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 ⁺ 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 ⁻ 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, 線維化の程度は軽度	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)	(-)	(-)

[文献3)より引用]

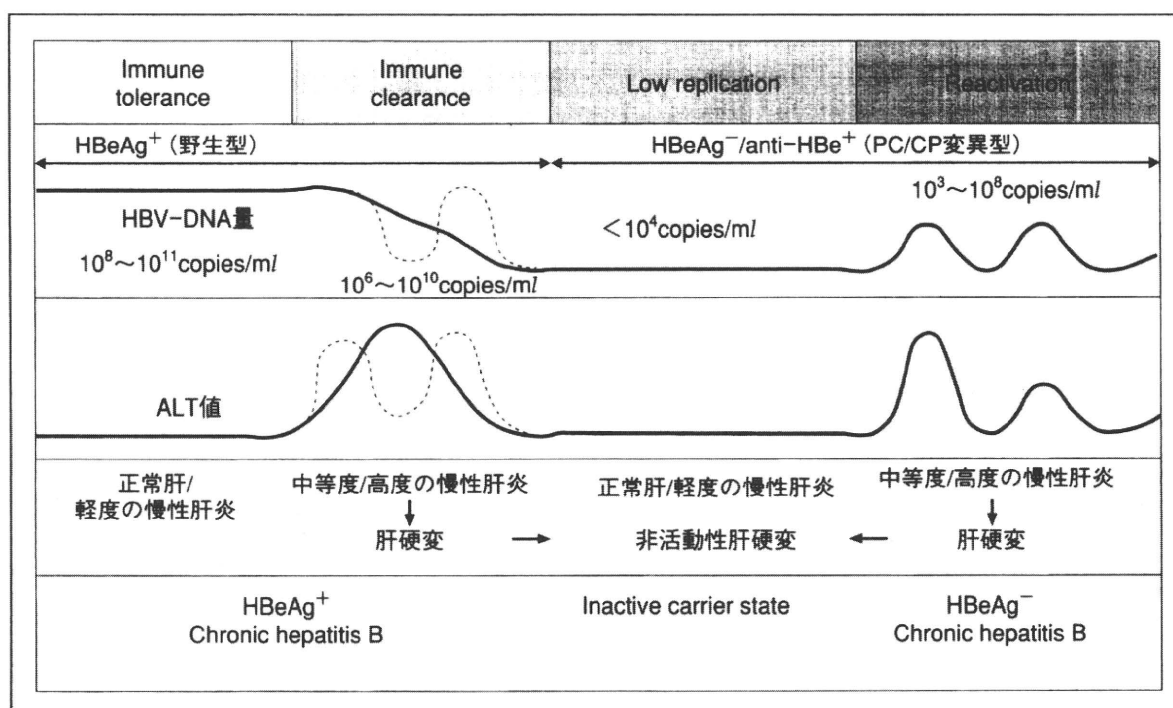


図1 HBV キャリアの自然経過

[図は文献1)より引用, HBV-DNA量は文献3)より値を引用]

core 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。このことから, 最近では, 表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)などを評価したうえで, ① Immune tolerance 期, ② Immune clearance 期 (HBeAg⁺ chronic hepatitis B 期), ③ Low replicative 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,

図1のように表記するようになった^{1)~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HBeAg陽性の慢性肝炎の時期であり、年齢としては15~35歳に相当する。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。肝炎の急性増悪に伴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未満に持続低下しHBV-DNAはpolymerase chain reaction (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 期に移行しないかぎり組織進展はなく、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⁻ 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値の変動が始まる。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抗原産生に関与するprecore領域やcore promoter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、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⁻ 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成人例における HBs 抗原の年間消失率は 0.5~2.5%、平均 1.0%前後と考えられている²⁾。

Ⅲ. HBe 抗原-HBe 抗体のセロコンバージョン

この項のポイント

- B 型肝炎の年間のセロコンバージョン率は、平均 10%/年である。

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。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。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。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表し、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。

Ⅳ. 肝硬変への進展

この項のポイント

- 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。

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 型肝炎からの年間の肝硬変進展率は、HBe 抗原陽性 B 型肝炎で 2~6%、HBe 抗原陰性 B 型肝炎で 8~10%と報告されており、HBe 抗原陰性 B 型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、また慢性肝炎のなか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る⁵⁾。

Ⅴ. 肝癌への進展

この項のポイント

- HBV キャリアの年間肝癌発生率は、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。

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、非活動性キャリアで 0.2%、肝硬変を伴わない慢性肝炎で 0.8~1.0%、代償性肝硬変で 3.2~4.3%と報告されている(表 2)。一方、欧州などの HBV 低罹患国での年間肝癌発生率は、非活動性キャリアで 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(表 2)、同じ病態でも HBV