

201227033A

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

B型肝炎ウイルス e 抗体陽性無症候性  
キャリアの長期予後に関する検討

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 横須賀 収

平成25(2013)年3月

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

B型肝炎ウイルス e 抗体陽性無症候性  
キャリアの長期予後に関する検討

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 横須賀 収

平成 25 (2013) 年 3 月

# 目 次

## I. 総括研究報告

研究代表者報告：平成24年度の研究成果の纏め	(横須賀 收) …………… 1
------------------------	-----------------

## II. 分担研究報告

ALT正常HBe抗体陽性者におけるHBVレベルとALT変動の関連	(髭 修平) …………… 7
HBe抗体陽性B型慢性肝疾患における肝病態とジェノタイプとの関連	(上野 義之) ……………11
HBe抗体陽性キャリアのALT異常と関連する因子	(田中 榮司) ……………15
HBV自然経過における超高感度HBs抗原の推移	(田中 靖人) ……………19
広島大学におけるALT正常無症候性キャリアの現況	(高橋 祥一) ……………22
人間ドックを受診したHBVキャリアのジェノタイプ、遺伝子変異、ウイルス量の検討	(吉岡健太郎) ……………25
HBe抗体陽性キャリアとHBs抗原消失後の予後の検討	(八橋 弘) ……………28
肝炎助成申請からみたB型慢性肝疾患の現状	(坪内 博仁) ……………32
愛媛県におけるHBVキャリア妊婦のHBVgenotype と臨床像	(恩地 森一) ……………35
B型肝炎ウイルス関連肝がんの現状	(佐田 通夫) ……………37
B型肝炎の再活性化と免疫病態に関する臨床的研究	(中本 安成) ……………40
肝組織内のHBV動態と予後との関連	(西口 修平) ……………42
HBe抗原陰性B型肝炎例からの肝発癌の後ろ向き解析	(泉 並木) ……………49
HBe抗体陽性無症候性キャリアを診断する予測因子の検討	(今関 文夫) ……………53
HBV増殖メカニズムに関する検討	(白澤 浩) ……………56
B型肝炎ウイルスe抗体陽性無症候性キャリアとその再活性化に関わるB型肝炎ウイルス因子の解明－HBVの in vitro 実験系の構築とその予備的検討－	(岡本 宏明) ……………58

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	……………61
---------------------	---------

IV. 研究成果の刊行物・別刷	……………73
-----------------	---------

# I. 総括研究報告

B 型肝炎ウイルス e 抗体陽性無症候性キャリアの長期予後に関する検討

研究代表者：横須賀 収 千葉大学

研究要旨： HBeAb 陽性の無症候性キャリアは、予後良好な病態と考えられていたが、欧米は異なる報告がなされている。これまで無症候性キャリアの全国的な大規模な検討はなされたことはなく、わずかに少数例の短報があるのみであり、その解明には本邦における大規模な検討が必要である。本研究に参加する全国の基幹病院に通院中の HBV キャリアを対象に、（１）後向き検討と（２）前向き検討のエントリーを行った。また、無症候性キャリアの成立に関係するウイルス側因子について、基礎的な検討を行った。848 症例の HBV キャリアの集積を行った。ALT 30 IU/L 以下の HBV キャリアを無症候性キャリアと定義した場合、症例の多くは、短期間のフォローアップに限られており、血小板数が少ない症例や HBVDNA 量が多い症例も、一定の割合で含まれていることが明らかになった。肝炎の増悪や発癌のリスクが高い症例の絞り込みには、前向き研究による検討が必須と考えられた。

#### A. 研究目的

HBeAb 陽性の無症候性キャリアは、予後良好な病態と考えられていた。一方、欧米からの報告では、いわゆる無症候性キャリアからの肝炎の発症が当初推定されていたよりも多いことが示された。欧米と本邦では様々な背景因子が異なることから、本邦で同様のことがいえるかについては不明である。現在 HBV キャリアに対して、B 型肝炎ウイルス感染者の救済のための特別措置法に基づき、HBV の病態に応じて、異なる金額の給付金が支給されている。無症候性キャリアは、慢性肝炎症例の半分以下の金額となっているが、この設定が正しいかについては、無症候性キャリアの長期予後を正確に把握して初めて判断ができるものである。これまで無症候性キャリアの全国的な大規模な検討はなされたことはなく、わずかに少数例の短報があるのみであり、その解明には本邦における大規模な検討が必要である。

#### B. 研究方法

本研究の目的達成のために、臨床研究と基礎研究を行う。臨床研究は、HBeAb 陽性

の HBV キャリアの詳細な検討を行うために、

（１）後向き検討と（２）前向き検討のエントリーを行った。代表者および分担研究者の施設より、無症候性キャリアの症例のエントリーを依頼し、前向き、後向き研究対象を合わせて、848 例の臨床経過情報を得て解析した。分担研究者には、無症候性キャリアの成立と予後に関する研究を依頼した。

基礎研究は、白澤、岡本分担研究者に、無症候性キャリア成立に関するウイルス側因子の基礎的な検討を依頼した。

（倫理面への配慮）

本研究は、千葉大学大学院医学研究院生命倫理委員会で研究内容の審査を受け、研究の施行について、承認を受けている。臨床研究の登録を行った（UMIN000009185）。

#### C. 研究結果

研究代表者（横須賀 収）

全国の施設より集積された 848 症例の無症候性キャリアの調査を行った。これら施設は HBV キャリア症例を専門的に診療を行

う地域の専門病院であり、このように各施設においても、10年以上のフォローアップ症例は、20%以下であり、適切なフォローアップが十分なされていないことが本研究の調査で明らかになった(図1)。また、血小板数が15万未満の症例も、14%みられた(図2)。これは、進行した肝線維化を反映している可能性が高い。一方、HBVDNA量が4.0logcopies/ml以上の症例は、28%認められた(図3)。Genotypeについては、東北地方でGenotype Bが多くみられる地域ではGenotype Bが、一方、中国四国地方のGenotype Dが多くみられる地域では、Genotype Dが多くみられた。しかし、いずれもその地域でのHBVキャリア全体に対するGenotype Cが占める既報の割合と比較すると、Genotype Cの症例は少ない印象であった。それ以外の地域では、同様にGenotype Cの症例が少なかった。

(図1)

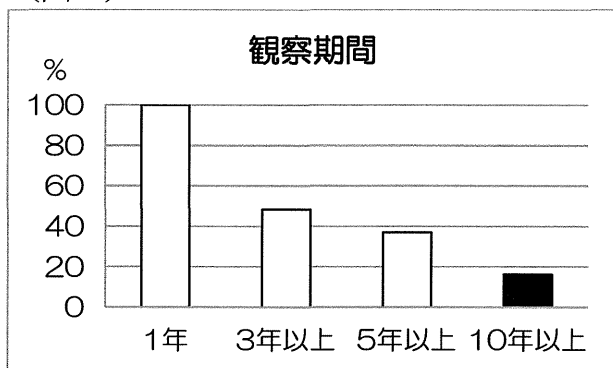


図2

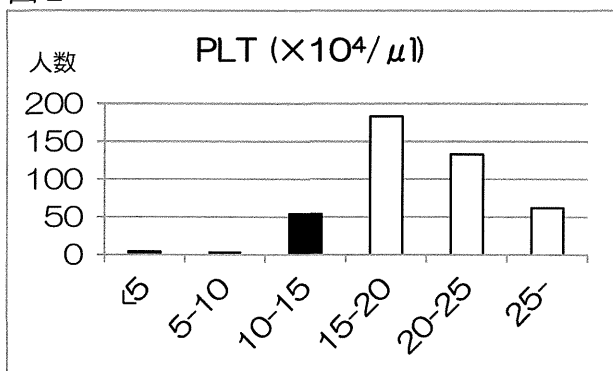
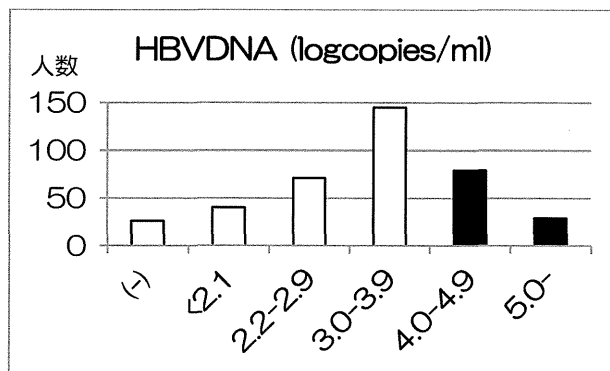


図3



分担研究者 (髙 修平)

HBe抗体陽性無症候性キャリアの長期予後に関連する基礎研究として、核酸アナログ製剤投与例の検討を実施した。ラミブジン耐性出現例に対するアデホビル併用症例の検討を実施した。

分担研究者 (上野義之)

現在通院中のB型肝炎患者の調査、データベース作成を行った。1987年から2012年まで、HBs抗原陽性B型肝炎ウイルスキャリアは645名であった。HBe抗体陽性例のうち、慢性肝炎・肝硬変・肝癌進展例を除き、抗ウイルス治療未治療例かつ、ALT値が2年連続して30 IU/ml以下である症例では、genotype Bが50例(77%)を占め、genotype Cの頻度はわずか15例(23%)であった。

分担研究者 (田中榮司)

HBe抗体陽性無症候性キャリアのリストを作成し前向き調査を開始した。1999年から2009年の10年間経過観察を行ったHBe抗体陽性無症候性キャリアの自然経過を解析した。

分担研究者 (田中靖人)

HBeAb陽性無症候性キャリアの実態把握のために、名古屋市立大学附属病院の症例を57例登録した。肝炎データベース: HBV配列の総エントリー数は28,303で、現在全長配列が3,846本登録されており、配列情報、付帯情報の入手が可能である。また、データベース上でBLAST search、系統樹作成も可能とした。

分担研究者（高橋祥一）

中国地方における ALT 正常無症候性キャリア 221 例の現況について検討した。経過観察中に HBs 抗原が消失した症例は 14 人認められた。これらの症例は、HBs 抗原非消失例に比して、年齢が高い傾向にあった

分担研究者（吉岡健太郎）

人間ドックを受診した B 型肝炎ウイルス e 抗体陽性キャリア 56 名のウイルスマーカーの検査結果を解析した。HBVDNA は 7 例（13%）で 2.1 未満であったが、コア関連抗原は 52 例（93%）で検出せず、HBVDNA 量とコア関連抗原量に著明な不一致がみられた。

分担研究者（八橋 弘）

HBe 抗原陽性 B 型肝炎のうち、抗ウイルス剤の介入をしなかった 91 例において、ALT 値 200IU/L、HBe 抗原量 500S/CO であれば、3 年以内に約 90%が、自然経過で HBe seroconversion に至ることが明らかになった。離島住民を対象に行ったスクリーニングで診断された B 型肝炎 1045 例を対象とした検討で、B 型肝炎は、非活動期の無症候性キャリアに至っても一般住民より生命予後は不良であることが明らかになった。

分担研究者（坪内博仁）

鹿児島県の B 型肝炎疾患に対する核酸アナログ製剤治療助成申請(1102 例)における B 型肝炎の現状について調査し、約 80%の症例で血中 HBV-DNA < 2.1 LC/mL と低下し、ALT 値の低下および血小板数の増加がみられたことから、核酸アナログ製剤による慢性 B 型肝炎・肝硬変患者の予後の改善が推測された。

分担研究者（恩地森一）

担当エリアの HBV ゲノタイプの解析を行ったところ、ゲノタイプ D が約 7%存在した。ゲノタイプ D はゲノタイプ C と比較すると、若年で無症候性キャリアが多く、HBe 抗体陽性例が多いという特徴を有していた。

分担研究者（佐田通夫）

B 型肝炎に対する核酸アナログ製剤の投与を中止した症例（34 例）の検討で、HBe 抗体へのセロコンバージョン後の核酸アナログ製剤の投与期間（12 ヶ月以上）と投与中止後の治療効果に関連があった。治療効果に関連する因子として、中止時の HBcrAg 量  $\geq 3$  において核酸アナログ製剤の投与中止後の治療効果を認めた。

分担研究者（中本安成）

各種の免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎再活性化の状況を検討した。その結果、ステロイドパルス療法、R-CHOP・CHOP 療法でのみ再活性化を認めたことから、治療法別の対策を考慮する必要性が示唆された。B 型肝炎再活性化に関するガイドラインの提示により、多くの診療科において HBV DNA 量に基づいた抗ウイルス療法が実施されるようになった。

分担研究者（西口修平）

肝組織中の HBV cccDNA を定量する系の設定のため、HBV-DNA の PCR 増幅とサブクローニングを行って、臨床検体での測定を開始した。またウイルス量の多い症例では、血液中の cccDNA の検出の可能性についても検討している。核酸アナログ治療開始前に肝生検を施行できた症例に対して、HBs 抗原の定量と HBcr 抗原の測定を行い、HBe 抗原・抗体のセロコンバージョン、年齢や組織所見といった種々の因子との関連について解析を行っている。

分担研究者（泉 並木）

B 型肝炎キャリアからの肝発癌についてデータマイニング解析を行った。年齢、HBVDNA 量と血小板数が肝発癌に関連する因子であった。

分担研究者（今関文夫）

HBe 抗体陽性無症候性キャリアを診断する予測因子を検討した。HBV DNA < 4 log copies /ml の HBe 抗体陽性キャリア 124 例を対象

として、平均7.0年(1~9.1年)の経過観察を行った。HBsAg 定量、HBcrAg 量は HBe 抗体陽性無症候性キャリアの長期経過を予測するのに有用であることが示された。

分担研究者(白澤 浩)

in vitro の実験系において、トリコスタチン A により感染性 HBV 粒子を産生する HepG2.2.15 細胞における HBV 増殖の低下がみられた。また HepG2.2.15 細胞は HBV のない HepG2 細胞と比較してヒストンアセチル化酵素やその他のクロマチン関連遺伝子の発現に変化がみられた。HBV ゲノムを PCR にて増幅し、次世代シーケンサーによる Ultra Deep Sequence の解析検討を開始した。

分担研究者(岡本宏明)

劇症肝炎、急性増悪等の患者や HBe 抗体陽性無症候性キャリアに由来する 1.3 倍ゲノム長の HBV construct を作成し、ELISA, real-time PCR, Southern blotting, Northern blotting 等によってウイルス増殖能を比較解析できる in vitro 実験系を構築した。免疫抑制剤が投与されていない感染既往者での HBV 再活性化を認め、HBV/C2 の野生株(3215 塩基長)を分離した。

#### D. 考察

HBeAb 陽性の HBV キャリアのうち、肝機能が正常である、いわゆる無症候性キャリアはこれまで臨床的治癒と考えられており、一般にその予後は良好と考えられていた。

一方、欧米からの報告で、HBeAb 陽性慢性肝炎の多くは無症候性キャリアからの慢性化によるとの報告が、Lok らによりなされ

(Hepatology 2007)、約 20-30%にも及ぶ患者が慢性化するとされている。しかしながら、欧米と本邦では、人種的な差異、HBV Genotype の差、肥満症例数など、同じ HBV キャリアといえども、その背景因子は大きく異なり、本邦における予後調査は必要なものである。これまで、無症候性キャリアの全国的な大規模な検討はなされたことは

なく、わずかに少数例の短報があるのみである。また近年問題となっている B 型肝炎 reactivation についても、その多くが無症候性キャリアから発症すると考えられる。さらには、その頻度は稀と推定されるが、発癌のリスクも無症候性キャリアには存在する。全国 12 施設に通院中の無症候性キャリアの臨床的背景の解析から、①10 年以上といった長期の経過観察はあまりされないことがない、②血小板数が低い症例が少なからず認める、③HBV DNA 量が多い症例も含まれる、④Genotype に偏りがある、ことが示された。経過観察期間が短いことは、長期予後の把握が困難であり、後向き研究だけではなく、前向き研究が、無症候性キャリアの予後把握には必須であると考えられる。血小板数の少ない例は、肝線維化が進行した症例と考えられ、このような症例では、発癌のリスクが高いことはこれまでの報告から明らかであり、ALT 値だけで無症候性キャリアと判断することなく、画像評価などにより肝線維化を評価すべきである。また、HBVDNA 量が、予後因子の一つであることは、海外から報告があり、国内の無症候性キャリアにおいても、HBVDNA 量の多い例は、十分な経過観察が必要と思われる。近年、HB s Ag 定量検査、HBV コア関連抗原などの新しい HBV マーカーが、実臨床の場で利用される機会が増えてきている。これら新しいマーカーも用いて、無症候性キャリアの長期予後を決める因子の同定に努めることが重要である。

#### E. 結論

HBeAb 陽性無症候性キャリアは、その臨床的背景に特色を示すことが分かった。しかし、ALT 値で定義された無症候性キャリアは、血小板が少ない例やウイルス量が多い例など、臨床的なリスクが高い症例も含まれていた。どのような症例で、肝炎の増悪や発癌のリスクが高いかについては、後向き研究だけではなく、大規模な前向き検討が必要である。



## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Arai M, Togo S, Kanda T, Fujiwara K, Imazeki F, Yokosuka O. Quantification of hepatitis B surface antigen can help predict spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012 24(4):414-8.
2. Kanda T, Shinozaki M, Kamezaki H, Wu S, Nakamoto S, Arai M, Fujiwara K, Goto N, Imazeki F, Yokosuka O. Efficacy of lamivudine or entecavir on acute exacerbation of chronic hepatitis B. *Int J Med Sci.* 2012 9(1):27-32.
3. Seimiya M, Ohno S, Yamamoto H, Fujiwara K, Yoshida T, Sawabe Y, Sogawa K, Matsushita K, Yokosuka O, Nomura F. Child-pugh score is altered by the albumin measurement method. *Hepatology.* 2012. [Epub ahead of print]
4. Wu S, Kanda T, Imazeki F, Nakamoto S, Tanaka T, Arai M, Roger T, Shirasawa H, Nomura F, Yokosuka O. Hepatitis B virus e antigen physically associates with receptor-interacting serine/threonine protein kinase 2 and regulates IL-6 gene expression. *J Infect Dis.* 2012 206(3):415-20.
5. Suzuki E, Chiba T, Zen Y, Miyagi S,

Tada M, Kanai F, Imazeki F, Miyazaki M, Iwama A, Yokosuka O. Aldehyde dehydrogenase 1 is associated with recurrence-free survival but not stem cell-like properties in hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2012 42(11):1100-11.

6. Yan J, Kanda T, Wu S, Imazeki F, Yokosuka O. Hepatitis A, B, C and E virus markers in Chinese residing in Tokyo, Japan. *Hepatol Res.* 2012 42(10) 974-81.

### 2. 学会発表

1. 新井誠人、今関文夫、横須賀 収. HBsAg, HBVcrAg量の推移からみた核酸アナログ中止推奨基準の意義. 第48回日本肝臓学会総会ワークショップ
2. 小笠原定久, 金井文彦, 横須賀 収. 進行肝細胞癌治療における分子標的薬治療の位置づけと問題点. 第98回日本消化器病学会総会シンポジウム
3. 神田達郎、呉 霜、横須賀 収. 肝癌、膵癌におけるアンドロジェンレセプターシグナリングの解析. 第16回日本肝臓学会大会ワークショップ

## G. 知的所得権の出願・登録状況

発明の名称：肝がん肝細胞阻害剤

出願日：平成24年10月10日

出願番号：特願2012-224722号

## Ⅱ. 分 担 研 究 報 告

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（平成 24 年度）

B型肝炎ウイルス e 抗体陽性無症候性キャリアの長期予後に関する検討

分担研究者：髭 修平・札幌厚生病院第 3 消化器科・主任部長

分担研究課題：ALT 正常 HBe 抗体陽性者における HBV レベルと ALT 変動の関連

研究要旨：

「ALT 正常 HBe 抗体陽性」症例の肝炎安定性や発癌を、「抗 HBV 治療未施行で、かつ、血清 ALT 値が 2 年以上 30IU/L 以下で継続」していた 87 例について retrospective に検討した。

上記条件で抽出した症例中、少なくとも 13 例（14.9%）で肝硬変所見を認め、生化学検査やウイルスマーカー以外に、画像や組織所見も含めて病期・病態を判定する必要がある。また、対象症例の HBs 抗原、HBcr 抗原量を測定した時期を起点とした前後 1 年間の ALT 値は、29 例（33.3%）に異常値出現を認め、ALT 正常範囲内の持続可能性予測に、病期、年齢、HBV マーカーのレベル、観察時 ALT 値などが参考になると思われた。

経過中肝癌発生は 14 例（16.1%）に認めしたが、肝発癌例では、高齢、男性、HBV genotype C、血小板低値に加え、HBV レベルが低い傾向を認め、HBe 抗体陽性の ALT 正常者の肝炎活動性、発癌に関して、別々の視点で follow する必要がある。

A. 研究目的

「ALT 正常 HBe 抗体陽性者」として囲い込まれる症例群の肝炎安定性の推定が可能か、HBV マーカーと ALT 値変動の関連性解析から検討する。さらに、対象症例群の肝発癌の検討を行う。

B. 研究方法

1. 検討対象

抗 HBV 治療未施行、HBe 抗体陽性で、2 年以上血清 ALT 値 30 以下の継続期間を有する 87 例を対象とした。

- ① 対象症例の HBs 抗原、HB コア関連抗原（HBcr 抗原）の定量測定が可能であった時点を起点とした、HBV マーカーと ALT 変動の関連。
- ② 自然経過観察の解析と発癌の有無を検討した。

2. 測定方法

1) 測定項目

- i) HBs 抗原、HBe 抗原、HBe 抗体；CLIA 法 (chemiluminescent immunoassay)
  - ii) HBcr 抗原；CLEIA 法 (chemiluminescent enzyme immunoassay)
  - iii) HBV DNA 量；real time PCR 法
  - iv) HBV genotype；EIA 法または PCR-invader 法
  - v) HBV precore 変異；ELMA 法 (enzyme linked mini-sequence assay)
  - vi) HBV core promoter 変異；ELSPA 法 (enzyme linked specific probe assay)
- 2) 病期判定

これまでの経過（治療歴など）、組織学的検査、画像検査の所見などから、慢性肝炎、あるいは、肝硬変の判定を行った。経過や画像所見などで明らかな慢性肝病変の所見を認めないものを、「慢性所見なし」とした。

3) 安定例の判定

HBV マーカー測定時を起点として、前後

各1年の血清ALT値が30(IU/L)以下で、かつ、HBV DNA量が4.0(logcopies/mL)未満の症例を「安定例」と判定した。

#### 4) HBs抗原、HBcr抗原によるHBVレベルの群別

厚生労働省「B型肝炎の核酸アナログ薬治療における治療中止基準の作成と治療中止を目指したインターフェロン治療の有用性に関する研究」班における「核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のために指針2012」検討時に示された基準を用いて群別した。すなわち、HBs抗原(log IU/mL)は、1.9未満、1.9~2.9、2.9以上の3群に、HBcr抗原(log U/mL)は、3.0未満、3.0~4.0、4.0以上の3群に分け、それぞれ、0点、1点、2点のスコアを付した。

### C. 研究結果

#### 1) 検討対象の背景

87例の内訳は、男性32例、女性55例、年齢は中央値53歳(23~77歳)、病期別には、慢性所見なし22例、慢性肝炎52例、肝硬変13例で、肝癌発生例は14例(16.1%)であった。経過中のHBs抗原消失は2例。HBV genotypeは、A型2例、B型26例、C型58例であった(判定保留1例)。ALT値(IU/L)の中央値は18(7~30)、HBs抗原量(log IU/mL)は2.57(-1.00~4.64)、HBcr抗原量(log U/mL)は3.0未満(<3.0~6.1)、HBV DNA量(log copies/mL)は3.4(検出せず~6.7)であった。

#### 2) HBVマーカーの分布と年齢の関連性

各HBVマーカーのレベル別分布は、HBs抗原量(log IU/mL)は、1.9未満36.8%、1.9~2.9が23.0%、2.9以上40.2%、HBcr抗原量(log U/mL)は、3.0未満69.0%、3.0~4.0が20.7%、4.0以上10.3%、HBV DNA量(log copies/mL)は、3.0未満36.9%、3.0~3.9が28.7%、4.0~4.9が23.0%、5.0~5.9が8.4%、6.0以上が3.4%であった。いずれも年齢とともに低下の傾向を示したが、相関係数は、それぞれ、0.55、

0.38、0.38で、HBs抗原量と年齢との相関が最も強く示された。

#### 3) HBV DNA量とALT値の関連性

対象症例のALT値は、全体としてはHBV DNA量との相関は認めず、一部の症例で、HBV DNA量が6.0以上上昇時にALTの高値を認めた。年代別のHBV DNA量の分布は、若年代では低値から高値まで広い分布を示すが、高齢化とともに低値域に収束する傾向を認めた。

HBV DNA量とALT値に相関性を認めたのは30代と40代の症例で、相関係数は、それぞれ0.56、0.54であった。20代ではDNA量高値でもALT値とは相関が低く、50代以降はDNA量が全体に低値(大部分が4~5未満)となり、相関性がみられなかった。

#### 4) 対象例のALT変動

対象症例のHBs抗原・HBcr抗原測定時の前後1年間では、ALT変動を認めた例が29例、異常を示さなかった例が58例であった。「慢性所見なし」の22例中21例がALT変動を認めず、ALT上昇は1例のみであった。観察起点での平均ALT値(IU/L)は、変動なし群が16.9、ALT上昇群が20.5であった( $p<0.01$ )。年齢、性別、HBV genotype、血小板数、AFT、HBs抗原、HBcr抗原、HBV DNA量、precore変異、core promoter変異には、2群間の差は認めなかった。

#### 5) 「安定例」の条件

血清ALT値30(IU/L)以下、かつ、HBV DNA量4.0(logcopies/mL)未満を「安定」とした場合、HBs抗原・HBcr抗原測定起点の前後1年間、安定化を維持した症例は35例(40.2%)であった。安定化維持例と非安定例では、前者で高齢( $55.9\pm 12.0$  vs  $48.4\pm 12.1$ 歳)、ALT低値( $16.6\pm 5.2$  vs  $19.1\pm 4.5$ )、HBs抗原低値( $3.58\pm 0.53$  vs  $3.94\pm 0.93$ )、HBV DNA量低値( $2.72\pm 0.54$  vs  $4.08\pm 1.08$ )などの点で有意差を認めた。

6) HBs抗原とHBcr抗原のスコア化により、ウイルスレベルを総合スコア 0/1/2/3/4

の5段階に分けた場合、平均年齢は、スコア上昇とともに61.0/49.6/50.5/40.8/44.1と若年、HBV DNA 平均量は、スコア上昇とともに2.90/3.94/3.19/3.97/4.93と低値となる傾向を認めた。

一方、肝発癌例は、総合スコア0/1/2/3/4で、それぞれ、5例(17.2%)、5例(29.4%)、4例(23.5%)、0例、0例と、スコア低値群に発癌が多い傾向を認めた。

7) 経過観察中に肝発癌を認めた14例と73

例の非発癌群の背景因子の比較では、発癌群では、男性(男女比 11:3 vs 21:52)、高齢(61.3±9.3 vs 49.6±12.3歳)、肝硬変(肝硬変/非硬変 8/6 vs 5/68)、HBV genotype C (C/非C 14/0 vs 44/28)、血小板低値(13.0±5.3 vs 18.2±4.5)、HBs抗原低値(1.48±1.37 vs 2.49±1.25)、HBV DNA 低値(2.88±0.70 vs 3.66±1.15)で有意差を認めた。

#### D. 考察

慢性HBV感染者の自然経過は個人差が大きく、また、HBVマーカー測定法の進歩なども加わり、症例間の多様性がみられる。経過は、immune tolerant期、immune clearance期(HBe抗原陽性慢性肝炎)、inactive carrier期、reactivation期(HBe抗原陰性慢性肝炎)の4期に大別されているが、必ずしも全ての経過を辿るわけでもない。

臨床的に「キャリア」との用語は、いくつもの違った病態・解釈で使用されている。上述した“inactive carrier”以外に、無症候性キャリア、健康キャリア、などと表現されることもあるが、想定している病態は必ずしも同一ではないと思われる。

一般的には、無症候性キャリア(asymptomatic carrier: ASC)は、HBV持続感染者で“肝機能検査所見”が正常の者を示すことが多いが、この時に、画

像検査や肝生検所見を加味した判定か、血清ALT値正常範囲内のみで判定したものを区別することが重要であると思われる。今回の検討対象でも、2年以上継続した血清ALT値30以下の期間を有する症例を抽出した場合、少なくとも13例(14.9%)で肝硬変所見を認めている。したがって、“キャリア”の質を評価するためには、画像あるいは組織所見を合わせて判断する必要がある。

HBe抗体陽性ALT正常であっても、経過中にALTの変動を認める例も多い。1回の測定時点でALT正常であることは長期的安定性の保証にならないが、画像や組織検査で明らかな慢性所見を認めないもの、ALTがより低値であるものでALT上昇の少ない傾向を認めた。また、ウイルス学的マーカーも含めた安定化は、年齢やHBVマーカーのレベル、正常範囲内の中でのALTレベル(low normal ALT, high normal ALT)が参考になると思われた。

他方、今回の対象症例の経過中肝癌発生は14例(16.1%)に認めた。これらは、高齢、男性、HBV genotype C、血小板低値の傾向を示した。さらに、HBVマーカーのレベルは低値の傾向を示し、HBs抗原/HBcr抗原によるHBVレベル別には、総合スコア低値例で発癌が多い傾向を認めた。発癌が高齢者にみられるための結果である可能性も考慮すべきであるが、肝癌好発例の拾い上げに際しては、むしろHBVレベルの低い例に注意が必要であり、HBVキャリア症例の肝炎活動性、発癌に関しては、別個の視点でfollowする必要があると考えられた。

#### E. 結論

HBe抗体陽性のHBV感染者で、ALT値が持続正常と思われる症例においては、画像や組織所見も含めて病期の判定をする必要がある。また、長期の経過観察下でALT変動例は少なくないが、ALT正常持続の可能性予測には、病期、年齢、HBVマーカーのレベル、ALT値などが参考になると

思われる。一方、肝発癌例では HBV レベルは低い症例が多い傾向を示しており、HBe 抗体陽性の ALT 正常者の肝炎活動性、発癌に関して、別々の視点で follow する必要がある。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表論文発表

1. 論文発表

- 1) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet* 2012; 13: 47
- 2) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study confirming association of HLA-DP with protection against chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*

2012; 7 (6): e39175

- 3) Yanagimoto S, Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Kato M, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, Koike K. Chronic hepatitis B in patients coinfecting with human immunodeficiency virus in Japan: a retrospective multicenter analysis. *J Infect Chemother* 2012; 18 (6): 883-890
  - 4) Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, Hige S, Sakamoto M, Kage M, Mizokami M, Narimatsu H. A serum "sweet-doughnut" protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep* 2013; 3: 1065
  - 5) 髭 修平. HBV コア関連抗原を用いた肝内 cccDNA レベル評価：抗ウイルス治療評価の新たな指標. 2012; 65 (4): 643-649
  - 6) 髭 修平. B 型慢性肝炎、肝硬変：抗ウイルス療法. 山口徹、北原光夫、福井次矢 総編集、今日の治療指針 2013 年版 東京 医学書院 2013; 492-493
2. 学会発表
- 1) 髭 修平、小関 至、木村睦海、荒川智宏、中島知明、桑田靖昭、佐藤隆啓、大村卓味、狩野吉康、豊田成司. ラミブジン耐性アデホビル併用 B 型肝炎に対する耐性出現の検討. 第 39 回日本肝臓学会東部会 東京 平成 24 年 12 月 6 日
- H. 知的所有権の出願・登録状況  
該当なし

B 型肝炎ウイルス e 抗体陽性無症候性キャリアの長期予後に関する検討

分担研究者：上野 義之 山形大学医学部消化器内科学 教授

分担研究課題：HBe 抗体陽性 B 型慢性肝疾患における肝病態とジェノタイプとの関連

研究要旨：HBs 抗原陽性 HBV キャリアを対象に、過去 20 年のジェノタイプの感染頻度の変遷を比較検討し、さらに HBe 抗体陽性慢性肝疾患例について、ジェノタイプからみた肝病態の特徴を明らかにすることを目的とした。対象はジェノタイプが測定可能であった 349 名である。2000 年を境に、前後 10 年に分け、各ジェノタイプ別感染頻度の変遷を比較すると、キャリア全体におけるジェノタイプの感染割合は過去と現在で大きな変化は見られなかった。次に肝病態とジェノタイプの関連をみると、HBe 抗体陽性例では、ジェノタイプ B 例がジェノタイプ C 例に比べ無症候性キャリアの頻度が有意に高かったが、進行した肝病変はジェノタイプ C 例において多くみられた。HBe 抗原陽性例においても傾向は同様であり、ジェノタイプ B 例において有意に無症候性キャリアの頻度が高く、反対にジェノタイプ C 例はジェノタイプ B 例に比べ、慢性肝炎の頻度が高かった。ジェノタイプは肝病変の進行と密接に関連している可能性が示唆され、HBe 抗体陽性無症候性キャリアの自然予後の解析には、ジェノタイプも含めた長期的な前向き研究が欠かせないと考えられた。

A. 研究目的

当班研究において HBe 抗体陽性無症候性キャリアの長期予後を検討するために、まず本学附属病院通院中の HBs 抗原患者のデータベース作成を行った。

これまでの後ろ向きコホート研究から、当地域が全国有数の HBV ジェノタイプ B の高感染地域であることを報告してきたが、平成 24 年度は過去 20 年の B 型慢性肝疾患におけるジェノタイプの感染頻度の変遷を比較検討し、さらに HBe 抗体陽性慢性肝疾患例について、ジェノタイプからみた肝病態の特徴を、HBe 抗原陽性例と比較して明

らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1987 年から 2011 年まで、HBs 抗原陽性 B 型肝炎ウイルスキャリアは 645 名（平均年齢 61.0 歳、男性 / 女性 = 420 / 225）であった。これらの症例について 2011 年を起点とし、臨床診断、HBV 関連マーカー、肝機能検査値、抗ウイルス治療状況、肝発癌実態を調査し、データベース化作業を行った。

次に核酸アナログ製剤が保険適用となっ

た2000年を境に、前後10年に分け、ジェノタイプが測定可能であった症例について、HBs抗原陽性B型慢性肝疾患における各ジェノタイプ別感染頻度の変遷を比較した。

さらにHBe抗体陽性例について、ジェノタイプと肝病態との関連をHBe抗原陽性例と比較検討した。

(倫理面への配慮)

本研究に用いた臨床データは匿名化にて解析されており、個人情報保護されている。また患者本人には事前に検体および臨床データ使用に関する説明を行い、文書による同意を得ている。本研究は採血により行われるものであるため、侵襲性はない。

### C. 研究結果

HBs抗原陽性645名中、急性肝疾患例を除き、経過追跡可能かつジェノタイプが測定可能であったB型慢性肝疾患349名のジェノタイプの内訳は、ジェノタイプA:B:C:D=11例(3.1%):194例(54.0%):150例(41.8%):4例(1.1%)であった。2000年を境に、前後10年に分け、各ジェノタイプ別感染頻度の変遷を比較すると、1990年-1999年に受診した237例ではジェノタイプA:B:C:D=6例(2.5%):128例(54%):100例(42.2%):3例(1.3%)であり、2000年-2011年の122例ではジェノタイプA:B:C:D=5例(4.1%):66例(54.1%):50例(41.0%):1例(0.8%)と、キャリア全体におけるジェノタイプの感染割合は過去と現在で大きな変化は見られなかった。

HBe抗原・抗体別に検討すると、HBe抗原陽性例は79例(23%)、HBe抗体陽性例は269例(77%)であった。それぞれのジ

ェノタイプの内訳をみると、HBe抗原陽性例ではジェノタイプB:C=21例(27%):58例(73%)、一方HBe抗体陽性例ではジェノタイプB:C=187例(70%):82例(30%)とジェノタイプの頻度に差を認めた( $P < 0.01$ )。

ジェノタイプ別に抗ウイルス治療(インターフェロン、核酸アナログ製剤)導入率を比較したところ、ジェノタイプB症例では48/208(23.1%)であったのに対し、ジェノタイプC症例では51/140(36.4%)と、ジェノタイプC例で抗ウイルス治療導入率が有意に高かった( $P < 0.01$ )。

次に肝病態とジェノタイプの関連をみてみると、無症候性キャリア117例、慢性肝炎183例、肝硬変22例、肝細胞癌34例であり、このうちジェノタイプAは無症候性キャリア5例、慢性肝炎3例のみで、肝硬変や肝細胞癌といった進展した肝病変は見られなかった。さらにHBe抗原・抗体別に分けると、HBe抗原陽性例では肝硬変5例中4例(80%)、肝細胞癌6例全例(100%)がジェノタイプCであった。またジェノタイプB例がジェノタイプC例に比べ無症候性キャリアの頻度が有意に高く(B:C=8/21(38%):3/58(5.2%)、 $P < 0.01$ )、反対にジェノタイプC例はジェノタイプB例に比べ、慢性肝炎の頻度が高かった(B:C=12/21(57%):45/58(77.6%)、 $P < 0.05$ )。

HBe抗体陽性例においても傾向は同様であり、ジェノタイプB例において有意に無症候性キャリアの頻度が高かったが(B:C=80/187(42.8%):21/82(25.6%)、 $P < 0.01$ )、HBe抗体陽性肝細胞癌の頻度はジェノタイプC例において有意に高かった(B:C=



14/187 (7.5%) : 14/82 (17.1%)、 $P < 0.05$ )。

近年、ジェノタイプ A の急性感染による慢性化が本邦で問題となっているが、経過観察可能であったジェノタイプ A による慢性肝疾患症例 8 例を対象に臨床背景をみると、男性が 6 例 (75%)、年齢分布は 27 歳から 60 歳と他のジェノタイプに比べ若年の傾向を認めた。背景肝疾患は無症候性キャリアが 5 例 (62%)、慢性肝炎が 3 例 (38%) であり、慢性肝炎の一例を除き、初診時すでに HBe 抗体は陽性であった。肝機能は落ち着いている例が多かったが、経過中、急性肝炎からの慢性化した一例では、核酸アナログ治療を導入し現在も投与継続中である。

#### D. 考察

HBV ジェノタイプ B の高感染地域において過去 20 年の B 型慢性肝疾患におけるジェノタイプの感染頻度の変遷を比較検討したところ、感染実態に大きな変化は見られなかった。しかし当地域においても、慢性肝疾患患者の中にジェノタイプ A 感染がすでに検出されており、今後その臨床的特徴を詳細に解析することが本邦の B 型肝炎対策を考える上で大切と思われた。

また HBe 抗体陽性慢性肝疾患例においては、HBe 抗原陽性例と比較し、ジェノタイプ B による感染が有意に多くみられた。肝病態の進展はジェノタイプと関連しており、ジェノタイプ B 症例では無症候性キャリアの頻度が高く、一方、進行した肝病態はジェノタイプ C 症例に多くみられたことから、HBe 抗体陽性無症候性キャリアの自

然予後の解析には、ジェノタイプを含めた長期的な検討が欠かせないと考えられた。

次年度は、今年度作成したデータベースをもとに、HBe 抗体陽性例の自然経過における肝機能やウイルス抗原量の推移、さらに発癌をはじめとする予後解析などを予定している。

#### E. 結論

HBV ジェノタイプ B の高感染地域における、B 型慢性肝疾患のジェノタイプ感染実態には大きな変化が見られなかったが、ジェノタイプは HBe 抗原陽性例、HBe 抗体陽性例どちらにおいても、肝病態の進行と密接に関連している可能性が示唆された。HBe 抗体陽性キャリアの自然予後は、ジェノタイプも含めた前向き研究が欠かせないと考えられた。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) Inoue J, Ueno Y, Kawamura K, Yamamoto T, Mano Y, Miura M, Kobayashi T, Niitsuma H, Kondo Y, Kakazu E, Ninomiya M, Kimura O, Obara N, Kawagishi N, Kinouchi Y, Shimosegawa T. Association between S21 substitution in the core protein of hepatitis B virus and fulminant hepatitis. J Clinical Virol 2012;55(2):147-52.

##### 2. 学会発表

Watanabe H, Saito T, Tomita K, Sato C, Ishii R, Haga H, Okumoto K, Nishise Y, Ueno Y and

Kawata S. Transition in hepatitis B virus genotypes responsible for acute hepatitis B in a hyperendemic area for genotype B infection – 20 years follow-up study in Japan. DDW2012, San Diego, USA, May 20, 2012

H. 知的所得権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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（平成 24 年度）

B型肝炎ウイルス e 抗体陽性無症候性キャリアの長期予後に関する検討

研究分担者 田中榮司 信州大学医学部消化器内科教授

研究協力者 松本晶博 信州大学医学部消化器内科講師

分担研究課題：HBe 抗体陽性キャリアの ALT 異常と関連する因子

研究要旨：

HBe 抗原から HBe 抗体へのセロコンバージョン（SC）は、通常ウイルス量の低下と肝炎の沈静化を伴い、非活動性キャリアへの通過点となる。しかし一部の症例では、肝炎が沈静化しない場合や一旦沈静化した後に再燃する場合がある。このような HBe 抗原陰性慢性肝炎の評価は临床上重要である。

長期間経過観察可能であった HBe 抗体陽性 HBV キャリア 21 例を対象とした。経過観察期間の中央値は 22 年と長く、各症例について複数ポイントを選択し各種ウイルスマーカーの測定を行った。HBV DNA 量はリアルタイム PCR 法（ロシュ）、HBs 抗原量は CLEIA 法（シスメックス）、HBcr 抗原量は CLEIA 法（富士レビオ）で測定した。

各測定ポイントの ALT 値と HBV DNA 量および HBs 抗原量との相関はみられなかったが、HBcr 抗原量とは有意の相関がみられた。ROC 解析では、ALT 値が 31 IU/L 以上となることと HBcr 抗原量とは AUC 0.841 と非常に高い値で有意の関連がみられた。HBcr 抗原量のカットオフ値を 3.7 log U/ml に設定すると、これ以上では 75%程度の症例で ALT 値が 31 IU/L 以上になったのに対し、これ以下では 10%弱であった。

以上の結果より以下の結論が得られた。①HBeAb 陽性患者の ALT 値と HBcrAg 量には強い相関が見られ、この点で HBV DNA 量や HBs 抗原量に比較して優れていた。②HBcr 抗原が 3.7 log U/ml 以上の HBeAb 陽性患者では、HBe 抗原がセロコンバージョンしても肝炎は終息しておらず HBe 抗原陰性慢性肝炎の可能性を考慮すべきである。

A. 研究目的

HBe 抗原から HBe 抗体へのセロコンバージョン（SC）は、通常ウイルス量の低下と肝炎の沈静化を伴い、非活動性キャリアへの通過点となる。しかし一部の症例では、肝炎が沈静化しない場合や一旦沈静化した後に再燃する場合がある。このような肝炎は

HBe 抗原非産生 HBV により惹起され、肝硬変の進行が早く肝癌を合併しやすいことが報告されている。

B. 研究方法

長期間経過観察可能であった HBe 抗体陽性 HBV キャリア 21 例を対象とした(表 1)。

経過観察期間の中央値は 22 年と長く、各症例について複数ポイントを選択し各種ウイルスマーカーの測定を行った。経過中に起こったイベントでは、ALT 値が 30 IU/L となった症例が 14 例みとめられ、核酸アナログの治療を必要としたのは 7 例であった。

HBV DNA 量はリアルタイム PCR 法（ロシユ）、HBs 抗原量は CLEIA 法（シスメックス）、HBcr 抗原量は CLEIA 法（富士レビオ）で測定した。

本研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を受けて行った。

#### C. 研究結果

各測定ポイントの ALT 値と HBV DNA 量（図 1）、HBcr 抗原量（図 2）、HBs 抗原量（図 3）との関連を図に示した。この検討では、HBV DNA 量および HBs 抗原量は ALT 値と有意の相関はなかった。これに対し HBcr 抗原量は ALT 値と有意の相関がみられた。ROC 解析では、ALT 値が 31 IU/L 以上となることと HBcr 抗原量とは AUC 0.841 と高い値で有意の関連がみられた。HBcr 抗原量のカットオフ値を 3.7 log U/ml に設定すると、これ以上では 75% 程度の症例で ALT 値が 31 IU/L 以上になったのに対し、これ以下では 10% 弱であった（図 3）。

#### D. 考察

今回、HBe 抗原陰性慢性肝炎発症と関連する因子を明らかにするため、HBe 抗体陽性の HBV キャリアを対象として ALT 値の異常と関連する因子を検討した。通常、HBV DNA 量が ALT 値と関連すると考えられているが、1 ポイントの検討では両者の間に有

意の関連は得られなかった。これは、HBV DNA 量と ALT 値は関連するものの、変動の周期が少しずれることが原因の一つとして考えられる。すなわち、ALT 値が上昇する直前に HBV DNA 量が上昇し、ALT 値が上昇する時点では HBV DNA 量が低下してしまうことがある。

HBcr 抗原量が ALT 値と強い相関を示したことは興味深い。基本的に抗原量はその変化速度が遅いため、ALT 値のような変動しやすい値を総合的に評価することが可能である。HBcr 抗原には HBe 抗原の他に HBc 抗原と p22cr 抗原が含まれており、HBe 抗原が陰性化した後もプレコア・コア遺伝子で作られる抗原を測定することが可能であり、これが、HBe 抗原が SC した後に残存する HBV の活動性を評価するのに役立つと考えられる。

HBcr 抗原量が 3.7 log U/ml 未満の HBeAb 陽性患者では ALT 値の異常を来すことは希であり、HBe 抗原の SC 後の経過観察に HBcr 抗原量の測定が有用であることが示された。HBV DNA 量の測定と異なり 1 ポイントの測定でも有意であることから、HBV DNA 量とは異なった応用方法が期待される。

HBs 抗原量が ALT 値と相関しなかったことについては、その変化速度が HBcr 抗原量に比較して極めて遅いことが要因の一つとして考えられる。しかし、HBs 抗原量と HBV の活動性が関連することはこれまでも報告されており、その活用方法には別の使い方を考える必要がある。

#### E. 結論

HBeAb 陽性患者の ALT 値と HBcrAg 量との間