

201320012A

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25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 横須賀 収

平成26(2014)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25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 横須賀 収

平成26(2014)年3月

目 次

I. 総括研究報告

研究代表者報告：平成25年度の研究成果の纏め	(横須賀 收) …………… 1
------------------------	-----------------

II. 分担研究報告

FIB-4 indexとHBs抗原によるHBV陽性例の肝発癌評価	(髭 修平) …………… 9
HBe抗体非活動性キャリアの予後と肝線維化・ウイルスマーカーとの関連	(上野 義之) ……………12
HBe抗原セロコンバージョン前後でのpre-C/BCP変異とHBV活動性との関連	(田中 榮司) ……………15
当院におけるHBe抗体陽性無症候性キャリアにおけるHBcrAgと肝炎、HBs抗原消失の関係	(新海 登) ……………19
当院におけるHBs抗原消失例の検討	(柘植 雅貴) ……………22
e抗体陽性無症候性キャリアのs抗原陰性化と肝発癌に關与する因子の検討	(吉岡健太郎) ……………26
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) ……………32
鹿児島大学病院におけるHBe抗体陽性キャリアの肝発癌	(井戸 章雄) ……………35
愛媛県におけるe抗体陽性無症候性キャリアのゲノタイプとウイルスマーカーの検討	(阿部 雅則) ……………38
HBe抗体陽性キャリアのHBs抗原陰性化に關わるデータマイニング解析	(佐田 通夫) ……………40
B型肝炎の再活性化と免疫病態に關する臨床的研究	(中本 安成) ……………45
非活動性キャリアと肝機能異常症例についての比較	(西口 修平) ……………47
初診時ALT正常HBe抗原陰性例の予後	(泉 並木) ……………53
HBe抗原陰性非活動性キャリアの長期経過	(今関 文夫) ……………56
HBV増殖メカニズムに關する検討	(白澤 浩) ……………58
e抗体陽性無症候性キャリアに於けるHBVゲノム解析	(岡本 宏明) ……………61

III. 研究成果の刊行に關する一覽表	……………65
---------------------	---------

IV. 研究成果の刊行物・別刷	……………81
-----------------	---------

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、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い。本研究では、HBVキャリアを多く診療する施設の症例を対象に、HBeAb 陽性の無症候性キャリアの病態を明らかにすることを目的とした。(1)後向き研究により、ALTの変動パターンと Genotype、HBV DNA 量は密接な関連性を認め、ALT が長期にわたり安定した症例では、ALT が不安定な変動を示す群と比べて、Genotype B が多く、HBV DNA 量は低値を示した。(2)肝臓学会ガイドラインの定義に基づいた HBe 抗原陰性非活動性キャリアを対象とした後向き研究では、発癌や肝疾患関連死はみられず、新規に核酸アナログ製剤を使用する例は限られており、その予後は良好といえた。(3)HBVキャリアの High Volume Center と比べて、地域の基幹病院に通院中の非活動性キャリアでは、HBsAg 量が低値で Genotype B の症例が多いという特徴がみられた。(4)無症候性キャリアの予後について検討する前向き研究を開始した。

A. 研究目的

以前には HBeAg 陽性慢性肝炎患者から HBeAb 陽性慢性肝炎に移行し、さらに無症候性キャリアになると考えられていたが、近年、落ち着いた HBeAb 陽性無症候性キャリアの状態から再度活動性を有する HBeAb 慢性肝炎に再燃する症例があることが欧米では報告されているが、本邦における実態は明らかでない。臨床データをもとに、HBe 抗体陽性、肝機能正常例における肝炎の再燃、発癌のリスクを明らかにする。また、本年度、日本肝臓学会ガイドラインで、HBeAg 陰性非活動性キャリアの定義がなされた。この定義に基づいた評価がすすめられているが、提唱されたガイドラインの正当性や有効性を初めて検証する研究となる。

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)前向き検討を行った。臨床研究のエントリーについては、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、臨床経過情報を得て解析した。基礎研究を担当する分担研究者には、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。

(1) 1991 年から 2011 年までに通院歴があり、期間中のいずれかにおいて、HBeAb 陽性かつ 2 年間連続して ALT \leq 30 IU/L の症例であった症例を後向き研究として全国 14 施設から 836 症例のエントリーを行った。初年度、二年度の成果として、無症候性キャリアの特徴、患者背景、Genotype の影響、また連続的測定した ALT 値、HBV-DNA 量、HBsAg 量の推移に基づく無症候性キャリアの長期予後の予測を検討した。

(2) 2011 年の時点で、2 年連続して ALT 30 IU/L 以下の症例のエントリーを全国 14 施設および千葉大学と関連した地域中核病院から症例をエントリーし、発癌、核酸アナログの使用などのイベントの発生率を検討する前向き研究を開始した。

(3) 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

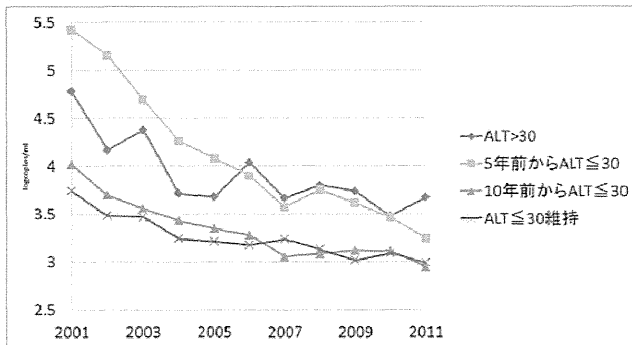
研究代表者 (横須賀 収)

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。

(1) 後向き研究

2011 年の時点で通院中で、10 年以上の経過観察が可能であり、かつ発癌例を除いた 327 例を対象とし、ALT の推移別に分類し、その傾向を検討した。観察期間中 ALT が正常値を維持した群と、最近 10 年間、5 年間は ALT 正常値が維持できている群、さらに ALT が正常化が維持できない 4 群に分類した。ALT が長期にわたり正常化が維持できた群では、維持できなかった群と比較して、有意に Genotype B が多くみられた (40% vs 27%)。また、HBVDNA 量の経過を検討したところ、すべての群で HBVDNA 量は徐々に低下する傾向を認めた。ALT 維持群では、異常群と比べて有意に HBVDNA 量は低値で推移した (図 1)。

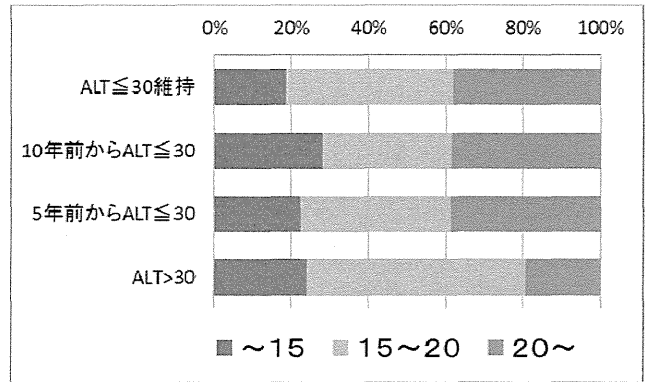
図 1



また、肝線維化のマーカーの一つである血小板値は、15 万以下を示す例が、いずれの群においても 20% 前後を占め、有意差を認めた (図 2)。

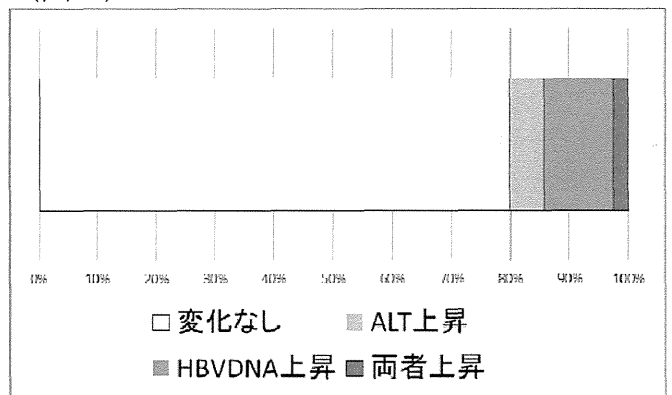
肝臓学会の非活動性キャリアの定義に合致した 333 症例を対象に後向きコホート研究を行った。非活動性キャリアと判断される前に発癌の既往がある例 (27 例) は除い

(図 2)



た。平均観察期間 4.48 ± 2.42 (1-11) 年、平均年齢 54.4 ± 13.8 年 (2011 年の時点)。経過観察中に、ALT 31 IU/L 以上 \Rightarrow 28 人 (8.4%)、41 IU/L 以上 \Rightarrow 13 人 (3.9%)、HBV DNA 量 4.0 LC/ml 以上 \Rightarrow 48 人 (14.4%)、5.0 LC/ml 以上 \Rightarrow 6 人 (1.8%) であった。ALT と HBVDNA 量が共に上昇 (31IU/L 以上、4.0ml/LC 以上) した例は、10 人 (3.0%) であった (図 3)。一方、死亡例、発癌例は認めなかった。核酸アナログ製剤を開始した例は 8 例 (2.4%) で認めたが、そのうち 6 例は過去に使用歴があり、新規の投与開始は 2 例 (0.6%) であった。

(図 3)



千葉大学の関連施設の地域の拠点病院での HBV キャリアの診療との比較を試みた (関連施設 71 例 横須賀班 382 例)。HBs 抗原量は、有意に千葉大学の関連施設で低値を示しており、HBV Genotype も、判定可能例に限ると、関連施設では、Genotype B が半数を占め、有意に多くみられた。

(2) 前向き研究

研究代表者、分担研究者の HBV キャリアを多数診療する施設全国 14 施設から 660 例および千葉大学と関連した地域中核病院

から 441 例、合計 1000 例以上を対象とした前向き研究を開始した。平成 26 年度まで調査を継続する予定であり、平均観察期間は 1000 日以上となる予定である。

分担研究者（髭 修平）

HBs 抗原と線維化の指標となる FIB-4 index を用いて、HBV genotype C、無治療例における肝癌合併につき検討を行い、高齢化に伴い、HBs 抗原は減少し、FIB-4 index は上昇する傾向を認めることを明らかにした。

分担研究者（上野義之）

ジェノタイプ B 型が多数を占める山形県のキャリアについて、①ALT 値の変動、②HBV 関連マーカー、③線維化関連マーカー、④HCC 発生、⑤HBs 抗原陰性化、について検討した。その結果、HBe 抗体陽性キャリアにおける肝線維化進展、HBs 抗原自然陰性化などの肝病態とジェノタイプとの関連が示唆された。

分担研究者（田中榮司）

Pre-C/BCP 変異と HBe 抗原の SC や HBV 活動性との関連を B 型慢性肝炎の長期経過観察例を対象に検討した。Pre-C/BCP 変異の観点から HBe 抗原の SC をみると、Per-C 変異が mutant と wild の 2 種類の SC があることが明らかになった。Per-C 変異が mutant の SC はウイルスの活動性が十分低下しておらず、HBe 抗原陰性慢性肝炎を発症する危険性があることが予測された。

分担研究者（新海 登）

当院における HBe 抗体陽性無症候性キャリアの長期予後について HBV DNA と HB コア関連抗原、HBs 抗原を測定して検討した。登録した 46 例のうち 2 例に観察期間中に一過性の肝炎を観察した。観察開始時に HB コア関連抗原が 3 log U/ml 未満の症例からは肝炎は観察されなかった。HB コア関連抗原を測定することで、HBe 抗体陽性無症候性キャリアの長期予後を予測できる可能性が有る。

分担研究者（柘植 雅貴）

HBV キャリア 1,746 例を対象に、HBs 抗原の累積消失率を検討するとともに、HBs 抗原消失に寄与する因子について検討した。32 例において、HBs 抗原消失を認め、累積陰性化率は 5 年 2.2%、10 年 6.2%、15 年 9.6%、20 年 22.7%であった。HBs 抗原消失に寄与する因子を検討したところ、HBV genotype A 感染は有意な因子として抽出された (P=0.001、HR 3.731 (1.655 - 8.405))。

分担研究者（吉岡健太郎）

HBe 抗体陽性の無症候性キャリア 66 例について検討し、HBs 抗原陰性化には、ヒアルロン酸が高いことが関与しており、肝発癌には血小板数が低いことが関与していることが明らかとなった。肝線維化と関係している肝硬度は肝発癌とのみ関係していた。

分担研究者（八橋 弘）

HBs 抗原量を規定する因子について、312 例を対象とした cross-sectional study にて検討した。HBs 抗原量に寄与する因子として抽出された因子は、HBVDNA 量、FIB-4 index、年齢、性、HBe 抗原であった。HBs 抗原量が低い症例は、HBVDNA 量が低く、FIB-4 index が高く、年齢が高く、男性、HBe 抗原陽性であった。

分担研究者（井戸章雄）

HBe 抗体陽性 HBV キャリア 105 例において、9 例 (8.6%) が死亡し、うち 5 例 (4.8%) が肝疾患関連死であった。肝細胞癌非合併の HBV キャリア 81 例で肝細胞癌が 4 例 (4.9%) に発生した。血清 ALT (IU/mL) 30 以上と 30 未満の発癌率を検討したところ、血清 ALT 30 以上では血小板が有意に減少していたが、発癌率には有意差を認めなかった。また、血中 HBV DNA 量 で肝発癌率に差はみられなかった。

分担研究者（阿部雅則）

愛媛県における e 抗体陽性無症候性キャリアのゲノタイプ C とゲノタイプ D のウイル

スマーカーの相違について解析した。1) エントリー時において、ゲノタイプDではゲノタイプCに比べてHBV-DNA量、HBsAg量が少なかった。2) 経過観察中のウイルススマーカーの検討では、HBsAg量の減少率はゲノタイプDがゲノタイプCより高かった。以上から、ゲノタイプDとゲノタイプCのvirulenceには差があることが示唆された。

分担研究者 (佐田通夫)

HBe抗体陽性無症候性キャリアにおけるHBs抗原の自然陰性化率と自然陰性化に関与する因子を検討した。138名を対象とし、後ろ向きにデータを収集した。観察期間中にHBs抗原の自然陰性化を認めた症例は13.8% (年率1.2%)であった。HBs抗原陰性化群と陽性群の比較検討におデータマイニング解析において、HBV DNA 2.1 log copy/mL未満、58歳以上、男性の3因子がHBs抗原の自然陰性化に関連するプロファイルであった。

分担研究者 (中本安成)

R-CHOP療法、CHOP療法、ステロイドパルス療法が開始された症例について、27項目のサイトカイン・ケモカインを経時的に測定し、サイトカインプロファイルを検討した。Th1・Th2免疫反応の中で特定のサイトカイン(PDGF-BB、IL-2、IL-4)が低下することが分かった。また、HBV再活性化との関連においても、これらのサイトカインの関与が示された。

分担研究者 (西口修平)

HBe抗体陽性患者かつHBV-DNAが低値の場合には、本来無症候性キャリアとして経過するはずであるが、時にALT値の異常を示す症例が見受けられる。このような症例ではHBV感染以外の要素による肝障害の可能性が考えられる。ALT上昇例と正常例とで肝組織所見および各種臨床データの比較を行った。ALT上昇例には、組織学的に肝組織の脂肪化とそれに関連する検査値(BMI・HOMA-R・フェリチン)の異常が認められた。

分担研究者 (泉 並木)

一般検査によって非活動性キャリアと判断できる判別方法を検討した。HBe抗原陰性、かつ初回ALT30 IU/Lの131例を対象とし、inactive carrierと考えられる例が86.3%であった。Inactive carrierを判別するのにROC解析で最も有用であったのは、AFP値でカットオフ値は4.0ng/mlであり次いで血小板数でカットオフ値は16.5万/ μ lであった。これらを組み合わせるとAFP 4.0ng/ml未満で血小板数16.5万/ μ l以上の64例(55%)が全例inactive carrierであった。一方両者を満たさないと67%がF2以上の慢性肝炎であった。

分担研究者 (今関文夫)

日本肝臓学会のガイドラインに従い、HBe抗原陰性非活動性キャリア(IC)と診断された70例の1年以後のHBV DNA量の推移を検討した。1年以後も持続的にHBV DNA<4.0 log copies/ml、ALT \leq 30IU/Lを示したIC-1群は37例(52.9%)、HBV DNA<4.0 log copies/mlだがALT>30IU/Lに変動したIC-2群は17例(24.3%)、HBV DNA \geq 4.0 log copies/mlに変動したRC群は16例(22.9%)。IC-1群とRC群の登録時の背景因子の比較では、HBV DNA量、HBsAg量が有意であった。

分担研究者 (白澤 浩)

B型肝炎ウイルス(HBV)増殖機構を解析するためのin vitro実験系を構築した。HBV塩基多様性についてUltra Deep Sequence(UDS)を用いた塩基配列解析法を構築した。UDS法ではSanger法で検出困難なMinor変異を定量的に確認できた。また塩基多様性について詳細な検討が可能であった。核酸アナログ製剤使用のHBV慢性持続感染者において通常の耐性変異の他にも、これまでに耐性との関連が明らかにされていないMinor変異が存在することを確認した。

分担研究者（岡本宏明）

Inverted long-distance PCR により HBV ゲノムのほぼ全長を効率よく増幅し、クローン化して塩基配列を決定する系を、Primers 領域を補完する系とともに確立した。持続感染症例を用いた解析結果では、preS1/preS2/S 遺伝子や P 遺伝子領域を中心に各種挿入・欠失変異や性質の異なるアミノ酸への変異が多数検出され、劇症肝炎や急性増悪症例由来の HBV に比べ多様性に富んでいることを確認した。新たに構築した in vitro 実験系を用いて、劇症肝炎由来の HBV 株 [Core Promoter (CP): mutant / preC: mutant] と、この株から構築した [preC: wild] あるいは [CP: wild] 株の増殖の違いを確認できた。

D. 考察

昨年、日本肝臓学会は、HBV 診療ガイドラインにおいて、HBeAb 陽性で肝機能が正常の症例を、“非活動性キャリア”とし、その診断基準を提唱した。これは、ALT 値と HBV DNA 量を複数回測定し、一定の基準を満たすものとされている。ALT 値は、これまでの慢性肝炎の基準に基づき、30IU/L 以下となった。一方、HBVDNA 量については、これまで定まったものはない。今回提唱された 4.0LC/ml という基準が適正であるかについては、今後の検討を要する。また、検査の回数とその間隔については、明確にされておらず、こちらも今後の検討課題といえる。本研究では、ALT の変動パターンの差異から、その特徴を明らかにし、Genotype や HBVDNA 量は、ALT の変動パターンと関連性が深いことを示した。一方で、ALT の経過の差に関わらず、血小板数が低値である症例が一定の割合で認めたことは、非活動性キャリアの定義に、肝線維化も評価項目として検討すべきであると考えられる。また、ガイドラインの定義に合致した非活動性キャリアの臨床的特徴を後向き研究にて検討したが、発癌や死亡例はなく、核酸アナログ使用例もごく少数に限られており、その予後は良好であった。

良好な予後が期待できる患者群を同定できることは、医療経済の観点からも重要であり、今後のさらなる検証が必要と思われる。

一方、いわゆる High Volume Center が中心となった研究は、特殊な症例が集積するというバイアスが否定できず、本当の“非活動性キャリア”をとらえきれない可能性がある。千葉大学の関連施設である地域基幹病院に通院中の肝機能正常の HBV キャリアと、本研究班で登録された症例を比較すると、有意に HBsAg 量が低く、Genotype も大きく異なっていた。いわゆる High Volume Center と比較して、地域の基幹病院に、より経過が良好な症例が多くみられた。

E. 結論

HBeAb 陽性無症候性キャリアは、その多くが臨床的な予後は良好であることが示された。一方、肝線維化が進行した例も含まれており、線維化の評価をどのように行っていくかについては、今後の検討課題といえる。肝臓学会診療ガイドラインで示された HBeAg 陰性非活動性キャリアは、予後が良好であった。診断基準、検査の回数や間隔などの問題点もみられ、本研究の成果を基に、その課題を解決できると思われる。前向き研究が開始されており、その成果により、より無症候性キャリアの実態が明らかになることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakano M, Kawaguchi T, Nakamoto S, Kawaguchi A, Kanda T, Imazeki F, Kuromatsu R, Sumie S, Satani M, Yamada S, Torimura T, Kakuma T, Yokosuka O, Sata M. Effect of occult hepatitis B virus infection on the early-onset of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. *Oncol Rep.* 2013 30(5):2049-55.

2. Miyauchi T, Kanda T, Shinozaki M, Kamezaki H, Wu S, Nakamoto S, Kato K,

- Arai M, Mikami S, Sugiura N, Kimura M, Goto N, Imazeki F, Yokosuka O. Efficacy of lamivudine or entecavir against virological rebound after achieving HBV DNA negativity in chronic hepatitis B patients. *Int J Med Sci*. 2013;10(6):647-52.
3. Kamezaki H, Kanda T, Arai M, Wu S, Nakamoto S, Chiba T, Maruyama H, Fujiwara K, Kanai F, Imazeki F, Nomura F, Yokosuka O. Adherence to medication is a more important contributor to viral breakthrough in chronic hepatitis B patients treated with entecavir than in those with Lamivudine. *Int J Med Sci*. 2013;10(5):567-74
4. Ooka Y, Kanai F, Okabe S, Ueda T, Shimofusa R, Ogasawara S, Chiba T, Sato Y, Yoshikawa M, Yokosuka O. Gadoteric acid-enhanced MRI compared with CT during angiography in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Magn Reson Imaging*. 2013 31(5):748-54.
5. Saito T, Chiba T, Yuki K, Zen Y, Oshima M, Koide S, Motoyama T, Ogasawara S, Suzuki E, Ooka Y, Tawada A, Tada M, Kanai F, Takiguchi Y, Iwama A, Yokosuka O. Metformin, a diabetes drug, eliminates tumor-initiating hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One*. 2013 29;8(7):e70010.
6. Chiba T, Suzuki E, Yuki K, Zen Y, Oshima M, Miyagi S, Saraya A, Koide S, Motoyama T, Ogasawara S, Ooka Y, Tawada A, Nakatsura T, Hayashi T, Yamashita T, Kaneko S, Miyazaki M, Iwama A, Yokosuka O. Disulfiram Eradicates Tumor-Initiating Hepatocellular Carcinoma Cells in ROS-p38 MAPK Pathway-Dependent and -Independent Manners. *PLoS One*. 2014 13;9(1):e84807.
2. 学会発表
1. 新井誠人、今関文夫、横須賀收(2013) HBe 抗体陽性無症候性キャリアにおける HBV ジェノタイプの影響 第 99 回日本消化器病学会総会 ワークショップ
2. 新井誠人、今関文夫、横須賀收(2013) 本邦における HBe 抗体陽性無症候性キャリアの実態 第 49 回日本肝臓学会総会 シンポジウム
3. 今関文夫、新井誠人、神田達郎、藤原慶一、太和田暁之、横須賀收 (2013) 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 第 49 回日本肝臓学会総会 一般演題
4. 中本晋吾、呉霜、神田達郎、Xia Jiang、宮村達雄、新井誠人、藤原慶一、齋藤謙悟、今関文夫、白澤 浩、横須賀收 (2013) B 型慢性肝炎核酸アナログ製剤反応不良例に対する Ultra Deep Sequence 解析 第 49 回日本肝臓学会総会 一般演題
5. H. Kamezaki, T. Kanda, M. Arai, S. Wu, S. Nakamoto, T. Chiba, H. Maruyama, K. Fujiwara, F. Kanai, F. Imazeki, F. Nomura, O. Yokosuka. Improvement of adherence to ETV has a better influence on cumulative viral breakthrough rates than that to LAM. APASL 2013
6. T. Miyauchi, T. Kanda, H. Kamezaki, S. Wu, S. Nakamoto, M. Arai, F. Imazeki, O. Yokosuka. Prevalence of viral breakthrough after HBV DNA negativity was achieved by nucleos(t)ide analogues. APASL 2013
7. S. Wu, T. Kanda, T. Miyamura, X. Jiang, S. Nakamoto, F. Imazeki, O. Yokosuka. Cooperative effects of Hepatitis B virus and TNF might play important roles in hepatocarcinogenesis through activation of NF- κ B, metabolic and ER stress signaling. The 64th Annual Meeting of The American Association for the Study of Liver Diseases 2013
8. S. Nakamoto, T. Kanda, S. Wu, X. Jiang, T. Miyamura, F. Imazeki, H. Shirasawa, C. Nakaseko, O. Yokosuka. Reactivation of hepatitis B after hematopoietic stem cell transplantation for hematological

malignancy. The 64th Annual Meeting of The American Association for the Study of Liver Diseases 2013

9. 通常型インターフェロンによるシークエンシャル療法を施行した症例の経過について 神田達郎, 中村昌人, 宮村達雄, 亀崎秀宏, 姜霞, 呉霜, 中本晋吾, 新井誠人, 今関文夫, 横須賀収 第 17 回日本肝臓学会大会 一般演題

10. 当院における LAM10 年と ETV5 年の長期成績と, 各製剤の問題点の検討 亀崎秀宏, 神田達郎, 宮村達雄, 呉霜, 中本晋吾,

新井誠人, 今関文夫, 横須賀収 第 17 回日本肝臓学会大会 一般演題

11. HBsAg 消失例の検討からみた HBV 再活性化予防について 中村昌人, 神田達郎, 中本晋吾, 宮村達雄, 呉霜, 新井誠人, 今関文夫, 横須賀収 第 17 回日本肝臓学会大会 一般演題

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

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 25 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 消化器内科・主任部長

分担研究課題： FIB-4 index と HBs 抗原による HBV 陽性例の肝発癌評価

研究要旨

HBV 感染者における肝発癌は稀ではなく、高リスク群の設定は臨床的に重要である。われわれは、HBs 抗原と線維化の指標となる FIB-4 index を用いて、HBV genotype C、無治療例における肝癌合併につき検討を行った。

高齢化に伴い、HBs 抗原は減少し、FIB-4 index は上昇する傾向を認め、特に、FIB-4 index 2.0 以上かつ HBs 抗原 2.0 未満の症例では 40-50%以上の症例で肝癌合併を認めた。また、この条件に合致する頻度が高いのは、HBe 抗体陽性、ALT 持続正常を示す症例群であった。

ウイルス学的・生化学的安定度は肝炎の活動性と関連しているが、HBs 抗原低下は肝発癌例が含まれる可能性も上昇する。肝癌合併リスクも考慮すると、HBV 非活動性キャリアの判定においては、肝の線維化を正確に評価し、線維化進展例・肝硬変例を峻別することが重要であることが示された。

A. 研究目的

HBV 感染者の長期予後の研究では、HBV DNA 量や HBs 抗原価が高い症例において肝発癌の頻度が高くなる事が報告されている。しかし、本研究班における昨年度のわれわれの検討では、経過観察 2 年以上にわたり ALT が正常で HBe 抗体陽性の抗 HBV 治療未施行例における発癌例は、HBs 抗原低値/HB コア関連 (HBcr) 抗原低値の症例に多く認め、前述の報告と必ずしも一致しない結果であった。

肝発癌の好発年齢は 50 代以上の中高齢者であり、HBs 抗原は加齢とともに低下傾向を示すことも明らかになっている。また、肝発癌には、背景肝病変の関与、すなわち、線維化進展も関連するものと思われる。したがって、肝癌発生のリスクを検討するためには、ウイルス学的要因と線維化進展の両者を統合し評価する事が必要と思われる。

そこで、HBs 抗原と線維化の指標のひとつである FIB-4 index を用いて、HBV 陽性症例における肝発癌との関連を検討した。

B. 研究方法

当院に通院中の HBs 抗原陽性かつ genotype C 例で、無治療例に限定した 653 例を対象とし、

以下の 3 群に分類した。

I 群：HBe 抗原陽性例（203 例）

II 群：HBe 抗体陽性、ALT 異常あり（364 例）

III 群：HBe 抗体陽性、かつ、3 年以上 ALT < 30IU/l 持続（86 例）

上記症例において、HBs 抗原 (CLIA 法) を測定し、FIB-4 index を以下の計算式から算出した。

$$\text{FIB-4 index} = \text{AST (IU/L)} \times \text{年齢 (歳)} / \text{血小板} (10^9/\text{L}) \times (\text{ALT})^{1/2} (\text{IU/L})$$

FIB-4 index と HBs 抗原の分布を、年代別、HBe 抗原/抗体別、発癌/非発癌例別に解析し、肝癌合併の頻度を比較検討した。

なお、今回の解析に関しては、個人が特定できないように配慮した。

C. 研究結果

対象とした 653 例中、HBs 抗原および FIB-4 index 測定時点で、肝癌既往あるいは以後の経過観察中の発癌例を合わせ、139 例に肝癌発生を認めた。

対象とした I 群/II 群/III 群の背景因子では、平均年齢は 36.9/52.7/58.9 (歳)、HBs 抗原対数平均値は 4.21/2.91/2.50 (log IU/ml)、平均 HBV DNA 量は 7.72/3.70/3.83 (log

copies/ml)、平均 AST 値は 61.6/32.0/22.7 (IU/l)、平均 ALT 値は 92.2/37.3/18.5 (IU/l)、平均血小板数は 21.6/18.6/18.0 (万/ μ l) であった。

FIB-4 index と HBs 抗原との関連では、FIB-4 index が高値になると HBs 抗原も低値の傾向を認めた。HBs 抗原は、全体的には、HBe 抗原陽性例よりも HBe 抗原陰性例で低値傾向を示した。年代別の分布では、高齢化とともに HBs 抗原低値/FIB-4 高値の領域への分布増加の傾向を認めたが、HBs 抗原低値/FIB-4 低値へ移行する症例群と、FIB-4 高値へ移行する症例群に分かれる傾向を示した。

HBs 抗原、FIB-4 index レベル別の発癌頻度は、FIB-4 index が 1.0 未満/1.0-2.0/2.0-3.0/3.0-4.0/4.0-5.0/5.0 以上で、0.9/12.1/26.3/29.9/44.2/56.5 (%)、HBs 抗原対数値が 1.0 未満/1.0-2.0/2.0-3.0/3.0-4.0/4.0 以上で、48.3/31.3/28.1/20.2/3.7 (%) であった。

上記の解析で発癌率の高い条件となる「FIB-4 index 2.0 以上かつ HBs 抗原 2.0 未満」に該当する症例の頻度は、I 群/II 群/III 群で、2.5%/6.0%/25.6%と、安定化例に高率であった。これらの症例における肝癌合併率は、I 群/II 群/III 群で、それぞれ 80.0% (4/5) /45.5% (10/22) /50.0% (11/22) と、いずれも高率であった。

さらに、「FIB-4 index と HBs 抗原対数値の差分」が 2.0 以上の症例群における肝癌合併率は、I 群/II 群/III 群で、63.6%/52.5%/72.7%といずれの群も高率であった。

D. 考察

B 型肝炎の長期予後予測として、観察開始時の HBV DNA 量や HBs 抗原のレベルが関連することが報告されてきている。しかし、HBs 抗原量は加齢とともに低下傾向を示すことが知られており、一部の症例では陰性化する。この HBs 抗原低下は必ずしも肝病変の程度とは関連せず、昨年度の本研究班におけるわれわれの検討においても、ALT が正常かつ HBe 抗体陽性例における発癌例は、HBs 抗原低値/HB コア関連 (HBcr) 抗原低値例に多く認めている。したがって、長期予後予測としての HBs 抗原と、評価時期における HBs 抗原は、異なる指標で判定する必要がある。

一方、肝発癌症例の多くは慢性肝障害を合併し、肝硬変進展例も多い。血液検査で肝疾患の進展度を推定する指標として肝線維化マーカー

が参考になる。FIB-4 index も線維化の指標のひとつになると考えられているが、年齢、血清 AST/ALT 値、血小板数から算出し、特殊な検査が不要であることは臨床的に有用性があるものと思われる。

今回、HBV マーカーとして HBs 抗原を、線維化の指標として FIB-4 index を用いて、HBV 感染者の年代別、HBe 抗原/HBe 抗体陽性別の両者の分布傾向を検討した。HBs 抗原は、HBe 抗原陽性から陰性へ、若年から高齢者への経過で低値の傾向を示した。FIB-4 index の高値例も高齢化とともに増加する傾向を認めた。両者の関連を年代別にみると、若年例では、HBs 抗原高値/FIB-4 低値例が多く、高齢化とともに HBs 抗原低下傾向/FIB-4 高値例増加傾向を示すが、一部に HBs 抗原低値かつ FIB-4 低値の症例もみられ、非進展安定化症例とオーバーラップする可能性が考えられた。

これらの分布に、発癌症例を重ねて検討すると、高齢化とともに FIB-4 高値例に頻度が高い傾向を認めた。「FIB-4 index 2.0 以上かつ HBs 抗原 2.0 未満」を示す症例では 40-50% 以上の症例に肝癌合併を認めており、血液検査所見から肝癌合併リスクの高い症例の絞り込みには有用であると思われた。特に、生化学的には安定していると判定される症例ではむしろ上記条件の相当する頻度が高いことが示され、肝発癌の観点からは、このような症例群における注意が必要であることが明らかとなった。

したがって、HBV 陽性者において、ウイルス学的・生化学的な安定度と評価観察時点での肝発癌リスクとは異なり、別個の基準で評価をする必要が明らかとなった。また、ウイルス学的・生化学的検査で非活動性キャリアと判定される症例において、肝線維化が進展している場合には肝発癌リスクは低くないので、画像あるいは組織学的評価も必ず含め、線維化進展群を除外したキャリア群の判定が重要であると思われる。

E. 結論

HBs 抗原陽性者の肝癌発生を、HBs 抗原、FIB index を用いて評価した。

- 1) HBs 抗原低下/FIB-4 上昇に伴い、肝癌合併率は上昇した。
- 2) 「FIB-4 index 2.0 以上かつ HBs 抗原 2.0 未満」の症例では 40-50% 以上に肝癌合併を認めた。

- 3) HBe 抗体陽性で ALT 持続正常 (<30 IU/l) 例で、上記 2) の条件に合致する頻度が高率であった。

したがって、肝癌合併の観点からは、線維化進展を伴う HBs 抗原の低下例には注意を要する。非活動性キャリアに対する予後予測の際には、ウイルス学的、生化学的安定以外に、必ず線維化進展の評価を含めた判断を実施し、正確なキャリア判定を行う必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表論文発表

1. 論文発表

- 1) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. PLoS One 2014; 9(2): e86449
- 2) 髭 修平、小関 至、桑田靖昭、佐藤隆啓、狩野吉康、豊田成司. ALT 正常 HBe 抗体陽性症例の検討. 臨床消化器内科 2013; 28(9): 1301-1306

3) 学会発表

- 1) 髭 修平

H. 知的所有権の出願・登録状況

該当なし

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（平成 25 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： 上野 義之(山形大学医学部内科学第二講座 教授)

研究協力者： 渡辺 久剛、佐藤 智佳子(山形大学医学部消化器内科)

分担研究課題：HBe 抗体非活動性キャリアの予後と肝線維化・ウイルスマーカーとの関連

研究要旨：

本研究は 1) B型肝炎キャリアにおけるジェノタイプと肝病態との関連、および 2) HBe抗体陽性例における臨床経過予後、について検討するため、ジェノタイプB型が多数を占める山形県のキャリアについて、①ALT値の変動、②HBV関連マーカー、③繊維化関連マーカー、④HCC発生、⑤HBs抗原陰性化、について検討した。その結果ジェノタイプB型高浸淫地域でも、HBe抗体陽性キャリアにおける肝線維化進展、HBs抗原自然陰性化などの肝病態とジェノタイプとの関連が示唆されたが、年齢をマッチさせた多数例での検討が今後必要と考えられた。これらHBe抗体陽性キャリアの肝病態進展にかかわる予後因子を明らかにするために、宿主遺伝子背景も含めてさらに解析する必要がある。

A. 研究目的

平成 24 年度の実験研究では、B 型肝炎ジェノタイプ B 高浸淫地域である当院の B 型肝炎慢性肝疾患に対する核酸アナログ (NA) 治療の現状を分析した。

しかし、ジェノタイプによる B 型肝炎の自然経過に及ぼす影響 (ALT 値、HBV 関連マーカーなど) の違いが明らかでなかったことから、今年度は、無治療の非活動性キャリア例 (HBe 抗体陽性) を対象に、自然経過とジェノタイプとの関連を検討した。

B. 研究方法

山形大学医学部附属病院消化器内科外来で長期に経過観察し得た HBe 抗体陽性慢性肝疾患無治療例 111 例において、初診時からの (1) ALT、(2) ウイルスマーカー、(3) 線維

化マーカー (FIB-4 index) の推移を調べた。また、(4) HBs 抗原陰性化例について、その背景因子を解析した。

(倫理面への配慮)

本厚生労働省班研究の参加については、山形大学医学部倫理委員会からの承認を得て行った。

C. 研究結果

当科の 645 人の HBs 抗原陽性例のうち、全体の 65%が無治療であり、NA 投与例は 20%、IFN 投与例は 15%であった。長期に経過観察し得た HBe 抗体陽性慢性肝疾患患者は 111 例、そのうちジェノタイプが判明したのは 94 例であった (ジェノタイプ A:2 例、ジェノタイプ B:72 例、ジェノタイプ C:20 例)。初診時のデー

タでは、ジェノタイプ C はジェノタイプ B よりも若年であり(ジェノタイプ B vs. ジェノタイプ C; 45.7 歳 vs. 55.3 歳、 $P < 0.01$)、HBV DNA 3.7 未満の症例が多かった(ジェノタイプ B vs. ジェノタイプ C; 49% vs. 75%、 $P < 0.05$)。

1. ALT の変化

初診時の ALT 値異常例の割合は 32%で、ジェノタイプ B 24 例 (34%)、ジェノタイプ C 8 例 (40%) で差はなかった。初診時 ALT 値正常例の中で、経過中 ALT 値が持続正常だったのは、ジェノタイプ B 34/47 例、ジェノタイプ C 7/11 例であり、経過中に異常値を呈したものはジェノタイプ B 13/47 例、ジェノタイプ C 4/11 例であった。10 年間の累積 ALT 値異常化率はジェノタイプ B 28%、ジェノタイプ C 28%で差はなかった。

2. ウイルスマーカーの変化

HB コア関連抗原や HBV DNA 量は、ALT 値に関わらず低い症例が多かった。ジェノタイプ別のウイルス抗原量の推移については後述する。

3. 線維化マーカー (FIB-4 index) の推移

FIB-4 index は経過中に軽度上昇する例が多かった。FIB-4 index 3.25 以上到達率は、ジェノタイプ B で高い傾向があったが、有意差はみられなかった。FIB-4 index の年上昇度はジェノタイプ B がジェノタイプ C に比し高かった(ジェノタイプ B vs. ジェノタイプ C; 0.03/年 vs. 0.01/年)。

4. HBs 抗原陰性化例

経過中に HBs 抗原が陰性化した症例は、ジェノタイプ B (3/73 例) よりジェノタイプ C (7/20 例) に多かった($P < 0.01$)。初診時から陰性化までの期間の中央値はジェノタイプ B が 397 か月、ジェノタイプ C が 309 か月であっ

た。HBs 抗原が陰性化した症例は、2 例を除いて初診時すでに HB コア関連抗原量が 3 LogU/mL 未満、HBV DNA 量が 3.7 Log 未満の症例であった。

D. 考察

ジェノタイプ B 高浸淫地域において、HBe 抗体陽性非活動性キャリア例における HBV 関連マーカーの自然経過とジェノタイプとの関連を検討した。また NA 内服例の治療効果に及ぼすジェノタイプの影響についても比較検討した。

非活動性キャリア例においては、ALT 値の変動、HBV DNA 量の経年的変化は、ジェノタイプ間で差が見られなかった。HBs 抗原陰性化はジェノタイプ C 例で多くみられ、FIB-4 index はジェノタイプ B で年上昇率が高い傾向であったが、両群間で初診時年齢に差があり、解析にあたってのバイアスも影響していると考えられる。今後、年齢をマッチさせた多数例での検討とともに、自然経過に影響を及ぼす宿主の遺伝的背景も含めて解析する必要があると思われる。

E. 結論

無治療の HBe 抗体陽性非活動性キャリアにおける病態、とくにウイルスマーカーの推移 (HBs 抗原自然陰性化など) や肝線維化進展と、ジェノタイプとの関連が示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 渡辺久剛、上野義之 : B 型肝炎の自然予後 (無治療住民検診での長期予後) 肝胆

膾疾患；「予後」の変遷. 肝胆膾 66(3) : 399-407, 2013.

2. 学会発表

1) Watanabe H, Saito C, Mizuno K, Katsumi T, Tomita K, Okumoto K, Nishise Y, Saito T, and Ueno Y. Predictive Value of hepatitis B Virus Genotypes on the Responses to Long-term Nucleoside Analogue Therapy in Patients with Chronic Hepatitis B. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Washington DC, USA, November 2013.

2) 西瀬雄子、奥本和夫、富田恭子、勝見智大、佐藤智佳子、阿藤里佳、渡辺久剛、斎藤貴史、上野義之：ゲノタイプ B 高浸淫地区における免疫抑制・化学療法を受けた HBV 既往感染者の HBV 再活性化の検討. 第 17 回日本肝臓学会大会、東京；2013 年 10 月.

3) 渡辺久剛、佐藤智佳子、上野義之：ジェノタイプの感染実態の変遷と B 型肝炎キャリアおよび急性肝炎例におけるジェノタイ

プの臨床的意義 (シンポジウム 4「B 型肝炎－概念の変遷とその臨床的意義」) 第 49 回日本肝臓学会総会、東京；2013 年 6 月.

4) 佐藤智佳子、渡辺久剛、勝見智大、富田恭子、石井里佳、奥本和夫、西瀬雄子、斎藤貴史、上野義之：HBV 遺伝子型からみた B 型肝炎慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療反応性とウイルス抗原量スコア化による中止可能性の検討 第 49 回日本肝臓学会総会、東京；2013 年 6 月.

5) 渡辺久剛、斎藤貴史、上野義之：HBV ジェノタイプ B 型高浸淫地域における、ジェノタイプの感染実態の変遷および臨床経過との関連 (ワークショップ 2「HBV ジェノタイプと B 型肝炎の病態」) 第 99 回日本消化器病学会総会、鹿児島；2013 年 3 月.

H. 知的所有権の出願・取得状況
特になし。

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（平成 25 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 信州大学医学部内科学第二講座 教授
研究協力者：松本晶博 信州大学医学部附属病院肝疾患相談センター 准教授
梅村武司 信州大学医学部内科学第二講座 准教授
上條のぞみ 信州大学医学部内科学第二講座 大学院生

分担研究課題：HBe 抗原セロコンバージョン前後での pre-C/ BCP 変異と HBV 活動性との関連

研究要旨：

B型肝炎ウイルス（HBV）では、pre-core 遺伝子の G1896A の stop codon 変異（Pre-C 変異）および basal core promoter の A1762T と G1764A のダブル変異（BCP 変異）は HBe 抗原の産生を低下させることが知られており、この出現は HBe 抗原のセロコンバージョン（SC）と関連する。今回、Pre-C/BCP 変異と HBe 抗原の SC や HBV 活動性との関連を B 型慢性肝炎の長期経過観察例を対象に検討した。

対象は 2 年以上経過観察可能であった B 型慢性肝炎 86 例で、その HBe 抗原・抗体の推移により以下の 3 群に分けて検討した：HBe 抗原持続陽性群 18 例、HBe 抗原 SC 群 25 例、HBe 抗体持続陽性群 43 例。今回の検討では遺伝子型 C の症例のみを対象とした。

Pre-C 変異は、HBe 抗原持続陽性群では観察開始時にほとんどの症例で wild であり、その傾向は観察終了時点も同様であった。SC 群では観察開始時 wild 優位であったが、終了時に mutant 優位に変化した。HBe 抗体持続陽性群では観察開始時 mutant 優位で有り、その傾向は観察終了時も同様であった。しかし、観察開始時 mutant の症例の一部が wild にもどる変化もみられた。BCP 変異は 3 群とも観察開始時より mutant である症例が多数を占め、観察終了時はさらにその傾向が強くなった。

HBe 抗原陽性期では Pre-C/BCP 変異が共に wild 症例で HBV DNA 量が有意に高い傾向がみられたが、HBe 抗体陽性期では BCP 変異の有無にかかわらず、Pre-C 変異が mutant 症例で wild 症例に比較し HBV DNA 量が有意に高い傾向がみられた。同様の傾向は HBs 抗原量でも観察された。

Pre-C・BCP 変異の観点から HBe 抗原の SC をみると、Pre-C 変異が mutant と wild の 2 種類の SC があることが明らかになった。Pre-C 変異が mutant の SC はウイルスの活動性が十分低下しておらず、HBe 抗原陰性慢性肝炎を発症する危険性があることが予測された。

A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（HBV）では、pre-core 遺伝子の G1896A の stop codon 変異（Pre-C 変異）および basal core promoter の A1762T と G1764A のダブル変異（BCP 変異）は HBe 抗原の産生を低下させることが知られており、この出現は HBe 抗原のセロコンバージョン（SC）と関連する。さらに、これら HBe 抗原非産生変異株の増殖が HBe 抗原陰性慢性肝炎の発症とも関連することが知られており、HBe 抗体陽性例の長期予後を明らかにするには極めて重要な変異である。今回、Pre-C/BCP 変異と HBe 抗原の SC や HBV 活動性との関連を B 型慢性肝炎の長期経過観察例を対象に検討した。

B. 研究方法

対象は 2 年以上経過観察可能であった B 型慢性

肝炎 86 例で、その HBe 抗原・抗体の推移により以下の 3 群に分けて検討した：HBe 抗原持続陽性群 18 例、HBe 抗原 SC 群 25 例、HBe 抗体持続陽性群 43 例。3 群の背景因子の比較は表 1 に示した。年齢は SC 群が最も若く、HBe 抗体持続陽性群が最も高かった。性別には有意差はなかった。HBe 抗原の SC や HBe 抗原非産生変異の出現は遺伝子型により大きく異なるため、今回の検討では遺伝子型 C の症例のみを対象とした。

HBs 抗原、HBe 抗原・抗体・HBcr 抗原は市販のキットを用い CLEIA 法で測定した。HBV DNA は real time PCR 法にて測定した。Pre-C 変異は enzyme-linked mini-sequence assay kit (Smitest) にて測定し、50%以上を陽性と判定した。BCP 変異は HBV core promoter detection kit (Smitest) を用いて測定し mixed & mutant types

を陽性と判定した。

(倫理面への配慮)

本研究は信州大学医学部倫理委員会の承認のもとに行った。

C. 研究結果

対象とした3群のPre-C変異の推移を図1に示した。HBe抗原持続陽性群では、観察開始時にほとんどの症例でPre-C変異はwildであり、その傾向は観察終了時点も同様であった。SC群は、観察開始時wild優位であったが終了時にmutant優位に変化した。HBe抗体持続陽性群では、観察開始時mutant優位で有り、その傾向は観察終了時も同様であった。しかし、観察開始時wildの症例は経過観察終了時もwildである傾向がみられた。また、観察開始時mutantの症例の一部がwildにもどる変化もみられた。

対象とした3群のBCP変異の推移を図2に示した。3群とも観察開始時よりBCP変異がmutantである症例が多数を占めた。ただし、その程度はHBe抗原持続陽性群でやや弱かった。観察開始時BCP変異がwildの症例は、観察終了時mutantに変化する症例がどの群でも1/3~1/2にみとめられた。これに対し、観察開始時mutantの症例はそのままmutantである傾向が強かった。

HBe抗原陽性期とHBe抗体陽性期に分けて、Pre-C/BCP変異のパターン別のHBV DNA量を比較した(図3)。HBe抗原陽性期ではPre-C/BCP変異が共にwild症例でHBV DNA量が有意に高い傾向がみられたが、HBe抗体陽性期ではBCP変異の有無にかかわらず、Pre-C変異がmutant症例でwild症例に比較しHBV DNA量が有意に高い傾向がみられた。

同様にHBs抗原量を比較した成績を図4に示す。HBe抗原陽性期ではPre-C/BCP変異が共にwild症例でHBs抗原量が有意に高い傾向がみられたが、HBe抗体陽性期ではBCP変異の有無にかかわらず、Pre-C変異mutant症例でwild症例に比較しHBs抗原量が有意に高い傾向がみられた。

同様にHBcr抗原量を比較した成績を図5に示す。HBe抗原陽性期ではPre-C/BCP変異が共にwild症例でHBcr抗原量が有意に高い傾向がみられたが、HBe抗体陽性期では変異の有無にかかわらず全て低値を呈した。

D. 考察

HBe抗体陽性例の長期予後の解析では、HBe抗原陰性慢性肝炎発症の検討は極めて重要な課題である。この肝炎はPre-C・BCP変異を持つHBe抗原非産生株により惹起されることが知られて

おり、その出現は重要な問題である。そこで今回、長期経過観察したB型慢性肝炎例を対象に、Pre-C・BCP変異の推移をHBe抗原・抗体の推移との関連で検討した。さらに、これらの変異と病態との関連も解析した。

Pre-C変異とBCP変異は共にHBe抗原の産生を低下させるが、その動態は大きく異なっていた。すなわち、BCP変異はHBe抗原陽性期から高率にmutantとなり、HBe抗体陽性期になっても高率のままであった。これに対し、Pre-C変異はHBe抗原のSCと有意の関連があり、HBe抗原陽性期には低率であったものがHBe抗体陽性期には高率となった。しかし、HBe抗体陽性期になってもPre-C変異がwildの症例が少なからず存在した点は興味深く、SCがPre-C変異の有無で2種類に分けられる可能性が示唆された。

Pre-C・BCP変異の有無とHBV DNA量との関連は興味深い結果であった。すなわち、HBe抗原陽性期では、両変異ともwildの症例で、少なくともどちらかmutantの症例に比較してHBV DNA量は有意に高い傾向がみられた。これに対しHBe抗体陽性期では、BCP変異の有無にかかわらずPre-C変異がmutantの症例でwildの症例に比較しHBV DNA量が有意に高い傾向がみられた。同様の傾向はHBs抗原量でも観察されており、HBV DNAでの結果を裏付けるものであった。

HBe抗原陽性期では、宿主免疫の圧力を回避するためPre-C・BCP変異が出現すると考えられており、強い圧力の結果、Pre-C・BCP変異が陽性の症例でウイルス量がより低下していたと考えられた。これに対しHBe抗体陽性期では、強い宿主免疫の圧力により、Pre-C・BCP変異の有無にかかわらずウイルスの増殖が抑えられた中で、Pre-C変異がmutantの症例は宿主の免疫を回避して増殖力を維持していると考えられた。この様に、HBe抗体陽性期ではPre-C変異の有無により病態が異なっており、この点からもPre-C変異の有無によりSCを2種類に分けられることが示唆された。

今回の検討ではHBcr抗原量もHBs抗原量と同様に検討したが、HBe抗体陽性期においてはPre-C・BCP変異の有無にかかわらずHBcr抗原量は低値であった。これは、HBcr抗原量がHBe抗原量を主に測定しているためと考えられた。

E. 結論

- 1) Pre-C・BCP変異の観点からHBe抗原のSCをみると、Pre-C変異がmutantとwildの2種類のSCがあることが明らかになった。
- 2) Pre-C変異がmutantのSCはウイルスの活動性が十分低下しておらず、HBe抗原陰性慢性肝炎を発症する危険性があることが予測された。