

厚生労働科学研究費補助金 (肝炎等克服実用化研究事業(肝炎等克服緊急対策研究事業))  
分担研究報告書

「骨髄細胞中の肝炎ウイルスの検出」

研究分担者氏名 : 梅村 武司

所属機関 : 信州大学医学部消化器内科 職名 : 准教授

**研究要旨 :**

【目的】 肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与[Autologous Bone Marrow Cell Infusion (ABMi)]療法は患者本人の骨髄細胞を採取して再注入する治療である。本邦における肝硬変患者の8割以上がB型肝炎ウイルス(HBV)もしくはC型肝炎ウイルス(HCV)の感染が原因であり、実際に採取された骨髄細胞中にこれら肝炎ウイルスの感染が認められるのかを明らかにすることは重要である。今回、既に確立されたHBV DNA と HCV RNA の定量系を用いて、ABMi療法の際に採取・保存された骨髄細胞にHBV DNA またはHCV RNA が検出されるか検討し、検出される場合はその定量を行う事を目的とした。

【方法】

山口大学・山形大学附属病院において ABMi 療法を施行された 15 名の患者 (HBs 抗原陽性・HCV 抗体陽性 : 1 名、HBs 抗原陰性・HCV 抗体陽性 : 9 名、HBs 抗原陰性・HCV 抗体陰性 : 5 名) から採取され、保存された骨髄細胞を用いて HBV DNA と HCV RNA をそれぞれ定量した。

【成績】

1 例の HBs 抗原陽性者では HBV DNA 量が  $1.8 \log \text{copies}/10^6 \text{PBMCs}$  と陽性であった。しかし、HBs 抗原陰性・HCV 抗体陽性者、HBs 抗原陰性・HCV 抗体陰性者は全て HBV DNA と HCV RNA はともに検出感度以下であった。

【考案】

B 型肝炎患者の骨髄細胞中には HBV DNA が検出されたがその量は極めて低値であった。C 型肝炎患者では HCV RNA は検出感度以下であり、存在しないか、存在したとしてもごく少量である可能性が示唆された。

共同研究者

田中榮司 信州大学医学部内科学第二・教授

ABMi 療法の際に採取・保存された骨髄細胞を用い、HBV DNA と HCV RNA の存在を確認した。

**A. 研究目的**

肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与 [Autologous Bone Marrow Cell Infusion (ABMi)]療法は患者本人の骨髄細胞を採取してこれを再注入する治療であり、施行後に肝機能予備能の改善が認められる。本邦における肝硬変患者の8割以上がB型肝炎ウイルス(HBV)またはC型肝炎ウイルス(HCV)の感染が原因である。患者自身の骨髄細胞を注入するとはいえ、実際に骨髄細胞中にこれらの肝炎ウイルスが感染しているのかは重要な問題である。しかし、これまで十分な検討はなされていない。

**B. 研究方法**

山口大学医学部附属病院、山形大学医学部附属病院で ABMi 療法を施行された計 15 名の患者 (HBs 抗原陽性・HCV 抗体陽性 : 1 名、HBs 抗原陰性・HCV 抗体陽性 : 9 名、HBs 抗原陰性・HCV 抗体陰性 : 5 名) から採取され、保存された骨髄細胞を用いて HBV DNA と HCV RNA をそれぞれ定量した。

**C. 研究結果**

ABMi 療法で採取された骨髄細胞中の肝炎ウイルスの定量：HBs 抗原陽性であった 1 例では、骨髄細胞中に HBV DNA が検出され、その量は 1.8 log copies/10<sup>6</sup>PBMCs であった。この他の 14 例、すなわち、HBs 抗原陰性・HCV 抗体陽性の 9 例と HBs 抗原陰性・HCV 抗体陰性の 5 例は、全例で HBV DNA と HCV RNA がともに検出感度以下であった。

#### D. 考察

今回の検討では、15 例の ABMi 療法施行患者の保存骨髄細胞を用いて HBV DNA と HCV RNA の測定を行ったが、HBs 抗原陽性の 1 例では HBV DNA が骨髄細胞中に検出された。実際の定量範囲は 1.7～5 log copies/10<sup>6</sup>PBMCs であるので高感度の測定系を用いても検出感度ぎりぎりの量であった。C 型肝炎患者においても、骨髄細胞中の HCV RNA はいずれの検体でも検出感度以下であり、存在しないか、存在してもごく少量と考えられた。考慮しなければいけない点として骨髄細胞の採取時に PCR 阻害物質であるヘパリンを使用している事である。使用量はごく少量である点、骨髄細胞から核酸を抽出する前にも洗浄をしている点からヘパリンの PCR への影響は少ないと考えられる。

#### E. 結論

B 型肝炎患者の骨髄細胞中には HBV DNA が極少量存在することが示された。C 型肝炎患者の肝細胞中には HCV RNA は存在しないか、存在しているとしても極少量である可能性が示唆された。ただし、少数

例での検討であり、今後、症例を増やして検討をすることが必要である。

#### 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Okuhara S, Umemura T, Joshita S, Shibata S, Kimura T, Morita S, Komatsu M, Matsumoto A, Yoshizawa K, Katsuyama Y, Ota M, Tanaka E. Serum levels of Interleukin-22 and hepatitis B core-related antigen are associated with treatment response to entecavir therapy in chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 2014;44:E172-80.

2. Morita S, Matsumoto A, Umemura T, Shibata S, Kamijo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E. Characteristics and prediction of HBeAg-negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 2014;44:E45-53.

##### 2. 学会発表

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし