

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服政策研究事業）
分担研究報告書

自然経過で再活性化したoccult/既往HBV感染例

研究分担者 上司 裕史 国立病院機構東京病院 消化器内科医長

研究要旨 免疫抑制剤や抗癌剤の投与なく、自然経過で再活性化したoccult/既往HBV感染例を経験した。症例1は73歳の男性。2008年10月に冠動脈バイパス術を受けたが、この時、ALTは22 IU/l、HBs抗原が陰性、HBs抗体は陽性であった。2009年5月にALTが上昇し、7月23日に当科を初診した。ALTは318 IU/lで、HBs抗原とHBV DNAはともに陽性であったが、IgM-HBc抗体は陰性であった。直ちにエンテカビルを開始したところ、8月10日にはHBs抗原、HBV DNAとも検出できなくなった。症例2は73歳の男性。2009年に薬物誤用で当院を初診したが、HBs抗原は陰性であった。その後糖尿病のため通院していた。2012年8月23日にもHBs抗原は陰性であったが、8月31日の保存血清ではHBV DNAが陽性（2.2 log copies/ml）であった。9月3日に食道癌の手術を受けたが、腹膜播種を診断された。12月6日にはALTが11 IU/lで、HBs抗原とHBV DNA（5.1 log copies/ml）がともに陽性であったが、IgM-HBc抗体は陰性であった。12月17日よりエンテカビルを開始したが、2013年2月17日に癌により死亡した。HBVの全塩基配列の解析から、症例1はsubgenotype C2でwild typeの、症例2はsubgenotype B2でprecore変異（G1896A）のHBV感染が確認された。結論：自然経過で再活性化したoccult/既往HBV感染例を報告した。再活性化は、wild type、precore mutantのどちらにもみられた。また高齢、手術侵襲と、癌、動脈硬化性疾患、糖尿病などの免疫低下状態を伴う疾患が、再活性化の誘因となった可能性が示唆された。

A . 研究目的

B型肝炎ウイルス（HBV）既往感染例におけるHBVの再活性化は通常、免疫抑制剤や抗がん剤投与、あるいはHIV感染などによりもたらされ、このような危険因子がなく発症した例の報告はない。

今回、我々は自然経過での再活性化が確認できたoccult/既往HBV感染例を経験したので報告する。

B . 研究方法

自然経過でHBVの再活性化がみられた2症例について臨床的検討を、さらにはこれらから分離されたHBVの全塩基配列を解析しウイルス学的検討を行った。

C . 研究結果

症例1（表1）

症例：74歳、男性。

主訴：特になし。肝機能障害。

現病歴：2008年10月17日に、冠動脈バイパス術を受けたが、この時、ALTは22 IU/l、HBs抗原が陰性で、HBs抗体は陽性(12.7mIU/l)であった。2009年4月にはALT値は12 IU/lであったが、5月28日に79 IU/l、7月9日には273 IU/lと上昇し、HBs抗原の陽転も確認された。7月23日に、当科初診し入院となる。

既往歴：1970年に虫垂炎のため手術、2001年に脳梗塞。

アルコール歴：焼酎、2合/日、35年

入院時検査所見(表2)：AST、ALTはそれぞれ436 IU/l、318 IU/lと高値を呈し、Albは3.5 g/dlと低下し、T-Bil.は1.98 mg/dlと上昇していた。PTは34.0%と延長していたが、ワーファリン内服中であった。HBs抗原、HBe抗原、HBV DNAは陽性(6.4 log copies/ml; genotype C)であったが、IgM-HBc抗体(0.2 S/CO) IgM-HAV抗体、HCV抗体、HDV抗体、IgM/IgA-HEV抗体はいずれも検出されなかった。なお、HIV1/2抗体、HTLV1抗体も陰性であった。

入院後の経過：HBV既往感染からの再活性化と診断し、7月24日よりエンテカビル(0.5mg/日)を開始したところ、8月10日に

はHBs抗原、HBV DNAとも検出できなくなった。

症例2(表3)

症例：73歳、男性。

主訴：特になし。HBs抗原陽転。

現病歴：2009年2月に薬物誤用のため当院を初診したが、HBs抗原は陰性であった。その後糖尿病のため当院に通院していた。2012年8月23日にもHBs抗原は陰性であったが、後日8月31日の保存血清を測定したところ、HBV DNA(2.2 log copies/ml)が低値で陽性であった。9月3日に、食道癌のため下部食道切除術、胃全摘術、脾摘術を受け、その際腹膜播種を診断された。12月6日に化学療法目的で当院外科に入院したが、HBs抗原が陽転(9.9 COI)していたため、当科を紹介された。

既往歴：2002年に食道癌のため内視鏡的粘膜下層剥離術。2004年に胆嚢結石のため胆嚢摘出術。

アルコール歴：日本酒、5合/日、40年、2007年より断酒。

輸血歴：食道癌手術時と術後に濃厚赤血球10単位(5パック)

表1. 肝機能とHBVマーカーの推移(症例1)

Date of sampling (yr/mon/day)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	T-Bil (mg/dl)	HBsAg (COI)	Anti-HBs (mIU/ml)	Anti-HBc (COI)	HBeAg (COI)	Anti-HBe (%)	HBV DNA	
									TaqMan (log copies/ml)	In-house (copies/ml)
2008/10/10	29	22		-	+(12.7)					
2009/02/23	22	20		-	+(16.3)					
2009/05/28	58	79								
2009/07/09	449	273		+(>2000)			+(1590)	-	+(8.0)	
2009/07/23 ^a	436	318	2.0	+(2000)	+(118.0)	+(100.0)	+(1600)	-	+(6.4)	
2009/07/25 ^{b,c}				+						+(1.4 x 10 ⁷) +(2.2 x 10 ⁵)
2009/07/27 ^b	302	254	2.1	+						
2009/07/30	316	245	1.9							
2009/08/03	254	246	1.6							
2009/08/06	77	125	1.3							
2009/08/10 ^b	28	49	1.1	-						
2009/09/14 ^b	16	9	0.8	-			+(5.6)	-	-	-
2009/11/16	19	8	0.8	-			+(1.2)	-	-	-
2009/12/21 ^b	17	11	0.7	-			-	-	-	-
2010/01/26	23	12	0.9	-			-	-	-	-
2010/03/29 ^b	27	15	0.8	-		+(100.0)	-	+(93.8)	-	-
2010/04/27	20	13	0.7	-	+(28.0)		-	+(71.1)	-	-
2011/09/26 ^b	18	9	1.0	-			-	+(75.1)	-	-
2012/04/09	16	9	0.8	-			-	+(66.6)	-	-

^aOn admission.

^bStored serum samples were available.

^cThe entire genomic sequence of HBV was determined.

表2 . 入院時検査所見 (症例1、 2)

	Patient 1	Patient 2
Hematology		
WBC	5,300/ μ l	5,500/ μ l
RBC	360 x 10 ³ / μ l	324 x 10 ³ / μ l
Hemoglobin	11.9 g/dl	10.0 g/dl
Hematocrit	35.9%	31.2%
Platelet	14.1 x 10 ³ / μ l	24.6 x 10 ³ / μ l
Blood Chemistry		
Total protein	8.0 g/dl	5.5 g/dl
Albumin	3.5 g/dl	2.2 g/dl
Total bilirubin	2.0 mg/dl	0.6 mg/dl
AST	436 IU/L	14 IU/L
ALT	318 IU/L	11 IU/L
ALP	860 IU/L	540 IU/L
γ -GT	219 IU/L	39 IU/L
BUN	19.1 mg/dl	9.9 mg/dl
Creatinine	1.1 mg/dl	1.0 mg/dl
Total Cholesterol	96 mg/dl	72 mg/dl
Coagulation		
PT%	34%	74%
APTT	45.5 sec	31.0 sec
Viral markers		
Anti-HAV IgM	(-)	(-)
Anti-HCV	(-)	(-)
Anti-HDV	(-)	(-)
Anti-HEV IgM/IgA	(-)/(-)	(-)/(-)
HBsAg	2000.0 c.o.i (-)	9.9 c.o.i (-)
Anti-HBs	118.0 IU/ml (-)	<5.0 IU/ml (-)
Anti-HBc (whole)	100 c.o.i (-)	9.1 c.o.i (-)
Anti-HBc IgM	0.2 S/CO (-)	0.1 S/CO (-)
HBeAg	1600.0 S/CO (-)	<1.0 S/CO (-)
Anti-HBe	<5.0% (-)	92.7% (-)
HBV DNA	6.4 log copies/ml	5.1 log copies/ml
HBV genotype	C	B
Anti-HIV1/2	(-)	(-)
Anti-HTLV1	(-)	(-)
Immunology		
IgA	386 mg/dl	354 mg/dl
IgG	2577 mg/dl	1394 mg/dl
IgM	76 mg/dl	92 mg/dl
ANA	40x	80x

表3 . 肝機能とHBVマーカーの推移 (症例2)

Date of sampling (yr/mon/day)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	T-Bil (mg/dl)	HBsAg (COI)	Anti-HBs (mIU/ml)	Anti-HBc (COI)	HBeAg (COI)	Anti-HBe (%)	HBV DNA	
									TaqMan (log copies/ml)	In-house (copies/ml)
2009/02/24	24	18		-						
2009/08/10	34	25		-						
2010/07/30	29	30								
2011/08/04	32	30								
2012/08/02	30	28	0.6							
2012/08/23	43	34	1.7	-						
2012/08/27	55	48								
2012/08/31^{ab}				-	-	+ (12.4)			+ (2.2)	+ (2.1 x 10 ²)
2012/09/04	43	19	2.8							
2012/11/05	22	21	0.5							
2012/12/06 ^c	14	11	0.6	+ (9.9)	-	+ (9.1)	-	+ (92.7)	+ (5.1)	
2012/12/10^{ab}				+ (43.5)	-		-			+ (1.9 x 10 ⁶)
2012/12/14^{ab}	15	9								+ (2.5 x 10 ⁶)
2012/12/23	15	10	0.5							
2013/01/16^a				+ (310.1)		+ (50.0)	-	+ (89.3)	+ (2.6)	+ (7.0 x 10 ³)
2013/01/17	61	28	0.6							
2013/01/23	19	14	0.7							
2013/02/04	123	110	0.7							

^aStored serum samples were available.

^bThe entire genomic sequence of HEV was determined.

^cOn admission.

入院時検査所見 (表2): ALTは11 IU/lであったが、Albは2.2 g/dlと低下し栄養状態は不良であった。HBV DNA量は8月31日より増えていたが (5.1log copies/ml; genotype B)、IgM-HBc抗体は陰性 (0.1 S/CO)であった。HDV抗体は陽性であったが、HDV RNAは検出されず、HDV感染の既往と考えられた。

入院後の経過: 12月17日よりエンテカビル (0.5 mg/日) が投与されたが、2月17日癌

のため死亡した。

症例1、2から得られたHBVの全塩基配列からの検討

症例1の2009年7月25日の血清 (P1-090725) を用い、HBVの全塩基配列を検討した。分離されたHBVは3215塩基長で、全塩基配列に基づく分子系統解析により subgenotype C2に属することが判明した (図1)。分離HBVはcore promoterおよび

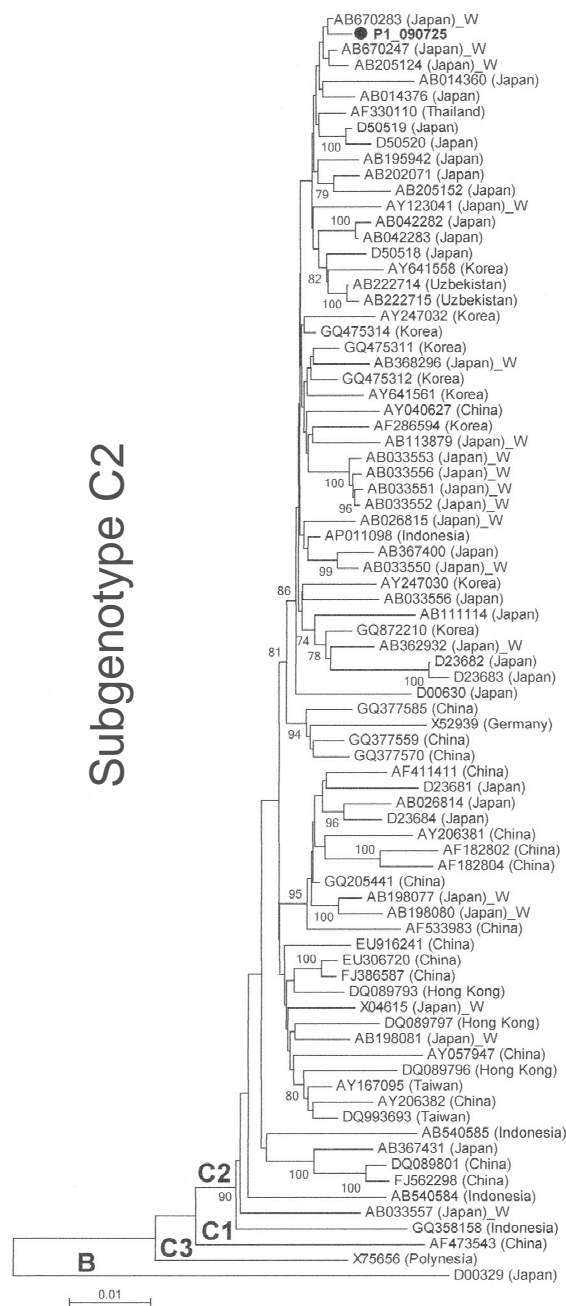


図1. 全塩基配列に基づくHBVの分子系統樹 (症例1)

precore領域に変異を認めず、最も相同性が高いNon-HCC_pt_No.10 (AB670283)とは99.5%、日本のHBs抗原陽性の無症候性キャリアから得られたpNDR260 (AB033550)とは98.6%、さらに18株の日本のwild-type subgenotype C2から得られた consensus sequenceとは99.3%、遺伝子配列が一致していた(表4)。以上よりP1-090725から分離されたHBVはwild typeと考えられた。

症例2では、再活性化前の1検体 (P2-120831)と再活性化後の2検体(P2-121210、P2-121214)からHBVを分離した。分離されたHBVはいずれも3215塩基長で、全塩基配列に基づく分子系統解析により subgenotype B2に属することが判明した(図2)。いずれもprecore変異 (G1896A)を認めたが、core promoterの変異はなかった。

表4．症例1から分離されたHBVと既報の日本におけるSubgenotype C2でwild type HBVとの遺伝子配列の一致率の比較

HBV isolates compared ^a	Nucleotide sequence identity%				
	Entire genome (3,215 nt)	P gene [2,529 nt (843 aa)]	preS1/preS2/S gene [1,200 nt (400 aa)]	X gene [462 nt (154 aa)]	C gene [549 nt (183 aa)]
P1_090725 vs. AB033550 ^b	98.6	98.5 (98.5)	99.1 (98.2)	97.8 (96.1)	98.6 (100)
P1_090725 vs. AB670283 ^b	99.5	99.6 (99.7)	99.8 (99.5)	99.1 (99.3)	99.8 (100)
P1_090725 vs. Cons ^c	99.3	99.4 (99.5)	99.7 (99.3)	98.4 (98.7)	99.6 (100)

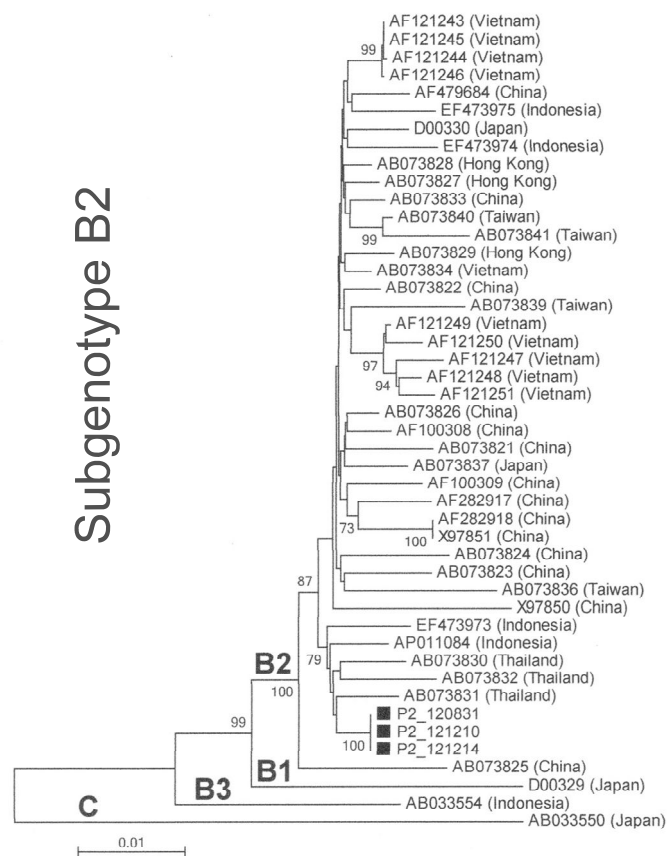


図2．全塩基配列に基づくHBVの分子系統樹 (症例2)

D . 考察

近年、分子標的薬や生物学的製剤などの新たな薬剤の出現によりHBVの再活性化例が増加しており、また再活性化例は重症化しやすいことが知られている。

通常、再活性化は免疫抑制剤や抗がん剤投与、あるいはHIV感染などにより惹起されるが、今回報告した2例はこれらの危険因子がないにもかかわらず、自然経過で再活性化した。いずれも高齢で手術後に発症しており、症例1は動脈硬化性疾患を、症例2は進行癌と糖尿病を合併していた。高齢、手術侵襲と、癌、動脈硬化性疾患、糖尿病などの免疫低下状態を伴う疾患が、再活性化の誘因となった可能性がある。

症例1からはwild typeが、症例2からはprecore mutantが検出されており、自然経過での再活性化はこれらのどちらにもみられることが示された。

E . 結論

免疫抑制剤や抗癌剤の投与なく、自然経過で再活性化した既往HBV感染の1例と、occult HBV感染の1例を報告した。再活性化は、wild type、precore mutantのどちらにもみられた。また高齢、手術侵襲と、癌、動脈硬化性疾患、糖尿病などの免疫低下状態を伴う疾患が、再活性化の誘因となった可能性が示された。

謝辞：HBVの遺伝子解析をして頂いた、自治医科大学医学部感染・免疫学講座ウイルス学部門、岡本宏明教授に深謝いたします。

F . 研究発表

1 . 論文発表

1) Hiroshi Kamitsukasa, Masanobu Iri, Akihisa Tanaka, Shigeo Nagashima, Masaharu Takahashi, Tsutomu Nishizawa, and Hiroaki Okamoto. Spontaneous

reactivation of hepatitis B virus (HBV) infection in patients with resolved or occult HBV infection. J Med Virol 87: 589-600, 2015

2 . 学会発表

なし。

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし。