C 型肝炎地域流行既往者の長期追跡成績 —HCV genotype からみた HCV コア抗原量の推移—

若山 葉子 勝又 聖夫 川田 智之

Natural course of hepatitis C virus carrier : genotype 1b versus 2a/2b in a long-term prospective study of patients in an HCV hyperendemic area of Japan

Yoko WAKAYAMA, Masao KATSUMATA and Tomoyuki KAWADA

We examined the natural course and clinical characteristics of 138 HCV carriers according to HCV genotypes. Stored serum samples obtained from patients were examined for HCV core antigen levels and HCV genotypes. Genotype 1b was found in 79 (57.2%), genotype 2a in 8 (5.8%), genotype 2b in 46 (33.3%) and genotype 1b+2b in 5 (3.6%) patients.

119 patients followed 20 years or more after infection excluding genotype 1b+2b were classified into two groups : genotype 1b and non-genotype 1b (2a and 2b : 2a/2b). The numbers of patients were 70 and 49 in the genotype 1b and genotype 2a/2b groups, respectively. Patients with genotype 2a/2b had significantly higher HCV core antigen levels 20 years after infection than those with genotype 1b. However, patients with genotype 1b had significantly higher ZTT and type IV collagen than those with genotype 2a/2b.

HCV core antigen levels in cases with genotype 1b did not increase 10 years or more after infection ; on the other hand, those with genotype 2a/2b increased significantly.

Key words : hepatitis type C, natural course, HCV genotypes, HCV core antigen, follow-up study

C型肝炎, 自然経過, HCV ジェノタイプ, HCV コア抗原, 追跡調査

I 緒 言

C型肝炎ウイルス (HCV) 感染は免疫機能正常な成人においても 60~80%が持続感染に移行し, 10~30 年の経過をもって慢性肝炎・肝硬変さらには肝癌の発生に大きく関与することが知られている。わが国においては主たる感染経路である輸血血液や血液製剤のスクリーニング技術の向上・予防対策の充実により新規感染者は激減しているが, 過去に感染した 100 万~200 万人の HCV 持

続感染者が存在していると考えられ, その多くが 60 歳以上の高齢者で占められ肝癌への進行が大きな問題となっている。インターフェロン (IFN)・抗ウイルス薬の開発導入さらにそれらの治療効果に影響を及ぼすウイルス遺伝子変異・宿主側要因の解明¹⁾は発がん率の抑制・生存率の改善などに大きく寄与し治療効果の予測も可能となってきたが, 高齢者・Genotype 1・高ウイルス量²⁾, さらに HCV に惹起される脂質代謝異常・糖代謝異常により治療効果が十分に得られない例も多く存在す

る³⁾。HCV 持続感染者の病態の進展には性別・年齢・生活習慣・IL28B 遺伝子多型などの宿主要因と HCV ウイルス量・遺伝子型・遺伝子変異などのウイルスの量的質的因子が相互に関連し、個々人の予後および治療効果を規定するものと考えられるが、HCV の長期にわたる生体内動態についてはまだ解明されていない点が多く、特に地域流行例における追跡研究は十分とは言えない。

著者らは当教室にて疫学調査を実施した 1962 年から 1968 年にかけて発生した主として HCV に起因する大規模なウイルス肝炎地域流行例において⁴⁾、HCV の量的動態と肝病態との長期的観察研究により、HCV 地域流行既往者の集団としての発症からの経過を把握しその特徴を明らかにした⁵⁾。本稿では、長期追跡できた同地域流行既往者を対象として HCV の量的動態に加え質的側面をふまえ治療効果や予後に影響を及ぼす HCV 遺伝子型に着目し、「病院患者」研究からは得られないウイルス肝炎地域流行既往者の長期にわたる自然経過から HCV の量的質的動態と肝病態の進展の関連性について検討を加えた。

II 対象と方法

1962～1968 年の地域流行発生時より実施した疫学調査により臨床像および肝機能検査成績などから発症年月日が確認された患者数は 678 名（男 398 名・女 280 名）であり、その後年一回の定期住民健康診査あるいは月 2 回の家庭訪問調査により継続して追跡が可能であったものは 461 名（10 年未満の追跡：91 名、10～19 年：68 名、20 年以上：302 名、最長追跡期間：39.7 年）であった。それらのうち 10 年以上の長期追跡ができた HCV 抗体検査を行った既往者 320 例について、HCV コア抗原および HCV genotype の検査を実施し（図 1）、genotype 別に HCV コア抗原量および肝機能など血清生化学値による肝病態の推移を比較検討した。なお、対象既往者はすべてインターフェロン（IFN）治療歴はない。

HCV 抗体（ELISA 法、CLEIA 法）、HCV コア抗原（RIA 固層法：IRMA 法）、B 型肝炎ウイルス

（HBV）抗原抗体：HBs 抗原・HBs 抗体・HBc 抗体（RIA 法、ELISA 法、PHA 法、CLIA 法）、HCV genotype（COBAS® Taq Man HCV test：RT-PCR 法：1a, 1b, 2a, 2b, 3a を特定）および IV 型コラーゲン、 α -フェトプロテイン（AFP）については -20°C で保存された凍結保存血清を用いて測定し、肝機能（AST, ALT）、ZTT、アルブミン（ALB）、総コレステロール（T-Cho）は採血直後に測定した。HCV 抗体・HCV コア抗原および HBV 抗原抗体は追跡期間中複数の時点で測定を実施し、HCV genotype は主に発症から 10～20 年経過時点で測定を実施した。なお、AST：41 Karumen 単位以上・ALT 36 Karumen 単位以上を異常値とし、追跡期間中に 1 項目二回以上、2 項目一回以上異常値を示したものを「肝機能異常」とした。発症前の輸血・手術歴および発症後（追跡期間中）の既往歴については定期住民健康診査時の問診成績を用いた。

群間の比率の有意差は Fisher's exact test および Kruskal-Wallis test、値の有意差は T-test および HCV コア抗原量については Mann-Whitney test を用いた。統計的有意水準は 5% とした。

本研究は日本医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。

III 成 績

HCV 抗体の保有が認められた 258 例のうち 184 例（71.3%）が HCV コア抗原陽性（ $\geq 20 \text{ fmol/L}$ ）であった。それらのうち 143 例について HCV genotype の検査を実施し、138 例において genotype が特定されたが 5 例については判定できなかった。138 例の内訳は 1b79 例（57.2%）・2a8 例（5.8%）・2b46 例（33.3%）・1b と 2b 重複 5 例（3.6%）であった（図 1）。HCV genotype 別の男女比、発症時年齢、HBV 抗体保有状況、輸血・手術歴、高血圧症・糖尿病の既往歴に有意差は認められなかった（表 1）。

1b と 2b 重複例を除いた 133 例のうち、追跡中死亡 11 例（1b8 例・2b3 例）・転出 3 例（1b1 名・2b2 名）を除き、20 年以上の長期にわたり追跡が

図 1 長期追跡既往者の HCV マーカー検出状況 (320 例)

表 1 HCV genotype 別追跡既往者の特徴 (138 例)

		HCV Genotype			
		1b n=79	2a n=8	2b n=46	1b & 2b n=5
性別					
	男/女	59/20	5/3	29/17	4/1
発症時年齢 (歳)					
	≥40/<40	39/40	4/4	24/22	3/2
発症前の輸血および手術歴					
	有/無	6/73	1/7	6/40	0/5
HBV 関連抗体 ^a					
	HBs 抗体 (+)/(-)	40/39	6/2	26/20	4/1
	HBc 抗体 (+)/(-)	50/29	6/2	32/14	5/0
既往歴					
	糖尿病 有/無	2/77	0/8	5/41	0/5
	高血圧症 有/無	29/50	4/4	22/24	1/4

^aHBs 抗原 (-)

可能であった 119 例について 1b 群 70 例と 2a/2b (非 1b) 群 49 例の 2 群に別け、発症時点から約 20 年経過した時点の HCV コア抗原量および血清生化学値を比較検討した。HCV コア抗原量は 2a/2b 群が 1b 群に比較して有意に高値を示し、ZTT・IV型コラーゲンでは 1b 群が 2a/2b 群に比較して有意に高値を示した (表 2)。

さらに、発症から約 5 年ごとに観察した約 20 年間の HCV コア抗原量の推移では、発症から約 10 年経過時点までは 1b 群・2a/2b 群ともに同様の増加傾向を示しているが、その後 1b 群では増減少なく推移し、2a/2b 群では増加が著しく約 15

年経過以降は 2 群間に有意差が認められた (図 2)。

IV 考 察

本地域流行既往者において各肝炎ウイルスマーカーの検索は凍結保存血清を使用し、HCV の量的動態は保存血清においても精度の高い成績が得られる HCV コア抗原検査により把握した。HCV genotype の測定は HCV コア抗原陽性者 184 例のうち血清の保存状態・血清量を考慮した上で 143 例について実施し、一定以上の抗原量 (HCV-RNA $\geq$ 1.2 LogIU/mL) が得られた 138 例について

表 2 発症から 20 年経過後の HCV genotype 別測定値 (119 例)

	HCV Genotype		p 値
	1b n=70	2a/2b n=49	
感染期間 (年) ^a	22.1±2.54	22.4±2.26	0.467
検査時年齢 (歳) ^a	62.5±10.7	63.2±9.9	0.720
HCV コア抗原 (fmol/L) ^a	3740.2±4029.7	6247.6±4797.6	0.003
肝機能異常持続期間 (年)			
≥20/<20	50/20	27/22	0.077
ZTT (k. u) ^a	14.8±3.84	11.9±4.28	<0.001
アルブミン (g/dL) ^a	4.3±0.51	4.5±0.42	0.070
IV型コラーゲン (ng/mL) ^a	199.7±101.7	150.8±56.7	0.001
α-フェトプロテイン (ng/mL) ^a	13.4±18.6	8.1±14.7	0.248
総コレステロール (mg/dL) ^a	158.0±32.7	175.4±51.5	0.231

^a平均値±SD

図 2 HCV genotype 別 HCV コア抗原の自然経過

検出された。HCV genotype は 1b・2a・2b が特定され、1b (57.2%) が最も多く 2b (33.3%) 2a (5.8%) の順であり、1b・2b 重複保有 (3.3%) も認められた。この分布はわが国の分布傾向とほぼ一致する^{6,7)}。1b は高齢および輸血歴との関連性が指摘されるが⁸⁾、本例では 1b と他の genotype において発症時年齢および輸血・手術歴に有意差は認められなかった。

HCV の持続感染による慢性炎症は肝線維化を促進し慢性肝炎から肝硬変さらに発がんへと進展し、線維化の程度に比例して発がん率も増加することが示され⁹⁾、HCV genotype による差異も指摘

されており、1b では肝硬変・肝癌への進展の割合が高い^{10,11)}。また、1b では他の genotype に比較して IFN・抗ウイルス薬による治療効果が充分に得られないものが多く²⁾ 予後に大きな課題を残している。本稿では本例において約 60% を占めた 1b と他の genotype (非 1b : 2a/2b) の長期にわたる自然経過の観察から地域流行例におけるそれぞれの genotype の HCV 動態と肝病態の特徴を把握した。

発症から 20 年経過時点における検索では HCV コア抗原量は 2a/2b 群が 1b 群に比較して有意に高い値を示したが、ZTT・IV型コラーゲン

では1b群が2a/2b群に比較して有意に高い値を示した。また、有意差は認められなかったが1b群は2a/2b群に比較して肝機能異常割合が高くアルブミン低値を示すなど発症後20年の時点においては血清生化学値からみた肝病態は1b群が2a/2b群に比較して進行している傾向が認められた。また、1b群はAFP値においても2a/2b群に比較して高値を示し、追跡期間中に肝硬変および肝がんが確認されたものが1b群13例（肝硬変6例、肝がん7例：発症時年齢 38.2 ± 11.6 歳）、2a/2b群3例（肝がん3例：発症時年齢 39.5 ± 11.8 歳）あり、地域流行例においても1bは他のgenotypeに比較して肝病態の進行が示唆された。しかし、1b群では2a/2b群に比較してコア抗原量は低値を示し、さらに、1b群・2a/2b群ともに肝がん・肝硬変移行例では非移行例に比較してHCVコア抗原量は低値を示す傾向が認められ、発症から20年経過時点においてはgenotype別にみた肝病態の進行とHCVコア抗原量の関連性は低いといえる。発症早期から長期にわたるHCVコア抗原量の推移では、発症後約10年経過時点まで1b群・2a/2b群は同様の増加傾向を示すも10年経過後1b群は増減少なく推移し、2a/2b群では1b群に比較して著しい増加傾向を示し15年経過以降は有意差が認められるなどHCV genotypeによりHCVコア抗原量の推移に差異のあることがわかりそれぞれの特徴を把握することができた。著者らはHCV持続感染者のHCVコア抗原の長期にわたる量的推移の観察から肝病態の進展は発症から比較的早期の抗原量の増加に関連がある可能性を指摘し報告した⁵⁾。HCV genotype別の発症から20年経過時点のHCVコア抗原量を同報告における各群に当てはめると発症早期からHCVコア抗原量が増加し肝病態が進展する群では1bが2a/2bに比較して高い割合を示し、発症から15年経過以降HCVコア抗原量の増加が著しいが肝病態の進展は少ない群では2a/2bが1bに比較して高い割合を示すことが示唆されたが、本例では1b群と2a/2b群の発症から早期のHCVコア抗原量の推移には著しい差異はなく、1b群の肝病態

の進展はHCVコア抗原の量的動態以外のHCV因子あるいはHCVと宿主因子との長期感染持続過程で構築される相互の関連性による可能性が推測される。

C型肝炎患者の治療効果および予後を規定する要因にはウイルスの量的質的因子のほかに宿主因子としてIL28Bが大きく注目されるようになり、遺伝子解析により個人・人種間における治療効果の差異についても解明されるようになったが¹⁾、治療抵抗性を示すIL28Bの症例に治療抵抗性のウイルスの感染が高頻度に認められるなどウイルスとの関連性も指摘されており¹²⁾、治療効果・予後に関与するウイルス因子の存在は大きいと考えられる。

近年、HCV感染により引き起こされる脂質代謝・糖代謝・鉄代謝などの代謝異常がウイルス量の増加・肝病態の進展に大きく関与することが明らかになり、C型慢性肝炎患者ではB型肝炎患者などに比較して脂肪肝・糖尿病の合併率が高いことも知られるようになった^{3,13)}。肝脂肪化はINFなどの治療効果を抑制する要因となり、高インスリン血症は肝がんの進展と正の相関を示すことなども明らかになり^{14,15)}、代謝異常はC型慢性肝炎患者の予後に大きな影響を及ぼすことが示唆され、その発生頻度はHCV genotypeにより異なることも指摘されている^{16,17)}。本例では肝脂肪化を示す検索はなされていないが、発症から約20年経過時点における総コレステロール値は1b群が2a/2b群に比較して低い値を示す傾向が認められた。また、本例において糖尿病の既往が確認されたものは1b群2名(2.5%)・2a/2b群5名(9.3%)であり2群間に有意差は認められなかったが、糖尿病の発症率はHCVコア蛋白量と関連するとされ¹⁸⁾、発症15年経過後から有意にHCVコア抗原量高値を示した2a/2b群が1b群に比較して高率を示す傾向が認められるなどHCV genotypeによる差異がみられた。

本稿ではHCV地域流行既往者のHCV genotype別の長期的なHCV抗原量の推移の特徴を明らかにし肝病態の進展を比較検討したが、今回、

肝病態の把握は発症後約 20 年経過時点に限定されたものであり、HCV genotype による HCV コア抗原量の推移の特徴と病態の進展との関連性については明確な知見を得るには至らなかった。1b および 2a/2b の HCV コア抗原量の推移の特徴から、その分岐となる発症後約 10 年経過時点に着目し、地域流行既往者において HCV genotype 個々の特徴を惹起する代謝異常などの要因が長期感染自然経過の中でいかに進行し肝病態の進展を促していくのか、その推移の把握・解析など今後の課題としていきたい。

V まとめ

ウイルス肝炎地域流行既往者を対象として、長期にわたる HCV 感染者の自然経過の観察から HCV genotype 別の HCV の量的推移と肝病態の特徴を明らかにした。

長期追跡できた HCV 感染者 138 例の HCV genotype は 1b が最も多く 57.2%を占め、続いて 2b 33.3%, 2a 3.6%であった。各 genotype における発症時年齢および輸血・手術歴などに有意差は認められなかった。1b 群と 2a/2b (非 1b) 群にわけ長期推移を検討した。発症から約 20 年間にわたる観察から、HCV の量的推移では 1b 群は発症から約 10 年までは 2a/2b 群とほぼ同様に HCV コア抗原量の増加が見られその後増減少なく推移するが、2a/2b 群では発症から約 10 年経過以後 HCV コア抗原量の増加著しく 1b 群に比較して有意に高値を示し推移した。発症から約 20 年経過時点における肝機能・IV型コラーゲン・AFP など血清生化学値からみた肝病態の進展は 1b 群が 2a/2b 群に比較して大きく、地域流行例においても 1b は他の HCV genotype に比較して肝病態の進行が認められたが、HCV の量的推移との関連性などの検討には、長期感染過程の中で感染早期からの詳細な解析が必要であると考ええる。

文 献

- 1) Ge D, Fellay J, Alexander J, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*, 2009 ; 461 : 399-401.
- 2) Senzaki H, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Poor response to pegylated interferon and ribavirin in older woman infection with hepatitis C virus of genotype 1b in high viral load. *Dig Dis Sci*, 2009 ; 54 : 1317-1324.
- 3) 藤永秀剛, 森屋恭爾, 小池和彦. 代謝性疾患としての C 型肝炎. *日本消化器病学会雑誌*, 2012 ; 109 : 535-543.
- 4) 若山葉子, 荒牧琢巳. 流行性非 A 非 B 型肝炎の追跡調査と HCV 抗体. *日本臨床*, 1991 ; 49 : 397-401.
- 5) 若山葉子, 勝又聖夫, 川田智之. HCV 持続感染者における HCV コア抗原量の長期的観察. *肝臓*, 2009 ; 50 : 35-37.
- 6) Isaacson AH, Davis GL, Lau YN. Should we test hepatitis C virus genotype and viraemia level in patients with chronic hepatitis C? *J Viral hepatitis*, 1997 ; 4 : 285-292.
- 7) Pawlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, et al. Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J Infect Dis*, 1995 ; 171 : 1607-1610.
- 8) Bowden DS, Berzsenyi MD. Chronic hepatitis C virus infection : genotyping its clinical role. *Future Microbiol*, 2006 ; 1 : 103-112.
- 9) Thorgeisson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*, 2002 ; 31 : 339-346.
- 10) Bruno S, Crosignani A, Maisonneuve P, et al. Hepatitis C virus genotype 1b as a major risk factor associated with hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis : a seventeen-year prospective cohort study. *Hepatology*, 2007 ; 46 : 1350-1356.
- 11) Stankovic-Djordjevic D, Djordjevic N, Tasic G, et al. Hepatitis C virus genotypes and the development of hepatocellular carcinoma. *J Dig Dis*, 2007 ; 8 : 42-47.
- 12) Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, et al. Pretreatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral function. *J Hepatol*, 2011 ; 54 : 439-448.
- 13) Mehta SH, Frederic J, Brancati, et al. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *Hepatology*, 2003 ; 38 : 50-56.
- 14) Saito K, Inoue S, Saito T, et al. Augmentation effect of postprandial hyperinsulinaemia on growth of human hepatocellular carcinoma. *Gut*, 2002 ;

1) Ge D, Fellay J, Alexander J, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced

- 51 : 100-104.
- 15) Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, et al. Hepatitis C virus infection and diabetes : direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology*, 2004 ; 126 : 840-848.
- 16) Homer I, Cue Y, Jason M, et al. Genotype-specific interactions of insulin resistance, steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2008 ; 48 : 723-731.
- 17) Poynard T, Ratziu V, Mchutchison J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology*, 2003 ; 38 : 75-85.
- 18) Kawaguchi T, Nagao Y, Tanaka K, et al. Causal relationship between hepatitis C virus core and the development of type 2 diabetes mellitus in a hepatitis C virus hyperendemic area : a pilot study. *Int J Mol Med*, 2005 ; 16 : 109-115.
- (受稿 2013.4.9 ; 受理 2013.6.27)
-