〈原 著〉

B 型慢性肝炎での抗ウイルス療法後の長期予後の指標としての albumin receptor 活性 (pHSA-BA) と pre-S 抗原の臨床的意義

武田 誠*

要 旨：抗ウイルス療法を施行した B 型慢性肝炎を対象に、pHSA-BA と pre-S 抗原を EIA 法により測定し、これらの臨床的意義を検討した。pHSA-BA 価と pre-S 抗原価は $r=0.961$ とよい相関を示した。抗ウイルス療法後に ALT の正常化が持続する症例では、pHSA-BA 価と pre-S 抗原価はともに 0.5 以下であった。1 年以上経過を観察しえた 28 例のうち治療直後にこれらのマーカーが 0.5 以下に低下したのは 8 例であり、うち 3 例 (38%) では pHSA-BA 価と pre-S 抗原価の再上昇に伴い ALT の異常を認めた。いずれのマーカーも 0.5 以下を維持した 5 例では経過観察期間中に ALT は持続的に正常であった。一方、0.5 以下に低下しなかった 20 例中 17 例 (85%) で ALT の異常が認められ、うち 5 例では HBe 抗原が持続的に陰性化していた。以上の結果より、抗ウイルス療法後の長期予後を加味した効果判定には pHSA-BA や pre-S 抗原の測定がきわめて有用であると考えられた。

索引用語： B 型慢性肝炎 抗ウイルス療法 pHSA-BA pre-S 抗原

緒 言

現在まで B 型慢性肝炎に対して種々の抗ウイルス療法が施行され、効果の判定は HBe 抗原の陰性化あるいは HBe 抗体への seroconversion (SC) を認めることが有効とされている。しかし、HBe 抗体へ SC した例の中にも血清トランスアミナーゼの異常が持続し、組織学的にも改善が認められない例が少なからず存在する¹⁻⁴⁾ことより DNA-polymerase (DNA-P) や HBe 抗原・抗体系の推移のみでは肝炎の鎮静化および長期予後を十分に評価しているとはいえない。最近、B 型肝炎ウイルス (HBV) が polymerized human serum albumin (pHSA) とそれに対するレセプターを介して特異的に肝細胞に接着することが知られている。また、これらのレセプターは HBV のクリアランスとも関係していることが指摘されている。pHSA に対するレセプターは HBV の gene S の上流の 163 のアミノ酸残基からなる pre-S 領域にコードされている⁵⁻⁸⁾。今回、HBV の albumin receptor 活性すなわち pHSA に対する binding activity (pHSA-BA) および pre-S 領域にコードされているポリペプチド (pre-S 抗原) を enzyme immunoassay (EIA) 法にて測定し、

抗ウイルス療法後の長期予後を予測するマーカーとなりうるか否かを検討したので報告する。

対象および方法

対象は抗ウイルス療法を施行した HBe 抗原陽性の B 型慢性肝炎 30 例である。性別は男性 25 例、女性 5 例で年齢は 25 歳から 47 歳でその平均年齢は 32.9 歳であった。全例で治療前に肝生検を施行し、その診断はヨーロッパ分類⁹⁾に従った。組織学的には慢性活動性肝炎 (CAH) が 29 例、慢性持続性肝炎 (CPH) が 1 例である。抗ウイルス療法前の HBe 抗原 (cut-off index) の平均値は 4.5、DNA-P の平均値は 897dpm、血清 alanine aminotransferase (ALT) の平均値は 127Karmen units (KU) であった (Table 1)。抗ウイルス療法は、インターフェロン (IFN) 単独投与が 27 例、ステロイド短期離脱と IFN との併用療法が 3 例である。Table 2 に IFN の種類、投与量、投与総量を記載した。治療前および治療後の各種ウイルスマーカーの測定は -20℃ 以下で凍結保存した血清にて測定した。pHSA-BA の測定は、Tsuji ら¹⁰⁾の方法に従い測定した。すなわち、HBs モノクローナル抗体を固相化したポリスチレン製マイクロタイタープレートにサンプル血清を 10 倍希釈して添加し、HBs 抗原を固相抗体と結合させた後、ペルオキシダーゼで標識した pHSA 溶液を添加し反応させ、o-phenylene diamine, urea perox-

* 京都府立医科大学第 3 内科

〈受付日 63 年 7 月 25 日〉

Table 1 Characteristics of patients with antiviral treatment.

No. of patients	30
Sex (M:F)	25:5
Age (yr)	32.9 ± 8.1 ^a
Histology	
CAH	29
CPH	1
HBeAg (RIA)	4.5 ± 1.5 ^a
DNA polymerase (dpm) ^b	897 ± 1394 ^a
ALT (KU) ^c	127 ± 111 ^a

CAH: chronic active hepatitis, CPH: chronic persistent hepatitis

^aexpressed as mean ± SD^bpositive ≥ 80 dpm^calanine aminotransferase; normal < 40 Karmen units**Table 2** Schedules of interferon administration.

	n	total dose (× 10 ⁶ IU)	period (days)
IFN-α (JRCBC)	6	84 ~ 184	35 ~ 52
IFN-β (Toray, Mochida)	12	84 ~ 240	15 ~ 42
γ IFN-α A (Takeda-Roche)	2	477	34
HLBI (Sumitomo-Welcome)	7	168 ~ 210	35
PSL+IFN-α	3	150	45 ~ 55

JRCBC: Japan Red Cross Blood Center

PSL: Prednisolone

Table 3 Method for assaying pHSA-BA.

microtiterplate coated with anti HBs (HBsAgmc-ELISA plate, Hepanostika, Organon)
— 0.09 ml of phosphate buffer
— 0.01 ml of serum sample
incubation for 1 hr at 37°C
wash with phosphate buffer
— 0.1 ml of peroxidase-labelled pHSA solution
incubation for 1 hr at 37°C
wash with phosphate buffer
— 0.1 ml of 0.4 mg/ml o-phenylene diamine 0.2 mg/ml urea peroxide phosphate-citrate buffer, pH 5.0
incubation for 40 min. in the dark at room temperature
— 0.05 ml of 4 N sulphuric acid
measurement of absorbance at 492 nm

ideにて発色後、Titertec Multiscanにて492nmの吸光度を測定しその酵素活性とした (Table 3). Pre-S抗原は、特殊免疫研究所 pre-S抗原 EIA キットを用いて測定した。抗 pre-S モノクローナル抗体を固相化したポリスチレン製マイクロタイタープレートにサンプル

Table 4 Method of dot hybridization for assaying serum HBV DNA.

100 μl of serum
— 50 μl of SDS/proteinase K solution
incubation for 2 hr at 70°C
extraction with phenol saturated with distilled water
extraction with phenol/chloroform/isoamyl alcohol
extraction with chloroform/isoamyl alcohol
precipitation with 99.5% ethanol and 100 μl NaCl
suspend in 10 μl of 1X TE
heat denaturation at 100°C
spot on the nitrocellulose membrane (NCM)
bake the NCM in a vacuum oven for 2 hr at 80°C
— prehybridization solution
incubation for 2 hr at 65°C
— hybridization solution with ³ H-HBV DNA probe
incubation for 20 hr at 37°C
wash with high salt washing solution
wash with low salt washing solution
dry in a vacuum oven for 30 min at 80°C
measurement of radioactivity by scintillation spectrometry

ル血清を10倍希釈して添加し、pre-S 抗原を固相抗体と結合させ、ペルオキシダーゼで標識した抗 pre-S モノクローナル抗体と反応させた後、pHSA-BA と同様の方法で発色させ測定し、その測定値を pre-S 抗原価とした。HBe 抗原・抗体は radioimmunoassay (RIA) 法で測定し、その判定は鈴木ら¹¹⁾の基準に従い行なった。DNA-P は Kaplan ら¹²⁾の方法で測定した。HBV DNA は、dot hybridization 法にて測定した。すなわち、サンプル血清100μl を SDS/proteinase K で処理後、phenol 抽出、エタノールにて核酸を沈殿させ10μl の1X TE buffer にて溶解させ熱処理により1本鎖とし、ニトロセルロース膜に吸着させ vacuum oven にて80°Cで加熱し固定後、nick translation 法により [³H] dTTP で標識した HBV DNA をプローブとして hybridization を行ない、シンチレーションカウンターで放射活性を測定した後、既知量の組み換え HBV DNA を段階希釈して得られた検量線を用いて定量化した (Table 4). 推計学的な有意差の検定は、Student の t-検定にて行なった。

成 績

1. HBe 抗原・抗体の推移と ALT の関係からみた抗ウイルス療法の有効性の評価

抗ウイルス療法を施行した30例中、治療後に HBe

Table 5 ALT and HBV associated viral markers before antiviral treatment.

	Responder ^a (Loss of HBeAg)	Non-responder (Positive HBeAg)
No. of patients	11	19
ALT (KU) ^b	200 ± 152	85 ± 41*
HBeAg (cut-off index)	4.4 ± 1.5	4.7 ± 1.6
DNA polymerase (dpm) ^c	768 ± 1375	1058 ± 1418
HBV DNA (pg/ml) ^d	1742 ± 1014	2540 ± 1459
pHSA-BA (OD 492nm)	1.86 ± 0.55	1.82 ± 0.69
pre-S Ag (OD 492nm)	1.90 ± 0.59	1.94 ± 0.74

values are mean ± SD, *p < 0.01; compared to responder

^a 5 cases seroconverted to anti HBe and 6 were seronegative for HBe Ag

^b alanine aminotransferase; normal < 40 Karmen units

^c positive ≥ 80 dpm

^d positive ≥ 80 pg/ml

Table 6 Deterioration of ALT, pHSA-BA and pre-S Ag after treatment.

pHSA-BA ^a pre-S Ag	Responder			Non-responder n = 17
	SN n = 6	SC n = 5	total n = 11	
A 0.5 >	1/3	0/1	1/4 (25%)	2/4 (50%)
B 0.5 <	2/3	3/4	5/7 (71%)	12/13 (92%)

^a values are just after treatment

Responder indicates persistent loss of HBeAg after treatment and Non-responder positive HBeAg.

抗原が持続的に陰性化した responder 群 (R 群) は 11 例であった。また、HBe 抗原が持続的に陽性ないしは一過性に陰性化した non-responder 群 (N 群) は 19 例であった。R 群と N 群間での治療前の ALT および各種ウイルスマーカーをそれぞれの平均値 (mean ± SD) で比較した。R 群での ALT (KU) は 200 ± 152, N 群でのそれは 85 ± 41 と R 群で有意 (p < 0.01) に高値であった。HBe 抗原 (cut-off index) は R 群で 4.4 ± 1.5, N 群で 4.7 ± 1.6 であった。DNA-P (dpm) は R 群で 768 ± 1,375, N 群で 1,058 ± 1,418, HBV DNA (pg/ml) は R 群で 1,742 ± 1,014, N 群で 2,540 ± 1,459 とそれぞれ R 群で低い傾向がみられたが、ばらつきが大きく、両群間で有意差は認めなかった。pHSA-BA 価と pre-S 抗原価はそれぞれ R 群で 1.86 ± 0.55 と 1.90 ± 0.59, N 群で 1.82 ± 0.69 と 1.94 ± 0.74 と両群間で有意差を認めなかった (Table 5)。

抗ウイルス療法施行後 1 年以上の経過を観察しえたのは 28 例である。このうち HBe 抗原が持続的に陰性化した R 群は 11 例であった。また、HBe 抗原が持続陽性の N 群は 17 例であった。R 群 11 例のうち HBe 抗原の陰性化 (seronegative; SN) したのは 6 例、HBe 抗体へ SC したのは 5 例であった。治療後の ALT の推

移を両群間で比較すると、R 群では 11 例中 5 例 (45%) に ALT の持続的な正常化を認め、6 例 (55%) に ALT の増悪を認めた。ALT が増悪した 6 例のうち 3 例が SN 例で、残りの 3 例が SC 例であった。N 群では 17 例中 14 例 (82%) に ALT の増悪を認めたが、残りの 3 例 (18%) では ALT の持続的な正常化と肝炎の鎮静化を認めた (Table 6)。

2. 抗ウイルス療法による pHSA-BA 価と pre-S 抗原価の推移

R 群と N 群別に抗ウイルス療法前後の pHSA-BA 価と pre-S 抗原価の推移を比較検討した。治療前には両群間で差は認めなかったが、治療後では R 群で pHSA-BA 価と pre-S 抗原価はともに減少する例が多く、治療後の平均値 (mean ± SD) は、pHSA-BA 価 1.15 ± 0.83, pre-S 抗原価 1.19 ± 0.96 と N 群のそれぞれ 1.55 ± 0.93, 1.61 ± 0.93 に比し低い傾向がみられたが両群間で有意差は認めなかった。N 群でも R 群と同様に治療後に減少傾向を認める例があるも、ほとんどの例で高値を持続していた (Fig. 1)。

一方、pHSA-BA 価と pre-S 抗原価との相関関係を調べる目的で抗ウイルス療法前後および経過観察期間中に測定したサンプル血清のうち at random に選んだ 50 points について pHSA-BA 価と pre-S 抗原価の相関性を検討すると相関係数 r = 0.961 とよい相関が得られた (Fig. 2)。

3. pHSA-BA 価および pre-S 抗原価の推移と ALT との関係からみた抗ウイルス療法の有効性の評価

抗ウイルス療法の現時点での治療目的は肝炎を鎮静化させ HBe 抗体陽性の無症候性 HBV キャリアの状態にすることと考えられる。著者が測定した HBe 抗体陽性無症候性 HBV キャリア 8 例の pHSA-BA 価は 0.09 から 0.34 で、pre-S 抗原価は 0.11 から 0.28 と全例で pHSA-BA 価および pre-S 抗原価はともに 0.5 以下であった。また、抗ウイルス療法後に pHSA-BA 価および pre-S 抗原価が減少した例では R 群および N 群で、pHSA-BA 価と pre-S 抗原価はともに 0.5 以下に低下していた (Fig. 1)。そこで抗ウイルス療法施行後 1 年以上の経過を観察しえた R 群の 11 例と N 群の 17 例について pHSA-BA 価と pre-S 抗原価が治療後にともに 0.5 以下に低下した群 (A 群) と 0.5 以上の群 (B 群) とに分類すると A 群は 8 例、B 群は 20 例であった。それぞれの群別に治療前の ALT と各種ウイルスマーカーをそれぞれの平均値 (mean ± SD) で比較した。A

Fig. 1 pHSA-BA and pre-S Ag before and after antiviral treatment.

群の ALT (KU) は 157 ± 164 , B 群のそれは 122 ± 88 と A 群が高い傾向を示したが両群間で有意差は認めなかった。DNA-P (dpm) は A 群が 97 ± 88 , B 群が $1,149 \pm 1,553$ と A 群が有意 ($p < 0.002$) に低値であった。HBe 抗原 (cut-off index) と HBV DNA (pg/ml) は A 群でそれぞれ 4.0 ± 0.9 と $1,735 \pm 820$, B 群で 4.7 ± 1.6 と $2,233 \pm 1,225$ といずれも A 群で低い傾向を示したが有意差は認めなかった。pHSA-BA 価は A 群と B 群でそれぞれ 1.42 ± 0.63 と 2.04 ± 0.54 と A 群で有意 ($p < 0.05$) に低値を示した。また, pre-S 抗原価もそれぞれの群で 1.46 ± 0.77 と 2.10 ± 0.58 であり pHSA-BA 価と同様の傾向を示したものの有意差は認めなかった。A, B 両群での治療後の HBe 抗原・抗体の推移を検討すると A 群での SC 例は 1 例, SN 例は 3 例であり, HBe 抗原持続陽性は 4 例であった。一方, B 群では SC 例と SN 例はそれぞれ 4 例と 3 例であり, HBe 抗原持続陽性は 13 例であった。また両群間で治療後の肝炎の増悪例を検討すると, A 群では 8 例中 3 例 (38%) で ALT の再上昇と DNA-P および HBV DNA と HBe 抗原の再陽性化を認めた。一方, B 群で

Fig. 2 Correlation between pHSA-BA and pre-S Ag.

Table 7 ALT and HBV associated viral markers before and after treatment.

		pHSA-BA* pre-S Ag	A 0.5 >	B 0.5 <
Treatment	before	No. of patients	8	20
		ALT (KU) ^b	157 ± 164	122 ± 88
		HBeAg (cut off index)	4.0 ± 0.9	4.7 ± 1.6
		DNA polymerase (dpm) ^c	97 ± 88	$1149 \pm 1553^*$
		HBV DNA (pg/ml) ^d	1735 ± 820	2233 ± 1225
		pHSA-BA (OD 492 nm)	1.42 ± 0.63	$2.04 \pm 0.54^{**}$
		pre-S Ag (OD 492 nm)	1.46 ± 0.77	2.10 ± 0.58
	after	Seroconverted to anti HBe	1	4
		Seronegative for HBeAg	3	3
		HBeAg positive	4	13
		Deterioration of ALT	3 (38%)	17 (85%)

values are mean $\pm$ SD, * $p < 0.002$, ** $p < 0.05$; compared to A

^a values are just after treatment

^b alanine aminotransferase; normal < 40 Karmen units

^c positive ≥ 80 dpm

^d positive ≥ 80 pg/ml

は 20 例中 17 例 (85%) で同様の異常を伴った肝炎の増悪を認めた (Table 7)。また, 両群での HBe 抗原・抗体の推移と肝炎の増悪との関係を検討すると, A 群では HBe 抗原が陰性化した 4 例中 1 例 (25%) と HBe 抗原持続陽性 4 例中 2 例 (50%) に肝炎の増悪を認めたが, B 群では, SC した 3 例と SN の 2 例を含めた 7 例中 5 例 (71%) で肝炎の増悪を認め, HBe 抗原が持続陽性のものでは 13 例中 12 例 (92%) で肝炎の増悪が認められた (Table 6)。以下, それぞれの代表例を呈示する。

症例 1 (Fig. 3 上段): 29 歳, 男性, HBe 抗原陽性慢性活動性肝炎。IFN 治療により DNA-P は陰性化し,

Fig. 3 Upper case is a 29 year-old man with CAH. HBeAg became negative and seroconverted to anti HBe while receiving IFN treatment. Both DNA-P and HBV DNA became negative. In this case, pHSA-BA and pre-S Ag decreased and remained under 0.5 during and after treatment. ALT remained normal. Lower case is a 39 year-old man with CAH. He became negative for HBeAg and seroconverted to anti HBe after IFN treatment. DNA-P became also negative and ALT remained normal. However, ALT elevated with positive DNA-P and HBV DNA one year after treatment. In this case, pHSA-BA and pre-S Ag remained over 0.5 in spite of IFN treatment.

ALT も正常化した。HBe 抗原の陰性化後に HBe 抗体への SC を認めた。この例では pHSA-BA 値および pre-S 抗原値はともに治療後に 0.5 以下に低下し、その

Fig. 4 Upper case is a 25 year-old woman with CAH. HBeAg remained positive even on IFN treatment. However, ALT remained normal during a follow-up period. In this case, pHSA-BA and pre-S Ag decreased and remained under 0.5 after treatment. Lower case is a 25 year-old man with CAH. HBeAg remained positive in spite of IFN treatment. DNA-P became transiently negative and ALT elevated after treatment. In this case, pHSA-BA and pre-S Ag decreased transiently under 0.5 and then increased over 0.5 after treatment.

値を持続した。本例では、その後も肝機能の増悪を認めていない。

症例 2 (Fig. 3 下段) : 39 歳, 男性, HBe 抗原陽性慢性活動性肝炎。IFN 治療により, DNA-P と HBV DNA は持続的に陰性化した。ALT も正常範囲を持続

し、HBe 抗原の陰性化後に HBe 抗体へ SC し、その抗体価は90%以上の阻止率を維持していたが、1年後に DNA-P と HBV DNA の再上昇に伴い ALT の増悪を認めた。この例では IFN 治療後も pHSA-BA 価および pre-S 抗原価は0.5以上の高値を持続していた。

症例3 (Fig. 4 上段): 25歳、女性、HBe 抗原陽性慢性活動性肝炎。IFN 治療後も HBe 抗原が持続的に陽性であり、DNA-P と HBV DNA はともに低値陽性であるが、4年以上の経過観察期間中に ALT の増悪を認めていない。本例では pHSA-BA 価および pre-S 抗原価はともに治療後に0.5以下となり、その後も低値を持続していた。治療後の経時的肝生検で組織学的な改善を認めた。

症例4 (Fig. 4 下段): 25歳、男性、HBe 抗原陽性慢性活動性肝炎。症例3と同様に HBe 抗原持続陽性であるが、IFN 治療により DNA-P の陰性化にともなって ALT も正常化した。pHSA-BA 価および pre-S 抗原価はともに0.5以下に低下したが、その後再び上昇し高値を持続した。本例では pHSA-BA 価や pre-S 抗原価の上昇に伴い DNA-P も再び高値となり ALT の増悪を来した。

考 察

B 型慢性肝炎の経過中に HBe 抗原が陰性化ないしは HBe 抗体へ SC すると肝炎が鎮静化することはよく知られている。しかし、HBe 抗体持続陽性例の中にも ALT の異常を認める例があり、その頻度は23%~32%に認められる^{2~4)}。このような例では肝組織所見の改善は認められず、むしろ組織学的にも増悪している例が多い^{1~4)}。従って、抗ウイルス療法の効果を HBe 抗原・抗体系のみから評価することは肝炎の治療という面からは不十分と思われる。

Matsushashi ら¹³⁾によって HBs 抗原陽性患者の血清中に pHSA に対する反応因子が存在することが報告され、その後この因子は HBV 関連粒子の表面蛋白上に存在する pHSA に対するレセプターであることが明らかとなった¹⁴⁾。また、肝細胞膜表面上にも同様のレセプターが存在することも知られており¹⁵⁾、HBV が pHSA を介する系によって肝細胞と接着し核に入り増殖を開始すると考えられている^{10,14)}。B 型急性肝炎においては、このレセプターに対する抗体が Dane 粒子そのものに対する抗体であり HBV の中和抗体として注目されている¹⁶⁾。また、pHSA-BA 価の高低が B 型急性肝炎の治療期間あるいは慢性化と密接に関係しているとの報告もみられる^{17,18)}。pHSA そのものに対

する抗体もまた、同様の臨床的意義を有している¹⁹⁾。従って、pHSA および pHSA に対するレセプターは HBV のクリアランスに重要な役割を演じていると考えられる。また、pHSA に対するレセプター活性は gene S の上流にある pre-S 領域にコードされている^{5~8)}。今回の成績では、pHSA-BA 価と pre-S 抗原価は $r=0.961$ と非常によい相関関係が認められ、pHSA-BA 価と pre-S 抗原価は密接な関係にあることが示された。HBe 抗体陽性の無症候性 HBV キャリアでは、pHSA-BA 価および pre-S 抗原価はともに極めて低値である。一方、HBe 抗原陽性の HBV キャリアでは両者は高値であることが報告されている^{10,17)}。また、HBe 抗体陽性でも DNA-P や HBV DNA が陽性の慢性肝炎では肝炎の活動性が高いことも指摘されている^{1,20)}。pHSA-BA 価や pre-S 抗原価は、慢性肝炎、肝硬変と病態が進行するにつれ、DNA-P や HBV DNA と同様に低値となる傾向がみられ^{10,17)}、DNA-P や HBV DNA とともによい相関関係がみられる^{10,14,18)}ことより HBV の新しい増殖マーカーとして注目されている。

今回の成績では、抗ウイルス療法後に HBe 抗原の持続的な陰性化を認めたのは28例中11例であり、そのうち6例(55%)でその後の経過観察期間中に ALT の増悪を認めた。また、ALT の増悪は HBe 抗体へ SC した5例中3例(60%)でも認められた。一方、HBe 抗原が持続陽性のものでは17例中14例(82%)に ALT の異常が持続したが、うち3例(18%)で ALT の持続的な正常化がみられた。しかし、HBe 抗原の有無とは関係なく pHSA-BA 価や pre-S 抗原価の面から抗ウイルス療法の効果を検討すると、ALT が持続的に正常化した例では pHSA-BA 価および pre-S 抗原価はほとんどの例で0.5以下であった。そこで pHSA-BA 価と pre-S 抗原価が治療後0.5以下に低下するものを抗ウイルス療法の有効群とし、0.5以上を無効群として検討した成績では、持続的に0.5以下を維持しえない例では全例で ALT の増悪がみられた。一方、治療後に0.5以下に低下しその値を維持する例では13カ月から72カ月間の経過観察期間中に ALT の悪化は1例も認めなかった。治療後も0.5以上を持続する無効群では20例中17例(85%)で ALT の異常がみられ、うち5例は HBe 抗原が持続的に陰性化していた。以上のことより、抗ウイルス療法の効果判定には肝炎の鎮静化を含めた判定基準が必要である。その意味からも治療後の持続的な ALT の正常化が効果判定の一項目となる必要があ

り、治療後の予後を加味した判定には pHSA-BA 価や pre-S 抗原価の測定がきわめて有用であることが今回の成績で明らかとなった。従って、抗ウイルス療法の評価判定には、HBe 抗原・抗体に加えて pHSA-BA 価や pre-S 抗原価を含めた総合的な判定が必要である。これらマーカーの測定は簡便であり、かつ結果の判定が短時間でできることなど日常臨床上きわめて有用な検査法であると思われる。また、pHSA-BA 価と pre-S 抗原価との間にはきわめてよい相関関係が認められることより、臨床の場ではいずれか一方の測定のみで十分である。HBV キャリアの自然経過の観察においても pHSA-BA 価が低値な例では高率に HBe 抗原の陰性化、HBe 抗体への SC を認める¹⁰⁾ことが知られており、pHSA-BA 価は慢性肝炎のみならず HBV キャリアの follow-up にも有用な検査法である。以上のことから、pHSA-BA や pre-S 抗原の測定法は簡便であり B 型慢性肝炎の種々の抗ウイルス療法の効果判定にも有用と思われるため今後、臨床の場で広く用いられることが期待される。

謝辞：御校閲を賜りました瀧野辰郎教授ならびに直接の御指導と御校閲をいただいた明石市立市民病院内科部長、奥野忠雄博士と本研究のために御協力いただいた第 3 内科肝炎グループの諸先生に深謝いたします。また、ベルオキシダーゼ標識 pHSA を供与していただきました岡山大学第 1 内科、辻 孝夫教授に謝意を表します。尚本研究の一部は厚生省難治性の肝炎調査研究班の補助による。

本論文の要旨は、第 29 回日本消化器病学会大会（山梨県、1987）にて発表した。

文 献

- 1) Hadziyannis SJ, Lieberman HM, karvountzis GG, et al: Analysis of liver disease, nuclear HBcAg, viral replication and hepatitis B virus DNA in liver and serum of HBeAg vs. anti-HBe positive carriers of hepatitis B virus. *Hepatology* 3: 656—662, 1983
- 2) Davis GL, Hoofnagle JH, Waggoner JG: Spontaneous reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 86: 230—235, 1984
- 3) 奥野忠雄, 阿部芳道, 瀧野辰郎: インターフェロン単独療法後の B 型慢性肝炎の長期予後—抗ウイルス剤非投与例との比較による検討—, 「B 型慢性肝炎の治療: 病態からみた評価」瀧野辰郎, 古田精市 編, 国際医書出版, 東京, 80—87, 1987
- 4) 奥野忠雄, 武田 誠, 中島年和, 他: HBe 抗体持続陽性 B 型慢性肝疾患での HBV の spontaneous reactivation の検討. *肝臓* 28: 399—404, 1987
- 5) Machida A, Kishimoto S, Ohnuma H, et al: A hepatitis B surface antigen polypeptide [P31] with the receptor for polymerized human as well as chimpanzee albumins. *Gastroenterology* 85: 268—274, 1983
- 6) Neurath AR, Kent SBH, Strick N, et al: Hepatitis B virus contains pre-S gene-encoded domains. *Nature* 315: 154—156, 1985
- 7) Tiollais P, Pourcel C, Dejean A: The hepatitis B virus. *Nature* 319: 489—495, 1985
- 8) Ohnuma H, Takahashi K, Kishimoto S, et al: Large hepatitis B surface antigen polypeptides of Dane particles with the receptor for polymerized human serum albumin. *Gastroenterology* 90: 695—701, 1986
- 9) International Group: Acute and chronic hepatitis revisited. *Lancet* 2: 914—919, 1977
- 10) Tsuji T, Yamamoto I, Tsuchiya M, et al: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of receptors for polymerized human serum albumin on hepatitis B surface antigen particles. *J Immunol Methods* 73: 357—366, 1984
- 11) 鈴木 宏, 飯野四郎, 市田文弘, 他: Radioimmunoassay による e 抗原, e 抗体の測定について. *肝臓* 21: 1304—1309, 1980
- 12) Kaplan PM, Greenman RL, Gerin JL, et al: DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. *J Virol* 12: 995—1005, 1973
- 13) Matsushashi T, Hosokawa Z: Reactants to human serum albumin-coated red cells found in Au(1)-positive sera. *Jpn J Exp Med* 42: 183—185, 1972
- 14) Imai M, Yanase Y, Nojiri T, et al: A receptor for polymerized human and chimpanzee albumins on hepatitis B particles co-occurring with HBeAg. *Gastroenterology* 76: 242—247, 1979
- 15) Lenkei R, Onica D, Ghetie V: Receptors for polymerized albumin on liver cells. *Experientia* 33: 1046—1047, 1977
- 16) Alberti A, Pontisso P, Schiavon E, et al: An antibody which precipitates Dane particles in acute hepatitis type B: relation to receptor sites which bind polymerized human serum

- albumin on virus particles. *Hepatology* 4: 220—226, 1984
- 17) Pontisso P, Alberti A, Bortolotti F, et al: Virus-associated receptors for polymerized human serum albumin in acute and in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 84: 220—226, 1983
 - 18) Budkowska A, Dubreuil P, Capel F, et al: Hepatitis B virus pre-S gene-encoded antigenic specificity and anti-pre-S antibody: relationship between anti-pre-S response and recovery. *Hepatology* 6: 360—368, 1986
 - 19) Lee WM, McLeod L, Martin K, et al: Antibodies to polymerized human serum albumin in acute and chronic liver disease. *Hepatology* 7: 906—912, 1987
 - 20) Matsuyama Y, Omata M, Yokosuka O, et al: Discordance of hepatitis B e antigen/antibody and hepatitis B virus deoxyribonucleic acid in serum. Analysis of 1063 specimens. *Gastroenterology* 89: 1104—1108, 1985

Binding activity to polymerized human serum albumin and pre-S antigen as predicting markers of prognosis in patients with chronic hepatitis B, who were treated with antiviral agents

Makoto TAKEDA*

We studied the clinical significance of the binding activity to polymerized human serum albumin (pHSA-BA) and pre-S antigen (pre-S Ag) as predicting markers of prognosis in patients with chronic hepatitis B (CHB) with antiviral treatment. The pHSA-BA and pre-S Ag were measured using enzyme immunoassay and their values were expressed as optical density at 492 nm (negative < 0.5). There was a good correlation between pHSA-BA and pre-S Ag titers with $r=0.961$. The levels of pHSA-BA and pre-S Ag decreased under 0.5 in 8 patients (Group A) just after treatment, while in the remaining 20 patients (Group B), these levels were persistently over 0.5 after treatment. Five patients (62%) in Group A had persistently normal alanine aminotransferase (ALT) levels during a follow-up period after treatment, while the remaining 3 had elevated ALT levels with elevation of pHSA-BA and pre-S Ag levels after treatment. Two of the these 5 patients were positive for HBeAg. Seventeen patients (85%) in Group B had elevated ALT levels, with 2 being negative for HBeAg and 3 positive for anti HBe. These results indicate that pHSA-BA and pre-S Ag may be useful markers in predicting the long-term prognosis of CHB patients with antiviral treatment.

* Third Department of Internal Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine (Kyoto)