

氏 名（本籍） <sup>にい</sup>新 <sup>つま</sup>妻 <sup>ひろ</sup>宏 <sup>ふみ</sup>文

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 3 1 4 2 号

学位授与年月日 平成 11 年 3 月 3 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴 平成元年 3 月 24 日  
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 B 型慢性肝炎の臨床病態に関する B 型肝炎ウイルス側因子の検討

（主 査）

論文審査委員 教授 豊 田 隆 謙 教授 大 槻 昌 夫

教授 服 部 俊 夫

# 論文内容要旨

## 【目 的】

B型慢性肝炎において、病態の差異を規定するウイルス側の因子について、B型肝炎ウイルスのプレコア変異やウイルス量の面から検討する。特にHBe抗原陰性期の、肝機能正常者と肝機能異常者の差を説明可能であるか否かについて着目する。

## 【方 法】

HBVプレコア第28コドンが停止コドンになる変異（プレコア変異）を定量的に測定するPCR-RFLPの系を独自に開発した。ウイルス量の定量はPCR end point dilution法を用いた。

## 【結 果】

HBVを組み込んだプラスミドを用いて、独自に開発したPCR-RFLPによるプレコア変異の検出系の特異性と定量性が確認された。野生株および変異株が10%存在すると混在型と判定できた。臨床検体のプレコア第28コドンの検討では、HBe抗原陽性ASC（無症候性キャリア）は野生株のみを認めた。HBe抗原陽性期に比しHBe抗原陰性期で変異株を多く認めたが、HBe抗原陰性ASCとCH（慢性肝炎）の間ではプレコア変異株を認める頻度に差がなく、肝炎の有無をプレコア変異で説明することはできなかった。HBe抗原陰性期にプレコア野生株のみを認めた27例のシーケンスを行い、24例で塩基配列が決定され、4例で第28コドン以外のHBe抗原非産生となる変異を認めたが、20例ではHBe抗原非産生となる変異は認めなかった。

HBV-DNA量については(1)HBV-DNA量がB型慢性肝炎の病態を規定しているかを検討するため各病期のウイルス量を検討した。HBe抗原陽性ASCでは $10^{7.50 \pm 0.53}$ コピー/ $\mu\text{L}$ 、HBe抗原陽性CHでは $10^{5.60 \pm 0.84}$ コピー/ $\mu\text{L}$ 、HBe抗原陰性CHでは $10^{3.60 \pm 1.35}$ コピー/ $\mu\text{L}$ 、HBe抗原陰性ASCでは $10^{0.70 \pm 0.68}$ コピー/ $\mu\text{L}$ と各群間に有意差( $p < 0.0001$ )を認め、HBe抗原陽性ASC、HBe抗原陽性CH、HBe抗原陰性CH、HBe抗原陰性ASCの順にウイルス量が減少していることが示された。(2)野生株のみが検出されるにもかかわらずHBe抗原が陰性である機序をウイルス量から検討した。HBe抗原陰性症例は $10^{2.10 \pm 1.45}$ コピー/ $\mu\text{L}$ 、HBe抗原低値陽性症例は $10^{4.00 \pm 1.13}$ コピー/ $\mu\text{L}$ と前者で有意にウイルス量は低値であり、野生株のみでもウイルス量が減少すればHBe抗原が陰性化することが明らかになった。(3)HBe抗原陰性B型慢性肝炎において野生株と変異株で病原性が異なるのか、ウイルス量のみで病態が規定されるのかについて検討した。プレコア野生株のみを持つCHは $10^{3.22 \pm 1.09}$ コピー/ $\mu\text{L}$ 、プレコア野生株のみを持つASCは $10^{1.18 \pm 0.98}$ コピー/ $\mu\text{L}$

$\mu\text{L}$ ，プレコア変異株のみをもつ CH は  $10^{3.43 \pm 1.51}$  コピー/ $\mu\text{L}$ ，プレコア変異株のみを持つ ASC は  $10^{0.80 \pm 0.79}$  コピー/ $\mu\text{L}$  であり，プレコア変異の有無に関わらずウイルス量により肝炎の有無が規定されており，野生株と変異株で病原性に差はないと考えられた。(4) HBV-DNA 量の治療効果予測に対する有用性をみるためインターフェロン治療前後における HBV-DNA 量とインターフェロン治療効果の相関について検討した。治療開始時のウイルス量は治療効果と無関係であったが，治療終了時のウイルス量は再増悪なしに鎮静化した群では， $10^{1.00 \pm 0.71}$  コピー/ $\mu\text{L}$  であり，再増悪後に鎮静化した群 ( $10^{4.33 \pm 2.66}$  コピー/ $\mu\text{L}$ ) や無効群 ( $10^{3.93 \pm 1.99}$  コピー/ $\mu\text{L}$ ) より有意に ( $p=0.0243$  及び  $p=0.0024$ ) 低値であった。

### 【結 論】

HBe 抗原陰性 ASC と CH の差異を検討すると，血清中の B 型肝炎ウイルスのプレコア変異の頻度に関して有意差は無いが，ウイルス量は前者で有意に少なく，肝炎の鎮静化はウイルス量の減少と有意に関連した。野生株のみでも HBe 抗原が陰性化するウイルス量の境界線は  $10^4$  コピー/ $\mu\text{L}$ ，肝炎が鎮静化するウイルス量の境界線は  $10^2$  コピー/ $\mu\text{L}$  であった。また，インターフェロン療法の治療効果が治療終了時の血清中のウイルス量と有意に関連し，治癒が高率に期待できるウイルス量の境界線は  $10^4$  コピー/ $\mu\text{L}$  であった。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文では B 型慢性肝炎の病態を規定する因子について、B 型肝炎ウイルスのプレコア変異やウイルス量の面から検討した。

初めに HBV プレコア第 28 コドンが停止コドンになる変異（プレコア変異）を定量的に測定する PCR-RFLP の系を独自に開発し、臨床検体の検討を行った。HBe 抗原陽性 ASC では野生株のみが検出されること、HBe 抗原陽性期に比し HBe 抗原陰性期で変異株を多く認めるが、HBe 抗原陰性 ASC と CH の間ではプレコア変異株を認める頻度に差がなく、肝炎の有無をプレコア変異で説明することはできず、HBe 抗原陰性期にプレコア野生株のみを認めた症例のシーケンスでも、大多数では HBe 抗原非産生となる変異は認めないことを明らかにした。本研究は HBe 抗原陰性 ASC と CH では血清中の B 型肝炎ウイルスのプレコア変異の頻度に有意差がないことを、初めて多数例で検討して明らかにした研究であり、*J. Med. Virol.*, 1995, 46 : 397-402 に報告した。

また、PCR を用いた高感度な定量系を確立して、HBeAb 陽性期のような低ウイルス量の場合でも HBV-DNA 量の定量を可能にして、(1) HBV-DNA 量が B 型慢性肝炎の病態を規定しており、HBe 抗原陽性 ASC、HBe 抗原陽性 CH、HBe 抗原陰性 CH、HBe 抗原陰性 ASC の順に有意にウイルス量が減少していること、(2) 野生株のみでもウイルス量が減少すれば HBe 抗原が陰性化すること、(3) プレコア変異の有無に関わらずウイルス量により肝炎の有無が規定されており、野生株と変異株で病原性に差はないこと、(4) インターフェロン治療開始時のウイルス量は治療効果と無関係だが、治療終了時のウイルス量は再増悪なしに鎮静化した群では再増悪後に鎮静化した群や無効群より有意に低値であることを明らかにした。本研究は、野生株のみでも HBe 抗原が陰性化するウイルス量、肝炎が鎮静化するウイルス量、インターフェロン療法にて治癒が高率に期待できる治療終了時の血清中のウイルス量などを、初めて具体的な数値として明らかにしており、*Am. J. Gastroenterol.*, 1997, 92 : 119-123 に報告した。

いずれもオリジナリティーのある研究で学位論文に値すると考えられた。