

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460986

研究課題名(和文) HBe抗原陰性慢性肝炎の病態と発症予測

研究課題名(英文) Clinical and virological conditions of HBe antigen negative hepatitis B

研究代表者

田中 榮司 (TANAKA, Eiji)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：50163506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：B型肝炎の診療において、HBe抗原陰性慢性肝炎は間欠的に激しい肝炎を起こす傾向があり、肝硬変や肝臓へ進行しやすいことが報告されている。今回、この病態を検討し以下のことを明らかにした。HBe抗原セロコンバージョン後2年以降のALT上昇はHBe抗原陰性慢性肝炎と評価され、この発症予測にはALT値、HBV DNA量、HBcrAg量が有用であった。HBVのPre-core変異とウイルス量はセロコンバージョン前後で逆の関連がみられた。WFA+-M2BPはB型肝炎の肝線維化および肝発癌の予測に有用であった。これらの成績は、HBe抗原陰性慢性肝炎例の予後改善に役立つことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Patients with HBe antigen negative hepatitis B tend to show severe hepatitis, and thus tend to develop cirrhosis and hepatocellular carcinoma. We analyzed clinical and virological conditions of such patients in this study, and obtained the following three conclusions. The first, ALT abnormality after 2 years of seroconversion (SC) may be evaluated as HBeAg-negative hepatitis. ALT, HBV DNA and HBcrAg levels may be useful in predicting the outcome of patients who showed HBeAg SC. The second, there is an opposite association of the pre-core mutation with viral load before and after HBeAg seroconversion in patients with HBV infection. The third, WFA+-M2BP level is useful to predict levels of hepatic fibrosis and risks of hepatocarcinogenesis. Those results may be beneficial to improve prognosis of patients with HBe antigen negative hepatitis B.

研究分野：ウイルス肝炎の病態と治療

キーワード：B型肝炎 HBe抗原 セロコンバージョン HBcr抗原 Mac-2 binding protein 肝線維化 肝細胞癌

1. 研究開始当初の背景

B型肝炎は種々の病態を呈するが、この中で、HBe 抗原陰性慢性肝炎は間欠的に激しい肝炎を起こす傾向があり、肝硬変や肝癌へ進行しやすいことが報告されている。しかし、この肝炎発症と HBe 抗原セロコンバージョン (SC) との関連や HBV 遺伝子変異との関連は必ずしも明らかにされていない。また、肝線維化進行や肝発癌などの予後との関連も不明である。このため、HBe 抗原陰性慢性肝炎の病態を明らかにし、発症予測を可能にするための研究を計画した。

2. 研究の目的

今回、以下の3点を具体的な目的として検討を行った。

(1) SC 後の ALT 値の推移から HBe 抗原陰性慢性肝炎を定義し、この発症例と非発症例を比較検討することにより HBe 抗原陰性慢性肝炎発症と関連する因子を検討する。

(2) HBe 抗原の非産生と密接に関連している pre-core (pre-C) と basal core promotor (BCP) 変異と HBe 抗原陰性慢性肝炎発症との関連を明らかにする。

(3) 肝線維化の進行や肝発癌を予測する新規因子を検討する。

3. 研究の方法

(1) HBe 抗原 SC 前3年から後3年以上経過観察可能であった B 型慢性肝炎の 36 例を対象とし、ALT 値、HBV DNA 量、HBs 抗原量、HBcr 抗原量、HBe 抗原非産生変異などの SC 前後での推移を比較検討した。

(2) HBe 抗原持続陽性群 18 例、SC 群 25 例、HBe 抗体持続陽性群 43 例を対象とし、観察前後で Pre-C / BCP 変異、HBV DNA 量、HBs 抗原量、HBcr 抗原量を測定した。

(3) 肝生検を施行した無治療の B 型慢性肝炎・肝硬変患者 112 例を対象に、肝の線維化マーカーとして新規に報告された WFA+-M2BP の意義を検討した。線維化との関連に加え、経過観察中の肝発癌との関連も検討した。

4. 研究成果

(1) SC 前後に、1年間以上 ALT 値が正常化した最初の時点から SC に伴う肝炎終息と定義すると、SC 後2年目までは肝炎の終息する症例が多く、それ以降は少なくなった (図1)。このため、SC 後2年目以降の肝炎を HBe 抗原陰性慢性肝炎として定義した。SC 後2年目以降の ALT 値の平均 AUC の分布をみると 30 IU/L を境に2峰性の分布を示した。このため、平均 AUC が 30 IU/L 以上を HBe 抗原陰性慢性肝炎と定義し、30 IU/L 未満の症例との間で、ALT 値、HBV DNA 量、HBs 抗原量、HBcr 抗原量、HBe 抗原非産生変異などの SC 前後での推移を比較検討した。HBe 抗原陰性慢性肝炎発症を予測する因子としては、SC 後2年目の ALT 値の異常が多変量解析で有意な因子であった。次に、SC 後2年目の ALT 値が正常の症

例に限って検討すると、この時点での HBcr 抗原量と HBV DNA 量の高値が有意の因子であった (図2)。以上より、SC 後2年以上肝炎が持続する症例を HBe 抗原陰性慢性肝炎と診断するのが適切と考えられた。ALT 値が一旦正常化しても、HBcrAg 量 (3.9 U/ml 以上) または HBV DNA 量 (4.5 log copy/ml 以上) が高値の症例では同肝炎発症の危険性が高かった。これまで HBe 抗原陰性慢性肝炎を具体的な数値で定義した報告は無く、同疾患を解析する上で重要な知見と考えられた。今回の結果から考えると、SC 後2年間は ALT 値の異常があっても経過をみるのが基本的なスタンスであると言える。これにより、過剰な核酸アナログの投与が避けられる可能性がある。一方、SC 後2年経過し、ALT 値が正常であっても、HBV DNA や HBcr 抗原が高値の症例では、その後 ALT 値の異常が出現する可能性があり、この情報は SC 症例の経過観察に有用である。(発表論文1参照)

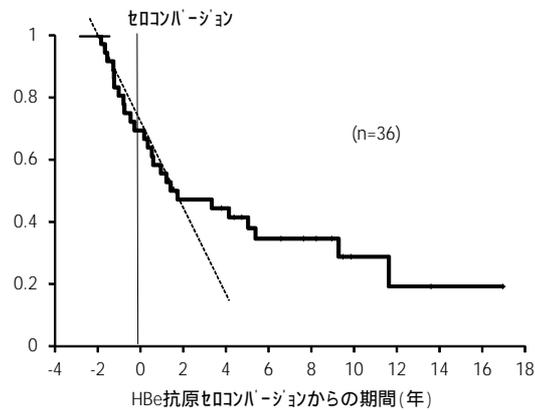


図1. HBe 抗原セロコンバージョン前後での肝炎を有する率の推移  
Y軸: 肝炎を有する率

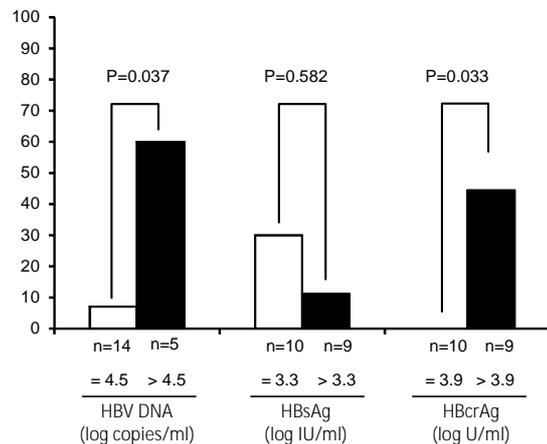


図2. HBe 抗原セロコンバージョン後2年目にALT値が正常の症例における、その後のALT値異常出現率の比較  
Y軸: ALT値異常出現率

(2) Pre-C 変異は、HBe 抗原陽性時には陽性率は低く、SC 前後で陽性率が高くなる傾向がみられた。HBe 抗体陽性時には約 60%が Pre-C 変異陽性であり、その後の変化は少なかった。これに対し BCP 変異は、HBe 抗原陽性時から陽性率が高く、SC とは関連なしに 60-80%の陽性率を示した。HBV DNA 量、HBs 抗原量、HBe 抗原量は全て、HBe 抗体陽性になると HBe 抗原陽性時に比較して有意に低値となった。HBe 抗原陽性時には、Pre-C / BCP 変異陽性例は陰性例に比較して HBV DNA 量、HBs 抗原量、HBe 抗原量は全て低値となる傾向がみられた。これに対し HBe 抗体陽性時には、Pre-C 変異陽性例は陰性例に比較して HBV DNA 量と HBs 抗原量は高値になる傾向がみられた( 図 3 )。この結果は、HBe 抗原 SC と Pre-C 変異との間に強い関係があることを示しており興味深い。また、Pre-C 変異の有無が HBe 抗原陰性慢性肝炎の発症予測に使用できる可能性があり、今後の検討課題と思われた。( 発表論文 2 参照 )

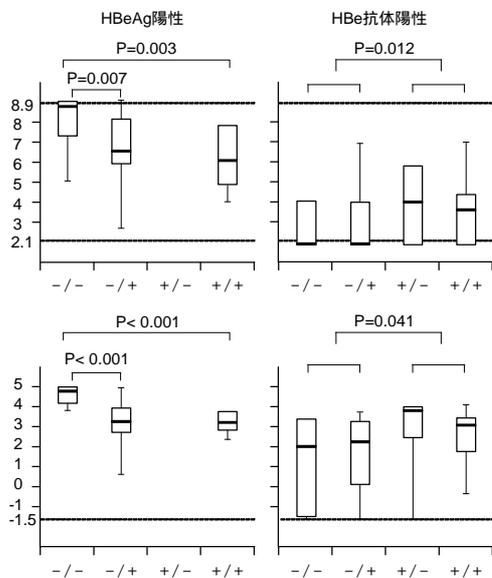


図3. Pre-C/BCP変異の有無およびHBe抗原/抗体の状況で分類した場合のHBV DNA量とHBs抗原量の比較  
Y軸(上): HBV DNA量 (log copy/ml)  
Y軸(下): HBs抗原 (log IU/ml)

(3) WFA+-M2BP と肝線維化との間に有意な相関がみられた ( $r=0.3725$ ,  $p=0.001$ ) ( 図 4 )。特に、肝線維化が F2 以上の症例の予測に優れており ( AUC = 0.713 ) 既知の非観血的線維化予測マーカーと同等の予測能であった。さらに、肝発癌予測因子の多変量解析では、男性、WFA+-M2BP 0.71 以上、ALT 80 IU/L 以上、血小板数 14.5 万/ $\mu$ L 未満が有意の因子であり、WFA+-M2BP が発癌予測因子としても有用であることが示された( 図 5 )。この結果より、WFA+-M2BP が肝線維化および肝発癌を予測する新しい因子であることが明らかになった。今回の検討は全 B 型肝炎患者を対象

とした解析であり、今後は HBe 抗原陰性慢性肝炎例に絞った解析も必要と考えられた。( 発表論文 3 参照 )

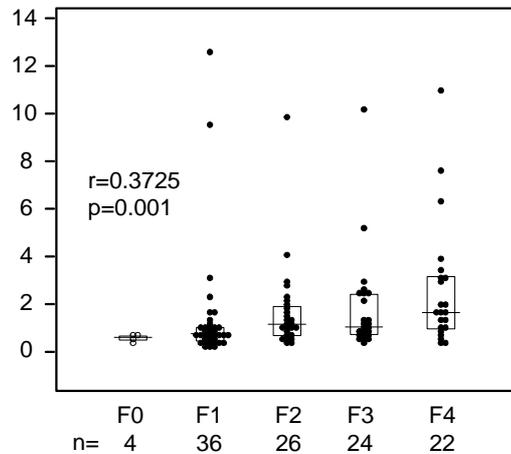


図4. WFA+-M2BP値と肝線維化の相関  
Y軸: WFA+-M2BP (COI)

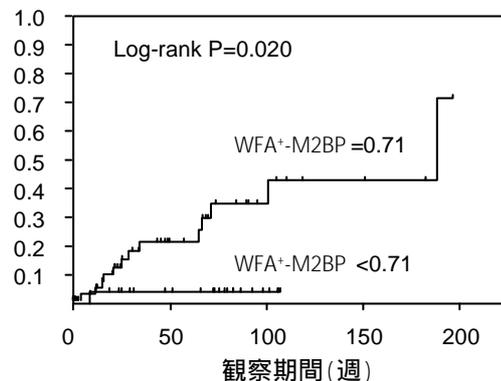


図5. WFA+-M2BP値と肝発癌との関連  
Y軸: 累積肝癌発症率

## 5. 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 3 件 )

1. Ichikawa Y, Joshita S, Umemura T, Shobugawa Y, Shibata S, Yamazaki T, Fujimori N, Komatsu M, Matsumoto A, Tanaka E. Serum Wisteria floribunda agglutinin- positive human Mac-2 binding protein may predict liver fibrosis and progression to hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *HepatoI Res* ( 査読あり ) 2016 ( in press )
2. Kamijo N, Matsumoto A, Umemura T, Shibata S, Ichikawa, Y, Kimura T, Komatsu M, Tanaka E. Mutations of

pre-core and basal core promoter before and after hepatitis B e antigen seroconversion. World J Gastroenterol (査読あり) 21: 541-8, 2015. DOI: 10.3748/wjg.v21.i2.541

3. 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 hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B. Hepatol Rs (査読あり) 44: 45-53, 2014. DOI: 10.1111/hepr.12208

〔学会発表〕(計 3件)

1. Kamijo N, Matsumoto A, Umemura T, Shibata S, Ichikawa Y, Kimura T, Komatsu M, Tanaka E. Mutations of pre-core and BCP before and after HBeAg seroconversion. The 11th JSH Single Topic Conference, Hepatitis B - Recent Progress in Basic and Clinical Research. November 20-21, 2014, Hiroshima, Japan
2. 柴田壮一郎、梅村武司、木村岳史、森田進、城下智、小松通治、松本晶博、吉澤要、丸山敦史、森宏光、和田秀一、清澤研道、田中榮司。Entecavir 治療中における B 型慢性肝炎患者の血清サイトカイン、ケモカインの検討。第 49 回日本肝臓学会総会 2013/6/6~7、東京都
3. 松本晶博、森田進、田中榮司。高感度 HBV RNA 定量系による B 型慢性肝炎核酸アナログ治療例の病態解析。第 49 回日本肝臓学会総会 2013/6/6~7、東京都

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

田中 榮司 (TANAKA, Eiji)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：50163506