

な負の相関を認め、血中の ACTH とレプチンが有意な正の相関を認めた。  
本研究では、副腎組織における 5 $\alpha$ -reductase type 1 の mRNA が 5 週齢、  
36 週齢の両週齢の OLETF ラットで高値であったことより、このことも副  
腎皮質機能低下に影響を及ぼしているものと考えられる。

また、CCK 投与によりコルチコステロンが上昇するという報告もあるこ  
とより、CCK 受容体を欠損すること自体が副腎皮質機能低下に影響を及ぼ  
している可能性も考えられる。

#### 【結論】

肥満 2 型糖尿病モデル OLETF ラットにおいて副腎皮質機能低下を認め、  
高レプチン血症がその一因と考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、肥満 2 型糖尿病モデルとして多くの研究に用いられてきた  
OLETF ラットに副腎皮質機能低下が存在することを明らかにした初めての  
報告であり、これが高レプチン血症によって引き起こされている可能性を  
示した。本研究で示された諸データは糖尿病、視床下部-下垂体-副腎系お  
よびレプチンの相互関係の機序解明に今後大変有用であると評価された。

審査委員は論文内容の審査ならびに公聴会（平成 19 年 2 月 8 日）での審  
査を行った結果、本論文を博士（医学）学位論文に値するものと認めた。

氏 名	萩 原 智 はぎ はら さとる 智
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 9 3 8 号
学位授与の日付	平成 19 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規程第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Clinical Significance of the Genotype and Core Promoter/Pre-Core Mutations in Hepatitis B Virus Carriers (B 型肝炎ウイルスキャリアにおける genotype 及び core promoter/pre-core 変異測定の臨床的意義)
論文審査委員 (主 査)	教 授 工 藤 正 俊
(副主査)	教 授 古 田 格
(副主査)	教 授 宗 像 浩

論文内容の要旨

【目的】

HB ウイルス (HBV) では genotype によって様々な臨床的、ウイルス学的特徴をもつことが明らかとなってきた。今回我々は HBV genotype、及び core promoter (CP) / pre-core (PC) 変異の有無などを測定し、その臨床的意義について検討を行った。

【方法】

対象は共同研究参加 4 施設の HBV キャリア 241 例。年齢 51 歳 (中央値)、男:女=155:86。疾患内訳は、無症候性キャリア 47 例、慢性肝炎 113 例、肝硬変 32 例、肝細胞癌 49 例である。これらにおいて、genotype 別にウイルス量、病態、CP、PC 変異の有無などを測定し、解析を行った。

【成績】

HBV genotype の分布は genotype A が 7 例 (2.9%)、genotype B が 19 例 (7.9%)、genotype C が 215 例 (89.2%) であった。genotype C は genotype B と比較し、有意に HBeAg 陽性率が高く (0% vs 34.4%, P<0.05)、ウイルス量も多い傾向を示した (4.9 vs 4.05 LG/ml)。また genotype B は有意に PC 変異が多く (69% vs 34%, P<0.05)、一方 genotype C は有意に CP 変異が多かった (78% vs 13%, P<0.05)。CP / PC 変異別に頻度を見ると、genotype B では wild (W) / mutant (M) が 11 例と多数例を占めており、W / M、M / M は共に 1 例ずつであった。genotype C では M / W は 18 例であり、M / W が 42 例、M / M が 97 例と大多数を占めていた。genotype C において W / M と M / W を比較すると、M // W の方が有意に HBeAg 陽性率や (65.8% vs 15.4%, P<0.05)、GPT 値が高く (48 vs 21.5 U, P<0.05)、また病態も進展していた。

【考察】

genotype B は genotype C と比較すると PC 変異により HBe セロコンバージョンを起こしやすい。genotype C においても先に PC 変異を起こした群では、先に CP 変異を起こした群に比べ、有意に肝炎の活動性や病態の進展が抑制されていた。

【結論】

HBV において genotype や CP、PC 変異の測定は治療方針の決定や予後を推察するうえで臨床的に重要であると考えられる。

論文審査結果の要旨

目的

HBV キャリアの自然経過は様々であり、若年で HBe セロコンバージョンを起こし、HBV-DNA 量が減少し肝炎が沈静化するものと、一方で肝線維化が進展し、肝硬変、肝細胞癌へ移行するものがある。また感染形式も多様で、アジアでは母親から児への垂直感染で伝播する形式をとり、成人での感染でキャリア化することはまれであるが、一方、欧米では成人での感染でキャリアとなり、慢性肝炎となることが多い。これら臨床経過の多様性が何に由来しているのか未解決の点が多かった。

HBV は以前は血清学的な抗原決定基の違いによって 4 つの subtype に分類されていたが、現在ではその塩基配列の進化的な相違性によって、A から H までの遺伝子型、genotype に分類される。この genotype によって様々な臨床的、ウイルス学的特徴をもつことが明らかとなってきた。また HBV は DNA ウイルスでありながら、その複製に際し感染した肝細胞内で逆転写の過程を介する特徴を持ち、一般の RNA ウイルスに匹敵するほどの高い頻度で変異をおこすことが知られている。CP、PC 変異は HBe 抗原産生を低下させる変異として、臨床的にも重要である。今回我々は 4 施設の共同研究にて genotype を測定しえた 241 例の HBV キャリアについて、genotype、及び CP、PC 変異測定の臨床的意義について検討した。

方法

対象患者

参加 4 施設の協力を得て HBV キャリア 241 例 (男 155 例、女 86 例、年齢 51 歳) の血清を収集し解析した。疾患内訳は、無症候性キャリア (ASC) 47 例、慢性肝炎 (CH) 113 例、肝硬変 (LC) 32 例、肝細胞癌 (HCC) 49 例である。

解析方法

Genotype B、C における臨床背景の比較では、Mann-Whitney U test を用いた。Genotype B、C における PC、及び CP 変異率の比較では、Fishers exact test を用いた。Genotype C における CP/PC 変異別にみた臨床背景の比較では多重性を考慮し、分散分析 (Tukey 法) にて解析を行った。統計学的有意差は P<0.05 とした。

結果

HBV genotype の分布状況は、genotype A が 7 例 (2.9%)、genotype B が 19 例 (7.9%)、genotype C が 215 例 (89.2%) であった。以前 Orito らが日本全国で行った 720 例の HBV genotype の分布状況と比較すると genotype B の割合が若干低い。

次に本邦で大部分を占める HBV genotype B 及び C において臨床背景の相違について検討を行った。性別、T-Bil、GPT 値には有意差がみられなかったが、年齢は genotype B で有意に高く、HBeAg 陽性率は genotype B で有意に低率であった。また HBV-DNA 量も genotype B で低い傾向を示した。また病態においては両群間で有意差を認めなかった。

さらにこれら genotype 別の相違に関連すると思われる CP、PC 変異について検討した。genotype B、C における CP 変異の頻度については、Wild では genotype B が、Mutant では genotype C が有意に多かった。Mixed では有意差はなかった。PC 変異の頻度については、Wild では両群間に有意差はなく、Mixed では genotype C が、Mutant では genotype B が有意に多かった。

genotype B、C における CP/PC 変異別にみた頻度は genotype B では W/M が 11 例と多数例を占めており、W/M、M/M は共に 1 例ずつであった。genotype C では M/W は 18 例であり、genotype B と違って M/W が 42 例、M/M が 97 例と

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2006年1月11日公表	出版物名 Intervirolgy 2006:49:200-206
	公 表 内 容	2006年1月11日発行
	全 文	

大多数を占めていた。

次いで肝炎の活動性が高く、特に臨床的に問題となる genotypeC に限定し、CP/PC 変異別に臨床背景を検討した。WM と M/W を比較すると M/W のほうが有意に HBeAg 陽性率が高く、ALT 値も高値であり、HBV-DNA 量も高い傾向を示した。M/W と M/M を比較するとこれも HBeAg 陽性率が M/W で有意に高く、HBV-DNA 量も高い傾向を示したが、ALT 値には有意差を認めなかった。WM と M/M では HBeAg 陽性率、HBV-DNA 量に有意差を認めなかった。病態との関連をみると WM よりも M/W のほうが、また WM よりも M/M のほうが病態の進行を認めた。

#### 考察

以前、Orito らが日本全国 720 例の HBV genotype の分布について報告しているが、これと比較すると今回の検討では genotypeB の割合が若干低い。これは genotypeB は東北、および沖縄に多く、今回は関西圏のみの検討であったためと考えられる。

日本においては genotypeB と C で約 97% を占めており、これらについての臨床的、ウイルス学的相違について報告されている。世界的分布地域は両者ともアジアに多く、HBeAg 陽性率、ALT 値、HBV-DNA 量、肝組織炎症スコアはすべて genotypeB が低いとされる。また genotypeB では、無症候性キャリアが多く、肝硬変、肝癌症例は少ないとされる。一方、台湾においては genotypeB で、日本ではほとんど見られない 50 歳以下の肝癌症例が多く、特に 35 歳以下の肝癌症例は約 90% が genotypeB であったと報告されている。つまり同じ genotypeB でもその遺伝子型により臨床経過が異なる。今回の検討では ALT 値や病態においては有意差を認めなかったが、HBeAg 陽性率は genotypeB で有意に低く、また HBV-DNA 量も低い傾向を示した。次に genotype 間の相違に関連すると思われる CP

および PC 変異について検討した。CP 変異は genotypeC で有意に多く、一方 PC 変異は genotypeB で有意に多かった。このため genotypeB は genotypeC と比較して HBeAg 陽性率が低くウイルス量も低いと考えられる。Orito らの報告によると PC は genotypeB、C に関係なく HBeAg 陽性では Wild 有意、HBeAb 陽性では Mutant 有意となっており、つまり PC は HBeAg 陽性率と関連しており PC 変異により HBeAb への seroconversion を起こし肝炎沈静化に向かわせる。一方 CP は HBeAg、Ab の状態にかかわらず genotypeB では Wild 有意、genotypeC では Mutant 有意となっている。つまり CP は genotypeC に関連しており、多変量解析による検討では、CP は genotypeC および肝病変進展度と関連していると報告されている。また同様に、KAO らは 250 例の HBV キャリアにおいて検討し CP 変異は肝疾患の進展と parallel であり、ASC では 3%、HCC では 64% に CP 変異を認め、多変量解析でも CP 変異が HCC の risk を増加させることを報告している。つまり genotypeC では CP 変異が起こりやすく、肝病変も進展しやすい特徴を持っていると考えられている。

八橋らは、PC、CP 領域の遺伝子変異の観点から B 型肝炎の自然経過を論じている。これによると、まず ALT 正常 HBeAg 陽性 ASC の時期は CP 領域、PC 領域とも野生株で推移し、肝炎が発症し 1~2 年間に上肝機能障害が持続することで、まず CP 領域の遺伝子変異が生じる。その後 PC 領域の変異株が有意になることで HBeAg の HBeAb への seroconversion が生じウイルス量が減少、肝炎が沈静化する。活動性慢性肝炎の多くは PC 領域野生株、CP 領域変異株であり、一方自覚症状がなく病院を受診することもなく軽微肝炎で HBeAg の seroconversion を起こして治癒する例では、CP 領域の遺伝子変異を伴わずに PC 領域のみ遺伝子変異が生じ、ALT 正常 HBeAg 陰性の ASC に移行すると推察している。

我々は genotype 別に CP/PC 変異の頻度を検討した。genotypeB ではほとんどの症例が CP 変異を介することなく PC

変異を起こしているが、genotypeC では PC 変異よりも先に CP 変異を起こした後、PC 変異を起こす症例が多数を占めていた。つまり B 型肝炎の自然経過は genotype によって大きく影響を受けていることがわかる。HBV による慢性肝炎では genotypeC の症例の方が活動性が高いとされ、臨床的に問題となるのは genotypeC である。したがって次に genotypeC において CP/PC 変異別に臨床背景の検討を行った。WM と M/W を比較すると M/W で有意に HBeAg 陽性率が高くウイルス量や、ALT 値も高値であり肝炎の活動性が高く、また病態においても進行した病態を多く認めた。つまり PC 変異より先に CP 変異だけを認める症例では肝炎の活動性が持続し病態も進行している。M/M まで移行すると WM と同様に M/W と比較して HBeAg 陽性率は有意に低値になり、HBV-DNA 量も低下する傾向を示した。しかし病態においては WM と比較して明らかに進行しており、つまり先に PC 変異を起こし肝炎が収束する症例と、CP 変異を起こし、次いで PC 変異を起こし肝炎が収束する症例では、例え肝炎が沈静化しても病態進行度に明らかな相違があり、これにより予後が左右される。したがって CP 変異の期間を短縮し、いかに早期に PC 変異を起こさせるかということが、B 型肝炎治療を考えるうえで重要であると考えられる。M/W のようにウイルス量が多く、肝炎の活動性が高い時期には、ラミブジンなどの投与により積極的にウイルスの増殖を抑制したり、IFN 投与により PC 変異を起こし、M/M へ早期に誘導するなどの治療が考えられる。今回の検討では W/W 群で ALT 値が高く、病態においても CH が多数を占めていた。これは年齢（中央値 40 歳）が比較的高齢であり肝炎発症後に来院された症例が多いためと考えられ、肝炎発症前の若年症例では従来の報告のように ALT 値正常の ASC 症例が多いと推察される。

B 型肝炎ウイルスについては genotype によって臨床像が大きく異なることが明らかになった。また genotype によって CP、PC 領域遺伝子変異の頻度が異なり、これら遺伝子変異と臨床所見の関連もあることも明らかとなった。Genotype や CP、PC 変異の測定は治療方針の決定や予後を推察するうえで臨床的に重要であると考えられる。今後さらなる症例の蓄積が必要である。

#### 結語

Genotype や CP、PC 変異の測定は治療方針の決定や予後を推察するうえで臨床的に重要であると考えられる。

なお本論文は Intervirology (Impact Factor 1.8) に 2006 年 1 月に掲載された。