

Title	Serum hepatitis C virus RNA quantity and histological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels
Author(s)	内藤, 雅文
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39344">https://hdl.handle.net/11094/39344</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	ないとうまさふみ 内藤 雅 文
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 6 6 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 2 月 2 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Serum hepatitis C virus RNA quantity and histological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels (肝機能持続正常C型肝炎ウイルスキャリアの血中ウイルス量と肝組織像)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 鎌田 武信 (副査) 教 授 山西 弘一 教 授 門田 守人

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目 的】

C型肝炎ウイルス (HCV) に対する抗体スクリーニングの普及により、肝機能正常の無症候性 HCV キャリアが認められるようになった。しかし、それらのキャリアの肝組織像に関する報告は少なく、また真の健常キャリアの存在も明らかでない。そこで肝機能持続正常の HCV キャリアを対象に、肝組織像の評価を行うとともに、mutant HCV RNA を internal standard とした competitive RT - PCR 法を用いて血中 HCV RNA を定量し、肝組織像とウイルス量との関係を検討した。加えて宿主免疫応答との関連が想定されている envelope (E) 2/non - structure (NS) 1領域に存在する hypervariable region 1 (HVR1) の多様性を解析した。

#### 【対象と方法】

- (1) 対象：1990年1月から1992年12月までの期間に当科外来を受診した患者のうち、HCV 抗体陽性で肝機能が正常であったのは85例であった。そのうち6カ月以上肝臓機能が持続し、肝生検を施行し得た22例 (男性7例、女性15例、平均47才) を対象とした。
- (2) 肝組織評価：Knodell らの histological activity index (HAI) に基づき門脈域周囲の炎症、小葉内炎症、門脈域炎症、線維化の4項目を数量化した。
- (3) 血中 HCV RNA 量：血中 HCV RNA は competitive RT - PCR 法を用いて定量した。すなわち、血清5~50  $\mu$ l 中の HCV RNA と既知量の mutant HCV RNA を競合的に抽出し、逆転写後30~40サイクルの PCR 法により増幅した。mutant HCV RNA 由来の cDNA は増幅目的領域中に EcoRI site を持ったため、PCR 産物を EcoRI 処理後電気泳動し、2つの断片に切断された mutant 由来のバンドと切断されなかった血中 HCV RNA 由来のバンドを分離し、ethidium bromide 染色のシグナルの強さを比較することにより血中 HCV RNA 量を決定した。HCV RNA の titer は血清1ml中の HCV RNA のコピー数を常用対数変換したものとした。
- (4) 塩基多様度：HVR1 を含む E2/NS1領域の一部を RT - PCR 法で増幅、サブクローニング後、任意の8~10クローンの塩基配列を dideoxy 法で決定した。塩基配列の多様性の評価は根井らの nucleotide diversity に基づき、

任意の2クローン間の塩基配列の相違を全ての組み合わせで平均化し、1 site あたりで表現した。

#### 【成績】

- (1) 3例は正常肝組織像を、他の19例は慢性持続性肝炎（CPH）像を示した。後者では門脈域へのリンパ球浸潤は共通して観察されたが、小葉内炎症は欠如もしくは軽度であった。
- (2) HCV RNA titer は4.0~8.0 ( $6.3 \pm 1.1$ ) であった。肝組織正常の3例の HCV RNA titer は  $4.3 \pm 0.2$  であり、軽度の門脈域炎症を示す CPH 群（11例,  $6.4 \pm 0.8$ ）および中等度の門脈域炎症を示す CPH 群（8例,  $7.1 \pm 0.5$ ）に比し有意に低値であった。HCV RNA の titer は total HAI スコア ( $r = 0.68$ ) および門脈域炎症のスコア ( $r = 0.68$ ) と有意な相関を示した。
- (3) HVR1 の unclesotide diversity は平均  $6.65 \times 10^{-2}$ （5例）であり、対照とした肝機能異常を伴う慢性肝炎症例（5例, 平均  $11.5 \times 10^{-2}$ ）に比し低い傾向が認められたが、統計学的な有意差は認められなかった。

#### 【総括】

肝組織像が正常の HCV キャリアが存在し、その血中 HCV RNA 量は極めて低値であることが明らかとなった。しかし、肝機能持続正常の HCV キャリアの大部分では門脈域へのリンパ球浸潤が認められ、その程度は血中 HCV RNA 量と相関していた。また HVR1 の塩基多様度は肝機能異常群と有意差を認めず、持続する正常肝機能・軽微な組織学的変化にもかかわらず quasispecies nature を持つことが判明した。HCV キャリアにおいて、低ウイルス量が HCV 感染における clinical latency の形成に関与する可能性が示された。

### 論文審査の結果の要旨

C型肝炎ウイルスの研究は慢性肝疾患を対象に進められ、急速な進歩を遂げてきた。そして抗体スクリーニングの普及により、肝機能正常の無症候性 HCV キャリアが認められるようになったが、これらの症例への臨床的な対応には一定の見解が得られていない。本研究はそのような肝機能持続正常の HCV キャリアを対象に、肝組織像の評価を行うとともに、ウイルス量とウイルスゲノムの多様性を解析している。その結果肝組織像が正常の HCV キャリアが存在し、その血中 HCV RNA 量は極めて低値であることが明らかとなった。しかし、肝機能持続正常の HCV キャリアの大部分では門脈域へのリンパ球浸潤が認められ、その程度は血中 HCV RNA 量と相関していた。また、ウイルスゲノムの多様性は肝機能異常群と同様であり、持続する正常肝機能・軽微な組織学的変化にもかかわらず quasispecies nature を持つことが判明した。すなわち、HCV キャリアにおいて、低ウイルス量が clinical latency に関与する可能性を示唆している。

本研究は肝機能持続正常 HCV キャリアにおける HCV のウイルス学的特徴を明らかにした点で独創的であり、学位に値すると判断する。