

## C型肝炎ウイルス感染と宿主および環境因子

銭谷 幹男<sup>1)</sup> 大谷 圭<sup>1)</sup> 戸田 剛太郎<sup>1)</sup> 小野寺 昭一<sup>2)</sup>  
大越 裕文<sup>3)</sup> 宮崎 寛<sup>3)</sup> 飛鳥田 一郎<sup>3)</sup>

1) 東京慈恵会医科大学内科学講座第一

2) 東京慈恵会医科大学付属病院感染対策委員会

3) 日本航空健康管理室

## The host and environmental factors in HCV infection

Mikio Zeniya<sup>1)</sup> Kay Ohtani<sup>1)</sup> Gotaro Toda<sup>1)</sup> Shouichi Onodera<sup>2)</sup>  
Hirohumi Ohkoshi<sup>3)</sup> Hiroshi Miyazaki<sup>3)</sup> Ichirou Asukata<sup>3)</sup>

1) 1st Department of Internal medicine, The Jikei University School of Medicine Tokyo

2) The Committee of Preventing Infection, The Jikei University School of Medicine Tokyo

3) Japan Air Lines, Medical Services

### 要約

C型肝炎ウイルス感染は我が国の慢性肝疾患の病因として最も重要な因子である。C型肝炎ウイルス感染の伝播は主に輸血によるが、臨床例では病因が不明のものも少なくない。医療従事者ではC型肝炎ウイルス抗体陽性者が多いことより、何らかの感染様式が存在するものと思われる。針刺し事故は比較的頻繁に遭遇する医療汚染事故であり、今後、より注意深い対応が必要と考えられた。

C型慢性肝炎ではB型とは異なる免疫病態が認められ、特にB細胞活性化を介する高ガンマグロブリン血症が特徴である。ボランティアを用いた検討により、環境因子を含んだ疲労は個体の免疫応答に明らかな影響を及ぼし、これらにより、C型肝炎ウイルス感染に基づく病態が修飾を受ける可能性が明らかとなった。環境因子を含んだ個体の免疫応答を考慮した上での病態解析が今後更に必要である。

### Abstract

Hepatitis C virus infection is one of the most important etiology of chronic liver diseases in Japan. The transmission of hepatitis C virus is mainly induced by blood transfusion contained hepatitis C virus, however, there are patients who had no episodes of blood transfusion, indicating there may be another route for transmission. Accidental needle stick in hospital - house - workers is one of the important factors. The immunological responses in hepatitis C virus infection differed from that in hepatitis B infection, especially in B cell function manifested by hypergammaglobulinemia. Environmental factors involving fatigue clearly affect immune system, suggesting that these factors may be considered for the analysis of immune system in the patients with hepatitis C virus infection.

《Key words》 chronic hepatitis C, hepatitis B virus, cytokine, immune responses, fatigue

別刷請求宛先：銭谷 幹男

〒105-8461 港区西新橋 3-25-8 東京慈恵会医科大学内科学講座第一

Reprint Requests to Mikio Zeniya, 1st Department of Internal medicine, The Jikei University School of Medicine Tokyo, Nishishimbashi 3-25-8, Minato-ku, Tokyo 105-8461 Japan

## I. はじめに

1995年のWHOによる世界の肝細胞癌の発生頻度をまとめた成績では、我が国は人口10万人当たり8~15.5人となっている。最新の統計では肝癌による死亡率は約20名と増加が著しく<sup>1)</sup>、日本人男性の癌における死亡率第3位となっている。我が国における肝細胞癌は殆どの症例が肝硬変を発生母地としてその発生をみるのが特徴である。換言すれば、慢性肝疾患の最終段階として肝細胞癌が位置づけられているともいえる。肝細胞癌の診断・治療にあたってはこの発生母地である肝硬変および肝硬変を招来する慢性肝疾患についての診断・治療が重要である。我が国は従来B型肝炎ウイルスの高度浸淫地区であり、慢性肝疾患の原因としてB型肝炎ウイルス感染、特に母子間感染によるキャリアー化が問題とされていた。しかし、輸血用血液の厳密なスクリーニング、ワクチン接種などの普及により、慢性肝疾患に占めるB型肝炎ウイルス感染者の割合は劇的な減少を示している。しかし、輸血後肝炎は母子間感染の減少とは異なり、その減少率は少なく、B型肝炎ウイルス以外のウイルスによる輸血後肝炎の存在が示唆されていた。1989年に遺伝子工学の技法により輸血後肝炎の原因因子として、新たにC型肝炎ウイルスのゲノムが同定され<sup>2)</sup>、引き続き抗体測定系<sup>3)</sup>、ウイルスゲノム検出法が確立された<sup>4)</sup>。これにより、我が国における慢性肝疾患の要因の第一はC型肝炎ウイルス感染であることが明らかとなった。C型肝炎ウイルスの主たる感染様式は血液製剤を介する、すなわち輸血であるが<sup>5)</sup>、輸血など血液製剤輸注の既往がなく発症している症例も少なくない<sup>6)</sup>。また、C型肝炎ウイルスはB型肝炎ウイルスとは異なり、成人感染例でも多くが慢性化するという特徴を有する。本稿では血液製剤以外での感染様式を検討することを目的として、特に高度危険群である医療従事者の針事故について検討を加え職場環境における感染の危険性について解析した。さらに、C型慢性肝炎症例について慢性化機序に関連すると考えられる感染宿主の免疫病態に注目し、B型肝炎症例との比較をもとに解析を行うとともに、免疫病態に影響を及ぼすと

考えられる疲労、ストレスの影響を検討したので報告する。

## II. 対象・方法

最近8年間の東京慈恵会医科大学付属病院における医療従事者の針事故件数を調査するとともに、その後の経過について検討した。肝炎ウイルスマーカーの測定はHBsAg、HBsAbはPHA法でHCV抗体は第3世代のEIA法で測定した。また、HCV-RNAをHCVの5'側のnon-coating regionをプライマーとしたRT-PCR法にて検出した。

さらに、東京慈恵会医科大学内科学講座第一にて臨床病理学的に診断の確定した慢性肝疾患患者を対象として、その病因を検討した。臨床病理学的に診断が確定し、組織学的活動性がほぼ同一の範疇と考えられるB型およびC型慢性肝炎症例について、各種免疫学的マーカーを測定し、比較検討した。免疫学的指標としてはFACS解析による末梢血CD5陽性B細胞比率、血清IgG値、プラーク法による末梢血単核球の免疫グロブリン産生細胞数、血清C3d補捉免疫複合体量を測定した。

疲労、ストレスによる各種免疫マーカーの変動の検討は、日本航空の機長有志ボランティアを対象とし、米国2都市、New York、Washington DCの往復飛行前後において検討した。末梢血中NK細胞活性、末梢血単核球を48時間培養した培養上清中のサイトカイン、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、および血清 $\beta$ -endorphin値を免疫マーカーとしてELISA法で測定した。NK細胞活性は標的細胞をK562とし、被検末梢血単核球を効果細胞として1:50、1:10で添加4時間後の細胞障害を<sup>51</sup>Cr放出法で測定した。

疲労度、ストレスの指標として飛行前後および飛行中にパフォーマンステストを行った。すなわち、労働省労働科学研究所式自覚疲労調査、フリッカーテスト、加算テスト、注意配分テスト、短期記憶テストをそれぞれセットとして施行した。なお、評価に際してはポイント数により定量評価を行った。

### Ⅲ. 成績

表1に東京慈恵会医科大学付属病院における最近8年間の血液汚染事故件数を示す。報告され、かつその後も学内のプロトコールに従い経過観察および措置が取られた事故件数はほぼ年間100件以上であり、月当たり約9件の発生であった。

表1 慈恵医大における血液汚染事故

	医師(研修医)	看護婦	検査技師	その他	HBV:HCV
平成元年	1	47	2	5	
平成2年	34(23)	64	5	3	
平成3年	31(16)	81	4	3	
平成4年	24(12)	75	3	3	
平成5年	28(13)	101	7	1	17:50
平成6年	30(14)	63	4	9	20:70
平成7年	43(16)	66	6	0	18:49
平成8年	30(8)	51	11	3	12:53
合計	221(102)	548	42	27	9:35
割合	28.1%(12.7)	63.90%	4.90%	3.10%	

事故発生の職種としては、看護婦が最も多く半数以上を占め、次いで医師であった。汚染源の感染ウイルスの検討では、B型対C型は総数で9:35と、C型肝炎ウイルス関連の事故が6倍であった。血液汚染事故の原因別頻度を表2に示す。注射針によるものが圧倒的に多く7割が注射針による汚染事故であった。なお、C型肝炎を含め肝炎発症は認められなかった。

表2 血液汚染事故の原因

汚染事故原因	平成8年	平成元年～8年
注射針	75	636(74%)
縫合針、メス	5	89(10.4%)
皮膚粘膜、創部への汚染	2	37(4.3%)
廃棄物処理中事故	3	44(5.1%)
眼球の汚染	6	30(3.5%)
検体処理中事故	0	6(0.7%)
分娩時汚染	0	2(0.2%)
その他	4	15(1.8%)
計	95	859

肝細胞癌の診断が確定した286症例での既往歴調査の結果、原因不明、すなわち血液製剤その他による感染契機が不明のものが半数以上であった。

肝臓の生検組織におけるCD5陽性B細胞の出現頻度と年齢の関係の検討成績を図1に示す。C型慢性肝炎症例ではCD5陽性B細胞の出現頻度は年齢とともに上昇を示したが、B型慢性肝炎、健常対照者ではこの相関は認められなかった。

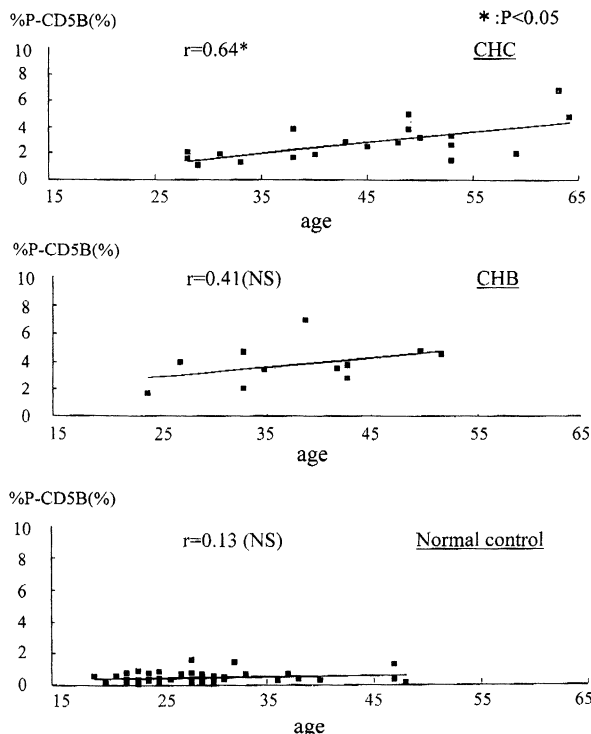


図1 CD5陽性B細胞の出現頻度と年齢の関係

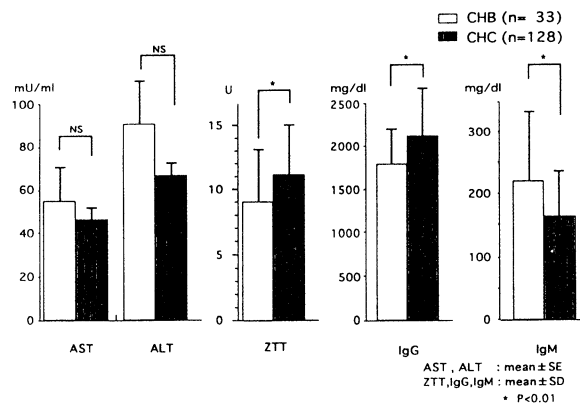


図2 組織学的活動性が同程度のB型、C型慢性肝炎の臨床所見

CHB：B型慢性肝炎  
CHC：C型慢性肝炎

年齢、性、組織学的活動性を一致させたB型およびC型慢性肝炎症例の臨床所見の検討では、C型では血清IgG値がB型に比し有意に高値を示していた(図2)。さらに、末梢血中の免疫グロブリン産生細胞数をプラーク法で測定、同様に組織学的変化が同等なB型、C型症例間で比較した成績を図3に示す。C型での免疫グロブリン産生細胞数は明らかに高値であった。

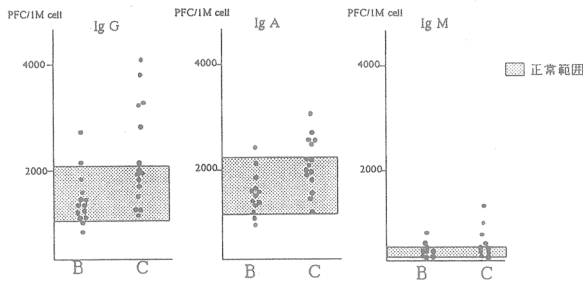


図3 組織学的活動性が同程度のB型、C型慢性肝炎の末梢血の免疫グロブリン産生細胞数(個数/100万細胞)

B : B型慢性肝炎  
C : C型慢性肝炎

さらに、CD5陽性B細胞出現率と血清IgG値の関連の検討では、C型でCD5陽性B細胞を認める症例での血清IgG値は高値を示し、これら症例では自己抗体陽性率も高かった。日本航空と共同で行った検討でのパフォーマンステストの成績では、業務従事により加算、短期記憶テストの低下が認められ、業務による疲労発症が明らかとなった。このパフォーマンステストで示される疲労状態での免疫マーカーの測定成績を表3に示す。有意差をもってIL-1 $\beta$ の上昇、NK細胞活性の低下が認められた。

表3 往復飛行の前後における各種免疫マーカーの変化

	Pre-flight	post-flight	%change
NK cell activity (%)	37.5 $\pm$ 19.5	23 $\pm$ 16.5**	-22.1
$\beta$ -endorphin (pg/ml)	11.3 $\pm$ 2.8	7.7 $\pm$ 2.8**	-27
IL-1 $\beta$ (pg/ml)	1900 $\pm$ 1400	4700 $\pm$ 5200*	148
IL-6 (pg/ml)	32600 $\pm$ 19900	28400 $\pm$ 17300	19
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	1900 $\pm$ 2200	2400 $\pm$ 2200	130

All data were expressed as mean  $\pm$  SD (n=32)  
\*\* : p<0.01, \* : p<0.05

#### IV. 考案

我が国を含む東南アジアはウイルス肝炎の多い地域であり、慢性肝炎は国民病ともいわれてきた。ウイルス肝炎に比し、自己免疫性肝疾患は我が国での頻度は低く、慢性肝疾患の成因では欧米と際立った違いを示している。この要因の一つとして人種差を含む体質の違いが指摘されている<sup>7)</sup>。事実、自己免疫性肝炎の第一の疾患感受性遺伝子とされているHLA-DR3は我が国ではその保有者が

ほぼ皆無であることが明らかとなっている。我が国の自己免疫性肝炎はHLA-DR4と関連を有しており、近年になり、欧米でもこのHLA-DR4がリスク・ファクターであることが報告されている。体質因子に加え疾病の発症、進展には環境因子も影響を及ぼすことが多くの疫学調査から明らかにされている。しかし、その詳細な機構については未だ不明の点を多く残しているのが現状である。本論文ではこの環境因子の作用を免疫学的に明らかにすることを目的とし、まずC型肝炎の我が国における拡散要因を調査した。ついでC型肝炎における免疫病態を臨床的に評価可能な指標をもとに臨床病態がほぼ同様のB型慢性肝炎と比較した。さらに、疲労負荷状態のボランティアによる免疫学的諸因子を解析し、環境因子の影響について検討した。

C型肝炎は我が国の慢性肝疾患の要因として、現在最も大きなものである。多くの症例でゆっくりではあるが進行し、最終的に肝硬変に至る。このC型肝炎ウイルスの伝播は血液を介して起こり、輸血が最も大きな原因である。しかし、C型肝炎肝疾患の病歴を検討すると、輸血など血液製剤使用の既往が全く無い症例が少なくない。この場合の感染がどのようにして成立したかが大きな問題である。医療従事者や長期治療中の患者では一般住民に比しC型肝炎感染率が高いことが報告されている。今回の著者らの検討で、針事故を中心とする医療事故が医療現場においては少なからず存在することが明らかとなった。今回の検討で肝炎発症者は皆無でありこうした事故が直ちに肝炎の感染につながるといえないが、我が国の他の報告では急性肝炎の発症が認められている<sup>8)</sup>。頻度は少ないものの汚染事故を防ぐための更なる方策が必要である。特に汚染事故の殆どは注射針によるものであり、また看護婦に最も多く認められたことより、機材、特に使用済み注射針の安全性について今後の確な対応が必要であると考えられた。

B型慢性肝炎との比較により、C型はB型とは異なる免疫病態を示すことが明らかとなった。自己抗体産生、ポリクローナルB細胞の活性化、さら

には自己免疫反応に関連する細胞マーカーとして知られているCD5陽性B細胞がC型慢性肝炎でより高率に認められ、臨床的に血清IgG値もC型ではB型に比し高値を示した。さらに末梢血の免疫グロブリン産生細胞数もC型ではB型に比し有意に高値を示した。これら事実にはC型慢性肝炎においてはB型に比し免疫グロブリン産生の亢進状態が惹起されている可能性を示している。B型肝炎ウイルス発見時に臨床的には問題とならなかった自己免疫性肝炎との鑑別が、C型肝炎ウイルス発見時には問題となった原因の一つとして、C型肝炎ウイルス感染における高免疫グロブリン血症を示す病態の存在がある。すなわちC型肝炎ウイルス感染においてはB細胞活性化が惹起され、それが臨床病態形成に関与しているものと思われる。

またC型慢性肝炎ではB型に比し血清中の免疫複合体の値が高いことを著者らは既に報告している<sup>9)</sup>。以上の成績と合わせ、C型肝炎においては抗体産生に関わる免疫動態がB型とは異なることが示唆された。すなわちC型肝炎ウイルス感染では免疫応答のシフトが存在することとなる。C型肝炎ウイルス感染においては抗体産生系、いわゆるTh2系サイトカインがより優位に作動しているものと考えられる。

疲労、環境の変化による免疫マーカーの検討では、これらの変化が免疫マーカーに影響を与えることが明らかとなった。従来より、免疫担当細胞にはサーカディアンリズムが存在し、また生体側因子、例えばホルモンなどによっても大きく変動することが報告されている。今回の成績は、過度の緊張を伴う精神活動を含む疲労によっても免疫動態がサイトカインレベルで同定可能な程度まで変化しうることを示したもので興味深い。この事実から疲労形成に関わる環境因子の変化が今回検討したサイトカインをはじめとする免疫因子を変化させ、ひいては病態における免疫応答を修飾する可能性が示される。C型肝炎ウイルス感染においても、ウイルス増殖とは独立したこれら因子が慢性肝炎の進展に作用している可能性は十分にあり、これらの解明による肝炎の進展防止も今後の重要な課題と思われる。

## 文献

- 1) 森定一稔、他：日本における原発性肝癌死亡の将来予測—出生年コホートに注目した推計。平成6年度特定疾患調査研究結果報告書：大阪肝炎・肝硬変研究会：45-51, 1995
- 2) Choo QL, et al : Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244 : 359-362, 1989
- 3) Kuo G, et al : An assay for circulating antibodies to major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244 : 362-364, 1989
- 4) Kato N, et al : Detection of hepatitis C virus ribonucleic acid in the serum with amplification with polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 86 : 1764-1767, 1990
- 5) Alter MJ, et al : Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *JAMA* 264 : 2231-2235, 1990
- 6) Sodeyama T, et al : Detection of hepatitis C virus markers and hepatitis C virus genomic-RNA after needlestick accidents. *Arch Intern Med* 153 : 1565-1572, 1993
- 7) Zeniya M, et al : Immunogenetic background of hepatitis B virus infection and autoimmune hepatitis in Japan. *Gastroenterolo Jap* 28(supp) : 69-75, 1993
- 8) Kiyosawa K, et al : Hepatitis C in hospital employees with needlestick injuries. *Ann Intern Med* 115 : 367-369, 1991
- 9) 銭谷幹男、他：C型慢性肝炎で認められるHCV-RNAを含むC3d捕捉免疫複合体の意義。日臨免誌17：796-799, 1994