

## 論文の内容要旨

論文題目

### **Molecular Epidemiology of hepatitis B virus: Genetic variability and its correlation with clinical manifestation**

和訳:

B型肝炎ウイルス(HBV)の分子疫学的研究  
ウイルス遺伝子の多様性と臨床所見との関連

指導教官 牛島 廣治 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成15年4月1日入学

医学博士課程

国際保健学専攻

氏名 フィ チェン チュアン トラン

B型肝炎ウイルス(HBV)感染症は地球規模の問題となっている。現在おおよそ2億人以上の人々が、HBVに感染していることが推察される。HBV感染の臨床像は複雑であり、さまざまな要因(ウイルス、宿主免疫、環境)が関わっている。HBVの多様性(ゲノタイプや変異)は、臨床所見やウイルス治療反応性との関連が論じられている。しかし、この問題解決には、単独の国だけで論じるのは困難である。そこで、本研究は、HBVのゲノタイプや変異などを含むその多様性と地理的要因(特にアジアを主として)および臨床所見との関連を明らかにすることを目的とした。

HBVゲノタイプピングは、型特異的なプライマーを用いたPCR法と併せて塩基配列決定と分子系統樹解析を実施した。また詳細な解析のため、必要に応じ全長鎖ゲノムを分離した。ウイルス変異の解析には、HBV各領域(主として pre-S, S, core promoter, precore)のシーケンスを行った。

成績は、二つの項目に大別された。一つは、ゲノタイプとサブタイプ、組換えウイルスに関してである。二つ目は、HBV変異と臨床所見との関連である。

項目1では、まずアジアに分布するゲノタイプCは、sequenceと分子系統樹解析から、少なくとも二つのサブグループ(C1、C2と命名)に分類できることを初めて報告した。即ちC1は、主に東南アジア(タイ、ベトナム、ミャンマー)に、またC2は極東アジア(日本、中国)に分布した。二つのサブタイプ由来ゲノムを比較すると、1858番目塩基

が C (C1858) を示す頻度が C1 では 30%であったのに対し C2 では 6.7% ( $P < 0.005$ ) であった。C1 における C1858 は、core promoter 変異 (30%,  $P < 0.05$ ) や肝癌発生 (14.3%,  $P < 0.05$ ) と相関を示した。この他の成績として、ガーナ由来 HBV ゲノムは、既知のゲノタイプ E 株と低い多様性を示し、西アフリカ地域特有のゲノタイプと思われた。これに対し、ボリビア由来 HBV は、ゲノタイプ F に属したが、更に 4 つのサブタイプに分類することができた (F1~F4 と命名)。南部南米と中米からの HBV はサブタイプ F1 と F4 からなり、T1858 を示したのに対し、北部南米からののはサブタイプ F2 と F3 からなり、C1858 であった。サブタイプ F1 と F4 が分布する地域では、precore stop codon 変異を示す HBV が多く認められ、これがこの地域に HBe 抗原陰性 B 型肝炎患者が多いことにつながっていると思われた。この他の興味ある成績として、ゲノタイプ A、C、G 間で組換えを起こしたと思われる新規 HBV をベトナムの急性肝炎患者から分離することができたことがあげられる。同じような組換え HBV は Hannoun らが 2000 年に報告しているが、この分離株と塩基レベルで 1.1%の相違とゲノタイプ A、C、G からなる同じ組換えセグメントを有していた。この所見は、この新規組換え HBV が最近発生したものであることを示唆する。

項目 2 では、12 カ国 (ベトナム、ネパール、ミャンマー、中国、韓国、タイ、日本、ガーナ、ロシア、スペイン、ボリビア、米国) 計 387 例の HBV 感染患者における HBV pre-S 変異を検討した。加えてベトナムにおいて、core promoter、precore stop codon 変異と臨床所見との関連を、115 例の感染患者で検討した。Pre-S 領域欠損を示す HBV 株が、ベトナム、ネパール、ミャンマー、中国で高頻度 (20%以上) に検出された。この変異株は、ゲノタイプ B と C で高頻度に検出 (各々 25%, 24.5%,  $P < 0.05$ ) され、また肝癌患者 (34.7%,  $P < 0.05$ ) に多かった。ベトナムを対象とした疫学調査では、core promoter 変異がゲノタイプ C で、また precore stop codon 変異がゲノタイプ B で高頻度に検出された。サブタイプ C1 での成績と同じように、core promoter 変異は肝硬変、肝癌発生と深く関連していた ( $P < 0.01$ )。

結語として、HBV ゲノタイプ分布とゲノム多様性は、地理的要因によりその所見が異なった。アジアに流行するゲノタイプ C は、東南アジア型 (C1) と極東アジア型 (C2) に分類できた。西アフリカに分布するゲノタイプ E は、同ゲノタイプ間で高い相同性を示したことから、そう古くない時代にウイルスが広まった可能性が考えられた。中南米に分布するゲノタイプ F は、更に 4 つのサブタイプに分類できた。加えて、ベトナムに

において新規組換え HBV を分離することができた。Pre-S や core promoter 領域に変異を起こす HBV の頻度はゲノタイプで異なり、またこの変異ウイルスの持続感染は、肝癌発生と深く関わっていた。