



Title	本邦でのB型肝炎患者におけるD型肝炎ウイルス共感染頻度に関する後方視的検討
Author(s)	佐々木, 貴志
Description	配架番号 : 2900
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16408号
Issue Date	2025-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16408
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95939
Type	doctoral thesis
File Information	SASAKI_Takashi.pdf



学位論文

本邦での B 型肝炎患者における D 型肝炎ウイルス

共感染頻度に関する後方視的検討

**(The Prevalence and Characteristics of Hepatitis Delta Virus
Infection in Japanese Patients with HBV Infection)**

2025 年 3 月

北海道大学

佐々木 貴志

学位論文

本邦での B 型肝炎患者における D 型肝炎ウイルス
共感染頻度に関する後方視的検討

**(The Prevalence and Characteristics of Hepatitis Delta Virus
Infection in Japanese Patients with HBV Infection)**

2025 年 3 月

北海道大学

佐々木 貴志

目 次

発表論文目録及び学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語表	5 頁
緒言	7 頁
結論	38 頁
謝辞	40 頁
利益相反	41 頁
引用文献	42 頁

発表論文目録及び学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に掲載。

1. Takashi Sasaki, Goki Suda, Masatsugu Ohara, Shunichi Hosoda
Naoki Kawagishi, Risako Kohya, Tomoka Yoda, Osamu Maehara
Shunsuke Ohnishi, Sonoe Yoshida, Qingjie Fu, Zijian Yang
Yoshimasa Tokuchi, Takashi Kitagataya, Kazuharu Suzuki, Masato Nakai
Takuya Sho, Mitsuteru Natsuizaka, Sho Komukai, Koji Ogawa, Naoya Sakamoto

Recent prevalence and characteristics of patients with hepatitis delta virus in
Hokkaido, Japan

Hepatology Research, 53・960-967, (2023)

本研究の一部は以下の学会にて発表した。

1. 佐々木貴志、須田剛生、坂本直哉
本邦での、B型肝炎患者におけるD型肝炎ウイルス共感染頻度に関する後
方視的検討
日本肝臓学会（第60回-日本肝臓学会総会）、2024年6月13日～6月14日・
熊本市。パネルディスカッションで、学会の指定演題として発表。

2. Takashi Sasaki, Goki Suda, Naoya Sakamoto

Recent prevalence and characteristics of patients with hepatitis delta virus in
Hokkaido, Japan.

American association for the study of liver diseases, 2023年11月10日～11月
14日・ボストン（米国）

3. 佐々木貴志、須田剛生、坂本直哉

本邦での、B型肝炎患者におけるD型肝炎ウイルス共感染頻度に関する後
方視的検討

Japan Digestive Disease Week (JDDW) 2024, 2024年10月31日～11月3日・
神戸市

要旨

【背景と目的】

B型肝炎ウイルス（hepatitis B virus, HBV）感染症は世界で約2億5400万人が感染し、2022年には110万人がHBV関連疾患で死亡している等、世界的な健康問題と認識されている感染症である。D型肝炎ウイルス（hepatitis D virus, HDV）はそのような世界的に流行しているHBVと体液を介して共感染や重複感染を引き起こす。HDVの持続感染はHBVの単独感染よりも肝硬変や肝細胞癌のリスクが高いことが報告されている。今まではHDVに対する特異的な治療薬はなかったが、ごく最近になってHDV治療薬が開発されいくつかの国で使用可能となった。しかしながら、本邦では未承認である。治療薬の開発・承認をきっかけに欧米を始め多くの国でHDVの有病率やその臨床的特徴の報告がされつつあるが、日本では1989年の全国調査以来、疫学データは不足している。本研究は、日本国内のHBV患者におけるHDV感染の最新の有病率とその特徴を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】

2006年から2022年の間に北海道大学病院に通院歴のあるHBV患者1264名を対象とした。適切な臨床情報がある患者に対して保存血清を用いて、HDV抗体を測定し、有病率や、陽性患者と陰性患者についての臨床的特徴についての解析を行った。また、HDV抗体陽性者に対してHDV-RNAを測定した。その後、HDV抗体陽性患者と陰性患者をプロペンシティスコアマッチング（肝線維化に関する項目を交絡因子として1:3で割り付けた）を行った後に、肝線維化の指標であるFIB-4（fibrosis-4）indexを用いて、その平均変化量を比較して、肝線維化の進展について解析を行った。

【結果】

本研究では、保存血清および適切な臨床情報が入手できなかった患者を除外し、最終的に601名のHBV患者を対象とした。その結果、1.7%（10/601）の患者が抗HDV抗体陽性であり、抗HDV抗体陽性者のうち4名がHDV-RNA陽性であった。また、抗HDV抗体陽性患者において、肝硬変の有病率が抗体陰性の患者に比べて有意に高く、これらの患者ではプロトロンビン時間が延長しており、肝予備能が低下していた。また、HIV（human immunodeficiency virus）との共感染率も高いことが明らかになった。プロペンシティスコアマッチングを用いて抗HDV抗体陽性者と陰性者の背景因子を揃えた詳細な解析により肝線維化の指標であるFIB-4 indexの変化を検討したところ、抗HDV抗体陽性患者ではFIB-4 indexの平均変化量が0.18/

年であったのに対し、抗 HDV 抗体陰性患者では 0.03/年の上昇に留まった ($P = 0.01$) ことから、抗 HDV 抗体陽性患者では肝線維化がより急速に進行することが示され、HDV 感染が HBV 単独感染と比較して肝病態の進展を加速させることが明らかとなった。

【考察】

1989年に行われた日本全国における研究での HDV の抗体陽性率0.6% (95%信頼区間0.3 – 1.2%)と本研究(2022年)での抗体陽性率1.7% (95%信頼区間0.8 – 3.0%)に関して、95%信頼区間を比較すると少なくとも抗体陽性率は低下傾向ではないと考えられた。HIV 患者や透析患者は HDV のリスクファクターと報告されており、日本では患者数が増加していることから有病率に影響を与える一因と考えられる。特に HIV に関しては、本研究でも HDV 陽性者に HIV 患者が多い傾向にあり、以前の本邦からの報告では指摘されていなかった HIV との関連性も今後検討が必要である。

本研究では、核酸アナログ (nucleic acid analog, NA) 治療によって HBV 感染者の肝線維化が改善することが知られている中で、HDV 感染がその影響にどのように関与するのかを検討した。特に、プロペンシティスコアマッチング後の 40 症例において、NA 治療を行った患者を対象に、FIB-4 index を用いて肝線維化進行速度を評価したところ、抗 HDV 抗体陽性患者では線維化が進展しやすい結果であったことから、HDV 抗体陽性患者では、NA 治療を受けているにもかかわらず、肝線維化の進行速度が有意に速いことが示された。HBV 感染者に対する NA 治療においても、HDV の併存が肝疾患の進行に影響を与えることが明らかになり、HBV 感染者の治療方針を立てる際には、HDV 感染の有無を考慮することが非常に重要であることが示唆された。特に、NA 治療下でも肝線維化が進行しやすい HDV 抗体陽性患者に対しては、より厳密なモニタリングや治療アプローチの強化が求められ、今後、HDV の早期診断と適切な介入が、HBV 患者の長期的な予後改善に繋がる可能性を示した。

【結論】

本研究の意義として、HBV 感染者の中に一定数の HDV 感染者が含まれていることが示され、日本において HDV 感染が見逃されている可能性が明らかになった。これにより、HDV 感染のスクリーニングの必要性が再確認された。また、日本国内では HDV と HIV の関係に関する報告はこれまでなく、HBV と HIV の共感染者に HDV が合併している可能性が示されたことから、HIV 患者における HDV の有病率や臨床的特徴の解明が、診断・治療方針の確立に重要であることが示された。本研究は単施設の後方視的研究で

あり、全国規模のデータとして一般化するには限界があるため、全国 25 施設による多施設共同研究を通じて、HBV および HIV 感染者を対象とした広範な疫学調査を現在進行中である。日本では HDV 感染症の認知度が低いものの、潜在的な感染者のスクリーニング体制の普及と治療ガイドラインの整備を進めることで、HDV による肝疾患の進行を抑え、患者の予後を改善することが今後の課題となる。

略語表

本文中及び図表に記載した略語は以下の通りである。

AASLD	American association for the study of liver diseases
APASL	Asian Pacific association for the study of the liver.
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase
CH	chronic hepatitis
CI	confidence interval
CLD	chronic liver disease
CT	computed tomography
EASL	European Association for the Study of the Liver
FIB-4	fibrosis 4
γ -GTP	gamma-glutamyl transferase
HBe-Ag	hepatitis B virus envelope antigen
HBe-Ab	hepatitis B virus envelope antibody
HBs-Ag	hepatitis B virus surface antigen
HBs-Ab	hepatitis B virus surface antibody
HBV	hepatitis B virus
HCC	hepatocellular carcinoma
HCV	hepatitis C virus
HDV	hepatitis delta virus
HIV	human immunodeficiency virus
HSPG	heparan sulfate proteoglycan
IgG	immunoglobulin G
IgM	immunoglobulin M
INF	interferon
JSH	Japan Society of Hepatology
LC	liver cirrhosis
M2BPGi	mac-2 binding protein glycosylation isomer
MSM	Men who have sex with men
NA	nucleic acid analog
NH ₃	ammonia
NTCP	Na ⁺ -taurocholate co-transporting polypeptide

Plt	platelet
PT	prothrombin time
RNP	ribonucleoprotein
S-HD-AG	small hepatitis D virus surface antigen
T.Bil	total bilirubin

本邦での B 型肝炎患者における D 型肝炎ウイルス 共感染頻度に関する後方視的検討

緒言

B 型肝炎ウイルス感染症(HBV, hepatitis B virus)は世界的な健康問題で、世界で約 2 億 5400 万人が HBV に感染しており、2022 年には 110 万人が HBV 感染に関連して死亡している (WHO fact-sheets HBV, 2024)。HBV は成人期に感染すると、急性感染がおこった後にジェノタイプの種類により 10%程度が慢性肝炎となり、年間 1~5%が肝硬変に至り、肝硬変に至った場合は年間 3~8%が肝細胞癌に至る (JSH Guidelines for the Management of HBV Infection 2022) (図 1)。

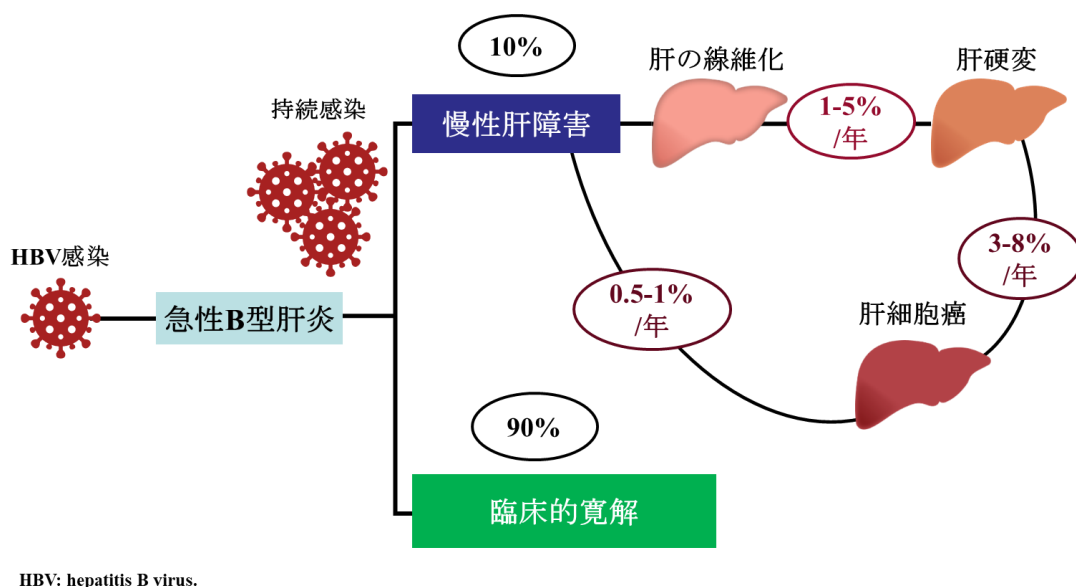


図 1. B 型肝炎ウイルス感染後の病態推移について

そのような HBV の存在下で、D 型肝炎ウイルス(HDV, hepatitis D virus) は体液を介して共感染や重複感染を起こす (Gudima et al, 2007) 。 HDV のライフサイクルを図 2 に示す。 HDV はデルタ属の 1 本鎖環状 RNA ウィルスで、大・小 2 種類の抗原タンパクが関連してタンパク複合体を形成する。 HDV の構造的な特徴としては、エンベロープの一部に HBV の表面抗原である HBs 抗原を有することにより、肝細胞に発現している NTCP

(Na⁺-taurocholate co-transporting polypeptide) 受容体にこの HBs 抗原が結合することで肝細胞内に侵入するため、HDV 感染の成立には HBV が必要である。 ウィルスが肝細胞に侵入した後 HDV リボ核タンパク質

(ribonucleoprotein, RNP) 複合体は、HDV 抗原のシグナルによって細胞の核に運ばれ、そこでウィルスの増殖過程が進む。核内で HDV ゲノムが増殖用のテンプレートとして働き、S-HD-AG(small hepatitis D virus surface antigen)と L-HD-AG(large hepatitis D virus surface antigen)が生成され (Taylor JM, 2006) 、生成されたタンパク質は核に戻り、ウィルス複製を調整した後、RNP 複合体を形成して細胞質に輸出される。最後に、この複合体は膜に包まれて完全な HDV ウィルスとして血中に放出される (Otto and Casey, 1996) 。

また多くの場合で、HDV は HBV の複製を抑制しながら、自身の複製を行っていくという特徴がある。これは HDV 抗原 (HDV-Ag) が HBV のメッセンジャー RNA (mRNA) の転写や放出を直接的または間接的に抑制すると考えられており、この機序が HBV 複製抑制の一因とされている (Shah et al, 2019) 。

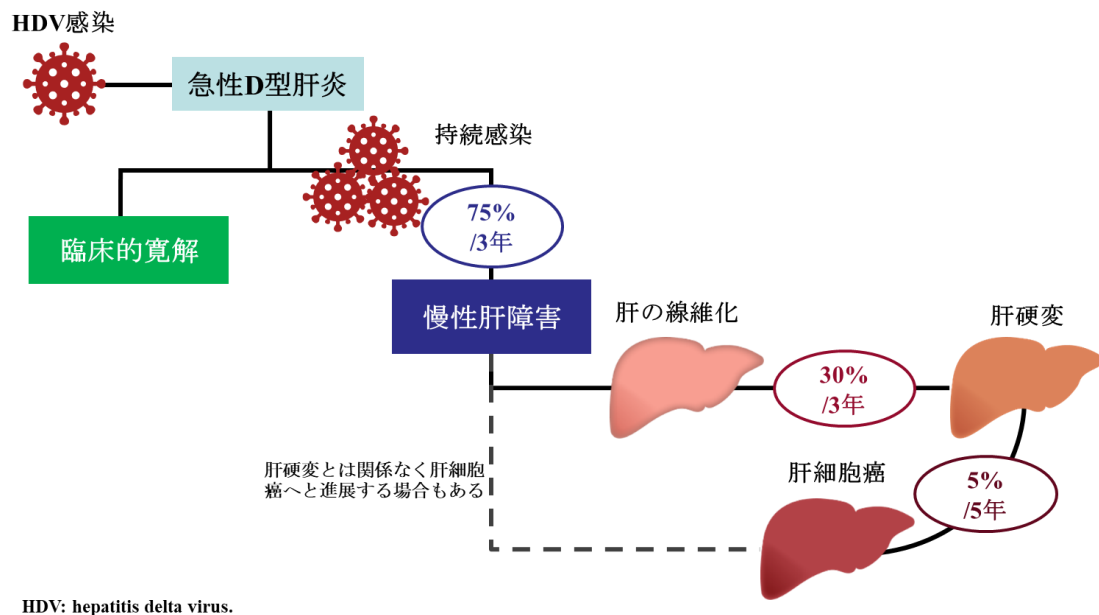


図 3. D 型肝炎ウイルス感染後の病態推移について

B 型肝炎単独感染に比べて、肝硬変や肝細胞へのリスクが高く、進展も早い。

HDV は、その遺伝子型に応じて世界各地に異なる分布を持っている。HDV の遺伝子型は 8 つに分類され、各地域で特定の遺伝子型が報告されている。HDV 遺伝子型 1 型は世界中で広く分布しており、最も一般的な型とされている (Shakil et al, 1997)。HDV 遺伝子型 2 型は日本、台湾、ロシアのヤクーチア地域に特有の分布を示す (Imazeki et al, 1990; Wu et al, 1998; Ivaniushina et al, 2001)。さらに、HDV 遺伝子型 4 型は、主に台湾と日本で見られる (Sakugawa et al, 1999)。南米およびアフリカ地域の分布南米アマゾン流域では、最も多様性の高い HDV 遺伝子型 3 型が主に見られる (Paraná et al, 2006)。一方、HDV 遺伝子型 5~8 型はアフリカ出身者に多く見られ、これらの遺伝子型は北ヨーロッパへの移住者の間でも確認されている (Radjef et al, 2004; Le et al, 2006)。これらの地域的な遺伝子型の分布を明らかにすることは、HDV の感染経路や疾患の進展に影響を与える可能性があり、特に治療法の選択や予後の評価において重要であると報告されており、これらの地域における公衆衛生対策や治療方針の策定に重要な意義を持つと考えられる (Sarah et al, 2011)。

HDV の抗体陽性率は、世界的に流行している HBV 感染患者の 4.5～13% と推定されている (Miao et al, 2020)。しかし、実際には疫学データが不足している国が多く、正確な陽性率や地域的な差は不明である (Stockdale et al, 2020) (図 4)。例えば、HDV 感染は、アジアやアフリカ、東ヨーロッパ等の特異的な地域で感染率が認められているものの、これらの地域での詳細なデータも十分とはいえない現状がある。また、最近まで HDV に対する特異的な治療薬はなかったが、ごく最近になって HDV 侵入阻害剤 ブレビルチド (bulevirtide, BLV) が数か国で承認され使用可能となった。BLV は肝細胞に発現する NTCP (ナトリウム依存性胆汁酸輸送体) 受容体を阻害することで HDV の増殖を抑制する。投与 96 週間の報告では、約 8 割の患者に HDV-RNA の低下や肝機能の改善がみられている (Heiner et al, 2024)。しかしながら、日本においては未だ HDV に対する特異的な治療薬が承認されていない。

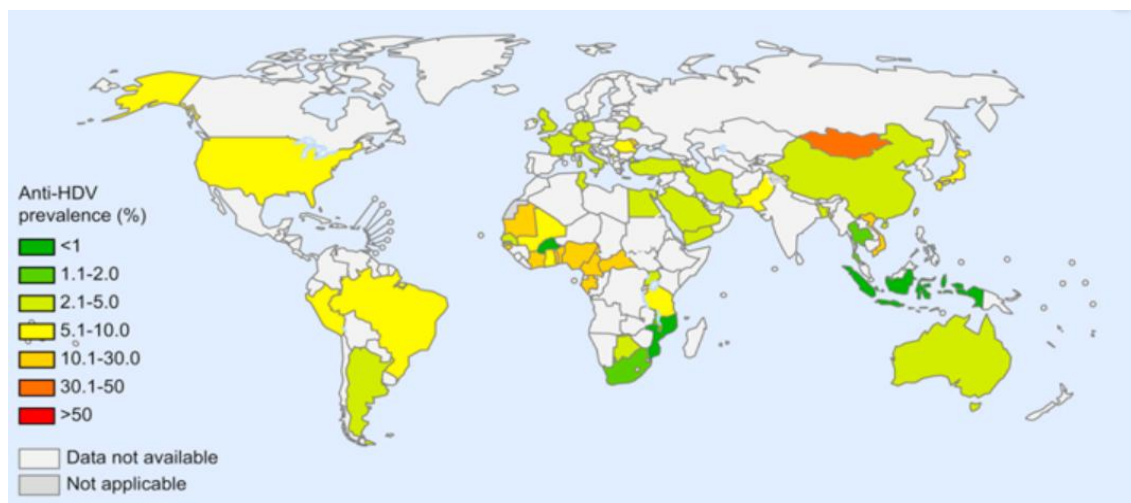


図 4. D 型肝炎ウイルスの世界的な分布

モンゴルやアフリカの一部の国々では抗体陽性率が高いと報告されている。しかし、疫学データが不足している国が多く、正確な抗体陽性率は不明である。

HDV の治療薬が開発され、使用可能となったことを契機に、欧米をはじめとした世界各国で HDV の有病率が再評価・報告されつつある。治療薬が存在することにより、HDV 感染症の早期発見及び適切な治療へ結びつけることが肝炎ウイルス感染患者の予後延長に寄与する可能性があり、HDV

感染症の疫学的状況を把握することが求められている。しかしながら、日本では 1989 年に報告された全国規模の研究（全国国立病院 31 施設の HBs 抗原陽性患者 1306 名のうち HDV 抗体陽性は 8 例であった）以来の疫学的データはない（Yano and Inoue, 1989）。すなわち、HDV の抗体陽性率が 0.6%と報告されて以来、全国的な疫学データはない。その一因としては、HDV 抗体検査は、保険収載されているにも関わらず、民間の検査機関では HDV 抗体検査の受託を受け付けておらず、日常臨床においての測定ができない状況にあることが考えられる。

以上の背景より、現在の日本人 HBV 患者における HDV 感染症の有病率とその特徴を明らかにすることを目的とした。

方法

1. 研究の種類・デザイン

単施設後ろ向き観察研究

2. 対象となる患者

2006 年 11 月から 2022 年 9 月の間に北海道大学病院に通院された HBV 患者のうち、以下の選択基準（1）を満たし、かつ除外基準（2）のいずれにも該当しない場合を適格とした。

（1）選択基準

- ①満 20 歳以上の患者
- ②適切な臨床情報や保存血清を有する患者
- ③本研究への参加についてインフォームドコンセントを行い自由意思による同意が得られた患者、直接の同意取得が困難であった場合は、包括同意を取得しており、オプトアウトで研究の参加を拒否しなかった患者

（2）除外基準

- ①臨床情報や保存血清が欠落している患者
- ②本研究参加について自由意志による同意が得られなかった患者

3. 検討項目

- ①HBV 患者における HDV の有病率について
- ②HDV 感染と関連する因子について
- ③HDV 陽性症例の肝線維化進展について

4. 測定項目とその測定方法

① HDV-IgG

－30℃で保存された直近の保存血清を使用し、Biorbyt 社製の ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）キット（orb339948）を用いて、製造元の下記記載のプロトコールに従い以下の如く、血清中の抗 HDV 抗体（IgG）を測定した。プレートリーダーには Spectra MAX™ iD3 (Molecular Devices, San Jose, USA) を使用した。

1. 試薬と保存血清の準備

全ての試薬および保存血清は、使用前に室温（約 20～25℃）まで戻して使用した。保存血清が凍結されている場合は、再度遠心分離を行い、均一な状態に整えた。

2. プレーートの準備と配置

アッセイレイアウトシートを参照し、使用するウェル数（同時に 91 検体まで測定可能）を決定した。まず、1 つのブランク（空白）ウェルを設定した。そして、3 つのネガティブコントロールウェル、および 1 つのポジティブコントロールウェルを設定し、それぞれのウェルに 100μl のネガティブコントロールまたはポジティブコントロールを加えた。残りのウェルには、まず 100μl の保存血清用の希釈液を加え、その後各ウェルに 10μl の保存血清を添加した。

3. インキュベーション

プレートを付属の接着フィルムでカバーし、37℃ で 30 分間インキュベートした。

4. 洗浄操作

インキュベーション後、各ウェルの液体を吸引して除去し、洗浄工程を合計 5 回繰り返した。（洗浄は、マルチチャンネルピペットを使用し、各ウェルに 200μl の洗浄バッファーを加えた後、液体を完全に吸引し、プレートを逆さまにして、清潔なペーパータオルの上で軽くたたき、残った液体を除去した。

5. HRP コンジュゲートの添加

各ウェルに 100μl の HRP コンジュゲート（ブランクウェルを除く）を加え、再度プレートを接着フィルムでカバーし、37℃ で 30 分間インキュベートした。

6. 洗浄工程の繰り返し

再度、洗浄操作を 5 回繰り返した（ステップ 4 と同様）。

7. 基質溶液の添加

各ウェルに 50 μ l の基質 A および 50 μ l の基質 B を加え、37°C で 10 分間インキュベートした。

8. 反応停止と測定

各ウェルに 50 μ l の停止液を加え、プレートを軽くたたいて混和した。ブランクウェルをゼロとして、450nm に設定したマイクロプレートリーダーを使用して、10 分以内に各ウェルの吸光度を測定した。

●結果の判定基準

測定結果の信頼性を確保するため、以下の 3 つの条件を満たす必要がある。

- I. ブランクウェルの吸光度は、0.08 以下でなければならない。
- II. ポジティブコントロールの吸光度は、0.30 以上である必要がある。
- III. ネガティブコントロールの平均吸光度は、0.10 未満である必要がある。

カットオフ値 = ネガティブコントロールの平均吸光度 + 0.10 として、カットオフ値以上を HDV-IgG 陽性とした。

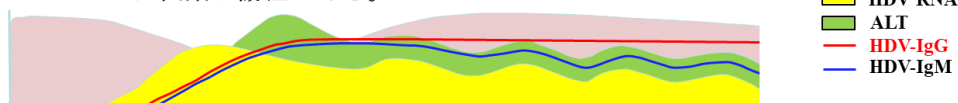
HBVとHDVが同時に感染した場合

→ 通常、両方のウイルスは自然に排除される。



HBV患者にHDVが重複感染した場合

→ 通常、HDV-RNAは長期に陽性である。



HBV患者にHDVが重複感染した場合

→ 長期経過の中でHDV-RNAが消失することもある。

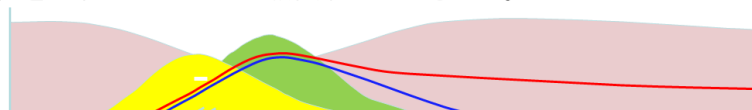


図 5. HDV 感染後の血清学的な推移 (Hughes et al, 2011)

感染様式により様々なパターンがあるが、HDV-IgG は長期に陽性である。

HBs-Ag, hepatitis B virus surface antigen; HBV, hepatitis B virus infection; HDV, hepatitis D virus infection; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M

② HDV-RNA

HDV-IgG 陽性患者の -30°C で保存した保存血清を用いて、Sacace Biotechnologies 社のキット「K-2-1/100」で HDV RNA を抽出し、「V3 100/2FRT」を使用して血清中の HDV RNA を測定した。抽出及び測定は、製造元の下記記載のプロトコールに従って実施し、HDV RNA の測定は STEP One Plus Real-Time PCR System (Thermo Fisher, USA) を使用した。

●HDV RNA の抽出方法

1. 試薬の準備

Lysis Solution および Washing Solution を $60\sim 65^{\circ}\text{C}$ に温め、氷晶を完全に溶解させた。

2. チューブの準備

必要な数の 1.5 ml ポリプロピレンチューブを用意した。

3. internal control および Lysis Solution の添加

各チューブに、5 μl の internal control と 450 μl の Lysis Solution を加えた。

4. 保存血清の追加

それぞれのチューブに、100 μl の保存血清を加えた。

5. コントロールの準備

ネガティブコントロール用チューブにネガティブコントロールを 100 μl とポジティブコントロール用チューブ 2 本にポジティブコントロール①と②をそれぞれ 10 μl 加えた。

6. 混合と遠心

各チューブをボルテックスし、7~10 秒間遠心分離した。

7. ソルベントの添加

ソルベントを激しくボルテックス混合し、25 μl を各チューブに加えた。その後、再度 5-7 秒間ボルテックスして、室温で 10 分間インキュベートした。

8. 遠心と上清の除去

各チューブを 10,000 g で 30 秒間遠心分離し、ペレットを崩さないように上清を除去した。（チップはチューブごとに交換）。

9. 洗浄工程

各チューブに 400 μ l の Washing Solution を加え、ボルテックス混合した後、10,000 g で 30 秒間遠心分離し、上清を除去した。

10. エタノールによる洗浄

各チューブに 70%エタノール 500 μ l を加え、ボルテックス混合後、10,000 g で 30 秒間遠心分離して上清を除去した。同じ工程をもう一度繰り返した。

11. アセトン洗浄

各チューブに 400 μ l のアセトンを加え、ボルテックス混合後、10,000 g で 30 秒間遠心分離し、上清を除去した。

12. 乾燥

チューブのキャップを開けた状態で、60°C で 10 分間インキュベートして乾燥させた。

13. RNA の溶出

ペレットを 50 μ l の RNA 溶出液で再懸濁し、60°C で 10 分間インキュベート（適宜ボルテックス混合）した。その後、12,000～16,000 g で 1 分間遠心分離した。

14. RNA の回収および保存

上清には RNA が含まれており、回収して-80°C で保存した。

●HDV RNA の測定方法

1. 凍結保存されている試薬類を解凍しボルテックスで混和後、チューブを短時間遠心した。

2. DTT 入りのチューブに、RT-PCR-mix-1 を 300 μ l、RT-PCR-mix-2 を 200 μ l、Hot Start Taq ポリメラーゼを 20 μ l、M-MLV 逆転写酵素を 10 μ l 加えよく混和し、短時間遠心し反応液を作成した。
3. 各チューブに作成した反応液を 12.5 μ l 添加し、抽出済み RNA サンプルを各チューブの反応液に 12.5 μ l 加え、ピペッティングで混和した。
4. ポジティブコントロールの増幅反応。
 PCE 1: Pos1 HDV RNA-rec から抽出された RNA サンプルを 12.5 μ l、陽性抽出コントロール 1 用チューブに添加。
 PCE 2: Pos2 HDV RNA-rec から抽出された RNA サンプルを 12.5 μ l、陽性抽出コントロール 2 用チューブに添加。
 C-: ネガティブコントロールから抽出された RNA サンプルを 12.5 μ l、陰性抽出コントロール用チューブに添加。
 QS1: QS1 HDV/IC を陽性増幅コントロール 1 用の 2 本のチューブにそれぞれ 12.5 μ l ずつ添加。
 QS2: QS2 HDV/IC を陽性増幅コントロール 2 用の 2 本のチューブにそれぞれ 12.5 μ l ずつ添加。
 NCA: TE-Buffer を 12.5 μ l、陰性増幅コントロール用チューブに添加。
5. チューブを閉じ、リアルタイム PCR 装置（下記の設定）にセットした。

ステージ	温度, °C	時間	蛍光検出	サイクル数
Hold	50	15分	-	1
Hold	95	15分	-	1
Cycling	95	5秒	-	5
	60	25秒	-	
	72	15秒	-	
Cycling 2	95	10秒	-	40
	60	30秒	FAM, JOE	
	72	15秒	-	

5. 使用した患者情報

- ① 年齢、性別
- ② HBV 感染状態（HBs 抗原、HBV-DNA、HBe 抗原、HBe 抗体、ジェノタイプ）

- ③ その他の感染症（HIV [human immunodeficiency virus] 感染、HCV 感染）
- ④ 血液検査（Plt、AST、ALT、Alb、T-Bil、 γ -GTP、PT%、アンモニア、ヒアルロン酸、IV型コラーゲン、M2BPGi）
- ⑤ 肝硬変、肝臓の有無
- ⑥ 核酸アナログの治療歴
- ⑦ 画像検査（CT、MRI、腹部超音波検査、FibroScan）
- ⑧ 肝線維化マーカー：FIB-4 index
- ⑨ 肝予備能：Child-Pugh 分類
- ⑩ 飲酒歴（男性では 60g/日、女性では 40g/日を超えるエタノール量）

・肝硬変（liver cirrhosis, LC）の有無は、画像検査所見、肝生検による病理組織学的所見、血液生化学的データ、ならびに FibroScan（Echosens, Paris, France）を用いた肝硬度測定検査より総合的に判定した(Ohara et al, 2018)。

・FIB-4 index は肝線維化の指標とされており、下記のように年齢と血清の AST、ALT、血小板により計算され、病理学的な肝線維化の進行と FIB-4 index は相関する（Anaïs VP, 2007）。

$$\triangleright \text{FIB4-index} = (\text{AST} \times \text{Age}) / (\text{Plt} \times \sqrt{\text{ALT}})$$

・HBV 感染状態は HBs 抗原、HBV-DNA、HBe 抗原、HBe 抗体、HBV ジェノタイプ等の B 型肝炎のマーカーを用いて、正確に評価した（Suda et al, 2023）。

6. 統計解析

統計分析は、Prism 7.03（GraphPad Software, Inc, La Jolla, CA, USA）および EZR（Saitama Medical Center at Jichi Medical University）ソフトウェアパッケージを使用した。カテゴリー変数は χ^2 検定やフィッシャーの直接確率検定で解析を行い、連続変数は Mann-Whitney の U 検定を用いて解析した。プロペンシティスコアマッチングでは、肝線維化に関係する項目（年齢、性別、核酸アナログ治療の有無、飲酒歴、肝硬変の有無、FIB-4 index、HIV 感染の有無）を交絡因子

として 1:3 で割り付けした。Hosmer lemeshow 検定ではプロペンシテ
ィスコアマッチング後の患者背景に差があるかどうかを検証した。
すべての P 値 は両側検定で、0.05 未満を統計的に有意であるとし
た。

7. 被験者を対象とした研究におけるインフォームドコンセント

本研究は「ヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月改定) 」及び「人を対象と
する医学系研究に関する倫理指針 (平成 26 年文部科学省・厚生労働
省告示第 3 号) 」を遵守して実施され、あらかじめ臨床研究実施計画
書と患者説明同意文書を北海道大学病院長へ提出し、研究の実施に関
して自主臨床研究審査委員会の承認及び病院の許可を得て行われた
(自主臨床研究番号：自 021-0164)。研究参加に対して書面による同意
が得られた患者、直接の同意取得が困難であった場合は、包括同意を
取得しており、オプトアウトで研究の参加を拒否しなかった患者を対
象とした。

結果

1. 患者背景

図 6 に Study flow を示す。2006 年 11 月から 2022 年 9 月までの期間に、北海道大学病院においてフォローアップされた HBV 患者（HBsAg および/または HBV DNA 陽性と判定された患者）1264 名をスクリーニングした。そのうち、保存血清の不足や臨床情報の不備などの理由で 663 名を除外し、601 名が本研究の対象となった。

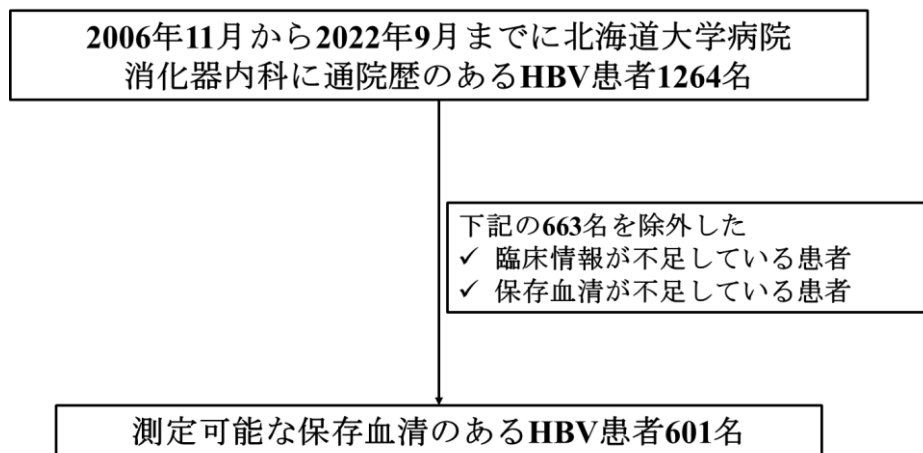


図 6. Study flow①

HBV, hepatitis B virus infection.

表 1 に検討を行った HBV 患者 601 例の患者背景を示す。患者の年齢中央値は 62.0 歳（20～92 歳）であり、62.9%（378/601）が男性であった。また、28.1%（169/601）が肝硬変（LC）を有し、34.4%（207/601）が肝細胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）または HCC の既往歴を有していた。HBV 遺伝子型は、A 型が 19 名、B 型が 91 名、C 型が 359 名であった。さらに、4.7%（27/601）が HIV 陽性、1.0%（6/601）が HCV 陽性であった。全体として、83%（499/601）が核酸アナログ（nucleic acid analog, NA）による治療を受けていた。また、Child-Pugh 分類は A が 532 名、B が 45 名、C が 24 名であった。

表 1. 対象者 601 名のベースライン時の臨床背景及び血液生化学検査結果

変数	HBV 患者 601 名
年齢, 歳	62 (20–92)
性別, 男性/女性	378/223
肝硬変, +/-	169/432
肝細胞癌, +/-	207/394
核酸アナログ治療歴, +/-	499/102
HIV, +/-	27/574
HCV-RNA, +/-	6/595
HCV 抗体, +/-	14/587
飲酒歴, +/-	23/578
HDV-IgG, +/-	10/591
血小板数, $\times 10^4 / \text{mm}^3$	18.3 (1.5–75.0)
プロトロンビン活性, %	91.6 (10.1–144)
アルブミン, g/dL	4.2 (1.6–5.4)
総ビリルビン, mg/dL	0.9 (0.1–26.9)
AST, IU/L	26 (1–3715)
ALT, IU/L	21 (4–707)
Γ -GTP, IU/L	26 (5–889)
アンモニア, $\mu\text{g/dL}$	40 (10–198)
Child-Pugh grade A/B/C	532/45/24
HBs 抗原, IU/mL	629 (0.06–301800)
HBV-DNA, Log IU/mL	0 (0–8.3<)
HBV genotype A/B/C/D/A+G/H/unknown	19/91/359/4/1/1/126
FIB-4 index	2.01 (0.07–74.82)
ヒアルロン酸, ng/mL	51.5 (11–1060)
IV型コラーゲン, ng/mL	4.4 (2.4–23)
M2BPGi, C.O.I	0.69 (0.19–15.41)

Data are shown as median (range) values or patients' numbers. Abbreviations: C.O.I., cut off index; HBs, hepatitis B virus surface; HCV, hepatitis C virus; HDV, hepatitis D virus; HIV, human immunodeficiency virus; IgG, immunoglobulin G; M2BPGi, mac-2 binding protein glycosylation isomer; FIB-4, fibrosis-4.

2. HBV 患者における HDV 患者の有病率およびその特徴

続いて対象となった HBV 患者の抗 HDV 抗体陽性率、及び HDV-RNA 陽性率を図 7 に示す。HBV 患者 601 名のうち、1.7% (10/601) が抗 HDV IgG 抗体陽性であった。これら抗 HDV 抗体陽性患者 10 名のうち、4 名は HDV RNA も陽性であった (図 7)。

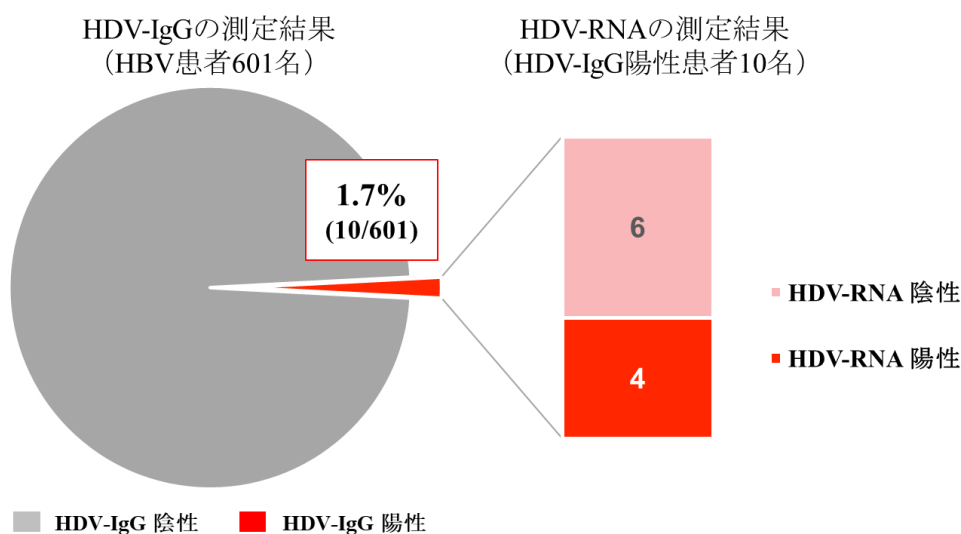


図 7. HDV-IgG 陽性患者 (左図) と HDV-RNA 陽性患者 (右図) の割合
対象患者 601 名のうち、HDV-IgG 陽性者は 10 名であった (1.7%)。
HDV-IgG 陽性患者 10 名のうち、HDV-RNA 陽性例は 4 名であった (40%)。

また、検査結果の正確性を高めるため、negative コントロールとして、非アルコール性脂肪肝炎を背景とした肝硬変患者 (非 HBV 患者) 80 名の HDV-IgG を測定し、全例陰性であることを確認した。

抗 HDV 抗体陽性患者と陰性患者の背景因子の比較を表 2 に示す。抗 HDV 抗体陽性患者は、肝硬変 (LC) の有病率が有意に高く ($P = 0.03$)、プロトロンビン活性 (PT%) が有意に低かった ($P = 0.01$) (表 2)。さらに、抗 HDV 抗体陽性患者は HIV 重複感染が多い傾向にあった ($P = 0.07$)。

表 2 ベースライン時の HDV 感染の有無による患者の臨床背景及び血液生化学検査結果の比較

変数	HDV-IgG 陽性者 10 名	HDV-IgG 陰性者 591 名	P 値
年齢, 歳	59 (40–84)	63 (20–92)	0.56
性別, 男性/女性	6/4	372/219	>0.99
肝硬変, +/-	6/4	163/428	0.03
肝細胞癌, +/-	4/6	203/388	0.74
核酸アナログ治療歴, +/-	9/1	490/101	>0.99
HIV, +/-	2/8	25/566	0.07
HCV-RNA, +/-	0/10	6/585	>0.99
HCV 抗体, +/-	0/10	14/577	>0.99
飲酒歴, +/-	0/10	23/568	>0.99
HDV-IgG, +/-	10/0	0/591	-
血小板数, $\times 10^4 / \text{mm}^3$	14.85 (3.6–29.0)	18.3 (1.5–75.0)	0.29
プロトロンビン活性, %	71.5 (50.7–107)	92.1 (10.1–144)	0.01
アルブミン, g/dL	4.3 (2.7–4.8)	4.2 (1.6–5.4)	0.49
総ビリルビン, mg/dL	1.0 (0.2–8.0)	0.9 (0.1–26.9)	0.21
AST, IU/L	31 (21–201)	26 (1–3715)	0.71
ALT, IU/L	18 (7–45)	21 (4–707)	0.61
Γ -GTP, IU/L	41 (14–244)	26 (5–889)	0.75
アンモニア, $\mu\text{g/dL}$	48 (33–90)	39 (10–198)	0.81
Child-Pugh grade A/B/C	7/1/2	525/44/22	0.03
HBs 抗原, IU/mL	514 (8.4–20600)	641 (0.06–301800)	0.85
HBV-DNA, Log IU/mL	1.91 (0–4.24)	0 (0–8.3<)	0.32
HBV genotype A/B/C/D/A+G/H/unknown	0/1/6/0/0/0/3	19/90/353/4/1/1/123	0.98
FIB-4 index	5.0 (1.2–14.8)	2.0 (0.07–74.8)	0.29
ヒアルロン酸, ng/mL	51.6 (38.5–64.7)	51.5 (11–1060)	0.84
IV型コラーゲン, ng/mL	5.35 (5–5.7)	4.4 (2.4–23)	0.85
M2BPGi, C.O.I	0.69 (0.53–0.85)	0.69 (0.19–15.41)	0.75

Data are shown as median (range) values or patients' numbers. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate transaminase; C.O.I, cut off index; γ -GTP, gamma-glutamyl transferase; HBs, hepatitis B virus surface; FIB-4, fibrosis-4; HCV, hepatitis C virus; HDV, hepatitis D virus; HIV, human immunodeficiency virus; IgG, immunoglobulin G; M2BPGi, mac-2 binding protein glycosylation isomer; *Significant difference, $P < 0.05$.

3. HDV 患者の肝線維化の進展について

続いて、HDV 患者では、肝硬変の割合が有意に多く肝予備能やプロトロンビン時間も有意に低下していたことから、非感染者に比べてより急速に肝の線維化が進展するのではないかと考え、FIB-4 index の平均変化量を検討することとした。FIB-4 index の平均変化量としては、(直近の FIB-4 index)－(最古の FIB-4 index)を観察年数で割ったものと定義した。

まず始めに、抗 HDV 抗体陰性の患者 591 名と抗 HDV 抗体陽性の患者 10 名の患者間で患者背景をそろえるため、プロペンシティスコアマッチングを実施した。プロペンシティスコアマッチングではベースライン（観察開始時点）の肝線維化に関する項目 {FIB-4 index、核酸アナログの治療歴、飲酒歴、性別、肝硬変、HIV 感染、および年齢} を交絡因子として 1:3 で割り付けを行った。割り付けの結果として、抗 HDV 抗体陽性患者 10 名と陰性患者 30 名が選ばれた（図 8）。Hosmer lemeshow 検定を行い、陽性患者 10 名と陰性患者 30 名の患者背景は良好に揃えられたことを確認した ($P=0.77$) (表 3)。

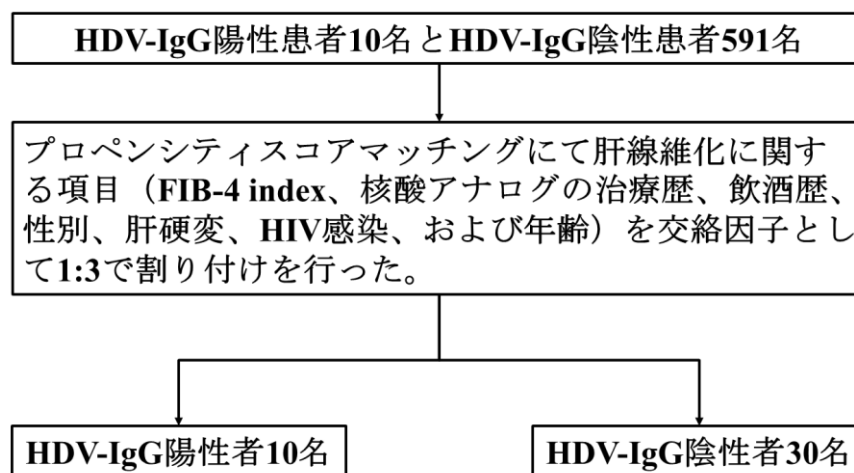


図 8. Study flow②

HDV 抗体陰性患者 591 名と HDV 抗体陽性患者 10 名で肝線維化に関する項目（FIB-4 index、核酸アナログの治療歴、飲酒歴、性別、肝硬変の有無、HIV 感染の有無、および年齢）を交絡因子として 1:3 で割り付けを行い、HDV 抗体陽性患者 10 名と陰性患者 30 名が抽出された。

HIV, human immunodeficiency virus; HDV, hepatitis D virus infection; IgG, immunoglobulin G.

表 3. プロペンシテイスコアマッチング後の HDV 抗体陽性患者と陰性患者の臨床背景及び血液生化学検査結果の比較

変数	合計 40 名	HDV-IgG 陽性者 10 名	HDV-IgG 陰性者 30 名	P 値
年齢, 歳	57 (28 – 79)	47 (31–72)	57.5 (28–79)	0.25
性別, 男性/女性	22/18	6/4	16/14	>0.99
肝硬変, +/-	23/17	5/5	18/12	0.72
肝細胞癌, +/-	18/22	4/6	14/16	>0.99
核酸アナログ治療歴, +/-	39/1	9/1	30/0	0.25
HIV, +/-	5/35	2/8	3/27	0.58
HCV-RNA, +/-	0/40	0/10	0/30	>0.99
飲酒歴, +/-	0/40	0/10	0/30	>0.99
HDV-IgG, +/-	10/30	10/0	0/54	-
血小板数, $\times 10^4 / \text{mm}^3$	14 (4.5–43)	15.3 (6.3–35.1)	13.5 (4.5–43)	0.61
AST, IU/L	36 (20–347)	39 (23–114)	34.5 (20–347)	0.64
ALT, IU/L	34 (11–450)	33 (14–51)	35.5 (11–450)	0.33
FIB-4 index	2.84 (0.79–10.8)	2.88 (1.06–4.26)	2.84 (0.79–10.8)	0.83
観察期間, 年	7 (1–25)	11 (1–25)	6 (1–17)	0.17

* Hosmer-Lemeshow 検定 $P = 0.77$

Data are shown as median (range) values or patients' numbers. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate transaminase; FIB-4, fibrosis-4; HCV, hepatitis C virus; HDV, hepatitis D virus; HIV, human immunodeficiency virus; IgG, immunoglobulin G. *Significant difference, $P < 0.05$.

抗 HDV 抗体陽性患者における FIB-4 index の平均変化量は、抗 HDV 抗体陰性患者と比較して有意に大きかった（抗 HDV 抗体陽性患者と陰性患者の FIB-4 index の平均変化量はそれぞれ 0.22/年および 0.03/年であった。 $P = 0.006$ ）ことから、HDV 患者ではより急速な肝線維化の進展がみられた。（図 9）。

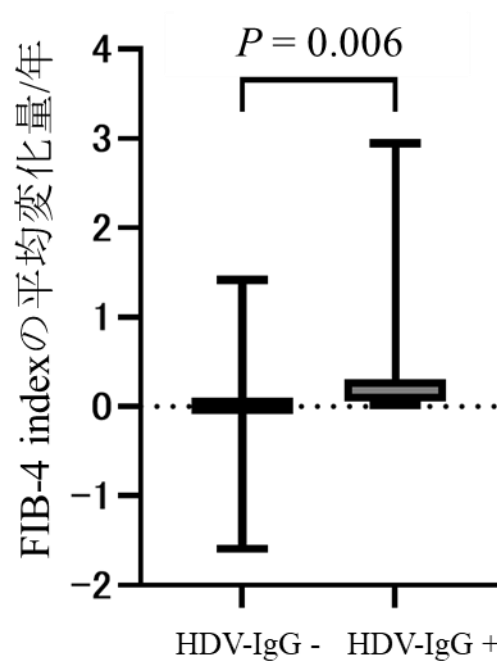


図 9. HBV 患者における抗 HDV 抗体陽性患者と陰性患者の FIB-4 index の平均変化量の比較

抗 HDV 抗体陽性患者（10 名）では陰性患者（30 名）と比較して有意な差をもって FIB-4 index の平均変化量が大きかった。

HDV: hepatitis D virus

同様に図 10 に示されているように、抗 HDV 抗体陽性患者では、抗体陰性患者と比較して年間血小板変化量（ $10^4/\text{mm}^3/\text{年}$ ）がより減少している傾向が見られた（ $P = 0.07$ ）。

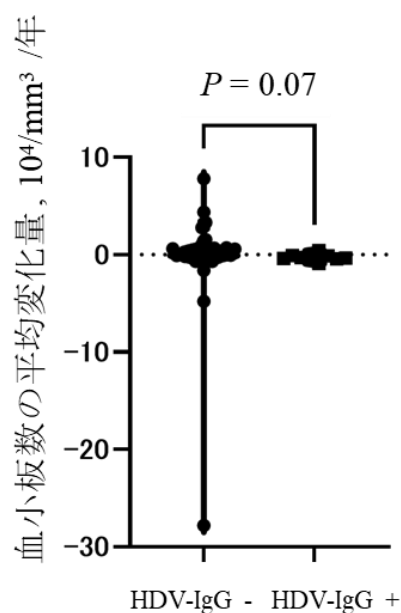


図10. HDV抗体陽性患者と陰性患者の血小板数の平均変化量の比較
HDV抗体陽性患者では陰性患者と比較して血小板数の低下傾向がみられた。

HDV: hepatitis D virus

また、核酸アナログ長期投与によってHBVによる肝の線維化は改善していくが、本研究ではプロペンシティスコアマッチング後の症例で、核酸アナログ治療を行った患者のみ (表4)での比較においてもFIB-4 indexを用いた肝線維化の進展は、抗HDV抗体陽性群で0.18/年の上昇であり、陰性群の0.03/年と比較して有意に大きく ($P = 0.01$)、抗HDV抗体陽性患者では核酸アナログ投与下でも、肝線維化の進行は早かった(図11)。

表4. プロペンシティスコアマッチング後の患者で、核酸アナログ治療を受けた患者

プロペンシティスコアマッチング後の患者		
変数	HDV-IgG 陽性者 10 名	HDV-IgG 陰性者 30 名
核酸アナログ治療歴あり	9 名	30 名

HDV: hepatitis D virus.

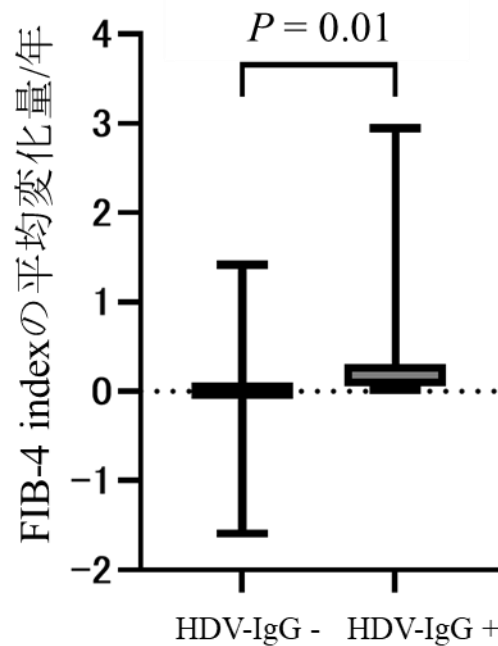


図11. プロペンシティスコアマッチング後の患者で、核酸アナログ治療を受けた患者におけるFIB-4 indexの平均変化量の比較

陽性者では核酸アナログ投与下でもFIB-4 indexの平均変化量は大きかった（抗HDV抗体陽性症例: 0.18/年、抗HDV抗体陰性症例: 0.03/年）。

HDV: hepatitis D virus

また、本研究での抗HDV抗体陽性患者10名のうちHIVの共感染者は2名であり、HIV共感染者（HBV+HDV+HIV）2名と非HIV感染者（HBV+HDV）8名でFIB-4 indexの平均変化量を比較したが、HIV共感染者では平均0.15/年の上昇、非HIV感染者では平均0.22/年の上昇であり、有意な差はみられなかった（ $P = 0.889$ ）（図12）。

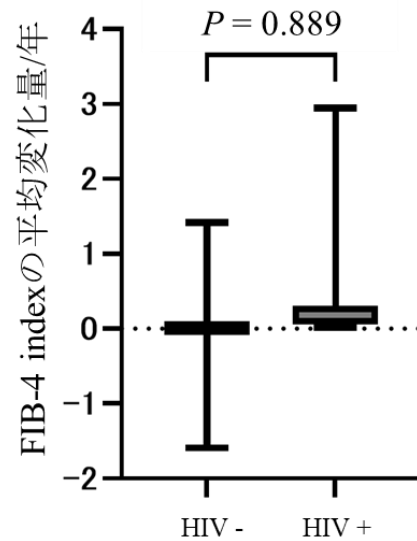


図12. 抗HDV抗体陽性患者10名のうち、HIV共感染者（HBV+HDV+HIV）2名と非HIV感染者（HBV+HDV）8名のFIB-4 indexの平均変化量の比較
統計学的な有意差は認められなかった。

最後に、HDV-RNA陽性患者と陰性患者における、FIB-4 indexの平均変化量は、HDV-RNA陽性患者（4名）で平均0.33/年と陰性患者（6名）で平均0.14/年と統計学的に有意な差は認められなかった（ $P = 0.26$ ）（図13）。

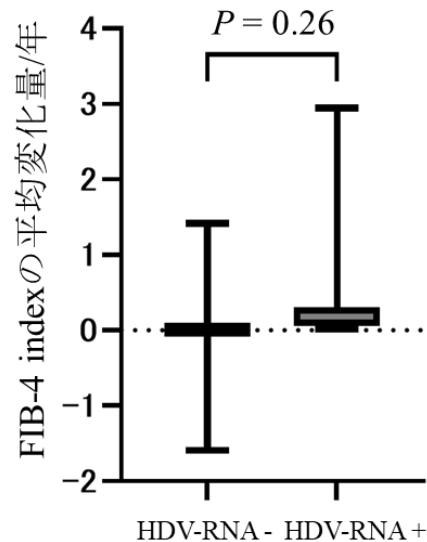


図13. HDV-RNA陽性患者と陰性患者でのFIB-4 indexの平均変化量の比較
FIB-4 indexの平均変化量（肝線維化の進展）は、HDV-RNA陽性患者（4名）と陰性患者（6名）で統計学的に有意な差がなかった。

HDV: hepatitis D virus

考察

本研究では、日本における HBV 患者の HDV 感染の有病率やその特徴を解析、検討した。601 人の HBV 患者のうち、1.7% (10/601) が抗 HDV 抗体陽性であった。HDV 抗体陽性患者は肝硬変症例が有意に多く、プロトロンビン時間が有意に低く、さらに HIV の共感染率が高い傾向にあることが明らかになった。さらに、プロペンシティスコアマッチングを用いた解析により、抗 HDV 抗体陽性の患者では抗 HDV 抗体陰性の患者よりも FIB-4 index を用いた平均変化量が大きく、肝線維化がより進展していることが明らかとなった。

本研究結果より、HBV 患者の約 2% が抗 HDV 抗体陽性であることが判明した。日本における HDV 感染の有病率に関する疫学データは 1980 年代から 1990 年代にかけて報告されたが、最近の疫学データに関する報告はなかった。このうち、我が国の HDV 抗体陽性率に関する研究で大規模な研究としては 1986 年に矢野らにより報告されている。この全国研究では、全国国立病院 31 施設の HBs 抗原陽性患者 1306 名を対象とし、抗 HDV 抗体陽性率は 0.6% (8/1306) と報告された (Yano and Inoue, 1989)。しかし、本研究では、HBV 患者における抗 HDV 抗体陽性率は 1.7% (10/601) であり、HBV 患者における HDV の抗体陽性率が少なくとも 1980 年代と比較して減少していないことが考えられた。この点について、新型コロナウイルス感染症のパンデミック以前には、日本における外国との交流が 1990 年代よりも盛んに行われており、これが HBV 患者における HDV 感染率の維持または増加に寄与した可能性がある。

一方、世界的な HDV の有病率は、HBV 患者の 4.5%～13%であることが最近報告され、その為 1,200 万人から 7,200 万人にのぼる HDV 患者がいると推定されている (Miao et al, 2020)。このように、世界中で推定されている HDV 陽性率や患者数に大きな幅があるのは、地域差によって感染率が異なる事に加えて、HDV-RNA 検査において確立された検査方法がないことなど (WHO Fact-sheets HDV, 2023) が指摘されている。

HDV 感染の診断は、抗 HDV-IgG や IgM 抗体を用いた検査が行われる。しかし、抗 HDV-IgG や IgM 検査は保険収載されているにも関わらず、日本では一般的に行われておらず、これは 2000 年代以降に、抗 HDV 抗体検査を民間の検査機関が受託していないことが関係していると考えられる。

したがって、日本で簡便な HDV 抗体検査を可能にすることが早急に必要であると考えられる。更に、HDV が排除された後も抗体陽性は持続するた

め、検査時点での HDV 感染を確認するには、血清中の HDV-RNA を検出することが必要である。最近のシステマティックレビュー及びメタアナリシスでは、約 5,000 人の抗 HDV 抗体陽性者のうち、実に半数の 58.5%(95%CI 52.4-64.5)で HDV-RNA が陽性であったことが報告されているが、本研究においても 10 名中 4 名(40%)で HDV-RNA が陽性であった。

HDV-RNA 陽性が持続していることは予後不良と関連することも報告されているが、現時点で HDV-RNA のリアルタイム PCR が世界中で標準化されていないことから、抗体のみならず HDV-RNA までを含めた検査体制の確立が急務と考えられる。

本研究では、肝線維化の指標とされる FIB-4 index の年率での上昇が抗 HDV 抗体陰性症例に比較して抗 HDV 抗体陽性症例で有意に大きかったことから、肝線維化進展に伴う肝硬変発症抑制のためには、HBV 患者では HDV 検査を促進すべきであることが示唆された。実際に、ヨーロッパ肝臓学会（European Association for the Study of the Liver , EASL）の HDV の Clinical Practice Guidelines が 2023 年 8 月に改訂されており、HBs 抗原陽性症例においては、HDV 抗体のスクリーニングを標準化された方法で実施すべきであることが、strong recommendations として挙げられている（EASL, 2023）。更に、B 型肝炎が再燃する場合や慢性肝炎から急速に肝硬変に進展する場合等は HDV 抗体の再検査を実施すべきと推奨されている。同様にアジア太平洋肝臓学会（Asian Pacific association for the study of the liver, APASL）における HBV に関するガイドラインでも、すべての HBs 抗原陽性患者に HDV 抗体検査を推奨されている（APASL, 2016）。一方で、アメリカ肝臓学会（American association for the study of liver diseases , AASLD）の HBV のガイドラインでは、HDV のハイリスク患者（薬物常習者、Men who have sex with men [MSM]、HIV 感染者）に関しては HDV 抗体検査を推奨されており（Terrault et al, 2018）、各国で HDV に関するスクリーニングの指針は現在のところ異なっている。しかし、本邦では B 型肝炎治療ガイドラインに HDV に関するスクリーニング検査に関して詳細な記載がされおらず、HBV の感染者数が 110～120 万人程度（Tanaka et al, 2022）いるとされる本邦でスクリーニング検査体制が整っていないことは臨床上極めて重要な課題である。

HDVは36nmと小さな一本鎖環状RNAウイルスであり、大小2つの抗原タンパクが関連してRNPが構成され、その感染や複製にはHBVの表面抗原であるHBs抗原が必要である。HDVは1970年代半ばにRizzettoらが、HBV感染患者の中でも重度の肝炎を発症している患者を調査する中で、新しい抗原

抗体系を明らかにし、これを「デルタ抗原」と「デルタ抗体」と名付けたことから発見された。この抗原抗体系はHBV感染患者にのみ見られ、肝硬変や肝細胞癌といった重篤な肝疾患と関連していることが報告された

(Rizzetto et al, 1980)。HDVはHBs抗原を利用することで、肝表面に発現しているNTCPレセプターを介して肝細胞へ侵入する。また、HBVと同様に、HDVは血液や体液を介して感染をする (Lempp et al, 2016)。

HDVは8つの遺伝子型に分類されるが、遺伝子型と肝疾患の重症度との関係性が報告されている。すなわち、台湾からはHDV遺伝子型1型の感染は遺伝子型2型に比べて重症化するリスクが高いと報告されている (Su et al, 2006)。アマゾン地域で主に検出される遺伝子型3型が進行性肝疾患と関連しているという一方で、遺伝子型5型は進行が遅く、インターフェロン (IFN α) 治療への反応が良好であると報告されている (Da Silva et al, 2019)。また、HDV抗体陽性患者1112名を対象とした報告では、ヨーロッパの遺伝子型1型とアフリカの遺伝子型5型が肝硬変のリスク増大と関連していることが明らかにされた。特に、サブサハラアフリカの患者全体としては、ヨーロッパの患者よりも肝硬変のリスクは低いものの、遺伝子型5型に感染したアフリカの患者は他のHDV遺伝子型に感染した患者よりも高い肝障害リスクがあった (Roulot et al, 2020)。これらの報告は、HDV遺伝子型とその地域が慢性肝疾患の進行に独立した影響を及ぼす可能性を示唆しており、より詳細な解析が今後の治療方針の決定に重要であると考えられる。HDV感染者の管理においては、遺伝子型の違いを考慮することで、より適切な治療が可能になることが期待される (Lozano et al, 1994)。

本研究では、プロペンシティスコアマッチングを用いた解析により、抗HDV抗体陽性患者では、抗体陰性患者に比べて肝線維化がより急速に進行することが明らかになった。これらの結果は、HBVとHDVの共感染患者が、HBV単独感染患者と比べて、肝硬変の発症率が2～3倍、肝細胞癌の発症率が3～6倍高いという先行研究と一致している (Da et al, 2019)。さらに、HDV抗体陽性患者では、陰性患者と比較して核酸アナログ投与下でも肝線維化が進展していた。その理由として、核酸アナログ治療はHBVのウイルス量を低下させる効果を持つ一方で、HBs抗原の量を減少させる効果は限定的であることが挙げられる。そのため、HBV感染に伴う肝線維化は抑制できても、HBs抗原を利用して複製するHDVの増殖は抑えられず、結果としてHDV感染による肝線維化の進行を防ぐことができなかったと考えられる。

本研究では、抗HDV抗体陽性患者におけるHIV共感染の有病率が、HBV単独感染患者よりも高い傾向が見られた。この結果は、HIV共感染、HCV共感

染、または透析を受けている患者がHDV感染の高リスクにあるという先行報告と一致していた (Stockdale et al, 2020)。HIV単独感染者は肝線維化が進行するケースがあり、その要因として、HIV自体の直接的な肝臓への影響や慢性的な免疫活性化が考えられているが、特にHBVやHCVとの共感染がある場合、肝線維化の進行がさらに加速し、肝硬変や肝細胞癌のリスクが大幅に高まることが知られている (Price and Thio, 2010)。抗レトロウイルス療法の導入により、HIV感染者の寿命は飛躍的に延びたが、その一方で非エイズ関連疾患 (肝疾患、心血管疾患、癌) が主要な死因となりつつある。治療を適切に行っているHIV感染者では、HIVウイルスの抑制により、肝線維化の進行が遅れることが報告されているが、それでも共感染者では進行リスクが高いままである (Weber et al, 2013)。日本では、1980年代および1990年代と比較して、HDV感染の高リスクであるHIVの新規の感染者数がおおよそ1000人/年と10倍近くなっていること (Tanaka et al, 2021) や透析患者数が34万人と4倍近く増加している (Nitta et al, 2020)。したがって、HIVとの共感染や透析治療中のHBV患者を診察する際にはHDV共感染についても留意する必要がある。特にHIVとの共感染については本研究でも抗HDV抗体陽性者に多い傾向があり、本邦においてHIVとの関係についての報告はなかったことから、HIV患者における有病率やその臨床的および生化学的な特徴、肝線維化を含めた肝疾患の合併についての検証が必要と考える。

これまで、HDV感染に対する治療法としては、インターフェロン療法のみが選択肢であったが (Abbas, 2015)、治療反応率は低く、重大な副作用が報告されていた。しかしごく最近になって、HDV侵入阻害剤であるブレビルチド (bulevirtide, BLV) が欧州で承認された (Degasperi et al, 2022)。MYR301試験においてはBLVを長期投与 (96週) することにより、HDV-RNAやALT値を有意に減少させることが報告されている一方で、24週間内服後に中断するとHDV-RNAが再上昇していることも報告されている

(Heiner et al, 2024)。また、MYR204試験の24週目の中間結果では、BLVとインターフェロン療法との併用療法により、HDV-RNA減少率が単独療法では72%であったのに比べて、併用療法では88%と高くなっていた。加えて、HBs抗原の減少も併用療法群でのみ確認された (ASSELAH et al, 2021)。以上から、適切な治療期間のさらなる分析や、BLVとインターフェロンとの併用療法についても更なる検証が必要である。

また、HDV-RNAに関してだが、本研究では抗HDV抗体陽性患者10名のうち4名 (40%) がHDV-RNAが陽性であった。HBV患者にHDVが感染すると、ほとんどHDV感染が持続する一方でHDV-RNAが時間とともに低下し

ていく場合もある（Nathani et al, 2022）。注目すべき点として、WHOのFact sheet（WHO Fact sheet HDV, 2023）には、現在のところ標準化されたHDV-RNAの検査方法はなく、抗HDV抗体陽性患者がHDV-RNAが陰性であった場合は、HDVの既往感染、低ウイルス血症、または偽陰性の可能性が考えられることに注意が必要である。本研究ではHDV-RNA陽性患者（4名）と陰性患者（6名）でFIB-4 indexの平均変化量に有意な差がなかったことから、HDV-RNAが陰性であった患者の中には持続感染後に肝線維化とともにHDV-RNAが陰性化した症例や、偽陰性であった患者がいる可能性も考慮される。

本研究にはいくつかの限界がある。まず、最も重要な限界の一つは、本研究は単施設で行われたため、結果を日本全体に一般化するには限界があるところである。施設ごとに患者の背景や治療環境が異なるため、単一施設の結果が全国に通用するとは限らないため、今後多施設共同研究を行うことにより、より普遍的な結果や地域差の比較をでき、全国的なHDV感染の実態を把握し、適切な対策を講じるための基盤となると考えられる。その為、今回の結果をうけて現在全国の肝疾患拠点病院、HIV拠点病院からなる研究グループを組織して検討を行っているところである。

更に、本研究が後ろ向き研究であったため、患者の過去のデータが完全に収集できていないという限界がある。特に、HDV感染のリスク因子として注目される覚醒剤の注射歴などの情報が欠損しており、これが感染リスクを評価する上で影響を及ぼした可能性がある。このようなリスク因子を網羅的に把握することが、今後の研究では重要であり、特に疫学的な側面からHDVの感染経路やリスク要因を明確にするためには、より詳細なデータ収集が必要不可欠である。

次に、研究に含まれる患者数が限られていた点や医療機関に通院中の集団のみであった点も問題である。少人数での研究は統計的な信頼性を欠きがちで、結果の一般化が難しくなる。患者数を増やし、より広範なサンプルを用いることで、得られるデータの信頼性が向上し、研究結果の正確性も増すと考えられ、より多くの患者を対象にした研究が、臨床的特徴を理解する上で非常に重要となる。

さらに、HDV-RNAの測定方法には標準化が欠けているという課題もある。現在、世界的にHDV-RNAの測定基準が確立されていないため、検査結果の解釈にばらつきが生じることがある。この標準化の欠如が、研究結果の一致性を欠く要因となっており、今後の研究では、HDV-RNAの測定方法の統一や基準値の設定が求められる。これが解決されれば、診断の精

度が向上し、患者に対する適切な治療方針を決定する上で重要な役割を果たすことが予想される。

多くの限界があったが、本研究から得られた知見は、今後の全国規模での研究において非常に重要な意味を持つと考えられる。現在のデータは限られているが、今後多施設でのデータ収集が進むことで、より信頼性の高い結果が得られることが期待される。HDV感染は日本においても一定数の患者が存在し、これらの患者の情報を集めることは、今後のHBV患者のみならずHIV感染者においての治療方針を決定する上で非常に重要なものとなる。この研究は、その第一歩として、今後の方向性を示すものになると考える。

現在進行中の全国多施設共同研究は、日本におけるHBV患者の中でHDV感染の実態を解明するための重要な試みであり、全国25施設（肝疾患拠点病院が18施設、HIV拠点病院が13施設で重複施設があり）と協力して臨床データを収集している。上記の施設のデータを検証することで、HDVの有病率だけではなく、地域ごとのHBVとHDVの関連性やHIVとの関連性を明らかにすることができると考えられる（図14）。



図14. 参加中の全国25施設

全国を北海道(5)・東北(2)・関東(4)・甲信越(3)・中部(2)・関西(4)・中国(1)・四国(1)・九州(2)・沖縄(1)の10ブロックに分けて、地域ごとの特徴を検討していく。()内は地域ごとの施設数。

各施設の臨床現場における実務的な調整を行うため、地域ごとに責任者の先生方と個別にWeb面談を実施し、研究プロトコルや倫理的配慮について詳細に説明した。この面談により、各病院の現状や課題を理解すると同時に、協力体制の具体的な調整を進めることができた。

これらの取り組みによって、HDV感染の全国的な実態調査の枠組みが整備され、各地域の医療機関との連携が強化された。このような綿密な調整作業は、単に協力を依頼するだけでなく、各施設のニーズや懸念に耳を傾け、信頼関係を築くことで本研究が順調に進行していると考えられる。

現在までに合計1071検体の保存血清を用いたHDV-IgGの測定を終え、最終的には約6000検体を解析することを目標としている。これにより、HDVの感染状況やその発症の背景に関する広範なデータが得られることが期待され、日本全国のさまざまな患者群の中での有病率や感染の傾向を明らかにすることができると考えられる。また、保存血清がない地域においては前向きな研究の実施が検討されており、特にHIV患者や透析患者など特定のリスク群におけるHDV感染の状況についても検証をしていく予定である。

HDVのスクリーニング検査体制を整えるには、まずは現在進行中の疫学研究を早急に進めて、現在の日本におけるHDVの現状を評価することが重要である。加えてHDVは日本で広く認知されていないため、学会活動などを通じて啓蒙活動を行うことで、HDV自身を認知してもらうことも大切な取り組みであると考ええる。

またこの研究は単にHDVの有病率を測定するだけでなく、感染症としてのHDVに対する新たな理解を深めるための重要な一步であると考ええる。この研究から得られる知見は、今後の日本国内におけるHBVやHDVの診療ガイドラインに反映される可能性があり、最終的にはHDV感染に対するより効果的な治療法や予防策が確立されることを目指している。研究結果が進展することで、HDVに対する早期介入が可能となり、患者の予後改善に繋がるとともに、HDVの予防法や治療法の開発が加速することは、日本における肝炎のコントロールにとって非常に重要である。

結論

① 本研究において、以下の知見が得られた。

- ・ HBV患者における抗HDV抗体陽性者が601名中10名であり、抗体陽性率が1.7%であることが明らかになった。
- ・ 抗HDV抗体陽性者10名のうち、4名がHDV-RNA陽性であった。
- ・ 抗HDV抗体陽性者では、陰性者に比べて肝硬変の割合が高く、肝予備能が有意に低下をしていた。
- ・ 抗HDV抗体陽性者では、陰性者に比べてHIVとの共感染が多い傾向であった。
- ・ 抗HDV抗体陽性者ではFIB-4 indexを用いた平均変化量を比較することにより、陰性者に比べて肝線維化の進行が急速であることが確認された。

② 新知見の意義

本研究は、急速な肝線維化が進行するHBV感染者の中に、HDV感染者が一定数存在する可能性が示された。これにより、日本国内におけるHDV感染が見逃されている可能性が明らかになり、HDVスクリーニングの必要性が再認識された。また、過去に日本国内でHDVとHIVの関係についての研究は報告されていないが、本邦のHIV陽性患者の急速な上昇も相まって、HBVとHIVの共感染者にHDVが合併している可能性を考慮すると、HIV感染者におけるHDVの有病率や臨床的および生化学的特徴を明らかにすることで、適切な診断および治療方針の確立が期待される。

③ 新知見からの今後の研究の展開

本研究の結果は単施設後方視的な研究であり、日本全国における有病率やその特徴について述べられているとはいえない。そのため、日本におけるHDV感染の実態把握のため、HBV感染者およびHIV感染者を対象とした広範な疫学調査が必要であり、現在全国25施設との多施設共同研究グループを結成し、現在進行中である。

④ 今後の課題

日本ではHDV感染症があまり認知されていないものの、潜在的な感染者が存在する可能性があり、早期診断の強化や治療法の普及、さらに治

療ガイドラインの整備を進めることで、HDVによる肝疾患の悪化を防ぎ、患者の予後を改善することが今後の課題である。

謝 辞

まず、本研究にご協力頂いた全ての患者様、ならびにそのご家族に心より感謝申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、有益な御指導・御助言を賜りました北海道大学大学院医学研究院 内科学講座消化器内科学教室 坂本直哉教授に深く感謝申し上げます。

さらに、研究に対する心構え、実際の研究方法さらにはデータの解釈や論文の作成に至り、様々な面において御指導・御援助を賜りました北海道大学大学院医学研究院 内科学講座消化器内科学教室講師 須田剛生先生ならびに同教室助教 大原正嗣先生にも厚く御礼申し上げます。

また、今回のHDVに関する全国多施設共同研究を進めるにあたり、全国の肝疾患拠点病院だけではなく、HIV拠点病院との連携が不可欠であった。北海道大学病院血液内科 診療准教授 遠藤知之先生には長年にわたる血液内科および感染症治療に関する知見と広範なネットワークから、各地域のHIV拠点病院との協力体制の確立に多大な貢献をして頂き、深く感謝致します。

最後に、臨床における技術指導や、検体の採取などにご尽力頂きました、北海道大学病院消化器内科 肝臓グループの諸先生方に、心より深く感謝申し上げます。

2025年3月

佐々木 貴志

利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

Abbas Z and Abbas M (2015) Management of hepatitis D: the need for novel therapeutic options. *World J Gastroenterol*. 21(33): 9461–9471.

Anaïs VP, Vincent M, Bertrand N, Virginie V, Antoine N, Valérie DV, Hélène F and Stanislas P (2007) FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*. 46(1): 32–36.

Asia-Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) (2016) APASL guidelines for the management of hepatitis B. *Hepatol Int*. 10(1): 1–98.

Asselah T, Arama S, Bogomolov P, Bourliere M, Fontaine H, Gherlan S, Gorodin V, Hilleret N, Lazar S, Mamonova N, et al (2021) Safety and efficacy of bulevirtide monotherapy and in combination with peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis delta. *J Hepatol*. 81(4): 621–629.

Botelho - Souza LF, Vasconcelos MPA, Dos Santos AO, Salcedo JMV and Vieira DS (2017) Hepatitis delta: virological and clinical aspects. *Virol J*. 14(1): 177.

Chen HY, Shen DT, Ji DZ, Han PC, Zhang WM and Ma JF (2019) Prevalence and burden of hepatitis D virus infection in the global population: a systematic review and meta-analysis. *Gut*. 68(3): 512–521.

Da BL, Heller T and Koh C (2019) Hepatitis D infection: from initial discovery to current investigational therapies. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 7(4): 231–245.

Da Silva EM, Kay A, Lobato C, Muwonge R, Zoulim F and Brites C (2019) Non-F HBV/HDV-3 coinfection is associated with severe liver disease in Western Brazilian Amazon. *J Med Virol*. 91: 1081–1086.

Degasperi E, Anolli MP and Lampertico P (2022) Bulevirtide for patients with compensated chronic hepatitis delta: a review. *Liver Int*. 1: 80–86.

European Association for the Study of the Liver (2017) EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 67(2): 370–398.

European Association for the Study of the Liver (EASL) (2023) EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis delta virus, *Journal of Hepatology.* 79: 433–460.

Gudima S, He Y, Meier A, Chang J, Chen R and Jarnik M (2007) Assembly of hepatitis delta virus: particle characterization, including the ability to infect primary human hepatocytes. *J Virol.* 81: 3608–3617.

Heiner W, Soo M, Maurizia B, Antje B, Pietro A, Pavel B, Vladimir C, Nina M, Natalia G, Viacheslav M, et al (2024) Bulevirtide monotherapy in patients with chronic HDV: Efficacy and safety results through week 96 from a phase 3 randomized trial. *Journal of Hepatology.* 81(4): 621–629.

Hughes SA, Wedemeyer H and Harrison PM (2011) Hepatitis delta virus. *Lancet.* 378(9785): 73–85.

Imazeki F, Omata M and Ohto M (1990) Heterogeneity and evolution rates of delta virus RNA sequences. *J Virol.* 64: 5594–5599.

Ivaniushina V, Radjef N and Alexeeva M (2001) Hepatitis delta virus genotypes I and II cocirculate in an endemic area of Yakutia, Russia. *J Gen Virol.* 82: 2709–2718.

Koh C, Heller T and Glenn JS (2019) Pathogenesis of and new therapies for hepatitis. *D. Gastroenterology.* 156(2): 461–476.

Le Gal F, Gault E and Ripault MP (2006) Eighth major clade for hepatitis delta virus. *Emerg Infect Dis.* 12: 1447–1450.

Lempp FA, Ni Y and Urban S (2016) Hepatitis delta virus: insights into a peculiar pathogen and novel treatment options. *Nat Rev Gastro enterol Hepatol*. 13(10): 580–589.

Lozano JL, Crespo J, de la Cruz F, Casafont F, Lopez-Arias MJ and Martín, Ramos L (1994) Correlation between hepatitis B viremia and the clinical and histological activity of chronic delta hepatitis. *Med Microbiol Immunol*. 183: 159–167.

Miao Z, Zhang S, Ou X, Li S, Ma Z and Wang W (2020) Estimating the global prevalence, disease progression, and clinical outcome of hepatitis delta virus infection. *J Infect Dis*. 221(10): 1677–1687.

Nakasone H, Sakugawa H, Shokita H, Nakayoshi T, Kawakami Y and Kinjo F (1998) Prevalence and clinical features of hepatitis delta virus infection in the Miyako Islands, Okinawa, Japan. *J Gastroenterol*. 33(6): 850–854.

Nathani R, Leibowitz R, Giri D, Villarroel C, Salman S and Sehmbhi M (2023) The Delta Delta: gaps in screening and patient assessment for hepatitis D virus infection. *J Viral Hepat*. 30(3): 195–200.

Nitta K, Goto S, Masakane I, Hanafusa N, Taniguchi M and Hasegawa T (2020) Annual dialysis data report for 2018, JSDT Renal Data Registry: survey methods, facility data, incidence, prevalence, and mortality. *Renal Replacement Therapy*. 6(1): 41.

Ohara M, Ogawa K, Suda G, Kimura M, Maehara O, Shimazaki T, Suzuki K, Nakamura A, Umemura M and Izumi T, et al (2018) L-Carnitine Suppresses Loss of Skeletal Muscle Mass in Patients with Liver Cirrhosis. *Hepatol Commun*. 2: 910–922.

Omata M, Ito Y, Imazeki F, Mori J, Yokosuka O and Okuda K (1985) Infection with delta agent in Japan. *Hepato - Gastroenterology*. 32: 220–223.

Otto JC and Casey PJ (1996) The hepatitis delta virus large antigen is farnesylated both in vitro and in animal cells. *J Biol Chem.* 271(9): 4569–4572.

Paraná R, Kay A and Molinet F (2006) HDV genotypes in the Western Brazilian Amazon region: a preliminary report. *Am J Trop Med Hyg.* 75: 475–479.

Price JC and Thio CL (2010) Liver disease in the HIV-infected individual. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 8(12): 1002–1012.

Radjef N, Gordien E and Ivaniushina V (2004) Molecular phylogenetic analyses indicate a wide and ancient radiation of African hepatitis delta virus, suggesting a deltavirus genus of at least seven major clades. *J Virol.* 78: 2537–2544.

Rainer W, Caroline AS, Nina FM, Peter R, Wafaa MES, Ole K, Francois D, Matthew GL, Christian P and Stephane DW (2006) Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. *Archives of Internal Medicine.* 173(19): 1651–1659.

Rizzetto M, Hoyer B, Canese MG, Shih JW, Purcell RH and Gerin JL (1980) Delta Agent: association of delta antigen with hepatitis B surface antigen and RNA in serum of delta-infected chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA.* 77: 6124–6128.

Roulot D, Brichler S, Layese R, Ben Abdesselam Z, Zoulim F, Thibault V, Scholtes C, Roche B, Castelnau C and Poynard T (2020) Origin, HDV genotype and persistent viremia determine outcome and treatment response in patients with chronic hepatitis delta. *J Hepatol.* 73: 1046–1062.

Sakugawa H, Nakasone H and Nakayoshi T (1999) Hepatitis delta virus genotype IIb predominates in an endemic area, Okinawa, Japan. *J Med Virol.* 58: 366–372.

Sarah AH, Heiner W and Phillip MH (2011) Hepatitis delta virus. *Lancet.* 378(9785): 73–85.

Sarin SK, Kumar M, Lau GK, Abbas Z, Chan HLY and Chen CJ (2016) Asian Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update. *Hepatol Int.* 10: 1–98.

Shakil AO, Hadziyannis S, Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM, Gerin JL and Casey JL (1997) Geographic distribution and genetic variability of hepatitis delta virus genotype I. *Virology.* 234: 160–167.

Stockdale AJ, Kreuels B, Henrion MYR, Giorgi E, Kyomuhangi I and De Martel C (2020) The global prevalence of hepatitis D virus infection: systematic review and meta - analysis. *J Hepatol.* 73(3): 523–532.

Su C-W, Huang Y-H, Huo T-I, Shih HH, Sheen I-J and Chen S-W (2006) Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients. *Gastroenterology.* 130: 1625–1635.

Suda G, Baba M, Yamamoto Y, Sho T, Ogawa K and Kimura M, et al (2023) Prophylactic tenofovir alafenamide for hepatitis B virus reactivation and reactivation - related hepatitis. *J Med Virol.* 95(2): e28452.

Tamura I, Kurimura O, Koda T, Ichimura H, Katayama S and Kurimura T (1993) Risk of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in subjects with hepatitis B and delta virus infection: a study from Kure, Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 8(5):433–436.

Tanaka J, Kurisu A, Ohara M, Ouoba S, Ohisa M, Sugiyama A, Michelle LW, Lindsey H, Kanto T and Akita T (2022) Burden of chronic hepatitis B and C infections in 2015 and future trends in Japan. *The Lancet Regional Health-Western Pacific.* 22: 100428.

Tanaka T, Oshima K, Kawano K, Tashiro M, Tanaka A and Fujita A (2021) Nationwide surveillance of AIDS - defining illnesses among HIV patients in Japan from 1995 to 2017. *PLoS One.* 16(8): e0256452.

Taylor JM (2006) Hepatitis delta virus. *Virology.* 344(1): 71–76.

Terrault NA, Lok AS, McMahon BJ, Chang KM, Hwang JP and Jonas MM (2018) Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology*. 67: 1560–1599.

World Health Organization. Fact Sheet: hepatitis B; 9 April 2024.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>. 20 October 2024 access.

World Health Organization. Fact sheets; hepatitis D; 20 July 2023.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-d>. 30 October 2024 access.

Wu JC, Chiang TY and Sheen IJ (1998) Characterization and phylogenetic analysis of a novel hepatitis D virus strain discovered by restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gen Virol*. 79: 1105–1113.

Yano M and Inoue O (1989) Hepatitis delta infection in Japan (in Japanese). *Nippon Rinsho*. 47: 715–720.