

A. 研究目的

国立病院機構肝疾患ネットワーク参加施設をフィールドとして急性肝炎の疫学、発生状況を調査する。また、いわゆる原因不明とされるnonABC型急性肝炎におけるE型肝炎感染の頻度を明らかにするとともに、最近、関東地域での発生増加が懸念される欧米型B型肝炎(genotypeA)の発生状況、頻度を明らかにする目的で検討をおこなう。

B. 研究方法

全国26施設からなる国立病院機構肝疾患ネットワーク参加施設をフィールドとして多施設共同研究をおこなう。各施設に急性肝炎として入院した患者の症例登録をおこない、各起因ウイルス別に発生頻度を調査する。急性肝炎の分類としては、感染経路から、散発性と輸血後に2群に分類し、また起因ウイルス分類としては、A型、B型、C型、nonABC型の4群に分類する。また、E型肝炎の発生状況を明らかにするために、原因不明とされるnonABC型急性肝炎の患者血清からHEV抗体測定、HEV-RNAの検出、遺伝子解析をおこなう。B型肝炎genotypeの解析は、HBV-DNA PreS1-S領域で設定したHBV

genotype specific primerを用いてPCR法による増幅でgenotypeの決定をおこない、一部の検体では塩基配列まで決定し分子系統樹解析をおこなう。さらにゲノムサイエンス社製のキットを用いてPreCore Core Promoter遺伝子変異と肝炎の重症度との関連について検討をおこなった。

C. 研究結果

1980年から2004年までの過去25年間に、本研究参加ネットワーク施設内で、散発性急性肝炎として登録された症例数は3873例で、うちA型が1541例(39.8%)、B型が1016名(26.2%)、C型が327例(8.4%)、nonABC型が989例(25.5%)であった。2004年の発生頻度に関しては、126例中60例(47%)と過半数に近い症例がB型であった(表1)。

1980年から2004年までの過去25年間に輸血後急性肝炎として登録された症例数は289例で、うちB型が23名(8.0%)、C型が204例(70.6%)、nonBC型が62例(21.5%)であった(表2)。

1980年から2004年の過去25年間、本研究参加ネットワーク施設内でnonABC型急性肝炎と診断した症例の中からランダムに

表1. 散発性急性肝炎の型別年次推移 1980-2004

年	A型	B型	C型	非ABC型	計
80	44(30.6)	55(38.2)	16(11.1)	29(20.1)	144
81	50(33.4)	42(28.0)	17(11.3)	41(27.3)	150
82	37(28.2)	55(42.0)	13(9.9)	26(19.8)	131
83	162(57.7)	51(18.1)	16(5.7)	52(18.5)	281
84	57(32.8)	66(37.9)	9(5.2)	42(24.1)	174
85	33(20.9)	51(32.3)	18(11.4)	56(35.4)	158
86	65(33.5)	54(27.8)	21(10.8)	54(27.8)	194
87	31(17.9)	62(35.8)	18(10.4)	62(35.8)	173
88	86(45.3)	46(24.2)	17(8.9)	41(21.6)	190
89	122(51.9)	47(20.0)	16(6.8)	50(21.3)	235
90	187(65.8)	39(13.7)	14(4.9)	44(15.5)	284
91	115(55.8)	37(18.9)	15(7.3)	37(18.0)	204
92	77(54.6)	27(19.1)	9(6.4)	28(19.9)	141
93	84(52.8)	27(17.0)	16(10.1)	32(20.1)	159
94	64(49.6)	23(17.8)	13(10.1)	29(22.5)	129
95	40(33.6)	24(20.2)	17(14.3)	38(31.9)	119
96	20(26.7)	22(29.3)	3(4.0)	30(40.0)	75
97	49(43.4)	25(22.1)	9(8.0)	30(26.5)	113
98	30(21.9)	37(27.0)	7(5.1)	63(46.0)	137
99	52(43.3)	27(22.5)	7(5.8)	34(28.3)	120
00	15(17.7)	34(39.0)	8(9.2)	30(35.3)	87
01	39(30.0)	45(34.6)	17(13.1)	29(22.3)	130
02	45(38.5)	29(24.8)	8(6.8)	35(29.9)	117
03	23(22.5)	31(30.4)	12(11.8)	36(35.3)	102
04	14(11.1)	60(47.6)	11(8.7)	41(32.5)	126
計	1541(39.8)	1016(26.2)	327(8.4)	989(25.5)	3873

表2. 輸血後急性肝炎の型別年次推移 1980-2004

年	B型	C型	非ABC型	計
80	0	14	6	20
81	3	19	3	25
82	4	13	3	20
83	2	15	10	27
84	2	19	4	25
85	0	15	8	23
86	2	20	7	29
87	1	17	2	20
88	3	28	3	34
89	1	22	4	27
90	2	8	2	12
91	0	7	1	8
92	0	1	5	6
93	0	1	1	2
94	0	0	0	0
95	1	1	0	2
96	0	0	0	0
97	1	0	0	1
98	0	1	2	3
99	0	0	0	0
00	1	1	1	3
01	0	0	0	0
02	0	1	0	1
03	0	1	0	1
04	0	0	0	0
計	23(8.0)	204(70.6)	62(21.5)	289

表3. E型急性肝炎症例 1980-2004年

No.	発症年	年齢(歳)	性	居住地域	海外渡航歴	HEV Genotype
1	1980	74	男	長崎	不明	-
2	1981	51	男	横浜	不明	-
3	1981	38	男	長崎	不明	-
4	1983	48	男	横浜	不明	-
5	1984	39	男	横浜	不明	-
6	1984	35	男	横浜	不明	-
7	1984	46	男	長崎	不明	-
8	1985	73	男	習志野	不明	-
9	1986	62	男	相模原	不明	-
10	1986	21	女	習志野	不明	-
11	1987	53	男	相模原	不明	-
12	1987	48	男	習志野	不明	-
13	1987	52	男	金沢	不明	-
14	1992	55	男	習志野	なし	-
15	1996	45	女	横浜	なし	III
16	1996	58	男	長崎	中国	IV
17	1998	45	男	横浜	タイ	III
18	2000	51	女	横浜	なし	III
19	2000	79	女	大分	なし	III
20	2002	26	男	新宿	パキスタン	I
21	2002	54	男	相模原	なし	III
22	2002	52	男	大分	なし	III
23	2003	22	男	新宿	インド	I
24	2004	44	男	札幌	中国	IV
25	2004	34	男	埼玉	なし	III
26	2004	55	男	長崎	中国	IV

751例を選択し、初診時の血清中のHEV抗体を測定した。その結果、751例中IgM-HEV抗体陽性は34例(4.5%)、IgG-HEV抗体陽性は93例(12.4%)であった。IgM-HEV抗体陽性の34例中26例(3.5%)はIgG-HEV抗体も陽性であったことから、この26例をE型急性肝炎例と診断した(表3)。この26例の内訳は、男性22名、女性4名で年齢は20代3名、30代4名、40代6名、50代9名、60代1名、70代3名

であった。26例の中には劇症化例や死亡した例はなく全員一過性感染で回復した。分子系統樹解析をおこなうと、明らかな渡航歴のあった2例はgenotypeI型、その他の例では、genotypeIII型とIV型に分布した(図1)。1980年以後のnonABC型急性肝炎におけるE型肝炎例の発生数と発生頻度を調べたところ、1980年代にも5%前後の頻度で散発的に発生していた(表4)。

図1. HEV-RNA分子系統樹 (ORF1 region 317nt)

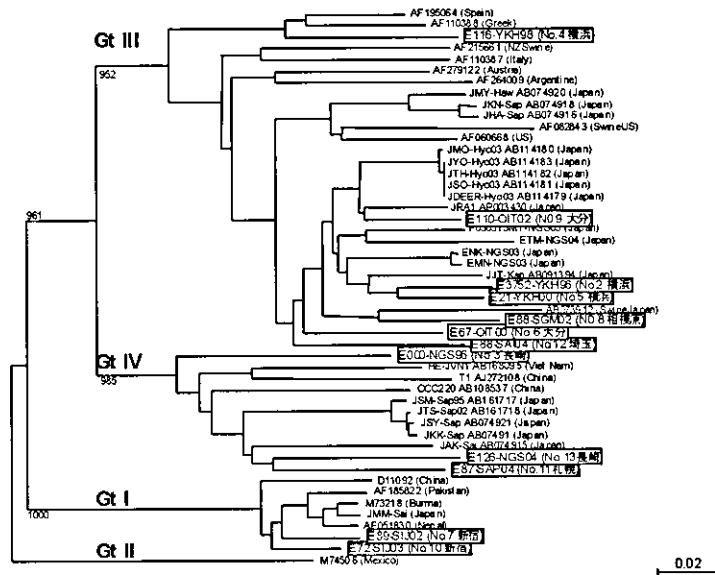


表4. 非ABC型急性肝炎に占めるE型急性肝炎発生頻度年次推移
1980年～2004年

年	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989
AH-nonABC	27	41	25	43	36	48	45	52	27	33
AH-E	1	2	0	1	3	1	2	3	0	0
(%)	(3.7)	(4.9)	(0)	(2.3)	(8.3)	(2.1)	(4.4)	(5.8)	(0)	(0)
年	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
AH-nonABC	33	25	17	21	24	31	25	9	34	23
AH-E	0	0	1	0	0	0	2	0	1	0
(%)	(0)	(0)	(5.9)	(0)	(0)	(0)	(8)	(0)	(2.9)	(0)
年	2000	2001	2002	2003	2004	計				
AH-nonABC	26	22	22	29	33	751				
AH-E	2	0	3	1	3	26				
(%)	(7.7)	(0)	(13.6)	(3.4)	(9.1)	(3.5)				

1991年から2004年までの期間、B型急性肝炎として登録された症例のうち、保存血清のある340例を対象としておこなった。340例中、genotypeA 48例(14.1%)、genotypeB 28例(8.2%)、genotypeC 261例(76.8%)、genotypeD 1例(0.3%)、genotypeE 1例(0.3%)、genotypeF 1例(0.3%)、genotypeG 0例であった(表5)。2004年に関しては、B型急性肝炎症例41例中13例(31%)がgenotypeAであった。さらにgenotypeAと判

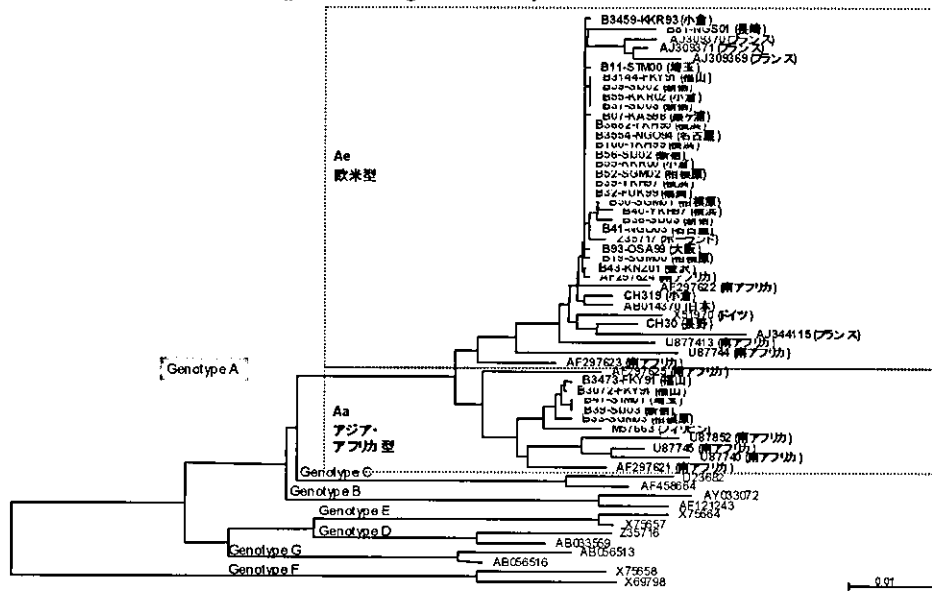
定した検体を分子系統樹解析までおこなったところ、30例中25例(83%)はAe(欧米型)、5例(17%)はAa型(アジア、アフリカ型)に分類された(図2)。

2000年から2004年までの期間、B型急性肝炎として登録された症例のうち、保存血清のある139例を対象としてPreCore Core Promoter遺伝子変異と肝炎の重症度との関連について検討した。脳症II度とPT値(40%以下)の状態、劇症型、重症型、通常型の3

表5. B型急性肝炎HBV genotype年次別頻度

年	A	B	C	D	E	F	G	計
1991	4	2	27	0	0	0	0	33
1992	1	1	24	0	0	0	0	26
1993	2	0	24	0	0	0	0	26
1994	1	1	21	0	0	1	0	24
1995	2	2	20	0	0	0	0	24
1996	0	3	15	0	0	0	0	18
1997	2	0	6	0	0	0	0	8
1998	1	2	21	0	0	0	0	24
1999	3	1	11	0	0	0	0	15
2000	3	0	19	1	0	0	0	23
2001	5	2	24	0	0	0	0	31
2002	5	3	14	0	1	0	0	23
2003	6	7	11	0	0	0	0	24
2004	13	4	24	0	0	0	0	41
計	48	28	261	1	1	1	0	340
(%)	(14.1)	(8.2)	(76.8)	(0.3)	(0.3)	(0.3)	(0.0)	

図2. HBV分子系統樹 (preS1-S region 1203nt)



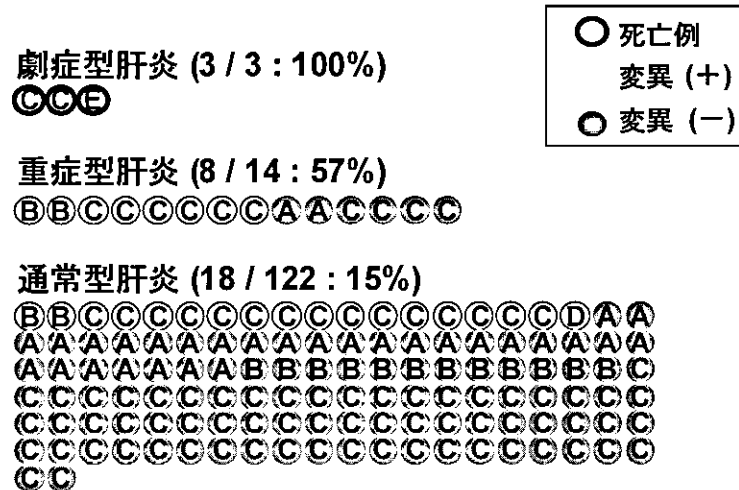
群に区分して、PreCore Core Promoter遺伝子のいずれかの遺伝子変異があるかないかの2グループに区分して、その頻度を求めたところ、劇症型3例中3例(100%)、重症型14例中8例(57%)、通常型122例中18例(15%)に遺伝子変異が見られた。genotypeAではPreCore Core Promoter遺伝子変異は1例も見られなかった(図3)。

D. 考察

本邦の散発性急性肝炎の発生状況は、

1995年以後は多少の変動があるものの、A型約30%、B型約30%、C型約10%、nonABC型約30%の割合で推移し、最近10年間では発生頻度に関しては大きな変化を認めていない。ただし、2004年に関しては、急性肝炎症例126例のうち60例(47%)がB型で、2000年以後、B型急性肝炎症例は増加している傾向がみられる。B型急性肝炎の発生数に関しては、来年以降の動向に注意を払うべきである。

図3. B型急性肝炎 HBV遺伝子変異と劇症、重症化との関係
2000-2004 (n=139)



輸血後急性肝炎の発生状況に関しては、1989年を境にして、すべての種類の輸血後急性肝炎の発生数は激減しており、2004年も発生数はゼロであった。現在の日赤の血液スクリーニングシステムがうまく機能していることが、本研究班での過去の輸血後急性肝炎発生数の動向からよく理解できる。

E型肝炎の発生数は、751例のnonABC型急性肝炎の中では、26例(3.5%)と低い頻度であった。E型肝炎は、以前はわが国には存在しない輸入感染症として認知されていたが、1980年頃から5%前後の低頻度ながら発生していたことが今回明らかになった。

genotypeA : B型急性肝炎の発生は、2000年以後増加している傾向が見られ、また関東地域の男性に多い特徴を有している。genotypeAは本来わが国には存在しない外来の感染源、外国人との接触によるものと考えられており、最近の社会状況の変化、国際化を反映した現象と思われる。さらに、欧米では成人のB型急性肝炎症例の10%は初感染から慢性化することが示唆されており、その理由として、genotypeA : HBVのウイルス学的特徴である可能性が論じられている。今後とも継続して、欧米型B型肝炎

(genotypeA)の発生状況を把握、その動向を見極めることは公衆衛生学的にも重要である。

1990年代には、わが国のB型急性肝炎の重症度とPreCore Core Promoter遺伝子変異との関連を報告した論文は多くみられるが、2000年以後の最近のB型急性肝炎症例での遺伝子変異と肝炎重症度の検討、さらにはHBV genotypeとの関連まで検討した報告は極めて少ない。今回、2000年以後のB型急性肝炎の症例でPreCore Core Promoter遺伝子変異と肝炎の重症度との関連について検討したところ、劇症型3例中3例(100%)、重症型14例中8例(57%)、通常型122例中18例(15%)に変異が見られ、重症型と通常型の間には、遺伝子変異の有無で $P < 0.001$ と有意な頻度の差が認められた。また一方で、genotypeAではPreCore, Core Promoter遺伝子変異はないことが報告されているが、今回の検討でも同様の結果であった。少なくともgenotypeC : B型急性肝炎症例では、遺伝子変異と肝炎の重症度との関連は明らかであり、遺伝子変異の有無を発症早期に診断することで肝炎重症度を予測することが可能であることが示唆された。

E. 結論

本邦の散発性急性肝炎の発生状況は、1995年以後は多少の変動があるものの、A型約30%、B型約30%、C型約10%、nonABC型約30%の割合で推移し、最近10年間では発生頻度に関しては大きな変化を認めていない。2004年の特徴としてB型急性肝炎の発生数が多い点があげられる。欧米型B型(genotypeA)肝炎の発生頻度が確実に増加しており、B型急性肝炎の今後の動向には注目すべきである。また、genotypeC:B型急性肝炎症例では、重症例においてPreCore Core Promoter遺伝子変異が高率に認められた。E型肝炎の発生頻度はnonABC型急性肝炎の3.5%と低い頻度であった。E型肝炎は、以前はわが国には存在しない輸入感染症として認知されていたが、1980年頃から低頻度ながら発生していた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tamada Y, Yano K, Yatsushashi H, Inoue O, Mawatari F, Ishibashi H. Consumption of wild boar linked to cases of hepatitis E. J Hepatol. 2004 May;40(5):869-70.
- 2) Yatsushashi H. Epidemiological and clinical features of hepatitis E in Japan. J Gastroenterol. 2004 Jul;39(7):702-3.
- 3) 八橋 弘. B型肝炎ウイルス(HBV), B型肝炎ウイルスのゲノム疫学. ウイルス性肝炎(下) -基礎・臨床研究の進歩- 日本臨牀 62(8):186-189, 2004.8.28
- 4) 八橋 弘, 矢野公士, 玉田陽子. 日本におけるE型肝炎. 現代医療 36(11):131-136, 2004

2. 学会発表

- 1) 矢野公士, 玉田陽子, 八橋 弘. 本邦におけるE型急性肝炎の実態. 第8回日本

肝臓学会大会/第46回日本消化器病学会大会. (福岡2004.10.21-23.)

- 2) 矢野公士, 玉田陽子, 八橋 弘, 大黒 学, 石橋大海, 井上長三, 馬渡文弘. イノシシ肉摂食によるE型肝炎集団発生. 第40回日本肝臓学会総会. (浦安2004.6.3-4.)
- 3) 玉田陽子, 八橋 弘, 矢野公士, 福田実可, 大黒 学, 矢野右人, 石橋大海, 李天成, 宮村達男, 武田直和. E型肝炎診断の問題点: HEV抗体の感度と特異性に関する検討. 第40回日本肝臓学会総会. (浦安 2004.6.3-4.)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野））
分担研究報告書

肝炎ウイルス等の標準的治療困難例に対する治療法の確立に関する研究

国立病院機構長崎医療センターにおけるC型慢性肝炎に対するインターフェロン治療

分担研究者 石橋 大海 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター長

研究要旨 インターフェロン(IFN)単独治療およびリバビリン併用療法を行った症例について、高感度HCV抗原(コア蛋白質)を用いた初期ウイルス量の減少幅による治療効果予測の可能性について解析した。C型慢性肝炎140例を対象とし、男女比、年齢、IFNの種類、ウイルス量および遺伝子型、治療効果ならびに副作用、治療効果に影響を及ぼす因子について検討した。単独療法55例の年齢中央値は58歳、男女比は29対26、著効率は21例39%であった。IFN α 2b・ribavirin併用療法(24週)を行った49症例の年齢中央値は55歳、男女比は30対14、治療効果はSVR 15例33%であった。Genotype 1bでの著効率は、低ウイルス量では100%、高ウイルス量では17%であった。IFN単独療法において、治療終了後6ヶ月の時点でウイルスの持続消失を認めた著効群では1週目、2週目の時点で全例ウイルス陰性であった。IFN+ribavirin併用療法においては、2週目にコア抗原陰性24症例の14症例(58%)がSVRであったのに対し、2週目陽性の25症例ではSVRは1例のみ(4%)であった。IFN単独療法およびIFN+ribavirin併用療法においてコア抗原によるウイルス量モニターは効果判定予測に有用と考えられた。

共同研究者

矢野公士 長崎医療センター臨床研究センター
八橋 弘 長崎医療センター臨床研究センター
大黒 学 長崎医療センター消化器科

A. 研究目的

C型慢性肝炎の肝硬変・肝癌への進展を阻止する最も有効な方法は、現時点ではインターフェロン(IFN)療法によって、C型肝炎ウイルス(HCV)を駆除することである。この目的で、1992年以来種々の方法でIFN療法が実施されているが、必ずしも満足した成績は得られていない。2001年末より通常のIFN療法

に抵抗性の難治例にも有効とされる新しいIFN製剤(コンセンサスIFN)やIFNとの併用薬(ribavirin)が出現し、さらに昨年より持続型のPEGインターフェロンが使用可能となり、C型慢性肝炎治療に大きな変革が起こっている。このような治療法の進歩に伴い、C型慢性肝炎におけるウイルス駆除率は上昇しつつあるが、未だ、100%とはほど遠い。

一方、IFN抵抗性の難治例に対しては長期間投与による十分量のIFNの投与が推奨される一方、高率に著効が期待される症例に対しては短期間で最低必要量のIFNの投与が患者のQOLからも医療経済の面からも望ま

れる。欧米においては、IFN療法において、初期のウイルス量の変化を観察し、その反応によって治療継続群と治療中止群を見極め、治療開始12週目までにウイルス量が100分の1以下に減少しない反応不良群においては治療を中止し次のステップを考える、という戦略が唱えられている。

本年度は、昨年度に引き続いて2000～2002年に本研究班に登録された症例を対象として、幅広い測定レンジを有するHCVコア抗原測定を用いて、ウイルス量の変化と治療反応性の関連を検討した。

B. 研究方法

2000年1月～2002年12月の3年間に、当院においてC型慢性肝炎としてIFN治療を導入された症例を対象とした。ウイルス量については 日常臨床で用いられるコバスアンプリコアM法ver. 2に加え、高感度HCVコア抗原(栄研)を用い一括再測定を行った。1000 fmol/l以上を高ウイルス量、ウイルス型についてはserogroup 1もしくはgenotype 1b型を1b型、それ以外を1b以外(non-1b)として取り扱った。ribavirin併用例は投与4週目、8週目のribavirin血中濃度の測定(SRL社依頼、HPLC法)を行った。

効果判定は従来から当研究班で使用している治療後6ヶ月目の血清学的、ウイルス学的効果判定に基づいて行った。すなわち、IFN投与終了後半年の時点でALT正常化、HCV RNA陰性をA(著効)、ALT正常の2倍以下、HCV RNA陽性をB(部分的効果)、ALT異常、HCV RNA陽性をC(無効)とした。

C. 研究結果

1. IFN治療導入数

図1に当院における3年間のC型慢性肝疾患に対するIFN治療導入の内訳を示す。

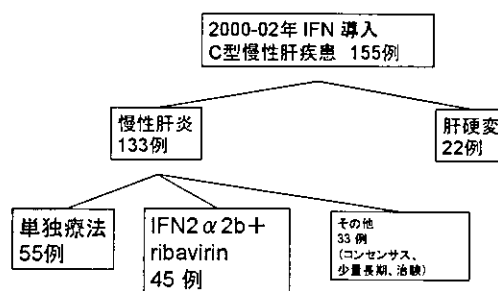


図1. 3年間のC型慢性肝疾患に対するIFN治療導入の内訳

IFN導入数は総計155例であった。このうち慢性肝炎(CH)は133例、肝硬変(LC)は22例であった。CH 133例のうち単独療法を施行した症例は55例であり、ribavirin併用療法が45例、少量長期療法、やコンセンサスIFNなどの症例が33例であった。肝硬変症例に関しては22例の導入を行い、うち単独療法が16例、併用療法が6例であった。今回、CH単独療法55例、ribavirin併用療法の45例を対象として、治療開始前、1週目、2週目、4週目、6週目、12週目のコア抗原の一括測定を行い、治療効果に及ぼす影響を検討した。

2. IFN単独投与

a) 背景と治療効果

対象とした症例は昨年当班の研究で報告したものと同様であるので、背景の詳細は省略する。単独療法55例の年齢中央値は58歳、男女比は29対26であった。A判定が得られたのは21例39%、B判定11例20.3%、C判定22例40.7%であった。非Ib低ウイルス群については、78%と一定の効果を認めているが、Ib高ウイルス群に関しては13%と低い値であった。高ウイルス群に対する単独療法の限界が再確認された。

b) ウイルス量の変動

表1に単独療法群における治療早期のウイルス血症消失率を示す。治療終了後6ヶ月の時点でウイルスの持続消失を認めたA判定群では1週目、2週目の時点で全例ウイルス陰性であった。一方、ウイルス消失を認めなかったB判定群ないしC判定群では、ウイルス陰性化率は1週目と2週目においてそれぞれ61%、71%にとどまった。

表1. 単独療法における治療開始後1週目、2週目のコア抗原陰性化率

判定	1W目 陰性化	2W目 陰性化
A	20/20 (100%)	20/20 (100%)
B+C	17/28 (61%)	20/28 (71%)

3. IFN α 2b・ribavirin併用療法

背景と治療効果

対象とした症例は昨年当班の研究で報告したものと同様であるので、背景の詳細は省略する。年齢中央値は55歳、男女比は30/14であった。治療効果はA判定15例33%、B判定8例17%、C判定22例49%であり、低ウイルス群は100%の効果であり、Ib高ウイルス群に関しては35例中6例、17%であった。

Ib高ウイルス群の治療効果に寄与する因子を検討したが、投与前のウイルス量、年齢、性、リバビリン量、ヘモグロビン量等は全く関連がなかった。

投与初期 ribavirin血中濃度にも差は認めなかった。そこで、本年はウイルス量の変動を細かく追うことにより、投与初期に効果予測が可能であるか検討した(表2)。

投与初期のウイルス量の変動を単独投与と同様に検討すると、1週目、2週目で陰性化

していない群の中からも著効例が出てきていることが理解される。すなわち、著効15例のうち5例(1/3)が1週の時点ではウイルス陽性であり、単独投与でウイルス駆除できなかった症例がここに含まれると考えられる。

表2. IFN α 2b・ribavirin併用療法における治療開始後1週目、2週目のコア抗原陰性化率

判定	1W目 陰性化	2W目 陰性化	4W目 陰性化
A	10/15 (75%)	14/15 (93%)	15/15 (100%)
B+C	0/30 (0%)	9/30 (30%)	13/30 (43%)

さらにこれらの症例の経過を詳細に検討する目的で、ウイルス量の相対量を対数グラフで表したものが図2a および2bである。投与前値を1として算出したコア抗原の相対的ウイルス量の推移である。すなわち、経過中にウイルス量が10分の1になれば、0.1、100分の1になれば、0.01と表記される。便宜上、ゼロは0.0001と同様に表されているため、X軸に一致しているラインは「3 log以上の減少もしくは感度以下」を示している。

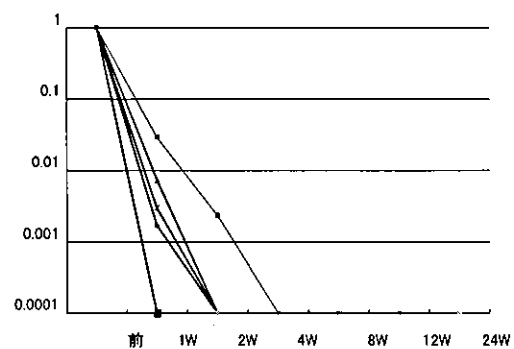


図2a. A判定例15例における投与初期HCVRNAの変動(10例が1週目で既に陰性化していることに注意)

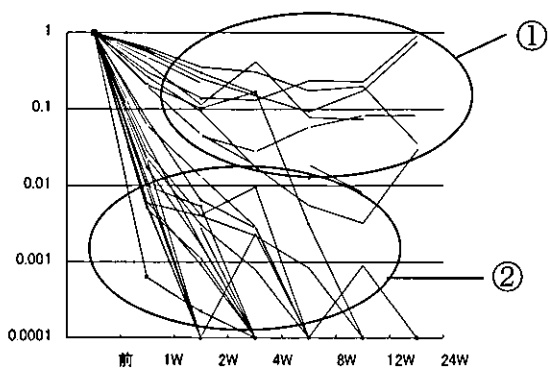


図2b. BないしC判定例30例における投与初期HCVRNAの変動

これに投与初期のウイルス量変化でその後の効果を予測すること充分可能である。すなわち、4週目で陰性化をきたさなかった群からは著効が得られないことに加え、著効群では1週目で少なくとも1 log, 2週目で2 log以上の低下が得られている(図2a)。このような変動を認めない無効例(図2bの①群)などは投与初期に当治療(IFN2b α + ribavirin 6ヶ月投与)の無効予測が可能である。しかしながら、投与初期にある程度のウイルス量変動を来たす集団(図2b②)が存在し、投与初期ウイルス変化は著効の必要条件ではあるが、十分条件ではない。

D. 考察

今回効果判定可能だった、IFN単独投与、IFN α 2b + ribavirin 6ヶ月投与の症例について検討を行った。IFN単独療法の著効率は39%であった。従来から報告されている治療効果よりかなり高い著効率であるが、これには低ウイルス量、非Ib型を積極的に導入しているというバイアスがかかっている可能性がある。Ib型高ウイルス群では、著効率は13%と低値であった。これらの数値はこれまでに報告されている成績とほぼ一致する数値である。

慢性肝炎例に対するribavirin併用療法45例が効果判定可能であった。低ウイルス群は

少数例であるものの、100%の著効が得られている。Ib型高ウイルス量に限った場合、著効率は6/35 (17%)であった。

難治群での著効に至った6例とその他の28例を比較検討したところ、前のウイルス量、年齢、性、リバビリン量、ヘモグロビン量に関しては差がない。そこで、ウイルス量の変動を幅広い測定レンジを有するコア抗原定量で細かく追うことにより、投与初期に効果予測が可能であるか検討した。

単独投与においては表1に示すが如く、1週、2週の時点で著効に至った全例でウイルスが感度以下となっており、著効のための必要条件と考えられた。

ribabirin併用療法においては、さらにウイルス量の高い例やウイルス減衰の遅い例からも著効が得られているが、遅くとも4週までには全例で陰性化していた。

HCV定量に関しては、様々な測定方法が用いられており混乱を来している。今回用いたコア抗原20-100,000 fmol/ml (コバスアンプリコアM法ver. 2で2 KIU \cdot 10,000 KIU相当)と3 log以上にわたる測定域を有し、ウイルス動態を検討するのにきわめて有用と考えられる。その結果、単独療法で1週目の陰性化、併用療法では1週目に1 log以上の低下、2週目に2 log以上の低下、4週目までに陰性化が必要であることがわかった。アンプリコア法における同様の検討では、Fried (Fried MW et al. N Engl J Med 2002; 347: 975-982.)らがPeg-IFN 2a α とribavirin併用療法において12週目のウイルス量の2 log以上の低下もしくは陰性化がウイルス排除の必要条件と結論づけ、欧米で広く認知されている。今回の検討では、対象や投与薬剤、投与期間などが異なっているために単純な比較はできないが、測定の方法が変化することにより、さらに早期の条件を見出すことが可能と考えられた。

国内においては、2003年12月よりPEG-IFN α 2a単独投与、2004年12月より

PEG-IFN α 2b+ribabirin投与が認可され、難治性C型慢性肝炎治療がようやく世界のスタンダードに追いついてきている。諸外国でのデータは既に出揃っているが、日本国内で、日本人に最も適切な薬剤の投与方法やモニタリングの方法は今後の課題である。今回示された初期ウイルス量の変動も、治療継続や中止基準に有用な情報と考えられ、引き続き検討を要する。一方、いつ(何週目)までにどれだけのウイルス量の変動があった症例では確実に著効が得られる、といった「必要条件」に関する情報も有用であるが、今回の検討ではこのような結果は得られなかった。ウイルス量の変動のみからのアプローチでの限界と考えられるが、本測定法による投与24時間目といったウイルス動態の第一相の情報も今後の課題である。

E. 結論

コア抗原定量法による投与初期のウイルス量変動は治療効果を予測するモニタリングに有用であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 第84回日本消化器病学会九州支部例会
シンポジウム 「C型慢性肝炎に対するインターフェロン療法の検討－高感度HCVコア抗原によるHCVウイルス量の評価－」 矢野公士, 八橋弘, 石橋大海
ほか 平成16年12月 福岡

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野））
分担研究報告書

肝炎ウイルス等の標準的治療困難例に対する治療法の確立に関する研究

B型慢性肝疾患に対するアデフォビル投与例の臨床的検討

分担研究者 古賀 満明 国立病院機構嬉野医療センター 院長

研究要旨 ラミブジン投与後、YMDD変異出現によりBreakthrough hepatitis(以下：BTH)を来たしたB型慢性肝疾患におけるアデフォビル投与例の臨床的検討を行った。アデフォビル投与後のB型肝炎硬変症例10例のうち8例はBTH以前の状態まで改善が見られた。慢性肝炎も含めたアデフォビル投与17例においてラミブジン開始後とアデフォビル開始後でHBV-DNA量の推移を比較したが、アデフォビル投与後の方が明らかにHBV-DNA量の低下が緩徐であった。

研究協力者

長岡 進矢	国立病院長崎医療センター
大黒 学	国立病院長崎医療センター
八橋 弘	国立病院長崎医療センター
玻座真博明	国立病院嬉野医療センター

A. 研究目的

当院におけるラミブジン長期投与例のうち、ラミブジン耐性(YMDD変異)ウイルス出現後のBTHに対しアデフォビルの投与を行った症例の臨床的検討を行う。

B. 研究方法

当院にてラミブジンを投与したB型慢性肝疾患は158例、男性117例、女性41例、平均年齢51.7歳(21~85歳)、平均投与期間18ヶ月(0.5~59.3ヶ月)慢性肝炎62例、肝硬変50例、肝細胞癌40例、その他6例、HBeAg陽性103例、陰性53例である。そのうちYMDD変異ウイルスが検出されたのは38例。YIDD：27例、YVDD：7例、mixed type：3例である。今回の対象はアデフォビル10mg/日、平均投与期間：10.5ヶ月(2.6~18.3ヶ月)を投与された17例、男性12例、女性5例、平均年齢53.5歳(34~73歳)慢性肝炎3例、肝

硬変12例、肝細胞癌2例、HBeAg陽性15例、陰性2例である。

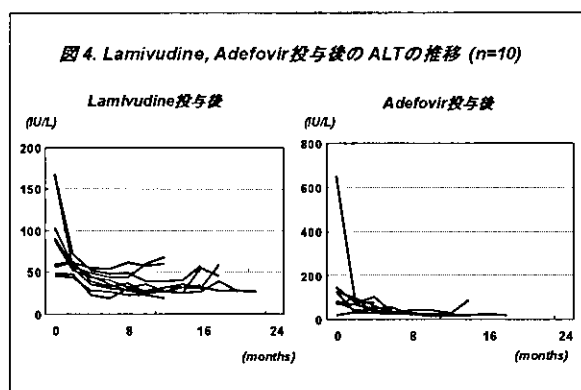
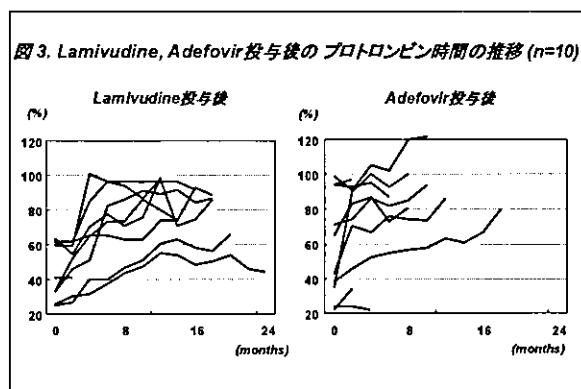
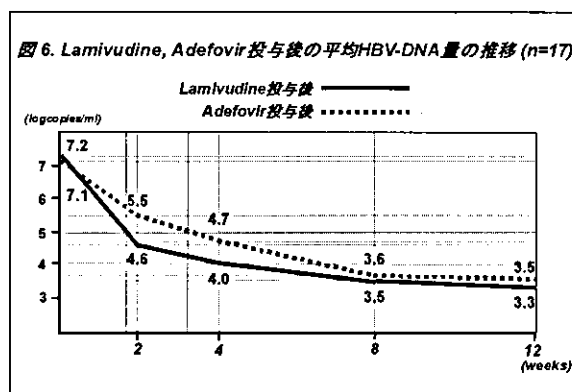
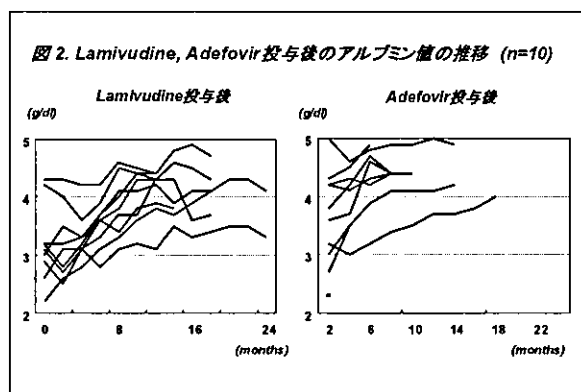
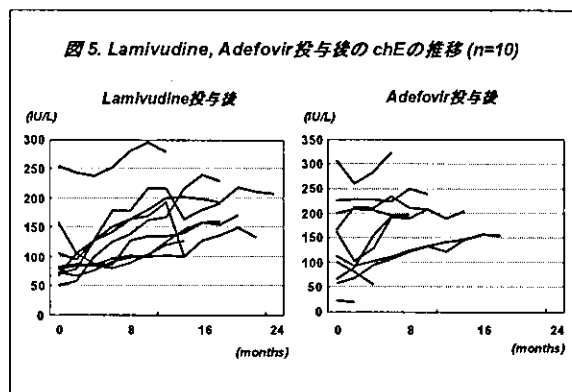
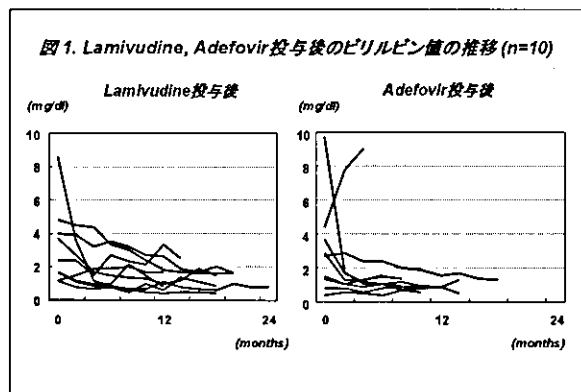
検討項目1) アデフォビル投与後のB型肝炎硬変症例(10例)の肝機能(T.Bil, Alb, ALT, PT, chE)の推移について検討する。

検討項目2) アデフォビル投与後のHBV-DNA量の推移をamplicor-monitor法(検出感度2.6 log copies/mlにて検討し、ラミブジン投与後とのHBV-DNA kineticsを比較する。

C. 研究結果

検討項目1) 各データがBTH前の状態に回復するまで要した平均期間はT.Bil：4.6ヶ月、Alb：5.0ヶ月、ALT：3.9ヶ月、PT：7.0ヶ月、chE：8.0ヶ月であった(図1-5)。

検討項目2) HBV-DNA量の推移はアデフォビルでは治療前：平均7.1 (logcopies/ml：以下略)、2週後：5.5、4週後：4.7、8週後：3.6、12週後：3.5であったのに対し、ラミブジンでは治療前：7.2、2週後：4.6、4週後：4.0、8週後：3.5、12週後：3.3であり、アデフォビルの抗ウイルス作用はラミブジンと比べ緩徐であった(図6)。



D. 考察

B型慢性肝疾患におけるBTHはアデフォビル投与によりHBV-DNA量、肝機能ともに良好に制御される。また当院の投与例において、腎不全など問題となる副作用は出現していない。しかし、アデフォビル投与後はラミブジン投与後と比較しHBV-DNA量の減少は明らかに緩徐で、少なくとも投与開始後8～12週経過しないと、ラミブジンと同様の抗ウイルス効果は期待できない(図6)。肝硬変症例のうち8例はアデフォビル投与後、BTH以前の状態に回復したが、1例は敗血症の合併により死亡し、1例はアデフォビル投与後比較的速やかにHBV-DNA量は感度以下まで制御されるも、その後も肝不全が進行し肝移植が必要な状態となっている。肝硬変症例、特に非代償性肝硬変症例においてはラミブジン投与後、肝予備能の劇的な改善が得られるも、ウイルスbreakthroughにより再び予備能の悪化が出現し、時として致命的な肝機

能の悪化を来たす。非代償性肝硬変は肝機能の悪化がなくともHBV-DNA量が5.0 logcopies/mlを超える増加があった場合は、アデフォビルの投与を考慮すべきである。代償性肝疾患のBTHに関するアデフォビルの適応基準は今後の検討事項である。

E. 結論

アデフォビルはBTHを安全に制御するも、ラミブジンと比べ抗ウィルス効果が緩徐であり、治療後の肝機能改善にも時間を要する。特に非代償性肝硬変症例でのラミブジン治療中はHBV-DNA量の動態に注意し、HBV-DNA量の増加が見られた場合はアデフォビルの投与を考慮すべきである。

F. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野））
分担研究報告書

肝炎ウイルス等の標準的治療困難例に対する治療法の確立に関する研究

当院におけるラミブジン治療の成績

分担研究者 袖山 健 国立病院機構中信松本病院 副院長

研究要旨 ラミブジン治療の目標は、HBe抗原陰性化、さらにHBV-DNA増殖抑制による肝炎の沈静化である。しかし、ラミブジン治療の問題点として、薬剤抵抗性やYMDD変異株の出現などより、適応症例や中止時期については見解が得られていない。そこで、今回、我々は当院におけるB型慢性肝炎に対するラミブジン治療例の経過を中心に、その有効性について検討した。

51例の治療例のうち、28例は内服中止した。そのうちの11例は肝炎再燃のため再投与を受けているが、全例再投与にて肝炎は沈静化している。また、51例中17例は3年以上内服を継続している。長期治療例では、耐性株の出現が高率にみられるが、耐性株による肝炎再燃は低率であった。

中止例も含めて、ラミブジン治療はHBV-DNA減少が得られれば、肝炎の沈静化を来しうると考える。しかし、耐性株出現による肝機能悪化の報告もされている。耐性株の出現は留意する必要がある、有効例の予測を立てる必要がある。

研究協力者

小林 正和 中信松本病院 内科医長

A. 研究目的

B型慢性肝炎に対してラミブジン投与が保険認可され、約4年が経過した。同薬剤は抗ウイルス効果によりウイルスマーカー改善、肝機能改善を示すことが報告されている。しかし、長期投与に伴う変異株の出現、中止後のウイルス再増殖に伴う再燃などが問題となる場合があり、慎重な経過観察が必要とされる。今回、当院における長期投与例および中止例の成績を中心に報告する。

B. 対象・方法

対象は2000年12月から2003年1月までに

ラミブジン治療を開始したB型慢性肝疾患51例(男性35例, 女性15例, 平均年齢49.8歳). 肝疾患の内訳は慢性肝炎42例, 肝硬変8例(肝癌合併4例)でHBe抗原陽性例は21例であった。

HBV-DNA定量は、TMA法、アンプリコアPCR法で測定した。

YMDD変異株の検出は、直接塩基配列決定法を用いた。

C. 経過

1. 治療状況

治療51例中、継続例が17例である(治療期間12から42ヶ月). 中止例が28例あり、そのうち中止後の肝炎再燃のため11例がラミブジンの再投与を受けている。

2. HBe抗原およびHBV-DNAの推移

1年以上ラミブジン治療を受けた46症例の経過を表1に示す。HBe抗原陽性例では、治療後1年目のHBV-DNA陰性化は50%の割合で得られたが、seroconversion (以下SC)率は31.1%(5/16)と低率であった。また、長期使用による再陽転化(ウイルス再上昇)もみられた。一方、HBe抗原陰性例では、HBV-DNA陰性化が治療後1年目で66%(20/30)、2年目でも66%(10/15)と高率に得られた。

表1. 治療成績

HBeAg陽性B型慢性肝炎

	治療前	12M	18M	24M	30M後
平均ALT	112.1	29.3	30.4	34.3	35.3IU/l
HBeAgSC	0/16	5/16	5/11	4/8	1/4
HBV DNA陰性化	0/11	8/16	6/11	4/8	1/4

HBeAg陰性B型慢性肝炎

	治療前	12M	18M	24M	30M後
平均ALT	62.7	23.1	24.7	32.5	38.4IU/l
HBV DNA陰性化	0/30	20/30	18/22	10/15	6/9

3. YMDD変異株出現の検討

YMDD株変異株出現は51例中17例にみられた。HBe抗原陽性例が6例、HBe抗原陰性例が11例であった。累積出現率を図1に示すが、2年目以降は、両群の陽性率はほぼ同じであった。時間経過とともに、HBe抗原陰性例も、YMDD変異株が出現した。

また、YMDD変異株による肝炎(break-through hepatitis)は3例にみられ、1例は肝不全により死亡した。また、1例はアデフォビルの併用治療を行っており、経過は良好である。

4. 治療中止例の検討

当院では、ラミブジン中止例は27例である。全例、中止後定期的に観察された。

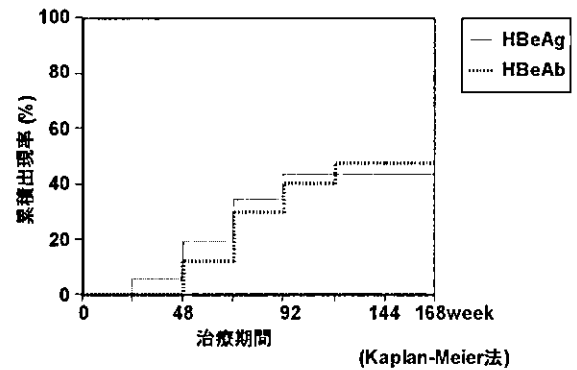


図1. YMDD変異累積出現率

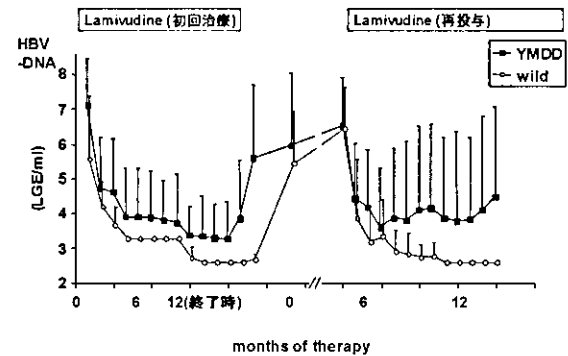


図2. 初回治療時の耐性株出現の有無別にみたHBV-DNA量の推移

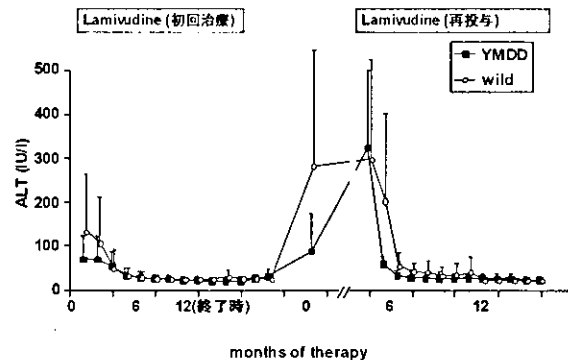


図3. 初回治療時の耐性株出現の有無別にみたALT値の推移

HBe抗原陽性例で、中止時にSCかつHBV-DNA陰性化が得られた5例のうち4例は、経過観察中にHBV-DNA再上昇と肝炎の再燃がみられた。2例はラミブジンの再投与を行い、肝炎の沈静化が得られている。HBe抗原陰性例で中止時にHBV-DNA陰性化の持続が得られた13例は、中止後9例でHBV-DNA増殖と肝炎の再燃がみられ、3例は再投与が必要であった。

ラミブジン治療中止後も、再燃なくSCが持続したのは、HBe抗原陽性例では5例中1例。また、HBe抗原陰性例で、再燃なくHBV-DNAの持続陽性が得られたのは、13例中4例であり、ほとんどの症例で再燃がみられた。

再投与のなかで、初回治療でYMDD変異が存在した5例(YMDD群)と存在しなかった5例(wild群)を比較した(図1, 図2, 表2)。検査結果の詳細を表2に示すが、両群ともALT値は、初回治療と再治療では、同じ経過をたどり、いずれもALTの改善はみられた。YMDD群は、5例とも中止後は、野生株に戻ったが、再投与にて同じYMDD変異を生じた。YMDD群では、再投与時のHBV-DNAの低下が緩やかである。Wild群は、再投与にて、HBV-DNAの陰性化が全例得られた。

5. 長期投与例の検討

3年間以上の長期単独治療症例を表3に示す。HBe抗原陽性5例、HBe抗原陰性12例である。HBV-DNAの推移としては、現治療段階では、持続陰性例以外は、全例YMDD変異株が出現している。HBe抗原陰性例で、HBV-DNA持続陰性が得られている症例が50%(6/12)と比較的多い。また、YMDD陽性例でも1例(症例5)を除いて、break-through hepatitisはなく経過している。症例1は、HBe抗原陽性例で、96週目でSCが得られ、持続している。HBe抗原陽性では、症例1のようなSCが得られた症例は1例のみである(20%; 1/5)。

表2. 初回治療時の耐性株出現の有無別に見た初回および再投与時の比較

	Wild (n=5)	YMDD 変異出現 (n=5)
HBeAg/eAb	2:3	2:3
投与前HBV DNA量(LGE/ml)	5.58±1.83	7.14±1.32
投与前ALT (IU/l)	133.5±147.2	70.7±52.9
終了時HBV DNA量(LGE/ml)	2.6±0	3.86±1.36
終了時ALT (IU/l)	26.2±8.2	30.1±18.3
再投与前HBV DNA量(LGE/ml)	6.46±1.18	6.54±1.37
再投与前ALT (IU/l)	297.8±228.5	324.4±176.1
再投与12M後HBV DNA量(LGE/ml)	2.6±0	4.5±2.59
再投与12M後ALT (IU/l)	21.2±5.4	22.6±8.2

mean±SD

D. 考察

抗ウイルス療法であるラミブジンの治療目標は、HBV-DNAの陰性化であるが、当院の検討では、治療1年後にはHBe抗原陽性例で50%、HBe抗原陰性例で66%の症例でHBV-DNAの陰性化が得られた。また、ウイルスの減少に伴い、ALT値も低下しており、肝炎の改善が期待される。

しかし、中止後の肝炎再発は、高率にみられる。HBe抗原陽性患者の場合、SCが6ヶ月以上持続することが中止の目安とされている。韓国からの報告で、SC後のラミブジン投与期間が中止後の再燃を予測する因子であるが、ラミブジンによるSCは持続しないと報告している¹⁾。HBe抗原陰性例では、HBs抗原の消失あるいはALTの正常化を伴うHBV-DNAの陰性化が6ヶ月以上持続することが中止の目安とされているが、中止後の再燃が高率であるという報告が多い。中止後の肝炎の治療としては、肝庇護剤投与、インターフェロン、ラミブジン再投与が挙げられる。我々の検討では、ラミブジンの再投与

表3. 長期継続治療例のHBV-DNAの推移

	age		0	48	72	96	120	144	168	192	備考
1	54/M	eAg	6.7	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6			96weekでSCあり
2	53/M	eAg	7.1	3.7	6.9	4.1	4.4	6.4	6.5	7.4	YMDDmutation
3	52/F	eAg	5.5	5.5	6.9	7.1	7.1	6.5	6		YMDDmutation
4	53/M	eAg	7.6	<2.6	<2.6	3.8	7.7	8.2			YMDDmutation
5	53/M	eAg	8.1	5.1	8.3	8.2	8.6	5			YMDDmutation/Adefovir
6	43/F	eAb	5.8	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	
7	51/M	eAb	6.3	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6		
8	51/M	eAb	4.7	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	
9	43/M	eAb	4.6	3.4	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6			
10	44/M	eAb	6.3	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	
11	56/M	eAb	6.1	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	<2.6	
12	44/F	eAb	5.7	8.1	7.8	7.6	5.7	6.9	6.1	7.2	YMDDmutation
13	51/F	eAb	3.8	2.6	<2.6	<2.6	<2.6	3.1	<2.6	<2.6	YMDDmutation
14	49/F	eAb	7.6	6.8	7.9	7.6	7.8	8.2	8.4	8.3	YMDDmutation
15	42/M	eAb	8.8	<2.6	4.7	5	7.1	4.2	5.5	5.6	YMDDmutation
16	41/M	eAb	3.3	<2.6	<2.6	3.4	3.2	2.7			YMDDmutation
17	54/M	eAb	3.6	<2.6	<2.6	2.7	<2.6	2.7	<2.6	3.2	YMDDmutation

YMDD変異株検出

は、肝炎の改善を得ることができ有効と考える。ただし、post treatment flareは、いわゆる急性増悪であり、ALTが1000 IU/l以上の重症例も報告されており、ラミブジン投与の中止は慎重に行うべきであろう。

当院のYMDD変異株出現は、51例中17例に見られた。YMDD変異株は、HBe抗原陽性例がHBe抗原陰性より早期に出現するものの長期投与に伴い出現率は等しくなることが知られている。当院の結果も2年以降では同率になっている。長期投与において、YMDD変異株が出現しても治療継続することが、長期的予後改善につながるかが、今後の検討と思われる。最近、肝硬変例に対する肝機能および予後の改善をきたすことが報告されたが²⁾、ラミブジン治療群の中で、YMDD変異株出現例の群が非出現例と比較し、肝機能の悪化をきたす結果が出ており、YMDD対策は重要と思われる^{2,3)}。

初回治療時に、YMDD変異株がみられた症例は、再投与の際は、HBV-DNA低下率が弱く、再投与時においても耐性株の出現がみ

られた。再投与の際は、初回治療時にYMDD変異株出現例では、中止後の再燃の際は、ラミブジンを選択するのではなく、足立らの報告の様にインターフェロンでの単独治療もしくはインターフェロンとラミブジンの併用も検討すべきと考えた⁴⁾。YMDD変異株の出現の有無についての、投与前での予測は困難であり、HBV-DNA量の低下がみられず、治療中に効果不良と判断し、中止することがYMDD変異株出現を防止する策であろう。

長期治療例については、YMDD変異は50%と高率にみられる。しかし、break-through hepatitisは、出現例の中では、17.6%(3/17)と低率である。しかし、更なる長期投与により、肝炎が生じる可能性は留意すべきであろう。アデフォビルが保険適用となり、併用も可能となり、重症化が予測される症例では早期の併用が必要と考える。また、アデフォビル併用例も含め、YMDD変異株が出現しても治療継続することが、長期的予後改善につながるかが、今後の検討と思われる。

E. まとめ

1. 長期投与により，高率に耐性株が出現するが，耐性株による肝炎再燃例は少ない。
2. ラミブジン治療中止は，YMDD変異株が出現する前に行うのが，望ましい。また，中止後の肝炎再燃については，治療方針を立てておく必要がある。
ラミブジンの再投与が有効であった。
3. 長期投与により，HBV-DNAの陰性化が持続する症例が，HBe抗原陰性例では多い。
4. 長期投与において，YMDD変異株が出現しても治療継続することが，長期的予後改善につながるかが，今後の検討と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 六波羅明紀，松本晶博，武藤英知，沖山洋，田中直樹，丸山敦史，山浦高裕，折井幸司，一條哲也，吉澤 要，小林正和，袖山 健，田中栄司，清澤研道：B型慢性肝炎に対するラミブジン治療のウイルス学的効果予測式の作成：肝臓，第44巻4号，182-183，2003

2. 学会発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

文献

- 1) Song BC, Suh DJ, Lee HC et al: Hepatitis B e antigen seroconversion after lamivudine therapy is not durable in patients with chronic hepatitis B in Korea. Hepatology 32: 803-806; 2000
- 2) Liaw YF, Sung JJY, Chow WC et al: Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease.

N Engl J Med 351: 1521-1531; 2004

- 3) Marco VD, Marzano A, Lampertico P, et al: Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine, Hepatology 40:883-891; 2004
- 4) 足立浩司，他；ラミブジン短期投与中止後の急性増悪に対してIFN・ラミブジン併用療法が奏功したB型慢性肝炎の1例。肝臓，第43巻7号，322-326，2002