

B型劇症肝炎、 慢性肝炎急性増悪の治療

急性肝炎の劇症化、また慢性肝炎の急性増悪時は、一度に多数の肝細胞が破壊されるため、急速に肝不全に進行する危険性が高い。この場

合は抗ウイルス療法としてエンテカビル、感染肝細胞への免疫反応を抑えるため、ステロイドなどの免疫抑制薬、血漿交換、持続血液濾過透析などの人工肝補助療法による集学的治療を行うが、それでも救命困難な場合もあり、肝移植が行われることもしばしばある。

文 献

- 1) 熊田博光：B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究，熊田博光(主任研究者)：B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究 平成16年度～平成18年度 総括・分担研究報告書，pp 3-18，厚生労働省科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業(肝炎分野)，2007
- 2) Janssen HLA, et al : Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B : A randomized trial. *Lancet* 365 : 123-129, 2005
- 3) Chang TT, et al : A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 354 : 1001-1010, 2006

トピックス

IV. 性感染症

2. B型肝炎

高橋 祥一 茶山 一彰

要 旨

我が国でのB型慢性肝炎の感染経路のほとんどが母児感染である一方、成人のB型急性肝炎の大部分は性感染によるものであり、特に元来本邦に存在しなかったgenotype Aの感染例が近年多く見られる。

B型急性肝炎の重症化例に対しては、積極的に核酸アナログを投与し、肝炎の進展を抑えるべきであるが、性感染による急性B型肝炎ではHIV（ヒト免疫不全ウイルス）との重感染の可能性があり、投薬時には薬剤耐性ウイルスの出現に対する配慮が必要である。

〔日内会誌 96：2450～2455, 2007〕

Key words：B型感染ウイルス（HBV）、性感染、核酸アナログ、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）

我が国でのB型慢性肝炎の原因は、そのほとんどがHBVキャリア、特にHBe抗原陽性キャリアである母親からその子供への産道感染を契機とした持続感染が主なものである。1986年から始まったHBV母児感染予防事業の普及により、母児感染はほとんど成立しなくなり、将来的にHBV感染はなくなると考えられていた。しかしながら、近年急性B型肝炎症例が増加傾向にあり、さらに急性肝炎から慢性化する症例が以前より増加してきていることが分かった。

成人でのB型急性肝炎の大部分は性感染によるものであり、さらに急性肝炎症例のgenotypeの多くは我が国に存在しなかったgenotype Aであることが明らかになってきた。平成17年度の熊田らによる厚労省肝炎等克服緊急対策研究事業報告によると、全国13施設のB型急性肝炎321例のgenotypeはA：26%、B：12%、C：58%であった（図1）¹⁾。これは本邦のHBVキ

たかはし しょういち、ちゃやま かずあき：広島大学大学院分子病態制御内科学

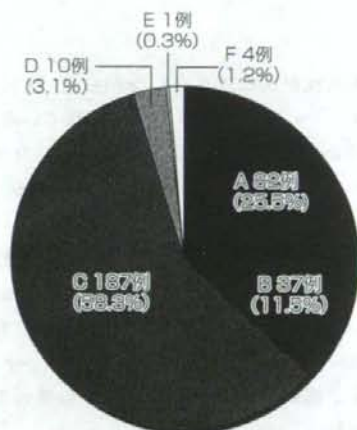


図1. HBV genotypeを測定し得た321例のHBV genotypeの頻度（文献1）

リアのgenotype分布、genotype Cが約70%、Bが20数%、genotype A、Dがごくわずかという結果とは異なり、genotype Aの急性感染例が著明に増加してきていることがわかる、genotype

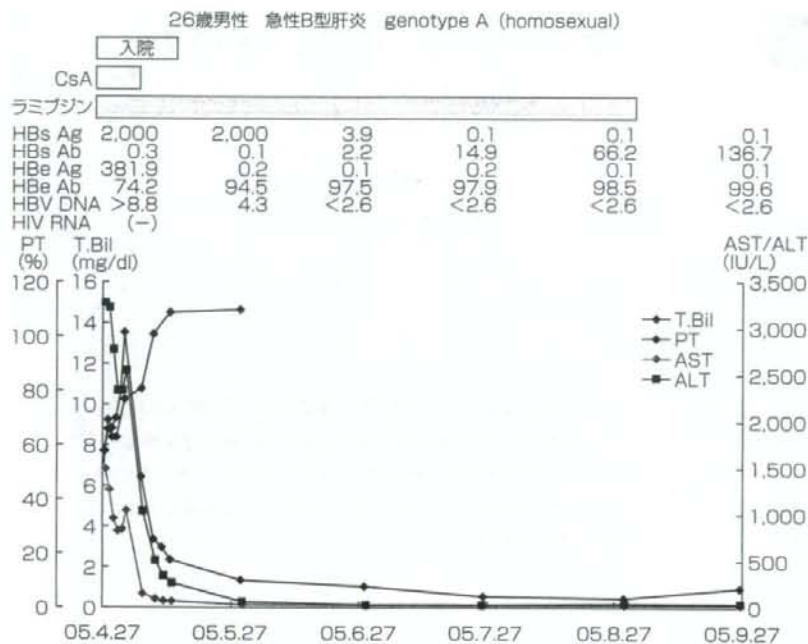


図2. 経過表

Aは本来我が国には存在しなかった。欧米、西アフリカ、フィリピンに多く認められているgenotypeであり、我が国の国際化を反映した現象と考えられる。またgenotype Aはgenotype B、Cに比して慢性化しやすいことが知られている。熊田らの報告によると、genotype Aの慢性化率は14.6%であり、genotype Bの5.4%、genotype Cの4.8%に比して高率であった。従って今後は垂直感染によるHBVの慢性化に変わり、genotype Aの水平感染による慢性化、HBVの蔓延が危惧される¹⁾。

B型急性肝炎の治療の基本は、自己のリンパ球(免疫力)によるHBV感染肝細胞の排除を促すことにあり、劇症化のおそれがない場合は無投薬で経過観察をすることである。食欲低下があれば補液をすることは必要であるが、基本的には肝庇護剤等は慢性化の助長につながるため、使用を控えるのが原則である。なお肝炎の重症化、

劇症化のおそれがある場合は積極的に逆転写酵素阻害剤の使用、人工肝補助療法を行い、それでも救命できない場合は生体肝移植を選択することもある。当科の症例を呈示する。本症例はgenotype Aの急性肝炎で入院時PT 58%と劇症化のおそれがあったためラミブジンとサイクロスポリン(CsA)を投与し、回復した(図2)。

一方B型慢性肝炎では、ウイルスの完全な排除が難しいため、HBVDNAの増殖を持続的に抑制していくこと、肝炎を沈静化させて肝病変を改善し、肝硬変や肝癌への進展を防いでいくことが重要になる。実際のB型慢性肝炎治療については「B型およびC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究」班(厚生労働科学研究補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業)より平成18年度B型慢性肝炎治療の新ガイドラインが発表されている(表1、2)²⁾。HBeのナチュラルセロコンバージョンが期待できる

表 1. 平成 18 年度 B 型慢性肝炎の治療ガイドライン

35 歳未満		
HBV-DNA	≥ 7 log copies/ml	< 7 log copies/ml
e 抗原陽性 e 抗原陰性	IFN 長期間歇 経過観察	IFN 長期間歇 経過観察

(進行例は Entecavir)

表 2. 平成 18 年度 B 型慢性肝炎の治療ガイドライン

35 歳以上		
HBV-DNA	≥ 7 log copies/ml	< 7 log copies/ml
e 抗原陽性	① Entecavir	Entecavir
e 抗原陰性	② IFN 長期間歇 Entecavir	Entecavir

年齢が一般に 35 才前後までであることから、この年齢を目安としてガイドラインが設定されている。35 歳未満の若年症例に対しては HBe 抗原陽性例に対しては、自己の免疫力により HBe 抗原の陰性化や肝炎の収束が期待されるため、IFN 長期間歇投与を基本的に行い、HBe 抗原陰性例に対しては原則的に経過観察を行うが、肝病変進行例ではエンテカビル投与も考慮する。なお、B 型肝炎では、肝線維化と血小板数などの臨床検査値の増悪は平行しないことも多く、肝病変の進行度は肝生検で診断すべきであり、その結果をふまえて治療すべき症例と、経過観察する症例を選択することが重要である。一方 35 歳以上の中高齢者に対しては、エンテカビル投与が原則となる。エンテカビル(バラクルード®)は 2006 年 9 月に発売になった B 型慢性肝炎、B 型肝炎硬変に対する逆転写酵素阻害剤であり、B 型慢性肝疾患に対する同種の薬剤としては、ラミブジン(ゼフィックス®)、アデフォビル(ヘプセラ®)に次いで本邦で 3 剤目となる。逆転写酵素阻害剤は、細胞内で宿主のデオキシリボ核酸と競合し、ウイルス由来の逆転写酵素によるウイルス DNA の合成を阻害し、ウイルスの複製を抑える働きをする。もともと HIV の治療薬として開発された

経緯があるが、HBV でもその増殖を抑えることがわかり、臨床応用されるようになった。

これらの逆転写酵素阻害剤の作用機序について簡略に解説すると、不完全 2 本鎖 DNA ウイルスである B 型肝炎ウイルス (HBV) のウイルスゲノムは、肝細胞の核内でいったん完全 2 本鎖 DNA となり、宿主の RNA polymerase でプレゲノム RNA となった後、ウイルス由来の逆転写酵素を用いて HBV ゲノム DNA を複製する。エンテカビルなどの逆転写酵素阻害剤は宿主のゲノム DNA を構成するデオキシアデノシン、デオキシグアノシンなどのヌクレオシドに構造的に非常に類似した核酸アナログとよばれる物質であるが、この核酸アナログが HBV プレゲノム RNA の逆転写反応中に伸長される HBV ゲノム DNA 中に取り込まれ、そのとなりのヌクレオシドとは共有結合が行われないことより DNA 伸長反応が止まる、いわゆる「chain termination」という現象によりウイルスゲノムの複製を抑制している (図 3)。ちなみにエンテカビルはグアノシンの核酸アナログ、ラミブジンはシチジン、アデフォビルはアデノシンの核酸アナログである。

これらの核酸アナログは、投与開始後数週間で速やかに HBV DNA、ALT の低下が見込める

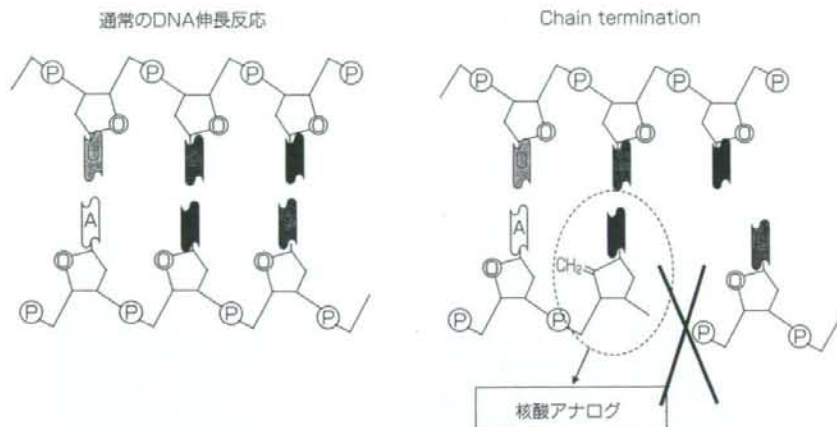


図3. 核酸アナログの作用機序

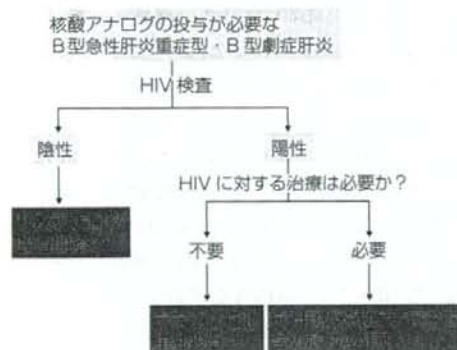


図4. HBV/HIV重感染者に対して、抗HIV作用を併せ持つ抗HBV核酸アナログは単剤投与してはならない

一方で、内服中止すると大部分の症例で再燃が認められる点、またHBVゲノムDNAの変異による耐性株の出現する点が大きな問題である。特にラミブジンにおける耐性株の出現率の高さは深刻で、当科のデータでも投与開始4～5年ではほぼ半数の患者に耐性株が出現している。ラミブジン耐性株はHBV polymeraseの逆転写酵素領域のYMDDモチーフと呼ばれるアミノ酸配列がYIDDもしくはYVDDに変異することにより起

る(M204I, M204Vと表記)³⁾。アデフォビル長期投与による耐性株の出現頻度はラミブジンに比して低いが、2年で3%、4年で18%の変異株の出現を認めている(A181TまたはN236T)。エンテカビルは国外でも発売されて間もないため、長期投与のデータはまだないが、核酸アナログ未使用症例では、投与2年後で現在までのところ、変異株の出現をほとんど認めていない。しかしながら、すでにM204IまたはM204Vの変異を持つラミブジン耐性株に対するエンテカビルの投与においては、1年で7%、2年で9%のエンテカビル耐性株の出現を認めているため、すでにラミブジンに耐性を有する場合には、エンテカビルへの変更ではなく、従来通りラミブジン+アデフォビルの併用療法を行うべきである。

Genotype AのHBVの感染は、男性間のhomosexual transmissionでしばしば認められ、時としてHBVとHIVの重複感染がみられる。従ってB型急性肝炎患者に対し、核酸アナログを使用しなければならない重症例を診たときは以下の点に注意が必要である(図4)。

HBVとHIVはウイルス複製の際に逆転写され、このステップを阻害するのが、核酸アナログ=逆転写酵素阻害剤である。従って一部の核酸ア

ナログは、抗HBVと抗HIVの両方の活性を有しており、ラミブジンは当初HIVに対する薬剤として開発された後、HBVに対しても使用されるようになった。ラミブジンは抗HIV薬としては300 mg/dayで使用されるが、抗HBV薬としては、より少量で十分な抗ウイルス効果を発揮するため、100mg/dayで投与される、ここに落とし穴がある。

HIVの治療は1987年にHIVに対する初の逆転写酵素阻害剤AZT(レトロビル®)の開発以後、各種抗HIV剤が使用可能となり飛躍な進歩を遂げた。当初は逆転写酵素阻害剤に対する耐性株の出現によるコントロール不良例が頻発し、治療に難渋していた。HBVのラミブジン投与によるYMDD出現例と同様のことが、HIV患者では1990年代半ばにすでに起きていた。特に問題となるのが、1カ所のアミノ酸変異の出現で多剤耐性になるということである。例えばラミブジン投与によりHIV逆転写領域にM184Vという変異が出現すると、このウイルス株はザルシタピン(ddC)、アバカビル(ABC)、エムトリシタピン(FTC)といった他の抗HIV剤に対しても薬剤耐性を獲得する。この問題を解決するために1990年代後半からHAART (highly active anti-retroviral therapy)と呼ばれる多剤併用の抗HIV療法が行われるようになり、薬剤耐性株の出現頻度は激減した⁴⁾。

このことからわかるように、B型急性肝炎治療時に特に注意すべき点は、「HBV/HIV重感染者に対して、抗HIV作用を併せ持つ抗HBV核酸アナログは単剤投与してはならない」ということである。HBV/HIV重感染者に対してラミブジン100mg/dayで単剤投与を行うと、HIVに対して不十分な抗ウイルス効果しか持たないので、HIVは容易に薬剤耐性を獲得する。次に抗HIV療法を行おうとしてもすでに多剤耐性を獲得した後ではHAART療法の薬剤選択の選択肢が非常に狭められ、その後のHIVの治療に支障が出てくるのである。抗HIV作用と抗HBV作用を併せ持つ核酸

アナログはラミブジンの他に、テノホビル(TDF)、エムトリシタピン(FTC)が知られていたが(HBVに対する保険適応はなし)、2007年になり新規抗HBV抗ウイルス剤であるエンテカビル(ETV)も抗HIV活性を有することが報告された⁵⁾。米国においてHIV/HBV重感染者に対するHBVの治療としてエンテカビルが投与されたところ、投与2カ月後にはHBVのみならず、HIVのウイルス量も減少し、投与6カ月後にはこの患者のHIVの逆転写領域に、上記ラミブジン投与時と同様のM184Vにmutationが出現していた。つまり抗HIV活性を併せ持つエンテカビルをHBV/HIV重感染者に単剤投与してはならない、ということになる。

従ってB型急性肝炎患者を診たときに重要なことは、抗HBV核酸アナログを投与する前に、患者のHIV感染の無いことを確認することである。成人発症のHBV初感染例では、性交渉による感染の可能性がきわめて高いため、全例HIV検査を施行する必要がある。またHBV持続感染例に対しても、易感染性のある症例や、男性間同性愛者や薬物常用者などはHIV感染の高リスクグループであり、必要に応じてHIV感染の無いことを確認してから、抗HBV核酸アナログの投与をすべきである。検査の結果HBVとHIVの重複感染があり、現段階でHBVに対する治療は必要であるがHIVに対する治療は必要でない場合は、保険では認可されていないが、抗HIV活性を持たないアデフォビルの単剤投与が推奨されている。一方HBVとHIVの双方の治療が必要な場合は、抗HBV活性と抗HIV活性を併せ持つ核酸アナログを含んだHAARTが考慮されるが、HIV陽性であれば、いずれの場合においても血液内科医と相談の上治療薬が決定されるべきである。

文 献

- 1) 熊田博光(主任研究者): 新規のB型肝炎患者の推移とその治療の実態 HBV genotype別にみた急性肝炎からの慢性化の検討 平成16年度—平成18年度 総括・分担研

- 究報告書, 117-122. 厚生労働省科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業 (肝炎分野), 2007
- 2) 熊田博光 (主任研究者): B型及びC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究 平成16年度—平成18年度 総括・分担研究報告書, 3-18. 厚生労働省科学研究費補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業 (肝炎分野), 2007
- 3) Chayama K, et al: Emergence and takeover of YMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudine therapy and re-takeover by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 27: 1711-1716, 1998.
- 4) MacArthur RD, et al: A comparison of three highly active antiretroviral treatment strategies consisting of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, protease inhibitors, or both in the presence of nucleoside reverse transcriptase inhibitors as initial therapy (CPCRA 058 FIRST Study): a long-term randomised trial *Lancet* 368: 2125-2135, 2006.
- 5) McMahon BS, et al: The HBV drug entecavir-effects on HIV-1 replication and resistance. *N Engl J MED* 356: 2614-2621, 2007.

肝 疾 患

高橋 祥一 茶山 一彰*

要 旨

- B型慢性肝炎に対する治療は、若年者かつ肝線維化が軽度な症例を除き、核酸アナログの投与が第一選択となり、新規発売の entecavir は強力な抗ウイルス効果と低い耐性株出現率により、初回投与例の第一選択となる可能性が高い。
- B型急性肝炎では、本邦に存在しなかった genotype A の感染が著明に増加している。
- C型慢性肝炎の治療は、2004年12月にはじまった pegIFN α -2b+ribavirin の併用療法が、genotype 1b 高ウイルス量症例には48週間、2b 高ウイルス量症例には24週間の投与で、従来より高い著効率が得られている。
- 肝細胞癌の治療は、早期例には経皮的ラジオ波焼灼術、高度進行例にはリザーバー肝動注化学療法、肝予備能低下例には肝移植術、と種々の治療オプションが開発されている。

はじめに

最近、肝疾患に関する世の中の注目度が高くなり、B型肝炎、C型肝炎、肝癌に関する記事がマスコミに取り上げられることも多くなっている。

本稿では2000年以降に新たに開発、投与開始され、さらに今後展開すると思われる治療薬、治療法を中心に解説する。

B型慢性肝炎

B型慢性肝炎の治療目標は、① HBe 抗原陽性から HBe 抗体陽性への seroconversion, ② HBV DNA の陰性化, ③ トランスアミナーゼの正常化、と考えられる。しかし、B型慢性肝炎では、ウイルスの完全な排除がむずかしいため、HBV DNA の増殖を持続的に抑制していくこと、肝炎を沈静化させて肝病変を改善し、肝硬変や肝癌への進展を防いでいくことが重要になる。

B型慢性肝炎治療については「B型およびC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究」班(厚生労働科学研究補助金 肝炎等克服緊急対策研究事業)より、B型慢性肝炎治療の新ガイドライン 2006 が発表されている (Table 1)¹⁾。35歳未満の若年症例において、HBe 抗原陽性例に対しては、自己の免疫力により HBe 抗原の陰性化や肝炎の収束が期待されるため、インターフェロン (IFN) 長期間欠投与を基本的に避け、HBe 抗原陰性例に対しては原則的に経過観察を行うが、肝病変進行例では lamivudine または entecavir 投与も考慮する。一方35歳以上の中高年者に対しては、lamivudine または entecavir 投与が原則となる。HBe 陽性で HBV DNA が 7 LGE/ml 以上の高ウイルス量症例に対しては、IFN 長期間欠投与も選択される場合がある。以下に各治療法の特徴および注意点を示す。

1. IFN 長期間欠療法

B型慢性肝炎に対する IFN 治療の保険適用は

* S. Takahashi, K. Chayama (教授) : 広島大学大学院分子病態制御内科学。

Table 1. B型慢性肝炎治療ガイドライン 2006

35歳未満	HBV DNA \geq 7 LGE/ml	HBV DNA < 7 LGE/ml
HBe 抗原陽性	IFN 長期間欠	IFN 長期間欠
HBe 抗原陰性	経過観察	経過観察
35歳以上	HBV DNA \geq 7 LGE/ml	HBV DNA < 7 LGE/ml
HBe 抗原陽性	① lamivudine (entecavir) ② IFN 長期間欠	lamivudine (entecavir)
HBe 抗原陰性	lamivudine (entecavir)	lamivudine (entecavir)

厳しく制限され、対象は HBe 抗原陽性例で投与期間は連日 4 週間であったため、効果は決して満足できるものではなかった。2000 年 4 月から、6 か月間の長期投与が可能となり、治療成績の改善が報告されるようになってきた。なお現在も HBe 抗原陽性、HBV DNA polymerase 陽性の慢性肝炎のみが保険適用となっており、HBe 抗体陽性例、肝硬変例は保険適用になっていない。またペグインターフェロン (peg-IFN) は B 型肝炎に対しては保険適用になっていない。

自然経過による seroconversion (SC) 率は年率 8~15% 程度であるが、わが国の IFN 4 週投与の治療成績では、治療終了 1 年後、2 年後の HBe 抗原陰性化 seronegative (SN) 率は 29%、55%、SC 率は 12%、29% であり、自然経過による SC をやや早めると考えられる²⁾。IFN 4 週投与と 24 週投与の比較では、治療 6 か月後の SN 率は 4 週投与の 4% に対し 24 週投与の 26%、SC 率は 4 週投与の 4% に対し 24 週投与の 20% と、IFN の長期投与の有効性が報告されている。

これまでに IFN の治療効果が高くなる背景因子として、30 歳未満の若年者であること、投与前の HBV DNA が低値であること、ALT 値が正常上限の 2 倍以上に上昇してピークを超えた直後で、HBV DNA が低下傾向の時期に IFN 投与を開始すると有効率が高くなると報告されている³⁾。

現在欧州では peg-IFN の 12 か月投与が行われ、さらに高い効果が報告されていることより⁴⁾、今後さらに IFN の長期投与や、核酸アナログ製剤

とのコンビネーション療法の成績などの報告が予想されるが、臨床的治療の状態に制御するためには各種薬剤の長所短所を理解したうえで使用することが重要である。

IFN の副作用としては、① インフルエンザ様症状、② 汎血球減少 (以上必発)、ときに③ 間質性肺炎、④ 精神神経症状 (IFN α 製剤が多い)、⑤ 甲状腺異常、⑥ 糖尿病の増悪、⑦ 蛋白尿 (IFN β が多い)、⑧ 眼底出血、⑨ 脱毛 (IFN α 製剤に多い) など種々の疾患があり、間質性肺炎、精神疾患は死亡例があるため、とくに注意が必要である。

2. 核酸アナログ製剤

核酸アナログとは、細胞内で宿主のデオキシリボ核酸と競合し、ウイルス由来の逆転写酵素によるウイルス DNA の合成を阻害し、ウイルスの複製を抑える働きをする逆転写酵素阻害薬のことである。もともと HIV の治療薬として開発された経緯があるが、HBV でもその増殖を抑えることがわかり、臨床応用されるようになった。

lamivudine (LMV) は、2001 年から本邦でも認可されたシトシンの核酸アナログで、4 週間投与で HBV DNA を約 2 log、8 週間投与で 3 log 低下させることが示されている。また HBe 抗原陽性例を含めて、1 年間の投与で HBe 抗原の陰性化率が 20~30%、ALT 値の正常化率が 70~80%、HBV DNA 陰性化率が 30~40% と、短期間投与では非常に高い有効率を示した。しかし、投与を中止すると大部分の症例で肝炎が再燃すること、また、長期投与を行うと YMDD 変異株 (YIDD、

YVDD)と呼ばれる lamivudine 耐性株が出現し、5年間で半数以上の症例に耐性株が出現したという報告もある。とくに HBe 抗原陽性、HBV DNA 高値症例に耐性株の出現が多くみられる⁵⁾。

adefovir (ADV) はアデニンの核酸アナログで、2004 年から本邦で発売されている。adefovir は lamivudine と比較して抗ウイルス効果が若干弱く、腎障害を起こすという副作用があるものの、耐性株が出現しにくいいため、lamivudine による耐性株が出現したときの肝炎対策として、lamivudine と併用することを条件に認可されている。欧米では adefovir 単独でも十分な抗ウイルス活性があることが示されており、現在国内では adefovir 単独投与の治験中である⁶⁾。

グアニンの核酸アナログである entecavir (ETV) は、国内で臨床第Ⅱ相試験が行われたところ、entecavir 0.5mg/day 投与で lamivudine 100mg/day より有意な HBV DNA の低下が認められ、entecavir の強い抗ウイルス効果が認められた。また海外での報告において、entecavir の長期投与での耐性株の出現率は lamivudine より明らかに低く、adefovir とほぼ同等であった⁷⁾。entecavir は 2006 年 9 月から発売予定である。

いずれの核酸アナログも短期投与では強力な抗ウイルス効果を有し、非常に有効であるが、投与中止によりほぼ全例が再燃し、放置すれば劇症化することもあるため、確実に内服を継続するよう服薬指導が重要である。また adefovir、entecavir は lamivudine ほどではないが、やはり耐性株の出現の報告がある。これら 3 種類の核酸アナログの使用法(組み合わせ方など)については、今後国内外の学会等で検討されるものと思われる。また海外では、HIV 製剤である tenofovir (TDF) やエントリシタピン (FTC) の HBV に対する有用性も報告されている。

B 型急性肝炎○

成人での B 型急性肝炎の発症は、ほぼ全例が性感染と考えて差し支えなく、HBV 母児感染予防事

業の普及により、将来的に HBV 感染はなくなると考えられていた。しかしながら、近年急性 B 型肝炎症例が増加傾向にあり、さらに急性肝炎症例の genotype は、わが国に存在しなかった genotype A であることが明らかになってきた。

平成 17 年度の熊田らによる厚労省肝炎等克服緊急対策研究事業報告によると、全国 13 施設の B 型肝炎 321 例の genotype は、A: 26%、B: 12%、C: 58% であった。これは本邦の HBV キャリアの genotype 分布において、genotype C が約 70%、genotype B が 20 数%、genotype A、D がごくわずかという結果とは異なり、genotype A の急性感染例が著明に増加してきていることがわかる。genotype A は本来わが国には存在しなかった type であり、わが国の国際化を反映した現象と考えられる。また genotype A は genotype B、C に比して慢性化しやすいことが知られている。熊田らの報告によると、genotype A の慢性化率は 14.6% であり、genotype B の 5.4%、genotype C の 4.8% に比して高率であった。したがって今後は垂直感染による HBV の慢性化に代わり、genotype A の水平感染による慢性化、HBV の蔓延が危惧される¹⁾。

一方 genotype A の HBV の感染は、男性間の homosexual transmission でしばしば起こることが知られており、ときとして HBV と HIV の重複感染がみられる。抗ウイルス薬である lamivudine はもともと抗 HIV 薬として開発されたが、HIV に対する lamivudine の常用量は HBV に対するその 3 倍である。また現在の抗 HIV 療法の基本は多剤併用であり、単剤投与では容易に薬剤耐性株が出現することが知られている。したがって HBV/HIV 重複感染を知らずに、抗 HIV 薬としては 1/3 量である lamivudine の単独投与を行うと、簡単に HIV は薬剤耐性を獲得する。さらにわるいことに lamivudine 耐性を獲得した HIV は、同時に他の核酸系逆転写酵素阻害薬に対する耐性を獲得してしまうのである。このため HBV の初感染例に対しては、患者の承諾を得て HIV 感染の有無を確

認しておくべきである。

C型慢性肝炎○

C型慢性肝炎治療とB型慢性肝炎治療の根本的な違いは、C型慢性肝炎治療ではウイルスの完全消失が期待できるということである。わが国では1992年にIFN療法が認可されたが、当初の著効率は約3割程度であった(著効:IFN投与終了6ヵ月後のHCV RNA陰性[SVR:sustained viral response])。のちにこの理由は、genotypeによるIFNへの反応性の違いと、HCVウイルス量の違いによることが判明し、genotype 1B, HCV RNA 100KIU/ml以上のいわゆる難治性のHCVに対しては、IFN単独療法の著効率は10%以下で、成績は非常にわるかった。

しかし2001年IFN α -2b+ribavirinの併用療法の開始、2003年のpeg-IFN α -2a単独療法の開始を経て、今日、世界標準ともいえるpeg-IFN α -2b+ribavirinの併用療法がわが国で認可されたのが、2004年の12月である。genotype 1B, 高ウイルス量の患者に対し、わが国の全国治験のデータでは対象254人で47.6%の著効例が得られた。これは従来のIFN+ribavirin併用療法における著効率:約20%やpeg-IFN α -2a単独投与における著効率:約28%と比較して大きな進歩といえる。また、peg-IFNは週1回の投与であり、従来型のIFNに比して発熱等の自覚症状としての副作用の出現頻度が低く、患者のQOLも大きく改善されている。

また、治験のデータでは以前IFN療法を受けて、一度はウイルスが消失したにもかかわらず、最終的にはウイルスが再出現した「再燃群」では著効率が62.6%と高値であり、とくに一過性にIFNが効果を示した症例については著効が期待できることが示された。ウイルス陰性化時期別に著効率をみると、治療開始4週目までにウイルスが陰性化した症例については著効率100%、治療開始4~12週目までにはじめてウイルスが陰性化した症例は、著効率71.1%、治療開始12~24週

目までにはじめてウイルスが陰性化した症例は、著効率36.4%であった。すなわちウイルスがいったん血液検査上陰転化してから、さらにいかに長く治療継続するかが、著効が得られるためのポイントになると思われる。また薬剤の減量中止と著効率の関係は、peg-IFNとribavirinの両方を減量なく完遂した症例は62.5%と高値であったが、どちらか一方を減量した症例で52~53%、両剤減量例でも45.7%と比較的高値であり、投与中止例の著効率19.2%と比して著明に高値であり、減量してでも48週間継続することがまず肝要であるということが示されている⁸⁾。

このC型慢性肝炎に対する標準的な治療法についても、「B型およびC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究」班より、C型慢性肝炎治療の新ガイドライン2006が発表されている(Table 2)。このガイドラインによるとgenotype 1の高ウイルス量の患者に対しては、上述のごとくpeg-IFN α -2b+ribavirinの併用療法の48週間投与、genotype 2の高ウイルス量症例に対してはpeg-IFN α -2b+ribavirinの併用療法の24週間投与が推奨されており、低ウイルス量症例に対してはgenotypeに関係なく、従来型のIFN単独療法24週間またはpeg-IFN α -2a単独療法の24~48週間投与が推奨されている。

IFNの治療効果判定は、投与終了6ヵ月後のHCV RNAの消失をもって著効(SVR)としており、2004年12月に投与開始となった症例の効果判定が2006年6月であるため、市販後の著効率はようやく最近になって判明しはじめてきている。全国規模でのpeg-IFN α -2b+ribavirinの併用療法の著効率については今後の報告を待たねばならないが、おそらくgenotype 1B抗ウイルス症例に対する著効率は、40~50%とほぼ治験と同等のデータが示されるものと思われる。欧米の報告では、投与開始後12週目でのウイルス陰性化が得られない症例は、著効が得られる可能性が低いいため、投与を中止するよう勧告されているが、結局はウイルス陰性化が得られてから、いかに長く投

Table 2. C型慢性肝炎治療ガイドライン 2006

初回投与	genotype 1	genotype 2
〈高ウイルス量〉 1 Meq/ml 以上 100 KIU/ml 以上 300 fmol/l 以上	peg-IFN α -2b +ribavirin 併用療法 (48 週間)	peg-IFN α -2b +ribavirin 併用療法 (24 週間)
〈低ウイルス量〉 1 Meq/ml 未満 100 KIU/ml 未満 300 fmol/l 未満	IFN 単独療法(24 週間) peg-IFN α -2a 単独療法(24~48 週間)	IFN 単独療法(8~24 週間) peg-IFN α -2a 単独療法(24~48 週間)
再投与	genotype 1	genotype 2
〈高ウイルス量〉 1 Meq/ml 以上 100 KIU/ml 以上 300 fmol/l 以上	peg-IFN α -2b +ribavirin 併用療法 (48 週間)	peg-IFN α -2b +ribavirin 併用療法 (24 週間)
〈低ウイルス量〉 1 Meq/ml 未満 100 KIU/ml 未満 300 fmol/l 未満	peg-IFN α -2b +ribavirin 併用療法 (24 週間)	peg-IFN α -2b +ribavirin 併用療法 (24 週間)

与するかが著効率に大きく関係すると思われるので、保険上の問題はありますが、可能ならば 48 週間を超えて 72 週間あるいは 96 週間の治療を行えば、著効率はさらに上がるものと思われる。

肝細胞癌

現在本邦では年間約 35,000 人が原発性肝癌で死亡しているが、原発性肝癌の 95% を占める肝細胞癌は、慢性肝疾患(主に肝硬変)をベースに発症することがほとんどで、その 90% は C 型肝炎ウイルスまたは B 型肝炎ウイルスの持続感染者からの発症である。残る 10% はアルコール長期多飲者、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変患者などであるが、近年メタボリック症候群に関連した非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)患者からの肝細胞癌の発症が目ざされている。

肝細胞癌の治療法としては、以前から肝切除術、経皮的エタノール注入療法(PEI, PEIT)や経皮的マイクロ波凝固療法(PMCT)などの超音波ガイド下経皮的局所療法、経カテーテル的肝動脈化学塞栓療法(TACE, TAE)などがあるが、2000 年前後よ

り、経皮的ラジオ波焼灼術(RFA, PRFA)、皮下埋め込み型リザーバポートを介した肝動注化学療法(HAI)、そして生体肝移植が行われるようになり、早期の肝細胞癌、門脈内腫瘍栓を有する高度進行肝癌、また進行した肝硬変のため肝癌に対する積極的な治療が施行できない肝予備能低下例のいずれに対しても、従来とは比較にならない良好な治療効果が得られている。本稿では、これら最近施行されるようになった 3 つの治療法について述べる。

1. 経皮的ラジオ波焼灼術(RFA, PRFA)

従来から行われていた経皮的エタノール注入療法(PEI)は液体(エタノール)を注入するため、腫瘍内に均一に拡散せず、隔壁や被膜を通過できないため、腫瘍の残存とそれに伴う局所再発が問題であった。関らが発表した経皮的マイクロ波凝固療法(PMCT)は、挿入した針から熱を発生させ、腫瘍を熱凝固させる画期的な治療法であったが、一回の治療で得られる腫瘍の壊死範囲は直径 2 cm 程度であった⁹⁾。一方 Rossi らが報告した経皮的ラジオ波焼灼術(RFA)は、PMCT より一回に得

られる壊死範囲が大きいことから、わが国でも1999年以降多くの施設で施行されるようになった¹⁰⁾。RFAは2004年4月によく保険収載となり、現在もRFA針の開発、改良が進んでいる。

現在RFA一回の治療で得られる腫瘍壊死範囲は直径3cm程度であり、従来のPEIの一般的な治療対象といわれていた「直径3cm, 3個以内」の肝細胞癌に対してはRFAのよい適応と考えられる。とくに2cm以下の症例に関しては局所再発率、生存率のいずれも肝切除術とまったく同等の成績が得られており、手術侵襲の少ないRFAを選択するケースが増えている。近年、multiple-detector row CT (MDCT)などの画像診断用機器の急速な進歩により、詳細な肝細胞癌の情報が得られるようになり、治療前後の画像を三次元的に検討することも可能になっている。最近のRFA治療の成績の向上は、これら画像診断能の進歩に負う部分が多いことも見逃せない。ちなみに当科におけるRFAの局所再発率は、3年で4%と十分満足できる結果が得られている。

2. リザーバー肝動注化学療法(HAI)

以前はvp3, vp4の門脈腫瘍栓が出現した症例や肝右葉全体を占める塊状型、びまん型肝細胞癌症例に対しては、内科的治療はまったく奏効せず、仮に手術を行っても術後早期に肝動脈造影で花が咲いたような同時多発再発を認めることが多く、予後不良であると考えられていた。しかしながら、近年施行されるようになったHAIにより、著効する症例がしばしばみられ、中にはvp4の門脈腫瘍栓合併塊状型肝細胞癌で余命2~3ヵ月と考えられた症例が、HAIによりtumor freeとなり、3年以上無再発で生存する症例もみられている。

HAIはまず固有肝動脈、あるいはそれより末梢の肝動脈へのカテーテルの留置を行う。胃十二指腸動脈など肝臓以外の臓器への抗癌薬の流出が予想される場合は、コイルなどによる血行改変術が必要である。大腿動脈刺入部側のカテーテルの端はリザーバーポートに接続し、皮下トンネルを通して、腹部の皮下に埋設する。

HAIのレジメンはfluorouracil(5-FU)を用いたものが一般的で、現段階ではlow dose FPと呼ばれる低容量の5-FUとcisplatin(CDDP)の併用療法と、5-FUとIFNの併用療法の両者が有力視されている。low dose FP療法はHAI施行当初から行われているレジメンで、多くの施設で行われており、ある一定の効果が示されているが、消化器症状や腎毒性などのCDDPの副作用が問題となることがある¹¹⁾。一方、5-FU/IFN併用療法は、抗癌薬としての副作用は比較的軽く反復投与がしやすいこと、とくにC型肝炎、肝硬変患者に対しては肝炎の鎮静化も見込めるため、肝予備能の保持が期待できることが有利な点であるが、IFNの副作用である発熱やうつ状態の出現、また肝癌治療に対してIFNは保険収載されていないことが大きな問題となる¹²⁾。現在5-FU/IFN療法は治験進行中であり、保険治療認可が待たれる。

low dose FP療法、5-FU/IFN療法とも、一般に週5日連日投与後2日休薬、これを2~4週間継続するのを1クールとし、2~3クール施行後効果判定を行って、著明な治療効果が得られる症例はさらに治療継続、あるいは切除術や経皮的局所療法などの根治療法が行われる。当科における治療成績は、奏効率40%、1年生存率48%であった。ただし、明らかに治療に反応しない症例も半数程度存在し、奏効例の1年生存率100%に対し、非奏効例は6ヵ月生存率44%と明らかな差を認めた。現段階ではどのような症例に対してHAIが有効であるかは不明であるが、治療開始前のインフォームド Consentをとる際に注意が必要である。奏効例を1例示すが、左葉の塊状型肝癌、門脈左枝への腫瘍栓を認めた症例に対し、5-FU/IFN療法を2クール施行した。腫瘍は著明に縮小し、腫瘍栓もほぼ消失している。

3. 肝移植

2004年からB型、C型のウイルス性肝硬変や肝細胞癌症例に対しても、生体肝移植術が保険適用となり、生体肝移植症例が増加してきている¹³⁾。

肝細胞癌症例に対する生体肝移植術施行時に問

題となるのが、術後の肝臓の再発である。高度進行症例に対して肝移植術を行った場合、術後早期に移植肝への癌の再発を認めることが欧米の報告から知られている。このためイタリアのグループより「Milan Criteria」という基準が提唱された¹⁴⁾。これは術前の肝細胞癌が単発なら5 cm以下、多発なら3 cm、3個以内で、門脈侵襲などの脈管侵襲、遠隔転移を認めない症例を指し、「Milan Criteria」に合致した症例は「Milan Criteria」から逸脱した症例に比して有意に無再発生存率、生存率ともに良好であったことを示した。このデータに倣い、本邦においては「Milan Criteria」を満たす肝臓癌症例のみ保険適用となっている。

従来、肝予備能がわるく、肝臓に対する治療が困難であった child C 症例のみが移植の適応と考えられていたが、「Milan Criteria」合致肝細胞癌症例の保険適用の導入に伴い、肝移植対象として検討される肝細胞癌症例が増えてきている。すなわち、将来的には child C になる可能性が高い child B 症例で待機期間中に肝臓が「Milan Criteria」を超えてしまふような症例、さらには肝予備能は正常であるが、度重なる局所治療・TACE にもかかわらず、次回再発時には「Milan Criteria」を超えような症例は、肝予備能が比較的温存されていても肝移植の適応として考えられるようになってきている。現在の当院第二外科における、「Milan Criteria」合致例での肝臓肝移植症例の3年生存率は83%である。比較的良好なデータであるが、症例の蓄積によりこの数値はさらに向上すると思われるため、とくに初回治療後に再発した症例は繰り返し内科的治療を継続するべきか、「Milan Criteria」を超える前に移植に踏み切るべきか慎重な検討が必要である。移植をするにせよ、しないにせよ、肝移植という選択肢があるということは、あらかじめ患者家族および患者本人にインフォームドコンセントを行う必要がある。

ただし、脳死肝移植がほとんど行われていない今日の状況では、肝移植を選択する場合ほぼ生体肝移植しか可能性がないこと、生体肝移植を行う

ためには健康なドナーにメスを入れねばならず、100%安全とはいきれないこと、B型肝硬変、C型肝硬変患者の場合、移植後肝炎の再発の可能性があり、HBVについては核酸アナログと抗HBV免疫グロブリンの投与でほぼ制御可能であるが、HCVについては術後にC型肝炎の再燃が100%に近い割合で起こり、肝炎の再発が術後の生存率を明らかに低下させるため、IFN治療の必要があることなどを、患者やドナーに十分説明して理解してもらわなければならない。

おわりに○

以上、最近大きく変化している肝疾患に対する治療について述べたが、今後もしばらくは肝炎、肝細胞癌患者に対する治療のニーズは高いと考えられ、新たな治療法の開発・改良が行われるものと思われる。

文 献○

- 1) 熊田博光ほか：B型およびC型肝炎ウイルスの感染者に対する治療の標準化に関する臨床的研究：平成17年度総括・分担研究報告書：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）、2006
- 2) 西口修平：IFN治療、コンセンサス肝疾患2002、矢野右人ほか（編）、日本メデイカルセンター、東京、p71-77、2002
- 3) 茶山一彰ほか：慢性肝炎治療薬の選び方と使い方、南江堂、東京、2005
- 4) Janssen HLA et al：Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B：a randomized trial. *Lancet* 365：123, 2005
- 5) Liaw YF：Results of lamivudine trials in Asia. *J Hepatol* 39 [Suppl 1]：S111, 2003
- 6) Perrillo R et al：Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. *Hepatology* 32(1)：129, 2000
- 7) Lai CL et al：Entecavir is superior to lamivudine in reducing hepatitis B virus DNA in patients with chronic hepatitis B infection. *Gastroenterology* 123(6)：1831, 2002
- 8) 飯野四郎ほか：Genotype 1 かつ高ウイルス量のC型慢性肝炎に対するPEG-インターフェロンα-2bとトリパピリン48週併用療法の有効性：インターフェロンα-2bとトリパピリン6ヵ月併用療法とのretrospectiveな比較。肝・胆・膵49(6)：1099, 2004

- 9) Seki T et al : Ultrasonically guided percutaneous microwave coagulation therapy for small hepatocellular carcinoma. *Cancer* 74(3) : 817, 1994
- 10) Rossi S et al : Percutaneous Radiofrequency interstitial thermal ablation in the treatment of small hepatocellular carcinoma. *Cancer J Sci Am* 1(1) : 73, 1995
- 11) 緒方俊郎ほか：進行肝細胞癌減量手術における補助療法としての Cisplatin, 5-fluorouracil 少量持続肝動注療法の有効性. *癌と化療* 24(12) : 1661, 1997
- 12) Sakon M et al : Combined intraarterial 5-fluorouracil and subcutaneous interferon-alpha therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* 94(2) : 435, 2002
- 13) 日本肝移植研究会：肝移植症例登録報告. *移植* 40(6) : 518, 2006
- 14) Mazzaferro V et al : Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 334(11) : 693, 1996

● 薬の知識

バラクルード® 0.5 mg 錠(エンテカビル)

高橋 祥一* 茶山 一彰*

バラクルード® 0.5 mg 錠(エンテカビル)は2006年9月に発売になったB型慢性肝炎, B型肝硬変に対する経口の逆転写酵素阻害薬であり, B型慢性肝疾患に対する同様の核酸アナログとしては, ゼフィックス® (ラミブジン), ヘプセラ® (アデフォビル)に次いで本邦で3剤目となる(図1)。

I. 逆転写酵素阻害薬の作用機序

これらの逆転写酵素阻害薬の作用機序についてはすでによく知られているが, 不完全2本鎖DNAウイルスであるB型肝炎ウイルス(HBV)のウイルスゲノムは, 肝細胞の核内でいったん完全2本鎖DNAとなり, 宿主のRNA polymeraseでプレゲノムRNAとなった後, ウイルス由来の逆転写酵素を用いてHBVゲノムDNAを複製する。

エンテカビルなどの逆転写酵素阻害薬は, 宿主のゲノムDNAを構成するデオキシアデノシン, デオキシグアノシンなどのヌクレオシドに構造的に非常に類似した核酸アナログと呼ばれ

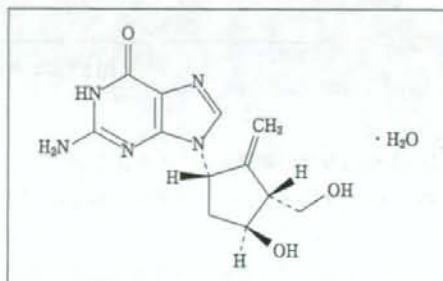


図1 エンテカビルの構造式

る物質である。エンテカビルはHBVプレゲノムRNAの逆転写反応中に伸長されるHBVゲノムDNA中に取り込まれ, 隣のヌクレオシドとの共有結合にねじれを生じさせることによりDNA伸長反応が止まり, ウイルスゲノムの複製を抑制している(図2)。(実際には, DNA伸長反応はエンテカビル結合の2-3塩基後に停止している。)ちなみにエンテカビルはグアノシンの核酸アナログ, ラミブジンはシチジン, アデフォビルはアデノシンの核酸アナログである。

また, この逆転写反応に先立って, HBVの逆転写酵素がプレゲノムRNAと結合して

Key words : B型肝炎ウイルス, 逆転写酵素阻害薬, 核酸アナログ, B型慢性肝炎

Shoichi Takahashi/Kazuaki Chayama

*広島大学大学院分子形態制御内科学(〒734-8551 広島市南区霞1-2-3)

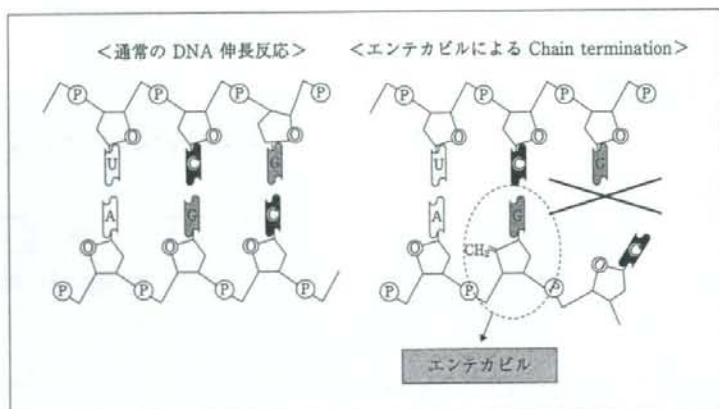


図2 エンテカビルの作用機序

DNA伸長反応が始まる、「プライミング」という反応が起きるが、エンテカビルはこのプライミング阻害活性をもつ点が、ラミブジンと異なる点で、エンテカビルのほうがより強い抗ウイルス活性をもつ根拠の一つとなっている。

II. エンテカビルの国内第二相試験

エンテカビルの国内第二相試験では、核酸アナログ未使用慢性B型肝炎患者に対してラミブジン100 mg/dayとエンテカビル0.01, 0.1, 0.5 mg/day投与の用量反応性試験が行われ、エンテカビル0.5 mg/day投与群はラミブジン100 mg/day投与群に比して優位にHBV DNAを抑制することが示された。

さらにエンテカビル0.5 mg/day 48週間投与の国内第二相試験では、高いHBV DNA減少率と、ALT正常化率を認め、投与終了後の肝生検の組織において肝線維化の著明な改善を認めた。

これらの結果を基に、核酸アナログ未使用患者に対してバラクルード0.5 mg/dayで投与されることになった。なお欧米では、肝組織の改

善度でもエンテカビルがラミブジンより優るという報告もある。

III. ラミブジン耐性株に対するエンテカビルの投与

これらの核酸アナログは、投与開始後数週間で速やかにHBV DNA、ALTの低下が見込める一方で、内服中止すると大部分の症例で再燃が認められる点、またHBVゲノムDNAの変異による耐性株の出現する点が大きな問題である。とくにラミブジンにおける耐性株の出現率の高さは深刻で、当科のデータでも投与開始4~5年でほぼ半数の患者に耐性株が出現している。ラミブジン耐性株は、HBV polymeraseの逆転写酵素領域のYMDDモチーフと呼ばれるアミノ酸配列がYIDDもしくはYVDDに変異することにより起こる(M 204 I, M 204 Vと表記)。アデフォビル長期投与による耐性株の出現頻度は、ラミブジンに比して明らかに低い。2年で3%、4年で18%の変異株の出現を認めている(A 181 TまたはN 236 T)。

エンテカビルは、国外でも発売されて間もないため、長期投与のデータはまだないが、核酸

アナログ未使用症例では、投与2年後で現在までのところ、変異株の出現を認めていない。しかしながら、すでに M 204 I または M 204 V の変異をもつラミブジン耐性株に対するエンテカピルの投与においては、1年で7%、2年で9%のエンテカピル耐性株の出現を認めており、ラミブジン耐性例に対してはエンテカピル投与に際して、十分な注意が必要である(T 184 G, S 202 I または M 250 V)。なおラミブジン耐性例に対しては、バラクルード 0.5 mg を1日に2錠(1.0 mg/day)投与が推奨されている。

IV. 今後の B 型慢性肝疾患に対する治療方針

今後の B 型慢性肝疾患に対する治療方針であるが、厚生労働省「B 型および C 型肝炎ウイルスの感染者に対する標準化に関する臨床的研究班」(熊田博光 班長)による「B 型慢性肝炎治療の新ガイドライン 2006」によると、35 歳以上の、ALT 値が 1.5 倍以上を持続する症例、あるいは 35 歳未満でも肝病変の進行した症例では、核酸アナログの投与が推奨されている。核酸アナログ未使用例に関しては、抗ウイルス効果が高く、変異株の出現の可能性の低いエンテカピル(バラクルード)が今後第一選択となることは異論のないところであろう(2006 年 10 月現在、本邦ではアデフォビルの単独投与は認可されていない)。

一方、すでにラミブジン耐性を有する患者に対しては、従来どおりラミブジンとアデフォビルの併用を行うか、エンテカピル単独投与に変更するかについては、まだ結論が出ておらず、今後の長期投与成績の結果を待つ必要がある。

もともと、逆転写酵素阻害薬は、レトロウイ

ルスである HIV に対して開発されたものを HBV にも使用開始されたという経緯があり、欧米ではさらに数種類の抗 HIV 用逆転写酵素阻害薬が、HBV に対しても抗ウイルス効果をもつという報告がある。

現在、本邦で市販されている 3 種類の HBV に対する核酸アナログのなかでは、単剤投与としてはエンテカピルの変異株出現率ももっとも低い、長期投与に伴う変異株の出現の可能性を考えると、将来的には抗 HIV 療法と同様に数種類の薬剤によるカクテル療法についても検討が必要になるかもしれない。

V. 投与方法

最後に投与方法であるが、本剤は食事の影響により吸収率が低下するので、空腹時(食後 2 時間以降かつ次の食事の 2 時間以上前)に内服する必要がある。現実的には食後 2 時間以上経った就寝前の内服がよいと思われる。

参考文献

- 1) Seifer, M., Hamatake, R. K., Colonno, R. J., et al.: In vitro inhibition of hepadnavirus polymerases by the triphosphates of BMS-200475 and lobucavir. *Antimicrob Agents Chemother.* 42; 3200-3208, 1998
- 2) Lai, C. L., Rosmawati, M., Lao, J., et al.: Entecavir is superior to lamivudine in reducing hepatitis B virus DNA in patients with chronic hepatitis B infection. *Gastroenterology* 123; 1831-1838, 2002
- 3) Wolters, L. M., Hansen, B. E., Niesters, H. G., et al.: Viral dynamics during and after entecavir therapy in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 37; 137-144, 2002

Influence of Genotypes and Precore Mutations on Fulminant or Chronic Outcome of Acute Hepatitis B Virus Infection

Atsushi Ozasa,^{1,2} Yasuhiro Tanaka,¹ Etsuro Orito,² Masaya Sugiyama,¹ Jong-Hon Kang,³ Shuhei Hige,⁴ Tomoyuki Kuramitsu,⁵ Kazuyuki Suzuki,⁶ Eiji Tanaka,⁷ Shunichi Okada,⁸ Hajime Tokita,⁹ Yasuhiro Asahina,¹⁰ Kazuaki Inoue,¹¹ Shinichi Kakumu,¹² Takeshi Okanoue,¹³ Yoshikazu Murawaki,¹⁴ Keisuke Hino,¹⁵ Morikazu Onji,¹⁶ Hiroshi Yatsushashi,¹⁷ Hiroshi Sakugawa,¹⁸ Yuzo Miyakawa,¹⁹ Ryuzo Ueda,² and Masashi Mizokami¹

The outcome of acute hepatitis B virus (HBV) infection is variable, influenced by host and viral factors. From 1982 through 2004, 301 patients with acute HBV infection entered a multi-center cross-sectional study in Japan. Patients with fulminant hepatitis (n = 40) were older (44.7 ± 16.3 vs. 36.0 ± 14.3 years, $P < .0017$), less predominantly male (43% vs. 71%, $P = .0005$), less positive for hepatitis B e antigen (HBeAg) (23% vs. 60%, $P < .0001$), less infected with subgenotype Ae (0% vs. 13%, $P < .05$), and more frequently with Bj (30% vs. 4%, $P < .0001$) than those with acute self-limited hepatitis (n = 261). Precore (G1896A) and core-promoter (A1762T/G1764A) mutations were more frequent in patients with fulminant than acute self-limited hepatitis (53% vs. 9% and 50% vs. 17%, $P < .0001$ for both). HBV infection persisted in only three (1%) patients, and they represented 2 of the 23 infected with Ae and 1 of the 187 with the other subgenotypes (9% vs. 0.5%, $P = .032$); none of them received antiviral therapy. In multivariate analysis, age ≥ 4 years or older, Bj, HBeAg-negative, total bilirubin 10.0 mg/dL or greater, and G1896A mutation were independently associated with the fulminant outcome. In *in vitro* transfection experiments, the replication of Bj clone was markedly enhanced by introducing either G1896A or A1762T/G1764A mutation. In conclusion, persistence of HBV was rare (1%) and associated with Ae, whereas fulminant hepatitis was frequent (13%) and associated with Bj and lack of HBeAg as well as high replication due to precore mutation in patients with acute HBV infection. *Supplementary material for this article can be found on the HEPATOLOGY website (<http://interscience.wiley.com/jpages/0270-9139/suppmat/index.html>). (HEPATOLOGY 2006; 44:326-334.)*

Abbreviations: HBV, hepatitis B virus; HBeAg, hepatitis B e antigen; HBe, hepatitis B core antigen; HBsAg, hepatitis B surface antigen; EIA, enzyme immunoassay; PCR, polymerase chain reaction; RFLP, restriction fragment length polymorphism; ALT, alanine aminotransferase.

From the ¹Department of Clinical Molecular Informative Medicine and the ²Department of Internal Medicine and Molecular Science, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan; ³Teinekeijinkai Hospital, Sapporo, Japan; the ⁴Department of Internal Medicine, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan; ⁵Akita City Hospital, Akita, Japan; the ⁶First Department of Internal Medicine, Iwate Medical University, Morioka, Japan; ⁷Shinshu University Graduate School of Medicine, Matsumoto, Japan; ⁸University of Yamanashi, Yamanashi, Japan; ⁹National Tokyo Hospital, Kiyose, Tokyo, Japan; ¹⁰Musashino Red Cross Hospital, Musashino, Tokyo, Japan; ¹¹Shouwa University Fujigaoka Hospital, Yokohama, Japan; ¹²Aichi Medical University School of Medicine, Aichi, Japan; ¹³Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan; ¹⁴Tottori University, Tottori, Japan; ¹⁵Yamaguchi University School of Medicine, Yamaguchi, Japan; ¹⁶Ehime University School of Medicine, Matsuyama, Japan; ¹⁷National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, Nagasaki, Japan; ¹⁸University of the Ryukyus, Okinawa, Japan; and ¹⁹Miyakawa Memorial Research Foundation, Tokyo, Japan.

Received February 8, 2006; accepted April 27, 2006.

Supported in part by a grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (H16-kaken-3), Uehara Memorial Foundation, Toyooki Foundation, and Miyakawa Memorial Research Foundation.

The nucleotide sequences of HBV DNA isolates used in this study have been deposited in the international DNA database under accession numbers AB249373-AB249636.

Address reprint requests to: Masashi Mizokami, M.D., Ph.D., Department of Clinical Molecular Informative Medicine, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Kawasumi, Mizuho, Nagoya 467-8601, Japan. E-mail: mizokami@med.nagoya-cu.ac.jp; fax: (81) 52-842-0021.

Copyright © 2006 by the American Association for the Study of Liver Diseases.

Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

DOI 10.1002/hep.21239

Potential conflict of interest: Nothing to report.

Approximately 3 billion people, one half of the world population, have been exposed to hepatitis B virus (HBV), of whom approximately 350 million are persistently infected with it.¹ Acute infection with HBV resolves in the great majority but can induce fulminant hepatitis or go on to become chronic. Host and viral factors may influence fulminant or chronic outcome of acute HBV infection, but they are not fully defined.

Eight genotypes have been detected by a sequence divergence greater than 8% in the entire HBV genome of approximately 3,200 nucleotides (nt), and designated by capital alphabet letters from A (HBV/A) to H in the order of documentation.²⁻⁵ They have distinct geographical distributions associated with severity of liver disease as well as response to antiviral therapies.⁶⁻⁸ Furthermore, subgenotypes have been reported for HBV/A, B, and C and named Aa/A1 (Asian/African type) and Ae/A2 (European type),⁹ Bb/B1 (Japanese type) and Ba/B2 (Asian type),¹⁰ as well as Cs/C1 (Southeast Asian type) and Ce/C2 (East Asian type).¹¹⁻¹³ Increasing lines of evidence indicate that subgenotypes of HBV/A and B influence the replication of HBV and bear clinical relevance.¹⁴⁻¹⁶ Furthermore, genotypes affect mutations in precore region and core promoter, thereby influencing the expression of hepatitis B e antigen (HBeAg).^{8,17}

During the 23 years from 1982 to 2004, a multi-center cross-sectional study was conducted throughout Japan on 301 patients with acute hepatitis B. We examined the influence of genotypes/subgenotypes on their fulminant or chronic outcome. Furthermore, the influence of G1896A or A1762T/G1764A on replication of HBV was evaluated in an *in vitro* replication model.

Patients and Methods

Patients With Acute Hepatitis B. During 1982 through 2004, 336 consecutive cases of acute hepatitis B were registered in 16 hospitals throughout Japan. These hospitals were from the following eight areas: Hokkaido (represented by J.-H. K. and S.H.), Tohoku (T.K. and K.S.), Kanto (H.T., Y.A. and K.I.), Koshin (E.T. and S.O.), Tokai (A.O., Y.T., E.O., M.S., R.U., M.M., and S.K.), Kinki (T.O.), Honshu/Shikoku (Y.M., K.H., and M.O.), and Kyushu (H.Y. and H.S.). The diagnosis of acute hepatitis B was contingent on a sudden onset of clinical symptoms of hepatitis and detection of high-titered antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) of IgM class in serum. Patients with initial high-titered anti-HBc ($\geq 90\%$ inhibition by a 1:200 diluted serum) were excluded; they were diagnosed as exacerbation of chronic hepatitis B. Patients with acute hepatitis A, hepatitis C, or human immunodeficiency virus co-infection, and drug-

or alcohol-induced acute hepatitis also were excluded; hepatitis D virus infection was not examined because of its extreme rarity in Japan.¹⁸ Most of them were followed for clinical outcomes until the disappearance of hepatitis B surface antigen (HBsAg) during 24 weeks or longer after the presentation. The criteria of fulminant hepatitis are based on the report by Trey et al.,¹⁹ with a slight modification in 1981 (Inuyama symposium, Aichi, Japan): coma of grade II or higher and prothrombin time less than 40% developing within 8 weeks after the onset. Serum samples were collected at the presentation and had been stored at -80°C . HBV genotypes, HBV DNA, and HBeAg were determined, and clinical outcomes of acute hepatitis were analyzed. The study protocol conformed to the 1975 Declaration of Helsinki, and was approved by the Ethics Committees of the institutions. Every patient gave an informed consent for this study.

Serological Markers of HBV Infection. HBsAg was determined by hemagglutination (MyCell; Institute of Immunology Co., Ltd., Tokyo, Japan) or enzyme immunoassay (EIA) (AxSYM; Abbott Japan, Tokyo, Japan), and HBeAg by enzyme-linked immunosorbent assay (F-HBe; Kokusai Diagnostic, Kobe, Japan) or chemiluminescent EIA (Fujirebio Inc., Tokyo, Japan). Anti-HBc of IgM and IgG classes were determined by radioimmunoassay (Abbott Japan).

Genotypes and Subgenotypes of HBV. The six major HBV genotypes (A-F) were determined serologically by EIA using commercial kits (HBV GENOTYPE EIA; Institute of Immunology). The method depends on the combination of epitopes on preS2-region products detected by monoclonal antibodies, which is specific for each of them.²⁰ HBV/G was determined by a slight modification of the polymerase chain reaction (PCR) with specific primers.²¹

Subgenotypes of HBV/A designated Ae prevalent in Europe and Aa frequent in Africa as well as Asia,⁹ which corresponds to subgroup A' originally reported by Bowyer et al.,²² were determined by PCR restriction fragment length polymorphism (RFLP) involving nucleotide conversions in an immediate upstream of the precore region that are specific for each of them.^{16,23} HBV/Bj (Japanese type) lacking the recombination with C over the precore region and the core gene and Ba (Asian type) with the recombination were determined by its absence or presence on HBV DNA sequences, as well as RFLP based on specific nucleotide substitutions, after the methods described previously.^{15,24}

Subgenotypes of HBV/C, Cs (Southeast Asian type) found only in Southeast Asia, including Vietnam, Myanmar, Thailand, Laos, Bangladesh, Hong Kong, and Southern China, and Ce (East Asian type), found in Far