

わが国における肝炎対策事業の現状と今後の展開

八橋 弘*
やつはし ひろし

- 平成 19 年 1 月、都道府県における肝炎検査後肝疾患診療体制に関するガイドラインが作成された。
- 都道府県ごとに肝炎診療協議会を設置し、その会で具体的な肝炎肝疾患対策を検討する。
- これからの肝疾患診療体制では、かかりつけ医と肝疾患専門医療機関との医療連携が重要である。
- 肝疾患専門医療機関は、2 次医療圏に 1 か所以上、施設選定を行う。
- 肝疾患診療連携拠点病院は、各都道府県につき原則 1 か所、施設選定を行う。

Key Words 肝炎診療協議会、肝疾患専門医療機関、肝疾患診療連携拠点病院、かかりつけ医、医療連携

□ 国としての肝炎対策の動き

国または地方公共団体は、従来から肝炎対策の一環として、検査体制の充実、治療法の研究開発、国民に対する普及啓発・相談指導の充実などのさまざまな対策に取り組んできた。平成 14 年からは、「C 型肝炎等緊急総合対策」が開始され、節目、節目外の肝炎検診など、それなりの成果を上げてきたものの、残された課題も少なくないことから、平成 17 年 3 月には、厚生労働省内に「C 型肝炎対策等に関する専門家会議」が設置された。その会議は 7 回開催され、そこで行われた議論を集約した報告書「C 型肝炎対策等の一層の推進について」が、同年 8 月にとりまとめられた。さらに、その報告書に記載された提言、対策を実行に移すために、平成 18 年度には感染症対策特別促進事業の一環として各都道府県に肝炎診療協議会を設置することが決定した。また同じく全国 C 型肝炎診療懇談会が 3 回開催され、平成 19 年 1 月 26 日には、その報告書として「都道府県における肝炎検査後肝疾患診療体制に関するガイドライン」が作成された。

そのガイドラインの中には下記の事柄が明記されている。

各都道府県は、医師会、肝炎に関する専門医、関係市区町村や保健所などの関係者によって構成される肝炎診療協議会を設置する。同協議会では、各都道府県などの

*国立病院機構長崎医療センター

実情に応じて、

- ① 要診療者に対する保健指導
- ② かかりつけ医と専門医療機関の連携
- ③ 高度専門的ないし集学的な治療を提供可能な医療機関の確保
- ④ 受診状況や治療状況などの把握
- ⑤ 医療機関情報の収集と提供
- ⑥ 人材の育成などについて必要な検討を行うとともに関係者との連絡・調整を図ること。

なお、肝疾患の診療体制については、B 型肝炎ウイルス由来の肝疾患と C 型肝炎ウイルス由来の肝疾患の間で本質的な相違はないことから、B 型肝炎ウイルス由来の肝疾患の診療においても C 型肝炎と同等に扱うことになった。

□ これからの肝疾患診療体制

——かかりつけ医と

肝疾患専門医療機関との医療連携

平成 19 年度中には、各都道府県に設置された肝炎診療協議会が具体的な活動を開始する。国または地方公共団体が推奨する肝疾患診療体制の中でもっとも重要なポイントは、かかりつけ医と肝疾患専門医療機関との連携にある（図 1）。

筆者が日々の日常診療の中で実感している現在のわが国の肝疾患診療の問題点と実情を下記に箇条書きにする。

- ① 肝疾患は自覚症状がないにもかかわらず、最終的には肝硬変、肝癌を合併することが

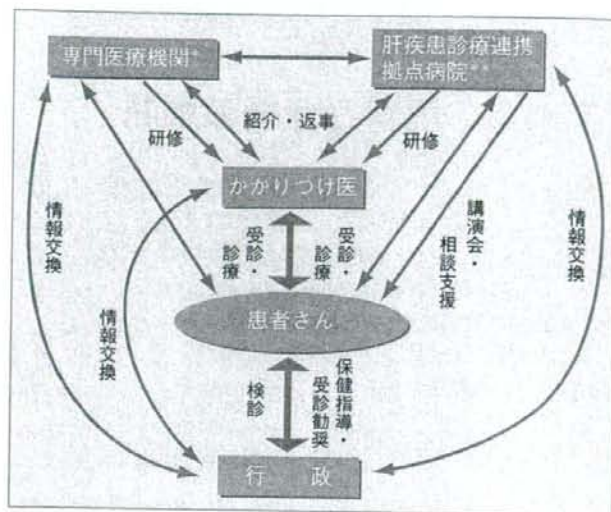


図1 都道府県における肝疾患診療ネットワーク (2007年から)

＊専門医療施設

- ① 専門的な知識を持つ医師による診断と治療方針の決定。
- ② インターフェロンなどの抗ウイルス療法が可能。
- ③ 超音波検査などによる肝癌の診断。

＊＊肝疾患診療連携拠点病院

- ① 上記「専門的な医療が行える医療機関」の条件を満たす。
- ② 肝癌の確定診断・治療方針の決定および集学的治療が可能。
- ③ 肝疾患に関する相談支援業務を行う。

ある。

- ② 肝疾患の診断法と治療法は毎年急速に進歩しているも専門医でないとその全容の理解は困難である。
- ③ わが国にはC型肝炎感染者200万人、B型肝炎感染者150万人、合わせて350万人存在する。
- ④ それに比して日本肝臓学会認定の肝臓専門医数は、平成19年10月末の時点で3695人と少ない(1専門医あたり1000人の肝炎患者)。
- ⑤ 現在、肝疾患の多くは適切な診断と治療によって完治ないしコントロールが可能な疾患となりつつある。

上記のような日本の医療状況の中で、肝疾患患者が理想的な医療を享受するためには、かかりつけ医と肝疾患専門医療機関が密な医療連携を行うことが必要である。肝疾患患者は、普段の診療、投薬などはかかりつけ医が行い、病状の正確な診断、治療方針決定などは専門医療機関で行う。病状が安定している場合でも1年に1回は専門医療機関に診察を依頼し、病態や治療方針を確認することが望ましい。

□ 肝疾患専門医療機関に求められるもの

「都道府県における肝炎検査後肝疾患診療体制

に関するガイドライン」によると、肝疾患専門医療機関においては、少なくとも

- ① 専門的な知識を持つ医師による診断(活動度および病期を含む)と治療方針の決定
- ② インターフェロンなどの抗ウイルス療法
- ③ 肝癌の高危険群の同定と早期診断

の3つの要件を満たすことが求められている。この3条件以外にも肝疾患専門医療機関は、当然、肝癌の治療にも対応できる医療機関であるべきであり、また学会などの診療ガイドラインに準ずる標準的治療を行っていること、肝疾患についてセカンドオピニオンを提示する機能を持つか施設間連携によって対応できる体制を有すること、かかりつけ医など地域の医療機関への診療支援などの体制を有すること、可能な限り要診療者の追跡調査に協力することが求められている。肝疾患専門医療機関は、各都道府県の肝炎診療協議会において、2次医療圏に1ヵ所以上施設の選定を行うこととなっている。

なお、長崎県においては県内の主要な医療機関を対象として、肝疾患専門医療機関の選定を希望するか否か確認したうえで下記の項目に関して実績調査を行った。

- ① 日本肝臓学会認定医氏名
- ② 日本消化器学会認定医氏名
- ③ 過去2年間の肝生検の数

- ④ 過去2年間のインターフェロンの治療症例数
- ⑤ 過去2年間の新規の肝癌と診断した症例数

それらの調査結果をもとに長崎県肝炎診療協議会において協議を行い、肝疾患専門医療機関としての資格条件を明確にし、地域の医療状況を考慮したうえで、2007年10月には長崎県における肝疾患専門医療機関の選定を行った。

□ 肝疾患診療連携拠点病院の機能

肝疾患診療連携拠点病院とは、上記のような肝疾患に関する専門医療機関の条件を満たし、かつ肝癌に対する集学的治療を行うことのできる医療機関のうち、都道府県の中で下記のような肝疾患の診療ネットワークの中心的な役割を果たすことが求められる。

- ① 肝疾患診療にかかわる一般的な医療情報の提供
- ② 都道府県内の肝疾患に関する専門医療機関などに関する情報の収集や紹介
- ③ 医療従事者や地域住民を対象とした研修会や講演会の開催や肝疾患に関する相談支援に関する業務
- ④ 肝疾患に関する専門医療機関と協議の場の設定

肝炎診療協議会において協議を行い、各都道府県につき原則1カ所、肝疾患診療連携拠点病院を選定することとなっている。

最後に

本原稿を執筆した2007年10月の時点で、国は肝炎肝疾患患者の医療費負担補助に関して具体的な検討を開始し2008年以後の実施に向けて動きだしている。この案件に対しても今後は、各都道府県に設置された肝炎診療協議会が中心となって具体的な方策を実行するものと予想される。

これからの肝疾患診療では、ひとりで診療、治療を行うのではなく、さまざまなレベルでの医療連携、チームワーク医療を展開することが求められている。個々の医療従事者は、自分に求められている役割、機能を十分に理解し自覚したうえで、相互の情報を共有しながら、国民病とも言える肝炎、肝疾患対策に取り組まなければならない。

核酸アナログ時代のIFN治療の適応

長岡進矢* 矢野公士*
阿比留正剛* 八橋弘*

索引用語：B型肝炎，核酸アナログ，インターフェロン，ペグインターフェロン，併用療法

1 はじめに

2000年以降わが国でもB型肝炎に対して核酸アナログが使用可能となり、多くのB型肝炎患者の病状制御が可能となった。核酸アナログ製剤治療の最大の問題である薬剤耐性に関しても、エンテカビルの登場によりNaïve症例における耐性出現は極めて稀となり¹⁾、ラミブジン耐性症例に対しては、アデフォビルとの併用により、安定した治療効果が持続するようになった²⁾。しかし、これらの薬剤には明確な中止基準がまだ存在せず、また中止後の再燃が多いため、大半の症例は長期投与を余儀なくされている。

一方、インターフェロン(以下：IFN)は、数年前まで1カ月間の短期投与しか認められておらず、その治療効果は不十分であった。しかし、IFNは核酸アナログと違い投与期間が明確で薬剤耐性もなく、6カ月投与で20～30%の症例で持続的効果が期待できる。また、B型肝炎に対するペグIFN(以下：PEG-IFN)は、すでに海外では使用されており、

その有効性はこれまでに多く報告されている³⁻⁶⁾。本稿では、B型肝炎に対するこれまでの通常型IFN、PEG-IFNの治療成績および、核酸アナログとIFNの併用療法、sequential therapyに関して概説し、核酸アナログ時代のIFN治療の適応に関して記述する。

2 通常型IFNの治療成績

HBe抗原陽性B型肝炎に対するIFN治療に関しては、1993年にWongらが報告した15のrandomized control trial(RCT)に関するmeta-analysisにより、その有効性が確認されている⁷⁾(図1)。わが国におけるIFN6カ月投与の治療成績に関する報告では、ALT正常化、HBe抗原陰性化を基準にすると、20～30%の症例で効果があったと報告されている^{8,9)}。HBe抗原陰性B型肝炎に対するIFN治療に関しても、過去4つのRCTの結果で無治療群と比較し、IFN治療群でALTの正常化、HBV-DNAの消失を多く認めたが、治療終了後の再燃率が高く、長期的な効果として

Shinya NAGAOKA et al: Indication of IFN therapy for chronic hepatitis B in the era of nucleoside analogues

*国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター [〒856-8562 長崎県大村市久原2丁目1001-1]

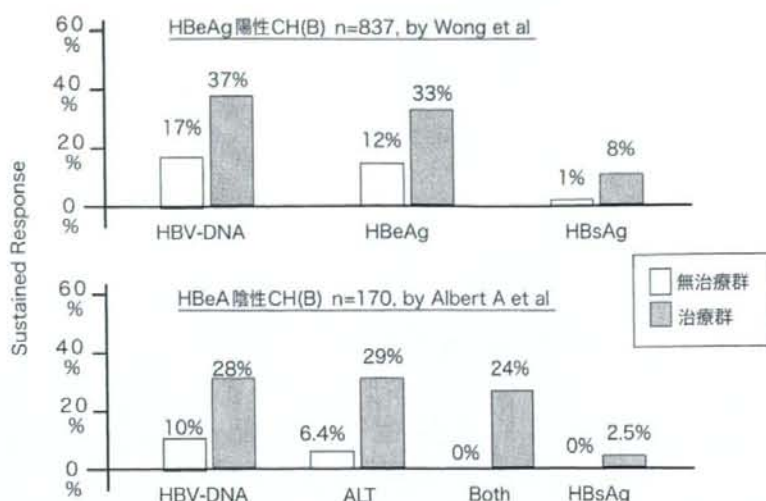


図1 B型慢性肝炎IFN治療効果, 無治療例との比較

表1 B型慢性肝炎に対するPEG-IFN治療の主なstudy³⁻⁶⁾

著者	Cooksley et al ³⁾	Lau et al ⁴⁾	Mercellin et al ⁵⁾	Janssen et al ⁶⁾
症例数(人)	194	814	181	307
HBeAg	(+)	(+)	(-)	(+)
治療群	Peg IFN- α 2a /r-IFN- α 2a	Peg IFN- α 2a/ LAM/combrination	Peg IFN- α 2a/ LAM/combrination	Peg IFN- α 2b/ Peg IFN- α 2b and LAM
投与期間(週)	24	48	48	52
アジア人(%)	99/94	87/85/87	60/61/62	21/18
平均年齢(歳)	30.6/31.1	32.5/31.6/31.7	40/40/41	36/34
平均HBV-DNA (log copies/mL)	9.31/9.29	9.9/10.1/10.1	7.1/7.2/7.4	9.1/9.1
HBeAg SC (%)	32/25 *	32/19/27 *	-	29/29
VR (%)	-	-	43/29/44 *	-
HBsAg SC (%)	NA	3/0/3 *	2.8/0/1.7 *	5/7
YMDD変異出現(%)	-	-/27/4 *	-/18/1 *	-/11

SC: seroconversion, VR: Virologic response (HBeAg陽性例のVRはstudy毎に基準が異なるため省略)

NA: Data not available *: 有意差あり

は15~25%にとどまると推計されている¹⁰⁾(図1)。

3 PEG-IFNの治療成績

B型肝炎に対するPEG-IFNの主な治療成績を示す(表1)。HBe抗原陽性症例への

PEG-IFN α 2aと従来型IFN α 2aの24週間投与の比較では、治療終了後24週でのHBe抗原SC率はPEG群が有意に高かったと報告されている³⁾。PEG-IFN α 2aの大規模試験は、PEG単独、LMV単独、両者併用の3群においてHBe抗原陽性、陰性例に対する48週間

年齢 (中央値): 35歳, 21例 (男性: 14例, 女性: 7例)
 肝線維化Stage (F1: 7例, F2: 9例, F3: 5例)
 ALT値 (中央値): 396 IU/L, HBV-DNA量 (中央値): 8.0 log copies/ml
 HBV genotype: 全例C

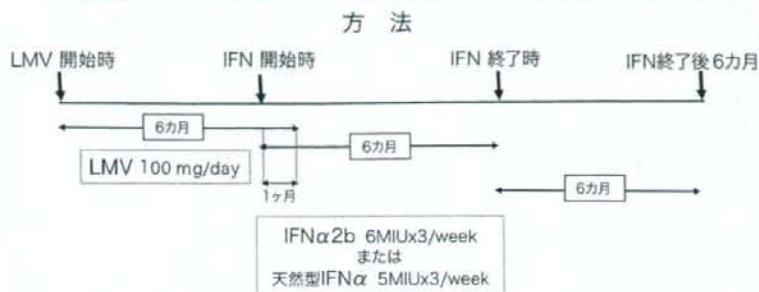


図2 HBe抗原陽性B型慢性肝炎に対するラミブジンIFN sequential therapyの検討(n=21)

投与で行われた^{4,5)}。HBe抗原陽性例のstudyはアジア人が大多数を占め、HBV genotypeはB:30%, C:60%で、seroconversion (SC)率はPEG単独および併用群がLMV単独群と比較し有意に高かった⁴⁾(表1)。HBe抗原陰性例のstudyでは、PEG単独群のALT正常化は59%、HBV-DNA量20,000 copies/ml未満は43%で、LMV単独と比較し有意に高かった、などと報告されている⁵⁾。PEG-IFN a 2bでは、HBe抗原陽性例に対する大規模試験の報告がある。PEG単独とLMV併用2群での52週投与における比較では、SC率、ALT正常化率は両群間で有意差はみられなかった、HBV genotypeの違いによりHBe抗原陰性化に有意差がみられた(A:47%, B:44%, C:28%, D:25%)などと報告されている⁶⁾。

4 核酸アナログとIFNの併用療法

核酸アナログの強力な抗ウイルス効果と、IFNの免疫調整作用を組み合わせることでより高い治療効果を期待し両者の併用療法が試みられた。しかし、この両者併用ではIFN

単独治療と比較して有意な治療効果の向上は得られなかった^{11,12)}。前述のPEG-IFNの大規模試験でもPEG-IFN/LMV併用の群が設定されていたが、IFN単独群と比較して治療効果に有意差はみられなかった^{4,5)}。一方、アデフォビルとPEG-IFNの併用に関しては、24例中4例(17%)にHBs SCを認め、肝細胞中のcccDNAが低下したと報告されている¹³⁾。これまで、併用療法の効果に関しては否定的な見方が多かったが、核酸アナログの種類の違いにより併用療法にも有効性が期待できることが示唆された。

5 核酸アナログとIFNのsequential therapy

2001年にSerfatyらはラミブジンをIFNに先行投与したsequential therapyに関して報告した。IFN治療が無効であった14症例に対して、sequential therapyを施行し、HBe抗原陽性11例中5例(45%)にHBe SCを認め、全14例中3例にHBs SCを認めたと報告している¹⁴⁾。HBVジェノタイプの内訳はA

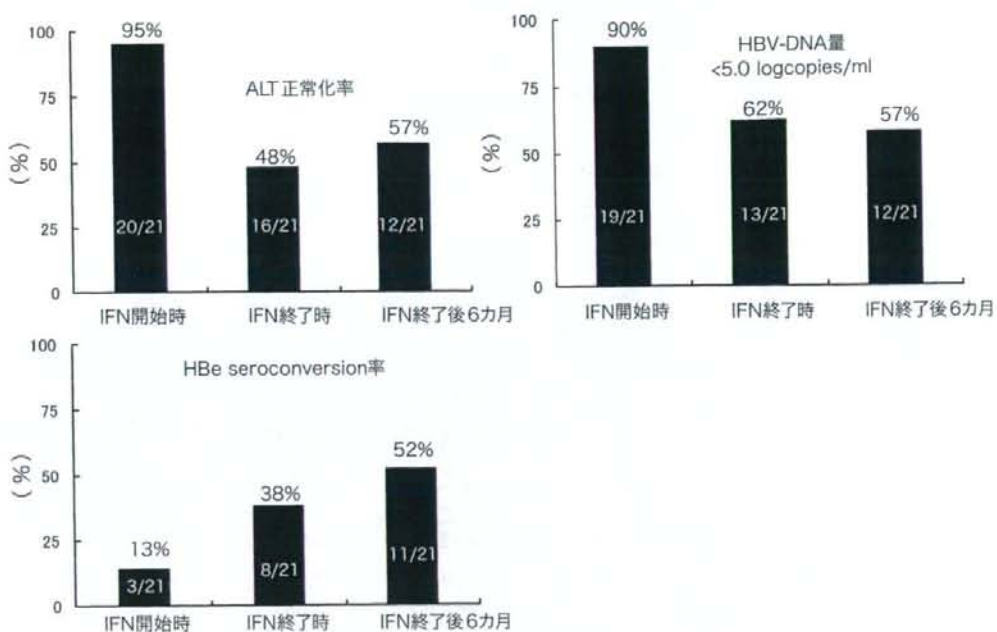


図3 ラミブジン-IFN sequential therapy の治療成績 (n=21)

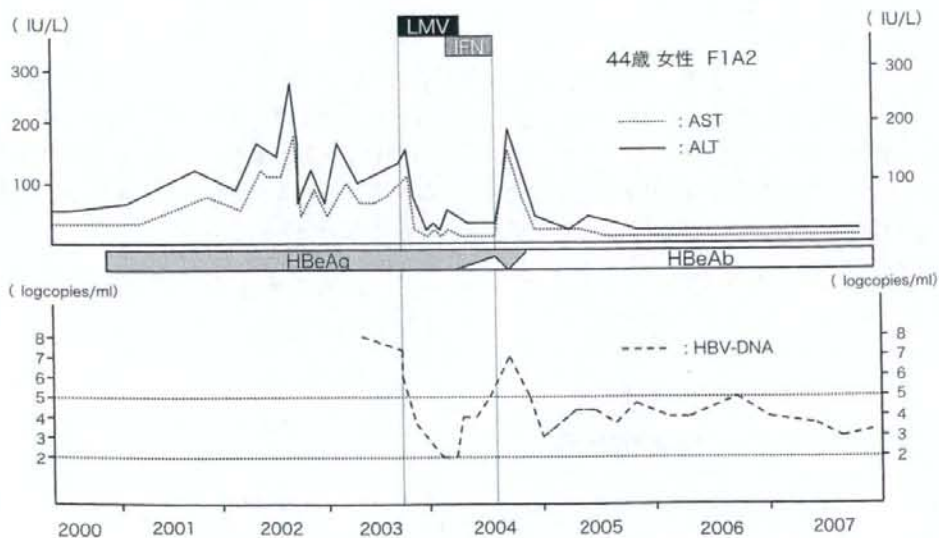


図4 ラミブジン-IFN sequential therapy が著効した B 型慢性肝炎の 1 例

が6例, Cが1例, Dが4例, Gが3例とIFNに反応しやすいと考えられる症例が多く含まれている。

当院でも、ほぼ同様のプロトコルを用いて、HBe抗原陽性慢性肝炎症例に対してsequential therapyの追試を行った(図2)。IFN終了24週後時点でALT正常(<40 IU/L)かつHBe SCかつHBV-DNA:<5.0 logcopies/mlを満たす症例を著効と定義した。その結果、全例genotype CのHBe抗原陽性慢性肝炎21例中11例(52%)が著効と判定された(図3)。そのうち治療終了後2年以内に2例は再燃するも、残り9例(43%)ではその治療効果が持続している。

ラミブジン-IFN sequential therapyが著効した1例を提示する。症例は44歳女性、線維化ステージはF1、治療前のALT値は137 IU/L、HBV-DNA量は7.4 logcopies/mlであった。ラミブジン開始後HBV-DNAはすみやかに低下した。IFN終了後ALT:200 IU/L程度のflare upを認めたが、その後SCを認め、治療終了後約4年経過するも、肝炎の再燃はみられず、HBV-DNA量も5 log未満で推移している(図4)。なお、治療中にビリルビンの上昇を伴う肝炎の再燃を、ラミブジンの終了後に1例、IFNの終了後に1例、あわせて2例経験しており、これらの症例はともに線維化ステージはF3であった。この2例では薬剤の変更ないし中止後、持続的ウイルス増殖抑制から離脱となり、さらに強い免疫反応が加わって肝炎が悪化したものと考えられる。2例ともラミブジンの再投与により、すみやかに自覚症状および検査データともに改善したが、このように線維化が進行した症例ではsequential therapyを行うのではなく、はじめから核酸アナログの長期投与での確実な肝炎沈静化を目指すべきであったと考えてい

る。

その後も他施設から異なるプロトコルでsequential therapyの成績が報告されている¹⁵⁻²⁰⁾が、それぞれ効果判定基準が異なるため、どのプロトコルが最適なのかは明らかではない。また比較的多数例のRCT²¹⁻²³⁾ではラミブジン単独をコントロールに設定しているが、IFN単独治療をコントロールとしたものは報告されていない。今後PEG-IFNと他の核酸アナログとの併用療法なども含め、sequential therapyに関するRCTが報告されることを期待したい。

6 おわりに

2008年4月から、B型およびC型肝炎に対するIFN治療費の公的助成が開始される。また、これまでC型肝炎のみにしか認められていなかったIFN α 製剤の在宅自己注射も、4月からB型肝炎にも認められるようになり月1回の外来通院でのIFN自己注射が可能となる。いろいろな制約で治療をあきらめかけていたB型肝炎患者にとって、これらの新しい制度は大きな福音となるであろう。わが国のB型肝炎治療標準化ガイドラインでは35歳という年齢を境界として、それ未満であればIFN治療、それ以上であれば核酸アナログ長期投与が推奨されている²⁴⁾。

核酸アナログ投与が主流となっている今日、PEG-IFNの治験も国内で進行中であり、今後、前述の自己注射も含めB型肝炎に対するIFN治療の適応とその可能性は広がってゆくものと考えられる。

文 献

- 1) Colonna RJ, Rose RE, Baldick CJ et al: Entecavir resistance is rare in nucleoside naïve patients with hepatitis B. *Hepatology* 44 (6): 1656-1665, 2006

- 2) Rapti DE, Dimou E, Mitsiula P et al : Adding-on versus switching-to adefovir therapy in lamivudine-resistant HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 45 (2) : 307-313, 2007
- 3) Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD et al : Peginterferon alpha-2a (40 kDa) : an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 10 : 298-305, 2003
- 4) Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX et al : Peginterferon alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 352 : 2682-2695, 2005
- 5) Marcellin P, Lau GK, Bonino F et al : Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 351 : 1206-1217, 2004
- 6) Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H et al : Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet* 365 : 123-129, 2005
- 7) Wong DK, Yim C, Naylor CD et al : Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen - positive chronic hepatitis B : A meta-analysis. *Ann Intern Med* 119 : 312-323, 1993
- 8) 金井弘一, 他 : B型慢性肝炎に対するIFN24週間投与. *肝臓* 39 : 62-67, 1998
- 9) Suzuki F, Arase Y, Akuta N et al : Efficacy of 6-month interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection in Japan. *J Gastroenterol* 39 : 969-974, 2004
- 10) Lok AS, McMahon BJ : Chronic hepatitis B. *Hepatology* 45 (2) : 507-539, 2007
- 11) Mutimer D, Naoumov N, Honkoop P et al : Combination alpha-interferon and lamivudine therapy for alpha-interferon-resistant chronic hepatitis B infection: results of a pilot study. *J Hepatol* 28 (6) : 923-923, 1998
- 12) Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J et al : Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut* 46 (4) : 562-568, 2000
- 13) Wursthorn K, Lutgehetmann M, Dandri M et al : Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 44 (3) : 675-684, 2006
- 14) Serfaty L, Thabut D, Zoulim F et al : Sequential treatment with lamivudine and interferon monotherapies in patients with chronic hepatitis B not responding to interferon alone: results of a pilot study. *Hepatology* 34 (3) : 573-577, 2001
- 15) Pontesilli O, van Nunen AB, van Riel D et al : Hepatitis B virus-specific T cell response in chronic hepatitis B patients treated with lamivudine and interferon-alpha. *Liver international* 24 (4) : 308-315, 2004
- 16) Schiefke I, Klecker C, Maier M et al : Sequential combination therapy of HBe antigen-negative/virus-DNA-positive chronic hepatitis B with famciclovir or lamivudine and interferon-alpha-2a. *Liver international* 24 (2) : 98-104, 2004
- 17) Marrone A, Zampino R, Prtella G et al : Three-phase sequential combined treatment with lamivudine and interferon in young patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepatitis* 12 (2) : 186-191, 2005
- 18) Enomoto M, Tomori A, Kohmoto, MT et al : Lamivudine and IFN-beta sequential therapy in HBe antigen-positive patients with chronic hepatitis B virus genotype C infection. *J Interferon Cytokine Res* 27 (3) : 201-207, 2007
- 19) Niro GA, Fontana R, Gioffreda D et al : Sequential treatment with lamivudine and alpha-interferon in anti-HBe-positive chronic hepatitis B patients : a pilot study. *Dig Liv Dis* 39 (9) : 857-863, 2007
- 20) Vassiliadis T, Tziomalos K, Patsiaoura K et al : Lamivudine/pegylated interferon alfa-2b sequential combination therapy compared with lamivudine monotherapy in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 22 (10) : 1582-1588, 2007
- 21) Hasan F, al-Khalidi J, Asker H et al : Treatment of chronic hepatitis B with the sequential administration of interferon and lamivudine. *Hepatogastroenterology* 50 (54) : 2040-2042, 2003
- 22) Sarin SK, Kumar M, Kumar R et al : Higher efficacy of sequential therapy with interferon-alpha and lamivudine combination compared to lamivudine monotherapy in HBeAg positive chronic hepatitis B patients. *Am J Gastroenterol* 100 (11) : 2463-2471, 2005
- 23) Shi M, Wang RS, Zhang H et al : Sequential treatment with lamivudine and interferon-alpha monotherapies in hepatitis B e antigen-negative

Chinese patients and its suppression of lamivudine-resistant mutations. J Antimicrob Chemother 58 (5) : 103-105, 2006

- 24) 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。厚

生労働省科学研究費補充金 肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）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～18年度総括・分担研究報告書（主任研究者）熊田博光，2007，pp3-18

*

*

*

トピックス

IV. 病原体別にみた院内感染と対策

6. 肝炎ウイルス

八橋 弘 矢野 公士 阿比留正剛 石橋 大海

要 旨

5種類ある肝炎ウイルスの中で、特に院内感染として問題となるのは、血液を介して感染するB型肝炎とC型肝炎である。B型肝炎の予防法としては、HBワクチンとHBIGがあり、それぞれの感染防御の仕組みを十分理解した上で対処する。医療従事者は事前にHBワクチンを投与し、HBs抗体が陽転化したか、個々の事例で把握する必要がある。一方、C型肝炎の予防法として確立しているものはないものの、仮に急性C型肝炎を発症した場合には、早期のインターフェロン治療で高率に慢性化を阻止できる。

〔日内会誌 97：2704～2709, 2008〕

Key words：B型肝炎, C型肝炎, 院内感染, HBワクチン

はじめに

肝炎ウイルスとしては、A型、B型、C型、D型、E型の5種類が現在までに同定されている。1995年にG型肝炎ウイルス、1997年にはわが国からTTV (transfusion transmitted virus) などが新たな肝炎ウイルス候補として報告されたが、ウイルスの増殖部位や、その病原性に関して不明な点があり、現在ではnon-hepatitis virusとして位置づけられている。

5種類の肝炎ウイルスの中でも、B型がDNA (deoxyribonucleic acid) ウイルスで、その他の肝炎ウイルスはRNA (ribonucleic acid) ウイルスである。A型とE型肝炎は感染経路が経口感染であり、急性肝炎を発症するも一過性に経過し慢性化することはない。一方、B型、C型、D

型肝炎は血液を介して感染することから、針刺し事故など院内感染の原因として医療従事者にとっては重要な感染症であり、その正確な知識と予防法について確実に習得する必要がある。本稿では、B型、C型、およびD型肝炎感染について概説するとともに、感染予防法について具体的に紹介する。

1. B型肝炎

1) B型肝炎とは

B型肝炎は、その感染様式により、一過性感染と持続感染 (HBV (hepatitis B virus) キャリア) の2つに分かれる。HBVキャリアとは、HBs抗原が6カ月間以上持続陽性例をいう。一過性感染例では急性肝炎として発症し、1～2%の例では劇症化して死亡する例がみられるが、残りの大多数の例では一過性感染として経過して治療し終生免疫が成立する。これに反し、HBVキャリアは、長期的には慢性肝炎、肝硬変、肝

やつはし ひろし、 やの こうじ、 あびる
せいこう、 いしばし、 ひろみ：国立病院機構長崎医療
センター臨床研究センター

癌への進展の可能性を有する重大な感染となる。

HBVキャリアの感染経路は、垂直感染と水平感染に大別される。垂直感染はいわゆる母子感染であり、HBe抗原陽性の母親からの出産時に感染が成立し、その約90%がキャリア化すると言われている^{1,2)}。一方、免疫応答が不十分な乳幼児期のHBV感染例(水平感染)では、容易にHBVキャリア化する。HBVキャリア化の成立年齢に関する調査では、3歳以下では約80%、4歳から10歳までの感染では約30%がキャリア化すると報告されている³⁾。

成人水平感染例、いわゆる成人期のB型急性肝炎例でのキャリア化率は、従来、わが国では腎不全や免疫不全などの特殊な状況を除き稀であり1%以下と考えられてきた。しかし近年、HBV感染のグローバル化やHBV感染経路の多様化を反映して、2000年以後、本来わが国には存在しない欧米型のB型急性肝炎、すなわちHBV遺伝子型がAeタイプのB型急性発生事例が急増し問題となっている⁴⁾。国内で感染が成立したHBV遺伝子型AタイプのB型急性肝炎例も、欧米での成人水平感染例でのキャリア化率と同様、約10%が慢性化してキャリア化し、HBV遺伝子型Aタイプの臨床的特徴と考えられるようになった。

世界におけるHBVキャリアの頻度は、欧米では人口の0.1%前後にすぎないのに対し、アジア、アフリカ諸国では3~10%と高率である。わが国のHBVキャリア率は1.0~1.5%の範囲であり、その総数は約130万人程度と推定されている。

2) HBV感染リスクと感染予防対象者

HBV感染予防対象者とは、今までHBVに暴露されず、今後感染する可能性のある者である。具体的にはHBs抗原陰性、HBs抗体陰性、HBe抗体陰性者が対象となる。したがって、HBV感染のいずれのマーカーが陽性の場合、対象から外してよい。

またB型肝炎ウイルスは、肝細胞で増殖し血液を循環することより、血液が感染源となる。輸血、医療事故による針汚染、性交渉による感染

で高頻度にB型肝炎感染が生じる。よって、これらの汚染源との接触の機会が多い者がHBV感染のハイリスクグループとなる。一般に、HBVキャリアを配偶者とする者、HBVキャリアと同居する者が、最もHBV感染のリスクの高いグループと考えられている。HBe抗原陽性のキャリアの配偶者は、結婚5年以内に90%以上に一過性感染が成立し、HBs抗体が陽性となると報告されている⁵⁾。

次に、医師、看護師、検査技師などの医療従事者が、第2のハイリスクグループである。HBe抗原陽性血液には、HBV-DNA量として5.0 log copies/ml以上の多くのウイルス量が含まれるために、感染力が強く、HBe抗原陽性血液が付着した注射針を介した汚染事故では、約22~31%の確率で感染が成立、肝炎が発症すると報告されている⁶⁾。一方、HBe抗原陰性HBVキャリアでは、通常HBV-DNA量として4.0 log copies/ml以下のウイルス量を示すものが大多数であり、HBe抗原陽性血液に比してウイルス量が少ないため、感染後に肝炎が発症する確率は1~6%、と一般的に低い⁶⁾。最近、B型慢性肝炎の自然経過に関して、HBe抗原陰性にもかかわらずHBV増殖が活発なHBe抗原陰性慢性肝炎(reactivation)という疾患の概念が確立した⁷⁾。このHBe抗原陰性慢性肝炎患者では、肝細胞傷害性の強いHBV遺伝子の変異(precore, core promoter領域)を伴っており、針刺し事故などで本変異ウイルスでの感染が成立した場合には、重症化、劇症化の確率が5~6倍高いことが確認されている⁸⁾。入院加療を必要とするHBe抗原陰性のB型慢性肝炎、肝硬変、肝癌患者の多くは、高頻度にprecore, core promoter領域の遺伝子変異をともなっている。また抗ウイルス薬を内服していない本疾患患者ではウイルス量が多いことから針刺し事故での感染リスクも高く、かつ重症化劇症化しやすいと考えられ、最大限の注意を要する。現在では、HBs抗原陽性患者の血液での針刺し事故後は、HBe抗原の有無に関係なく同様の対応をおこ

なう。

第3のハイリスクグループは、消防士、救命救急職員、警察官など、職業上、感染血液に暴露される可能性の高い職種および長期に集団生活をおこなう施設入所者などである。

3) HBV感染予防の実際

HBV感染予防は、受動免疫によるHB免疫グロブリン(HBIG)の投与と能動免疫によるHBワクチンの投与のふたつからなる。HBIG、HBワクチンの使い分けは、期待する予防効果出現までの時間による。HBVの感染の機会を受けた場合は速やかHBIGを投与し、HBVが肝臓に着床し増殖する前にHBIGに含まれるHBs抗体によってHBVを中和排除させる。HBIGは、HBV感染に暴露後72時間まで有効と記載されているも、24時間以内しかも可能な限り早期に投与した方が感染防御効果は高い。ただしHBIGは受動免疫法であるため、その効果は一過性であり、数カ月しか持続しない。一方、HBワクチンは、個体の免疫応答を刺激し、HBs抗体を産生させ能動免疫状態とし、HBウイルス感染を防御する方法である。HBワクチンにより得られたHBs抗体は、通常、3、4年間は陽性となる。仮にHBs抗体が陰性化してもワクチンによる能動免疫は、少なくとも10年から15年間、持続すると考えられている。

HBワクチンは成人においては、遺伝子組替えワクチン1バイアル0.5ml(10 μ g)を筋肉内または皮下へ接種する。10歳以下の小児には、新生児を含め半量の0.25mlを投与する。筋肉内接種の方が皮下接種に比してよりよいHBs抗体価が得られている。通常は、初回、1カ月後、6カ月後の3回投与をおこなう。2回のワクチン接種のみで接種者の約50~60%にHBs抗体の陽転化が認められるも、概してその抗体価は低く、3回目接種のbooster効果によりより高いHBs抗体価が得られる⁹⁾。HBs抗体価と感染防御能との関係は厳密には確認されていないが、リンパ球に対して十分な抗原刺激を与える観点からも、3回目のHB

ワクチン接種は省略できないものと考えられる。

HBワクチンの効果は、3回接種後の1カ月目、つまり初回接種より7カ月目のHBs抗体価で判定する。HBs抗体10mIU/ml以上を示した場合を陽性と判定する。現在、市販されている遺伝子組替えワクチンを3回投与した場合、接種者の91~96%においてHBs抗体の陽転化が認められる。性差、年齢などの背景因子によりHBワクチンの反応性を検討すると、HBs抗体陽転率、HBs抗体価とも、男性よりも女性、高齢者よりも若年者において良好である⁹⁾。

3回のHBワクチン投与後もHBs抗体が10mIU/ml未満の者では追加接種を試みる。3回接種後の抗体価が5mIU/ml以上の値を示した例では、HBワクチンにリンパ球が反応していると考えられ、4回目のHBワクチン接種で高力価の抗体価を得ることが多いも、それ以下の抗体価を示した場合には追加接種をおこなってもHBs抗体の陽転化は得られにくいことが多い。4回目のHBワクチンの追加接種をおこなった場合に、10mIU/ml以上のHBs抗体価獲得の確率は30%前後である。

4) HBワクチンの副作用

HBワクチンの臨床試験の際の副作用調査によると、接種部位の局所の反応の主なものとして、疼痛2.3%、掻痒感2.6%、全身反応として倦怠感5.1%、その他の副作用として、めまい、ふらつき0.1%、吐き気、嘔吐0.2%、腕がだるい0.2%、腕が上がらない0.1%と報告されている。いずれも一過性で重篤なものは報告されていない。一時期、HBワクチン投与と脱毛、HBワクチン投与と多発性硬化症との関係が議論されたが、現在では両者間の因果関係はともに否定されている。

5) HBワクチンの追加接種について

欧米では、HBワクチンを3回接種し抗体陽性を確認できた者では、HBs抗体が陰性化しても15年以上にわたって感染防除能は持続すると考えられ、HBワクチンの追加接種も、そのための血液検査も必要ないとする意見が大勢を占めている^{6,10)}。2005年、1,212例の小児、446例の成人

でのHBワクチン投与後10年以上の経過観察例についてのイタリアからの報告では、うち小児で36%、成人例で11%にHBs抗体価が10mIU/ml未満まで低下するも、HBc抗体の陽転化は小児で1例、成人例で4例に留まり、HBs抗原陽性化、HBV-DNA陽性化は1例も認められなかったという。またHBs抗体陰性化例においても、1回の追加ワクチン投与で良好なHBs抗体が獲得されることから10年以上にわたって、HBワクチンの感染防御能は持続すると報告している¹¹⁾。

一方、わが国では、HBs抗体として10mIU/ml以上の抗体価を常に保つ必要があり、抗体陰性化例では直ちに追加接種が必要であるという意見が多く、世界のコンセンサスとは乖離がみられる。よって医療従事者に対してHBワクチンの追加接種のための血液検査、HBワクチンの追加投与を随時おこなっている医療機関が日本では多い。著者の勤務する病院では、一度HBワクチン投与でHBs抗体の陽転化が得られた職員には、欧米のガイドラインに従って、HBs抗体が陰性化した場合にも原則、追加接種をおこなっていない。むしろ医療現場では、HBワクチン未接種者が種々の事情によりゼロにはならないことが問題であり、日ごろから全職員に対してHBV感染リスクとHBワクチン投与の必要性を十分に理解させ徹底させることが大切である。

2. C型肝炎

1) C型肝炎とは

1989年以後、HCV (hepatitis C virus) 関連抗体系の測定結果により、従来非A非B型肝炎とされていたものの大多数がC型肝炎であることが明らかとなった。わが国の一般血液供血者におけるHCV抗体陽性率は1~2%の範囲であり、わが国には約150万人から200万人のHCVキャリアが存在すると言われている。C型肝炎の感染経路に関して、輸血などの血液を介して感染が成立することは明確となったが、輸血以外の感染経

路に関しては明らかでない。母子感染や性交渉による感染はB型肝炎ほど頻度が高くなく、感染成立に要するウイルス量が血中でB型肝炎ウイルスほど多くないと考えられている。1990年以後、日赤では輸血血液に対してHCV抗体検査を導入し、1998年以後はNAT (核酸増幅検査) という遺伝子検査の二重チェックでHCV汚染血液の混入を防いでいることから、現在ではわが国の輸血後C型肝炎は根絶状態に近い。C型肝炎は、B型肝炎と異なり、どの時期に感染しても、容易に遷延化、慢性化する。C型慢性肝炎は、長期間、極軽度の炎症が持続し、十数年を経過した後次第に急速に活動性が強くなり、50歳前後で肝硬変に、60歳以後に肝癌へと進展する。わが国の肝癌の約70%はC型肝炎ウイルス感染に関連すると考えられている。

2) C型肝炎の予防

C型肝炎の予防法としては、ワクチン開発の研究は進行中であるが、実用化には至っていない。よってHBワクチンのような積極予防対策が存在しないため、感染源との接触をさけて、感染を未然に防ぐことが重視される。しかしながら医療従事者にとって、HCV感染者の血液に汚染された針による針刺し事故は関心の高い問題である。過去の成績によると、針刺し事故によりHCV感染が成立する確率は3%以下であると報告されている。針刺し事故後の予防的インターフェロンの投与は、理論的にも根拠がないが、わが国のかなりの施設において漫然とおこなわれてようである。最も重要なことは、針刺し事故直後に刺入部の血液を搾り出しながら数分間洗浄することである。仮に感染が成立し、C型急性肝炎を発症した場合でも、表に示すように、C型急性肝炎のインターフェロン (IFN) の治療効果は90%の確率で治療が期待できる。

3. D型肝炎

D型肝炎ウイルス (HDV) は、HBウイルスを

表. C型急性肝炎に対するIFN治療成績

報告年	報告者	IFNの種類	治療期間	症例数	著効率 (SVR) %
2001	Jaeckel	IFN α -2b	24W	44	98
2003	Gerlach	各種	23~61W	26	80
2004	Nomura	n- α IFN	4W	15	87
		n- α IFN	24W	2	100
2004	Ohata	n- α IFN	4W	7	29
		n- α IFN	8W	10	90
2005	Santantonio	PegIFN α 2b	24W	16	94
2005	Ogata	各種		71	80
2005	Kamel	PegIFN α	24W	20	80
		PegIFN α +リバビリン	24W	20	85

ヘルパーウイルスとして増殖する特異な肝炎ウイルスである。HDVの増殖にはHBVの補助が必要なため、必ずHDVウイルスキャリアはHBs抗原陽性でなければならない。欧米に比してわが国ではHDVによるD型肝炎は低頻度であり、HBs抗原陽性者の0.6%と報告されている。HDV感染と肝炎の重症化、劇症化との関係が欧米では報告されており、HDV感染の臨床的特徴と考えられている。HDV感染は、HBV感染との共存でしか存在せず、HBVキャリアへの重感染あるいは急性肝炎としてのHBV、HDVの同時感染しかありえない。D型肝炎感染の予防は、ウイルスの感染様式、増殖様式から、HBV感染予防対策に含まれる。

4. HBV, HCV針刺し事故後の対応

医療従事者は肝炎ウイルス感染者の血液に触れることが多いため、あらかじめ、B型肝炎ワクチンを接種し、感染防御に有効な抗体価を獲得しておくべきである。血液暴露事故は、その発生を極力抑えることがまず肝要である。その根底には、感染症の可能性のある患者体液に汚染された器具に限らず、すべての患者は感染性があるかもしれないと考えて対応しておくという標準予防策（スタンダードプリコーション）の認識がきわめて重要である。それでも、その発生を100%なくすことが困難であり、各医療機

関で発生時の対応策を検討しておく必要がある。もっとも多い血液暴露の機会はいわゆる「針刺し」事故である。この場合、HIV(human immunodeficiency virus)で約0.3%、HCVで約3%、HBVで約30%の感染の危険性があるといわれている。感染源患者の病原体陽性ないし陰性にかかわらず、血液または体液に接触した部位（創部もしくは皮膚）は直ちに流水で十分に洗浄する。その際、創部から血液を搾り出すように少なくとも10分間行うことが推奨される。

次に、汚染の元となった患者の感染状態(HBs抗原およびHCV抗体、場合によってはHIV抗原・抗体)を評価する。針がどの患者に使われたかははっきりしない場合(廃棄物の処理中に発生した事故)もしばしば経験されるが、その場合の対応は、感染のリスクに応じて状況により判断するほかない。いずれにしても、事故の事実を記録として残す必要がある。

HBVに対しては、直ちに被災者の免疫状態を確認する。すなわちHBs抗原、HBs抗体を測定し、この時点でHBs抗原陽性であればHBVキャリアと判断し、その後の処置は必要ない。ワクチン既接種者のうち、HBs抗体10mIU/ml以上の反応が得られているワクチン反応者は無処置で差し支えない。ワクチン未接種者、ないしワクチン無反応者に対しては、すみやかに高力価HBs抗体含有免疫グロブリン(HBIG)を1,000~2,000単位筋注し、その後、HBワクチンのシリーズ開

始 (HBIGと同時に、その1カ月後、6カ月後にそれぞれ10 μ g筋注。)によりB型肝炎の発症を防止する必要がある。

HCVに関しては、ウイルス特異的な暴露後の感染予防は存在しない。HCV暴露直後の免疫グロブリンやインターフェロン投与の有効性は示されていないばかりか、薬剤投与に伴う副作用が軽微でないことから行うべきでない。発症した場合にはインターフェロン治療を検討する。

血液暴露事故後はHBV、HCVともに1~2カ月おきに6カ月間は肝機能、ウイルスマーカーを経過観察する。

文 献

- 1) Okada K, et al: e antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *N Engl J Med* 294 (14): 746-749, 1976.
- 2) Beasley RP, et al: The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. *Am J Epidemiol* 105: 94-98, 1977.
- 3) 福田信臣, 他: 乳幼児におけるHBウイルスcarrier成立年齢について. *肝臓* 19: 936-941, 1978.
- 4) Sugauchi F, et al: Spatial and chronological differences in hepatitis B virus genotypes from patients with acute hepatitis B in Japan. *Hepato Res* 36 (2): 107-114, 2006.
- 5) 足立信幸, 他: HBウイルスの家族内感染について—HBe抗原、HBe抗体よりみた配偶者感染について—. *肝臓* 19: 1122-1125, 1978.
- 6) CDC, MMWR, Updated U.S. Public Health Service Guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. June 29, 2001
- 7) 八橋 弘, 他: HBVの自然経過と治療方針について. *日本消化器病学会雑誌* 104 (10): 1450-1458, 2007.
- 8) Aritomi T, et al: Association of mutations in the core promoter and precore region of hepatitis virus with fulminant and severe acute hepatitis in Japan. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 13 (11): 1125-1132, 1998.
- 9) 八橋 弘, 矢野右人: HBワクチン. *総合臨床* 39 (7): 1868-1874, 1990.
- 10) European Consensus Group on Hepatitis B Immunity: Are booster immunizations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet* 355: 561-565, 2000.
- 11) Alessandro RZ, et al: Long-term immunogenicity of hepatitis B vaccination and policy for booster: an Italian multicentre study. *Lancet* 366: 1379-1384, 2005.

HEPATOLOGY

Detection of HBV core promoter and precore mutations helps distinguish flares of chronic hepatitis from acute hepatitis B

Koichiro Kusumoto,* Hiroshi Yatsushashi,[†] Rumiko Nakao,[†] Rumiko Hamada,[†] Mika Fukuda,[†] Yoko Tamada,[†] Naota Taura,[†] Atsumasa Komori,[†] Manabu Daikoku,[†] Keisuke Hamasaki,* Kazuhiko Nakao,* Hiromi Ishibashi,[†] Yuzo Miyakawa[‡] and Katsumi Eguchi*

*First Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, [†]National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, Nagasaki, and [‡]Miyakawa Memorial Research Foundation, Tokyo, Japan

Key words

acute hepatitis, chronic hepatitis, hepatitis B e antigen, hepatitis B surface antigen, hepatitis B virus.

Accepted for publication 28 January 2008.

Correspondence

Professor Hiroshi Yatsushashi, Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, Kubara 2-1001-1 Omura, Nagasaki 856-8562, Japan.
Email: yatsushashi@nmc.hosp.go.jp

Abstract

Background and Aim: Acute exacerbation of chronic hepatitis B has to be distinguished from acute hepatitis, because treatment strategies differ between them.

Methods: Mutations in the core promoter and precore region of hepatitis B virus (HBV) were determined in 36 patients with acute exacerbation of chronic hepatitis B, in whom alanine aminotransferase (ALT) increased above 500 IU/L, as well as the 36 patients with acute hepatitis.

Results: Mutations in the core promoter (A1762T/G1764A) and precore region (G1896A) were more frequent in patients with acute exacerbation of chronic hepatitis than acute hepatitis (81% vs 19%; $P < 0.0001$ and 58% vs 6%; $P < 0.0001$, respectively). Of the 19 patients with mutations in both the core promoter and precore region, 17 (89%) had acute exacerbation of chronic hepatitis. In contrast, among the 32 patients with the wild-type for both the core promoter and precore region, 29 (89%) developed acute hepatitis. By multivariate analysis, the double mutation in the core promoter was predictive of acute exacerbation in chronic hepatitis with the highest odds ratio at 26.4.

Conclusions: In patients with hepatitis B having ALT levels >500 IU/L, mutations in the core promoter and precore region are useful in distinguishing acute exacerbation of chronic from acute HBV infection. Detection of these mutations would be useful for commencing prompt antiviral treatments on patients with acute exacerbation of chronic hepatitis for a better prognosis.

Introduction

There are two clinical entities of acute liver disease induced by hepatitis B virus (HBV).¹ Acute hepatitis is induced by immune responses of hosts for eliminating HBV. Most cases of acute hepatitis clear hepatitis B surface antigen (HBsAg) from serum and resolve infection within 6 months after the onset. Acute exacerbation of hepatitis, by contrast, occurs in individuals chronically infected with HBV. They have been infected perinatally or in an early infancy and are tolerant to HBV. Later in their lives, however, the tolerance to HBV is terminated, and immune responses are elicited in them. As a result, severe hepatitis can develop along with subjective symptoms and abnormalities in liver function tests. It is therefore difficult to distinguish acute hepatitis from acute-on-chronic hepatitis. The antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc) of the IgM class is used to distinguish acute from chronic HBV infection. However, IgM anti-HBc develops in some patients with chronic hepatitis during acute exacerbation, in titers overlapping with those of acute hepatitis.^{2,3} Hence, high-titred anti-HBc can not always differentiate between acute and acute-on-chronic hepatitis B.

HBV is a small, partially double-stranded DNA virus made of approximately 3200 nucleotides (nt). Since its replication involves the reverse transcription of pregenome RNA,⁴ mutations occur more frequently in HBV than in other DNA viruses.⁵ Individuals persistently infected with HBV have hepatitis B e antigen (HBeAg) in serum initially. Later in their lives, they lose HBeAg and develop antibodies to HBeAg (anti-HBe). The seroconversion is induced by mutations in two different domains of HBV-DNA. The double mutations in core promoter (A1762T/G1764A) interfere with the transcription of precore RNA and reduce the expression of HBeAg precursor.⁶ G-to-A mutation at nt 1896 in the precore region converts codon 28 for tryptophan (TGG) to a stop codon (TAG), and terminates the translation of HBeAg precursor.^{7,8} These mutations in the core promoter and precore region are reported in patients with fulminant hepatitis,⁹⁻¹¹ as well as in those with chronic active hepatitis.¹²

In the present study, core promoter and precore mutations were determined in patients with acute exacerbation of chronic hepatitis and those with acute hepatitis. The results obtained indicate that these mutations would be useful for distinguishing acute-on-chronic from acute hepatitis B.

Methods

Patients

During a 5-year period from 2000 through 2004, 36 patients with acute hepatitis B were admitted to National Hospital Organization Nagasaki Medical Center. The diagnosis of acute hepatitis B was made for patients who presented with signs and symptoms suggestive of acute hepatitis (nausea, jaundice, fever, abdominal pain, and enlarged liver) and who were positive for HBsAg and/or IgM anti-HBc, negative for anti-HCV as well as IgM anti-HAV, and had alanine aminotransferase (ALT) values exceeding five-times the upper limit of normal (40 U/L). The loss of HBsAg from serum within 6 months after onset was confirmed in all patients. Infectious sources of acute hepatitis B were sexual contacts in 25 patients, illicit intravenous drugs in four, and unknown in the remaining seven patients.

Among 261 patients with chronic hepatitis B who had been followed up during the same period, acute exacerbation developed in 36 (14%), and 30 of them (83%) reported a family history of HBV infection. HBsAg had persisted for 1 year or longer and ALT increased to >500 IU/L in them all. All the 36 patients with acute-on-chronic hepatitis B underwent a liver biopsy. Fibrosis stages were F0 in 1, F1 in 4, F2 in 16, F3 in 8, and F4 in 7, and activity grades were A1 in 3, A2 in 9, and A3 in 24. The five patients in mild fibrosis stages (F0 or F1) had been infected with HBV for longer than 6 months before they suffered from acute exacerbation, thereby excluding the possibility of acute HBV infection.

Fulminant hepatitis was diagnosed by prothrombin time <40% and hepatic encephalopathy of grade II or higher, and acute severe hepatitis by prothrombin time \geq 40% and encephalopathy of grade I or less. Among the 36 patients with acute hepatitis, one developed fulminant hepatitis and five came down with severe hepatitis. Among the 36 patients with acute exacerbation of chronic hepatitis B, one developed fulminant hepatitis and one had severe hepatitis. The two patients with fulminant hepatitis died of advanced hepatic failure; their family members did not agree with liver transplantation.

Mutations in the core promoter and precore region were determined in sera from patients obtained when they presented with acute hepatitis or acute exacerbation of chronic hepatitis.

Informed consent was obtained from each patient, and the study protocol conformed to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a *priori* approval by the institution's human research committee.

Determination of mutations in precore region and core promoter

HBV-DNA was recovered from serum (50 μ L) with use of the SMITEX-R&D extraction kit (Medical Biological Laboratories [MBL], Nagoya, Japan). The stop-codon mutation in precore region (G1896A) was determined by enzyme-linked mini-sequence assay (ELMA) with a commercial kit (MBL).^{13,14} HBV-DNA solution (50 μ L) was mixed with ELMA solution (50 μ L), and subjected to polymerase chain reaction (PCR). Amplification products were delivered to wells in a microtiter plate that had been coated with probes for the wild-type or mutant; they had G or A at the position 1896. Reaction was determined by colorimetry, and an

optical density >0.100 was judged positive, while that of \leq 0.100 was regarded negative. Positive reading on the well for wild-type only was recorded as the wild-type; that on mutant well alone as the mutant type; and positive readings both on wild-type and mutant wells were classified as the mixed type.

Mutations in core promoter were determined by enzyme-linked specific probe assay (ELSPA) with commercial kits (MBL).^{13,14} HBV-DNA solution (50 μ L) was mixed with ELMA solution (50 μ L), and subjected to PCR. Amplicons were transferred to three wells in a microtiter plate which had been coated with different probes. One of wells was coated with probe for the wild-type with A1962/G1764 and another with that for the mutant type with T1762/A1764, and the third with a highly preserved HBV-DNA sequence for guaranteeing successful amplification by PCR. Determination was possible when optical density of the control well exceeded 0.800 and that of the well for the wild-type or mutant was higher than 0.400, in accordance with the decision table in package inserts of the kit.

The sensitivity and specificity of the ELSPA and MBL kits were examined on cloned wild-type and mutant-type HBV-DNA. Reproducible results were obtained with a sensitivity of 100 copies/100 μ L of HBV-DNA.^{13,14}

Statistical analysis

Categorical variables were compared between groups by the χ^2 -test and Fisher's exact test, and continuous variables by the Student's *t*-test. Influence of various factors on the manifestation of disease was evaluated by logistic regression in univariate and multivariate analyses. Analyses were performed with SAS software (SAS Institute Japan, Tokyo, Japan), and differences were considered significant when the *P*-value exceeded 0.05.

Results

Comparison of patients with acute exacerbation of chronic hepatitis and acute hepatitis

Table 1 compares clinical and virological characteristics between patients with acute exacerbation of chronic hepatitis and acute hepatitis. Men predominated (86% vs 58%; *P* < 0.01) and platelets counts were lower (177 \pm 56 vs 238 \pm 60 \times 10⁹/mm³; *P* < 0.0001), while IgM anti-HBc was less frequent (58% vs 97%; *P* < 0.0001) in patients with acute-on-chronic than acute hepatitis. Distribution of HBV genotypes was no different between patients with acute-on-chronic and acute hepatitis, and genotype C accounted for ~90% and genotype B for only 8% in them both.

Mutations in the core promoter and precore region

The double mutation in core promoter (A1762T/G1764A) and precore mutation (G1896A) were more frequent in patients with acute-on-chronic than acute hepatitis (81% vs 19% and 58% vs 6%, respectively; *P* < 0.0001 for each). Of the five patients with fulminant or severe acute hepatitis, four (80%) possessed mutations in the core promoter and/or precore region. Table 2 summarizes mutations in the core promoter and precore region in

Table 1 Clinical and virological characteristics of patients with acute exacerbation of chronic hepatitis and those with acute hepatitis

Features	Acute exacerbation of chronic hepatitis (n = 36)	Acute hepatitis (n = 36)	Differences
Men	31 (86%)	21 (58%)	P = 0.009
Age (years)	36 ± 13 (16–62)	38 ± 19 (16–87)	NS
Albumin (g/dL)	4.1 ± 0.4 (3.1–5.0)	4.0 ± 0.5 (2.4–5.1)	NS
ALT (IU/L)	1499 ± 577 (808–2740)	1792 ± 785 (209–2990)	NS
Total bilirubin (mg/dL)	4.0 ± 4.2 (0.4–17.2)	5.6 ± 5.3 (0.8–21)	NS
Platelets (× 10 ³ /mm ³)	177 ± 56 (72–313)	238 ± 60 (75–356)	P < 0.0001
Prothrombin time (%)	71 ± 21 (36–114)	77 ± 27 (5–120)	NS
IgM anti-HBc	21 (58%)	35 (97%)	P < 0.0001
HBV genotypes			
B	3 (8%)	3 (8%)	NS
C	33 (92%)	32 (89%)	NS

ALT, alanine aminotransferase; anti-HBc, antibody to hepatitis B core antigen; HBV, hepatitis B virus; NS, not significant.

Table 2 Clinical manifestation of hepatitis B virus of the wild-type or with mutations in the core promoter and/or precore region

Core promoter (nt 1762/1764)	Precore region (nt 1896)	Acute exacerbation of chronic hepatitis	Acute hepatitis
Wild	Wild (n = 32)	3 (9%)	29 (91%)
Wild	Mutant (n = 17)	12 (71%)	5 (29%)
Mutant	Wild (n = 7)	4 (100%)	0
Mutant	Mutant (n = 19)	17 (89%)	2 (11%)

the patients with acute exacerbation of chronic hepatitis and those with acute hepatitis. Of the 19 patients with the mutant type both for core promoter and precore region, 17 (89%) were those with chronic hepatitis who had developed acute exacerbation. Of the 32 patients infected with the wild-type both for core promoter and precore region, in contrast, 29 (91%) had been diagnosed with acute hepatitis.

Factors contributing to the differentiation of acute exacerbation of chronic hepatitis from acute hepatitis

Univariate and multivariate analyses were performed for sorting out factors predictive of acute exacerbation in patients with chronic hepatitis B (Table 3). In univariate analysis, male gender, low platelet counts, negative IgM anti-HBc, and mutations in the core promoter, as well as the precore region, predicted the acute exacerbation of chronic hepatitis. In multivariate analysis, only male gender, negative IgM anti-HBc, and the double mutation in the core promoter were predictive of acute exacerbation of chronic hepatitis. Among these three parameters, the core promoter mutation had the highest odds ratio at 26.4.

Discussion

Acute HBV infection in adulthood is mostly self-limited, and rarely becomes chronic.¹⁵ Acute exacerbation can emerge in chronic hepatitis, however, making it difficult to differentiate from acute self-limited hepatitis. The prognosis is more severe for acute-on-chronic than acute hepatitis B; it can transit swiftly to

decompensation and cirrhosis.¹⁶ Recently, many antiviral drugs have been introduced, including lamivudine, adefovir-dipivoxyl, and entecavir, and they can prevent the development of decompensation and cirrhosis in patients with chronic hepatitis B.^{17,18} Hence it is necessary to diagnose the acute exacerbation in patients with chronic hepatitis B in order to start treatment with antiviral drugs immediately.^{19–24}

In persistent HBV infection, mutations in the core promoter and/or precore region accumulate with time, as hosts seroconvert from HBeAg to anti-HBe. In the present series of 36 patients with the exacerbation of chronic hepatitis, core promoter and precore mutations were found more frequently than in the 36 patients with acute hepatitis (81% vs 19%; P < 0.0001 and 58% vs 6%; P < 0.0001, respectively). Of the 19 patients with mutations both in the core promoter and precore region, in particular, 17 (89%) had developed acute exacerbation of chronic hepatitis. In remarkable contrast, of the 32 patients with the wild-type both for the core promoter and precore region, 29 (91%) had acute HBV infection. By multivariate analysis, core promoter mutations were predictive of chronic HBV infection with the highest odds ratio at 26.4.

For acute hepatitis B, the wild-types both for the core promoter and precore region had positive and negative predictive values of 90% (29/32) and 81% (29/36), respectively. For acute exacerbation of chronic hepatitis B, mutation in either the core promoter or precore region had positive and negative predictive values of 83% (33/40) and 92% (33/36), respectively. Taken altogether, determination of mutations in the core promoter and precore region would be helpful in distinguishing between chronic and acute HBV infections in the patients who present themselves with serum HBsAg and ALT levels exceeding 500 IU/L. HBV genotypes can influence the development of core promoter and precore mutations.²⁵ They would have made little difference in patients in this study; the majority of them were infected with HBV genotype C.

Patients with acute HBV infection possess IgM anti-HBc in high titers, which can differentiate them from those with acute-on-chronic hepatitis.^{26,27} IgM anti-HBc appears in considerably high titers in sera of some patients with chronic hepatitis undergoing acute exacerbation.²³ It is therefore difficult to differentially diagnose acute from chronic infection by IgM-anti-HBc alone. Based on the results obtained in this study, mutations in the core promoter and precore region would improve the diagnosis of acute exacerbation in chronic hepatitis.

Table 3 Odds ratio for the acute exacerbation of chronic hepatitis

Factors	Univariate analysis (95% confidence interval)	Multivariate analysis (95% confidence interval)
Male gender	4.4 (1.4–14.0); $P = 0.0115$	9.0 (1.0–76.6); $P = 0.0455$
Platelets $< 100 \times 10^9/\text{mm}^3$	6.7 (2.4–19.0); $P = 0.0003$	4.0 (0.7–23.1); $P = 0.1275$
Negative IgM anti-HBc	25.0 (3.1–203.2); $P = 0.0026$	21.6 (1.7–267.5); $P = 0.0167$
Core promoter mutations	17.2 (5.3–55.2); $P < 0.0001$	26.4 (3.6–192.6); $P = 0.0013$
Precore mutation	23.8 (5.0–114.7); $P < 0.0001$	5.0 (0.7–37.2); $P = 0.1138$

anti-HBc, antibody to hepatitis B core antigen.

As we have reported previously, however, these mutations are frequent in patients with fulminant or severe acute hepatitis.¹³ In this study, also, four of the five (80%) patients with fulminant or severe acute hepatitis possessed mutations in the core promoter and/or precore region. This would have to be taken into consideration when using these mutations to differentiate between acute-on-chronic and acute hepatitis.

It is hoped that our findings indicating the usefulness of the core promoter and precore mutations, obtained in limited numbers of patients with acute and chronic HBV infection, would be extended in further studies for prompting antiviral treatment in patients with chronic hepatitis who develop acute exacerbation.

References

- Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N. Engl. J. Med.* 1997; **337**: 1733–45.
- Shimizu M, Ohya M, Takahashi Y *et al.* Immunoglobulin M antibody against hepatitis B core antigen for the diagnosis of fulminant type B hepatitis. *Gastroenterology* 1983; **84**: 604–10.
- Tsuda F, Naito S, Takai E *et al.* Low molecular weight (7s) immunoglobulin M antibody against hepatitis B core antigen in the serum for differentiating acute from persistent hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1984; **87**: 159–64.
- Summers J, Mason WS. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell* 1982; **29**: 403–15.
- Okamoto H, Imai M, Kametani M, Nakamura T, Mayumi M. Genomic heterogeneity of hepatitis B virus in a 54-year-old woman who contracted the infection through maternal-fetal transmission. *Jpn J. Exp. Med.* 1987; **57**: 231–6.
- Okamoto H, Tsuda F, Akahane Y *et al.* Hepatitis B virus with mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J. Virol.* 1994; **68**: 8102–10.
- Carman WF, Jacyna MR, Hadziyannis S *et al.* Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989; **2**: 588–91.
- Okamoto H, Yotsumoto S, Akahane Y *et al.* Hepatitis B viruses with precore region defects prevail in persistently infected hosts along with seroconversion to the antibody against e antigen. *J. Virol.* 1990; **64**: 1298–303.
- Liang TJ, Hasegawa K, Rimon N, Wands JR, Ben-Porath E. A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 1991; **324**: 1705–9.
- Omata M, Ehata T, Yokosuka O, Hosoda K, Ohto M. Mutations in the precore region of hepatitis B virus DNA in patients with fulminant and severe hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 1991; **324**: 1699–704.
- Sato S, Suzuki K, Akahane Y *et al.* Hepatitis B virus strains with mutations in the core promoter in patients with fulminant hepatitis. *Ann. Intern. Med.* 1995; **122**: 241–8.
- Hunt CM, McGill JM, Allen MI, Condreay LD. Clinical relevance of hepatitis B viral mutations. *Hepatology* 2000; **31**: 1037–44.
- Aritomi T, Yatsuhashi H, Fujino T *et al.* Association of mutations in the core promoter and precore region of hepatitis virus with fulminant and severe acute hepatitis in Japan. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 1998; **13**: 1125–32.
- Asahina Y, Izumi N, Uchihara M *et al.* Core promoter/pre-core mutations are associated with lamivudine-induced HBeAg loss in chronic hepatitis B with genotype C. *J. Hepatol.* 2003; **39**: 1063–9.
- Teo EK, Ostapowicz G, Hussain M, Lee WM, Fontana RJ, Lok AS. Hepatitis B infection in patients with acute liver failure in the United States. *Hepatology* 2001; **33**: 972–6.
- Tsubota A, Arase Y, Suzuki Y *et al.* Lamivudine monotherapy for spontaneous severe acute exacerbation of chronic hepatitis B. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2005; **20**: 426–32.
- Keeffe EB, Dieterich DT, Han SH *et al.* A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an update. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2006; **4**: 936–62.
- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; **45**: 507–39.
- Orito E, Fujiwara K, Tanaka Y *et al.* A case-control study of response to lamivudine therapy for 2 years in Japanese and Chinese patients chronically infected with hepatitis B virus of genotypes Bj, Ba and C. *Hepatol. Res.* 2006; **35**: 127–34.
- Shinkai N, Tanaka Y, Orito E *et al.* Measurement of hepatitis B virus core-related antigen as predicting factor for relapse after cessation of lamivudine therapy for chronic hepatitis B virus infection. *Hepatol. Res.* 2006; **36**: 272–6.
- Yotsumoto S, Kojima M, Shoji I, Yamamoto K, Okamoto H, Mishihiro S. Fulminant hepatitis related to transmission of hepatitis B variants with precore mutations between spouses. *Hepatology* 1992; **16**: 31–5.
- Hosaka T, Suzuki F, Suzuki Y *et al.* Adefovir dipivoxil for treatment of breakthrough hepatitis caused by lamivudine-resistant mutants of hepatitis B virus. *Intervirology* 2004; **47**: 362–9.
- Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N *et al.* Response to long-term lamivudine treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes A, B, and C. *J. Med. Virol.* 2006; **78**: 1276–83.
- Suzuki F, Akuta N, Suzuki Y *et al.* Clinical and virological features of non-breakthrough and severe exacerbation due to lamivudine-resistant hepatitis B virus mutants. *J. Med. Virol.* 2006; **78**: 341–52.
- Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology* 2003; **46**: 329–38.
- Papathodoridis GV, Hadziyannis SJ. Diagnosis and management of pre-core mutant chronic hepatitis B. *J. Viral. Hepat.* 2001; **8**: 311–21.
- Rodella A, Galli C, Terlenghi L, Perandin F, Bonfanti C, Manca N. Quantitative analysis of HBsAg, IgM anti-HBc and anti-HBc avidity in acute and chronic hepatitis B. *J. Clin. Virol.* 2006; **37**: 206–12.