

表1 核酸アナログ投与群と非投与群の背景因子

	核酸アナログ非投与群 (n=45)	核酸アナログ投与群 (n=31)	P
年齢(歳)	59(21-84)	56(36-81)	N.S.
性(女/男)	11/34	3/28	N.S.
HBe抗原(陽性/陰性)	6/39	6/25	N.S.
HBV DNA (log copies/ml)	4.9(2.6-8.5)	6.4(2.6-8.4)	0.0174
血小板($\times 10^3/\text{mm}^3$)	12.7(2.2-44.9)	13.9(6.9-24.7)	N.S.
Genotype (B/C)	0/20	1/25	N.S.
Child分類 (A/B/C)	38/5/2	29/2/0	N.S.
AFP (ng/ml)	11(0.8-2467.3)	8.7(2.3-1195)	N.S.
AFP-L3 (%)	0.5(0.0-27.4)	0.5(0.0-61.7)	N.S.
Stage (I/II/III/IV)	20/22/3/0	21/8/2/0	N.S.
初回治療(肝切除/局所治療)	28/17	22/7	N.S.

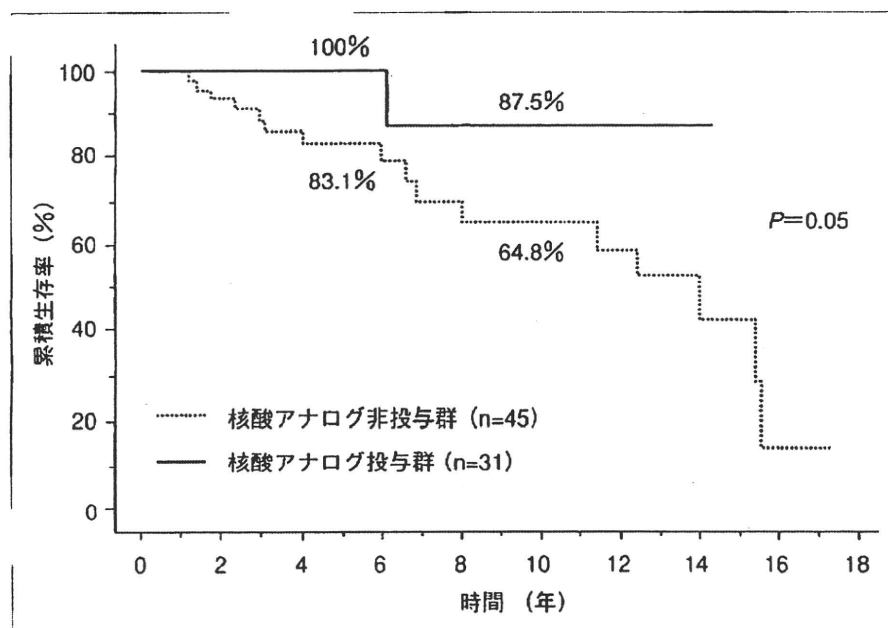


図1 核酸アナログ投与群と非投与群の累積生存率

HBV DNA量の高い症例に投与されたため、核酸アナログ投与例でHBV DNA量が高値となったと考えられる。その他、両者の年齢、性、HBe抗原の有無、血小板、Child分類、stage、初回治療の方法に統計上有意の差を示していない。初回治療の内訳は、54例が肝切除、8例がラジオ波焼灼療法(RFA)、4例が経皮的エタノール注入療法(PEIT)、3例が肝動脈化学塞栓療法(TACE)+PEIT、5例がTACE+RFA、1例がTACE+肝切除、3例がTACEのみであった。なお、肝切除はすべて同じ執刀医である。すべてVpは0で肝外転移は認めなかった。

核酸アナログの内訳は、ラミブジン14名、エ

ンテカビル9名(2名はラミブジンからの変更)、アデフォビル+ラミブジンが8名であり、全例break through hepatitisを認めていない。

結 果

全体の生存率では核酸アナログ投与群と非投与群で統計上有意の差を認めないまでも5年生存率、10年生存率はそれぞれ100%と83.1%、87.5%と64.8%と投与群で良好であった($P=0.05$) (図1)。全体の累積再発率では5年再発率、10年再発率はそれぞれ25.9%であり、有意の差を認めなかった(図2)。そこでわれわれは、背景因子として有意差の出たHBV DNA量をそろえるた

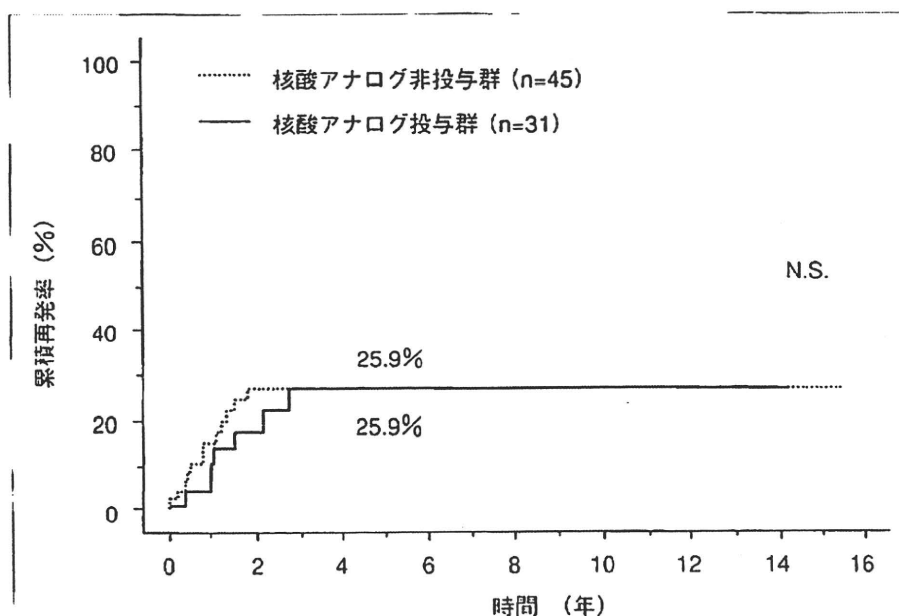


図2 核酸アナログ投与群と非投与群の累積再発率

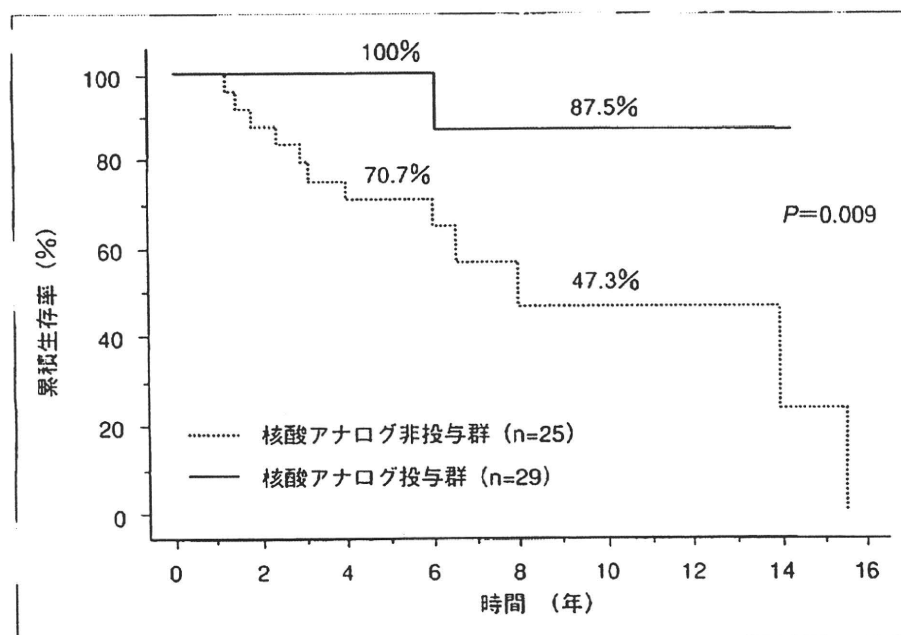


図3 HBV DNA 4 log copies/ml 以上の症例での核酸アナログ投与群と非投与群の累積生存率

めに対象をHBV DNA量が4.0 log copies/ml以上の症例に限定して再度検討を行なった。核酸アナログ投与例が29例、非投与例が25例となり核酸アナログ投与群と非投与群の累積生存率は5年、10年でそれぞれ100%と70.7%、87.5%と47.3%で統計上有意な差を認めた($P=0.009$) (図3)。また、累積再発率は5年、10年再発率はそれぞれ56%

と45%、56%と45%で統計上有意な差を認めた($P=0.04$) (図4)。また、核酸アナログ投与例、非投与例での投与前後の血清総ビリルビン値、アルブミン値の検討をすると、総ビリルビン値では変化を認めなかったが(図5)、アルブミン値では投与群において有意に改善を示した(図6)。

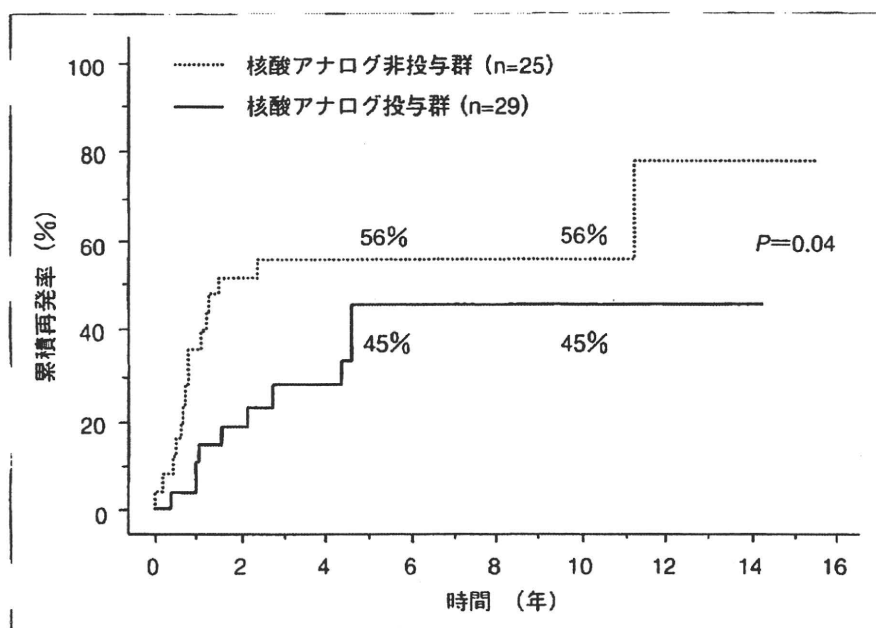


図4 HBV DNA 4 log copies/ml 以上の症例での核酸アナログ投与群と非投与群の累積再発率

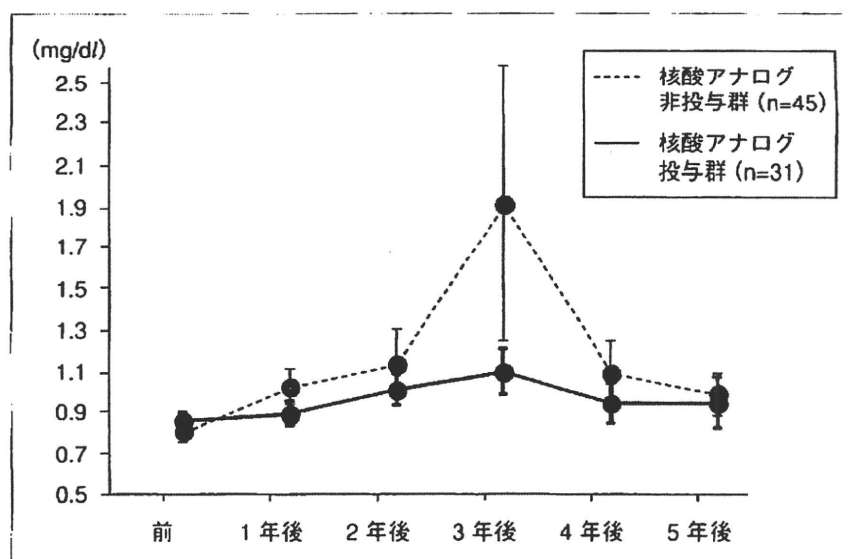


図5 治療前後の総ビリルビン値の変動

考 察

肝細胞癌は手術的に根治を得ても、術後5年で70%の症例が再発するとされている⁶⁾。わが国における肝細胞癌は、B型肝炎ウイルスやC型肝炎ウイルスによる慢性肝障害例に発癌することが多いため、背景肝の改善が肝細胞癌の抑制につながると考えられる。現在、肝細胞癌治療後の再発の予防として多くの治療法が検討され

ているが、その中で無作為比較試験により有効性が証明されたのはインターフェロン、非環式レチノイド、養子免疫療法のみである⁷⁾。核酸アナログについてはいまだ無作為比較試験により有効性が証明されていない。しかし、肝細胞癌治療後の核酸アナログの投与の報告は、論文で散見される。香港のHungら⁸⁾は72例のHBV陽性肝細胞癌の肝切除術後の患者の再発のリスクは多変量解析で、HBV DNA > 4 log copies/ml, AFP

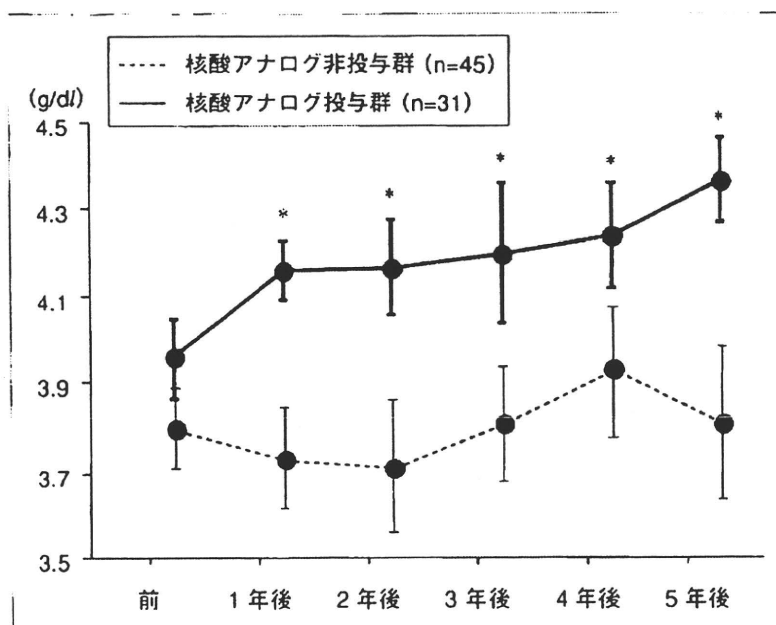


図6 治療前後のアルブミン値の変動

* $P < 0.05$

>1,000ng/ml, 腫瘍径>5 cm, 年齢>60歳であり, その中で, 核酸アナログによるHBV DNAを4 log copies/ml未満に抑制している患者は再発が有意に少なかったと報告している. また, Kuzuyaら³⁾は, ラミブジン投与群における肝細胞癌の累積再発率は12, 24, 36か月でそれぞれ13.5%, 35.1%, 35.1%でありコントロール群の13.4%, 39.2%, 53.2%と比較し有意な差を認めなかったがラミブジン群で肝機能の改善を認め再発時の治療の選択肢が増えると報告している. Kimらの報告⁴⁾でも核酸アナログ投与により肝機能の改善が認められている. いずれの報告も症例数, 観察期間が限定されているが核酸アナログの投与により肝細胞癌の術後の予後の改善が示唆された. 当院の検討でも, 核酸アナログ投与群で統計上有意とはならないものの生存率で良好な結果を得ており, HBV DNAを4 log copies/ml以上の症例に限ると核酸アナログ投与群で再発率, 生存率ともに良好な結果を得ており, また肝機能の改善が認められた.

まとめ

B型肝炎関連の肝細胞癌の根治術後に核酸アナログを投与した群と, 非投与群に分けて, 累

積生存率, 累積再発率, 肝予備能について検討した. HBV DNAが4.0 log copies/ml以上の症例に限ると投与群で有意に累積生存率, 累積再発率で良い結果を認めた. また, 肝予備能においても投与群でアルブミン値の上昇を認め改善傾向があった.

以上の結果より, 肝細胞癌の根治術後の症例で核酸アナログを投与することにより予後を改善することが示唆された.

なお, 本論文要旨は2008年10月に第16回日本消化器関連学会において発表したものである.

文 献

- 1) 芥田憲夫. B型慢性肝炎に対する核酸アナログ療法. 消化器科 2008; 47: 419-23.
- 2) 黒崎雅之, 泉 並木. B型慢性肝炎に対する核酸アナログ製剤の治療成績. 消化器科 2008; 47: 413-8.
- 3) Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, et al.; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. N Engl J Med 2004; 351: 1521-31.
- 4) Chen CJ, Yang HI, Su J, et al.; REVEAL-HBV Study

- Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006 ; 295 : 65-73.
- 5) Kumada T, Toyoda H, Kiriyaama S, et al. Relation between incidence of hepatic carcinogenesis and integration value of alanine aminotransferase in patients with hepatitis C virus infection. *Gut* 2007 ; 56 : 738-9.
- 6) 片桐 聡, 徳重克年, 山本雅一. 肝細胞癌術後再発抑制目的としてのインターフェロン療法. *日消誌* 2008 ; 105 : 795-801.
- 7) 葛西和博, 黒田英克, 鈴木一幸. 肝細胞癌治療後の補助療法. *日消誌* 2008 ; 105 : 787-94.
- 8) Hung IF, Poon RT, Lai CL, et al. Recurrence of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma is associated with high viral load at the time of resection. *Am J Gastroenterol* 2008 ; 103 : 1663-73.
- 9) Kuzuya T, Katano Y, Kumada T, et al. Efficacy of antiviral therapy with lamivudine after initial treatment for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2007 ; 22 : 1929-35.
- 10) Kim JH, Park JW, Koh DW, et al. Efficacy of lamivudine on hepatitis B viral status and liver function in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2009 ; 29 : 203-7.

*

*

*

ALT正常HCVキャリアの治療適応を考える

Indication of antiviral therapy in hepatitis C virus carriers with normal alanine aminotransferase



熊田 卓(写真) 豊田秀徳
Takashi KUMADA and Hidenori TOYODA
大田市民病院消化器科

●ALT(alanine aminotransferase)正常(基準値内)のC型肝炎ウイルス(HCV)キャリアの自然経過、治療適応、治療成績について述べる。ALTは肝細胞障害時に血中に遊出してくる逸脱酵素のため、ワンポイントのみの判断は危険で、経過を考慮して判断する必要がある。著者らの提唱する“積分平均値”で評価すると、肝発癌と密接な関係があり、ALTが基準値内(40 IU/l以下)であっても、ALTが20 IU/lを超えかつ血小板が15万/m³未満の症例は他の群に比べて有意に肝発癌が高率であり、条件が整えば抗ウイルス療法の適応と考えられた。一方、現在の標準的治療であるペグインターフェロン(PEG-IFN)十リバビリン療法は、ALTが正常であっても異常であっても著効率に変わりはない。一方、治療によって“寝た子を起こす”状態になることもなかった。日本ではC型肝炎患者の高齢化が進んでおり、異常値を示すまで待つ治療機会を逸しないよう注意して、治療開始時期を判断する必要がある。



正常ALT、C型肝炎ウイルス(HCV)、積分平均値、肝発癌、著効

ALT(alanine aminotransferase)は、L-アラニンと2-オキソグルタル酸をピルビン酸とL-グルタミン酸に変換するアミノ酸転移反応を触媒する酵素である。ALTはAST(aspartate aminotransferase)とは異なり臓器特異性が高く、肝と腎に多量に含まれており、肝疾患の活動性の指標としてきわめて有用とされる。このことがいままでも、わずかな変化で医師をも含めて患者とともに一喜一憂する“GPT(ALT)神話”を生み出し、医療現場に少なからざる影響を及ぼしてきた。ALTはあくまで逸脱酵素であり、細胞膜の透過性亢進あるいは細胞破壊によって血中に遊出してくる。しかし、肝細胞は約2,500億個あるとされており、血清ALT値はワンポイントで評価することは危険で、経過から判断する姿勢を忘れてはならない。C型肝炎の活動性を示す指標のひとつとして血清ALT値はもちろん重要ではあるが¹⁾、他の肝機能検査も考慮する必要がある。

最近、C型肝炎に対する知識が広まりHCV抗体検査が一般に行われるようになり、ALT正常

(基準値内)の患者が多く医療機関を訪れるようになった。これらの患者をどのように検査し、治療していくかについては現場で少なからぬ混乱がみられている。本稿ではALT正常C型肝炎の自然経過、治療適応および治療成績について、著者らの施設のデータを中心として述べる。

ALT正常(基準値内)症例の自然経過

血清ALTの基準値の上限は各施設で異なっている。最近、イタリアで献血集団を対象とした健康人3,925例のデータから基準値上限が報告され²⁾、各国で作成されたガイドラインにも取り入れられている。性差を設け、男性の基準値上限は30 IU/l、女性の基準値上限は19 IU/lという厳しいものであった。しかし、わが国では実際には性差を設けず、基準値上限を40 IU/l前後に設定している施設が多いようである。また、ALT持続正常(per-sistently normal ALT: PNALT)例の定義についても議論がある。通常、6カ月間に3回ALTを測定し、3回とも基準値範囲内にある症例とする報告

	3	5	10 (年)
.....: ALT 20 IU/l 以下 (n=180)	22.9	33.2	48.1%
—: ALT 21~30 IU/l (n=165)	37.6	50.4	70.3%
—: ALT 31~35 IU/l (n=53)	69.8	73.6	82.9%

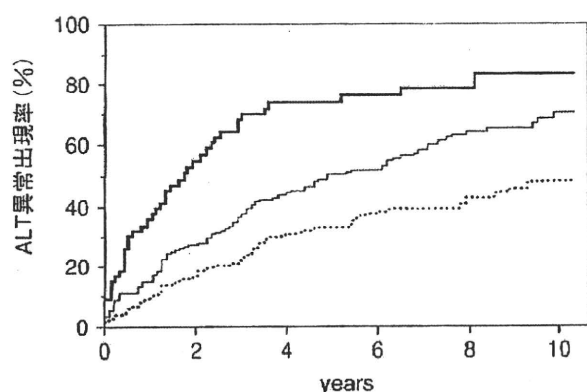


図 1 ALT基準値内症例での異常出現率 (n=398)
ALT 20 IU/l 以下の症例, ALT 21~30 IU/l の症例,
ALT 31~35 IU/l の症例の間には有意差を認めた ($p < 0.0001$).

が多い^{3,4)}.

PNALT 患者が経過観察中に ALT 基準値上限を超える比率を検討した。対象とした患者の基準値上限は 35 IU/l (当院での基準範囲) で、経過観察開始から 6 カ月間血清 ALT 値が基準値内で経過した 398 例の無治療例である⁵⁾。経過観察開始後 10

年の時点での異常発現率は、ALT 20 IU/l 以下の群、ALT 21~30 IU/l 群および ALT 31~35 IU/l 群ではそれぞれ、48.1%、70.3%および 82.9%と後 2 群で有意に高率であった (図 1)。さらに、性別でみると女性では ALT 20 IU/l を境として、男性では ALT 30 IU/l を境として、異常発現率が異なった (図 2)。これらは前述した Prati らの報告している女性と男性の基準値上限とよく一致している²⁾。また、Okanoue らは ALT 30 IU/l 以下の 69 例の HCV キャリアを 5 年以上観察し、30 IU/l 以下を持続したのは 10 例 14.5%のみで、39 例 56.5%は一過性上昇を、20 例 29.0%は持続的上昇を示すようになったと報告している⁶⁾。著者らのデータときわめてよく一致している。さらに、Puoti らは再活性化した症例を検討しているが、21.5%としており、持続的に異常を示すようになる症例の比率はそれほど高くはないようである⁷⁾。

一方、経過観察中の肝細胞癌の発生は生命予後に直接関係してくるため重要な問題である。ALT の評価はワンポイントではなくて経過を考慮する必要があることは前述した。評価方法として、①測定した ALT 値をすべて積算して測定回数で割る“単純算術平均値”、②測定した ALT 値と時間軸

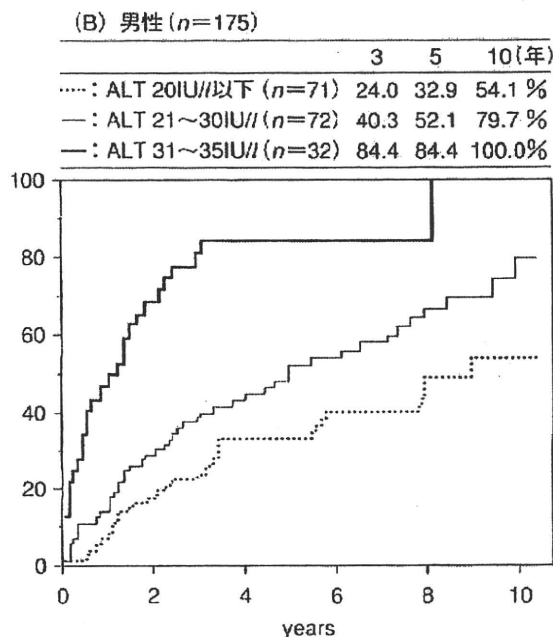
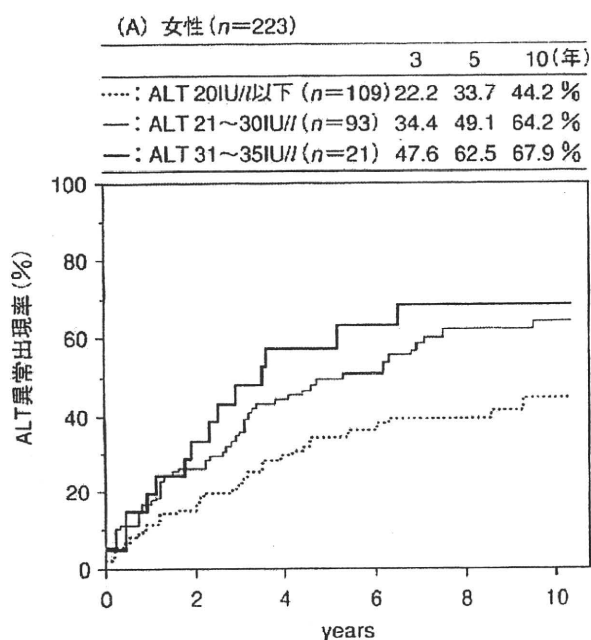


図 2 性別にみた ALT 基準値内症例での異常出現率

女性では、ALT 20 IU/l 以下の症例と ALT 21~30 IU/l および ALT 31~35 IU/l の症例の間には有意差を認めた ($p < 0.0001$)。一方、男性では、ALT 20 IU/l 以下および ALT 21~30 IU/l の症例と ALT 31~35 IU/l の症例の間には有意差を認めた ($p < 0.0001$)。

表 1 ALT 40 IU/l以下の症例での発癌に関する因子 (n=519)

		Hazard ratio (95%CI)	p
年齢(歳)	≤65	1	0.028
	>65	2.006 (1.078~3.733)	
ALT (IU/l)	≤20	1	0.012
	>20	6.242 (1.499~25.987)	
血小板 (×10 ⁴ /m ³)	≥15.0	1	0.003
	<15.0	2.675 (1.407~5.085)	
総ビリルビン (mg/dl)	≤1.2	1	0.012
	>1.2	2.798 (1.257~6.228)	
ALP (IU/l)	≤338	1	0.004
	>338	2.486 (1.327~4.657)	
アルブミン (g/dl)	≥3.5	1	0.019
	<3.5	2.707 (1.177~6.223)	

ALT : alanine aminotransferase, ALP : alkaline phosphatase.

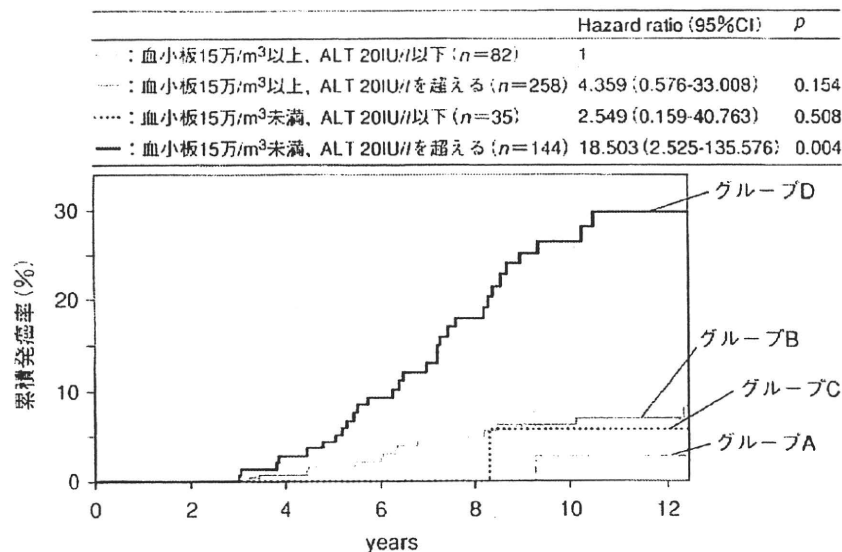


図 3 血清ALT値と血小板からみた発癌率

ALT と血小板の値から、①血小板 15 万/m³以上, ALT 20 IU/l 以下(グループ A, n=82), ②血小板 15 万/m³以上, ALT 20 IU/l を超える(グループ B, n=258), ③血小板 15 万/m³未満, ALT 20 IU/l 以下(グループ C, n=35), および④血小板 15 万/m³未満, ALT 20 IU/l を超える(グループ D, n=144), の 4 つのグループに分類した。グループ D は他の 3 群に比べて肝発癌率は有意に高値であった。グループ A, B, C の間には差を認めなかった。

を合わせた曲線下面積を求め、経過観察期間で割る“積分平均値”, ③ALT の測定回数中、基準値を超える回数から分類する“パターン分析”などが考えられる。

著者らは以前から ALT 値の評価方法として、発癌の観点からみると積分平均値が有用であることを報告してきた。ALT の積分平均値が高くなるにつれて、発癌率は明らかに増加した⁸⁾。これを、ALT の積分平均値が 40 IU/l 以下で治療介入のな

されていない 519 症例に絞って検討した⁹⁾。年齢、性、BMI (body mass index)、ウイルス量、遺伝子型、血小板、プロトロンビン時間、ALT の積分平均値、ALT が持続正常かどうか、AST 値の積分平均値、γ-GTP (gamma glutamyl transpeptidase) の積分平均値、総ビリルビン、ALP (alkaline phosphatase) の積分平均値、コリンエステラーゼ、総蛋白、アルブミン、総コレステロールの 17 因子を投入して、Cox の比例ハザードモデル(変数増加

表 2 ALT 40 IU/l 以下症例のALT値と血小板からみた背景因子

ALT 血小板	グループ A ≤20 IU/l ≥15×10 ⁴ /m ³ (n=82)	グループ B >20 IU/l ≥15×10 ⁴ /m ³ (n=258)	グループ C ≤20 IU/l <15×10 ⁴ /m ³ (n=35)	グループ D >20 IU/l <15×10 ⁴ /m ³ (n=144)
年齢(歳)*	62(21~87)	65(18~87)	69(48~88)	67(41~87)
性(女性/男性)**	58/24	138/120	18/17	76/68
BMI(kg/m ²)	20.8(15.8~26.8)	22.0(14.1~34.6)	21.4(17.9~33.3)	20.5(14.3~31.1)
遺伝子型(1/2)	28/25	140/67	6/7	65/30
PNALT(あり/なし)*	56/26	52/206	20/15	20/124
ウイルス量(KIU/ml)	82.5(0.51~4,900)	360(0.54~30,000)	290(1.6~1,000)	270(0.55~5,000)
総ビリルビン(mg/dl)*	0.4(0.4~4.4)	0.5(0.2~3.7)	0.6(0.2~4.6)	0.7(0.2~4.7)
ALP(IU/l)*	229(114~417)	238(84~623)	249(147~437)	274(158~907)
アルブミン(g/ml)*	4.1(2.7~5.1)	4.2(2.3~4.8)	4.0(2.6~4.7)	3.9(2.1~5.2)
Staging(F0/F1/F2/F3/F4)**	1/9/0/1/0	3/17/4/1/0	3/2/2/1/1	0/10/3/4/6
肝硬変(なし/あり)*,***	80/2	256/12	24/11	82/62
肝発癌(あり/なし)*	1/81	15/243	1/34	31/113

BMI: body mass index, PNALT: persistently normal ALT, *: $p < 0.01$, **: $p < 0.05$, ***: 超音波所見から診断.

法)で検討すると、選択されたのは年齢、ALT、血小板、総ビリルビン、ALP、アルブミンの6因子であった(表1)。年齢が増すと、ALTの積分平均値が高いと、血小板が低いと、総ビリルビンが高いと、ALPの積分平均値が高いと、アルブミン値が低いと、発癌率は増加していた。

これらの因子のうちALTと血小板に着目して、①血小板15万/m³以上、ALT 20 IU/l 以下(グループA, n=82)、②血小板15万/m³以上、ALT 20 IU/l を超える(グループB, n=258)、③血小板15万/m³未満、ALT 20 IU/l 以下(グループC, n=35)、および④血小板15万/m³未満、ALT 20 IU/l を超える(グループD, n=144)、の4つのグループに分けてそれぞれの発癌率をみると、グループDでの発癌率がもっとも高く、グループA、B、Cに比べて有意であった(図3)。グループA、B、Cの間には差を認めなかった。4つのグループの背景因子をみるとグループDでは高齢の症例が多く、PNALT例の占める割合は少なく、総ビリルビンとALPは高く、アルブミンは低値で線維化の進んだ例や超音波検査で肝硬変と診断される症例が多かった(表2)。さらに、グループAあるいはBに属する症例で16例に肝発癌を認めたが、12例(75.0%)は発癌前に血小板が15万/m³未満に低下していた。

以上の結果から、C型肝炎の発癌に限ればALTと血小板のcut-off値はそれぞれ20 IU/lと15

万/m³であり、また、ALTの値にかかわらず経過観察中に血小板の値が減少してくる症例は要注意と考えられた(「サイドメモ」参照)。また抗ウイルス療法の適応を考慮するにあたっては、もちろん年齢、全身状態を考慮する必要があるが、たとえばALTが基準値以下の症例であっても、グループAに属する症例は積極的に治療介入すべきと思われる。

サイド メモ

基準値とcut-off値(臨床判断値)

数値データとして結果が得られる臨床検査値には、評価するための指標が必要である。通常、①健康集団の測定分布を示す基準値(従来は「正常値」とよばれていたが、あたかも健康状態の指標であるかのような誤解を与えるこの言葉に替えて「基準値」「基準範囲」が用いられるようになった)と、②特定の病態に対する識別指標であるcut-off値(病態識別値)の2つの指標がある。前者には多くの生化学検査値が含まれ、後者には腫瘍マーカーやウイルスマーカーなどが含まれる。しかし、実際に使用するときは両者を混在して使用しているのが現状である。もともと両者の算出方法はまったく異なり、本来は概念を明確に区別して使用すべき指標である。血清ALT値は基準値として使用されることが多いが、この用法には限界がある。C型肝炎の集団のなかで、予後・治療適応を見据えた「病態識別値」の構築が必要と考えられる。

表 3 1型でのALT正常例と異常例での背景因子

	ALT 正常 (n=72)	ALT 異常 (n=91)	p
性(女/男)	37/35	42/49	n. s.
年齢	60(25~74)	59(29~73)	n. s.
前治療(なし/再燃/無効)	34/27/11	38/21/32	0.0104
Grading(A0/A1/A2/A3)	3/46/19/1	2/30/36/10	0.0013
Staging(F0/F1/F2/F3)	7/48/11/3	5/38/22/13	0.0123
ウイルス量(log ₁₀ ml)	6.2(4.6~6.9)	6.3(3.9~7.1)	n. s.
血色素(g/dl)	13.4(9.4~16.9)	13.9(10.5~18.1)	0.0214
血小板(×10 ³ m ³)	16.0(8.0~29.4)	13.5(4.3~29.3)	0.0117
γ-GTP(IU/l)	19(9~251)	41(12~531)	<0.0001

γ-GTP: gamma glutamyl transpeptidase.

ALT正常(基準値内)症例の治療成績

ALT 正常例に対する抗ウイルス療法は、いわゆる“寝た子を起こす”状態とならないかという危惧と、治療時に高率にみられる各種副作用の面から、以前は控えられてきた。しかし、ペグインターフェロン(PEG-IFN)＋リバビリン療法の実現により著効率が大幅に上昇したこと、副作用への対処法が確立してきたことから、最近では広く行われるようになってきた。とくに Zeuzem らによって大規模臨床試験の結果が報告され¹⁰⁾、“寝た子を起こす”状態にはならないこと、ALT 正常例の治療成績が ALT 異常例と変わらないことが確認され、積極的に行われるようになった。欧米のガイドラインにも ALT 正常例における抗ウイルス療法の適応が明記された¹¹⁾。わが国でも Okanoue らによって ALT 30 IU/l と血小板 15 万/m³を cut-off 値とするガイドラインが作成された¹²⁾。

著者らの施設での治療成績を示す。治療開始時に血清 ALT 値が 40 IU/l 以下の症例を ALT 正常例、それ以外を ALT 異常例とした。PEG-IFN＋リバビリン療法を遺伝子型 1 型に対しては 163 例(ALT 正常 72 例、ALT 異常 91 例)に行った。表 3 に背景因子を示す。ALT 正常例は、grading と staging の軽い例が、血色素と γ-GTP は低い例が、血小板は高い例が多かった(表 3)。また、血清 HCV RNA の陰性化時期は ALT 正常例も異常例も変わりなかった。著効率は、ALT 正常例で 72 例中 34 例(47.2%)、ALT 異常例で 91 例中 38 例(41.8%)と、両群間に差は認めなかった(図 4)。一方、遺伝子型 2 型に対しては PEG-IFN＋リバビリン療法を 94 例(ALT 正常 62 例、ALT 異常 32

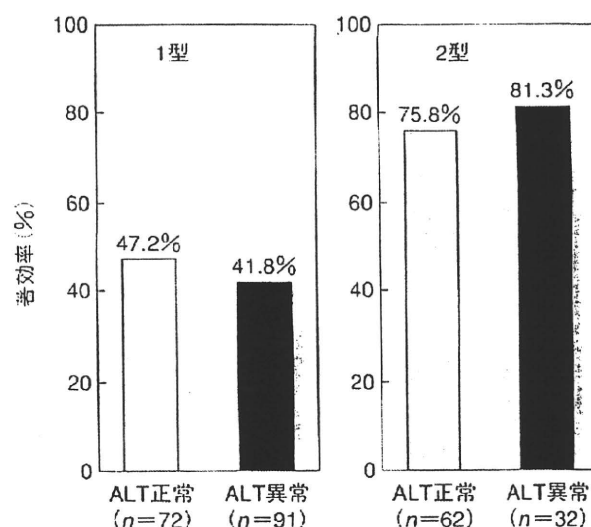


図 4 遺伝子型別のALT正常例・異常例の著効率
遺伝子型 1 型、2 型とも ALT の異常の有無による著効率の差は認めない。

例)に行った。背景因子では ALT 正常例は女性が多く、ウイルス量は多く、血色素と γ-GTP は低値であった(表 4)。血清 HCV RNA の陰性化時期は ALT 正常例も異常例も差は認めなかった。著効率は、ALT 正常例で 62 例中 47 例(75.8%)、ALT 異常例で 32 例中 26 例(81.3%)と両群間に差は認めなかった(図 4)。

おわりに

HCV キャリアで ALT 正常(基準値内)症例の自然経過と治療効果について、自験例を中心に述べた。肝発癌という観点からみると、ALT 値のみからではなく血小板などの他の検査項目も合わせて勘案し治療適応を決めるべきと考えられた。また、現在の標準的治療である PEG-IFN＋リバビリン

表 4 2型でのALT正常例と異常例での背景因子

	ALT 正常 (n=62)	ALT 異常 (n=32)	p
性(女/男)	48/14	12/20	0.0001
年齢	58(21~71)	57(28~72)	n. s.
前治療(なし/再燃/無効)	47/12/3	26/4/2	n. s.
Grading(A0/A1/A2/A3)	1/40/8/2	0/17/8/2	n. s.
Staging(F0/F1/F2/F3)	5/42/8/2	1/16/9/1	n. s.
ウイルス量(log ₁₀ /ml)	6.3(4.1~7.0)	6.0(4.0~7.3)	0.0356
血色素(g/dl)	13.4(8.4~16.4)	14.0(11.5~16.9)	0.0138
血小板(×10 ³ /m ³)	18.2(6.3~37.0)	16.7(5.5~30.9)	n. s.
γ-GTP(IU/l)	23(10~201)	50(13~448)	<0.0001

療法の有効率は ALT 正常例と ALT 異常例では変わりなく，“寝た子を起こす”状態となることも少ないことも確認された。一方，日本では C 型肝炎患者の高齢化が進んでいる。異常値を示すまで待って治療機会を逸さないよう，注意して治療開始時期を判断する必要がある。とくに遺伝子型 2 型での著効率は高いので，積極的に行うべきと考えられた。

文献

- 1) Toyoda, H. et al. : Influence of age, sex, and degree of liver fibrosis on the association between serum alanine aminotransferase levels and liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. *Dig. Dis. Sci.*, 49 : 295-299, 2004.
- 2) Prati, D. et al. : Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann. Intern. Med.*, 137 : 1-10, 2002.
- 3) EASL International Consensus Conference on hepatitis C. Paris, 26-27 February 1999. Consensus statement. *J. Hepatol.*, 31(Suppl. 1) : 3S-8S, 1999.
- 4) Marcellin, P. et al. : Therapy of hepatitis C : patients with normal aminotransferase levels. *Hepatology*, 26(3 Suppl. 1) : 133S-136S, 1997.
- 5) Kumada, T. et al. : Long-term followup in hepatitis C patients with an initially normal alanine aminotransferase. *J. Med. Virol.*, 2009. (in press)
- 6) Okanoue, T. et al. : A follow-up study to determine the value of liver biopsy and need for antiviral therapy for hepatitis C virus carriers with persistently normal serum aminotransferase. *J. Hepatol.*, 43 : 599-605, 2005.
- 7) Puoti, C. et al. : Histological and virological features and follow-up of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels : the Italian prospective study of the asymptomatic C carriers (ISACC). *J. Hepatol.*, 37 : 117-123, 2002.
- 8) Kumada, T. et al. : Relation between incidence of hepatic carcinogenesis and integration value of alanine aminotransferase in patients with hepatitis C virus infection. *Gut*, 56 : 738-792, 2007.
- 9) Kumada, T. et al. : Incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis C carriers with normal alanine aminotransferase levels. *J. Hepatol.*, 2009. (in press)
- 10) Zeuzem, S. et al. : Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology*, 127 : 1724-1732, 2004.
- 11) Strader, D. B. et al. : AASLD PRACTICE GUIDELINE. Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C. *Hepatology*, 39 : 1147-1171, 2004.
- 12) Okanoue, T. et al. : Guidelines for the antiviral therapy of hepatitis C virus carriers with normal serum on platelet counts. *Hepatol. Res.*, 38 : 27-36, 2008.

* * *

Radiofrequency ablation (RFA) 効果判定における Gd-EOB-DTPA-MRI (EOB-MRI) の有用性—造影エコーと比較して

大垣市民病院 機能診断室*¹ / 同 消化器科*²

小川定信*¹ / 川地敏明*¹ / 船坂佳正*¹ / 石川照芳*¹ / 熊田 卓*²

はじめに

RFAは、電極を病巣に挿入してラジオ波で誘電加熱し、肝細胞癌（HCC）を凝固壊死に陥らせる治療法である。1回の焼灼でPEITに比し確実な凝固壊死が得られ、短い入院期間で治療可能なことから、当院でも適応患者に対し積極的に用い、良好な治療成績を得ている。

RFA後の治療効果判定は、腫瘍の残存（初期濃染）を確認するためdynamic studyによるCTやMRIが有効とされるが^{1,2}、当院では、より時間分解能が高い造影エコーで詳細な血流評価を試みてきた。造影エコーの利点は、造影剤静注1分までの血管相は15fpsで目的とする病巣を観察し、必要に応じてslice面を変更し、くまなく評価が可能なことである。欠点としては、焼灼後の凝固壊死に伴い腫瘍濃染と炎症性偽濃染の識別が困難になる、また存在深部が深い場合は染影が不十分になる点が挙げられる³。

今回は、2008年2月よりMRI造影剤として新たに加わったGd-EOB-DTPA（EOB）を用いてRFAの効果判定を試み、造影エコーと比較することでその有用性について検討した。

EOBの特性

EOBは常磁性のガドキセト酸ナトリウム（略号：Gd-EOB-DTPA）を有効成分とする肝臓用MRI造影剤である。Gd-DTPAを基本骨格として、側鎖には脂溶性を示すエトキシベンジル基（EOB: ethoxybenzyl）が導入されている。MRI検査で一般に用いられているGd-DTPAは水溶性を示すため、臓器や組織に特異的に分布することはないが、

本剤は脂溶性側鎖であるエトキシベンジル基の導入により、投与された造影剤の一部が肝細胞に取り込まれる。このため肝細胞に造影剤の取り込まれた時相（肝細胞造影相）では、肝細胞機能の廃絶あるいは低下した病巣部と正常肝実質との間に造影剤の分布差が生じることで、病巣を検出することが可能となる。また血管内投与後早期には、Gd-DTPAと同様に非特異的に血管および細胞間隙に分布するため、肝腫瘍の診断ではdynamic studyによる腫瘍の血流動態を評価することが可能である。

このことからEOB-MRIによる効果判定は、dynamic studyによる初期濃染を評価し、その後の肝細胞造影相で焼灼範囲を正確に把握することが可能である。

EOB-MRIの撮影方法

MRIの使用装置は「Achieva 1.5T Nova」（PHILIPS社製）で、撮影シーケンスは肝腫瘍の診断に使用するものと同様とし、撮影順やパラメータなどの詳細は表に示す。造影前はT1WI（double echoおよび脂肪抑制）を撮影した。造影剤は速度1mL/secで、総量を体重×0.1mL注入しbolus truckで下行大動脈が濃染されるのを確認後（図1a）、dynamic studyで動脈・門脈を各2相（計4相）撮影した（図1b～d）。肝細胞造影相の撮影タイミングは、当院の検討⁴では20分以降で良好な結果を得たため、今回もそれに準じた。

評価方法

EOB-MRIのdynamic study（動脈相）では残存

表 EOB-MRIの撮影パラメータ

撮画像像	撮像法	Time (sec)	TR (msec)	TE (msec)	FA (°)	slice厚 (mm)	Gap (mm)	slice数	Matrix	scan (%)	FOV (mm)	RFOV (%)	SENSE factor	K-space ordering	Band Width
T 1 強調画像	FFE in / out	16	149	In 4.6 out 2.3	75	7	1	20	320×512	70	380	70	1.6	Sequential	541
T 1 強調画像 脂肪抑制	TFE	11	3.5	1.72	12	3.5	0	50	256×512	78	380	70	1.7	Centric	620
Dinamic Study 脂肪抑制	TFE	10 × 4	3.5	1.72	12	3.5	0	50	256×512	78	380	70	1.7	Centric	620
T 2 強調画像 脂肪抑制	TSE multi shot	呼吸 同期	1200	100	90	7	1	20	400×512	70	380	70	1.6	Sequential	207
T 2 強調画像	TSF single shot	呼吸 同期	369	80	90	7	1	20	256×256	80	380	70	1.5	Sequential	526
肝細胞造影相	TFE	20	4.2	2	12	3.5	0	50	240×512	100	380	70	2.2	Centric	434

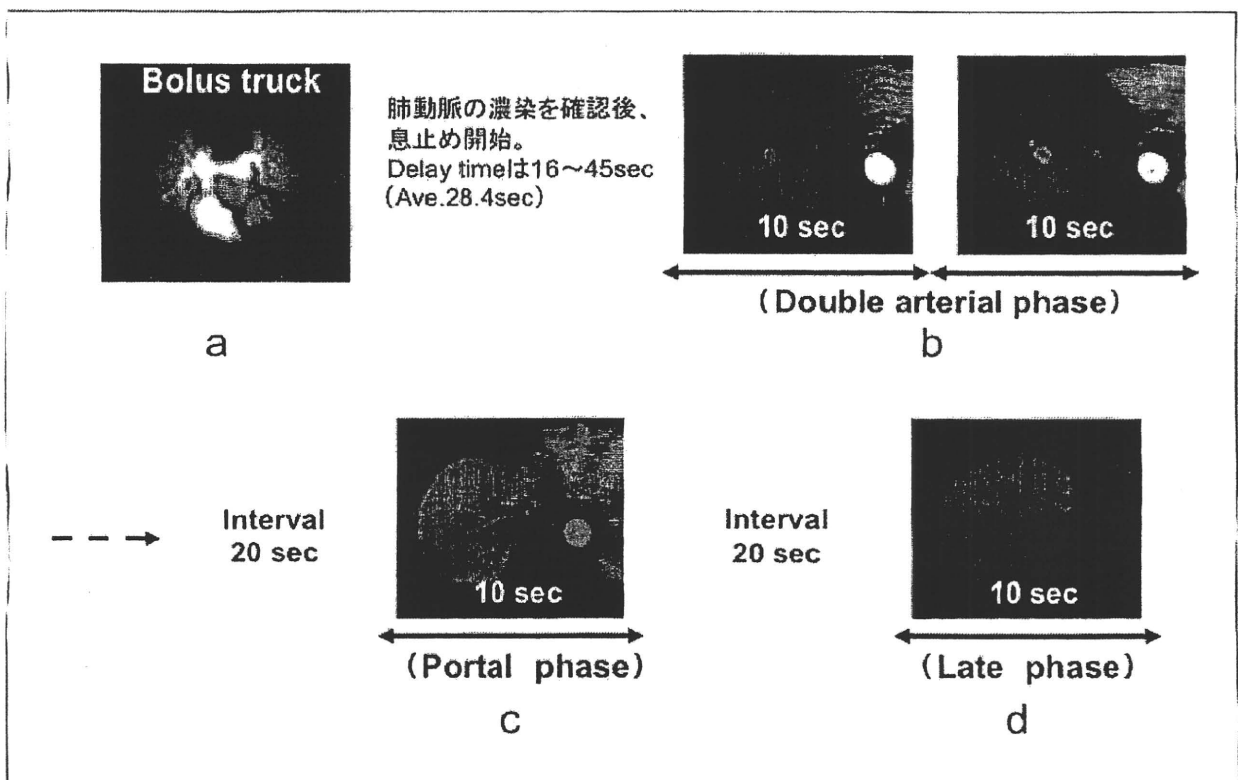


図1 EOB-MRIのdynamic studyの撮影時相

Bolus truckにより造影剤の移行を確認後(a)、動脈相として2相撮影(b)。なお1~2相のintervalはなし。門脈相(1相目)は、動脈相撮影後20secのintervalをとる(c)。同様に2相目も、1相目を撮影後、20secのintervalをとる(d)。

する腫瘍濃染の有無を、肝細胞造影相では凝固壊死の位置と大きさを評価して効果判定を行い、造影エコーの結果と比較した。なお、RFA施行後の凝固壊死はT1WIにて高信号を示すため、微

細な濃染が認識困難になることが懸念される。そこで、造影剤の信号のみで評価するため、dynamic studyおよび肝細胞造影相の各相で差分画像を作成し、診断の一助とした。

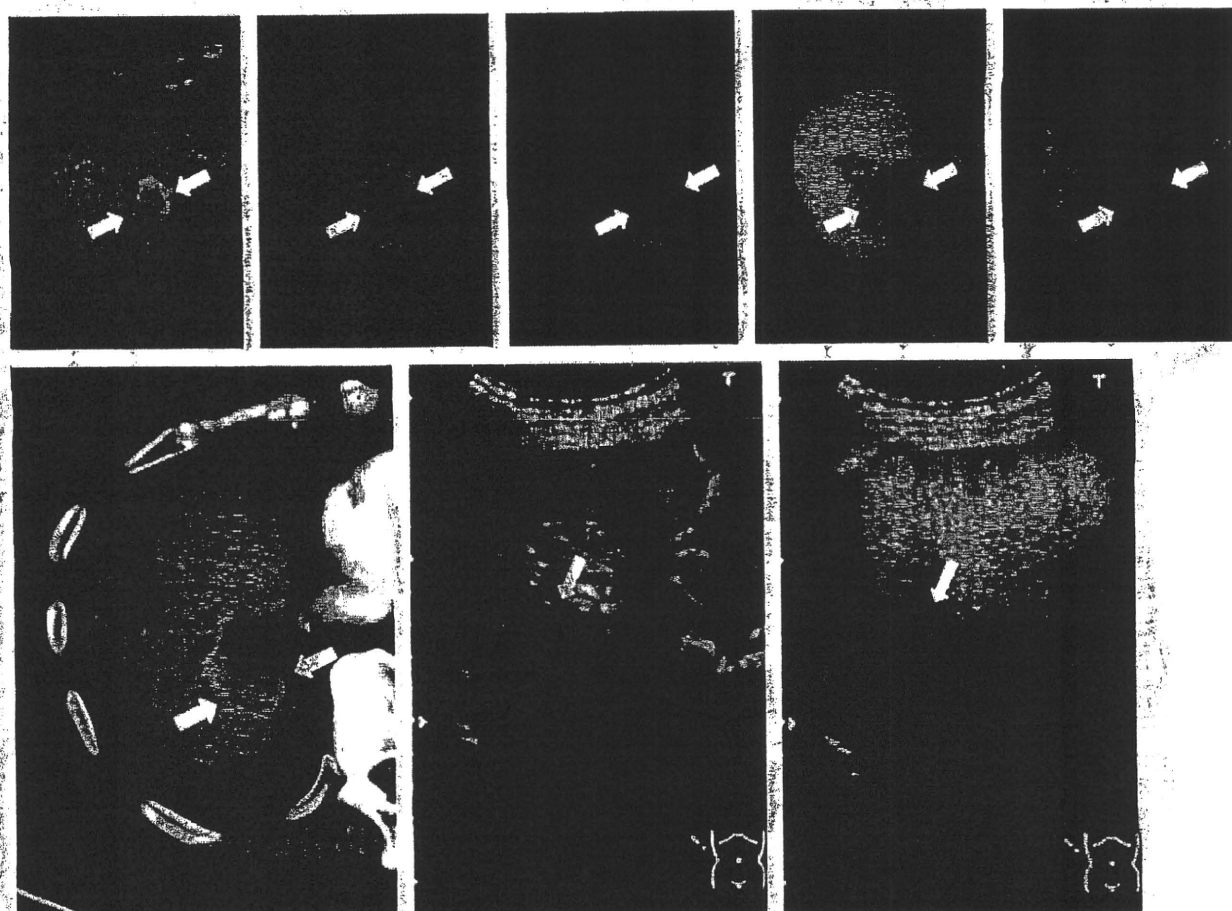


図2 症例1：転移性肝癌（大腸癌）

a: T1WI b: 動脈1相 c: 動脈1相（差分画像） d: 肝細胞造影相
e: 肝細胞造影相（差分画像） f: CT画像（動脈相） g: 造影エコー（血管相）
h: 造影エコー（肝細胞造影相）

図2a | 図2b | 図2c | 図2d | 図2e
図2f | 図2g | 図2h

T1WIで焼灼部は不均一な高信号を呈す（a）。動脈1相目では内部の高信号と濃染の識別が困難であるが（b）、差分画像では焼灼部に濃染がないことが容易に判定できる（c）。動脈相で認められた周囲の濃染は、肝細胞造影相（d）でも濃染を示し偽濃染であると判定できる。なお、差分画像（e）では内部の信号が消失し、さらに焼灼部の辺縁が明瞭となった。これらの結果より治療前に確認された局所再発（f）は消失し、効果良好と判定された。造影エコーでも血管相（g）と、後血管相（h）でも焼灼部に染影を認めず、効果良好と判定された。

IMAGE PREVIEW 参照

症例提示と解説

1) 転移性肝癌（大腸癌：図2）

以前の治療部に局所再発が指摘され、RFAが施行された。造影前のT1WI、通常の動脈相では治療内部に高信号領域を認め（図2a）、造影効果の詳細については不明であったが、動脈相から造影前を差分した画像では造影剤のみの信号とな

り、治療内部に血流がないことが確認された（図2c）。また、治療部周辺に認められる濃染が腫瘍の残存もしくは偽濃染かの判定方法は、肝細胞造影相で容易であった。つまり肝細胞造影相では、炎症を含めた正常肝細胞の分布を示すため、動脈相で濃染し肝細胞造影相で欠損像を示した部分は腫瘍の残存、動脈相および肝細胞造影相で濃染を示した部分は偽濃染と考えられる。本ケースは後

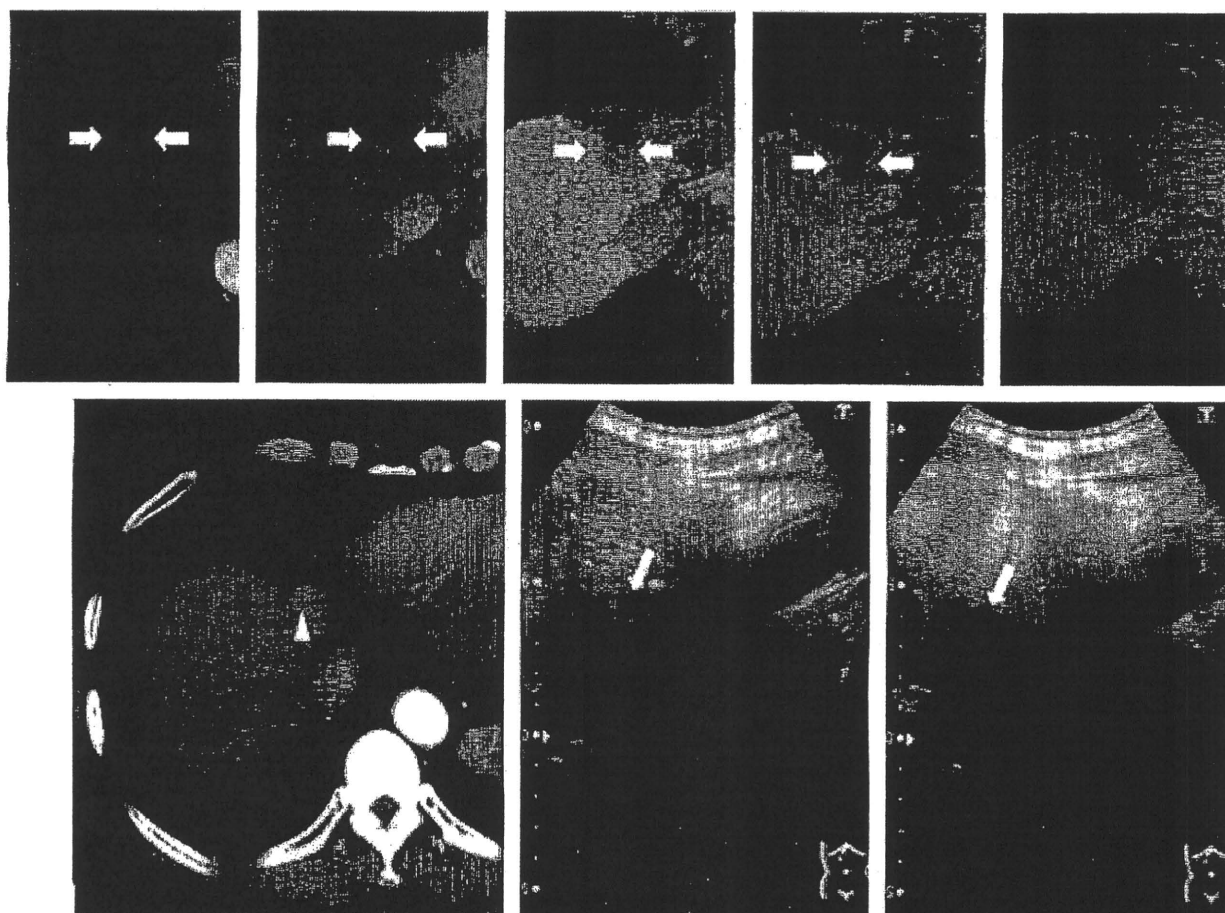


図3 症例2：HCC

a：動脈1相 b：動脈1相（差分画像） c：肝細胞造影相
d：肝細胞造影相（差分画像） e：今回の治療部肝細胞造影相（差分画像）
f：CT画像（動脈相） g：造影エコー（血管相） h：造影エコー（肝細胞造影相）

図3a 図3b 図3c 図3d 図3e
図3f 図3g 図3h

動脈1相目(a)および差分画像(b)にて、CT(f)と一致して腫瘍濃染を認めた。肝細胞造影相(c)および差分画像(d)でも低信号を示し、HCCの所見を呈した。腫瘍よりやや下方に今回の焼灼部が低信号として描出された(e)。なお、造影エコーでは血管相(g)、後血管相(h)ともに染影が確認されず、効果良好と判定された。

IMAGE PREVIEW 参照

者に当たるため、偽濃染と判定した。

なお肝細胞造影相の差分画像でも、治療部と正常部との境界および治療内部がより明瞭化され、正確な診断が可能であった。造影エコーでも治療内部に明らかな染影を認めず、EOB-MRIと同様の結果であった(図2g～h)。

2) 肝細胞癌(図3)

CTにてHCCが指摘され、治療としてRFAが

選択された。先に施行された造影エコーでは明らかな腫瘍の染影が確認されず、効果良好と判定された(図3g～h)。一方EOB-MRIでは、dynamic studyの動脈相で術前のCT画像と一致した部位に濃染を認めた(図3a)。差分画像でも同様の所見であった(図3b)。したがって本ケースは効果不良と判定されたが、エコーで観察困難な部位においても容易に正確な判定が可能である。なお、

今回RFAにより焼灼された部位は、肝細胞造影相にて明瞭な低信号を示すことから、HCCとわずかに位置の相違を生じているのが確認された(図3e)。

考察

1) EOB-MRIの利点

①EOBをRFAの効果判定に使用する際、従来のGd-DTPAと同様にdynamic studyによる血流情報から判定可能であることに加え、肝細胞造影相では治療部の形態を正確に評価することができた。MRIに限らず、他のモダリティでも治療後に認める偽濃染の判定は容易ではなく、特にsafety marginの判定に苦慮するケースがある。今回のケースでは、肝細胞造影相はRFAにより凝固壊死に陥った場所、範囲を正確に描出したため、動脈相と比較することで容易に偽濃染を判定できた。

②造影剤の信号を評価する上で妨げとなる凝固壊死の信号は、造影前の画像で差分することにより除去が可能で、dynamic studyや肝細胞造影相でより微細な評価ができると期待される。なお、差分画像については効果判定に限らず、通常の診断を目的とした検査でも有用な手法と思われる。

③エコーで観察困難な部位においても、腫瘍濃染の有無や、焼灼箇所の確認が正確に行える。

2) EOB-MRIの問題点と対策

①MRIは、MDCTのように短時間で検査を施行できず、撮影シーケンスの種類や数によっては30分近く患者を拘束することになる。特にEOBを用いた肝細胞造影相では、造影剤静注20分前後の間隔を空ける必要があるために長時間の検査

となり、スループットが悪いのは本検査の最大の欠点といえる。

②EOBのT1短縮作用は同濃度のGd-DTPAより強いため、注入量も1/2に設定されるが、dynamic studyにおける視覚的な濃染効果はやや弱い印象がある。またトランケーションアーチファクト(リング状の縞模様)などによる画像劣化もまれに経験するため、特にdynamic study時のパラメータ、造影剤の注入条件は、最適化を図るべくさらなる検討が必要である。

③差分画像がEOB-MRIにおいて有用な手法であることはすでに述べたが、造影前後で画像のズレが生じた場合は、適切に差分ができず診断が不可能となる。現時点でこのズレを補正するソフトは存在しないため、検査時に呼吸停止に関する患者への説明が重要である。

④通常、悪性肝腫瘍は肝細胞造影相で低信号を示し、正常部との信号は異なるが、まれに等信号もしくは高信号を示す腫瘍も認めるため、治療前にEOB-MRIを施行し、腫瘍の信号を確認しておく必要がある。

おわりに

EOBを用いることで、MRI検査に肝細胞造影相というカテゴリが新たに加わった。これにより正常肝細胞の分布を把握できるため、従来法の血流情報を加えることで、質的診断のみならず治療効果判定においても多角的な評価が可能となった。EOB-MRIは、MRIそのものがもつ問題点は数点認めるが、ハード・ソフト面の発展で解消されることが多く、今後の治療効果判定のスタンダードとなり得る検査法と思われる。

参考文献

- 1) Lim HK et al: Hepatocellular carcinoma treated with percutaneous radio-frequency ablation: evaluation with follow-up multiphase helical CT. Radiology 221(2): 447-454, 2001
- 2) Catalano O et al: Multiphase helical CT findings after percutaneous ablation procedures for hepatocellular carcinoma. Abdom Imaging 25(6): 607-614, 2000
- 3) 乙部克彦 ほか: 超音波造影剤ソナゾイドにおけるRFA

の治療効果判定の有用性. 映像情報メディカル 40(8): 704-708, 2008

- 4) 小川定信 ほか: Gd-EOB-DTPA(EOB)による肝細胞造影相の撮影時相について(肝機能との比較). 第36回日本磁気共鳴医学会 演題抄録集: 284, 2008
- 5) 加藤博基 ほか: CT・MRIによるTAE・局所療法の効果判定. 消化器病セミナー・97: 127-137, 2004

HEPATOLOGY

Prevalence and clinical characterization of patients with acute hepatitis B induced by lamivudine-resistant strains

Kazuhiko Hayashi,* Yoshiaki Katano,* Masatoshi Ishigami,* Akihiro Itoh,* Yoshiki Hirooka,* Isao Nakano,* Kentaro Yoshioka,[†] Motoyoshi Yano,[‡] Hidenori Toyoda,[§] Takashi Kumada[§] and Hidemi Goto*

*Department of Gastroenterology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, [†]Division of Liver and Biliary Diseases, Department of Internal Medicine, Fujita Health University, Toyoake, [‡]Department of Gastroenterology, Yokkaichi Municipal Hospital, Yokkaichi, and [§]Department of Gastroenterology, Ogaki Municipal Hospital, Ogaki, Japan

Key words

acute hepatitis, genotype, hepatitis B virus, lamivudine.

Accepted for publication 26 August 2009.

Correspondence

Yoshiaki Katano, Department of Gastroenterology, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsuruma-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan. Email: ykatano@med.nagoya-u.ac.jp

Abstract

Background and Aims: Acute hepatitis caused by lamivudine (LMV)-resistant strains has not been reported, and the clinical impact of LMV-resistant strains on acute hepatitis is not known. The aim of this study was to investigate the molecular and clinical characteristics of patients with acute hepatitis B caused by LMV-resistant strains.

Methods: Forty-five patients with acute hepatitis B were studied. Hepatitis B virus (HBV) subgenotypes and LMV-resistance mutations were determined by direct sequencing of the preS and polymerase regions, respectively.

Results: HBV subgenotypes A2 ($n = 18$), B1 ($n = 1$), B2 ($n = 3$), B3 ($n = 2$), C1 ($n = 1$), C2 ($n = 19$) and C6 ($n = 1$) were detected in patients with acute hepatitis. LMV-resistance mutations were detected in two patients. LMV-resistance mutations (L180M, M204I) were detected in a patient with subgenotype C2 who had acute self-limited hepatitis. The other patient with LMV-resistance mutations (L180M, M204V) was infected with subgenotype A2 and had severe hepatitis.

Conclusion: LMV-resistant strains are rare, but they are starting to be found in patients with acute hepatitis B. Surveillance for detecting drug-resistant HBV strains would be important for clinical practice.

Introduction

Approximately 350 million people worldwide are infected with hepatitis B virus (HBV).¹ HBV infection causes a variety of clinical courses, such as self-limited acute hepatitis, fulminant hepatic failure, chronic hepatitis, and progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma.² Therefore, HBV infection is one of the most important global health problems. Most countries have performed universal vaccination to prevent HBV infection, but only high-risk groups, such as health-care workers and household contacts of HBV carriers, have received HBV vaccination in Japan.³ Therefore, acute hepatitis is still a major problem in Japan. The frequencies of HBV strains that are rare in Japan have increased among Japanese patients with acute hepatitis B.^{4–6} The distributions of the HBV strains in acute hepatitis are variable due to the changing social environment. Along the same lines, a study investigated acute hepatitis B induced by lamivudine (LMV)-resistant HBV strains, but acute hepatitis caused by an LMV-resistant strain has not been found, and the clinical impact of LMV-resistant strains on acute hepatitis is still unknown.⁷ Surveillance of HBV strains associated with acute hepatitis B has been continued, and LMV-

resistant strains have begun to be detected in patients with acute hepatitis B. Thus, the present study reports the clinical characteristics of patients in Japan with acute hepatitis B caused by LMV-resistant HBV strains.

Materials

Forty-five Japanese patients with acute hepatitis B who were treated at Nagoya University Hospital, Ogaki Municipal Hospital, Tosei Hospital, Yokkaichi Hospital, and Fujita Health University Hospital were enrolled in this study between January 2006 and September 2008. The patients were 37 men and eight women, with a mean age of 38.6 ± 12.9 years (range, 18–84 years). There were no patients who had received HBV vaccine. Acute hepatitis B was diagnosed as follows. Each patient had high titers of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and immunoglobulin (Ig)M class antibody against HBV core antigen, elevated serum levels of alanine aminotransferase and absence of antibodies against other causative viruses, such as hepatitis A virus, hepatitis C virus, Epstein-Barr virus and cytomegalovirus. It was necessary to discriminate

between initial HBV infection and acute onset or reactivation of chronic HBV infection. Thus, serum HBsAg levels noted in previous medical records, blood donation screening, labor and delivery screening, or employment health screening, were obtained or were followed until negative of HBsAg and/or positive of hepatitis B surface antibody (HBsAb). No patients were using chemotherapeutic and immune modulating agents involved in HBV reactivation. Informed consent was obtained from all patients, and the study was carried out in accordance with the 1975 Helsinki Declaration. Serum was stored at -80°C for virological examinations.

Assay methodology

Hepatitis B virus DNA was isolated from peripheral blood with a QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany). Nested polymerase chain reaction (PCR) analysis and direct sequencing of the preS, polymerase and precore/core regions were performed as reported previously.⁷ In brief, each 50- μL PCR reaction contained 100 nM each primer, 1 ng template DNA, 5 μL GeneAmp 10 \times PCR buffer, 2 μL deoxyribonucleotide triphosphate and 1.25 U AmpliTaq Gold (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Primers were: preS region sense 5'-TCACCTATTCT TGGGAACAAGA-3' and antisense 5'-GGCACTAGTAAACTG AGCCA-3'; polymerase region, sense 5'-CCTGCTGGTGGCT CCAGTTC-3' and antisense 5'-GGTTGAGTCAGCAAACAC ACTTG-3'; and precore/core region, sense 5'-ATGTCGACAA CCGACCTTGA-3' and antisense 5'-GTATGGTGAGGTGAAC AATG-3'. Amplification conditions consisted of 5 min at 94°C followed by 40 cycles of 94°C for 30 s, 55°C for 30 s and 72°C for 1 min in a thermal cycler (GeneAmp PCR System 9700; Applied Biosystems). The second PCR was done in the same reaction buffer with the first-round PCR product as template and the following sets of primers: preS region, sense 5'-TCACCTATTCTT GGGACAAGA-3' and antisense 5'-AGAAGATGAGGCATAG CAGC-3'; and polymerase region, sense 5'-GGATGTGTCTGC GGCGTTT-3' and antisense 5'-ACCCCATCTTTTGTGTTT TTAGG-3'. PCR products were detected by electrophoresis on 2% agarose gels, stained with ethidium bromide and visualized under ultraviolet light. PCR products were then purified and sequenced with the second-round PCR primers with a dye terminator sequencing kit (BigDye Terminator ver. 1.1 Cycle Sequencing Kit; Applied Biosystems) and an ABI 310 DNA Sequencer (Applied Biosystems). The neighbor-joining method⁸ was used for phylogenetic analysis of the preS region to identify HBV subgenotypes. The bootstrap test with 1000 replicates was performed to confirm the reliability of the phylogenetic tree.⁹

Results

The results of the phylogenetic analyses of HBV subgenotypes of the 41 patients are shown in Figure 1. The HBV subgenotypes A2 ($n = 18$), B1 ($n = 1$), B2 ($n = 3$), B3 ($n = 2$), C1 ($n = 1$), C2 ($n = 19$) and C6 ($n = 1$) were detected. The prevalence of subgenotype A2 was increased, as previously reported. LMV resistance-associated mutations were detected within the HBV polymerase region (positions 116–214) by direct sequencing. Alignment of the amino acid sequence of the HBV polymerase region with LMV resistance-associated mutations was analyzed, and LMV-associated mutations could be detected in two patients at acute hepatitis onset.

LMV-resistance mutations (L180M, M204I) were detected in a patient with subgenotype C2. The other patient with subgenotype A2 had LMV-resistance mutations (L180M, M204V). There were no resistant HBV mutants for other nucleoside/nucleotide analogs such as V173L, L180M or M204V/I. The clinical and virological characteristics of patients with LMV-resistant HBV strains are summarized in Table 1.

Discussion

Hepatitis B virus reverse transcriptase is an error-prone enzyme without proofreading capacity, and it is easy for frequent mutations to occur during viral replication. As a result, there are many well-known mutations that are associated with the pathogenesis of HBV infection.¹⁰ LMV-resistant strains that have mutations in the polymerase region are induced by long-term administration of LMV.^{11,12} LMV had been used widely for treatment for chronic hepatitis B and was available from 2000 in Japan. LMV-resistant strains have emerged in patients with chronic hepatitis. However, the prevalence and clinical impact of LMV-resistant strains in patients with acute hepatitis B are unknown. Thus, surveillance of LMV-resistant strains associated with acute hepatitis B had been conducted, but LMV-resistant strains could not be detected in 2006.⁷ The possibility of acute hepatitis B caused by LMV-resistant strains exists, and the surveillance has continued. Of 45 patients with acute hepatitis, two were found to have LMV-associated mutations. We previously hypothesized that LMV-resistant strains may not have enough power to cause acute hepatitis. However, the present study demonstrated that LMV-resistant strains would have infectivity and would be capable of causing acute hepatitis. Less opportunity for infection may explain why previous studies failed to find acute hepatitis caused by LMV-resistant strains.

The infectious source of the LMV-resistant strains could not be confirmed. The subgenotypes of the patients infected with LMV-resistant strains were subgenotype A1 and C2, respectively. The patient infected with subgenotype C2 plus LMV-resistant strain had a history of sex with a prostitute 1 month before admission. Subgenotype C2 was the predominant subgenotype found in Japanese patients with chronic hepatitis B.^{7,13–15} The infectious source would be a chronic hepatitis patient who developed resistant HBV mutants during long-term LMV treatment. The route of infection for the other patient with subgenotype A2 was unknown. HBV subgenotype A2 has been rarely reported in Japanese patients with chronic hepatitis B. However, subgenotype A2 has been increasing and has become responsible for the majority of patients with acute hepatitis B.^{4,7,16} This study also confirmed that HBV subgenotype A2 has become widespread among Japanese patients with acute hepatitis. However, the origin of subgenotype A2 with an LMV-resistant mutation is not clear. The possibility of it coming from a patient with chronic hepatitis B is low, because subgenotype A2 is rarely found in Japanese patients with chronic hepatitis B who receive long-term LMV treatment. The other possible infectious source is a patient co-infected with HIV. Nucleoside/nucleotide analogs (NA) such as LMV were effective for both HBV and HIV. NA were used not only for treatment of HBV but also for treatment of HIV, and LMV-resistant strains have been reported.¹⁷ HBV genotype A and HIV co-infection have been found among male

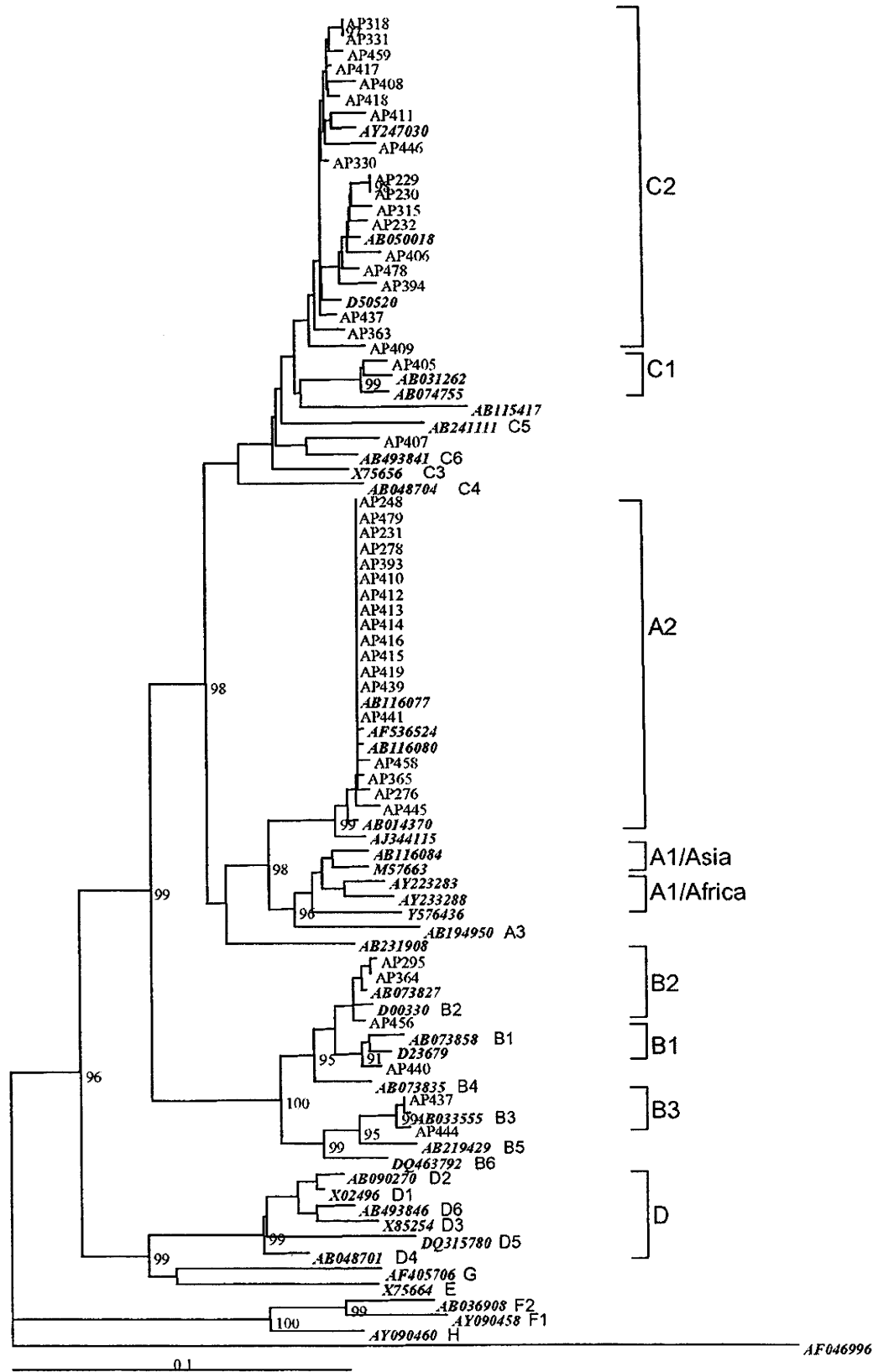


Figure 1 Results of phylogenetic analysis of 45 sequences from the preS region of hepatitis B virus (HBV) of acute hepatitis patients and 42 reference strains from a database and shown by accession number. Strains isolated from patients with acute hepatitis are indicated as AP. Phylogenetic analysis was performed by the neighbor-joining method with Woolly monkey HBV (AF046996) as out-group. Percentages of bootstrap values greater than 90% are shown on the nodes. The scale bar indicates genetic distance.

Table 1 Clinical characteristics

	Case 1	Case 2
Age (years)	32	32
Sex	Male	Male
ALT (IU/L)	4429	2820
AST (IU/L)	2709	1620
T Bil (mg/dL)	3.0	4.1
HBeAg	Positive	Positive
HBV (log copies/mL)	5.2	7.4
BCP1762/1764	T/A	A/G
PC1896	G	G
Route	STD	Unknown
Subgenotype	C2	A2

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; HBeAg, hepatitis B e-antigen; HBV, hepatitis B virus; STD, sexually transmitted disease; T Bil, total bilirubin.

patients who have sex with men in Japan.¹⁸ Because the patient infected with subgenotype A2 that was LMV-resistant was not co-infected with HIV, this was also inconclusive. The other possibility was that the infectious source could have been a foreign patient with subgenotype A2 in whom an LMV-resistant strain emerged. This study has the following limitations: a small number of patients, patients without symptom were not recruited, the identification of the infectious source. Thus, further studies such as a nationwide survey including blood banks to investigate asymptomatic patients, the need to make conclusion of the prevalence of patients with acute hepatitis B induced by LMV-resistant strains in Japan.

The patient with LMV-resistant mutations with subgenotype C2 developed self-limited hepatitis, while the other patient with LMV-resistant mutations with subgenotype A1 developed severe acute hepatitis. Basal core promoter (BCP) and precore (PC) variants have been shown to be associated with the severity of the clinical course of acute hepatitis. In particular, mutations at BCP/PC of HBV subgenotype C2 and B1 can increase the risk of progression to fulminant hepatic failure. The clinical impacts of basal core promoter and precore variants in other genotypes are unclear.^{7,16} In the present study, both patients with acute hepatitis caused by LMV-resistant strains had wild-type BCP/PC variants. The wild-type BCP/PC variants were linked with mild self-limited hepatitis in the patient with subgenotype C2. The clinical impact of LMV-resistant strains on acute hepatitis appears to be not serious for subgenotype C2. Meanwhile, the mutations in the BCP/PC regions were not associated with the severity of acute hepatitis in the patient with subgenotype A2. Therefore, LMV-resistant mutations in subgenotype A2 might be associated with the severity of the clinical course. However, the present sample size was too small to allow evaluation of the clinical course in acute hepatitis B with LMV-resistant strains and to determine whether LMV-resistant strains have different effects on each subgenotype. Further studies are needed to clarify the influence of LMV-resistant strains on the clinical course of acute hepatitis B.

Lamivudine has begun to be used to treat patients with acute hepatitis to prevent progression to fulminant hepatic failure or chronic hepatitis. Some reports have shown the safety and effectiveness of LMV for the treatment of acute hepatitis B.^{19,20}

However, one clinical study that has been published did not confirm its efficacy.²¹ Thus, the administration of LMV in acute hepatitis B is controversial. The use of LMV for all acute hepatitis was not of benefit and was not recommended for use in all patients. However, selected patients who have a high risk for progression to fulminant hepatic failure and chronic infection may benefit from LMV to prevent disease progression. There is a small possibility that acute hepatitis B can be caused by LMV-resistant strains, but previous studies did not consider LMV-resistant strains before they started to use LMV. Caution must be exercised when determining whether LMV should be used to treat acute hepatitis B because of the possibility of the development of LMV-resistant strains. In the present study, the patient with LMV-resistant mutations who progressed to severe hepatitis was treated with LMV and steroid. Despite the limited efficacy of LMV in suppressing viral replication of LMV-resistant strains, this patient recovered from severe acute hepatitis. Patients with severe acute hepatitis have a high risk for progression to fatal liver failure. However, patients not treated with LMV may have a full recovery and not progress to fulminant liver failure, either because of the efficacy of other treatment, such as steroid, or because the patients' immune reaction could clear the HBV infection. It is difficult to judge the clinical role of LMV-resistant strains in acute hepatitis based on this case. The present study included insufficient information about the magnitude of screening for LMV-resistant strains in acute hepatitis.

Lamivudine is associated with a high incidence of resistance.²² Thus, the first-line agent for HBV infection has been changed from LMV to adefovir or entecavir because of their powerful antiviral effect and the lower likelihood of drug resistance mutations emerging. The emergence of drug resistance during long-term adefovir or entecavir therapy in chronic hepatitis B was not frequent compared to that with LMV.^{23,24} With adefovir or entecavir, the incidence of LMV-resistant strains would be remarkably decreased, but the risk for other HBV drug-resistant strains still remains. Clinical use of anti-HBV agents such as adefovir, entecavir, telbivudine, clevudine and tenofovir has started, and multiple anti-HBV drug-resistant strains could occur in patients undergoing long-term treatment in the near future. Therefore, maintaining surveillance to detect drug-resistant strains of HBV may have a small impact, but it is important for clinical practice.

In conclusion, LMV-resistant mutations were previously rare but now appear to be prevalent among patients in Japan with acute hepatitis B. LMV-resistant strains must be considered in patients with acute hepatitis B.

References

- 1 Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection. *Lancet Infect. Dis.* 2002; 2: 395–403.
- 2 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection—natural history and clinical consequences. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 1118–29.
- 3 Zanetti AR, Van Damme P, Shouval D. The global impact of vaccination against hepatitis B: A historical overview. *Vaccine* 2008; 26: 6266–73.
- 4 Kobayashi M, Suzuki F, Arase Y *et al.* Infection with hepatitis B virus genotype A in Tokyo, Japan during 1976 through 2001. *J. Gastroenterol.* 2001; 39: 844–50.