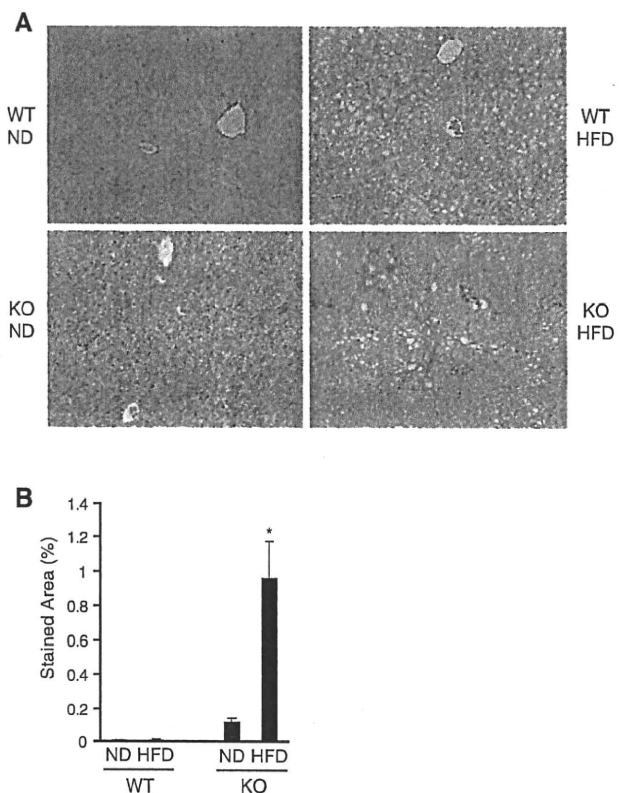


**Fig. 4** Involvement of CD4 T and/or CD8 T cells in liver inflammation. Livers were obtained from wild-type (WT) and *Jα18*-deficient (KO) mice fed either a normal diet (ND) or a high-fat diet (HFD) for 5 weeks. **a** Prepared mononuclear cells from the livers were stained with cell markers indicated in “Materials and methods”. Proportions of the indicated cell population were analyzed by flow cytometry. Data shown are means  $\pm$  SEM from five mice in each group. Data are representative of more than four independent experiments. §, not detected. \* $P < 0.05$  versus KO fed ND. **b** Liver sections were analyzed by immunohistochemical staining for CD4- or CD8-positive cells. Representative images are shown ( $\times 200$ )

H&E-stained liver sections of KO mice. WT mice fed either the ND or HFD did not display such foci consisting of stained cells in the livers. Collectively, these results suggested that CD4 T and/or CD8 T cells played a role in the HFD-enhanced liver inflammation in KO mice.

The HFD led to the development of liver fibrosis in the absence of iNKT cells

Persistent hepatic inflammation causes fibrotic changes in the liver [25]. To investigate whether inflammation with steatosis due to the HFD in KO mice would induce fibrosis in the liver, we fed the ND or HFD to WT and KO mice for a longer period of 15 weeks. H&E staining and Oil-red-O staining showed that KO mice fed the HFD possessed the inflammatory foci, together with lipid retention in the liver, at week 15, as well as showing these findings at week 5,



**Fig. 5** Liver fibrosis following inflammation in the absence of iNKT cells. Livers were obtained from wild-type (WT) and *Jα18*-deficient (KO) mice fed either a normal diet (ND) or a high-fat diet (HFD) for 15 weeks. **a** Liver tissues were stained with Sirius-Red to assess liver fibrosis. Representative images are shown ( $\times 200$ ). **b** The stained areas were evaluated in five different fields per section. Data shown are means  $\pm$  SEM from five mice in each group. Data are representative of more than two independent experiments. \* $P < 0.05$  versus KO fed ND

and that WT mice fed the HFD showed lipid retention, but few inflammatory foci, in the liver at week 15 (data not shown). Sirius-Red staining revealed clear fibrosis in the livers from KO mice fed the HFD and also in the livers from KO mice fed the ND, but to a much lesser extent (Fig. 5a). In contrast, the staining showed no obvious fibrosis in the livers from WT mice fed the HFD or in those given the ND. Quantitative analyses to evaluate the stained areas also showed that the HFD-fed KO mice possessed significantly greater areas of hepatic fibrosis than the ND-fed KO mice, while WT mice fed either the ND or HFD had few fibrotic areas (Fig. 5b). Taken together, these results indicated that the HFD led to the development of liver fibrosis accompanied by steatohepatitis in KO mice.

## Discussion

An increasing amount of evidence suggests that iNKT cells play a role in immune responses in the liver [12], although

the exact implication of that role is controversial. iNKT cells, for instance, have been reported to play a critical role in animal models of liver injury induced by concanavalin A,  $\alpha$ -galactosylceramide, or salmonella infection [26–28], suggesting a proinflammatory role of these cells. On the other hand, iNKT cells have been very recently implicated in the suppression of liver damage in a mouse model of cholestasis [29], suggesting an anti-inflammatory role of these cells. The present study, using iNKT cell-deficient mice fed an HFD, demonstrated that the HFD led to the development of steatohepatitis with fibrosis in the absence of iNKT cells, while the HFD led to steatosis but not steatohepatitis in the presence of these cells. This suggests that iNKT cells play a critical role in suppressing the development of inflammation and fibrosis in the steatotic liver.

Our real-time RT-PCR analyses demonstrated that CCL2, CCL4, CXCL9, and CXCL10 were remarkably upregulated by the HFD in KO mice but not in WT mice (Fig. 3). CCL2 or CCL4 has the ability to attract predominantly Th1 cells via chemokine (C–C motif) receptor 2 or 5, respectively. CXCL9 and CXCL10 also attract predominantly Th1 cells via chemokine (C–X–C motif) receptor 3 [30, 31]. Indeed, Th1 cytokines such as TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  were remarkably upregulated by the HFD in KO mice but not in WT mice. Although IL-10, which is one of the anti-inflammatory cytokines, was also upregulated by the HFD in KO mice but not in WT mice, the upregulation of IL-10 may have counteracted the upregulation of the proinflammatory Th1 cytokines TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ . Our flow cytometric analyses and immunohistochemical analyses showed that the proportions of CD4 T and CD8 T cells were increased (Fig. 4a) and that these cells also accumulated to form foci (Fig. 4b) in the livers of KO mice fed the HFD. Bigorgne et al. [32] reported that HFD-induced obesity in leptin-deficient ob/ob mice rendered hepatic mononuclear cells, particularly CD4 T and CD8 T cells, sensitive to chemokines such as CXCL12 and CXCL13, which attract T cells, suggesting an important role of chemokines in liver inflammation with steatosis. Although the sources of the chemokines upregulated in our model were not clear, these chemokines presumably play an important role in the infiltration of proinflammatory cells in the liver of the KO mice fed the HFD. iNKT cells suppress the production of these chemokines directly or indirectly; thus, they may prevent steatohepatitis induced by an HFD.

The liver can be anatomically exposed to gut-derived contents, such as food antigens and bacterial products, via the portal vein [33, 34]. Once these entities flow into the liver, they can activate a variety of cells in the liver, which may be associated with certain types of liver disease [33, 34]. Gut-derived food-antigens can activate T cells [33] and gut-derived bacterial products can stimulate all resident

cells in the liver, such as hepatocytes, Kupffer cells, stellate cells, and dendritic cells, via toll-like receptors [33–36]. Moreover, fat itself, particularly saturated fatty acids, stimulates an immune response in the liver [37, 38]. On the other hand, the liver is an immune-tolerogenic organ, in which immune-suppressive cells may play a critical role to keep this organ immunologically silent [33]. The present study demonstrated that liver inflammation was greatly exacerbated—where CD4 T and/or CD8 T cells infiltrated to form foci surrounding damaged hepatocytes—by an HFD in the absence of iNKT cells. This suggests a suppressive role of iNKT cells in the development of liver inflammation with steatosis. Thus, iNKT cells may play an important role in keeping the liver immunologically silent, and the absence of iNKT cells together with steatosis may elicit a break of hepatic immune tolerance, resulting in the activation of CD4 T and/or CD8 T cells to provoke liver inflammation. Consistent with this speculation is the observation that the absence of iNKT cells, even without steatosis, caused modest liver inflammation.

In conclusion, iNKT cells suppress liver inflammation progressing to fibrosis that is exacerbated by HFD-induced steatosis, thus contributing to the maintenance of immune homeostasis in the liver. This study has shed some light on iNKT cells as immunoregulatory cells and their key role in the pathogenesis of NAFLD.

**Acknowledgments** The authors thank Drs. Masaru Taniguchi and Ken-ichiro Seino for providing  $\alpha$ 18-deficient BALB/c mice. This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (to T. Takehara) and Global Centers of Excellence Program (to T. Miyagi) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

## References

1. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2002;346:1221–31.
2. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;122:1649–57.
3. Maher JJ, Leon P, Ryan JC. Beyond insulin resistance: Innate immunity in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2008;48:670–8.
4. Tilg H, Diehl AM. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2000;343:1467–76.
5. Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:297–336.
6. Godfrey DI, Kronenberg M. Going both ways: immune regulation via CD1d-dependent NKT cells. *J Clin Invest*. 2004;114:1379–88.
7. Trobonjaca Z, Leithäuser F, Möller P, Schirmbeck R, Reimann J. Activating immunity in the liver. I. Liver dendritic cells (but not hepatocytes) are potent activators of IFN-gamma release by liver NKT cells. *J Immunol*. 2001;167:1413–22.
8. Winau F, Hegasy G, Weiskirchen R, Weber S, Cassan C, Sieling PA, et al. Ito cells are liver-resident antigen-presenting cells for activating T cell responses. *Immunity*. 2007;26:117–29.



9. Matsuda JL, Mallevaey T, Scott-Browne J, Gapin L. CD1d-restricted iNKT cells, the 'Swiss-Army knife' of the immune system. *Curr Opin Immunol*. 2008;20:358–68.
10. Matsuda JL, Naidenko OV, Gapin L, Nakayama T, Taniguchi M, Wang CR, et al. Tracking the response of natural killer T cells to a glycolipid antigen using CD1d tetramers. *J Exp Med*. 2000;192:741–54.
11. Miyagi T, Takehara T, Tatsumi T, Kanto T, Suzuki T, Jinushi M, et al. CD1d-mediated stimulation of natural killer T cells selectively activates hepatic natural killer cells to eliminate experimentally disseminated hepatoma cells in murine liver. *Int J Cancer*. 2003;106:81–9.
12. Exley MA, Koziel MJ. To be or not to be NKT: natural killer T cells in the liver. *Hepatology*. 2004;40:1033–40.
13. Norris S, Doherty DG, Collins C, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, et al. Natural T cells in the human liver: cytotoxic lymphocytes with dual T cell and natural killer cell phenotype and function are phenotypically heterogeneous and include Valpha24-JalphaQ and gammadelta T cell receptor bearing cells. *Hum Immunol*. 1999;60:20–31.
14. Guebre-Xabier M, Yang S, Lin HZ, Schwenk R, Krzych U, Diehl AM. Altered hepatic lymphocyte subpopulations in obesity-related murine fatty livers: potential mechanism for sensitization to liver damage. *Hepatology*. 2000;31:633–40.
15. Li ZP, Soloski MJ, Diehl AM. Dietary factors alter hepatic innate immune system in mice with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;42:880–5.
16. Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. *J Hepatol*. 2008;49:821–30.
17. Miyazaki Y, Iwabuchi K, Iwata D, Miyazaki A, Kon Y, Niino M, et al. Effect of high fat diet on NKT cell function and NKT cell-mediated regulation of Th1 responses. *Scand J Immunol*. 2008;67:230–7.
18. Xu CF, Yu CH, Li YM, Xu L, Du J, Shen Z. Association of the frequency of peripheral natural killer T cells with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2007;13:4504–8.
19. Tajiri K, Shimizu Y, Tsuneyama K, Sugiyama T. Role of liver-infiltrating CD3+ CD56+ natural killer T cells in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21:673–80.
20. Elinav E, Pappo O, Sklair-Levy M, Margalit M, Shibolet O, Gomori M, et al. Adoptive transfer of regulatory NKT lymphocytes ameliorates non-alcoholic steatohepatitis and glucose intolerance in ob/ob mice and is associated with intrahepatic CD8 trapping. *J Pathol*. 2006;209:121–8.
21. Cui J, Shin T, Kawano T, Sato H, Kondo E, Taura I, et al. Requirement for Valpha14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors. *Science*. 1997;278:1623–6.
22. Harada M, Magara-Koyanagi K, Watarai H, Nagata Y, Ishii Y, Kojo S, et al. IL-21-induced Bepsilon cell apoptosis mediated by natural killer T cells suppresses IgE responses. *J Exp Med*. 2006;203:2929–37.
23. Miyagi T, Takehara T, Tatsumi T, Suzuki T, Jinushi M, Kanazawa Y, et al. Concanavalin A injection activates intrahepatic innate immune cells to provoke an antitumor effect in murine liver. *Hepatology*. 2004;40:1190–6.
24. Kamada Y, Matsumoto H, Tamura S, Fukushima J, Kiso S, Fukui K, et al. Hypoadiponectinemia accelerates hepatic tumor formation in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model. *J Hepatol*. 2007;47:556–64.
25. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008;134:1655–69.
26. Ishigami M, Nishimura H, Naiki Y, Yoshioka K, Kawano T, Tanaka Y, et al. The roles of intrahepatic Valpha14(+) NK1.1(+) T cells for liver injury induced by Salmonella infection in mice. *Hepatology*. 1999;29:1799–808.
27. Kaneko Y, Harada M, Kawano T, Yamashita M, Shibata Y, Gejyo F, et al. Augmentation of Valpha14 NKT cell-mediated cytotoxicity by interleukin 4 in an autocrine mechanism resulting in the development of concanavalin A-induced hepatitis. *J Exp Med*. 2000;191:105–14.
28. Osman Y, Kawamura T, Naito T, Takeda K, Van Kaer L, Okumura K, et al. Activation of hepatic NKT cells and subsequent liver injury following administration of alpha-galactosylceramide. *Eur J Immunol*. 2000;30:1919–28.
29. Wintermeyer P, Cheng CW, Gehring S, Hoffman BL, Holub M, Brossay L, et al. Invariant natural killer T cells suppress the neutrophil inflammatory response in a mouse model of cholestatic liver damage. *Gastroenterology*. 2009;136:1048–59.
30. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol*. 2004;25:677–86.
31. Moser B, Wolf M, Walz A, Loetscher P. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol*. 2004;25:75–84.
32. Bigorgne AE, Bouchet-Delbos L, Naveau S, Dagher I, Prévot S, Durand-Gasselini I, et al. Obesity-induced lymphocyte hyperresponsiveness to chemokines: a new mechanism of fatty liver inflammation in obese mice. *Gastroenterology*. 2008;134:1459–69.
33. Crispe IN. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:51–62.
34. Gao B, Jeong WI, Tian Z. Liver: an organ with predominant innate immunity. *Hepatology*. 2008;47:729–36.
35. Paik YH, Schwabe RF, Batailler R, Russo MP, Jobin C, Brenner DA. Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2003;37:1043–55.
36. Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, et al. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med*. 2007;13:1324–32.
37. Lee JY, Hwang DH. The modulation of inflammatory gene expression by lipids: mediation through Toll-like receptors. *Mol Cells*. 2006;21:174–85.
38. Lee JY, Zhao L, Hwang DH. Modulation of pattern recognition receptor-mediated inflammation and risk of chronic diseases by dietary fatty acids. *Nutr Rev*. 2010;68:38–61.

&lt;原 著&gt;

## アデホビルによる腎障害の検討

小関 至\* 狩野 吉康 赤池 淳 木村 陸海 荒川 智宏  
 中島 知明 桑田 靖昭 大村 卓味 佐藤 隆啓 豊田 成司

要旨：アデホビルは容量依存性に腎障害を生じることが知られており、現在では10 mg/日が適正使用量とされた。この投与量を遵守しても長期投与では一定の割合で腎障害が出現することが海外より示されているが、本邦におけるアデホビルの腎機能に与える影響については未だ不明である。今回、われわれは3年以上継続投与できた核酸アナログ投与例、3年以上経過観察可能であったHBV無症候性キャリア（無治療例）を対象とし、腎障害のモニターとして頻用される血清クレアチニン値と推算糸球体濾過量の推移を検討した。併せて腎障害出現例におけるアデホビル隔日投与変更後の臨床経過を追記した。アデホビル投与例では非投与例・無治療例と比較して血清クレアチニン上昇、推算糸球体濾過量低下量が有意に大きかった（ $p < 0.001$ ）。ロジステック回帰分析ではアデホビル投与有りがオッズ比6.6倍で推算糸球体濾過量20%以上低下を来す有意の因子として抽出された。腎障害によりアデホビルを隔日投与に変更した症例では緩徐に血清クレアチニン値は低下し、腎障害は可逆的であることが示された。

索引用語：アデホビル 腎障害 ラミブジン耐性ウイルス 血清クレアチニン  
 推算糸球体濾過量

## はじめに

ラミブジン（Lamivudine；LAM）はB型慢性肝疾患に対して1日1回の経口投与で強力な抗ウイルス効果が得られる薬剤であり、臨床応用後、全世界中で瞬く間に投与された。一方で長期投与に伴い耐性ウイルスの出現に伴う肝炎の再燃が認められた<sup>1)~3)</sup>が、このLAM耐性ウイルスにはアデホビル（Adefovir dipivoxil；ADV）が有効であることが示された<sup>4)~6)</sup>。本邦では第3の核酸アナログ製剤としてエンテカビル（Entecavir；ETV）が2006年に承認された。ETVは既存のアナログ製剤と比較して抗ウイルス効果が強力で薬剤耐性出現が稀である<sup>7)~9)</sup>が、一方でLAM耐性ウイルスに使用するとETVの耐性出現率が増加することが報告された<sup>9)</sup>。本邦のガイドラインではLAM耐性例に対するETVの投与は推奨されていない<sup>10)</sup>ので、ETV登場後もADVは基本的にはLAM耐性例にのみ併用投与されているのが現状であろう。

ADVによる副作用として用量依存性に腎障害が出現することが示されている<sup>11)12)</sup>。本邦では有効性と安全性を考慮して適正投与量は10 mg/日とされた。しかしこの投与量の設定はADV 48~96週投与の成績が基礎データとなっており、長期の10 mg/日の投与による腎障害の頻度は不明であった。最近、ADV長期投与例で腎障害の頻度が増加することが海外より報告されている<sup>13)~15)</sup>が、本邦におけるADVの腎機能に与える影響についてはまとまった成績が示されていない。今回われわれは3年以上経過観察が可能であったADV投与例とADV以外の核酸アナログ投与例、および無治療で3年以上経過観察可能であった無症候性キャリア例を対象として、血清クレアチニン値（Serum creatinine；Scr）と推算糸球体濾過量（estimated glomerular filtration rate；eGFR）の推移について比較検討を行ったので報告する。

## 対象と方法

2000年11月より2007年5月まで当院においてB型慢性肝疾患に対して核酸アナログ製剤を3年以上継続投与した216例を対象とした。同じく3年以上経過観察可能であった核酸アナログ製剤が投与されてい

札幌厚生病院消化器科

\*Corresponding author: 3767759101@jcom.home.ne.jp

&lt;受付日2010年9月9日&gt;&lt;採択日2010年12月22日&gt;

Table 1 Baseline Characteristics

| Factors                              | HBV Carrier (A) | Not receiving ADV (B) |             |             |             | Treated with ADV (C)<br>ADV added to ongoing LAM | p-value |        |        |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------------|-------------|-------------|-------------|--|---------|--------|--------|
|                                      |                 | LAM                   | ETV naive   | LAM → ETV   | Total NAs   |  | A vs B  | A vs C | B vs C |
| Number of patients                   | 47              | 40                    | 33          | 71          | 144         | 72   |         |        |        |
| Male sex                             | 28 (59.6%)      | 28 (70.0%)            | 23 (69.7%)  | 52 (73.2%)  | 103 (71.5%) | 54 (75.0%)                                       | 0.125   | 0.075  | 0.519  |
| Age, years                           | 57.4 ± 13.1     | 55.5 ± 10.4           | 51.9 ± 13.2 | 54.3 ± 11.1 | 54.1 ± 11.5 | 55.5 ± 10.4                                      | 0.062   | 0.098  | 0.996  |
| Body mass index, kg/m <sup>2</sup>   | 22.2 ± 3.8      | 23.7 ± 3.9            | 24.5 ± 3.4  | 23.5 ± 2.9  | 23.6 ± 3.3  | 23.8 ± 3.1                                       | 0.055   | 0.033  | 0.994  |
| HBeAg-positive                       | 4 ( 8.5%)       | 12 (42.9%)            | 12 (36.4%)  | 15 (21.1%)  | 39 (27.1%)  | 41 (56.9%)                                       | 0.014   | <0.001 | <0.001 |
| Cirrhosis                            | 4 ( 8.5%)       | 16 (40.0%)            | 6 (18.2%)   | 18 (25.4%)  | 40 (27.8%)  | 39 (54.2%)                                       | 0.012   | <0.001 | <0.001 |
| Hypertension                         | 7 (14.9%)       | 6 (15.0%)             | 5 (15.2%)   | 9 (12.7%)   | 20 (13.9%)  | 16 (22.2%)                                       | 0.864   | 0.322  | 0.133  |
| Diabetes mellitus                    | 4 ( 8.5%)       | 4 (10.0%)             | 1 ( 3.0%)   | 6 ( 8.5%)   | 11 ( 7.6%)  | 6 ( 8.3%)  | 0.905   | 0.761  | 0.858  |
| HBV DNA, log <sub>10</sub> copies/ml | 3.3 ± 1.7       | 6.5 ± 1.2             | 6.2 ± 1.5   | 6.2 ± 1.3   | 6.3 ± 1.3   | 6.5 ± 1.5  | <0.001  | <0.001 | 0.541  |
| Treatment duration, months           |                 | 59 (36-88)            | 38 (36-41)  | 50 (36-95)  | 45 (36-95)  | 47 (35-83)                                       |         |        | 0.125  |

Value are expressed as the mean ± standard deviation, number of patients (%)

ADV; adefovir dipivoxil, LAM; lamivudine, ETV; entecavir, LAM → ETV; switched from lamivudine to entecavir,

NAs; nucleotide analogues

いB型肝炎の無症候性キャリア47例をコントロールとした。なお、無症候性キャリアはALT40IU/L未満、HBs抗原陽性例とした。核酸アナログ製剤はLAM, ADV, ETVの3製剤を使用し、ADVはLAMに併用する形で投与した。1日投与量は添付文書に従い、LAM100mg, ADV10mg, ETV0.5mgとした。

216例中、LAMとADV併用療法を行った72例をADV併用群と定義した。ADV併用群のADV投与期間の中央値は47カ月で、ADV投与開始時の背景因子は、男性が54例(75.0%)、平均年齢は55.5歳、平均体格指数(Body mass index; BMI)は23.8、HBe抗原陽性例が41例(56.9%)、肝硬変39例(54.2%)、高血圧症の合併は16例(22.2%)、糖尿病の合併は8例(11.1%)であった。次にLAM投与40例、ETV初回投与33例、LAMからETVに切り替えた71例の計144例をADV非投与群と定義した。ADV非投与群の治療期間の中央値は45カ月で、男性が102例(70.3%)、平均年齢は54.1歳、平均BMIは23.6、HBe抗原陽性例が39例(27.1%)、肝硬変40例(27.8%)、高血圧症の合併は22例(15.3%)、糖尿病の合併は11例(7.6%)であった(Table 1)。

核酸アナログ開始時、投与1年、2年、3年の時点におけるScrを測定し、eGFRを算出した。なお、ADV併用群はADV開始時をベースラインのデータとし、ADV投与1年前、2年前のScr, eGFRの測定を併せて行った。1年前のデータがある症例が55例、2年前では24

例で解析を行い、これらの症例ではLAMの単独投与が行われていた。Scrは酵素法で測定し、男性では0.6~1.2mg/dl、女性では0.4~0.9mg/dlが正常値である。eGFRは2008年3月に日本腎臓学会より発表された $[194 \times (\text{Scr}^{-1.094}) \times (\text{Age}^{-0.287}) \times (0.739 \text{ if female})]$ の式<sup>16)17)</sup>を用いた。ベースラインの時点でeGFR50未満を呈した症例は対象より除外した。

上述のADV併用群で7例が経過中にScr上昇のため、隔日投与へ変更した。各主治医の判断によりScr値の上限を超えないようにADVは減量された。これら7例においてADV隔日投与日を開始(start)として、その後のHBV DNAとScrの推移を経時的に追跡した。

対応のない2群の検定は、t検定、Welch検定、Fisherの直接確率検定もしくは $\chi^2$ 検定を用いた。対応する2群の検定にはpaired t検定もしくはノンパラメトリックデータの解析にはWilcoxon signed rank testを使用した。単変量解析にて $p < 0.25$ を示した因子に対して多変量解析(ロジステック回帰分析)を行った。統計処理はSPSSを使用し、 $p < 0.05$ を有意とした。

### 結 果

ADV非投与群とADV併用群の背景因子の比較では性、年齢、BMI、糖尿病・高血圧症の合併例の割合、治療前のHBV DNA量で2群間の背景因子に差を認めなかった。一方、HBe抗原陽性例と肝硬変例の比率は

Table 2a Changes of Scr &amp; eGFR levels

|      |      | Treated with ADV |              |             | p     |
|------|------|------------------|--------------|-------------|-------|
|      |      | Two years ago    | One year ago | Baseline    |       |
| Scr  | N=55 |                  | 0.73 ± 0.13  | 0.71 ± 0.11 | 0.097 |
|      | N=24 | 0.77 ± 0.15      |              | 0.77 ± 0.15 | 0.958 |
| eGFR | N=55 |                  | 83.3 ± 14.1  | 84.9 ± 14.8 | 0.206 |
|      | N=24 | 84.0 ± 16.4      |              | 83.1 ± 16.2 | 0.583 |

Values are expressed as the mean ± standard deviation

Scr; Serum creatinine, eGFR; estimated glomerular filtration rate

Table 2b Changes of Scr &amp; eGFR levels

|      |                   | Baseline    | Year 1      | Year 2      | Year 3      |
|------|-------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Scr  | HBV carrier       | 0.71 ± 0.14 | 0.72 ± 0.14 | 0.72 ± 0.17 | 0.74 ± 0.18 |
|      | Not receiving ADV | 0.72 ± 0.15 | 0.74 ± 0.16 | 0.74 ± 0.16 | 0.74 ± 0.15 |
|      | Treated with ADV  | 0.74 ± 0.16 | 0.79 ± 0.15 | 0.82 ± 0.20 | 0.86 ± 0.29 |
| eGFR | HBV carrier       | 82.0 ± 15.4 | 80.6 ± 15.4 | 80.3 ± 16.8 | 78.7 ± 16.4 |
|      | Not receiving ADV | 85.3 ± 17.3 | 82.8 ± 17.8 | 82.1 ± 17.8 | 81.1 ± 15.9 |
|      | Treated with ADV  | 82.5 ± 15.4 | 76.4 ± 17.4 | 73.7 ± 15.6 | 71.9 ± 18.0 |

\*: p<0.05

Values are expressed as the mean ± standard deviation

Scr; Serum creatinine, eGFR; estimated glomerular filtration rate

ADV 併用群で有意に高率であった (Table 1).

ADV 併用群における ADV 併用 1 年前, 2 年前の Scr, eGFR の検討では, Scr 値の有意な増加あるいは eGFR の有意な低下は認められなかった (Table 2a). 従って LAM 単独投与による腎機能に与える影響を考慮する必要はないものと考えられた. 次にベースライン, 1 年, 2 年, 3 年後の Scr の平均値はコントロール群で 0.71, 0.72, 0.72, 0.74, ADV 非投与群で 0.72, 0.74, 0.74, 0.74, ADV 併用群で 0.74, 0.79, 0.82, 0.86 と ADV 併用群では経年的に上昇した. 投与 3 年の経過で Scr の基準値を超えた症例はコントロール群, ADV 非投与群, ADV 併用群でそれぞれ, 47 例中 0 例, 144 例中 1 例 (0.7%), 72 例中 8 例 (11.1%) と ADV 併用群で有意に高率 (p<0.001) であった. 一方で eGFR の平均値はコントロール群で 82.0, 80.6, 80.3, 78.7, ADV 非投与群で 85.3, 82.8, 82.1, 81.1 に対して, ADV 併用群では, 82.5, 76.4, 73.7, 71.9 と ADV 併用群で低下量は高値であった (Table 2b).

ベースラインを 0 とした絶対値による Scr, eGFR

の推移を Fig. 1 に示す. ADV 併用群はコントロール群, 非投与群と比較して有意に Scr は上昇し, eGFR は低下した (p<0.001). コントロール群と ADV 非投与群の推移に差を認めなかった.

次にベースラインと投与 3 年後における Scr, eGFR 値の変化量を ADV 非投与群と ADV 併用群で比較した. ベースラインの時点では Scr, eGFR の値, eGFR が 50 以上 80 未満を呈した症例の割合において ADV 非投与群と ADV 併用群の 2 群間に差を認めなかった. しかし投与 3 年後の Scr が 0.2 mg/dl 以上あるいは 0.3 mg/dl 以上上昇した症例の割合は明らかに ADV 併用群で高率であった. また, eGFR の低下率がベースラインと比較して 10% 以上あるいは 20% 以上を示した症例の割合, また, eGFR 値が 50% 未満に低下した症例の割合は ADV 併用群で有意に高率であった (Table 3).

eGFR が投与 3 年の経過で 20% 以上低下した 33 例と 20% 未満で推移した 183 例の背景因子を比較した. 患者因子として性, 年齢, 背景肝病変, BMI, 高血圧あるいは糖尿病の合併の有無, ベースラインの Scr, ADV

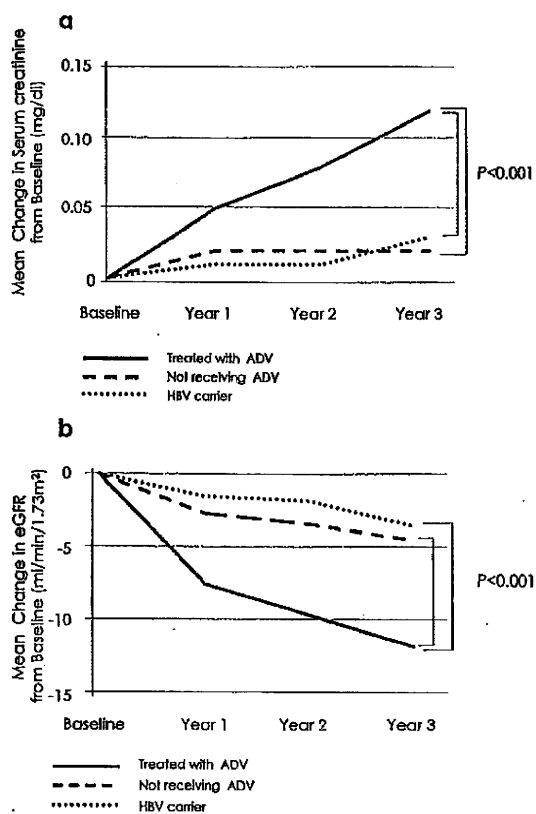


Fig. 1a and b The changes in the mean serum creatinine level and eGFR are presented. The baseline is expressed as zero (0). In the group treated with ADV, the Scr level was significantly higher than in the control and the group not receiving ADV, and the eGFR level was significantly lower ( $p < 0.001$ ). There were no significant differences in these changes between the control and not receiving ADV groups.

内服の有無を、ウイルス因子としてベースラインのHBV DNA量、HBe抗原の有無、遺伝子型を選択した。単変量解析では、年齢、背景肝病変、ADV治療の有無にて有意差が認められた。ロジスティック回帰分析ではADV治療有りがオッズ比6.6倍でeGFR 20%以上低下をきたす有意の因子として抽出された (Table 4)。これらの結果を踏まえて次にADV併用群に限定してeGFRが3年の経過で20%以上低下した23例と20%未満で推移した49例の背景因子を比較した。eGFR 20%以上低下例は20%未満の症例と比較して高齢であることが示されたが ( $p = 0.026$ )、年齢以外の因子では2群間に有意差は認めなかった (Table 5)。

Scrが異常値を呈したことによりADVを隔日投与に変更した症例が72例中7例(9.7%)存在した。男性は6例・女性1例で、年齢の中央値は57才(48-68)で慢性肝炎3例・肝硬変4例、高血圧の合併を3例で認めた。ADV投与後の期間は1年以内が1例、1~2年が2例、2~3年が2例、3年以上が2例で、中央値で26カ月(4-50)であった。ADVは男性ではScrの正常上限値である1.2 mg/dl、女性では0.9 mg/dlを目安に各主治医の判断で減量された。その結果1例では正常上限値を大きく超過してから減量となった。ADVを隔日投与に変更後、観察期間中央値で18カ月(6-26)の経過で、Scrは7例中6例で緩徐に低下した。1例は増加後1.2 mg/dl前後でプラトーとなった。また、変更後6カ月の経過でLAM耐性に加えてADVとETV耐性が確認され、ADVとETV併用療法に移行した1例を除くとHBV DNAの上昇例は認めなかった (Fig. 2)。

考 察

ADVによる腎障害の成因は、ADVが近位尿細管上皮細胞に存在するトランスポーターであるヒト有機アニオントランスポーター1(human renal organic anion transporter-1; hOAT1)によって尿細管細胞内に取り込まれ、細胞内濃度が高くなることにより尿細管障害が出現すると考えられている<sup>18)19)</sup>。ミトコンドリアDNA代謝異常を示唆する報告<sup>20)</sup>もあるがhOAT1がADVの腎排泄にどの程度関与しているのか詳細は明らかではなく不明な点も多い。ADVは尿細管分泌が競合する薬剤と併用した場合、ADVの血清中濃度が増加する可能性があるが、LAM、trimethoprim/sulfamethoxazoleおよびacetaminophen以外は、腎臓から排泄される薬剤または腎機能に影響を与える他の薬剤とADVと併用した場合の影響については検討されていない。従って、腎障害の基礎疾患を持つ患者あるいはその危険性のある患者、cyclosporine、tacrolimus、aminoglycosides、vancomycin、非ステロイド系抗炎症剤などの腎毒性のある薬剤を併用する患者については注意が喚起されている<sup>21)</sup>。最近、薬剤の排出機構を担うABCトランスポーター遺伝子群の遺伝子多型の研究の一貫として、ATP結合カセットファミリーのABCC2遺伝子の多型性がADVにおける近位尿細管の腎障害と関連することが報告されており、この遺伝子多型を検討することで、ADVによる腎障害のリスクを推測できる可能性が示された<sup>22)</sup>。ADVに類似した構造を持つTenofovir disoproxil fumarate (TDF)はADVと同様LAM耐性ウイルスに

Table 3 Renal Function of not receiving ADV and treated with ADV: Baseline Characteristics and Outcomes

| Renal Function Characteristics                      | Not receiving ADV | Treated with ADV | P value |
|---|-------------------|------------------|---------|
| Number of patients                                  | 144               | 72               |         |
| Baseline serum creatinine (mg/dL)                   | 0.72 ± 0.15       | 0.74 ± 0.14      | 0.382   |
| Baseline eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )          | 85.3 ± 17.3       | 82.5 ± 15.4      | 0.228   |
| 50 ≤ eGFR < 80                                      | 55 (38.2%)        | 31 (43.1%)       | 0.491   |
| Increase of serum creatinine by ≥ 0.2 mg/dl         | 6 (4.2%)          | 16 (22.2%)       | <0.001  |
| Increase of serum creatinine by ≥ 0.3 mg/dl         | 1 (0.7%)          | 9 (12.5%)        | <0.001  |
| Decrease of eGFR from baseline ≥ 10%                | 42 (29.2%)        | 37 (51.4%)       | 0.001   |
| ≥ 20%   | 10 (6.9%)         | 23 (31.9%)       | <0.001  |
| Decrease of eGFR by < 50 mL/min/1.73 m <sup>2</sup> | 4 (2.8%)          | 8 (11.1%)        | 0.027   |

Values are expressed as the mean ± standard deviation, number of patients (%)

Table 4 Background factors contributing to a ≥ 20% reduction in eGFR over 3 years

| Factors   | eGFR decrease of |             | Univariate Analysis P Value |
|---|------------------|-------------|-----------------------------|
|   | ≥ 20%            | < 20%       |                             |
| Number of patients  | 33               | 183         |                             |
| Age, years  | 57.6 ± 9.2       | 53.4 ± 10.8 | 0.024                       |
| Sex Male versus female                                      | 24/9             | 131/52      | 0.893                       |
| Liver disease Chronic hepatitis versus liver cirrhosis      | 15/18            | 118/65      | 0.024                       |
| Body mass index, kg/m <sup>2</sup>                          | 24.0 ± 3.6       | 23.7 ± 3.3  | 0.250                       |
| Hypertension and/or Diabetes mellitus Absent versus present | 20/13            | 139/44      | 0.066                       |
| Baseline serum creatinine, mg/dl                            | 0.68 ± 0.15      | 0.73 ± 0.15 | 0.057                       |
| HBV DNA, log <sub>10</sub> copies/ml                        | 6.56 ± 1.26      | 6.34 ± 1.39 | 0.398                       |
| HBeAg Positive versus negative                              | 18/15            | 118/65      | 0.277                       |
| Genotype Type C versus others                               | 26/6             | 154/22      | 0.341                       |
| Treated with ADV Yes versus no                              | 10/23            | 134/49      | <0.001                      |

| Multivariate logistic regression analysis |                     |         |
|---|---------------------|---------|
| Factor                                    | Odds ratio (95%CI)  | p value |
| Treated with ADV                          | 6.582 (2.690-16.11) | <0.001  |

Only variables that achieved statistical significant ( $p < 0.25$ ) on multivariate logistic regression are shown.  
CI: Confidence Interval

有効であり、多剤耐性例に対する抗ウイルス効果の強さと耐性出現が非常に稀であること<sup>23)~25)</sup>から、本邦においても今後の臨床応用が期待されている核酸アナログ製剤である。TDFはADVと同様に近位尿管の基底膜側のhOAT1により尿管細胞内に取り込まれ、ミトコンドリアDNA代謝を含めて様々な細胞内代謝を障害することで、尿管壊死と機能異常であるFanconi症候群を来すと報告されている<sup>26)~28)</sup>。従って、TDFが承認されることになれば、ADVと同様に腎機能につ

いてのモニターが必要と考えられる。

ADVは当初ヒト免疫不全ウイルス(Human immunodeficiency virus; HIV)に対して臨床応用が目指された薬剤であった。HIVに対しては効果が期待できる用量で使用すると腎障害が高率に出現し<sup>10)12)</sup>、HIV治療薬としては臨床応用に際して頓挫した経緯を持つ。B型慢性肝炎に対して行われた大規模臨床試験では、ADV 30 mg/日群では48週投与で平均0.2 mg/dlのScrの上昇が認められ、ベースラインより0.5 mg/dl以上のScrの上昇



Table 5 Background factors contributing to a  $\geq 20\%$  reduction in eGFR over 3 years in the group treated with ADV

| Factors  | eGFR decrease of |                 | p value |
|--|------------------|-----------------|---------|
|  | $\geq 20\%$      | $< 20\%$        |         |
| Number of patients   | 23               | 49              |         |
| Age, years   | 57.2 $\pm$ 6.8   | 52.6 $\pm$ 9.8  | 0.026   |
| Sex Male versus female   | 16/7             | 36/13           | 0.730   |
| Liver disease Cirrhosis Chronic hepatitis versus liver cirrhosis | 15/8             | 24/25           | 0.783   |
| Body mass index, kg/m <sup>2</sup>                               | 23.5 $\pm$ 3.6   | 24.1 $\pm$ 3.0  | 0.509   |
| Hypertension and/or Diabetes mellitus Absent versus present      | 10/13            | 14/35           | 0.211   |
| Baseline serum creatinine, mg/dl                                 | 0.70 $\pm$ 0.16  | 0.76 $\pm$ 0.13 | 0.120   |
| Baseline eGFR, mL/min/1.73 m <sup>2</sup>                        | 86.4 $\pm$ 17.4  | 80.7 $\pm$ 14.2 | 0.179   |
| Follow up, months  | 45.3 $\pm$ 13.7  | 50.3 $\pm$ 13.4 | 0.148   |

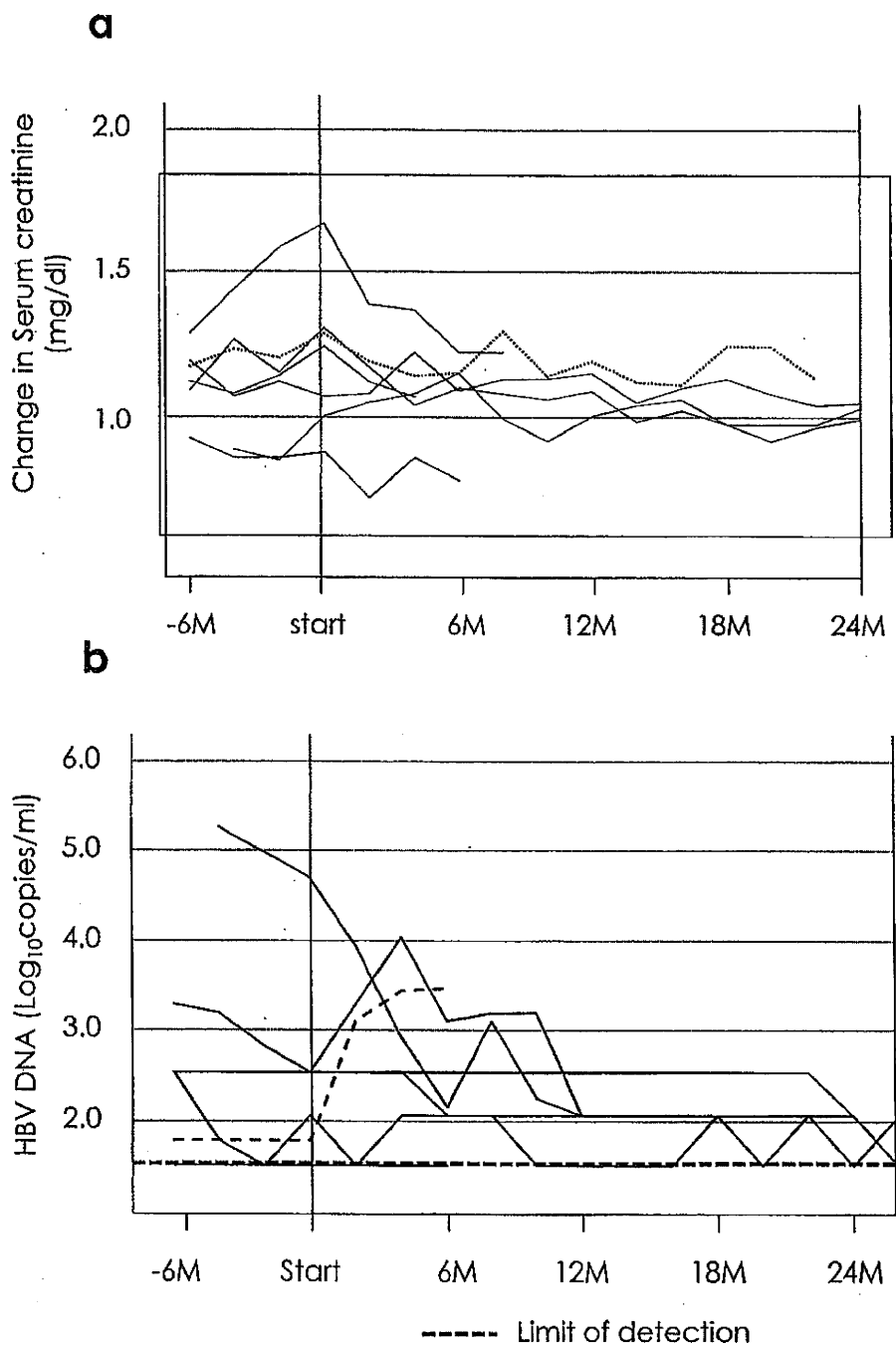
Values are expressed as the mean  $\pm$  standard deviation, number of patients (%)

例はプラセボ群・10 mg 群ではなかったが, 30 mg 群では 8% 存在した<sup>29)</sup>. 同様に B 型肝炎を対象とした 48 週の無作為比較試験にて ADV 10 mg 投与群では Scr に変化を認めないも, 30 mg 群では平均 0.2 mg 上昇し<sup>30)</sup>, これらの結果を踏まえて ADV の適正投与量は 10 mg/日とされた. しかし, この投与量を遵守しても最近の欧米の報告では 5 年で 0.5 mg/dL 以上の Scr の上昇が 3~10% の症例で出現すると報告された<sup>19)~20)</sup>. われわれは当院において ADV を 3 年以上継続投与できた 72 例と, 同じく 3 年以上継続投与できた ADV 非投与 144 例の計 216 例を核酸アナログが投与されていない B 型肝炎の無症候性キャリア 47 例をコントロールとして腎機能の推移を Scr と eGFR を用いて検証した. 但し, ベースラインの段階で eGFR 50 未満の症例は除外した.

背景因子の比較では ADV 併用群で有意に HBe 抗原陽性例および肝硬変例が多かった. ADV の投与対象は LAM 耐性ウイルス出現例に限定され, ベースラインの HBV DNA 量高値例, HBe 抗原陽性例, 肝組織の進展例でこの耐性変異が出現しやすい<sup>31)~34)</sup>. HBe 抗原陽性例および肝硬変例が ADV 併用群で多いことはこれらの報告と比較して一致した. 性, 年齢, BMI, 糖尿病, 高血圧症の罹患率では ADV 併用群と非投与群の 2 群間に差を認めなかった.

腎障害を検出する手段として最も頻用されている Scr は簡便な方法であるが, 筋肉量により差が出やすく, 初期の腎障害を検出しにくいという欠点を有する. 一般に Scr は正常上限を超えた時点で既に GFR は基礎値の約 50% 以下あるいは約 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> 以下に低下していると考えられている. 今回の検討では日本腎

臓学会 CKD 対策委員会プロジェクト「日本人の GFR 推算式」による新しい GFR 推算式<sup>17)</sup>を用いて, Scr に加えて eGFR を用いて腎障害の程度を検討した. この式は現在わが国における日本腎臓病学会公認の GFR 推算式として臨床疫学研究の場で広く用いられている. 一般に加齢により eGFR は低下することが知られており, コントロール群と ADV 非投与群における eGFR の低下量はほぼ同様であった. 一方で ADV 併用群では平均 eGFR はベースライン 82.5 から併用投与 3 年で 71.9 とコントロール群, ADV 非投与群に比べるとその低下量は明らかに大きかった. また, ADV 非投与群では Scr が 0.3 mg/dl 以上上昇した症例の割合は 144 例中 1 例 (0.7%) と低率で, eGFR 20% 低下例の割合も 144 例中 10 例 (6.9%) であった. 一方で, ADV 併用群では Scr が 0.3 mg/dl 以上上昇した症例の割合は 72 例中 9 例 (12.5%) に対して eGFR 20% 低下例の割合は 72 例中 23 例 (31.9%) であり, このことは Scr の上昇に反映されない, 潜在的な eGFR 低下例が ADV 併用群で多いことを示唆した. これらの結果から腎障害の進行を eGFR 20% 以上低下例と 20% 未満の症例に分けて背景因子の比較を行った. 単変量解析では eGFR 20% 以上低下例では年齢が高く, 肝硬変例, ADV 投与例が有意に多いという結果が得られた. 多変量解析では ADV 投与有りがオッズ比 6.6 倍で eGFR 20% 以上低下に寄与する因子として抽出された. 次に ADV 併用 72 例を対象とし, 同様の検討を行った. 過去の報告では ADV 投与例において, 高齢, 男性, 背景肝進展例, ベースラインの時点で既に腎障害有り, 糖尿病や高血圧症の合併, tacrolimus, cyclosporine などの腎障害を惹起する可能



**Fig. 2 a:** Changes in the serum creatinine level from 6 months before until 24 months after switching in patients treated with ADV every two days

The serum creatinine level gradually decreased in 6 of 7 patients, with a median follow-up of 18 months. In 1 (·····), it reached a plateau at approximately 1.2 mg/dl.

**b:** Changes in the HBV DNA level from 6 months before until 24 months after switching in patients treated with ADV every two days

In the patients, excluding 1 (---) in whom ADV therapy was switched to combination therapy with ADV and ETV due to the appearance of multi-drug resistance, there was no increase in the HBV DNA level.

性の高い免疫抑制剤の併用の有無などが腎障害を生じやすい因子とされた<sup>36)~37)</sup>。今回の検討では年齢のみで有意差が認められた。

Scrが異常値を示したためADV 10 mg/day投与より隔日投与へ変更した症例が72例中7例(9.7%)存在した。ADV開始からの期間は4カ月から50カ月と一定の傾向を示さなかった。隔日投与へ変更後、7例中6例ではScrは緩徐に低下しADVによる腎障害は既報<sup>15)37)</sup>と同様に可逆的であった。eGFRの測定は実際の外来診療の場では困難と思われる。Scrの正常上限値は男性の場合1.2 mg/dl、女性では0.9 mg/dlであり、この値を超えないようにADV投与量を調節することが重要と思われる。また、1例で1.7 mg/dlまで上昇して減量した症例が存在したが、減量後、速やかにScrは低下した。また、ADVを隔日投与に変更後、多剤耐性が確認された1例を除くとHBV DNA増加例は認められず、ADV隔日投与による抗ウイルス効果の減弱例は認めなかった。

#### 結 語

核酸アナログ3年投与例を対象として腎機能に与える影響について検証した。ADV併用例では非投与例と比較して腎障害の頻度が明らかに高率であった。特に高齢者ではeGFRが低下しやすく注意が必要である。臨床ではScrが上昇しても、ADVを隔日投与に変更することで腎障害は軽快した。

本論文の要旨の一部はJDDW2010第14回日本肝臓病学会大会(2010年、横浜)で報告した。

#### 文 献

- Lai CL, Chien RN, Leung NW, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 61-68
- Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999; 341: 1256-1263
- Liaw YF, Leung NW, Chang TT, et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *Gastroenterology* 2000; 119: 172-180
- Perrillo R, Schiff E, Yoshida E, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. *Hepatology* 2000; 32: 129-134
- Perrillo R, Hann HW, Mutimer D, et al. Adefovir dipivoxil added to ongoing lamivudine in chronic hepatitis B with YMDD mutant hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2004; 126: 81-90
- Peters MG, Hann Hw, Martin P, et al. Adefovir dipivoxil alone or in combination with in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2004; 126: 91-101
- Chang TT, Gish RG, de Man RA, et al. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1001-1010
- Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 2009; 49: 1503-1514
- Chang TT, Lai CL, Yoon SK, et al. Entecavir treatment for up to 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 422-430
- Kumada H, Okanoue T, Onji M, et al. Guidelines for the treatment of chronic hepatitis and cirrhosis due to hepatitis B virus infection for the fiscal year 2008 in Japan. *Hepatol Res* 2010; 40: 1-7
- Kahn J, Lagakos S, Wulfsohn M, et al. Efficacy and safety of adefovir dipivoxil with antiretroviral therapy: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 282: 2305-2312
- Fisher EJ, Chaloner K, Cohn DL, et al. The safety and efficacy of adefovir dipivoxil in patients with advanced HIV disease: a randomized, placebo-controlled trial. *AIDS* 2001; 15: 1695-1700
- Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology* 2006; 131: 1743-1751
- Marcelline P, Chang TT, Lee Lim SG, et al. Long-term efficacy and safety of adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2008; 48: 750-758
- Ha NB, Ha NB, Garcia RT, et al. Renal dysfunction in chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil. *Hepatology* 2009; 50: 727-734

- 16) 日本腎臓学会編, 「CKD 診療ガイド 2009」医学社, 東京, 2009
- 17) Matsuo S, Imai E, Horio M, et al. Revised equations for estimated GFR from serum creatinine in Japan. *Am J Kidney Dis* 2009; 53: 982—993
- 18) Cihlar T, Lin DC, Pritchard JB, et al. The antiviral nucleotide analogs cidofovir and adefovir are novel substrates human and rat renal organic anion transporter 1. *Molecular pharmacology* 1999; 56: 570—580
- 19) Cihlar T, Ho ES, Lin DC, et al. Human renal organic anion transporter (hOAT1) and its role in nephrotoxicity of antiviral nucleoside analogs. *Nucleos Nucleot Nucleic Acids* 2001; 20: 641—648
- 20) Tanji N, Tanji K, Kambham N, et al. Adefovir nephrotoxicity: possible role of mitochondrial DNA depletion. *Hum Pathol* 2001; 32: 734—740
- 21) Gilead Sciences I. Hepsera (adefovir dipivoxil) package insert, May 2008
- 22) Vigano M, Lampertico P, Dongiovanni P, et al. A drug transporter gene polymorphism predicts renal tubular toxicity in patients with chronic hepatitis B on long-term adefovir and lamivudine combination. *J Hepatol* 2010; 52: S7
- 23) Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, et al. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2008; 359: 2442—2455
- 24) Tan J, Degertekin B, Wong SN, et al. Tenofovir monotherapy is effective in hepatitis B patients with antiviral treatment failure to adefovir in the absence of adefovir-resistant mutations. *J Hepatol* 2008; 48: 391—398
- 25) van Bommel F, de Man R, Wedemeyer H, et al. Long-term efficacy of tenofovir monotherapy for hepatitis B virus-monoinfected patients after failure of nucleoside/nucleotide analogues. *Hepatology* 2010; 51: 73—80
- 26) Karras F, Lafaurie M, Furco A, et al. Tenofovir-related nephrotoxicity in human immunodeficiency virus-infected patients: three cases of renal failure, Fanconi syndrome and nephrogenic diabetes insipidus. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1070—1073
- 27) Verhelst D, Monge M, Meynard JL, et al. Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: a first case report. *Am J Kidney Dis* 2003; 40: 1331—1333
- 28) Izzedine H, Harris M, Perazella MA, et al. The nephrotoxic effects of HAART. *Nat Rev Nephrol* 2009; 5: 563—573
- 29) Marcelline P, Chang TT, Lim SG, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003; 348: 808—816
- 30) Izzedine H, Hulot JS, Launay-Vacher V, et al. Renal safety of adefovir dipivoxil in patients with chronic hepatitis B: two double-blind, randomized, placebo-controlled studies. *Kidney Int* 2004; 66: 1153—1158
- 31) Chien RN, Liaw YF, Atkins M. Pretherapy alanine transaminase level as a determinant for hepatitis B e antigen seroconversion during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999; 30: 770—774
- 32) Lau DT, Khokhar MF, Doo E, et al. Long-term therapy of chronic hepatitis B with lamivudine. *Hepatology* 2000; 32: 828—834
- 33) Nafa S, Ahmed S, Tavan D, et al. Early detection of viral resistance by determination of hepatitis B virus polymerase mutations in patients treated by lamivudine for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; 32: 1078—1088
- 34) 大石和佳, 茶山一彰, 熊田博光. B 型慢性肝炎に対するラミブジン投与時の YMDD 変異株出現例と非出現例での real time PCR によるウイルス動態の検討. *肝臓* 2002; 43: 214
- 35) Schiff ER, Lai CL, Hadziyannis S, et al. Adefovir dipivoxil therapy for lamivudine-resistant hepatitis B in pre- and post-liver transplantation patients. *Hepatology* 2003; 38: 1353—1355
- 36) Yatsuji H, Suzuki F, Sezaki H, et al. Low risk of adefovir resistance in lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients treated with adefovir plus lamivudine combination therapy: two-year follow-up. *J Hepatol* 2008; 48: 923—931
- 37) Vigano M, Lampertico M, Iavarone GE, et al. High risk of renal impairment during long-term adefovir and lamivudine combination therapy in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50: S338—S339



## Renal dysfunction in chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil

Itaru Ozeki\*, Yoshiyasu Karino, Jun Akaike, Rikuumi Kimura,  
Tomohiro Arakawa, Tomoaki Nakashima, Yasuaki Kuwata,  
Takumi Ohmura, Takahiro Sato, Joji Toyota

Long-term adefovir administration has been reported overseas to induce renal impairment in a certain percentage of patients. In Japan, its influences on renal function are unclear. In patients continuously treated with nucleotide analogues, we compared changes in the serum creatinine level and estimated glomerular filtration rate among patients in the control and treated and not treated with adefovir. The group treated with adefovir showed a significant increase in the serum creatinine level and a significant decrease in the estimated glomerular filtration rate compared with the group not receiving adefovir ( $p < 0.001$ ). There were no significant differences in these changes between the control and the group not receiving adefovir.

Logistic regression analysis revealed adefovir administration to be a significant factor (odds ratio, 6.6), inducing a  $\geq 20\%$  decrease in the estimated glomerular filtration rate. In patients in whom daily was changed to alternate-day adefovir administration due to renal impairment, the serum creatinine level gradually decreased, suggesting that renal impairment is reversible.

**Key words:** adefovir dipivoxil renal dysfunction lamivudine-resistant hepatitis B mutants  
serum creatinine estimated glomerular filtration rate

*Kanzo* 2011; 52: 102–111

Department of Gastroenterology, Sapporo Kosei General Hospital

\*Corresponding author: 3767759101@jcom.home.ne.jp

© 2011 The Japan Society of Hepatology

今日のテーマ ● B型慢性肝炎に対する最新の治療

ラミブジンとアデホビル併用不応例に対する  
アデホビルとエンテカビル併用療法

小 関 至 木 村 陸 海 荒 川 智 宏  
中 島 知 明 桑 田 靖 昭 赤 池 淳  
大 村 卓 味 佐 藤 隆 啓 狩 野 吉 康  
豊 田 成 司<sup>1)</sup>

要旨: ラミブジン (LAM) とアデホビル (ADV) 併用療法を12カ月以上行い、HBV DNAが3log copies/ml以上を示したB型慢性肝疾患18例を対象とし、48週以上ADVとエンテカビル (ETV) の併用療法を行いウイルス動態についての検討を行った。LAM耐性例、ADV耐性例、ETV耐性例、多剤耐性例はそれぞれ100%、27.8%、33.3%、55.6%であった。平均HBV DNAはベースラインで4.1log copies/mlより48週の時点で2.9log copies/mlと低下した。ETV耐性を有する症例でHBV DNA減衰量は低下した。本併用療法による副作用は出現せず、48週の経過で新たに獲得したアナログ耐性は認めなかった。テノホビル (TDF) が使用できない本邦の現状ではLAMとADV併用不応例に対して、ADVとETV併用療法を試みるべき治療と思われた。

索引用語: ラミブジン, アデホビル, エンテカビル, B型肝炎ウイルス, 耐性変異

はじめに

B型肝炎ウイルスによる持続感染の患者は世界で約3億5千万人いるといわれており<sup>1)</sup>, このウイルスによる持続感染はしばしば肝硬変, 肝不全を惹起し, 肝細胞癌の発生の原因となる<sup>2)</sup>. インターフェロン (interferon; IFN) 製剤はB型肝炎ウイルスの増殖を抑制し, 肝炎の鎮静に有効であるが, その効果は限定的であり, ペグインターフェロン (pegylated IFN; PEG-IFN) は30~40%の患者でsustained responseを達成するとされている<sup>3,4)</sup>が, 本邦では現在治験中である。核酸アナログ製剤はB型肝炎ウイルスのDNAポリメラー

ゼを抑制してDNA合成を阻害し, ウイルス増殖を抑える薬剤であり, 血液生化学検査値, 肝組織所見の改善を促す<sup>5,6)</sup>. 長期の核酸アナログ投与は肝硬変の進展や肝細胞癌の発生を抑制し, 長期予後を改善する可能性が指摘されている<sup>7)</sup>. 一方で長期に及ぶ核酸アナログ投与は薬剤に対する変異株の発生を促し, しばしば, ウイルス学的ブレイクスルーを引き起こす<sup>8)</sup>. 実際に長期のラミブジン (lamivudine; LAM) 投与は高率にLAM耐性ウイルスの出現を促した<sup>9)</sup>. 近年登場した新規の核酸アナログ製剤であるエンテカビル (entecavir; ETV) はLAMと比較して耐性ウイルス

1) 札幌厚生病院第3消化器科

Efficacy of entecavir and adefovir combination therapy in patients with chronic hepatitis B refractory to lamivudine and adefovir combination therapy

Itaru OZEKI, Mutsuimi KIMURA, Tomohiro ARAKAWA, Tomoaki NAKAJIMA, Yasuaki KUWATA, Jun AKAIKE, Takumi OHMURA, Takahiro SATO, Yoshiyasu KARINO and Joji TOYOTA<sup>1)</sup>

1) Department of Hepatology, Sapporo Kosei General Hospital

Corresponding author: 小関 至 (iozeki@ja-hokkaidoukouseiren.or.jp)

Table 1. 背景因子

|                                       |             |               |
|---------------------------------------|-------------|---------------|
| 性別                                    |             | 男性: 13 女性: 5  |
| 年齢 (歳)                                | Mean +/- SD | 59.6 +/- 9.0  |
| 肝硬変 (あり)                              | (No. [%])   | 10 (55.6)     |
| 肝癌既往 (あり)                             | (No. [%])   | 5 (27.8)      |
| LAM+ADV 治療期間 (月)                      | Mean +/- SD | 29.1 +/- 13.1 |
| HBV genotype                          |             | Bj: 1 C: 17   |
| HBV DNA (log <sub>10</sub> copies/ml) | Mean +/- SD | 4.10 +/- 1.18 |
| HBeAg (+)                             | (No. [%])   | 13 (72.2)     |
| ALT (IU/L)                            | Mean +/- SD | 35.9 +/- 17.7 |
| LAM 耐性                                | (No. [%])   | 18 (100)      |
| ADV 耐性                                | (No. [%])   | 5 (27.8)      |
| ETV 耐性                                | (No. [%])   | 6 (33.3)      |
| 多剤耐性                                  | (No. [%])   | 10 (55.6)     |

の出現が少なく、抗ウイルス作用が強いことがいくつかの臨床試験で明らかとされた<sup>10)~12)</sup>。本邦においても ETV は 2007 年の承認後 LAM に代わり第一選択の核酸アナログ製剤となった。しかし、既に世界中で多くの LAM 耐性患者を認めており、これらの症例に対して 2009 年の米国肝臓病学会 (American Association for the Study of Liver Disease; AASLD) はアデホビル (adefovir dipivoxil; ADV), あるいはテノホビル (tenofovir disoproxil fumarate; TDF) の LAM との併用投与, あるいは emtricitabine (FTC) と TDF の併用投与への切り替えを推奨した<sup>13)</sup>。同様にヨーロッパ肝臓病学会 (European Association for the Study of the Liver; EASL) からは TDF の併用<sup>14)</sup>が、本邦からは ADV の併用が推奨された<sup>15)</sup>。LAM 耐性例に対する LAM と ADV 併用療法 (以下 LAM/ADV 療法) による抗ウイルス効果の発現は緩徐であり、大多数の LAM 耐性患者に有効であるが、少数例で HBV DNA の低下量が不十分であることが報告されている<sup>16)17)</sup>。今回われわれは LAM/ADV 療法不応例に対する ADV と ETV 療法 (ADV/ETV 療法) 48 週の成績を検討したので報告する。

#### 1 対象と方法

LAM/ADV 療法を少なくとも 1 年以上行い、

HBV DNA が 3log copies/ml (以下 log) 以上を示した 18 例を対象とした。自己免疫性肝炎、アルコール性肝障害、うっ血性肝障害の合併例、C 型肝炎ウイルスあるいはヒト免疫不全ウイルスの併発例、黄疸・腹水・脳症・消化管出血をとまなう患者は除外した。18 例中 6 例は LAM 耐性に対する ETV 投与の既往を有した。2 名の患者が ADV 投与中に血清クレアチニン上昇をきたしたため、ADV は隔日投与が行われていた。

HBV DNA は TaqMan PCR 法 (Roche Diagnostics, Tokyo, Japan), 耐性ウイルスの検討は INNO-LiPA HBV DR version 2, version 3 (Innogenetics Gent, Belgium) を用いた<sup>18)</sup>。

2 群の検定には Student's t test, Mann-Whitney U test, chi-squared test, Fisher's exact test を用い、 $p < 0.05$  を有意とした。

#### II 結 果

18 例の背景因子を Table 1 に示す。5 例で肝癌の既往を認め、1 例は ADV/ETV 療法中に肝癌を発症したが、肝部分切除あるいは経皮的ラジオ波焼灼療法で根治的な治療を受けた。10 例は代償性肝硬変の状態、遺伝子型では 1 例が Bj 型、17 例が C 型を示し、HBe 抗原陽性は 13 例 (72.2%) であった。LAM 耐性は 18 例全例 (100%), ADV 耐性は 5 例 (27.8%), ETV 耐性

Table 2. ベースライン, 48 週の時点における HBV DNA, HBe 抗原, ALT 値の推移と INNO-LiPA 法によるベースラインのアナログ耐性

| Case | HBV DNA (log copies/ml) |      |        | HBeAg (S/CO) |     | ALT (IU/L) |     | Resistance Mutation |     |     |
|------|-------------------------|------|--------|--------------|-----|------------|-----|---------------------|-----|-----|
|      | 0W                      | 48W  | 0W-48W | 0W           | 48W | 0W         | 48W | LAM                 | ADV | ETV |
| 1    | 7.6                     | 3.1  | 4.5    | 1.7          | 3.4 | 74         | 39  | +                   | +   |     |
| 2    | 5.03                    | 3.69 | 1.34   | 44           | 18  | 32         | 28  | +                   |     |     |
| 3    | 3.09                    | 1.8  | 1.29   | —            | —   | 31         | 16  | +                   |     | +   |
| 4    | 4.12                    | 2.51 | 1.61   | 245          | 106 | 27         | 20  | +                   |     | +   |
| 5    | 4.9                     | 4.6  | 0.3    | 528          | 359 | 49         | 36  | +                   |     | +   |
| 6    | 3                       | 1.8  | 1.2    | 3.7          | —   | 27         | 28  | +                   | +   |     |
| 7    | 5.2                     | 3.53 | 1.67   | —            | —   | 39         | 47  | +                   |     |     |
| 8    | 3.87                    | 2.93 | 0.94   | 1043         | 927 | 15         | 15  | +                   |     |     |
| 9    | 4.93                    | 3.91 | 1.02   | 87           | 39  | 28         | 25  | +                   |     | +   |
| 10   | 5.24                    | 4.17 | 1.07   | 161          | 121 | 48         | 43  | +                   |     |     |
| 11   | 4.76                    | 2.64 | 2.12   | 1.9          | 1.3 | 40         | 36  | +                   |     |     |
| 12   | 3.46                    | 3.36 | 0.1    | —            | —   | 37         | 30  | +                   |     |     |
| 13   | 3                       | 1.8  | 1.2    | 7.5          | 4.8 | 10         | 11  | +                   | +   |     |
| 14   | 3.61                    | 2.51 | 1.1    | 3.9          | 3   | 28         | 25  | +                   |     |     |
| 15   | 3.07                    | 1.8  | 1.27   | 5.7          | 5.1 | 21         | 22  | +                   |     |     |
| 16   | 3.96                    | 3.11 | 0.85   | 164          | 94  | 73         | 138 | +                   |     | +   |
| 17   | 3.17                    | 1.8  | 1.37   | —            | —   | 28         | 42  | +                   | +   |     |
| 18   | 3.59                    | 2.89 | 0.7    | —            | —   | 14         | 16  | +                   | +   | +   |

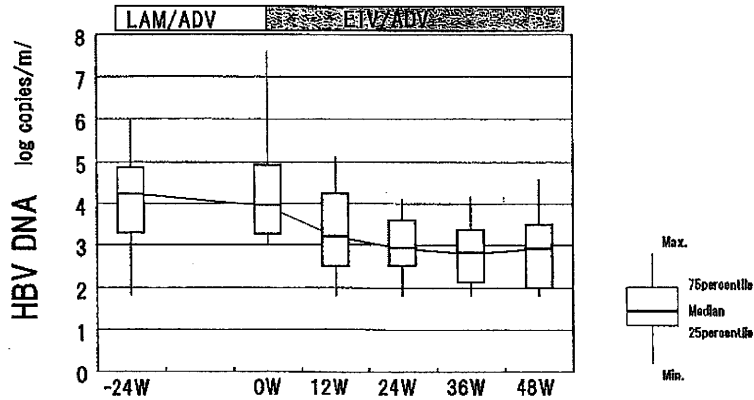


Figure 1. LAM/ADV 療法・ADV/ETV 療法による HBV DNA の推移: HBV DNA はベースライン 4.1log copies/ml から 48 週 2.9log copies/ml と, 48 週で 1.2log copies/ml 低下した.

は 6 例 (33.3%), 10 例 (55.6%) は 3 剤耐性を認めた (Table 2).

平均 HBV DNA は ADV/ETV 療法にてベースライン 4.1log, 12 週 3.3log, 24 週 3.0log, 36 週 2.8 log, 48 週 2.9log と緩徐に低下した (Figure 1). 18 例中 5 例が 48 週の治療中に 2.1log 未満を呈し

た. 18 例中 13 例は 48 週で 1log 以上の HBV DNA 量の低下を示したが, 残る 5 例の低下量は 1log 未満であった. HBe 抗原陽性例・陰性例で治療 48 週の HBV DNA 低下量に差を認めなかった. アナログ耐性別の治療 48 週での HBV DNA の減衰量は LAM 耐性で 1.2log, LAM 耐性+



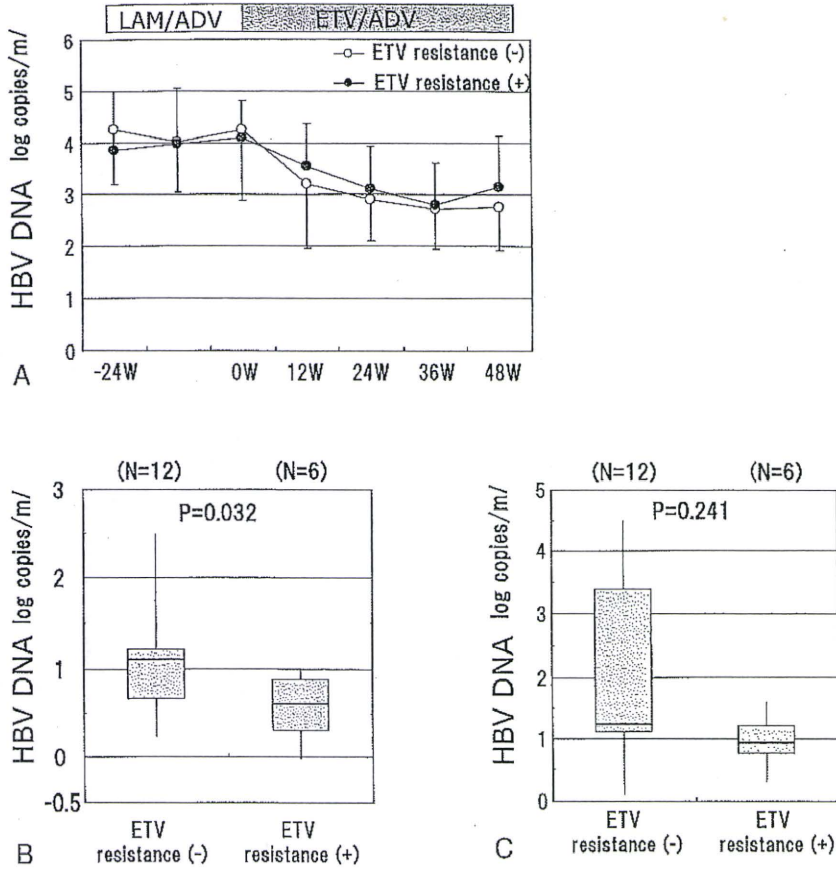


Figure 2. ETV 耐性の有無による LAM/ADV 療法・ADV/ETV 療法による HBV DNA の推移 A) HBV DNA の推移. B) ADV/ETV 療法ベースライン・12 週後の HBV DNA の減衰量の比較. C) ADV/ETV 療法ベースライン・48 週後の HBV DNA の減衰量の比較. ETV 耐性を有する症例で HBV DNA 低下量が乏しい傾向 (12 週  $p=0.032$ , 48 週  $p=0.241$ ) を示した.

ADV 耐性で 2.1log, LAM 耐性+ETV 耐性で 1.0 log, 3 剤耐性で 0.7log であった. ETV 耐性を有する 6 例と有さない 12 例の投与 12 週, 48 週の HBV DNA 減衰量を比較すると, ETV 耐性を有する例で減衰量が低下した (ETV 耐性なし vs ETV 耐性あり 12 週 1.1log vs 0.6log,  $p=0.032$ , 48 週 1.5log vs 1.0log,  $p=0.241$ ) (Figure 2).

ベースラインで HBe 抗原陽性を示した 13 例中 1 例が治療 8 週の時点で陰性となり, 1 例を除くと HBe 抗原量が低下した. ALT についてはベースライン, 治療後で有意な変化を認めなかった (Table 2).

INNO-LiPA 法による耐性部位の検出では, 治療 48 週において, 新たな耐性の出現を認めなかった. 一部の症例でコドン 181 の A/V が A, コドン 236 の T が N に変化するなどの耐性クローンの消失が認められた. ウイルス量の低下にともない 1 例で INNO-LiPA 法による検出が不能となった (Table 3).

本研究中に有害事象の出現による中止例は認めなかった. 2 例が LAM/ADV 療法の時点で腎障害のため既に ADV が隔日投与となっていたが, この 2 例を含めて ADV/ETV 療法に移行後の腎障害の増悪例は認めなかった.

Table 3. ETV/ADV 療法ベースライン, 48週における耐性部位の検出

| A) Baseline |       |     |     |       |     |     |     |        |     |     |     |     |
|-------------|-------|-----|-----|-------|-----|-----|-----|--------|-----|-----|-----|-----|
| Case        | Codon | 80  | 173 | 180   | 204 | 181 | 233 | 236    | 184 | 202 | 250 | 194 |
| 1           | L     | V   | L   | I     | A   | I   | T   | T      | S   | M   | A   |     |
| 2           | L     | V   | L/M | I     | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 3           | L     | V   | L/M | V     | A   | I   | N   | T/SCGA | S   | M/V | A   |     |
| 4           | L/I   | V   | L/M | V/I   | A   | I   | N   | T      | S   | M/L | A   |     |
| 5           | L     | V   | L/M | V     | A   | I   | N   | T/ILFM | S/G | M   | A   |     |
| 6           | L     | V   | L   | M/I   | A/T | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 7           | I     | V   | L/M | V/I   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 8           | L/I   | V   | L/M | M/I   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 9           | L     | V   | L/M | V     | A   | I   | N   | T      | S/G | M   | A   |     |
| 10          | L     | V   | L/M | M/V/I | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 11          | L     | V   | M   | V     | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 12          | L     | V   | L/M | M/V/I | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 13          | L     | V/L | L/M | M/V/I | A/T | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 14          | L     | V/L | L/M | V/I   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 15          | L/I   | V   | L/M | M/V/I | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 16          | L     | V   | L/M | M/V/I | A   | I   | N   | T/ILFM | S/G | M   | A   |     |
| 17          | L/I   | V   | L/M | M/I   | A/V | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 18          | L     | V   | L/M | V     | A   | V   | N   | T/SCGA | S   | M   | A   |     |

| B) Week 48 |       |    |     |     |     |     |     |        |     |     |     |     |
|------------|-------|----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|-----|-----|-----|-----|
| Case       | Codon | 80 | 173 | 180 | 204 | 181 | 233 | 236    | 184 | 202 | 250 | 194 |
| 1          | L     | V  | L   | *   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 2          | L     | V  | L/M | *   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 3          | L     | V  | M   | V   | A   | I   | N   | GA/L   | S   | M/I | A   |     |
| 4          | L/I   | V  | L/M | I   | A   | I   | N   | T      | S   | M/L | A   |     |
| 5          | L     | V  | M   | V   | A   | I   | N   | T/ILFM | S/G | M   | A   |     |
| 6          | ND    | ND | ND  | ND  | ND  | ND  | ND  | ND     | ND  | ND  | ND  |     |
| 7          | I     | V  | L/M | I   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 8          | L/I   | V  | L/M | I   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 9          | L     | V  | M   | V   | A   | I   | N   | T      | G   | M   | A   |     |
| 10         | L     | V  | L/M | V   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 11         | L     | V  | M   | V   | A   | *   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 12         | L     | V  | M   | V   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 13         | L     | L  | M   | V   | A/T | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 14         | L     | L  | L/M | V   | A   | I   | N   | *      | S   | M   | A   |     |
| 15         | L/I   | V  | L/M | V/I | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 16         | L     | V  | M   | V   | A   | I   | N   | T/ILFM | S/G | M   | A   |     |
| 17         | I     | V  | L   | I   | A   | I   | N   | T      | S   | M   | A   |     |
| 18         | L     | V  | M   | V   | A   | V   | N   | SCGA   | S   | M   | A   |     |

A: alanine, C: cysteine, G: glycine, F: phenylalanine, I: isoleucine, L: leucine, M: methionine, N: asparagine, S: serine, T: threonine, V: valine.

ND: not detected, \*: impossible to judge.

### III 考 察

B型慢性肝疾患に対する核酸アナログ療法の最も重要な問題は耐性ウイルスの出現である。ETV

やTDFの登場により耐性ウイルスの出現率は低下した<sup>19)</sup>が、既にLAM耐性を獲得してしまった多くの患者が全世界中に存在している<sup>9)</sup>。日本肝

臓病学会ではLAM耐性例に対してはADVを併用するよう推奨している<sup>15)</sup>。このLAM/ADV療法は多くの患者に有効であるが、一部の患者ではHBV DNAの低下量が不十分であり、HBV DNAの陰性化が得られない<sup>16)17)</sup>。また、LAM耐性例ではLAM/ADV療法中にADV耐性が出現することが報告<sup>20)21)</sup>されており、HBV DNAが陰性化しない、いわゆる不応例においては、新規の治療法が望まれてきた。以前われわれはLAM耐性例に対するLAM/ADV療法中にADV耐性を獲得した1例を経験したが、この症例はウイルス学的ブレイクスルーを発症し、軽度であるが肝炎の増悪をきたした。LAMを中止し、ADVは継続したままでETVを追加したところ、良好な抗ウイルス効果が得られ、ALT値も正常化した(Table 2, case 1)。この症例の経験を踏まえて、LAM/ADV療法不応例に対するADV/ETV療法の臨床研究を行った。ETVはLAM耐性とADV耐性例に<sup>22)23)</sup>、ADVはLAM耐性とETV耐性例に対して抗ウイルス効果を発揮する<sup>24)</sup>ことが示されており、LAM/ADV療法不応例に対するADV/ETV療法はTDFが承認されていない本邦の現状を考慮すると、また、交叉耐性を考えても理にかなった治療法と考えられる。

ADV不応例に対するETV療法の報告は近年散見されるが、いずれも症例数が少なく、短期間の成績が示されるにすぎない。40例のADV不応例(14例でADV耐性あり)に対してETVを投与した報告では、HBV DNA陰性化率が10%と低率で、6例(15%)にETV耐性の出現を認めた<sup>25)</sup>。一方でHBe抗原陽性ADV不応14例(3例でADV耐性あり)に対するETV投与では、HBV DNA陰性化率は低いものの、15カ月の経過でHBV DNAはLAM投与歴なしで3.4log、LAM投与歴のあるもので3.9log低下し、この報告ではETV耐性の出現は認めなかった<sup>26)</sup>。LAMとADVの2剤耐性を有する50例に対するETV投与では48週の経過でHBV DNA陰性化率は10%、HBV DNA量はベースライン6.90logより2.96logと低下した。ETV耐性はわずか1例(2%)で出現した<sup>27)</sup>。ADV投与歴を有する症例に対す

るETV投与ではLAM投与歴を有する24例(9例がADV耐性あり)でHBV DNA陰性化率は42%であり、17%の症例でETV耐性が出現した<sup>28)</sup>。報告によりウイルス陰性化率やHBV DNA低下量に差があるのは、症例数が少ないことや、人種や遺伝子型などの対象症例が異なること、過去に受けた核酸アナログの治療内容や期間に差があるためと思われる。

今回われわれが行ったLAM/ADV不応例に対するADV/ETV療法48週では平均でHBV DNAは1.2log低下した。低下量は少ないが、18例中5例が48週の治療中に2.1log未満を呈した。先に記したが、ADV不応例に対するETV単独療法によりETV耐性出現が報告されている<sup>25)27)28)</sup>が、ADV/ETV療法では、更なる耐性の出現は認めなかった。ADVの併用投与がETV耐性を抑制した可能性が示唆された。

ADV/ETV療法中、脱落例・中止例は認めなかった。ADVによる腎障害の報告が散見される<sup>29)30)</sup>が、ETVも腎排泄型のため注意が必要である。血清クレアチニンによる腎機能のモニターを定期的に行い、必要に応じて投与量の調節を行うことが重要である。

#### おわりに

LAM/ADV療法不応例に対するADV/ETV療法の成績を示した。経過観察期間が短く、少数例の検討ではあるが、HBV DNAは低下し、新たなアナログ耐性の出現は認めなかった。今後、観察期間を延長し、ADV/ETV療法の効果と安全性を検証する必要があると思われる。

#### 文 献

- 1) Lavanchy D: Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat* 11; 97-107: 2004
- 2) Ganem D, Prince AM: Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 350; 1118-1129: 2004
- 3) 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
- 4) Janssen HI, 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
  - 5) Lai CI, Chien RN, Leung NW, et al: A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. *Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. N Engl J Med* 339; 61-68:1998
  - 6) Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, et al: Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology* 124; 105-117:2003
  - 7) Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, et al: Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 351; 1521-1531:2004
  - 8) Lai CL, Dienstag J, Schiff E, et al: Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin Infect Dis* 36; 687-696:2003
  - 9) Chang TT, Lai CL, Chien RN, et al: Four years of lamivudine treatment in Chinese patients with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 19; 1276-1282:2004
  - 10) Chang TT, Gish RG, de Man R, et al: A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 354; 1001-1010:2006
  - 11) Sherman M, Yurdaydin C, Sollano J, et al: Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 130; 2039-2049:2006
  - 12) Lai CL, Shouval D, Lok AS, et al: Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 354; 1011-1020:2006
  - 13) Lok AS, McMahon BJ: Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 50; 661-662:2009
  - 14) European Association For The Study Of The Liver: EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 50; 227-242:2009
  - 15) Kumada H, Okanou T, Onji M, et al: Guidelines for the treatment of chronic hepatitis and cirrhosis due to hepatitis B virus infection for the fiscal year 2008 in Japan. *Hepatol Res* 40; 1-7:2010
  - 16) Peters MG, Hann HW, Martin P, et al: Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 126; 91-101:2004
  - 17) Shakado S, Watanabe H, Tanaka T, et al: Combination therapy of lamivudine and adefovir in Japanese patients with chronic hepatitis B. *Hepatology Int* 2; 361-369:2008
  - 18) Niesters HG, Zoulim F, Pichoud C, et al: Validation of the INNO-LiPA HBV DR assay (version 2) in monitoring hepatitis B virus-infected patients receiving nucleoside analog treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 54; 1283-1289:2010
  - 19) Tenny DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al: Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 49; 1503-1514:2009
  - 20) Lampertico P, Viganò M, Manenti E, et al: Low resistance to adefovir combined with lamivudine: a 3-year study of 145 lamivudine-resistant hepatitis B patients. *Gastroenterology* 133; 1445-1451:2007
  - 21) Inoue J, Ueno Y, Wakui Y, et al: Four-year study of lamivudine and adefovir combination therapy in lamivudine-resistant hepatitis B patients: influence of hepatitis B virus genotype and resistance mutation pattern. *J Viral Hepat* 2010[Epub ahead of print]
  - 22) Suzuki F, Toyoda J, Katano Y, et al: Efficacy and safety of entecavir in lamivudine-refractory patients with chronic hepatitis B: randomized controlled trial in Japanese patients. *J Gastroenterol Hepatol* 23; 1320-1326:2008
  - 23) Kamar N, Milioto O, Akric L, et al: Entecavir therapy for adefovir-resistant hepatitis B virus infection in kidney and liver allograft recipients. *Transplantation* 86; 611-614:2008
  - 24) Yatsuji H, Hiraga N, Mori N, et al: Successful treatment of an entecavir-resistant hepatitis B virus variant. *J Med Virol* 79; 1811-1817:2007
  - 25) Cho SW, Koh KH, Cheong JY, et al: Low efficacy of entecavir therapy in adefovir-refractory hepatitis B patients with prior lamivudine resistance. *J Viral Hepat* 17; 171-177:2010
  - 26) Reijnders JG, Pas SD, Schutten M, et al: Entecavir shows limited efficacy in HBeAg-positive hepatitis B patients with a partial virologic response to adefovir therapy. *J Hepatol* 50; 674-683:2009
  - 27) Shim JH, Suh DJ, Kim KM, et al: Efficacy of entecavir in patients with chronic hepatitis B resistant to both lamivudine and adefovir or to lamivudine alone. *Hepatology* 50; 1064-1071:2009
  - 28) Reijnders JG, Deterding K, Petersen J, et al: Antiviral effect of entecavir in chronic hepatitis B: influence of prior exposure to nucleos(t)ide ana-