

201030013A

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

「免疫抑制薬，抗悪性腫瘍薬による B 型肝炎ウイルス
再活性化の実態解明と対策法の確立」

(H21-肝炎-一般-002)

平成 22 年度 研究成果報告書

平成 23 年 3 月

研究代表者 持田 智

(埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科)

目 次

I. 総括研究報告

- 「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と
対策法の確立」全体研究 …………… 1

持田 智

II. 分担・協力研究報告

1. 肝炎ウイルスの遺伝子解析および症例登録 …………… 15
楠本 茂・田中靖人（研究協力者）
2. B型肝炎ウイルス再活性化による劇症肝炎例の実態 …………… 19
井戸 章雄
3. 当院におけるB型肝炎重症化の実態 …………… 25
池田 健次
4. 「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と
対策法の確立」（血液領域） …………… 27
別所 正美・檀 和夫
5. 過去5年間でHBsAb,HBcAbを検査した1施設での腎疾患の成績
他施設からの成績との比較 …………… 29
鈴木 洋通
6. 腎疾患における腎性アンジオテンシン変換酵素（ACE）－2の検討 …………… 31
浦 信行
7. リウマチ膠原病領域におけるB型肝炎再活性化の実態 …………… 33
三村 俊英・山本 一彦
8. HBVキャリアに対する当院での化学療法の現状 …………… 35
佐々木 康綱
9. 「固形がん化学療法によるB型肝炎ウイルス再活性化－自治医大における
臨床試験の状況－」 …………… 37
藤井 博文
10. B型肝炎ウイルス保有リウマチ患者に対する生物学的製剤の使用経験 …………… 39
金子 礼志
11. HBc抗体陽性ドナーからの肝移植後のHBV活性化の実態 …………… 41
上田 佳秀

12. リウマチ性疾患治療に関連したB型肝炎ウイルス再活性化 東北地区実態調査	47
小林 浩子	
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	49

I. 総括研究報告

厚生労働省科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
総括研究報告書

「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬による B 型肝炎ウイルス
再活性化の実態解明と対策法の確立」全体研究（平成 22 年度）

研究代表者：持田 智
埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科 教授

研究要旨：HBs抗原陰性、HBc抗体ないしHBs抗体陽性のB型肝炎ウイルス（HBV）既往感染例におけるリツキシマブ以外の免疫抑制、化学療法によるHBV再活性化の実態を明らかにし、厚労科研費補助金「坪内班」および「熊田班」による予防ガイドラインの有用性を検証するために、prospective studyを開始した。血液領域45施設、リウマチ・膠原病領域19施設、腎臓領域15施設、腫瘍内科領域18施設からなる計97施設の研究組織を結成し、それぞれの領域における対象症例、治療法を決定した上で、症例の登録を開始した。平成23年2月末日までに180例（血液領域70例、リウマチ・膠原病領域84例、腎臓領域10例、腫瘍内科領域16例）が登録された。これらのうち、キャリア例は17例（血液領域3例、リウマチ・膠原病領域7例、腎臓領域2例、腫瘍内科領域5例）、既往感染例は163例（血液領域67例、リウマチ・膠原病領域77例、腎臓領域8例、腫瘍内科領域11例）であり、観察期間は最大16ヶ月である。キャリア例は全例で核酸アナログ製剤の予防投与を行うことで、肝炎を発症せず免疫抑制・化学療法を遂行できている。一方、既往感染例では、初回スクリーニング時に血清HBV-DNA量が2.1 Log copies/mL未満であるが、「検出」された症例が4例（2.5%）存在し、また、7例（4.3%）でHBV再活性化を生じた。再活性化は副腎ステロイドないしはメトトレキサートの単独投与例でも認められ、また、抗悪性腫瘍薬を多剤投与されていた血液領域の症例では血清HBV-DNA量が6.4 Log copies/mLまで上昇した。リツキシマブ以外の免疫抑制、化学療法でもHBVの再活性化が生じることが明らかとなった。その頻度は経過観察期間が長期になるに従って更に高率になる可能性があり、平成23年度はより多数の症例で、検討を推進する予定である。

研究分担者：

楠本 茂	名古屋市立大学	講師	三村 俊英	埼玉医科大学	教授
井戸 章雄	鹿児島大学	准教授	山本 一彦	東京大学	教授
池田 健次	虎の門病院	部長	佐々木 康綱	埼玉医科大学	教授
別所 正美	埼玉医科大学	教授	藤井 博文	自治医科大学	教授
檀 和夫	日本医科大学	教授	研究協力者（事務局）：		
鈴木 洋通	埼玉医科大学	教授	名越 澄子	埼玉医科大学	教授
浦 信行	手稲溪仁会病院	部長	中山 信朗	埼玉医科大学	講師
			中尾 将光	埼玉医科大学	助教

A. 背景と目的

B型肝炎ウイルス（HBV）が肝細胞に感染すると、その複製過程で生成される完全閉鎖二本鎖DNA（covalently closed circular：cccDNA）が細胞内に残存する。このため、HBs抗原陰性、Hbc抗体ないしHBs抗体陽性の既往感染例も、遺伝子レベルではHBs抗原陽性のキャリアと同等と見なされる。

一方、HBVキャリアでは、副腎皮質ステロイドないし免疫抑制薬を投与すると、血清HBV-DNA量が増加し、非活動性キャリアでも肝炎を発症する可能性があることが知られていた。従って、HBVの既往感染例も遺伝子レベルでは非活動性キャリアと区分するのは困難であり、免疫抑制療法を実施した際には、ウイルス血症を生じて、肝炎を発症する可能性がある。HBVの既往感染例が、免疫抑制療法ないし化学療法を契機にウイルス血症を生じる、すなわちHBV-DNAが陽性化する現象を「HBV再活性化」と称し、これに起因する肝炎を「de novoのB型肝炎」と呼んでいる。

HBV再活性化が注目されるようになったのは、我が国で成人レシピエントに対する生体部分肝移植が普及してからである。HBs抗体陰性レシピエントで、HBs抗原陰性、Hbc抗体陽性ドナーからの肝移植を実施すると、ほぼ全例で血清HBV-DNA量が高値となり、肝炎を発症することが明らかになった¹⁾。このことから、HBVの既往感染例は遺伝子レベルではキャリアと同等であることが、成体において証明された。また、HBV再活性化の重要性は、その後、B細胞リンパ腫の治療で、リツキシマブと副腎皮質ステロイドを併用したプロトコールが一般化することで明らかになった。抗CD20であるリツキシマブはB細胞数を減少させるため、HBs抗体陽性の既往感染例に投与すると、その抗体価が徐々に低下し、副腎皮質ステロイド併用時にはウイルス血症を生じて、重症肝炎を併発する可能性があることが報告された²⁾。また、我が国における

HBV再活性化の実態は、信州大学が中心となって全国調査を実施し、通常のB型急性肝炎に比して重症であり、劇症化する頻度が高率で、死亡率も高いことが判明した³⁾。

そこで、厚生労働省の特定疾患対策研究事業「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班（研究代表者：坪内博仁教授、鹿児島大学）、肝炎等対策研究事業「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究」班（研究代表者：熊田博光院長。虎の門病院分院）が中心となって、その予防に関するガイドラインを作成した（図1）⁴⁾。同ガイドラインの作成に際しては、参考となるエビデンスレベルの高い検討が皆無であったため、以下のような肝臓病専門医の経験、意見を基にして、その骨子がまとめられた。

1. 我が国における HBV 既往感染例の頻度は、50 歳以上の年齢層では約 25%と高率であり、全例で核酸アナログ製剤の予防投与を実施するのは医療経済的に困難である。
2. 既往感染例にリツキシマブ、副腎皮質ステロイドを投与した際に HBV 再活性化の最もリスクが高い群と考えられる。これら高リスク群でも HBV 再活性化の頻度は 10%未満と考えられ、これらの対象に限定しても全例で予防投与の必要はない。
3. 「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班による「劇症肝炎、LOHF の全国調査」には、リツキシマブ以外の抗悪性腫瘍薬による治療で HBV 再活性化を生じた症例の報告があり⁵⁾、免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬による治療は、全てをガイドラインの対象をすべきである。
4. De novo の B 型肝炎を発症した症例では、まず、血清 HBV-DNA 量が上昇し、1 ヶ月以上の経過を経てから ALT 値の上昇が認められている⁶⁾。従って、HBV-DNA を高感度リアルタイム法

(TaqMan PCR 法) で月 1 回測定し、検出感度以上になった時点で核酸アナログ製剤を投与しても、重篤な肝炎の発症は予防可能と考えられる。

5. リツキシマブ投与例では、化学療法終了 6 ヶ月以降に HBV 再活性化、肝炎を生じた症例の報告があり、治療終了後も最低 12 ヶ月は血清 HBV-DNA 量をモニターすべきである。
6. 核酸アナログは「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究」班の発表した B 型慢性肝炎治療のガイドラインに準拠して、エンテカビルを投与するのが望ましい。
7. HBV はそのウイルスマーカー、genotype、遺伝子変異などの組み合わせで増殖能が多彩である⁷⁾。このため、核酸アナログ製剤の開始ないしは中止に際しては肝臓専門医に相談し、ウイルスの特性を考慮した治療を実施するのが望ましい。

以上のように、厚生労働省研究班が作成したガイドラインは、高リスク群と考えられているリツキシマブ・副腎皮質ステロイド投与例以外の免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬による治療例も対象としているが、その意義は不明である。そこで、リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法を実施する HBV 既往感染例およびキャリア例を対象に、再活性化の実態を解明し、「坪内班」および「熊田班」によるガイドラインの有用性を prospective に検証する研究班を平成 20 年に立ち上げた。

厚生労働省科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬による B 型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」班では、血液、リウマチ・膠原病、腎臓および腫瘍内科の 4 領域で研究組

織を確立し、リツキシマブ以外の免疫抑制、化学療法を実施する HBV のキャリア例および既往感染例を登録する。既往感染例では HBV-DNA を 1 ヶ月ごとに高感度リアルタイム法で測定し、再活性化の頻度と基礎疾患および治療法との関連を解析する。また、再活性化した既往感染例およびキャリア例はエンテカビルで治療し、その有効性を確認する。以上によって、ガイドラインの有用性を検証するとともに、再活性化例ではウイルス遺伝子の塩基配列を解析し、再活性化に関わるウイルス側要因も解明することを目指す。

1. Uemoto S, Sugiyama K, Marusawa H, *et al.* Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplants. *Transplantation* 1998; 65: 494-499.
2. Dervite I, Hober D, Morel P. Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N Engl J Med* 2001; 344: 68-69.
3. Umemura T, Kiyosawa K. Fatal HBV reactivation in a subject with anti-HBs and anti-HBc. *Intern Med* 2006; 45: 747-748.
4. 坪内博仁, 熊田博光, 清澤研道, 持田 智, 阪井田功, 田中榮司, 市田隆文, 溝上雅史, 鈴木一幸, 與芝眞彰, 森脇久隆, 日比紀文, 林 紀夫, 國土典宏, 藤澤知雄, 石橋大海, 菅原寧彦, 八橋 弘, 井戸章雄, 滝川康裕, 井上和明, 桶谷 真, 宇都浩文, 中山伸朗, 内木隆文, 多田慎一郎, 木曾真一, 矢野公士, 遠藤龍人, 田中靖人, 梅村武司, 熊谷公太郎. 免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策：厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療標準化

に関する研究」班合同報告. *肝臓* 2009; 50: 38-42.

5. 坪内博仁, 桶谷 真, 井戸章雄, et al. 劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF : late onset hepatic failure) の全国集計 (2007 年). *厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業) 「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 20 年度報告書*, 2009; pp83-93.
6. Hui CK, Cheung WW, Zhang HY, et al. Kinetics and risk of de novo hepatitis B infection in

HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology* 2006; 31: 59-68.

7. Kusakabe A, Tanaka Y, Mochida S, Nakayama N, Inoue K, Sata M, Isoda N, Kang JH, Sumino Y, Yatsuhashi H, Takikawa Y, Kaneko S, Yamada G, Tanaka E, Kato J, Sakaida I, Izumi N, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Miyakawa Y, Mizokami M. Case-control study for the identification of virological factors associated with fulminant hepatitis B. *Hepatol Res* 2009; 39: 648-656.

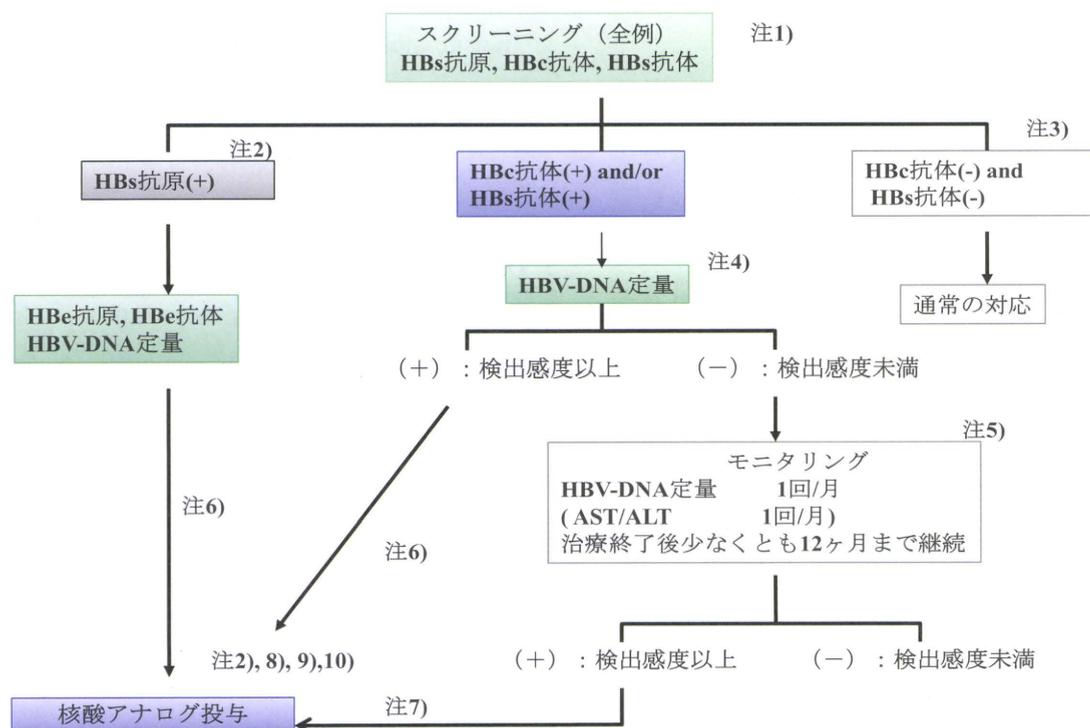


図 1. 免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策のガイドライン

(補足) 血液悪性疾患に対する強力な免疫・抑制化学療法中あるいは終了後に HBs 抗原陽性あるいは HBs 抗原陰性例の一部に HBV 再活性化により B 型肝炎が発症し、その中には劇症化する症例があり、注意が必要である。その他の疾患においても治療による HBV 再活性化のリスクを考慮して対応する必要がある。また、ここで推奨する核酸アナログの予防投与のエビデンスはなく、劇症化予防効果を完全に保証するものではない。

- 注1： CLIA 法で測定することが望ましい。
- 注2： 治療にあたっては肝臓専門医にコンサルトするのが望ましい。
- 注3： 初回治療時に HBc 抗体、HBs 抗体未測定の場合には抗体価が低下している場合があり、HBV-DNA 定量検査などによる精査が望ましい
- 注4： PCR 法およびリアルタイム PCR 法により実施する。より検出感度の高いリアルタイム PCR 法が望ましい。
- 注5： リツキシマブ・ステロイド使用例、造血細胞移植例は HBV 再活性化の高リスクであり、注意が必要である。フルダラビンは強力な免疫抑制作用を有するが、HBV 再活性化のリスクは不明であり、今後注意が必要である。
- 注6： 免疫抑制・化学療法を開始する前、できるだけ早期に投与を開始するのが望ましい。
- 注7： 免疫抑制・化学療法中は HBV-DNA 定量検査が検出感度以上になった時点で直ちに投与を開始する。
- 注8： 核酸アナログはエンテカビルの使用を推奨する。
- 注9： 下記の条件を満たす場合には核酸アナログ投与の終了を検討して良い。スクリーニング時に HBs 抗原(+)例では B 型慢性肝炎における核酸アナログ投与終了基準を満たす場合。スクリーニング時に HBc 抗体 (+) and/or HBs 抗体 (+) 例では、(1) 免疫抑制・化学療法終了後、少なくとも 12 ヶ月間は投与を継続すること。(2) この継続期間中に ALT (GPT) が正常化していること。(3) この継続期間中に HBV-DNA が持続陰性化していること。
- 注10： 核酸アナログ投与終了後 12 ヶ月間は厳重に経過観察する。経過観察方法は各核酸アナログの使用上の注意に基づく。経過観察中に HBV-DNA 定量検査が検出感度以上になった時点で直ちに投与を再開する。

B. 研究方法

(1) 対象とする症例

血液、リウマチ・膠原病、腎臓、腫瘍内科の4領域で免疫抑制・化学療法を実施する患者のうち、HBVのキャリア例（HBs抗原陽性例）及び既往感染例（HBs抗原陰性例のうちHBc抗体ないしHBs抗体が陽性、ただしHBVワクチン接種によるHBs抗体単独陽性例は除く）を対象とする。なお、免疫抑制・化学療法は未治療例を原則とするが、再発例も当該治療が初回の場合は対象とする。

対象となる例

- ・ 副腎皮質ステロイド投与例に新たに抗リウマチ生物製剤や免疫抑制薬を投与する場合
- ・ First lineの化学療法後に再発して、second lineの治療を実施する場合

対象とならない例

- ・ 多剤併用化学療法で2クール目の同一療法を実施する場合

(2) 対象とする治療法

全診療科に共通する治療法

副腎皮質ステロイド単独療法：プレドニソロン換算で 0.5 mg/kg以上を2週間以上にわたって投与する症例。

血液領域

	対象とする	対象としない
急性骨髄性白血病	多剤併用化学療法	
急性リンパ性白血病	多剤併用化学療法	
慢性骨髄性白血病	移行期、急性期に対する多剤併用化学療法	
慢性リンパ性白血病	フルダラビンによる化学療法 多剤併用化学療法	
ホジキンリンパ腫	多剤併用化学療法	
非ホジキンリンパ腫	多剤併用化学療法	Rituximab 単独療法 Rituximab を含む化学療法

多発性骨髄腫	多剤併用化学療法 デキサメサゾン併用した ボルテゾミブ療法、デキサ メサゾン単独療法 MP (持続および間歇) 療法	サリドマイド 療法
同種幹細胞 移植 (血縁、バンク、 臍帯血) 自己幹細胞 移植	RIST を含む移植前処置 (前治療の 有無を問わない)	
再生不良性 貧血	ALG、CyA、PSL を用いた 免疫抑制療法	蛋白同化ホルモ ン単独治療
骨髄異形成 症候群	ALG、CyA、PSL を用いた 免疫抑制療法 多剤併用化学療法	蛋白同化ホルモ ン単独治療
自己免疫性 溶血性貧血	0.5mg/kg 以上の PSL を用い た治療	
特発性血小板 減少性 紫斑病	0.5mg/kg 以上の PSL を用い た治療	
その他	ステロイドの大量長期投与 を含む治療 多剤併用化学療法	

リウマチ・膠原病領域

関節リウマチ，膠原病，膠原病類縁疾患，血管炎症候群，その他免疫抑制療法を必要とする疾患で，中等量以上の副腎皮質ステロイド，免疫抑制薬（関節リウマチに対するメトトレキサート治療を含む），抗リウマチ生物製剤（infliximab，etanercept，tocilizumab，adalimumab）を投与する症例

腎臓領域

微小変化型ネフローゼ症候群，膜性腎症，巣状分節性糸球体硬化症，膜性増殖性糸球体腎炎，IgA腎症，急速進行性糸球体腎炎（MPO-ANCA関連腎炎）及びその他の腎疾患（膠原病など）で副腎皮質ステロイド薬 and/or シクロスポリン，ミノリピン，エンドキサンなどを投与する症例

腫瘍内科領域

悪性腫瘍で以下のプロトコールによる化学療法を実施する患者。

1. PaclitaxelとDocetaxelを含むregimen
2. Fluorouracilの経静脈投与を含むregimen
3. S1, S2とCisplatinまたはCapecitabin
4. Anthracycline系抗悪性腫瘍薬を含むregimen
5. Platiumを含むregimen

	対象とする	対象としない
頭頸部癌	化学放射線療法と化学療法	経口抗がん剤による化学療法
乳癌	標準的な化学療法	内分泌療法、ハーセプチン療法単独
肺癌	標準的な化学療法	分子標的薬による薬物療法
食道癌	標準的な化学療法、化学放射線療法	
胃癌	標準的な化学療法	経口抗がん剤単独での化学療法
膵癌	標準的な化学療法	経口抗がん剤単独での化学療法
大腸癌	標準的な化学療法	経口抗がん剤単独での化学療法
胚細胞腫	標準的な化学療法	

(3) 研究組織 (図2)

血液領域 (45 施設)：北海道大学，国立病院機構北海道がんセンター，旭川医科大学，岩手医科大学，秋田大学，東北大学，自治医科大学，群馬大学，筑波大学，小川赤十字病院，埼玉医科大学病院，埼玉医科大学総合医療センター，防衛医科大学校，埼玉県立がんセンター，独協医科大学越谷病院，日本医科大学，昭和大学，東京医科大学，東京女子医科大学，武蔵野赤十字病院，都立駒込病院，東京慈恵会医科大学第三病院，多摩北部医療センター，国立がんセンター東病院，千葉県がんセンター，NTT 東日本関東病院，北里大学，浜松医科大学，名古屋大学，名古屋市立大学，愛知医科大学，名古屋市立東部医療センター東市民病院，愛知県厚生農業協同組合連合会江南厚生病院，三重大学，福井大学，滋賀県立成人病センター，愛媛大学，国立病院機構九州がんセンター，佐賀大学，国立病院機構長崎医療センター，佐世保市立総合病院，国立病院機構熊本医療センター，

熊本大学, 鹿児島大学, 琉球大学

リウマチ・膠原病領域 (19 施設): 北海道大学, 福島県立医科大学, 自治医科大学, 群馬大学, 筑波大学, 埼玉医科大学病院, 東京大学, 東京医科歯科大学, 慶応義塾大学, 杏林大学, 東京医科大学, 国立国際医療研究センター国府台病院, 藤田保健衛生大学, 京都大学, 神戸大学, 産業医科大学, 長崎大学, 鹿児島大学, 琉球大学

腎臓領域 (15 施設): 手稻溪仁会病院, 旭川赤十字病院, 函館五稜郭病院, 岩手医科大学, 筑波大学, 埼玉医科大学病院, 独協医科大学越谷病院,

日本医科大学, 杏林大学, NTT 東日本関東病院, 神奈川県立がんセンター, 東京電力病院, 熊本大学, 鹿児島大学, 琉球大学

腫瘍内科領域 (18 施設): 岩手医科大学, 自治医科大学, 群馬大学, 埼玉医科大学国際医療センター, 武蔵野赤十字病院, 都立駒込病院, 東京慈恵会医科大学第三病院, 国立がんセンター東病院, 千葉県がんセンター, 神奈川県立がんセンター, 名古屋大学, 名古屋市立大学, 愛知県厚生農業協同組合連合会江南厚生病院, 三重大学, 福井大学, 滋賀県立成人病センター, 佐賀大学, 琉球大学



図2. 研究組織の概要

(4) Prospective Study

研究協力者は対象例から文書による説明と同意を得た後に必要事項を事務局に登録する。登録に際しては匿名化した情報を所定の用紙に記入し、Faxで送信する。事務局は登録情報をBML（委託契約機関）および必要に応じて研究分担者に連絡し、血液検体の回収、登録症例の適否判定を行う。

<キャリア例>

- 1) 免疫抑制・化学療法開始前の血清検体採取：HBV-DNA量（リアルタイム法：TaqMan法），HBs抗原・抗体，HBe抗原・抗体，HBc抗体，pre-core/core promoter変異（以上は保険診療），Genotype，ポリメラーゼ領域の遺伝子変異（INVADER法）（以上はBMLに委託），保存血清（事務局保管）
- 2) Entecavirによる予防投与をガイドラインに従って実施する（保険診療）。
- 3) 治療中及び免疫抑制・化学療法終了後はHBV-DNA量，HBe抗原・抗体を1ヶ月ごとに測定する（保険診療）。
- 4) Entecavirの中止はHBe抗体陽性，HBV-DNA検出感度未満が6か月以上継続した場合に考慮し，中止後はHBV-DNA量，HBe抗原・抗体を2週ごと16週まで，その後は1年まで1ヶ月ごとに測定する（保険診療）。なお，中止後にHBV-DNA量が増加する場合はentecavirの再開を考慮する。
- 5) 全経過を通じて2ヶ月ごとに血清を保存する（事務局保管）。

<既往感染例>

- 1) 治療開始前の血清検体採取：HBs抗原・抗体，

HBc抗体（以上は保険診療），HBV-DNA量（リアルタイム法：TaqMan）（BMLに委託），保存血清（事務局保管）

- 2) 治療開始時から1ヶ月ごとにHBV-DNA量を測定し（BMLに委託），2ヶ月ごとに血清を保存する（事務局保管）。
- 3) HBV-DNA量が「2.1 Log copies/mL未満であるが，シグナルが検出された場合」は血清検体を採取するが，entecavirは投与しないで，経過観察（1ヶ月ごとのHBV-DNA測定）を継続する。その際の血清検体採取：HBs抗原・抗体，HBe抗原・抗体，HBc抗体，HBV-DNA量，pre-core/core promoter変異，genotype，ポリメラーゼ領域の変異（INVADER法）（以上はBMLに委託），保存血清（事務局保管）
- 4) HBV-DNA量が定量検査で測定可能になった時点（2.1 Log copies/mL以上）で，血清を採取するとともにentecavirの投与を開始する（保険診療）。その後の診療情報はキャリア例に用いる調査用紙に記載する。その際の血清検体採取：HBs抗原・抗体，HBe抗原・抗体，HBc抗体，HBV-DNA量，pre-core/core promoter変異，（以上は保険診療），genotype，ポリメラーゼ領域の遺伝子変異（INVADER法）（以上はBMLに委託），保存血清（事務局保管）

注：「検出」となった症例はデータの詳細を事務局担当に研究分担者で評価する。Genotypeおよびpre-core/core promoter変異など成績を基に，その後の検査計画（HBV-DNA測定の間隔など）に関して，変更を連絡する場合がある。

- 5) 免疫抑制・化学療法が終了した12ヶ月後までは経過観察を継続し，この時点でHBV-DNAが「検出されず」の場合は終了する。

注：登録後に再治療を実施する場合は，初回治療

との間隔が12か月以内なら経過観察を継続し、最終の治療から12ヶ月後まで経過した時点で終了する。

(5) 事務局と研究分担者の業務分担

検査データの前方視的監視

- 1) BML で測定した HBV-DNA 量などの成績は事務局に報告され、その成績を事務局および当該領域の研究分担者が監視する。
- 2) 既往感染例で HBV-DNA が検出された場合は、事務局は当該施設で核酸アナログ製剤が適正に投与されたかどうかを確認する。
- 3) キャリア例に関しては、事務局は 3 か月ごとに当該施設に連絡し、その間の臨床経過を確認し、必要に応じて調査用紙に記入、事務局への返送を依頼する。

付帯情報の管理

- 1) 登録症例の付帯情報は研究協力者が匿名化して所定の用紙に記入の上、事務局に送る。
- 2) 事務局は登録症例情報、付帯情報一覧、BML からの検査結果など全情報を匿名下に管理し、評価委員会および当該領域の研究分担者に必要な情報を提供する。

成績の解析と治療への介入（助言）

- 1) 事務局および評価委員会は entecavir 開始例の全症例の経過を、付帯情報一覧を基に

3 か月ごとに検討し、必要に応じて保存血清によるウイルス遺伝子解析の適応を決定する。また、研究協力者に抗ウイルス療法に関する助言を行う。

- 2) HBV 再活性化を生じた症例および評価委員会が選択した症例のウイルス遺伝子の全塩基配列を解析する。また、事務局および評価委員会はウイルス遺伝子の解析結果をもとに当該研究協力者に抗ウイルス療法に関する助言を行う。
- 3) 保存血清は研究終了 5 年後まで埼玉医科大学消化器内科・肝臓内科に保存し、B 型肝炎ウイルスに関連した検査にのみ利用する。

C. 研究結果

(1) 登録症例の概要（図 3）

平成 23 年 2 月 28 日までに 180 例（血液領域 70 例、リウマチ・膠原病領域 84 例、腎臓領域 10 例、腫瘍内科領域 16 例）が登録された。その内訳は、キャリア例が 17 例（血液領域 3 例、リウマチ・膠原病領域 7 例、腎臓領域 2 例、腫瘍内科領域 5 例）、既往感染例が 163 例（血液領域 67 例、リウマチ・膠原病領域 77 例、腎臓領域 8 例、腫瘍内科領域 11 例）であり、観察期間は最大 16 ヶ月であった。既往感染例における HBV マーカーのプロファイルは、HBc 抗体、HBs 抗体がともに陽性の症例が 112 例（68.7%）、HBc 抗体のみ陽性が 32 例（19.6%）、HBs 抗体のみ陽性が 9 例（5.5%）であった（未確認 10 例：6.1%）。

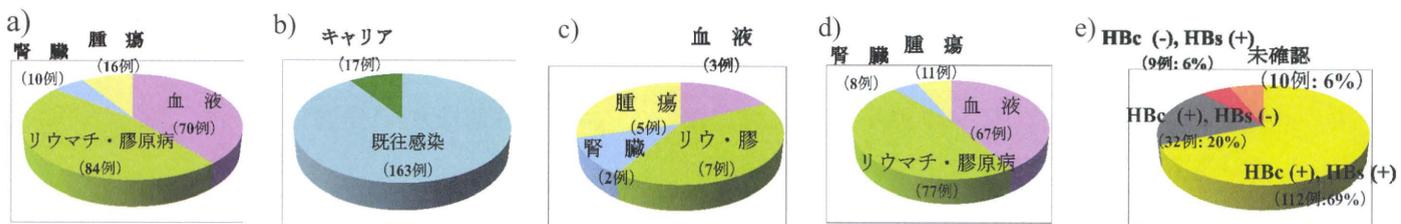


図 3. 登録症例の概要（平成 23 年 2 月 28 日まで）：a, b は全症例，c はキャリア例，d, e は既往感染例

(2) 登録症例における治療法

登録された 180 例に対して実施予定の治療法を表 1 および表 2 に示す。血液および腫瘍内科領域（計 86 例）における化学療法で用いられる薬物として多いのは、副腎皮質ステロイド（43 例：50.0%）、アントラサイクリン系抗生物質（42 例：48.8%）、アルキル化薬（41 例：47.7%）、ピリミジン代謝拮抗薬（32 例：37.2%）、ビンカアルカロイド（31 例：36.0%）、白金製剤（18 例：

20.9%）、葉酸代謝拮抗薬（14 例：16.3%）、トポイソメラーゼ阻害薬（11 例：12.8%）であり、大部分の症例はこれらによる多剤化学療法が実施されている。一方、リウマチ・膠原病および腎臓領域（計 94 例）における免疫抑制療法で用いられる薬物として最も多かったのは生物製剤（46 例：48.9%）であり、副腎皮質ステロイド（27 例：22.3%）、メトトレキサート（17 例：18.1%）が次いでいた。なお、腎臓領域で投与された薬物は全例が副腎皮質ステロイドであった。

表 1. 血液領域、腫瘍内科領域における治療法（複数を用いている場合は全てをカウント）

	ステロイド	アルキル化薬	葉酸拮抗薬	ピリミジン拮抗薬	プリン拮抗薬	その他拮抗薬	アントラサイクリン系抗生物質	その他抗生物質	ビンカアルカロイド	タキサン	ホルモン製剤	白金製剤	トポイソメラーゼ阻害薬	プロテアーム阻害薬	分子標的薬	カルシニューリン阻害薬
計	43	41	14	32	6	3	42	2	31	6	1	18	11	4	3	2
血液	43	39	14	22	6	2	40	1	30	1	0	7	11	5	1	2
腫瘍内科	0	2	0	10	0	1	2	1	1	5	1	11	0	0	2	0

表 2. リウマチ・膠原病領域、腎臓領域における治療法（複数を用いている場合は全てをカウント）

	ステロイド	メトトレキサート	免疫抑制薬	生物製剤	アルキル化薬
計	27	17	6	46	2
リウ 膠	17	17	6	46	2
腎臓	10	0	0	0	0

(3) キャリア例の経過

HBV キャリアである 17 例は全例でエンテカビルによる予防投与が実施された。これらのうち血液および腫瘍内科領域の 8 症例には、アルキル化薬、ピリミジン代謝拮抗薬、アントラサイクリン系抗生物質、ビンカアルカロイド、ホルモン製剤、白金製剤、分子標的薬および副腎皮質ステロイドを併用した多剤化学療法が行われた。何れの症例も化学療法中の血清 HBV-DNA 量上昇、肝炎の増悪は認められていない。一方、

リウマチ・膠原病および腎臓領域の 9 症例では、副腎皮質ステロイドないしはメトトレキサート、生物製剤、免疫抑制薬が投与されているが、同様に HBV-DNA 量増加、肝炎像悪は観察されていない。

(4) 既往感染例の経過

表 3 に示すように、既往感染 163 例のうち 4 例（2.5%：症例①②⑥⑧）は登録時に血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 未満であった

が、増幅シグナルが検出された。これら症例の HBV マーカーは 3 例は HBc 抗体のみ陽性、1 例は HBc 抗体、HBs 抗体がともに陽性であった。これらのうち 1 例 (症例①) は本人の希望によってエンテカビルによる予防治療を開始したが、他の 3 例は増幅シグナルの検出されなかった 159 例とともに、免疫抑制・化学療法を実施中はエンテカビル未投与で HBV-DNA のモニタリングのみを実施した。増幅シグナルの検出された症例のうち 1 例 (症例②) は、モニタリング中に増幅シグナルは未検出となった。しかし、他の 2 例 (症例⑥⑧) は免疫抑制・化学療法によって HBV-DNA 量は 2.1 copies IU/mL 以上に上昇した。また、検出シグナルが検出されなかった 159 例のうち 2 例 (症例③④) は免疫抑制・化学療法

中に血清 HBV-DNA 量は 2.1 copies IU/mL 未満であるが、増幅シグナルが検出されるようになった。また、3 例 (症例⑤⑦⑨) では血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇した (表 3)。

登録時に増殖シグナルが認められた症例および再活性化を生じた症例を対象に、HBV の遺伝子配列を解析した (表 3)。9 例中 4 例で genotype を同定可能で、3 例が C、1 例が Bj であった。また、プレコア変異は 8 例で同定でき、5 例が変異株優位、3 例が野生株優位であった。一方、コアプロモーター変異に関しては 5 例で同定が可能であり、3 例は野生株優位、2 例では 1762, 1764 以外の変異株が検出された。なお、再活性化した症例のうち 1 例 (症例⑨) では、HBs 蛋白に escape 変異 (A145) も認められた。

表 3. 既往感染例における HBV の再活性化

症例	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
性, 年齢	女, 75 歳	女, 77 歳	男, 65 歳	女, 70 歳	男, 80 歳	女, 62 歳	女, 51 歳	男, 74 歳	男, 61 歳
領域	腎臓	リウ・膠	リウ・膠	血液	リウ・膠	リウ・膠	リウ・膠	リウ・膠	血液
疾患	膜性腎症	関節リウマチ	多発血管炎	多発骨髄腫	関節リウマチ	多発筋炎 シェーグレン	再発性多発軟 骨炎	関節リウマチ	芽球形形質細胞 様樹状細胞 腫瘍
HBV-DNA (Log IU/mL)	<2.1 (+)	<2.1 (+)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (+)	<2.1 (-)	<2.1 (+)	<2.1 (-)
HBc 抗体	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
HBs 抗体	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
治療歴	Naïve	Naïve	Naïve	あり	Naïve	Naïve	あり	あり	なし
投与薬物	ステロイド	トシリツマブ	ステロイド, シクロフォス ファミド	ステロイド, ボルテゾミブ	メトトレキサ ート	ステロイド	インフリキシ マブ	インフリキシ マブ, メト レキサート	ステロイド, メトトレキサ ート, ロイナ ーゼ, イホマ イド ^o
再活性化時期	0	0	1 ヶ月	1 ヶ月	3 ヶ月	3 ヶ月	3 ヶ月	2~3 ヶ月	11 ヶ月
HBV-DNA (Log IU/mL)	-	-	<2.1 (+)	<2.1 (+)	2.3	2.2	2.2	2.3~2.8	6.4
Genotype	感度未満	感度未満	感度未満	感度未満	C	Bj	感度未満	C	C
PC 変異	M : 100%	M : ≥95%	M : ≥95%	M : ≥95%	W : 100%	M : 90%	感度未満	W : 90%	W : 100%
CP 変異	感度未満	感度未満	感度未満	1762,64 以外	W : 100%	1762,64 以外	感度未満	W : 100%	W : 100%
AST, ALT (IU/L)	25, 16	34, 20	26, 73	36, 57	22, 17	18, 29	27, 37	20, 22	68, 56
Entecavir	投与	未投与	未投与	未投与	投与	投与	投与	投与	投与

HBVの再活性化は、免疫抑制・化学療法を開始して最短で1ヶ月、最長で11ヶ月で生じており、1ヶ月ごとのモニタリングによって、1例を除いて血清HBV-DNA量は3.0 Log copies/mL未満の時点でエンテカビルの投与を開始し、肝炎の発症は予防できている。血清HBV-DNA量が6.4 copies IU/mLまで上昇した症例⑨は、本人の都合で2カ月間モニタリングから脱落した症例であり、再活性化が発覚する3ヶ月前のモニタリング時には血清HBV-DNA量は2.1 Log copies/mL未満、増幅シグナル検出せずであった。なお、再活性化時にHBV-DNA量は2.1 Log copies/mL未満であったが、増幅シグナルが検出された2例（症例③④）は、エンテカビル未投与でモニタリングを継続したが、その後、増幅シグナルは検出されなくなった。

再活性化の誘因となった治療法は、インフリキシマブ単独およびこれとメトトレキサートとの併用療法が各1例（症例⑦⑧）、副腎皮質ステロイドと免疫抑制薬ないしは抗悪性腫瘍薬による多剤併用療法が3例であった（症例③④⑨）。しかし、副腎皮質ステロイドないしはメトトレキサートに単独療法で再活性化を生じた症例も1例ずつ見られた（症例⑤⑥）。

D. 考察

本研究を実施するためには、当該施設において倫理委員会の承認を得ることが必須である。このため、97施設で倫理委員会の承認を得るのに時間がかかり、症例の登録を本格的に開始したのは平成22年3月以降であった。その後、約1年間で180症例の登録があり、キャリア17例、既往感染163例で「坪内班」、「熊田班」によるガイドラインの検証を実施している。

キャリア例のうち8例は血液ないし腫瘍内科領域で化学療法を、9例はリウマチ・膠原病ないし腎臓領域で免疫抑制療法を実施している。しかし、ガイドラインに従ってエンテカビルを予防投与す

ることで、血清HBV-DNA量の増加および肝炎の増悪は、現時点までは認められない。インフリキシマブなど生物製剤の添付文書に、「重要な基本的注意」としてHBVキャリアへの慎重な対応が記載されている。このためリウマチ・膠原病領域ではHBVキャリアに対して、生物製剤を用いた免疫抑制治療を実施しないのが一般的である。しかし、本研究によって、エンテカビルの予防投与を行えば、安全に生物製剤による治療を遂行できることが証明されれば、同領域における治療法の範囲は広がると考えられる。HBVキャリア例に関して、平成23年度以降も登録症例数を増加させ、また、更に長期間にわたって経過を観察することで、「坪内班」と「熊田班」によるガイドラインを検証することが、今後の課題になる。

一方、HBV既往感染例に関しては、HBs抗原陰性でありながら、登録時に血清HBV-DNAの増幅シグナルが検出される症例が存在することが明らかになった。その頻度は2.5%（4/163）であり、決して無視できる数値ではない。これらのうち3例はHBs抗体が陰性で、HBc抗体のみが陽性であった。従って、この3例で検出された増幅シグナルは偽陽性ではなく、HBV-DNA量が2.1 Log copies/mL未満であるが、少量のウイルスが血中に存在しているキャリアと同様の状態である可能性が高い。現在、HBs抗原はCLEA法によって測定するのが一般的である。しかし、免疫抑制・化学療法を前提にしてHBVキャリアを診断する際には、同検査法のsensitivityには問題があると考えられ、より高感度な測定系の導入を考慮する必要があると考えられた。なお、HBs抗体も陽性であるにも拘わらず、増幅シグナルが検出された1例に関しては、その抗体価およびescape変異との関連で、ウイルス血症の意義を検討しなければならない。

既往感染例におけるHBV再活性化は7例で認められ、その頻度は4.3%であった。血清HBV-DNA量が2.1 copies IU/mL以上に上昇し、エンテカビル

投与を要する症例も 5 例存在し、これらに限定しても、その比率は 3.1%であった。これは決して無視のできない頻度と見なされる。本研究では、既往感染例における経過観察期間が最長で 16 ヶ月であり、現状では大部分の症例は観察期間が 12 ヶ月未満である。今後、観察期間が長期になるに従って、再活性化の頻度はより高くなる可能性がある。従って、既往感染例に関しても、平成 23 年度以降に登録症例数を増加させ、より長期間にわたって経過を観察し、これに基づいて再活性化の頻度を明らかにすることが、今後の課題と言えよう。

既往感染の再活性化に関しては、リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法でも、その頻度が意外に高値であるという事実とともに、以下に示す重要な知見が得られた。

(1) HBV の再活性化は、免疫機構に大きな影響を与えると想定する多剤併用の免疫抑制・化学療法のみではなく、副腎皮質ステロイドないしはメトトレキサートの単独療法でも誘発された。本研究班ではプレドニソロン換算で 0.5 mg/Kg 以上を 2 週間を超えて投与している症例を対象としている。同様の治療法は、今回の研究で対象とした血液、リウマチ・膠原病、腎臓、腫瘍内科領域以外でも実施されている。従って、HBV の再活性化は、全ての診療科において考慮する必要がある問題と見なすべきである。

(2) 再活性化の認められた症例のうち 1 例では、血清 HBV-DNA 量が 6.4 copies IU/mL まで増加し、その後にエンテカビルが投与された。本症例は事情によって、HBV-DNA 測定のモニタリングが 2 カ月間実施できず、その測定で再活性化例と診断された。一般に HBe 抗体陽性例は血清 HBV-DNA 量が 4.0 copies IU/mL 以上に上昇すると、肝炎を発症する可能性があることが知られている。一方、本研究では、HBV-DNA 量が 2.1 copies IU/mL 以上に上昇した時点でエンテカビルによる治療で介入

するプロトコルを採用した。このため、リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法によって、肝炎を発症するような HBV 再活性化が生じるかどうかに関しては、本研究では証明できない可能性があった。しかし、同症例では偶々モニタリングが不十分であったことによって、肝炎のリスクの高い再活性化を生じ得ることが明らかになった。また、同症例によって、重症肝炎の発症を予防するためには、モニタリングとして HBV-DNA 測定を 3 ヶ月ごとに実施するのでは不十分であることが示された。この観点でも「坪内班」、「熊田班」のガイドラインは有用であることが実証されたと考えられる。

(3) HBV 再活性化が認められた症例には、血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copies IU/mL 未満であるが、増幅シグナルが検出された症例が 2 例存在した。これらでは、本研究のプロトコルに従ってエンテカビルを投与せず、HBV-DNA 測定のモニタリングのみを継続した。その結果、増幅シグナルは再び検出感度未満となり、エンテカビルによる治療を実施する必要がない状態が持続している。従って、HBV 再活性化に際してエンテカビルによる治療介入を開始する指標としては、「増幅シグナル検出」ではなく、「HBV-DNA 量 2.1 Log copies/mL 以上」を採用するのが適切と推定された。但し、この点に関しては、更に登録症例数を増加させ、平成 23 年度以降も実証を続ける必要があろう。

E. 結 論

平成 22 年度までに登録された 180 例の臨床経過から、リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法による HBV 再活性化の頻度は、大部分の症例における経過観察期間が 12 ヶ月未満の時点でも 4.3%であり、予想以上に高率である可能性があることが判明した。また、副腎皮質ステロイドないしメトトレキサートの単独投薬療法など、全ての診療科で実施する可能性がある治療法でも、再活性化を生

じ得ることが明らかとなった。一方、HBV キャリアおよび既往感染例の対策としては、「坪内班」と「熊田班」のガイドラインが有用であることも示された。しかし、登録症例は未だ予定数を下回っており、また、観察期間も短期間の症例が多いのが現状である。平成 23 年度には、より多数例を登録し、更に長期にわたって経過を観察することで、平成 22 年度に得られた知見を確固たるものにする必要がある。

F. 健康危惧情報

なし。

Ⅱ. 分担・協力研究報告

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬による B 型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立

研究分担者 楠本茂 名古屋市立大学大学院医学研究科 腫瘍・免疫内科学 講師
研究協力者 田中靖人 名古屋市立大学大学院医学研究科 病態医科学 教授

分担研究課題:肝炎ウイルスの遺伝子解析および症例登録

研究要旨: リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法をうける HBV 既往感染例を対象とした、多施設共同臨床試験により確認された再活性化例において、ウイルス学的解析を行った。登録 135 例中 5 例(3.7%)に HBV 再活性化を認め、5 例中 4 例でシークエンスが可能であった。3 例が genotype C, 1 例が Bj であった。PC 変異は 1 例のみに認め、1 例では S 領域の変異(146A)を認めた。

A. 研究目的

悪性リンパ腫の治療でリツキシマブと副腎皮質ステロイドを HBV の既往感染例に投与すると再活性化が生じて重症肝炎を発症する場合がある。本研究班では、リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法をうける HBV 既往感染例を対象に再活性化の実態を prospective 調査で解明することを目指す。血液、腎臓、リウマチ・膠原病、腫瘍内科などにおいて、免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬使用により HBV の再活性化 (HBV DNA 陽転化) が認められた症例は保存血漿 (血清)を用いてウイルスの各種遺伝子定量・解析・変異の有無等を検討し、HBV 再活性化との関係を明らかにする。

B. 研究方法

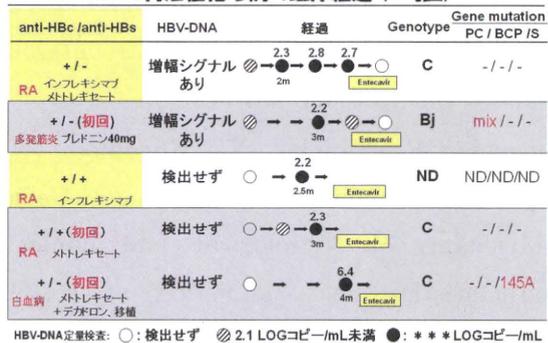
HBV 再活性化研究の試験開始から 14 か月が経過し、登録 135 例中 5 例(3.7%)に HBV 再活性化を認めた。これらの HBV 再活性化例の臨床経過及びウイルス複製亢進や重症化に寄与するウイルス遺伝子型やプレコア(PC)/コアプロモーター(CP)変異を検討した。(倫理面への配慮)
患者血清については書面上で同意書を取得している。

C. 研究結果

5 例に関してウイルス学的な解析が終了している。

1. 臨床的特徴:3 例は慢性関節リウマチ、残りは多発筋炎、白血病からの再活性化例であった。5 例ともステロイド、メトトレキサート、生物製剤いずれかが使用されていた。全例登録時 HBc 抗体陽性、2 例は HBs 抗体も陽性であった。治療前の HBV-DNA:3 例は検出せず、2 例は増幅シグナル陽性であり、登録後比較的短期間(2-4 カ月)で再活性化を認めた。
2. 再活性化時の HBV 変異;5 例中 4 例でシークエンスが可能であった。3 例が genotype C, 1 例が Bj であった。PC 変異は 1 例のみに認め、1 例では S 領域の変異(146A)を認めた。

試験開始14カ月→ 5/135 (3.7%) HBV再活性化
HBV再活性化 5例の臨床経過 (@埼玉)



5 例中 1 例は再活性化時の HBV-DNA 量が 6.4Log