

- 3) NA中止を複数繰り返した症例で非再燃になった3例においては中止時のgroupがgroup3→3→3(ただしHBsAgは93IU/ml)、3→2、3→2となり再燃しなくなった。逆に再燃を繰り返した2例はgroup3→3→3, 3→3であった。
- 4) HBcrAgは非再燃群13例中8例は検出感度未満で推移した。
- 5) HBsAgは非再燃群13例中8例は検出感度未満になった。
- 6) 経過中に肝癌発生例は2例有り、再燃例1例はNA投与中に肝癌を認めた。非再燃例の1例はNA投与中止後12か月後に肝癌を認めたが、肝癌を認めたときの採血データはHBV DNA 4.4 logcopies/ml、HBcrAg <3logIU/ml、HBsAg 35.7 IU/mlであった。その後100ヶ月間非再発であり、HBV DNAは測定感度未満に、HBsAgも陰性化した。

#### D. 考察

HBsAgとHBcrAgを用いた中止基準は妥当なものであった。Group 2 以下の中止基準になって安全にNAの投与が中止しうる状態になる症例はあまり多くはない。NA以外に例えばペグインターフェロンを併用することで中止基準を満たすことが出来るかもしれない。

#### E. 結論

HBcrAgとHBsAgのスコアリングを駆使して中止基準をgroup2以下にすれば中止後非再燃が期待でき、多くの症例でHBsAgやHBcrAgが検出感度未満になり得た。

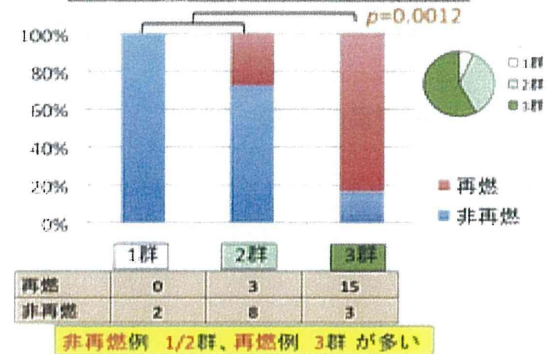
図1 NA中止例のべ30人の内訳

	再燃例(n=18(のべ))	非再燃例(n=11)
性別(M/F)	12/6	8/5
HBVゲノタイプ(A/I/C/NT)	0/2/14/2	2/1/7/3
投与したNA(LVD/ETV)	15/3	7/6
NA投与前の		
年齢	43.6±6.8	46.5±10.2
ALT	76 (10~602)	147 (28~655)
HBe抗原(+)/(-)	4/14	5/8
HBV DNA (log copies/ml)	6.3±1.5	6.5±1.3
HBcrAg (logIU/ml)	5.8±1.4	5.6±1.8
HBsAg (logIU/ml)	3.2±0.8	3.3±1.1

図2 再燃例と非再燃例の比較

	再燃例(n=18(のべ))	非再燃例(n=12)
NA投与期間	19.3±11.2	21.0±10.2
中止時点の		
HBV DNA	ケンシヨウセス (Taq) 1 <2.1(+) (Taq) 4 2.3 (Taq) 3 <3.7 (TMA) 6	ケンシヨウセス 7 <2.1(+) (Taq) 3 <2.6 (AMP) 3
HBcrAg <3/3-3.9/>4	3/5/10	6/5/2
HBsAg <80/80-800/>800	0/6/12	6/5/2
スコア (1,2,3)	(1:0/2, 2:3/11, 3:15/18)	(1:2/2, 2:8/11, 3:3/18)
観察期間 (中間値M)	87ヶ月(23~121)	55ヶ月(6~121)
再燃時期 (中間値M)	5ヶ月(2~14)	

図3 スコアリングとNA中止後の非再燃



#### F. 健康危険情報

特にない

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) HBs 抗原定量値の臨床的有用性の検討  
中村恵利那, 角田浩一, 松浦健太郎, 菅内文中, 新海登, 田中靖人 臨床病理 59(9) p838 -843 2011

2) Evidence of serologic activity in chronic hepatitis B after surface antigen (HBsAg) seroclearance documented by conventional HBsAg assay. Wai-Kay Seto, Yasuhito Tanaka, Danny Ka-Ho Wong, Ching-Lung Lai, Noboru Shinkai, John Chi-Hang Yuen, Teresa Tong, James Fung, Ivan Fan-Ngai Hung, Man-Fung Yuen. Hepatology International. In press

## 2. 学会発表

- 1) B型慢性肝炎患者における核酸アナログ  
中止症例の検討 ～中止後長期観察例を  
ふまえて～ 新海登 田中靖人 松浦健  
太郎 溝上雅史 第39回日本肝臓病学会  
西部会 岡山 2011

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(※予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
特になし

## B型肝炎に対する核酸アナログ治療完遂終了例の検討

研究分担者 平松 直樹 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学 講師

研究要旨：核酸アナログ製剤中止後 HBV DNA 量検出感度以下の状態が 2 年以上継続した B 型慢性肝炎 44 例 (lamivudine (LAM) 26 例, entecavir (ETV) 18 例) を対象とした。LAM 治療後症例では、観察期間 (71.0 ± 16.3 ヶ月) において、HBV DNA 上昇例を 46% (12/26)、ALT 上昇を 42% (11/26) に認め、38% (10/26) に LAM (ETV) の再投与が必要であった。また、ETV 治療後症例では、観察期間 (8.4 ± 6.7 ヶ月) において、HBV DNA 上昇例を 33% (6/18)、ALT 上昇を 17% (3/18) に認め、22% (4/18) に ETV 再投与を要した。LAM または ETV 治療終了時の HBcrAg 値の中央値は、再治療を要した症例の 4.0 LC/ml に対し、再治療の必要がなかった症例では 3.6 LC/ml と有意に高く ( $p < 0.05$ )、また治療中止時の HBcrAg 値の中央値は、LAM 投与例 3.9 LC/ml、ETV 投与例 3.2 LC/ml と、ETV 投与例で有意に低値であった ( $p < 0.02$ )。以上より、核酸アナログ治療中止後は、特に LAM 治療後症例で再燃に注意する必要がある可能性が示唆された。

### A. 研究目的

B 型慢性肝疾患に対する最初の核酸アナログ Lamivudine (LAM) は多数の症例に導入されたが、その後、Entecavir (ETV) の登場により治療成績は向上し、現在、ETV が核酸アナログ療法の第 1 選択剤となっている。今回、本研究班の課題である核酸アナログ製剤の治療中止について、LAM ならびに ETV 投与終了症例における HBV DNA ならびに ALT 再燃の面から検討した。

### B. 研究方法

#### 1. 対象

対象は、LAM または ETV により HBV DNA 量検出感度以下の状態が 2 年以上継続した後に薬剤を中止した 44 例 (LAM 26 例、ETV 18 例) とした。

#### 2. 方法

核酸アナログ治療終了後、経時的に HBV DNA 量を測定し、5logcopies/ml 以上の HBV 増加を認めた症例を HBV DNA 再燃とした。

### C. 研究結果

LAM 投与例は、男性 18 例 (平均年齢 50.7 歳) / 女性 8 例 (平均年齢 49.6 歳)、治療開始時 HBeAg 陽性 11 例 / HBeAg 陰性 15 例であった。LAM 投与期間は 52.9 ± 13.2 ヶ月、治療後の平均観察期間は 71.0 ± 16.3 (12-109) ヶ月であった。一方、ETV 投与例は、男性 13 例 (平均年齢 52.3 歳) / 女性 5 例 (平均年齢 53.2 歳)、ETV 開始時 HBeAg 陽性 3 例 / HBeAg 陰性 15 例で、LAM からの切替例が 9 例、LAM 終了後の再燃例が 4 例、核酸アナログ新規症例が 5 例であった。ETV 投与期間は 28.6 ± 10.2 ヶ月で、ETV 治療終了時点では全例が HBeAg 陰性であった。ETV 治療後の平均観察期間は 8.4 ± 6.7 (1-26) ヶ月であった。

LAM 治療後に薬剤中止した 26 例において、HBV DNA 再燃例を 50% (13/26)、ALT 上昇を 46% (12/26) に認め、42% (11/26) に LAM が再投与された。一方、ETV を中止した 18 例では、HBV DNA 再燃例 33% (6/18)、ALT 上昇 17% (3/18) で 22% (4/18) に ETV が再投与された。

LAM または ETV 治療終了時の HBcrAg 値の中央値は、再治療を要した症例の 4.0 LC/ml に対し、再治療の必要がなかった症例では 3.6 LC/ml と有

意に高く ( $p < 0.05$ )、また治療中止時の HBcrAg 価の中央値は、LAM 投与例 3.9LC/ml、ETV 投与例 3.2LC/ml と、ETV 投与例で有意に低値であった ( $p < 0.02$ ) (図 1)。

#### D. 考察

今回の検討では、核酸アナログ治療終了後、HBV DNA 再燃は LAM 中止例 50%、ETV 中止例 33% であり、ALT 上昇は、それぞれ 46%、17% であった。中止後の観察期間が異なるために単純な比較はできないが、治療終了時の HBcrAg 価は、LAM 中止例 3.9LC/ml、ETV 投与例 3.2LC/ml と、ETV 投与例で低値であり、ETV 治療では、LAM 治療に比し、HBV DNA 増殖をより強く抑制し、その後の再燃が低率である可能性が示唆された。

#### E. 結論

核酸アナログ治療により HBV DNA 量検出感度以下が持続した症例の治療後の再燃を検討した。特に、LAM 治療後症例では、治療後の再燃に注意する必要があるものと考えられた。

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表 :

- 1) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “難治性 C 型肝炎に対する Peg - IFN/Ribavirin 併用療法 - 高齢者における問題と対策 -” シンポジウム「ウイルス性肝炎の標準治療の変遷と将来像」第 97 回日本消化器病学会総会 (東京) 2011

##### 2. 論文発表 :

- 1) Kurokawa M, Hiramatsu N, Oze T, Yakushijin T, Miyazaki M, Housui A, Miyagi T, Yoshida A, Ishida H, Kiso S, Tatsumi T, Kanto T, Kasahara A, Iio S, Doi Y, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Mochizuki K, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Katayama K, Yoshihara H,

Imai Y, Hayashi E, Hayashi N, Takehara T. Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus. J Gastroenterol. in press

- 2) Kodama T, Takehara T, Hikita H, Shimizu S, Shigekawa M, Tsunematsu H, Li W, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Ishida H, Kanto T, Hiramatsu N, Kubota S, Takigawa M, Tomimaru Y, Tomokuni A, Nagano H, Doki Y, Mori M, Hayashi N. Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice. J Clin Invest. 2011 Aug 1;121(8): 3343-56.
- 3) Hikita H, Takehara T, Kodama T, Shimizu S, Shigekawa M, Hosui A, Miyagi T, Tatsumi T, Ishida H, Li W, Kanto T, Hiramatsu N, Shimizu S, Tsujimoto Y, Hayashi N. Delayed-onset caspase-dependent massive hepatocyte apoptosis upon fas activation in bak/bax-deficient mice. Hepatology. 2011 Jul;54(1):240-51.

#### H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得 : なし
2. 実用新案登録 : なし
3. その他 : なし

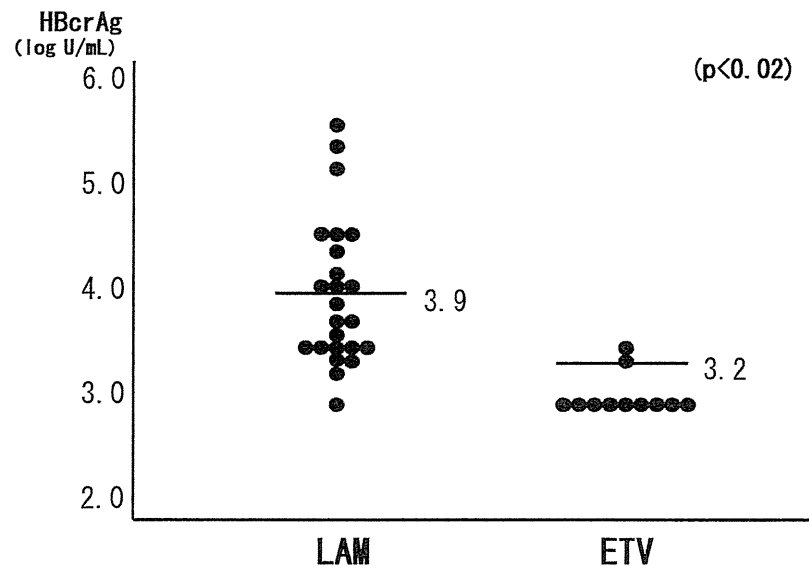


図1. LAM, ETV 投与例における完遂終了時 HBcrAg 抗原価

HBs 抗原・コア関連抗原の臨床経過 -核酸アナログ中止を見据えて-

研究分担者 狩野 吉康 札幌厚生病院 肝臓科 副院長

研究要旨：核酸アナログ製剤を考慮する際のマーカーとしての HBs 抗原とコア関連抗原を用いた NA 中止基準試案が作製されている。当院にて 2 年以上 Entecavir (ETV) が継続投与された 121 例 [投与期間中央値 40 (24-60) ヶ月] を対象とし、NA 中止基準試案をもとに HBs 抗原とコア関連抗原の推移を検証した。今回の我々の検討では、核酸アナログ中止が高率に成功する A 群に移行した症例は 3 例 (2.6%) と僅かであったが、中止成功率が 50% と見込まれる B 群への移行は 26 例 (23.9%) に認められた。C 群から B 群へ移行しやすい因子は①ALT 200IU/L 以上、②PreC、変異型、③HBe 抗原陰性、④遺伝子型 A または B の 4 因子であり、この 4 因子のうち 3~4 因子に合致する症例では 55~75% で B 群への移行が達成された。これらの 4 因子は核酸アナログ治療導入を決める際の指標として活用が可能である。

#### A. 研究目的

核酸アナログ製剤 (NA) 投与は生殖年齢の世代に対する安全性が未確立であり、長期投与では薬剤耐性出現が避けられない。NA 中止を考慮する際のマーカーとしての HBs 抗原とコア関連抗原を用いた NA 中止基準試案が作製されている。当院にて 2 年以上 Entecavir (ETV) が継続投与された 121 例 [投与期間中央値 40 (24-60) ヶ月] を対象とし、NA 中止基準試案をもとに HBs 抗原とコア関連抗原の推移を検証した。

#### B. 研究方法

当院で ETV を投与した Naïve 症例 121 例を対象に HBs 抗原とコア関連抗原の推移を検討した。HBs 抗原 2 logIU/ml かつコア関連抗原 2 log U/ml 未満を A 群、HBs 抗原 3 Log IU/ml 未満かつコア関連抗原 4 log U/ml 未満を B 群、それ以外を C 群として、ETV 投与前、投与 2 年後のグループの変動を検討した。

A 群は中止成功率 90% が見込まれる群、B 群は中止成功率約 50%、C 群は中止成功率約 10% の群である。

#### (倫理面への配慮)

通常の臨床研究であり、血清の保存にあつたては当院倫理委員会で承認を受けた同意書にて同意を取得した。発表に当たっては個人が特定されないように留意した。

#### C. 研究結果

ETV 投与前の 121 例の分布は A 群 7 例、B 群 4 例、C 群 110 例であった。ETV 投与中の HBs 抗原価の推移 (中央値) は、前 3.4 (log IU/ml)、1 年 3.2、2 年 3.1、3 年 2.9、コア関連抗原の推移 (中央値) は、前 5.4、1 年 4.3、2 年 4.0、3 年 3.9 であり、HBs 抗原の減衰は 3 年で 0.5 log IU/ml と僅かであった。

最終観察時点での A 群への移行へ B 群から 1 例 (25%)、C 群から 2 例 (1.8%) の 3 例 (2.6%) のみであった。この 3 例と A 群へ移行しなかった他の 118 例の間に一定の傾向は見いだせなかった。

C 群から B 群への移行は 109 例中 26 例 (23.9%) であった。B 群へ移行した 26 例と C 群に留まった 83 例の検討で有意な差を認めた因子は、B 群移行例で ALT 高値 (144 vs 95: P=0.037)、HBe

抗原陽性の比率が低い (4% vs 52%:  $P < 0.001$ )、PreC 変異型の比率が高い (88% vs 53%:  $P = 0.001$ )、遺伝子型 A または B の比率が高い (46% vs 11%:  $P < 0.001$ ) であった。

C 群から B 群へ移行しやすい因子を①ALT 200IU/L 以上、②PreC、変異型、③HBe 抗原陰性、④遺伝子型 A または B の 4 因子とすると、4 因子合致では 6 例、3 因子合致では 17 例が B 群に移行した。4 因子合致では、B 群への移行の Sensitivity は 23.1%、Specificity は 97.6%、3 因子合致では Sensitivity は 65.4%、Specificity は 83.1% であった。逆に上記の 4 因子のうち 3 因子が合致しない症例からの B 群への移行は 2 例のみであった。

#### D. 考察

NA 治療例において、中止基準を作成し安全に核酸アナログを中止することは重要な課題であるが、抗ウイルス療法の導入に際して、将来的に NA 中止が可能になるか否かを予め知るとも、治療のストラテジーを決める上で重要である。NA の中止基準を達成できないことが予測される症例に対しては、インターフェロン治療あるいはインターフェロンと NA を組み合わせた治療の選択も考慮される。今回の我々の検討では、NA 中止が高率に成功する A 群に移行した症例は 3 例 (2.6%) と僅かであったが、中止成功率が 50% と見込まれる B 群への移行は 26 例 (23.9%) に認めた。C 群から B 群へ移行しやすい因子は①ALT 200IU/L 以上、②PreC、変異型、③HBe 抗原陰性、④遺伝子型 A または B の 4 因子であり、この 4 因子のうち 3~4 因子に合致する症例では 55~75% で B 群への移行が達成された。これらの 4 因子は NA 治療導入を決める際の指標として活用することが可能と思われる。

#### E. 結論

e 抗原陰性、PreC 変異あり、遺伝子型 A ないし B 型、ALT 200 IU/L 以上の治療前因子のうち 3 ないし 4 項目合致例では核酸アナログ治療により、HBs 抗原 2 log & crAg 3 log 未満へと低下し、将来的に核酸アナログ治療中止の可能性があると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 1. 学会発表

- 1) 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, 佐藤隆敬, 狩野吉康, 豊田成司 核酸アナログ投与例における HBs 抗原量の検討 第 47 回日本肝臓学会総会 東京 2011 年
- 2) 狩野吉康, 小関至, 木村陸海, 荒川智宏, 中島知明, 桑田靖昭, 佐藤隆啓, 大村卓味, 豊田成司 HBs 抗原・コア関連抗原の臨床経過-核酸アナログ中止を見据えて- 第 15 回日本肝臓学会大会 福岡 2011 年

(※発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(※予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

## 核酸アナログ中止可能を予測する因子

研究分担者 柘植 雅貴 広島大学自然科学研究支援開発センター 助教  
研究協力者 茶山 一彰 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

### 研究要旨：

B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療において、長期服薬の必要性や耐性株出現の観点から、肝予備能が良好な一部の症例では、核酸アナログ療法の中止が試みられている。本研究では、核酸アナログ治療中止後 24 週間以上経過が良好であると予測される症例を抽出することを目的とし検討を行った。核酸アナログ治療中には、血清中に HBV RNA を含む HBV 粒子が出現することから、本研究では、HBV RNA 量と治療中止後の臨床経過との関連性について検討した。対象は、当院および関連施設にて B 型慢性肝炎に対し、24 週以上核酸アナログ療法を行った後に治療を中止した 36 症例。HBV DNA 量、HBV DNA+RNA 量等の HBV 関連マーカーを測定し、患者背景や臨床経過について検討を行った。その結果、治療 3 ヶ月後の HBV DNA+RNA 量は、核酸アナログ治療中止 24 週以内の HBV DNA 再上昇に関与する独立因子であり、ALT の再上昇にも関与していることが示された。このことから、核酸アナログ治療中の HBV DNA+RNA 量は、治療中止後の短期的な経過予測に有用である可能性が示唆された。

### A. 研究目的

以前より、B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ治療中には、血清中に逆転写の行われなかった HBV RNA を含む HBV 粒子が存在し、その HBV RNA を含む粒子の量と核酸アナログ耐性株出現との間に相関あることを示してきた。

(Hatakeyama et al., *Hepatology* 2007)。本研究では、HBV RNA が核酸アナログ中止後 24 週以内の ALT、HBV DNA の再上昇にどのように関与しているかについて、24 週以上核酸アナログ療法を行った症例に絞り、検討を行った。

### B. 研究方法

対象：2011 年 4 月までに、当院および関連施設にて B 型慢性肝炎に対して核酸アナログ療法を 24 週以上行った後に、核酸アナログ治療を中止した 57 例。本解析では、57 症例のうち、HBV RNA などの解析が可能であった 36 症例を対象とした。

核酸アナログ投与前、投与 1~6 ヶ月、中止時、中止後 1 ヶ月の患者保存血清より、スマイテスト R&D を用いて核酸を抽出。逆転写反応を行ったサンプルと行わなかったサンプルを準備した後、リアルタイム PCR にて HBV DNA+RNA 量、HBV DNA 量を測定した。HBV DNA+RNA 量、HBV DNA 量と臨床経過との相関を検討した。また、同保存血清を用いて、HBs 抗原量、HBcr 抗原量、HBV DNA (TaqMan 法) の測定も行い、これらの因子が核酸アナログ治療中止の予測因子となり得るかについても併せて検討を行った。

尚、HBV DNA の再上昇、ALT の再上昇に関する評価基準は以下のように設定した。

HBV DNA 再上昇：核酸アナログ中止時、HBV DNA 陰性の場合、HBV DNA 4.0Log copies/ml 以上となった時点を、HBV DNA 陽性の場合、HBV DNA が 1.0Log copies/ml 以上上昇した時点を、「HBV DNA 再上昇」とした。

ALT 再上昇：核酸アナログ中止時、ALT 正常の場合



合、ALT>50 IU/Lとなった時点を、核酸アナログ中止時、ALT>35IU/L の場合、ALT>正常上限の2倍以上となった時点をALT再上昇とした。

(倫理面への配慮)

患者血清保存ならびにB型肝炎ウイルス関連マーカーの測定に際し、疫学研究に関する倫理指針に従った研究計画書を作成し、当大学での審査を受けている。また、十分なインフォームドコンセントの後に患者血清を採取し、匿名化された状態で凍結保存している。

### C. 研究結果

解析に用いた36症例の患者背景は、男女比=20:16、年齢の中央値が43歳、核酸アナログ治療期間は36週間(24~304週間)、観察期間は269週間(73~508週間)だった。

【検討1】核酸アナログ中止後のHBV DNA再上昇に関与する因子の検討

対象36症例を核酸アナログ治療中止後24週以内に血清HBV DNA量が再上昇した群(HBV再上昇群 n=21)と上昇しなかった群(HBV非上昇群 n=15)に分類し、患者背景、治療前、治療中、治療後の各種ウイルスマーカーについて比較検討した。

単変量解析の結果、核酸アナログ治療開始前の患者背景では、有意な因子は抽出されなかったが、HBV DNA再上昇群において、HBs抗原量が高く(P=0.083)、HBe抗原が多い傾向にあった(P=0.096)。一方、核酸アナログ治療投与中および中止時の因子について検討したところ、治療開始3ヶ月、6ヶ月後のHBV DNA+RNA量が、HBV DNA再上昇群において有意に高く(P=0.015、P=0.029)、中止時のHBs抗原量が有意に低かった(P=0.036)。そこで、これらの因子を用いて多変量解析を行ったところ、治療開始3ヶ月後のHBV DNA+RNA量が治療中止後のHBV DNA再上昇に関与する独立因子として抽出された

(P=0.023)。そこで、治療開始3ヶ月後のHBV DNA+RNA量が4.8Log copies/ml未満であったA群と、それ以上であったB群で累積再燃率を比較したところ、中止後24週での累積再燃率は、それぞれ76.3%、41.2%であり、A群において有意に低い結果となった(P=0.045)。

【検討2】核酸アナログ中止後のALT再上昇に関与する因子の検討

対象36症例を核酸アナログ治療中止後24週以内にALT値が再上昇した群(ALT再上昇群 n=13)と上昇しなかった群(ALT非上昇群 n=23)に群別し、検討1と同様の検討を行った。その結果、単変量解析では、治療開始前のHBe抗原の有無(P=0.005)、治療開始1~6ヶ月後のHBV DNA+RNA量(P=0.003~0.013)、治療開始1ヶ月、3ヶ月後のHBV DNA量(P=0.008、P=0.007)、治療中止時のHBs抗原量、HBe抗原の有無、HBV DNA+RNA量(P=0.019、P=0.001、P=0.004)が抽出された。そこで、治療中止時のHBs抗原量、HBe抗原の有無および治療開始3ヶ月後のHBV DNA+RNA量、HBV DNA量を用いて多変量解析を行ったところ、治療中止時のHBe抗原の有無が治療中止後のALT再上昇に関与する独立因子として抽出された(P=0.003)。

### D. 考察

B型慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療では、治療早期より、血清HBV DNAは測定限界以下まで低下するが、ウイルス増殖の抑制が主たる標的であることから、HBVの完全排除は極めて困難である。そのため、核酸アナログ治療中止に伴い、HBVは再増殖し、極めて高い確率で、HBV DNA再上昇の後に肝炎を再燃する。本研究では、核酸アナログ治療の中止をより安全に行うためのマーカーを探索することを目的として検討を行った。治療中止後のHBV DNA再上昇に関与する因子としては、治療開始3ヶ月後のHBV RNA +DNA量が独立因子として抽出され、ALT再

上昇に關与する因子としては、治療中止時の HBeAg の有無が抽出された。HBV DNA が低下しているにもかかわらず、HBV DNA+RNA 値が高値を示すことは、逆転写反応が行われなかった HBV 粒子が肝細胞から放出されていることを意味しており、ウイルスの複製能力の高さが強く關与しているものと考えられる。一方、HBeAg 陽性の症例では、臨床的にもウイルス量が高値であることが知られており、同症例におけるウイルスの増殖能力は非常に高いことが予測される。つまり、HBV DNA、ALT いずれの再上昇に關しても、感染 HBV の複製能力の高さが關与しているものと考えられた。

本研究は対象症例が 36 例と少数であることから、HBV RNA +DNA と HBV DNA 乖離を HBV DNA や ALT の再上昇に關与する独立因子として抽出するには至らなかったが、感染 HBV の複製能は、HBV DNA、ALT の再上昇に關与する重要な因子である可能性が考えられた。しかしながら、HBV RNA の定量は測定方法が煩雑であり、今後の臨床応用には測定法の簡便化などの課題が残されている。

## E. 結論

本研究は、対象となりうる症例が限られており、少数例での検討となっているが、核酸アナログ治療中の HBV DNA+RNA 量は、治療中止後の短期的な経過予測に有用である可能性が示唆された。しかしながら、依然として安全な中止の基準となる明確なマーカーではなく、今後の検討課題と言える。

## F. 健康危険情報

本研究は、保存血清を用いた検討であり、患者に健康被害を与える可能性はない。

## G. 研究発表

### 1. 学会発表

- 1) 第 47 回日本肝臓学会総会 ワークショップ 4

「広島県における B 型急性肝炎の実態」

- 2) 第 47 回日本肝臓学会総会 ワークショップ 6  
「*in vitro*、*in vivo* HBV 複製モデルを用いた HBV RT 領域の変異と核酸アナログ耐性への影響の解析」
- 3) 第 15 回日本肝臓学会大会 シンポジウム 3  
「HBV RT 領域変異株におけるテノホビルの抗ウイルス効果の検討」
- 4) 第 39 回日本肝臓学会西部会 ワークショップ 2  
「B 型慢性肝炎における核酸アナログ治療中止例の中止後経過と背景因子の検討」

## 2. 論文発表

- 1) Chayama K, Hayes CN, Hiraga N, Abe H, Tsuge M, Imamura M. Animal model for study of human hepatitis viruses. J Gastroenterol Hepatol 2011;26:13-8.
- 2) Ohishi W, Fujiwara S, Cologne JB, Suzuki G, Akahoshi M, Nishi N, Tsuge M, Chayama K. Impact of radiation and hepatitis virus infection on risk of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2011;53:1237-45.
- 3) Tsuge M, Takahashi S, Hiraga N, Fujimoto Y, Zhang Y, Mitsui F, Abe H, Kawaoka T, Imamura M, Ochi H, Hayes CN, Chayama K. Effects of hepatitis B virus infection on the interferon response in immunodeficient human hepatocyte chimeric mice. J Infect Dis 2011; 204: 224-8.
- 4) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsushashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B. Hepatol Res. 2012; 42(2): 139-149.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）

## 分担研究報告書

### HBsAg、HBcrAg 量の推移からみた核酸アナログ中止基準の意義

研究分担者 今関 文夫 千葉大学大学院腫瘍内科学 准教授  
研究協力者 横須賀 収 千葉大学大学院腫瘍内科学 教授

研究要旨：核酸アナログ製剤（NA）投与中の HBsAg、HBcrAg 量の推移をみることにより、NA の適切な使用法を明らかにするため、千葉大学附属病院消化器内科で NA を投与されている 37 例（平均年齢 51.4 歳、範囲 29～77 歳；男 21 例、女 16 例）を対象に、HBV DNA、HBsAg、HBcrAg の定量を経時的に行い検討した。平均 35 ヶ月間（6～120 ヶ月）の NA 投与により投与中止基準（Matsumoto A, et al. Hepatology Res 2012）の total score=0 を満たしたのは 37 例中 1 例（3%）のみであった。Cox 比例ハザード解析による HBsAg<800 IU/ml かつ HBcrAg<3.0 logIU/ml の予測因子は HBsAg 値（HR 0.13、p=0.03）のみであった。NA 投与の経過とともに HBcrAg は中止基準（<3logIU/ml）を満たす例が増加したが、HBsAg は基準（<80IU/ml）を満たす症例の増加は少なかった。基準を満たす変化の多くは、NA 投与開始 6 ヶ月以内に認められた。核酸アナログ製剤を安全に中止できる症例は限られているため、今後は PEG-IFN の継続投与などにより、HBsAg、HBcrAg 量をさらに低下させる種々の工夫が必要であると考えられた。

#### A. 研究目的

核酸アナログ製剤（NA）は B 型慢性肝炎患者の肝機能改善、肝組織改善、肝発癌抑止に有用であることが示されているが、NA 中止に伴う肝炎再燃が大きな問題であり長期投与の症例が増えている。NA 投与中の HBsAg、HBcrAg 量の推移をみることにより、NA 中止可能症例の経時的頻度、投与開始時の臨床因子を明らかにし、NA の適切な使用法を明らかにする。

#### B. 研究方法

対象は千葉大学附属病院消化器内科で核酸アナログ製剤（NA）を投与されている 37 例（平均年齢 51.4 歳、範囲 29～77 歳；男 21 例、女 16 例）。ETV、LAM、ADV 投与が各々 35 例、1 例、1 例、NA 投与期間の平均値は 35.2±25.0 ヶ月（6～120 ヶ月）であった。NA 投与開始時の検査値は HBeAg 陽性 15 例（41%）、HBV DNA 7.0±1.5 log copies/ml、ALT 193±206 U/L、HBsAg 3.56±0.61 logIU/ml（2.52～4.79）、HBcrAg 5.30±1.40

logU/ml（<3.0～6.9）であった。HBV DNA 定量は TaqMan PCR 法、HBsAg 定量は CLIA 法（Sysmex）、HBcrAg は CLEIA 法で行った。

日常診療の検査データを後向きに検討したもので倫理的に問題はないと考える。

#### C. 研究結果

平均 35 ヶ月間の核酸アナログ製剤（NA）投与により HBcrAg<3.0 logIU/ml を満たしたのは 15 例（40%）、HBsAg<80 IU/ml は 2 例（5%）、HBsAg<800 IU/ml かつ HBcrAg<3.0 logIU/ml は 6 例（16%）、投与中止基準（Matsumoto A, et al. Hepatology Res 2012）の total score=0（HBcrAg<3.0 かつ HBsAg<80）を満たしたのは 37 例中 1 例（3%）であった。Cox 比例ハザード解析による HBsAg<800 IU/ml かつ HBcrAg<3.0 logIU/ml の予測因子は HBsAg 値（HR 0.13、p=0.03）のみであった。NA 投与前、投与 6 ヶ月後、12 ヶ月後、18 ヶ月後、24 ヶ月後における total score 0～3 の症例の頻度は、各々 17%、

32%、42%、37%、38%であった。HBsAg<80 IU/ml を満たす症例のNA投与前、6ヶ月後、12ヶ月後、18ヶ月後、24ヶ月後における頻度は3%、6%、3%、7%、8%で経時的増加は少なかった。HBcrAg<3.0 logU/ml を満たす症例のNA投与前、6ヶ月後、12ヶ月後、18ヶ月後、24ヶ月後における頻度は11%、31%、41%、31%、38%で1年目までは漸増傾向が認められた。HBsAg<80 IU/ml またはHBcrAg<3.0 logU/ml を満たす変化の多くは、NA投与開始6ヵ月以内に認められた。

#### D. 考察

核酸アナログ製剤 (NA) 投与により、血中HBV DNA 量の減少はほぼ全例に認められ、HBcrAg は中止基準 (<3logIU/ml) を満たす例が増加したが、HBsAg は基準 (<80IU/ml) を満たす症例の増加は少なく、中止基準を満たす症例の多くは開始後 6 ヶ月目の早期に認められた。HBsAg、HBcrAg 量は肝内のHBV cccDNA 量を反映していると言われており、これらを指標にNA中止時期を検討する必要がある。また、NA投与中止基準のtotal score=0 を満たす症例は限られているので、total score $\geq$ 1 の症例をdrug free でinactive carrier の状態にするためには、免疫賦活作用も有するインターフェロンを継続投与するなどの工夫が必要である。

#### E. 結論

核酸アナログ製剤を安全に中止できる症例は限られているため、今後はPEG-IFNの継続投与などにより、HBsAg、HBcrAg量をさらに低下させる種々の工夫が必要である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

論文発表

- 1) Kanda T, Shinozaki M, Kamezaki H, Wu S, Nakamoto S, Arai M, Fujiwara K, Goto N, Imazeki F, Yokosuka O. Efficacy of lamivudine or entecavir on acute exacerbation of chronic hepatitis B. *Int J Med Sci.* 2012;9(1):27-32.
- 2) Togo S, Arai M, Tawada A, Chiba T, Kanda T, Fujiwara K, Imazeki F, Yokosuka O. Clinical importance of serum hepatitis B surface antigen levels in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2011 Oct;18(10):e508-15.
- 3) Kamezaki H, Kanda T, Wu S, Nakamoto S, Arai M, Maruyama H, Fujiwara K, Imazeki F, Yokosuka O. Emergence of entecavir-resistant mutations in nucleos(t)ide-naive Japanese patients infected with hepatitis B virus: virological breakthrough is also dependent on adherence to medication. *Scand J Gastroenterol.* 2011 Sep;46(9):1111-7.

#### 学会発表

- 1) 今関文夫、呉霜、神田達郎、田中靖人、横須賀収。HBe抗原・抗体とB型肝炎ウイルス遺伝子変異の検討。第47回日本肝臓学会総会(東京)、2011年、肝臓52巻A91。
- 2) 新井誠人、東郷聖子、太和田暁之、千葉哲博、神田達郎、藤原慶一、今関文夫、横須賀収。HBsAg自然消失例の消失前後の経過とその予後の検討。第47回日本肝臓学会総会(東京)、2011年、肝臓52巻A239。
- 3) 亀崎秀宏、今関文夫、神田達郎、宮村達郎、呉霜、三方林太郎、太和田暁之、多田素久、新井誠人、藤原慶一、横須賀収。B型慢性肝炎におけるSequential療法の検討。第47回日本肝臓学会総会(東京)、2011年、肝臓52巻A294。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）

## 分担研究報告書

### 核酸アナログ薬治療中止基準の自然経過例における検証

研究分担者 髭 修平 北海道大学病院第三内科 講師

研究要旨：血清中の HBs 抗原や HBcr 抗原、あるいは、HBV DNA 量は、肝組織内の cccDNA (covalently closed circular DNA) と関連するが、肝細胞障害 (ALT 上昇) との関連性については、単一のマーカーでの評価は十分でない。B 型肝炎患者における核酸アナログ薬中止後の肝炎再燃の予測には、HBs 抗原や HBcr 抗原のスコア化による評価が有用である事が示された。

今回、核酸アナログ薬中止基準が、無治療、自然経過観察下の症例において、肝障害の発現予測に有用であるか、検証を試みた。その結果、長期経過の観察例においても、HBs 抗原、HBcr 抗原のスコア化評価は、HBV DNA 量単独よりも、ALT 上昇の予測に有用であった。したがって、本基準で提唱された、複数の HBV ウイルス抗原によるスコア化は、核酸アナログ薬投与の有無に拘らず、B 型肝炎活動性の判定指標として、有用であると考えられた。

#### A. 研究目的

無治療、経過観察中の B 型慢性肝疾患における肝炎活動性について、肝組織内 cccDNA を反映する血清中 HBV マーカーが評価に有用か検討する。

#### B. 研究方法

##### 1) 検討対象

i) HBe 抗原陰性の B 型慢性肝疾患症例 105 例における HBV マーカーと ALT 値との関連を検討した。症例の内訳は、無治療経過観察例が 38 例、抗 HBV 治療開始前症例が 67 例である。無治療例は、肝硬変、肝癌合併例を除き、脂肪肝、アルコール性など他の肝障害も認めない症例とし、2008 年から 2010 年までの経過観察期間中の、HBV-DNA 量と ALT 値の平均値および最高値を採用した。

ii) 2010 年の時点で、当科に通院中の B 型慢性肝障害症例のうち、10 年前からの保存血清を有する 102 例を検討対象とし、治療継続例、あるいは、無治療例とした。経過途中で抗 HBV 治療を開始、あるいは、中止した症例では、観察が

5 年以上ある時期を、治療（あるいは、無治療）期間として検討対象期間とした。経過中の血清 ALT 値、および、HBV DNA 量については、対象期間における積分平均値を用いた。

iii) 血清は、患者の同意を文書で取得した上で採取し、 $-30^{\circ}\text{C}$  以下で保存した。

##### 2) 測定方法

i) HBs 抗原、HBe 抗原、HBe 抗体；CLIA 法 (Chemiluminescent immunoassay)

ii) HBcr 抗原；CLEIA 法 (Chemiluminescent enzyme immunoassay)

iii) HBV DNA 量；real time PCR 法（一部の検体は TMA 法で測定）

##### 3) HB ウイルス抗原量のスコア化

本研究班で検討された核酸アナログ薬中止に関する条件に準じてスコア化と群別を行った。

すなわち、HBs 抗原 ( $\log_{10}$  IU/ml) では、1.9 未満、1.9~2.9、2.9 以上、HBcr 抗原 ( $\log_{10}$  U/ml) には、3.0 未満、3.0~4.0、4.0 以上の 3 群に、それぞれ、0、1、2 のスコアを付した。両者を総合する場合には、各スコア値の合計を総スコアとした。

### C. 研究結果

1) 無治療経過観察例、および、抗 HBV 治療開始前の症例で、HBV DNA 量レベルを一定にした場合の、HBs 抗原/HBcr 抗原によるスコア別の ALT 上昇率(ALT 値あるいは観察中 ALT 最高値 60IU/1 以上とした)は、HBV DNA 量  $4.0 \log_{10}$  copies (LC)/ml 未満では、総スコア 0 群 0/11 (0%)、スコア 1or2 群 2/10 (20%)、スコア 3or4 群 3/7 (42.9%) であり、HBV DNA 量低値でも、HBs 抗原、HBcr 抗原量が多い例では ALT 異常をきたす確率が上昇していた。HBV DNA 量が  $4.0 \sim 6.0$  LC/ml レベルの ALT 上昇率は、総スコア 0 群 0/4 (0%)、スコア 1or2 群 4/8 (50%)、スコア 3or4 群 13/29 (44.89%) であり、総スコア 0 群では ALT 上昇例は認めなかった。HBV DNA 量が  $6.0$  LC/ml 以上の症例には、総スコア 0 群は認めなかった。

2) 10 年以上の経過観察症例においては、無治療期の検討可能例が 66 例、治療期の検討可能例が 57 例であった。観察期間の平均は、前者で 7.1 年、後者で 7.3 年であった。

これらの症例の経過で、HBs 抗原、HBcr 抗原の年間変化量(中央値、および、範囲)は、無治療例では、それぞれ、 $-0.06$  ( $-0.64 \sim 0.18$ )、 $-0.16$  ( $-0.68 \sim -0.24$ )、治療例では、それぞれ、 $-0.10$  ( $-0.48 \sim 0.07$ )、 $-0.18$  ( $-0.53 \sim -0.01$ ) で、両群に差を認めなかった。

3) 無治療かつ HBe 抗原持続陰性例における、観察開始時の HB ウイルス抗原スコア別の、HBV DNA 量 (LC/ml)、および、ALT (IU/1) の積分平均値は、総スコア群 0 (9 例) では、それぞれ、 $3.42 \pm 0.92$ 、 $37.5 \pm 12.8$ 、スコア 1or2 群 (9 例) では、 $4.73 \pm 0.88$ 、 $31.5 \pm 11.7$ 、スコア 3or4 群 (26 例) では、 $4.81 \pm 1.25$ 、 $19.8 \pm 29.8$  であった。HBV DNA の積分平均値が  $4.0$  (LC/ml) 未満の症例の割合は、スコア 0 群で 6/9 (66.7%)、スコア 1or2 群で 2/9 (22.2%)、スコア 3or4 群では 6/26 (23.1%) であり、開始時に総スコア 0 の

症例では、以後の経過観察中も、ウイルス学的には低レベルで推移する例が多い事が示された。しかし、ALT 値の積分平均値が 31 (IU/1) 未満の症例の割合は、上記の 3 群では、それぞれ、2/9 (22.2%)、5/9 (55.5%)、8/26 (30.8%) であり、開始時の総スコアによる経時的な ALT 値維持の予測性は、長期間の観察においてはやや低下した。

上記の症例で、観察開始時以外に、観察終了時のスコアも合わせて群別すると、観察開始、あるいは、終了時に、総スコアが 0 である症例は 18 例、それ以外の症例が 26 例であった。前者の、HBV DNA 量 (LC/ml)、および、ALT (IU/1) の積分平均値は、それぞれ、 $3.84 \pm 0.99$ 、 $36.7 \pm 13.0$ 、後者では、 $4.99 \pm 1.21$ 、 $44.5 \pm 23.4$  であり、スコアの判定ポイントを観察の前後を含めて判定すると、両群のウイルス、生化学的な活動性の差が認められた。

### D. 考察

B 型肝炎のウイルスマーカーのひとつである HBs 抗原は、CLIA 法の導入により、測定感度や定量性が高まり、また、わが国で開発された HBcr 抗原は、2008 年から保険適応下に測定が可能となった。両者は、いずれも、肝細胞の核内 HBV cccDNA を鋳型として産生されるウイルス蛋白であるが、我々は、肝組織中の HBV cccDNA と血清中の HBs 抗原、HBcr 抗原、HBV DNA 量に良好な相関関係があることを報告してきた。肝内の HBV cccDNA は、HBV 複製開始の段階を規定するものであり、ウイルス活動性と密接な関連を有するが、その存在様式から、臨床的に簡便な評価は困難である。したがって、HBs 抗原や HBcr 抗原は、肝組織内の cccDNA を反映する、臨床的に有用な血清マーカーである。

核酸アナログ薬投与中に、中止後の肝炎再燃の可能性を予測する事は困難であったが、その理由のひとつは、治療中は HBV DNA 量が低下し

ており、HBV 活動性の判定が困難であったためである。本研究班で作成された基準が、HBV 複製における翻訳（蛋白合成）に関係するマーカーである HBs 抗原、HBcr 抗原を導入してスコア化することで、中止後の肝炎予測に有用であったことは、治療中での肝内 HBV cccDNA のレベルと関連したマーカーにより HBV 活動性を評価することが可能であった結果であると考えられた。この成績は、これらの HBV マーカーが、核酸アナログ投与に拘らず、ウイルスの活動性（HBV cccDNA レベル）を反映することを示しており、核酸アナログ薬の中止に関わる基準は、薬剤中止前に、アナログ非投与（無治療）状態の HBV の本来の活動レベルを評価していると考えられる。したがって、核酸アナログ薬中止の判定条件は、無治療経過観察下の HBV DNA レベルや ALT 変動の判断においても、有用である事が考えられる。

今回、我々は、無治療例において、HBs 抗原や HBcr 抗原と ALT 変動の関連について、中止基準で提唱されたスコアを用いて、評価の有用性について検証を試みた。

その結果、短期的な評価では、同一の HBV DNA 量のレベルでも、HBs 抗原や HBcr 抗原のスコアによって、実際に ALT 値異常を生じる頻度に差がある事が示された。この結果は、B 型肝炎症例の経過観察において、HBV DNA 量以外に、HBs 抗原、HBcr 抗原を組み合わせることで、肝障害出現の予測性を上昇させることを示している。実際に、個々の症例の経過観察において、同一の HBV DNA レベルであっても、HBs 抗原あるいは HBcr 抗原量の多寡が ALT 上昇の有無の予測性を高めていた。

長期経過の観察例においても、HBs 抗原、HBcr 抗原と肝障害出現の関連の検討では、HBV ウィルス抗原によるスコアが低い症例の経過中の ALT 上昇頻度が低下しており、本スコアが、無治療における HBV 活動性と関連し、中止基準以

外にも、B 型肝炎活動性の判定指標に応用可能であることを示した。

## E. 結論

核酸アナログ薬中止に関わる基準に導入された、HBs 抗原、HBcr 抗原のスコア化評価は、核酸アナログ薬投与の有無に拘らず、肝炎活動性の判定指標として臨床応用が可能であると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 髭修平、寺下勝巳、小林智絵、堀本啓大、中西満、中馬誠. HBs 抗原測定 - 新たな臨床応用の話題. 臨床消化器内科. 2012; 27 (1) : 125-129
- 2) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai S, Hige S, Yatsushashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogues in patients with chronic hepatitis B. Hepatol Res. 2011; 42 (2) : 139-149
- 3) Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. Hepatol Res. 2011;41(6):505-511

4) 中西満、中馬誠、髭修平、小林智絵、中井正人、  
荘拓也、浅香正博. HBV関連肝細胞癌サーベイラン  
スにおけるHBコア関連抗原の有用性. 肝臓

2011 ; 52 (6) : 287-389

5) 髭修平、荘拓也、中西満、中馬誠. B型慢性  
肝炎に対するインターフェロン療法. 日本臨床

2011 ; 69 : 増刊号 4 : 481-485

6) 髭修平、中馬誠、中井正人、小林智絵、荘拓也、  
中西満、浅香正博. B型肝炎に対する IFN/核酸ア  
ナログ製剤の有効性. 消化器内科 2011; 52

(1) : 108-114

## 2. 学会発表

1) Hige S, Terashita K, Kobayashi T, Nakai M,  
Sho T, Nakanishi M, Chuma M. Serum hepatitis B  
core-related antigen as a useful marker for the  
evaluation of antiviral treatment. 2<sup>nd</sup> APASL HBV  
Conference

Beijing, China

Oct. 7, 2011

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし



## B型慢性肝疾患症例におけるHBs抗原定量

研究分担者 八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 部長  
研究協力者 長岡進矢 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 室長

研究要旨：B型慢性肝疾患に対する各種抗ウイルス療法施行例、および自然経過例におけるHBs抗原量の減衰を検討する。1991年から2004年の間、当センターに入院したB型慢性肝疾患を以下の4群に分けた。①自然経過群：5年以上経過観察を行い核酸アナログ投与のない135例、②LAM群：5年以上LAMを投与した129例(ADV併用例67例：52%)、③ETV群：3年以上ETVを投与した77例、④IFN群：6カ月以上IFNを投与した31例(天然型IFN $\alpha$  22例、ペグIFN：9例)。観察開始時から1年毎のHBs抗原量を保存血清を用い、CLEIA法にて定量した。各群における1、3、5、8年のHBs抗原低下量を比較検討した。観察開始時HBe抗原陽性例のうち、自然経過例と比較し有意にHBs抗原量が低下したのはLAM群の8年目(-0.46 logIU/ml vs -0.95 logIU/ml  $p<0.05$ )であった。観察開始時HBe抗原例では、自然経過と比較し、有意な低下を示したものは認めなかった。ペグIFN投与例では観察開始3年時点でHBe抗原陽性で-0.66logIU/ml、HBe抗原陰性で-0.71logIU/mlであり、他の治療群と比べ早期にHBs抗原量が低下する可能性が示唆された。

### A. 研究目的

B型慢性肝疾患に対する各種抗ウイルス療法施行例、および自然経過例におけるHBs抗原量の減衰を検討する。

患者に対しては血液検体の保存、研究使用に関する説明をおこない、紙面にて同意を取得した。

### B. 研究方法

対象 1991年から2004年の間、当センターに入院したB型慢性肝疾患506例。このうち以下の4群に分けた。①自然経過群：5年以上経過観察を行い核酸アナログ投与のない135例、②LAM群：5年以上LAMを投与した129例(ADV併用例67例：52%)、③ETV群：3年以上ETVを投与した77例、④IFN群：6カ月以上IFNを投与した31例(天然型IFN $\alpha$  22例、ペグIFN：9例)。方法：観察開始時から1年毎のHBs抗原量を保存血清を用いてCLEIA法にて定量した。各群における1、3、5、8年のHBs抗原低下量を比較検討した。

(倫理面への配慮)

### C. 研究結果

各群の臨床背景をしめす(表)。自然経過群の経過観察期間(中央値)は12.2年、この間にHBs抗原消失を認めたのは12例であり、HBs抗原消失率は0.73%/年であった。各群におけるHBs抗原量の低下量を図にしめす。観察開始時HBe抗原陽性例のうち、自然経過例と比較し有意にHBs抗原量が低下したのはLAM群の8年目(-0.46 logIU/ml vs -0.95 logIU/ml  $p<0.05$ )であった(図)。観察開始時HBe抗原例では、自然経過と比較し、有意な低下を示したものは認めなかった。両群において少数ではあるがペグIFN投与例では観察開始3年時点でHBs抗原の低下がHBe抗原陽性で-0.66 logIU/ml、HBe抗原陰性で-0.7 logIU/mlであり、他の治療群と比べより早期にHBs抗原量

が低下する可能性が示唆された。

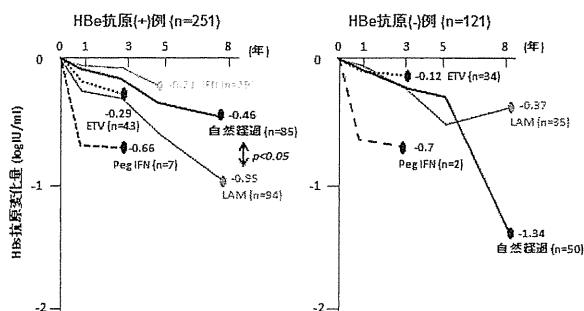
表 各群の背景因子

	自然経過群(n=135)	LAM群(n=129)	ETV群(n=77)	IFN群(n=31)
年齢中央値(歳)	41	47	54	36
フォロー期間(年)	12.2	8.0	4.0	7.0
男女比(M/F)	1.7(85/50)	1.9(91/48)	2.5(55/22)	1.4(18/13)
F1,2/3,4(%)	45/90(33/67)	24/93(19/81)	19/51(25/75)	26/6(84/16)
HBe抗原陽性(%)	85(63)	94(73)	43(56)	29(94)
HBs抗原量(logIU/ml)	3.58	3.35	3.33	3.45

#### D. 考察

高感度のHBs抗原定量系が確立されて以降、HBs抗原測定はHBVに対する PegIFN の治療効果の予測、HBVキャリアの自然経過の評価での有用性が報告されている。これはHBs抗原が肝細胞中のccDNAを反映するマーカーであり、B型肝炎の最終的治癒の指標となるからである。今回、各種核酸アナログ薬治療例のHBs抗原量の推移を検討した。治療開始時HBe抗原陽性症例においては治療開始8年の時点で自然経過と有意差を認めたと、治療開始時HBe抗原陰性症例においてはHBs抗原量の低下が乏しかった。一方、HBe抗原陰性例に PegIFN を使用した2例ではHBs抗原の明らかな低下が治療開始1年の時点で認められた。ほぼ同様の結果がHBe抗原陽性例でも認められた。HBe抗原陽性個々の症例は治療中にHBeAgのセロコンバージョンが認められない症例もあるが、時間経過とともにセロコンバージョンを来し、HBs抗原量の低下を来しているものと考えられた。

図 各群におけるHBs抗原低下量



#### E. 結論

1. HBe抗原陽性例の検討ではLAM(+ADV)投与8年後のHBs抗原量が自然経過と比較し有意に低下していた。
2. HBe抗原陰性例の検討では、治療群、自然経過群でHBs抗原量に有意差を認めなかった。
3. PegIFNはHBs抗原量を低下させる可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Tamada Y, Yatsushashi H, Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Muro T, Shimada M, Hijioka T, Satoh T, Mano Y, Komeda T, Takahashi M, Kohno H, Ota H, Hayashi S, Miyakawa Y, Abiru S, Ishibashi H. Hepatitis B virus strains of subgenotype A2 with an identical sequence spreading rapidly from the capital region to all over Japan in patients with acute hepatitis B. Gut. 2011 Nov 7.

##### 2. 学会発表

1) 長岡進矢、八橋 弘、石橋大海. HBs抗原量からみたB型慢性肝疾患に対する抗ウイルス療法. 第15回日本肝臓学会大会(福岡) 肝S3-10 肝臓52巻 suppl. (2) A477, 2011.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

# 厚生科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）

## 分担研究報告書

### B型慢性肝炎の核酸アナログ製剤治療非有効患者に対する Adefovir / Entecavir 併用療法と Entecavir 増量療法の無作為比較試験による有効性の検討

研究分担者 齋藤正紀 兵庫医科大学 内科学 肝胆膵科 講師  
研究協力者 西口修平 兵庫医科大学 内科学 肝胆膵科 教授

**研究要旨：【目的】** B型慢性肝炎に対する核酸アナログ製剤療法は抗ウイルス効果が高く有用であるが、長期投与に伴う医療経済的問題や耐性の出現などから可能な症例においては投与の中止が求められている。本研究班において HBc 関連抗原 (HBcrAg) と HBs 抗原高感度測定法 (HBsAg 定量) を用いた新たな中止基準が作成された。核酸アナログ製剤を2年以上投与した HBeAg 陰性者を対象として HBsAg < 80IU/ml をスコア 0、80~800IU/ml をスコア 1、 $\geq 800$  IU/ml をスコア 2、HbcrAg < 3.0LogIU/ml をスコア 0、3.0~4.0LogIU/ml をスコア 1、 $\geq 4.0$  LogIU/ml をスコア 2 とし、I 群 (総スコア 0)、II 群 (総スコア 1 or 2)、III 群 (総スコア 3 or 4) に分類し、I および II 群の症例を核酸アナログ製剤中止の対象者と考えている。しかし、この基準を満たす症例の割合が低率であることが問題である。今回、当施設では HBcrAg や HBsAg を低下させこの中止基準を満たすにはどのような治療法が有用かを検討した。**【方法】** Entecavir (ETV) 0.5mg/日を6ヶ月以上投与した HBsAg  $\geq 800$  IU/ml または HbcrAg  $\geq 4.0$  LogIU/ml の患者を対象とし、無作為比較試験により Adefovir (ADV) / ETV 併用群 (10mg+0.5mg/日) と ETV 増量群 (1.0mg/日) の有効性を検討した。主要評価項目は HBcrAg と HBsAg 定量の改善効果で、副次評価項目は生化学的反応 (BR)、ウイルス学的反応 (VR) と安全性の検討である。登録期間は2010年6月1日から2012年5月31日、目標症例数は各群15例で2012年1月での進捗状況は両群計26症例である。**【結果】** 平均観察期間は11.1ヶ月で、血中 ALT 値は ETV/ADV 群、ETV 増量群どちらも多くの症例で 30U/l 以下に収束した。しかし血中 HBV DNA 値は ETV/ADV 群の多くが 2.1Logcopy/ml 未満に至るのに対して ETV 増量群では限定された。BR は両群で有意差を認めなかったが VR は ETV/ADV 群は6ヶ月 54.5%、12ヶ月 63.0% に対して ETV 増量群は 27.3%、28.6% と低く有意差を認めた。HBcrAg は ETV/ADV 群 0.38LogIU/ml、ETV 増量群 0.12LogIU/ml (年間) の低下で有意差を認めた。HBsAg 定量は緩やかながら低下する症例と反対に上昇する症例があり現時点では抗ウイルス効果の評価は困難であった。観察期間中、耐性出現は認めなかった。**【考察】** ETV/ADV 併用療法は血中 HBV DNA 量、HBcrAg の2つの評価指標において ETV 増量療法より高い抗ウイルス効果を認め、中止基準スコア評価の向上に有用であることが示唆された。

#### A. 研究目的

現在、日本で認可されている B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ製剤はラミブジン (Lamivudine; LAM)、アデフォビル (Adefovir; ADV)、エンテカビル (Entecavir; ETV) の3種類で、抗ウイルス作用により血中 HBV DNA 量を減少させ、多くの症例で肝炎を沈静化させることができる。その一方で核酸アナログ製剤の長期投与は耐性ウイルス株

の出現を認め、さらに医療経済的観点から、可能な症例においては核酸アナログ製剤を中止することが求められている。しかし投薬中止に伴う肝炎再燃や、HBV の状態を的確に評価し得る指標が存在しなかったなどから核酸アナログ治療の中止基準として明確なものはなかった。

HBV の活動性を最もよく反映する指標として血中 HBV DNA 量が用いられるが、核酸アナログ製剤

による治療中は血中の HBV DNA 量と肝細胞中の HBV cccDNA 量が乖離し、その効果判定に支障をきたす。最近、HBV の新たな指標として HBc 関連抗原 (HBcrAg) と HBs 抗原高感度測定 (HBsAg 定量) が開発された。HBcrAg は HBc 抗原、HBe 抗原、HBV プレコア蛋白質の総称であり、肝細胞中 HBV cccDNA 量を反映するため核酸アナログ治療時の効果判定に有用であると報告されている。HBs 抗原は小型粒子や桿状粒子として完全粒子 (Dane 粒子) より大量に血液中に循環しているが、これらを測定したのが HBs 抗原高感度測定であり、血中 HBV DNA より高感度な測定が可能といわれている。それらの指標を用いた核酸アナログ中止基準が今回、同班の共同研究として示された。

核酸アナログ製剤投与開始後 2 年以上経過し、血中 HBeAg 陰性かつ血中 HBV DNA 量が陰性 (3.0 Logcopy/ml 未満) であることを中止の必要条件として、本研究班で提唱された HBsAg 定量と HBcrAg のスコアリングを用い、中止時点の合計スコアから 3 群に分類している。

HBsAg	<80 IU/ml	スコア 0
	80~800 IU/ml	スコア 1
	≥800 IU/ml	スコア 2
HbcrAg	<3.0 LogIU/ml	スコア 0
	3.0~4.0 LogIU/ml	スコア 1
	≥4.0 LogIU/ml	スコア 2

**I 群 (総スコア 0)**

中止成功率は 90% 近く、中止を考慮しても良い群。

**II 群 (総スコア 1 or 2)**

中止成功率は約 50% であり、状況によって中止を考慮しても良い群。

**III 群 (総スコア 3 or 4)**

中止の成功率は約 10% と低く、ほとんどが 1 年以内に再燃する。このため治療の継続

が推奨される群。

である。

我々は一昨年、当院受診の B 型慢性肝炎患者 274 名中、6 ヶ月以上の核酸アナログ製剤治療者を対象として今回示された中止基準を満たす症例について後ろ向き調査を行った。HBcrAg と HBsAg 定量の分布を核酸アナログ製剤治療前後で検討したところ、HBcrAg、HBsAg とともに治療により低下傾向を示したが、中止基準の I 群や II 群に至る症例は少数であった (図 1)。

LAM 治療と ETV 治療に分けた検討では、I 群を満たす症例は LAM 8%、ETV 9% で、II 群では LAM 23%、ETV 49% であった。ETV 治療は LAM 治療より高い抗ウイルス効果を示すも中止基準を満たさない III 群が多く存在し、特に 37 歳未満の若年層において顕著であった (表 1)。

このように中止基準をみたす症例は限定されており、従来の核酸アナログ製剤治療では十分なドラッグフリーを目指すことは困難である。そのためスコアを向上させ中止基準をみたす症例を増加させることを目的に核酸アナログ製剤の併用療法や増量療法による抗ウイルス効果を主要評価項目として、今回当施設では前向き研究を企画した。

**図1 核酸アナログ治療とHBcrAg、HBsAg値**

