

or COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test (Roche Molecular Systems; detection limit 2.1 log copies/mL). Positive results (signals) below the quantitative HBV DNA concentrations are referred to as “detected” and negative signals are “not detected” when registered by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test. The presence of LAM-resistant rtM204V/I and rtL180M substitutions was analyzed by direct sequencing of the HBV DNA polymerase reverse transcriptase site.

Retrospective analysis

Using a conserved serum sample, we examined the existence of LAM-resistant rtM204V/I or rtL180M at baseline in patients with VBT. We also measured HBV DNA by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test, and we evaluated the subsequent occurrence of VBT according to the DNA level (not detected/detected/2.1 to <2.6 log copies/mL).

Statistical analysis

Categorical variables were compared between groups by the χ^2 -test or Fisher’s exact test, and non-categorical variables by Mann–Whitney’s *U*-test. The cumulated VBT rate was compared between each group using a log-rank test with Kaplan–Meier analysis. All data were analyzed using SPSS ver. 15.0J software. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Baseline characteristics of the patients

BASED ON THIS randomized controlled trial, 12 patients were placed in an ETV group and 15 in a LAM group. One patient in the ETV group dropped out because of skin rash by ETV. The baseline characteristics of the patients are described in Table 2. At the entry, one patient was positive for HBeAg in each group. There was no difference in sex, age, duration of LAM administration and ALT level between the two groups.

Incidence of VBT and BTH

There was no BTH in any of the patients. The incidence of VBT was six patients out of 15 (40%) in the LAM group, and no patient in the ETV group ($P = 0.02$). The Kaplan–Meier curve for the proportion of cumulated VBT is shown in Figure 2. The differences in the rates of VBT were significant between the LAM and ETV groups (log-rank test $P = 0.025$).

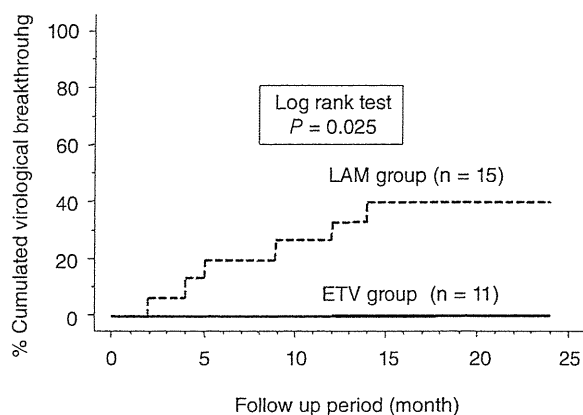


Figure 2 Proportion of cumulated virological breakthrough in lamivudine (LAM) and entecavir (ETV) group. The cumulated rate of virological breakthrough was higher in patients treated with LAM than those with ETV (40% vs 0%, $P = 0.025$ by log-rank test).

Characteristics of patients with VBT in LAM group

Details of the six VBT cases in the LAM group are described in Table 3. Assessment of LAM-resistant mutations at the time of VBT showed that both rtM204V and rtL180M were observed in all cases. For five of the six cases, HBV DNA was detected by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test at baseline, although the HBV DNA level was very low. With respect to LAM-resistant mutation at baseline, rtM204V and rtL180M were observed in one of six cases. In contrast, no LAM-resistant mutations were observed in 20 non-VBT cases at baseline.

Incidence of VBT based on the HBV DNA level by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test

Incidence of VBT based on the HBV DNA level according to COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test at baseline is shown in Figure 3. HBV DNA levels were less than 2.6 log copies/mL by Amplicor HBV Monitor in all cases. However, HBV DNA levels in the LAM group were “not detected” in five cases, “detected” in eight cases and 2.1 log copies/mL or more in two cases by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test. VBT was observed in five of the 10 cases whose results were either “detected” or 2.1 log copies/mL or more and in one of the five “not detected” cases. On the other hand, although HBV DNA levels in the ETV group were

Table 3 Characteristics of patients with virological breakthrough in LAM group

Age	Sex	At baseline				At virological breakthrough			
		Duration of LAM administration (month)	HBeAg	HBV DNA by TaqMan HBV (log copies/mL)	Mutant of LAM resistance	Period of VBT (months)	HBV DNA (log copies/mL)	Mutant of LAM resistance	
49	M	37	Negative	Detected	None	14	4.9	L180M/M204V	
54	F	106	Negative	Detected	None	5	2.8	L180M/M204V	
63	F	81	Negative	Not detected	None	9	4.5	L180M/M204V	
57	F	43	Negative	Detected	None	10	3	L180M/M204V	
55	M	84	Negative	Detected	None	12	2.8	L180M/M204V	
57	M	36	Negative	2.3	L180M/M204V	2	4	L180M/M204V	

ALT, alanine aminotransferase; ETV, entecavir; HBeAg, hepatitis B e-antigen; HBV, hepatitis B virus; LAM, lamivudine; VBT, virological breakthrough.

“detected” in six cases by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test, there was no incidence of VBT: HBV DNA levels of five patients were undetectable and that of one patient was “detected” at the last follow-up point after switching to ETV.

DISCUSSION

AT PRESENT, LAM, ADV and ETV are only approved for treatment of CHB patients in Japan. ETV has become the first-line treatment for NA-naïve patients, because the ETV resistance is much less frequent than LAM-resistance.^{8,23,24} On the other hand, in switching treatment to ETV for LAM-resistant CHB patients, the frequency of ETV resistance was increased.^{17,20,25-27} It has also been reported that ADV add-on treatment suppressed HBV replication more effectively than ETV or ADV monotherapy in patients with LAM-resistant CHB.^{25,28} Therefore, it is desirable to examine LAM-resistant mutants before switching to ETV in patients treated with LAM. However, as the assay for the LAM-resistant mutants is not covered by the Japanese health insurance system at present, the Japanese guidelines for CHB management after LAM therapy were based on HBV DNA, duration of LAM administration and incidence of BTH (Table 1).²² In patients treated with LAM for more than 3 years, maintaining HBV DNA of less than 2.6 log copies/mL or HBV DNA of 2.6 log copies/mL or more without BTH, LAM-continuous treatment was recommended because in these patients, LAM-resistance might exist, and switching treatment to ETV might cause ETV-resistance. It was reported that although LAM-resistant strains were detected in 34% cases treated with LAM for more than 3 years and whose HBV DNA level was suppressed to less than 2.6 log copies/mL, switching to ETV maintained undetectable HBV DNA level over 2 years.²⁹ In addition, Kurashige *et al.* reported that LAM-to-ETV switching treatment maintained an undetectable HBV DNA level in patients with baseline HBV DNA of less than 2.6 and 2.6 to less than 4.0 log copies/mL for a period of ETV treatment ranging 10-23 (median 20) months.³⁰ In the present study, randomized controlled trial evidenced that switching treatment to ETV or LAM-continuous treatment would be recommended in CHB patients treated with LAM for more than 3 years and maintained HBV DNA of less than 2.6 log copies/mL. Interestingly, even though HBV DNA had been suppressed to less than 2.6 log copies/mL, a high rate of VBT was observed in the LAM group, whereas no VBT over 24 months was observed in the ETV group. Of the six patients with VBT,

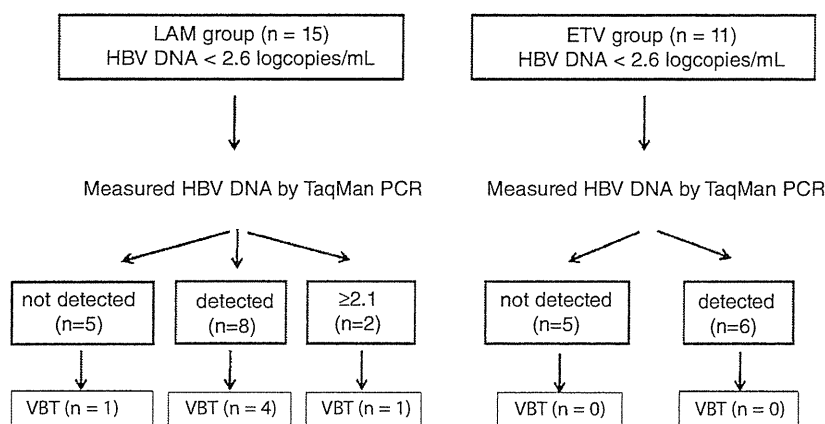


Figure 3 Incidence of virological breakthrough (VBT) based on the hepatitis B virus (HBV) DNA level at baseline by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test (TaqMan PCR). The subsequent occurrence of VBT according to the DNA level by TaqMan PCR (not detected/detected/2.1 to <2.6 log copies/mL) was evaluated. In the lamivudine (LAM) group, VBT was observed in five of the 10 cases in which the results were either “detected” or ≥ 2.1 log copies/mL and in one of the five “not detected” cases. On the other hand, HBV DNA levels in the entecavir (ETV) group were “detected” in six, but there was no incidence of VBT.

five had no LAM resistance at baseline. However, the LAM resistance of rtM204V and rtL180M were found in all the patients with VBT in the LAM group. Moreover, a retrospective assessment by COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan HBV test showed that HBV DNA was detectable in 10 patients in the LAM group and six patients in the ETV group. Only five of the 10 patients in the LAM group had VBT, but none in the ETV group. In addition, one patient had VBT in the LAM group even though DNA was not detected by the TaqMan test, suggesting that switching to ETV was preferable. Hence, our data supported the 2010 Japanese guidelines which recommend switching to ETV in patients whose HBV DNA levels are less than 2.1 log copies/mL by TaqMan PCR.

A potential limitation of the present study is that the number of the cases was small. Nevertheless, our randomized controlled trial indicated significant difference in the incidence of VBT between the LAM and ETV groups. Therefore, this study is valuable for the purpose of verifying the 2007–2008 guidelines in Japan. In the present study, although no LAM-resistant mutant was observed in the ETV group at baseline, a very low level of LAM-resistant mutants may derive ETV resistance for long-term therapy. The results of switching to ETV in the present study were favorable during the 24-month observation period, but we have to be careful of possible emergence of ETV-resistant mutants in long-term follow up.

In conclusion, in patients treated with LAM for more than 3 years maintaining HBV DNA of less than 2.6 log

copies/mL, switching treatment to ETV is recommended in at least a 2-year follow-up period.

ACKNOWLEDGMENTS

WE WOULD LIKE to thank Yoshiyuki Ueno (Tohoku University), Takafumi Ichida (Juntendo University), Dr Moriichi Onji (Ehime University), Dr Kazuhide Yamamoto (Okayama University) and Dr Masaaki Korenaga (Kawasaki Medical School) for their advice throughout the study. The study was supported in part by a grant-in-aid from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology.

REFERENCES

- Liaw YF, Sung JJ, Chow WC *et al.* Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1521–31.
- Liaw YF. Hepatitis B virus replication and liver disease progression: the impact of antiviral therapy. *Antivir Ther* 2006; 11: 669–79.
- Di Marco V, Marzano A, Lampertico P *et al.* Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine. *Hepatology* 2004; 40: 883–91.
- Papatheodoridis GV, Dimou E, Dimakopoulos K *et al.* Outcome of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B on long-term nucleos(t)ide analog therapy starting with lamivudine. *Hepatology* 2005; 42: 121–9.

- 5 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: 61-8.
- 6 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; 21 (341): 1256-63.
- 7 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* 2003; 36: 687-96.
- 8 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 661-2.
- 9 Lok AS, Lai CL, Leung N *et al.* Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003; 125: 1714-22.
- 10 Chang TT, Lai CL, Chien RN *et al.* Four years of lamivudine treatment in Chinese patients with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 1276-82.
- 11 Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N *et al.* Correlation of YMDD mutation and breakthrough hepatitis with hepatitis B virus DNA and serum ALT during lamivudine treatment. *Hepatol Res* 2010; 40: 125-34.
- 12 Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW *et al.* Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Lamivudine Clinical Investigation Group. *Hepatology* 1998; 27: 1670-7.
- 13 Liaw YF, Chien RN, Yeh CT, Tsai SL, Chu CM. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy. *Hepatology* 1999; 30: 567-72.
- 14 Westland CE, Yang H, Delaney W *et al.* Activity of adefovir dipivoxil against all patterns of lamivudine-resistant hepatitis B viruses in patients. *J Viral Hepat* 2005; 12: 67-73.
- 15 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* 2006; 354: 1001-10.
- 16 Lai CL, Shouval D, Lok AS *et al.* Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1011-20.
- 17 Sherman M, Yurdaydin C, Sollano J *et al.* Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2006; 130: 2039-49.
- 18 Colonna RJ, Rose R, Baldick CJ *et al.* Entecavir resistance is rare in nucleoside naive patients with hepatitis B. *Hepatology* 2006; 44: 1656-65.
- 19 Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ *et al.* Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naive patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 2009; 49: 1503-14.
- 20 Sherman M, Yurdaydin C, Simsek H *et al.* Entecavir therapy for lamivudine-refractory chronic hepatitis B: improved virologic, biochemical, and serology outcomes through 96 weeks. *Hepatology* 2008; 48: 99-108.
- 21 Tenney DJ, Pokornowski K, Rose RE *et al.* Entecavir at five years shows long-term maintenance of high genetic barrier to hepatitis B virus resistance. *Hepatol Int* 2008; 2: S302-3.
- 22 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.
- 23 Liaw YF, Leung N, Kao JH *et al.* Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-83.
- 24 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50: 227-42.
- 25 Reijnders JG, Deterding K, Petersen J *et al.* Antiviral effect of entecavir in chronic hepatitis B: influence of prior exposure to nucleos(t)ide analogues. *J Hepatol* 2010; 52: 493-500.
- 26 Suzuki Y, Suzuki F, Kawamura Y *et al.* Efficacy of entecavir treatment for lamivudine-resistant hepatitis B over 3 years: histological improvement or entecavir resistance? *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 429-35.
- 27 Mukaide M, Tanaka Y, Shin IT *et al.* Mechanism of entecavir resistance of hepatitis B virus with viral breakthrough as determined by long-term clinical assessment and molecular docking simulation. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 882-9.
- 28 Kim HJ, Park JH, Park DI *et al.* Rescue therapy for lamivudine-resistant chronic hepatitis B: comparison between entecavir 1.0 mg monotherapy, adefovir monotherapy and adefovir add-on lamivudine combination therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1374-80.
- 29 Suzuki F, Akuta N, Suzuki Y *et al.* Efficacy of switching to entecavir monotherapy in Japanese lamivudine-pretreated patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 892-8.
- 30 Kurashige N, Ohkawa K, Hiramoto N *et al.* Lamivudine-to-entecavir switching treatment in type B chronic hepatitis patients without evidence of lamivudine resistance. *J Gastroenterol* 2009; 44: 864-70.

<速 報>

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

中西 満* 中馬 誠 髭 修平 小林 智絵
 中井 正人 荘 拓也 浅香 正博

緒言：HB コア関連抗原 (HBcrAg) は肝細胞内の cccDNA 量と相関することが知られ、核酸アナログ製剤 (NA) の中止基準設定等に有用である可能性が報告されている¹⁾²⁾。また近年、NA 内服時の肝細胞癌発癌あるいは再発予測における有用性も報告されている³⁾⁴⁾。今回、初回発癌予測因子としての HBcrAg の有用性を検討した。

対象と方法：当科に通院中の HBs 抗原陽性者のうち 3 年以上の経過観察後に発癌した症例を HCC 群 (HCC) (n=50, 平均観察期間 5.3 年) とし、3 年以上の経過観察を行い発癌しなかった症例のうち、年齢・性別を HCC 群にマッチさせて抽出した症例を非 HCC 群 (non-HCC) (n=100, 平均観察期間 7.7 年) とした。この 2 群を NA 内服、非内服例にわけて肝細胞癌初発に寄与する因子について単変量解析で $P < 0.05$ であった項目に関してロジスティック回帰を用いた多変量解析で検討した。HBcrAg は NA 内服・非内服例ともに全体の中央値であった $3.8 \log U/ml$ (CLEIA 法)、HBV-DNA は両者全体の中央値近傍である $5 LC/ml$ (real-time PCR 法) をカットオフ値として検討した。

成績：NA 非内服例 (HCC : n=39, non-HCC : n=67) の検討では多変量解析で HBV-DNA $5 LC/ml$ 以上、HBcrAg 量 $3.8 \log U/ml$ 以上が発癌寄与因子として抽出された。NA 内服例 (HCC : n=11, non-HCC : n=33) の検討では多変量解析で HBcrAg 量 $3.8 \log U/ml$ 以上のみが発癌寄与因子として抽出された (Table)。また、NA 非内服例では HBV-DNA 量と HBcrAg 量は相関するが ($r = 0.7169$, $P < 0.01$)、HBV-DNA 低値例で乖離を認める症例も存在し、HBV-DNA 量 $5 LC/ml$ 未満の場合、NA 非内服例の HCC 群で HBcrAg 量 $4 \log U/ml$ 以上の症例が 66.7% (6/9 例) であるのに対し、非 HCC

群は 1.9% (1/54) であった ($P < 0.01$)。

考察：HBcrAg 量の測定は既報の如く³⁾ NA 内服例の肝発癌予測に有用であり、さらに今回の検討から NA 非内服例における有用性も示唆された。特に HBV-DNA 量低値例における肝細胞癌のサーベイランスに補完的な役割が期待されるものと考えられた。

索引用語：HB コア関連抗原、肝細胞癌、サーベイランス

文献：1) Suzuki F, Miyakoshi H, Kobayashi M, et al. J Med Virol 2009; 81: 27—33 2) Matsumoto A, Tanaka E, Minami M, et al. Hepatol res 2007; 37: 661—666 3) 辻 邦彦, 西森博幸, 松居剛史, 他. 肝臓 2009; 50: 166—167 4) Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, et al. Liver Int 2010; 30: 1461—1470

北海道大学医学部医学研究科消化器内科

*Corresponding author: mnaka@med.hokudai.ac.jp

<受付日2011年4月11日><採択日2011年5月1日>

Table Logistic regression analysis of significant predictive factors for incidence of HCC associate with HBV with or without nucleotide analogue administration from univariate and multivariate analysis

	HCC		non-HCC	Category	Univariate analysis	
	Median (range)		Median (range)		P	
NA (-) n=106	n=39		n=67			
Age (years)	56	(32-72)	55 (30-83)	≥55/55<	0.844	
Sex (M : F)	26	: 13	44 : 23	M/F	0.972	
ALT (IU/ml)	27	(13-79)	23 (8-75)	≥31/31<	0.914	
Serum bilirubin (mg/dl) *	1.1	(0.4-3.7)	0.8 (0.4-3.5)	≥1.5/1.5<	0.050	
Serum Albumin (g/dl) *	3.8	(2.4-5.2)	4.2 (2.9-5.1)	<3.5/≥3.5	0.042	
Prothrombin time (%) *	84	(57-119)	94 (75-120)	<80/≥80	0.018	
Platelet counts (×10 ⁴ /μl) *	10.6	(4.9-30.1)	18.6 (3.7-28.5)	<10 ⁵ /≥10 ⁵	0.001	
HBe antigen (+ : -)	12	: 27	2 : 65	+/-	<0.0001	
HBs antigen (S/N) *	781	(4-3650)	219 (2-30281)	≥500/500<	0.012	
HBV-DNA (LC/ml)	6.1	(<2.1-8.2)	4.4 (<2.1-7.3)	≥4/<4	0.078	
				≥5/<5	<0.0001	
HBcrAg (log U/ml) *	5.9	(<3.0-6.8≥)	3.7 (<3.0-6.3)	≥3.8/3.8<	<0.0001	
Mutation of PC* (+ : -)	20	: 5	44 : 12	+/-	0.884	
Mutation of BCP* (+ : -)	22	: 3	36 : 19	+/-	0.049	
					Multivariate analysis	
					Odds ratio (95%CI)	P
HBV-DNA (LC/ml)				≥5/<5	4.746 (1.089-10.038)	0.035
HBcrAg (log U/ml) *				≥3.8/3.8<	6.133 (2.171-17.330)	0.001
	HCC		non-HCC	Category	Univariate analysis	
	Median (range)		Median (range)		P	
NA (+) n=44	n=11		n=33			
Age	55	(41-71)	52 (31-79)	≥55/55<	0.301	
Sex (M : F)	8	: 3	22 : 11	M/F	0.709	
ALT (IU/ml)	27	(11-79)	27 (14-79)	≥31/31<	0.472	
Serum bilirubin (mg/dl)	1.0	(0.5-2.3)	0.9 (0.5-2.6)	≥1.5/1.5<	0.049	
Serum Albumin (g/dl)	4.0	(3.0-4.9)	4.2 (3.0-4.9)	<3.5/≥3.5	0.426	
Prothrombin time (%) *	84	(61-114)	96 (80-115)	<80/≥80	0.500	
Platelet counts (×10 ⁴ /μl)	9.8	(5.9-21.0)	16.5 (6.5-28.7)	<10 ⁵ /≥10 ⁵	<0.005	
HBe antigen (+ : -)	5	: 6	7 : 26	+/-	0.127	
HBs antigen (S/N) *	655	(10-16500)	461 (3-34318)	≥500/500<	0.111	
HBV-DNA (LC/ml)	<2.1	(<2.1-8.7)	<2.1 (<2.1-8.8)	≥4/<4	0.616	
				≥5/<5	0.426	
HBcrAg (log U/ml) *	5.7	(<3.0- ≥6.8)	3.3 (<3.0- ≥6.8)	≥3.8/3.8<	<0.005	
Mutation of PC* (+ : -)	5	: 4	16 : 14		0.841	
Mutation of BCP* (+ : -)	5	: 1	23 : 5		0.976	
					Multivariate analysis	
					Odds ratio (95%CI)	P
HBcrAg (log U/ml) *				≥3.8/3.8<	5.895 (1.013-34.299)	0.048

Abbreviation: NA, nucleotide analogue; ALT, alaine aminotransferase; PC, precore regions; BCP, basal core promoter; HBcrAg, hepatitis B virus core-related antigen

*Data not available for all cases

英文要旨

The role of hepatitis B virus core-related antigen
for predicting the incidence of HCC

Mitsuru Nakanishi*, Makoto Chuma, Shuhei Hige,
Tomoe Kobayashi, Masato Nakai,
Takuya Shou, Masahiro Asaka

The usefulness of HB core-related antigen (HBcrAg) for the surveillance of hepatocellular carcinoma (HCC) has not been fully elucidated. We analyzed factors associated with the occurrence of HCC. High HBcrAg level for patients with nucleotide analogue (NA) administration, and high HBV-DNA level and high HBcrAg level for those without NA were revealed to be the significant factors for HCC occurrence by multivariate analysis. These data suggested that HBcrAg is the predictive factor for HCC occurrence regardless of NA administration. In conclusion, HBcrAg is a useful marker for the HCC surveillance.

Key words: hepatitis B virus core-related antigen,
hepatocellular carcinoma, surveillance

_____ *Kanzo* 2011; 52: 387—389

Department of Gastroenterology and Hematology,
Hokkaido University Graduate School of Medicine

*Corresponding author: mnaka@med.hokudai.ac.jp

III. B 型肝炎

B 型肝炎に対する治療学の進歩

B 型肝炎に対するインターフェロン療法

Interferon therapy for chronic hepatitis B

髭 修平 荘 拓也 中西 満 中馬 誠

Key Words : B 型肝炎, インターフェロン, ペグ・インターフェロン, HB コア関連抗原

B
型
肝
炎

はじめに

B 型肝炎に対する抗ウイルス治療薬は、インターフェロン (IFN) と核酸アナログ製剤に大別され、IFN の導入から 20 年以上が経過した。当初は治療期間が短く、効果は限定的であったが、その後 24 週間投与が可能となり、有効性の向上がみられている。一方、2000 年以降、核酸アナログ (NA) 製剤が登場し、副作用の少ない長期治療を広範な病態に対して施行可能となったが、両製剤の治療効果や薬剤反応性の比較から、IFN の作用機序や有用性がクローズアップされてきている。

本稿では、当科の成績を含めて IFN 治療について概説する。

1. IFN の作用機序

IFN は、B 型肝炎や C 型肝炎の治療に使用されている IFN α 、IFN β などを含む I 型 IFN のほか、II 型 (IFN γ)、III 型 (IFN λ) に大別される。IFN には様々な作用が知られているが、代表的な細胞内シグナルは JAK-STAT 系を介した経路で作用を発現する。細胞内で IFN-stimulated response element (ISRE) を介し、protein kinase R (PKR)、2' 5'-oligoadenylate synthetase (OAS)、Mx、IFN-stimulated gene (ISG) 15 な

どの発現を増強させ、抗ウイルス効果を高める。また、アポトーシスに関与する procaspase の誘導、細胞内 microRNA (miRNA) の誘導、細胞分裂 G1/S 移行期での増殖抑制など、多様な作用を示す¹⁾。

もう一つの IFN 作用は、免疫調節作用である。細胞内では、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス I 分子発現や抗原提示能を誘導する。更に、樹状細胞成熟、NK 細胞活性化、CD8⁺T 細胞、IL-15 合成などを介して、種々の免疫学的作用を発現する。

もう一方の抗 HBV 薬である NA 製剤の主な作用は、逆転写酵素阻害によるウイルスの増幅抑制であり、上述の IFN の作用機序と大きく異なることを理解して治療計画を立てることが必要となる。

2. B 型肝炎に対する IFN 治療法の変遷

我が国では、1986 年に IFN β が、1988 年に IFN α が、HBe 抗原陽性慢性活動性肝炎に対する治療薬として承認された。投与期間は、当初、4 週間が目安とされていたが、2002 年からは 24 週間投与が可能となった。また、IFN α については、2008 年から自己注射も可能となっている。

現在、我が国の B 型肝炎治療については、厚

Shuhei Hige, Takuya Sho, Mitsuru Nakanishi, Makoto Chuma: Department of Internal Medicine, Gastroenterology Section, Hokkaido University Graduate School of Medicine 北海道大学大学院医学研究科 消化器内科学

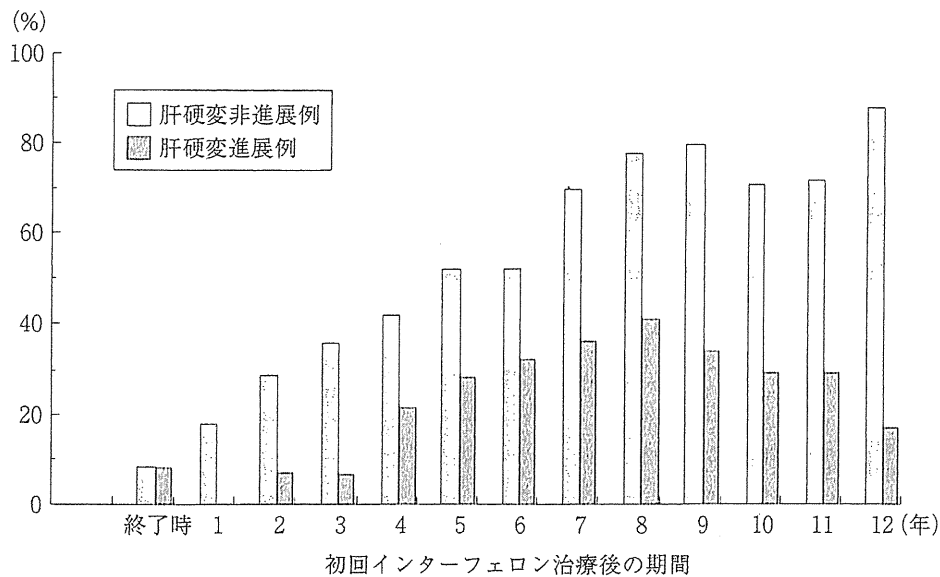


図1 IFN治療後のSCと肝硬変への進展

生労働省の‘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’班によるガイドラインが策定され、毎年、更新されている²⁾。その中でのIFN製剤は、35歳未満のHBe抗原陽性症例、35歳以上でHBV DNA量が7log copies/mL未満の症例などでの選択が考慮されている。ガイドライン上は、HBe抗体陽性例への投与や48週間投与などの選択肢も記載されているが、現行の保険適用とは異なる点に注意を要する。

C型肝炎では世界の標準薬であるペグ・インターフェロン(PEG-IFN)は、2005年にB型肝炎に対する治療薬として米国、EUなどで承認され、現在は90カ国以上に普及している。我が国では、現在、PEG-IFN α -2aについて治験中である。

3. 4週間投与によるIFN治療成績と長期予後

当科で1998年までにIFN治療を行ったHBe抗原陽性159例(計302回、主に4週間投与)について、結果を示す³⁾。HBe抗原陰性化かつHBe抗体陽転を示すseroconversion(SC)達成を指標とすると、IFN初回治療後、SC持続が30例(18.9%)、SC後再燃が25例(15.7%)であった。複数回治療後にSCが持続する例は、2回

目治療で76例中9例(11.8%)、3回目治療で38例中3例(7.9%)に認めた。

対象症例の初回IFN治療後の年次別SC率を図1に示す。IFN治療後に肝硬変へ進行する症例は、非進行例と比べて長期的にSC率は低率であった。IFN治療10年後の肝硬変への累積進展率を、SCの有無別にKaplan-Meier法で示すと、SC群17.0%、非SC群44.0%、10年後の累積発癌率では、SC群で8.0%、非SC群で14.4%であった。SCの有無、SCの時期、再燃の有無により検討すると、SCまでの時期が遅めであっても、その後に再燃を認めない症例で予後は良好であった。このように、HBe抗原陽性症例の持続的SCの維持は、長期予後にとっても重要である。

4. IFN長期投与(24週間)と核酸アナログ製剤の併用

著者らは、HBe抗原陽性慢性肝炎に対して、IFN β とNA製剤の併用治療を行っており、その治療成績から、IFN投与の意義を検討した。投与法は、IFN β 1日300万単位を、初期4週間は週に5-6回、以後20週間は週3回投与とし、核酸アナログ製剤(ラミブジン(LAM)またはエンテカビル(ETV))は、16週間の連日内服後に終了とした。対象は合計50例で、同時期に核

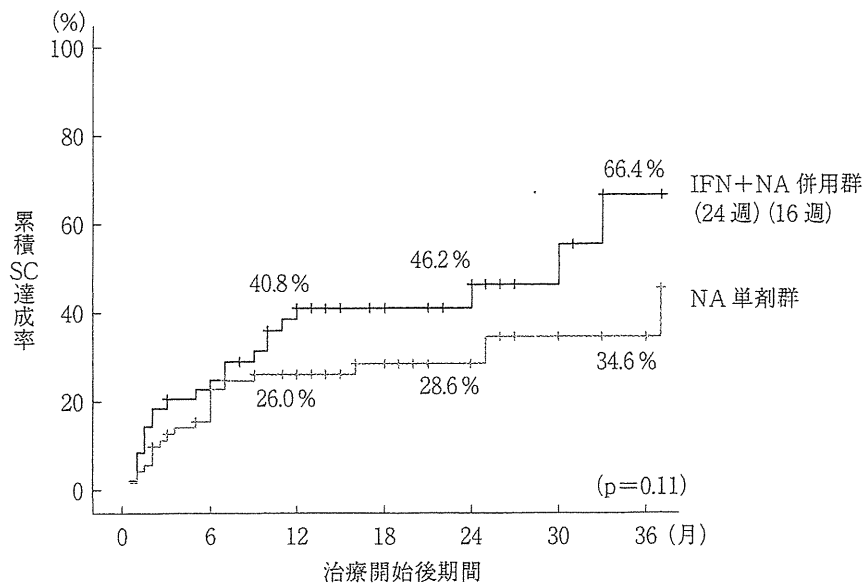


図2 IFN/NA 併用群と NA 単剤投与群の累積 SC 達成率

酸アナログ製剤を単独投与した HBe 抗原陽性例 75 例を対照として SC 率を比較した。Kaplan-Meier 法による累積 SC 達成率は、12 カ月後、24 カ月後、36 カ月後の SC 達成率は、NA 単剤群が 26.0%、28.6%、34.6% であるのに対して、併用群では 40.8%、46.2%、66.4% と高率の傾向を示した(図 2)。併用群、NA 単剤群を合わせた HBe 抗原陽性に対する治療において、最終的に SC に寄与する因子は、多重ロジスティック解析の結果、年齢(30 歳未満)と治療開始時 ALT 値(100 IU/L 以上)が有意であった。

最近、HBV 関連の新しいマーカーとして HB コア関連抗原(HBcr 抗原)の測定が可能となった⁴⁾。これは、HBV の core, precore mRNA から転写・翻訳されるタンパク(HBc 抗原、HBe 抗原、p22cr)全体を測定するもので、肝組織内の閉環二本鎖 DNA(covalently closed circular DNA: cccDNA)と相関があると考えられている⁵⁾。

著者らの検討症例における治療経過中の HBV DNA および HBcr 抗原の減少量を、投与方法別に比較した(図 3)。HBV DNA 量は、両群ともに治療開始早期に減少したが、HBcr 抗原量については、NA 単剤群での減少が緩徐であり、併用群の減少度が大きい傾向を示した。こ

の検討においては、NA 単剤群に対する併用群の測定値の差が、IFN の単独作用の評価に反映する部分と考えられ、IFN 投与例では、HBV 増幅抑制のほかに、感染肝細胞の排除も増強されている可能性を示している。

5. PEG-IFN による海外の成績

海外では、B 型肝炎に対しても、PEG-IFN による長期投与が可能となり、NA 製剤、あるいは PEG-IFN と NA 製剤との併用の有効性について、比較的大規模な無作為比較試験(RCT)が報告されている。

HBe 抗原陽性例に対して、Lau ら⁶⁾は、LAM 単独、PEG-IFN α -2a 単独、両剤併用の 3 群による 48 週間治療の RCT を行った。また、Janssen ら⁷⁾は、PEG-IFN α -2b 単独群と LAM+PEG-IFN α -2b 併用群の 2 群で 52 週間治療の RCT を行った。前者は 85% 強が genotype B あるいは C 型のアジア人、後者は 70% 以上が genotype A あるいは D 型の白人で、対象集団は異なるが、示された結果は類似していた。すなわち、治療期間中の HBV DNA 量は、PEG-IFN 単独投与群に比べ LAM 使用(単独または併用)群で有意に減少するものの、終了後には LAM 使用(単独または併用)例での再上昇幅が大きく、結果

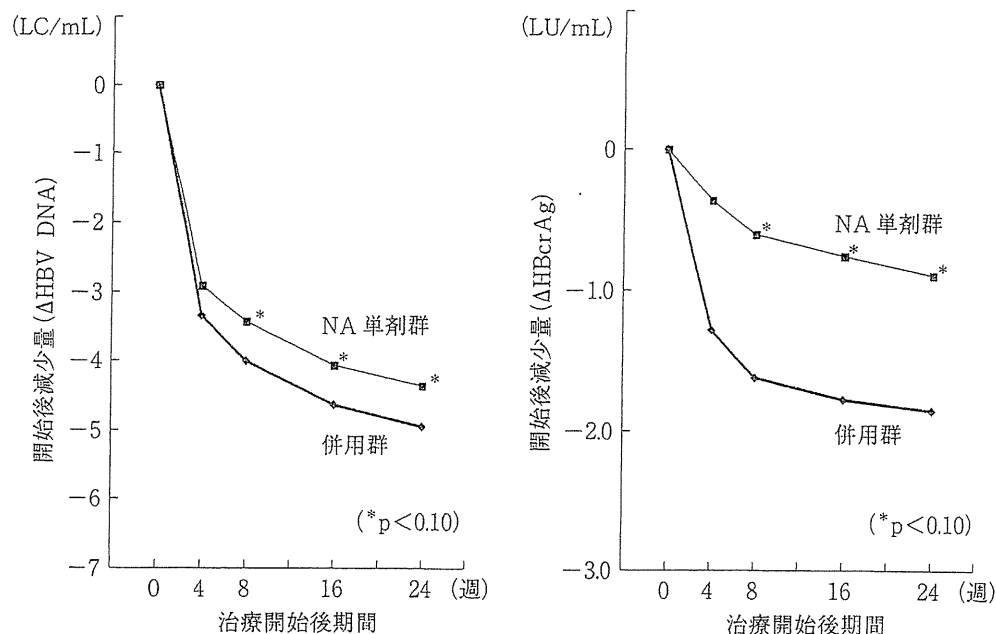


図3 治療開始後のHBV DNA量およびHBcr抗原量の減少量

的には、LAM併用の有無にかかわらず、PEG-IFN製剤使用例のHBV DNAレベルは治療終了後では同等で、かつ、LAM単独投与群のHBV DNAレベルよりも低く維持された。SC率も、LAM単独群よりもPEG-IFN製剤使用群の方が高率であった。

HBe抗原陰性症例を対象としたRCTにおいても、HBe抗原陽性例と同様のパターンが示され、PEG-IFN製剤使用例では、LAM単独投与に比べ治療終了後のHBV DNA低値維持においてより有効であった^{8,9)}。

これらのRCTにおける治療終了後の抗HBV効果は、PEG-IFN投与の有無が最も大きな規定要因となっており、核酸アナログ製剤の主作用であるHBV増幅抑制効果よりも、IFNの免疫賦活による感染肝細胞排除の方が、長期的な有効性に強く作用していることが示唆された。

2000年にSchalmら¹⁰⁾により報告された、IFN α -2b(週3回、16週間)、LAM(52週間)、両者併用(8週間のLAM先行投与後、16週間併用)の3群によるHBe抗原陽性例に対するRCTでは、SC率は、それぞれ、19%、18%、29%と、併用群で高いSC率を示し、PEG-IFNによる前述のRCTとは異なる結果であった。この差は、

IFN製剤の違い以外に、投与期間が異なるため生じた可能性があり、IFN長期投与により、NA製剤併用の意義は薄れる可能性が考えられた。実際、最近のメタ解析は、PEG-IFNによる長期間(48-52週)投与群により検討が行われ、従来型のIFNは検討対象から除外されている¹¹⁾。

6. IFN製剤の免疫賦活作用を考慮した治療方針

肝細胞内のHBV DNA量を減少させるには、NA製剤は、減少効果の強さ、副作用・患者負担の低さの両面で優れた薬剤である。特に、長期にHBV DNAを低レベルに抑制する必要がある病態(肝硬変、肝癌合併、HBe抗体陽性慢性肝炎)で高い有用性が示される。

しかし、感染肝細胞を排除するには、最終的には免疫学的機序が必要であり、免疫賦活作用を有するIFNの使用は合理的である。また、C型肝炎と異なりウイルスの完全排除が不可能なHBV感染においては、治療期間を限定し、drug freeで長期間の生活が可能状態を考慮することは重要である。

B型肝炎の自然経過において、肝炎活動期には免疫学的反応は強く、トランスアミナーゼも

上昇する。HBV 増殖抑制が主作用の NA 製剤においても、治療開始時の ALT 高値が高 SC 率と関連することは広く認識されているが¹²⁾、免疫調節作用を期待する IFN 製剤投与においては、治療開始のタイミングは更に重要な要素である。現在の我が国の治療ガイドラインでは、治療対象者を ALT 31 (IU/L) 以上としているが、SC を治療目標とした HBe 抗原陽性症例の場合には、治療効果が期待できる ALT 高値のタイミングを考慮することも必要である。

また、2010 年に我が国のガイドラインで補足された 'sequential 療法' とは、NA 投与で HBe 抗原が陰性化した症例 (または当初から陰性の症例) に対して、IFN を治療の最終 6 カ月間 (1 カ月のみ NA 製剤と併用) に投与して終了する

治療法とされており、免疫学的作用が作動しにくい環境での投与となっている。HBV DNA が既に低値安定化した段階での IFN 投与が、sequential 療法なしで終了した症例と比較して、どの程度の上乗せ効果が得られるかについて、今後の症例集積が望まれる。

おわりに

IFN 製剤の有する免疫賦活作用は、NA 製剤には認められず、B 型肝炎治療には重要な作用である。IFN の作用機序、治療対象の病態、タイミングなどを考慮した治療により、期間限定的治療で drug free を目指せる可能性がある。我が国では、PEG-IFN 製剤の B 型肝炎への臨床応用が待たれる。

文 献

- 1) Randall RE, Goodbourn S: Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol* 89: 1-47, 2008.
- 2) Kumada H, 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.
- 3) 髭 修平ほか: B 型慢性肝炎のインターフェロン治療例における長期予後. *臨床消化器内科* 14: 1405-1410, 1999.
- 4) 髭 修平ほか: 新しい B 型肝炎ウイルスのマーカー: HB コア関連抗原. *臨床消化器内科* 24: 609-614, 2009.
- 5) Suzuki F, et al: Correlation between serum hepatitis B virus core-related antigen and intrahepatic covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B patients. *J Med Virol* 81: 27-33, 2009.
- 6) Lau GK, et al: Peginterferon alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 352: 2682-2695, 2005.
- 7) Janssen HL, 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.
- 8) Marcellin P, 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.
- 9) Kaymakoglu S, et al: Pegylated interferon alfa-2b monotherapy and pegylated interferon alfa-2b plus lamivudine combination therapy for patients with hepatitis B virus e antigen-negative chronic hepatitis B. *Antimicrob Agents Chemother* 51: 3020-3022, 2007.
- 10) Schalm SW, et al: Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut* 46: 562-568, 2000.
- 11) Woo G, et al: Tenofovir and entecavir are the most effective antiviral agents for chronic hepatitis B: a systematic review and Bayesian meta-analyses. *Gastroenterology* 139: 1218-1229, 2010.
- 12) Liaw YF, et al: Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 119: 172-180, 2000.



B 型肝炎治療の最新戦略

B 型肝炎に対するIFN/核酸アナログ製剤の有効性*

髭 修平**
 中馬 誠**
 中井 正人**
 小林 智絵**
 荘 拓也**
 中西 満**
 浅香 正博**

Key Words : hepatitis B, interferon, nucleot(s)ide analogues, combination therapy

はじめに

B 型慢性肝炎に対して、わが国でインターフェロン(IFN)治療が導入されて20年以上、核酸アナログ製剤導入からも10年が経過した。この間、病態、検査方法などに関する多くの知見が蓄積され、治療効果も向上したものの、決定的な治療方法は見出されていない。これは、B 型肝炎ウイルス(HBV)が体内から排除されることの困難性、病態・病期により治療目標や治療効果が異なることなど、さまざまな要因が関連する B 型肝炎の特徴によるものである。

現在の抗HBV治療の選択肢は、IFNと核酸アナログ製剤に大別されるが、わが国の保険適用上は、IFN製剤はHBe抗原陽性症例への使用が基本であるため、HBe抗原陽性例に対する併用治療を中心に、われわれの治療成績を含めて概説する。

B 型肝炎の経過と治療目標

B 型肝炎の自然経過は、免疫寛容期、肝炎活動期、非活動性キャリア期に大別され¹⁾、近年は、

一部でHBs抗体陽性期からの再活性化が注目されている。genotype B あるいは C 型が大多数を占めるわが国では、HBs抗原の陰性化は一部のみであり、多くの症例は、生涯HBs抗原陽性のままで経過する。良好な経過を示すHBVキャリアでは、若年時に一過性の肝障害とともにHBe抗原の陰性化、HBe抗体の陽転を示し(通常は、これを seroconversion : SCと称している)、HBV-DNA量の低下、alanine aminotransferase (ALT)の低値が持続する。

一方、活動性 B 型肝炎症例では、上述のようなスムーズなSCが得られず、肝障害が持続する。これらは、HBe抗原陽性期とHBe抗体陽性期に大別されるが、前者のHBe抗原陽性期には比較的高度の肝障害を認め、HBe抗体陽性期には、HBV-DNA量と連動するALTの消長が持続的にみられることが多い。最終的には、両者の総和として肝病変の進展度が規定される(図1)。したがって、現実的な治療の目標は、HBe抗原の状態に合わせて設定することが重要である。HBe抗原陽性例においては、HBe抗原陰性化とHBV-DNAも含めた再燃のない安定化、すなわち「良質なSC」を目標とし、HBe抗体陽性例では、HBV-DNAと連動するALTの低値維持が現実的目標となる。

わが国では、厚生労働省の「肝硬変を含めたウ

* The efficacy of the combination therapy with interferon and nucleotide/nucleoside analogues for chronic hepatitis B.

** Shuhei HIGE, M.D., Makoto CHUMA, M.D., Masato NAKAI, Tomoe KOBAYASHI, Takuya SHO, M.D., Mitsuru NAKANISHI, M.D. & Masahiro ASAKA, M.D.: 北海道大学大学院医学研究科内科学講座消化器内科学〔〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目〕; Department of Internal Medicine, Gastroenterology Section, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo 060-8638, JAPAN

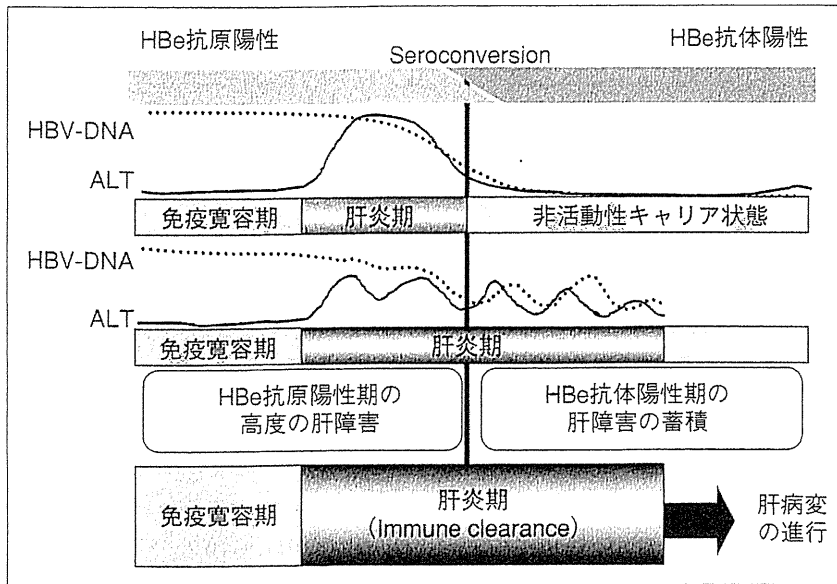


図1 B型肝炎の経過図

ウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究¹班によりB型肝炎の治療ガイドラインが策定され、毎年、更新されている²⁾。

B型肝炎に対する治療薬

現在、わが国で使用可能な抗HBV作用薬は、大別して以下の2種類である。

1. IFN製剤

わが国では、1986年にβ型、1988年にα型のIFNが、HBe抗原陽性慢性活動性肝炎に対しての承認を獲得した。当初は投与期間が4週間であり、有効性は限定的であった。2002年から、24週間投与が可能となって現在に至っている。今後、徐放型IFNであるペグ・インターフェロン(PEG-IFN)の導入が期待されている。

2. 核酸アナログ製剤

わが国では、2000年にラミブジン(LAM)が慢性肝炎に(2005年から肝硬変へも拡大)、2006年からエンテカビル(ETV)が肝炎・肝硬変症例に投与可能となった。また、アデホビル(ADV)は、2004年にLAM耐性例に対して追加併用が可能となり、さらに、2008年に単剤投与の承認を得ている。

IFN製剤は、副作用、1回分の費用、投与可能期間などの点で核酸アナログ製剤に比べて負担が大きく、核酸アナログ製剤が導入された2000

年以降は、核酸アナログ製剤投与例が多数を占める現状にある。

両者の作用機序には違いがあり、核酸アナログ製剤は、主にHBV逆転写の段階に作用し、増幅を抑制しているが、IFNは、この作用に加え免疫賦活作用を有しており、感染肝細胞自体を排除する効果を有する。この特徴を十分に理解し治療法を選択する必要がある。

IFNと核酸アナログ製剤の短期併用による抗HBV効果の評価

当科で行った、HBe抗原陽性例に対するIFNβの1日2分割投与(4週間)、LAM単剤投与、および、両者の併用(4週間。以後はLAMのみ継続)の検討について成績を示す。

対象は合計36例で、IFNβの1日2分割投与例をIFN2分割群、ラミブジン単剤投与例をLAM群、両者併用例を併用群と表すと、IFN2分割群18例、LAM群12例、併用群6例である。さらに、従来型のIFN1日1回4週間投与例85例をIFN従来群として比較した(表1)。

治療開始4週間でのHBV-DNA低下量は、IFNβ2分割群とLAM投与群で大きかった。また、HBV-DNAの減少は、開始後数日間の比較的急峻な低下と、それ以降の緩徐な低下に分けられる例が多く、これを、第1相、第2相と表して、減少

表1 HBe抗原陽性例の短期治療(4週間)検討対象

	IFN2分割群	LAM群	併用群	IFN従来群
症例数	18	12	6	85
男女比	12/6	10/2	3/3	56/29
平均年齢 (歳)	32.6±2.3	37.5±11.1	25.0±3.7	32.5±7.5
治療開始前	$P<0.05$			
ALT値 (IU/l)	176.7±157.1	465.9±491.0	263.5±290.4	205±188.3
HBe抗原 (CI)	136.1±94.9	121.8±64.4	99.0±66.4	124.9±78.4
HBV-DNA量 (LGE/ml)	8.0±0.7	7.8±0.8	7.5±0.8	7.8±0.8
開始後4週間				
HBV-DNA低下量 (LGE/ml)	2.4±1.3	3.2±1.4	3.3±1.2	1.4±1.0
HBe抗原低下率 (%)	50.7±62.7	60.3±46.0	57.9±41.1	20.9±34.0

(平均±標準偏差)

表2 短期治療例における治療早期のHBV-DNA減少速度

	第1相 (LGE/ml/日)	第2相 (LGE/ml/日)
IFN2分割群	0.23±0.12	0.08±0.05
LAM群	0.34±0.22	0.09±0.08
併用群	0.44±0.15	0.07±0.03

速度を算出した。併用群で、第1相での減少速度が大きい傾向を認めた(表2)。

これらの成績は、IFNと核酸アナログ製剤の併用により、抗ウイルス効果を増強させる可能性を示している。

当科におけるB型肝炎に対する併用療法

当科では、HBe抗原陽性慢性肝炎患者を対象として、IFN-βの24週間投与と核酸アナログ製剤16週間の同時投与を行ってきた。これは、現在、保険治療が可能なIFNの用法用量に核酸アナログ製剤を併用し、段階的に投薬を終了する形でプロトコルを作成している(図2)。

当科の同時併用治療の特徴は、

①2剤同時使用により、抗ウイルス効果および免疫賦活効果を増強させた。

②タイミングを考慮した上で、初期に強力な抑制効果を期待する。

③治療中止後の強いリバウンドによる肝不全の出現を回避する。

④核酸アナログ投与の短期化による耐性出現を抑制する。

などで、結果的に、若年層へも期間限定的な核酸アナログを用いた抗HBV治療を可能とさせている。

IFN(24週)+核酸アナログ製剤 同時併用療法の成績

当科における、HBe抗原陽性慢性肝炎患者に対して、表1で示したプロトコルで、IFNβ24週間と核酸アナログ製剤16週間の同時併用治療を行った成績を示す。対象は49例で、IFNβ1日300万単位を、初期4週間は週に5~6回、以後20週間は週3回投与とし、核酸アナログ製剤は、16週間、連日内服して終了とした。投与した核

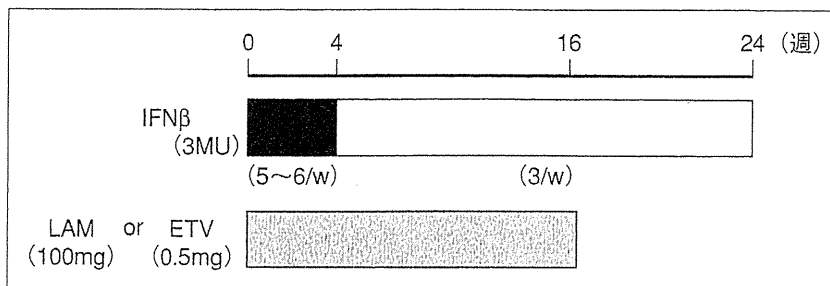


図2 当科のIFN+核酸アナログ併用方法

表 3 核酸アナログ製剤およびIFN(24週間)併用のHBe抗原陽性症例

	NA単独群 (Lam or ETV)	併用群 (IFNβ+Lam or ETV)
症例数	75	49
男/女	54/21	25/24
年齢 (歳)	40.9±13.4	38.7±12.8
開始時ALT値 (IU/l)	277.7±319.1	182.7±168.1
HBV-DNA量 (LC/ml)	7.4±1.2	7.4±1.0
Precore変異	: wild優位/その他	34/12
CP変異	: wild優位/その他	4/42
genotype	: B/C	1/33
F score	: 0/1/2/3/4	5/10/11/10/7
A score	: 0/1/2/3	1/11/15/4
観察期間 (月)	17.2±10.2	19.9±17.2

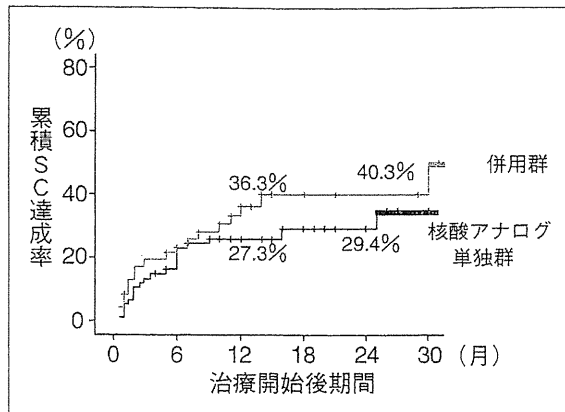


図 3 治療法別の累積SC達成率

酸アナログは、LAMが23例、ETVが26例であった。対象として、同時期に核酸アナログ製剤を単独投与したHBe抗原陽性例75例(LAM 37例、ETV38例)の効果と比較した(表3)。両群の背景では、単独群の治療開始時ALT値が高値、併用群の女性比率が高率の傾向があった。単独投与群では、投与期間に制限は設けず、SC達成後、少なくとも1年以上の継続投与後に投与中止とし、それ以外は継続中である。

Kaplan-Meier法による累積SC達成率として2群を比較した場合、12か月後、24か月後のSC達成率は、核酸アナログ単剤群の27.3%、29.4%に対して、併用群では、36.3%、40.3%と高率の傾向を示したが、統計学的には有意な差には至らなかった($P=0.15$) (図3)。

治療開始1年以内のSC達成例の割合は、単独投与の19例(25.3%)と比較して、併用群では19例(38.8%)と高率であった。治療開始3年以内ま

表 4 治療開始後のHBe抗原/抗体の変化(開始後3年以内)

	SC達成例		HBe reversion (3年以内)
	1年以内	1~3年後	
単独群 (n=75)			
(LAM37)	19	2	1
(ETV38)	(25.3%)	(2.3%)	(1.3%)
併用群 (n=49)			
IFNβ+(LAM23)	19	3	5
(ETV26)	(38.8%)	(6.1%)	(10.2%)

表 5 治療開始後の経過(開始後3年以内)

	再治療 (3年以内)	耐性株出現	
		SC	LAM ETV
単独群 (n=75)			
(LAM37)	2	0	16/37 0/38
(ETV38)	(2.3%)	(0%)	(43.2%) (0%)
併用群 (n=49)			
IFNβ+(LAM23)	14	4	1*/23 0/26
(ETV26)	(28.6%)	(8.2%)	(4.3%) (0%)

* 再治療にてLAM単独投与。

でのSC例は、単独群は21例(27.6%)、併用群では22例(44.9%)となり、併用群で高率の傾向を認めた($P=0.06$)。一方、SC後3年以内にHBe抗原が再陽転する症例は、単独群では1例のみであるが、併用群では5例に認めた。しかし、この結果は、単独群と併用群とで、継続する治療期間が異なることに起因すると考えられる(表4)。併用群では、初回治療開始後3年以内に再治療を行う例が14例(28.6%)であり、その中からSCを達成する症例もあり、結果的には、3年間の経過の中では、一定のSC達成を維持していた(表5)。

一方、核酸アナログ製剤に対する耐性変異株

の出現については、LAMの単独投与群では高率に認め、37例中16例(43.2%)に耐性株を認めた。ETVに関しては、現時点では耐性変異の出現例は認めていない。

検討対象の背景を限定して、投与方法別の有効性をKaplan-Meier法による累積SC達成率で評価すると、性別では男性、年齢では30歳以上の併用群で有効性が向上する傾向を認めた(図4, 5)。

B型肝炎治療でHBe抗原の陰性化が得られやすい要因として、治療前ALT値、年齢、性別などがあげられるが、今回の併用治療は、難治が予想される条件において有効率を向上させる可能性を示している。

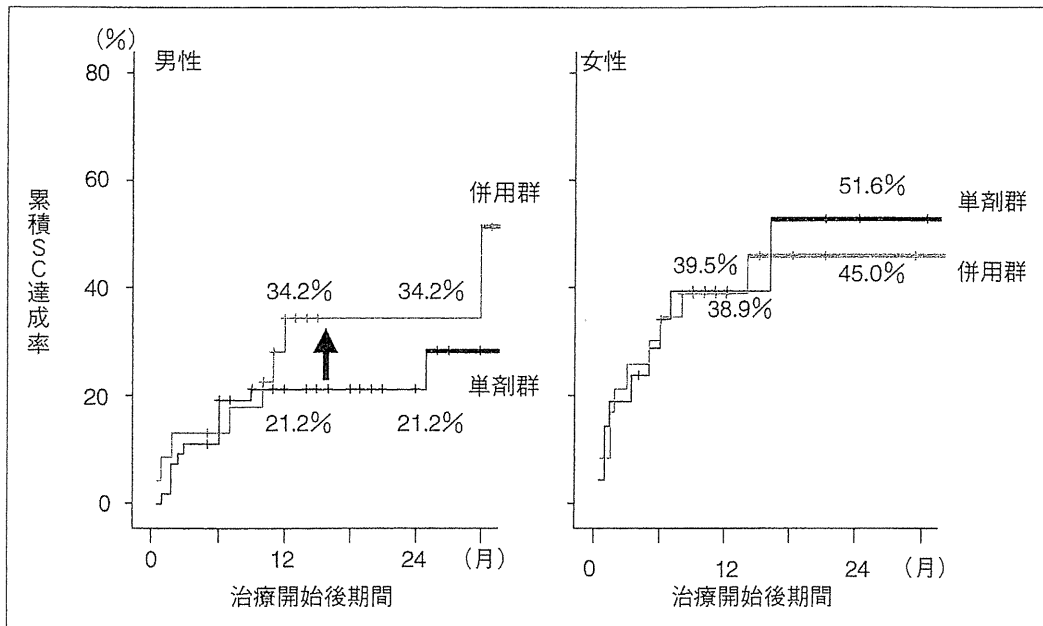


図4 性別および治療法別の累積SC達成率

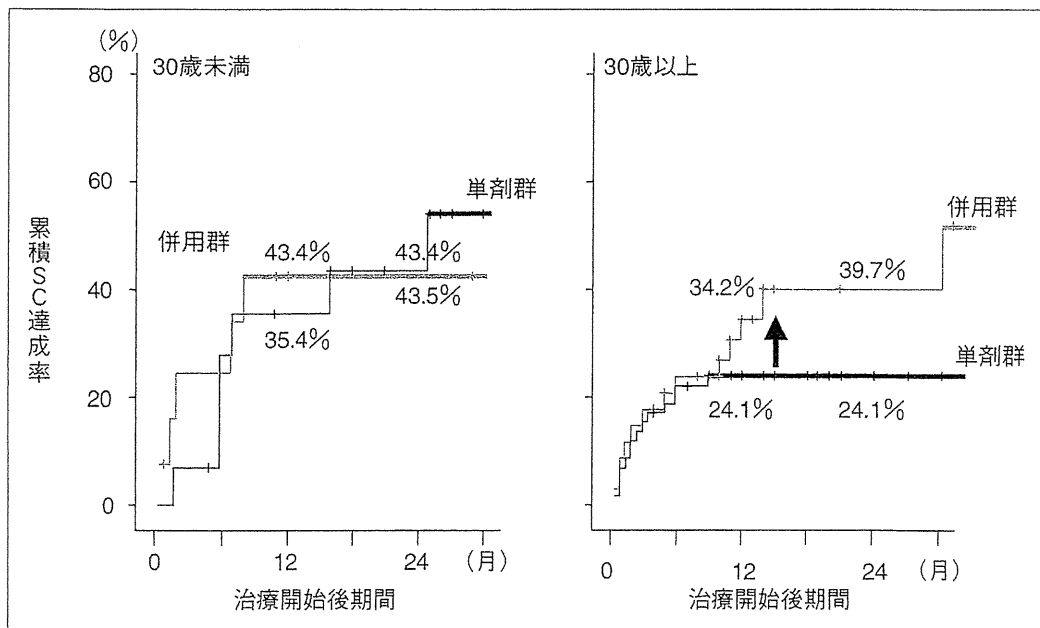


図5 年齢および治療法別の累積SC達成率

海外におけるIFN製剤＋ 核酸アナログ製剤併用の治療成績

従来型のIFN製剤と核酸アナログ製剤の単独・併用投与に関して、Schalmら³⁾が無作為比較試験(RCT)の成績を報告している。230例のHBe抗原陽性者を、IFN α -2b(1,000万単位、週3回、16週間)、LAM(100mg、連日、52週間)、両者併用(8週間のLAM先行投与後、16週間の併用)、の3群で治療し、52週後のSC率は、それぞれ、19%、18%、29%で、特に、治療開始時ALT値が正常上限2倍以上の併用群で約40%と高率のSCを達成している。

2000年代前半の試験では、HBV genotype別の検討は行われておらず、また、併用治療とLAM単独投与での解析が多かったが⁴⁾⁵⁾、海外では、PEG-IFN製剤の導入後、B型肝炎治療ガイドラインも、IFN製剤はPEG-IFN α が中心となってきている^{6)~8)}。

近年、PEG-IFN α 製剤と核酸アナログ製剤の併用に関する比較的大規模なRCTの結果が報告されてきている。HBe抗原陽性例に対して、Lauら⁹⁾は、LAM単独、PEG-IFN α -2a単独、両剤併用の3群814例による48週のRCTを行った。また、Janssenら¹⁰⁾は、PEG-IFN α -2b単独群とLAM＋PEG-IFN α -2b併用群の2群307例で行った52週間のRCTを行っている。後者の試験は、70%以上が白人、genotypeはAまたはDの対象であった。前者は、85%強がアジア人を対象としているが、genotype別には、B型が約30%、C型が約60%と、日本国内での分布とやや異なる。いずれの試験においても、PEG-IFN α 製剤と核酸アナログ製剤を同時併用した場合の最終観察時期のHBe抗原陰性化は、PEG-IFN α 単独治療時とほぼ同等であり、併用治療の上乗せ効果は認めなかった。これらは多数例のRCTによる信頼性の高い結果であるが、わが国での治療対象と異なる要因もあり、今後、PEG-IFN導入後に国内での評価が必要である。

2つのRCTに共通しているのは、治療期間中のHBV-DNA量は、PEG-IFN単独投与群に比べ併用群で有意に減少するものの、終了後には併用群の再上昇幅が大きく、結果的に両群のHBV-DNA

レベルが同等である点である。これは、HBe抗原陰性症例を対象としたRCTでも同様の傾向を示している¹¹⁾¹²⁾。

Wooら¹³⁾は、B型肝炎治療薬剤の効果を、ベイズ法にてメタ解析を行い、PEG-IFN＋LAM併用群のPEG-IFN単独投与群に対する有効性は、オッズ比として、HBV-DNA陰性化は5.75、ALT正常化は1.83、HBe抗原からのSCは0.99、HBe抗原陰性化は1.26、HBs抗原陰性化は1.40、組織学的改善は0.82と報告している。さらに、種々の治療選択肢の中で有効性が高いと評価される順位でも、PEG-IFN＋LAM併用療法は、HBV-DNA陰性化、HBe抗原陰性化、HBs抗原陰性化において、PEG-IFN単独よりも上位に位置づけられている。

併用療法の評価

前述のRCTにおける治療終了後の抗HBV効果は、PEG-IFN投与の有無が最も大きな規定要因となっており、長期効果に関するIFNの意義が示されている。すなわち、核酸アナログ製剤の主作用であるHBV増幅抑制効果よりも、IFNの免疫賦活による感染肝細胞排除の方が、長期的な有効性には強く作用し、海外のRCTでは、PEG-IFN単剤に対する併用療法の優位性は示されない結果となった。

一方で、治療中のHBV-DNA減少効果は、IFNと核酸アナログの併用が単剤投与に比較して明らかに強いことが示され、われわれの検討でも同様の結果が示されている。また、海外でのRCT検討対象はすべてPEG-IFN治療例であるが、われわれが行っている従来型IFN投与方法は、初期4週間の頻回投与(週5～6回)であり、PEG-IFNとは違う評価が必要と思われる。

B型肝炎治療の評価は、症例により大きく結果が異なる。特に、HBe抗原陽性者では治療開始時の背景要因の影響を受け、ALT値の変動を加味したタイミングの判断が最終結果にも影響する。今後は、このような併用時の増強効果が最終的有効性に寄与する要因を解析し、症例の選択を行っていく必要があると思われる。

まとめ

IFN製剤と核酸アナログ製剤の併用により、治

療期間中のHBV-DNA低下作用は明らかに増強されるが、HBe抗原陽性例のSC達成率に関しては、PEG-IFN単独投与に対する核酸アナログ製剤併用の上乗せ効果が明確にはなっていない。今後、わが国と海外の症例の比較、IFN製剤・投与方法の比較、有効性に関連する要因などの解析を進める必要があると思われる。

文 献

- 1) Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection : what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology* 2005 ; 43 : S173.
- 2) 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. *Hepatology Res* 2010 ; 40 : 1.
- 3) Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J, et al. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection : a randomised trial. *Gut* 2000 ; 46 : 562.
- 4) Barbaro G, Zechini F, Pellicelli AM, et al. Long-term efficacy of interferon alpha-2b and lamivudine in combination compared to lamivudine monotherapy in patients with chronic hepatitis B. An Italian multicenter, randomized trial. *J Hepatol* 2001 ; 35 : 406.
- 5) Santantonio T, Niro GA, Sinisi E, et al. Lamivudine/interferon combination therapy in anti-HBe positive chronic hepatitis B patients : a controlled pilot study. *J Hepatol* 2002 ; 36 : 799.
- 6) Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007 ; 45 : 507.
- 7) European association for the study of the liver. EASL clinical practice guidelines : management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009 ; 50 : 227.
- 8) Liaw YF, Leung NW, Kao JH, et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B : a 2008 update. *Hepatology Int* 2008 ; 2 : 263.
- 9) Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, et al. Peginterferon alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 2682.
- 10) Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B : a randomised trial. *Lancet* 2005 ; 365 : 123.
- 11) 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* 2004 ; 351 : 1206.
- 12) Kaymakoglu S, Oguz D, Gur G, et al. Pegylated interferon alfa-2b monotherapy and pegylated interferon alfa-2b plus lamivudine combination therapy for patients with hepatitis B virus e antigen-negative chronic hepatitis B. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 ; 51 : 3020.
- 13) Woo G, Tomlinson G, Nishikawa Y, et al. Tenofovir and entecavir are the most effective antiviral agents for chronic hepatitis B : a systematic review and Bayesian meta-analyses. *Gastroenterology* 2010 ; 139 : 1218.

* * *

ORIGINAL ARTICLE

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

Yoko Tamada,^{1,2} Hiroshi Yatsushashi,^{1,2} Naohiko Masaki,³ Makoto Nakamura,⁴ Eiji Mita,⁵ Tatsuji Komatsu,⁶ Yukio Watanabe,⁷ Toyokichi Muro,⁸ Masaaki Shimada,⁹ Taizo Hijioka,¹⁰ Takeaki Satoh,¹¹ Yutaka Mano,¹² Toshiki Komeda,¹³ Masahiko Takahashi,¹⁴ Hiroshi Kohno,¹⁵ Hajime Ota,¹⁶ Shigeki Hayashi,¹⁷ Yuzo Miyakawa,¹⁸ Seigo Abiru,^{1,2} Hiromi Ishibashi^{1,2}

For numbered affiliations see end of article.

Correspondence to

Professor Hiroshi Yatsushashi, Clinical Research Center, NHO National Nagasaki Medical Center and Department of Hepatology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Address: 2-1001-1 Kubara, Omura, Nagasaki 856-8562, Japan; yatsushashi@nmc.hosp.go.jp

Revised 3 October 2011
Accepted 5 October 2011

ABSTRACT

Objective To examine recent trends of acute infection with hepatitis B virus (HBV) in Japan by nationwide surveillance and phylogenetic analyses.

Methods During 1991 through 2009, a sentinel surveillance was conducted in 28 national hospitals in a prospective cohort study. Genotypes of HBV were determined in 547 patients with acute hepatitis B. Nucleotide sequences in the preS1/S2/S gene of genotype A and B isolates were determined for phylogenetic analyses.

Results HBV genotype A was detected in 137 (25% (accompanied by genotype G in one)) patients, B in 48 (9%), C in 359 (66%), and other genotypes in the remaining three (0.5%). HBV persisted in five with genotype A including the one accompanied by genotype G; another was co-infected with HIV type 1. The genotype was A in 4.8% of patients during 1991–1996, 29.3% during 1997–2002, and 50.0% during 2003–2008 in the capital region, as against 6.5%, 8.5% and 33.1%, respectively, in other regions. Of the 114 genotype A isolates, 13 (11.4%) were subgenotype A1, and 101 (88.6%) were A2, whereas of the 43 genotype B isolates, 10 (23.3%) were subgenotype B1, 28 (65.1%) were B2, two (4.7%) were B3, and three (7.0%) were B4. Sequences of 65 (64%) isolates of A2 were identical, as were three (23%) of A1, and five (18%) of B2, but none of the B1, B3 and B4 isolates shared a sequence.

Conclusions Acute infection with HBV of genotype A, subgenotype A2 in particular, appear to be increasing, mainly through sexual contact, and spreading from the capital region to other regions in Japan nationwide. Infection persisted in 4% of the patients with genotype A, and HBV strains with an identical sequence prevailed in subgenotype A2 infections. This study indicates the need for universal vaccination of young people to prevent increases in HBV infection in Japan.

Significance of this study

What is already known about this subject?

- ▶ In Japan, a national prevention programme was started in 1986 with selective vaccination of babies born to mothers who carry hepatitis B virus (HBV). Since then, the prevalence of hepatitis B surface antigen among younger generations has decreased sharply.
- ▶ However, retrospective studies indicate that the frequency of HBV genotype A is increasing among patients with acute hepatitis B (AHB) within the capital region of Japan.
- ▶ Infection with genotype A more often persists than infection with other genotypes.
- ▶ Because there is no reliable and comprehensive surveillance system for AHB in Japan, the incidence of AHB and factors responsible for changes over many years are not known.

What are the new findings?

- ▶ This is a prospective cohort study for surveillance of AHB throughout Japan in a national research programme.
- ▶ The incidence of AHB in Japan has not decreased, because genotype A infections have increased over time.
- ▶ Genotype A infections started to increase in the capital region of Japan, and then spread to other regions 5–6 years later.
- ▶ About 90% of genotype A found in AHB patients in Japan is subgenotype A2.
- ▶ Subgenotype A2 isolates from patients with AHB tend to preserve sequence identity over time, indicating that particular subgenotype A2 strains have been transmitted without undergoing mutations.

Hepatitis B virus (HBV) has been classified into 10 genotypes, designated A–J, based on a >8% divergence in the full-genome sequence.^{1–7} Different genotypes are associated with distinct clinical manifestations, such as severity and progression of

liver disease, as well as response to antiviral treatments.^{8–10} Some genotypes are subclassified: genotype A into at least two subgenotypes, A1 (Asian/African type) and A2 (European type)^{11–13};