

201125002A

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 23 年度 研究成果報告書

平成 24 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（平成23年度）…………… 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…………… 3 3  
楠本 茂・田中靖人（研究協力者）
2. B型劇症肝炎の解析…………… 3 7  
井戸 章雄
3. 核酸アナログ製剤による妊婦・先天異常に及ぼす影響…………… 4 3  
池田 健次
4. 当院におけるHB c抗体の陽性率とHBV再活性化予防の現状について …… 4 7  
市田 隆文
5. B型肝炎ウイルス保有の関節リウマチ患者に対する生物学的製剤  
トリシズマブの使用経験～血中IL-6はHBV再活性化に寄与するか？～…………… 4 9  
金子 礼志
6. HBV再活性化におけるHB s抗体の意義とHB s抗体変異株 …… 5 5  
上田 佳秀
7. 「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）…………… 5 7  
別所 正美・檀 和夫
8. 腎疾患領域における免疫抑制薬、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…………… 5 9  
鈴木 洋通・浦 信行
9. リウマチ膠原病領域におけるB型肝炎再活性化の実態－II…………… 6 1  
三村 俊英・山本 一彦
10. がん化学療法領域におけるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明 …… 6 5  
佐々木 康綱
11. 「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－」…………… 6 7  
藤井 博文

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 .....	69
小林 浩子	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	71
IV. 研究成果の刊行物 書籍・雑誌.....	77

# I. 総括研究報告書

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 23 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」と「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を平成21年度に開始した。血液領域47，リウマチ・膠原病領域19，腎臓領域16，腫瘍内科領域19からなる計101診療科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24年2月末日までに322例が登録され，対象外4例を除く318例（血液領域129例，リウマチ・膠原病領域127例，腎臓領域13例，腫瘍内科領域49例）の経過を観察した。これらのうち，キャリア例は36例（血液領域9例，リウマチ・膠原病領域11例，腎臓領域2例，腫瘍内科領域14例），既往感染例は282例（血液領域120例，リウマチ・膠原病領域116例，腎臓領域11例，腫瘍内科領域35例）であり，観察期間は最長で30カ月であった。キャリア例は全例でentecavir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 copy/mL未満であるが，「検出」された症例が6例（2.1%）存在し，また，12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および固形癌の化学療法実施例も認められたが，血清HBV-DNA量が2.1 Log copy/mL以上に上昇した時点でentecavir投与を開始することで，全例で肝炎の発症は予防できた。なお，血液領域の多剤併用化学療法実施例では3ヶ月の間に血清HBV-DNA量が6.4 Log copy/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。以上より，「坪内班」，「熊田班」のガイドラインは有用であることが明らかになったが，特に治療期間が長期に及ぶ免疫抑制療法の実施例における対応は，さらに検討を続ける必要があると考えられた。

研究分担者：

楠本 茂 名古屋市立大学 講師  
井戸 章雄 鹿児島大学 准教授  
池田 健次 虎の門病院 部長  
別所 正美 埼玉医科大学 教授  
檀 和夫 日本医科大学 教授  
鈴木 洋通 埼玉医科大学 教授  
浦 信行 手稲溪仁会病院 部長

三村 俊英 埼玉医科大学 教授

山本 一彦 東京大学 教授

佐々木 康綱 埼玉医科大学 教授

藤井 博文 自治医科大学 教授

研究協力者（事務局）：

名越 澄子 埼玉医科大学 教授

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、その複製過程で完全閉鎖二本鎖DNA (covalently closed circular: cccDNA) が形成され、これが核内に残存する。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<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>。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<sup>2)</sup>。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<sup>3)</sup>。

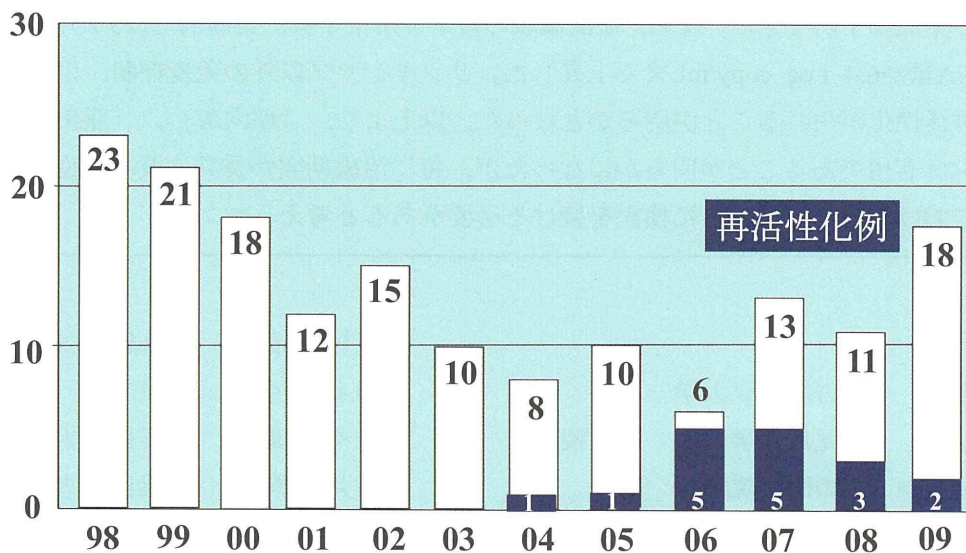


図1. 劇症肝炎, LOHFにおけるHBVキャリア例(1998~2009年)

一方、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」班では平成11~16年は埼玉医科大学が、平成17~22年は鹿児島大学が事務局として、「劇症肝炎およびLOHFの全国調査」を毎年実施している<sup>4-10</sup>。同研究班には1998~2009年に発症した1,186例の劇症肝炎およびLOHF症例が登録されており、462例(39.0%)がHBV感染例で、このうち165例(13.9%)がキャリア例であった。キャリア例は1998年の23例を最多として年々減少し、2004年には8例となった。急性肝不全の治療では1998年からlamivudineが用いられるようになっており、2000年にはキャリア例のほぼ全例で投与されていることを考慮すると<sup>4</sup>、核酸アナログ製剤の普及が、B型キャリア例の劇症化を抑制した可能性がある。しかし、2005年以降はキャリア例が増加しており、この中にB型既往感染例における再活性化症例が含まれていることが明らかになった(図2)<sup>6</sup>。

De novoのB型肝炎が登録されるようになった2004年以降の劇症肝炎、LOHFの488例に限定すると<sup>5-10</sup>、成因がB型の症例は194例(39.8%)であり、その内訳は急性感染91例(46.9%)、キャリア

69例(35.6%)、判別不能34例(17.5%)であった。キャリア例には再活性化症例が17例(24.6%)含まれており、全例が亜急性型に分類された(図3)。一方、通常キャリア例は34.6%が急性型、53.8%が亜急性型、11.5%がLOHFであり、再活性化例はB型キャリア例の中でも特異な病態を呈していた。また、内科治療による救命率は急性感染例が44.0%、通常キャリア例が17.3%であったのに対して、再活性化例は全例が死亡していた。従って、再活性化例はキャリア例の中でも特に予後が不良であると考えられる。また、肝炎発症の原因となった薬物は、通常キャリア例では20例(38.5%)で明らかであり、うち8例がリツキシマブを含むプロトコールであった。一方、再活性化例は全例で誘因となる薬物が認められ、14例(82.4%)がリツキシマブ、フルダラビンなど悪性リンパ腫の治療薬であった。また、1例は多発性骨髄腫に対して末梢血幹細胞移植を実施した症例であり、これもリツキシマブ投与例と同様に再活性化の高リスク群と見なされる。しかし、乳癌および慢性リンパ性白血病で一般的な多剤併用化学療法を実施した症例も存在したことが注目された。

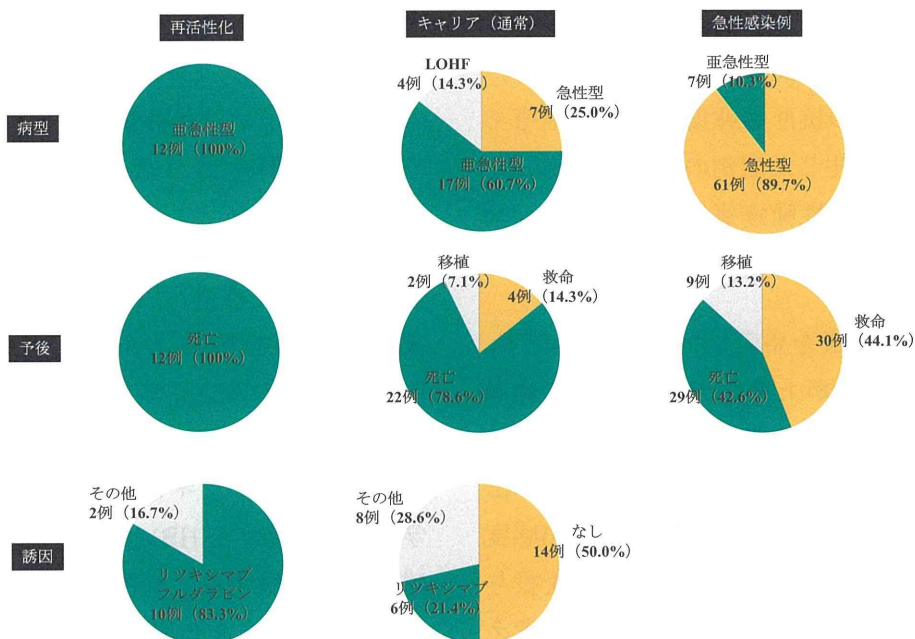


図2. 劇症肝炎、LOHFにおけるHBV感染の実態

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3）<sup>11)</sup>。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研究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<sup>6-10)</sup>，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とすべきである。
4. De novo の B 型肝炎を発症した症例では，先ず，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<sup>12)</sup>。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<sup>7)</sup>。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 21 年度に立ち上げた。

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。

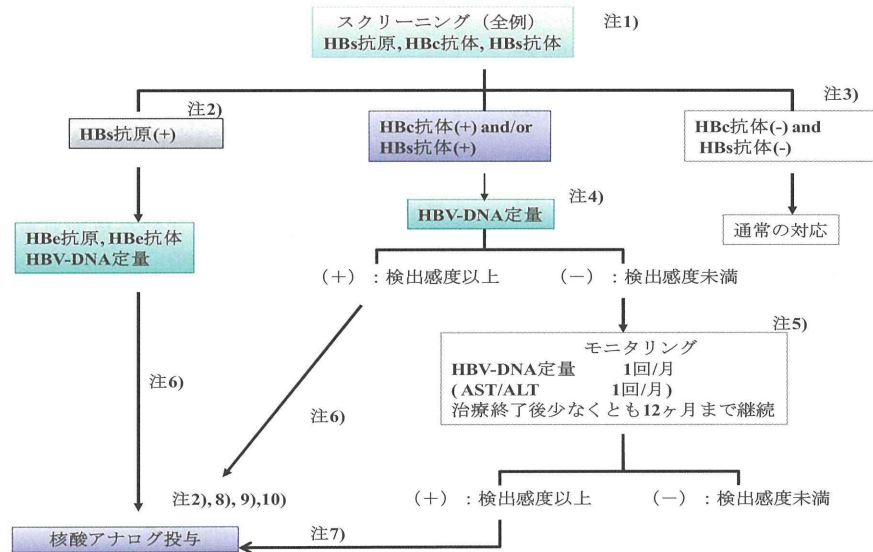


図3.免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策のガイドライン

(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、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）および既往感染例（HBs抗原陰性例のうちHBe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, ミゾリビン, 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4)

血液領域 (47 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, 神奈川県立がんセンター, 順天堂大学伊豆医療, 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 (16 施設) : 手稲溪仁会病院, 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, 神戸大学, 熊本大学, 鹿児島大学, 琉球大学

腫瘍内科領域 (19 施設) : 旭川医科大学, 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

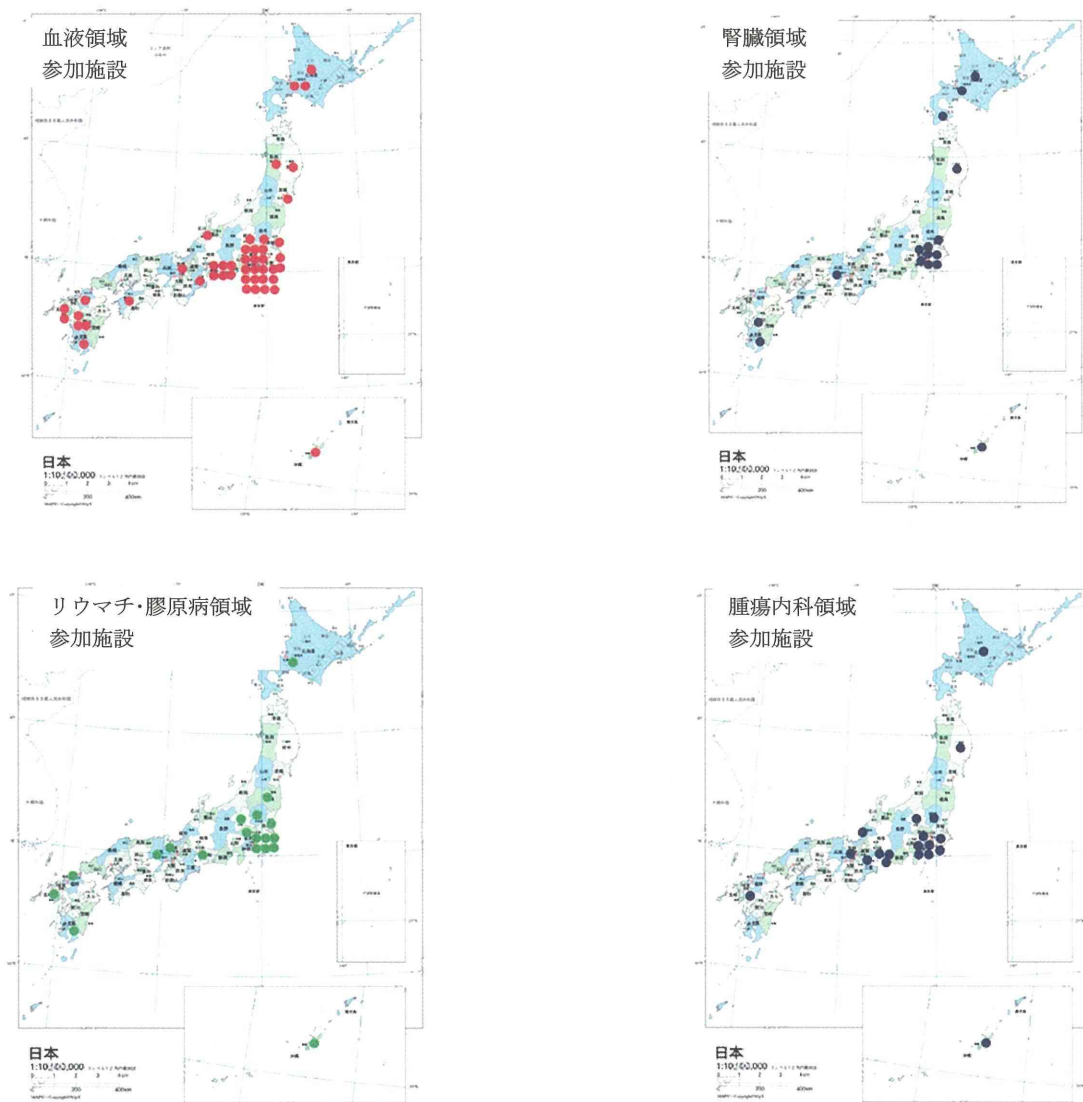


図4. 研究組織の概要

#### (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ヵ月ごとに測定する(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, HBe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ヵ月ごとの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, HBe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, HBe

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」となった症例は成績の詳細を事務局と研究分担者で評価する。Genotypeおよびpre-core/core promoter変異などの成績を基に, 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ヶ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 5）

平成 24 年 2 月 29 日までに 322 例が登録されたが、4 例はリツキシマブ投与などの除外例であり、これを除いた 318 例（血液領域 129 例、リウマチ・膠原病領域 127 例、腎臓領域 13 例、腫瘍内科領域 49 例）が解析の対象となった。その内訳は、キャリア例が 36 例（血液領域 9 例、リウマチ・膠原病領域 11 例、腎臓領域 2 例、腫瘍内科領域 14 例）、既往感染例が 282 例（血液領域 120 例、

リウマチ・膠原病領域 116 例、腎臓領域 11 例、腫瘍内科領域 35 例）であり、観察期間は 6 カ月未満が 56 例、6～12 ヶ月が 83 例、12～18 ヶ月が 76 例、18～24 カ月が 90 例、24 ヶ月以上が 13 例であった。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 206 例 (73.0%)、HBc 抗体のみ陽性が 53 例 (18.8%)、HBs 抗体のみ陽性が 19 例 (6.7%) であった（何れかが不明 4 例：1.4%）。

### (2) 登録症例における治療法

解析対象の 318 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 178 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（84 例：47.2%）、アントラサイクリン系抗生物質（77 例：43.3%）、ピリミジン代謝拮抗薬（74 例：41.6%）、アルキル化薬（70 例：39.3%）、ビンカアルカロイド（51 例：28.7%）、白金製剤（43 例：24.2%）、トポイソメラーゼ阻害薬（24 例：13.5%）、葉酸代謝拮抗薬（20 例：11.2%）であり、大部分の症例はこれらによる多剤併用療法が実施されていた。なお、分子標的薬は 14 例（7.9%）で投与されていたが、何れも他の抗悪性腫瘍薬との併用療法であった。一方、リウマチ・膠原病および腎臓領域（計 140 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（74 例：52.9%）であり、副腎皮質ステロイド（43 例：30.7%）、メトトレキサート（25 例：17.9%）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。

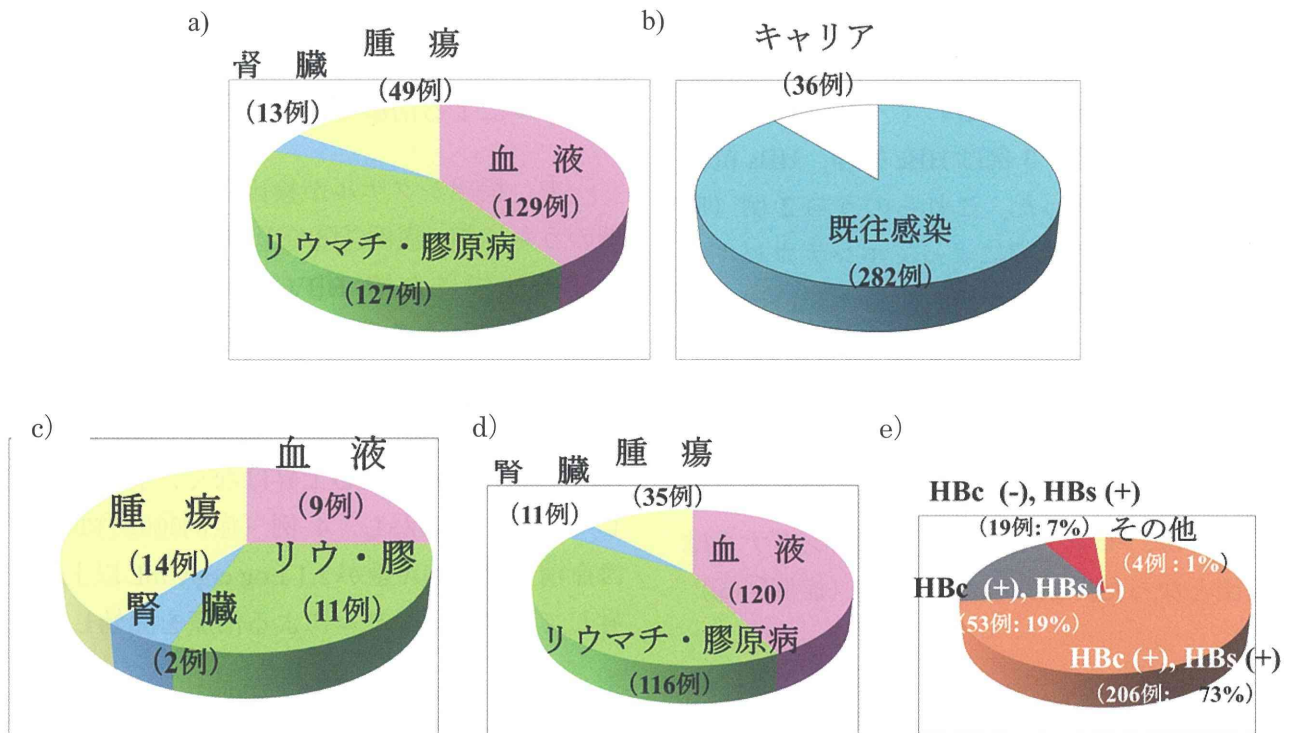


図 5 登録症例の概要（平成 24 年 2 月 29 日まで）：a, b は全症例，c はキャリア例，d, e は既往感染例

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	薬酸拮抗薬	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	プロテアソーム阻害薬	分子標的薬	カルシニューリン阻害薬
計	86	81	20	74	8	9	78	4	61	13	1	43	24	13	14	7

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	43	25	7	74	8

### (3) キャリア例の経過

HBV キャリアである 36 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 23 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など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 13 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，肝炎増悪は観察されていない。

### (4) 既往感染例の経過

既往感染 282 例のうち 6 例（2.1%：症例①～

⑥) は登録時に血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copy/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 例が HBc 抗体のみ陽性、3 例は HBc 抗体、HBs 抗体がともに陽性であった。これらのうち 2 例 (症例①⑥) 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 4 例は増幅シグナルの検出されなかった 276 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 2 例 (症例②③) 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④⑤)

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、その時点でエンテカビルによる治療を開始した。

一方、検出シグナルが検出されなかった 276 例のうち 6 例 (症例⑦⑧⑨⑪⑭⑮) は免疫抑制・化学療法中に血清 HBV-DNA 量は 2.1 copy 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。これら症例では、エンテカビルを投与しないで経過を観察したが、血清 HBV-DNA 量の更なる上昇はなく、肝炎を発症していない。しかし、4 例 (症例⑩⑫⑬⑯) では血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copy/mL 以上に上昇して、エンテカビルによる治療を開始した。

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
性, 年齢	75 歳, 女	77 歳, 女	77 歳, 男	62 歳, 女	74 歳, 女	61 歳, 女
領域	腎 臓	リウ・膠	腫瘍	リウ・膠	リウ・膠	リウ・膠
疾患	膜性腎症	関節リウマチ	下咽頭癌	多発筋炎 シェーグレン	関節リウマチ	SLE
HBV-DNA (Log IU/mL)	<2.1 (+)	<2.1 (+)	<2.1 (+)	<2.1 (+)	<2.1 (+)	<2.1 (+)
HBc 抗体, HBs 抗体	(+), (-)	(+), (+)	(+), (+)	(+), (-)	(+), (-)	(+), (+)
投与薬物	副腎皮質 ステロイド	トシリズマブ	5-FU ネダプラチン ドセタキセル	副腎皮質 ステロイド	インフリキシマ ブ メトトレキサート	副腎皮質 ステロイド シクロ フォスファミド
再活性化時期	0 M	0 M	0 M	3 M	1 M	0 M
HBV-DNA (Log IU/mL)	-	-	-	2.2	<2.1→2.8	-
Genotype	感度未満	感度未満	感度未満	BJ	C	感度未満
PC 変異	M: 100%	M:95%以上	感度未満	W:10, M: 90	W:90, M: 10	感度未満
CP 変異	感度未満	感度未満	感度未満	1762, 64 以外の 変異	W : 100%	感度未満
AST, ALT (IU/L)	25, 16	34, 20	14, 9	19, 29	20, 22	23, 7
Entecavir	投与	未投与	未投与	投 与	投 与	投与



症例	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪
性, 年齢	65 歳, 男	70 歳, 女	74 歳, 男	74 歳, 男	74 歳, 男
領域 疾患	リウ・膠 顕微鏡的 多発血管炎	血 液 多発性骨髓腫	腫瘍 下咽頭癌	腫瘍 食道癌	血液 非ホジキン リンパ腫
HBV-DNA (Log IU/mL)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (-)
HBc 抗体, HBs 抗体	(+), (-)	(+), (+)	(+), (+)	(+), (+)	(+), (-)
投与薬物	副腎皮質 ステロイド シクロ フォスファミド	副腎皮質 ステロイド ボルテゾミブ	5FU ネダプラチン	5FU シスプラチン	エンドキサン テラピシン オンコビン ブレドニゾロン
再活性化時期	1 M	1 M	1 M	2 M	3 M
HBV-DNA (Log IU/mL)	<2.1 (+)	<2.1 (+)	<2.1 (+)	<2.1 (+)→2.4	<2.1 (+)
Genotype	感度未満	感度未満	感度未満	C	感度未満
PC 変異	感度未満	W:95%以上	感度未満	M: 100%	W:95%以上
CP 変異	感度未満	1762,64 以外の変 異	感度未満	W : 100%	感度未満
AST, ALT (IU/L)	26, 73	36, 57	16,13	26,21	22,46
Entecavir	未投与	未投与	未投与	投 与	未投与

症例	⑫	⑬	⑭	⑮	⑯
性, 年齢	51 歳, 女	80 歳, 男	75 歳, 女	32 歳, 女	61 歳, 男
領域 疾患	リウ・膠 再発性多発軟骨炎	リウ・膠 関節リウマチ	リウ・膠 成人スティル病	リウ・膠 SLE	血 液 芽球性形質細胞様 樹状細胞腫瘍
HBV-DNA (Log IU/mL)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (-)	<2.1 (-)
HBc 抗体, HBs 抗体	(+), (+)	(+), (+)	(+), (-)	(+), (-)	(+), (-)
投与薬物	インフリキシマブ	メトトレキサート	トシリズマブ	副腎皮質 ステロイド	副腎皮質 ステロイド メトトレキサート L-アスパラギ ナーゼ イホスファミド
再活性化時期	3 M	3 M	4 M	5 M	11 M
HBV-DNA (Log IU/mL)	2.2	<2.1→2.3	<2.1 (+)	<2.1 (+)	6.4
Genotype	感度未満	C	感度未満	感度未満	C
PC 変異	感度未満	W : 100%	感度未満	感度未満	W : 100
CP 変異	感度未満	W : 100%	感度未満	感度未満	W : 100
AST, ALT (IU/L)	27, 37	34, 20	75,79	17,18	20, 42
Entecavir			未投与	未投与	投 与

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)。16 例中 5 例で genotype を同定可能で、4 例が C、1 例が Bj であった。また、プレコア変異は 9 例で同定でき、5 例が野生株優位、4 例が変異株優位であった。一方、コアプロモーター変異に関しては 6 例で同定が可能であり、4 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 2 例(症例⑩⑫)では、HBs 蛋白に escape 変異(⑩: 126M, 145G/Rmix, ⑫: 145A)も認められた。

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 copy/mL未満でエンテカビ

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 copy IU/mLまで上昇した症例⑮は、造血幹細胞移植後に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 copy/mL未満、増幅シグナル検出せずであった。

再活性化の誘因となった治療法は、生物製剤単独およびこれとメトトレキサートとの併用療法が3例(症例⑤⑫⑭)、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4例(症例⑦⑧⑪⑯)。しかし、副腎皮質ステロイドの単独療法で再活性化した症例が2例(症例④⑮)、メトトレキサートに単独療法による症例が1例見られた(症例⑬)。また、固形癌に対する化学療法の症例も2例存在した(症例⑨⑩)。

表4. HBV-DNAが検出された既往感染例のウイルス学的背景

症例	HBV-DNA (Log copy/mL)		HBs 抗体	HBc 抗体
	開始時	治療中最大値	(mIU/mL)	(S/CO)
①	+	+	0.47	11.42
②	+	+	132.1	6.18
③	+	+	14.2	11.40
④	+	2.2	0.58	6.72
⑤	+	2.8	1.69	7.13
⑥	+	+	ND	ND
⑦	-	+	4.45	12.26
⑧	-	+	28.5	9.36
⑨	-	+	ND	ND
⑩	-	2.6	84.3	6.27
⑪	-	+	4.62	6.24
⑫	-	2.2	0.84	1.68
⑬	-	2.3	5.67	8.99
⑭	-	+	44.2	6.48
⑮	-	+	<1.99	8.52
⑯	-	6.4	13.2	5.41

## (5) HBV-DNA陽性の既往感染例におけるウイルス指標の再検討

治療開始時ないし開始後の再活性化で血清HBV-DNAが検出された16例を対象に、登録時の血清を用いて、HBc抗体およびHBs抗体の力価を統一測定した(表4)。

これらには、HBc抗体価が10以上と高力価であり、キャリアでHBs抗原が陰性化したと考えられる症例が3例存在した(症例①③⑦)。しかし、HBVの再活性化は、HBc抗体が高力価の症例のみならず、低力価の症例でも観察された。また、HBs抗体が100 mIU/mL以上と高力価を呈しているも、血清HBV-DNAが検出された症例が存在した(症例②)。

なお、これら症例の保存血清を用いて、開発中の高感度HBs抗原測定系(名古屋市立大学)による計測を行ったところ、治療開始前にHBV-DNAが検出された6例のうち1例が陽性であった(症例①)。また、再活性化時の血清でも、HBs抗原が検出される症例が存在した(症例⑩)。

## 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、平成21年度は各診療科で倫理委員会の承認を得ることに時間を費やし、本格的な症例登録は平成22年3月以降に開始された。その後、約2年間で318例の解析可能な症例が登録され、キャリア36例、既往感染282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23例は血液ないし腫瘍内科領域で化学療法を、13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。これら症例は、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

よび肝炎の増悪は見られていない。インフリキシマブなど生物製剤の添付文書には、「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。また、抗リウマチ薬であるメトトレキサートは、HBVキャリアへの投与が原則的に禁忌となっている。このため、リウマチ・膠原病領域ではHBVキャリアに対して、生物製剤など免疫抑制薬を用いた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で、免疫抑制・化学療法は血清HBV-DNA量の上昇を来すことなく実施できることが明らかになってきた。エンテカビルはラミブジンに比して耐性変異を生じる頻度が低率であるが、変異株が発生した場合でもアデフォビルを投与することによって、HBV増殖を制御することは可能である。エンテカビルがfirst lineの薬物として利用されるようになった今日では、核酸アナログ製剤の予防投与によって、HBVキャリアに対する免疫抑制・化学療法を安全に実施できることは、理論的には十分想定されていた。本研究班の登録症例をより長期間に亘って観察し、そのエビデンスをより確固なものにすることが、今後の課題となる。

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2.1%(6/282)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。そこで、保存血清を用いて、HBs抗体およびHBc抗体の力価を統一測定したところ、HBc抗体価が10以上で高力価と判定される症例が認められた(症例①③)。なお、HBc抗体が高力価の症例は、治療後に再活性化した症例にも存在した(症例⑦)。従って、既往感染例と見なしている症例には、キャリアでHBs抗原が陰性化した症例も含まれている可能性があると考えられた。なお、血清HBV-DNAが検出された症例にはHBs抗体価が100 mIU/mLの高値を呈する症例も含まれていた

(症例②)。この症例では、escape 変異の可能性を更に追求する価値がある。

既往感染例における HBV 再活性化は 12 例で認められ、その頻度は 4.3%であった。治療開始前に血清 HBV-DNA が検出された症例も含めると、免疫抑制・化学療法実施中にウイルス血症が認められた症例は計 16 例で、その頻度は 5.7%であった。治療開始時に血清 HBV-DNA が検出された 6 例のうち 3 症例は登録前に治療歴があり、これらでは first line の治療中に HBV 再活性化が生じた可能性がある。従って、これら症例も含めるとリツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法で HBV 再活性化が生じる頻度は 4-5%に相当すると想定される。

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率であるということ以外にも、重要な知見がいくつか得られた。第一の知見は、HBV の再活性化が、免疫機構に大きな影響を与えると想定される多剤併用の免疫抑制・化学療法のみでなく、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ことである。本研究班では、プレドニソロン換算で 0.5 mg/Kg 以上を 2 週間以上に亘っ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。また、HBV 再活性化は食道癌、咽頭癌など固形癌に対する標準的な化学療法によっても発症した。従って、HBV の再活性化は、免疫抑制・化学療法を実施する全ての診療科において考慮する必要がある重大な問題と見なすべきである。

第二は、血清 HBV-DNA 量が 6.4 copy IU/mL まで上昇し、その後にエンテカビルが投与された症例(症例⑩)に関わる知見である。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、その後の測定で再活性化例と診断された。一般に HBe 抗体陽性例では血清 HBV-

DNA 量が 4.0 Log copy/mL 以上に上昇すると、肝炎を発症する可能性があるとされている。一方、本研究では、血清 HBV-DNA 量が 2.1 copy IU/mL 以上に上昇した時点で、エンテカビルによって治療介入するプロトコールを採用した。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、本研究では解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、肝炎発症のリスクの高い状況の再活性化も生じ得ることが判明した。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」による HBV 再活性化予防のガイドラインは有用であることが実証された。

第三の知見は、再活性化時におけるエンテカビルによる治療介入の時期として、「血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copy/mL 以上に上昇した時点」という指針が示されたことである。治療開始時ないしは再活性化時に、血清 HBV-DNA は 2.1 Log copy/mL 未満であるが「増幅シグナル検出」の症例は、計 14 例存在した。これらのうち、患者の希望でエンテカビルの投与を開始した 2 例(症例①⑥)を除き、12 例では未治療で経過を観察した。うち 8 例では血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copy/mL 以上に上昇せず、未治療で経過観察が続けられている。一方、4 例では血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copy/mL 以上になったが、何れも 3.0 Log copy/mL 未満でエンテカビル投与を開始することが可能であり、肝炎の発症は予防できた。従って、治療開始前ないしは HBV 再活性化時に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」を採用するのが妥当と考えられた。

以上、本研究で得られた知見をまとめると、表