

象とすることに決定したが、従来の診断基準との整合性を明らかにするため、「40%以下ないしはINRが1.5以上」と併記することにした。なお、INRが1.5以上の症例には肝性脳症を発症しない症例も多く含まれると想定される。このため、急性肝不全は「非昏睡型」と「昏睡型」に分類し、後者は従来の劇症肝炎と同様に初発症状出現から昏睡Ⅱ度以上の肝性脳症を発症するまでの期間が10日以内の「急性型」と11日以降56日以内の「亜急性型」に区分することとした。

急性肝不全の成因に関しては、acute-on-chronicに該当するアルコール性肝炎は除外することを注記に明記した。また、「非昏睡型」も病型として含めることになったため、肝炎像を伴わない症例も急性肝不全の範疇として扱うことになった。なお、先行する慢性肝疾患が存在する症例はアルコール性肝炎と同様に急性肝不全から除外するのが原則である。しかし、最近では脂肪性肝疾患など生活習慣病に起因する軽度の肝疾患を有する症例が増加していることから、「肝機能が正常と考えられる肝に肝障害が生じること」を急性肝不全の条件とした。このため、脂肪性肝疾患などの慢性肝疾患が認められる症例でも、先行する肝疾患が進展していて肝機能の低下が認められない限り、急性肝不全から除外しないこととした。さらに、自己免疫性症例では先行する慢性肝疾患の有無が不明の場合が多いため、肝障害を発症する前の肝機能の低下が明らかでない場合は、急性肝不全から除外する必要はないことも明記した。

また、劇症肝炎の類縁疾患としては、初発症状出現から昏睡Ⅱ度以上の肝性脳症を発症するまでの期間が8~24週の症例をLOHFとして扱うことを注記に記載した。LOHFの診断基準は、従来の劇症肝炎の診断基準における注記とほぼ一致しているが<sup>1)</sup>、プロトロンビン時間に関して40%以下とともに「INRが1.5以上」を併記した。今後、LOHFは成因に関しても、急性肝不全と同様に肝炎像を伴わない症例も含めて診断することになる。なお、急性肝不全に「非昏睡型」の病型を設定したため、劇症肝炎の診断基準では前駆病変として注記に加えていた急性肝炎重症型に関する記載は削除した。

以上の急性肝不全に関する診断基準の設定に伴って、成因の分類はTable 3のように変更した。診断に際しての混乱を避けるため、Table 4の下欄には「従来の劇症肝炎に相当する成因」と「急性肝不全として新たに加わった成因」を明記している。なお、各成因と診断す

るために用いる基準に関しては、今後、ワーキンググループで詳細を決定する予定である。

## 5. 結 語

我が国における急性肝不全の診断基準を新たに作成した。今後、成因診断に際して用いる具体的な指針を設定するとともに、新たな診断基準に準拠して集計された症例を基に、この基準の意義を再評価する予定である。

## 文 献

- 1) Fujiwara K, Mochida S, Matsui A, et al; Intractable Liver Diseases Study Group of Japan. Fulminant hepatitis and late onset hepatic failure in Japan. *Hepatology Res* 2008; 38: 646—657
- 2) Polson J, Lee WM. AASLD position paper: The management of acute liver failure. *Hepatology* 2005; 41: 1179—1197
- 3) 劇症肝炎の診断基準。A型肝炎、劇症肝炎：第12回犬山シンポジウム。中外医学社、東京、1982、p110—230
- 4) 持田 智、藤原研司。今月のテーマ「劇症肝炎、LOHFの現況」：我が国における劇症肝炎、LOHFの実態。日本消化器病学会雑誌 2002；99：895—904
- 5) 藤原研司、持田 智、松井 淳。劇症肝炎、遅発性肝不全(LOHF：late onset hepatic failure)の全国集計(2001年)。厚生労働省特定疾患「難治性の肝疾患に関する研究班」、平成14年度報告書。2003、p81—90
- 6) 持田 智、中山伸朗、森吉美穂、他。①劇症肝炎の診断基準：プロトロンビン時間の扱いに関する検討、②劇症肝炎、急性肝不全の概念の改変、③肝移植適応ガイドラインの改訂。厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成20年度報告書。2009、p16—18
- 7) 持田 智、中山伸朗、名越澄子、他。ワーキンググループ-1：研究報告書、①劇症肝炎の診断基準：プロトロンビン時間の扱いに関する検討、②劇症肝炎、急性肝不全の概念の改変、③肝移植適応ガイドラインの改訂。厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成21年度報告書。2010、p89—92
- 8) 持田 智、中山伸朗、名越澄子、他。ワーキンググループ-1：研究報告書、我が国における「急性肝不全」の概念、診断基準の確立。厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・

- 胆道疾患に関する調査研究班]平成 22 年度報告書. 2011. p91—94
- 9) 坪内博仁, 桶谷 真. 劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF : late onset hepatic failure) の全国集計 (2004 年). 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 17 年度報告書. 2006. p61—69
- 10) 坪内博仁, 桶谷 真, 井戸章雄, 他. 劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF : late onset hepatic failure) の全国集計 (2005 年). 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 18 年度報告書. 2007. p90—100
- 11) 坪内博仁, 桶谷 真, 井戸章雄, 他. 劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF : late onset hepatic failure) の全国集計 (2006 年). 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 19 年度報告書. 2008. p83—94
- 12) 坪内博仁, 桶谷 真, 井戸章雄, 他. 劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF : late onset hepatic failure) の全国集計 (2007 年). 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 20 年度報告書. 2009. p83—93
- 13) 坪内博仁, 桶谷 真, 井戸章雄, 他. 劇症肝炎及び遅発性肝不全 (LOHF : late onset hepatic failure) の全国集計 (2008 年). 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 21 年度報告書. 2010. p95—106

## &lt;症例報告&gt;

多剤耐性変異を認めた悪性リンパ腫合併 B 型慢性肝炎に対し  
テノフォビルが著効した一例

渡邊 網正<sup>1)</sup> 菅内 文中<sup>2)</sup> 楠本 茂<sup>3)</sup> 新海 登<sup>4)</sup> 飯尾 悦子<sup>1)4)</sup>  
 松浦健太郎<sup>4)</sup> 日下部篤宣<sup>4)</sup> 宮木 知克<sup>4)</sup> 野尻 俊輔<sup>4)</sup> 田中 靖人<sup>1)\*</sup>

要旨：症例は 33 歳男性。B 型肝炎無症候性キャリアの経過観察中に悪性リンパ腫を発症し、2001 年よりラミブジン (LVD) 投与が開始された。2005 年に breakthrough hepatitis を発症し、アデフォビル (ADV) 追加併用療法に移行した。2007 年にはエンテカビル (ETV) 単独治療へ変更された。2008 年、2 回目の breakthrough hepatitis と悪性リンパ腫の再発を認め、再度 LVD + ADV 併用療法に変更した。しかし、ALT 上昇とウイルス量高値が持続したため、耐性検査が実施された。L80I, L180M, A181T, T184I, M204I/V の変異を確認し、多剤耐性変異と判断した。倫理委員会承認のもと、テノフォビル (TDF) + LVD 併用療法を開始し、ウイルス量の低下と肝炎の改善が得られた。合併する悪性リンパ腫に対して、化学療法後に B 型肝炎キャリアである実兄から同種骨髄移植を施行した。移植後ドナー由来の野生株によるウイルス血症を呈したが、治療継続により改善した。今回、多剤耐性変異株、かつドナー由来の野生株ウイルスに対し、TDF が著効した症例を経験したため報告する。

索引用語： テノフォビル 多剤耐性変異 breakthrough hepatitis  
 B型慢性肝炎 同種骨髄移植

## はじめに

厚生労働省研究班が定めた平成 23 年度の B 型肝炎治療ガイドラインによれば、35 歳未満は drug free を目指す IFN を中心とした治療を基本とし、35 歳以上では HBV DNA の持続的陰性化および ALT 値の持続正常化を目指した核酸アナログ製剤の長期投与が基本となっている。さらに、HBe 抗原の有無と HBV DNA 量により、治療薬と治療期間の細分化を推奨している。わが国で B 型肝炎治療に保険認可されている核酸アナログ製剤は、2000 年に登場したラミブジン (lamivudine ; LVD)<sup>1)2)</sup>、2004 年のアデフォビル (adefovir dipivoxil ; ADV)<sup>3)4)</sup>、

2006 年にエンテカビル (entecavir ; ETV)<sup>5)6)</sup> が使用可能である。現在、核酸アナログ未使用例での第 1 選択薬は ETV が推奨され、今後の耐性変異出現は少数例と予測されるが<sup>7)</sup>、これまでの LVD 使用例や LVD 耐性変異出現に対する ADV 併用例も少なくない。今後は、これら各種核酸アナログ製剤の使用期間の長期化に伴い、多剤耐性ウイルスの出現が懸念される。

我々は、B 型肝炎を合併した悪性リンパ腫の治療経過中に、肝機能増悪と悪性リンパ腫の再発を呈し、早急な B 型肝炎ウイルス (HBV) コントロールを必要とする症例を経験した。耐性ウイルス検査の結果、LVD, ADV, ETV のいずれの薬剤にも耐性を有した多剤耐性株による breakthrough hepatitis (BTH) であったため、テノフォビル (tenofovir disoproxil fumarate ; TDF) を用いた rescue 療法を施行した。多剤耐性 HBV に対して TDF が奏功し、再発性悪性リンパ腫に対する全身化学療法および HBV キャリアをドナーとする同種骨髄移植が安全に施行できた 1 例を経験したので、HBV DNA 塩基配列の解析を加えて報告する。

- 1) 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学
- 2) 名古屋市厚生院附属病院消化器内科
- 3) 名古屋市立大学大学院医学研究科腫瘍・免疫内科学
- 4) 名古屋市立大学大学院医学研究科消化器・代謝内科学

\*Corresponding author: ytanaka@med.nagoya-cu.ac.jp  
 <受付日2011年8月22日><採択日2011年11月28日>

Table 1 Laboratory data on admission

<CBC>		<Blood chemistry>		<Virus markers>	
WBC	3590 / $\mu$ l	TP	6.8 g/dl	HBsAg	14000 COI
Neut	59 %	Alb	4.2 g/dl	(CLIA)	
Ly	31 %	T-Bil	0.5 mg/dl	HBsAb	0.5 mIU/ml
Mo	10 %	D-Bil	0.2 mg/dl	HBeAg	256 COI
Eo	1 %	AST	82 IU/L	HBeAb	0.1 %
Ba	0 %	ALT	122 IU/L	HBcAb	100 %
RBC	441 $\times$ 10 <sup>4</sup> / $\mu$ l	LDH	187 IU/L	HBV-DNA	6.5 log copies/ml
Hb	15.0 g/dl	ALP	230 IU/L	(RTD-PCR)	
Hct	43.1 %	$\gamma$ -GTP	49 IU/L	HBV Genotype	C
Plt	20.3 $\times$ 10 <sup>4</sup> / $\mu$ l	Ch-E	165 IU/L	(RFLP)	
		BUN	14 mg/dl	HBV precore	Wild type
		Creat	0.7 mg/dl	(PCR-ELMA)	
		AMY	50 IU/L	HBV core promoter	Mutant type
		T-Cho	154 mg/dl	(PCR-ELMA)	
		TG	69 mg/dl	HCV Ab 3rd	(-)
		Na	143 mEq/L		
		K	3.7 mEq/L	<Immunology>	
		CL	105 mEq/L	IgG	1026 mg/dl
		CRP	0.04 mg/dl	IgA	256 mg/dl
				IgM	120 mg/dl

## 症 例

患者：33 歳，男性。

現病歴：20 歳代に B 型慢性肝炎（無症候性キャリア）と診断され，経過観察されていた。2000 年に鼠径リンパ節腫脹をきっかけに悪性リンパ腫（ろ胞性リンパ腫）stage IV（節外病変として上咽頭と小腸浸潤あり）と診断された。HBV 合併を考慮して化学療法は施行せず，腫瘍量の制御目的に脾臓への局所放射線照射（計 28.8 Gy）が選択された。その後，2001 年 1 月に LDH の再上昇を認め，左腋窩リンパ節からの再生検によりびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫（diffuse large B-cell lymphoma：DLBCL）と診断された。B 型慢性肝炎は無症候性であったが，2001 年 2 月から LVD 100 mg/日を開始した後に，化学療法（CHO 療法）及び自家末梢血幹細胞移植を施行し，DLBCL は寛解維持となった。以降も LVD を継続服用していたが，2005 年 4 月に breakthrough hepatitis (BTH) を発症し（この時点での耐性ウイルス検査は未施行），LVD 継続投与のままに ADV 10 mg/日を追加した。LVD+ADV 併用療法により肝炎は鎮静化し，良好なウイルスコントロールを得ていたが，新規核酸アナログ剤である ETV の登場に伴い，2007

年 9 月に LVD+ADV 併用療法から ETV 0.5 mg/日の単独投与に治療変更された。2008 年 5 月に 2 回目の BTH を認め，さらに翌 6 月には急激なリンパ節腫大に伴う呼吸困難感が出現し，早急な HBV コントロールと再発 DLBCL に対するサルベージ治療目的で当院紹介となった。

既往歴：22 歳：アデノイド摘出術。

家族歴：母：B 型慢性肝炎，兄：B 型慢性肝炎（無症候性キャリア）。

生活歴：飲酒：なし，喫煙：なし。

入院時現症：身長 170 cm，体重 69 kg，血圧 111/64 mmHg，脈拍 81/分，意識清明，眼瞼結膜に貧血なし，眼球結膜に黄疸なし，左鎖骨上部から正中にかけて約 5 $\times$ 3 cm の一塊となった弾性硬なリンパ節を触知。頸部呼吸狭窄音聴取せず（ただし前屈姿勢で呼吸困難感出現あり），心音・呼吸音正常，腹部平坦，軟，圧痛なし，肝脾触知せず，羽ばたき振戦なし。

来院時検査所見（Table 1）：（2008.6.23 所見：LVD+ADV 併用療法前）血液検査にて AST 82 IU/L，ALT 122 IU/L，T-Bil 上昇なく，PT 92.0% と肝予備能は保持されていた。CLIA による HBs 抗原 14000 COI，HBe 抗原陽性，HBV DNA 6.5 log copies/ml と血中ウイルス

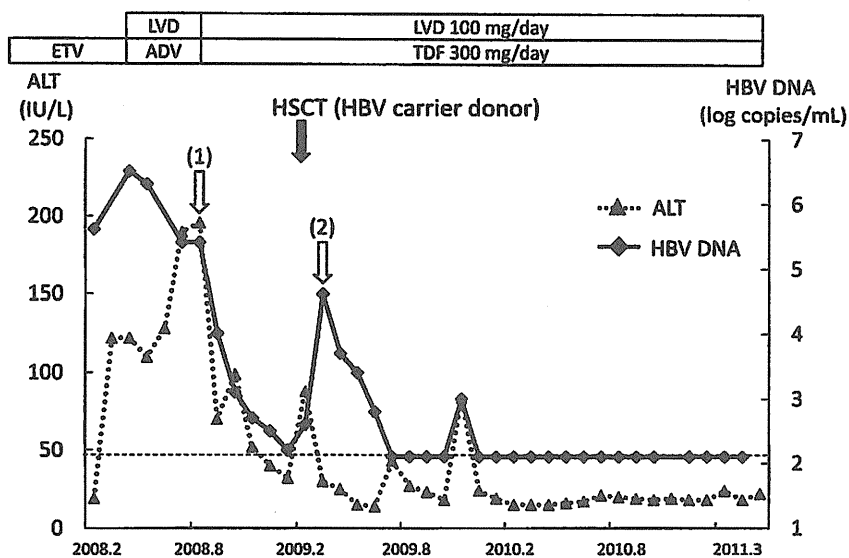


Fig. 1 HBV viral load dynamics (black diamond shapes) and course of ALT (black triangles) during different treatment (ETV: entecavir; LVD: lamivudine; ADV: adefovir; TDF: tenofovir). HSCT: Hematopoietic stem cell transplantation. Hollow arrows indicate sampling times for HBV polymerase gene sequence analysis (see also Fig. 2)

Table 2 Sequence mutations of prior TDF/LVD treatment regimens

	rt A domain		rt B domain				rt C domain		rt D domain	rt E domain	
	L80	I169	V173	L180	A181	T184	A194	S202	M204	N236	M250
LVD	I		L	M					I/V		
ADF					T					T	
ETV		T		M		I		G/C	I/V		I/V
TDF							T				

Gray areas indicated the existences of the mutations in this case.

量の増大を認めた。HBV precore (nt1896)/core promoter(nt1762/1764)は Wild/Mutant type であり, Genotype は C であった。

来院後経過 (Fig. 1) : 経過より ETV 耐性株出現による BTH を疑い, ETV 単独投与から再度 LVD 100mg/日 + ADV 10 mg/日の併用療法に変更した。LVD 耐性株に ETV を使用した場合, 高率に ETV 耐性株が出現すること, これまでに多剤使用歴を有することなどから, HBV DNA の逆転写酵素 (RT) 領域のアミノ酸配列を調べた。患者血清から抽出した HBV DNA を PCR

法にて増幅した後, INNO-LiPA HBV DR (ver 2 plus ver 3) と direct sequence 法およびクローニング法にてウイルス変異を決定した (Table 2)。LVD 耐性変異である L80I, L180M, M204I/V を有し, さらに ADV 耐性変異である A181T と ETV 耐性変異である L180M, T184I, M204I/V も存在した。なお, クローニングの結果, RT 領域 domain B と C の major クローン配列は L180M + A181T + M204I であり, minor クローンとして L180M + T184I + M204V が検出された。以上より, 多剤耐性 HBV 株による BTH と診断された。

Amino acid No.	71	80	84		120	
AB246345	NLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPAAMPHELLVGSGLPRYVARLSSTSR					
(1) 2008/08	-----I---M-----					
(2) 2009/02	-----					
Amino acid No.	121				170	
AB246345	NINYQHGTMQDLHDSCSRNLYVSLLLLYKTFGRKHLHLYSHPIILGFRKIP					
(1) 2008/08	-----					
(2) 2009/02	-----					
Amino acid No.	171	180	184	191	204	220
AB246345	MGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPCLAFSYMDDVVLGAKSVQHLESL					
(1) 2008/08	-----MT---I-----I-----Ψ-----					
(2) 2009/02	-----					
Amino acid No.	221	237		256	260	
AB246345	FTSITNELLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGCWGTL					
(1) 2008/08	-----T-----S----					
(2) 2009/02	-----S----					

Ψ: I/V mixed type

Fig. 2 Amino acid sequences alignment of HBV reverse transcriptase region at different times. The reference sequences indicate the amino acid sequences of HBV genotype C clone at GenBank accession number AB246345. The analyzed points are (1) at commencement of TDF/LVD (2008. 08) and (2) at 1 weeks after HSCT (2009. 02).

LVD+ADV 併用療法開始7週時点のALTは196IU/Lと高値を維持し、またHBV DNAは5.4 log copies/mlと1 log程度の減少に留まっていた。一方、B型肝炎に対する治療継続中も呼吸困難感の改善を認めないことから、再発DLBCLに対する可及的速やかな化学療法導入が必要不可欠であった。したがって、当院倫理委員会承認のもと、8月12日よりADVに変えてTDF 300 mg/日の投与を開始した。TDF+LVD併用療法の開始後より速やかなHBV DNA量の低下と肝機能の改善を認め、DLBCLに対するサルベージ療法である化学療法(R-DeVIC療法を3コース)と放射線療法(限局的照射野として上縦隔、左鎖骨窩、左頸部へ、total 24 Gy照射)を速やかに施行することができた。年齢も若く、また実兄のHLAが一致していたため、引き続き同種骨髄移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: allo-HSCT)が検討された。しかし、同胞である兄も同様にHBV無症候性キャリアであり、さらに血中HBV DNA量は8.8 log copies/ml以上と高値を示していた。移植ドナーとしては抗ウイルス剤使用によるウイルス量の低下を推奨したが<sup>5)</sup>、ドナー本人から投与期間

の明確でない核酸アナログ治療に対する同意が得られなかった。したがって、ドナー感染HBVに薬剤耐性変異がないことを確認した後に、ウイルス量高値のまま2009年2月にallo-HSCTが行われた。HSCT施行後に血中ウイルス量の上昇と肝酵素の上昇を認めたが、HBV DNA塩基配列解析より当初レシピエントで認めた多剤耐性変異株は検出されず、ドナー由来のHBV野生株による再感染が原因と考えられた(Fig. 2)。HBV野生株であればTDF+LVD併用療法が十分に効果を有すると考え、TDF+LVD併用療法が継続された。その後、血中ウイルス量はすみやかに低下し、以降BTHの再燃なく現在まで経過し、さらにHSCT後2年6カ月時点でDLBCLは完全寛解を維持している。

#### 考 察

平成23年度のわが国のガイドラインでは、初回治療例へのETV投与、およびLVD投与例でもHBV DNA感度未満の場合はETVへの切り替えが推奨されている。しかし、ETV切り替え例には微量のLVD耐性ウイルスを有する症例も存在し、長期投与によるETV耐性出

現の可能性は否定できない。また、LVD 耐性例に対する ADV 併用療法の抗ウイルス効果は概ね良好であるが、一部の症例では治療効果が低く、投与期間の長期化により少数例ながら多剤耐性変異の出現が予測される。ガイドラインによれば、LVD、ADV、ETV のいずれの薬剤にも耐性株が出現した場合は、ETV+ADV 併用療法あるいは TDF を推奨している。しかしながら、わが国では TDF は B 型慢性肝炎に対する保険認可が無く、TDF 使用症例の蓄積が乏しいため、現時点では TDF の有効性に関する一般的な見解はない。

TDF は ADV と類似した構造を有し、野生株ないし LVD 変異株に対する *in vitro* での抗ウイルス効果は同程度とされている<sup>9)</sup>。一方、TDF は ADV に比較して腎障害の発生頻度が低く、ADV の 30 倍量の投与が可能であり<sup>10)</sup>、優れた抗ウイルス効果を発揮することが期待されている。実際、ADV 単独投与との二重盲検試験による治療成績では、TDF 単独 48 週投与による HBe 抗原陽性例と HBe 抗原陰性例における HBV DNA 陰性化率は 76%、93% であり、ADV 単独療法の成績を有意に上回るものであった<sup>10)</sup>。また、TDF 耐性発現については 3 年間の継続投与で 0% と報告されている<sup>11)</sup>。

さらに海外から、LVD と ADV の両薬剤耐性ウイルスに対する TDF を用いた治療がいくつか報告されている。Choe らは、LVD+ADV 併用療法中の virologic breakthrough ないし治療反応不良を示した B 型肝炎硬変 6 例に対して TDF+LVD 併用療法を行ったところ、6 例中 5 例では rt181 や rt236 の ADV 耐性変異が確認されていたが、全例が 12 カ月以内に HBV DNA が感度以下となり、TDF が有効であったと報告している<sup>12)</sup>。また、Bommel らの報告では、LVD、ADV 使用 131 例に対して平均 23 カ月の TDF 単独治療を行ったところ、1 例も virologic breakthrough を認めず、79% が HBV DNA 感度以下に低下した。興味深いことに、LVD 耐性変異に対する TDF 治療効果は良好であったが、ADV 耐性変異に対する TDF 治療効果は減弱する (HBV DNA 感度以下の割合は、LVD 耐性変異例が 100% に対して、ADV 耐性変異例では 52%) ことが報告されている<sup>13)</sup>。一方、Patterson らは、LVD 治療不応かつ ADV 治療反応不良の 60 例に対して、前治療が ADV 単独治療例は TDF 単独投与、ADV+LVD 併用例は TDF+LVD 併用投与とし、さらに TDF 単独 24 週投与における反応不良例は TDF+LVD 併用に移行する前向き検討を実施している。結果は 48 週後に 46%、96 週後に 64% が HBV DNA 感度以下に低下し、また TDF 使用前の LVD 耐性

変異 rt204 と ADV 耐性変異 rt181 や rt236 による治療効果への影響はなかったと報告している<sup>14)</sup>。

これらの報告は、多剤耐性症例に対して TDF が有効であることを示すとともに、ADV 耐性変異出現例では TDF 単独投与による治療効果が減弱する可能性があることを示唆している。したがって、ADV 耐性を既に有していた今回の症例では、TDF 単独投与ではなく TDF+LVD 併用療法が選択された。

当症例は、ETV の登場に伴い、それまで経過良好であった LVD+ADV 併用療法から ETV 単独投与に治療変更された。ETV 投与開始時点で耐性ウイルス検査は行われていないが、LVD 治療中に発生した BTH のエピソードから、LVD 耐性変異が既に存在することが予測される。LVD 耐性変異獲得例における ETV の genetic barrier は低く、容易に ETV 耐性変異を獲得することが理解されるが、ETV 発売当初はまだこのことが周知されておらず、服薬コンプライアンスおよび naïve 症例に対する強力な抗ウイルス効果のみを優先した ETV 単独療法への変更が一部で行われていた。現在の認識では LVD 耐性獲得症例には ADV add-on 治療が原則であるが、当時の状況を考えると当症例のごとく ETV 単独への切り替え症例が少なからず存在することが予測され、今後は多剤耐性変異ウイルスの出現が危惧される。

また、合併する悪性リンパ腫に対して、HBV キャリアをドナーとした HSCT が実施された。HBV 陽性ドナーからの骨髄移植では、HBV が高率にレシピエントに感染するため、通常はドナーに対する核酸アナログによるウイルスコントロールとレシピエントに対する HBV ワクチン投与が推奨されている<sup>9)</sup>。しかしながら、当ケースでは移植前のウイルスコントロールに対するドナーの同意が得られず、さらにレシピエントは既に HBV 感染が成立していることから、いずれの予防的処置も行うことはなかった。実際、移植後に一過性のウイルス量増加を認めたが、感染したウイルスはドナー由来の野生株であり、継続する TDF+LVD 併用療法により良好な経過を示した。我々が調べた限りでは、異なる HBV 株の重複感染に対する核酸アナログ製剤の予防効果についての報告は少なく、その頻度は不明であるが、もし重複感染が成立した場合でも耐性変異がない薬剤を選択することにより HBV の増殖は抑制可能で、重篤な肝炎を併発する危険性は少ないことが予測される。

## 結 語

LVD, ADV, ETV のいずれにも耐性を示す多剤耐性変異出現例による BTH を発症した悪性リンパ腫合併 B 型慢性肝炎に対して, TDF が著効した一例を経験した. 今後, わが国でも核酸アナログ製剤投与の長期化に伴い, 多剤耐性変異を有する症例の出現が予測されることから, HBV に対する TDF 保険承認が待たれる.

謝辞: 臨床データをご提供いただいた, 愛知県立がんセンター血液・細胞療法部 田地浩史先生に深謝いたします.

## 文 献

- 1) Lai CL, Chien RN, Leung NW, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 61—68
- 2) Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, et al. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology* 2003; 124: 105—117
- 3) Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003; 348: 800—807
- 4) Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003; 348: 808—816
- 5) 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—1010
- 6) 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—1020
- 7) Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterology* 2009; 137: 1593—1608 e1-2
- 8) Yeo W, Johnson PJ. Diagnosis, prevention and management of hepatitis B virus reactivation during anticancer therapy. *Hepatology* 2006; 43: 209—220
- 9) Ying C, De Clercq E, Nicholson W, et al. Inhibition of the replication of the DNA polymerase M550V mutation variant of human hepatitis B virus by adefovir, tenofovir, L-FMAU, DAPD, penciclovir and lobucavir. *J Viral Hepat* 2000; 7: 161—165
- 10) Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, et al. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2008; 359: 2442—2455
- 11) Heathcote EJ, Marcellin P, Buti M, et al. Three-year efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate treatment for chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2011; 140: 132—143
- 12) Choe WH, Kwon SY, Kim BK, et al. Tenofovir plus lamivudine as rescue therapy for adefovir-resistant chronic hepatitis B in hepatitis B e antigen-positive patients with liver cirrhosis. *Liver Int* 2008; 28: 814—820
- 13) van Bommel F, de Man RA, Wedemeyer H, et al. Long-term efficacy of tenofovir monotherapy for hepatitis B virus-monoinfected patients after failure of nucleoside/nucleotide analogues. *Hepatology* 2010; 51: 73—80
- 14) Patterson SJ, George J, Strasser SI, et al. Tenofovir disoproxil fumarate rescue therapy following failure of both lamivudine and adefovir dipivoxil in chronic hepatitis B. *Gut* 2011; 60: 247—254



## A case report of successful therapy with tenofovir for a multi-drug resistant chronic hepatitis B patient complicated with malignant lymphoma

Tsunamasa Watanabe<sup>1)</sup>, Fuminaka Sugauchi<sup>2)</sup>, Shigeru Kusumoto<sup>3)</sup>, Noboru Shinkai<sup>4)</sup>,  
Etsuko Iio<sup>1)4)</sup>, Kentarou Matsuura<sup>4)</sup>, Atsunori Kusakabe<sup>4)</sup>, Tomokatsu Miyaki<sup>1)</sup>,  
Syunsuke Nojiri<sup>1)</sup>, Yasuhito Tanaka<sup>1)\*</sup>

A 33-year-old man who diagnosed with malignant lymphoma was treated with lamivudine (LVD) for chronic hepatitis B in 2001. Because he experienced the first breakthrough hepatitis in 2005, adefovir (ADV) was added to the LVD regimen for dual therapy. In September 2007, LVD plus ADV combination therapy was replaced by entecavir (ETV) monotherapy. Eight months later, in May 2008, hepatitis B virus (HBV) DNA level elevated, followed by the second breakthrough hepatitis. After then, switching from ETV to LVD plus ADV could not suppress HBV-DNA level and ALT flare because sequencing analysis showed the evidence of multiple drug resistance with L80I, L180M, A181T, T184I and M204I/V mutations. In this case, after getting the approval of the ethical committee, we applied him the combination therapy with LVD and tenofovir (TDF), that decreased the serum HBV DNA and ALT concentration within a few months and obtained the complete remission of malignant lymphoma by allogeneic bone marrow transplantation.

**Key words:** tenofovir multi-drug resistant mutation breakthrough hepatitis  
chronic hepatitis B allogeneic bone marrow transplantation

*Kanzo* 2012; 53: 35—41

---

1) Department of Virology & Liver Unit, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

2) Department of Gastroenterology, Nagoya City Koseiin Medcial Welfare Center

3) Department of Medical Oncology and Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

4) Department of Gastroenterology and Metabolism, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

\*Corresponding author: ytanaka@med.nagoya-cu.ac.jp

## de novo肝炎とは?

楠本 茂・田中靖人\*

名古屋市立大学大学院医学研究科腫瘍・免疫内科学・\*同 病態医学, 肝疾患センター/くすもと・しげる たなか・やすひと

### はじめに●

de novo肝炎の多くは, B型肝炎ウイルス(HBV)の再活性化のことを指すことが多く, 臨床的に治癒していると思われたHBs抗原陰性例においてHBVが再び増殖し, 肝炎を引き起こす病態をいう。歴史的にはHBs抗原陰性かつHBe抗体陽性のドナーから生体肝移植を受けたレシピエントからB型肝炎が発症したことから注目され, その後造血幹細胞移植例においても報告されてきた。最近になり, 造血器腫瘍に対する癌化学療法や自己免疫疾患に対する免疫抑制療法後にHBV再活性化が起り, 一部の症例においては劇症肝炎に至り, 致命的な経過をたどることが報告されている。本稿においては, de novo肝炎とはHBs抗原陰性例からのHBV再活性化として扱い, 日常診療において遭遇する頻度が高い, 癌化学療法あるいは免疫抑制療法を受ける場合における, HBV再活性化の病態生理, 発症リスクおよび対策法についてエビデンスをまとめた。

### HBV感染とde novo肝炎の病態生理●

ヒトの成人感染例の大半において, HBVは急性感染の経過をたどる。チンパンジーにおける感染実験によると, まずHBV-DNAが血液中出现し, その約5週間後からHBs抗原が血中で検出される。急性B型肝炎を発症して一定期間が経過するとHBs抗原の陰性化に続いて, HBs抗体が血液中出现し, HBV-DNAも検出感度以下の状態となる。通常, この状態においては何らかの介入がない限り, HBV-DNAは増加することはないため, 「既往感染」あるいは「治癒」とみなされ, HBe抗体陽性and/or HBs抗体陽性である。しかしながら, この既往感染状態の症例において, 癌化学療法あるいは免疫抑制療法後にHBV-DNA量が増加し, B型肝炎を発症(HBV再活性化)することが報告されてきた<sup>1~4)</sup>。

HBVは, 急性B型肝炎の発症から数週~数年

が経過し, HBs抗体が出現した後も, 肝臓や末梢血単核球中に存在している。そのため, HBV曝露歴のある患者では, 癌化学療法などによる免疫抑制時にHBVが再増殖・再活性化するリスクを常に有していると考えられる。癌化学療法による免疫抑制状態において, HBVは増加しやすい状況にあって, 多くの肝細胞に感染するが, それに引き続く免疫抑制状態からの回復に伴い, 異物と認識されるHBVは免疫担当細胞により攻撃される。その結果, HBVが感染している肝細胞は傷害され, 肝炎(肝機能障害)を発症する。

これまでの報告をまとめると, 癌化学療法後のHBV再活性化の臨床経過の特徴として, 以下の3点があげられる<sup>1~4)</sup>。

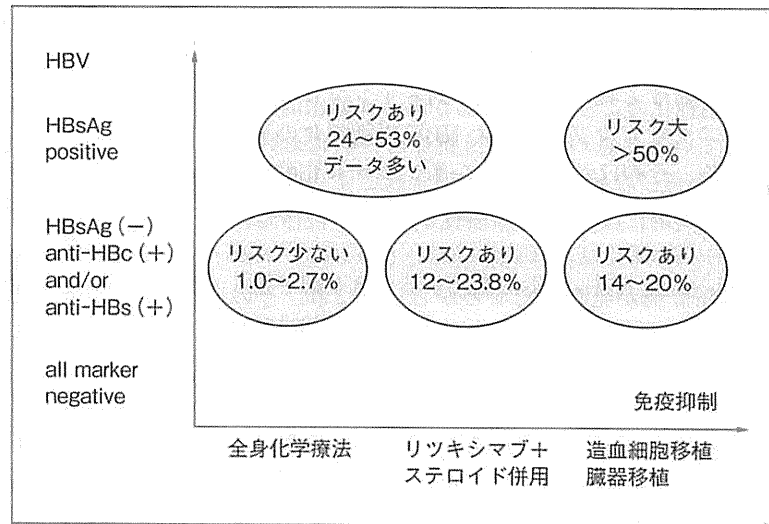
- 1) 多くは癌化学療法後に肝炎が発症する。ただし, ウイルス量が多いHBs抗原陽性例や, HBs抗原陰性例のうち血液中にHBV-DNAが検出される例においては, 化学療法開始後早期に肝炎を発症する場合がある。
- 2) 肝炎の発症に先行して, 血液中のHBV-DNA増加が認められる。
- 3) これまでの報告の大半がHBs抗原陽性例からのHBV再活性化であったが, HBs抗原陰性例の一部(既往感染例; HBe抗体陽性and/or HBs抗体陽性)においてもHBV再活性化が認められる。

### B型肝炎ウイルス再活性化のリスク●

慢性B型肝炎と同様, HBV再活性化のリスクはHBVの増殖と宿主の免疫応答のバランスに依存している。すなわち, HBV再活性化の頻度とリスクは, 癌化学療法前のHBV感染状態と癌化学療法に伴う宿主の免疫抑制状態によって大きく異なる。前者のHBV感染状態を示す治療前HBV関連マーカー(HBs抗原, HBe抗原, HBe抗体およびHBs抗体)の有無やHBV-DNA量が関連すると報告されている。また, 後者の宿主免疫抑制

- *de novo* 肝炎とは、HBs 抗原陰性例からの B 型肝炎ウイルス (HBV) 再活性化を指す。
- 癌化学療法後の HBV 再活性化の多くは癌化学療法後に肝炎が発症する。
- 肝炎に先行して、血液中の HBV-DNA 増加が認められる。

図 1 HBV 再活性化の頻度とリスク



状態と関連するものとして、ステロイド併用化学療法、造血幹細胞移植(同種>自家)、臓器移植および悪性リンパ腫であることが報告されてきた。最近、リツキシマブ+ステロイド併用化学療法が HBs 抗原陰性悪性リンパ腫治療後の HBV 再活性化リスク因子であることが報告された<sup>2)</sup>。これらの報告をもとに、HBV 再活性化のリスク分類をまとめた<sup>4)</sup>(図 1)。なお、生体肝移植の設定は、今回のリスク分類からは割愛させていただいた。

HBs 抗原陽性例からの HBV 再活性化のデータは多数あり、前方視的臨床研究による質の高いエビデンスも存在し、その頻度は 24~53% と報告されている。

一方、HBs 抗原陰性例は、その発症頻度の低さから臨床データに乏しく、HBV 再活性化ハイリスク例とは認識されてこなかった。Lok らの報告では、HBs 抗原陰性例における HBV 再活性化割合は 2.7% (2/72 例) であり、HBs 抗原陽性例の 48% (13/27 例) に比して低いことが報告されている。しかしながら、抗 CD20 モノクローナル抗体であるリツキシマブが臨床導入されて以降、2001 年の Dervite らによる報告<sup>1)</sup>をはじめとし

て、HBs 抗原陰性悪性リンパ腫例において、HBV 再活性化による肝炎の発症が症例報告として散発的に報告されるようになった。2006 年に Hui らは、HBs 抗原陰性の悪性リンパ腫 244 例に化学療法を施行し、HBV 再活性化による肝炎を 8 例(3.3%)に認め、8 例全例で HBc 抗体陽性または HBs 抗体陽性であったと報告した<sup>2)</sup>。また、肝炎発症頻度はリツキシマブ+ステロイド併用化学療法レジメン群では 12.2% (6/49 例) に対し、それ以外のレジメン群では 1.0% (2/195 例) であり、多変量解析の結果、リツキシマブ+ステロイド併用化学療法がリスクファクターであることを示した。また、2009 年に Yeo らは、HBs 抗原陰性の悪性リンパ腫(全例がびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫) 80 例に対し、CHOP あるいは R-CHOP (R: リツキシマブ) 療法を施行し、5 例(6.25%)の HBV 再活性化を認めたことを報告した<sup>3)</sup>。5 例とも HBc 抗体陽性例で、かつ R-CHOP 療法を受けていたことから、既往感染例かつ R-CHOP 施行例に限ると 23.8% (5/21 例) の再活性化リスクであった。

症例報告レベルが大半であるが、リツキシマブ

- HBV 再活性化のリスクは HBV 増殖と宿主の免疫応答のバランスに依存する。
- リツキシマブ+ステロイド併用化学療法は *de novo* 肝炎のリスクファクターである。
- 悪性リンパ腫だけでなく、自己免疫疾患および固形腫瘍の治療においても、*de novo* 肝炎は注意を要する。

以外の治療例において、HBs 抗原陰性例からの HBV 再活性化の報告がなされている。関節リウマチに対する抗 TNF 製剤であるインフリキシマブ、アダリムマブ治療中の HBV 再活性化の報告がある。そのほか、ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬であるロミデプシン治療中の報告がある。

#### *de novo* 肝炎に関連するリスク因子と

##### 臨床的特徴

前述したように、Hui らは、HBs 抗原陰性悪性リンパ腫例における HBV 再活性化リスク因子として、リツキシマブ+ステロイド併用化学療法であることを報告した<sup>2)</sup>。また、Yeo らは男性、診断時の HBs 抗体陰性、およびリツキシマブ併用化学療法をリスク因子として報告した<sup>3)</sup>。

リツキシマブ併用化学療法や造血幹細胞移植療法後の HBV 再活性化例において、中和抗体である HBs 抗体の力価の低下が再活性化と関連していることが報告されている。さらに造血幹細胞移植には自家および同種移植があるが、いずれにおいても免疫の再構築が起こるため、HBV 再活性化との関連が数多く報告されている。特に急性および慢性の移植片対宿主病(GVHD)の発症やその治療薬であるステロイドや免疫抑制薬を併用する同種移植例においては免疫の再構築が遅延することがあり、移植後数年経過しても HBV 再活性化が起こりうることに留意する必要がある。

また、癌化学療法前において、HBs 抗原陰性にもかかわらず、血液中に HBV-DNA が検出される状態(occult infection: 潜伏感染例)が報告されており、HBs 抗原陽性例と同様に、再活性化リスクは高いと考えられている<sup>4)</sup>。

わが国における、リツキシマブ投与後の重篤な B 型肝炎発症例が 111 例収集されており、そのうち 50 例が HBs 抗原陰性例からの発症であり、その要約を以下に示す<sup>4)</sup>。

1) 50 例のうち、HBc 抗体および HBs 抗体が

測定されていたのは 11 例のみであった。HBc 抗体は全例で陽性であったのに対し、HBs 抗体は 4 例で陽性であった。

2) R-CHOP 療法での発症は 40 例と大半を占め、CHO (P) やクラドリピンなどステロイドを含まないレジメンで 4 例、自家造血幹細胞移植で 3 例が発症していた。

3) 劇症肝炎に至ったのは 50 例中 20 例(40%)、死亡は 50 例中 25 例(50%)であった。HBs 抗原陽性 47 例における劇症肝炎割合、死亡割合がそれぞれ 21.3%、27.7% であったのと比較すると、HBs 抗原陰性例の予後は不良であった。

4) リツキシマブもしくは化学療法最終から肝炎発症までの期間中央値は約 2 ヶ月であり、遅発例としては 8.5 ヶ月が最長であった。肝炎発症の大半は化学療法完了後であった。

また、名古屋市立大学病院受診患者の輸血前検査データによると、2005～2006 年の 2 年間 3,874 検体において、HBs 抗原陽性例は 1.5%、既往感染(HBc 抗体陽性 and/or HBs 抗体陽性)例は 23.2% であった。すなわち、わが国においては、従来ハイリスク群であった HBs 抗原陽性例に比べて、10 倍以上の症例を対象として HBV 再活性化対策を講じる必要がある。

癌化学療法および免疫抑制療法開始前のスクリーニング検査として HBs 抗原だけでなく、HBc 抗体および HBs 抗体の測定が重要であり、いずれか陽性の場合には HBV-DNA 定量検査を追加し、HBV 再活性化リスクを判断する<sup>4, 5)</sup>。ただし、すでに初回治療が施行されている場合には、癌化学療法・免疫抑制療法によって抗体価が低下し、既往感染と判別できない例が存在することに留意する必要がある。また、HBs 抗原陰性例の再活性化の大半が HBc 抗体陽性例であるが、HBc 抗体陰性かつ HBs 抗体陽性(HBs 抗体単陽性)からの再活性化が報告されている<sup>2)</sup>ことから HBc 抗体のみによる既往感染の判断には注意

- スクリーニング検査として、HBs 抗原に加えて、HBc 抗体および HBs 抗体の測定は必須である。
- HBs 抗原陽性例あるいは HBV-DNA 陽性例は抗ウイルス薬の予防投与を行う。
- HBc 抗体陽性 and/or HBs 抗体陽性例においては、月 1 回の HBV-DNA モニタリングを行う。

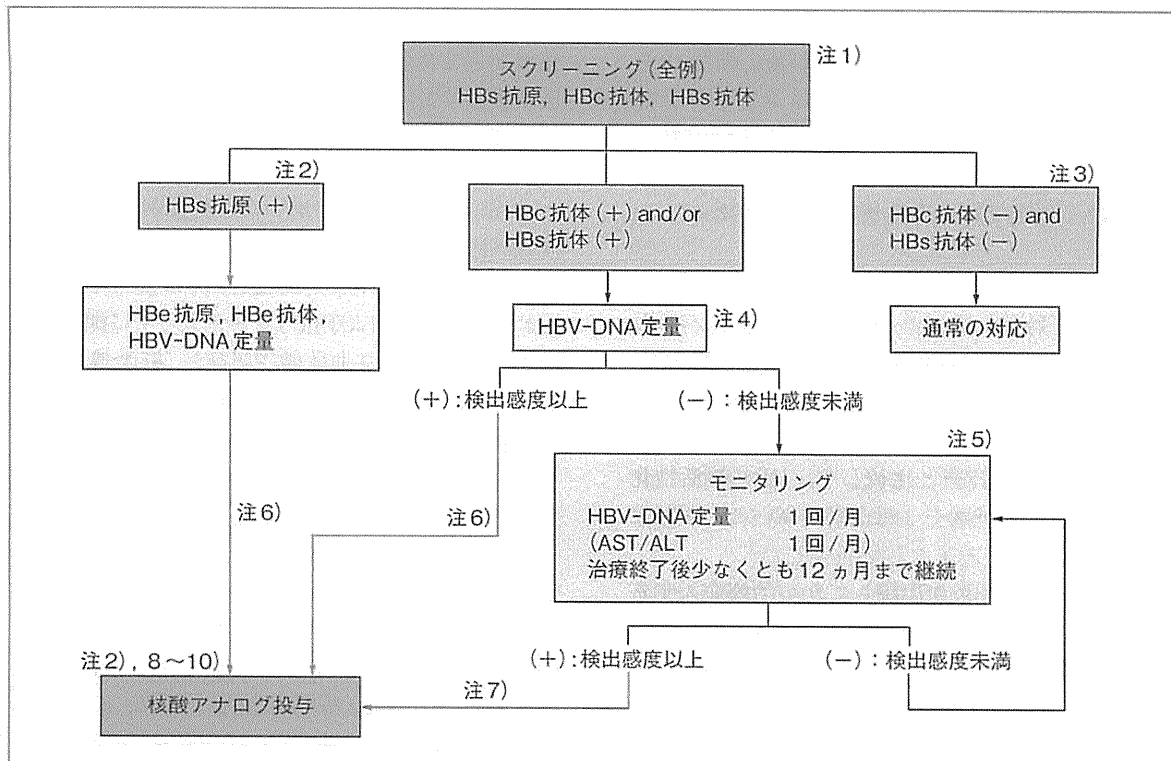


図2 免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策ガイドライン

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

注1) CLIA 法で測定することが望ましい。

注2) 治療にあたっては肝臓専門医にコンサルトするのが望ましい。

注3) 初回治療時に HBc 抗体、HBs 抗体未測定の場合には抗体価が低下している場合があり、HBV-DNA 定量検査などによる精査が望ましい。

注4) PCR 法およびリアルタイム PCR 法により実施する。より検出感度の高いリアルタイム PCR 法が望ましい。

注5) リッキシマブ・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ヵ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ヵ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。

(文献 5)より引用)

- HBV再活性化による肝炎・肝障害が出現してからの抗ウイルス薬投与では間に合わない場合がある。
- 通常のB型肝炎と比較して、HBV再活性化例では劇症化率、死亡率ともに高い。
- 厚生労働省研究班による免疫抑制・化学療法に伴うB型肝炎対策ガイドラインが発表された。

が必要である。この点については、HBVワクチン接種歴の有無と併せて判断することが重要である。

#### 癌化学療法・免疫抑制療法中の HBV再活性化対策

HBV再活性化による肝炎・肝障害が出現してからの抗ウイルス薬投与開始では対策として十分でない可能性がある。Yeoらは、32例のHBV再活性化例に対し、抗ウイルス薬(ラミブジン)投与を行ったところ、5例(16%)は死亡、22例(69%)は癌化学療法を中止もしくは中断せざるを得なかったことを報告した。また、わが国においても通常の急性B型肝炎と比較して、HBV再活性化例では劇症化率が高く、死亡率も高いことが報告されている。

したがって、肝炎が出現してから治療介入するのではなく、あらかじめハイリスク群を同定し、肝炎が出現する前に抗ウイルス療法を開始する必要がある<sup>4)</sup>。現時点での対策の選択肢として、①抗ウイルス薬の予防投与(prophylaxis)、あるいは、②肝炎に先行するHBV-DNA上昇をモニタリングし、陽性化した時点で抗ウイルス薬を投与する(preemptive therapy)が考えられる。

2009年1月、厚生労働省研究班による免疫抑制・化学療法に伴うB型肝炎対策ガイドラインが発表された<sup>5)</sup>(図2)。詳細はガイドラインに譲るが、HBs抗原陽性例に対する化学療法時には抗ウイルス薬の予防投与を行うことが原則である。一方、HBs抗原陰性ハイリスク群(HBc抗体陽性and/or HBs抗体陽性)に対しては、HBV-DNAモニタリング(月1回、化学療法中および化学療法終了後少なくとも1年間)を行い、肝炎に先行するHBV-DNAの上昇をとらえて、陽性化した時点で抗ウイルス薬の投与を開始する(図2)。なお、図2は鹿児島大学 坪内博仁教授の御厚意

により掲載させていただいた。

#### おわりに

癌化学療法・免疫抑制療法後の*de novo* B型肝炎の病態生理、臨床経過の特徴および対策についてまとめた。HBV-DNAモニタリングによる対策に関し、質の高いエビデンスは限られており、現時点においては、既往感染例におけるHBV-DNA定量検査および抗ウイルス薬ともに保険適応はない。現在、厚生労働省研究班(肝炎等克服緊急対策研究事業:UMIN000001299)により、未治療CD20陽性B細胞性リンパ腫を対象とし、リツキシマブ+ステロイド併用化学療法中のHBs抗原陰性ハイリスク群に対するHBV-DNAモニタリングの有効性を検証するための多施設共同臨床研究が進行中である。

#### 文 献

- 1) Dervite, I. et al.: Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N Engl J Med* 344: 68-69, 2001
- 2) Hui, C.K. et al.: Kinetics and risk of *de novo* hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology* 131: 59-68, 2006
- 3) Yeo, W. et al.: Hepatitis B virus reactivation in lymphoma patients with prior resolved hepatitis B undergoing anticancer therapy with or without rituximab. *J Clin Oncol* 27: 605-611, 2009
- 4) Kusumoto, S. et al.: Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma. *Int J Hematol* 90: 13-23, 2009
- 5) 坪内博仁ほか: 免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策: 厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究」班合同報告. *肝臓* 50: 38-42, 2009

<速報>

## B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ療法による HBs 抗原消失と その関連因子の検討

保坂 哲也<sup>1)\*</sup> 鈴木 文孝<sup>1)</sup> 小林 正宏<sup>1)</sup> 瀬古 裕也<sup>1)</sup> 今井 則博<sup>1)</sup>  
 平川 美晴<sup>1)</sup> 川村 祐介<sup>1)</sup> 瀬崎ひとみ<sup>1)</sup> 芥田 憲夫<sup>1)</sup> 鈴木 義之<sup>1)</sup>  
 斎藤 聡<sup>1)</sup> 荒瀬 康司<sup>1)</sup> 池田 健次<sup>1)</sup> 小林万利子<sup>2)</sup> 熊田 博光<sup>1)</sup>

緒言：B 型肝炎に対する核酸アナログ療法の有効性は広く知られており、経過観察期間が長くなるにつれ、B 型肝炎治療の最終目標である HBs 抗原 (HBsAg) 消失を得られる症例も散見されている。本邦及び海外からいくつかの報告もあるが<sup>1)~4)</sup>、いまだ長期に渡る核酸アナログ使用例での報告はない。今回我々は長期間の核酸アナログ治療による HBsAg 消失とその関連因子について検討した。

肝疾患に対して、ラミブジン単独投与を開始した 769 例を対象とした。これら全ての症例で 6 カ月以上の HBV 持続感染を確認した。核酸アナログ投与内容の内訳はラミブジン単独投与継続 306 例、ラミブジン投与開始後耐性ウイルス出現に対してラミブジン+アデフォビル併用を行った症例 297 例、ラミブジン→エンテカビルへの切り替え症例 166 例であった。これらの症例のうち、何らかの理由で投与中止した症例は 46 例存在し、それ以外の症例はすべて継続投与を行った。HBsAg 測定は CLIA 法 (ARCHITECT® HBsAg QT) を用いた。

対象と方法：1995 年～2006 年までに当院で B 型慢性

**Table** Factors associated with HBsAg clearance by univariate and multivariate analysis.

factors	Univariate		Multivariate	
	Hazard Ratio (95%CI)	P	Hazard Ratio (95%CI)	P
Age (≥50yr)	0.94 (0.48-1.89)	0.865		
Gender (F)	0.59 (0.21-1.68)	0.323		
Family history of HBV infection	<b>0.43 (0.22-0.84)</b>	<b>0.014</b>		
Presence of cirrhosis	0.79 (0.56-1.12)	0.192		
Previous IFN therapy	<b>2.70 (1.31-5.59)</b>	<b>0.007</b>	<b>2.96 (1.34-6.54)</b>	<b>0.008</b>
HBV genotype (A)	<b>3.39 (2.27-5.08)</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>3.64 (2.40-5.52)</b>	<b>&lt;0.0001</b>
HBeAg (positive)	1.23 (0.61-2.48)	0.563		
HBV DNA (≥6.0 logcopies/mL)	1.20 (0.52-2.78)	0.674		
HBsAg (<2000 IU/mL)	1.40 (0.70-2.80)	0.346		
ALT (≥300 IU/L)	<b>1.47 (1.02-2.11)</b>	<b>0.040</b>		
Platelets count (<1.2 × 10 <sup>5</sup> /mm <sup>3</sup> )	0.91 (0.34-2.43)	0.123		
<i>Treatment response at 6 months</i>				
HBeAg positive → clearance	<b>3.15 (1.49-6.66)</b>	<b>0.003</b>	<b>2.22 (1.01-4.88)</b>	<b>0.046</b>
HBV DNA (<2.6 logcopies/mL)	<b>3.56 (1.22-10.4)</b>	<b>0.021</b>	<b>4.07 (1.36-12.2)</b>	<b>0.012</b>

The bolded numbers: statically significant.

Abbreviation: HBsAg, Hepatitis B surface antigen; IFN, interferon; HBeAg, Hepatitis B envelope antigen

1) 虎の門病院肝臓センター

2) 虎の門病院肝臓研究室

\*Corresponding author: hosa-p@toranomom.gr.jp

<受付日2011年2月1日><採択日2011年3月2日>

ラミブジン開始後の HBsAg 消失に寄与する因子について Cox 比例ハザードモデルを用いて、単変量及び多変量解析を行い検討した。

結果：ラミブジン投与開始からの観察期間の中央値は 6.3 年 (0.7-13.5 年) であった。ラミブジン投与前に IFN 治療歴を有する症例が 297 例 (39%) 存在した (投与期間の中央値は 27 週 (2-575 週))。HBV 感染の家族歴を有する症例が 538 例 (70%) 存在した。ラミブジン投与開始後の HBsAg 消失は 33 例で認められた (内訳は投与中消失 31 例, 投与終了後消失 2 例)。全体での累積 HBsAg 消失率は 5 年 : 1.8%, 10 年 : 7.3% であった。HBsAg 消失に寄与する因子について単変量解析を行ったところ, 抽出された因子は, 家族歴あり (48% vs. 74%), IFN 治療歴あり (64% vs. 37%), genotype A (25% vs. 2.6%), 開始時 ALT 高値 (300 IU/L 以上) (33% vs. 20%), 治療開始 6 カ月以内の HBe 抗原消失 (30% vs. 12% : HBeAg 持続陽性例や持続陰性例に比して), 治療開始後 6 カ月時点での HBVDNA 陰性化 (<2.6 log copies/ml) (85% vs. 67%) の 6 因子が抽出された (Table)。また治療法別で検討すると, ラミブジン単独またはエンテカビル切り替え症例では, ラミブジン+アデフォビル併用療法症例に比して HBsAg 消失率が高率であった (P=0.014)。

上記の因子を用いて, HBsAg 消失に寄与する因子について多変量解析を行ったところ, 独立因子として genotype A, IFN 治療歴, 治療開始 6 カ月時点で HBeAg 陽性→陰性化, 治療開始後 6 カ月時点での HBVDNA 陰性化の 4 因子が抽出された (Table)。

考察：今回の検討では核酸アナログ投与後の HBsAg 消失には HBV genotype が強く関わっている事が分かった。これまでテルビブジンや PegIFN での報告のように<sup>4)5)</sup>, genotype A では HBsAg 量の低下が, 他の genotype より起こりやすいため, HBsAg 消失が起こりやすいと考えられる。また IFN 治療歴や核酸アナログ治療早期の反応性などが HBsAg 消失に寄与し, 治療開始時 ALT の上昇が強い症例でも HBsAg が消失しやすい傾向にあったことから, 核酸アナログ治療により HBsAg を消失させるためには, 核酸アナログ自体の抗ウイルス作用だけでなく, 宿主の免疫反応が必要と推察される。今後 HBsAg 消失を目指した, 核酸アナログ治療法の工夫が望まれる。この研究はラミブジン投与症例での検討であるが, 今後は現在の標準治療であり, 薬剤

耐性出現が極めて低率のエンテカビル投与症例での検討も必要と思われる。

索引用語：HBsAg, 核酸アナログ, IFN

文献：1) Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, et al. *J Med Virol* 2007; 79: 1472—1477 2) Manesis EK, Hadziyannis ES, Angelopoulou OP, et al. *Antiviral Ther* 2007; 12: 73—82 3) Gish RG, Chang TT, Lai CL, et al. *J Viral Hepat* 2010; 17: 16—22 4) Wursthorn K, Jung M, Riva A, et al. *Hepatology* 2010; 52: 1612—1620 5) Moucari R, Martinot-Peignoux M, Mackiewicz V, et al. *Antivir Ther* 2009; 14: 1183—1188



## 英文要旨

**Clearance of hepatitis B surface antigen during  
long-term nucleot(s)ide analogues treatment  
in chronic hepatitis B**

Tetsuya Hosaka<sup>1)\*</sup>, Fumitaka Suzuki<sup>1)</sup>,  
Masahiro Kobayashi<sup>1)</sup>, Yuya Seko<sup>1)</sup>, Norihiro Imai<sup>1)</sup>,  
Miharu Hirakawa<sup>1)</sup>, Yusuke Kawamura<sup>1)</sup>,  
Hitomi Sezaki<sup>1)</sup>, Norio Akuta<sup>1)</sup>, Yoshiyuki Suzuki<sup>1)</sup>,  
Satoshi Saitoh<sup>1)</sup>, Yasuji Arase<sup>1)</sup>, Kenji Ikeda<sup>1)</sup>,  
Mariko Kobayashi<sup>2)</sup>, Hiromitsu Kumada<sup>1)</sup>

Clearance of HBsAg is considered the ultimate goal in the treatment for chronic hepatitis B. We analyzed clinical factors associated with HBsAg clearance during long-term nucleot(s)ide analogue treatment. By univariate analysis, HBV genotype, family history of HBV infection, previous IFN therapy, HBeAg clearance at 6 months, and undetectable HBV DNA at 6 months were significant predictive factors. By multivariate analysis, HBV genotype, previous IFN therapy, HBeAg clearance at 6 months, and undetectable HBV DNA at 6 months were independent and significant predictive factors of HBsAg clearance. We conclude that patients with genotype A have high probability of HBsAg clearance, and it seems that not only the antiviral potential of nucleot(s)ide analogue but host immune response is needed to achieve HBsAg clearance.

**Key words:** hepatitis B surface antigen,  
nucleot(s)ide analogues, interferon

*Kanzo* 2011; 52: 255—257

- 1) Department of Hepatology, Toranomon Hospital,  
Tokyo
- 2) Department of Research Institute for Hepatology,  
Toranomon Branch Hospital, Kawasaki

\*Corresponding author: hosa-p@toranomon.gr.jp

&lt;短 報&gt;

## コバス TaqMan HBV 「オート」 v2.0 における同一時の 血清検体と血漿検体の HBV DNA 検出率の検討

小林万利子<sup>1)\*</sup> 鈴木 文孝<sup>2)</sup> 鈴木 義之<sup>2)</sup> 芥田 憲夫<sup>2)</sup> 瀬崎ひとみ<sup>2)</sup>  
 川村 祐介<sup>2)</sup> 瀬古 裕也<sup>2)</sup> 保坂 哲也<sup>2)</sup> 小林 正宏<sup>2)</sup> 斉藤 聡<sup>2)</sup>  
 荒瀬 康司<sup>2)</sup> 池田 健次<sup>2)</sup> 熊田 博光<sup>2)</sup>

緒言：HBV DNA の測定は、1996 年に分岐 HBV DNA プローブ法が臨床応用されてから、検査技術の進歩に伴い TMA (transcription-mediated amplification) 法や PCR 法などの高感度な測定法の開発が進んできた。現在、日常の臨床で使用されている real-time PCR 法は、HBV DNA 量が 1.5~2.0 Log copies/mL 程度まで検出可能となった。今回我々は、TaqMan HBV v2.0 法(コバス TaqMan HBV「オート」v2.0<sup>1)</sup>；ロシュ・ダイアグノスティックス、東京)を用い、血清と血漿の同時採血を行い、各検体の有用性について検討を行ったので報告する。

対象と方法：対象は、B 型慢性肝炎および肝硬変の成人で Entecavir 投与 1 年以上経過し ALT (alanine aminotransferase) 値が 30 IU/l 以下を持続している 52 症例(104 検体)とした。内訳は、男性 29 例(55.8%)、年齢 52 歳：中央値 (27~81 歳)であった。HBV genotype は genotype A : 2 例, genotype B : 5 例, genotype C : 44 例, typing 不能 : 1 例であった。52 症例に対し治療効果の均一化を計るため同一検体で 2 回の採血を実施し HBV DNA を測定した。2 回目のポイントの採血は、1 回目の採血後、8 週±2 週の間実施した。血清用採血管で全血 5 mL と血漿用採血管(EDTA-2K)で全血 8 mL を採血、速やかに遠心分離後、TaqMan HBV v2.0 法(最小検出感度は、血清検体 : 2.0 Log copies/mL, 血漿検体 : 1.7 Log copies/mL)にて測定を行った。統計解析は、統計解析ソフトウェア STAT Flex ver. 5.0 を用い、P<0.05 で有意とした。本試験は、当院の倫理

審査委員会の承認を受け、実施についてのインフォームド・コンセントを行った。

結果：血清・血漿ペア検体 104 例のうち、血清と血漿の両方で HBV DNA を検出したのは、25 例(24.0%)、両者ともに検出不能は、41 例(39.4%)であったが、血清で検出したが血漿では検出不能であったのは、6 例(5.8%)であり、血漿で検出したが血清では検出不能であったのは、32 例(30.8%)で、血漿での検出率は、血清より有意 (P<0.001 [McNemar 検定]) に高率であった (Table 1)。

考察：核酸アナログ製剤を長期に投与することによりその耐性株の出現および肝炎の悪化が認められることから、特に若年者においては核酸アナログ製剤を中止することも考え、HBV DNA 量をはじめ、HBs 抗原、HB コア関連抗原などの種々の HBV マーカーについて検討が行われている<sup>2)</sup>。Drug free が可能な症例選定の必要条件の一つは HBV DNA の持続陰性化であり<sup>3)</sup>、投与中止後 ALT 値の再上昇による重症化・劇症化が懸念されることより、高感度に HBV DNA を検出することが重要である可能性がある。

そこで今回、我々は臨床検体を用い TaqMan HBV

Table 1 Detail correlation between plasma specimen (EDTA-2K) and serum specimen

		Serum	
		detected	not detected
plasma (EDTA-2K)	detected	25 (24.0%)	32* (30.8%)
	not detected	6* (5.8%)	41 (39.4%)

\*: P<0.001 [McNemar 検定]

1) 虎の門病院肝臓研究室

2) 虎の門病院肝臓センター

\*Corresponding author: vj7m-kbys@asahi-net.or.jp

<受付日2011年8月19日><採択日2011年9月2日>

v2.0 の血清検体と血漿検体の有用性の検討を行った。対象の 104 検体のうち血清または血漿のいずれかで HBV DNA を検出したのは、血清は 5.8% に対し血漿では 30.8% と血漿での HBV DNA の検出率は統計学的有意差 ( $P < 0.001$ ) をもって高率であった。一方、血清で HBV DNA を検出したが血漿では検出不能であった検体も 5.7% 存在したが、年齢、性別、genotype などに一定の偏りは無く、この現象は、最小検出感度未満の極めて低濃度の検体で発生するバラツキに起因する確率論的な現象と考えられた。

以上から、血漿検体を用いることにより血清検体より高感度に HBV DNA を測定することが可能となった。今後より高感度な測定が必要な分野での臨床応用が期待される。

索引用語：B 型肝炎ウイルス、  
TaqMan PCR 法、高感度

文献：1) Goedel S, Rullkoetter M, Weisshaar S, et al. *Journal of Clinical Virology* 2009; 45: 232—236  
2) Matsumoto A, Tanaka E, Minami N, et al. *Hepatology Research* 2007; 37: 661—666 3) 田中榮司. 厚生科学研究費補助金 (肝炎等克服緊急対策研究事業) 総括研究報告書, 2010, H21-肝炎-一般-001

### 英文要旨

The evaluation of the sensitivity between serum and plasma specimen for COBAS TaqMan HBV v2.0

Mariko Kobayashi<sup>1)\*</sup>, Fumitaka Suzuki<sup>2)</sup>,  
Yoshiyuki Suzuki<sup>2)</sup>, Norio Akuta<sup>2)</sup>, Hitomi Sezaki<sup>2)</sup>,  
Yusuke Kawamura<sup>2)</sup>, Yuya Seko<sup>2)</sup>, Tetsuya Hosaka<sup>2)</sup>,  
Masahiro Kobayashi<sup>2)</sup>, Satoshi Saitoh<sup>2)</sup>, Yasuji Arase<sup>2)</sup>,  
Kenji Ikeda<sup>2)</sup>, Hiromitsu Kumada<sup>2)</sup>

The sensitivity in serum and plasma for HBV DNA was evaluated by using 104 clinical specimens from 52 patients who were treated with entecavir for  $\geq 1$  year and continued ALT levels  $\leq 30$  IU/l. The measurement employed the COBAS TaqMan HBV v2.0. Twenty-five specimens (24.0%) were detected from both serum and plasma, and 41 specimens (39.4%) were not detected from both. On the other hand, there were 32 specimens (30.8%) with detectable from plasma but undetectable from serum, and only 6 specimens (5.8%) with detectable from serum but undetectable from plasma. This result suggested the sensitivity of HBV DNA using plasma specimen is more sensitive than that of serum specimen with statistical significance ( $p < 0.001$ ).

Key words: hepatitis B virus, TaqMan,  
high sensitivity

*Kanzo* 2011; 52: 756—757

1) Research Institute for Hepatology, Toranomon Hospital

2) Department of Hepatology, Toranomon Hospital

\*Corresponding author: vj7m-kbys@asahi-net.or.jp

# HBV変異株

## 核酸アナログ耐性変異とHBs抗体エスケープ変異

西島規浩・上田佳秀\*

### 特集 B型肝炎・肝移植後の再発予防法の現状

*HBV mutant: HBV with resistance to nucleos(t)ide analogues and with escape mutations from hepatitis B surface antibody*

核酸アナログの登場によりB型肝炎に対する治療は大きく変貌し進歩しているが、長期投与による核酸アナログ耐性変異ウイルスの出現が問題となっている。肝移植後のB型肝炎活性化予防にも核酸アナログならびにHBIGが使用されるが、やはり核酸アナログ耐性変異ウイルスならびにHBs抗体エスケープ変異ウイルスが問題となることが報告されている。HBVはquasispeciesとして存在し、絶えず複製・増殖の過程で変異が入るため、これら変異株に代表されるようにHBVにはさまざまな変異株が存在し、臨床上大きな問題となっている。

Norihiro Nishijima・Yoshihide Ueda\*

key words: HBV, quasispecies, 核酸アナログ耐性変異, HBs抗体エスケープ変異

核酸アナログの登場によりB型肝炎に対する治療は大きく変貌し進歩している。現在、わが国でB型肝炎に認可されている核酸アナログはラミブジン(商品名:ゼフィックス)、アデフォビル(商品名:ヘプセラ)、エンテカビル(商品名:バラクルード)の3種類である。核酸アナログはすぐれた抗ウイルス効果を示す一方、長期投与による核酸アナログ耐性変異ウイルスの出現が問題となっている。

肝移植後のB型肝炎活性化予防にも核酸アナログならびに高力価HBs抗体含有免疫グロブリン(hepatitis B immunoglobulin: HBIG)が使用されるが、やはり核酸アナログ耐性変異ウイルスならびにHBs抗体エスケープ変異ウイルスが問題となることが報告されている。今後、長期経過中にさらに大きな問題となる可能性が高い。

本稿では、これらの薬剤耐性B型肝炎ウイルス(hepatitis B virus: HBV)変異株について、肝移植症例に限らず、これまで明らかになってきている知見を概説する。

#### 肝移植後のB型肝炎再活性化予防の現状

肝移植後のHBVの活性化が問題となる異なる二つの病態がある。HBs抗原陽性レシピエントにおける肝移植後のB型肝炎と、HBs抗原陰性・HBc抗体陽性ドナーからの肝移植後のレシピエントにおけるB型肝炎である。

HBs抗原陽性レシピエントに対するB型肝炎予防法は、1990年代よりHBIGやラミブジン単独投与が行われたが、多くの報告で30~40%程度のB型肝炎再活性化を認めた。その後、ラミブジンとHBIGの併用療法が行われ、ほぼ全例でB型肝炎再活性化が予防できるようになり、現在では肝移植の術前に核酸アナログの内服を開始し、術中からHBIGを投与、術後は核酸アナログとHBIGの併用を行うのが標準的予防法となっている<sup>1,2)</sup>。

一方、HBs抗原陰性・HBc抗体陽性ドナーからの肝移植後のレシピエントにおけるB型肝炎再活性化予防法は十分に確立されていない。京都大学附属病院ではHBIGの単独投与により予防を行っており<sup>1-3)</sup>、術中無肝期よりHBIGの投与を開始し、術後もHBs抗体価を維持するようHBIGを継続している。施設によっては、核酸アナログ

\*Department of Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medicine, Kyoto University 京都大学大学院医学研究科消化器内科学