

Sorafenib and Sunitinib, Two Anticancer Drugs, Inhibit CYP3A4-Mediated and Activate CYP3A5-Mediated Midazolam 1'-Hydroxylation

Minako Sugiyama, Ken-ichi Fujita, Norie Murayama, Yuko Akiyama, Hiroshi Yamazaki, and Yasutsuna Sasaki

Department of Medical Oncology, International Medical Center-Comprehensive Cancer Center, Saitama Medical University, Hidaka, Japan (M.S., K.F., Y.A., Y.S.); Project Research Laboratory, Research Center for Genomic Medicine, Saitama Medical University, Hidaka, Japan (M.S., K.F., Y.A., Y.S.); and Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Showa Pharmaceutical University, Tokyo, Japan (N.M., H.Y.)

Received December 17, 2010; accepted January 25, 2011

ABSTRACT:

Sorafenib and sunitinib are novel small-molecule molecularly targeted anticancer drugs that inhibit multiple tyrosine kinases. These medicines have shown survival benefits in advanced renal cell carcinomas as well as in advanced hepatocellular carcinomas and gastrointestinal stromal tumors, respectively. The effects of sorafenib and sunitinib on midazolam 1'-hydroxylation catalyzed by human CYP3A4 or CYP3A5 were investigated. Sorafenib and sunitinib inhibited metabolic reactions catalyzed by recombinant CYP3A4. Midazolam hydroxylation was also inhibited in human liver microsomes harboring the CYP3A5*3/*3 genotype (poor CYP3A5 expressor). In contrast, midazolam 1'-hydroxylation catalyzed by recombinant CYP3A5 was enhanced by the coexistence of sorafenib or sunitinib in a concentration-dependent manner, with saturation occurring at approximately 10 μ M. Midazolam hydroxylation was also enhanced in human liver microsomal samples harboring the CYP3A5*1/*1 genotype (extensive CYP3A5 expressor).

Sorafenib N-oxidation and sunitinib N-deethylation, the primary routes of metabolism, were predominantly catalyzed by CYP3A4 but not by CYP3A5. The preincubation period of sorafenib and sunitinib before the midazolam addition in the reaction mixture did not affect the enhancement of CYP3A5-catalyzed midazolam hydroxylation, indicating that the enhancement was caused by parent sorafenib and sunitinib. Docking studies with a CYP3A5 homology model based on the structure of CYP3A4 revealed that midazolam closely docked to the heme of CYP3A5 compared with sorafenib or sunitinib, suggesting that these anticancer drugs act as enhancers, not as substrates. Our results thus showed that sorafenib and sunitinib activated midazolam 1'-hydroxylation by CYP3A5 but inhibited that by CYP3A4. Unexpected drug interactions involving sorafenib and sunitinib might occur via heterotropic cooperativity of CYP3A5.

Introduction

Cytochrome P450 (P450) is a heme-containing enzyme that catalyzes the oxidation of a wide variety of endogenous and exogenous compounds, including therapeutic drugs, carcinogens, and other xenobiotics (Nelson et al., 1996). CYP3A4, one of the major forms, is the most abundant P450 expressed in human livers (Shimada et al., 1994) as well as in the small intestine (Kolars et al., 1992). CYP3A4 has been shown to participate in the metabolism of more than 30% of

all therapeutic drugs or 50% of therapeutic drugs that undergo biotransformation (Lamba et al., 2002b; Matsumura et al., 2004). In adults, CYP3A5 is polymorphically expressed in approximately 10 to 40% of whites, 33% of Japanese, and 50% of African Americans (Lamba et al., 2002a). The relative amount of CYP3A5 to total hepatic CYP3A protein varies but can exceed 50% (Kuehl et al., 2001). CYP3A5 shares 84% amino acid sequence homology with CYP3A4. CYP3A5 and CYP3A4 overlap in their substrate specificities, but the relative importance of CYP3A5 and CYP3A4 in overall CYP3A-mediated metabolism differs between substrates (Lamba et al., 2002a; Niwa et al., 2008).

Recent progress in the development of molecularly targeted anticancer drugs has led to the approval of a variety of small-molecule tyrosine kinase inhibitors. These are orally bioavailable molecules that generally reversibly bind to intracellular ATP-binding sites of receptor(s) located inside the cell surface or to binding sites of cytoplasmic factors involved in signal transduction, thereby affecting cell proliferation, apoptosis, or angiogenesis. Sorafenib and sunitinib [chemical

This study was supported by in part by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan [Grant-in-Aid for Cancer Research 21S-8-1]; the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology [Grant-in-aid for "Support Project of Strategic Research Center in Private Universities"] (to Saitama Medical University Research Center for Genomic Medicine); and the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology [Grant-in-Aid 19-8 for High Technology Research Centre Project] (to Showa Pharmaceutical University).

Article, publication date, and citation information can be found at <http://dmd.aspetjournals.org>.

doi:10.1124/dmd.110.037853.

ABBREVIATIONS: P450, cytochrome P450; FDA, U.S. Food and Drug Administration; HLM, human liver microsomes; HPLC, high-performance liquid chromatography.

structures of sorafenib are found in Wilhelm et al. (2004) and sunitinib in Chow and Eckhardt (2007)] are multikinase inhibitors that target various factors, such as Raf; vascular endothelial growth factor receptors 1, 2, and 3, platelet-derived growth factor receptors α and β , FMS-like tyrosine kinase 3, c-Kit protein, and RET receptor, affecting tumor cell proliferation and tumor angiogenesis (Wilhelm et al., 2004; Carlomagno et al., 2006; Chow and Eckhardt, 2007; Escudier et al., 2007; Llovet et al., 2008). Sorafenib is approved by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) and other global health authorities for the treatment of advanced renal and hepatocellular carcinomas, because significant survival advantages were confirmed (Escudier et al., 2007; Llovet et al., 2008). Definitive efficacy of sunitinib has been demonstrated in advanced renal cell carcinoma and in imatinib-refractory gastrointestinal stromal tumors, leading to the FDA approval of sunitinib for the treatment of these diseases (Chow and Eckhardt, 2007). These multikinase inhibitors are predominantly metabolized by CYP3A4. Sorafenib is known to undergo N-oxidation by CYP3A4 (Lathia et al., 2006). Sunitinib N-deethylation, which produces a pharmacologically active metabolite, is also catalyzed by this drug-metabolizing enzyme (Rock et al., 2007). However, the roles of CYP3A5 in the metabolism of these anticancer drugs have not been reported.

Drug-drug interactions have received increasing attention over the past few decades. A recent survey indicated that approximately 30% of the U.S. population older than 57 years takes at least five prescription drugs at any given time (Qato et al., 2008). Many drug-drug interactions involve inhibition of drug-metabolizing enzymes and transporters, resulting in increased systemic exposure and subsequent adverse drug reactions (Zhang et al., 2010). Therefore, evaluation of drug-drug interaction potential is an essential part of risk assessment to ensure the safe use of medicines, including sorafenib and sunitinib. Although information on the effects of CYP3A inhibitors on the metabolism of sorafenib or sunitinib is available (Lathia et al., 2006) (sorafenib prescribing information by the FDA, http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/021923s004s005s006s0071bl.pdf), and sunitinib prescribing information by the FDA, http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021938s010s011s014s0151bl.pdf), the potency of sorafenib or sunitinib for modulating CYP3A4- and CYP3A5-mediated metabolism of other therapeutic drugs has not been reported.

We thus compared the effects of sorafenib and sunitinib on midazolam 1'-hydroxylation, which is catalyzed by both CYP3A4 and CYP3A5. We also examined the contributions of CYP3A5 to sorafenib N-oxidation and sunitinib N-deethylation.

Materials and Methods

Chemicals. Sorafenib, sorafenib N-oxide, sunitinib, and N-desethylsunitinib were obtained from Toronto Research Chemicals (North York, ON, Canada). Ranitidine hydrochloride and tolnaftate were products of Sigma-Aldrich Japan (Tokyo, Japan). Midazolam hydrochloride and 1'-hydroxymidazolam were from Daiichi Pure Chemicals (Tokyo, Japan). Clonazepam was from Wako Pure Chemicals (Osaka, Japan). All chemicals and solvents were of the highest grade commercially available.

Recombinant Human CYP3A4 and CYP3A5 and Human Liver Microsomes. Recombinant CYP3A4 and CYP3A5 coexpressed with NADPH-P450 reductase and cytochrome b_5 in the microsomes of insect cells with baculovirus systems were purchased from BD Biosciences (Woburn, MA). Insect microsomes were diluted in 100 mM potassium phosphate (pH 7.4). P450 contents were 1000 pmol/ml in both insect microsomal preparations.

Human liver microsomes (HLM) prepared from an African-American man (56 years) possessing CYP3A5*1/*1 and HLM from a white woman (54 years) harboring CYP3A5*3/*3 were obtained from BD Biosciences. Testosterone 6 β -hydroxylase activities of the CYP3A5*1/*1 and CYP3A5*3/*3 HLM as measured by BD Biosciences were 5.8 and 13.6 nmol/min/mg protein, respec-

tively. Expression levels of CYP3A4 and CYP3A5 as determined by Western blotting in the CYP3A5*1/*1 and CYP3A5*3/*3 HLM were 170 and 13 and 120 pmol/mg protein and under the detection limit, respectively. All HLM were diluted in 250 mM sucrose. The microsomal protein content was 20 mg/ml.

Effects of Sorafenib and Sunitinib on Midazolam 1'-Hydroxylation by CYP3A4 or CYP3A5. Midazolam 1'-hydroxylation catalyzed by recombinant CYP3A4 or CYP3A5 or by HLM harboring CYP3A5*1/*1 or *3/*3 was tested as described elsewhere (Fujita et al., 2005). The metabolite 1'-hydroxymidazolam was quantified by the methods of Fujita et al. (2003). Effects of sorafenib and sunitinib on midazolam 1'-hydroxylation were examined as described by Fujita et al. (2005). To determine the inhibition constant (K_i) of sorafenib or sunitinib for midazolam 1'-hydroxylation by recombinant CYP3A4, concentrations of sorafenib and sunitinib ranged from 1 to 10 and 1 to 20 μ M, respectively. Concentrations of midazolam ranging from 5 to 20 μ M were used to estimate the K_i . K_i values were calculated by nonlinear regression analysis, using eq. 1 for competitive inhibition with GraphPad Prism (version 5; GraphPad Software, Inc., San Diego, CA):

$$v = V_{\max} \cdot [S] / (K_m \cdot (1 + [I]/K_i) + [S]) \quad (1)$$

where v , V_{\max} , $[S]$, K_m , and $[I]$ are velocity, maximum velocity, substrate concentration, Michaelis constant, and inhibitor concentration, respectively. K_i is reported herein as the mean \pm S.E.

Sorafenib N-Oxidation by CYP3A4 or CYP3A5. Sorafenib N-oxidation by recombinant CYP3A4 or CYP3A5 was examined as follows. A typical incubation mixture consisted of 100 mM sodium potassium phosphate buffer (pH 7.4), an NADPH-generating system (1.3 mM NADP⁺, 3.3 mM MgCl₂, 3.8 mM glucose 6-phosphate, and 0.4 unit/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase), and recombinant CYP3A4 or CYP3A5 in a final volume of 0.25 ml. The time-dependent formation of sorafenib N-oxide was assessed with a sorafenib concentration of 50 μ M and a P450 concentration of 20 nM. Sorafenib N-oxide was analyzed by a computerized model 7000 HPLC system (Hitachi, Tokyo, Japan) as described previously (Afify et al., 2004) with slight modifications. In brief, the HPLC system was equipped with a TSKgel ODS-120T analytical column (4.6 \times 250 mm, 4 μ m; TOSOH, Tokyo, Japan). The metabolite was quantified by comparing the HPLC peak area to that of the internal standard tolnaftate. The lower limit of quantification of sorafenib N-oxide was 0.06 μ M. The intra- and interassay coefficients of variation at 2 μ M sorafenib N-oxide were less than 4.3 and 4.5%, respectively. Each assay was performed three times in duplicate.

Sunitinib N-Deethylation by CYP3A5 or CYP3A4. Sunitinib N-deethylation by recombinant CYP3A4 or CYP3A5 was examined using the same methods as described for sorafenib N-oxidation. The time-dependent formation of N-desethylsunitinib was assessed at a sunitinib concentration of 200 μ M and a P450 concentration of 20 nM. N-Desethylsunitinib was analyzed by a computerized HPLC system (model 7000 series) as described previously (Blanchet et al., 2009) with minor modifications. In brief, the HPLC system was equipped with a YMC-Pack CN analytical column (4.6 \times 250 mm, 5 μ m; YMC, Kyoto, Japan). The metabolite was quantified by comparing the HPLC peak area with that of the internal standard ranitidine. The lower limit of quantification of N-desethylsunitinib was 0.25 μ M. The intra- and interassay coefficients of variation at 0.8 μ M N-desethylsunitinib were less than 7.9 and 7.2%, respectively. Each assay was performed three times in duplicate.

Enzyme Kinetics of Sorafenib N-Oxidation and Sunitinib N-Deethylation. In the assays of sorafenib N-oxidation by recombinant CYP3A4, the P450 content and reaction time were predetermined with 50 μ M sorafenib, on the basis of the linearity between the microsomal P450 concentration (up to 20 nM) and the reaction time (up to 5 min) versus the rate of metabolite formation. On the basis of the results, the P450 content and the reaction time were determined to be 20 nM and 5 min, respectively. The concentrations of sorafenib for enzyme kinetics ranged from 1.9 to 30 μ M for CYP3A4. In the assays of sunitinib N-deethylation, the protein content and the reaction time were determined to be 20 nM and 10 min, respectively, for CYP3A4-expressing microsomes and 20 nM and 20 min, respectively, for CYP3A5-expressing microsomes. The concentrations of sunitinib for enzyme kinetics ranged from 12.5 to 200 μ M for CYP3A4 and from 18.8 to 300 μ M for CYP3A5. Data points were fitted to the Michaelis-Menten equation by nonlinear least-squares

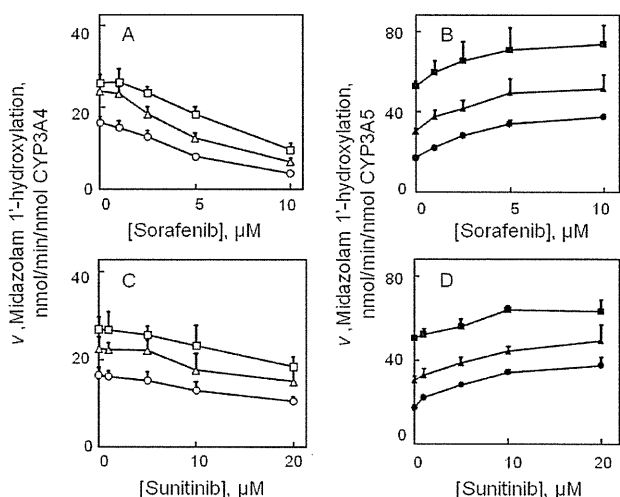


FIG. 1. Modulation of midazolam 1'-hydroxylation activities catalyzed by CYP3A4 (A and C, open symbols) or CYP3A5 (B and D, filled symbols) in the presence of sorafenib (A and B) or sunitinib (C and D). Midazolam 1'-hydroxylation activities were determined at substrate concentrations of 5 (○, ●), 10 (△, ▲), and 20 (□, ■) μM, respectively. Each point shows the mean of three independent analyses with S.D.

regression analysis with the use of GraphPad Prism software. Kinetic constants (K_m and V_{max}) are reported as the means \pm S.E.

Docking Simulation of Sorafenib or Sunitinib into the Reported Structure of CYP3A4 and a Homology Model of CYP3A5. Docking simulation was performed as described elsewhere (Okada et al., 2009; Shimada et al., 2010). The CYP3A5 primary sequence was aligned with CYP3A4 (Protein Data Bank code 1TQN) in MOE software (version 2007.09; Chemical Computing Group, Montreal, QC, Canada) to model a three-dimensional structure (Pearson et al., 2007). Before docking, the energy of the CYP3A4 or CYP3A5 structure was minimized by using the CHARMM22 force field. Docking simulations were performed for sorafenib or sunitinib binding to the reported CYP3A4 or a homology model of CYP3A5 in the presence or absence of midazolam, using the MMFF94x force field distributed in the MOE Dock software. Twenty solutions were generated for each docking experiment and were ranked according to total interaction energy (U value).

Results

Modulation of Midazolam 1'-Hydroxylation by CYP3A4 or CYP3A5 with Sorafenib or Sunitinib. As shown in Fig. 1, A and C, sorafenib and sunitinib inhibited midazolam 1'-hydroxylation catalyzed by CYP3A4 in a dose-dependent manner. We calculated the K_i values of sorafenib and sunitinib for midazolam 1'-hydroxylation by CYP3A4. The K_i values of sorafenib and sunitinib were estimated to be 1.7 ± 0.3 and 12 ± 0.9 μM, respectively. The inhibition of midazolam 1'-hydroxylation by sorafenib or sunitinib was also ob-

served with CYP3A5-deficient HLM (CYP3A5*3/*3) (Fig. 2A). In contrast, midazolam 1'-hydroxylation by CYP3A5 was enhanced by the coexistence of sorafenib or sunitinib in the reaction mixture (Fig. 1, B and D). The enhancement was dependent on the concentration of sorafenib or sunitinib, with saturation occurring at a concentration of approximately 10 μM. Similar enhancement was observed with HLM (CYP3A5*1/*1) expressing CYP3A5 (Fig. 2B). α -Naphthoflavone was used as a positive control for the enhancement of CYP3A activity, because this chemical has been well known to show heterotropic positive cooperativity for various metabolic reactions catalyzed by CYP3A (Hutzler and Tracy, 2002). As expected, α -naphthoflavone activated the midazolam 1'-hydroxylation by HLM genotyped for the CYP3A5 gene.

Contributions of CYP3A5 to Sorafenib N-Oxidation or Sunitinib N-Deethylation. To address whether or not the enhancement of CYP3A5-catalyzed midazolam 1'-hydroxylation was attributed to parent sorafenib or sunitinib, we next examined the roles of CYP3A5 and CYP3A4 in sorafenib N-oxidation and sunitinib N-deethylation. The time courses of sorafenib N-oxidation by CYP3A4 or CYP3A5 are shown in Fig. 3A. Sorafenib N-oxidation by CYP3A4 was 17 times higher than that by CYP3A5 at 20 min of incubation (190 versus 11 nmol/nmol P450). The kinetics of CYP3A4-mediated sorafenib metabolism were determined (Fig. 3C). We could not determine the kinetics of CYP3A5-mediated sorafenib metabolism, because the velocity of the reaction was not saturated by a concentration of 90 μM. Sorafenib was not soluble in the solvent used in the present study (1% dimethyl sulfoxide) at concentrations higher than 90 μM. The apparent K_m and V_{max} values of sorafenib N-oxidation by CYP3A4 were 6.1 ± 0.7 μM and 18 ± 0.7 nmol/min/nmol CYP3A4, respectively. The intrinsic metabolic clearance calculated with the K_m and V_{max} values obtained for CYP3A4 was 3.0 μl/min/pmol CYP3A4.

The time courses of sunitinib N-deethylation examined with CYP3A4 or CYP3A5 are shown in Fig. 3B. Sunitinib N-deethylation was 3.0 times higher with CYP3A4 than with CYP3A5 at 20 min of incubation (1100 versus 370 nmol/nmol CYP3A). The kinetics of CYP3A4- or CYP3A5-mediated sunitinib metabolism were estimated (Fig. 3D). The apparent K_m and V_{max} values of sunitinib N-deethylation by CYP3A4 and CYP3A5 were 32 ± 3.3 and 110 ± 12 μM and 97 ± 3.3 and 35 ± 1.7 nmol/min/nmol CYP3A, respectively. The intrinsic metabolic clearance calculated with the K_m and V_{max} values obtained with CYP3A4 was 10 times higher than that obtained with CYP3A5 (3.0 versus 0.3 μl/min/pmol CYP3A).

Thus, we found that sorafenib and sunitinib are substrates for CYP3A4 but not for CYP3A5. The parent compounds sorafenib and sunitinib are activators of CYP3A5-mediated midazolam 1'-hydroxylation.

Effects of Preincubation of Sorafenib or Sunitinib on CYP3A5-Catalyzed Midazolam 1'-Hydroxylation. To further test whether or

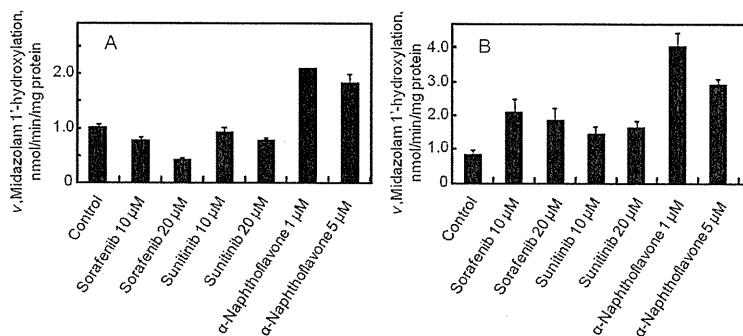


FIG. 2. Effects of sorafenib and sunitinib on midazolam 1'-hydroxylation by human liver microsomes genotyped for CYP3A5*3/*3 (A) or CYP3A5*1/*1 (B). The midazolam concentration used was 10 μM. Each data point shows the mean of triplicate determinations with S.D. bars.

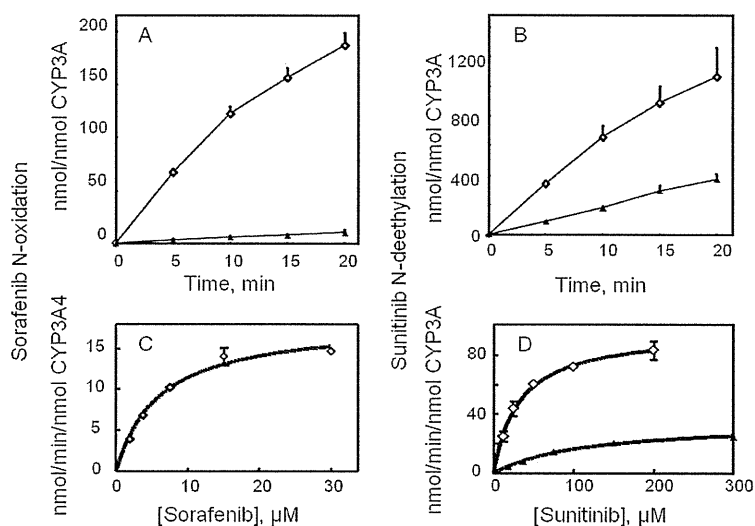


FIG. 3. Sorafenib N-oxidation and sunitinib N-deethylation activities catalyzed by CYP3A4 (A and C) or CYP3A5 (B and D). Time courses of sorafenib N-oxidation (A) and sunitinib N-deethylation (B) by CYP3A4 (\diamond) or CYP3A5 (\blacktriangle) and effects of substrate concentrations on sorafenib N-oxidation (C) and sunitinib N-deethylation (D) activities by CYP3A4 (\diamond) or CYP3A5 (\blacktriangle) are shown. Each data point represents the mean of triplicate determinations and is shown with S.D. bars.

not enhancement of midazolam 1'-hydroxylation by recombinant CYP3A5 was caused by parent sorafenib or sunitinib, effects of the elongation of preincubation of sorafenib or sunitinib with NADPH on midazolam 1'-hydroxylation by CYP3A5 were examined. As expected, enhancement of midazolam 1'-hydroxylation was not affected by the elongation of preincubation period (Fig. 4).

Docking Simulation of Sorafenib or Sunitinib into CYP3A4 and CYP3A5. The human CYP3A4 crystal structure allowed generation of a homology model of CYP3A5, derived with the MOE program. The top-rank docking model of sorafenib or sunitinib with or without midazolam in CYP3A4 and CYP3A5 was used. Docking simulation of sorafenib or sunitinib into CYP3A4 and CYP3A5 was first performed without midazolam. Moieties in sorafenib and sunitinib, which are metabolized by CYP3A4, closely docked to the heme of CYP3A4 (Fig. 5, A and C) with low U energy values (-36.0 and -42.6). In contrast, these moieties were found far from the heme of CYP3A5 (-25.6 and -37.2 , respectively) (Fig. 5, B and D).

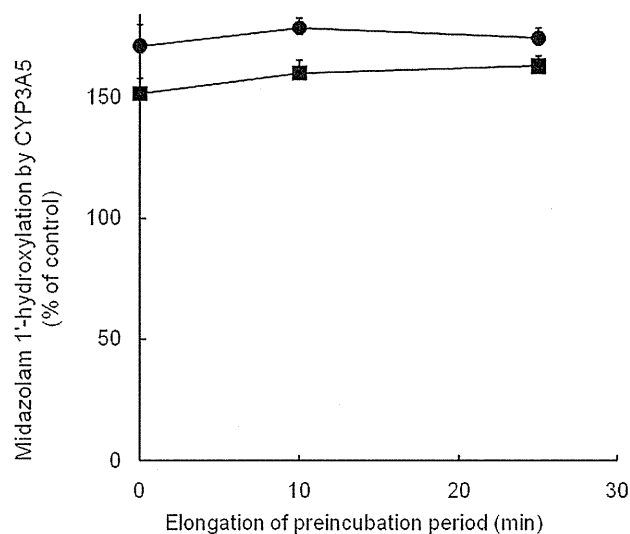


FIG. 4. Effects of the preincubation period with $10 \mu\text{M}$ sorafenib (\bullet) or $20 \mu\text{M}$ sunitinib (\blacksquare) in the presence of NADPH on recombinant CYP3A5-mediated midazolam hydroxylation activities at a substrate concentration of $10 \mu\text{M}$.

In the presence of midazolam, sorafenib or sunitinib molecules were also located at a similar distance from the heme of CYP3A4 (Fig. 6, A and C) with relatively high U energy values. In contrast, midazolam closely docked to the heme of CYP3A5 even in the presence of sorafenib or sunitinib (Fig. 6, B and D).

Discussion

The present study demonstrated that sorafenib and sunitinib inhibited midazolam 1'-hydroxylation catalyzed by CYP3A4 but enhanced that catalyzed by CYP3A5 (Figs. 1 and 2). The enhancement of midazolam 1'-hydroxylation by CYP3A5 was most likely caused by parent sorafenib and sunitinib, not by their metabolites, because these small-molecule tyrosine kinase inhibitors were only slightly metabolized by this drug-metabolizing enzyme (Fig. 3). In addition, the enhancement of midazolam 1'-hydroxylation was not affected by the preincubation period of either sorafenib or sunitinib with NADPH and CYP3A5 (Fig. 4). This result further supports the notion that the enhancement of midazolam 1'-hydroxylation by CYP3A5 was induced by parent sorafenib or sunitinib.

The enhancement of metabolic reactions in the presence of modulator(s), a phenomenon referred to as heterotropic cooperativity, involves two different ligands in the active site of a P450 enzyme (Hutzler and Tracy, 2002; Isin and Guengerich, 2006). Heterotropic cooperativity in CYP3A5 was recently reported by Okada et al. (2009). In their study, thalidomide greatly enhanced midazolam 1'-hydroxylation and cyclosporine oxidation by CYP3A5, consistent with our findings. These results suggest that a typical ligand universally induces heterotropic cooperativity in CYP3A5-mediated metabolism. Of interest, however, in our other experiments using erlotinib, a small-molecule tyrosine kinase inhibitor of epidermal growth factor receptor, as a substrate of CYP3A4 and CYP3A5 (Li et al., 2007), both sorafenib and sunitinib inhibited erlotinib O-demethylation (data not shown). Our results suggest that the heterotropic cooperativity in CYP3A5-mediated metabolism associated with sorafenib or sunitinib may depend on metabolic reactions catalyzed by CYP3A5. Further studies are needed to confirm this point.

Mechanisms underlying the modulation of CYP3A4- and CYP3A5-mediated midazolam 1'-hydroxylation by sorafenib or sunitinib may be partly explained by the results of docking simulation. As shown in Fig. 6, A and C, sorafenib or sunitinib seemed to interfere with the binding of midazolam to the heme of

CYP3A4, because these anticancer drugs and midazolam were located at similar distances from the heme of CYP3A4. These results suggest that sorafenib or sunitinib competitively inhibit CYP3A4-catalyzed midazolam 1'-hydroxylation.

In contrast, midazolam preferentially docked closely to the heme of CYP3A5, even in the coexistence of sorafenib or sunitinib (Fig. 6, B and D). Therefore, sorafenib or sunitinib appears not to inhibit CYP3A5-mediated midazolam 1'-hydroxylation. These anticancer drugs located far from the heme may induce heterotropic cooperativity in CYP3A5-mediated metabolism, although the detailed mechanisms remain unclear.

We found that sorafenib and sunitinib were extensively metabolized by CYP3A4 but not by CYP3A5 (Fig. 3). The docking model showed that the functional groups in sorafenib and sunitinib that are metabolized by CYP3A4 docked close to the heme of the enzyme but were located far from the heme of CYP3A5 (Fig. 5). These results supported the observations that sorafenib and sunitinib were good substrates of CYP3A4 but not of CYP3A5.

The roles of CYP3A4 and CYP3A5 in sorafenib and sunitinib metabolism were examined with HLM (*CYP3A5*1/*1*) expressing CYP3A5 and CYP3A5-deficient HLM (*CYP3A5*3/*3*), respectively. Sorafenib N-oxidation by *CYP3A5*1/*1* and *CYP3A5*3/*3* HLM was 0.32 ± 0.010 and 0.72 ± 0.021 pmol/min/mg protein, respectively ($n = 3$). Sunitinib N-deethylation by *CYP3A5*1/*1* and *CYP3A5*3/*3* HLM was 1.6 ± 0.027 and 4.9 ± 0.16 pmol/min/mg protein, respectively ($n = 3$). Respective sorafenib and sunitinib concentrations were 10 and 100 μM , and the incubation period was 10 min. These results suggest that the contribution of CYP3A5 to the metabolism of sorafenib and sunitinib might be low, which supports the results obtained with recombinant CYP3A4 and CYP3A5. However, it might be difficult to quantitatively evaluate the contributions of CYP3A4 and CYP3A5 to the metabolism of sorafenib and sunitinib because of reasons such as different levels of CYP3A4 expression in these microsomal preparations. Therefore, we examined the roles of CYP3A4 and CYP3A5 in the sorafenib N-oxida-

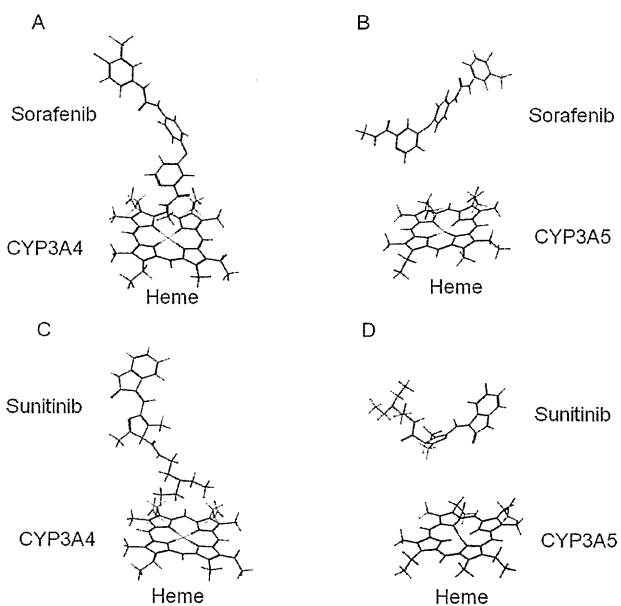


FIG. 5. Docking simulation of sorafenib (A and B) or sunitinib (C and D) into CYP3A4 (A and C) and CYP3A5 (B and D) in the absence of midazolam. Drug-P450 interaction energies (U, kilocalories per mole), calculated in Fig. 5, A to D, were -36.0 , -25.6 , -42.6 , and -37.2 , respectively. In the figure, oxygen, nitrogen, fluoride, and iron atoms are colored with red, blue, green, and light blue, respectively.

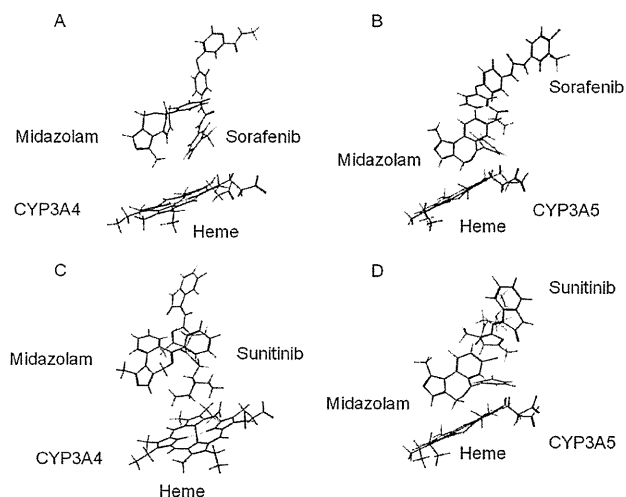


FIG. 6. Docking simulation of sorafenib (A and B) or sunitinib (C and D) into CYP3A4 (A and C) and CYP3A5 (B and D) in the presence of midazolam. Drug-P450 interaction energies (U, kilocalories per mole), calculated in Fig. 6, A to D, were 77.2, 259, 276, and 360, respectively. Other details were as in the legend to Fig. 5.

tion and sunitinib N-deethylation with recombinant CYP3A4 and CYP3A5.

When 400 mg of sorafenib was given twice daily, the plasma concentration of sorafenib measured after the 14 days reached approximately 9 μM (maximum and trough concentrations 10 and 8 μM , respectively) (Minami et al., 2008). Because the activation of CYP3A5-mediated midazolam 1'-hydroxylation was observed at a sorafenib concentration of 9 μM (Fig. 1B), this medicine may activate the CYP3A5-mediated metabolism in clinical practice. In contrast, sunitinib might not affect the midazolam 1'-hydroxylation in clinical use, because the maximum plasma concentration assayed 28 days after the sunitinib treatment (50 mg/daily) was approximately 0.17 μM (Shirao et al., 2010).

Considerable interpatient variability exists in the pharmacokinetics of sorafenib (Minami et al., 2008). Our present results suggest that individual variability in the pharmacokinetics of sorafenib might be substantially associated with variable expression levels of CYP3A4, differing by more than 40 times in the liver and the small intestine, but might not be linked to genetic polymorphisms seen in CYP3A5 (Lamba et al., 2002a). In support of our hypothesis, the *CYP3A5*3* allele, which is associated with no or poor expression of functional CYP3A5 (Kuehl et al., 2001), was not significantly related to inter-individual variability in the pharmacokinetics of sorafenib (Lind et al., 2010).

In conclusion, we found that sorafenib and sunitinib inhibited midazolam 1'-hydroxylation by CYP3A4 but enhanced that by CYP3A5. The present study suggests that midazolam metabolism may be increased by sorafenib and sunitinib through the heterotropic cooperativity of human CYP3A5. Because of the high frequency of polymorphic CYP3A5 expression in Asians and Africans, a relatively high frequency of unexpected drug interactions involving sorafenib (and sunitinib) might occur via CYP3A5 contribution in drug metabolism.

Authorship Contributions

Participated in research design: Sugiyama and Fujita.

Conducted experiments: Sugiyama and Akiyama.

Performed data analysis: Sugiyama and Fujita.

Wrote or contributed to the writing of the manuscript: Sugiyama, Fujita, and Yamazaki.

Other: Murayama and Yamazaki performed docking simulation of sorafenib and sunitinib, and Sasaki acquired funding for the research.

References

- Affify S, Rapp UR, and Hogger P (2004) Validation of a liquid chromatography assay for the quantification of the Raf kinase inhibitor BAY 43-9006 in small volumes of mouse serum. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 809:99–103.
- Blanchet B, Saboureau C, Benichou AS, Billelont B, Taieb F, Ropert S, Dauphin A, Goldwasser F, and Tod M (2009) Development and validation of an HPLC-UV-visible method for sunitinib quantification in human plasma. *Clin Chim Acta* 404:134–139.
- Carlomagno F, Anaganti S, Guida T, Salvatore G, Troncone G, Wilhelm SM, and Santoro M (2006) BAY 43-9006 inhibition of oncogenic RET mutants. *J Natl Cancer Inst* 98:326–334.
- Chow LQ and Eckhardt SG (2007) Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. *J Clin Oncol* 25:884–896.
- Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, Negrier S, Chevreau C, Solks E, Desai AA, et al. (2007) Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 356:125–134.
- Fujita K, Ando Y, Narabayashi M, Miya T, Nagashima F, Yamamoto W, Kodama K, Araki K, Endo H, and Sasaki Y (2005) Gefitinib (Iressa) inhibits the CYP3A4-mediated formation of 7-ethyl-10-(4-aminopentanoic acid)-1-piperidino]carbonyloxycamptothecin but activates that of 7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino]carbonyloxycamptothecin from irinotecan. *Drug Metab Dispos* 33:1785–1790.
- Fujita K, Hidaka M, Takamura N, Yamasaki K, Iwakiri T, Okumura M, Kodama H, Yamaguchi M, Ikenoue T, and Arimori K (2003) Inhibitory effects of citrus fruits on cytochrome P450 3A (CYP3A) activity in humans. *Biol Pharm Bull* 26:1371–1373.
- Hutzler JM and Tracy TS (2002) Atypical kinetic profiles in drug metabolism reactions. *Drug Metab Dispos* 30:355–362.
- Isin EM and Guengerich FP (2006) Kinetics and thermodynamics of ligand binding by cytochrome P450 3A4. *J Biol Chem* 281:9127–9136.
- Kolars JC, Schmiedlin-Ren P, Schuetz JD, Fang C, and Watkins PB (1992) Identification of rifampin-inducible P450III A4 (CYP3A4) in human small bowel enterocytes. *J Clin Invest* 90:1871–1878.
- Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, et al. (2001) Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 27:383–391.
- Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, and Thummel KE (2002a) Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev* 54:1271–1294.
- Lamba JK, Lin YS, Thummel K, Daly A, Watkins PB, Strom S, Zhang J, and Schuetz EG (2002b) Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. *Pharmacogenetics* 12:121–132.
- Lathia C, Lettieri J, Cihon F, Gallentine M, Radtke M, and Sundaresan P (2006) Lack of effect of ketoconazole-mediated CYP3A inhibition on sorafenib clinical pharmacokinetics. *Cancer Chemother Pharmacol* 57:685–692.
- Li J, Zhao M, He P, Hidalgo M, and Baker SD (2007) Differential metabolism of gefitinib and erlotinib by human cytochrome P450 enzymes. *Clin Cancer Res* 13:3731–3737.
- Lind JS, Dingemans AM, Groen HJ, Thunnissen FB, Bekers O, Heideman DA, Honeywell RJ, Giovannetti E, Peters GJ, Postmus PE, et al. (2010) A multicenter phase II study of erlotinib and sorafenib in chemotherapy-naïve patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 16:3078–3087.
- Llovet JM, Ricci S, Mazzafiero V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, et al. (2008) Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 359:378–390.
- Matsumura K, Saito T, Takahashi Y, Ozeki T, Kiyotani K, Fujieda M, Yamazaki H, Kunitoh H, and Kamataki T (2004) Identification of a novel polymorphic enhancer of the human CYP3A4 gene. *Mol Pharmacol* 65:326–334.
- Minami H, Kawada K, Ebi H, Kitagawa K, Kim YI, Araki K, Mukai H, Tahara M, Nakajima H, and Nakajima K (2008) Phase I and pharmacokinetic study of sorafenib, an oral multikinase inhibitor, in Japanese patients with advanced refractory solid tumors. *Cancer Sci* 99:1492–1498.
- Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, Waterman MR, Gotoh O, Coon MJ, Estabrook RW, et al. (1996) P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 6:1–42.
- Niwa T, Murayama N, Emoto C, and Yamazaki H (2008) Comparison of kinetic parameters for drug oxidation rates and substrate inhibition potential mediated by cytochrome P450 3A4 and 3A5. *Curr Drug Metab* 9:20–33.
- Okada Y, Murayama N, Yanagida C, Shimizu M, Guengerich FP, and Yamazaki H (2009) Drug interactions of thalidomide with midazolam and cyclosporine A: heterotropic cooperativity of human cytochrome P450 3A5. *Drug Metab Dispos* 37:18–23.
- Pearson JT, Wahlstrom JL, Dickmann LJ, Kumar S, Halpert JR, Wienkers LC, Foti RS, and Rock DA (2007) Differential time-dependent inactivation of P450 3A4 and P450 3A5 by raloxifene: a key role for C239 in quenching reactive intermediates. *Chem Res Toxicol* 20:1778–1786.
- Qato DM, Alexander GC, Conti RM, Johnson M, Schumm P, and Lindau ST (2008) Use of prescription and over-the-counter medications and dietary supplements among older adults in the United States. *JAMA* 300:2867–2878.
- Rock EP, Goodman V, Jiang JX, Mahjoob K, Verbois SL, Morse D, Dagher R, Justice R, and Pazdur R (2007) Food and Drug Administration drug approval summary: sunitinib malate for the treatment of gastrointestinal stromal tumor and advanced renal cell carcinoma. *Oncologist* 12:107–113.
- Shimada T, Tanaka K, Takenaka S, Murayama N, Martin MV, Foroozesh MK, Yamazaki H, Guengerich FP, and Komori M (2010) Structure-function relationships of inhibition of human cytochromes P450 1A1, 1A2, 1B1, 2C9, and 3A4 by 33 flavonoid derivatives. *Chem Res Toxicol* doi:10.1021/tx100286d.
- Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, and Guengerich FP (1994) Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 270:414–423.
- Shirao K, Nishida T, Doi T, Komatsu Y, Muro K, Li Y, Ueda E, and Ohtsu A (2010) Phase III study of sunitinib malate in Japanese patients with gastrointestinal stromal tumor after failure of prior treatment with imatinib mesylate. *Invest New Drugs* 28:866–875.
- Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, Chen C, Zhang X, Vincent P, McHugh M, et al. (2004) BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res* 64:7099–7109.
- Zhang L, Reynolds KS, Zhao P, and Huang SM (2010) Drug interactions evaluation: an integrated part of risk assessment of therapeutics. *Toxicol Appl Pharmacol* 243:134–145.

Address correspondence to: Dr. Ken-ichi Fujita, Department of Medical Oncology, International Medical Center-Comprehensive Cancer Center, Saitama Medical University, 1397-1 Yamane, Hidaka, Saitama 350-1298, Japan. E-mail: fujitak@saitama-med.ac.jp

DMD

DRUG METABOLISM AND DISPOSITION

aspet

B型肝炎再活性化の疫学と対策

持田 智*

索引用語：HBV, 免疫抑制療法, 化学療法, 再活性化, *de novo* 肝炎

1 はじめに

わが国におけるB型肝炎ウイルス(HBV)のキャリアは人口の約1.0%と占めており、そのgenotypeは約85%がC2型、残りの大部分はBj型である。Bj型は沖縄および東北地方に多いなど、genotypeの分布には地域差が認められる¹⁾。しかし、いずれのgenotypeのHBVが成人に感染した場合でもHBs抗体が陽性化して、これが中和抗体として働くことで、一過性感染として肝炎は治癒する。一方、最近の性行為感染症としてのB型急性肝炎では、海外に由来するAe型の感染が多く²⁾、その際はHBs抗体の陽性化が遷延し、約10%が持続感染に移行すると報告されている³⁾。したがって、HBVはどの時期に感染しても遺伝子レベルでは持続感染に移行し、HBs抗体陽性化の有無によって肝炎が臨床的に治癒するか、慢性化するかが決定されると見なされる。

HBVキャリアは肝癌を併発する高リスク群であり、また、急性増悪をきたして劇症肝

炎など急性肝不全の要因になる。このため、核酸アナログ製剤を中心とした抗ウイルス療法を適切に実施することが重要である。一方、既往感染例は通常は肝疾患を発症することなく経過するが、免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬などを投与した際にはウイルス血症を生じ、肝炎を発症する場合がある。この現象を「*de novo* B型肝炎」ないし「HBV再活性化」と称している。わが国では50歳以上の年齢層は、既往感染例が人口の20～25%を占めると推定され、「HBV再活性化」が実態解明と対策法の確立が急務になっている。

2 「HBV再活性化」に関する歴史的変遷

HBV遺伝子にはglucocorticoid enhancement elementが存在するため、HBVキャリアに副腎皮質ステロイドを投与すると血清HBV-DNA量が増加し、高率に肝炎を発症する。この現象は肝臓専門医の間では古くから知られており、これを基にHBe抗原陽性のB型慢性肝炎に対する「ステロイド離脱療法」

Satoshi MOCHIDA: Reactivation of hepatitis B virus in Japan

*埼玉医科大学消化器・肝臓内科 [〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38]

表1 劇症肝炎の診断基準(厚生労働省「難治性の肝疾患に関する研究」班：2003年)

劇症肝炎とは、肝炎のうち初発症状出現後8週以内に高度の肝機能異常に基づいて昏睡Ⅱ度以上の肝性脳症をきたし、プロトロンビン時間が40%以下を示すものとする。そのうちには症状出現後10日以内に脳症が発現する急性型と、11日以降に発現する亜急性型がある。

- (注1) 先行する慢性肝疾患が存在する場合は劇症肝炎から除外する。但し、B型肝炎ウイルスの無症候性キャリアからの急性増悪例は劇症肝炎に含めて扱う。
- (注2) 薬物中毒、循環不全、妊娠脂肪肝、Reye症候群など肝臓の炎症を伴わない肝不全は劇症肝炎から除外する。
- (注3) 肝性脳症の昏睡度分類は犬山分類(1972年)に基づく。
- (注4) 成因分類は「難治性の肝疾患に関する研究班」の指針(2002年)に基づく。
- (注5) プロトロンビン時間が40%以下を示す症例のうち、肝性脳症が認められない、ないしは昏睡Ⅰ度以内の症例は急性肝炎重症型、初発症状出現から8週以降24週以内に昏睡Ⅱ度以上の脳症を発現する症例は遅発性肝不全に分類する。これらは劇症肝炎の類縁疾患であるが、診断に際しては除外して扱う。
(特定疾患の申請に際しての臨床調査個人票には(注3)と(注4)のみが記載されている)

が1980年代に提唱された⁴⁾。ステロイド離脱療法はHBVキャリアに副腎皮質ステロイドを投与することでウイルス量を増加させ、その状態で休薬することでHBVに対する免疫反応を活性化し、HBe抗体陽性へのseroconversionを促す治療法で、今日では実施されるのは稀である。また、その後、副腎皮質ステロイド以外の免疫抑制薬を投与した際にも、HBVに対する免疫応答が抑制されることでウイルス量が増加し、重症の肝炎を発症するリスクがあることが明らかになった。このため2000年にラミブジンが保険認可された後は、HBVキャリアに免疫抑制療法を実施する際に、核酸アナログ製剤を予防投与することがコンセンサスとして定着している。

一方、B型既往感染例の位置付けは、1998年以降に成人レシピエントに対する生体肝移植が普及した以降に大きく変化した。京都大学における検討で、HBs抗体陰性のレシピエントに、HBc抗体陽性ドナーからの肝移植を実施し、術後に免疫抑制療法を開始すると血清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⁵⁾。また、2005年ごろから悪性リンパ腫の治療で抗CD20であるリツキシマブの投与が一般的になって、HBV既往感染の概念は更に変貌した。リツキシマブを投与するとB細胞数が減少するため、HBs抗体陽性の既往感染例では、その抗体価が低下する。一般にリツキシマブは副腎皮質ステロイドと併用するため、中和抗体価が低下した状態でウイルス増殖が盛んになり、血清HBV-DNA量が高値となって、重症肝炎を併発する場合があることが報告された^{6,7)}。

以上のような変遷を経て、HBVの既往感染者も免疫抑制・化学療法を実施する際には、キャリアと同様に、重症肝炎の発症を予防する対策を講じる必要があると認識されるに至った。この概念は肝臓専門医のみならず、血液領域の専門家には一般化しているが、免疫抑制療法ないし化学療法を行っている他の領域の専門家は、まだ十分認識していないのが現状である。

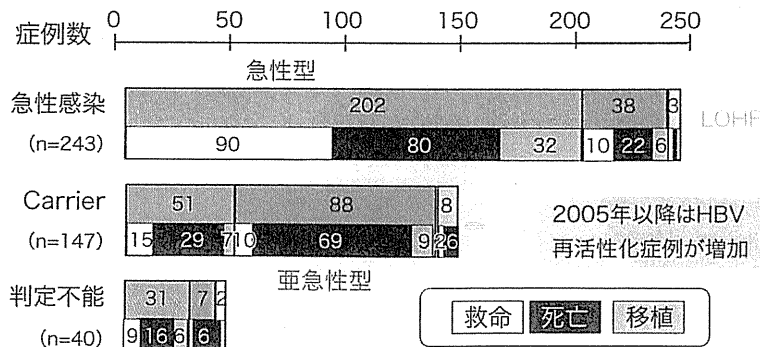


図1 劇症肝炎, LOHFにおけるHBV感染(1998~2008年): 430例(39.4%)で関与

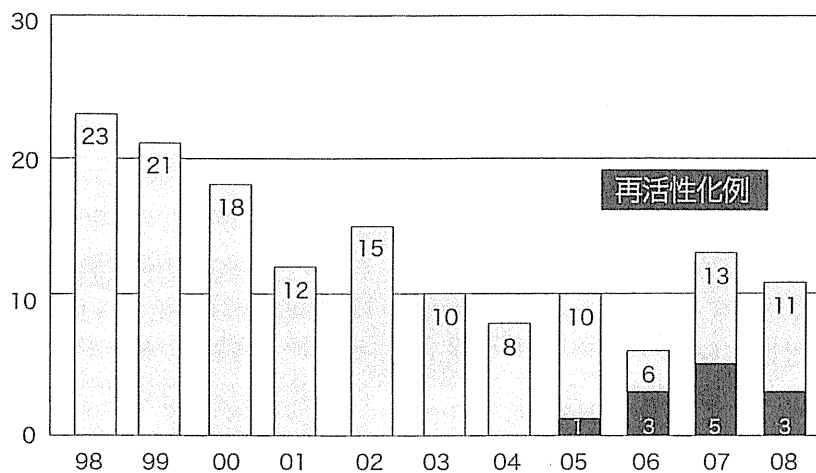


図2 劇症肝炎, LOHFにおけるHBVキャリア例(1998~2008年)

3 De novo B型劇症肝炎の実態

わが国における *de novo* B型肝炎の実態は、信州大学が中心となって全国調査を実施した⁸⁾。この調査によって、リツキシマブを含むプロトコールがHBV再活性化の高リスク群であることが判明した。また、*de novo* B型肝炎には劇症化例が多く、内科治療による救命率も低率であることが明らかになった。

上記の報告は、*de novo* B型肝炎の病態を、通常のB型急性肝炎と比較したものである。劇症肝炎の全国調査では⁸⁾、B型劇症肝炎の予後は急性感染例に比較してキャリア例で不良であることが明らかになっており、再活性

化症例の病態をキャリアの急性増悪例と比較することが求められる。そこで、1998~2008年に発症した劇症肝炎および遅発性肝不全(LOHF)を対象とした厚生労働省研究班の報告書を基に^{9~14)}、B型症例、特に再活性化症例の特徴を検討した。

劇症肝炎は「初発症状出現から8週以内にプロトロンビン時間が40%以下に低下し、昏睡Ⅱ度以上の肝性脳症を生じる肝炎」と定義され、この期間が10日以内の急性型と11日以降の亜急性型に分類される(表1)¹⁵⁾。我が国における患者数は年間約400例と推定され、急性型と亜急性型がほぼ1:1でみられる¹⁵⁾。比較的稀な疾患であるが、特に亜急性

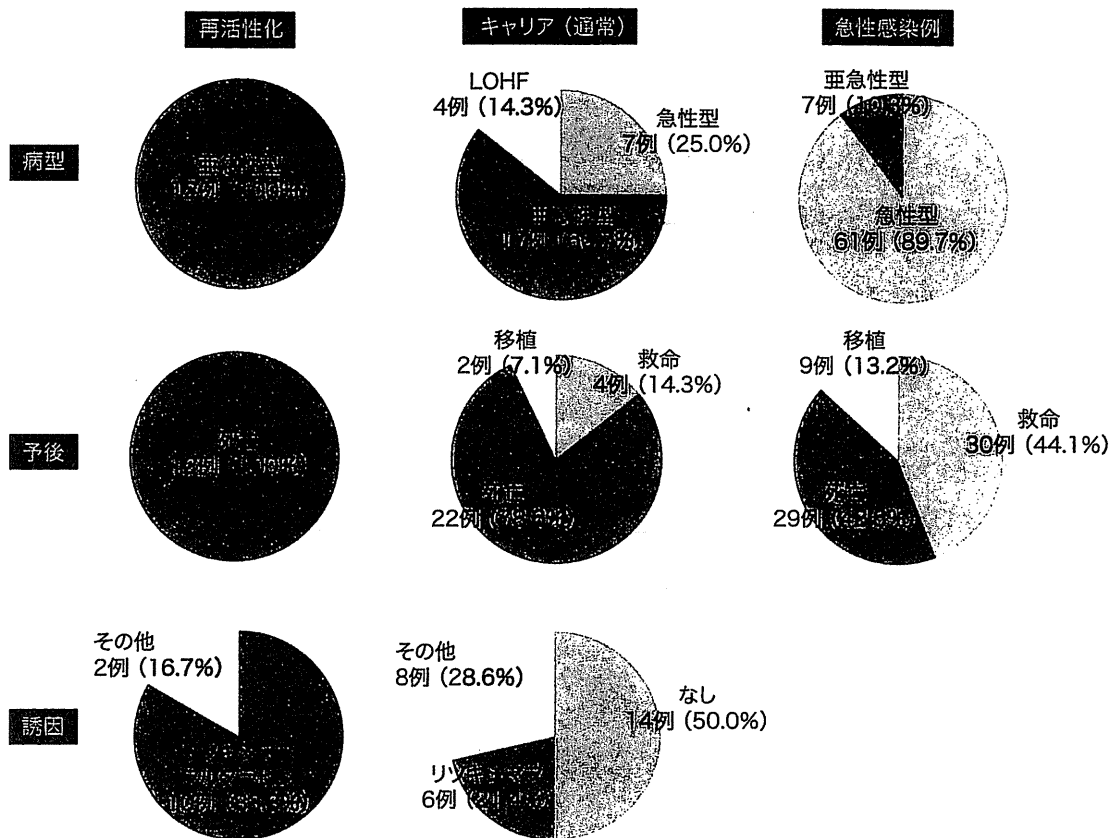


図3 劇症肝炎、LOHFにおけるHBV感染の実態

型は予後不良であり、難病として扱われてきた。一方、肝性脳症が出現するまでの期間が8～24週の症例は遅発性肝不全(LOHF: late onset hepatic failure)に分類している¹⁶⁾。患者数は劇症肝炎の約10分の1と少ないが、病態は亜急性型と類似して予後不良であるため¹⁵⁾、劇症肝炎の類縁疾患として扱われている。厚生労働省研究班には最近11年間で劇症肝炎1,004例(急性型505例、亜急性型499例)、LOHF 88例の計1,092例が登録された。その成因は430例(39%)がB型であり、急性感染243例(57%)、キャリア147例(34%)および判定不能40例(9%)に分類され、急性感染例は急性型、キャリア例は亜急性型の症例が多かった(図1)。キャリア例を年別にみると1998年が23例で最も多く、その後は徐々

に減少して、2004年には8例になった(図2)。急性肝不全の領域では1998年以降にラミブジンが使用されるようになり、2000年以降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⁹⁾、核酸アナログ製剤の普及によって、B型キャリアの急性増悪による劇症化症例が減少した可能性がある。しかし、キャリア例は2005年以降に再び増加する傾向があり、2007年には13例が登録された。なお、2005年以降はB型既往感染例の再活性化による症例が、キャリア例として登録されており、B型劇症肝炎における*de novo* B型肝炎の重要性が増している。

*De novo*のB型肝炎が登録されるようになった2005年以降に限定すると(図3)^{11~14)}、成因がB型の症例は130例(40%)であり、その

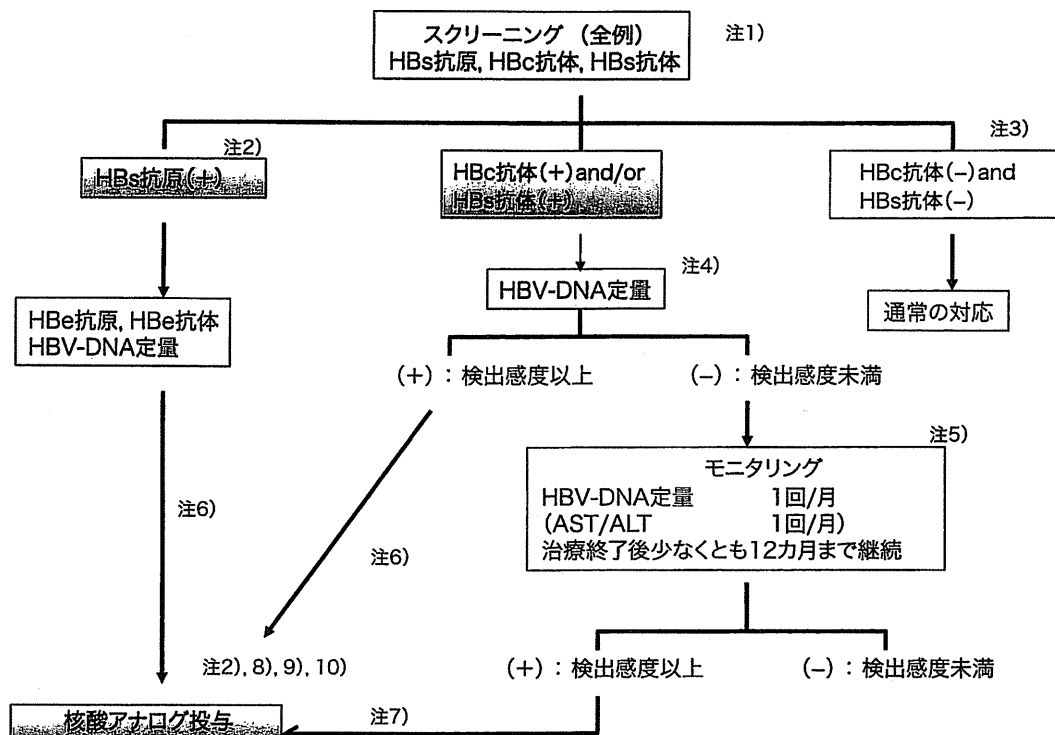


図4 免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策のガイドライン

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

注1) CLIA法で測定することが望ましい。

注2) 治療にあたっては肝臓専門医にコンサルトするのが望ましい。

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

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

注5) リツキシマブ・ステロイド使用例、造血細胞移植例はHBV再活性化の高リスクであり、注意が必要である。フルダラビンは強力な免疫抑制作用を有するが、HBV再活性化のリスクは不明であり、今後注意が必要である。

注6) 免疫抑制・化学療法を開始する前、できるだけ早期に投与を開始するのが望ましい。

注7) 免疫抑制・化学療法中はHBV-DNA定量検査が検出感度以上になった時点で直ちに投与を開始する。

注8) 核酸アナログはエンテカピ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カ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カ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。

内訳は急性感染68例(52%)、キャリア40% (31%)、成因不明22例(17%)であった。なお、キャリア例には再活性化症例が12例(30%)含まれており、全例が亜急性型に分類された。一方、病型は急性感染例のうち61例(90%)が急性型、7例(10%)が亜急性型であり、通常のキャリア例は7例(25%)が急性型、17例(61%)が亜急性型、4例(14%)がLOHFであった。再活性化例はB型キャリア例の中でも特異な病態を呈するとみなされる。また、内科治療による救命率は急性感染例が51%、通常のキャリア例が15%であったのに対して、再活性化例は全例が死亡していた。したがって、再活性化例はキャリア例の中でも特に予後が不良であり、信州大学における調査は劇症肝炎、LOHFを対象とした全国集計でも確認された。

肝炎発症の原因となった薬物は、通常のキャリア例では14例(50%)で認められ、うち6例(43%)がリツキシマブを含むプロトコルであった。一方、再活性化例は全例で誘因が明らかであり0、10例(83%)がリツキシマブないしフルダラビンに起因していた。リツキシマブないし同様の分子標的薬を用いた治療法が、再活性化の高リスク群であることは明らかであるが、末梢血幹細胞移植でVAD療法を実施した症例、乳癌でアドリアマイシン、5FUなどを投与された症例も存在したことが注目される。

4 HBV再活性化の対策

HBV再活性化によるB型重症肝炎が注目されるようになり、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(坪内博仁班長)」と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(熊田博光

班長)」が合同で、その予防に関するガイドラインを発表した(図4)¹⁷⁾。HBV再活性化によって肝炎を発症した症例では、先ず、HBV-DNA量が上昇し、その後1カ月以上を経てからALT値が高値になる¹⁸⁾。このため、同ガイドラインではHBV-DNAを高感度なTaqMan PCR法で月1回測定し、検出感度以上になった時点でエンタカビルを投与することを推奨している。なお、HBV再活性化は免疫抑制・化学療法終了後に生じる症例も多いため、治療終了12カ月まではHBV-DNAの測定を継続すべきとしている。

同ガイドラインはリツキシマブ以外による免疫抑制・化学療法も対象として提唱された。しかし、他の免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬を投与した際に、どの程度の頻度でHBV再活性化が生じるかは明らかになっていない。そこで、平成21年度からは厚生労働科学研究費補助金肝炎等緊急克服研究対策事業「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎再活性化の実態解明と対策法の確立」班(持田 智班長)が立ち上げられ、ガイドラインの有用性を検証している¹⁹⁾。同研究班では血液、腎臓、リウマチ・膠原病、腫瘍内科の4領域で研究組織を結成し、HBV再活性化の頻度と治療法との関連を解析している。再活性化した症例ではエンタカビルによる治療を実施し、さらにウイルス遺伝子の塩基配列を解析することで、再活性化に関わるウイルス側要因を解明することを目指している。本研究によりリツキシマブ以外の治療による再活性化の頻度を解明し、リスクの高い病態、治療法、ウイルス側要因を明らかにすることで、HBV-DNAを測定する症例を絞り込む予定である。なお、末梢血幹細胞移植後の症例は、肝移植後に免疫抑制薬を投与した場合と同様に、極めて高い確率でHBV再活性化を生じることが想定

される。したがって、同治療に関しては、既往感染例であっても全例で核酸アナログ製剤の予防投与することに関して、今後検討する必要がある。

文 献

- 1) Orito E, Ichida T, Sakugawa H et al: Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34 : 590-594, 2001
- 2) Sugauchi F, Orito E, Ohno T et al : Spatial and chronological differences in hepatitis B virus genotypes from patients with acute hepatitis B in Japan. *Hepatol Res* 36 : 107-114, 2006
- 3) Ozasa A, Tanaka Y, Orito E et al : Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection. *Hepatology* 44 : 326-334, 2006
- 4) 熊田博光, 他 : コルチコステロイド rebound 療法における DNA polymerase の動き. *肝臓* 23 : 1217, 1982
- 5) Uemoto S, Sugiyama K, Marusawa H et al : Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplants. *Transplantation* 65 : 494-499, 1998
- 6) Dervite I, Hober D, Morel P : Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N Engl J Med* 344 : 68-69, 2001
- 7) Niitsu N, Hagiwara Y, Tanae K et al : Prospective Analysis of Hepatitis B Virus Reactivation in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma After Rituximab Combination Chemotherapy. *J Clin Oncol* 28 : 5097-5100, 2010
- 8) Umemura T, Kiyosawa K : Fatal HBV reactivation in a subject with anti-HBs and anti-HBc. *Intern Me* 45 : 747-748, 2006
- 9) Fujiwara K, Mochida S, Matsui A et al : Fulminant hepatitis and late onset hepatic failure in Japan: Summary of 698 patients between 1998 and 2003 analyzed in annual nationwide survey. *Hepatol Res* 38 : 646-657, 2008
- 10) 坪内博仁, 他 : 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, pp61-69
- 11) 坪内博仁, 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, pp90-100
- 12) 坪内博仁, 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, pp83-94
- 13) 坪内博仁, 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, pp83-93
- 14) 坪内博仁, 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, pp95-106
- 15) 持田 智 : 劇症肝炎 : わが国における問題. *肝臓* 50 : 497-506, 2009
- 16) Gibson AES, O'Grady JG, Ede RJ et al : Late onset hepatic failure: Clinical, serological and histological features. *Hepatology* 6 : 288-294, 1986
- 17) 坪内博仁, 他 : 免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策 : 厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療標準化に関する研究」班合同報告. *肝臓* 50 : 38-42, 2009
- 18) Hui CK, Cheung WW, Zhang HY et al : Kinetics and risk of de novo hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology* 131 : 59-68, 2006
- 19) 持田 智 : 免疫抑制薬, 抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎再活性化の実態解明と対策法の確立. 厚生労働省科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策事業 (肝炎分野), 平成21年度研究報告書, 2010年

話題の疾患と治療

免疫療法とB型肝炎の再活性化

埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科

持田 智

感染・炎症・免疫 第40巻 第3号 別刷

平成22年10月5日発行

東京 医薬の門社

免疫療法とB型肝炎の再活性化

*埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科

持田 智

はじめに

我が国におけるB型肝炎ウイルス(HBV)のキャリアは、人口の約1.0%を占めると推定される。そのgenotypeは約85%がC2型、残りはBj型であり、沖縄および東北地方にBj型が多いなど、分布には地域差が認められる¹⁾。これらgenotypeのHBVが成人に感染した場合は、HBs抗体が陽性化して中和抗体として働き、一過性感染で肝炎は治癒する(既往感染例)。しかし、最近の性行為感染症としてのB型急性肝炎は、海外に由来するAe型の感染が多く²⁾、その際はHBs抗体の陽性化が遅延し、約10%が持続感染に移行すると報告されている³⁾。したがって、HBVはどの時期に感染しても遺伝子レベルでは持続感染に移行し、HBs抗体陽性化の有無によって肝炎が臨床的に治癒するか、慢性化するか決定されると考えられるようになった。

HBVキャリアは肝癌を併発する高リスク群であり、また、急性増悪を来して劇症肝炎など急性肝不全の要因になる。このため、核酸アナログ製剤を中心とした抗ウイルス療法を適切に実施することが重要である。一方、既往感染例は通常は肝疾患を発症することなく経過するが、免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬などを投与した際にはウイルス血症を生じ、肝

炎を発症する場合がある。この現象を「*de novo* B型肝炎」ないし「HBV再活性化」と称している。我が国では50歳以上の年齢層は、既往感染例が人口の20～25%を占めると推定され、「HBV再活性化」が実態解明と対策法の確立が急務になっている。

1. 「HBV再活性化」が認識されるまでの歴史の変遷

HBV遺伝子にはglucocorticoid enhancement elementが存在するため、HBVキャリアに副腎皮質ステロイドを投与すると血清HBV-DNA量が増加し、高率に肝炎を発症する。この現象は肝臓専門医の間では古くから知られており、これを基にHBe抗原陽性のB型慢性肝炎に対する「ステロイド離脱療法」が1980年代に提唱された⁴⁾。ステロイド離脱療法はHBVキャリアに副腎皮質ステロイドを投与することでウイルス量を増加させ、その状態で休薬することでHBVに対する免疫反応を活性化し、HBe抗体陽性へのseroconversionを促す治療法で、今日では実施されることはない。また、その後、副腎皮質ステロイド以外の免疫抑制薬を投与した際にも、HBVに対する免疫応答が抑制されることでウイルス量が増加し、重症の肝炎を発症するリスクがあることが広く理解されるようになった。このため2000年

にラミブジンが保険認可された後は、HBVキャリアに免疫抑制療法を実施する際に、核酸アナログ製剤を予防投与することがコンセンサスとして定着している。

一方、B型既往感染例の位置付けは、1998年以降に成人レシピエントに対する生体肝移植が普及し、さらに2005年ごろから悪性リンパ腫の治療で抗CD20薬であるリツキシマブが頻用されるようになって、大きく変化した。まず、HBs抗体陰性のレシピエントに、HBe抗体陽性ドナーからの肝移植を実施し、術後に免疫抑制療法を開始すると血清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⁵⁾。また、悪性リンパ腫の治療では、リツキシマブを投与するとB細胞数が減少するため、HBs抗体陽性の既往感染例では、その抗体価が低下する。一般にリツキシマブは副腎皮質ステロイドと併用するため、中和抗体価が低下した状態でウイルス増殖が盛んになり、血清HBV-DNA量が高値となり、重症肝炎を併発する場合があることが報告された⁶⁾。

以上のような変遷を経て、HBVの既往感染者も免疫抑制・化学療法を実施する際には、キャリアと同様に、重症肝炎の発症を予防する対策を講じる必要があると認識されるに至った。この概念は肝臓専門医のみならず、血液領域の専門家には一般

*〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38
E-mail smochida@saitama-med.ac.jp

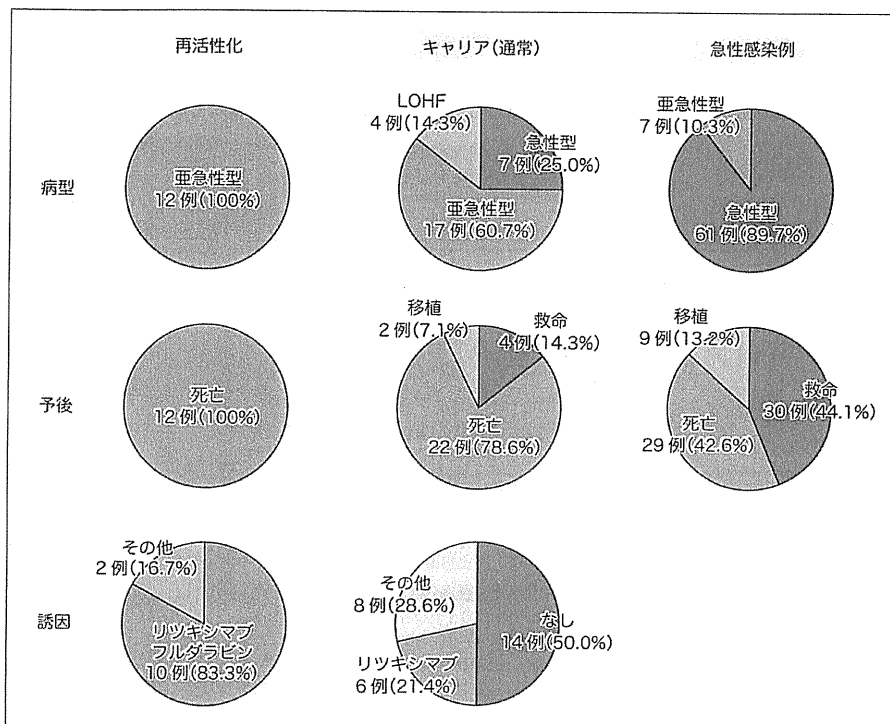


図1 劇症肝炎、LOHFにおけるHBV感染の実態

化しているが、免疫抑制療法ないし化学療法を行っている他の領域の専門家は、まだ十分認識していないのが現状である。

II. De novo B型劇症肝炎の実態

我が国におけるde novo B型肝炎の実態は、信州大学が中心となって全国調査を実施した⁷⁾。この調査によって、リツキシマブを含むプロトコルがHBV再活性化の高リスク群であり、de novo B型肝炎には劇症化例が多く、また、内科治療による救命率も低率であることが明らかになった。しかし、同調査はde novo B型肝炎の病態を、通常のB型急性肝炎と比較したものである。劇症肝炎の全国調査では⁸⁾、B型劇症肝炎の予後は急性感染例に比較してキャリア

例で不良であることが明らかになっており、再活性化症例の病態をキャリアの急性増悪例と比較する検討が求められる。そこで、1998～2008年に発症した劇症肝炎および遅発性肝不全(LOHF: late onset hepatic failure)を対象とした厚生労働省研究班の報告書を基に^{8～13)}、B型症例、特に再活性化症例の特徴を検討した。

劇症肝炎は「初発症状出現から8週以内にプロトロンビン時間が40%以下に低下し、昏睡II度以上の肝性脳症を生じる肝炎」と定義され、この期間が10日以内の急性型と11日以降の亜急性型に分類される¹⁴⁾。我が国における患者数は年間約400例と推定され、急性型と亜急性型がほぼ1:1で見られる⁸⁾。比較的稀な疾患であるが、特に亜急性型は予後不良であり、難病として扱われてきた。

一方、肝性脳症が出現するまでの期間が8～24週の症例は遅発性肝不全(LOHF)に分類している¹⁵⁾。患者数は劇症肝炎の約10分の1と少ないが、病態は亜急性型と類似して予後不良であるため⁸⁾、劇症肝炎の類縁疾患として扱われている。厚生労働省研究班には最近11年間で劇症肝炎1,004例(急性型505例、亜急性型499例)、LOHF 88例の計1,092例が登録された。その成因は430例(39%)がB型であり、急性感染243例(57%)、キャリア147例(34%)および判定不能40例(9%)に分類され、急性感染例は急性型、キャリア例は亜急性型の症例が多かった。キャリア例を年別に見ると1998年が23例で最も多く、その後は徐々に減少して、2004年には8例になった。急性肝不全の領域では1998年以降にラミブジンが使用され

特集Ⅱ B型肝炎ウイルス再活性化の問題点と対策

リツキシマブを用いない化学療法・免疫抑制療法によるHBV再活性化の実態*

中尾 将光^{***}
名越 澄子^{**}
持田 智^{**}

Key Words : hepatitis B virus reactivation, de novo hepatitis B, fulminant hepatitis nucleoside analog

はじめに

わが国におけるB型肝炎ウイルス(HBV)のキャリアは、人口の約1.0%占めると推定される。そのgenotypeは約85%がC2型、残りはBj型であり、その分布には地域差が認められる¹⁾。これらgenotypeのHBVが成人に感染した場合は、HBs抗体が陽性化して中和抗体として働き、一過性感染で肝炎は治癒する(既往感染)。しかし、最近の性行為感染症としてのB型急性肝炎は、海外に由来するAe型の感染が多く²⁾、その際はHBs抗体の陽性化が遅延し、約10%が持続感染に移行すると報告されている³⁾。したがって、HBVはどの時期に感染しても遺伝子レベルでは持続感染に移行し、HBs抗体陽性化の有無によって肝炎が臨床的に治癒するか、キャリアに移行するかが決定されると考えられるようになった。

HBVキャリアは肝癌を併発する高リスク群であり、また、急性増悪をきたして劇症肝炎など急性肝不全の要因になる。このため、キャリアには核酸アナログ製剤を中心とした抗ウイルス療法を適切に実施することが重要であり、2009

年11月には「肝炎対策基本法」が成立し、2010年4月は医療費助成制度も同製剤を用いた治療にも適応されるようになった。一方、既往感染例は通常は肝疾患を発症することなく経過するが、免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬などを投与した際にはウイルス血症を生じ、肝炎を発症する場合がある。この現象を「de novo B型肝炎」ないし「HBV再活性化」と称している。わが国では50歳以上の年齢層は、既往感染例が人口の20~25%を占めると推定され、「HBV再活性化」が実態解明と対策法の確立が急務になっている。

B型肝炎ウイルスの再活性化が認識されるまでの経緯

以前から、HBVキャリアに副腎皮質ステロイドを投与すると、血清HBV-DNA量が増加して肝炎を発症し、時に劇症化する場合があることが知られていた⁴⁾⁵⁾。HBV遺伝子にはglucocorticoid enhancement elementが存在し⁶⁾、副腎皮質ステロイドの作用でウイルス増殖が促進することが、その原因と考えられている。また、副腎皮質ステロイド以外の免疫抑制薬を投与した際にも、HBVに対する免疫応答が抑制されることでウイルス量が増加し、重症の肝炎を発症するリスクがあることが明らかになった。このため2000年にlamivudineが保険認可された後は、HBVキャリ

* Hepatitis B virus reactivation induced by chemo- and/or immunosuppressive-therapies without rituximab.

** Masamitsu NAKAO, M.D., Sumiko NAGOSHI, M.D., Ph.D. & Satoshi MOCHIDA, M.D., Ph.D.: 埼玉医科大学 消化器内科・肝臓内科(〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38) ; Department of Gastroenterology and Hepatology, Faculty of Medicine, Saitama Medical University, Saitama-ken 350-0495, JAPAN

*** 埼玉医科大学国際医療センター包括的がんセンター消化器内科

アに免疫抑制療法を実施する際に、核酸アナログ製剤を予防投与することがコンセンサスとして定着している。

一方、HBVの既往感染例に関する位置づけは、1998年以降に成人レシピエントに対する生体肝移植が普及し、さらに2005年ごろから悪性リンパ腫の治療で抗CD20であるリツキシマブが頻用されるようになって大きく変化した。まず、HBs抗体陰性のレシピエントに、HBc抗体陽性ドナーからの肝移植を実施し、術後に免疫抑制療法を開始すると血清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⁷⁾。また、悪性リンパ腫の治療では、リツキシマブを投与するとB細胞数が減少するため、HBs抗体陽性の既往感染例では、その抗体価が低下する。一般にリツキシマブは副腎皮質ステロイドと併用するため、中和抗体価が低下した状態でウイルス増殖が盛んになり、血清HBV-DNA量が高値となって、重症肝炎を併発する場合があることが報告された⁸⁾。

以上のような変遷を経て、「HBV再活性化」、[de novoのB型肝炎]が注目されるようになり、HBVの既往感染者も免疫抑制・化学療法を実施する際には、キャリアと同様に、重症肝炎の発症を予防する対策を講じる必要があると認識されるに至った。

HBV再活性化の実態

わが国におけるde novo B型肝炎の実態は、

信州大学が中心となって全国調査を実施した⁹⁾。この調査によって、リツキシマブを含むプロトコルがHBV再活性化の高リスク群であり、de novo B型肝炎には劇症化例が多く、また、内科治療による救命率も低率であることが報告された。一方、劇症肝炎の全国調査では、成因がB型の症例の予後は急性感染例に比較してキャリア例で不良であることが明らかになっているが¹⁰⁾、2005年以降はキャリア例のなかに再活性化例が含まれており(図1)、その病態は特異であることが明らかになった^{10)~15)}。

2005年以降の劇症肝炎、遅発性肝不全(LOHF)に限定すると、B型は130例(40%)であり、その内訳は急性感染68例(52%)、キャリア40例(31%)、成因不明22例(17%)であった(図2)。キャリア例には再活性化症例が12例(30%)含まれており、その全例が重急性型に分類された。一方、病型は急性感染例のうち61例(90%)が急性型、7例(10%)が重急性型であり、通常のキャリア例は7例(25%)が急性型、17例(61%)が重急性型、4例(14%)がLOHFであった。再活性化例はB型キャリア例のなかでも特異な病態を呈すると見なされる。また、内科治療による救命率は急性感染例が51%、通常のキャリア例が15%であったのに対して、再活性化例は全例が死亡していた。したがって、再活性化例はキャリア例のなかでも特に予後が不良であると考えられる。なお、肝炎発症の原因となった薬物は、通常のキャリア例では14例(50%)で認められ、うち6例(43%)がリツキシマブを含む

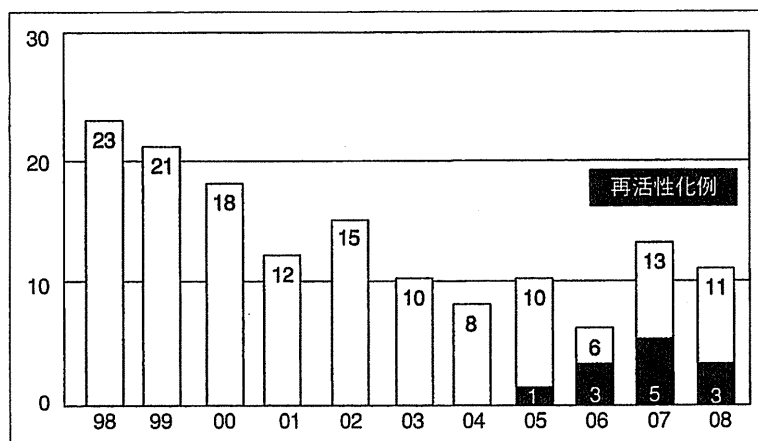


図1 劇症肝炎、LOHFにおけるHBVキャリア例(1998~2008年)

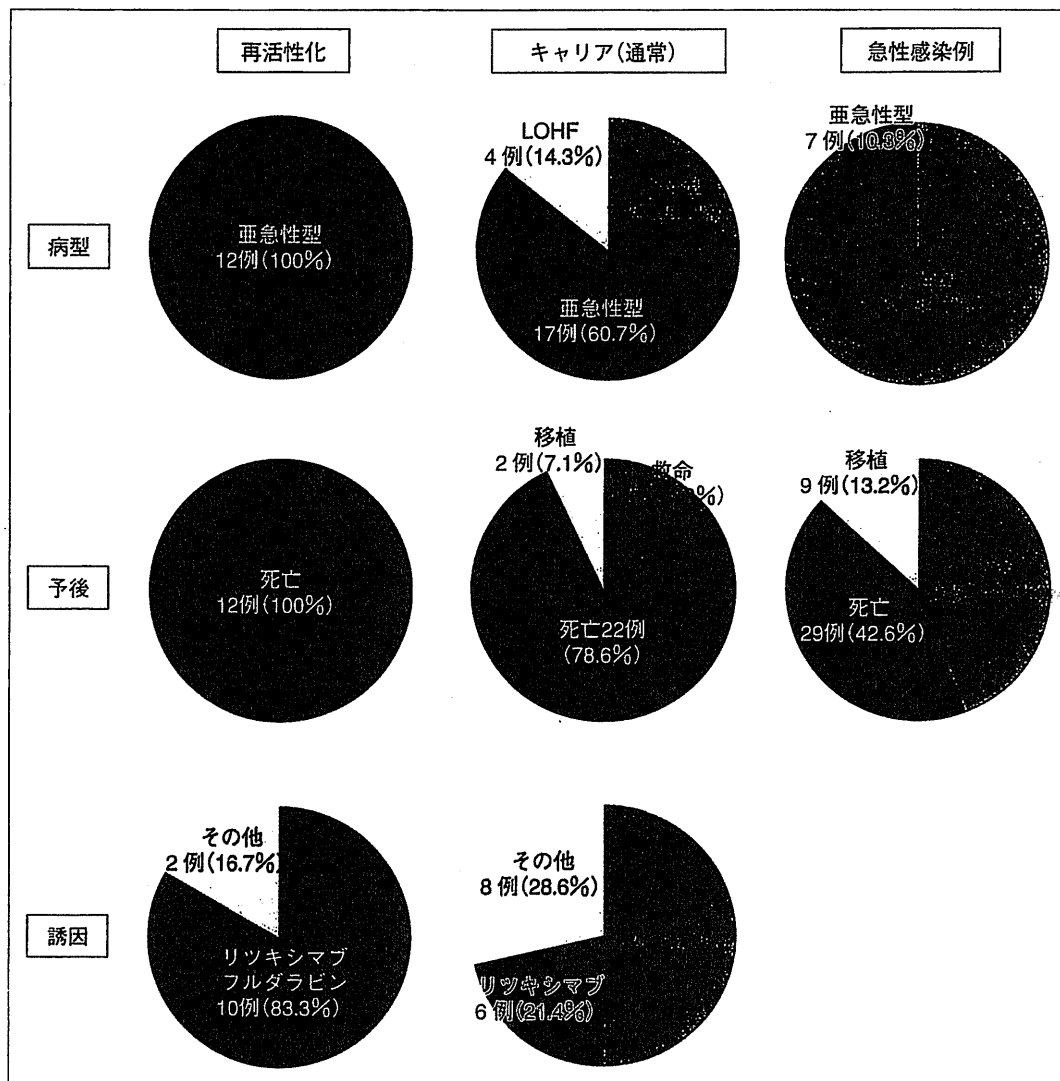


図2 劇症肝炎，LOHFにおけるHBV感染の実態

プロトコルであった。一方、再活性化例は全例で誘因が明らかであり、10例(83%)がリツキシマブないしフルダラビンに起因していた。リツキシマブないし同様の分子標的薬を用いた治療法が、再活性化の高リスク群であることは明らかであるが、乳癌でアドリマイシン、5FUなどを投与された症例も存在したことが注目される。

**HBV再活性化対策
ガイドラインについて**

HBV再活性化によるB型重症肝炎が注目され

るようになり、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(坪内博仁班長)」と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(熊田博光班長)」が合同で、その予防に関するガイドラインを発表した¹⁶⁾。HBV再活性化によって肝炎を発症した症例では、まず、HBV-DNA量が上昇し、その後1か月以上を経てからALT値が高値になる¹⁷⁾。このため、同ガイドラインではHBV-DNAを高感度なTaqMan PCR法で月1回測定し、検出感度以上になった時点で

エンテカビルを投与することを推奨している。なお、HBV再活性化は免疫抑制・化学療法終了後に生じる症例も多いため、治療終了12か月まではHBV-DNAの測定を継続すべきとしている。

同ガイドラインはリツキシマブ以外による免疫抑制・化学療法も対象として提唱された。しかし、他の免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬を投与した際に、どの程度の頻度でHBV再活性化が生じるかは明らかになっていない。そこで、2009年度からは厚生労働科学研究費補助金肝炎等緊急克服研究対策事業「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎再活性化の実態解明と対策法の確立」班(持田 智班長)が立ち上げられ、ガイドラインの有用性を検証している¹⁸⁾。

われわれの施設における HBV差活性化の現況

2006年1月～2009年10月までに、HBVのキャリアおよび既往感染例で、悪性腫瘍に対する化学療法ないしは自己免疫疾患に対して生物製剤による免疫抑制療法を実施した症例の臨床経過と予後を評価した。

1. 化学療法実施する悪性腫瘍の症例

悪性腫瘍に対して化学療法が施行されたのは、HBVキャリア29例、HBV既往感染59例であった。HBVキャリア29例の内訳は血液疾患9例、消化器疾患7例、呼吸器疾患6例、乳腺疾患と原発不明癌が各3例、泌尿器疾患と耳鼻科疾患が各1例であった。一方、既往感染59例のうち57例は血液疾患であった。HBs抗原は入院時スクリーニング検査で測定されているため、キャリアはすべての領域の悪性腫瘍症例で発見されているが、HBc抗体およびHBs抗体はHBV再活性化が注目されている血液領域以外では測定されておらず、既往感染例のスクリーニングが未だ徹底していない現況が窺われる。

HBVキャリアではエンテカビルが19例、ラミブジンが3例で投与されており、核酸アナログ製剤による予防投与は76%(22/29)で実施されていた。予防投与された症例のうち21例(95%)では、化学療法後に血清HBV-DNA量の増加は認められなかった。しかし、エンテカビルが予防投与された1例では、リツキシマブを含む化学療

法を実施後に血中HBV-DNA量が増加した。しかし、この症例は肝炎を発症せず、原病の増悪によって死亡した。一方、予防投与が実施されなかった7例中6例はいずれも消化器癌、肺癌などの固形癌の症例で、血清HBV-DNA量が測定されていないため詳細は不明であるが、経過中に血清ALT値の上昇はみられていない。一方、中枢性リンパ腫に対してメトトレキサートの髄注療法が行われていた1例は、半年後の肝炎を発症した後に血清HBV-DNA量の上昇が発見され、ラミブジンによる抗ウイルス療法を実施することで血清ALT値は正常化した。

HBV既往感染の59例では全例で血清HBV-DNA測定のモニタリングが実施されていたが、HBV再活性化が認められたのは5例(8%)のみであった。その内訳はリツキシマブを含む化学療法が施行された悪性リンパ腫4例と造血幹細胞移植後、移植片対宿主病(GVHD)に対してステロイドおよびタクロリムスが投与されていた急性リンパ性白血病1例であった。したがって、われわれの施設の成績でも、HBV再活性化の頻度は10%未満と低率であるが、リツキシマブを含む化学療法を実施する悪性リンパ腫症例は特にハイリスク群として対応すべきであることが確認された。しかし、血液疾患以外の領域では再活性化の実態がまったく不明であるのが現状である。従来、薬物性肝障害、肝転移ないし閉塞性黄疸など原病の増悪による肝障害と診断されていた症例でも、HBV再活性化の可能性も念頭において検索する必要があると考えられた。

2. インフリキシマブ投与例

抗TNF抗体治療薬のインフリキシマブが投与された症例は184例であり、その内訳は関節リウマチ138例、クローン病35例、ベーチェット病9例、強直性脊椎炎とWegner肉芽腫が各1例であった。これらのうち、HBs抗原、HBs抗体、HBc抗体のすべてが実施されていたのは70名(38%)であり、これらからキャリア1例、既往感染16名が発見された。したがって、これら症例におけるHBV既往感染の頻度は23%(16/70)に相当した。

キャリアはベーチェット病の症例で、併発しているB型慢性肝炎に対してラミブジンとアデホビルによる抗ウイルス療法を継続しながら、