

1) で作製した各種 HBV 発現プラスミドを HepG2 細胞にトランスフェクションした後、培養上清中に核酸アナログを添加。72 時間後の細胞内複製中間体を定量し、トランスフェクションした HBV 株の核酸アナログ感受性を検討。

### 3) *In vivo* におけるテノホビルの抗ウイルス効果の検討

トランスフェクションを行った培養細胞より産生された HBV 粒子を回収し、ヒト肝細胞キメラマウスに接種。HBV 感染が成立したマウスに対し、核酸アナログを投与し、マウス血清中の HBV DNA の変化を検討。

## C. 研究結果

HBV 野生株に対するテノホビルの抗ウイルス効果は、*in vitro*、*in vivo* いずれの検討においても、良好な抗ウイルス効果を示し、*in vivo* の検討において、HBV 持続感染キメラマウスに対し、4 週間テノホビルを投与したところ、マウス血中の HBV DNA は 3.6 Log copies/ml 低下した。ラミブジン耐性株である rtL180M/M204V 変異株においても、同様の検討を行ったところ、野生株とほぼ同等の抗ウイルス効果が *in vitro*、*in vivo* いずれの検討でも確認された。そこで、近年、問題となりつつあるラミブジン・アデホビル両剤耐性株である rtA181T/N236T 変異株に対するテノホビルの抗ウイルス効果についても検討を行った。その結果、*in vivo* の検討において、テノホビルを 2 週間投与することにより、マウス血中の HBV DNA は約 3.0 Log copies/ml 低下した。

## D. 考察

現在、核酸アナログ製剤は B 型慢性肝疾患診療における中心的な抗ウイルス療法薬として位置づけられ、広く使用されている。しかしながら、HBV の完全排除が困難であることから、長期投与が不可欠であり、薬剤耐性ウイルスの出現が大きな問題と言える。現在、ラミブジンやエンテカビルの耐性が出現した症例に対してアデホビルとの併用療法が行われているが、

中には、両剤に対して耐性を示すような多剤耐性 HBV の出現例も報告されるようになり、多剤耐性ウイルスに対する対策が急務となっている。本研究では、このような症例に対するテノホビルの有効性を検証する目的で、*in vitro*、*in vivo* モデルを用いた研究を行った。

テノホビルの野生株、ラミブジン耐性株への抗ウイルス効果は非常に高く、ほぼ同等であったことから、核酸アナログ未治療例やラミブジン耐性出現例に対する治療法として有効であることが示された。また、*in vivo* の検討において、野生株に対する抗ウイルス効果はエンテカビルの抗ウイルス効果とほぼ同程度であることが予想された。

一方、近年問題となっているものとして、ラミブジン・アデホビル両剤耐性株に対する対応策が挙げられる。これまで、ラミブジン耐性出現例において、アデホビルを追加投与することにより、肝炎の再燃や HBV の再増殖を抑制してきたが、長期間の治療に伴い、これら 2 剤に対して耐性を示す症例が散見されるようになっている。そこで、本研究では、ラミブジン・アデホビル両剤耐性株である rtA181T/N236T 変異株に対するテノホビルの抗ウイルス効果についても *in vitro*、*in vivo* 検討を行ったところ、いずれの検討でもテノホビルの抗ウイルス効果は野生株に対するものとほぼ同等であり、ラミブジン・アデホビル両剤耐性に対する対応策としても有効であるものと考えられた。

現在、B 型慢性肝疾患に対するテノホビル投与に関しては、治験が進行中であり、本研究の結果から、今後、エンテカビルとならぶ B 型慢性肝疾患治療薬となる可能性が考えられた。また、今後、エンテカビルに対する耐性株の増加も考えられることから、エンテカビル耐性株へのテノホビルの有効性を検討することも重要である。

## E. 結論

*In vitro*、*in vivo* の HBV 複製・感染モデルを用いた検討の結果、HBV 野生株、ラミブジン耐性株 (rtL180M/M204V 株)、ラミブジン・

アデホビル耐性株 (rtA181T/N236T 株) は、いずれもテノホビルによる抗ウイルス効果は良好である可能性が示され、臨床的な有効性が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Chayama K, Hayes CN, Hiraga N, Abe H, Tsuge M, Imamura M.

Animal model for study of human hepatitis viruses.

J Gastroenterol Hepatol 2011;26:13-8.

- 2) Ohishi W, Fujiwara S, Cologne JB, Suzuki G, Akahoshi M, Nishi N, Tsuge M, Chayama K.

Impact of radiation and hepatitis virus infection on risk of hepatocellular carcinoma.

Hepatology 2011;53:1237-45.

- 3) Tsuge M, Takahashi S, Hiraga N, Fujimoto Y, Zhang Y, Mitsui F, Abe H, Kawaoka T, Imamura M, Ochi H, Hayes CN, Chayama K.

Effects of hepatitis B virus infection on the interferon response in immunodeficient human hepatocyte chimeric mice.

J Infect Dis 2011; 204: 224-8.

- 4) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F,

Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H.

Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B.

Hepatology 2012; 42(2): 139-149.

##### 2. 学会発表

- 1) 広島県における B 型急性肝炎の実態.

第 47 回日本肝臓学会総会 ワークショップ 4

- 2) *in vitro*、*in vivo* HBV 複製モデルを用いた HBV RT 領域の変異と核酸アナログ耐性への影響の解析

第 47 回日本肝臓学会総会 ワークショップ 6

- 3) HBV RT 領域変異株におけるテノホビルの抗ウイルス効果の検討

第 15 回日本肝臓学会大会 シンポジウム 3

- 4) B 型慢性肝炎における核酸アナログ治療中止例の中止後経過と背景因子の検討

第 39 回日本肝臓学会西部会 ワークショップ 2

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許出願

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

分担研究者： 今井 康陽 市立池田病院 副院長

研究協力者： 澤井 良之 市立池田病院 消化器内科 副部長

水本 壘 市立池田病院 消化器内科

研究要旨：B型慢性肝疾患の治療において、ラミブジン（LAM）に対する薬剤耐性に対する治療法としてアデホビル（ADV）の併用投与が行われているが、ウイルス量の低下に乏しい症例が散見される。そこで我々は、LAM+ADV併用療法の有効性、すなわち、HBV-DNA陰性化に関する因子について検討した。当院でLAM+ADV投与を行ったB型慢性肝疾患22例を対象とした。LAM+ADV併用投与1、2、3年後のKaplan-Meier法によるHBV-DNA累積陰性化率は67.2%、73.5%、82.4%であった。HBV-DNA陰性化に関する因子の検討のためCox比例ハザードモデルを用いた単変量解析を行ったところ、ADV投与開始時のHBe抗原の有無、ADV投与開始時のHBV-DNA量、ADV投与後IVRの有無がHBV-DNA陰性化に関与する因子として選択された。多変量解析ではADV投与後IVRの有無が有意な因子であった。LAM+ADV投与中の累積HBV-DNA陰性化率はADV投与後IVR(+)症例、HBV-DNA<6 log copy/mlの症例にて高率であった。またLAM+ADV療法不応例に対しADVよりTenofovirへの切り替えを1例行ったが、投与開始12wにて陰性化を認めた。LAM+ADV併用療法において、HBV-DNA陰性化にはADV投与開始前のHBV-DNA量が低値であること、ADV投与後IVRの有無が関与している可能性が示唆された。LAM+ADV併用療法において、HBV-DNAが陰性化に至らない症例も存在し、HBV-DNA非陰性化例に対する対策が必要と考えられた。

#### A. 研究目的

B型慢性肝疾患の治療において、ラミブジン（LAM）に対する薬剤耐性に対する治療法としてアデホビル（ADV）の併用投与が行われているが、ウイルス量の低下に乏しい症例が散見される。そこで我々は、LAM+ADV併用療法の有効性を規定する因子について検討した。

#### B. 研究方法

当院で2003年6月より2010年1月までにLAM+ADV投与を行ったB型慢性肝疾患22例を対象とした。男性11例、女性11例、年齢62.1±10.4歳（40～74歳）、慢性肝炎9例、肝

硬変13例、ADV投与時HBe抗原陽性例8例、YIDD変異17例、YVDD変異2例、YIDD+YVDD変異2例、変異不明例1例、LAM単独投与期間33.6±16.2ヶ月（10～60ヶ月）、LAM+ADV併用投与期間は48.3±19.4ヶ月（12～89ヶ月）であった。LAMは100mg/day、ADVは10mg/day投与を行った。

HBV-DNA 2.6 log copy/ml未満（PCR法）または検出感度以下（リアルタイムPCR法）を陰性化群とし、陰性化に関する因子を検討した。年齢、性別、硬変変化の有無、YMDD変異株の種類、ADV投与開始時のHBe抗原の有無、ALT、Plt、Alb、ADV投与開始時のHBV-DNA

量、投与開始 6 ヶ月以内に DNA 量が 4 log copy/ml 以下に低下 (IVR ; initial viral response) について Cox 比例ハザードモデルを用い、解析を行った。

(倫理面への配慮) 後ろ向き調査から得られた内容については、どの患者か特定できないように匿名化を行った上で解析を行った。

### C. 研究結果

1) LAM+ADV 併用投与 1、2、3 年後の Kaplan-Meier 法による HBV-DNA 累積陰性化率は 67.2%、73.5%、82.4%であった。

2) HBV-DNA 陰性化に関する因子の検討のため、年齢、性別、硬変変化の有無、ADV 投与開始時の HBe 抗原の有無、HBV-DNA 量、投与開始 6 ヶ月以内に DNA 量 4 log copy/ml 以下に低下 (IVR) の有無、YMDD 変異株の種類、ALT、Plt、Alb 値について Cox 比例ハザードモデルを用いた単変量解析を行ったところ、ADV 投与開始時の HBe 抗原の有無 ( $P=0.017$ ) ADV 投与開始時の HBV-DNA 量 ( $P<0.0001$ )、ADV 投与後 IVR の有無 ( $P<0.0001$ ) が HBV-DNA 陰性化に関与する因子として選択された。多変量解析では ADV 投与後 IVR の有無 ( $P=0.048$ 、 $OR=87.8$ ) が有意な因子であった。

3) そこで LAM+ADV 投与中の累積 HBV-DNA 陰性化率を ADV 投与後 IVR(+ )症例と IVR(- )症例間で比較すると、有意差をもって ADV 投与後 IVR(+ )症例の HBV-DNA 陰性化率が高率であった (Log-lank;  $P<0.0001$ )。同様に HBV-DNA  $<6$  log copy/ml の症例と HBV-DNA  $\geq 6$  log copy/ml 症例間で比較すると、有意差をもって HBV-DNA  $<6$  log copy/ml の症例の HBV-DNA 陰性化率が高率であった (Log-lank;  $P=0.0004$ )。

4) また、当院において LAM+ADV 療法不応例に対し (図 1)、ADV より Tenofovir への切り替えを 1 例行ったが、Tenofovir 切り替え後 4w にて HBV-DNA 量が 1.4 log copy/ml 減少し、12w で陰性化を認めた (図 2)。

図 1 ADV 投与後の HBVDNA の推移

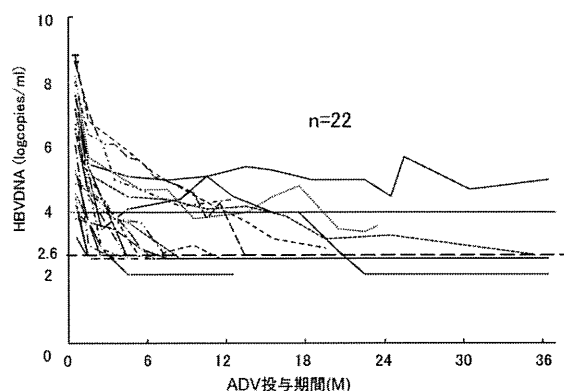
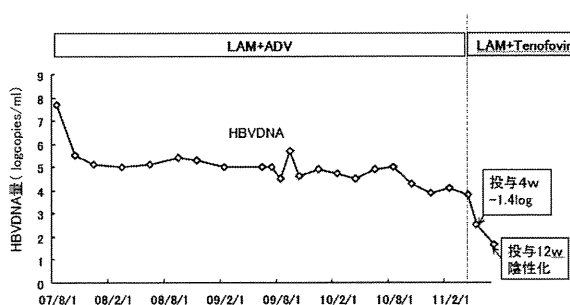


図 2 LAM+ADV 療法不応例に対する Tenofovir への切り替え



### D. 考察

LAM 耐性が出現し、ADV を併用する際には HBV-DNA 量が高値、ADV 投与開始 6 ヶ月以内に DNA 量 4 log copy/ml 以下に低下しない症例については長期投与にても陰性化に至らない可能性があり、早期に ADV より Tenofovir への切り替えも考慮すべきであると考えられる。

### E. 結論

LAM+ADV 併用療法において、HBV-DNA 陰性化には ADV 投与開始前の HBV-DNA 量が低値であること、ADV 投与後 IVR の有無が関与している可能性が示唆された。LAM+ADV 併用療法中に HBV-DNA 陰性化に至らない症例が認められ、HBV-DNA 非陰性化例に対する対策が必要と考えられた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Kurokawa M, Hiramatsu N, Oze T,

- Yakushijin T, Miyazaki M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Iio S, Doi Y, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Mochizuki K, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Hayashi E, Hayashi N, Takehara T.
- Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol.* 2012 Jan 11. [Epub ahead of print]
- 2) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Imanaka K, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Nagase T, Inui Y, Hijioka T, Tamura S, Yoshihara H, Hayashi E, Imai Y, Kato M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.
- The efficacy of extended treatment with pegylated interferon plus ribavirin in patients with HCV genotype 1 and slow virologic response in Japan. *J Gastroenterol.* 2011; 46:944-52.
- 3) Hiramatsu N, Inoue Y, Oze T, Kurashige N, Yakushijin T, Mochizuki K, Miyagi T, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Imai Y, Hayashi N.
- Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for hepatitis C patients with normal ALT levels: a matched case-control study. *J Gastroenterol.* 2011;46:1335-43.
- 4) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Fukui H, Hijioka T, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Hayashi E, Kato M, Hosui A, Miyagi T, Ishida H, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.
- Efficacy of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan. *J Gastroenterol.* 2011 in press
- 5) Inoue Y, Hiramatsu N, Oze T, Yakushijin T, Mochizuki K, Fukuda K, Mita E, Haruna Y, Inoue A, Imai Y, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.
- Amino acid substitution in the core protein has no impact on relapse in hepatitis C genotype 1 patients treated with peginterferon and ribavirin. *J Med Virol.* 2011;83:419-27.
- 6) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Fukui H, Inui Y, Hijioka T, Inada M, Kaytayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Kato M, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.
- Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy. *J Hepatol.* 2011;54:604-11.
- 7) 今井康陽  
C型肝炎に対する抗ウイルス療法による発癌予防  
総合臨牀、永井書店 第60巻1号 ; 76-80
2. 学会発表
- 1) 入潮佳子、今井康陽、井倉技、澤井良之、小来田幸世、福田和人、牧野祐紀、大濱日出子、松本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典、田中靖人、小瀬嗣子、平松直樹、林紀夫。  
IL28B major allele 症例におけるC型肝炎に対するPEG-IFN/RBV併用療法のSVRおよびNVRを規定する因子について  
第47回日本肝臓学会総会 2011.6.2-3 東京
- 2) 小瀬嗣子、平松直樹、宋昌浩、由雄祥代、薬師

神崇行、望月圭、萩原秀紀、春名能道、三田英治、今井康陽、法水淳、宮城琢也、吉田雄一、巽智秀、木曾真一、考藤達哉、笠原彰紀、竹原徹郎、林紀夫。

難治性 C 型肝炎に対する Peg-IFN/RBV 併用療法の治療効果と IL28B 遺伝子多型との関係について—多施設 (OLF) 共同研究—

第 47 回日本肝臓学会総会 2011.6.2-3 東京

- 3) 澤井良之、今井康陽、井倉技、福田和人、小来田幸世、大濱日出子、牧野祐紀、土本雄亮、松本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典、入潮佳子、田中靖人、小瀬嗣子、平松直樹、林紀夫。

Genotype1 型の C 型慢性肝疾患における HCC の発現と HCV の Core70,91 アミノ酸変異、ISDR 変異と IL28B 遺伝子多型の関係について

第 47 回日本肝臓学会総会 2011.6.2-3 東京

- 4) 小瀬嗣子、平松直樹、宋昌浩、薬師神崇行、望月圭、飯尾禎元、山田晃、萩原秀紀、三田英治、伊藤敏文、稲田正巳、吉原治正、井上敦雄、今井康陽、林英二郎、加藤道夫、吉田雄一、巽智秀、木曾真一、考藤達哉、笠原彰紀、竹原徹郎、林紀夫。

Peg-IFN/RBV/VitaminD 併用療法の有用性について—多施設 (OLF) 共同研究—

第 47 回日本肝臓学会総会 2011.6.2-3 東京

- 5) 水本壘、澤井良之、今井康陽、井倉技、小来田幸世、福田和人、大濱日出子、牧野祐紀、土本雄亮、宇都宮大輔、岩崎哲也、中松大、松本康史、中原征則、厨子慎一郎、黒川正典。

B 型慢性肝疾患に対するラミブジン+アデホビル治療の有効性を規定する因子の検討

第 47 回日本肝臓学会総会 2011.6.2-3 東京

- 6) 水本壘、澤井良之、卜部彩子、大西孝典、倉橋知英、牧野祐紀、宇都宮大輔、大濱日出子、小来田幸世、松本康史、中原征則、井倉技、厨子慎一郎、福田和人、今井康陽、黒川正典、三田英治。

Young Investigator Session : 肝 2 B 型慢性肝疾患に対するラミブジン+アデホビルの治療の有効性を規定する因子の検討

日本消化器病学会近畿支部 第 95 回例会  
2011.8.20 大阪

- 7) 菅理恵、井倉技、今井康陽、福田和人、澤井良之、小来田幸世、土本雄亮、大濱日出子、牧野祐紀、藤井真由子、入潮佳子、森本修邦、黒川正典。

PSE および脾摘後の C 型肝炎硬変症例におけるペグインターフェロン・リバビリン併用療法の有効性に関する検討

第 15 回日本肝臓学会大会 2011.10.20-21 福岡

- 8) 入潮佳子、今井康陽、小瀬嗣子、平松直樹、三田英治、外山隆、葛下典由、永瀬寿彦、土井喜宣、山田晃、加藤道夫、福田和人、井倉技、竹原徹郎、林紀夫。

C 型慢性肝炎におけるセロタイプ 2 型に対する PEG-IFN  $\alpha$ -2a 単独療法の有効性に関する検討

第 15 回日本肝臓学会大会 2011.10.20-21 福岡

- 9) 今井康陽、井倉技、福田和人。  
シンポジウム 1 : テーラーメイド医療時代の C 型肝炎治療戦略 C 型肝炎高ウイルス量症例に対する PEG-IFN/RBV 併用療法および PEG-IFN 単独療法の治療成績に基づいた治療戦略

第 39 回日本肝臓学会西部会 2011.12.9-10 岡山

- 10) 福田和人、井倉技、今井康陽。  
主題ポスター (口演) : 急性肝炎の実態 当科における急性肝炎・肝障害の検討

第 39 回日本肝臓学会西部会 2011.12.9-10 岡山

## G. 知的財産権の出願・登録状況

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

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
鈴木義之	⑤B型慢性肝炎の治療 b)ラミブジン	虎の門病院 肝臓センター	これだけは知っておきたい B型慢性肝炎の治療	医薬ジャーナル社	東京	2011年	54-62

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Kurokawa M, et al. (三田、今井)	Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection.	J Gastroenterol.	Jan 11. [Epub ahead of print]		2012
Oze T, et al. (三田、加藤、 脇岡、今井)	Reducing Peg-IFN doses causes later virologic response or no response in HCV genotype 1 patients treated with Peg-IFN alfa-2b plus ribavirin.	J Gastroenterol.	Nov 23. [Epub ahead of print]		2011
Tamada Y, et al. (三田、八橋、 中牟田、脇岡、 島田、太田)	Hepatitis B virus strains of subgenotype A2 with an identical sequence spreading rapidly from the capital region to all over Japan in patients with acute hepatitis B.	Gut.	Nov 7. [Epub ahead of print]		2011
Kanto T, et al. (三田)	Dynamics of regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells as immune markers for virological response in pegylated interferon- $\alpha$ and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients.	J Gastroenterol.	Sep 27. [Epub ahead of print]		2011



Hiramatsu N, et al. (三田、今井)	Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for hepatitis C patients with normal ALT levels: a matched case-control study.	J Gastroenterol.	46	1335 -43	2011
Oze T, et al. (三田、肱岡、今井)	Efficacy of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan.	J Gastroenterol.	46	1031 -7	2011
Oze T, et al. (三田、加藤、肱岡、今井)	Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy.	J Hepatol.	54	604 -11	2011
Inoue Y, et al. (三田、今井)	Amino acid substitution in the core protein has no impact on relapse in hepatitis C genotype 1 patients treated with peginterferon and ribavirin.	J Med Virol.	83	419 -27	2011
三田英治	C型肝炎 Hepatitis C among HIV-infected patients.	HIV感染症とAIDSの治療	2	37-42	2011
Matsumoto A, et al. (八橋)	Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B.	Hepatol Res.		Nov 22	2011
Suzuki F, et al. (鈴木)	Influence of ITPA polymorphisms on decreases of hemoglobin during treatment with pegylated interferon, ribavirin, and telaprevir.	Hepatology	53	415 -21	2011

Arase Y, et al. (鈴木)	Efficacy and safety of combination therapy of natural human interferon beta and ribavirin in chronic hepatitis C patients.	Internal Medicine	50	1 -7	2011
Kobayashi M, et al. (鈴木)	Highly sensitive AFP-L3% assay is useful for predicting recurrence of hepatocellular carcinoma after curative treatment pre- and postoperatively.	Hepatol Res.	41	1036 -45	2011
Arase Y, et al. (鈴木)	Development rate of chronic kidney disease in hepatitis C virus patients with advanced fibrosis after interferon therapy.	Hepatol Res.	41	946 -54	2011
Imai N, et al. (鈴木)	Previous chemoembolization response after transcatheter arterial chemoembolization (TACE) can predict the anti-tumor effect of subsequent TACE with miriplatin in patients with recurrent hepatocellular carcinoma.	Oncology	80	188 -94	2011
Arase Y, et al. (鈴木)	The development of chronic kidney disease in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease.	Intern Med.	50	1081 -7	2011
Akuta N, et al. (鈴木)	Amino acid substitutions in hepatitis C virus core region predict hepatocarcinogenesis following eradication of HCV RNA by antiviral therapy.	J Med Virol	83	1016 -22	2011

Ikeda K, et al. (鈴木)	Stage progression of small hepatocellular carcinoma after radical therapy: comparisons of radiofrequency ablation and surgery using the Markov model.	Liver Int.	31	692 -9	2011
Arase Y, et al. (鈴木)	Efficacy and safety in sitagliptin therapy for diabetes complicated by chronic liver disease caused by hepatitis C virus.	Hepatol Res.	41	524 -9	2011
Akuta N, et al. (鈴木)	Amino acid substitution in HCV core/NS5A region and genetic variation near IL28B gene affect treatment efficacy to interferon plus ribavirin combination therapy.	Intervirolgy	Epub ahead of print		2011
Akuta N, et al. (鈴木)	Amino acid substitution in HCV core region and genetic variation near the IL28B gene affect viral dynamics during telaprevir, peginterferon and ribavirin treatment.	Intervirolgy	Epub ahead of print		2011
Kawamura Y, et al. (鈴木)	Large-Scale Long-Term Follow-Up Study of Japanese Patients With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease for the Onset of Hepatocellular Carcinoma.	Am J Gastroenterol	Epub ahead of print		2011
鈴木義之、他	NS5A 阻害剤と NS3 プロテアーゼ阻害剤併用投与における早期抗ウイルス効果	肝臓	52	147 -9	2011
保坂哲也、他 (鈴木)	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	肝臓	52	255 -7	2011
小林万利子、他 (鈴木)	コバス TaqManHBV「オート」v2.0 における同一時の血清検体と血漿検体の HBVDNA 検出率の検討	肝臓	52	756 -7	2011

Tamai T, et al. (宇都)	Serum manganese superoxide dismutase and thioredoxin are potential prognostic markers for HCV-related hepatocellular carcinoma	World J Gastroenterol	17	4890-8	2011
Oda K, et al. (宇都)	Highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive $\alpha$ -fetoprotein is useful for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease	Oncol Rep	26	1227-33	2011
Hiramine Y, et al. (宇都)	Sorafenib and hepatic arterial infusion chemotherapy for unresectable advanced hepatocellular carcinoma: A comparative study	Exp Ther Med	2	433-41	2011
Chayama K, et al. (柘植)	Animal model for study of human hepatitis viruses.	J Gastroenterol Hepatol	26	13-8	2011
Ohishi W, et al. (柘植)	Impact of radiation and hepatitis virus infection on risk of hepatocellular carcinoma.	Hepatology	53	1237-45	2011
Tsuge M, et al. (柘植)	Effects of hepatitis B virus infection on the interferon response in immunodeficient human hepatocyte chimeric mice.	J Infect Dis	204	224-8	2011
Matsumoto A, et al. (柘植)	Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B.	Hepatol Res.	42	139-49	2012

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷

これだけは知っておきたい

# B型慢性肝炎の 診断と治療

虎の門病院 肝臓センター 編

熊田博光  
池田健次  
荒瀬康司  
鈴木義之  
斎藤 聡  
鈴木文孝  
小林正宏  
芥田憲夫  
保坂哲也  
瀬崎ひとみ  
小林万利子

Ⓢ 医薬ジャーナル社

## 5 B型慢性肝炎の治療

### b) ラミブジン

#### はじめに

B型慢性肝炎(chronic hepatitis B : CHB)の治療は、ステロイド離脱療法が登場したことで従来の肝庇護療法から大きく舵を切り、ウイルスを排除することを目的とした治療法が開始されました。ステロイド離脱療法が感染宿主の免疫応答を利用してHBe抗原(hepatitis B e antigen)をセロコンバージョン(seroconversion)にもっていく方法であったのに対して、1986年に登場したインターフェロン(IFN)療法は、宿主の免疫と抗ウイルス効果の両面を備えた治療法でありました。その後10年以上が経過し、抗ウイルス療法を主体とした核酸アナログ製剤が世に出てまいりました。2000年にわが国でもラミブジン(lamivudine : LAM [LMV])が認可されたことで、HBVに対し強力な抗ウイルス効果を発揮する薬剤としてB型慢性肝疾患の治療に幅広く使用され、その治療効果には特記すべきものがありました。

しかしながら、長期投与に伴い耐性株の出現によるbreakthrough hepatitisの出現、時には重症化といった問題が生じ、現行のガイドラインからは選択肢の中から外されております。このような再燃した肝炎に対する治療としてadefovir dipivoxil(ADV[アデホビル])が登場し、2006年には耐性ウイルスの出現が極めて低いentecavir(ETV[エンテカビル])が認可されたことで、LAMは第一選択薬の座を明け渡すこととなったわけであります。その成績については、他稿(⑤-c)アデホビル(63頁)、⑤-d)エンテカビル(68頁)にお願いすることとして、LAMが21世紀初めにB型慢性肝疾患に対してどれほどの効果をもたらし、また新たな問題点を提起してきたか、その功罪について述べていきたいと思ひます。

#### I. ラミブジン投与の治療効果

わが国の保険認可後10年を経過し、多くの症例にLAMが投与され、その功罪が論

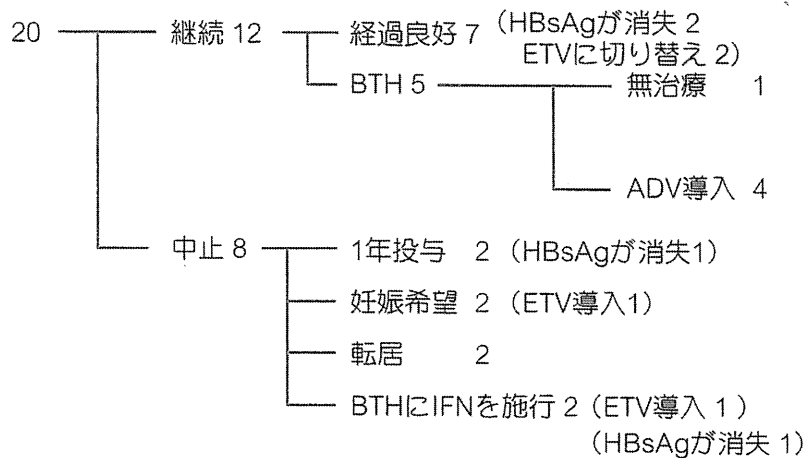


図1 ラミブジン長期投与症例の経過  
 10年投与で4例にHBsAgの消失が得られました。  
 BTH: breakthrough hepatitis (耐性株出現後の肝炎の増悪)  
 (虎の門病院データ)

じられてきました。2000年代前半は、いかに薬剤を中止するかということに論点が置かれ、短期投与を試みたトライアルが幾つもなされましたが、中止、終了後の肝炎の再燃率が高く、結局、再投与を余儀なくされることがわかってまいりました。結論からすれば長期投与が主流であり、耐性ウイルスが出現することは認識しつつも本薬剤を短期で中止することは難しいとの見解でした。

このような状況のなか、筆者らは長期投与を推奨するという立場でしたが、これまでの長期投与症例の成績をHBe抗原、抗体別に整理してみました。3年以上の投与期間のあるHBe抗原陽性例では、e抗原の陰性化率は、1年40%、3年53%、5年73%となっており良好な結果が得られていました。一方、e抗体陽性症例では、ALT(アラニンアミノトランスフェラーゼ)正常化率は、3年87%、5年98%であり、HBV DNA陰性化率(3.7 LGE/mL未満)は3年78%、5年75%と十分な効果が示されました。さらに15年を越える長期投与を行っている症例として、虎の門病院で1995年より治療として開始した20症例の経過を示します(図1)。継続症例は12例(60%)ありますが、このうち7例は経過良好で、2例はHBs抗原(hepatitis B surface antigen)の消失まで至り、その後LAMを中止してあります。残りの5例にbreakthrough hepatitis(BTH)が生じており、4例はADVの併用投与を余儀なくされてありますが、併用後は安定した経過をたどっております。さまざまな理由で中止した症例は8例ありましたが、妊娠を希望し中止した症例はいずれも出産後、ほどなくして肝炎の再燃が認められ、一例はLAM再開後BTHをきたしADVを併用、一例はETVの導入を行



い安定した経過が認められています。これらの症例は、定期的に肝生検を行っており、その変化については後述します。

15年の経過を振り返ってみますと、転居によりフォローができていない2例を除いた18例中4例にHBs抗原の消失が得られ長期の治療を中止に持ち込んでいます。一方、LAM単独で経過良好な症例は数少なく4例のみであり、他はADV併用5例、ETVへの切り替え4例となっており、LAMの単独長期を継続することがいかに困難であることがわかります。前述しましたように、最近では第一選択薬はETVでありますので、今後はLAMを長期にわたって投与するといったケースはほとんどみられなくなってくると思われます。

## II. ラミブジン長期投与における組織学的改善効果

前述しました20症例は、投与開始後定期的に肝生検を行って組織学的変化を検討しました。まず図2に示してあるのが1年間でのHAIスコアの変化であります<sup>1)</sup>。図に示してありますように、壊死炎症は著明に改善されております。また、わずか1年間という短期間の間に線維化についても有意差をもって改善が得られております。1

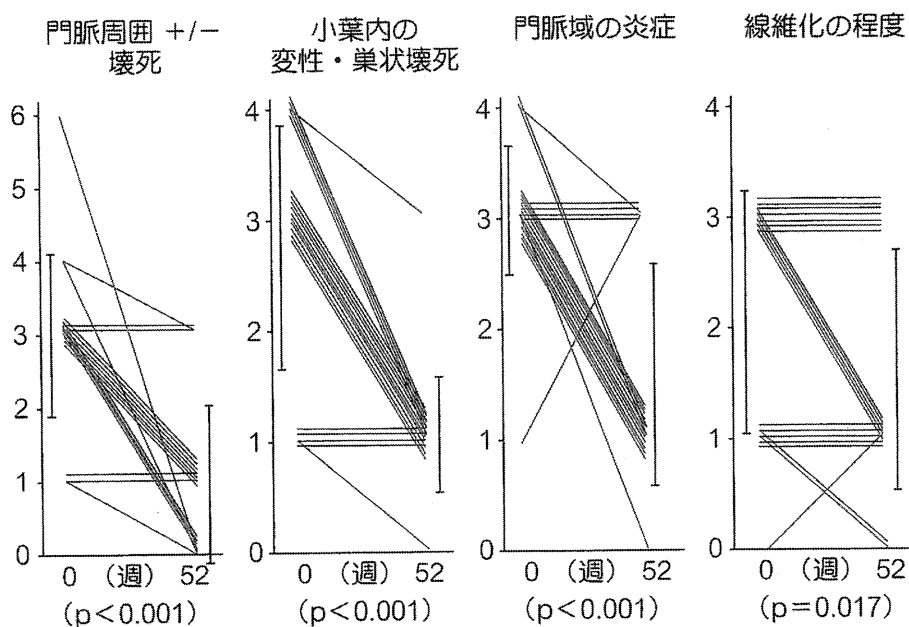


図2 ラミブジン52週投与前後でのHAIスコアの変化  
52週間のLAM投与により、壊死・炎症のスコアのみならず線維化の程度も改善していることが示されています。

(文献1より改変引用)

表1 ラミブジン投与症例における組織学的変化

症例	年齢 性別	HAI スコア			改善度の比較
		投与前	1年後	3年後	投与前 vs 3年後
グループA (YMDD mutants 出現なし)					
1	34M	12 (3, 3, 3, 3)	3 (0, 1, 1, 1)	2 (0, 1, 0, 1)	10 (3, 2, 3, 2)
2	46M	10 (3, 3, 3, 1)	4 (1, 1, 1, 1)	3 (0, 1, 1, 1)	7 (3, 2, 2, 0)
3	45M	13 (3, 4, 3, 3)	8 (1, 1, 3, 3)	5 (0, 1, 1, 3)	8 (3, 3, 2, 0)
4	52M	14 (4, 4, 3, 3)	10 (3, 1, 3, 3)	5 (0, 1, 1, 3)	9 (4, 3, 2, 0)
5	28F	3 (1, 1, 1, 0)	6 (1, 1, 3, 1)	2 (0, 1, 1, 0)	1 (1, 0, 0, 0)
6	48M	17 (6, 4, 4, 3)	3 (0, 1, 1, 1)	5 (0, 1, 1, 3)	12 (6, 3, 3, 0)
7	45F	15 (4, 4, 4, 3)	5 (0, 1, 1, 3)	4 (0, 1, 0, 3)	11 (4, 3, 4, 0)
8	65M	10 (3, 3, 3, 1)	4 (1, 1, 1, 1)	3 (0, 1, 1, 1)	7 (3, 2, 2, 0)
9	45F	10 (3, 3, 3, 1)	3 (1, 1, 1, 0)	2 (0, 1, 1, 0)	8 (3, 2, 2, 1)
		11.6 ± 3.8	5.1 ± 2.3	3.4 ± 1.3	8.1 ± 3.0

P < 0.001

グループB (YMDD mutants 出現あり)					
10	42M	10 (3, 3, 3, 1)	3 (0, 1, 1, 1)	3 (0, 1, 1, 1)	7 (3, 2, 2, 0)
11	38M	10 (3, 1, 3, 3)	8 (1, 1, 3, 3)	5 (0, 1, 1, 3)	5 (3, 0, 2, 0)
12	40M	12 (3, 3, 3, 3)	8 (3, 1, 3, 1)	6 (1, 1, 3, 1)	6 (2, 2, 0, 2)
13	57M	12 (3, 3, 3, 3)	6 (1, 1, 1, 3)	8 (1, 3, 1, 3)	4 (2, 0, 2, 0)
14	28M	10 (3, 3, 3, 1)	3 (0, 1, 1, 1)	4 (1, 1, 1, 1)	6 (2, 2, 2, 0)
15	59M	12 (3, 3, 3, 3)	4 (1, 1, 1, 1)	6 (1, 1, 1, 3)	6 (2, 2, 2, 0)
16	44M	10 (3, 1, 3, 3)	4 (1, 1, 1, 1)	3 (0, 1, 1, 1)	7 (3, 0, 2, 2)
		10.9 ± 1.0	5.1 ± 2.0	5.0 ± 1.7	5.9 ± 1.0

P < 0.001

P < 0.001

YMDD 変異の有無による HAI スコアの変化を 4 項目別に提示しました(門脈周囲 +/- 壊死, 小葉内の変性・巣状壊死, 門脈域の炎症, 線維化の程度)。

HAI スコア (Histological Activity Index Score : 組織活動性指標)

YMDD mutants : YMDD 変異, M : 男性, F : 女性

(文献 2 より改変引用)

年を経過したのちより, LAM 投与においては耐性ウイルスの出現率が高くなっていくわけですが, 表 1 は YMDD motif に変異を起こした群とそうではない群の間に, 組織学的改善度に差があるか否かを示しております<sup>2)</sup>。

上段の 9 症例は耐性ウイルスを伴っておらず, 肝炎の安定化が持続している集団で

表2 ラミブジン長期投与症例の組織学的変化

	n	改善 (%)	不変 (%)	悪化 (%)
1年目	20	16 (80)	3 (15)	1 (5)
3年目	17	12 (70)	4 (24)	1 (6)
7年目 (7年以上を含む)	15	10 (67)	3 (20)	2 (13)

組織学的評価は新犬山分類に従いました。いずれの時期も投与開始前の組織と比較しました。

(当院データ)

すが、3年間の組織学的改善は予想以上のものであり、それまで行われてきた治療の中で最も優れたものでありました。一方、耐性ウイルスの出現を認め肝炎の再燃もあるような下段7症例においては、上段の集団と比べると改善の割合はやはり低くなっております。しかしながら、それでも治療開始前に比較すれば有意な改善であり、LAMは肝炎の鎮静化のみならず組織学的にも有効な薬剤であることが示されました。

さらに、その後も組織の検討を行った症例は15例ありますが、7年間の間にBTHを起こし、肝炎の再燃に対してインターフェロンによる治療を行った症例も含めて検討しました。表2に1, 3, 7年目の変化をまとめましたが、年を追うごとに改善症例が減少し悪化する症例も増加しております。このように、BTHを起こし長期経過した症例の中には組織学的進行例もあることから、他の核酸アナログとの併用や変更が必要となってくるわけであります。

このように経過が良好な症例は、1年後、3年後の肝生検では開始時より肝組織はいずれも改善が認められているわけですが、これらの症例のうちHBs抗原が消失し、組織学的にも改善の得られた症例を呈示いたします。

## 1. 症例

HBe抗原陽性でウイルス量も多く、genotype (遺伝子型) はCで垂直感染の男性であります。前治療として行われたIFN治療も効果がなく、45歳時よりLAMの投与を開始しました。その後HBe抗原はセロコンバージョンし経過良好にてLAM投与を継続し、10年の継続投与にてHBs抗原の消失が得られました。この間、図3に示すように経時的に肝生検を行い、壊死炎症のみならず線維も吸収され、進行していた肝組織の著明な改善が認められました。

5 B型慢性肝炎の治療 b) ラミブジン

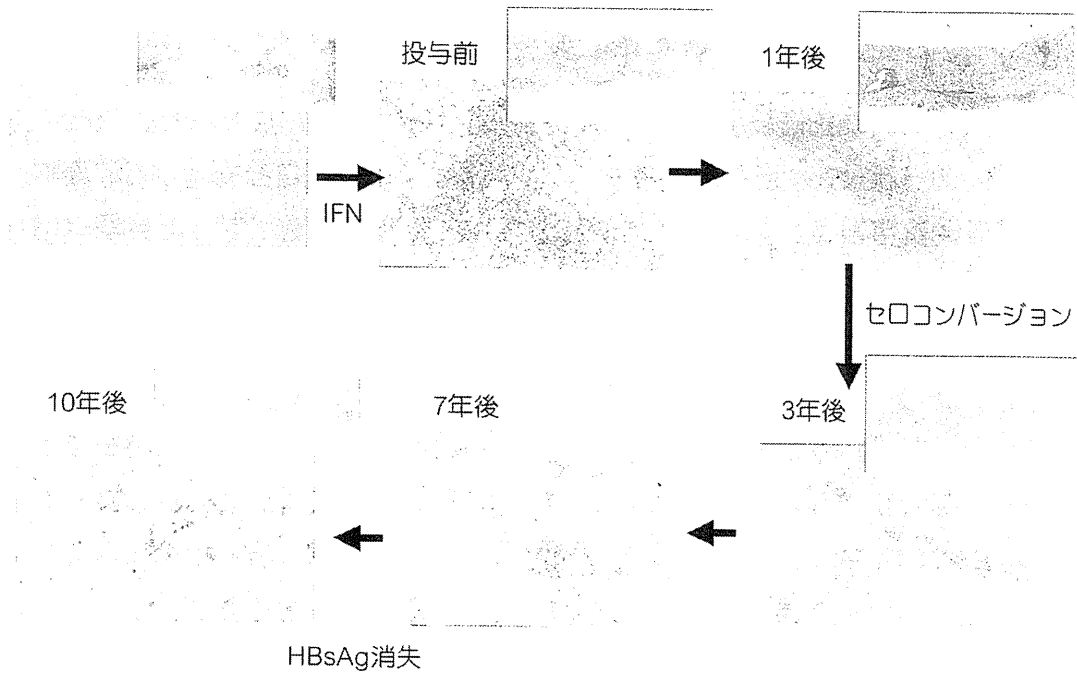


図3 ラミブジン投与により HBsAg の消失をきたした症例  
 長期にわたる LAM 投与により，壊死・炎症のみならず線維化も著明に改善しています。  
 (当院データ)

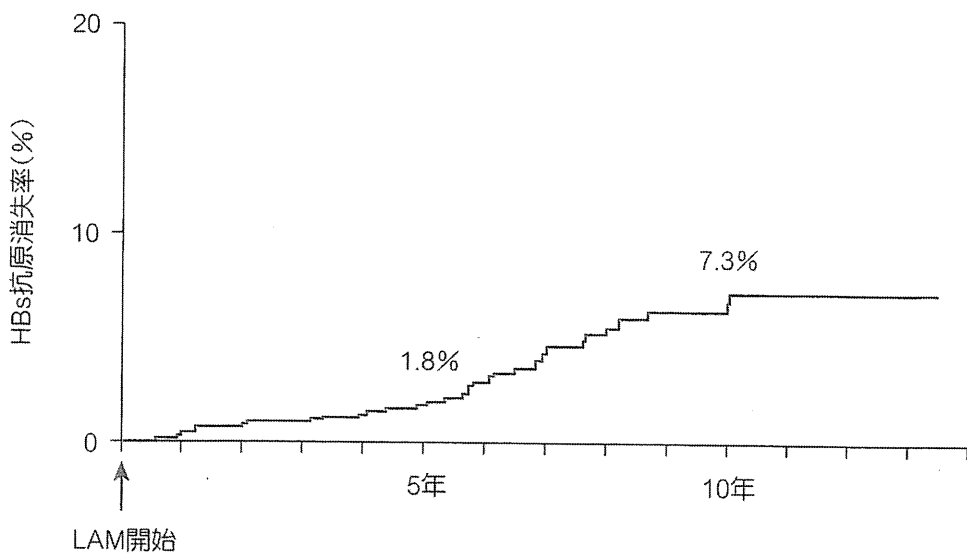


図4 核酸アナログ開始後の累積 HBs 抗原消失率  
 当院のデータでは，LAM の長期投与により，HBs 抗原の消失する症例があり，10  
 年間で7.3%という高い消失率が得られています。