

201227001B

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

**B型慢性肝炎に対する新規逆転写酵素阻害剤
テノホビルの有効性・安全性に関する検討**

平成 22-24 年度 総合研究報告書

研究代表者 三田 英治

平成 25(2013)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

**B 型慢性肝炎に対する新規逆転写酵素阻害剤
テノホビルの有効性・安全性に関する検討**

平成 22-24 年度 総合研究報告書

研究代表者 三田 英治

平成 25(2013)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

1. 三田 英治
B型慢性肝炎に対する新規逆転写酵素阻害剤テノホビルの有効性
・安全性に関する検討 1

II. 分担研究報告書

1. 八橋 弘
ラミブジン+アデホビル併用療法反応不良に関わる因子および反応
不良例に対するテノホビルの効果の検討 11
2. 中牟田 誠
B型肝炎症例における核酸アナログ治療効果についての検討 16
3. 加藤 道夫
ラミブジン・アデホビル併用治療例の経過とテノホビル治療の有
用性について 19
4. 肱岡 泰三
国立病院機構大阪南医療センターにおける B 型慢性肝炎に対する
核酸アナログ療法 22
5. 正木 尚彦
アデホビル アドオンからテノホビル アドオンへ切り替えたラミブ
ジン耐性 B 型慢性肝炎における B 型肝炎ウイルス遺伝子変異に関す
る検討 32
6. 島田 昌明
ラミブジン・アデホビル併用療法効果不良 B 型慢性肝炎に対する
テノホビル切替長期経過例 35
7. 太田 肇
B 型慢性肝疾患の核酸アナログ治療例における HBs 抗原量および
HB コア関連抗原量の検討 37
8. 鈴木 義之
B 型慢性肝疾患に対するテノホビルの切替試験の有効性 41
9. 宇都 浩文
肝炎助成申請からみた B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤
治療の現状 44
10. 柘植 雅貴
薬剤耐性 HBV に対するテノホビルの抗ウイルス効果の検討 48
11. 今井 康陽
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 56

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	62
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷	69

I . 総括研究報告

主任研究者：三田 英治 大阪医療センター消化器科科長

研究要旨：ラミブジン・アデホビル効果不良例に対するアデホビルをテノホビルに切り替える介入試験を行ったところ、全例で良好な抗 HBV 効果を認めた。またラミブジン・アデホビル併用療法に耐性を示した症例に対しても、アデホビルをテノホビルに切り替えたところ、おおむね良好な抗 HBV 効果を得たが、アデホビルの耐性変異である A181T+N236T 両方の変異を有する症例では抗 HBV 効果は限定的であった。この両変異のテノホビルへの抵抗性は *in vitro* の実験系でも証明された。一方でテノホビルは、同じく acyclic phosphate group に属するアデホビルとともに腎機能障害を惹起することが知られているが、アデホビルでの副作用発現前はクレアチニン、ALP などを厳密にモニタリングすることで適切に対応できる可能性が示唆された。ただ副作用発現時の薬剤変更に関しては、今後さらなる多数例での検討が必要と思われる。

研究分担者（報告書順）

八橋 弘	長崎医療センター
中牟田誠	九州医療センター
加藤道夫	南和歌山医療センター
肱岡泰三	大阪南医療センター
正木尚彦	国立国際医療研究センター
島田昌明	名古屋医療センター
太田 肇	金沢医療センター
鈴木義之	虎の門病院
宇都浩文	鹿児島大学
柘植雅貴	広島大学
今井康陽	市立池田病院
研究協力者	
石田 永	大阪医療センター
外山 隆	大阪医療センター

耐性化をおこす症例を経験するようになった。一旦、多剤耐性化するとその後の治療に難渋するケースが多く、反応不良の段階で何らかの対応策を講じることが望ましい。

アメリカ肝臓病学会 AASLD のガイドライン^{1,2)}、欧州肝臓病学会 EASL のガイドライン³⁾、アジア太平洋肝臓病学会のガイドライン⁴⁾を見ても、耐性化例に対してはテノホビルが key drug となっている。しかし、日本では保険認可を得ていない。

その原因は対象症例が少ないため、治験が日本に招致できなかったことにある。現在、核酸アナログ naïve 例に対してはエンテカビルが推奨されている。抗 HBV 活性が強力で、5年後の耐性変異が 1.2%と低率のため⁵⁾、核酸アナログ naïve 例に対する治療でテノホビルの必要性は緊急の課題ではない。しかし、長期投与例が増えるとエンテカビル耐性化例も 1,000 例を超してくる（図 1）。さらにラミブジン・アデホビル併用療法の反応不良例は 3,000 例を超え、この中から耐性化例が出現すると思われ

A. 研究の背景と目的

B型肝炎に対し核酸アナログが導入されるようになって、肝炎の鎮静化ひいては肝発癌の抑制が期待できるようになった。しかし、長期投与例が増えるにしたがって、反応不良例から

るし、アデホビルの腎障害の症例ではアデホビルを中止するか減量する必要がある、その対処は喫緊の課題である。

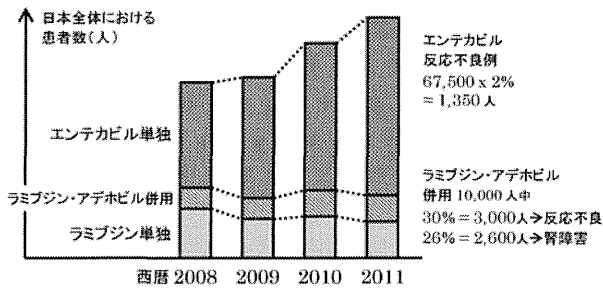


図1 核酸アナログ投与例数とテノホビルが必要な対象

本研究の第一の目的はB型肝炎に対する核酸アナログ治療の現況を詳細に検討、その課題を洗い出すことにある。その上で、key drugであるテノホビルの有効性と安全性を検証することとした。

- 1) Lok ASF, et al. AASLD practice guideline update. Chronic Hepatitis B: Update 2009. Hepatology
- 2) Lok ASF, et al. AASLD practice guideline update. Chronic Hepatitis B. Hepatology 2007;45:507-39.
- 3) European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B. J Hepatol 2009;50:227-42.
- 4) Liaw YF, et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update. Hepatol Int. 2012;6:531-61.
- 5) Tenney DJ, et al. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy. Hepatology 2009;49:1503-14.

B. 研究方法 (含、倫理面への配慮)

B-1. 核酸アナログ反応不良もしくは副作用のためテノホビルが必要となる症例の特徴

研究班員と研究協力者である国立病院機構ネットワーク共同研究グループから該当症例を抽出し、その特徴を個々の症例毎に検討した。

B-2. ラミブジン・アデホビル併用療法反応不良例に対するアデホビルをテノホビルに切り替える介入試験

ラミブジン耐性例に対しアデホビルを追加併用して2年経過してもHBV-DNAが $4 \log_{10}$ copies/mL未満にならないB型慢性肝疾患症例を反応不良と定義した。反応不良例に対し、アデホビルをテノホビルに切り替える臨床試験を勘案した。他の条件としては、

- (1) ALT値は問わない
- (2) HBe抗原も問わない
- (3) 他の肝疾患の関与が否定されている
- (4) 肝細胞癌はないか、良好にコントロールされていること
- (5) 腎機能が正常である
- (6) HIV感染がない

こととした。主要評価項目はテノホビル切り替え2年後のHBV-DNAの測定感度未満とした。

B-3. ラミブジン・アデホビル併用療法耐性化例に対するアデホビルをテノホビルに切り替える介入試験

ラミブジン耐性例に対しアデホビルを追加併用して2年経過してもHBV-DNAが $4 \log_{10}$ copies/mL未満にならないB型慢性肝疾患症例で、HBV-DNAが底値から $1 \log_{10}$ copies/mL以上上昇したものを耐性化例とした。耐性化例に対し、アデホビルをテノホビルに切り替える臨床試験を勘案した。他の条件としては、B-2と同じである。B-3試験はrescue therapyの意味合いが強く、HBV-DNAの経時的経過を観察した。

C. 研究結果

C-1. 核酸アナログ反応不良もしくは副作用のためテノホビルが必要となる症例の特徴

(1) エンテカビル耐性化例 (図2)

症例はエンテカビル導入時40歳代の女性。エコーガイド肝生検で新犬山分類A1F1と診断した。HBV genotypeはCのHBe抗原陽性例であった。HBV-DNAは $7.6 \log_{10}$ copies/mL以上、プレコア領域は100%野生、コアプロモーターは混合型であった。ALT値は117 IU/Lと異常を呈するため、エンテカビルを導入した。半年程度でHBV-DNAは $4 \log_{10}$ copies/mL前後まで低下するもののほぼ下げ止まり、27ヶ月目の $3.6 \log_{10}$ copies/mLを底値として、以降耐性化した。43ヶ月目にはHBV-DNAは $7.4 \log_{10}$ copies/mLまで上昇するが、ALT値は12 IU/Lと正常範囲であった。しかし、46ヶ月目にはALTは54 IU/Lと異常値をとり（その際のHBV-DNAは $8.0 \log_{10}$ copies/mL）、さらに47ヶ月目にはALT 108 IU/Lまで上昇した。AASLDのガイドラインで推奨されているテノホビルは日本では保険適応外のため、肝庇護療法を行ったところ、肝機能は正常化した。エンテカビルに耐性化した時点の血清を用い、核酸アナログ耐性変異をINNO-LiPA法で検討したところ、rtS202Gのエンテカビル耐性変異と判明した。

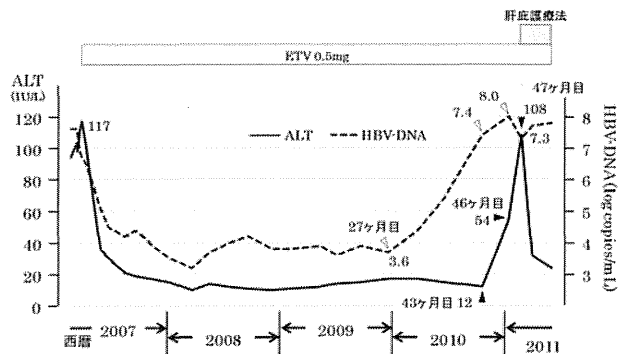


図2 エンテカビル耐性化例の臨床経過

(2) ラミブジン・アデホビル併用療法耐性化例

症例はアデホビル導入時、30歳代の男性である。B型慢性肝炎でラミブジンを導入するが、耐性化によるbreakthrough hepatitisをおこし、天然型インターフェロン α を用い、一旦肝炎は鎮静化した(図3)。その後、再度増悪したため、保険承認となったアデホビルを追加併用した。併用療法を始めたが、HBV-DNAの下

がりにはぶく、31ヶ月目を底値として両剤に耐性化した。テノホビルが保険承認されていないため、ラミブジンをエンテカビルに切り替えて経過観察したところ、HBV-DNAは $5 \log_{10}$ copies/mLで下げ止まった。エンテカビルへの切り替え時の薬剤耐性変異をINNO-LiPA法で検討したところ、アデホビルの耐性変異のうちrtN236Tを認めた。さらなる耐性化が危惧されたため、アデホビルをテノホビルに切り替えた。しかし、HBV-DNAの低下は $3.4 \log_{10}$ copies/mLまでの低下にとどまっている。テノホビル切り替え時におけるアデホビルの耐性変異はrtA181TとN236Tの両方を有していた。

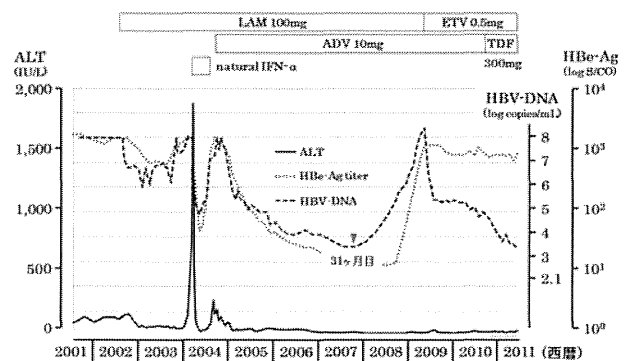


図3 ラミブジン・アデホビル両剤に耐性化した症例の臨床経過

(3) ラミブジン・アデホビル併用療法で薬剤性Fanconi症候群を発症し、エンテカビル単独治療に切り替えた症例 (図4)

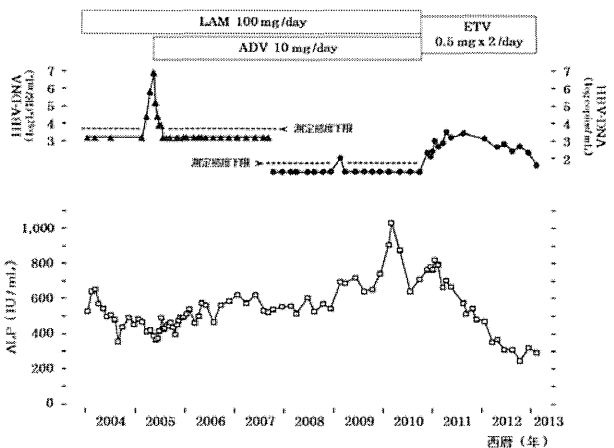


図4 Fanconi症候群のためアデホビルを中止した症例の臨床経過

症例は50歳代の男性。ラミブジン・アデホビル併用療法はすでに他医で導入されていた。

経過中薬剤性 Fanconi 症候群をおこし、当科に紹介となった。アデホビルが起因薬剤と考え、中止することとした。ラミブジン耐性をすでに獲得しているため、エンテカビルの倍量投与に切り替えたところ、測定感度下限未満だった HBV-DNA は $3.6 \log_{10}$ copies/mL まで上昇したが、そこからまた徐々に低下している。

(4) ラミブジン・アデホビル併用療法で薬剤性 Fanconi 症候群を発症したが、アデホビルの減量で経過が良好な症例 (図 5)

症例はアデホビル追加併用時 50 歳代の女性。ALT 上昇を伴う B 型慢性肝炎に対し、当初未承認のラミブジンをエピビル® 150mg として導入された。ゼフィックス® 100mg の発売とともに切り替えて経過観察されていた。しかしラミブジンに耐性化したため、アデホビルを追加併用された。その後 5 年以上の経過でクレアチニンが上昇し、アデホビルの腎障害と考え、両剤を半量に減量した。ほぼ同時に ALP 値の上昇と全身の骨痛を訴え、骨シンチの結果多発集積と骨折を確認、薬剤性 Fanconi 症候群と診断された。すでに両剤は減量しており、ALP 値の改善と自覚症状の軽快を認めた。

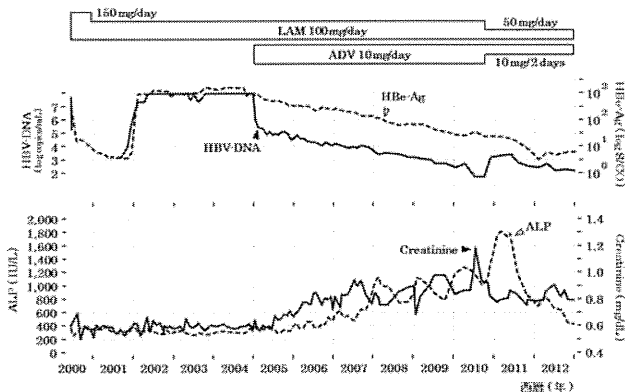


図 5 アデホビルの減量で薬剤性 Fanconi 症候群の軽快をみた症例の臨床経過

C-2. ラミブジン・アデホビル併用療法反応不良例に対するアデホビルをテノホビルに切り替える介入試験

症例は表 1 に示す 16 例。ラミブジンを導入して耐性化し、アデホビルを追加併用するまで

の期間の中央値は 37 ヶ月であった。平均的な経過の集団であると言える。アデホビルを追加併用して 2 年目の HBV-DNA が全例で $4 \log_{10}$ copies/mL 未満にはならず、反応不良例として経過観察中であった。各施設で倫理委員会の承認を受けたのち、アデホビルをテノホビルに切り替えた。アデホビルの追加併用からテノホビルへの切り替えまでの期間の中央値は 51 ヶ月であった。

表 1 患者背景

性別	男性 9、女性 7	
Genotype	C 16例	
LAM単剤から ADV併用までの期間	37 ヶ月 [12-64]	
ADV併用から TDF切替までの期間	51 ヶ月 [24-77]	
TDF切替時の背景因子	年齢	55 歳 [42-68]
	臨床診断	慢性肝炎 12例、肝硬変 4例
	HBV-DNA (Log CP/mL) 中央値 [range]	4.5 log CP/mL [3.3-6.6]
	HBe-Ag (+) : (-)	(+) 14例 : (-) 2例
ALT (IU/L)	46.2 ± 27.9	

HBV-DNA の推移を図 6 に示す。アデホビルを追加併用して 3 ヶ月目までに HBV-DNA は良好に低下するものの下げ止まり、その後は横ばいで推移する。

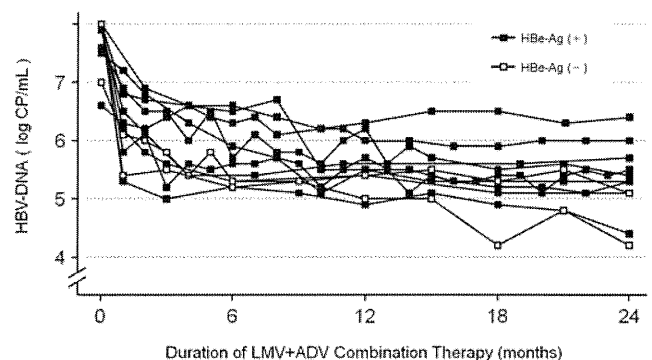


図 6 アデホビル追加併用後の HBV-DNA の推移

これらの症例に対し、アデホビルをテノホビルに切り替えると、その抗 HBV 効果は良好で 3 ヶ月目で HBV-DNA が測定感度未満を達成できるのは 16 例中 8 例、50.0% であった。6 ヶ月目には 16 例中 13 例 81.3%、12 ヶ月後には全例が達成していた。

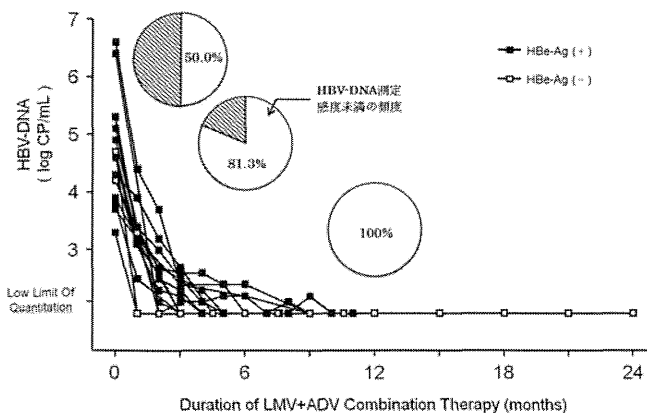


図7 アデホビルをテノホビルに切り替えてからのHBV-DNAの推移

テノホビルへの切り替え前の薬剤耐性変異をINNO-LiPA法で検討したところ(図8)、ラミブジンの耐性変異では16例中1例にrtL80Iと野生株の混在を、同じく1例にrtV173Lと野生株の混在を認めた。L180では1例のみが野生株、12例がrtL180Mの変異株、3例がrtL180Mと野生株の混在であった。また、M204のいわゆるYMDD locusでは全例が変異株で、YVDDが14例、YIDDが1例、YVDDとYIDDの混在が1例という結果であった。

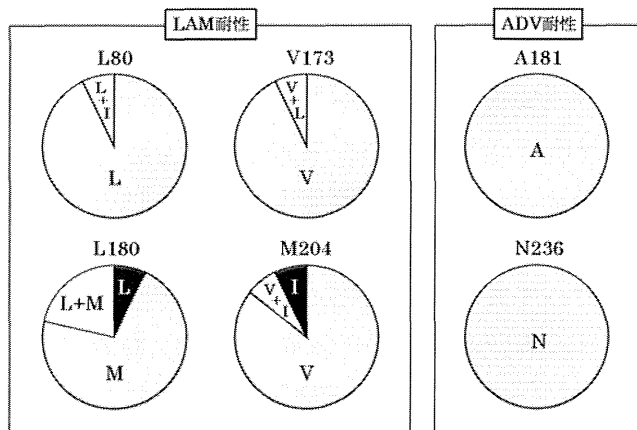


図8 テノホビル切り替え前の薬剤耐性変異
一方、アデホビルの耐性変異はA181、N236ともにINNO-LiPA法では確認できなかった。

C-3. ラミブジン・アデホビル併用療法耐性化例に対するアデホビルをテノホビルに切り替える介入試験

表2に示す計7例にrescue therapyとしてアデホビルからテノホビルへの切り替えを行った。

切替前	LAM耐性		ETV耐性		ADV耐性		HBV-DNA [#]	
	L180	M204	T184	S202	A181	N236	BL	at 1y
LAM+ADV 1 [®]	M	V	M	S	A	N	6.6	<2.1
LAM+ADV 2	L	I	T	S	T	N	4.9	<2.1
LAM+ADV 3	混 [§]	混	T	S	A	N	5.6	<2.1
LAM+ADV 4	L	M	T	S	A	N	4.8	<2.1
LAM+ADV 5	L	M	T	S	A	T	6.4	2.3
ETV+ADV 1	M	混	T	S	A	N	4.7	<2.1
ETV+ADV 2	L	M	T	S	T	T	5.5	3.2

: log CP/mL § : 「混」はL180IはM・Lの混合、M204IはV・Mの混合

表2 ラミブジン・アデホビル併用療法耐性でテノホビルへ切り替えた症例の一覧
BL, baseline

ラミブジン・アデホビル併用療法で両剤耐性化した症例でメニューを変更しないままだった5例は、テノホビル切り替え後1年で4例がHBV-DNA測定感度下限未満(2.1 log₁₀ copies/mL未満)となり、残り1例も2.3 log₁₀ copies/mLまで低下した。

一方で、ラミブジン・アデホビル併用療法耐性化で、ラミブジンをエンテカビルに切り替えていた症例の中には、テノホビルの切り替え効果が限定的な症例もあった。

D. 考察

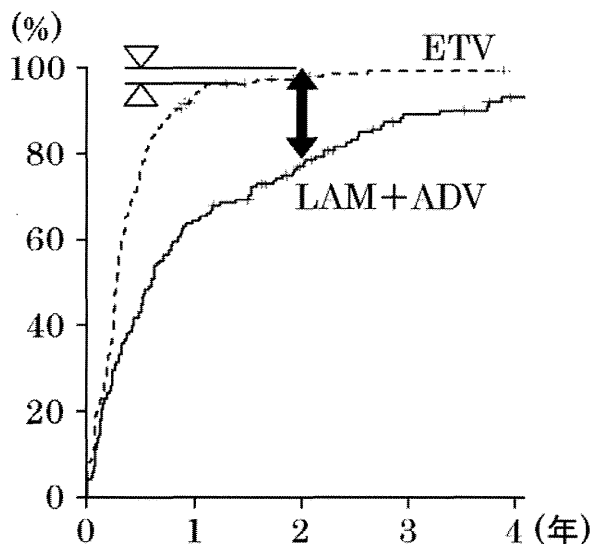


図9 核酸アナログによってHBV-DNA<3 log₁₀ copies/mL未満となる頻度の経時的推移

本研究のきっかけは平成21年11月にボストンで開催された AASLD にさかのぼる。B 型肝炎に対する核酸アナログ製剤の商業ブースはすでに東南アジア、特に中国にマーケットをしぼっており、Japan passing を痛感させられるものであった。世界的なシェアでテノホビルが第1位となっていた。しかし、日本では対象患者数が少ないため、治験の誘致がすすまない状況であった。

当時、国立病院共同研究班ではエンテカビルの治療成績をまとめていたが(図9)、抗HBV効果は極めて良好で、海外からの報告の低耐性化率(1.2%/5年)と同様であった。しかし、長期投与例が増えるにしたがい、C-1(1)のようにエンテカビル耐性例を経験するようになり、genotype C がメジャーの日本では耐性化率は欧米よりも若干高いと思われた。呈示した症例は肝庇護療法で一旦は経過したものの、HBV-DNA は高値を持続しており、肝炎の悪化や肝発癌のリスク回避からもテノホビルの追加併用が望ましく、今後の課題である。

エンテカビルに比べ、ラミブジン・アデホビル併用療法ではHBV-DNAの低下は満足のおく成績ではなかった。すなわち、併用療法開始2年目でHBV-DNAが $4 \log_{10} \text{ copies/mL}$ 未満にならない症例は全体の40%弱、 $3 \log_{10} \text{ copies/mL}$ 未満にならない症例は30%弱存在した。そして、この中から両剤耐性化例を経験した。この症例に対するテノホビルの切り替え効果は後述する。

また、アデホビルは腎機能障害を引き起こすことが知られている。同じacyclic phosphate groupに属するテノホビルも同様に腎障害をおこし、AASLDのガイドラインにも示されている²⁾。腎障害をおこしたとき、クレアチニンクリアランスに応じた減量の指針は示されているが、減量によるHBV-DNAの推移は明らかでなく、多数例の集積と解析が必要である。というのは、減量しても血中濃度は保たれるわけで、acyclic phosphate groupの核酸アナログが腎臓の近位尿細管から吸収されれば、腎障害は継続することになる。クレアチニンクリア

ランスに応じた減量基準を腎障害時は1段階強めに対応している施設もあり、これらの結果から得られた知見を腎障害時の指針として今後まとめる必要がある。C-1(3)(4)は腎障害に加え、薬剤性Fanconi症候群を発症した。C-1(3)は減量してもアデホビルの血中濃度が保たれるとの観点からラミブジン・アデホビル併用療法をエンテカビル倍量治療に変更した。エンテカビルの国内承認時は、核酸アナログnaïve例には0.5mgを1錠、ラミブジン耐性例に対しては2錠投与という使用方法が示された。その後、Tenneyら⁵⁾はラミブジン耐性例ではエンテカビル治療によっても5年で半数近くが耐性化することを示し、日本のガイドラインでもアデホビルの追加併用を推奨している。しかし、薬剤性Fanconi症候群はやむなく中止するケースに当たると判断し、C-1(3)症例ではエンテカビルの倍量使用となった。薬剤を変更してから、測定感度下限未満だったHBV-DNAが測定レンジまで上昇したため(図4)、肝炎の増悪が懸念されたが、その後HBV-DNAは低下に転じ、現在も落ち着いた状態を維持できている。一方、C-1(4)では薬剤性Fanconi症候群をおこしたが、薬剤メニューの変更ではなく、現治療の減量というかたちで対応されている。血中濃度は維持されているものと思われるが、腎機能および骨症状は改善を認めた。このように、アデホビルでの腎障害時の対応は施設や医師によってまちまちであった。エンテカビルへの変更の場合、薬剤耐性変異の有無が事前に調べることができればよいのだが、ラミブジン・アデホビル併用療法でHBV-DNAが測定感度下限未満であり、その情報を知ることは不可能で、エンテカビルに変更してからHBV-DNAの推移を慎重にみていくしか方策はない。また、減量するケースでも本来は個々の薬剤の血中濃度をモニタリングするのが望ましいが、現状では測定できず、これもまたALP値や骨症状の推移を観察し、薬剤の投与量を調節することになる。

このように核酸アナログ治療で多くのB型慢性肝疾患患者の病勢がコントロール可能で

あったが、治療に難渋するケースも少なくなく、テノホビルの国内承認は必要なものと思われた。ただ、アデホビルの腎障害例の集積が、学会レベルでの議論を活性化させ、ラミブジン・アデホビル併用療法時の Ca/P 測定、ALP 値への注視などにつながった意義は大きいと考える。

実際、耐性化予備軍であるラミブジン・アデホビル併用療法効果不良例に対し、アデホビルをテノホビルに切り替えたところ、その抗 HBV 効果は極めて良好で、1 年目ですでに目標を達成できていた。反応不良例はコマーシャルベースの薬剤耐性変異のアッセイ系では変異を同定できず、今後の課題と考えられた。

耐性化例に対しては少数例であるが、rescue therapy を行いながら、抗 HBV 効果を検討した。その結果、ラミブジン・アデホビル併用療法のメニューを継続できていた症例に関しては抗 HBV 効果が良好であった。メニューが継続できていたということは、ラミブジンをエンテカビルに変更するほどの ALT 値上昇を伴わなかったことを示している。一方で、エンテカビル・アデホビル併用メニューになっていた症例では、アデホビルからテノホビルへの切り替え効果は限定的であった。特に表 2「ETV+ADV 2」は C-1(2)の症例で、確かにアデホビル導入時は A181 も N236 も野生株であった。しかし、ラミブジンからエンテカビルへの切り替え時には rtN236T の耐性変異だけであったが、アデホビルをテノホビルへ切り替えた時には rtA181T と rtN236T の両方の変異を有していた。分担研究者の柘植助教の報告でもアデホビルの両方の薬剤耐性変異を持っていると、*in vitro* の検討でもテノホビルに抵抗性を示し、臨床の経過と合致していた。

反応不良例、耐性化例に対する試験ともに、当初のプロトコールでは 2 年間の切り替えののち、再度テノホビルをアデホビルにもどす研究計画であった。しかし再燃するリスクがあり倫理的な見地からその後もテノホビルを継続するものに変更し、保険承認を待つこととした。

すべての経過を通して、テノホビルに切り替

えたのちの腎障害は認めなかった。また、その他の有害事象も認めなかった。

E. 結論

B 型肝炎に対する核酸アナログ治療では、現在保険認可の 3 剤だけでは対応できない症例が少なからず存在し、これらにテノホビルの使用が望まれた。

ラミブジン・アデホビル併用療法の効果不良例および耐性化例に対し、アデホビルをテノホビルへ切り替える治療が有効であり、また有害事象を認めなかった。

<謝辞>

本来、企業主導で行うのが望ましい日本人での使用経験の情報発信を、考察にふれた経緯で、日本全国の肝臓専門医のお力を借りて実践にうつしました。対象が異なるものの、その熱意にあとおしされ、テノホビルの企業治験が実現することになったのも、皆さんのおかげと思います。この場を借りて、厚く御礼申し上げます。また倫理的な見地から roll over に御尽力・御協力いただく方々にも心から感謝いたします。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M..

Genome-wide association study

- confirming association of HLA-DP with protection against chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese and Korean.
PLoS One. 2012;7:e39175.
- 2) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. BMC Med Genet. 2012;13:47.
 - 3) Toyama T, Ishida H, Ishibashi H, Yatsunami H, Nakamuta M, Shimada M, Ohta H, Satoh T, Kato M, Hijioka T, Takano H, Komeda T, Yagura M, Mano H, Watanabe Y, Kobayashi M, Mita E. Long-term outcomes of add-on adefovir dipivoxil therapy to ongoing lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. Hepatol Res. 2012;42:1168-74.
 - 4) 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;47:577-85.
 - 5) Tamada Y, Yatsunami H, Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Muro T, Shimada M, Hijioka T, Satoh T, Mano Y, Komeda T, Takahashi M, Kohno H, Ota H, Hayashi S, Miyakawa Y, Abiru S, Ishibashi H. 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. 2012;61:765-73.
 - 6) 三田英治. B型肝炎ウイルスの基礎知識. 肝炎診療バイブル 改訂2版 pp.124-8、メディカ出版、大阪 2012年10月
 - 7) 三田英治. 診断の第1歩とHBVマーカーでのフォローの基本. 肝炎診療バイブル 改訂2版 pp.129-130、メディカ出版、大阪 2012年10月
 - 8) 三田英治. B型慢性肝疾患患者の自然経過. 肝炎診療バイブル 改訂2版 pp.135-7、メディカ出版、大阪 2012年10月
 - 9) 坂根貞嗣、三田英治. B型慢性肝疾患の治療指針. 肝炎診療バイブル 改訂2版 pp.138-41、メディカ出版、大阪 2012年10月
 - 10) 三田英治. 核酸アナログ. 肝炎診療バイブル 改訂2版 pp.147-154、メディカ出版、大阪 2012年10月
 - 11) 三田英治. HIV感染者のB型肝炎. 肝炎診療バイブル 改訂2版 pp.181-3、メディカ出版、大阪 2012年10月
 - 12) 外山隆、石田永、三田英治. ラミブジン耐性B型慢性肝疾患に対するアデホビル併用療法の長期成績と問題点. 消化器内科 2012;5:593-6.
2. 学会発表

- 1) Kurokawa M, Hiramatsu N, Oze T, Yakushijin T, Mochizuki K, Iio S, Doi Y, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Hayashi E, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.
Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus.
The 62th American Association for the Study of Liver Diseases, Annual Meeting, Boston, USA, 2010年11月
- 2) Kuzushita N, Suemura S, Toyama T, Hasegawa H, Yuguchi K, Sakakibara Y, Yoshio T, Nakazuru S, Yuki N, Mita E.
Long-term efficacy of lamivudine/emtricitabine and tenofovir combination therapy on HBV/HIV co-infected Japanese patients.
The 62th American Association for the Study of Liver Diseases, Annual Meeting, Boston, USA, 2010年11月
- 3) Suemura S, Kuzushita N, Yuguchi K, Hasegawa H, Sakakibara Y, Yoshio T, Nakazuru S, Toyama T, Mita E.
Long-term efficacy of lamivudine/emtricitabine and tenofovir combination therapy on HBV/HIV co-infected patients.
The 21th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Bangkok, Thailand, 2011年2月
- 4) 三田英治、長岡進矢、鈴木義之。
ラミブジン・アデホビル併用療法効果不良例に対するテノホビルの切り替え効果。
第48回 日本肝臓学会総会 シンポジウム1、金沢、2012年6月
- 5) 三田英治、葛下典由、外山隆。
B型慢性肝疾患に対する核酸アナログ長期投与の問題点と将来の治療戦略。
第39回 日本肝臓学会西部会 ワークショップ、岡山、2011年12月
- 6) 三田英治、外山隆、葛下典由。
ラミブジン耐性B型慢性肝疾患に対するアデホビル併用療法の長期成績と問題点。
第15回 日本肝臓学会大会 シンポジウム、福岡、2011年11月
- 7) 坂根貞嗣、外山隆、葛下典由、林亨、太田肇、佐藤丈顕、矢倉道泰、渡部幸夫、小林正和、山本哲夫、山下春弘、中牟田誠、八橋弘、石橋大海、三田英治。
ラミブジン耐性B型慢性肝炎に対するアデホビル併用療法の長期予後。
第65回 国立病院総合医学会、岡山、2011年10月
- 8) 坂根貞嗣、外山隆、長岡進矢、國府島庸之、西村英夫、竹崎英一、肱岡泰三、太田肇、平嶋昇、島田昌明、室豊吉、中牟田誠、八橋弘、石橋大海、三田英治。
核酸アナログ未治療のB型慢性肝疾患に対するエンテカビルの治療成績。
第65回 国立病院総合医学会、岡山、2011年10月
- 9) 葛下典由、外山隆、中水流正一、由雄敏之、榊原祐子、長谷川裕子、湯口清徳、結城暢一、三田英治。
B型急性肝炎の現況と治療介入について。
第47回 日本肝臓学会総会、東京、2011年6月
- 10) 葛下典由、外山隆、三田英治。
当院におけるB型急性肝炎の現況と治療介入。
第46回日本肝臓学会総会ワークショップ、山形、2010年6月
- 11) 三田英治。
当科におけるHBV/HIV重複感染例に対する治療の現況。
JDDW 2010 サテライトシンポジウム Yokohama、2010年10月
- 12) 黒川三佳、平松直樹、倉繁奈緒、小瀬嗣子、薬師神崇行、望月圭、北田学利、土井喜宣、山田晃、尾下正秀、金子晃、萩原秀紀、三

田英治、永瀬寿彦、吉原治正、今井康陽、林英二郎、木曾真一、考藤達哉、竹原徹郎、林紀夫.

B型慢性肝疾患に対するラミブジン投与症例における肝発癌についての検討.

第46回日本肝臓学会総会、山形、2010年6月

- 13) 末村茂樹、葛下典由、伊藤麻里、荒木学、吉岡千晶、大田真紀代、末吉由佳、長谷川裕子、森田香織、太田高志、由雄敏之、中水流正一、外山隆、結城暢一、三田英治.

HBV/HIV重複感染例におけるラミブジン、テノホビル併用長期治療効果.

第46回日本肝臓学会総会、山形、2010年6月

- 14) 黒川三佳、平松直樹、小瀬嗣子、薬師神崇行、望月圭、土井喜宣、尾下正秀、金子晃、萩原秀紀、三田英治、永瀬寿彦、吉原治正、今井康陽、林英二郎、石田永、巽智秀、木曾真一、考藤達哉、竹原徹郎、林紀夫.

B型慢性肝疾患に対するラミブジン投与症例における肝発癌についての検討.

第46回日本肝臓学会、大阪、2010年7月

- 15) 田中絵里、伊藤麻里、荒木学、末村茂樹、吉岡千晶、大田真紀代、湯口清徳、長谷川裕子、榊原祐子、由雄敏之、外山隆、葛下典由、結城暢一、三田英治.

B型慢性肝疾患に対するエンテカビル治療の早期反応良好を規定する因子について.

第38回日本肝臓学会東部会、東京、2010年12月

H. 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

Ⅱ. 分担研究報告

研究分担者 八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター
研究協力者 長岡進矢 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター

研究要旨：1) ラミブジン+アデホビル (LAM+ADV) 併用療法反応不良に関わる因子の検討をおこなう。当院で LAM+ADV 併用療法をおこなった 97 例のうち、2 年以上併用療法を継続している 74 例を対象とした。併用療法反応不良に関わる有意な因子は、併用療法開始時 HBe 抗原陽性、HBV-DNA 量：6.5 log copy/ml 以上、ALT 値：80IU/ml 未満であった。2) LAM+ADV 併用療法反応不良 2 例に対するテノホビル (TDF) の効果を検討する。LAM+ADV 併用療法を 2 年以上継続し HBV-DNA 量が 4 log copy/ml 未満に低下していない反応不良例 2 例を対象として、ADV を TDF に切り替え HBV-DNA 量、HBs 抗原 (HBsAg) 量の推移を検討した。HBV-DNA 量は切り替え後約 6 ヶ月でリアルタイム PCR 法にて感度以下へ低下、HBsAg 量も切り替え後、低下を認めた。

A. 研究目的

- 1) 当院における LAM+ADV 併用療法反応不良に関する因子を明らかにする(平成22年度)。
- 2) 当院における LAM+ADV 併用療法反応不良 2 例に対する TDF の効果を検討する(平成23、24年度)。

B. 研究方法 (含、倫理面への配慮)

対象：当院にて LAM を導入した B 型慢性肝炎患者症例は 241 例、HBeAg 陽性症例：157 例、年齢 (中央値)：51 歳、慢性肝炎：102 例、肝硬変：75 例、肝細胞癌合併：64 例である。経過中 LAM 耐性変異が出現したのは 111 例であり、ADV を追加投与したのは 97 例である。このうち 2 年以上併用療法を継続している症例 74 例を対象として検討をおこなう。治療反応不良の定義は、併用療法開始後 2 年時点で HBV-DNA 量が 3.5 log copy/ml 以上であることとした。

このうち 2 年以上併用療法を継続し HBV-

DNA 量が 4 log copy/ml 未満に低下していない反応不良例 2 例を対象とし ADV から TDF へ切り替えた。

方法：1) LAM+ADV 併用療法に対する反応不良に関わる因子をロジスティック回帰分析にて検討する。検討項目は性別、併用療法開始時の年齢、HBe 抗原の有無、ALT 値、HBV-DNA 量、肝線維化ステージ、薬剤耐性変異のタイプである。薬剤耐性変異検出には INNO-LiPA HBV DR ver.2 Plus を用いた。肝組織所見のない症例の肝硬変診断は、超音波検査所見でおこなった。

2) LAM+ADV 併用療法に対する反応不良例に対して ADV を TDF に切り替え後の HBV-DNA 量、HBs 抗原量の推移を検討する。HBV-DNA 量はリアルタイム PCR 法、HBsAg 定量は CLIA 法を用いた。HBsAg 量は測定値上限を超えた場合、希釈測定し定量した。

(倫理面への配慮)

患者に対しては血液検体の保存、研究使用に

関する説明をおこない、紙面にて同意を取得した。

C. 研究結果

1) LAM+ADV 併用例 74 例の併用療法開始時および2年経過時点の臨床データを示す(表1)。2年以上投与例のうち13/74例(18%)が併用療法開始後2年の時点でHBV-DNA量3.5 log copy/ml以上であった(表1)。HBV-DNA量3.5 log copy/ml以上を反応不良群、3.5 log copy/ml未満を反応良好群として、LAM+ADV併用療法反応不良に関わる因子を検討したところ、併用療法開始時HBe抗原陽性、HBV-DNA量:6.5 log copy/ml以上、ALT値:80IU/ml未満であることが有意な因子として抽出された(表2)。

表1

ADV追加時	
年齢(歳) median[range]	50 [32-70]
性別 (M/F)	47 / 27
肝線維化ステージ(F1/F2/F3/F4)	8/8/13/45
ALT値(IU/L) median[range]	61 [12-1543]
HBe抗原(+/-)	47/27
HBV-DNA量(log copy/ml) median[range]	6.8 [2.1-9.1]
薬剤耐性変異(なし/YIDD/YVDD/mix)	1/41/23/8
ADV追加後 2年経過時点	
HBV-DNA量 ≥3.5/<3.5 log copy/ml の症例数	13 / 61
HBV-DNA感度以下(<2.6 log copy/ml) の症例数	59
ADV平均投与期間(ヶ月)	56±20.7

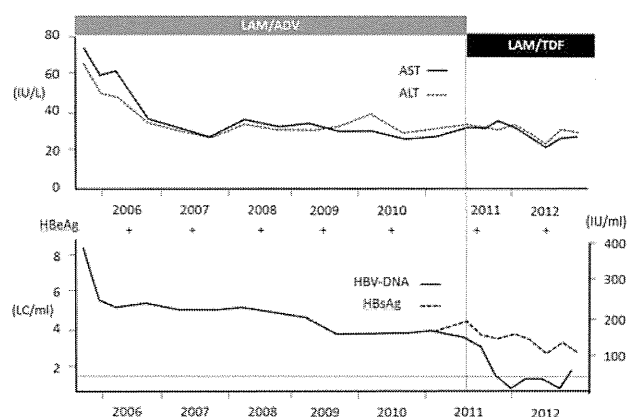
表2

(単変量解析)			
変数名	p値	odds比	95%信頼区間
性別	0.87061	0.9025	0.26288 ~ 3.098
年齢	0.90922	1.0030	0.95178 ~ 1.057
Fステージ	0.33621	1.4020	0.70415 ~ 2.791
耐性変異変異パターン	0.28005	1.3930	0.76338 ~ 2.542
HBV-DNA量 ≥6.5 LC/ml	0.03042	10.1818	1.24529 ~ 83.24
HBe抗原陽性	0.04138	8.9142	1.08925 ~ 72.95
ALT <80 IU/L	0.03042	10.1818	1.24529 ~ 83.24
(多変量解析)			
変数名	p値	odds比	95%信頼区間
HBV-DNA量 ≥6.5 LC/ml	0.00640	23.3123	2.42387 ~ 224.2
HBe抗原陽性	0.03475	12.0497	1.19533 ~ 121.4
ALT <80 IU/L	0.00157	38.4811	4.00366 ~ 369.8

2) 症例1は56歳、肝線維化ステージF3の男性。2005年7月よりLAM耐性変異に対してLAM+ADV併用開始。併用開始時HBV-DNA量は8.5 log copy/ml、HBe抗原陽性。以後ト

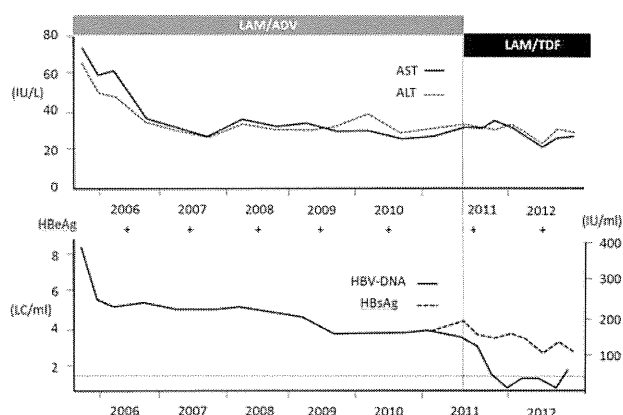
ランスアミナーゼは低下するも、HBV-DNA量は5 log台で推移。2011年6月24日よりADVをTDFへ切り替えた。切り替え後24週でHBV-DNA量はリアルタイムPCR法で検出感度以下まで低下した。HBsAg量はTDF切り替え時193 IU/ml (2.29 logIU/ml)、切り替え後48週後111 IU/ml (2.05 logIU/ml)、年間低下量0.24 logIU/mlであった。最終観察時(切り替え後76週後)のHBsAg量は114 IU/ml (2.06 logIU/ml)であった(図1)。

図1 症例1、56歳男性



症例2は70歳、代償性肝硬変の女性。2007年4月よりLAM+ADV併用療法開始。併用開始時のHBV-DNA量は>7.7 log copy/ml、HBe抗原陽性。以後HBV-DNA量は4 log台で推移。2011年7月4日よりTDFへ切り替えた。HBV-DNA量は切り替え後27週でリアルタイムPCR法感度以下まで低下した。HBsAg量はTDF切り替え時630 IU/ml (2.80 logIU/ml)、切り替え後48週後612 IU/ml (2.79 logIU/ml)、年間低下量0.01 logIU/mlであった。最終観察時(切り替え後75週後)のHBsAg量は467 IU/ml (2.67 logIU/ml)であった(図2)。

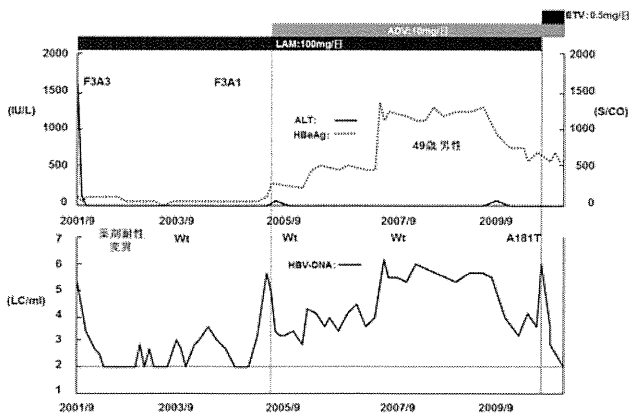
図2 症例2、70歳女性



D. 考察

反応不良例のうち、興味深い経過をとった1例を提示する。症例は47歳男性。LAM開始後4年で virologic breakthrough を認め、ADVを追加した。ADV追加時点で耐性変異は検出されなかった(図3)。その後もHBV-DNA量が低下せず、HBe抗原も高力価で推移した。併用開始5年時点で INNO-LiPA HBV DR ver. 2 Plus にて ADV 耐性の rtA181T が検出された。Villet らは、rtA181V/T の単独変異が LAM 感受性を 5-10 倍、ADV 感受性を 2-8 倍、TDF 感受性を 2-3 倍低下させ、エンテカビル(ETV)のみ感受性を保持していたと報告している¹⁾。本症例は ADV+ETV 併用療法に切替え、その後 HBV-DNA 量はリアルタイム PCR 法にて感度以下となっている(図3)。

図3. ADV+ETV併用が奏功したrtA181T変異を伴う、LAM+ADV反応不良の1例



次に、当院における LAM+ADV 併用療法に対する反応不良例に対する TDF 切り替え例 2 例の臨床的効果について検討した。2 例ともに ADV から TDF へ切り替え後、速やかに血中 HBV-DNA 量はリアルタイム PCR 法にて検出感度以下へ低下した。血中 HBsAg 量は肝組織中の cccDNA 量を反映し、核酸アナログ薬の中止の判断にも有用であることが報告されている。TDF は他の核酸アナログ薬と比較し HBsAg の消失率が高く²⁾、年間低下量も大きいことが報告されている(1年 0.27 logIU/ml、2年 0.45 logIU/ml)³⁾。自験例 2 例の TDF 切り替え後の HBsAg の変化量は 48 週で 0.24 log IU/ml、0.01 logIU/ml と 1 例で低下が不良で

あったが、その後切り替えから 75 週時点で 0.13 logIU/ml の低下が確認された。

E. 結論

1. 当院における LAM+ADV 併用療法反応不良に関わる有意な因子は、併用療法開始時 HBe 抗原陽性、HBV-DNA 量: 6.5 log copy/ml 以上、ALT 値: 80 IU/ml 未満であった。
2. 当院の LAM+ADV 併用療法反応不良 2 症例に対する TDF の効果は良好であった。

文献:

- 1) Villet S, et al.: Impact of hepatitis B virus rtA181V/T mutants on hepatitis B treatment failure. *Journal of hepatology*. 2008; 747-755.
- 2) Heathcote J, et al.: Three-year efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate treatment for chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 2011; 140(1):132-43.
- 3) Boglione L, et al.: Kinetics and prediction of HBsAg loss during therapy with analogues in patients affected by chronic hepatitis B HBeAg negative and genotype D. *Liver International*, 2013 Epub ahead of print.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Bae SK, Yatsunami H, Hashimoto S, Motoyoshi Y, Ozawa E, Nagaoka S, Abiru S, Komori A, Migita K, Nakamura M, Ito M, Miyakawa Y, Ishibashi H. Prediction of early HBeAg seroconversion by decreased titers of HBeAg in the serum combined with increased grades of lobular inflammation in the liver. *Med Sci Monit*. 2012;18(12): CR698-705.

- 2) Migita K, Abiru S, Ohtani M, Jiuchi Y, Maeda Y, Bae SK, Bekki S, Hashimoto S, Yesmembetov K, Nagaoka S, Nakamura M, Komori A, Ichikawa T, Nakao K, Yatsushashi H, Ishibashi H, Yasunami M.
HLA-DP gene polymorphisms and hepatitis B infection in the Japanese population.
Transl Res. 2012;160(6): 443-4.
- 3) Toyama T, Ishida H, Ishibashi H, Yatsushashi H, Nakamuta M, Shimada M, Ohta H, Satoh T, Kato M, Hijioka T, Takano H, Komeda T, Yagura M, Mano H, Watanabe Y, Kobayashi M, Mita E.
Long-term outcomes of add-on adefovir dipivoxil therapy to ongoing lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B.
Hepatol Res. 2012;42(12):1168-1174.
- 4) Tamada Y, Yatsushashi H, Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Muro T, Shimada M, Hijioka T, Satoh T, Mano Y, Komeda T, Takahashi M, Kohno H, Ota H, Hayashi S, Miyakawa Y, Abiru S, Ishibashi H.
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. 2012;61(5):765-73.
- 5) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsushashi 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.
Hepatol Res. 2012;42(2):139-149.
- 6) Ide T, Sata M, Chayama K, Shindo M, Toyota J, Mochida S, Tomita E, Kumada H, Yamada G, Yatsushashi H, Hayashi N, Ishikawa H, Seriu T, Omata M.
Evaluation of long-term entecavir treatment in stable chronic hepatitis B patients switched from lamivudine therapy.
Hepatol Int. 2010;4(3):594-600.
- 7) Ginya H, Asahina J, Nakao R, Tamada Y, Takahashi M, Yohda M, Yatsushashi H.
Semi-quantitative discrimination of HBV mutants using allele-specific oligonucleotide hybridization with Handy Bio-Strand.
J Biosci Bioeng. 2010;109(1):94-100.
2. 学会発表
- 1) 長岡進矢、浜田るみこ、力富真惟子、高原郁子、村田朋哉、橋元 悟、西川晃子、はい成寛、本吉康英、柳 謙二、阿比留正剛、小森敦正、八橋 弘、石橋大海。
B型慢性肝疾患に対する核酸アナログ投与中止例の検討
第14回日本肝臓学会大会(横浜) 肝P-234
肝臓 51 巻 suppl.(2) A584、2010.
- 2) 長岡進矢、八橋 弘、石橋大海。
HBs抗原量からみたB型慢性肝疾患に対する抗ウイルス療法。
第15回日本肝臓学会大会(福岡) 肝S3-10
肝臓 52 巻 suppl.(2) A477、2011.
- 3) 長岡進矢、八橋 弘、阿比留正剛。
当院における核酸アナログ中止例の検討～核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のための指針にもとづいて
第48回日本肝臓学会総会(金沢) ワークショップ22 肝臓 53 巻 suppl.(1) A174、2012.