

分担研究者：島田 昌明 国立病院機構名古屋医療センター 消化器科医長

研究協力者：岩瀬 弘明、都築 智之、桶屋 将之、龍華 庸光、喜田 裕一、

久野 剛史、田中 優作、平嶋 昇

研究要旨：今回、ラミブジン・アデホビル併用療法効果不良例に対して、アデホビルをテノホビルに切り替えた長期経過観察例を経験した。症例は52歳で、2009年8月からラミブジン・アデホビル併用療法を開始した。肝機能は正常化した。HBV-DNA量は4-5 log copies/mLで推移し、効果は不良であった。そのため2011年9月よりアデホビルからテノホビル300mg/日に切り替えた。2013年1月時点、肝機能は正常でHBV-DNA量も検出感度以下に低下している。副作用は認めていない。アデホビルからテノホビルへの切替は効果不良例に対する有用な治療法であった。

A. 研究目的

ラミブジン・アデホビル併用療法の反応不良例に対するアデホビルからテノホビルへの切替の有効性と安全性を検討する。

B. 研究方法（含、倫理面への配慮）

ラミブジン耐性に対し、アデホビルを併用したB型慢性肝疾患患者で、併用開始2年以上経過し、HBV-DNAが4 log₁₀ copies/mL未満に低下しない症例を対象とした。当院臨床研究審査委員会承認の文書同意を得た後、「テノホビル切替例」としてテノホビル（ピリアード®）300mg x 1錠/日を投与した。

C. 研究結果

症例は52歳、女性。2006年10月、肝機能障害のため当院へ紹介受診となった。AST 101 IU/L、ALT 227 IU/Lと肝機能障害を認めた。HBeAg陽性、HBV DNA \geq 7.7 log copies/mL、HBV genotype Cであった。2006年11月よりラミブジン100mg/日の内服治療を開始した。肝機能は正常化した。HBV-DNA量の低下は不十分であり、2008年1月にはHBV-DNA \geq

7.7 log copies/mLと増加した。2009年8月、肝機能障害も認めたため、アデホビル10mg/日の併用療法を開始した。肝機能は正常化した。HBV-DNA量は4-5 log copies/mLで推移し、ラミブジン・アデホビル併用療法の効果は不良であった。2011年8月、AST 21 IU/L、ALT 18 IU/L、HBV-DNA 4.7 log copies/mLであり、2011年9月よりアデホビルからテノホビル300mg/日に切り替えた。2013年1月時点ではAST 25 IU/L、ALT 24 IU/L、HBeAg陽性、HBV-DNA $<$ 2.4 log copies/mLと肝機能正常でDNA量も検出感度以下に低下している。副作用は認めていない。

D. 考察

ラミブジンは2000年11月に日本で最初に保険認可されたが、3-4年で高率（約50%）に耐性が出現することから、耐性化例では2004年12月からアデホビルを併用することが認められた。しかしながら両剤に耐性化する難治例が出現してきている。

テノホビルはアデホビルに類似した薬剤でより腎障害を起こしにくい。海外ではラミブジ

ン耐性化にアデホビルを併用したが反応不良であった症例に対してアデホビルからテノホビルへ切り替え、HBV-DNA 量が有意に低下したとの報告がみられる。

現在、日本では抗 HIV 薬として承認されているが、B 型慢性肝炎に対しては未承認である。本例と同様なラミブジン・アデホビル併用療法効果不良例が今後増加してくることが十分予想されることから、その対策は急がれる。

本例はラミブジン・アデホビル併用療法効果不良に対して、アデホビルをテノホビルに切り替え、1 年 6 ヶ月間の経過観察をおこなっている。副作用の出現なく肝機能は正常化し、HBV-DNA 量は検出感度以下に低下したことから、今回検討したテノホビルへの切替は有用であると考えられた。

E. 結論

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を経験した。アデホビルからテノホビルへの切替は効果不良例に対する有用な治療法であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 平嶋 昇、浦岡正尚、神谷麻子、横井美咲、斎藤雅之、玉置 大、龍華庸光、渡邊久倫、日比野佑介、島田昌明、都築智之、岩瀬弘明。

発症 2 ヶ月で慢性肝炎の組織像を呈しインターフェロンで治癒した HBV Genotype A 急性肝炎の 1 例。

医療 2011;65:451-5.

2. 学会発表

- 1) 島田昌明、岩瀬弘明、都築智之、日比野佑介、龍華庸光、玉置 大、斎藤雅之、神谷麻子、横井美咲、平嶋 昇、後藤秀実。

HBV/HIV 重複感染例に対する TDF/FTC を含む HAART 施行例の検討。

第 15 回日本肝臓学会大会 2011.10.20.

マリンメッセ福岡

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

分担研究者：太田 肇 国立病院機構金沢医療センター 消化器科医長

研究要旨: 当院にて核酸アナログ治療を導入された B 型慢性肝疾患症例で HBs 抗原量、HBcrAg 量が低値となった症例の特徴について検討した。核酸アナログ治療を導入された B 型慢性肝疾患患者で、6 ヶ月以上 HBV-DNA が感度以下を維持し、HBe 抗原が陰性化し、HBs 抗原量、HBcrAg 量を測定しえた 27 例を解析対象とし、各症例を HBs 抗原量、HBcrAg 量によりスコア化し 3 群に分類した。HBs 抗原量については 80 IU/mL 未満を 0 点、80-250 IU/mL を 1 点、250 IU/mL 以上を 2 点とした。HBcrAg 量については 3.0 logU/mL 未満を 0 点、3.0-3.9 logU/mL を 1 点、4.0 logU/mL 以上を 2 点とした。HBs 抗原量、HBcrAg 量の合計スコアが 0 点を低リスク群、1、2 点を中リスク群、3、4 点を高リスク群と定義し、各群での患者背景、ウイルス因子について検討した。対象症例の治療開始時年齢中央値は 58 歳、性別は男性 16 例、女性 11 例であり、観察期間中央値は 62 ヶ月 (19-136 ヶ月) であった。低リスク群、中リスク群、高リスク群はそれぞれ 0 例、17 例、10 例であった。中リスク群の治療前の HBV-DNA 量は高リスク群に比して有意に少なかった (P=0.03)、治療開始時の年齢、患者の性別、HBV genotype、治療前 ALT 値、背景肝では両群間に有意な差を認めなかった。当院の B 型慢性肝疾患症例では HBcrAg 量、HBs 抗原量ともに核酸アナログ治療を中止するのに十分低値である症例はいなかった。核酸アナログ治療開始時点で、HBV-DNA 量が少ない症例が HBs 抗原量、HBcrAg 量が少なく、核酸アナログ治療の中止の候補となりやすい傾向が示唆された。

研究協力者

羽柴 智美	金沢医療センター	消化器科
吉田真理子	金沢医療センター	消化器科
矢野 正明	金沢医療センター	消化器科
丹尾 幸樹	金沢医療センター	消化器科
丸川 洋平	金沢医療センター	消化器科

A. 研究目的

B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療中止の条件として HBs 抗原量、HB コア関連抗原 (HBcrAg) 量が指標となりうる事が報告されている。今回、当科における B 型慢性肝疾患症例で HBs 抗原量、HBcrAg 量が低値と

なった症例の特徴について検討した。

B. 研究方法 (含、倫理面への配慮)

当院にて核酸アナログ治療を導入された B 型慢性肝疾患患者 78 例のうち、6 ヶ月以上 HBV-DNA が感度以下を維持し、HBe 抗原が陰性化し、HBs 抗原量、HBcrAg 量を測定しえた 27 例を解析対象とした。各症例を『核酸アナログ薬中止に伴うリスク回避のための指針 2012』(田中ら、肝臓 2012; 53 巻 4 号 237-242) に基づき、直近の HBs 抗原量、HBcrAg 量によってスコア化し 3 群に分類した。HBs 抗原量については 80 IU/mL 未満を 0 点、80-250 IU/mL を 1 点、250 IU/mL 以上を 2 点とした。

HBcrAg 量については 3.0 logU/mL 未満を 0 点、3.0-3.9 logU/mL を 1 点、4.0logU/mL 以上を 2 点とした。HBs 抗原量、HBcrAg 量の合計スコアが 0 点を低リスク群、1、2 点を中リスク群、3、4 点を高リスク群と定義し、各群での患者背景（年齢、性別、背景肝、臨床検査値、核酸アナログ薬の種類、観察期間）、ウイルス因子について検討した。統計学的手法として、Mann-Whitney 検定・ χ^2 検定およびフィッシャーの直接確率検定を用いた。

C. 研究結果

対象 27 例の治療開始時年齢中央値は 58 歳、性別は男性 16 例、女性 11 例であった。治療開始時の ALT 値、血小板数、PT 活性、アルブミン値の中央値はそれぞれ 89 IU/L、15 万/mm³、82%、4.3 g/dL であった。背景肝は慢性肝炎が 21 例、肝硬変が 6 例で、ウイルス学的因子として genotype B が 4 例、C が 20 例、HBe 抗原陽性例が 18 例、HBe 抗体陽性例が 9 例であり、HBV-DNA 量中央値は 5.8 log copies/mL、HBcrAg 中央値は 5.6 LogU/mL であった。用いられた核酸アナログはラミブジン (LAM) が 12 例、エンテカビル (ETV) が 15 例であり、観察期間中央値 (範囲) は 62 ヶ月 (19-136 ヶ月) であった (表 1)。低リスク群、中リスク群、高リスク群はそれぞれ 0 例、17 例、10 例であった。中リスク群の治療前の HBV-DNA 量は 5.5 log copies/mL で、高リスク群の 5.9 log copies/mL に比して有意に少なかった (P=0.03)。また HBcrAg 量も中リスク群は 5.3 LogU/mL であるのに対して高リスク群は 6.8 LogU/mL と有意に (P=0.04) 低値であった。治療開始時の年齢、性別、HBV genotype、背景肝、治療前 ALT 値、e 抗原陽性率、PT 活性、血小板値、アルブミン値、核酸アナログ薬の種類、観察期間では両群間に有意な差を認めなかった (表 2)。D. 考察

近年、HBs 抗原量の測定はインターフェロン療法の治療効果予測に有用であることで再度注目されている。一方で HBcrAg 量は核酸ア

ナログ製剤使用下においても肝細胞核内の HBVcccDNA 量を反映するとされ、中止後の肝炎再燃に関連すると報告されている。また、これらの抗原量を組み合わせることにより核酸アナログ治療中止の基準として有用な指標となりうることも報告されている。今回、当院で核酸アナログ治療を導入された B 型慢性肝炎患症例で HBs 抗原量、HBcrAg 量が低値となった症例の特徴について検討した。HBs 抗原量、HBcrAg 量の合計スコアが 0 点の低リスク群は 0 例、1、2 点の中リスク群は 17 例、3、4 点の高リスク群は 10 例であった。低リスク群の症例がなかったため、中リスク群と高リスク群において比較検討を行った。その結果、治療開始時の年齢、性別、背景肝、臨床検査値、核酸アナログ薬の種類、観察期間では両群間に有意な差を認めなかった。ウイルス因子では HBV genotype、e 抗原陽性率では両群で差を認めなかったが、治療前の HBV-DNA 量と HBcrAg 量で差を認めた。すなわち中リスク群においては、治療前の HBcrAg 量が高リスク群に比して有意に低値であることに加え、HBV-DNA 量も有意に低値であった。

表 1. 治療開始時の患者背景

	n=27
年齢 (歳) ^{*1}	58 (23-69)
性別 (男/女)	16 / 11
背景肝 (慢性肝炎/肝硬変)	21 / 6
HBe 抗原 (陰性/陽性)	18 / 9
Genotype (B/C)	4 / 20
HBV-DNA 量 (log copies/mL) ^{*1}	5.8 (3.5-8.1)
HBcrAg 量 (LogU/mL) ^{*1}	5.6 (3.0-6.8)
ALT 値 (IU/L) ^{*1}	89 (21-937)
PT 活性 (%) ^{*1}	82 (34-114)
血小板数 (x 10 ⁴ / μ L) ^{*1}	15 (6-35)
アルブミン値 (g/dL) ^{*1}	4.3 (2.9-4.8)
核酸アナログ薬 (ETV/LAM) ^{*2}	15 / 12
観察期間 (月) ^{*1}	62 (19-136)

*1 中央値 (範囲)

*2 ETV、entecavir ; LAM、lamivudine

表 2. 再燃リスクに影響を及ぼす因子

	中リスク n=17	高リスク n=10	p 値*2
開始時年齢 (歳)*1	58 (35-69)	56 (23-60)	0.23
性別 (男/女)	10/7	6/4	0.99
開始時背景肝 (慢性肝炎/肝硬変)	13/4	8/2	0.99
開始時 HBe 抗原 (陰性/陽性)	12/5	6/4	0.68
Genotype (B/C)	3/12	1/8	0.99
開始時 HBV-DNA 量 (log copies/mL)*1	5.5 (3.5-7.7)	5.9 (5.5-8.1)	0.03
開始時 HBcrAg 量 (LogU/mL)*1	5.3 (3.0-6.8)	6.8 (3.0-6.8)	0.04
開始時 ALT 値 (IU/L)*1	56 (21-276)	97 (60-937)	0.12
開始時 PT 活性 (%)*1	86 (34-114)	77 (66-84)	0.99
開始時血小板数 (x 10 ⁴ /μL)*1	13 (6-24)	16 (7-35)	0.49
開始時アルブミン値 (g/dL)*1	4.2 (3.1-4.8)	4.3 (2.9-4.7)	0.53
開始時核酸アナログ薬 (ETV/LAM)*3	11/6	4/6	0.38
観察期間 (月)*1	48 (19-136)	77 (28-113)	0.26

*1 中央値 (範囲)

*2 Mann-Whitney 検定, χ^2 検定, フィッシャーの直接確率検定

*3 ETV、entecavir ; LAM、lamivudine

このことより核酸アナログ治療開始時点で、HBV-DNA 量が少ない症例が HBs 抗原量、HBcrAg 量が少なく、核酸アナログ治療の中止の候補となりやすい傾向が示唆された。今後は、治療前の状態により核酸アナログ治療の目標が異なってくることが示唆される。すなわち、核酸アナログ治療開始時の HBV-DNA 量や HBcrAg 量が低値である症例は、治療により一時的に B 型肝炎ウイルスの増殖を抑制することで HBs 抗原の陰性化、核酸アナログの中止

をも視野に入れて治療を行う。

一方、HBV-DNA 量や HBcrAg 量が高値である症例では、核酸アナログ治療にて、たとえ HBV-DNA 量の低下が得られても HBcrAg 量の陰性化は長期にわたって得られがたく、核酸アナログを継続してウイルスの増殖を抑制していく必要がある。したがって、HBV-DNA 量や HBcrAg 量が高値である症例の HBs 抗原の陰性化、核酸アナログの中止のためにはペグインターフェロン治療やシーケンシャル療法

などの何らかの追加治療が必要と思われた。

E. 結論

- 1) 当院の B 型慢性肝疾患症例では HBcrAg 量、HBs 抗原量ともに核酸アナログ治療を中止するのに十分低値である症例はなかった。
- 2) 核酸アナログ治療開始時点で、HBV-DNA 量が少ない症例が HBs 抗原量、HBcrAg 量が少なく、核酸アナログ治療の中止の候補となりやすい傾向が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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(12):1168-1174.
- 2) 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(5):765-73.

2. 学会発表

- 1) 高田昇、寺島健志、吉田真理子、竹越快、神野正隆、丸川洋平、太田肇. HB コア関連抗原量からみた B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ療法 of 検討. 第 48 回日本肝臓学会総会、金沢、2012.6
- 2) 高田昇、寺島健志、吉田真理子、竹越快、神野正隆、丸川洋平、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. JDDW2012、神戸、2012.10

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

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
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

分担研究者：鈴木 義之 虎の門病院 肝臓科医長

研究要旨：B型慢性肝炎治療に核酸アナログ製剤が導入されて以来、本疾患に対する治療法はめざましく進歩したといえる。従来のインターフェロン（IFN）に取って代わり副反応の少なさも本薬剤が積極的に使用されるようになった要因であるが、時を経るごとに様々な問題点が浮かび上がってきた。その一番は、IFNには認められなかった耐性ウイルスの出現であり、これに対する治療が今後の課題である。2006年にエンテカビルが認可されてからは、耐性ウイルスによる肝炎の再燃もほとんど出現しない時代となったが、長期投与が原則である2000年型使用されているラミブジンにおいては、これまでにその耐性ウイルスの出現が問題視され2004年にアデホビルの併用認可されたことでようやく対応策がとられてきた。この二剤併用が効果を上げたことは事実であるがこの療法をもってしてもウイルス量の低下しない症例が存在することも事実であり、このような症例に対する治療法に難渋しているのが現状である。米国ではすでに第四の薬剤としてテノホビルが認可され使用され多剤耐性症例に効果を上げている。本研究班では日本においてもテノホビルが認可されることを目的として研究を行っており、その一環としてラミブジンとアデホビル併用療法反応不良例に対するテノホビル投与効果につき当院での経過を報告する。

A. 研究目的

本邦で核酸アナログ製剤が使用されるようになって15年以上の歳月が流れたが、紆余曲折を経て現在の治療の第一選択はエンテカビル（ETV）となった。2006年にETVが認可されるまで使用されてきた第一世代のラミブジン（LMV）は耐性ウイルスの出現率が高いため新規導入は極めて少ないものの現在でも多くの症例に使用され、また、耐性ウイルスに対してアデホビル（ADV）を併用投与している。一方、テノホビル（TDF）はアメリカ肝臓病学会のガイドラインで、核酸アナログ未治療例に対し、ETVとならんで第一選択薬として推奨されている。また、LMV耐性例に対しADVを投与し、反応が不良であった症例に対し、ADVからTDFへ切り替え、HBV-DNAの低下幅が有意に大きいことも報告されている。しか

し、我が国で認可されていない現状を改善するため本研究班では、TDFの適応拡大に向けてのエビデンスを積み重ねる研究を続けており、3年間の班研究の成果として当院でTDFを導入した症例の経過を検討することを目的とした。

B. 研究方法（含、倫理面への配慮）

試験的研究のデザインは、医薬品を用いた予防、治療方法に関する介入研究である。これまでにLMV不応例または耐性に対してADVを併用し2年以上の経過で、HBV-DNAが4.0 Log₁₀ copies/mL以下に低下しない症例を対象とした。このような二剤不応例に対してADVをTDFに切り替え、LMVとTDFの併用療法を行い、試験開始24ヶ月目のHBV-DNAの陰性化率（2.1 Log₁₀ copies/mL未満）を主要評価

項目とした。副次評価項目としては、①試験開始 24 ヶ月目の HBe 抗原陽性例の HBe-sero conversion 率、②安全性(有害事象の発現頻度)、③試験開始 12 ヶ月目の HBV-DNA の陰性化率、④試験開始 6 ヶ月目の HBV-DNA の陰性化率とした。当院では、2011 年度より班研究に参加し、2011 年 5 月より TDF への切替試験を行っており、現在までに本研究班に 8 例の症例を登録し、切替後最長 20 ヶ月の経過が観察されている。この症例を対象とし、ALT の正常化率、HBV-DNA の陰性化率、耐性ウイルスの検討を行った。

C. 研究結果

現在までに 8 症例が登録され投与を継続している。最長の症例が投与開始後 20 ヶ月であり、最短は 14 カ月であるが途中経過を報告する。

まず当院での LMV 不応症例に対する ADV 併用症例(419 例)の ALT 正常化率と HBV-DNA の陰性化率を提示する(図 1、2)。いずれも時間経過とともに治療効果は向上し、良好な経過であるが一部の症例は 5 年では陰性化が得られていない。このような症例の中から今回の治療対象となる症例が抽出された。対象となった 8 例の内訳は男性 5 例(62.5%)で、TDF 開始時の HBV-DNA は $4.65 \text{ Log}_{10} \text{ copies/mL}$ (中央値)、ALT は 29IU/L で全例 HBe 抗原陽性であった。平均観察期間は 17.4 ヶ月で、2013 年 2 月現在の経過を示す(図 3)。HBV-DNA は全例で $2.1 \text{ Log}_{10} \text{ copies/mL}$ 未満まで低下し(図 4)、2 例に HBe 抗原の seroconversion が認められている。ALT 値は 1 例に異常値が認められているが、その一例も低値で安定している。また、耐性ウイルスのパターンを表にまとめているが LMV 耐性を持っている症例も多く認められるが、181 の変異を認める症例も 3 例認められた。今後、TDF 投与後の変化につきさらに検討を行う予定である。また、観察中に全例有害事象の出現は認められていない。

D. 考察

TDF に関してはすでに 2006 年の Hepatology に掲載された Florian van Bömmel らによるドイツから 20 例の報告がある。欧米では、LMV 抵抗例に対し、ADV を併用する方法と、ADV に switch し単独投与を行う方法とがとられてきた。このため ADV 単独投与症例には、ADV 抵抗ウイルスによる breakthrough hepatitis を生じたケースが少なからずある。このような LMV 抵抗例に対して ADV を使用するも不完全なウイルス学的反応しか得られなかった症例を対象としている。ADV 投与開始後中央値で 15 ヶ月後(range 4-28 ヶ月)より TDF を 300mg/日に switch して投与を行った。その結果 20 例中 19 例に HBV-DNA の陰性化(400 copies/mL 以下)がえられた。そして開始時に ALT の上昇が認められた 14 例中 10 例に正常化がえられている。また、18 例の HBe 抗原陽性者のうち 4 例が seroconversion を起こし、16 ヶ月の経過の後 1 例に HBs 抗原の seroconversion による anti-HBs の出現が認められている。また、投与開始後抗ウイルス効果の出現までやや時間がかかりいったん ALT は上昇するものの、その後は低下傾向となり 12 ヶ月後には正常化している。我々の検討はいまだ 29 ヶ月まで到達した症例しかないが HBV-DNA は全例で感度以下まで低下し、これまでの報告と遜色のない結果を示している。また、8 例中 2 例に HBe 抗原の seroconversion を起こしており、経過をみるとこの数字はもう少し上昇することが期待される。さらに、腎障害やその他の有害事象の出現もなく今後のさらなる経過観察は必要であるものの安全な治療法であることが確認された。

【参考文献】 Florian van Bömmel, et al. Tenofovir for patients with lamivudine-resistant hepatitis B virus (HBV) infection and high HBV DNA level during adefovir therapy. Hepatology 2006;44:318-25.

E. 結論

経過観察期間はいまだ不十分と言わざるを

得ないが、TDF 併用療法は LMV+ADV 併用不応例に対する新規治療として有用な治療法であると考えられる。

核酸アナログ治療抵抗例に対するテノホビルの有用性

第 98 回日本消化器病学会総会 東京

2012.4.19

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表（本研究に関わるもの）

1. 論文発表

本研究に関わるものはなし

2. 学会発表

1) 鈴木義之.

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

分担研究者： 宇都浩文

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科健康科学専攻人間環境学講座

消化器疾患・生活習慣病学 講師

研究要旨：本研究では、B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤治療の助成を申請した患者を対象に、治療の現況を調査した。まず、核酸アナログ製剤治療助成の申請を更新した 1294 例を対象とした。更新時にウイルス量が 2.2 LC/ml 以上の症例 245 例（18.9%）のうち 4 LC/ml 以上の高ウイルス量患者は 60 例（4.6%）であった。また、新規申請時と更新時の HBV DNA 測定結果が確認できた 487 名を対象とすると、4 LC/ml 以上の高ウイルス量患者は 30 例（6.2%）で、更新時までに治療変更されていない高ウイルス量患者 24 例の中で、HBV-DNA の改善が得られていない症例が 12 例、ALT 31 IU/L 以上が 10 例存在した。次に、肝炎助成を新規に申請した 870 例を調査すると、B 型肝炎再活性化予防目的に核酸アナログ製剤を投与された症例が 28 例（3.2%）存在した。以上の検討から、B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤治療は 1 年以上の経過で良好な抗ウイルス効果が得られると考えられたが、治療効果が十分得られていないにもかかわらず、治療変更されていない症例も一部存在することが明らかになった。また、B 型肝炎再活性化予防目的に核酸アナログ製剤が投与される症例が今後増加する可能性があると考えられた。

A. 研究目的

肝炎対策基本法により鹿児島県では 2010 年 5 月から B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤治療が助成の対象となり、助成申請者数が増加している。この背景には B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤の有効性が一因と考えられるが、治療効果が十分得られない症例も存在する。本研究では、B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤治療の医療費助成を申請した患者を対象に、治療の実態を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法（含、倫理面への配慮）

1) 更新申請者を対象とした検討

2011 年 2 月から 2012 年 9 月までに B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤治療に関

する医療費助成の更新申請を行い、更新時の HBV DNA が確認できた 1294 例、もしくは、2010 年 5 月から 2011 年 7 月までに B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤治療に関する医療費助成の更新申請を行い、前回申請時と今回更新時の HBV-DNA 測定結果が確認できた 487 例を対象とした。

2) 新規申請者を対象とした検討

2010 年 5 月から 2012 年 4 月までに新規申請した患者のうち、申請時の HBV-DNA 測定結果が確認できた 870 例を対象とした。

（倫理面への配慮）

臨床情報は匿名化してあるものを用い、個人情報保護に努めた。解析結果や臨床情報等は厳重に保管し、解析はネットワークから遮断されたコンピュータを用いた。

C. 研究結果

1) 更新申請者を対象とした検討

- ① 2011年2月から2012年9月までに治療医療費助成申請を更新した1294例の中で、更新時にウイルス量が4 LC/ml以上の症例は60例(4.6%)であった。
- ② 2011年7月までに更新申請し、更新時HBV-DNAが4 LC/ml以上であった症例は30例(6.2%)であった。また、更新時にHBV-DNAが4 LC/ml以上であった症例で、前回申請時から今回更新時の間に治療内容の変更がなかった症例が24例存在し、核酸アナログ単剤投与が15例、そのうち12例はHBV-DNAの低下が得られていなかった。さらに、ALT 31 IU/L以上の症例が10例存在した。
- ③ 2011年7月までに更新申請し、更新時にHBV-DNAが4 LC/ml以上で、申請から更新時の間に治療変更があった6例の治療内容は、エンテカビル増量1例、ラミブジンにアデホビル併用2例、エンテカビルにアデホビル併用3例であった。これらの6例うち、3例がHBV-DNAの低下がなかった。

2) 新規申請者を対象とした検討

- ① 核酸アナログ製剤治療が助成の対象となる前から核酸アナログ製剤が投与されていた継続治療例と、新規助成申請後に初めて核酸アナログ製剤が投与された初回治療例の2群を合わせた初回申請者でHBV-DNA測定結果が確認できた症例は2010年5～12月601例、2011年1～12月223例、2012年1～4月46例であった。
- ② 2)－①の中で、免疫抑制剤等でde novo B型肝炎もしくはB型肝炎の再活性化を発症例が2011年2例、2012年1例存在した。
- ③ 2)－①の中で、B型肝炎の再活性化予防目的で核酸アナログ製剤が投与された症例は、2010年8例、2011年13例、2012年7例であった。

D. 考察

B型肝炎に対する核酸アナログ製剤

治療が助成の対象となり、インターフェロン治療に対する申請よりも助成申請者数が飛躍的に増加した。この背景にはB型肝炎慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤の効果が高いこと、B型肝炎慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤は長期内服治療が必要であり、申請者の多くは継続して更新する必要があること、などが要因と考えられる。しかし、治療効果の実態は十分明らかになっていない。本研究では、肝炎助成申請患者を対象に解析し、抗ウイルス治療の実態を明らかにした。

今回の検討では、約1年もしくはそれ以上核酸アナログ製剤が投与された症例を2つの期間で調査したが、いずれも1年以上の経過で良好な抗ウイルス効果が得られると考えられた。一方、4 LC/ml以上の抗ウイルス効果が十分得られていないと考えられる症例は約5%存在すると考えられた。また、2011年7月までの487例の検討で、前回申請時から今回更新時の間に治療内容の変更がなく、核酸アナログ単剤投与例が15例存在した。これらの症例では、併用投与治療によりHBV-DNAが低下する可能性があり、核酸アナログ製剤の治療法の工夫の啓蒙が必要であると考えられた。また、多剤併用治療が継続して行われているにもかかわらず、1年以上HBV-DNAの改善が得られていない症例が存在した。多剤併用で治療抵抗性の症例に対しては、テノホビルなどの新規核酸アナログ製剤を用いた治療効果の検討が今後望まれる。

今回の検討で、B型肝炎の再活性化予防目的で核酸アナログ製剤が投与された症例は2010年から2012年にかけて増加していると考えられた。HBVキャリアに対する化学療法時には核酸アナログを予防投与してHBV再活性化を避けることが必要であることが広く知られるようになってきていることが増加の一因と考えられ、今後もこのような症例が増加することが推測された。

さらに、HBs抗原陰性でHBc抗体ないしHBs抗体陽性のHBV既往感染例でも、強力な免疫抑制剤などの使用により、de novo B型肝炎が発症することが報告され、今回の検討で

も、de novo B 型肝炎に対して核酸アナログ製剤が投与されている症例が含まれていた。今後、de novo B 型肝炎や HBV キャリアの再活性化の予防もしくは治療目的に核酸アナログ製剤を投与する症例が増加すると考えられた。

E. 結論

B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ製剤投与による治療効果はほとんどの症例で良好であったが、一部に多剤併用でも治療抵抗となっている症例が存在するため、新規核酸アナログ製剤の登場が期待される。また、B 型肝炎再活性化予防目的に核酸アナログ製剤が投与される症例が今後増加する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tsubouchi N, Uto H, Kumagai K, sasaki F, Kanmura S, Numata M, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Hayashi K, Kusumoto K, Shimoda K, Stuver SO, Tsubouchi H.

Impact of antibody to hepatitis B core antigen on the clinical course of hepatitis C virus carriers in a hyperendemic area in Japan: a community-based cohort study.

Hepatol Res. 2013 (in press)

- 2) Oketani M, Ido A, Uto H, Tsubouchi H. Prevention of hepatitis B virus reactivation in patients receiving immunosuppressive therapy or chemotherapy. Hepatol Res. 2012; 42: 627-36.

- 3) Oda K, Ido A, Tamai T, Matsushita M, Kumagai K, Mawatari S, Saishoji A, Kure T, Ohno K, Toyokura E, Imanaka D, Moriuchi A, Uto H, Oketani M, Hashiguchi T, Tsubouchi H.

Highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein is useful for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease.

Oncol Rep. 2011; 26: 1227-33.

- 4) Hiramane Y, Uto H, Imamura Y, Tabu K, Baba Y, Hiwaki T, Sho Y, Tahara K, Higashi H, Tamai T, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H.

Sorafenib and hepatic arterial infusion chemotherapy for unresectable advanced hepatocellular carcinoma: A comparative study.

Exp Ther Med. 2011; 2: 433-41.

2. 学会発表

- 1) 小田耕平、熊谷公太郎、馬渡誠一、大野香織、榑一晃、最勝寺晶子、今中大、呉建、玉井努、森内昭博、宇都浩文、桶谷眞、井戸章雄、坪内博仁。

当科で経験した de novo B 型肝炎の現状と今後の課題

第 48 回日本肝臓学会総会、金沢市、2012 年 6 月

- 2) 宇都浩文、米良久美子、坪内博仁。肝癌患者血清を用いたプロテオミクスで同定した Apoptosis Inhibitor of Macrophage (AIM) の病態への関与
第 39 回日本肝臓学会西部会、岡山市、2011 年 12 月

- 3) 熊谷公太郎、宇都浩文、玉井努、大野香織、榑一晃、小田耕平、最勝寺晶子、今中大、呉建、馬渡誠一、森内昭博、桶谷眞、井戸章雄、下高原哲郎、坪内博仁。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
第 98 回日本消化器病学会九州支部例会、長崎市、2011 年 11 月

- 4) Hiramane Y, Uto H, Imamura Y, Tabu K, Toyokura E, Hiwaki T, Sho Y, Baba Y, Tahara K, Higashi H, Tamai T, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H.

Long-term administration of sorafenib and initial dosage per body weight are associated with overall survival in patients with unresectable advanced hepatocellular carcinoma.

The 62th liver meeting of AASLD、サンフランシスコ、2011年11月

- 5) Ibusuki R, Uto H, Arima S, Mawatari S, Iwashita Y, Hashimoto S, Maeda T, Tamai T, Moriuchi A, Setoguchi Y, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H.

Human neutrophil peptide-1 aggravates hepatic fibrosis in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model.

The 62th liver meeting of AASLD、サンフランシスコ、2011年11月

- 6) 熊谷公太郎、井戸章雄、呉 建、高見陽一郎、佐々木文郷、小田耕平、最勝寺晶子、橋口正史、馬渡誠一、玉井 努、森内昭博、

宇都浩文、桶谷 眞、坪内博仁。

肝炎の進展過程における炎症の調節因子オステオアクチビンの役割

第47回日本肝臓学会総会、東京都、2011年6月

- 7) 平峯靖也、宇都浩文、坪内博仁。

進行肝細胞癌に対するソラフェニブ治療と肝動脈化学療法の効果比較

第97回日本消化器病学会総会、東京都、2011年5月

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

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

分担研究者：柘植 雅貴 広島大学自然科学研究支援開発センター 助教

研究要旨：B型慢性肝疾患に対して長期間の核酸アナログ治療を行うことによって、薬剤耐性株の出現が問題となっている。本研究では、新規抗ウイルス薬であるテノホビルの有効性を検証するため、各種核酸アナログ耐性株を発現する HBV 発現プラスミドを作製し、これらのウイルスに対するテノホビルの抗ウイルス効果について、検討を行った。野生株およびラミブジン耐性株におけるテノホビルの感受性は良好であり、*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が確認された。一方、ラミブジン・アデホビル耐性株 (rtA181T/N236T 株) では、野生株に比べ、テノホビルに対する感受性が低下していることが、*in vitro*、*in vivo*いずれの検討においても確認され、その感受性の低下は、A181T 変異に伴うものではなく、N236T 変に伴うものであることが示された。以上の結果から、ラミブジンやアデホビル耐性ウイルスは、テノホビルに対する感受性が低下し、十分な抗ウイルス効果が得られない可能性があり、テノホビルの導入の判断は慎重に行う必要があると考えられる。

A. 研究目的

2000 年以降、B 型慢性肝疾患に対する治療薬として核酸アナログ製剤が保険適応となり、治療成績は飛躍的に向上した。しかしながら、同製剤による治療は、B 型肝炎ウイルス (HBV) の増殖過程において、ウイルスポリメラーゼに取り込まれ、chain terminator としてマイナス鎖合成時の逆転写反応やプラス鎖合成時の伸長反応を阻害することで、HBV の増殖を抑制し、肝炎の鎮静化をはかるものであり、HBV を完全に肝細胞から排除することは困難であり、長期間の服薬治療が不可欠と言える。長期投薬により、肝組織の改善や発癌抑制効果が報告される一方で¹⁻⁴⁾、HBV がポリメラーゼ遺伝子にある RT 領域にアミノ酸変異を生じ、薬剤耐性を獲得することが大きな問題となっている。薬剤耐性の出現頻度が低いとされるエンテカビル (ETV) であっても、5 年間の投与における耐性ウイルスの頻度は 1.2~3.0% 存在しており⁴⁻⁵⁾、近年ではラミブジン (LMV)・ア

デホビル (ADV) 療法のような複数の核酸アナログを使用する治療に対しても抵抗性を示す多剤耐性ウイルスの報告もなされており^{6,7)}、薬剤耐性ウイルスに対する対策の構築は急務と言える。

近年、LMV、ADV、ETV に次ぐ新たな HBV 治療薬としてテノホビル (TDF) の治験が行われている。TDF は、HBV に対する抗ウイルス効果は非常に強力であり、また耐性株の出現率も低いことから、より早い保険適応が望まれている反面、薬剤耐性に関する検討は、十分に行われていないのが、現状である。これまでに我々は、*in vitro* および *in vivo* における HBV 複製・感染モデルを確立し、ポリメラーゼ領域の変異に伴う HBV に対する各種核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果を評価し、報告してきた⁸⁻¹⁰⁾。本研究では、その *in vitro* および *in vivo* の薬効評価系を用いて、ポリメラーゼ領域の変異株に対するテノホビルの抗ウイルス効果について検討を行った。

B. 研究方法（含、倫理面への配慮）

当研究室では、HBV 複製培養肝癌細胞株を用いた *in vitro* モデルおよび HBV 持続感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いた *in vivo* マウスモデルを作製し、これらのモデルが HBV に対する抗ウイルス薬の薬効評価系として有用であることを報告してきた (8-10)。本研究では、これらのモデルを用いて、薬剤耐性株に対するテノホビルの抗ウイルス効果について検討を行った。

1) 薬剤耐性変を有する HBV 発現プラスミド

の作製

B 型慢性肝炎患者の保存血清より、DNA を抽出し、HBV ゲノムを増幅し、1.4 倍長の HBV ゲノム (genotype C) を組み込んだ HBV 発現プラスミドを作製。この HBV 発現プラスミドの HBV ゲノムにある RT 領域に薬剤耐性変異を導入し、薬剤耐性 HBV を発現するプラスミドを作製した。

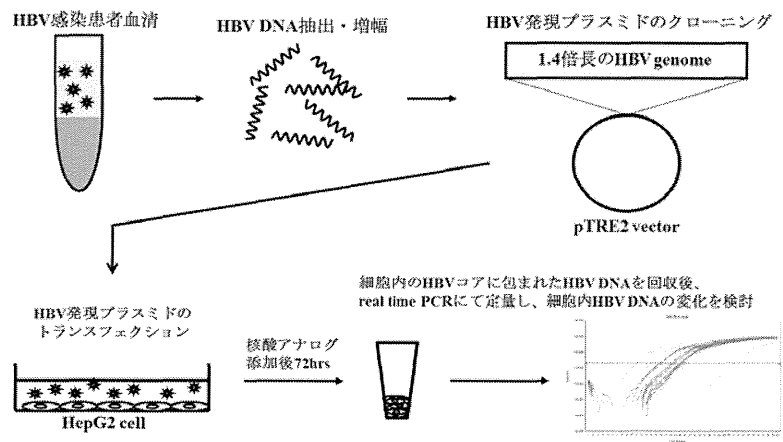
2) *In vitro* におけるテノホビルの抗ウイルス効果の検討（研究概略図 1）

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した。

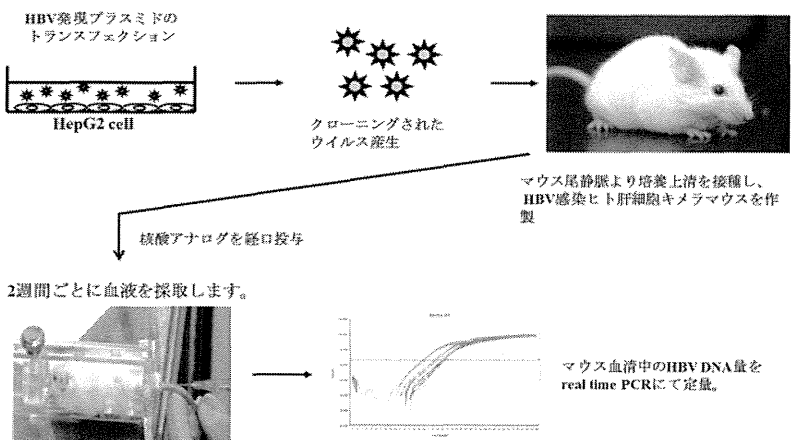
3) *In vivo* におけるテノホビルの抗ウイルス効果の検討（研究概略図 2）

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 の変化を検討した。

研究概略図1. *in vitro*モデルを用いたNAsの抗ウイルス効果の検討



研究概略図2. *in vivo*モデルを用いたNAsの抗ウイルス効果の検討

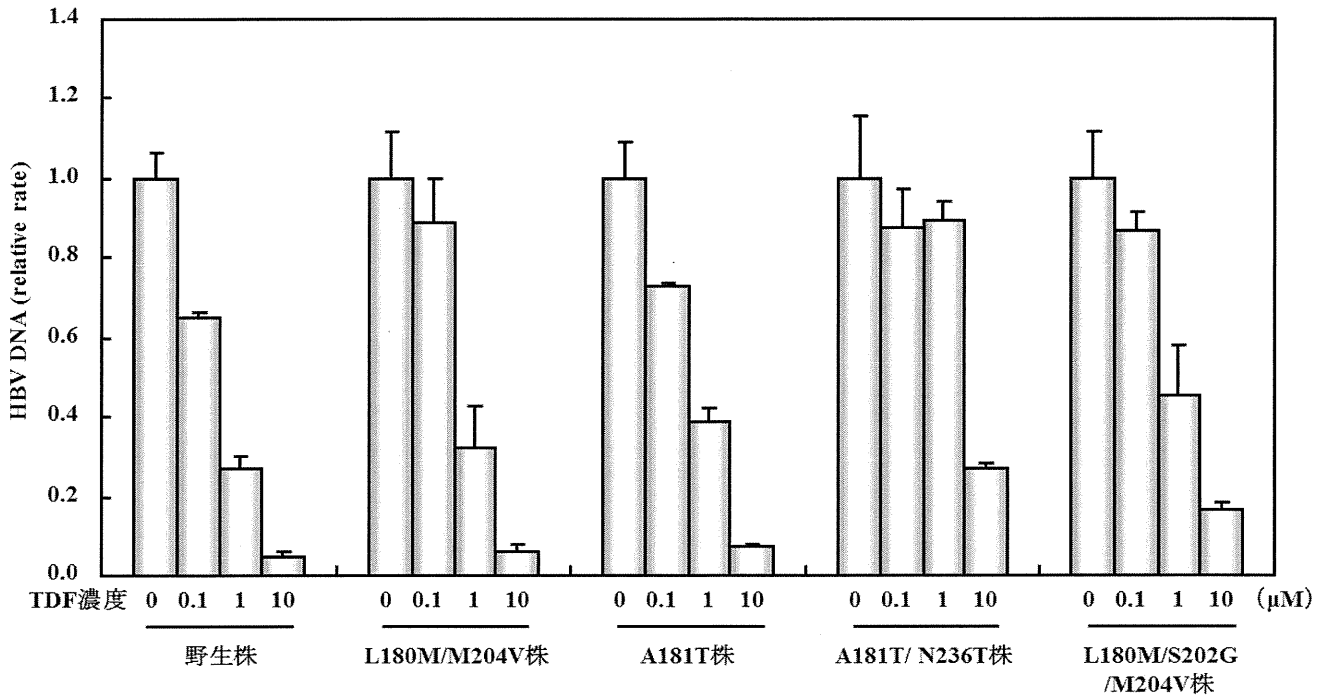


C. 研究結果

検討 1) 野生株に対する TDF の抗ウイルス効果の検討

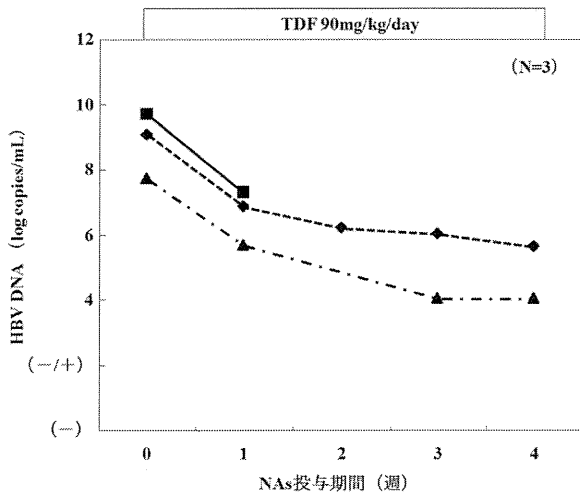
はじめに、TDF の抗ウイルス効果を検討するため、HBV 野生株を用いて、*in vitro* での検討を行った。野生株の HBV 発現プラスミドを HepG2 細胞にトランスフェクションし、24 時間後より培養上清中に核酸アナログを添加し、添加 72 時間後の細胞内の複製中間体量の变化を real time PCR 法を用いて検討した。その結果、図 1 に示すように、TDF の濃度依存的に HBV 細胞内複製中間体量は減少することが確認された。

図1. 各種薬剤耐性株におけるTDF感受性の検討 (*in vitro*)



そこで、*in vitro*における結果を確認するため、プラスミドをトランスフェクションした培養細胞より産生されたHBV粒子（野生株）をヒト肝細胞キメラマウスに接種し、*in vivo*におけるTDFの抗ウイルス効果を検討した。その結果、いずれのマウスにおいても、血中HBV-DNA量はTDF投与により速やかに低下し、4週間で平均3.6 Logの低下を認めた（図2）。

図2. *In vivo*における野生株に対するTDFの抗ウイルス効果の検討

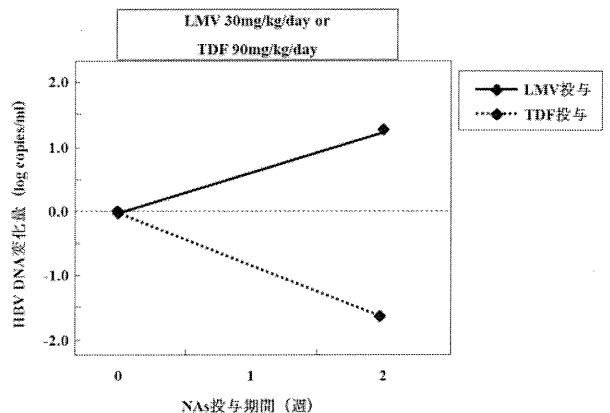


検討2) LMV耐性株に対するTDFの抗ウイルス効果の検討

次に、LMV耐性変異として頻度が高いrt180M/rtM204V株（LMV耐性株）を作製し、*in vitro*および*in vivo*におけるTDFの抗ウイ

ルス効果について検討した。rtL180M/rtM204V株発現プラスミドをHepG2細胞にトランスフェクションし、*in vitro*におけるTDFの抗ウイルス効果を検討したところ、野生株と同等の抗ウイルス効果が確認された（図1）。そこで、*in vitro*にて作製したLMV耐性HBV粒子（rtL180M/rtM204V株）をヒト肝細胞キメラマウスの尾静脈より接種し、LMV耐性HBV持続感染マウスを作製。同マウスにTDFを経口投与したところ、2週間の投与により、マウス血中のHBV DNA量は1.6 Logの低下を認め、rtL180M/rtM204V株に対するTDFの抗ウイルス効果が確認された（図3）。

図3. *In vivo*におけるLMV耐性株に対するTDFの抗ウイルス効果の検討



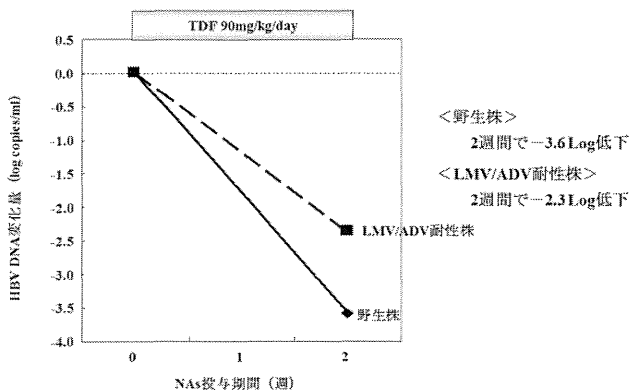
検討 3) LMV/ADV 耐性株を用いた

抗ウイルス効果の検討

現在、B 型慢性肝炎に対するガイドラインでは、LMV 耐性株が出現した症例に対し、LMV と ADV の併用療法が行われている。同治療法は、ADV 単独投与に比べ、耐性獲得の頻度が低いとされているものの、長期投与例では、LMV 単独投与例と同様に、LMV、ADV のいずれにも耐性を示す多剤耐性変異株が出現することが分かってきた^{6,7}。そこで、LMV/ADV 両剤耐性株として知られる rtA181T/rtN236T 株を作製し、同様の検討を行った。rtA181T/rtN236T 株をトランスフェクションした HepG2 細胞に対し、TDF を添加したところ、TDF の濃度依存的に HBV 細胞内複製中間体の減少が確認された。しかしながら、その TDF に対する感受性は、野生株に比べ、低下しており、IC₅₀ は野生株で 0.55 μ M であったのに対し、rtA181T/N236T 変異株では 7.00 μ M であった (図 1)。

さらに、*in vivo* の検討においても、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 は野生株では約 3.6Log copies/ml 低下したのに対し、rtA181T/N236T 変異株では 2.3Log copies/ml の低下にとどまった (図 4)。図 1 に示すように、*in vitro* の検討において rtA181T 変異のみでは、TDF の感受性はほとんど変化していないことから、rtN236T 変異が TDF 感受性に強く関与しているものと考えられた。

図4. LMV/ADV耐性株 (A181T/N236T) と野生株のTDF感受性の比較 (*in vivo*)



D. 考察

現在、B 型慢性肝疾患診療において、核酸アナログ製剤を用いた抗ウイルス療法は中心的な治療法として位置づけられ、広く使用されるようになった。しかしながら、HBV の完全排除が困難であることから、長期的な加療が不可欠であり、長期投与に伴う薬剤耐性ウイルス出現に対し、いかに対応するかが大きな課題となっている。現在、核酸アナログ治療の中心であるエンテカビルは、強力な抗ウイルス効果を示し、薬剤耐性ウイルスの出現頻度が少ないとされているものの、3 年間の継続治療により、1.2 ~ 3.3% の症例で耐性獲得が認められる。さらに、LMV や ETV に対する耐性が出現した症例や抗ウイルス効果が不良である症例に対しては、ADV との併用療法も行われているが、いずれの薬剤に対しても耐性を示すような多剤耐性 HBV の出現例も散見されるようになっている。そのため、多剤耐性ウイルスに対する対策が急務であり、その対応策の一つとして、現在、TDF の治験が進行中である。本研究では、LMV・ADV 併用療法に対する耐性出現症例におけ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。

図 1 に示したように、TDF の野生株、LMV 耐性株 (rtL180M/M204V 株) に対する抗ウイルス効果は非常に高く、*in vitro*、*in vivo* いずれの検討においてもほぼ同等の抗ウイルス効果が確認されたことから、臨床的にも核酸アナログ未治療例や LMV 耐性出現例に対する治療法として有効であると考えられた。一方、近年問題となっている LMV・ADV 両剤耐性株 (rtA181T/N236T 株) に対する TDF の抗ウイルス効果について *in vitro* での検討を行ったところ、rtA181T/N236T 株に対する TDF の抗ウイルス効果は野生株に対するものと比べ、やや低下していた (IC₅₀: 野生株 vs rtA181T/N236T 株 = 0.55 μ M vs 7.00 μ M)。また、*in vivo* の検討においても TDF に対する感受性低下が認められたことから、rtA181T/N236T 株は TDF に対して中等度の耐性を示すことが考えられ

た。これまで、TDF に対する耐性を獲得する変異としては、rtA194T が報告されているが、当研究室での検討では、ほとんど耐性は認められなかった。また、図 1 に示したように、rtA181T 変異株ではほとんど TDF に対する耐性獲得は認められず、rtN236T 変異が加わることにより耐性が増強していることから、rtN236T 変異は TDF の感受性を低下させることが示された。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、LMV・ADV 耐性株や ETV 耐性株などに対する治療薬として治験が進行中であり、強い抗ウイルス効果が期待されている。しかしながら、本研究の結果から考えると、rtA181T/N236T 株を有する症例では十分な抗ウイルス効果が得られない可能性も考えられ、今後、臨床成績も踏まえて十分に検討していく必要がある。

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、RT 領域の N236T 変異はテノホビルに対する感受性を低下させる可能性がある。今後、治療対象となることが予想されるラミブジン・アデホビル耐性株 (rtA181T/N236T 株) は、テノホビルによる抗ウイルス効果が十分に得られない可能性があり、テノホビルの導入の判断は慎重に行う必要がある。

参考文献

- 1) Chang TT, Liaw YF, Wu SS, Schiff E, Han KH, Lai CL, Safadi R, Lee SS, Halota W, Goodman Z, Chi YC, Zhang H, Hindes R, Iloeje U, Beebe S, Kreter B. Long-term entecavir therapy results in the reversal of fibrosis/cirrhosis and continued histological improvement in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010;52:886-93.
- 2) Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Long-term entecavir treatment reduces hepatocellular carcinoma incidence in patients with hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2012.
- 3) Ono A, Suzuki F, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Watahiki S, Mineta R, Kumada H. Long-term continuous entecavir therapy in nucleos(t)ide-naive chronic hepatitis B patients. *J Hepatol* 2012;57:508-14.
- 4) Yokosuka O, Takaguchi K, Fujioka S, Shindo M, Chayama K, Kobashi H, Hayashi N, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Ishikawa H, Masaki N, Seriu T, Omata M. Long-term use of entecavir in nucleoside-naive Japanese patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 2010;52:791-9.
- 5) Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, Pokornowski KA, Eggers BJ, Fang J, Wichroski MJ, Xu D, Yang J, Wilber RB, Colonno RJ. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naive patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 2009;49:1503-14.
- 6) Perrillo R, Hann HW, Mutimer D, Willems B, Leung N, Lee WM, Moorat A, Gardner S, Woessner M, Bourne E, Brosgart CL, Schiff E. Adefovir dipivoxil added to ongoing lamivudine in chronic hepatitis B with YMDD mutant hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2004;126:81-90.
- 7) Yatsuji H, Suzuki F, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Watahiki S, Iwasaki S, Kumada H. Low risk of adefovir resistance in

lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients treated with adefovir plus lamivudine combination therapy: two-year follow-up. *J Hepatol* 2008;48:923-31.

- 8) Tsuge M, Hiraga N, Takaishi H, Noguchi C, Oga H, Imamura M, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Ochi H, Chayama K, Tateno C, Yoshizato K. Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology* 2005;42:1046-54.
- 9) Yatsuji H, Hiraga N, Mori N, Hatakeyama T, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Suzuki F, Kumada H, Chayama K. Successful treatment of an entecavir-resistant hepatitis B virus variant. *J Med Virol* 2007;79:1811-7.
- 10) Yatsuji H, Noguchi C, Hiraga N, Mori N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Tateno C, Yoshizato K, Suzuki F, Kumada H, Chayama K. Emergence of a novel lamivudine-resistant hepatitis B virus variant with a substitution outside the YMDD motif. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3867-74.

F. 健康危険情報
なし

G. 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.

Hepatol Res. 2012; 42(2): 139-149.

- 5) Hayes CN, Akamatsu S, Tsuge M, Miki D, Akiyama R, Abe H, Ochi H, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Aikata H, Kawaoka T, Kawakami Y, Ohishi W, Chayama K.

Hepatitis B Virus-Specific miRNAs and Argonaute2 Play a Role in the Viral Life Cycle.

PLoS One. 7(10): e47490, 2012.

- 6) Okazaki A, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Tsuge M, Takahashi S, Aikata H, Abe H, Miki D, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Ohdan H, Chayama K.

Severe necroinflammatory reaction caused by natural killer cell-mediated

- Fas/Fas ligand interaction and dendritic cells in human hepatocyte chimeric mouse.
Hepatology 56(2): 555-66, 2012.
- 7) 柘植雅貴、茶山一彰
 B型慢性肝炎における核酸アナログ治療中止例の検討
 消化器内科 53(3): 300-308, 2011
- 8) 柘植雅貴、平賀伸彦、茶山一彰
 ヒト肝細胞キメラマウスを用いた B 型肝炎ウイルス感染とそれに伴うヒト肝細胞内遺伝子の発現変化
Medical practice 28(8): 1417-1419, 2011
- 9) 柘植雅貴、今村道雄、茶山一彰
 ヒト肝細胞キメラマウスを用いた抗 HBV 薬剤感受性評価と臨床への応用
 肝胆膵 65(4): 591-600, 2012
- 10) 柘植雅貴、平賀伸彦、茶山一彰
 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
 消化器内科 54(5): 575-581, 2012
- 11) 柘植雅貴、茶山一彰
 B 型肝炎の抗ウイルス療法 ③核酸アナログ (ラミブジン/アデホビル/エンテカビル/テノフォビル)
 インフォームドコンセントのための図説シリーズ 肝炎ウイルス - B型・C型 38-43, 2012
2. 学会発表
- 1) 柘植雅貴.
 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) 柘植雅貴.
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) 柘植雅貴.
 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) 柘植雅貴.
 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
- 5) Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Shoichi Takahashi, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Kazuaki Chayama.
 The effects on gene expression profiles in human hepatocytes by HBV and HCV infection.
 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) ポスター
- 6) Eisuke Murakami, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Michio Imamura, Shoichi Takahashi, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Kazuaki Chayama.
 Evaluation of antiviral effects of nucleos(t)ide analogues for hepatitis B virus using in vitro and in vivo models.
 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) ポスター
- 7) 森奈美、柘植雅貴、茶山一彰.
 血液悪性腫瘍に対する化学療法施行例における HBV 再活性化と核酸アナログ製剤による再活性化予防効果の解析
 第 16 回日本肝臓学会大会 パネルディスカッション 1
- 8) 小林知樹、柘植雅貴、福原崇之、柘木慶一、苗代典昭、中原隆志、本田洋士、宮木大輔、長沖祐子、河岡友和、高木慎太郎、平松 憲、今村道雄、川上由育、兵庫秀幸、相方 浩、高橋祥一、茶山一彰.
 当院における B 型慢性肝炎に対するインターフェロン治療効果の検討
 第 54 回日本消化器病学会大会 ポスター
- 9) 柘植雅貴.
 薬剤耐性 HBV に対する核酸アナログの抗