

F. 健康危険情報
特になし

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*2010;26(1):13-8
- 2) Abe H, Imamura M, Hiraga N, Tsuge M, Mitsui F, Kawaoka T, Takahashi S, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tateno C, Yoshizato K, Murakami S, Yamashita N, Matsuhira T, Asai K, Chayama K. ME3738 enhances the effect of interferon and inhibits hepatitis C virus replication both in vitro and in vivo. *J Hepatol*2010
- 3) Ohara E, Hiraga N, Imamura M, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Kono T, Onishi M, Hirata D, Mitsui F, Kawaoka T, Tsuge M, Takahashi S, Abe H, Hayes CN, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Tanaka S, Chayama K. Elimination of Hepatitis C Virus by Short Term NS3-4A and NS5B Inhibitor Combination Therapy in Human Hepatocyte Chimeric Mice. *J Hepatol*2010
- 4) Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Kiyohashi K, Kitazume A, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Wakita T, Watanabe M. Cell culture and in vivo analyses of cytopathic hepatitis C virus mutants. *Virology*2010;405(2):361-9
- 5) Tsuge M, Hiraga N, Akiyama R, Tanaka S, Matsushita M, Mitsui F, Abe H, Kitamura S, Hatakeyama T, Kimura T, Miki D, Mori N, Imamura M, Takahashi S, Hayes CN, Chayama K. HBx protein is indispensable for development of viraemia in human hepatocyte chimeric mice. *J Gen Virol*2010;91(Pt 7):1854-64
- 6) Kamiya N, Iwao E, Hiraga N, Tsuge M, Imamura M, Takahashi S, Miyoshi S, Tateno C,

Yoshizato K, Chayama K. Practical evaluation of a mouse with chimeric human liver model for hepatitis C virus infection using an NS3-4A protease inhibitor. *J Gen Virol*2010;91(Pt 7):1668-77

2. 学会発表

- 1) 茶山一彰. B型慢性肝炎の治療, 第96回日本消化器病学会総会, 新潟, 2010
- 2) 今村道雄, 越智秀典, 茶山一彰. C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療におけるILB28多型とCore領域変異の影響, 第96回日本消化器病学会総会, 新潟, 2010
- 3) 茶山一彰. C型肝炎の最新情報, 第46回日本肝臓学会総会 ランチョンセミナー1, 山形, 2010
- 4) 今村道雄, 越智秀典, 茶山一彰. C型慢性肝炎患者におけるILB28多型とウイルス側および宿主側因子との関連, 第46回日本肝臓学会総会 山形, 2010
- 5) 河岡友和, 高橋祥一, 田代裕尊, 大段秀樹, 茶山一彰. 肝移植後C型肝炎再燃に対するIFN治療の現況とSVR率改善のための検討, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 6) 石田友希, 兵庫秀幸, 石飛朋和, 鍋島由宝, 長沖祐子, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇浩司, 平松憲, 川上由育, 相方浩, 高橋祥一, 茶山一彰. 非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)における肝線維化と糖代謝異常の関連性について, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 7) 阿部弘美, 越智秀典, 柘植雅貴, 三木大樹, 光井富貴子, 平賀伸彦, 今村道雄, 高橋祥一, 茶山一彰. C型慢性肝炎患者に対するPegIFN/RBV療法の治療効果とIL28locusのSNPおよび肝内IFN誘導遺伝子発現量の関連, 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 8) 阿部弘美, 越智秀典, 柘植雅貴, 三木大

- 樹, 光井富貴子, 平賀伸彦, 今村道雄, 高橋祥一, 茶山一彰. IL28 の多型と C 型慢性肝炎の炎症、繊維化、 γ GTP との関連, 第 46 回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 9) 北本幹也, 井川 敦, 松本陽子, 山田博康, 川上由育, 茶山一彰. Genotype1b・高ウイルス量以外の C 型慢性肝炎に対する Response-guided therapy, 第 46 回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 10) 大石和佳, 吉田健吾, 林 奉権, 楠洋一郎, 藤原佐枝子, 柘植雅貴, 茶山一彰. C 型肝炎ウイルス感染における HLA DR B 1 と NKG 2D 遺伝子多型の影響, 第 46 回日本肝臓学会総会, 山形, 2010
- 11) 茶山一彰. C 型慢性肝炎の治療の予測因子, 第 28 回犬山シンポジウム, 愛知, 2010
- 12) Chayama K. Personalized Medicine in Chronic Hepatitis B, TAsL 2010 Single Topic Conference, 台北, 2010
- 13) 茶山一彰. B 型・C 型肝炎合併 CKD 患者におけるステロイド薬、免疫抑制薬使用に関する考え方, 第 40 回日本腎臓学会西部学術大会, 広島, 2010
- 14) 茶山一彰. C 型慢性肝炎の最新の治療, 第 239 回世羅郡医師会学術講演会, 広島, 2010
- 15) 茶山一彰. Hepatitis C Virus Replication and Response to Anti-viral Drugs in Human Hepatocyte Chimeric Mice, 第 7 回アジア太平洋肝臓病学会議 (APASL) シングルトピックカンファレンス, 千葉, 2010
- 16) 柘植雅貴, 今村道雄, 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, 第 14 回日本肝臓学会大会 第 52 回日本消化器病学会, 横浜, 2010
- 17) 越智秀典, 今村道雄, 茶山一彰. C 型慢性肝炎治療効果に対するゲノムワイド SNP 関連解析-IL28B 遺伝子多型と HCV ウィルスゲノム変異に関連して, 第 14 回日本肝臓学会大会 第 52 回日本消化器病学会, 横浜, 2010
- 18) 長沖祐子, 相方 浩, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. C 型肝炎に対する IFN SVR 後肝発癌に対する局所治療後の再発, 予後の検討, 横浜, 2010
- 19) 相方 浩, 長沖祐子, 橋本義政, 片村嘉男, 河岡友和, 高木慎太郎, 脇 浩司, 平松 憲, 今村道雄, 川上由育, 高橋祥一, 茶山一彰. C 型肝炎 IFN SVR 後の肝癌サーベイランスについての検討, 第 14 回日本肝臓学会大会, 横浜, 2010
- 20) Tsuge M, Kohno T, Abe H, Miki D, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Ochi H, Chayama K. Identification of Novel Hepatitis C Virus Deletion Mutants in Chronic Hepatitis C Patients, THE 61TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES, Boston, 2010
- H. 知的所有権の出願・取得状況
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
特になし

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（肝炎分野）

共同研究報告書

C型慢性肝炎における PEGIFN α 2a 少量長期投与による肝発癌抑止効果

武蔵野赤十字病院消化器科 泉 並木

研究要旨：C型慢性肝炎ではインターフェロン投与によってSVRが得られなかった場合に肝発癌率が高い。日本の多施設共同で retrospective にC型慢性肝炎症例を集計し、ペグインターフェロン(PEGIFN) α 2a の少量を長期間投与されていた症例の肝発癌率を解析した。PEGIFN α 2a 単独投与を1年以上受けていた慢性肝炎と肝硬変 594 例が集計され、そのうち 49 例に肝発癌がみられた。肝発癌リスクを解析すると HCVRNA 陰性化例、ALT 値 40 IU/L 以下、alpha-fetoprotein (AFP) 値 10ng/ml 以下になった場合に発癌が低下していた。同じ cohort で PEGIFN α 2a 非投与の症例 99 例を解析した。3.8 年の経過観察中 16 例に肝発癌がみられた。propensity matched control study を行ない、コントロール群に比較して PEGIFN α 2a 投与群で肝発癌が有意に低く、とくに F3 と F4 の肝線維化進展例のみで解析すると、PEGIFN α 2a 投与例で有意に肝発癌が抑制されていた。

A. 研究目的

C型慢性肝炎では詳細な解析によって65歳以上の高齢者での肝発癌が高くなり、肝線維化をそろえても同様の結果が得られた¹⁾。しかし、高齢者ではリバビリンを減量することが多くSVR率が低下するため、肝発癌を防止する対策を講じることが重要である。欧米ではPEGIFN α 2aとリバビリン併用による無効例に対して、90 μ gのPEGIFN α 2a単独を週1回投与すると、8.5年間経過観察したところ肝硬変例でPEGIFN α 2a投与群での肝発癌低下が認められた。そこで、わが国で同様のPEGIFN α 2a少量長期治療によって、肝発癌が低下しているか否かについて、多施設共同でretrospectiveに解析した。

B. 研究方法

2003年12月以降に、1年間以上のPEGIFN α 2a単独治療をうけたC型慢性肝炎を、全国21施設からretrospectiveに集計して、肝発癌についての解析を行った。全体でPEGIFN α 2aの投与を受けていた743例が集計された。このうち、治療開始前のHCCの既往がある例と治療期間が48週間未満の例を除外して、PEGIFN α 2aの長期投与をうけていた594

例を解析した。肝発癌に關与する因子を単変量とLogistic回帰分析による多変量解析で検討した。さらに治療開始24週目の血清ALT値、AFP値、HCVRNA別に肝発癌率をKaplan Meier法で解析した。また、ウルソデオキシコール酸(UDCA)やグリチルリチン(GRN)製剤などの肝底護薬によって治療された、あるいは未治療で1年以上経過観察されたコントロール群99例が集計された。欠損のない例が59例あった。これを対象にして、年齢・性・BMI・HCVRNA量・肝線維化によってpropensity score matched control studyによってPEGIFN α 2a群から59例を選び、control studyを行った。このpropensity matched control studyではそれぞれの肝発癌率をKaplan Meier法で解析した。また、F3・F4の肝線維化進展例のみで肝発癌リスクを比較した。(倫理面への配慮)

臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報、守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した(新GCPに遵守)。既に医療保険が認められている治療法においても上記に準じて書面の同意書を得

ている

C. 研究結果

(1) 90 μ gのPEGIFN α 2a単独を1週から2週に1回の投与を1年以上うけた症例で肝発癌に關与する因子を解析した。単変量解析では肝発癌例と非発癌例で、性、年齢、Staging（肝線維化）、Grading（肝炎活動性）、血小板数、アルブミン値、総ビリルビン値に有意差がみられた。これを多変量解析すると、性、年齢、Staging、血小板数、総ビリルビン値が独立で肝発癌に關与していた。経過観察開始24週間目のALT値が40 IU/L以下であった場合には、41 IU/L以上の場合よりも有意に肝発癌が低く、同様に24週間目のAFP値が10 ng/mL未満であった例では、10 ng/mL以上の例よりも有意に肝発癌が低値であった。

(2) matched pair 試験では、コントロール群59例とPEGIFN α 2a群から59例で、両群の患者背景は肝組織所見がGrading A2-3がPEGIFN α 2a群で多く、IFN投与歴がPEGIFN α 2a群で多く、白血球数がPEGIFN α 2a群で少なかったが、それ以外には差がみられなかった。それぞれの肝発癌率をKaplan Meier法によって比較したところ、PEGIFN α 2a群で有意に低いことが認められた。とくにF3,F4のadvanced fibrosis of the liverの症例だけに限定すると、PEGIFN α 2a群で肝発癌が低いことが認められた。Stepwise Cox proportional hazard modelによって肝発癌risk factorを解析すると、PEGIFN α 2aの投与をうけたことと、年齢のみが有意な肝発癌risk factorであった。

D. 考察

日本では高齢者のC型肝炎が増加しているが、高齢者では肝発癌リスクが高いことが証明されている(1)。高齢者ではPEGIFNとRBV併用治療の完遂率が低いと、効果がでにくい。そこで、高齢者での肝発癌防止は解決すべき重要な課題である。PEGIFN α 2aとRBV併用療法で無効であった症例に対して、PEGIFN α 2a単独で治療した場合に、肝発癌が防止できるか否かについて、大規模無作為比較試験（HALT-C study）が行われた。より長期間経過観察す

ることによって肝硬変例で肝発癌が低下することが報告された。したがって、欧米では少量のPEGIFN α 2aのmaintenance投与が肝発癌の抑制に寄与することが証明されている。今回の日本での多施設共同のretrospective解析では、90 μ gのPEGIFN α 2a単独を1週間から2週間に1回投与した例で、治療開始24週目のAFP値が10ng/ml以下になるかALT値が40 IU/L未満になっていた場合に、肝発癌が少ないことが認められた。IFN非投与のコントロール群とのmatched case-control studyではF3,F4の肝線維化進展例で、肝発癌が有意に少なかった。

したがって、日本においてHALT-C studyの肝線維化進展例におけるPEGIFN α 2aの肝発癌抑制効果が再確認されたと考えられる。

C型慢性肝炎症例において、肝内脂肪化が肝発癌に關与する(3)。また糖尿病を合併することが肝発癌のリスクになる。肝発癌防止対策を行うことが、C型肝炎患者の生命予後改善のために重要である。

E. 結論

肝線維化が進展したC型慢性肝炎に対してPEGIFN α 2aのmaintenance投与によって、血清ALTとAFP値を参考にして、肝発癌防止対策を行うことが重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1)Asahina Y, Izumi N.et al. Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus infection. Hepatology 2010;52:518-27.(2)Kurosaki M, Izumi N, et al. Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. J Hepatol 2010 in press.(3) Kurosaki M, Izumi N. et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C is a significant risk factor for developing hepatocellular carcinoma independent of age, sex, obesity, fibrosis stage and response to interferon therapy. Hepatol Res 2010;40:870-7.

2. 学会発表

1. 朝比奈靖浩他.第46回日本肝臓学会総会シンポジウム、平成22年5月27日、山形. 2.黒崎雅之他. 第46回日本肝臓学会総会ワークショップ
山形、3. 朝比奈靖浩他 第14回日本肝臓学会大会パネルディスカッション 平成22年10月15日 横浜. 4. 黒崎雅之他 第14回日本肝臓学会大会 平成22年10月14日 横浜. 5加藤知爾他 第37回日本肝臓学会総会シンポジウム 平成22年12月4日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

今回の研究については予定なし。

II. 分担研究報告

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（肝炎分野）

分担研究報告書

急性肝炎及びエンテカビル投与慢性肝症例におけるHBマーカーの推移の検討

研究分担者 四柳 宏 東京大学大学院医学系研究科 生体防御感染症学 准教授

研究要旨：B型急性肝炎におけるウイルスマーカーの推移をB型慢性肝炎に対してエンテカビルを投与した症例と比較した。急性肝炎119例の臨床経過は、発症から3ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの（Group A）60例、3ヶ月以降6ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの（Group B）42例、6ヶ月以降にHBs抗原が陰性化したもの（Group C）11例、慢性化したもの（Group D）6例に分かれた。HBs抗原、HBV DNA、HBcrAgの減衰速度はGroup A、B、Cの順に緩やかになった。Group Dでは、減衰したこれらのウイルスマーカーが4週時点で再上昇する傾向が認められた。また、エンテカビルを投与した慢性肝炎例では、HBV DNAの減衰はGroup Bとほぼ同様の結果であったが、HBcrAgの減衰は認められなかった。なお、慢性化例ではHBcrAgは増加した。以上の結果からエンテカビル投与はHBVの増殖を急性肝炎の治癒例同様抑制できるものの、肝細胞内のHBVプールを減らすことはできないことが確認された。また、急性肝炎例におけるウイルス排除は10%以上の症例で6ヶ月以上に及び、症例によって大きな差があることが確認された。

共同研究者

山田典栄 東京大学大学院医学系研究科
生体防御感染症学

A. 研究目的

本邦のB型肝炎の遺伝子型分布は大きく変化してきている。特に急性肝炎の症例では、半数以上の症例が従来本邦に見られなかった遺伝子型Aに感染している。持続感染（慢性肝炎）例に関しても遺伝子型Aの症例が急速に増加していることが報告されている。

遺伝子型Aの症例の増加に伴い、肝炎が遷延化、慢性化する症例が目立ってきた。遺伝子型Aの症例の約10%が急性肝炎から持続感染へと以降することが報告されており、大きな問題となりつつある。

急性肝炎から持続感染へ移行する症例は、ウイルス排除が遅れるか、ウイルス排除が十分におこらない症例と考えられる。こうした病態を理解し、十分な対策をとるためには、

多数の急性肝炎例を対象にしたウイルスマーカーの推移の検討が必要である。

今回我々はB型急性肝炎の症例を主な対象としてウイルスマーカーの推移を検討した。今後の遷延化例に対するエンテカビル投与の適応を考えるため、エンテカビル投与を行った慢性肝炎例も対象の一部に含めた。

B. 研究方法

2001年12月から2010年3月に当院及び関連病院に入院し、抗ウイルス療法を受けていないB型急性肝炎133例を対象とした（男：女=104：29、平均32.8±10.0歳）。遺伝子型の判定は118例で可能で、A：65例、B：16例、C：37例であった。

ウイルスマーカーはHBs抗原（CLEIA法：log IU/ml）、HBV DNA（RTD-PCR法：log copies/ml）、HBcrAg（LUMIPULS

E法：log IU/ml) を保存血清を用いて経時的に測定した。

C. 研究結果

1. 対象症例の背景因子

急性肝炎の背景因子を(表1)に示す。慢性化例は104例中6例(6%)であった。遺伝子型Aの症例は、遺伝子型Cの症例に比べて男性の割合が多かった($p=0.009$)。

2. HBs抗原の推移

症例をHBs抗原の陰性化の時期によりGroup A(発症から3ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの)、Group B(発症から3ヶ月以降6ヶ月以内にHBs抗原が陰性化したもの)、Group C(発症から6ヶ月以降にHBs抗原が陰性化したもの)、Group D(慢性化したもの)に分けた。Group Aは60例、Group Bは42例、Group Cは11例、Group Dは6例であった。

各グループについて来院時、2週間後、4週間後、8週間後、12週間後のHBs抗原量を示したものを(表2)に示す。Group A、B、Cの順にHBs抗原の減衰はなだらかになった。Group Dでは2週間後に減少したHBs抗原が4週間後に再上昇する傾向が認められた。

3. HBV DNAの推移

2同様、症例をHBs抗原の陰性化の時期によりGroup A、B、C、D(慢性化したもの)に分けた。

各グループについて来院時、2週間後、4週間後、8週間後、12週間後のHBV DNA量を示したものを(表3)に示す。Group A、B、Cの順にHBV DNAの減衰はなだらかになった。Group Dでは2週間後に減少したHBV DNAが4週間後に再上昇する傾向が認められた。

慢性肝炎の症例にエンテカビルを投与した際との対比では、HBV DNAの減衰曲線

はGroup Bとほぼ同一の変化を示した。

4. HBcrAg(コア関連抗原)の推移

2同様、症例をHBs抗原の陰性化の時期によりGroup A、B、C、D(慢性化したもの)に分けた。

各グループについて来院時、2週間後、4週間後、8週間後、12週間後のHBcrAg量を示したものを(表4)に示す。Group A、B、Cの順にHBcrAgの減衰はなだらかになった。Group Dでは2週間後に減少したHBcrAgが4週間後に再上昇し、以後上昇を続ける傾向が認められた。

慢性肝炎の症例にエンテカビルを投与した際には、HBcrAgはほとんど変化を認めなかった。

D. 考察

B型急性肝炎は自然治癒傾向の強い疾患である。“治癒”とは一般にHBs抗原が陰性化することを指すが、B型急性肝炎の治癒した状態では、肝組織中では低レベルのウイルス増殖が持続しており、それが主として細胞性免疫応答により一定のレベルに抑えられている。このように考えると、急性肝炎の慢性化する機序は、ウイルスの増殖中が強い、あるいは宿主の免疫応答が弱いことにより、ウイルスを抑え込むことができないことにあると考えられる。

今回の検討結果から、慢性化した症例では、4週時点でHBs抗原、HBV DNAのいずれもが再上昇しており、ウイルスの活発な増殖が続いていることが確認された。この機序は不明であるが、いずれにしても、ウイルスマーカーの再上昇を認めることは慢性化を疑う所見である。

このような症例に対しては、現在エンテカビルの投与が行われることがある。しかしながらその効果は不明である。今回慢性肝炎に対するエンテカビル投与の結果からわかった

ことは、HBV DNAの減衰は急性肝炎と慢性肝炎の間で差はないが、HBc r Agの減衰は慢性肝炎ではほとんど認められないことである。この知見から考えると、急性肝炎が遷延化して、肝内のウイルスを排除するのに必要な免疫応答が十分に誘導されなければ、急性肝炎の状態でエンテカビルを投与しても治癒させることができないと考えられる。従ってエンテカビルの投与はHBc r Agの再上昇が認められた時点で行うのが理にかなっていると思われる。今後一層の検討が必要である。

本邦でも遺伝子型Aの肝炎例が増えており、今後は肝炎の予後を正確に推定することが重要になってくる。各種ウイルスマーカーのダイナミクスを調べることにより、少なくとも急性肝炎の慢性化に関しては予測が可能であり、特に4週後のウイルスマーカーの再上昇は大切であると考えられた。

E. 結論

1. B型急性肝炎の10%以上で、ウイルスが発症6ヶ月後でも排除されない。慢性肝炎への移行例も1割弱の症例で見られる。
2. 急性肝炎では、ウイルスマーカーの減衰速度により、ウイルスの排除される時期が推定可能である。
3. 発症4週後の時点でウイルスの再増殖が認められる症例は慢性肝炎に移行する可能性が高い。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 山田典栄, 四柳宏, 奥瀬千晃, 安田清美, 鈴木通博, 小池和彦. B型急性肝炎におけるHBs抗原陽性持続期間の検討. 肝臓51 : 534-535, 2010.

2. 学会発表

1) 四柳宏, 菊池嘉, 塚田訓久, 高松純樹, 森屋恭爾, 小池和彦, 加藤道夫, 髭修平, 茶山一彰. 本邦におけるHIV感染症に合併したHBV感染の実態 全国調査の結果から. 第84回日本感染症学会. 京都市, 2010年.

2) 高橋秀明, 奥瀬千晃, 四柳宏. B型肝炎診療の現在・未来 B型急性肝炎におけるHBsAg定量の臨床的意義. 第38回日本肝臓学会東部会. 東京, 2010年.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

表1 急性肝炎の患者背景

	年齢	性別 (男:女)	慢性化例 (男:女)
全体	32.8 ± 10.0	104 : 29	6 (5 : 1)
Genotype A	31.5 ± 9.6	60 : 4	5 (4 : 1)
Genotype B	29.2 ± 6.6	16 : 1	1 (1 : 0)
Genotype C	34.6 ± 9.0	27 : 10	0

表2 HBs抗原量の推移

	0W	2W	1M	2M	3M
group A	3.71 ± 0.99	1.48 ± 2.30	1.26 ± 1.94	-0.62 ± 1.69	-1.75 ± 0.70
group B	4.17 ± 0.47	3.46 ± 0.44	2.94 ± 0.54	1.58 ± 1.07	-0.38 ± 1.16
group C	4.56 ± 0.44	4.10 ± 1.03	4.06 ± 0.62	2.89 ± 0.90	2.03 ± 0.51
group D	4.31 ± 1.17	4.09 ± 1.34	4.13 ± 1.30	4.35 ± 1.08	4.03 ± 1.12

表3 HBV DNAの推移

	0W	2W	1M	2M	3M
group A	6.21 ± 1.92	4.16 ± 1.57	2.77 ± 0.94	2.17 ± 0.73	1.88 ± 0.48
group B	6.11 ± 1.15	4.58 ± 1.11	3.43 ± 0.74	2.86 ± 0.70	2.53 ± 0.52
group C	6.80 ± 0.95	5.83 ± 1.23	4.37 ± 1.68	4.50 ± 1.27	4.2
group D	7.58 ± 2.06	6.60 ± 2.44	8.25 ± 0.50	8.20 ± 0.52	8.20 ± 0.96

表4 HBcr抗原量の推移

	0W	2W	1M	2M	3M
group A	6.70 ± 0.89	5.13 ± 0.94	4.64 ± 0.53	3.93 ± 0.89	3.6 ± 0.49
group B	6.78 ± 0.56	5.98 ± 0.85	5.23 ± 0.30	4.60 ± 0.52	4.03 ± 0.30
group C	7.23 ± 0.40	6.23 ± 0.68	5.73 ± 1.01	5.10 ± 0.78	5.1
group D	7.56 ± 0.77	6.33 ± 0.90	7.73 ± 0.84	7.63 ± 0.90	7.60 ± 0.88

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（肝炎分野）

分担研究報告書

劇症肝炎患者の B 型肝炎ウイルスに認められた precore 領域の frameshift について

研究分担者 上野義之 東北大学大学院医学系研究科消化器病態学分野 准教授

研究要旨：【目的】 Genotype B の B 型肝炎ウイルス（HBV）は劇症肝炎と関連があると報告されている。今回、我々は genotype B が多い東北地方における劇症肝炎患者から得られた HBV の特徴を明らかにすることを目的として研究をおこなった。**【方法】** 16 名の B 型劇症肝炎患者の結成を用いて HBV の S 領域および core promoter/precore 領域の部分塩基配列を決定した。認められた変異、挿入、欠失の意義について in vitro の HBV 複製系を用いて検討した。**【結果】** 16 株の HBV の subgenotype を検討すると、31%が B1/Bj、38%が B2/Ba、31%が C2/Ce であった。特筆すべきことに、B1/Bj の 60%に precore 領域の frameshift を生じるような一塩基の挿入または欠失が認められた。In vitro の HBV 複製系において、これらの変異体では野生型に比較して有意に HBV DNA 量が増加していた。これらのうち、nt 1900 と 1901 の間への一塩基（A）の挿入はコア蛋白の Kozak 配列を 3 塩基変化させ、コア蛋白の発現を増加させていた。**【結果】** Precore 領域の frameshift を生じる挿入あるいは欠失は HBV の複製を亢進させ、subgenotype B1/Bj の HBV による劇症肝炎に関連していると考えられた。

A. 研究目的

世界的に HBV の genotype の分布が異なることが報告されており、genotype C が多い日本においても genotype B が東北地方に多いといった違いがある。しかしながら、そのような地域における劇症肝炎患者から得られた HBV のウイルス学的特徴は明らかになっていない。そこで、今回我々は当院の劇症肝炎患者の HBV の特徴について、特に genotype B に着目して解析することを目的とした。

B. 研究方法

1996年1月から2010年11月までの間の当院に入院した60名の HBV 急性感染患者のうち、15名（25%）が劇症肝炎と診断されていた。HBV キャリアからの劇症肝炎1名を加えて16例の患者血清を用いて解析を行った。

患者血清50μl から DNA を抽出し、HBV の S 領域の396塩基（nt 272-667）および core promoter/precore 領域の225塩基（nt 1673-1927）を nested PCR により増幅した。PCR 産物の塩

基配列を direct sequencing により決定した。

1.3倍長（nt 1051-3215/1-1953）の HBV genome を含む plasmid を genotype B1/Bj の急性肝炎患者の HBV を基に構築した。これを template として、site-directed mutagenesis を用いて G1896A、nt 1837/1838への A の挿入（1838insA）、nt 1846の一塩基の欠失（1846del）、nt 1900/1901への一塩基の挿入（1901insA）のあるクローンを作成した。1901insA のクローンはさらに T1855C の変異を導入したのものも構築した。

0.5μg の plasmid を 24 well plate に培養した HepG2 にトランスフェクションし、3日後に培養上清と細胞を回収した。Southern blotting の解析には 6 well plate で培養した細胞に 1.5μg の plasmid をトランスフェクションして解析した。

培養上清を DNase I で 2 時間処理して input DNA を消化した後に QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。

Real-time PCRによりHBV DNA量を測定した。HBsAg、HBeAgについてはELISA kitを用いて測定した。細胞内のHBV複製中間体量についてはSouthern blottingにより定量化した。

コア蛋白の開始コドン周辺のKozak配列が蛋白発現に与える影響について、無細胞蛋白発現系 (TNT T7 Quick for PCR DNA, Promega) を用いて検討した。Templateとして、Kozak配列からコア蛋白の停止コドンまでを含む領域のPCR産物を用い、anti-HBc polyclonal抗体 (Dako) を用いたWestern blottingにより発現蛋白量を解析した。

C. 研究結果

16例の劇症肝炎患者の平均年齢は53.0

(29-71)歳で男性が13例(81%)であった。総ビリルビンの最高値の平均は14.7、ALTの最高値の平均は4932、PTの最低値の平均は18.6%であった。9例(56%)が劇症肝炎が原因で死亡した。2003年以降は4例の劇症肝炎に対して生体肝移植が行われ、全例が救命された。

HBVのS領域の部分塩基配列を基に分子系統樹解析を行いsubgenotypeを分類すると、16株の劇症肝炎HBV株のうち5株(31%)がB1/Bj、6株(38%)がB2/Ba、5株(31%)がC2/Ceであった。なお、B2/Baのうち5株は一つのクラスターを形成していたが、これは感染源が同一と考えられた集団として過去に報告したものであった(Nagasaki et al., J Med Virol 2008)。従って、genotype Bが69%を占めており、これは過去の日本における報告(22-33%)よりも高い割合であった。また、これは過去の東北地方における急性肝炎でのgenotype Bの割合(21%)よりも高かった。

Core promoter/precore領域の解析では、配列がほぼ同一のB2/Baの5株を一つにまとめると、nt 1753、1754、1762/1764、1862、1896、1899の変異がそれぞれ17%、33%、42%、8%、67%、25%に認められた。これらの分布は

subgenotype間で異なり、T1754GはB1/Bjにのみ認められ、nt 1762/1764の変異はB2/BaとC2/Ceのみに認められ、G1899AはB1/Bjにのみ認められるといった特徴があった。興味深いことに、precore領域の一塩基の挿入あるいは欠失がB1/Bjにのみ認められ(3/5、60%)た。この挿入あるいは欠失はprecore蛋白にframeshiftを生じ、HBeAgの産生が停止させると考えられた。このようなframeshiftは過去の報告ではHBeAg陰性のHBVキャリアに認められたという報告はあるが、急性肝炎患者では報告されていなかった。

一般的なprecore領域のframeshiftを生じる挿入あるいは欠失の分布を秋からかにするため、Hepatitis Virus Databaseに登録されているHBV全長塩基配列を解析した。2010年11月の時点で3457株の登録があり、このうち3391株がgenotype A-Iに分類された。全体でgenotype A、B、C、Dの11株(0.3%)にprecore frameshiftが認められ、genotype以外の株にも生じうるものと考えられた。

劇症肝炎患者に認められた変異・挿入・欠失のうちG1896A、G1899A、1901insAがHBVのepsilon signalに影響を与える可能性が考えられた。Epsilon signalはプレゲノムRNAの二次構造を形成し、プレゲノムRNAのencapsidationに必須であると報告されている。この二次構造の安定性がHBV複製効率に影響すると考えられている。1901insAはこの構造を不安定にしており、同じ株に認められたT1855Cという変異がそれを代償しているものと考えられた。その安定性を二次構造から計算される自由エネルギーで検討すると、G1896AやG1899Aは安定性を高めていたが、1901insA+T1855Cでは野生型よりも安定性は低いと考えられた。

劇症肝炎患者に認められた変異・挿入・欠失の劇症肝炎発症における意義を検討するため、これらをin vitroのHBV複製系に導入してウイルス複製能を検討した。すると、培養上清

中の HBV DNA 量はいずれの frameshift の株においても野生型に比較して有意に増加していた。T1855C は単独では影響しなかったが、1901insA と共存すると HBV DNA 量をさらに増加させた。

細胞内の複製中間体については Southern blotting で検討し、培養上清中のウイルス量と同様の傾向が確認された。

Epsilon signal の構造の安定性が効率的な HBV 複製に必要であると考えられているが、1901insA+T1855C ではむしろ不安定であり、HBV DNA 量増加の機序は別に存在すると考えられた。そこで我々は、1901insA がコア蛋白の開始コドン周辺の Kozak 配列を変化させることに着目した。無細胞蛋白発現系を用いて検討すると、1901insA でコアタンパク量の増加が確認され、このことが HBV DNA の増加、さらには劇症肝炎発症と関連する可能性が考えられた。

D. 考察

HBV による劇症肝炎発症の機序としては HBV の急激な増加と HBV 感染細胞に対する強い免疫応答が考えられている。これまでにいくつかの劇症肝炎 HBV 株に認められた変異がウイルス複製能を高めていることが *in vitro* の研究で報告されている。本研究では HBeAg の産生を停止させるような precore 領域の frameshift が subgenotype B1/Bj の劇症肝炎株に多く認められた。このような frameshift は HBeA 陽性の割合が高い (56-84%) 急性肝炎例では報告がなかった。

近年、慢性肝炎例において東北地方では genotype B が日本全体よりも多いことが報告されている (44% vs. 14%、Matsuura et al., J Clin Microbiol 2009)。本研究では劇症肝炎例の中でも genotype B の割合が高いことが確認された。

本研究では precore 領域の frameshift が subgenotype B1/Bj にのみ認められた。データ

ベースに登録されている HBV 全長塩基配列を検討すると、frameshift は他の genotype (少なくとも A-D) でも起こり得るが、低頻度 (0.3%) であった。興味深いことに、Sugauchi らは B1/Bj の HBV 慢性感染の患者において 7/275 (2.5%) に 1838insA を認めたと報告している (Sugauchi et al., Clin Infect Dis 2004)。従って、B1/Bj では frameshift が生じやすい可能性がある。

E. 結論

東北地方における劇症肝炎患者の subgenotype B1/Bj の HBV には precore 領域の frameshift を生じる挿入・欠失が高頻度に認められた。この frameshift が HBV の複製効率を高めることが *in vitro* の実験で明らかとなり、特に 1901insA という新規の挿入はコア蛋白の Kozak 配列を変化させてウイルス複製能を高めていると考えられた。従って、precore 領域の frameshift は劇症肝炎発症において意義のあるものと考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kondo Y, Ueno Y, Kakazu E, Kobayashi K, Shiina M, Tamai K, Machida K, Inoue J, Wakui Y, Fukushima K, Obara N, Kimura O, Shimosegawa T. Lymphotropic HCV strain can infect human primary naive CD4(+) cells and affect their proliferation and IFN-gamma secretion activity. J Gastroenterol 2011;46:232-41.

2) Inoue J, Ueno Y, Wakui Y, Niitsuma H, Fukushima K, Yamagiwa Y, Shiina M, Kondo Y, Kakazu E, Tamai K, Obara N, Iwasaki T, Shimosegawa T. Four-year study of lamivudine and adefovir combination therapy in lamivudine-resistant hepatitis B patients: influence of hepatitis B virus genotype and

resistance mutation pattern. *J Viral Hepatol* 2011;18:206-15.

3) Alpini G, Franchitto A, Demorrow S, Onori P, Gaudio E, Wise C, Francis H, Venter J, Kopriva S, Mancinelli R, Carpino G, Stagnitti F, Ueno Y, Han Y, Meng F, Glaser S. Activation of alpha(1)-adrenergic receptors stimulate the growth of small mouse cholangiocytes via calcium-dependent activation of nuclear factor of activated T cells 2 and specificity protein 1. *Hepatology* 2011;53:628-39.

4) Woo K, Sathe M, Kresge C, Esser V, Ueno Y, Venter J, Glaser SS, Alpini G, Feranchak AP. Adenosine triphosphate release and purinergic (P2) receptor-mediated secretion in small and large mouse cholangiocytes. *Hepatology* 2010;52:1819-28.

5) Wakui Y, Inoue J, Ueno Y, Fukushima K, Kondo Y, Kakazu E, Obara N, Kimura O, Shimosegawa T. Inhibitory effect on hepatitis B virus in vitro by a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand, rosiglitazone. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;396:508-14.

6) Ueno Y, Ambrosini YM, Moritoki Y, Ridgway WM, Gershwin ME. Murine models of autoimmune cholangitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2010;26:274-9.

7) Tamai K, Tanaka N, Nakano T, Kakazu E, Kondo Y, Inoue J, Shiina M, Fukushima K, Hoshino T, Sano K, Ueno Y, Shimosegawa T, Sugamura K. Exosome secretion of dendritic cells is regulated by Hrs, an ESCRT-0 protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;399:384-90.

8) Obara N, Fukushima K, Ueno Y, Wakui Y, Kimura O, Tamai K, Kakazu E, Inoue J, Kondo Y, Ogawa N, Sato K, Tsuduki T, Ishida K, Shimosegawa T. Possible involvement and the mechanisms of excess trans-fatty acid

consumption in severe NAFLD in mice. *J Hepatol* 2010;53:326-334.

9) Kondo Y, Ueno Y, Kobayashi K, Kakazu E, Shiina M, Inoue J, Tamai K, Wakui Y, Tanaka Y, Ninomiya M, Obara N, Fukushima K, Ishii M, Kobayashi T, Niitsuma H, Kon S, Shimosegawa T. Hepatitis B virus replication could enhance regulatory T cell activity by producing soluble heat shock protein 60 from hepatocytes. *J Infect Dis* 2010;202:202-13.

2. 学会発表

1) 井上 淳, 上野義之, 下瀬川 徹. 劇症肝炎患者から得られたHBVの解析による劇症肝炎発症機序の解明. 第26回ウイルス肝炎談話会. 栃木. 2010年.

2) 井上 淳, 上野義之, 下瀬川 徹. 劇症肝炎の集団発生例の原因となったB型肝炎ウイルスに認められた変異の意義. 第46回日本肝臓学会総会. 山形. 2010年.

3) 井上 淳, 上野義之, 下瀬川 徹. 劇症肝炎患者から得られたHBVの解析による劇症肝炎発症機序の解明. 第6回 広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム. 広島. 2010年.

4) 井上 淳, 上野義之, 下瀬川 徹. B型劇症肝炎における genotype, precore 領域 frameshift の意義. 第14回 日本肝臓学会大会. 横浜. 2010年.

5) 井上 淳, 上野義之, 下瀬川 徹. B型劇症肝炎における precore 領域 frameshift の意義について. 第27回 ウイルス肝炎談話会. 大宮. 2010年

6) Jun Inoue, Yoshiyuki Ueno, Yuta Wakui, Koji Fukushima, Yasuteru Kondo, Eiji Kakazu, Masashi Ninomiya, Hirofumi Niitsuma, Tooru Shimosegawa. The Significance of Frameshift in the Precore Region of Hepatitis B Virus Obtained from Fulminant Hepatitis Patients. The 61th Annual Meeting of the American

Association for the Study of Liver
Disease (AASLD). Boston. 2010.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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（肝炎分野）

分担研究報告書

ADV 長期投与による腎機能への影響に関する研究

研究分担者 豊田成人 札幌厚生病院 院長

研究要旨：核酸アナログを3年以上継続投与した症例について、LAM/ADV 併用例72例、ADV以外の核酸アナログ投与例144例に分けてScrおよびeGFRを指標として腎機能の推移を検討した。また、HBV Carrierの無治療観察例47例を対照群とした。LAM/ADV併用群では、Scrが他の二群に比べて有意に上昇し、eGFRも有意の低下を示して20%以上の低下例が31.9%を占めていた。今後、ADVの長期投与例についてはScrやeGFRを参考として腎機能低下例の対しては適切に減量投与を考慮すべきと考えられた。

A. 研究目的

B型肝炎に対するAdefovir dipivoxil (ADV)の長期投与による腎機能への影響について他の核酸アナログ投与例および無治療HBV Carrier例と比較して検討した。

B. 研究方法

2000年11月-2007年5月までに核酸アナログを投与開始し3年以上継続投与した216例を対象とし、ADV非投与群144例 (Lamivudine; LAM投与例40、Entecavir; ETV投与例33例、LAM/ETV切り替え例71例)とLAM/ADV併用例72例に分けて解析した。また3年以上経過観察した無治療HBV Carrier47例を対照群とした。腎機能は血清クレアチニン値(Scr)および推算糸球体濾過量(estimated glomerular filtration rate; eGFR)により検討した。eGFRの算出は2008年に日本腎臓学会より報告された算出式 $[194 \times (\text{Scr} - 1.094) \times (\text{Age} - 0.287) \times (0.739 \text{ if female})]$ によった。統計解析は、対応のない二群はt検定、Fisherの直接確認検定もしくは χ^2 検定を用いた。対応する二群の検定にはpaired t検定もしくはノンパラメトリックデータの解析にはWilcoxon signed rank testを使用した。単変量解析にて $p < 0.25$ を示した因子にたいして多変量解析 (ロジスティック

回帰分析)をおこなった。

(倫理面の配慮)

臨床試験の目的・方法、治療の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等について十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した(新GCPに遵守)。

C. 研究結果

ADV非投与群およびLAM/ADV併用群の背景因子を比較すると、年齢、性、BMI、糖尿病あるいは高血圧の合併などに差はみられなかったが、LAM/ADV併用群ではHBe抗原陽性例および肝硬変例が有意に高率であった(表-1)。Scrの推移は、対照としたHBV Carrier群およびADV非投与群では3年でそれぞれ $0.71 \pm 0.14 \text{ mg/dl}$ から $0.74 \pm 0.18 \text{ mg/dl}$ 、 $0.72 \pm 0.15 \text{ mg/dl}$ から $0.74 \pm 0.15 \text{ mg/dl}$ と軽度の変化にとどまったが、LAM/ADV併用群では $0.74 \pm 0.16 \text{ mg/dl}$ から $0.86 \pm 0.29 \text{ mg/dl}$ と平均で 0.12 mg 上昇した。また、3年目までにScrが基準値を超えた症例も、対照群では1例も認めずADV非投与群でも1例のみであったのに対

し、LAM/ADV 併用群では72例中8例(11.1%)で正常上限を超えていた。さらにeGFRでもHBV Carrier群およびADV非投与群ではそれぞれ $82.0 \pm 15.4\%$ から $78.7 \pm 16.4\%$ 、 $85.3 \pm 17.3\%$ から $81.1 \pm 15.9\%$ とScr同様軽度の変化で推移したが、LAM/ADV併用群では $82.5 \pm 15.4\%$ から $71.9 \pm 18.0\%$ と低下し、Scr、eGFRともに他の二群に比べて有意の上昇あるいは低下を認めた(表—2)。また、個々の症例でみると、ADV非投与群ではScrが 0.2mg/dl および 0.3mg/dl 以上上昇した症例はそれぞれ4.2%、0.7%であったのに対し、LAM/ADV併用群では22.2%と12.5%と高率であった。eGFRが10%および20%以上低下した症例もADV非投与群ではそれぞれ29.2%、6.9%であったが、LAM/ADV併用群では10%以上低下した症例が51.4%と半数以上を占め、20%以上の低下例をみても31.9%と高率であった。このような成績を踏まえ、LAM/ADV併用群のうちどのような症例でeGFRの低下をきたしやすいかを明らかにする目的で、3年の経過でeGFRが20%以上低下した23例と20%未満にとどまった49例でその背景因子を比較すると、投与前のScrやeGFRなどには差を認めなかったが、年齢を平均でみると20%未満低下例の52.6歳に比べ20%以上低下例では57.2歳と高齢であった(表—3)。

このLAM/ADV併用例のうち7例でScrの上昇によりADVを隔日投与に変更した。男性6例、女性1例で平均年齢は57歳、減量開始までのADV投与期間は中央値で26ヶ月(4~50ヶ月)であった(図—1)。Scrは減量後6例で緩徐に低下し1例のみ 1.2mg/dl 前後のまま推移した。HBV DNA量の変化をみると、6例では減量前と同様の値で推移したが、1例はDNAが増加を示し減量後6ヶ月の時点でLAM耐性変異に加えてADVおよびETVの耐性変異を認めたためETV/ADV併用療法に変更して現在経過観察中である(図—2)。

D. 考察

HBVに対する核酸アナログの抗ウイルス効果は極めて強力であるが、その一方で安全な中止基準については一定の見解が得られていないことから今後も長期投与例が増加すると推察される。ADVに関しては用量依存性に腎障害が発現することが知られており、B型肝炎疾患に対しては有効性と安全性を考慮して 10mg/day が適正投与量とされた。しかし、最近海外からB型肝炎疾患のADV投与例でも長期に投与することによって腎障害の頻度が増加することが報告されており、今回の検討でも他のアナログ投与例に比べてLAM/ADV併用例では3年間の投与でScrの上昇例やeGFRが低下する例を多数認めるという結果であった。しかし、一方ではADVによる腎障害は可逆的であると報告されており、今回の減量例でも7例中6例で緩徐に低下した。また、DNA量も1例を除いて変化なく推移したことから、ScrやeGFRをモニターして必要があれば適切にADVを減量すべきと考えられた。

E. 結論

核酸アナログ長期投与例について腎機能の推移を検討した結果、LAM/ADV併用例ではADV非投与例に比べて有意に腎機能低下を示した。したがって、ADVの長期投与による腎機能低下例には減量投与を考慮すべきと考えられる。

F. 健康危険情報

今回の研究内容については特になし。

G. 研究発表

1. 論文

1) 小関 至、狩野吉康、赤池 淳、木村睦海、荒川智宏、中島知明、桑田靖昭、大村卓味、佐藤隆啓、豊田成司、アデホビルによる腎障害の検討 肝臓 in press

2. 学会発表

1) 小関 至、狩野吉康、豊田成司 LamivudineとAdefovir治療抵抗例にたいする

Adefovir+Entecavir療法 第96回日本消化
器病学会 2010. 新潟

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

今回の研究内容については特になし。

2. 実用新案登録

今回の研究内容については特になし。

3. その他

今回の研究内容については特になし。

表一 Baseline Characteristics									
Factors	HBV Carrier (A)	Not receiving ADV (B)				Treated with ADV (C) ADV added to ongoing LAM	p-value		
		LAM	ETV naive	LAM→ETV	Total NAs		A vs B	A vs C	B vs C
Number of patients	47	40	33	71	144	72			
Male sex	28 (59.6%)	28 (70.0%)	23 (69.7%)	52 (73.2%)	103 (71.5%)	54 (75.0%)	0.125	0.075	0.519
Age, years	57.4 ± 13.1	55.5 ± 10.4	51.9 ± 13.2	54.3 ± 11.1	54.1 ± 11.5	55.5 ± 10.4	0.062	0.098	0.996
Body mass index, kg/m ²	22.2 ± 3.8	23.7 ± 3.9	24.5 ± 3.4	23.5 ± 2.9	23.6 ± 3.3	23.8 ± 3.1	0.055	0.033	0.994
HBeAg-positive	4 (8.5%)	12 (42.9%)	12 (36.4%)	15 (21.1%)	39 (27.1%)	41 (56.9%)	0.014	< 0.001	< 0.001
Cirrhosis	4 (8.5%)	16 (40.0%)	6 (18.2%)	18 (25.4%)	40 (27.8%)	39 (54.2%)	0.012	< 0.001	< 0.001
Hypertension	7 (14.9%)	6 (15.0%)	5 (15.2%)	9 (12.7%)	20 (13.9%)	16 (22.2%)	0.864	0.322	0.133
Diabetes mellitus	4 (8.5%)	4 (10.0%)	1 (3.0%)	6 (8.5%)	11 (7.6%)	6 (8.3%)	0.905	0.761	0.858
HBV DNA, log ₁₀ copies/ml	3.3 ± 1.7	6.5 ± 1.2	6.2 ± 1.5	6.2 ± 1.3	6.3 ± 1.3	6.5 ± 1.5	< 0.001	< 0.001	0.541
Treatment duration, months		59 (36-88)	36 (36-41)	50 (36-95)	45 (36-95)	47 (35-83)			0.125

Value are expressed as the mean ± standard deviation, number of patients (%)

ADV; adefovir dipivoxil, LAM; lamivudine, ETV; entecavir, LAM→ETV; switched from lamivudine to entecavir, NAs; nucleotide analogues

表二 Changes of Scr & eGFR levels					
		Baseline	Year 1	Year 2	Year 3
Scr	HBV carrier	0.71 ± 0.14	0.72 ± 0.14	0.72 ± 0.17	0.74 ± 0.18
	Not receiving ADV	0.72 ± 0.15	0.74 ± 0.16	0.74 ± 0.16	0.74 ± 0.15
	Treated with ADV	0.74 ± 0.16	0.79 ± 0.15	0.82 ± 0.20	0.86 ± 0.29
eGFR	HBV carrier	82.0 ± 15.4	80.6 ± 15.4	80.3 ± 16.8	78.7 ± 16.4
	Not receiving ADV	85.3 ± 17.3	82.8 ± 17.8	82.1 ± 17.8	81.1 ± 15.9
	Treated with ADV	82.5 ± 15.4	76.4 ± 17.4	73.7 ± 15.6	71.9 ± 18.0

Value are expressed as the mean ± standard deviation

Scr; Serum creatinine, eGFR; estimated glomerular filtration rate

*; p<0.05

表-3 Background factors contributing to a $\geq 20\%$ reduction in eGFR over 3 years			
Factors	eGFR decrease of		Univariate Analysis P Value
	$\geq 20\%$	$< 20\%$	
Number of patients	33	183	
Age, years	57.6 ± 9.2	53.4 ± 10.8	0.024
Sex Male versus female	24 / 9	131 / 52	0.893
Liver disease			
Chronic hepatitis versus liver cirrhosis	15 / 18	118 / 65	0.024
Body mass index, kg/m^2	24.0 ± 3.6	23.7 ± 3.3	0.250
Hypertension and/or Diabetes mellitus			
Absent versus present	20 / 13	139 / 44	0.066
Baseline serum creatinine, mg/dl	0.68 ± 0.15	0.73 ± 0.15	0.057
HBV DNA, \log_{10} copies/ml	6.56 ± 1.26	6.34 ± 1.39	0.398
HBeAg Positive versus negative	18 / 15	118 / 65	0.277
Genotype Type C versus others	26 / 6	154 / 22	0.341
Treated with ADV Yes versus no	10 / 23	134 / 49	<0.001

Multivariate logistic regression analysis		
Factor	Odds ratio (95%CI)	p value
Treated with ADV	6.582 (2.690-16.11)	<0.001

Only variables that achieved statistical significant ($p < 0.25$) on multivariate logistic regression are shown.
CI : Confidence Interval

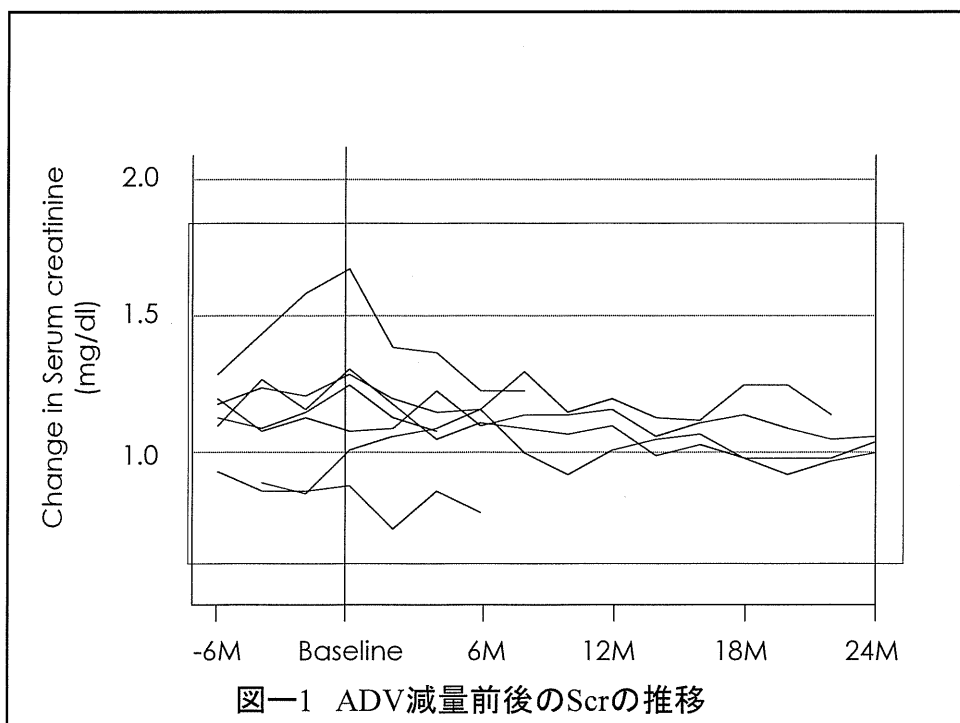


図-1 ADV減量前後のScrの推移