

201227030A

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

がん化学療法及び免疫抑制療法中の
B型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の確立を目指した
ウイルス要因と宿主要因の包括的研究

(H24-肝炎-一般-004)

平成 24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 溝上 雅史

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

がん化学療法及び免疫抑制療法中の
B 型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の確立を目指した
ウイルス要因と宿主要因の包括的研究

(H24-肝炎-一般-004)

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 溝上 雅史

平成 25(2013)年 3 月

***** 目 次 *****

I. 総括研究報告書

がん化学療法及び免疫抑制療法中の B 型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の 確立を目指したウイルス要因と宿主要因の包括的研究（溝上雅史）	01
--	----

II. 分担研究報告書

1. がん化学療法及び免疫抑制療法中の B 型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の 確立を目指したウイルス要因と宿主要因の包括的研究（持田 智）	07
2. 免疫抑制療法による B 型肝炎ウイルスの再活性化-長期経過を基にした医療経済的に 適正な対策法の確立-（持田分科会 針谷正祥、他）	17
3. 炎症性腸疾患および眼科領域における B 型肝炎再活性化に関する調査研究 （持田分科会 井戸章雄、他）	19
4. 国立国際医療研究センターにおける B 型肝炎を合併したリウマチ診療の現状 （持田分科会 金子礼志、他）	23
5. 皮膚科領域における免疫抑制療法施行時の B 型肝炎ウイルス再活性化に関する 調査研究（持田分科会 土田哲也）	27
6. 血液領域における B 型肝炎ウイルス再活性化の実態解明（持田分科会 中村裕一）	29
7. 当院の HBc 抗体・HBs 抗体陽性例の実態（持田分科会 池田健次）	31
8. リウマチ性疾患治療に関連した B 型肝炎ウイルス再活性化 東北地区実態調査 （持田分科会 小林浩子）	33
9. がん化学療法及び免疫抑制療法中の B 型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の 確立を目指したウイルス要因と宿主要因の包括的研究（楠本 茂）	35
10. 固形がんに対する化学療法施行時の B 型肝炎の再活性化の早期予測に関する 検討（池田公史）	41
11. <i>de novo</i> B 型肝炎における HBV 遺伝子変異と予後の関連（梅村武司）	43
12. 免疫を主にしたワクチン応答性（村田一素）	45
13. B 型肝炎ウイルス再活性化例における HLA-DP の解析（宮寺浩子）	49
14. 高感度 HBVDNA 測定系の開発と B 型肝炎ウイルス再活性化例への応用（是永匡紹）	53

III. 研究成果の刊行一覧	55
----------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	63
-----------------	----

I. 総括研究報告書

がん化学療法及び免疫抑制療法中の B 型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の確立を目指したウイルス要因と宿主要因の包括的研究

研究代表者：溝上雅史 国立国際医療研究センター
肝炎・免疫研究センター センター長

研究要旨：がん化学療法及び免疫抑制療法中の B 型肝炎ウイルス (HBV) 再活性化予防対策法の確立を目指し、1) 現在進行中の 3 つの多施設共同前方視的研究(悪性リンパ腫例、固形がん例および自己免疫疾患例) で収集した検体を用いて、リスク因子の解析および再活性化予測モデルの構築を行う、2) 新規に研究計画書を作成し、文書による同意の上で登録例のヒト遺伝子研究用の追加採血を行い、次世代シーケンサーや SNPs の GWAS、HLA 結合試験によりウイルス要因・宿主要因の検索を網羅的に行う。最終的には、がん化学療法及び免疫抑制療法中の HBV 再活性化予測モデルを構築することを目標とする。

初年度は、悪性リンパ腫を含む血液疾患中での再活性化(血液分科会：楠本茂)・関節リウマチを代表とする自己免疫疾患での再活性化(免疫分科会：持田智)・固形がんを治療中における再活性化(がん分科会：池田公史) などの個別 data を公表し、各分科会における再活性化例の特徴・問題点を把握するとともに、ウイルス側・宿主因子の解析のため、各分科会より検体収集に伴う新規計画書作成を行い、各施設に承認を確認中である。次年度は新たに造血幹細胞移植例についてもコホート研究を行い、収集された保存血清より高感度 HBVDNA 測定を行い、ウイルス側の増殖要因を解析する。また、ヒト遺伝子研究用採血を各班で継続して行い HLADP による宿主側の増殖因子を解析にも着手し、HBV 再活性化リスク因子の解明および再活性化予測モデルが構築を目指す。

研究分担者

持田 智	埼玉医科大学消化器内科・肝臓内科
楠本 茂	名古屋市立大学大学院医学研究科 腫瘍・免疫内科学分野
池田 公史	国立がん研究センター東病院 肝胆膵腫瘍科
梅村 武司	信州大学医学部
村田 一素	国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター
宮寺 浩子	東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野
是永 匡紹	国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター

A. 研究目的

B 型肝炎ウイルス (HBV) 再活性化は、がん化学療法および自己免疫疾患治療など幅広い分野で問題となっており、昨今の分子標的治療では特に注目されている。再活性化時の対処の遅れは患者の死に繋がるため、その診断と治療法の確立が求められている。

がん化学療法及び免疫抑制療法中の B 型肝炎ウイルス (HBV) 再活性化予防対策法の確立を目指し、1) 現在進行中の 3 つの多施設共同前方視的研究(悪性リンパ

腫例、固形がん例および自己免疫疾患例) で収集した検体を用いて、リスク因子の解析および再活性化予測モデルの構築を行う、2) 新規に研究計画書を作成し、文書による同意の上で登録例のヒト遺伝子研究用の追加採血を行い、次世代シーケンサーや SNPs の GWAS、HLA 結合試験によりウイルス要因・宿主要因の検索を網羅的に行う。最終的には、がん化学療法及び免疫抑制療法中の HBV 再活性化予測モデルを構築することを目標とする。

B. 研究方法

リツキシマブ＋ステロイド併用化学療法中の悪性リンパ腫を対象とした多施設共同前方視的研究(全国 68 施設が参加、UMIN000001299)では、平成 20 年 8 月より平成 23 年 7 月までに 275 症例の登録を得て(平成 24 年 12 月 8 日現在フォロー期間中)、うち 21 例の再活性化例を認めたが、全例肝炎・肝障害を認めない時点で抗ウイルス薬の開始が可能であった。全症例の 2.5 年間のフォローアップ完了は平成 26 年 2 月予定で、引き続き長期フォローアップを継続する。(血液分科会：楠本 茂)

関節リウマチを中心とした自己免疫疾患例、特に TNF 阻害剤を含む生物学的製剤使用例(UMIN000002859)、造血幹細胞移植例はいずれも多施設共同前方視的研究でこれらの長期フォローアップし解析を継続している。[厚労科研費補助金「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬による B 型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」(研究代表者：持田 智)に平成 24 年 3 月 31 日までに登録された 330 例のうち、対象外の 5 例を除く 325 例(血液 130 例、リウマチ・膠原病 132 例、腎臓 13 例、腫瘍内科 50 例)]。また、新規研究として、リウマチ・膠原病領域は関節リウマチ、膠原病、膠原病類縁疾患、血管炎症候群、炎症性腸疾患領域は潰瘍性大腸炎、クローン病、ベーチェット病、皮膚科領域は乾癬およびその他の免疫抑制療法を必要とする疾患を対象に HBV 既往感染症からの再活性化を把握するためにリウマチ・膠原病、消化器内科と眼科および皮膚科領域で研究組織を立ち上げた。(免疫分科会：持田 智)

固形がん領域(UMIN000005369 および 5370)では、2012/05/31 までに登録された 389 例を 1 年間、経過観察したのち、さらに超高感度 HBV DNA 測定系を用いて、早期に HBV の再活性化が予測できるかどうかを検討した。(がん分科会：池田公史)

また、再活性化症例におけるウイルス側因子の解析の為、de novo B 型肝炎(劇症化 5 例・非劇症化 11 例)と急性 B 型肝炎(劇症化 3 例・非劇症化 12 例)について劇症肝炎と関連があると報告されている 9 カ所のウイルス変異(T1753V, T1754V, T1762A, G1764A, G1896A, G1899A, T1961A, C1962D, A2339G)の測定(梅村武司)、超高感度 HBVDNA 測定系による再活性化例の予測(是永匡紹)を行った。

また、再活性化宿主因子として B 型肝炎慢性化に対する感受性・抵抗性と有意に関連を示す HLA-DP アリル、および、関連を示さない中立性アリル(*HLA-DPA1*01:03*, **02:01*, **02:02*, *HLA-DPB1*02:01*, **03:01*, **04:01*, **05:01*, **09:01*)の安定発現株の作成を行い、(宮寺浩子)、その結果を用いて、免疫学的解析を行う予定である(村田一素)。

(倫理的配慮)

本研究および付随研究ともに各施設における倫理審査委員会にて承認を受け、あらかじめ文書による同意を得た症例を対象とする。必要に応じて、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針および臨床研究に関する倫理指針を遵守した内容とする。

C. 研究結果

(詳細は、分担研究報告書を参照)

I. 血液分科会

(1) 多施設共同前方視的臨床研究(UMIN000001299)の実施し、平成 25 年 3 月 15 日時点(4 年 7 ヶ月経過)で、症例登録 275 例中 21 例(7.6%)で HBV 再活性化(シグナル陽性を含まず)を認めた。また、HBV 再活性化例の保存検体を用い、治療前 HBc 抗体、HBs 抗体および再活性化時の HBV-DNA、genotype、gene mutation を評価した。

(2) 解析対象となった187例の年齢中央値は63歳、男性50.8%。観察期間中央値549日で、187例中16例のHBV再活性化を認め、1年HBV再活性化割合は7.7% (95%信頼区間、4.7-12.7)。登録後HBV再活性化確認までの中央値は158日(33-490)。再活性化確認時のHBV-DNAは1.8~3.1 Logコピー/mLで、HBV再活性化関連肝障害は認めなかった。多変量解析の結果、ベースラインのHBs抗体力価が10mIU/mL未満であることがHBV再活性化のリスク因子であった。

II. 免疫分科会

(1) 登録されたHBV既往感染症289例(血液121例、リウマチ・膠原病122例、腎臓11例、腫瘍内科35例)では、2.1% (6/289) の症例で治療開始前にHBV-DNAが検出された。リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法でHBVウイルス再活性化(シグナル陽性を含む)が生じた既往感染例の頻度は4.8% (14/289) であるが、治療を開始する前からHBV-DNAが検出された症例に50%でfirst lineの免疫抑制療法が実施されていたことを考慮すると、再活性化率は5~6%と推定された。

(2) リウマチ・膠原病領域：32施設、消化器内科：32施設、眼科：13施設、皮膚科：16施設、(計93施設：2013年2月28日までに倫理委員会承認の得られたのは50施設)計157例の経過を観察中である。

III. がん分科会

(1) HBV既往感染例(HBs抗原陰性でHBc抗体またはHBs抗体陽性例が347例中3例(0.9%)の再活性化(1.5logcopy/ml以上、シグナル陽性は含まず)を

確認した。

(2) 保存血清1751本を研究代表者に送り、超高感度HBVDNA測定系を用いて、本研HBVDNAの陽性率を検討中である。

IV. 研究代表者

(1) *de novo* B型肝炎とB型急性肝炎症例との比較では、*de novo*肝炎でG1896A変異が57%と高率、劇症肝炎を発症した*de novo*肝炎と急性肝炎例について比較では、急性肝炎例でT1753V変異を100%、劇症肝炎にならなかった*de novo*肝炎例と急性肝炎例について比較では、急性肝炎症例でG1896Aが50%と高率であったが、いずれも有意な差は認めなかった。

de novo B型肝炎の劇症化症例と非劇症化症例について比較では、ウイルス変異では、その傾向さえ確認されなかった。

(2) 高感度測定系で8copy/mLまで100%HBVDNAを検出可能であった血清(24検体)で、従来法では16copy/mLまでしか100%検出できなかった。再活性化が確認された5例中3例で、再活性化の1-3ヶ月前に高感度系が陽性であった。

(3) HLA-DPタンパク質は発現量がHLA-DRと比較して低いと考えられているが、HBVの慢性化に関係するDPB1*05:01、*09:01等については、発現誘導なしで高い細胞表面発現を示し、これらのアリル産物はタンパク質として安定であると考えられる。また、HLA-DRタンパク質および、結合親和性既知の15-merペプチド複数種類を用いてHLA-ペプチド結合測定系を確立した。

D. 考察

3つの多施設共同前方視的研究(UMIN000001299、リツキシマブ+ステロイド併用化学療法中の悪性リンパ腫例)、

(UMIN000005369 および 5370、固形がん例) および (UMIN000002859、主に自己免疫疾患例) により、がん化学療法・免疫抑制療法中の HBV 再活性化に対するガイドラインの有効性が明らかになった。

一方で、疾患・治療薬による再活性化率が異なること、また再活性化後も HBVDNA が増加しない症例も確認され、モニタリング回数や抗ウイルス剤投与例を減少できる可能性があるも、その判別は困難である。

HBV 既往感染例におけるがん・化学療法後の HBV 再活性化の劇症化した場合の死亡率は高く、予後不良であり、HBVDNA モニタリングによる preemptive therapy の標準化はより安全な抗がん剤治療につながる。また、再活性化例・劇症化例を絞り込むことで、現在のガイドラインと比較して、医療経済への負担を大幅に軽減できるため、再活性化予測モデルを構築作成は急務である。

今年度の検討により、再活性化前より HBVDNA を検出する可能性が確認された一方で、既知のウイルス変異のみでは予測することが困難であることも示唆され、宿主因子 (HLADPB1) を加えることが重要であると考えられた。

E. 結論

3 つの多施設共同前方視的研究よりそれぞれの再活性化率を明らかにした。また、新たに新規計画書を作成し、検体 (血清・DNA) を回収する準備を終了した。また、また、HBV 超高感度測定系によるウイルス変異と HLADPB1 アレルを用いた宿主因子解析の準備もほぼ完了し、来年度は以下の検討を行う。

多施設共同前方視的研究に登録され、文書による同意を得た症例において保存血清 (一部血漿) を得る。連結可能匿名化された検体として名古屋市立大学で一括保管している。必要に応じて、名古屋市立大学あるいは国立国際医療研究センター (NCGM)

にて下記の解析を行う。

(1) HBV再活性化の有無で2群に分けて、HBV 関連マーカーや治療法による違いなど再活性化のリスク因子を検討し、ハイリスク群の細分類を行う。

(2) 再活性化症例におけるウイルスの in house 超高感度 HBVDNA 検出を実施し、従来の HBVDNA 検査よりも測定頻度を減らしつつも早期に予測できるか検討をすすめる。

(3) HBV 抗原抗体検査法は各メーカーでその検出力が異なっていることが明らかとなっている (大隈未発表データ)。再活性化を予測する上で最適な検査法と検査値のとり方について検討を進める。

(4) HBV 遺伝子型、遺伝子変異の解析を行うことで、再活性化に関連するウイルス変異を検討する。

(5) 新規研究計画書を作成し、HBV 再活性化に関連する網羅的なヒト遺伝子解析を行う。上記4つのがん化学療法及び免疫抑制療法の登録症例を対象とした追加採血により、次世代シーケンサー・SNPsによるGWASを実施する。

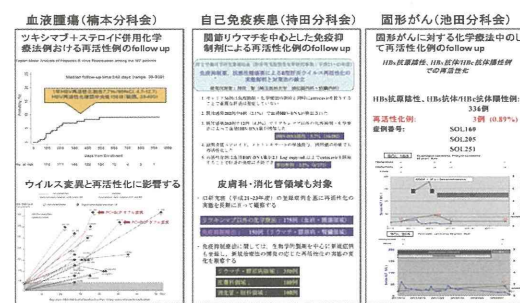
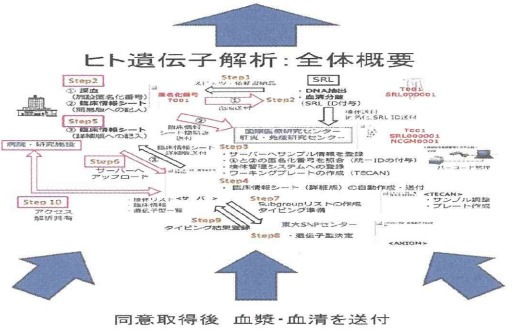
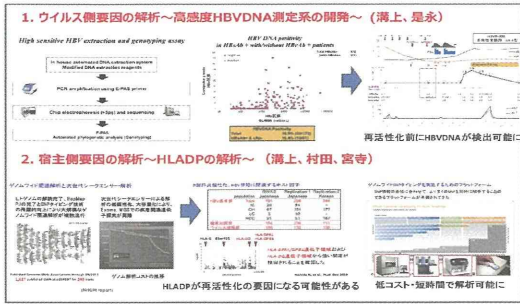
(6) これまでの検討で明らかとなっている HLA 型とウイルス抗原のそれぞれの多型を組み合わせることで、再活性化発症例と非発症例の違いについて検討する。また、それが予測因子として利用可能か検討する。

以上の研究により、がん化学療法および免疫抑制療法中の HBV 再活性化に関連するリスク因子を解明し、ウイルス要因および宿主要因を含む再活性化予測モデルを構築する。

F. 健康危険情報

特記すべき情報なし

HBV再活性化リスク因子の解明および再活性化予測モデル構築(溝上分科会)



G. 研究発表 (本研究に関連するもののみ)
(研究代表者: 溝上雅史)

1. 論文発表
英文

- (1) Nishida N, Korenaga M, Mizokami M, et al. 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(6):e39175.
- (2) Sawai H, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. BMC Med Genet.

2012 Jun 19;13:47.

- (3) Ragheb M, Elkady A, Mizokami M. Multiple intra-familial transmission patterns of hepatitis B virus genotype D in north-eastern Egypt. J Med Virol. 2012 Apr;84(4):587-95.
- (4) Zhou B, Mizokami M, Hou J. Novel evidence of HBV recombination in family cluster infections in western China. PLoS One. 2012;7(6):e38241.

2. 学会発表

- (1) 楠本茂, 田中靖人, 溝上雅史: B細胞性リンパ腫治療における、月1回のHBV-DNAモニタリングはHBV再活性化による肝炎発症対策として有用である JDDW2012 肝PD1-3 2012年10月 神戸
- (2) 楠本茂, 田中靖人, 田中榮司, 溝上雅史: リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中のB型肝炎ウイルス再活性化のリスク 第48回日本肝臓学会総会 WS11-2 2012年5月 金沢
- (3) 新海登, 田中靖人, 溝上雅史 他. B型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法の継続と終了をめぐるB型慢性肝炎患者における核酸アナログ中止症例の検討中止後長期観察例、プレコア/コアプロモーター変異をふまえて. 第48回日本肝臓学会総会. 石川、金沢, 2012.06.7-8,
- (4) 楠本茂, 田中靖人, 溝上雅史. B型肝炎再活性化の予知・予防そして治療 B細胞性リンパ腫治療における、月1回のHBV-DNAモニタリングはHBV再活性化による肝炎発症対策として有用である. 第16回日本肝臓学会大会・第54回日本消化器病学会大会 (JDDW). 神戸, 2012.10-11,
- (5) 伊藤清頭, 溝上雅史. Cohort研究からみたウイルス性肝炎の解明 B型慢性肝

- 炎に関する全国調査結果. 第 16 回日本肝臓学会大会・第 54 回日本消化器病学会大会・第 50 回日本消化器がん検診学会大会 (JDDW). 神戸, 2012. 10-11,
- (6) 西田奈央, 田中靖人, 溝上雅史 他. 日本人および韓国人における B 型肝炎慢性化、B 型肝炎ウイルス排除を規定する HLA-DP 遺伝子の同定. 第 16 回日本肝臓学会大会 (JDDW). 神戸, 2012. 10-11
- (7) 澤井裕美, 溝上雅史, 徳永勝士他. 中国集団における B 型肝炎由来肝癌感受性 SNP の東アジア集団での検証. 第 16 回日本肝臓学会大会 (JDDW). 神戸, 2012. 10-11,
- (8) 西田奈央, 徳永勝士, 溝上雅史 他. 東アジア集団における B 型肝炎慢性化、HBV 排除を規定する HLA-DP 遺伝子の同定. 第 35 回日本分子生物学会. 福岡, 2012. 12. 11-14,
- (9) 楠本茂, 田中靖人, 溝上雅史: HBV-DNA モニタリングによる、リツキシマブ＋ステロイド併用悪性リンパ腫治療中の B 型肝炎ウイルス再活性化への対策に関する多施設共同前方視的観察研究: 中間解析結果 第 99 回日本消化器病学会総会 W3-6 2013 年 3 月 鹿児島

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当事項なし
2. 実用新案登録
該当事項なし
3. その他
該当事項なし

Ⅱ. 分担研究報告書

がん化学療法および免疫抑制療法中のB型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の確立を目指したウイルス要因と宿主要因の包括的研究

免疫抑制療法分科会 全体研究（平成24年度）

研究分担者：持田 智 埼玉医科大学消化器内科 肝臓内科教授

研究協力者：井戸章雄 鹿児島大学准教授

池田健次 虎の門病院部長

三村俊英 埼玉医科大学教授

針谷正祥 東京医科歯科大学教授

中村裕一 埼玉医科大学教授

金子礼志 国立国際医療センター医長

小林浩子 福島県立医科大学准教授

土田哲也 埼玉医科大学 教授

溝上雅史 国立国際医療センター所長

研究協力者（事務局）：中山伸朗 埼玉医科大学准教授

中尾将光 埼玉医科大学助教

研究要旨：「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」班が平成21年から23年度に実施したprospective studyでは、リツキシマブ以外の薬物を用いた免疫抑制・化学療法によって、HBV既往感染例でウイルスの再活性化が生じる頻度は4~6%であった。また、坪内班と熊田班が発表したガイドラインに準拠してスクリーニングおよびモニタリングを実施し、血清HBV-DNA量が2.1 Log copy/mL以上になった時点でentecavirの投与を開始すると、肝炎の発症は予防することも明らかになった。しかし、同研究班の登録症例は経過観察期間が1年未満の症例が多く、治療が長期に亘る場合の再活性化の実態は不明である。そこで、これら登録症例の経過を継続して観察するとともに、免疫抑制療法に関しては炎症性腸疾患、乾癬などにも範囲を広げ、治療を既に開始しているが再活性化を生じていない症例も対象とした新規研究を企画した。継続研究では新たに2例で再活性化を生じたが、何れも血液領域の症例であった。リウマチ・膠原病領域では、免疫抑制療法を開始して6か月以降には、再活性化は見られていない。従って、免疫抑制療法に限定すると、HBV-DNAのモニタリングを毎月実施するのは、治療開始後1年までで十分と考えられ、その後は間隔を延長できる可能性がある。平成25年度以降は、新規研究の登録例も増やし、免疫抑制療法が1年以上に及んだ場合の適切なモニタリング間隔を検証することが課題となる。

A. 背景と目的

B型肝炎ウイルス（HBV）が肝細胞に感染すると、その複製過程で二本鎖閉鎖環状

(covalently closed circular: ccc) DNAが形成され、これが核内に残存する。このため、HBs抗原陰性、HBc抗体ないしHBs抗体陽性の既往感染例も、遺伝子レベルではHBs抗原陽性のキャリアと同等と見なされる。一方、HBVキャリアでは、副腎皮質ステロイドないし免疫抑制薬を投与すると、血清HBV-DNA量が増加し、非活動性キャリアでも肝炎を発症する可能性があることが知られていた。従って、B型既往感染例も遺伝子レベルでは非活動性キャリアと区分するのは困難であり、免疫抑

制療法を実施した際には、ウイルス血症を生じて、肝炎を発症する可能性がある。B型既往感染例が、免疫抑制療法ないし化学療法を契機にウイルス血症を生じること、すなわちHBV-DNAが陽性化する現象を「HBV再活性化」と称し、これに起因する肝炎を「*de novo*のB型肝炎」と呼んでいる。

厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班が実施している全国調査では、1998~2009年に発症した劇症肝炎1,094例および遅発性肝不全(LOHF)92例の計1,186例中462例(39.0%)がB型で、うち全体の13.9%に相当する165例がキャリア例であった^{1,2)}。キャリア例は核酸アナログ製剤が利用されるようになった1998年以降は減少傾向にあ

ったが、2004年ごろから増加しており、この中にB型既往感染例からの再活性化症例が含まれていることが明らかになった(図1)²⁾。一方、厚労省研究班は2009年に「免疫抑制・化学療法によるB型肝炎再活性化の予防ガイドライン」を公表し³⁾、また、2010年以降の症例に関しては、急性肝不全として対象となる疾患の範囲を広げて⁴⁾、全国調査を実施することになった^{5,6)}。しかし、2011年になってもB型既往感染例の再活性化による急性肝不全は根絶できていないのが現状である(図1)⁷⁾。

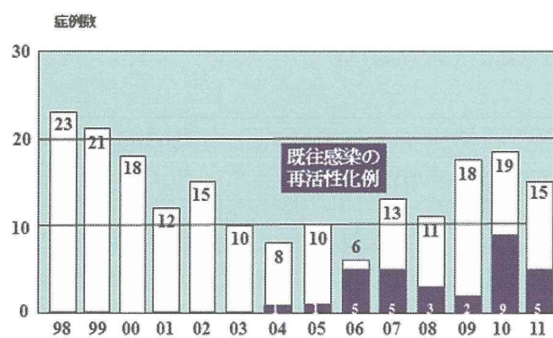


図1. 劇症肝炎, LOHFにおけるHBVキャリア例(1998-2011年)

厚労省研究班の全国調査には2004~2011年に発症したB型既往感染の再活性化による劇症肝炎およびLOHFは計31例が登録されたが⁵⁻⁸⁾、病型は24例(77.4%)が劇症肝炎亜急性型で、非昏睡型も1例見られたが、これを含む全例が内科的治療で死亡していた。なお、これら症例のうち23例(74.2%)は悪性リンパ腫の症例で、うち1例を除いてリツキシマブと副腎ステロイドが投与されていたが、他の免疫抑制・化学療法による症例も8例(25.8%)存在したことが注目された。

厚労省研究班の発表した「免疫抑制・化学療法によるB型肝炎再活性化の予防ガイドライン」は、リツキシマブなどを用いた悪性リンパ腫の治療を想定して作成された³⁾。しかし、同ガイドラインは他の免疫抑制・化学療法を実施する際にも適応すべきとされている。その妥当性を検証するために、平成 21

年度に厚労省「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」班が発足した。同研究班には330例が登録され、対象外5例を除く325例(血液130例、リウマチ・膠原病132例、腎臓13例、腫瘍内科50例)の経過を最大で30ヶ月まで観察した⁹⁾。これらのうち、キャリア例は36例(血液9例、リウマチ・膠原病10例、腎臓2例、腫瘍内科15例)、既往感染例は289例(血液121例、リウマチ・膠原病122例、腎臓11例、腫瘍内科35例)であり、平成23年度末までに以下の成績が得られている⁹⁾。

1. HBs 抗原陰性の既往感染例でも、約2%の症例でHBV-DNAが検出され、これらにはHBVキャリアでHBs抗原が陰性化した症例も含まれていると考えられた。
2. 既往感染例におけるHBV再活性化の頻度は4~5%であり、治療開始前からHBV-DNAが検出された症例も含めると約6%の症例で、治療中にウイルス血症が認められた。
3. HBV再活性化はメトトレキサートないし副腎皮質ステロイドの単独投与例および固形癌に対する化学療法を実施している症例でも出現した。
4. HBV再活性化はHBVキャリアでHBs抗原が陰性化したと推定される症例でも、一過性感染と考えられる症例でも、同様に観察された。
5. HBV再活性化の予防には、HBV-DNAを3ヶ月毎に測定するのでは不十分で、モニタリングは毎月実施する必要がある。
6. HBV再活性化時に entecavir を開始する基準は、HBV-DNA量が2.1 Log copies/mL以上に上昇した時点が妥当であり、シグナル検出のみの症例はモニタリングを継続することが可能である。

7. HBV キャリア例は免疫抑制・化学療法の開始時に entecavir 投与を始めれば、肝炎発症を予防できる。

以上の成績を受けて、2011年9月には日本リウマチ学会が「B型肝炎ウイルス感染リウマチ性疾患患者への免疫抑制療法に関する提言」を発表した¹⁰⁾。また、厚労省はHBV再活性化の予防対策に関する疑義解釈を公表し、(1)HBV既往感染例の診断のためのHBcおよびHBs抗体測定によるスクリーニング検査、(2)毎月1回のHBV-DNA測定によるモニタリング、(3)再活性化時のエンテカビルによる治療の3項目が、何れも正式に保険診療で実施することが可能になった。

しかし、これで免疫抑制・化学療法によるB型肝炎再活性化の問題は解決した訳ではない。特にリウマチ疾患など免疫抑制療法を実施する症例では治療期間が長期に亘るのが一般的である。一方、厚労省「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」班の登録例は、平成23年度末では1年以上の経過が追えていない症例が全体の43.7%を占めている。このため免疫抑制療法が長期間に及んだ場合のB型既往感染例における再活性の頻度は不明であるのが現状である。そこで、同研究班は平成24年度以降、「がん化学療法および免疫抑制療法中のB型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の確立を目指したウイルス要因と宿主要因の包括的研究」班の免疫抑制療法分科会として、より効率的な再活性化の予防策を確立する研究に着手した。

B. 方法

厚労省「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」班に登録された症例を経過観察する「継続研究」とともに、免疫抑制療法に関しては新たな症例を収集して、治療が長期に亘った場合の再活性化率を検討する「新規研

究」を企画した。

1) 継続研究

(1) 対象：厚労科研費補助金「免疫抑制薬、抗悪性腫瘍薬によるB型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」（研究代表者：持田 智）に平成24年3月31日までに登録された330例のうち、対象外の5例を除く325例（血液130例、リウマチ・膠原病132例、腎臓13例、腫瘍内科50例）。

(2) 研究方法

A. キャリア例：登録された36症例（血液9例、リウマチ・膠原病10例、腎臓2例、腫瘍内科15例）は、entecavirの予防投与下に、免疫抑制・化学療法を継続した。免疫抑制・化学療法実施中および治療終了1年後までは、HBV-DNA量、HBe抗原・抗体を1ヶ月ごとに測定した。事務局が核酸アナログ製剤の治療効果に問題があると判断した場合は、血清を採取してウイルスの全塩基配列を埼玉医科大学で解析することとした。なお、HBV-DNA測定およびentecavirの投与は保険診療で実施した。

B. 既往感染例：登録された289例（血液121例、リウマチ・膠原病122例、腎臓11例、腫瘍内科35例）は免疫抑制・化学療法実施中および治療終了後までは、HBV-DNA量を1ヶ月ごとに測定した。HBV-DNAが検出された時点で、当該施設は事務局に連絡し、血清検体を採取、HBV-DNA量、HBs抗原・抗体、HBe抗原・抗体、HBc抗体、pre-core/core promoter変異、genotype、ポリメラーゼ領域の変異（INVADER法）を測定した。また、血清の一部は事務局に保管するとともに、ウイルスの全塩基配列を解析することにした。なお、これら検査のうちHBV-DNAは保険診療で実施することになったため、継続研究に参加する施設は、当該倫理委員会に新たな研究として申請することにした。

既往感染例はHBV-DNA量が定量検査で測定可能になった時点（2.1 Log copies/mL以上）で、保険診療によってentecavirの投与を開始し、その後の経過観察は、キャリア例と同様とした。一方、HBV-DNA量が2.1 Log copy/mL未満であるが「検出」の場合にはentecavirを投与せずに、経過観察を継続した。経過観察は免疫抑制・化学療法が終了した12ヶ月後まで継続し、この時点でHBV-DNAが「検出されず」の場合は終了することにした。

2) 新規研究

(1) 対象：免疫抑制療法を実施しているB型既往感染例で、対象となる疾患は、リウマチ・膠原病領域は関節リウマチ、膠原病、膠原病類縁疾患、血管炎症候群、炎症性腸疾患領域は潰瘍性大腸炎、クローン病、ベーチェット病、皮膚科領域は乾癬およびその他の免疫抑制療法を必要とする疾患とした。

治療法は、副腎皮質ステロイドの場合はプレドニソロン換算で0.5 mg/Kg以上、抗リウマチ薬（メトトレキサート）、免疫抑制薬（シクロスポリン、ミゾリビン、エンドキサン、タクロリムス）、生物学的製剤（インフリキシマブ、エタネルセプト、トシリツマブ、アダリムマブ、アバタセプト、ゴリブマブ）および研究期間中に新たに保険認可される免疫抑制薬とした。

ウイルス指標はCLIA法で測定し、既に治療を開始している症例も、下記の条件を満たした場合は登録の対象とした。

- a. 免疫抑制療法を開始する前にウイルス指標を測定して、HBs抗原陰性で、HBc抗体ないしHBs抗体が陽性の症例。
- b. 免疫抑制療法を既に開始しているが、開始前のウイルス指標がHBs抗原陰性で、HBc抗体ないしHBs抗体が陽性の症例。

c. 免疫抑制療法を既に開始しており、開始前のウイルス指標が不明であるが、新たに測定した結果、HBs抗原陰性で、HBc抗体ないしHBs抗体が陽性の症例。

(2) 研究方法：登録後、免疫抑制実施中および治療終了後は、HBV-DNA量を保険診療で1ヶ月ごとに測定した。HBV-DNAが検出された時点で、当該施設は事務局に連絡し、血清検体を採取し、HBV-DNA量、HBs抗原・抗体、HBe抗原・抗体、HBc抗体、pre-core/core promoter変異、genotype、ポリメラーゼ領域の変異（INVADER法）を測定し、血清の一部は保管するとともに、ウイルスの全塩基配列を解析することとした。なお、継続研究と同様に、entecavirの投与はHBV-DNA量が定量検査で測定可能になった時点（2.1 Log copies/mL以上）で開始し、2.1 Log copy/mL未満であるが「検出」の場合には経過観察を継続することとした。経過観察は免疫抑制・化学療法が終了した12ヶ月後まで継続し、この時点でHBV-DNAが「検出されず」の場合は終了する。

一方、entecavirの投与を開始した症例は、治療終了1年後までは、HBV-DNA量、HBe抗原・抗体を1ヶ月ごとに測定し、継続研究と同様、核酸アナログ製剤の治療効果に問題があると判断した場合は、血清を採取してウイルスの全塩基配列を埼玉医科大学で解析することにした。

C. 成績

1) 継続研究

継続研究は前研究班で症例の登録をいただいた以下37施設に協力を依頼した*。これら施設のうち24施設では、平成25年2月末までに倫理委員会の承認を得たが、2施設は審議中、1施設は提出済、10施設は未提出である。

北海道大学、旭川医科大学、手稲溪仁会病院、岩手医科大学、群馬大学、筑波大学、小川赤

十字病院，埼玉医科大学病院，埼玉医科大学国際医療センター，埼玉県立がんセンター，杏林大学，日本医科大学，昭和大学，東京医科大学，東京女子医科大学，東京医科歯科大学，慶応義塾大学，都立駒込病院，国立国際医療研究センター国府台病院，順天堂大学浦安病院，順天堂大学静岡病院，愛知医科大学，愛知県厚生農業協同組合連合会江南厚生病院，三重大学，福井大学，滋賀県立成人病センター，神戸大学，京都大学，国立病院機構九州がんセンター，佐賀大学，国立病院機構長崎医療センター，長崎大学，佐世保市立総合病院，産業医科大学，熊本大学，鹿児島大学，琉球大学

この結果，登録されたB型既往感染の全289例における免疫抑制・化学療法開始以降の経過観察期間は12か月未満が115例(39.8%)，12か月以上18か月未満が52例(18.0%)，18か月以上24か月未満が51例(17.6%)，24か月以上30か月未満が35例(12.1%)，30か月以上が36例(12.5%)となった。

これら既往感染例からは2例の新たな再活性化例が出現したが，何れも血液領域の症例であった(表1)。60歳の急性骨髄性白血病(M1)の男性は同種骨髄移植後にタクロリムス投与を開始し，20か月後にHBV-DNA量が8.7 Log copy/mLまで上昇したが，この症例ではモニタリングの欠落時期があり，再活性化時期は不明である。72歳の多発性骨髄腫の女性はメルファランと副腎皮質ステロイドの投与を開始し，19ヶ月後にHBV-DNA量が2.4 Log copy/mLまで上昇した。両症例ともに再活性化が判明した時点でentecavir投与を開始して，重症肝炎を発症していない。

一方，リウマチ・膠原病領域および腎臓領域など免疫抑制療法を実施したB型既往感染例からは，その後に再活性化した症例は認められていない。このため継続研究で再活性化の見られた時期は，免疫抑制療法に関しては

全例が開始6か月以内であった(図2)。

なお，B型キャリア例である36例は，その後もentecavirの投与を継続しているが，肝炎を発症した症例は見られない。

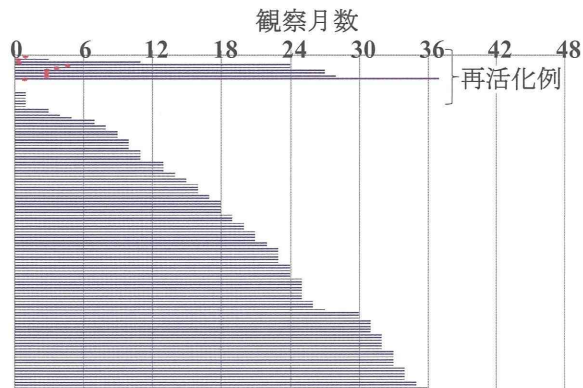


図2. リウマチ領域における再活性化の時期

表 1. 既往感染で HBV-DNA が検出された症例 (2012 年 2 月 28 日まで)

症例	①	②	③	④	⑤	⑥
性, 年齢	75 歳, 女	77 歳, 女	77 歳, 男	62 歳, 女	74 歳, 女	61 歳, 女
領域 疾患	腎 臓 膜性腎症	リウ・膠 関節リウマ チ	腫瘍 下咽頭癌	リウ・膠 多発筋炎 シェーグレ ン	リウ・膠 関節リウマ チ	リウ・膠 SLE
HBV-DNA (Log IU/mL) HBc 抗体, HBs 抗体	< 2.1 (+) (+), (-)	< 2.1 (+) (+), (+)	< 2.1 (+) (+), (+)	< 2.1 (+) (+), (-)	< 2.1 (+) (+), (-)	< 2.1 (+) (+), (+)
投与薬物	副腎皮質 ステロイド	トシリズマ ブ	5-FU ネダプラチ ン ドセタキセ ル	副腎皮質 ステロイド	インフリキ シマブ メトトレキ サート	副腎皮質 ステロイ ド シクロ フォスフ アミド
再活性化時期	0 M	0 M	0 M	3 M	1 M	0 M
HBV-DNA (Log IU/mL) Genotype PC 変異 CP 変異	- 感度未満 M: 100% 感度未満	- 感度未満 M:95%以上 感度未満	- 感度未満 感度未満 感度未満	2.2 BJ W:10, M: 90 1762, 64 以 外の変異	< 2.1→2.8 C W:90, M: 10 W: 100%	- 感度未満 感度未満 感度未満
AST, ALT (IU/L)	25, 16	34, 20	14, 9	19, 29	20, 22	23, 7
Entecavir	投与	未投与	未投与	投 与	投 与	投与

症例	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫
性, 年齢	65 歳, 男	70 歳, 女	74 歳, 男	74 歳, 男	74 歳, 男	51 歳, 女
領域 疾患	リウ・膠 顕微鏡的 多発血管炎	血 液 多発性骨 髄腫	腫瘍 下咽頭癌	腫瘍 食道癌	血液 非ホジキン リンパ腫	リウ・膠 再発性多 発軟骨炎
HBV-DNA (Log IU/mL) HBc 抗体, HBs 抗体	< 2.1 (-) (+), (-)	< 2.1 (-) (+), (+)	< 2.1 (-) (+), (+)	< 2.1 (-) (+), (+)	< 2.1 (-) (+), (-)	< 2.1 (-) (+), (+)
投与薬物	副腎皮質 ステロイド シクロ フォスファミ ド	副腎皮質 ステロイ ド ボルテゾ ミブ	5FU ネダプラチ ン	5FU シスプラチ ン	エンドキサ ン テラビシン オンコビン プレドニゾ ロン	インフリ キシマブ

再活性化時期	1 M	1 M	1 M	2 M	3 M	3 M
HBV-DNA (Log IU/mL)	< 2.1 (+)	< 2.1 (+)	< 2.1 (+)	< 2.1 (+)→2.4	< 2.1 (+)	2.2
Genotype	感度未満	感度未満	感度未満	C	感度未満	感度未満
PC 変異	感度未満	W:95%以上	感度未満	M: 100%	W:95%以上	感度未満
CP 変異	感度未満	1762, 64 以外の変異	感度未満	W: 100%	感度未満	感度未満
AST, ALT (IU/L)	26, 73	36, 57	16, 13	26, 21	22, 46	27, 37
Entecavir	未投与	未投与	未投与	投与	未投与	投与
症例	⑬	⑭	⑮	⑯	⑰	⑱
性, 年齢	80歳, 男	75歳, 女	32歳, 女	61歳, 男	60歳, 男	72歳, 女
領域	リウ・膠	リウ・膠	リウ・膠	血液	血液	血液
疾患	関節リウマチ	成人ステイル病	SLE	芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍	急性骨髄性白血病	多発性骨髄種
HBV-DNA (Log IU/mL)	< 2.1 (-)	< 2.1 (-)	< 2.1 (-)	< 2.1 (-)	< 2.1 (-)	< 2.1 (-)
HBc 抗体, HBs 抗体	(+), (+)	(+), (-)	(+), (-)	(+), (-)	(+), (-)	(+), (+)
投与薬物	メトトレキサート	トシリズマブ	副腎皮質ステロイド	副腎皮質ステロイド, メトトレキサート, L-アスパラギナーゼイホスファミド	同種骨髄移植タクロリムス	メルファラン 副腎皮質ステロイド
再活性化時期	3 M	4 M	5 M	11 M	20M	19M
HBV-DNA (Log IU/mL)	< 2.1→2.3	< 2.1 (+)	< 2.1 (+)→2.4	6.4	8.7	2.4
Genotype	C	感度未満	C	C	検査中	検査中
PC 変異	W: 100%	感度未満	M: 100%	W: 100	検査中	検査中
CP 変異	W: 100%	感度未満	W: 100%	W: 100	検査中	検査中
AST, ALT (IU/L)	34, 20	75, 79	17, 18	20, 42	29, 51	23, 17
Entecavir	投与	未投与	未投与	投与	投与	投与

2) 新規研究

リウマチ・膠原病, 消化器内科と眼科および皮膚科領域で夫々研究組織を立ち上げた。各領域の研究協力施設は以下の通りである。

<リウマチ・膠原病領域: 32施設>

北海道大学, つがる西北五広域連合西北中央病院, 福島県立医科大学, 群馬大学, 筑波大学, 国立国際医療研究センター国府台病院, 埼玉医科大学, 東京医科歯科大学, 慶応義塾大学, 聖

路加国際病院，国立国際医療研究センターセンター病院，千葉大学，板橋中央総合病院，さいたま市立病院，川崎市立井田病院，国立病院機構相模原病院，東京医科大学，杏林大学，浜松医科大学，愛知医科大学，順天堂大学静岡病院，藤田保健衛生大学，医療法人早石会早石病院，滋賀県立成人病センター，京都大学，医療法人和香会倉敷スイートホスピタル，岡山済生会総合病院，産業医科大学，長崎大学，鹿児島大学，琉球大学，沖縄県立中部病院

< 消化器内科：32施設 >

旭川医科大学，札幌医科大学，JA 北海道厚生連札幌厚生病院，金沢大学，東京医科歯科大学，防衛医科大学校，慶応義塾大学，東邦大学医療センター佐倉病院，昭和大学横浜市北部病院，横浜市立大学，北里大学，名古屋大学，愛知医科大学，名古屋市立大学，京都大学，京都府立医科大学，大阪大学，大阪市立大学，医療法人錦秀会インフュージョンクリニック，大阪市立十三市民病院，兵庫医科大学，神戸大学，滋賀医科大学，三重大学，島根大学，和歌山県立医科大学，九州大学，久留米大学，鹿児島大学，福岡大学，宮崎大学，琉球大学

< 眼科：13施設 >

富山大学，弘前大学，東京医科大学，東京大学，防衛医科大学校，日本医科大学，東京女子医科大学，横浜市立大学，大阪大学，九州大学，長崎大学，鹿児島大学，大分大学

< 皮膚科：16施設 >

旭川医科大学，自治医科大学，埼玉医科大学，東京慈恵医科大学，聖路加国際病院，東京大学，東京医科大学，名古屋市立大学，藤田保健衛生大学，岐阜大学，京都大学，関西医科大学，神戸大学，産業医科大学，福岡大学，熊本大学

以上の計 93 施設でそれぞれ倫理委員会の申請を行い，2013 年 2 月 28 日までに承認の得られたのは 50 施設であった。承認施設からは計 158 例の登録があったが，うち 1 例はキャリアで除外例であり，157 例の経過を観察中である。その内訳は関節リウマチが 108 例 (68.8%)，乾癬 21 例 (13.7%)，炎症性腸疾患 8 例 (5.1%)，その他の自己免疫性疾患 20 例 (12.7%) であった。治療法としては副腎皮質ステロイドが 32 例 (20.4%)，メトトレキサートが 78 例 (47.7%)，生物学的製剤が 99 例 (63.1%) で投与されており，治療開始後の観察期間は 1 年未満が 64 例 (40.8%)，1~2 年が 38 例 (24.2%)，2~3 年が 13 例 (8.3%)，3 年以上が 42 例 (26.8%) で，最長は 16 年であった。

これらのうち，治療開始後 24 ヶ月の悪性関節リウマチ症例のみが再活性化している。同症例はタクロリムス，メトトレキサートおよびアクテムラによる治療を実施しており，アクテムラ中止後に再活性化を生じた。その詳細を調査中である。

D. 考案

前研究班における登録症例の経過を観察する継続研究で，新たに 2 例に再活性化例が見られたが，何れも血液領域の症例であった。このため，現状での成績をまとめると，以下のようになる。

1. HBs 抗原陰性の既往感染例でも 2.1% (6/289) の症例で治療開始前に HBV-DNA が検出された。
2. リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法で HBV ウイルス再活性化が生じた既往感染例の頻度は 4.8% (14/289) であるが，治療を開始する前から HBV-DNA が検出された症例に 50%で first line の免疫抑制療法が実施

されていたことを考慮すると、再活性化率は5~6%と推定される。

3. HBV 再活性化時に entecavir を開始する基準は、HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇した時点が妥当であり、シグナル検出のみの症例はモニタリングを継続することが可能である。このため要治療例の頻度は 2.8% (8/289) であった。
4. HBV キャリア例は免疫抑制・化学療法を開始時に entecavir 投与を始めれば、肝炎発症を予防できた。

なお、継続研究ではリウマチ・膠原病領域では治療開始 6 か月以降に再活性化する症例は認められていない。新規研究では 24 ヶ月後に再活性化した症例が見られるが、この症例では再活性化前に治療薬を変更していたことが注目される。免疫抑制療法を実施する症例では、開始直後および治療薬変更後に重点的に再活性化のモニタリングを実施する必要がある可能性がある。このことを、より多数例で検証することが今後の課題である。

E. 結 論

リウマチ・膠原病など免疫抑制療法を実施する症例では、B型既往感染例でウイルスの再活性化が生じるのは、治療開始6か月後までに集中していた。従って、「免疫抑制・化学療法によるB型肝炎再活性化の予防ガイドライン」に準拠して、血清HBV-DNAを毎月測定するのは、治療開始後1年までで十分であり、その後はモニタリングの間隔を延長できる可能性がある。平成25年度以降は、新規研究の登録例も増やし、免疫抑制療法が1年以上に及んだ場合の適切なモニタリング間隔を検証することが課題である。

F. 研究発表

1. Fujiwara K, *et al.* Fulminant hepatitis and late onset hepatic failure in Japan: Summary of 698 patients between 1998 and 2003 analyzed by the annual nationwide survey. *Hepatology* 2008; 38: 646-657.
2. Oketani M, *et al.* Etiology and prognosis of fulminant hepatitis and late-onset hepatic failure in Japan: Summary of the annual nationwide survey between 2004 and 2009. *Hepatology* 2013; 43: 97-105.
3. 坪内博仁, *et al.* 免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策：厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療標準化に関する研究」班合同報告. *肝臓* 2009; 50: 38-42.
4. Mochida S, *et al.* Diagnostic criteria of acute liver Failure: A report by the Intractable Hepato-Biliary Diseases Study Group of Japan. *Hepatology* 2011; 41: 805-812.
5. 持田 智, *et al.* わが国における急性肝不全および遅発性肝不全の実態 (2010 年) : 平成 23 年度全国調査. 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業) 「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 23 年度報告書, 2012; pp101-112.
6. Sugawara K, *et al.* Acute liver failure in Japan: definition, classification, and prediction of the outcome. *J Gastroenterol* 2012; 47: 849-861.
7. 持田 智, *et al.* 我が国における急性肝不全および遅発性肝不全 (LOHF) の実態 (2011 年) : 平成 24 年度全国調査. 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業) 「難