

201320008A

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型肝炎の核酸アナログ薬治療における drug free を目指した
インターフェロン治療の有用性に関する研究
(H24-肝炎-一般-003)

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 田中 榮司

平成26(2014)年3月

目次

I. 総括研究報告	
B型肝炎の核酸アナログ薬治療における drug free を目指した インターフェロン治療の有用性に関する研究 (信州大学 田中榮司)	1
II. 分担研究報告	
1. 当院における B 型慢性肝炎患者の核酸アナログ中止例の現状 (名古屋市立大学 新海登)	12
2. エンテカビル治療例における HBs 抗原量 ならびに HB コア関連抗原量について (大阪大学 平松直樹)	15
3. シークエンシャル療法の長期予後解析 (虎の門病院 鈴木義之)	17
4. 当院における B 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン単独治療例 の検討 (長崎医療センター 八橋弘)	21
5. B 型慢性肝炎における核酸アナログ中止時の PEG-IFN α 2a 投与 に関する有効性の検討 (兵庫医科大学 西口修平)	24
6. HBV 感染者に対するインターフェロンの効果 (広島大学 柘植雅貴)	34
7. 千葉大学における B 型肝炎の核酸アナログ薬治療の現状について (千葉大学 神田達郎)	39
8. RESET study 症例における PegIFN 切り替え初期 HBV 指標の研究 (手稲溪仁会病院 姜貞憲)	43
9. Peg-interferon Sequential 療法の効果 (武蔵野赤十字病院 黒崎雅之)	47
10. エンテカビル投与開始時における 投与中止可能症例の予測因子の解析 (福岡大学 向坂彰太郎)	49
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	52
IV. 研究成果の刊行物・別刷	56

I. 総括研究報告書

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）

総括研究報告書

B型肝炎の核酸アナログ薬治療における drug free を目指したインターフェロン治療の有用性に関する研究（H24-肝炎-一般-003）

研究代表者 田中榮司 信州大学医学部内科学第二講座 教授

研究要旨；

核酸アナログ薬（NA 薬）を単純中止できる症例は少なく、同薬の効率的な中止には積極的な治療介入が必要と考えられた。本研究班では NA 薬の中止に際しインターフェロン（IFN）を併用することの有用性およびその効果予測因子を検討することを目的とする。

本班の前向き共同研究である「B型慢性肝炎の治療における、NA薬中止時のPEG-IFN α 2a投与に関する有効性の検討」、通称 RESET 研究（Release from NAs with Sequential Therapy）は初年度にプロトコールを作成し UMIN 登録を行った。プロトコールは大きく A 群と B 群に分かれ、A 群では NA 薬中止後直ぐに Peg-IFN を投与し、B 群では中止後肝炎が再燃した時点で Peg-IFN の投与（B-1）か NA 薬の再投与（B-2）を行う。このプロトコールの主要な部分は A 群であり、ここで Peg-IFN をシークエンシャルに使用した場合の治療効果とその予測因子を検討する。IFN は全て Peg-IFN α 2a を使用し、基本的に 180 μ g/日で開始し、48 週間投与とした。

RESET 研究の登録は 2012 年 2 月 1 日に開始し、2013 年 12 月 31 日に終了した。合計 147 例が登録され、A 群が 106 例、B 群が 41 例であった。本年度は 2013 年 10 月の時点でデータが集積された A 群の 96 例の中間解析を行った。中間解析では観察期間が短いため、主に HBV DNA 量、HBs 抗原量、HBcr 抗原量の推移に注目して解析を行った。

HBV DNA 量は、NA 薬中止後に約 2/3 の症例で有意に上昇した。この中には、Peg-IFN 投与中に上昇する症例と投与終了後に上昇する症例があった。経過中 HBV DNA 量が 5.7 log を超えるような症例は最終的に HBV DNA の安定化は難しいと考えられた。HBs 抗原量と HBcr 抗原量は Peg-IFN 投与中に緩徐な低下傾向を示したがその傾向は HBs 抗原量で強かった。NA 薬中止基準で用いた HBs 抗原量と HBcr 抗原量のカテゴリーを用いると、HBs 抗原量は低値群が 20%近く増加し、その分高値群の割合が低下した。これに対し HBcr 抗原量では明らかな変化はなかった。ウイルス抗原量から NA 薬単純中止後の再燃リスクを推定すると、低リスク群の増加はないが、中リスク群が 20%近く増加し、その分、高リスク群が減少した。このリスク群改善効果は NA 薬単独では得られにくく、シークエンシャル治療の効果であると考えられた。

Peg-IFN 治療終了時に HBs 抗原量が 1.9 log IU/ml 未満に低下する症例を HBs 抗原量低下群とし、この低下群を予測する因子を検討した。多変量解析では、NA 中止時の HBs 抗原量低値、ETV の非使用、Peg-IFN 治療中の ALT 高値が有意な因子であった。

Peg-IFN α の安全性評価では中等度以上の副作用が約 10%にみられたが、これまでの報告と明らかな差はなかった。

前向き共同研究である RESET 研究は順調に進み、その登録を終了した。Peg-IFN 投与中の HBs 抗原量と HBcr 抗原量の低下傾向には差があり、両抗原間で質的な差があることが示唆された。シークエンシャル治療により NA 薬単純中止のリスク群が改善する可能性が示唆された。ETV 投与例では Peg-IFN に切り替えた後に HBs 抗原量が低下しにくかったが、その機序を明らかにすることはできなかった。

《研究分担者》

新海 登
名古屋市立大学大学院医学系研究科 臨床研究医

平松 直樹
大阪大学大学院医学系研究科 講師

鈴木 義之
虎の門病院肝臓センター 医長

八橋 弘
長崎医療センター臨床研究センター センター長

西口 修平
兵庫医科大学内科学 教授

柘植 雅貴
広島大学自然科学研究支援開発センター 助教

神田 達郎
千葉大学大学院医学研究院 講師

姜 貞憲
手稲溪仁会病院消化器病センター 主任医長

黒崎 雅之
武蔵野赤十字病院消化器科 部長

向坂 彰太郎
福岡大学医学部消化器内科 教授

《研究協力者》

松本晶博
信州大学医学部附属病院消化器内科 准教授

奥瀬千晃
聖マリアンナ医科大学消化器肝臓内科 副部長

榎本 大
大阪市立大学大学院医学研究科 准教授

津田 泰宏
大阪医科大学第二内科 講師

加川 建弘
東海大学医学部消化器内科 准教授

山本 和秀
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

日野 啓輔
川崎医科大学肝胆膵内科学 教授

上野義之
山形大学医学部消化器内科 教授

斉藤 聡
横浜市立大学附属病院消化器内科 准教授

宮瀬志保
くまもと森都総合病院肝臓・消化器内科 医長

佐々木裕
熊本大学大学院生命学研究部 教授

榎本信幸
山梨大学医学部第一内科 教授

高口浩一
香川県立中央病院肝臓内科 主任部長

A. 研究目的

核酸アナログ薬 (NA 薬) は抗ウイルス効果に優れ、B 型慢性肝炎の治療に広く用いられているが、HBV を駆除することはできない。このため、同薬を安易に中止すると肝炎が再燃することが問題点として残されている。一方、インターフェロン (IFN) 治療では drug free となることが期待されるが、著効例が少ないことが問題点である。我々はこれまで NA 薬を単純に中止することのリスクを検討してきたが、単純中止できる症例の比率は低く、効率的な中止には積極的な治療介入が必要と考えられた。本研究班では NA 薬の中止に際し IFN を併用することの有用性、およびその効果予測因子を後向きおよび前向きに検討することを目的とする。昨年度は後向き研究を中心にまとめたので、本年度は前向き検討の進捗状況および中間解析の結果を報告する。

B. 研究方法

本班の前向き共同研究である「B 型慢性肝炎の治療における、NA 薬中止時の PEG-IFN α 2a 投与に関する有効性の検討」、通称 RESET 研究 (Release from NAs with Sequential Therapy) は初年度にプロトコルを作成し UMIN 登録を行った。対象は、基本的に NA 薬を 2 年以上投与し HBe 抗原陰性かつ HBV DNA 陰性の症例としたが、HBe 抗原陽性の患者も比較対照とするため登録可能とした。プロトコルの概略を図 1 に示した。プロトコルは大きく A 群と B 群に分かれ、A 群では NA 薬中止直後に Peg-IFN を投与し、B 群では中止後肝炎が再燃した時点で Peg-IFN の投与か NA 薬の再投与を行う。A 群か B 群かの選択や B-1 と B-2 群の選択は任意とした。このプロトコルの主要な部分は A 群であり、ここでは治療効果とその予測因子を検討する。B 群の主な目的は、再燃した時点で Peg-IFN を投与した場合の効果をみることであるが (B-1)、安全を考慮し NA 薬の再投与も可能とした (B-2)。また、B 群では単純中止でも再燃しない症例の特徴を前向きに検討可能である。IFN は全て Peg-IFN α 2a を使用し、基本的に 180 μ g/日で開始し、48 週間投与とした。

治療効果予測因子として検討する因子は図 1 に示した。GWAS (genome wide association study) は、同じく厚生労働省の研究班である徳永班との協力で行う。

本研究は信州大学医学部倫理委員会および当該施設の倫理委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果

RESET 研究の登録は 2012 年 2 月 1 日に開始し 2013 年 12 月 31 日に終了した (図 2)。合計 147 例が登録され、A 群が 106 例、B 群が 41 例であった。B 群の 41 例中、同意撤回が 1 例、B-1 が 12 例、B-2 が 24 例、B-未定が 4 例であった。表 1 は 2013 年 10 月の時点でデータが集積された A 群の 96 例の背景を示す。性別では男性が多く、年齢の中央値は 44 歳と比較的高かった。遺伝子型は日本に多い C 型が大多数を占めた。NA 薬を中止してからの観察期間は 10.9 ヶ月と未だ短い。使用していた NA 薬の種類は、エンテカビル (ETV) 単独が 47%を占め、他剤との併用も含めると 69%で使用されていた。HBs 抗原量と HBcr 抗原量から推定する肝炎再燃リスク群 (図 3) に関しては、高リスク群 66%、中リスク群 32%、低リスク群 2%であった。

図 4 に、Peg-IFN 投与中およびその前後を含めた HBV DNA 量の推移を示した。HBV DNA 量は、NA 薬中止後に約 2/3 の症例で有意に上昇した。この中には、Peg-IFN 投与中に上昇する症例と投与終了後に上昇する症例があった。経過中 HBV DNA 量が 5.7 log copies/ml を超えるような症例は最終的に HBV DNA の安定化は難しいと考えられた。同じく HBs 抗原量の推移を図 5 に示す。Peg-IFN 投与中に HBs 抗原量の低下傾向を示す症例が少なからずみられたが、その傾向は Peg-IFN 開始時の HBs 抗原量が 2.9 log 未満の症例で顕著であった。同じく HBcr 抗原量の推移を図 6 に示した。HBs 抗原量と同様に低下傾向を示したが、その傾向はやや弱かった。

NA 薬中止基準で用いた HBs 抗原量と HBcr 抗原量のカテゴリーを用いて、Peg-IFN 治療前後での変化を図 7 に示した。HBs 抗原量は低値群が 20%近く増加し、その分高値群の割合が低下した。これに対し、HBcr 抗原量では明らかな変化はなかった。

図 8 は、ウイルス抗原量から NA 薬単独中止後の再燃リスクを推定し、Peg-IFN 投与前後で比較したものである。低リスク群の増加はないが、中リスク群が 20%近く増加し、その分、高リスク群が減少した。この様な効果は NA 薬単独治療では得られにくく、シークエンシャル治療の効果であると

考えられた。

Peg-IFN 治療終了時に HBs 抗原量が 1.9 log IU/ml 未満に低下する症例を HBs 抗原量低下群とし、この低下群を予測する因子を検討した。単変量解析では (表 2-4)、BMI、NA 薬の種類、NA 薬治療期間、HBs 抗原量、最大 ALT 値などが有意の因子であった。多変量解析では (表 5)、Peg-IFN α 投与前の因子だけで解析すると NA 中止時の HBs 抗原量低値と ETV 非使用の 2 因子が有意な因子として抽出された。さらに、Peg-IFN α 投与中の因子を合わせて解析すると、治療中の ALT 高値が有意な因子として加わった。

図 9 は使用した NA 薬の種類別に HBs 抗原量低下群の比率を比較したものである。おしなべて ETV が含まれている群では低下群の率が低いことが分かる。図 10 は、NA 薬治療期間を 74 ヶ月で分け、ETV 投与の有無で HBs 抗原量低下群の率を比較したものである。NA 薬の投与期間にかかわらず ETV 使用群では低下群の比率が低いことが分かる。

Peg-IFN の安全性評価では中等度以上の副作用が約 10%にみられたが (表 3)、これまでの報告と明らかな差はなかった。ALT 値の上昇から NA 薬の再投与を必要とした症例が 3 例存在した。

D. 考察

前向き共同研究である「B 型慢性肝炎の治療における、核酸アナログ中止時の PEG-IFN α 2a 投与に関する有効性の検討」、通称 RESET 研究の登録症例数は順調に増え、登録を終了した 2013 年 12 月 31 日の時点で A 群 106 例、B 群 41 例となった。A 群は目標としていた 100 例を達成した。B 群はパイロット研究として A 群に付け加えられており、登録数は問題ないと考えられた。

今回解析可能であった A 群 96 例の背景をみると、男性が多く、年齢中央値が 44 歳であることから、対象には NA 薬投与を必要とする比較的難治の症例が集まったと考えられる。治療薬は 70%近くが ETV を使用しており、これに LAM+ADV の 23%が続いた。LAM 単独は 3%のみであり、NA 薬治療の現状を反映していると考えられた。

RESET 研究登録症例の観察期間は未だ短いため、本年度は短期の治療効果を検討した。具体的には Peg-IFN 投与中の HBs 抗原量と HBcr 抗原量の変化に焦点を絞って解析を行った。特に HBs 抗原量の変化は、その低下が陰性化にも繋がるため注目さ

れる。

Peg-IFN 投与中、HBs 抗原量と HBcr 抗原量は緩徐な低下傾向を示したが、低下傾向は HBs 抗原量で強く、両抗原間で差が見られた。この事は、両抗原間で質的な差があることを示しており、Peg-IFN 治療効果の予測や判定に両者の併用が有用である可能性が示された。Peg-IFN 投与により低リスク群の増加はないが、中リスク群が 20%近く増加し、その分、高リスク群が減少したことは大きな変化と言える。すなわち、HBs 抗原量と HBcr 抗原量は肝細胞中の HBV cccDNA 量と相関することが報告されており、これらの抗原量で評価されるリスク群が改善することは大きな効果と言える。また、の様な効果は NA 薬単独治療では得られにくいとされており、シークエンシャル治療の長所と考えられた。

Peg-IFN 治療終了時に HBsAg 量を 1.9 log IU/ml 未満に低下させる因子を単変量で解析すると多くの因子が有意となった。次にこれを多変量で解析すると、NA 薬中止時の因子では HBs 抗原量と ETV 治療が、Peg-IFN α 投与中の因子としては ALT 値が有意の因子として算出された。HBs 抗原量が低いほど低下しやすいのは理解しやすいが、ETV 治療例で低下しにくい理由は明らかではない。他の NA 薬との併用や投与期間との関連でサブ解析を行ったが、いずれも ETV 投与自身が有意な因子として示されるため、交絡因子は明らかではなかった。Peg-IFN 投与中に ALT 値が 50 IU/l を超える症例では HBs 抗原量が低下しやすく、ALT 値の上昇は HBV 感染肝細胞が破壊されていることを示すと考えられた。HBs 抗原量を低下させる因子を明らかにすることは、将来、HBs 抗原消失にも繋がるため重要な検討と考えられた。

Peg-IFN の安全性に関しては、既存の副作用のみであり大きな問題はなかった。ALT 値の上昇に伴い NA 薬による再治療を必要とする症例が 3 例みられたが、これは B 型肝炎で観察されやすい事象と考えられた。

本年度は短期での治療効果を検討したが、今後治療および経過観察を継続し、来年度は Peg-IFN 投与終了後の治療効果とこれを予測する因子を検討する。

E. 結論

1. 前向き共同研究である「B 型肝炎の治療に

おける、核酸アナログ中止時の Peg-IFN α 2a 投与に関する有効性の検討」、通称 RESET 研究の登録症例数は順調に増え、登録を終了した 2013 年 12 月 31 日の時点で A 群 106 例、B 群 41 例となった。

2. Peg-IFN 投与中、HBs 抗原量と HBcr 抗原量は緩徐な低下傾向を示した。この低下傾向は HBs 抗原で強く、両抗原間で質的な差があることから、Peg-IFN 治療効果の予測や判定に両者の併用が有用である可能性が示された。
3. Peg-IFN 投与による中リスク群の増加と高リスク群の減少はシークエンシャル治療の効果と考えられた。
4. Peg-IFN 投与終了時に HBs 抗原量が低下することを予測する因子としては、NA 薬中止時の HBs 抗原量低値、ETV 以外の NA 薬使用、Peg-IFN α 投与中の ALT 高値が有意の因子であった。
5. 今後、治療および経過観察を継続し、来年度は Peg-IFN 投与終了後の治療効果とこれを予測する因子を検討する。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 学会発表
 - 1) 松本晶博、吉澤要、田中榮司：核酸アナログ中止後の肝炎再燃に対する HBV genotype の関与（ワークショップ 2）。第 99 回日本消化器病学会総会、鹿児島、2013
 - 2) 松本晶博、森田進、田中榮司：高感度 HBV RNA 定量系による B 型慢性肝炎核酸アナログ治療例の病態解析（シンポジウム 4）。第 49 回日本肝臓学会総会、東京、2013
 - 3) 松本晶博、吉澤要、田中榮司：B 型慢性肝炎の核酸アナログ治療中止におけるシークエンシャル療法の検討（パネルディスカッション 2）。第 17 回日本肝臓学会大会、東京、2013
2. 論文発表
 - 1) Tanaka E, Matsumoto A: Guidelines for avoiding risks resulting from discontinuation of nucleoside/nucleotide analogs in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 44: 1-8, 2014
 - 2) Hagiwara S, Kudo M, Osaki Y, Matsuo H, Inuzuka

- T, Matsumoto A, Tanaka E, Sakurai T, Ueshima K, Inoue T, Yada N, Nishida N: Impact of peginterferon alpha-2b and entecavir hydrate combination therapy on persistent viral suppression in patients with chronic hepatitis B. J Med Virol 85: 987-995, 2013
- 3) Ikeda K, Izumi N, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Kumada H: Fibrosis score consisting of four serum markers successfully predicts pathological fibrotic stages of chronic hepatitis B. Hepatol Res 43: 596-604, 2013
- 4) Morita S, Matsumoto A, Umemura T, Shibata S, Kamijo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E: Characteristics and prediction of hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B. Hepatol Res 2013 (in press)

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。

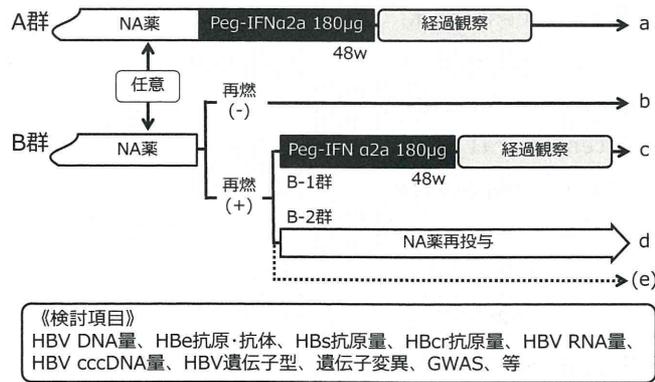


図1 RESET研究のデザイン

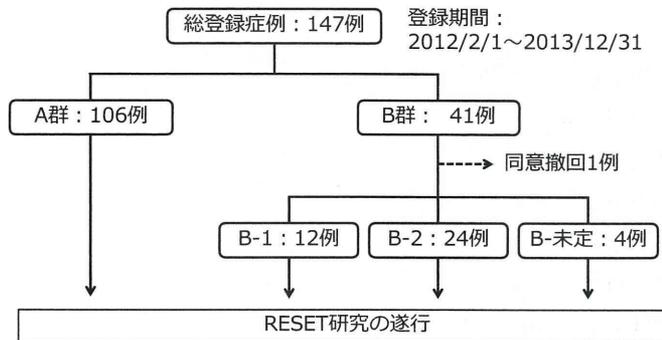


図2 RESET研究の登録状況

表1 RESET研究-A群登録症例の背景（2013/10時点での中間集計）

登録症例数	96例
男性：女性	68：28
年齢中央値	44歳（26～74歳）
遺伝子型（A:B:C:ND）	7：4：76：9
観察期間中央値	10.9 M（2.0～32.5 M）

NA治療		NA単純中止のリスク群	
LMV	3%（3/96）	高リスク	66%（57/87）
LMV+ADV	23%（22/96）	中リスク	32%（28/87）
LMV+ETV	9%（9/96）	低リスク	2%（2/87）
ETV	47%（45/96）		
ETV+ADV	13%（12/96）		
他	5%（5/96）		

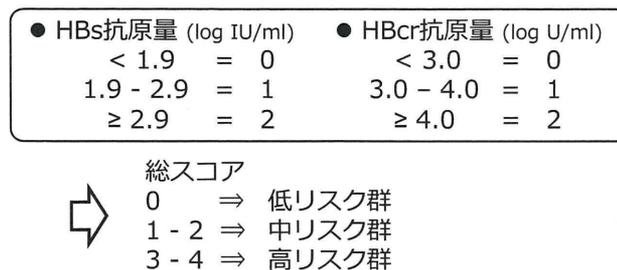


図3 HBs抗原量とHBcr抗原量のスコア化とNA薬中止後の再燃リスク（B型肝炎の核酸アナログ薬治療における治療中止基準の作成と治療中止を目指したインターフェロン治療の有用性に関する研究 H21-H23）

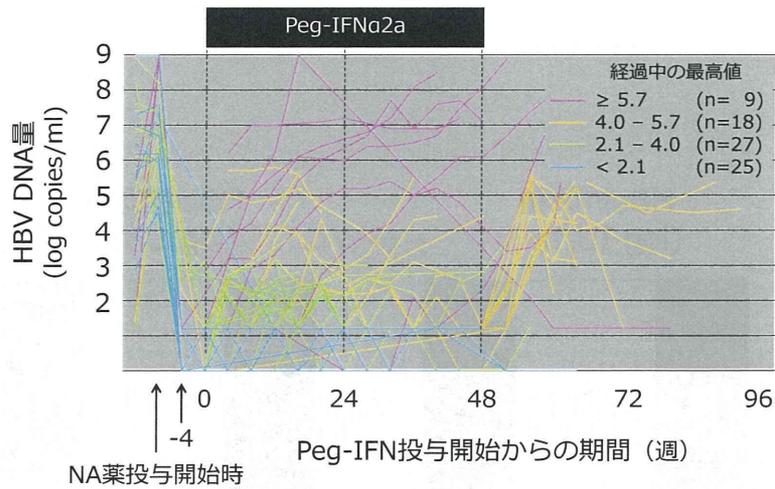


図4 Peg-IFN投与によるHBV DNA量の変化 (RESET研究-A群)

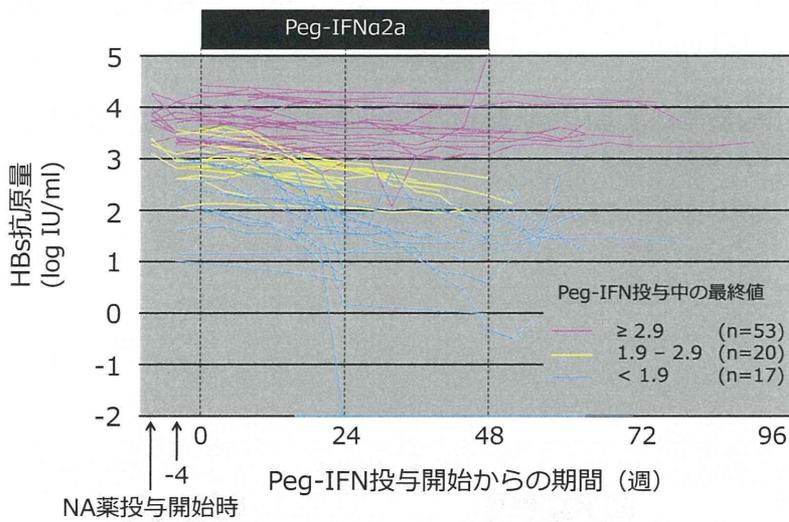


図5 Peg-IFN投与によるHBs抗原量の変化 (RESET研究-A群)

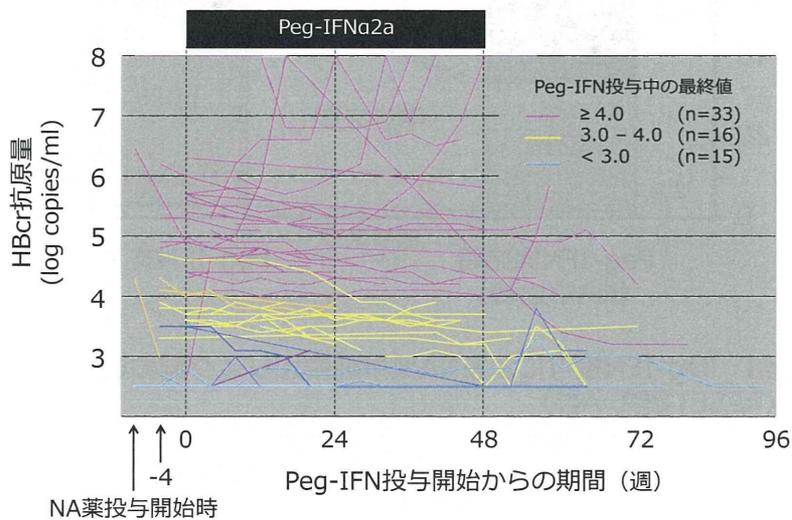


図6 Peg-IFN投与によるHBcrAg量の変化 (RESET研究-A群)

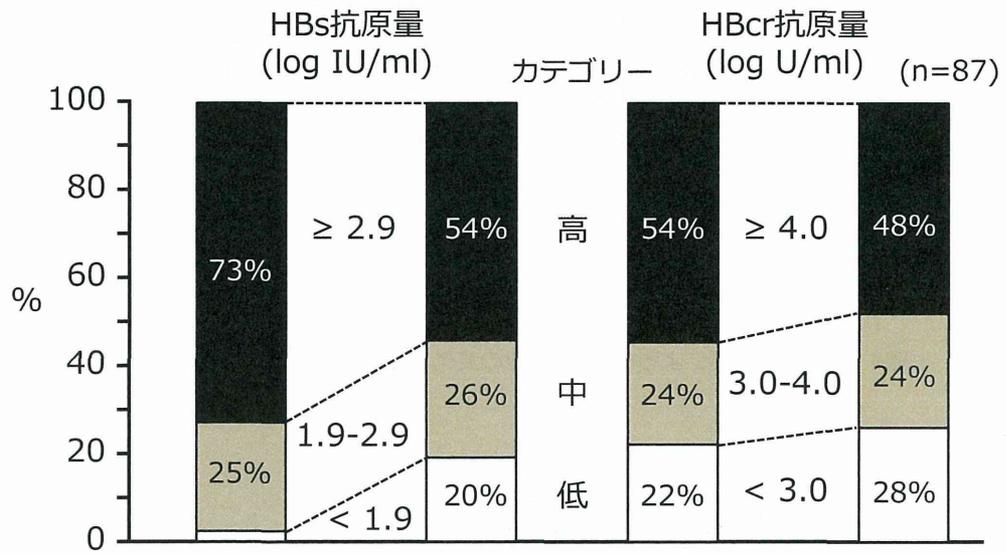


図7 Peg-IFN投与によるHBs抗原量とHBcr抗原量のカテゴリーの変化 (RESET研究-A群)

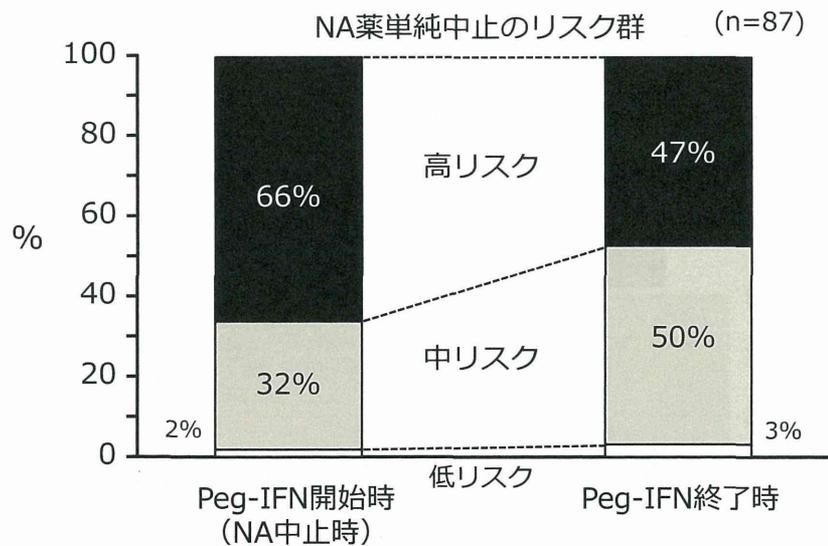


図8 Peg-IFN投与によるNA薬単純中止リスク群の変化 (RESET研究-A群)

表2 Peg-IFN投与終了時にHBs抗原量が1.9 log IU/ml未満に低下した群（低下群）と非低下群の背景因子の比較 - 1

	低下群 (n=19)	非低下群 (n=71)	p
性別	男 16 (84%)	46 (65%)	0.162
中止時年齢 a	47 (33 - 87)	44 (27 - 73)	0.146
身長cm a	167 (153 - 185)	168.25 (142.7 - 186)	0.820
体重kg a	68 (53 - 88.5)	64.8 (40 - 83.2)	0.067
BMI a	24.0 (19.2 - 30.6)	23.1 (17.3 - 29.2)	<u>0.023</u>
Genotype	0 (0%)	2 (3%)	0.462
?	1 (5%)	2 (3%)	
A	2 (11%)	5 (7%)	
B	1 (5%)	3 (4%)	
C	14 (74%)	56 (79%)	
ND	1 (5%)	0 (0%)	
その他	0 (0%)	3 (4%)	
輸血歴	0 (0%)	3 (4%)	0.423
手術歴	4 (21%)	18 (25%)	0.587
肝臓既往	2 (11%)	2 (3%)	0.311
糖尿病	1 (5%)	2 (3%)	0.440
家族歴	9 (47%)	38 (54%)	0.797
家族HCC歴	1 (5%)	16 (23%)	0.108

表3 Peg-IFN投与終了時にHBs抗原量が1.9 log IU/ml未満に低下した群（低下群）と非低下群の背景因子の比較 - 2

	低下群 (n=19)	非低下群n=71	p
肝生検			
A	0 1 (6%)	4 (7%)	0.546
	1 7 (39%)	26 (43%)	
	2 9 (50%)	21 (34%)	
	3 1 (6%)	10 (16%)	
F	0 0 (0%)	4 (7%)	0.130
	1 5 (28%)	26 (43%)	
	2 4 (22%)	17 (28%)	
	3 7 (39%)	13 (21%)	
	4 2 (11%)	1 (2%)	
肝硬変	2 (11%)	1 (1%)	0.380
IFN治療歴	10 (53%)	27 (38%)	0.299
NA	LMV 14 (74%)	19 (27%)	<u>0.000</u>
	ADV 13 (68%)	16 (23%)	<u>0.001</u>
	ETV 5 (26%)	59 (83%)	<u>0.000</u>
NA治療期間 (月) a	89 (17 - 145)	51 (3 - 1353)	<u>0.004</u>
経過期間 (月) a	18.7 (2 - 32.5)	9.8 (2.1 - 21.2)	<u>0.003</u>

表4 Peg-IFN投与終了時にHBs抗原量が1.9 log IU/ml未満に低下した群（低下群）と非低下群の背景因子の比較 - 3

	低下群 (n=19)	非低下群n=71	p
Alb a	4.3 (4 - 5)	4.4 (3.6 - 5.3)	0.818
T_Bil a	0.75 (0.3 - 1.2)	0.6 (0.3 - 1.4)	0.239
Cr a	0.79 (0.5 - 1.1)	0.705 (0.4 - 5)	0.269
AFP a	2.45 (1 - 5)	2.4 (1 - 7)	0.723
WBC a	4695 (2070 - 11200)	4390 (1600 - 8300)	0.575
neut a	2796.0 (1159 - 7828)	2400 (843 - 7304)	0.304
Hb a	15.4 (12.2 - 19)	14.8 (9.5 - 16.7)	0.061
Plt a	15.25 (5.2 - 25)	15.4 (4.7 - 29.7)	0.893
PegIFN治療開始時			
HBeAg陽性	8 (42%)	26 (37%)	0.629
ALT a	33.0 (2.0 - 49.0)	20.0 (1.0 - 83.0)	0.164
γ-GTP a	30.5 (4 - 188)	16 (1 - 55)	<u>0.001</u>
DNA a	1.2 (0.0 - 3.9)	1.2 (0.0 - 6.2)	0.897
HBsAg a	2.3 (-2 - 3)	3.39 (2 - 4)	<u><0.001</u>
HBcrAg a	4.0 (2.5 - 6.0)	4.4 (2.5 - 8.0)	0.822
PegIFN治療中			
HBeAg陽性	3 (16%)	15 (21%)	0.550
最大ALT IU/L	88 (35 - 937)	44.5 (12 - 517)	<u><0.001</u>
最大γ-GTP IU/L	93 (0 - 399)	33 (1 - 386)	<u><0.001</u>
最大 HBV DNA	1.2 (0.0 - 9.0)	2.2 (0.0 - 8.9)	0.665
最小 HBsAg	1.0 (2.0 - 1.6)	3.2 (1.9 - 4.3)	<u><0.001</u>
最小 HBcrAg	3.7 (2.5 - 5.7)	4.0 (1.9 - 8.0)	0.463

表5 Peg-IFN治療終了時にHBsAg量を1.9 log IU/ml未満に低下させる因子の多変量解析

多変量解析1 (Peg-IFN治療前項目) n=90

関連因子	OR	95%C.I.	P
NA中止時HBs抗原量 > 3.0 log IU/ml	0.052	0.008 – 0.356	0.003
ETV治療	0.005	0.008 – 0.295	0.001

多変量解析2 (全項目) n=90

関連因子	OR	95%C.I.	P
NA中止時HBs抗原量 > 3.0 log IU/ml	0.049	0.006 – 0.399	0.005
ETV治療	0.006	0.008 – 0.429	0.005
Peg-IFNo投与中 max ALT >50 IU/L	10	1.2 – 83.3	0.034

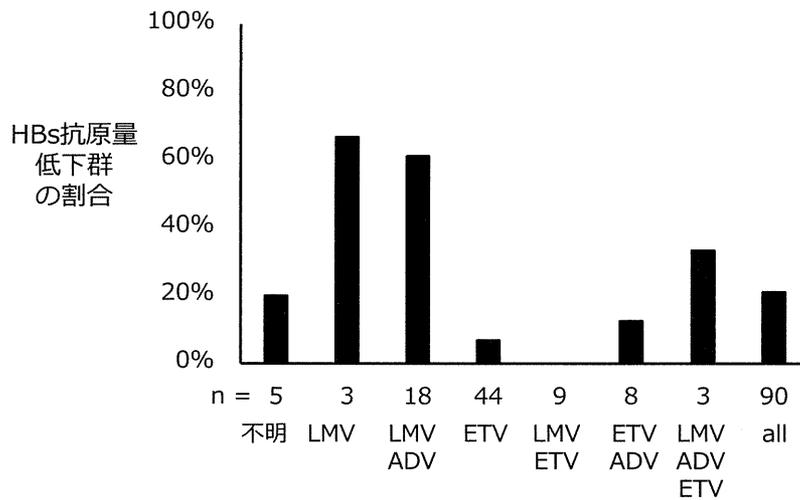


図9 投与したNA薬別にみたHBs抗原量低下群 (PegIFN投与終了時にHBs抗原量が1.9 logIU/ml未満に低下) の割合

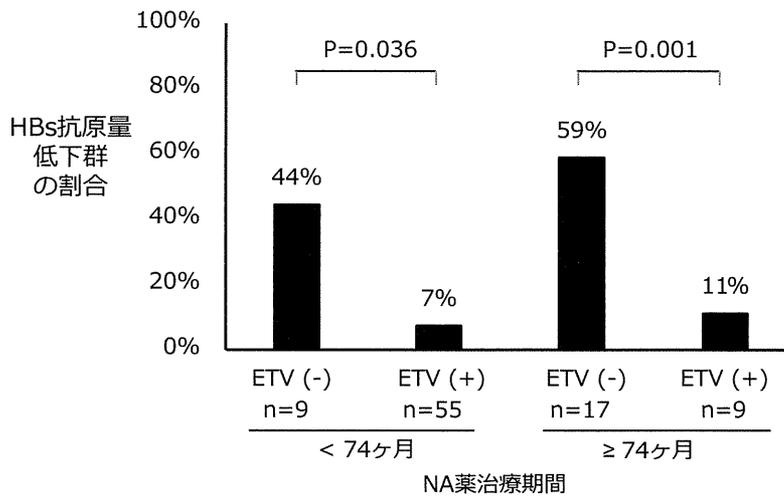


図10 NA薬投与期間およびETV投与の有無別にみたHBs抗原量低下群 (PegIFN投与終了時にHBs抗原量が1.9 logIU/ml未満に低下) の割合

表6 中等症以上の副作用報告 (RESET研究-A群)

発症率10/96 (10.4%)

副作用	重症度	対応
右脳出血	重症	中止
間質性肺炎	中等症	中止
抑うつ状態	中等症	中止
橋本病疑い	中等症	中止
てんかん発作	中等症	中止
眼底出血	中等症	中止
ALT上昇	中等症	NA再治療
ALT上昇	中等症	NA再治療
ALT上昇	中等症	NA再治療
筋肉痛	中等症	薬物治療

Ⅱ. 分担研究報告書

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）

分担研究報告書

当院における B 型慢性肝炎患者の核酸アナログ中止例の現状

研究分担者 新海 登 名古屋市立大学 消化器代謝内科学 臨床研究医
 研究協力者 田中靖人 名古屋市立大学 病態医科学講座 教授

研究要旨：当院における B 型慢性肝炎核酸アナログ (NA) 中止症例 (A 群 7 例、B-1 群 7 例) について当院の現状を検討した。A 群に登録された症例は B 群に登録された症例に比べて NA 中止後肝炎再燃のハイリスク群であった。NA 投与中止時に HBe 抗原陽性の症例においてはペグインターフェロン (PegIFN) に切り替えても HBe 抗原の陰性化を実現することは困難であり、現状としては NA の継続投与が望ましいと考えられた。一方、NA 投与中止時に HBe 抗原陰性の症例であれば、単純中止での肝炎再燃がハイリスクな症例においても PegIFN の治療反応性は良好であった。

A. 研究目的

B 型慢性肝炎の核酸アナログ治療における中止時にペグインターフェロン (PEG-IFN) 療法を行うことの有効性と安全性を同薬中止後の肝炎再燃に関して検討する。当院においても本班研究班の共同研究の一環として、核酸アナログ (NA) の中止例に登録した。すなわち、核酸アナログ (NA) から PegIFN 治療へ切り替える A 群、及びそのまま NA を中止する B 群に分けて特徴を検討した。

B. 研究方法

本班研究の登録症例 14 例 (A 群 7 例、B-1 群 7 例) の経過を HBs 抗原 HB コア関連抗原 (HBcrAg) HBV DNA、ALT を経時的に測定し、観察した。

(倫理面への配慮)

患者様からは書面で同意書を取得している。

C. 研究結果

上記 14 例の A 群 7 例と B-1 群 7 例を比較すると A 群の症例は 7 例中 3 例で NA 投与中止時点での HBe 抗原は陽性であり、B-1 群は 7 例全例で HBe 抗原陰性であった。そのため、HB コア関連抗原 (HBcrAg) は A 群で B-1 群に比べて有意に高値であり、A 群にエントリーされた症例は NA の

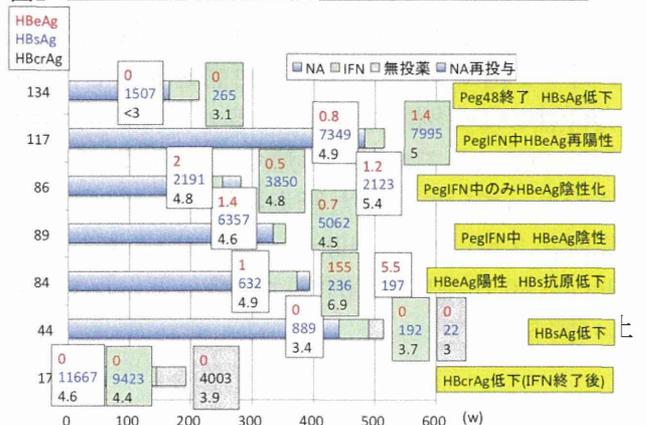
単純中止では肝炎再燃がおりやすい症例が多かった (図 1)。

図1 当院のNA中止エントリー例

群	A (n=7)	B (n=7)	p
性別 (M/F)	5/2	6/1	n.s
年齢	42.4 ± 6.4	43.7 ± 9.2	n.s
HBV genotype (Ba/Bj/C)	1/0/6	0/2/5	n.s
NA (LVD/LVD+ADV/ETV)	0/2/5	2/0/5	n.s
投与期間	298 ± 140	257 ± 199	n.s
HBeAg (CLEIA) (<1/≥1)	4/3	7/0	n.s
HBeAb (+/-)	4/3	6/1	n.s
HBV DNA (not detected/<2.1)	4/3	3/4	n.s
HBsAg (IU/ml)	4370 ± 4185	3405 ± 5468	n.s
HBcrAg (logU/ml)	4.3 ± 0.2	3.4 ± 0.5	0.02
HBsAg score (<80/80-800/>800)	0/1/6	2/3/2	n.s
HBcrAg score (<3/3-4/>4)	1/1/5	3/3/1	n.s
Total score (0/1-2/3-4)	0/1/6	0/6/1	n.s

A 群 7 例 (3 例が NA と PegIFN のシーケンシャル) の 2014 年 3 月時点での結果を図 2 に示した。

図2 A群7人(3人 seq)のPegIFN導入によるデータの推移



時の場合のスコアが 2, 3, 4 であり NA 単純中止時の肝炎再燃の高リスクの症例が 2 例含まれているにもかかわらず、48 週の PegIFN 終了時に HBs 抗原は低下している。うち 2 例は PegIFN 終了後も HBs 抗原や HBcrAg がさらに低下している (図 3)。

図3 PegIFN切り替え症例のHBs抗原の推移

症例No.	PegIFN切り替え時 HBsAg	現状	最終HBs抗原
134	1507	PegIFN中	265
117	7349	PegIFN中	7995
86	2191	NA再投与	2123
89	6357	PegIFN中	5062
84	632	NA再投与	197
44	889	無投薬	22
17	11667	無投薬	4003

NA投与前HBe抗原陰性症例3例 (No. 134, 44, 17)はすべてHBsAgは低下(2例は無投薬)
NA投与前HBe抗原陽性症例 (No. 117, 86, 89, 84)では1/4例でHBs抗原は低下

PegIFN 切り替え時に HBe 抗原陽性だった他の 4 例は (No. 117, 86, 89, 84,) 経過中に 3 例で HBe 抗原が陽性のままか HBe 抗原の陰性化を保つことができず、結果として NA の再投与に 2 例が至っている (2 例は現在 PegIFN 継続中、図 2&4)。

図4 PegIFN切り替え症例のHBe抗原titerの推移

症例No.	NA投与開始時	PegIFN切り替え時	現状	最終観察時
134	0	0	PegIFN中	1.4
117	2	0.8	PegIFN中	1.2
86	1.4	2	NA再投与	0.7
89	1	1.4	PegIFN中	5.5
84	1	1	NA再投与	0
44	0	0	無投薬	0
17	0	0	無投薬	

NA投与前HBe抗原陽性症例4例
2例でNAの再投与 No.84, 86 (No.84はHBsAgは切り替え時より低下している)
1例は切り替え時HBe抗原陰性だったがPeg中に再陽性化 No.117
1例はPegIFN投与中でHBe抗原は陰性化になっている No.89 (終了後の転帰は不明)

また、NA を単純中止した B 群は 7 例登録した。7 例中 2 例で NA 中止後肝炎再燃を観察した。肝炎再燃した症例は中央値 23.5 ヶ月で非再燃焼例は 117 ヶ月であり、再燃する場合は 1 年以内におこっていた。また肝炎再燃のスコアが 2 の症例が 3 例いたが、HBcrAg<3logU/ml もしくは HBsAg<80 IU/ml の症例では再燃が見られていない (図 5)。

図5 B群7例における再燃と非再燃例

群	再燃 (n=2)	非再燃 (n=5)
性別 (M/F)	2/0	4/1
年齢	47.5 ± 21	42.2 ± 3.3
HBV genotype (Ba/Bj/C)	0/1/1	0/1/4
NA (LVD/LVD+ADV/ETV)	0/0/2	2/0/3
NA投与期間 (w)	299 ± 175	239 ± 225
HBeAg (CLEIA) (0/2<1/≥1)	2/0/0	5/0/0
HBeAb (+/-)	2/0	4/1
HBV DNA (not detected/<2.1)	0/2	3/2
HBsAg (IU/ml)	4500 ± 4196	2966 ± 2654
HBcrAg (logU/ml)	3.5 ± 0.7	3.3 ± 0.5
HBsAg score (<80/80-800/>800)	0/1/1	2/2/1
HBcrAg score (<3/3-4/≥4)	1/1/0	3/1/1
Total score (0/1/2/3-4)	0/0/1/1	0/3/2/0
NA中止後観察期間 (w)	23.5 (23-24)	117 (16-156)

次に一部の症例においてホスト側の IL-28B, HLA-DPA1, HLA-DPB1 遺伝子多型を測定した (図 6)。症例数は少ないが A 群の PegIFN 治療反応性と上記の遺伝子多型に相関はない印象であった。

図6 A群の遺伝子多型とPegIFN治療反応性

症例No.	PegIFN治療後/中	IL28B	HLA-DPA1	HLA-DPB1
134	HBs低下 (PegIFN中)	MA-homo	MA-homo	MA-homo
117	HBeAg陽性	HE	MA-homo	MA-homo
86	HBeAg陽性	MA-homo	HE	HE
89	HBeAg陰性化 (PegIFN中)	HE	MA-homo	MA-homo
84	HBeAg陽性	MA-homo	MA-homo	MA-homo
44	HBs低下	HE	HE	HE
17	HBs低下	MA-homo	MA-homo	MA-homo

D. 考察

当院の症例に限れば少なくとも NA 投与中に HBe 抗原の陽性の症例を PegIFN に切り替えることで HBe 抗原セロコンバージョンを期待するのは困難であった。NA 投与時に HBe 抗原陰性の症例に関しては NA 単純中止高リスクの症例においても PegIFN 切り替えることでその後の経過も良好で積極的な導入により将来的に患者が drug-free となることが期待された。

E. 結論

NA 投与時に HBe 抗原陰性の症例は PegIFN への切り替え、あるいは中止の基準を満たせば、NA 単純中止による Drug-free が期待できる。

F. 健康危険情報

PegIFN の副作用として 1 例間質性肺炎を認めしたが、投薬中止にて肺炎は改善した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Posuwan N, Payungporn S, Tangkijvanich P, Ogawa S, Murakami S, Iijima S, Matsuura K, Shinkai N, Watanabe T, Poovorawan Y, Tanaka Y. Genetic association of human leukocyte antigens with chronicity or resolution of hepatitis B infection in thai population. PLoS One. 2014;9(1):e86007.

2) Shinkai N, Matsuura K, Sugauchi F, Watanabe T, Murakami S, Iio E, Ogawa S, Nojiri S, Joh T, Tanaka Y. Application of a newly developed high-sensitivity HBsAg chemiluminescent enzyme immunoassay for hepatitis B patients with HBsAg seroclearance. J Clin Microbiol. 2013;51(11):3484-3491.

3) 大根久美子, 可児里美, 大橋実, 新海登, 井上貴子, 脇本幸夫, 田中靖人. 免疫複合体転移-化学発光酵素免疫測定法 (ICT-CLEIA 法) による超高感度 HBs 抗原測定の臨床的有用性の検討. 臨床病理. 2013;61(9):787-794.

2. 学会発表

1) Shinkai N, Tanaka Y, Iio E, Watanabe T, Nojiri S, Joh T. Application of a newly-developed high sensitivity HBsAg chemiluminescent enzyme immunoassay “*Lumipulse HBsAg-HQ*” for hepatitis B patients with HBs Ag seroclearance. AASLD 2013. Washington, DC. 2013. 11. 3

2) 新海登, 飯尾悦子, 遠藤美生, 藤原圭, 松浦健太郎, 野尻 俊輔, 渡邊綱正, 城 卓志, 田中靖人. 新規超高感度HBs抗原定量系の臨床的意義～アーキテクトHBsAg-QT陰性例への応用～. 第17回日本肝臓学会大会. 東京. 2013年10月9日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(※予定を含む)

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）

分担研究報告書

エンテカビル治療例における HBs 抗原量ならびに HB コア関連抗原量について

研究分担者 平松直樹 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学 講師

研究要旨：B 型慢性肝疾患に対するエンテカビル (ETV) 治療例における HBs 抗原 (HBsAg) 量ならびに HB コア関連抗原 (HBcrAg) 量の変動ならびに発癌抑制効果との関連について検討した。[対象]大阪大学ならびに関連施設において、2004 年 7 月から 2012 年 9 月までに ETV を初回導入した B 型肝炎患者症例のうち、ETV 投与後 1 年以上経過観察した 342 例を対象とした。平均観察期間は 47.5 ± 19.1 ヶ月であった。[成績]全症例における HBsAg 陰性化率は、1 年/3 年/5 年：1.5%/1.5%/4.2%であった。HBsAg 陰性化に関与する因子の多変量解析による検討では、治療開始時の ALT 値 (≥ 300 IU/ml, odds ratio 8.9, $p < 0.001$) が有意であった。また、今回の B 型慢性肝疾患コホートのうち、HBV DNA 量 (< 2.6 LC/ml)、HBe 抗原陰性であった 173 例の核酸アナログ中止後の再燃リスクの分布は、高リスク群 40%、中リスク群 55%、低リスク群 5%であった。一方、HBsAg 量/HBcrAg 量別に、慢性肝炎に対する ETV 治療開始後の肝発癌を検討したところ、ともに低値 (HBsAg < 200 IU/ml かつ HBcrAg < 3.0 logU/ml) であった群 ($n=11$) では、治療開始 5 年まで発癌を認めていないが、それ以外の群 ($n=159$) における累積 5 年発癌率は 5.9%であった。[結論]今回のコホートに対する ETV 治療では、HBV-DNA 陰性化率は高かったが、HBsAg 量ならびに HBcrAg 量がともに低下する症例は少なく、ETV 継続投与のみでは十分に肝発癌が抑制されない症例が存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

B 型慢性肝疾患に対するエンテカビル (ETV) 治療を施行した症例における HBs 抗原 (HBsAg) 量ならびに HB コア関連抗原 (HBcrAg) 量の変動ならびに発癌抑制効果との関連について検討した。

B. 研究方法

大阪大学ならびに関連施設において、2004 年 7 月から 2012 年 9 月までに ETV を初回導入した B 型肝炎患者症例のうち、ETV 投与後 1 年以上経過観察した 342 例 [年齢： 54.0 ± 12.1 歳、男性/女性：211/131 例、血小板数： $15.5 \pm 6.1 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 、ALT 値： 149 ± 219 IU/L、HBV-DNA 量 (中央値)： 6.7 logcopies/ mL (LC/mL)、肝線維化 F0/1/2/3/4：3/49/35/22/17 例、HBe 抗原陽性/陰性：141 (43%) / 188 例、発癌歴の有：61 例 (18%)] を対象とした。HBsAg 量は CLIA 法、HBcrAg 量は CLEIA 法、累積発癌率は Kaplan-Meier 法を用い

て検討した。平均観察期間は 47.5 ± 19.1 ヶ月であった。また、厚生労働省研究班の「核酸アナログ薬中止に伴リスク回避のための指針」(肝臓. 2012; 53(4)) に沿って、今回のコホートのうち、HBV DNA 量 (< 2.6 LC/ml)、HBe 抗原陰性であった 173 例の核酸アナログ治療後の再燃リスクを検討した。

C. 研究結果

全症例における経時的 HBV-DNA 陰性化 (< 2.6 LC/mL) 率は、治療開始 6 ヶ月/1 年/2 年/3 年：72%/89%/96%/97% であった。また、HBe 抗原陽性例における eAg セロコンバージョン率 (陰性化率) は、6 ヶ月/1 年/2 年/3 年：7 (10)%/12 (16)%/20 (26)%/21 (36)%であった。全症例における HBsAg 陰性化率は、1 年/3 年/5 年：1.5%/1.5%/4.2%であった。HBsAg 陰性化に関与する因子の多変量解析による検討では、治療開始時の ALT 値 (≥ 300 IU/ml, odds ratio 8.9, $p < 0.001$) が有

意であった。

また、今回の B 型慢性肝疾患コホートのうち、HBV DNA 量 (<2.6LC/ml)、HBe 抗原陰性であった 173 例の再燃リスクの分布は、高リスク群 40%、中リスク群 55%、低リスク群 5%であった。

一方、慢性肝炎に対する ETV 治療開始後の肝発癌を、HBsAg 量/HBcrAg 量別に検討したところ、ともに低値(HBsAg<200 IU/ml かつ HBcrAg<3.0 logU/ml)であった群(n=11)では、治療開始 5 年まで発癌を認めていないが、それ以外の群(n=159)における累積 5 年発癌率は 5.9%であった。

D. 考察

HBsAg 量と肝発癌との関連については従来より報告があるが、今回のコホートでも、HBsAg 量ならびに HBcrAg 量の低値群からは、5 年まで発癌を認めていない。しかし、今回のコホートに対する ETV 治療では、既報のごとく HBV-DNA 陰性化率は高かったが、HBsAg 量ならびに HBcrAg 量がともに低下する症例は少なかった。今後の検討を要するが、ETV 継続投与のみでは十分に肝発癌が抑制されない症例が存在する可能性がある。

インターフェロン治療を用いた Sequential therapy は、ETV 治療後再燃リスク低減のために有用である可能性があり、現在、検討中であるが、加えて、核酸アナログ治療に比し、より良好な HBsAg 量ならびに HBcrAg 量低下につながる可能性がある。今後、HBsAg 量ならびに HBcrAg 量が十分に低下していない症例では、Sequential therapy を検討する意義はあるものと考えられる。

E. 結論

今回のコホートに対する ETV 治療では、HBV-DNA 陰性化率は高かったが、HBsAg 量ならびに HBcrAg 量がともに低下する症例は少なく、ETV 継続投与のみでは十分に肝発癌が抑制されない症例が存在する可能性があり、今後、インターフェロン治療を用いた Sequential therapy を検討する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表：

- 1) Kodama T, Hikita H, Kawaguchi T, Saito Y, Tanaka S, Shigekawa M, Shimizu S, Li W, Miyagi T, Kanto T, Hiramatsu N, Tatsumi T, Takehara T. The Bcl-2 homology domain 3 (BH3)-only proteins Bim and bid are functionally active and restrained by anti-apoptotic Bcl-2 family proteins in healthy liver. *J Biol Chem* 2013 288(42): 30009-18.
- 2) Kawaguchi T, Kodama T, Hikita H, Tanaka S, Shigekawa M, Nawa T, Shimizu S, Li W, Miyagi T, Hiramatsu N, Tatsumi T, Takehara T. Carbamazepine promotes liver regeneration and survival in mice. *J Hepatol.* 2013 59(6): 1239-45.

2. 学会発表：

- 1) 山田涼子、平松直樹、森下直紀、原田直毅、小瀬嗣子、宮崎昌典、薬師神崇行、宮城琢也、吉田雄一、巽智秀、木曾真一、考藤達哉、笠原彰紀、林紀夫、竹原徹郎。“B 型慢性肝疾患における ARFI 測定の意義について” 第 49 回日本肝臓学会総会 一般演題 2013

H. 知的所有権の出願・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