

201423003B

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服実用化研究事業
(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 24～26 年度 総合研究報告書

研究代表者 溝上 雅史

平成27(2015)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）…………… 1

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 免疫抑制療法分科会
（持田 智）……………11
2. 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）……………25
3. 固形がんにおけるB型肝炎ウイルス再活性化
（池田 公史）……………31
4. HBV 再活性化症例のウイルス学的検討
（梅村 武司）……………35
5. 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）……………39
6. HBV 再活性化例における HBV 高感度測定系と HBs 抗体の推移
（是永 匡紹）……………43
7. 造血幹細胞移植後におけるB型肝炎ウイルス再活性化の実態および予防に関する
多施設共同臨床研究
（木村 公則）……………47
8. 国内で使用されているHBVマーカー検査キットに関する性能調査HBV genotype既知の
献血由来検体による検討
（大隅 和）……………53
9. 生体肝移植後B型肝炎ワクチンの効果予測としての HLA-DP の一塩基多型の意義
（調 憲）……………55
10. HBV 感染既往献血者における HBV-DNA 陽性率と陽転化率
（内田 茂治）……………57
11. HBV 再活性化に関与する免疫因子の解析
（考藤 達哉）……………61

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：本研究班では、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、以下の検討を行う。1) 各種疾患群を対象とした 4 つ多施設共同前方視的研究 (自己免疫疾患例、悪性リンパ腫例、固形がん例、造血幹細胞移植例を対象) によって、HBV 再活性化、肝炎発症・劇症化の臨床リスク因子を明らかにする。2) 上記臨床研究における HBV 再活性化率、肝炎発症率、劇症化率を明らかにし、HBV モニタリング方法、抗 HBV 薬による Preemptive therapy の有用性と費用対効果を明らかにする。3) 研究登録例の検体を用いて、HBV 遺伝子変異、HLA 遺伝子の検索を行い、臨床情報以外の再活性化関連因子を同定する。4) HBV 検出系の標準化を行い、HBVDNA 高感度検出系、HBV 変異定量検出系を開発し有用性を評価する。5) HBVDNA 変動に関与する免疫因子を明らかにし、肝炎発症リスク予測における有用性を検討する。以上を踏まえて、臨床背景、ウイルス因子、宿主因子を加味した HBV 再活性化リスクの予測と肝炎防止法を確立する。

各種疾患群での HBV 再活性化率、肝炎発症率を明らかにした。各疾患群における HBV 再活性化率 (HBVDNA>1.5 or 2.1 log copy/ml) は、自己免疫疾患 3.2%、血液疾患 8.0%、固形がん 2.0%、造血幹細胞移植 11.6%であった。HBc 抗体陽性献血者における HBVDNA 自然陽転率は 0.94%であった。定期的な HBVDNA 測定と核酸アナログの Preemptive therapy によって再活性化後肝炎を防止することが可能であることが明らかとなった。しかし HBVDNA が陽性となっても自然に消失する症例も存在し、全例が抗 HBV 治療の適応とはならないと考えられた。臨床情報に加えて、再活性化に関与する HBV 遺伝子変異、宿主遺伝子要因 (HLA 等)、免疫因子を明らかにすることで、効果的かつ費用対効果に優れた HBV 再活性化対策法を確立することが可能となる。

分担研究者

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 肝胆膵内科
木村 公則	都立駒込病院 肝臓内科
内田 茂治	日本赤十字中央血液研究所 感染症解析部
大隈 和	国立感染症研究所 血液・安全性研究部
梅村 武司	信州大学医学部 消化器内科
調 憲	九州大学大学院医学系研究科 消化器・総合外科
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
宮寺 浩子	国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター
考藤 達哉	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

ど幅広い臨床分野で問題となっており、今の分子標的治療では特にその可能性が指摘されている。再活性化時の対処の遅れ

は患者の予後悪化に繋がるため、その予測法、診断・治療法の確立が必要である。

本研究班では、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、以下の検討を行う。1) 4つの多施設共同研究(自己免疫疾患症例、悪性リンパ腫症例、固形がん症例、造血幹細胞移植症例) から得られる再活性化率、肝炎発症率、劇症化率を元にして、臨床的リスクの評価と再活性化に関与する因子を明らかにする。また HBVDNA が陽性化しても肝炎を発症することなく自然に低下する症例の臨床的特徴を明らかにする。2) 遺伝子関連の附随臨床研究に登録された症例の検体を用いて、HBV 変異、宿主遺伝子 (HLA 等) を解析することにより、臨床情報以外の再活性化関連因子を明らかにする。3) HBV 再活性化の診断標準化のために、既存の HBV 関連検査の精度評価を行う。HBVDNA 高感度検出法、HBV 変異高感度定量法の開発を行い、診断における有用性を評価する。4) HBVDNA 変動に関与する免疫因子を明らかにし、肝炎発症リスク予測における有用性を検討する。以上の結果を踏まえて、費用対効果を考慮した効果的な HBV 再活性化防止対策を構築することを目標とする。

B. 研究方法

1. 免疫分科会 (持田 智)

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。また、厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」との共同で、劇症肝炎分科会に登録された症例を背景、臨床経過を再検討

することで、重症化する HBV 再活性化例の実態解明を試みた

2. 血液分科会 (楠本 茂)

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研究(全国 68 施設が参加、UMIN000001299)にて、平成 20 年 8 月より平成 23 年 7 月までに 275 症例を登録し、269 例が解析対象となった。付随研究では、1) 超高感度 real-time detection PCR 法により微量の HBV-DNA 検出を試み、早期診断の臨床的有用性を検証する。2) HBV 再活性化した症例に関しては、HBV-DNA の遺伝子配列を決定することで、輸血後肝炎との鑑別のみならず、再活性化ハイリスク群および劇症化に寄与する遺伝子型や遺伝子変異の同定を試みる。

3. 固形がん分科会 (池田公史)

固形がん領域では、多施設共同(9 施設)の前向き観察研究(UMIN000005369)を実施した。HBs 抗原陽性[sAg(+)]、HBs 抗原陰性で HBc 抗体または HBs 抗体陽性[c/sAb(+)]の固形がん患者で、初回化学療法を予定している症例を登録し、定期的に HBV DNA を測定し、再活性化の有無を確認した。HBV 再活性化は HBV DNA が 10 倍以上上昇した場合または HBVDNA 検出感度以下の例での HBVDNA の陽性化と定義した。

4. 造血幹細胞移植分科会 (木村公則)

HBV 再活性化率、肝炎発症率の検討では、2008 年 1 月から 2011 年 12 月までの 4 年間で当院血液内科にて造血幹細胞移植を実施した 303 例を対象とした。

HBV 既往感染の初回造血幹細胞移植予定患者 (HBs 抗原(-)HBc 抗体(+)) を対象として、HBV ワクチンによる再活性化予防効果を検証する臨床試験を開始した。

HBV ワクチンの接種を移植後 12 ヶ月の時点で開始し、移植後 13, 18 ヶ月の時点で追加接種を行う。HBV 再活性化 (HBV-DNA 陽性化) が認められた場合には、慢性 B 型肝炎として治療介入を行うことを強く推奨する。HBV ワクチン投与症例における HBV 再活性化割合を評価する。

5. HBVDNA 自然経過 (内田茂治)

2012 年 8 月から 2013 年 8 月までの全国の HBc 抗体陽転による遡及調査対象者のうち、前回献血時に HBc 抗体弱陽性であった 12,231 名を対象として個別 NAT を実施した。

6. HBV 測定系 (大隈 和)

本邦における HBs 抗原測定系の均一性、再現性を比較評価するために、メーカー 9 社が国内で販売する HBs 抗原検出/測定試薬 13 キットを用いて、(1) HBs 抗原国内標準品希釈系列 (陰性を含む 10 検体) (2) HBs 抗原陽性検体：日本赤十字社献血由来検体 (126 検体) (Genotype A:19, B:60, C:39, D:8) を測定した。HBs 抗体検査キット、HBc 抗体検査キットに関しても同様な比較を行った。

7. HBV 変異 (梅村武司)

de novo B 型肝炎 16 例 (劇症化 5 例) と急性 B 型肝炎 15 例 (劇症化 3 例) を用いて、直接塩基決定法で HBV 全塩基配列を決定した。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) を比較した。急性 B 型肝炎例については本邦発症の 39 例をデータベースから加え、計 55 例 (劇症化 29 例) として解析を行った。

8. 肝移植 (調 憲)

九州大学病院で肝移植を施行した症例の中で B 型肝炎ウイルス陽性 26 例、B 型肝炎既往感染 34 例及び HBV ワクチン投与 19 例を用いた。移植後の HBIG 投与の代わりに HBV ワクチンを接種し、HBs 抗体が陽転化する症例を判別出来るか検討するために、HLA-DPA1 及び DPB1 の一塩基多型、サブタイプについて検討した。

9. HBV 高感度法 (是永匡昭)

HBVDNA の抽出効率増加と contamination を避けるため 1st PCR まで完全自動化、更に Easy-to-use phylogenetic analysis system を用いた PCR の増幅効率の上昇により HBVDNA 高感度測定系を構築し、従来法 [Taqman PCR(Roche)] と比較検討した。再陽性化した症例のなかで、HBVDNA が上昇せず、自然に低下した症例の HBs 抗体を経時的に測定した。HBV pre core / core promoter 変異の高感度定量測定系開発を行った。新規検出系による HBV 再活性の予測可能性を検討した。

10. HLA (宮寺浩子)

B 型肝炎慢性化に対する感受性・抵抗性と関連する 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) cDNA を HLA 標準細胞株よりクローニングし、組換え HLA-DP タンパク質を昆虫細胞安定発現系、哺乳類線維芽細胞株で発現した。HBs 抗原中の数カ所の候補領域、および HBs 抗原、HBc 抗原全長をカバーする 10-15mer の合成ペプチドライブラリーを作製し、組換え HLA-DP タンパク質との結合を測定した。B 型肝炎慢性化に対する抵抗性アリル (HLA-DPA1*01:03-DPB1*04:01, *04:02)、感受性アリル (HLA-DPA1*02-DPB1*05:01, *09:01) 及び、弱い関連～中立性を示すアリル

(HLA-DPB1*02:01, *03:01)の安定発現線維芽細胞株を作成した。HLA-DP タンパク質をプレート上に固定し、HLA-DP タンパク質へのHBs抗原ペプチドの結合を、ビオチン化ペプチドを用いて測定した。

1 1. 免疫因子 (考藤達哉)

HBV 感染既往 (HBs 抗原陰性、HBs 抗体またはHBc 抗体陽性) であり、慢性関節リウマチ、固形がんに対して免疫抑制剤、化学療法剤が投与された症例を対象とした。経過中にHBVDNA が定量可能となり、HBV 再活性化と診断された症例 (慢性関節リウマチ 1 例、固形がん 3 例) と、造血幹細胞移植後にHBV再活性化肝炎を発症した 3 例を比較検討した。血清中のサイトカイン、ケモカインを Multiplex 法で網羅的に解析し、HBDNA 自然変動に関連する免疫因子を明らかにすることを目的とした。

(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・遺伝子解析研究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)

1. 免疫分科会

継続研究は前研究班で登録した 44 施設と、倫理委員会の承認を新たに得た 36 施設から登録された 270 例を対象とした。血液領域では治療開始 6 ヶ月以降でもHBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇し、エンテカビル投与が必要となる症例が見られた。一方、リウマチ・膠原病領域

では治療開始 6 ヶ月以内に再活性化した症例は 14 例中 10 例であった。また、Kaplan-Meier 法で累積再活性化率を算出した。リウマチ・膠原病領域および腎領域において、免疫抑制療法を実施した症例でHBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇し、エンテカビル投与が必要となる再活性化を生じる頻度は、治療開始 6 ヶ月後で 3.2% であり、この頻度は 24 か月後まで不変であった。新規研究では、リウマチ・膠原病、消化器内科と眼科および皮膚科領域で計 96 施設からなる研究組織を立ち上げた。倫理委員会の承認を得た 66 施設から、289 例 (リウマチ・膠原病 201 例、皮膚科 45 例、消化管 28 例、眼科 17 例) の登録を得た。これらの症例から、9 例 (関節リウマチ 4 例、悪性関節リウマチ 1 例、Wegener 肉芽腫 1 例、皮膚筋炎 1 例、尋常性乾癬 2 例) で 2.1 Log copy/mL 未満 (検出) が確認され、うち 5 例でHBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇した。エンテカビルが投与されていない 3 例を含む 9 例すべての症例で肝炎は発症していない。うち 5 例でエンテカビル未投与の状況でHBV-DNA の自然低下が確認された。厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」の劇症肝炎分科会には、2010~2012 年に発症した急性肝不全と LOHF の計 785 例が登録された。このうち B 型症例は 179 例 (22.8%)、キャリアは 67 例で B 型症例の 37.4% を占めていた。キャリア例は HBs 抗原陽性で誘因の認められない症例が 31 例 (46.3%)、HBs 抗原陽性で免疫抑制・化学療法後に再活性化した 15 例 (22.4%)、HBs 抗原陰性の B 型既往感染から再活性化した 21 例 (31.3%) に分類された。1998~2003 年に発症した劇症肝炎、LOHF の計 698 例のうち 268 例 (38.4%) が B 型症例で、164 例 (23.5%) は急性感染例と診断されていた。免疫抑制・化学療法を実施していた症例が 11 例

(6.7%)認められ、これらはHBV再活性化によって劇症化した可能性が否定できなかった。

2. 血液分科会

解析対象となった269例の年齢中央値は65歳、男性52.8%。HBV-DNA観察期間中央値562日で、1.5年HBV再活性化割合は8.3% (95%信頼区間、5.5-12.4)。登録後HBV再活性化確認までの中央値は97日(32-490)。再活性化確認時のHBV-DNAは1.8~3.4Log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。

3. 固形がん分科会

対象は、2010年8月から2012年5月までに登録された計379例(HBs抗原陽性例35例、HBs抗原陰性でHBc抗体またはHBs抗体陽性例344例)である。HBs抗原陽性例からの再活性化を10例(28.5%)に認めた。再活性化を認めた10例中7例は、予防投与に用いた抗ウイルス療法をそのまま継続し、HBV DNAの改善を認め、1例は抗ウイルス療法を行わず改善した。HBs抗原陰性でHBc抗体またはHBs抗体陽性例からの再活性化を7例(2.0%)に認めた。再活性化を認めた7例のうち、4例は抗ウイルス療法を行わず、HBV DNAの改善を認めた。また、HBV再活性化を認めた全例で、HBVの再活性化による肝障害は認めなかった。

4. 造血幹細胞移植分科会

2008年1月から2011年12月までの4年間で当院血液内科にて造血幹細胞移植を実施した303例を対象とした。HBs抗原(-)HBc抗体(+)のHBV既往感染例は同

種移植37名(15%)、自家移植6名(12%)で、HBV再活性化した症例はそれぞれ、5(13.5%)、0名(0%)、計5名(11.6%)であった。

平成25年にHBVワクチンによる再活性化予防効果を検証する臨床試験「造血幹細胞移植後のワクチン投与における再活性化予防の検討」(UMIN000011543)の症例登録を開始した。平成27年3月現在、登録症例数は30例(内脱落症例8)で、22例が追跡調査を行っている。3例の症例に対してHBVワクチン(ビームゲン)を投与し、特に重篤な副作用を認めず経過観察している。

5. HBVDNA自然経過

HBc抗体陽転による遡及調査対象者12,231名のうち今回献血時の個別NAT陽性は115名(0.94%)であった。115名のうち前回献血時の保管検体が個別NAT陰性は100名(87.0%)、前回は陽性であったが前々回陰性は10名(8.7%)であった。個別NATで検出されたHBV-DNAはすべて低濃度であり、HBs抗原が陽転化するような例は認められなかった。

6. HBV測定系

HBs抗原国内標準品希釈系列10検体を用いて測定し結果を比較したところ、13キット中1キット、10検体中1検体に判定乖離が認められた。

日本赤十字社献血由来HBs抗原陽性検体126例を用いて測定し結果を比較したところ、Genotype Aについては13キット中8キット、19検体中1検体、Genotype Bについては13キット中2-6キット、60検体中7検体、Genotype Cについては13キット中5と7キット、39検体中2検体に判定乖離が認められ、Genotype D8検体について乖離は認められなかった。国内で販売されている3種類のHBs抗原

定量キットの測定値において相関性は非常に高かった。HBs 抗体検査に関しては、日本赤十字社献血由来 HBs 抗原陽性検体 126 例を用いて測定し結果を比較したところ、Genotype A については 8 キット数中 2 キット数、19 例中 2 例、Genotype B については 8 キット数中 1-6 キット数、60 例中 27 例、Genotype C については 8 キット数中 1-7 キット数、39 例中 10 例、Genotype D については 8 キット数中 2 及び 7 キット数、8 例中 3 例のみに陽性が認められた。HBe 抗原・抗体、及び HBc 抗体検査に関しては、どの Genotype においても判定結果は比較的良く一致しており、乖離は殆ど認められなかった。以上より、HBV 関連検査キット間の性能に差があることが分かり、本性能調査の重要性が明らかとなった。

7. HBV 変異

HBV 変異の検討では 急性 B 型肝炎と比較して *de novo* B 型肝炎に高率に存在する変異はなかった。さらに、*de novo* B 型肝炎の劇症化症例に特徴的な変異は認めなかった。劇症化症例の検討では急性肝炎(3/3 100%)では *de novo* 肝炎(0/5 0%)と比較して T1753V 変異の比率が高かった。

Genotype B 症例の比較

系統樹解析では *de novo* 肝炎例に特異的なクラスターを形成することはなかった。塩基配列の比較では統計学的に $P < 0.01$ の部位は 5 ヲ所確認された。アミノ酸置換すると S 領域で 1 ヲ所 (*de novo* 4/6 [67%] vs. 急性肝炎 0/16 [0%], $P = 0.0027$)、pre-S1 領域で 1 ヲ所 (*de novo* 3/6 [50%] vs. 急性肝炎 0/16 [0%], $P = 0.019$)、polymerase 領域で 1 ヲ所 (*de novo* 5/6 [83%] vs. 急性肝炎 0/16 [0%], $P = 0.00034$)、計 3 ヲ所に有意な差を認めていた。

Genotype C 症例の検討

系統樹解析では genotype B 同様に *de novo* 症例だけでクラスターを形成することはな

かった。塩基配列の比較では統計学的に $P < 0.01$ の部位は 7 ヲ所確認された。うち 1 ヲ所は $P < 0.001$ であった。アミノ酸置換すると S 領域で 1 ヲ所 (*de novo* 5/7 [71%] vs. 急性肝炎 0/33 [0%], $P = 0.001$)、同じ部位が polymerase 領域として (*de novo* 5/7 [71%] vs. 急性肝炎 0/33 [0%], $P = 0.001$) 有意な差を認めていた。

de novo 肝炎例では劇症化症例が genotype B、C それぞれ 2 例ずつと少ないため劇症化と関連のある変異の有無については明らかにならなかった。

8. 肝移植

生体肝移植後 HBIG と核酸アナログで B 型肝炎感染予防を 10 ヲ月以上行い、肝機能がほぼ正常な症例 19 例に対し、B 型肝炎ワクチンを毎月投与した。ワクチンが無効であった 8 例とワクチンが有効で HBIG から離脱可能であった 11 例を比較検討した。無効 8 例の男/女比は 6/2、有効 10 例の男/女比は 1/10 ($P = 0.002$)、生体肝移植時の平均年齢は各々 54.3 歳、37.0 歳であった ($P = 0.01$)。無効 8 例の原疾患は壊死後性肝硬変 6 例、B 型劇症肝炎 1 例、血管腫 1 例であった。有効 11 例では壊死後性肝硬変 4 例、B 型劇症肝炎 4 例、胆道閉鎖症 3 例であった。ワクチン開始時の平均年齢は各々 56.6 歳、40.3 歳であった ($P = 0.02$)。HLA-DPA1 上の rs3077 の遺伝子多型の検討では、CC/CT がワクチン無効 8 例では各 5/3 例、ワクチン有効 10 例では各 6/5 例であった (有意差なし)。HLA-DPB1 上の rs9277535 の遺伝子多型の検討では、GG/GA がワクチン無効 8 例では各 7/1 例、ワクチン有効 11 例では各 3/8 例であった ($P = 0.07$)。

9. 研究代表者(高感度 HBVDNA、HLA、免疫因子)

(高感度定量検出系) 従来法であるコバス Taqman PCR より 4-8 倍感度良い、高感度 HBVDNA 検出系を開発した。再活性

化前より HBVDNA が検出可能であった症例が存在したが、多くは HBVDNA がその後再陽性化せず、また、再陽性化した症例でも、HBVDNA が増加しない症例が存在した。HBV の増殖にゲノムの変異が関与する可能性もあり、ddPCR 法により pre core / core promoter 変異の高感度定量系を開発した。PC/CP 変異と HBVDNA 上昇は関連しなかった。

(HLA) HLA-DP を発現する昆虫細胞株と哺乳類細胞株を作成し、それぞれの細胞株で発現、可溶化した HLA-DP タンパク質を固定化した。HLA-DP とペプチドとの結合解析は、HLA-DP アリル産物（6 種類）と HBs 抗原候補領域ペプチド（10 種類）を対象として行った。これらの候補領域ペプチドについては HLA-DP との結合を再現することが出来なかった。次に、HBs, HBc 抗原全長をカバーする合成ペプチドライブラリーを作成し、HLA-DP アリル産物 6 種類に結合するペプチド領域をスクリーニングした。その結果、慢性化抑制アリル DP04 に特異的に結合する高親和性ペプチド、慢性化進行アリル DP0901、中立アリル DP0301 に弱く結合する低親和性ペプチドを同定した。

(免疫因子) HBVDNA が定量可能となった慢性関節リウマチ症例と固形がん患者 3 例中 2 例は、その後核酸アナログの投与なく自然に陰性化した。再活性化肝炎を発症した造血幹細胞移植症例では、CXCL9, CXCL10 などの炎症性ケモカインが著明に上昇していた。一方 HBVDNA が自然変動した症例では、抗炎症細胞を遊走させるケモカインが HBVDNA 増加の時期に一致して増加していた。

D. 考察

4 つの多施設共同臨床研究により、がん化学療法・免疫抑制療法中、造血幹細胞移植後の HBV 再活性化率が明らかになった。また HBc 抗体陽性献血者での HBVDNA

陽性率は 0.94% であることも判明した。定期的な HBVDNA モニタリングと抗 HBV 薬の Preemptive therapy によって、肝炎の発症を抑止出来ることが明らかになった。

一方で、疾患・治療薬による再活性化率が異なること、また HBVDNA が増加しても肝炎を発症することなく自然に低下する症例も存在することが判明し、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のの、現時点でそれを判別することは困難である。

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、再活性化予測に繋がる新たな因子を同定する必要がある。HBV 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が示唆された。HLA 遺伝子のアリルや免疫因子が B 型肝炎の発症や進展に関与するという治験が蓄積されており、今後、再活性化のリスクへの関与の可能性に関して、臨床的治験や基礎的検討を加えていく必要があると考えられた。

E. 結論

4 つの多施設共同研究によって、各種疾患での HBV 再活性化率を明らかにした。また、定期的な HBVDNA モニタリングと核酸アナログの Preemptive therapy によって肝炎発症は抑止可能であることが明らかになった。しかし、頻回の HBVDNA 検査、長期間継続される抗 HBV 治療は、医療経済的に大きな負担となる。現時点では、臨床情報のみで HBV 再活性化リスクを予測することは困難であり、HBV 遺伝子変異、宿主遺伝子 (HLA 等)、免疫因子など、新たな因子を探索同定する必要がある。

また HBV 再活性化のリスク因子として、HBs 抗体低力価が示唆されていることから、HBV ワクチン投与によって HBs 抗体価を上昇させることが、HBV 再活性化の防止に繋がる可能性がある。造血幹細胞分科会では、HBV ワクチンによる再活性化防止効果を Prospective に検証する予定である。

F. 健康危険情報

特記すべき情報なし

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, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, **Mizokami M**. Genome-wide association study confirming association of HLA-DP with protection against chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*. 2012;7(6):e39175.
- 2 Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, **Mizokami M**, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet*. 2012 Jun 19;13:47.
- 3 Sakamoto, T., Tanaka, Y., Watanabe, T., Iijima, S., Kani, S., Sugiyama, M., Murakami, S., Matsuura, K., Kusakabe, A., Shinkai, N., Sugauchi, F. and **Mizokami, M.**, Mechanism of the dependence of hepatitis B virus genotype G on co-infection with other genotypes for viral replication. *J Viral Hepat* 2013, 20: e27-36.
- 4 Yotsuyanagi, H., Ito, K., Yamada, N., Takahashi, H., Okuse, C., Yasuda, K., Suzuki, M., Moriya, K., **Mizokami, M.**, Miyakawa, Y. and Koike, K., High levels of hepatitis B virus after the onset of disease lead to chronic infection in patients with acute hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2013, 57: 935-942
- 5 Nishida, N., Sawai, H., Kashiwase, K., Minami, M., Sugiyama, M., Seto, W. K., Yuen, M. F., Posuwan, N., Poovorawan, Y., Ahn, S. H., Han, K. H., Matsuura, K., Tanaka, Y., Kurosaki, M., Asahina, Y., Izumi, N., Kang, J. H., Hige, S., Ide, T., Yamamoto, K., Sakaida, I., Murawaki, Y., Itoh, Y., Tamori, A., Orito, E., Hiasa, Y., Honda, M., Kaneko, S., Mita, E., Suzuki, K., Hino, K., Tanaka, E., Mochida, S., Watanabe, M., Eguchi, Y., Masaki, N., Murata, K., Korenaga, M., Mawatari, Y., Ohashi, J., Kawashima, M., Tokunaga, K. and **Mizokami, M.**, New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One* 2014, 9: e86449.
- 6 Ito, K., Yotsuyanagi, H., Yatsushashi, H., Karino, Y., Takikawa, Y., Saito, T., Arase, Y., Imazeki, F., Kurosaki, M., Umemura, T.,

Ichida, T., Toyoda, H., Yoneda, M., Mita, E., Yamamoto, K., Michitaka, K., Maeshiro, T., Tanuma, J., Tanaka, Y., Sugiyama, M., Murata, K., Masaki, N. and Mizokami, M., Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology* 2014, 59: 89-97.

2. 学会発表

- (1) 是永匡紹 杉山真也、溝上雅史：B 型肝炎ウイルス再活性化の予防・治療の現状と課題—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 第 17 回日本肝臓学会大会(東京) 2013.10.9-10
- (2) 岡部由紀、Cindy Chia-Jung Chen、宮寺浩子、徳永勝士、溝上雅史 HLA-DP 提示 B 型肝炎ウイルス抗原の網羅的探索 日本組織適合性学会第 23 回大会 2014 年 9 月 14 日 長崎

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

厚生労働省科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
統合研究報告書

「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26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HBV-DNA量が2.1 Log copies/mL以上に上昇する頻度は約2%で、この時点でentecavir投与を開始することで肝炎の発症は予防できることが明らかになった。しかし、免疫抑制療法に関しては、その期間が長期に亘るため、同研究班の登録例の経過をその後も追う継続研究とともに、治療期間が既に長期に及んでいる症例を収集する新規研究を行った。この結果、免疫抑制療法の場合は、治療開始ないし治療法変更6ヶ月後までが高リスクであり、その後は再活性化しても無治療でHBV-DNAが検出感度未満に低下する症例が存在することが判明した。新規研究は平成26年末で登録を終了し、継続研究とともに平成27年3月末までの経過で最終成績としてまとめる予定である。

研究協力者：

井戸 章雄	鹿児島大学	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
内田 義人	埼玉医科大学	助教

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（再活性化）、肝障害（*de novo* B型肝炎）と発症する可能性がある。

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には、1998~2009年に発症した劇症肝炎1,094症例と遅発性肝不全（LOHF）92例の計1,186例が登録された [1, 2]。このうち462例（39.0%）がB型で、全体の13.9%に相当する165例がキャリア例であった。キャリア例は核酸アナログが投与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、この中にはB型既往感染例からの再活性化症例が含まれていた [2]。一方、同班は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」を発表した [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]。しかし、2010年以降になっても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 [6-9]。

一方、平成21年度に発足した厚労省「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」班では、リツキシマブ以外の免疫抑制・化学療法によるHBV再活性化の実態を調査し、以下の成績が得られた [10]。

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 再活性化のモニタリングは 3 ヶ月毎では不十分で、HBV-DNA は毎月測定する必要がある。
6. HBV 再活性化時には HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇した時点でエンテカビルを投与することで肝炎の発症は予防できた。
7. HBV キャリア例は免疫抑制・化学療法の開始時にエンテカビル投与を開始すれば、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 [11]。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。これらの経過を基に、日本肝臓学会は B 型肝炎の診療ガイドラインにおいて、再活性化の予防に関する指針を発表している [12, 13]。

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。そこで、「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は、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。また、厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」との共同で、劇症肝炎分科会に登録された症例を背景、臨床経過を再検討することで、重症化するHBV再活性化例の実態解明を試みた

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」に平成24年3月31日までに登録された330例のうち、既往感染例である289例（血液122例、リウマチ・膠原病120例、腎臓11例、腫瘍内科36例）。

(2) 研究方法

免疫抑制・化学療法実施中および治療終了12ヶ月後までは、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に関して、平成24年度以降は保険診療で測定することになったため、継続研究に参加する施設は、当該倫理委員会で新たな研究として承認を得ることにした。

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、保険診療によってエンテカビル投与を開始した。一方、HBV-DNA量が2.1 Log copy/mL未満であるが

「検出」の場合にはエンテカビル未投与で経過観察を継続した。

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、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対象とした。

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。

- 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。
- 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。
- 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, 継続研究と同様にエンテカビルの投与はHBV-DNA量が2.1 Log copies/mL以上になった時点で開始し, 2.1 Log copy/mL未満 (検出) の場合には経過観察を継続することとした。

3) 急性肝不全症例における検討

対象は, 厚労 (生) 省「難治性肝疾患に関する研究班 (平成 11~16 年度) 劇症肝炎分科会長: 藤原研司」[1], 「難治性の肝疾患に関する調査研究班 (平成 17~22 年度) 坪内博仁」[2], 「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班 (平成 23~25 年度) 持田 智」[5-8] に登録された急性肝不全 (劇症肝炎) および LOHF の症例。それぞれの研究班には, 1998~2003 年に発症した劇症肝炎 634 例 (急性型 316 例, 亜急性型 318 例) と LOHF 64 例, 2004~2009 年発症の劇症肝炎 460 例 (急性型 227 例, 亜急性型 233 例) と LOHF 28 例, 2010~2012 年発症の急性肝不全 757 例 (非昏睡型 385 例, 急性型 218 例, 亜急性型 154 例) と LOHF 28 例が登録されている。

2010~2013 年の発症例における HBV 再活性化例の実態を 2004~2009 年の発症例と比較するとともに, 1998~2003 年の発症例に再活性化例が含まれている可能性を再検証した。

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 44 施設に協力を依頼し, 倫理委員会の承認を新たに得た 36 施設から登録された 270 例の長期経過を観察した。

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 ヶ月未満が 100 例 (34.6%), 12 ヶ月以上 24 ヶ月未満が 55 例 (19.0%), 24 ヶ月以上 36 ヶ月未満が 49 例 (17.0%), 36 ヶ月以上 48 ヶ月未満が 48 例 (16.6%), 48 ヶ月以上が 37 例 (12.8%) であった。

継続研究において, 観察期間中に血清 HBV-DNA が検出されたのは 26 例 (血液 9 例, リウマチ・膠原病 13 例, 腎臓 1 例, 腫瘍内科 3 例) で, うち 2.1 Log copies/mL 以上に上昇したのは 11 例 (血液 4 例, リウマチ・膠原病 5 例, 腫瘍内科 2 例) であった。エンテカビル投与が行われていた 13 例を含めて, 肝炎が発症し劇症化した症例は確認されなかった。34 歳の SLE の女性は副腎皮質ステロイドとミゾリビンによる治療開始 32 ヶ月後, タクロリムス追加 10 ヶ月後に HBV-DNA 量が 2.2 Log copies/mL と上昇したため, 翌月にはエンテカビル開始されたが, 投与開始日には HBV-DNA は 2.1 Log copies/mL 未満 (検出) に自然低下していた。なお, この症例は治療開始 5 ヶ月で HBV-DNA は 2.1 Log copies/mL 未満 (検出) になった。

以上より, 継続研究の症例における再活性化時期をまとめると図 1, 2, 3, 4 のようになる。血液領域では治療開始 6 ヶ月以降でも HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇し, エンテカビル投与が必要となる症例が見られた。一方, リウマチ・膠原病領域では治療開始 6 ヶ月以内に再活性化した症例は 14 例中 10 例であった。また, Kaplan-Meier 法で累積再活性化率を算出と図 5 のようになる。リウマチ・膠原病領域および腎領域において, 免疫抑制療法を実施した症例で HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇し, エンテカビル投与が必要となる再活性化を生じる頻度は, 治療開始 6 ヶ月後で 3.2% であり, この頻度は 24 か月後まで不変であった。

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計 96 施設からなる研究組織を立ち上げ，倫理委員会の承認を得た 66 施設から，289 例（リウマチ・膠原病 201 例，皮膚科 45 例，消化管 28 例，眼科 17 例）の登録を得た。免疫抑制療法開始以降の経過観察期間は 12 ヶ月未満が 11 例（3.8%），12 ヶ月以上 24 ヶ月未満が 42 例（14.5%），24 ヶ月以上 36 ヶ月未満が 76 例（26.3%），36 ヶ月以上 48 ヶ月未満が 53 例（18.3%），48 ヶ月以上 60 ヶ月未満が 30 例（10.4%），60 ヶ月以上 120 ヶ月未満が 67 例（23.2%），120 ヶ月以上が 10 例（3.5%）であった。

これら症例から，9 例（関節リウマチ 4 例，悪性関節リウマチ 1 例，Wegener 肉芽腫 1 例，皮膚筋炎 1 例，尋常性乾癬 2 例）で 2.1 Log copy/mL 未満（検出）が確認され，うち 5 例で HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上に上昇した。エンテカビルが投与されていない 3 例を含む 9 例すべての症例で肝炎は発症していない。注目すべきは，これらのうち 5 例でエンテカビル未投与の状況で HBV-DNA の自然低下が確認されたことである。関節リウマチと診断された 85 歳の女性は，メトトレキサート投与して 49 ヶ月後に HBV-DNA が 2.4 Log copies/mL となり，50 ヶ月後にエンテカビルが投与されたが，投与開始日には HBV-DNA が 2.2 Log copies/mL に低下していた。86 歳の尋常性乾癬の女性は，アダリムマブ投与開始 26 か月後に 2.2 Log copies/mL まで HBV-DNA 量が上昇したが，それ以上上昇することなく経過した。なお，この症例は主治医の判断で，その後，2.1 Log copies/mL 未満（検出）の時点で，エンテカビルが投与されている。関節リウマチの診断で，メトトレキサート，トシリズマブ，リメタゾンが投与された 86 歳，女性と，皮膚筋炎の診断でアザチオプリンが投与された 77 歳，女性の 2 例では，HBV-DNA が 2.1 Log copies/mL 未満（検出）となったが，エンテカビル

投与は行われず，HBV-DNA の上昇は認められていない。悪性関節リウマチの 73 歳，男性は，副腎皮質ステロイド，トシリズマブ，ミゾリビンを投与開始 6 ヶ月後に，ミゾリビンからメトトレキサートに変更，7 ヶ月後にタクロリムス追加され，24 ヶ月後に 2.4 Log copies/mL，25 ヶ月後に 2.3 Log copies/mL，26 ヶ月後に 2.6 Log copies/mL，41 ヶ月後に 3.1 Log copies/mL と変動が確認されているが，エンテカビル投与されることなく原疾患の治療が継続されている。これらのことから，再活性化例全例で，血清 HBV-DNA 量が上昇しても，必ずしも肝炎を発症して劇症化に至るわけではないことが確認された。

3) 急性肝不全症例での検討

厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」の劇症肝炎分科会には，2010~2012 年に発症した急性肝不全と LOHF の計 785 例が登録されたが^{5-8,11)}，このうち B 型症例は 179 例（22.8%），キャリアは 67 例で B 型症例の 37.4% を占めていた。キャリア例は HBs 抗原陽性で誘因の認められない症例が 31 例（46.3%），HBs 陽性で免疫抑制・化学療法後に再活性化した 15 例（22.4%），HBs 抗原陰性の B 型既往感染から再活性化した 21 例（31.3%）に分類された（図 7）。

2010~2012 年に発症した B 型既往感染 21 例の病型分類は，非昏睡型が 3 例（14.3%），急性型が 3 例（14.3%），亜急性型が 8 例（38.1%），LOHF が 7 例（33.3%）であった（図 8a）。一方，2004~2009 年発症の劇症肝炎，LOHF には 17 例の B 型既往感染の再活性化例が登録されているが，その全例が亜急性型であった（図 8b）。また，同期間の症例は全例が内科的治療のみで死亡していたが，2010~2012 年の発症例では救命例も 1 例認められた。また，誘因に関しては，2009 年まではリツキシマブなど悪性リンパ腫の治療が 82.4% を占めていたが，2010 年以降はその比率が 52.4% と低下し

ていた。その他の治療法にも変化が見られ、2009年までは血液悪性腫瘍ないし乳癌の化学療法が誘因として挙げられていたが、2010年以降は免疫抑制療法による症例が増加していた。免疫抑制療法による症例の疾患名と治療法を以下に列挙する。

MPO-ANCA 血管炎：PSL + CPA

関節リウマチ、乳癌：PSL + Capecitabine

潰瘍性大腸炎：AZN

潰瘍性大腸炎：PSL + AZN + IFX

腎移植：PSL + FK-506

なお、2012年には誘因が全く認められないHBs抗原陰性の既往感染例からの再活性化例が登録された。88歳、女性のLOHF症例でIgM-HBc抗体低力価、HBc抗体高力価であり、免疫監視期のキャリアでHBs抗原・抗体系のseroconversionが生じた後に、誘因なく再活性化して肝不全に至ったと考えられる。

1998~2003年に発症した劇症肝炎、LOHFの計698例のうち268例(38.4%)がB型症例で、164例(23.5%)は急性感染例と診断されていた。これら症例の既往歴、薬物歴を再検討したところ、免疫抑制・化学療法を実施していた症例が11例(6.7%)認められ、これらではHBV再活性化によって劇症化した可能性が否定できなかった。該症例の疾患名を以下に記す。

免疫抑制療法：4例

53歳、女：シェーグレン症候群

53歳、女：関節リウマチ

60歳、女：関節リウマチ

69歳、男：尋常性天疱瘡

化学療法：7例

23歳、女：ALL

27歳、男：前立腺癌

46歳、男：悪性リンパ腫

50歳、男：悪性リンパ腫

52歳、女：胃癌

61歳、男：悪性胸腺腫

68歳、男：食道癌

D. 考案

厚生科研費補助金「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」班に登録された症例の経過を長期間に亘ってprospectiveに観察した。また、既に免疫抑制・化学療法を開始しているが、再活性化を生じていないB型既往感染例の経過を追う新規研究も開始した。この両研究によって、免疫抑制療法が長期間に及んだ場合の再活性化の実態が明らかになってきた。

血液悪性腫瘍の化学療法の場合には、治療開始1年以降になっても再活性化する症例が見られた。また、これら症例では短期間に血清HBV-DNA量が高値になる場合もあった。従って、リツキシマブ以外の化学療法でも、治療期間中および治療終了12か月後までは、HBV-DNA測定によるモニタリングを毎月実施する必要があると考えられた。

一方、免疫抑制療法に関しては、再活性化が生じるのは大部分の症例で治療開始ないし治療法変更6ヶ月後までであった。Kaplan-Meier法における累積再活性化の頻度は、継続研究と新規研究では差異がある。新規研究では6ヶ月以内の治療開始初期の再活性化率が低めに算出されるバイアスがあることが、その原因である。そこで、治療開始6か月後までは継続研究の症例で累積再活性化率を算出し、その後の再活性化率の上乗せ分を新規研究および継続研究の全症例で評価した。この解析法でHBV-DNA量が2.1 Log copies/mL以上になってエンテカビル投与が必要となる累積再活性化率を算出すると(図9)、1ヶ月が0.8%、3ヶ月が2.4%、6ヶ月が3.2%であり、その後の上乗せは

12 カ月までなく、24 ヶ月で+0.5%、36 から 48 カ月では 1.7%であった。なお、6 ヶ月以降に再活性化した症例は、全例がエンテカビル未投与で血清 HBV-DNA が検出感度未満に低下した。従って、免疫抑制療法による再活性化の予防対策としては、「治療開始ないし治療法変更 6 ヶ月後までは 1 ヶ月ごとに HBV-DNA を測定し、その後は 3 ヶ月まで治療間隔の延長を認める」とした日本肝臓学会のガイドラインが妥当と考えられた [12, 13]。

平成 25 年度は厚労省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」と合同で、急性肝不全および LOHF の症例における *de novo* B 型肝炎の実態を検証した。厚労省研究班が HBV 再活性化予防のガイドラインを発表した 2009 年以降になっても [3], *de novo* B 型劇症肝炎症例は根絶できていない [12]。2010~2012 年の B 型キャリア例では、誘因のない症例は 31 例 (46.3%) に過ぎず、HBs 抗原陽性のキャリアであるがエンテカビルの予防投与なく急性肝不全ないし LOHF に至った症例も 15 例 (22.4%) 存在した。HBs 抗原陰性の既往感染からの再活性化例は 21 例 (31.3%) であり、その頻度は 2004~2009 年と同等であったが、その実態には変化が見られている。2010 年以降には亜急性以外の病型も見られるようになり、救命例も 1 例ではあるが初めて登録された。この症例は P-CHOP 療法を施行した悪性リンパ腫の 60 歳、男性で、INR が 1.5 以上になる 14 日前に核酸アナログが投与され、非昏睡型で救命された。2004 年以降に登録された HBs 抗原陰性の既往感染例は計 38 例に上るが、そのうち救命された唯一の症例である。また、誘因にも変化が見られ、リツキシマブ投与例が減少し、免疫抑制療法の施行例が増加していた。特に、潰瘍性大腸炎が 2 例登録され、何れもアザチオプリンの投与例であった。さらに、2012 年には全く誘因の認められない症例も登録されたことも注目される。この症例は元来は HBV キャリアであり、免疫監視期になって、HBs 抗原・抗体系の seroconversion を生じたものと推定される。この症

例が登録されたことによって、B 型急性肝不全の成因分類は更なる改編が求められることになった。また、再活性化の対策に関しても、自然発症例を考慮する必要性が発生した。

HBV 既往感染例における再活性化、*de novo* B 型肝炎の概念が定着したのは 2004 年以降である。2003 年以前に *de novo* B 型劇症肝炎が存在した可能性を検討するために、厚労省（厚生省）研究班の登録例を遡って精査した。その結果、B 型急性感染例と診断された症例には、化学療法のみならず免疫抑制療法の実施例も存在することが確認された。これらには高齢で IgM-HBc 抗体価が低力価の症例も含まれており、免疫抑制・化学療法による再活性化例であったことを否定できない。

E. 結 語

免疫抑制療法によって HBV 既往感染例が再活性化し、血清 HBV-DNA 量が 2.1 Log copies/mL 以上になってエンテカビル投与が必要となる頻度が確定した。累積再活性化率は治療開始 6 ヶ月後が 3.2%であり、その後の再活性化例は少なく、再活性化した場合も無治療で HBV-DNA が検出感度未満になる場合が多いことが判明した。

一方、HBV 再活性化による急性肝不全、LOHF は 2012 年になっても根絶できておらず、遡及的調査では 2003 年以上も存在したと推定される。最近では、リツキシマブ投与例よりも免疫抑制療法による再活性化例が増加しており、その対策は重要である。医療経済的要素を考慮すると、免疫抑制・化学療法の場合は治療開始ないし治療法変更 6 ヶ月後までは毎月、その後は 3 ヶ月ごとに HBV-DNA 測定によるモニタリングを実施することが合理的と考えられた。

F. 引用文献

1. Fujiwara K, *et al.* Fulminant hepatitis and late