

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

・ 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
・ 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 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
・ 研究成果の刊行に関する一覧表	52
・ 研究成果の刊行物・別刷	56

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 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 2aを使用し、基本的に180μg/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 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。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。プロトコールの概略を図 1 に示した。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。このプロトコールの主要な部分は 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見ることであるが (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 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。このような効果は 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 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 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 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 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 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 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 型肝炎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 型肝炎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。

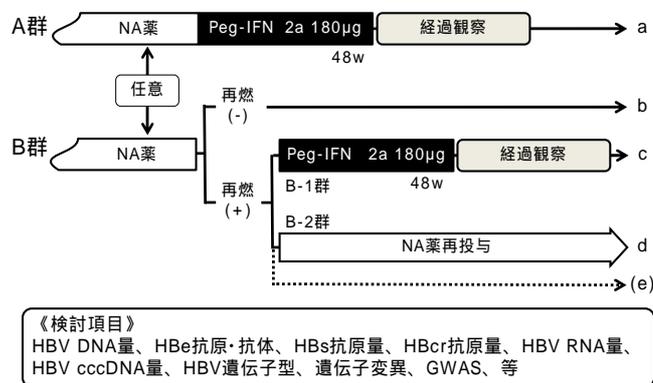


図1 RESET研究のデザイン

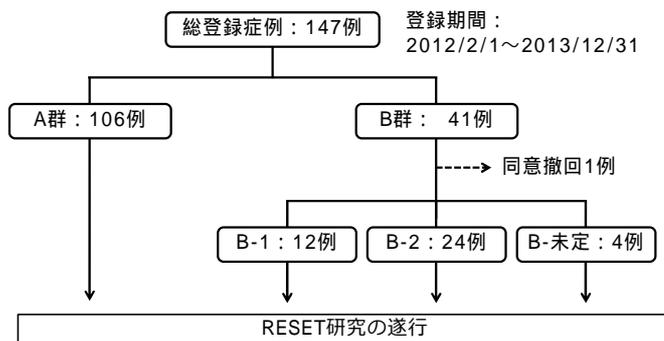


図2 RESET研究の登録状況

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)		

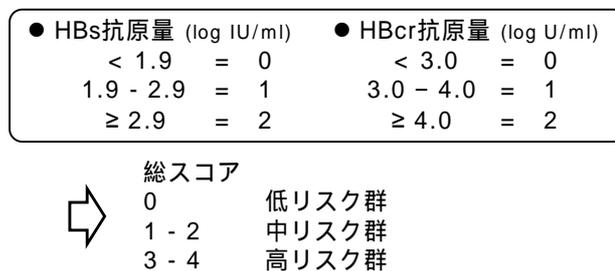


図3 HBs抗原量とHBcr抗原量のスコア化とNA薬中止後の再燃リスク (B型肝炎の核酸アナログ薬治療における治療中止基準の作成と治療中止を目指したインターフェロン治療の有用性に関する研究 H21 - H23)

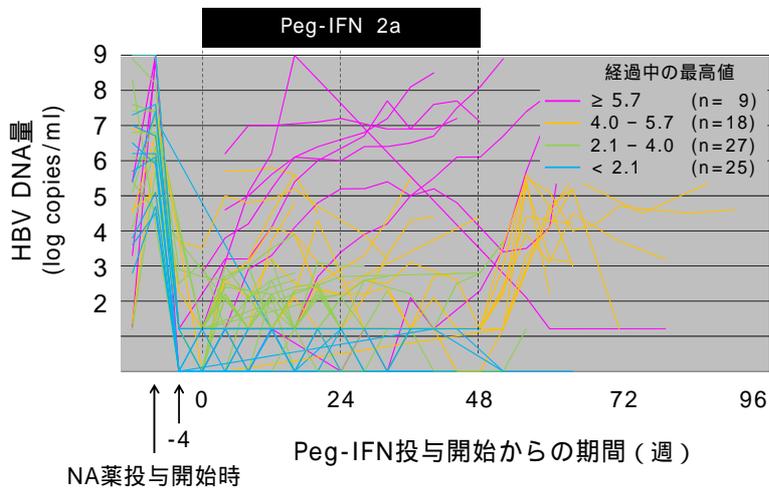


図4 Peg-IFN投与によるHBV DNA量の変化 (RESET研究-A群)

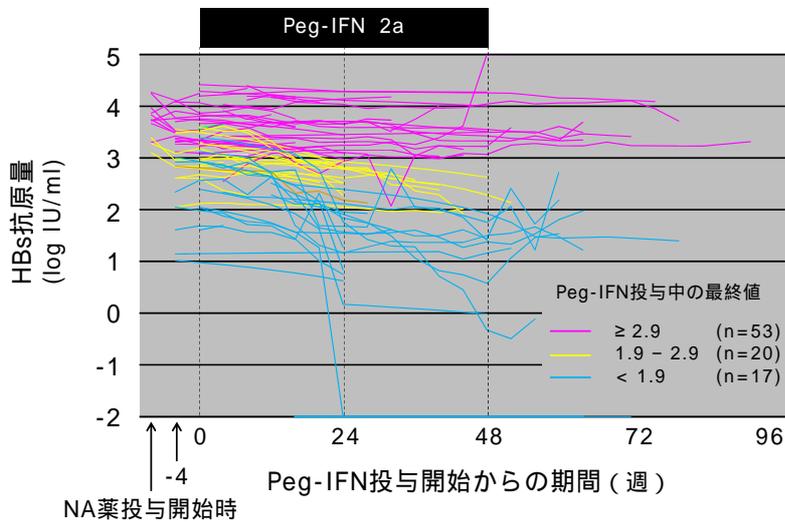


図5 Peg-IFN投与によるHBs抗原量の変化 (RESET研究-A群)

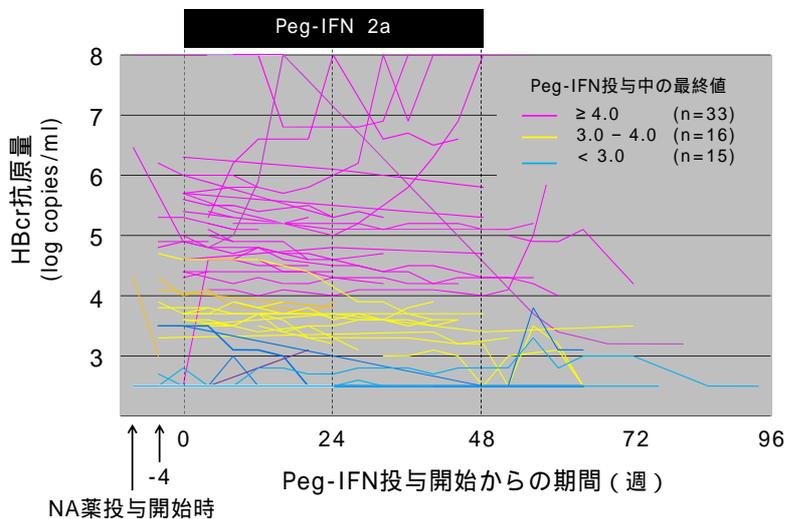


図6 Peg-IFN投与によるHBcRAg量の変化 (RESET研究-A群)

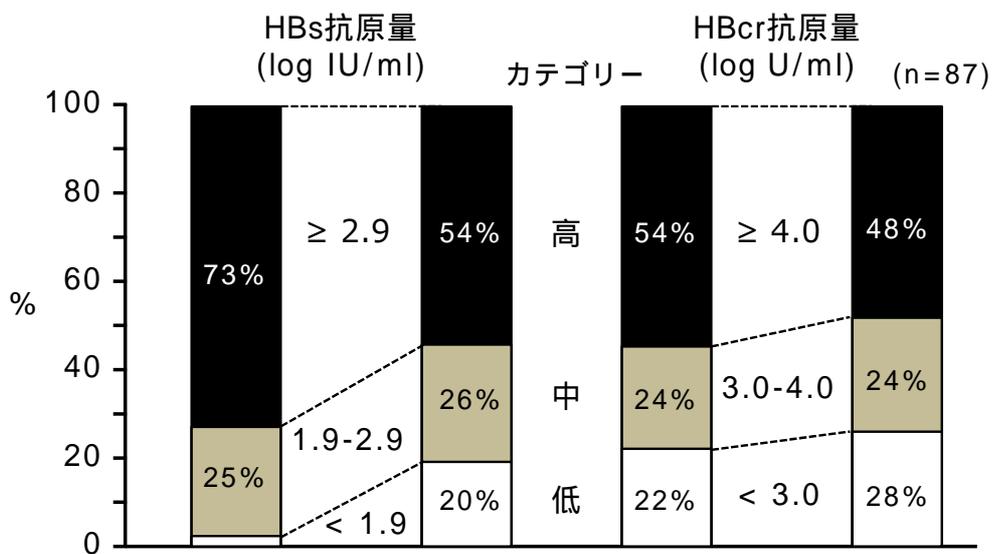


図7 Peg-IFN投与によるHBs抗原量とHBcr抗原量のカテゴリの変化 (RESET研究-A群)

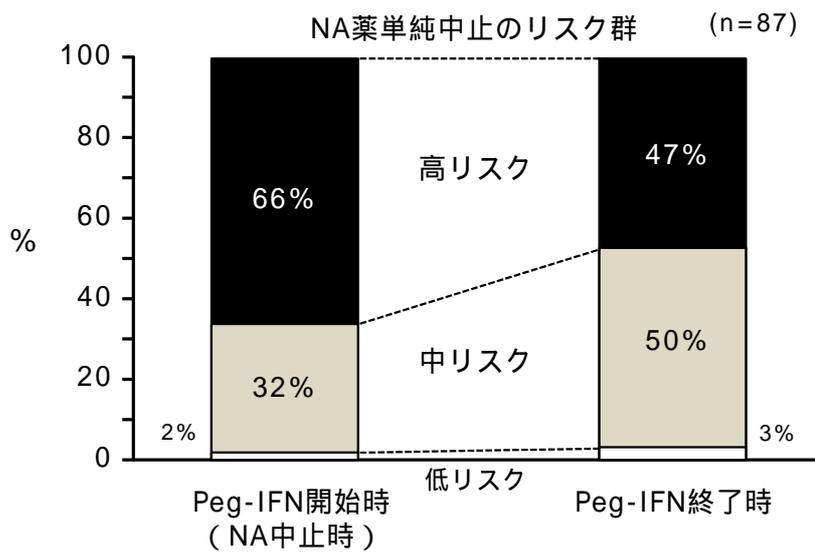


図8 Peg-IFN投与によるNA薬単純中止リスク群の変化 (RESET研究-A群)

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
肝癌既往	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%)	0.546	
	1	7 (39%)		
	2	9 (50%)		
	3	1 (6%)		
F	0	0 (0%)	0.130	
	1	5 (28%)		
	2	4 (22%)		
	3	7 (39%)		
	4	2 (11%)		
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
-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-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-IFN 投与中 max ALT > 50 IU/L	10	1.2 - 83.3	0.034

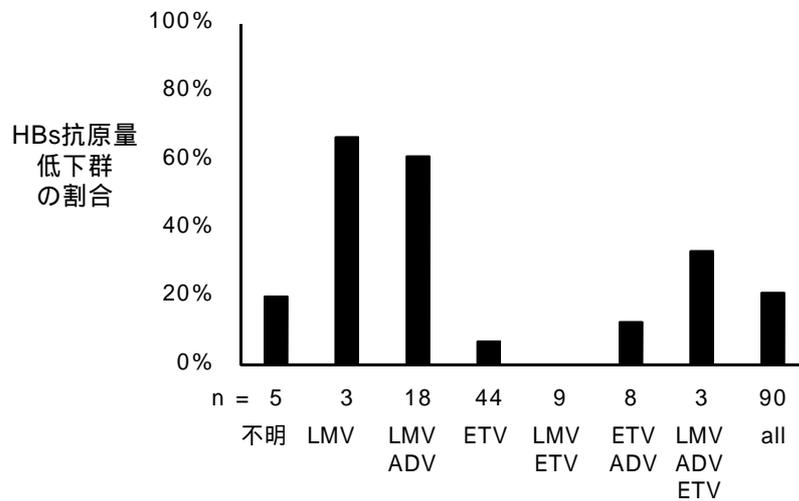


図9 投与したNA薬別にみたHBs抗原量低下群 (PegIFN投与終了時にHBs抗原量が1.9 logIU/ml未満に低下) の割合

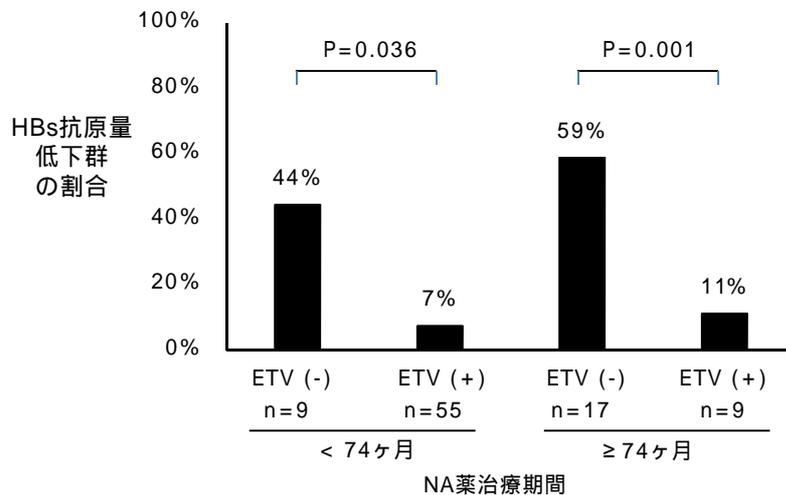


図10 NA薬投与期間およびETV投与の有無別にみたHBs抗原量低下群 (PegIFN投与終了時にHBs抗原量が1.9 logIU/ml未満に低下) の割合

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

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)。

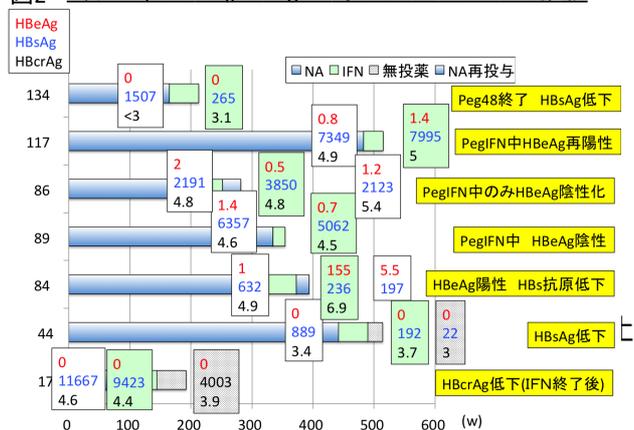
図1 当院のNA中止エントリー例

A 群 7人 (3人 seq) B-1群 7人 (2例IFN施行、2例前年度)

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/<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 型肝炎疾患症例のうち、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 カ月であった。[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 陰性化に關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 ($< 2.6 \text{ LC/ml}$) 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 $< 200 \text{ IU/ml}$ かつ HBcrAg $< 3.0 \text{ logU/ml}$)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 型肝炎疾患症例のうち、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: $149 \pm 219 \text{ IU/L}$ 、HBV-DNA 量(中央値): $6.7 \text{ logcopies/mL(LC/mL)}$ 、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 カ月であった。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 ($< 2.6 \text{ LC/ml}$) 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 ($< 2.6 \text{ LC/mL}$)率は、治療開始 6 カ月/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 カ月/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 陰性化に關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 (300IU/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 ($< 2.6 \text{ LC/ml}$)、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 $< 200 \text{ IU/ml}$ かつ HBcrAg $< 3.0 \text{ logU/ml}$) 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

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

シーケンシャル療法の長期予後解析

研究分担者 鈴木義之 虎の門病院 肝臓科 医長

研究要旨：B型慢性肝疾患に対する治療の第一選択は核酸アナログ製剤であり、現在最も使用されている。これまでの数多くの検討から中止を考慮すべき症例の抽出が行われたが未だ決め手となる方法もまた指標も明らかとなっていない。現時点では厚生労働省の研究班の中止指針に従って中止を試みるのが現在頼るべき方法であると考えられ、昨年度までに積極的に中止していく方法として新たにインターフェロン(IFN)をしばらく併用した後に漸次投薬を中止していく sequential 治療につき報告してきた。今年度も引き続き、当院でも中止を目指した取り組みとして sequential therapy を導入した症例の検討を行い、当初開始した14例全例が drug free となり多くの症例で4年を経過した。その症例の予後と中止しえた症例の特徴をまとめ、治療中止に関わる因子(特に免疫応答に関与する因子)を検討したので報告する。

A. 研究目的

B型慢性肝疾患に対する治療はIFNと核酸アナログ製剤であり、臨床の場ではその状況に応じて選択を行い、時によっては繰り返し治療が行われている。核酸アナログ製剤はB型慢性肝疾患に対する治療を大きく変え、予後の向上に多大な貢献をしたことはだれもが認める事実である。厚生労働省班会議におけるガイドラインでもB型慢性肝疾患患者の治療において核酸アナログ製剤は35歳以上の症例では第一選択の座を維持し続け、現在最も使用されている薬剤といえる。しかしながら長期投与が原則であり、一生涯飲み続ける可能性がある本薬剤を中止する手段や指標となる検査で確立されたものは未だ見出せていない。このため長期化する核酸アナログ治療をいかに安全かつ効率よく、中止するかを目標に班研究がなされ新たな指針が策定されてきた。

そのような中で班員として研究にも参画し、中止を目標としたIFNを用いたSequential治療が試み、その成果を昨年度までに報告してきた。しかしながら、一部に再燃をきたし、再治療を余儀なくされる症例が存在することも事実である。今年度はSequentialを行った症例の長期の経過を検討することで、より安全に中止し得る

症例を見出すことを目標とした。

B. 研究方法

当院では2009年7月より核酸アナログ製剤の中止を目的としてsequential therapyを導入している。既報の如く核酸アナログ投与中の患者に対して1ヶ月間IFNを併用後、核酸アナログを中止し、その後IFN単独投与を5か月継続しすべての薬剤を中止する。本療法導入の条件は核酸アナログ投与中、HBe抗原は陰性で、肝酵素の正常化を維持し、HBV-DNAが感度以下(2.1log copy/ml未満)もしくはHBcrAgが感度以下(3.0log U/ml未満)を達成している患者とした。これまでに14症例に導入し、全例がIFN投与を終了し経過観察期間(drug free)に入っている。本研究班の指針に従い再燃と判断された場合は同意を得た上で速やかに再治療を導入している。また、今年度は保存血清を用いて経過中のサイトカイン、HBs抗原、HBcr抗原を測定し宿主およびウイルス側の両面からその因子について検討した。

(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上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。本研究の遂行にあたっては、必要な申請を行い当院の倫理規定を遵守した。

C. 研究結果

Sequential 治療導入症例の背景は表1に示した。男性12例(86%)、sequential therapy 導入のためのIFN開始時年齢43.5歳(34歳~60歳)、使用していた核酸アナログは

lamivudine(LMV)10例、entecavir(ETV)4例、投与期間は77.5か月(20~123)、genotypeはBが2例でCが12例であった。治療終了後のdrug free 期間は中央値42か月(36~48)である。経過中のALTは治療終了後に一過性に上昇する症例も認められるもののその後は沈静化するケースがほとんどであったが、その後の再燃で再治療を導入した症例が3例認められた。図1および2にIFN終了後からdrug free 45か月までのHBV-DNAとALTの経過を示した。図1に示すようにALTはIFN開始後12か月目をピークにやや変動が認められる症例があるものの、再治療に至らなかった症例では約3年後には100%安定という数字であった。一方DNAは感度以下を維持できている症例は少なく治療域には至らないものの2.1から4.0の範囲内で変動している症例が50%近く認められている。再治療となった3例の要因を解析するため経過中のHBcrAgの経過を示したのが図3である。IFN終了直後は不安定であるが再治療に至らなかった症例は1例を除きすべて3以下まで低下し安定している。一方再治療を余儀なくされた3症例はいずれもHBcrAgが高いままで再治療を導入され2例は依然として高値を維持している。これをまとめると経過中HBcrAgが3.6以下の症例からは1例の再燃があったものの再治療にはいならず、再治療となった3例はHBcrAgが5.9が1例と6.8<が2例であった。また、図4にTNF- α の推移を測定した結果を示す。実線の3例が再治療となった症例であり、点線で示す11例がdrug free

を獲得した11例である。再治療となった症例はIFN終了時よりTNF- α の上昇が認められており宿主の免疫賦活が生じていることが分かる。核酸アナログやIFNによる抗ウイルス療法が途切れた途端に宿主の免疫応答にswitchが入り、HBVに対する攻撃が始まっている可能性が示唆される結果である。以上を踏まえ再治療となった3例の背景要因(表2)を提示する。この3例は核酸アナログ治療期間が31,38,55か月と他の症例に比して短い傾向が認められ、また3例中2例はgenotypeBであった。

	核酸アナログ開始時	IFN開始時
年齢(歳)	36.5(25-57)	43.5(34-60)
性別	男:女 12(85.7%): 2(14.3%)	
AST(IU/L)	97.5(29-1356)	19.5(15-26)
ALT(IU/L)	192(32-2412)	16.5(12-26)
HBs抗原陽性	3例(21.4%)	0例(0%)
HBV DNA(log copy/ml)	7.4(3.0-8.1)	2.1>(検出せず-2.9)
HBV genotype	B; 2例(14.3%), C; 12例(85.7%)	
核酸アナログの種類	Lamivudine: 10例	Entecavir: 4例

表1. IFN sequential療法 14症例の背景

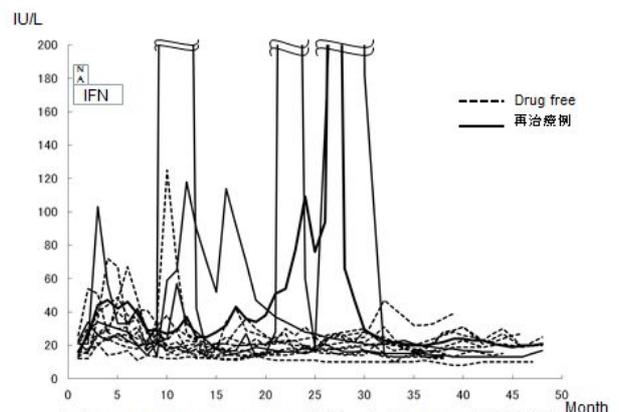


図1. IFN sequential 療法中のALTの経過

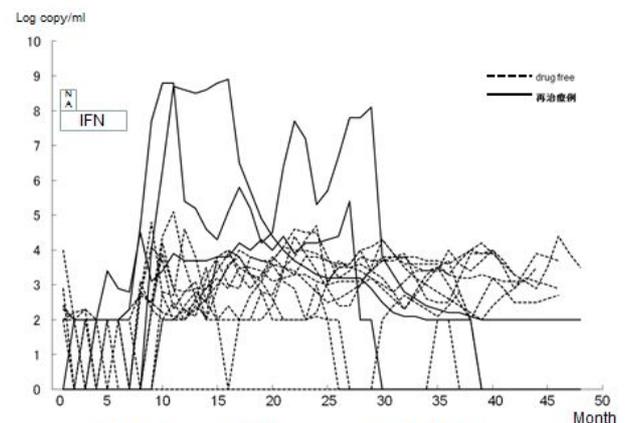


図2. IFN sequential 療法中のHBV-DNAの推移

表2.再治療に至った3例の要因

	年齢	性	NA	前治療	NA投与期間	NA開始時ALT	Drug free後のALTのピーク	休薬期間
1	37	M	ETV	CS	31M	394	1332	20M
2	59	F	ETV	無	38M	157	118	8M
3	60	M	LMV	サレシ	55M	105	528	19M
11例の中央値	43 (34~60)	M 10 F 1	L 9 E 2	IFN 9 無 2	94M (20~123)	194 (32~2412)	28 (14~125)	27M (21~33)

また、本療法導入後に HBs 抗原の消失が認められ、治療終了後も HBs 抗体の titer は上昇している一例を経験した。症例は 53 歳の男性、lamivudine 開始時の肝生検では F3/A2、AST/ALT は 191/254 と高値を示し、HBV-DNA も 7.5log copy/ml と高ウイルス量を示していた。投与 123 か月目に sequential therapy を開始したが、開始時の HBV-DNA は 2.9log copy/ml、HBcrAg は 3.0log U/ml 未満であり、12 週目に HBs 抗原が消失し、16 週目には HBs 抗体が出現した。

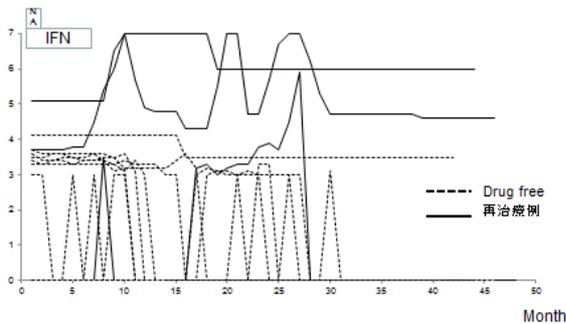


図3.IFN sequential 療法中のHBcrAgの推移

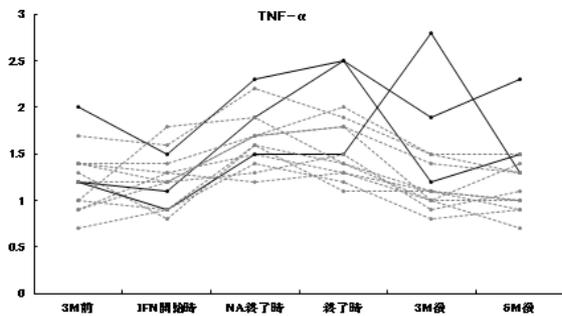


図4.IFN sequential 療法中のTNF-αの変化

D. 考察

従来の IFN 治療にとって代わるべく治療薬として登場した LMV は確かに画期的な治療薬であ

ったが、耐性ウイルスの出現率が高く現在では第一選択の座を ETV にゆずり、実臨床ではあまり処方されなくなっているのが現状である。我々は、かつて LMV 投与において経年的に肝生検を行いその組織学的改善度につき報告してきた。その中でも述べたように、抗ウイルス剤投与により肝炎の鎮静化を持続することができれば、肝臓の線維化についても改善が認められることを示した。

また耐性ウイルスについての問題であるが、長期化する核酸アナログ投与においては特に第一世代の LMV ではその頻度は高く年とともに増加している。このような耐性ウイルスの出現を来さないためにも核酸アナログを中止する方法が期待される場所である。また、現在の第一選択である ETV も耐性ウイルスの出現率こそ低く抑えられてはいるが、HBs 抗原の陰性化率は低く、今後さらに治療が長期化していくことが懸念される。長期化すれば耐性ウイルスの問題だけではなく腎障害などの副反応も必ずや増えていくと考えられ、そのためにも本薬剤を中止する基準は是非とも必要と考える。これまでに我々は、過去に中止した症例の予後の検討を行い報告してきた。その結果、HBV-DNA の陰性化が得られても核酸アナログ中止により肝炎が再燃し再投与を行わざるを得ない症例が多く存在することが明らかとなった。そのため積極的な試みとして当科では、sequential therapy を開始しているが、治療終了後 4 年の経過では抗ウイルス効果の持続は十分とはいえないものの ALT 正常化率は高く、特に IFN 開始時の HBcrAg が低値であり genotypeB 以外の症例においては良好な結果が得られ、有用な治療法であることが示された。特に核酸アナログ長期投与症例においては良好な結果が得られ、drug free を獲得するための有用な治療法であることが示された。

また耐性ウイルスについての問題であるが、Tenney らは LMV 耐性ウイルス出現例に対する ETV 投与中に ETV 耐性ウイルスによる virologic breakthrough を起こした 2 症例を報告し解析している。当院でも鈴木らが、パターンは違うものの同じ場所に変異をきたし breakthrough

hepatitis を起こした症例から、新たな ETV 耐性ウイルスを検出し報告している。今後は LMV 耐性ウイルスに対する ETV 投与といったケースは増加することはないと思われるが、長期化する ETV 投与において更なる問題が出ないとは限らず見逃すことのできない点と思われる。

また、このような耐性ウイルスの出現を来さないためにも核酸アナログを中止する方法が期待される場所である。単純に中止した場合は核酸アナログ中止により肝炎が再燃し再投与を行わざるを得ない症例が多く存在することが明らかとなっており、指標となる検査についても、感度の点からも今後更なる検討が必要であると考えられる。

以上のような観点から当科で取り組んでいる drug free を目指した積極的な試みである sequential therapy の成績を検討してきた。療終了後 4 年の経過で、症例数が少ないもののサイトカインや HBs 抗原も一つの指標になることが示され、アナログ投与長期の症例、IFN 開始時の HBcrAg が低値の症例において良好な結果が得られ、有用な治療法であることが示された。また、経過中の TNF- α の上昇により宿主免疫が賦活されている症例においては再投与をせざるをえなかった状況に陥っており、この 3 例につきさらに検討し、より有効な選択基準の策定と治療法を模索していく予定である。

E. 結論

当科で取り組んでいる drug free を目指した積極的な試みである sequential therapy の成績をまとめると、治療終了後 4 年の経過では抗ウイルス効果の持続は十分とはいえないものの ALT 正常化率は高く、特に核酸アナログ投与長期の症例、IFN 開始時の HBcrAg が低値の症例において良好な結果が得られ、有用な治療法であることが示された。また、経過中の TNF- α の上昇により宿主免疫が賦活されている症例においては再投与をせざるをえなかった状況に陥っており、この 3 例につきさらに検討しより有効な選択基準の策定と治療法を模索していく予定である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki F et al : The efficacy of switching to entecavir monotherapy in Japanese lamivudine-pretreated patients. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2010;25(5):892-8
- 2) Hosaka T, et al.: HBcrAg is a predictor of post-treatment recurrence of hepatocellular carcinoma during antiviral therapy. Liver Int. 2010;30(10):1461-70.
- 3) Hashimoto Y, et al : Clinical and virological effects of long-term (over 5 years) lamivudine therapy Journal of Medical Virology 2010; 82(4): 684-91

2. 学会発表

- 1) パネルディスカッション 6: ウイルス性肝疾患治療ガイドラインの妥当性 第 96 会日本消化器病学会総会 新潟 2010.4.23
- 2) B 型慢性肝疾患に対する核酸アナログ治療中止の検討 第 46 回日本肝臓学会総会 山形 2010.5.27
- 3) 核酸アナログ治療中止を目指した sequential therapy の有用性 第 47 回日本肝臓学会総会 東京 2011.6.2
- 4) 核酸アナログ治療における drug free 獲得因子の検討 第 48 回日本肝臓学会総会 金沢 2012.6.8

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

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

研究分担者 八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター長

研究協力者 長岡進矢 国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター室長

研究要旨：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治療効果、および効果予測因子の検討をおこなった。当院にてペグインターフェロン 2a 治療を受けた B 型慢性肝炎症例 14 例。方法 1. 治療効果の検討をおこなった。2. 治療終了 24 週時点で responder、non-responder に分類し背景因子の比較をおこなった。結果 1. 治療終了後 24 週での responder は 4/14 例(29%)であった。治療終了後 144 週以上経過観察可能であった 10 例において、48 週以降は 5/10 例(50%)が responder の判定となり以後状態継続、4 例が核酸アナログ投与へ移行した。2. 治療終了後 24 週時点での responder 4 例と non-responder 10 例の治療前臨床背景の比較では、年齢(26.8 vs 36.6 歳, $p=0.01$)で有意差を認め、治療前 IP-10 値(751 vs 327 pg/ml, $p=0.05$)が有意な傾向がみられた。B 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン治療により 50%の症例が drug free となった。B 型慢性肝炎に対するペグインターフェロンの治療効果予測に治療前 IP-10 値の測定が有用である可能性がある。

A. 研究目的

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治療効果、および効果予測因子の検討をおこなった。

(倫理面への配慮)

患者に対しては血液検体の保存、研究使用に関する説明をおこない、紙面にて同意を取得した。

B. 研究方法

対象は当院にてペグインターフェロン 2a 治療を受けた B 型慢性肝炎症例 14 例。1. 治療効果の検討をおこなった。効果判定基準は治療前 HBe 抗原陽性例：治療終了 24 週以降で ALT 値 <40 IU/L、HBe セロコンバージョン(SC)、HBV-DNA 量 <5.0 logcopies/ml。治療前 HBe 抗原陰性例：ALT 値 <40 IU/L、HBV-DNA 量 <4.3 logcopies/ml を満たした症例を Responder と定義した。2. 治療終了 24 週時点で responder、non-responder に分類し背景因子の比較をおこなった。

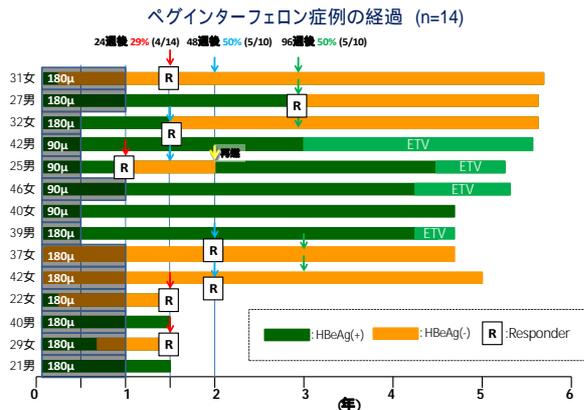
C. 結果

対象の臨床背景を表に示す(表 1)。

ペグインターフェロン治療例の臨床背景 (n=14)

年齢(歳)	35 (21-46)
男性(%)	6 (43%)
HBeAg陽性(%)	12 (86%)
HBV genotype C/B	13/1
治療前ALT値, IU/L	96 (27-235)
HBV-DNA量, LC/ml	7.6 (5.4-9.0)
HBSAg量, LogIU/ml	4.0 (2.8-4.9)
治療前IP-10値, pg/ml	375 (130-1040)
Pre-C変異(%)	6 (43%)
Core-P変異(%)	11 (79%)
F stage(F1/F2/F3)	(7例/5例/2例)

1. 治療終了後 24 週での responder は 4/14 例 (29%)であった。治療終了後 144 週(3 年)以上経過観察可能であった 10 例では、48 週後 5/10 例 (50%)が responder の判定、96 週以降も 5/10 例 (50%)であり、4 例が核酸アナログ投与へ移行した(図)。



2. 治療終了後 24 週時点での responder 4 例と non-responder 10 例の治療前臨床背景の比較では、年齢(26.8 vs 36.6 歳, $p=0.01$)が有意差を認め、治療前 IP-10 値(751 vs 327 pg/ml, $p=0.05$)が有意な傾向がみられた(表 2)。

ペグインターフェロン終了後24週の治療反応性での背景比較 (n=14)

	Responder(n=4)	Non-Responder(n=10)	P値
年齢(歳)	26.8 (22-31)	36.6 (21-46)	0.01
男性 (%)	1 (25)	5 (50)	0.58
HBeAg力価, S/CO	387 (3.32-901)	882 (40.0-2166)	0.24
治療前ALT値, IU/L	160 (86-218)	95 (27-235)	0.10
HBV-DNA量, LC/mL	6.6 (3.3-7.8)	7.7 (5.6-9.0)	0.18
HBsAg量, LogIU/mL	3.6 (3.2-4.0)	4.0 (2.8-4.9)	0.26
治療前IP-10値, pg/mL	751 (452-1040)	327 (129-677)	0.05
Pre-C変異(%)	1 (25)	5 (50)	0.58
Core-P変異(%)	4 (100)	7 (70)	0.47

D. 考察

治療終了 24 週時点では response rate 約 30%と、これまで報告されていた効果とほぼ同等であった。治療前 HBeAg 陰性の症例は治療後 24 週から 48 週の間には HBV-DNA 量が低下し、responder の判定

となった。96 週以降は効果が持続している。Responder と non-responder の間の背景因子の比較では、若年であることで有意差がみられ、治療前 IP-10 値が高値であることも有意な傾向がみられた。インターフェロンへの反応良好の予測因子として以前から、若年、ALT 高値、HBV-DNA 量低値 があげられている。IP-10 に関しては、C 型肝炎のインターフェロン治療では治療前低値が反応良好の因子として報告されているが¹⁾、B 型肝炎のペグインターフェロン治療に関しては C 型とは逆に高値である方が反応良好であるとの報告がある²⁾。IP-10 は宿主の免疫反応が活発であることを反映するマーカーと考えられており、今後、より多数例での検討が望まれる。

E. 結論

1. B 型肝炎に対するペグインターフェロン治療により 50%の症例が drug free となった。
2. B 型肝炎に対するペグインターフェロンの治療効果予測に治療前 IP-10 値の測定が有用である可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Bae SK, Yatsushashi H, Takahara I, Tamada Y, Hashimoto S, Motoyoshi Y, Ozawa E, Nagaoka S, Yanagi K, Abiru S, Komori A, Ishibashi H. Sequential occurrence of acute hepatitis B among members of a high school Sumo wrestling club. Hepatol Res. 2013 Sep 6.
- 2) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsushashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Uemura 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, Mizokami M; Japanese AHB Study Group. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014 Jan 59(1):89-97.

3) 長岡進矢, 八橋 弘. インターフェロン治療, -III. 治療編, 2. 抗ウイルス薬による治療-. HEPATOLOGY PRACTICE 1 B型肝炎の診療を極める -基本から最前線まで. 田中榮司他, 文光堂, 東京, pp.97-103, 2013.10.11, 216 頁

4) 八橋 弘. .HBV とその感染症の基礎, 4. HBV 感染の診断法. de novo B型肝炎 - HBV 再活性化予防のための基礎知識 -, 持田智編集, 医薬ジャーナル社, 大阪, pp.55-67, 2013.9.20, 175 頁

5) 八橋 弘. PegIFN と HBs 抗原量. 別冊・医学のあゆみ B型肝炎 - 最新治療コンセンサス, 溝上雅史編集, 医歯薬出版株式会社, 東京, pp.63-68, 2013.7.15, 133 頁

6) 八橋 弘. 肝疾患 急性肝炎 (B 型). 治療過程で一目でわかる 消化器薬物療法 STEP 1・2・3. 一瀬雅夫, 岡 政志, 持田 智編集, メジカルビュー社, 東京, pp.154-158, 2013.4.1, 303 頁

7) 八橋 弘. ウイルス肝炎と肝癌の撲滅を目指した実地診療のすすめかた, B型肝炎の自然経過と治療の進歩 - 実地医家はどのように対処すればよいのか - . *Medical Practice* 30(2):186-193, 2013.2.1.

2. 学会発表
なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

<参考文献>

1. Lagging M, Romero AI, Westin J, et al. IP-10 predicts viral response and therapeutic outcome in difficult-to-treat patients with HCV genotype 1 infection. *Hepatology* 2006;44:1617-25.
2. Sonneveld MJ, Arends P, Boonstra A, et al. Serum levels of interferon-gamma-inducible protein 10 and response to peginterferon therapy in HBeAg-positive chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2013;58:898-903.

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

B 型慢性肝炎における核酸アナログ中止時の PEG-IFN 2a 投与に関する有効性の検討

研究分担者 西口修平 兵庫医科大学 内科学 肝胆膵科 教授
研究協力者 齋藤正紀 兵庫医科大学 内科学 肝胆膵科 講師

研究要旨：【目的】B 型慢性肝炎の治療は核酸アナログ製剤による HBV DNA の持続的低値と肝機能の安定化であったが、近年 HBs 抗原定量と HB コア関連抗原測定法の進歩により核酸アナログ製剤の中止と HBs 抗原の陰性化を目指す治療指針へと変化し、厚生労働省班研究により核酸アナログ製剤の中止基準が示された。しかし中止基準を満たす症例は一部に限られており、HBs 抗原の陰性化につながる治療は未だ確立されていない。田中班の共同研究として Drug free を目指した核酸アナログ製剤中止後の PEG-IFN 2a 療法の前向き研究が企画され施行されているが、今回、当施設登録症例においてその有用性を検討した。【方法】当施設の核酸アナログ長期投与患者中、同意が得られた 51 症例に対して核酸アナログ製剤を中止し PEG-IFN 2a 180 µg 週 1 回投与に切り替えた。主要評価項目は治療終了後の臨床的安定化（Drug free）で、副次評価項目は HBs 抗原定量と HB コア関連抗原量の推移である。【成績】登録 51 症例の PEG-IFN 2a 投与前の背景は HBV DNA は中央値 2.1 log copy/ml（最小-最大；0-4.8）、HBs 抗原量 1613.3 IU/ml（40.0-22031.0）、HB コア関連抗原 4.9 log IU/ml（3.0-6.8）で、中止基準の再燃リスク評価は中リスク群 11 例、高リスク群 40 例であった。核酸アナログ投与中、HB コア関連抗原と HBs 抗原定量はともに緩徐な低下を認めるのみであったが、PEG-IFN 2a 切替え後 HBs 抗原定量は急速に低下し、年間の低下率は 1.04 log IU/ml を示し、1 症例は HBs 抗原定量が陰性化した。PEG-IFN 2a 投与終了症例は 26 症例であり、24 週の Drug free 達成率は 46.7%、36 週は 44.4%であった。また、PEG-IFN 2a 投与終了後に HBs 抗原定量が陰性化した症例を 1 例認めた。

【考案】自然経過や核酸アナログ製剤投与時、HBs 抗原の低下率は年間 0.1 log IU/ml 未満であるが、PEG-IFN 2a は HBs 抗原量を減少させるより有効な手段となると考えられ、HBs 抗原の消失を目指す治療の可能性が示唆された。また核酸アナログ中止基準による評価は、核酸アナログ中止時点で Drug free 達成予測率は 18.8%に過ぎなかったが、PEG-IFN 2a 投与終了時には 36.2%にまで向上した。PEG-IFN 2a は Drug free を達成する非常に有効な手段となることが示唆され、また同時に HBs 抗原と HB コア関連抗原を指標とした核酸アナログ製剤中止基準は治療効果の予測指標となると考えられた。

A. 研究目的

B 型慢性肝炎に対する抗ウイルス治療の目的は、B 型肝炎ウイルス（HBV DNA）の持続的抑制を図ることにより肝炎の鎮静化を図り、肝不全や肝発癌を予防することにある。抗ウイルス薬として、わが国ではインターフェロンと核酸アナログ製剤（ラミブジン、アデホビル、エンテカビル）が認可されている。インターフェロンは抗ウイルス作用以外に免疫調整作用を併せ持

ち、効果が得られた場合は投与終了後もその効果が持続することが多いが有効率は低い。一方、核酸アナログ製剤は多くの症例で投与期間中 HBV DNA の低下と ALT 値の正常化をもたらすことが可能で、肝炎進展抑制や発癌抑制を目的として、核酸アナログ製剤による治療が中心であり、インターフェロン治療は 35 歳未満の限定された若年者に使用されるにとどまっている。しかし核酸アナログ製剤による治療は、投与中止

によって多くは再燃し、長期投与により薬剤耐性変異の出現が問題となる。

近年HBs抗原定量とHBコア関連抗原の測定法の進歩により、B型慢性肝炎に対する抗ウイルス治療の目的は核酸アナログ製剤の中止とHBs抗原の陰性化を目指す治療指針へと変化し、一昨年、厚生労働省田中班の班研究により核酸アナログ製剤の中止基準が示された。核酸アナログ製剤投与開始後2年以上経過し、血中HBeAg陰性かつ血中HBV DNA量が陰性(3.0 log copies/ml未満)であることを中止の必要条件として、HBsAg定量とHBコア関連抗原のスコアリングにより、合計スコアから3群に分類した。

群(スコア0): 中止成功率は90%で中止可能群。

群(スコア1 or 2): 中止成功率は約50%で中止考慮群。

群(スコア3 or 4): 中止成功率は約10%で治療の継続推奨群。

しかし当施設の6ヶ月以上の核酸アナログ製剤治療を行ったB型慢性肝炎患者274名を対象とした検討で、投与期間中のHBs抗原定量とHBコア関連抗原は、ともに低下傾向を示したが非常に緩やかであり、中止基準1群に至る症例は10%と僅かで、群を含めても約50%程度であった。またHBs抗原は長期の自然経過において年率3%程度で陰性化することが報告されているが、HBs抗原の陰性化につながる積極的な治療は未だ確立されていない。

田中班の多施設共同研究として、B型慢性肝炎のDrug freeを目指した核酸アナログ製剤中止時に、PEG-IFN 2a療法を行うことの有効性と安全性について前向き研究(RESET STUDY)が企画された。今回、当施設では2年以上の核酸アナログ製剤治療からPEG-IFN 2a療法への切り替え群(A群)に関して、当施設登録症例についてPEG-IFN 2a療法の有用性を検討した。

B. 研究方法

B型慢性活動性肝炎の核酸アナログ治療症例で、同薬の中止を考慮している患者のうち、以

下の基準を満たし、かつ除外基準に該当しないものを対象として、核酸アナログ中止条件の低リスク群、中リスク群、高リスク群を評価した上でエントリーを行った。

1. 対象

適格基準

- 1) 核酸アナログ薬投与開始後2年以上経過している。
- 2) 血中HBe抗原陰性かつ血中HBV DNA量が3.0 log copies/ml未満(リアルタイムPCR法でHBV DNA陰性が望ましい)である。
- 3) 肝線維化が軽度で肝予備能が良好であり、肝炎が再燃した場合でも重症化しにくい症例である。(F2まで)
- 4) 中止による肝炎再燃の危険性を患者またはその家族が十分理解しており、さらに、中止後の経過観察が可能である。
- 5) 本試験の参加にあたり、十分な説明を受けた後、十分な理解の上、文書による患者本人の自由意思による同意が得られた患者である。

核酸アナログの中止条件

核酸アナログ中止時に測定したHBs抗原定量とHBコア関連抗原をスコア化し、合計スコアが0点を低リスク群、1~2点を中リスク群、3~4点を高リスク群として分類した。

除外基準

重篤な肝障害(総ビリルビン 2.0mg/dL、プロトロンビン時間<60%、アルブミン<3.6g/dLのうち、2項目以上に抵触する)患者

自己免疫性肝炎、アルコール性肝炎等その他の慢性肝疾患患者、肝硬変または肝不全を伴う患者

重篤な合併症を有する患者、特に骨髄機能、腎機能、心機能、呼吸機能が十分に保たれていない患者

妊娠している可能性のある女性、妊婦、授乳婦。

間質性肺炎の既往歴のある患者

ペグインターフェロン-2aまたは他のイ

インターフェロン製剤に対し過敏症の既往歴のある患者

重度のうつ病、自殺念慮または自殺企図等の重度の精神病状態にある患者又はその既往歴のある患者

その他、試験担当医師が本試験への参加が不適当と判断した患者

HBe 抗原/HBe 抗体

HBV genotype

PC/CP 変異

IL-28B SNP

IP10

臨床的背景因子、その他

2. 研究デザイン

田中班の多施設共同研究は、A 群と B 群が存在するが、本報告は A 群のみを対象とした（図 1）。同意が得られた核酸アナログ長期投与患者に対して、核酸アナログ製剤を中止し PEG-IFN 2a 180 µg 週 1 回 48 週間投与に切り替え、投与終了後 Drug free の観察期間は 48 週間である。期間中 HBV DNA 量が 5.8 log copies/ml 以上もしくは ALT が 80 IU/L 以上に上昇する場合は再燃と定義し、核酸アナログによる治療を再開した。

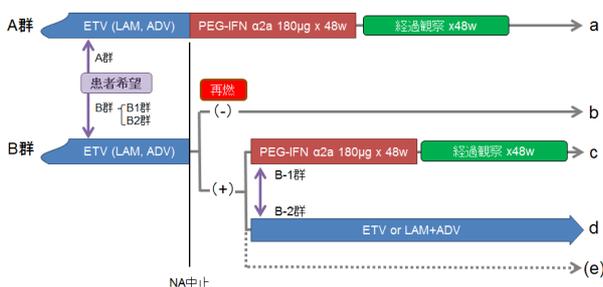


図1 研究デザイン：RESET STUDY(田中班)

3. 評価項目と研究期間

主要評価項目：治療終了後の臨床的安定化率 (Drug free)

著効：一過性の HBV DNA や ALT 値の上昇にかかわらず、治療終了後 24 週または 48 週で、HBV DNA<4.0log copies/ml かつ ALT< 30 IU/L となり臨床的に安定化する症例

有効：一過性の HBV DNA や ALT 値の上昇にかかわらず、治療終了後 48 週で核酸アナログ薬の再投与を必要としない症例。

副次的評価項目：臨床的安定化と関連する因子

HBs 抗原量

HBcr 抗原量

研究予定期間

症例集積期間：2012 年 3 月～2015 年 4 月

症例追跡期間：2012 年 3 月～2016 年 11 月

(倫理面への配慮)

本試験は GCP を準用するものとする。また、ヘルシンキ宣言(2000 年改定)を遵守して実施する。疾患の特殊性と将来の探索的研究を踏まえて連結可能匿名化・データ分割管理とし、個人同定情報(対応表)は各共同研究施設の研究分担者が保管する。

本研究の遂行にあたっては、兵庫医科大学倫理審査委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

平成 25 年 12 月 11 日時点で田中班の多施設共同研究の登録症例は 145 症例であり、その中で当院登録症例は 58 症例 (A 群 51 症例、B 群 7 症例) である。今回は当院登録症例の A 群 51 症例の核酸アナログ中止時の PEG-IFN 2a 投与の有効性について検討した。現在 PEG-IFN 2a 投与 48 週投与終了症例は 26 症例、最長観察期間は PEG-IFN 2a 投与終了後 36 週であり、今回の報告では PEG-IFN 2a 投与後 24 週目と 36 週目を評価時期とした(図 2)。

兵庫医科大学登録数 58 症例：A 群 51 症例 B 群 7 症例

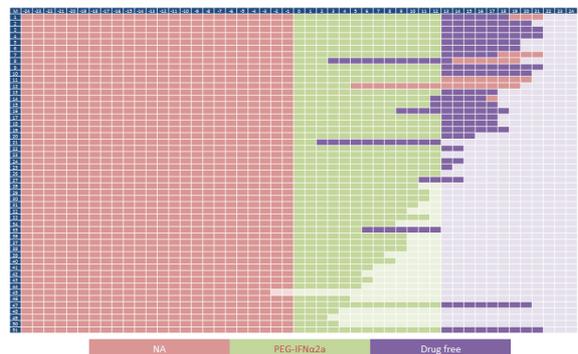


図2 進捗状況(2013/12/11)

安全性評価として PEG-IFN 2a 投与 51 症例中 8 症例で投与中止となった。重篤な副作用は 2 症例で肝炎の急性増悪が 1 症例と脳出血が 1 症例あった。肝炎の急性増悪は肝機能の著明な増悪と PT の低下を認めたと、ETV の再投与により回復した。脳出血症例は生命の危機に及ぶ程ではなかったが軽度の麻痺が残り、現在は Drug free として観察している。他には HCC の発症を認め加療目的で ETV が再開され、他は必ずしも PEG-IFN 2a の中断を必要とするものではなかったが、患者自身の希望により中止となり、Drug free となった。(表 1)

登録番号	IFN投与期間(W)	中止理由	対応
10	8W	てんかん発作	Drug free
15	40W	HCC	NA (ETV) 再開
16	16W	急性増悪	NA (ETV) 再開
26	36W	慢性甲状腺炎増悪	Drug free
27	28W	脳出血	Drug free
42	4W	抑うつ状態	Drug free
56	40W	眼底出血	Drug free
80	16W	眼底出血	Drug free

表1 PEG-IFNα2a 投与中止症例(8症例)

PEG-IFN 2a 投与直前の登録時の背景は、年齢 43 歳(中央値;最大-最小 26-74)、核酸アナログ投与期間 4.29 年(1.13- 11.3)、HBe 抗原(陽性/陰性) 20/31、病理組織(F0/F1/F2/F3) 1/25/15/8、HBV DNA(陰性/<2.1/>=2.1) 24/16/11、HBs 抗原量 1613.3 IU/ml(40.0-22031.0)、HB コア関連抗原 4.9 logIU/ml(3.0-6.8)で、中止基準の再燃リスク評価は中リスク群 11 例、高リスク群 40 例で低リスク群は存在しなかった(表 1)。

	実数・中央値(最小-最大)
年齢	43 (26-74)
性別(M/F)	36 / 15
NA投与期間(Y)	4.29 (1.13-11.3)
Genotype(A/B/C)	4 / 1 / 46
HBeAg(+/-)	20 / 31
組織(F0/F1/F2/F3)	1 / 25 / 15 / 8
HBV DNA(ケンジュセズ/<2.1/>=2.1)	24 / 16 / 11 (2.1-4.8)
HBsAg (IU/ml)	1613.3 (40.0-22031.0)
Score (0/1/2)	5 / 11 / 35
HBcrAg (logIU/ml)	4.9 (<3.0->=6.8)
Score (0/1/2)	2 / 13 / 36
リスク(低/中/高)	0 / 11 / 40

表2 登録時背景因子(n=51)

まず、最初に PEG-IFN 2a 投与期間中、および投与終了後のトランスアミナーゼと HBV DNA

の推移と評価を行った。2 年以上の長期にわたる核酸アナログ製剤の投与は多くの症例で HBV DNA を陰性、もしくは 2.1 log copies/ml 未満に減量させ、それに伴い ALT 値も 30 U/l 未満に収束した。一部の収束していない症例では HBe 抗原陽性症例が多かった。

PEG-IFN 2a 投与開始後、多くの症例で HBV DNA は上昇し、それに追隨して ALT の上昇を認めたと、HBV DNA が PEG-IFN 2a 投与 24 週以内の一過性の上昇だけで、24 週以降 48 週にかけて再び収束する群と、収束を認めず PEG-IFN 2a 投与終了時まで HBV DNA の高値が持続する群が観察された。しかし ALT 値は一部を除き PEG-IFN 2a 投与中は再燃基準以内であった。

PEG-IFN 2a 投与終了後 Drug free としての観察期間中、再び HBV DNA と ALT は上昇した。いずれも PEG-IFN 2a 投与中と比べ上昇率は高く、ALT 値が再燃基準を超えて核酸アナログ再投与が必要となった症例が 4 症例存在した(図 3A、B)。

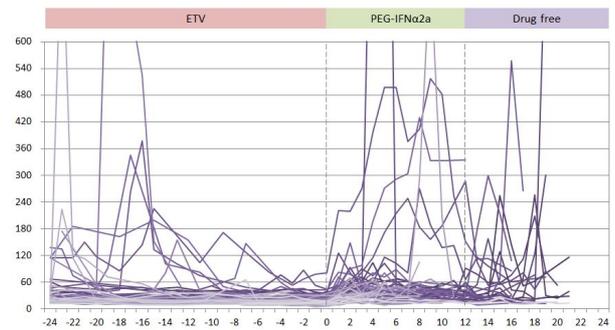


図3A ALTの推移

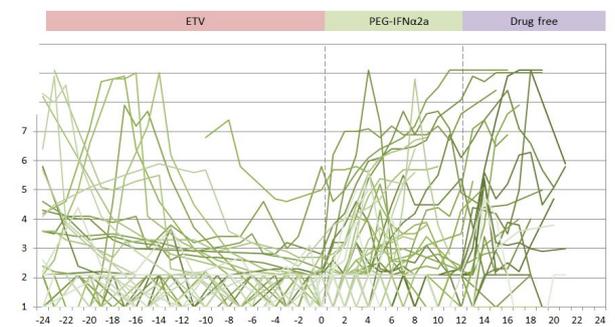


図3B HBV DNAの推移

PEG-IFN 2a 投与期間中の ALT と HBV DNA の評価は、HBV DNA は投与前と投与終了時では明らかな上昇があり有意差が認められたが、ALT

値では有意差は認められなかった（図4）。

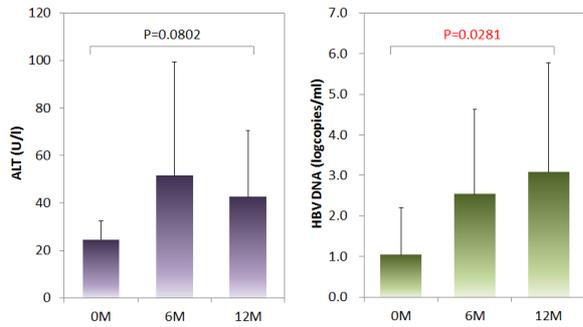


図4 PEG-IFN α 2a投与期間中のALTとHBV DNAの評価

次いで、HB コア関連抗原と HBs 抗原定量による PEG-IFN 2a 投与の有用性の評価を行った。核酸アナログ製剤投与中、HB コア関連抗原は緩やかな低下を認めたが、PEG-IFN 2a 投与開始後もその低下率は大きな変化は見られなかった。対して HBs 抗原定量値は核酸アナログ製剤投与中僅かな低下しか認めなかったが PEG-IFN 2a 投与開始後多くの症例で著明な低下を示した。約半数で 1 log IU/ml 以上の低下を認め、その中の 1 症例は HBs 抗原が陰性化した。

PEG-IFN 2a 投与中は HBV DNA や ALT が一過性に上昇しても HB コア関連抗原や HBs 抗原定量がその影響を受けることは少なかったが、PEG-IFN 2a 投与終了後は、HBV DNA が高値持続し ALT 値が再燃基準をこえるような症例では HB コア関連抗原も HBs 抗原定量どちらも再上昇をきたした。一方で HBV DNA と ALT 値が再燃しなかった症例では HB コア関連抗原と HBs 抗原定量は安定化しており、PEG-IFN 2a 投与終了後に HBs 抗原定量が陰性化した症例が 1 症例出現した（図 3C、D）。

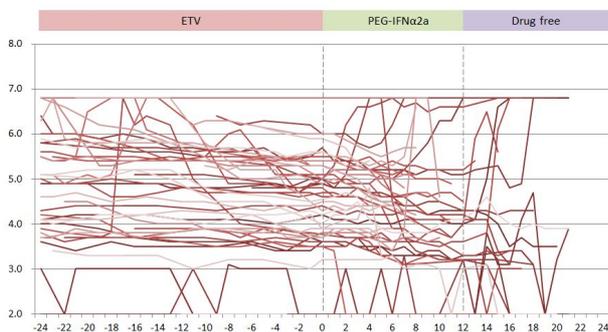


図3C HBcrAgの推移

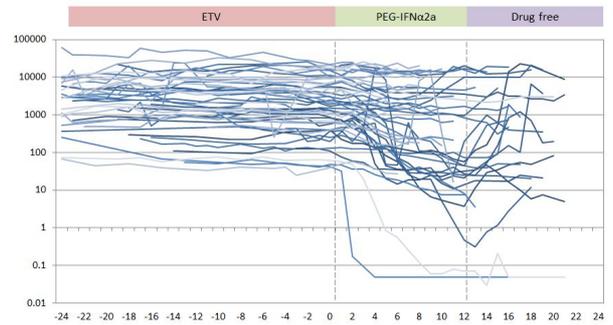


図3D HBsAgの推移

さらに治療期別に HB コア関連抗原と HBs 抗原定量を評価したが、HBs 抗原定量は PEG-IFN 2a 投与期間中に有意差をもって低下を認め、年間の低下率は 1.04 log IU/ml であった。一方で PEG-IFN 2a 投与終了後の HBs 抗原定量値は PEG-IFN 2a 投与中のような著明な低下症例は見られず有意差は認めなかった（図 5B、C）。

また、HB コア関連抗原は治療期別にはその低下率に有意差は見られなかったが、PEG-IFN 2a 投与終了後の Drug free 期間で大きく低下する症例が認められた（図 5A）。

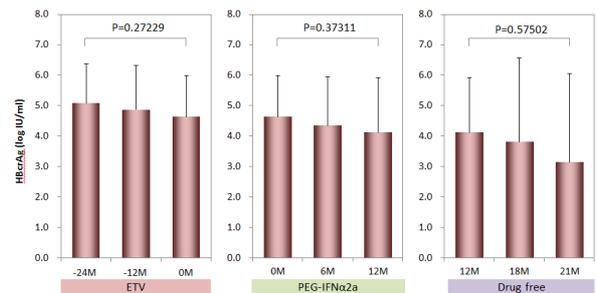


図5A 治療期別のHBcrAgの推移

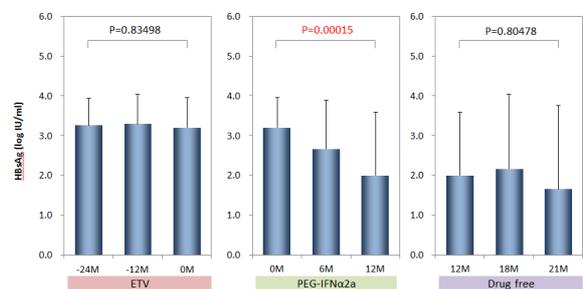


図5B 治療期別のHBsAgの推移

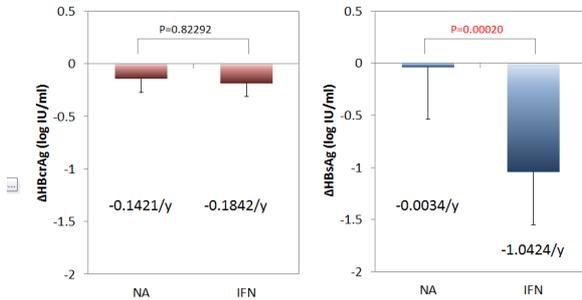


図5C NA製剤とPEG-IFN α 2a (48W)投与期間中のHBcrAgとHBsAgの変動率

次いで、PEG-IFN 2a 投与期間中のHBs抗原定量の変動に影響を与える因子が何であるか検討を行った。PEG-IFN 2a 投与期間中のHBs抗原定量の年間低下率は1.04 log IU/ml であるので、1 log 以上の低下と1 log 未満の低下に群別し、関連因子を単変量解析した。その結果、有意差を認めたのは年齢や登録時のALTの値ではなく肝臓の組織学的線維化(F因子)のみであった(表3)。そこで、F因子ごとのHBs抗原定量の年間低下率を検討するとp=0.05076であった(図7)。

OM	≥ 1 log (n=8)	< 1 log (n=11)	p
Gender (M/F)	6/2	8/3	0.91752
Age	49.5 \pm 10.6	52.4 \pm 13.2	0.61885
NA (years)	7.08 \pm 2.64	4.83 \pm 3.32	0.13346
F (F1/F2/F3)	0/5/3	9/1/1	0.00190
HBeAg (+/-)	2/6	3/8	0.91752
ALT (OM)	27.0 \pm 9.3	25.4 \pm 18.8	0.82437
HBV DNA (log copies/ml)	2.1 \pm 0.2	3.3 \pm 1.7	0.86309
HBcrAg (log IU/ml)	4.35 \pm 0.73	4.34 \pm 1.92	0.98506
HBsAg (log IU/ml)	2.79 \pm 0.72	2.97 \pm 0.71	0.59669
Total score (0/1/2/3/4)	0/1/1/3/3	0/0/3/5/3	0.59132

表3 PEG-IFN α 2a 投与期間中のHBsAgの変動に関する因子の検討(単変量解析)

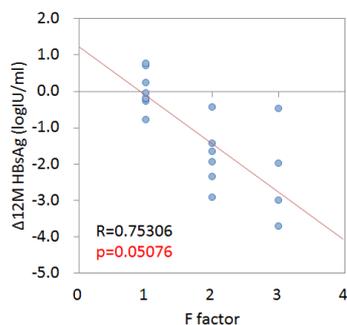


図7 PEG-IFN α 2a 投与期間中のHBsAgの変動とF因子の相関

現報告時点でのPEG-IFN 2a 投与終了症例は26症例であり、投与終了後24週観察可能症例が15症例、36週観察可能症例は9症例である。それらの症例によるPEG-IFN 2a 投与終了後のDrug free評価は、24週のDrug free達成と再燃症例が同数で46.7%、36週も44.4%であった。

核酸アナログ製剤の中止基準による評価では、PEG-IFN 2a 投与直前の登録時は高リスク群が40症例、中リスク群が11症例と中止可能症例は明らかに少なかったが、PEG-IFN 2a 投与終了時点では高リスク群が10症例、中リスク群が15症例と改善し、低リスク群1症例を認めるようになった。投与終了後24週ではさらに低リスクへの移行が認められた(図6A)。

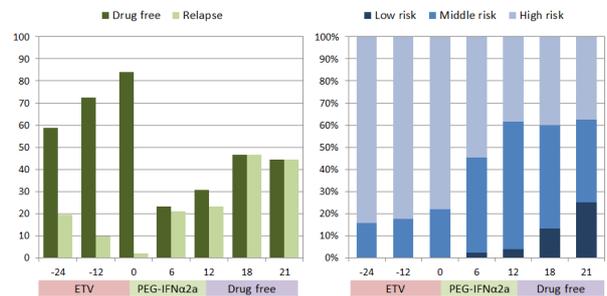
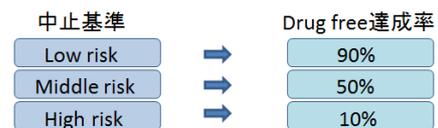


図6A Drug freeと中止基準による評価



	0M	12M	18M
Low risk	0/50	1/26	44.4%
Middle risk	11/50	15/26	
High risk	39/50	10/26	
Drug free	18.8%	36.2%	

図6B Drug freeと中止基準による予測

PEG-IFN 2a 投与終了後24週のDrug free達成と再燃症例が同数であったことから、それらの間の関連因子を単変量解析で検討した。その結果、有意差を認めたのはHBe抗原の有無、登録時のALTの値、そして核酸アナログ製剤の中止基準のscoreであった。その中で最も強く影響を及ぼしていたのはHBe抗原の有無であり、

HBe 抗原の有無別に HBV DNA と ALT、さらに HB コア関連抗原と HBs 抗原定量の推移を見てみると、HBV DNA と ALT は核酸アナログ治療期は差はないが、PEG-IFN 2a 投与期では HBe 抗原陽性症例は HBV DNA が陰性症例より高くなり、PEG-IFN 2a 投与終了後は再燃症例が多くなっていった。また、HB コア関連抗原は明らかに HBe 抗原陽性で高く、HBs 抗原定量は核酸アナログ治療期と PEG-IFN 2a 投与期では全く差を認めないが PEG-IFN 2a 投与終了後 24 週では差が生じた (表 4、図 8A、B)。

	Drug free (18M) n=7	Relapse (18M) n=8	P
Gender (M/F)	4/3	7/1	0.211467
Age	55.1 ± 11.8	53.1 ± 12.1	0.750916
NA (Y)	5.44 ± 3.17	7.19 ± 3.94	0.36436
Genotype (A/B/C)	0/0/6	0/0/8	
F (F1/F2/F3)	2/3/2	3/4/1	0.535839
IL28B (TT/nonTT)	4/1	6/2	0.851389
IP10	176.1 ± 106.5	215.6 ± 65.2	0.394890
HBeAg (+/-)	0/7	6/2	0.000919
ALT (12M)	24.8 ± 15.5	49.0 ± 23.0	0.035866
HBV DNA (12M)	1.67 ± 1.95	3.50 ± 2.63	0.155930
HBcrAg (12M)	3.01 ± 1.41	4.67 ± 2.39	0.133327
HBsAg (12M)	1.20 ± 2.11	1.92 ± 1.37	0.440287
Total score (0/1/2/3/4)	2/2/3/0/0	0/1/1/2/4	0.002539
ΔHBcrAg (IFN)	-0.27 ± 0.26	-0.11 ± 0.91	0.664961
ΔHBsAg (IFN)	-1.72 ± 1.20	-0.98 ± 1.29	0.280660

表 4 Drug freeにに関連する因子の検討(単変量解析)

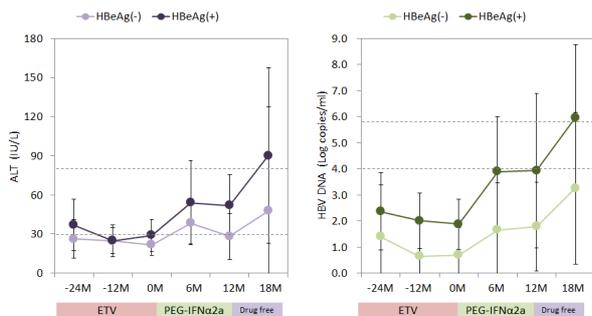


図8A HBeAg陽性/陰性別のALTとHBV DNAの推移

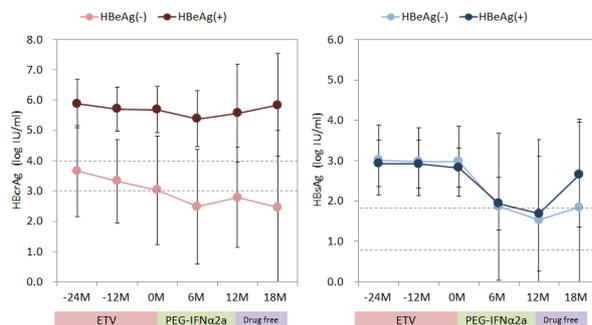


図8B HBeAg陽性/陰性別のHBcrAgとHBsAgの推移

D. 考察

核酸アナログ製剤とインターフェロン治療の併用療法である Sequential 療法は今まで数多くの報告があるが、未だ明らかなエビデンスはなくコンセンサスが得られているとは言い難い。今回、田中班の多施設共同研究として行われている核酸アナログ治療と PEG-IFN 2a の併用療法は、従来の Sequential 療法とは概念が大きく異なり、新たな成果が期待される。まずその目的であるが、従来の Sequential 療法の多くがインターフェロンの効果を高めるための核酸アナログ治療の併用であり、対象者はインターフェロン効果が期待される若年者を中心とし、インターフェロン前に投与される核酸アナログ製剤の種類やインターフェロンとの併用期間など投与方法が重要視されてきた。それに対して今回の班研究は、長期の核酸アナログ治療を行っている患者を対象とした核酸アナログ製剤の中止、つまり Drug free を目的としたインターフェロン治療の有用性の検討である。そのため対象者は核酸アナログ製剤を少なくとも 2 年以上服用している患者であり、年齢は若年者だけでなく 35 歳以上も含む。また核酸アナログ製剤の種類や投与方法は問わず、PEG-IFN 2a 投与前の HB コア関連抗原や HBs 抗原定量による中止基準のスコアリング評価を指標とした。そして最終評価項目は BR や VR などの従来の評価項目と異なり Drug free 達成率である。副次項目として肝細胞内の cccDNA を反映する HB コア関連抗原や HBs 抗原定量の陰性化、もしくは減少を目指す。さらに核酸アナログ製剤からインターフェロンへの移行も、重複することに明らかなエビデンスが得られていないことから併用期間を設けず切替えとした。核酸アナログ治療を単独で中止した時、多くの症例で一過性に HBV DNA と ALT が上昇し免疫賦活状態となることが明らかであり、その時点でインターフェロンを開始し、より有効性を高める目的をもつ。また PEG-IFN 2a の国内臨床試験において有効性を認めたのは投与量と投与期間であったことから、インターフェロンの投与期間を最大限延長するため併用期間をなくした。このように本研究は従来の Sequential 療法とは異なる観点から企画され

た。

現在、PEG-IFN 2a を 48 週投与終了した症例は 26 症例、最長観察期間は PEG-IFN 2a 投与終了後 36 週であった。今回の報告では PEG-IFN 2a 投与後 24 週目と 36 週目での評価を行った。ALT と HBV DNA はどちらも核酸アナログ製剤治療中止後、多くが一過性の上昇を認めた。これは核酸アナログ製剤治療終了時にインターフェロン治療を重複せずに移行させた影響と考え、インターフェロン治療効果を高める当初の目的に一致する結果となった。また PEG-IFN 2a 投与中は HBV DNA が高値となっても ALT は正常、もしくは軽度上昇を維持する症例が多く、急性増悪で PEG-IFN 2a を中断したのは、1 症例のみであった。HB コア関連抗原と HBs 抗原定量の推移に関しては、HB コア関連抗原は核酸アナログ製剤投与中も PEG-IFN 2a 投与中も大きな変化はなく緩やかな低下が持続した。一方、HBs 抗原定量値は核酸アナログ製剤投与中、僅かな低下しか認めなかったが、PEG-IFN 2a 投与開始後多くの症例で著明な低下を認め、約半数で 1 log IU/ml 以上の低下を示し、その中の 1 症例は HBs 抗原が陰性化した。HBs 抗原は、自然経過でも年率 3%程度は陰性化するとされているが、その減少率は非常に低く、陰性化を認める多くは高齢者である。核酸アナログ製剤使用時も HBs 抗原の低下率は自然経過とほとんど変わらず年間 0.1 log IU/ml 未満である。PEG-IFN 2a は HBs 抗原を減少させるより有効な手段となり、若年者でも HBs 抗原の消失を目指すことの可能性が示唆された。

また主要評価項目である Drug free を目指すうえで有効であったのは、PEG-IFN 2a 投与による核酸アナログ中止基準評価の改善である。核酸アナログ中止時点では中止基準は高リスク群と中リスク群のみで、予測の Drug free 達成率は 18.8%に過ぎなかったが、PEG-IFN 2a 投与終了時には中止基準リスクが軽減され、高リスク群が減り低リスク群の出現を認め、Drug free 達成率は 36.2%にまで向上していた。多くは PEG-IFN 2a 投与による HBs 抗原の低下による中止基準スコアの改善であり、PEG-IFN 2a 投与終了 24 週、もしくは 36 週時点での Drug free

達成率は症例数がまだ限定されているが、44.4%に達していた。PEG-IFN 2a は Drug free を達成する非常に有効な手段となることが示唆され、また同時に HBs 抗原と HB コア関連抗原を指標とした核酸アナログ製剤中止基準は治療効果の予測指標となることが考えられた。

E. 結論

B 型慢性肝炎における今後の治療目標は、自然経過を抗ウイルス剤によって修飾し、早期に HBs 抗原の陰性化をもたらし、肝不全化や肝臓がんを回避する治療法を確立することである。しかし現時点で HBV に対する免疫反応や増殖形態が臨床的にはほとんど把握できていないため、病態別の適正な治療の選択や治療効果の正確な予測は困難である。今回の核酸アナログ製剤長期投与例に対する中止後の PEG-IFN 2a 併用療法は、多くの症例で HBs 抗原の低下を認め、良好な経過を示す症例が多数存在し、中止対象の拡大、drug free を目指す治療として有用である可能性が示唆された。今後はどのような症例で HBs 抗原を減少させることができるのか、あるいは消失させられるのか検討を重ね、基準を設定することが必要であると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Enomoto H, Nishiguchi S et al. Molecular detection of intra- peritoneal bacterial infection in cirrhotic ascites. RM curr. Res.in Gastroenterology and Hepatology 7,2013(1-8)
- 2) Enomoto M, Nishiguchi S, Saito M, et al. Entecavir and interferon- sequential therapy in Japanese patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. Journal of Gastroenterology 2013 Mar;48(3): 397-404
- 3) Nishiguchi S, Osaki Y, Kudo M. et al Relevance of the Core 70 and IL-28B

polymorphism and response-guided therapy of peginterferon alfa-2a ± ribavirin for chronic hepatitis C of Genotype 1b: a multicenter randomized trial, ReGIT-J study.

J Gastroenterol. 2013 Mar 30.

- 4) Takashima T, Saito M, Nishiguchi S. et al. Hepatitis C virus relapse was suppressed by long-term self-injection of low-dose interferon in patients with chronic hepatitis C after pegylated interferon plus ribavirin treatment. Hepatol Res. 2013 May 2
 - 5) Tanaka H, Saito M, Nishiguchi S. et al. New malignant grading system for hepatocellular carcinoma using the Sonazoid contrast agent for ultrasonography. J Gastroenterol. 2013 May 30
 - 6) Ikeda N, Saito M, Nishiguchi S. et al. Nationwide survey in Japan regarding splenectomy/partial splenic embolization for interferon treatment targeting hepatitis C virus-related chronic liver disease in patients with low platelet count. Hepatol Res 2013 Jun 14.
 - 7) Enomoto H, Saito M, Nishiguchi S. et al Association of amino acid imbalance with the severity of liver fibrosis and esophageal varices. Ann Hepatol. 2013 May-Jun;12(3):471-8.
 - 8) Aizawa N, Saito M, Nishiguchi S. et al. Trombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C. J Gastroenterol. 2013 Sep 25. [Epub ahead of print]
2. 学会発表
- 1) Donald M. Jensen Tarik Asselah, Douglas T. Dieterich, Shuhei Nishiguchi, et al. A pooled analysis of two randomized, double-blind placebo-controlled Phase III trials (STARTVerso1&2) of faldaprevir plus pegylated interferon alfa-2a and ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C genotype-1 infection. The 64rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2013) 2013.11 Washington
 - 2) Hironori Tanaka, Masaki Saito, Shuhei Nishiguchi et al. Usefulness and challenges associated with the spleen stiffness via Virtual Touch Quantification for the prediction of liver fibrosis. The 64rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2013) 2013.11 Washington
 - 3) Tomoko Aoki, Masaki Saito, Shuhei Nishiguchi. et al. Analysis of risk factors for aiming at early detection of hepatocellular carcinoma. The 64rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2013) 2013.11 Washington
 - 4) Hironori Tanaka, Masaki Saito, Shuhei Nishiguchi. et al. Spleen stiffness accurately predicts esophageal varices in patients with chronic liver disease regardless of the presence of portosystemic collaterals. The 64rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2013) 2013.11 Washington
 - 5) Hirayuki Enomoto, Masaki Saito, Shuhei Nishiguchi. et al. HDGF (hepatoma-derived growth factor)-silencing inhibits the proliferation of hepatoma cells through asorafenib-independent pathway. The 64rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases(AASLD2013) 2013.11 Washington
 - 6) Nobuhiro Aizawa, Masaki Saito, Shuhei Nishiguchi. et al. The mitochondrial gene abnormalities and sustained pathological alterations in the liver after hepatitis

C virus eradication. The 64rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2013) 2013.11 Washington

- 7) Koichi Ohashi, Tomohiro Yoshimoto, Shuheji Nishiguchi. et al. Hepatocyte producing plasminogen activator-1 (PAI-1) regulates adhesion formation after hepatectomy in a murine model and in patients undergoing hepatectomy. The 64rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2013) 2013.11 Washington

[国内学会]

- 1) 田守昭博, 河田則文, 西口修平. 全数調査から見た輸血後 B 型肝炎ウイルス陽転例の解析-HBV 再活性化の可能性-. (シンポジウム). 第 49 回日本肝臓学会総会 2013.6. 東京
- 2) 西口修平. C 型肝炎治療の今後の展望と課題. (ランチョンセミナー) 第 49 回日本肝臓学会総会 2013.6. 東京
- 3) 西口修平. 肝硬変のトータルマネジメント. 第 17 回日本肝臓学会大会. (ランチョンセミナー) (JDDW2013)2013.10 東京
- 4) 齋藤正紀, 榎本平之, 西口修平. Drug free を目指した核酸アナログ製剤中止後の PEG-IFNa2a 療法の検討. (パネルディスカッション). 第 17 回日本肝臓学会大会. (JDDW2013)2013.10 東京
- 5) 西口修平, 八橋弘, 久保木真, 田中靖人, 富田栄一, 加藤道夫, 岩淵省吾, 坂井義法, 辻邦彦, 宣保行雄, 横須賀収, 森山光彦, 井出達也, J Scherer, Y Datsenko, 富森裕規, A-M. Quinson, 小俣政男. 未治療 C 型慢性肝炎患者に対する Faldaprevir + PegIFN + Ribavirin 併用療法による第 3 相試験 (STARTVer-so1). (ポスターセッション). 第 17 回日本肝臓学会大会 (JDDW2013)2013.10 東京
- 6) 齋藤正紀, 榎本平之, 西口修平. Drug free を目指した核酸アナログ製剤中止後の

PEG-IFN2a 療法の検討. (パネルディスカッション). 第 55 回日本消化器病学会大会 (JDDW2013)2013.10. 東京

- 7) 西口修平. 肝硬変の栄養療法. 平成 25 年度日本肝臓学会後期教育講演会. 2013.12 岐阜

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

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。

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

HBV 感染者に対するインターフェロンの効果

研究分担者 柘植雅貴 広島大学自然科学研究支援開発センター 助教

研究協力者 茶山一彰 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨：B 型慢性肝疾患に対してインターフェロン（IFN）治療が行われているが、その治療効果には個人差があり、効果は十分とは言えない。また、核酸アナログ治療例に対し、sequential therapy が試みられているが、核酸アナログ製剤先行投与の有用性に関しても不明である。本研究では、B 型慢性肝疾患において、核酸アナログ投与の有無による IFN 反応性の違いを明らかにすることを目的とした。30 例の IFN 投与例を単独投与例と sequential therapy 例に分け、治療中・治療後の HBs 抗原量の推移を観察した結果、sequential therapy において、HBs 抗原低下例が多く認められ、核酸アナログ治療が IFN 反応性に影響しているものと考えられた。そのため、HBV 発現培養細胞株を用いて、細胞内の IFN 反応性を検討した結果、核酸アナログ添加により、IFN 添加後の細胞内の IFN 誘導遺伝子発現は増強しており、核酸アナログによる HBV 抑制が肝細胞内の IFN 反応性を改善している可能性が示唆された。以上の結果から、核酸アナログと IFN を工夫して用いることで、治療介入による抗ウイルス効果の向上（HBs 抗原の低下・消失）が期待できるものと考えられた。

A. 研究目的

B 型慢性肝疾患に対してペグインターフェロン治療が保険適応となり、HBs 抗原の低下・消失例の報告されるようになり、治療効果の向上が期待される一方で、治療終了後に再燃する症例も散見され、インターフェロン（IFN）による治療効果向上が期待されている。

一方、近年では、drug free を目指し、核酸アナログ治療例に対し、sequential therapy などの IFN を併用した治療が試みられている。しかしながら、核酸アナログ製剤を先行投与することによる IFN 治療への影響については不明な点が多い。

本研究では、B 型慢性肝疾患において、核酸アナログ投与の有無による宿主の IFN に対する反応性の変化について検討した。

B. 研究方法

検討 1: B 型慢性肝疾患症例における IFN 治療効果の比較

対象は、当院および関連施設にて IFN 治療を行った 30 例について、治療終了時および終了後

の HBV 関連マーカーの推移について検討した。

解析対象は、全例 HBV genotype C 感染例とし、IFN 治療開始時の ALT 値を 100IU/L 未満とした。IFN 単独投与症例が 11 例、核酸アナログ治療を先行した sequential therapy 症例が 19 例。HBs 抗原の測定は、ARCHITECT（Abbott、CLIA 法）を用い、HBV DNA の定量にはアキュジーン m-HBV（Abbott、0.2ml 法）を用いた。

検討 2: in vitro における細胞内 IFN 誘導遺伝子発現の変化

HepG2 細胞に HBV 発現プラスミドを stable transfection して作成した HBV 発現細胞株を用いて、細胞内の IFN 誘導遺伝子（ISGs）誘導について検討した。HepG2 細胞および HBV 発現細胞の培養上清中に核酸アナログ（エンテカビル：ETV）および IFN を添加し、IFN 添加 24 時間後の細胞内の ISGs 発現をリアルタイム PCR にて検討した。

（倫理面への配慮）

患者血清保存ならびに B 型肝炎ウイルス関

連マーカーの測定に際し、疫学研究に関する倫理指針に従った研究計画書を作成し、当大学での審査を受けている。また、十分なインフォームドコンセントの後に患者血清を採取し、匿名化された状態で凍結保存している。

C. 研究結果

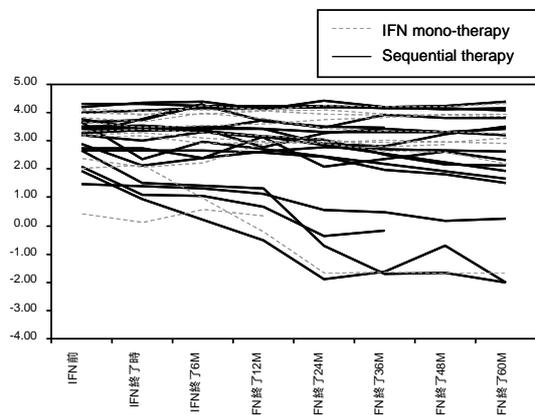
検討 1: B 型慢性肝疾患症例における IFN 治療効果の比較

まず、IFN 単独投与症例 (N=11) と sequential therapy 症例 (N=19) の臨床背景を比較したところ、sequential therapy 症例では、核酸アナログ製剤を先行投与されていることから、IFN 治療開始時の ALT 値が有意に低く ($P=0.016$)、HBV DNA 量も有意に低値だった ($P=0.001$)。一方、年齢や IL28B 遺伝型、HBeAg 陽性率には有意な差は認めなかった。

これらの 30 症例における IFN 治療中の HBs 抗原量の推移を検討したところ、図 1 に示すように、Sequential therapy 症例において、IFN 治療中、治療後に HBs 抗原量の低下する症例が多く認められた。

そこで、IFN 治療終了 5 年以内に HBs 抗原量が $1 \log \text{ IU/ml}$ 以上低下した症例と低下しなかった症例に分けて、HBs 抗原低下に寄与する因子を検討した結果、IFN 治療前の HBs 抗原量が低値であること、HBeAg が陰性であること、sequential therapy 症例であることが HBs 抗原低下に寄与する因子として抽出された ($P=0.004$ 、 $P=0.065$ 、 $P=0.065$)。

図 1. IFN 治療による HBsAg の変化

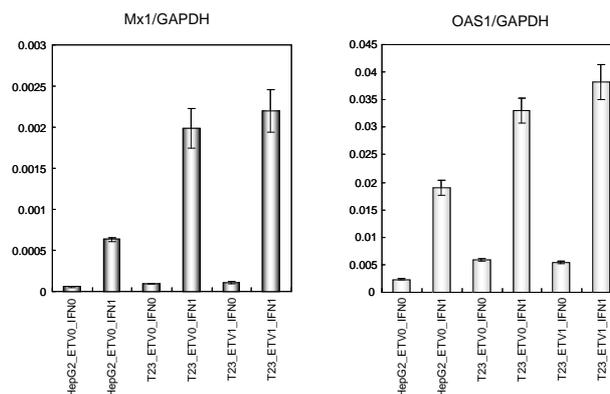


検討 2: in vitro における細胞内 IFN 誘導遺伝子発現の変化

前述の臨床データの結果から、核酸アナログ治療に伴い、細胞内の IFN 反応性が改善することが考えられたため、培養細胞を用いてさらなる検討を行った。

以前、当研究室では、ヒト肝細胞キメラマウスを用いて、HBV 感染に伴うヒト肝細胞内の遺伝子発現変化について報告した (Tsuge M, et al. Journal of Infectious Diseases, 2011)。その際、interferon signaling をはじめとした免疫応答に關与する遺伝子群において、HBV 感染に伴い IFN に対する反応性が低下することが同定された。そのため、本検討では、HBV 感染に伴い IFN 反応性が低下すると考えられる interferon signaling について、核酸アナログ製剤である ETV の使用により、どのように IFN による誘導が変化するかを検討した。その結果、HBV 非発現細胞株では、IFN 誘導遺伝子 MxA、OAS1 の発現は亢進しており、ETV 添加により、HBV 非発現細胞株 (HepG2 細胞) とほぼ同等まで改善した (図 2)。さらに、IFN を培養上清に添加した際には、ETV で処理した細胞において、MxA、OAS1 の発現上昇率の向上が観察され、ETV による IFN 反応性の改善が示された (図 2)。

図 2. エンテカビル投与による IFN 反応性の回復



D. 考察

本研究では、B 型慢性肝疾患症例に対し、IFN 単独投与を行った場合と核酸アナログ療法を先行して行った場合 (Sequential therapy) における IFN 投与中および投与終了後の HBs 抗原量の推移について検討した。少数例での解析であ

ったため、十分な有意差は認められなかったものの、Sequential therapy 症例において、HBs 抗原が 1 Log IU/ml 以上低下する症例が多く認められた ($P=0.065$)。また、HBs 抗原量の低下には、治療前の HBs 抗原量、HBeAg の有無も関与していることが示唆され、IFN 治療前に HBe セロコンバージョンを誘導し、ウイルス増殖を抑制することが、IFN 反応性を向上させるために重要であると考えられた。

一方、臨床データを裏付ける目的で、培養細胞株を用いて HBV 増殖に伴う IFN 反応性の変化および核酸アナログ製剤 (ETV) 添加による IFN 反応性への影響について検討した。培養細胞株においても、HBV 増殖に伴い、IFN 反応性は低下し、IFN 添加時の MxA、OAS1 誘導は抑制された。しかしながら、ETV にて HBV 増殖を抑制した上で、IFN 添加を行ったところ、IFN 誘導遺伝子誘導の改善が認められた (図 2)。つまり、HBV は細胞内で増殖するとともに、肝細胞内のインターフェロンシグナルを抑制し、IFN 誘導遺伝子産生を阻害している可能性が考えられる。実際、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた検討においても、interferon signaling をはじめとした免疫応答に關与する遺伝子群において、HBV 感染に伴い IFN に対する反応性が低下することが示されており、HBV が生体からのウイルス排除機構から回避し、持続感染を成立させるためのメカニズムが存在するものと考えられた。また、これらのメカニズムを検討することで、より効果的なウイルス排除方法の構築が期待できるものとする。

E. 結論

B 型慢性肝疾患に対する従来型インターフェロンを用いた抗ウイルス療法において、IFN 開始前の HBs 抗原量が低値であること、核酸アナログ先行投与 (Sequential therapy) が治療後の HBs 抗原の低下に有意に相関した。以前の HBV 感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いた解析により、ヒト肝細胞内の IFN 反応性は、HBV 感染に伴い低下することが示唆されており、ETV などの核酸アナログ製剤を用いて、細胞内のウイルス増殖を抑制することで、細胞内の IFN 反応性

が改善する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

本研究は、保存血清およびマウス、培養細胞株を用いた検討であり、患者に健康被害を与える可能性はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Masaki K., Takaki S., Hyogo H., Kobayashi T., Fukuhara T., Naeshiro N., Honda Y., Nakahara T., Ohno A., Miyaki D., Murakami E., Nagaoki Y., Kawaoka T., Tsuge M., Hiraga N., Hiramatsu A., Imamura M., Kawakami Y., Aikata H., Ochi H., Takahashi S., Arihiro K. and Chayama K., Utility of controlled attenuation parameter measurement for assessing liver steatosis in Japanese patients with chronic liver diseases. *Hepatol Res*, 2013.
- 2) Tsuge M., Murakami E., Imamura M., Abe H., Miki D., Hiraga N., Takahashi S., Ochi H., Nelson Hayes C., Ginba H., Matsuyama K., Kawakami H. and Chayama K., Serum HBV RNA and HBeAg are useful markers for the safe discontinuation of nucleotide analogue treatments in chronic hepatitis B patients. *J Gastroenterol*, 2013. 48(10): p. 1188-204.
- 3) Tsuge M. and Chayama K., Availability of monitoring serum HBV DNA plus RNA during nucleot(s)ide analogue therapy. *J Gastroenterol*, 2013. 48(6): p. 779-80.
- 4) Naeshiro N., Kakizawa H., Aikata H., Kan H., Fujino H., Fukuhara T., Kobayashi T., Honda Y., Miyaki D., Kawaoka T., Tsuge M., Hiramatsu A., Imamura M., Kawakami Y., Hyogo H., Ishikawa M., Awai K. and Chayama K., Percutaneous transvenous embolization for portosystemic shunts associated with encephalopathy: Long-term outcomes in 14 patients. *Hepatol Res*, 2013.
- 5) Ohishi W., Cologne J.B., Fujiwara S., Suzuki G., Hayashi T., Niwa Y., Akahoshi M., Ueda K., Tsuge M. and Chayama K., Serum interleukin-6 associated with

- hepatocellular carcinoma risk: A nested case-control study. *Int J Cancer*, 2013.
- 6) Arataki K., Hayes C.N., Akamatsu S., Akiyama R., Abe H., Tsuge M., Miki D., Ochi H., Hiraga N., Imamura M., Takahashi S., Aikata H., Kawaoka T., Kawakami H., Ohishi W. and Chayama K., Circulating microRNA-22 correlates with microRNA-122 and represents viral replication and liver injury in patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol*, 2013. 85(5): p. 789-98.
 - 7) Kosaka K., Hiraga N., Imamura M., Yoshimi S., Murakami E., Nakahara T., Honda Y., Ono A., Kawaoka T., Tsuge M., Abe H., Hayes C.N., Miki D., Aikata H., Ochi H., Ishida Y., Tateno C., Yoshizato K., Sasaki T. and Chayama K., A novel TK-NOG based humanized mouse model for the study of HBV and HCV infections. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013.
 - 8) 柘植雅貴、茶山一彰「HBV の感染実験系」*Hepatology Practice* 第 1 巻 B 型肝炎の診療を極める、文光堂、185-192、2013
 - 9) 柘植雅貴、茶山一彰「B 型肝炎、D 型肝炎」カラー版 消化器病学、西村書店、1150-1155、2013
2. 学会発表
 - 1) 村上英介、柘植雅貴、大野敦司、本田洋士、河岡友和、三木大樹、平賀伸彦、今村道雄、相方 浩、高橋祥一、越智秀典、茶山一彰「薬剤耐性 B 型肝炎ウイルスに対するテノホビルの抗ウイルス効果と Genotype による相違の検討」第 99 回日本消化器病学会総会、一般演題
 - 2) 柘植雅貴、森 奈美、村上英介、相坂康之、吉良臣介、河岡友和、高木慎太郎、平松 憲、今村道雄、兵庫秀幸、川上由育、相方 浩、高橋祥一、茶山一彰「悪性腫瘍に対する化学療法施行により HBV 再活性化を来した 33 症例の検討」第 99 回日本消化器病学会総会、一般演題
 - 3) 柘植雅貴、平賀伸彦、今村道雄、越智秀典、高橋祥一、茶山一彰「ヒト肝細胞キメラマウスを用いた HBV・HCV 感染に伴うヒト肝細胞内遺伝子発現変化の解析」第 50 回日本臨床分子医学会 ポスター
 - 4) 柘植雅貴、高橋祥一、茶山一彰「HBV 感染に伴うヒト肝細胞内免疫応答の変化」第 49 回日本肝臓学会総会 シンポジウム
 - 5) 村上英介、柘植雅貴、平賀伸彦、阿部弘美、大野敦司、本田洋士、河岡友和、三木大樹、今村道雄、相方 浩、高橋祥一、越智秀典、茶山一彰「薬剤耐性 B 型肝炎ウイルスに対するテノホビルの抗ウイルス効果の検討」第 49 回日本肝臓学会総会 一般演題
 - 6) 柘植 雅貴、村上英介、平賀 伸彦、阿部弘美、今村 道雄、茶山 一彰「薬剤耐性 HBV に対する核酸アナログ製剤の抗ウイルス効果の検討と genotype による相違」第 9 回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム
 - 7) 柘植 雅貴、村上英介、茶山一彰「薬剤耐性 HBV に対するテノホビルの抗ウイルス効果と genotype による相違」第 17 回日本肝臓学会大会 パネルディスカッション
 - 8) 村上英介、柘植雅貴、菅 宏美、藤野初江、小林知樹、福原崇之、榎木慶一、大野敦司、苗代典昭、中原隆志、本田洋士、宮木大輔、占部綾子、横山聡栄、河岡友和、三木大樹、平賀伸彦、平松 憲、今村道雄、兵庫秀幸、川上由育、相方 浩、高橋祥一、茶山一彰「当院における核酸アナログ製剤の治療効果の解析」第 17 回日本肝臓学会大会 ポスター
 - 9) Masataka Tsuge, Eisuke Murakami, Michio Imamura, Hiromi Abe, Daiki Miki, Nobuhiko Hiraga, Hidenori Ochi, C. Nelson Hayes, Hiroyuki Ginba, Kazuhiro Matsuyama, Hiroiku Kawakami, Kazuaki Chayama. Monitoring serum HBV RNA is useful for predicting rebound of hepatitis after the discontinuation of nucleotide analogue therapy in chronic hepatitis B patients. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2013) ポスター
 - 10) Eisuke Murakami, Masataka Tsuge, Nobuhiko Hiraga, Tomokazu Kawaoka, Atsushi Ohno, Takashi Nakahara, Daiki Miki, Hiromi Abe, Michio Imamura, Hiroshi Aikata, Hidenori Ochi, C Nelson Hayes, Chise Tateno, Katsutoshi Yoshizato, Kazuaki Chayama. Antiviral effect of tenofovir disoproxil fumarate

on drug-resistant HBV clones and different susceptibility between HBV genotype A and C. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2013) ポスター

- 11) Nami Mori, Masataka Tsuge, Yoshiiku Kawakami, Hiroiku Kawakami, Kazuaki Chayama. Th1/2 ratio was associated with anti-viral effects of sequential therapy with lamivudine and interferon- in HBe antigen-positive chronic hepatitis B patients. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2013) ポスター
- 12) 占部綾子、柘植雅貴、茶山一彰「当院における B 型急性肝炎の解析」第 40 回日本肝臓学会西部会 ワークショップ

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

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

研究分担者 神田 達郎 千葉大学大学院医学研究院 消化器・腎臓内科学 講師
研究協力者 横須賀 収 千葉大学大学院医学研究院 消化器・腎臓内科学 教授
今関 文夫 千葉大学総合安全衛生管理機構 機構長 教授
新井 誠人 千葉大学医学部附属病院 消化器内科 講師

研究要旨：核酸アナログ中止時の HBs 抗原量が 800 IU/mL 未満の症例では肝炎再燃のリスクが比較的低いことが報告されている。治療効果がより強力なペグインターフェロンの使用により HBs 抗原量が 800 IU/mL 以上の症例でも核酸アナログ中止が可能となるのではないかと考え、当科における核酸アナログ投与継続症例の HBs 抗原量を検討した。今後はこれら HBs 抗原量 800 IU/mL 以上の症例においてペグインターフェロンの使用により安全な核酸アナログが中止可能かどうかを検討する必要があると考えられた。

A. 研究目的

核酸アナログ中止時の HBs 抗原量が 800 IU/mL 未満の症例では肝炎再燃のリスクが比較的低いことが報告されている。我々の検討でも B 型慢性肝炎核酸アナログ使用症例において、通常型インターフェロン併用によるシークエンシャル療法により核酸アナログを中止した症例について検討した結果、HBe 抗原陽性症例では核酸アナログ投与中に HBe 抗原陽性から HBe 抗体陽性への Seroconversion を起こした症例ではインターフェロン中止後も肝機能が落ち着いていることが観察された。また 35 歳以下の HBe 抗原陽性症例では HBs 抗原量が 800 IU/mL 以上の症例でも中止成功例が存在することが判明している。

治療効果がより強力なペグインターフェロンの使用により HBs 抗原量が 800 IU/mL 以上の症例でも核酸アナログ中止が可能となるのではないかと考え、当科における核酸アナログ投与継続症例の HBs 抗原量を検討した。

B. 研究方法

2000 年から 2011 年まで当科にて核酸アナログを使用開始した B 型肝炎 275 例(性別 男性/女性: 187/88、現年齢 56 ± 12 歳)を対象とした。初回使用した核酸アナログはエンテカビル

185 例、ラミブジン 90 例である。

各症例の HBe 抗原、HBe 抗体の状態および HBs 抗原の状態および HBs 抗原量を検討した。

(倫理面への配慮)

倫理面への配慮：千葉大学では少数民族を含む人権に十分配慮を行なっている。臨床検体は千葉大学医学部倫理委員会の承諾を得た上で取り扱う。

C. 研究結果

(1) HBe 抗原陽性から HBe 抗体陽性への Seroconversion 例、HBe 抗体持続陽性例、HBe 抗原陰性/HBe 抗体陰性持続例、および HBe 抗原持続陽性例はそれぞれ 68 例、142 例、10 例、および 54 例であった (HBe 抗原状態不明 1 例)。
(2) HBe 抗原陽性から HBe 抗体陽性への Seroconversion 例 68 例中 HBs 抗原量 (IU/mL) は 54 例(陰性/<200/~1000/~2000/2000<: 4/9/11/12/18)で評価可能であり、核酸アナログを中止継続中の症例は 6 例 (1/1/1/1/2)のみであった。核酸アナログ中止困難と思われる免疫抑制剤使用例、肝硬変例、70 歳以上の高齢者、IFN アレルギー症例を除いた 31 例で検討すると HBs 抗原量陰性/<200/~1000/~2000/2000<はそれぞれ

1/3/5/10/12であった。HBs抗原量陰性例を除くとHBs抗原量<2,000 IU/mLの症例は18例であった。

(3) HBe抗体持続陽性例142例中HBs抗原量は62例(陰性/<200/~1000/~2000/2000<: 2/17/15/13/15)で評価可能であり、核酸アナログを中止継続中の症例は4例(0/0/1/1/2)のみであった。核酸アナログ中止困難と思われる免疫抑制剤使用例、肝硬変例、70歳以上の高齢者、IFNアレルギー症例を除いた26例で検討するとHBs抗原量陰性/<200/~1000/~2000/2000<はそれぞれ0/4/8/7/7であった。HBs抗原量<2,000 IU/mLの症例は19例であった。

(4) HBe抗原陰性/HBe抗体陰性持続例10例中HBs抗原量は7例(陰性/<200/~1000/~2000/2000<:1/2/2/1/1)で評価可能であり、核酸アナログを中止した症例はみられなかった。核酸アナログ中止困難と思われる免疫抑制剤使用例、肝硬変例、70歳以上の高齢者、IFNアレルギー症例を除いた5例で検討するとHBs抗原量陰性/<200/~1000/~2000/2000<はそれぞれ0/1/2/1/1であった。HBs抗原量<2,000 IU/mLの症例は4例であった。

(5) HBe抗原持続陽性例54例中HBs抗原量34例(陰性/<200/~1000/~2000/2000<: 0/3/4/6/21)で評価可能であり、核酸アナログを中止した症例はみられなかった。核酸アナログ中止困難と思われる免疫抑制剤使用例、肝硬変例、70歳以上の高齢者、IFNアレルギー症例を除いた22例で検討するとHBs抗原量陰性/<200/~1000/~2000/2000<はそれぞれ0/1/3/4/14であった。HBs抗原量<2,000 IU/mLの症例は8例のみであった。

(6) HBs抗原の消失はHBe抗原陽性からHBe抗体陽性へのSeroconversion例、HBe抗体持続陽性例およびHBe抗原陰性/HBe抗体陰性持続例においてそれぞれ、54例中4例(7.4%)、62例中2例(3.2%)、および7例中1例(14.2%)みられ、全体では158例中7例(4.4%)にみられた。

(7) HBe抗原陽性からHBe抗体陽性へのSeroconversion例、HBe抗体持続陽性例、およびHBe抗原陰性/HBe抗体陰性持続例を検討すると、それぞれ19例、19例、および4例がHBs

抗原量<2,000 IU/mLの症例であった(HBs抗原陰性化例は除く)。

(8) HBe抗原持続陽性例の検討では、8例がHBs抗原量<2,000 IU/mLの症例であり、40歳以下の症例は5例のみであった。

D. 考察

本研究では核酸アナログ中止困難と思われる免疫抑制剤使用例、肝硬変例、70歳以上の高齢者、IFNアレルギー症例を除き、ペグインターフェロンが使用可能な症例についてHBs抗原量を検討したところ、HBe抗原陽性からHBe抗体陽性へのSeroconversion例、HBe抗体持続陽性例、HBe抗原陰性/HBe抗体陰性持続例、およびHBe抗原持続陽性例において、それぞれ30例、26例、5例、および22例がHBs抗原陽性であった(HBs抗原陰性例はHBe抗原陽性からHBe抗体陽性へのSeroconversion症例で1例のみ見られた)。これら83例ではペグインターフェロンの使用が可能であり核酸アナログが中止可能か否か解析する必要がある。

一般にペグインターフェロンの治療効果は通常型インターフェロンと比較し強力であることが知られており、その使用例ではより多くのHBs抗原陰性化例が見られ、治療効果もより良好であることが知られている。核酸アナログ中止時のHBs抗原量が800 IU/mL未満の症例では肝炎再燃のリスクが比較的低いことが報告されている。今後はペグインターフェロンの使用により安全な核酸アナログが中止可能かどうかをより詳細に検討する必要があると考えられた。

E. 結論

ペグインターフェロンが使用可能な症例についてHBs抗原量を検討した。今後治療効果がより強力なペグインターフェロンの使用により、安全な核酸アナログが中止可能かどうかをより詳細に検討する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Masato Nakamura, Tatsuo Kanda, Tatsuo Miyamura, Shuang Wu, Shingo Nakamoto, Osamu Yokosuka. Alanine Aminotransferase Elevation during Peginterferon Alpha-2a or Alpha-2b plus Ribavirin Treatment. *Int J Med Sci* 10(8):1015-1021, 2013.
- 2) Masato Nakamura, Tatsuo Kanda, Shingo Nakamoto, Tatsuo Miyamura, Xia Jiang, Shuang Wu, Osamu Yokosuka. No correlation between PNPLA3 rs738409 genotype and fatty liver and hepatic cirrhosis in Japanese patients with HCV. *PLOS ONE* 8(12):e81312, 2013.
- 3) Tatsuo Kanda, Xia Jiang, Shingo Nakamoto, Masato Nakamura, Tatsuo Miyamura, Shuang Wu, Osamu Yokosuka. Different effects of three interferons L on Toll-like receptor-related gene expression in HepG2 cells. *Cytokine* 64(2):577-583, 2013.
- 4) Xia Jiang, Tatsuo Kanda, Takeshi Tanaka, Shuang Wu, Shingo Nakamoto, Fumio Imazeki, Osamu Yokosuka. Lipopolysaccharide blocks induction of unfolded protein response in human hepatoma cell lines. *Immunol Lett* 152(1):8-15, 2013.
- 5) Tomoo Miyauchi, Tatsuo Kanda, Masami Shinozaki, Hidehiro Kamezaki, Shuang Wu, Shingo Nakamoto, Kazuki Kato, Makoto Arai, Shigeru Mikami, Nobuyuki Sugiura, Michio Kimura, Nobuaki Goto, Fumio Imazeki, Osamu Yokosuka. Efficacy of lamivudine or entecavir against virological rebound after achieving HBV DNA negativity in chronic hepatitis B patients. *Int J Med Sci* 10(6):647-652, 2013.
- 6) 神田達郎. 私の処方 腎機能障害をもつ B 型肝炎患者における核酸アナログ製剤の処

方. *Modern Physician* 34(1):93-94, 2014

- 7) 神田達郎, 横須賀収. HBV 薬剤耐性変異株とその対応 特集:ウイルス性肝炎の最近の話題(B型肝炎, C型肝炎を中心に) 成人病と生活習慣病 43 (11):1359-1362, 2013.
- 8) 神田達郎, 宮村達雄, 中村昌人, 姜霞, 呉霜, 中本晋吾, 横須賀収. HBx 蛋白, integration と whole genome sequencing 肝胆膵 67(1):81-85, 2013.
- 9) 神田達郎, 宮村達雄, 中本晋吾, 新井誠人, 横須賀収. B型肝炎のインターフェロン治療. *Modern Physician* 33(4):431-434, 2013.

2. 学会発表

- 1) Shingo Nakamoto, Tatsuo Kanda, Shuang Wu, Xia Jiang, Tatsuo Miyamura, Fumio Imazeki, Hiroshi Shirasawa, Chiaki Nakaseko, Osamu Yokosuka. Reactivation of hepatitis B after hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancy. The 64th Annual Meeting of The American Association for the Study of Liver Diseases, Walter E. Washington Convention Center, Washington, DC, USA, 2013.11.1-5.
- 2) Shuang Wu, Tatsuo Kanda, Tatsuo Miyamura, Xia Jiang, Shingo Nakamoto, Fumio Imazeki, Osamu Yokosuka. Cooperative effects of Hepatitis B virus and TNF might play important roles in hepatocarcinogenesis through activation of NF- κ B, metabolic and ER stress signaling. The 64th Annual Meeting of The American Association for the Study of Liver Diseases, Walter E. Washington Convention Center, Washington, DC, USA, 2013.11.1-5.
- 3) Tomoo Miyauchi, Tatsuo Kanda, Hidehiro Kamezaki, Shuang Wu, Shingo Nakamoto, Makoto Arai, Fumio Imazeki, Osamu Yokosuka. Prevalence of viral breakthrough after HBV DNA negativity

was achieved by nucleos(t)ide analogues.
APASL Liver week, Suntec Singapore
International Convention & Exhibition
Center, Singapore, 2013.6.6-10.

- 4) Hidehiro Kamezaki, Tatsuo Kanda, Makoto Arai, Shuang Wu, Shingo Nakamoto, Tetsuhiro Chiba, Hitoshi Maruyama, Keiichi Fujiwara, Fumihiko Kanai, Fumio Imazeki, Fumio Nomura, Osamu Yokosuka. Improvement of adherence to ETV has a better influence on cumulative viral breakthrough rates than that to LAM. APASL Liver week, Suntec Singapore International Convention & Exhibition Center, Singapore, 2013.6.6-10.
- 5) 中本晋吾, 神田達郎, 横須賀收. 造血幹細胞移植における HBV 再活性化に関する検討 第 55 回日本消化器病学会大会(グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール/白雲・慶雲), シンポジウム 1: B 型肝炎ウイルス再活性化の予防・治療の現状と課題 2013.10.9
- 6) 中村昌人, 神田達郎, 中本晋吾, 宮村達雄, 呉霜, 新井誠人, 今関文夫, 横須賀收. HBsAg 消失例の検討からみた HBV 再活性化予防について 第 17 回日本肝臓学会大会 第 15 会場: グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール/さくら・うずしお 2013.10.9
- 7) 亀崎秀宏, 神田達郎, 宮村達雄, 呉霜, 中本晋吾, 新井誠人, 今関文夫, 横須賀收. 当院における LAM10 年と ETV5 年の長期成績と, 各製剤の問題点の検討 第 17 回日本肝臓学会大会 第 15 会場: グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール/さくら・うずしお 2013.10.9
- 8) 神田達郎, 中村昌人, 宮村達雄, 亀崎秀宏, 姜霞, 呉霜, 中本晋吾, 新井誠人, 今関文夫, 横須賀收. 通常型インターフェロンによるシークエンシャル療法を施行した症例の経過について 第 17 回日本肝臓学会大会 第 15 会場: グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール/さくら・うずしお

2013.10.9

- 9) 神田達郎, 厚川正則, 島田紀朋, 篠崎正美, 三上繁, 星野容子, 加藤慶三, 中本晋吾, 千葉哲博, 新井誠人, 今関文夫, 坪田昭人, 横須賀收. B 型慢性肝炎に対する Peginterferon alfa-2a 単独および Sequential Therapy 施行時の HBs 抗原量の推移に関する検討~多施設共同研究~ 第 49 回日本肝臓学会総会 (京王プラザホテル 東京都新宿区), 2013.6.7

H. 知的財産権の出願・登録状況
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

RESET study 症例における PegIFN 切り替え初期 HBV 指標の研究

研究分担者 姜 貞憲 手稲溪仁会病院 消化器病センター 主任医長
研究協力者 松居 剛志 手稲溪仁会病院 消化器病センター 主任医長

研究要旨：当研究班の RESET study に登録した当センター9 症例を対象とし、PegIFN 投与前及び開始 24 週時における HBV 感染関連指標の変化を観察した。同時期に PegIFN 投与を行った抗 HBV 治療 naïve B 型慢性肝炎 9 症例を対照とし、prospective cohort の方法で検討した。RESET9 症例では平均 7.5 年の核酸アナログ(NUCs)先行投与を受けており、PegIFN への切り替え前後の HBV 感染指標は HBs 抗原量を除くと概ね測定限界以下で推移した。RESET 症例における HBs 抗原量は、投与開始 24 週時 0.31 ± 0.11 LIU/ml の減衰を示し、1 LIU/ml 以上の減衰例を除く対照例 (0.10 ± 0.15) に比して有意差を認めた。PegIFN 投与 24 週時には、RESET 症例で HBsAg 量がより大きく減衰していたことから、NUCs の先行投与が PegIFN 切り替え後の PegIFN 投与効果を修飾している可能性が示唆された。

A. 研究目的

慢性 HBV 感染症に広く投与されている核酸アナログ製剤(NUCs)を安全に中止する為の基準 (Matsumoto et. al., Hepatol Res 2012; 42: 139-149)を参考に、NA から Peg Interferon (IFN) 投与に切り替える試みが当研究班で進行中である。PegIFN 投与終了後も HBV 感染制御が良好な症例では、肝での HBV 増殖が抑制され長期的には HBV 感染の終息が期待されるため、慢性 HBV 感染の長期予後改善と医療費の軽減が見込まれる。

班研究の試みでは、NUCs 投与により HBV 増殖が抑制された B 型慢性肝炎 (CHB) 症例に対し PegIFN が投与されるが、NUCs 投与歴のない場合の PegIFN の抗 HBV 効果に比して差異が生じるか否かは不明である。

NUCs 投与から Peg IFN 投与へ切り替え後の CHB の臨床経過から、PegIFN 投与における治療前因子や NUCs を用いた前治療の影響を解明することは、NUCs 及び PegIFN の抗 HBV 効果を理解する上で一定の臨床的意義を有すると考えられる。本年度の研究では NUCs から PegIFN 投与へ切り替えた CHB における初期的抗 HBV 効果を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

2012 年 9 月以降、本班研究 (RESET study) に登録した B 型慢性肝炎 9 例を対象、同時期に PegIFN 2a を投与した抗 HBV 治療 naïve の CHB 9 例を対照とし、prospective cohort を行った。

治療前と治療後経時的に血中 HBs 抗原(Ag)、HB コア関連抗原(crAg)、HBV DNA を定量した。PegIFN 投与前に肝生検を施行し、肝組織学的検討を行い、肝組織中の HBV covalently closed circular (ccc) DNA を定量した。

(倫理面への配慮)

RESET study で定められた説明と同意を規定通りおこなった。肝生検の偶発症、血液採取時血清保存に対しては、何れも全例で文書を用いて説明し署名による同意及び承諾を得た。

C. 研究結果

NUCs から PegIFN に切り替えた RESET study CHB9 例の臨床背景を表 1 に示す。PegIFN 投与前の CHB naïve 症例に比して、NUCs から PegIFN 投与に切り替えた RESET study 症例では、PegIFN 投与前の年齢が高く、平均 7.5 年の NUCs 先行治療の結果、血液生化学、HBV 感染指標は何れも有意に低値を示した。特に、RESET 症例では、全例が HBeAg 陰性であり、その HBcrAg、

HBV DNA 量は極めて低値であった。他方、肝組織線維化程度には RESET, naiver 例の両者では明らかな差を認めなかった。

表1. PegIFN α 2a投与前の背景

	Naïve (n=9)	RESET (n=9)	p value
性, M/F, n	4 / 5	6 / 3	
年齢 [§]	40.0 ± 9.5	57.1 ± 7.3	0.0005
NUCs投与期間 [§] , 年		7.5 ± 2.6	
ALT [§] , U/L	132.7 ± 164.7	19.3 ± 8.7	0.0121
Plt [§] , 10 ⁴ /ml	19.7 ± 2.4	17.7 ± 5.3	0.0424
HBsAg [§] LIU/ml	3.7 ± 0.7	2.8 ± 1.1	0.0489
HBeAg +/-	4 / 5	0 / 9	
HBcrAg [§] , LU/ml	6.0 ± 2.0	3.0 ± 0.3	< 0.0001
HBV DNA [§] , LCp/ml	7.0 ± 1.5	2.1 ± 0.4	< 0.0001
HBV genotypes, Bj / C	1 / 8	2 / 7	
肝ccc DNA [§] , LCp/mg	4.0 ± 0.9	2.7 ± 1.0	0.0331
肝組織 [§] , F 0/1/2/3-4, n	0/8/1/0	2/4/3/0	
A 0/1/2/3, n	0/5/3/1	1/8/0/0	
NUCs中止後再燃risk Score 0 / 1-2 / 3-4		1 / 5 / 2	

*; PegIFN投与開始時, §; mean ± STD,

RESET 症例における HBV 感染指標のうち HBsAg, HBVDNA, HBcrAg の PegIFN 投与開始後変動を図 1 に示す。表 1 で示したように Naïve CHB では治療前 HBVDNA, HBcrAg 量が大きく PegIFN 治療開始後低下傾向を示すが、RESET 症例では両者は PegIFN 投与前から測定限界以下であるため治療後の変動は観察し得ない。他方、HBsAg 量は RESET 症例でも PegIFN 投与開始時に 2.8 ± 1.1 LIU/ml を示しその後も定量可能範囲で変動した。そこで HBsAg 量の PegIFN 投与 24 週後での変化量を検討した。一般に CHB naïve 例では PegIFN により HBsAg 低下が著明な少数例が存在することが知られており、これらでは HBV DNA の顕著な低下も伴い PegIFN 投与終了後の HBV 制御が容易な症例とされている。図 2a において HBsAg 1LIU/ml 以上の減衰を示す 2 例も同様な症例と推測される。一方、それ以外の 7 症例では大幅な HBsAg 減衰は観察されなかった。そこで HBsAg 量減衰が他に比して突出した 2 例をはずれ値を示す例として除き、残る 7 例を RESET 群の比較対照とし検討した(図 2b) ところ、RESET 群は naïve 群に比して 24 週時の HBsAg 低下量が有意に低下していた。他方、RESET 症例においては HBsAg 量が 1LIU/ml 以上の低下を示す例は認めなかった。

D. 考察

RESET study は、一定の NUCs 治療効果が得られた CHB 症例に対し、NUCs を安全に中止する基準を念頭に症例を選定、NUCs を PegIFN に切り替え、その終了後も良好な HBV 制御を目指す試みと理解することができる。

このたびの我々の検討は、RESET 症例の PegIFN に対する初期的治療反応性を、CHB naïve 例における PegIFN 治療反応性との比較により検討した点に新規性が存在する。RESET 症例においては PegIFN 投与により治療開始 24 週時の HBsAg 量が naïve 症例に比してより大きく減衰することが示された。この事実から、先行した NUCs 投与効果によって PegIFN 投与効果が短期的には増強している可能性が示唆された。

今後は、1) PegIFN48 週投与中および終了後の HBV 感染指標(HBV DNA, HBsAg, HBcrAg, 肝組織 ccc DNA) の推移を同様に CHB naïve 例との比較でさらに検討し、2) RESET 例における NUCs 投与前後の HBV 指標と PegIFN 切り替え後の治療経過との関連を明らかにし、3) NUCs 単独投与例との比較により RESET 例における PegIFN 投与効果を検討することが求められる。

E. 結論

PegIFN 投与 24 週時において、RESET 症例では抗 HBV 治療 naïve 例に比して HBsAg 量がより大きく減衰していることが確認された。NUCs の先行投与が PegIFN 切り替え後の PegIFN 投与効果を修飾している可能性が存在する。

F. 健康危険情報

特に記す事項はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takeshi Matsui, Jong-Hon Kang, Masanori Nojima, Akiko Tomonari, Hironori Aoki, Hajime Yamazaki, Kei Yane, Kunihiko Tsuji, Seisho Andoh, Sachiko Andoh, Hajime Sakai, Masayo Maemori, Hiroyuki Maguchi, and Yasuhito Tanaka. Reactivation of

Hepatitis B Virus in Patients With Undetectable HBsAg Undergoing Chemotherapy for Malignant Lymphoma or Multiple Myeloma. Journal of Medical Virology 2013; 85, 1900-6.

- 2) 松居剛志, 姜貞憲、田中靖人. 造血器悪性腫瘍の化学療法におけるHBV再活性化対策 - 前向き研究を踏まえて. 消化器内科 2013; 57: 606-611.

2. 学会発表

- 1) 松居剛志, 姜貞憲、田中靖人. 造血器悪性腫瘍への化学療法におけるHBV再活性化の前向き検討. 第99回日本消化器病学会総会ワークショップ3 鹿児島 2013年3月22日
- 2) 松居剛志, 姜貞憲、田中靖人. 札幌地区と名古屋地区におけるHBV genotypeの分布とその変遷 第49回日本肝臓学会総会一般演題口演 東京 2013年6月7日
- 3) 松居剛志, 姜貞憲 地方都市札幌におけるB型急性肝炎のgenotype別臨床像と変遷第40回日本肝臓学会西部会ワークショップ岐阜 2013年12月7日
- 4) Takeshi Matsuim, Jong-Hon Kang, Kazumasa Nagai, Hajime Yamazaki, Kunihiro Tsuji, Seisho Andoh, Sachiko Andoh, Hajime Sakai, Masayo Maemori, Hiroyuki Maguchi and Yasuhito Tanaka Monitoring of Hepatitis B Virus (HBV) DNA Prevents Hepatitis Due to HBV Reactivation in Malignant Lymphoma or Multiple Myeloma. Asian Pacific Association for The Study of the Liver 2014. Poster, Brisbane. 14 Mar 2014,
- 5) 松居剛志, 姜貞憲、真口宏介 HBV再活性化関連肝炎の検討 日本消化器病学会北海道支部会ワークショップ 札幌 2013年3月2日
- 6) 松居剛志, 姜貞憲 酒井基、前森雅代、安藤佐知子、安藤精章 札幌肝胆膵研究会一般演題口演 札幌 2013年6月22日
- 7) 山崎大、姜貞憲、松居剛志、青木敬則、

友成暁子、辻邦彦、児玉芳尚、桜井康雄、真口宏介慢性HBVキャリアにおける再活性化肝障害の背景 第49回日本肝臓学会総会一般演題ポスター 東京 2013年6月7日

- 8) 山崎大、姜貞憲、松居剛志、青木敬則、友成暁子、辻邦彦、児玉芳尚、桜井康雄、真口宏介山崎大、姜貞憲、松居剛志
- 9) 友成暁子、姜貞憲、松居剛志 B型慢性肝疾患におけるHBV遺伝子型別臨床像の検討 第99回日本消化器病学会総会ワークショップ2 鹿児島 2013年3月23日
- 10) 友成暁子、姜貞憲、松居剛志、青木敬則、山崎大、辻邦彦、児玉芳尚、桜井康雄、真口宏介 第49回日本肝臓学会総会一般演題ポスター 東京 2013年6月7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

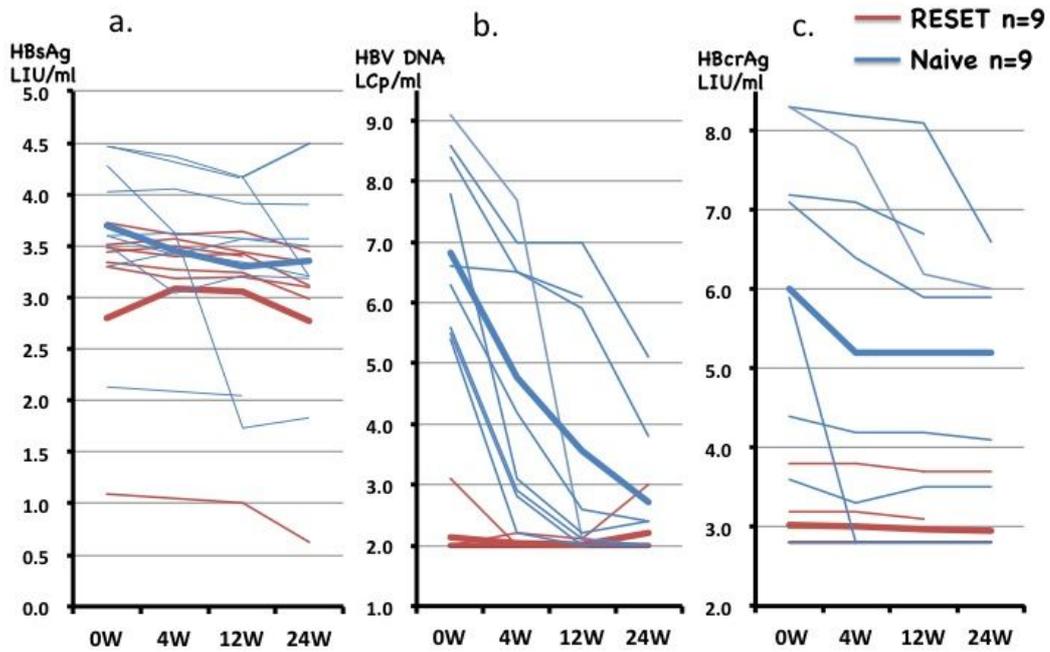


図1. PegIFN α 2a投与後のHBsAg(a), HBV DNA (b), HBcrAg(c).
RESET, naïve症例におけるHBsAg, HBV DNA, HBcrAgの平均値を太線で示す。

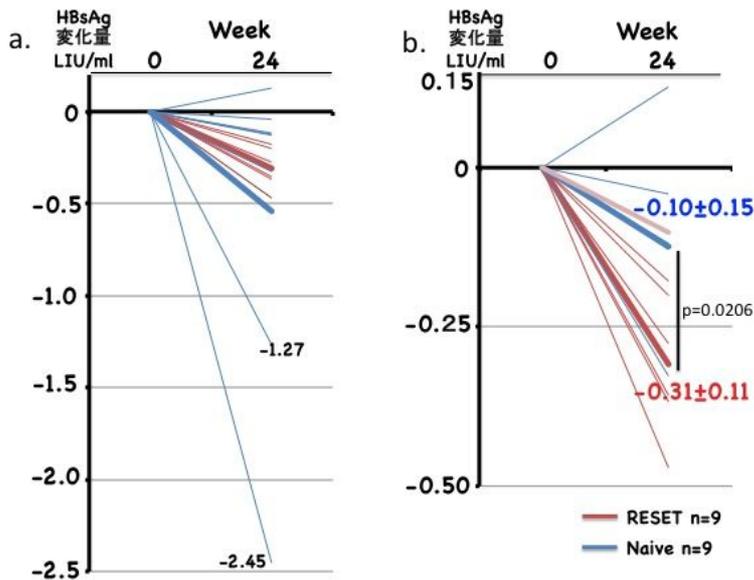


図2. PegIFN α 2a投与24w時HBsAg量の変化
a. RESET9例とnaïve9例におけるHBsAg変化量を示す。
b. naïve9例中PegIFN投与 24週時点で1LIU/ml以上の減少を示す2例を除いて両群を比較した。
RESET, naïve症例におけるHBsAg, HBV DNA, HBcrAgの平均値を太線で示す。

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

Peg-interferon Sequential 療法の効果

研究分担者 黒崎雅之 武蔵野赤十字病院消化器科 部長

研究要旨：核酸アナログの長期投与後に、Drug free と HBs 抗原の陰性化を目標として Peg-interferon による Sequential 療法を施行した 26 例と、初回治療として Peg-interferon 単独療法を行った 32 例を解析した。HBs 抗原の 1.0Log 以上の減少は、Sequential 療法では 30%、単独療法では 14%、2.0Log 以上の減少は、Sequential 療法では 15%、単独療法では 3%であった。HBs 抗原が検出感度未満になったのは、Sequential 療法では 10%だが、単独療法では 0%であった。Sequential 療法で 1.0Log 以上の HBs 抗原の減少と関連する因子は、治療前因子は核酸アナログ治療 5 年以上であり、治療後因子は ALT60 以上への上昇であった。これらがみられた場合には、約 60%の確率で HBs 抗原の 1.0Log 以上の減少がみられた。

A. 研究目的

核酸アナログの長期継続治療例に対して、Peg-interferon を Sequential に投与することで、核酸アナログ治療から離脱し、Drug free が達成できる可能性があり、さらに HBs 抗原の陰性化に促進的に働く可能性も注目されている。

本研究では、核酸アナログ長期継続治療により持続的に HBV DNA が陰性化している症例を対象として Peg-interferon を Sequential に投与する Sequential 療法と、初回治療として、Peg-interferon を投与する単独療法の効果と比較検討した。

B. 研究方法

当院で核酸アナログ長期継続治療を行った症例のうち、Peg-interferon- alpha2a を 4 週間併用投与した後に核酸アナログを中止し、以後は Peg-interferon- alpha2a を合計 48 週間投与する Sequential 療法を施行した 26 症例と、初回治療として Peg-interferon を投与した 32 例を対象として、経時的に生化学データ、HBV DNA、HBs 抗原量、HBe 抗原を測定し、治療効果をモニターした。

（倫理面への配慮）

治療導入に当たっては、治療の目的、予想されるメリット、デメリットについて文書で説明し、十分なインフォームドコンセントのもとに書面による同意を取得した。本研究については、当院の臨床研究委員会により倫理的妥当性を検討し、承認を得ている。

C. 研究結果

Sequential 療法の対象症例の平均年齢は 43 歳で、62%が HBe 抗原陰性であった。先行する核酸アナログは 77%がエンテカビルで、23%がラミブジン・アデフォビル併用療法であった。核酸アナログの平均投与期間は 4 年であった。

単独療法の平均年齢は 34 歳で、34%が HBe 抗原陰性であった。肝硬変症例は対象に含まれなかった。

Sequential 療法により、57%で HBe 抗原の陰性化が達成された。一方単独療法では 17%であった ($p=0.07$)。Sequential 療法では全例で HBs 抗原量が減少し、HBs 抗原の減衰は最終観察時点で $-0.02 \sim -3.47\text{Log/ml}$ であった。

HBs 抗原の 1.0Log 以上の減少は、Sequential 療法では 30%、単独療法では 14%、2.0Log 以上の減少は、Sequential 療法では 15%、単独療法

では3%であった。HBs抗原が検出感度未満になったのは、Sequential療法では10%だが、単独療法では0%であった。

HBs抗原の1.0Log以上の減少と背景因子の比較では、HBe抗原陰性 vs 陽性 (42% vs 13%, $p=0.32$)、年齢45歳未満 vs 45歳以上 (25% vs 33%, $p=0.99$)、IL28B TT vs TG/GG (27% vs 25%, $p=0.99$)、治療開始前HBs抗原量 <1000 vs >1000 (44% vs 18%, $p=0.34$)と、有意な因子は見いだせなかった。一方、核酸アナログ投与期間が長いほうが、治療効果は良好であった：投与期間5年以上 vs 5年未満 (57% vs 8%, $p=0.03$)。

治療後の要因として、IFN投与開始後にALTが60以上に上昇した症例に置いては有意にHBs減少効果が良好であった (60% vs 0%, $p=0.01$)。

D. 考察

核酸アナログの長期投与後にSequentialにPeg-interferonを投与することで、単独血流尾よりも良好なHBs抗原の減少が得られる。治療反応性と関連する因子は、核酸アナログの投与期間と、治療後のALT上昇であり、Sequential療法においてはインターフェロンの免疫賦活作用によるALTの上昇が、HBV感染細胞の排除を反映する可能性がある。

E. 結論

核酸アナログの長期継続治療後にPeg-interferonをSequentialに投与することで、HBs抗原のさらなる減少を目指すことが可能である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kurosaki M, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Izumi N. Serum HBV RNA as a possible marker of HBV replication in the liver during nucleot(s)ide analogue therapy. *J Gastroenterol* 2013; 48:777-778.

2. 学会発表 なし

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
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）

分担研究報告書

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

研究分担者 向坂 彰太郎 福岡大学消化器内科 教授

研究協力者 森原 大輔 福岡大学消化器内科 講師

研究要旨：B型慢性肝疾患に対する核酸アナログ（NA）治療中止判定をする際に、中止時のHBs抗原量、HBcr抗原量をスコア化し、合計スコアから再燃リスクを予測できることが示されている。エンテカビル（ETV）開始時点で、どのような症例が同薬中止に際して、再燃リスクが低いグループになるのかについて検討した。

ETV開始後にHBs抗原量、HBcr抗原量の測定が可能であった109例を対象とした。再燃リスクスコアは、厚生労働省研究班の「NA薬治療における治療中止に伴うリスク回避のための指針2012」に基づき算出した。低リスク群、中リスク群、高リスク群はそれぞれ、8例（7.3%）、43例（39.4%）、58例（53.2%）で認めた。低または中リスク群となる因子についてROC解析を行った結果、ETV開始時のHBcr抗原量（AUC=0.901、Cut-off：4.6LogU/ml、感度：0.952、特異度：0.792）、HBs抗原量（AUC=0.855、Cut-off：2028 IU/ml、感度：0.917、特異度：0.667）が優れた予測因子となることが分かった。

ETV開始時点におけるHBcr抗原量、HBs抗原量の結果で、再燃リスクの低いグループであるか否かの予測ができる。再燃リスクを予測することで、個々の患者における治療目標、Drug-freeへ向けての治療計画を立てる上で貢献できると思われる。

A. 研究目的

厚生労働省研究班「B型肝炎の核酸アナログ薬（NA）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IFN治療の有用性に関する研究」において、NA治療の中止に関する指針が作成された。しかしながら、NA治療開始時点で、どのような患者がこの中止基準を満たすかどうかは不明である。本研究では、エンテカビル（ETV）開始時点で、どのような症例がより低い再燃リスクとなるのかについて検討した。

B. 研究方法

対象は、2006年11月から2013年8月まで当科および関連施設においてETVを開始した症例のうち、3ヵ月以上ETV投与を行った109例（NA naive）である。厚生労働省研究班の「核酸アナログ治療における治療中止に伴うリスク回避のための指針2012」に基づき、HBs抗原量については80 IU/ml未満を0点、80以上800未満 IU/mlを1点、800 IU/ml以上を2点、HBcr抗原量については3.0 LogU/ml未満を0点、3.0以上4.0

未満 LogU/mlを1点、4.0 LogU/ml以上を2点とした。HBs抗原量、HBcr抗原量の合計スコアが、0点を低リスク群、1~2点を中リスク群、3~4点を高リスク群とし、どのような症例がより低いリスク群になるかについて、患者背景、ウイルス側因子、ETV投与期間について検討した。

（倫理面への配慮）

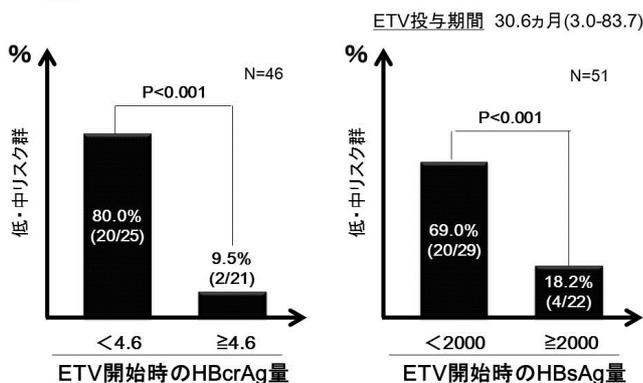
患者血清保存ならびにB型肝炎ウイルス関連マーカーの測定に際し、疫学研究に関する倫理指針に従った研究計画書を作成し、当大学での審査を受け、本研究の実施に関し受理されている（受理番号：12-8-08）。また、十分なインフォームドコンセントの後に患者血清を採取し、匿名化された状態で凍結保存している。

C. 研究結果

ETV開始時の患者背景は、男/女=58/51例、年齢中央値54歳（28-88）、AST 50 IU/L（11-795）、ALT 52 IU/L（9-1206）、HBe抗原+/- = 31/73、HBe抗体+/- = 77/24、HBV DNA 6.4 LogIU/ml

(<2.1->9.1)、HBV genotype A/B/C=2/7/84 であった。また、51 例において HBs 抗原量、46 例において HBcr 抗原量の定量測定が可能であり、それぞれ HBs 抗原量 1338 IU/ml (0.09-75180)、HBcr 抗原量 4.5 Log U/ml (3.0-92.7) であった。ETV 投与期間は中央値 40.9 カ月 (2.7-83.7) であった。低リスク群、中リスク群、高リスク群は、それぞれ、8 例 (7.3%)、43 例 (39.4%)、58 例 (53.2%) で認めた。低または中リスク群となる予測因子を、ETV 開始時の因子を用いて多変量解析を行った結果、HBcr 抗原量 <4.6 Log U/ml (odds ratio [OR] 119.8, $P < 0.001$)、HBs 抗原量 <2000 IU/ml (OR 16.1, $P = 0.007$) の 2 因子が独立因子として抽出された。HBcr 抗原量 <4.6 Log U/ml であれば 80.0% (20/25)、HBs 抗原量 <2000 IU/ml であれば 69.0% (20/29) が低または中リスク群となっていた (図 1)。また、ROC 解析を行った結果、ETV 開始時の HBcr 抗原量 (AUC=0.901、Cut-off: 4.6 Log U/ml、感度: 0.952、特異度: 0.792)、HBs 抗原量 (AUC=0.855、Cut-off: 2028 IU/ml、感度: 0.917、特異度: 0.667) は優れた予測能を有していた。

図 1



D. 考察

B 型慢性肝疾患に対する NA 治療において、長期投与に伴う薬剤耐性変異株の出現の可能性や長期投与における安全性、医療経済的な問題の観点から、中止可能と判断される症例を選択して NA 製剤を中止することが重要である。このため、厚生労働省研究班「B 型肝炎の NA 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 IFN 治療の有用性に関する研究」において、NA 中止に関する指針が作成された。この指針は NA

投与中に治療中止が可能かどうかを予測および判断するものである。しかしながら、実際に NA 中止可能と判断されても、NA 治療中止の患者同意が得られず断念せざるを得ないことを多く経験する。

本研究において、ETV 開始時に HBcr 抗原量 <4.6 Log U/ml または HBs 抗原量 <2000 IU/ml であれば、高率に低または中リスク群に至ることが判明した。また、ROC 解析の結果、いずれの因子も高い予測能を有していた。

ETV を開始する際に “HBcr 抗原量 <4.6 Log U/ml または HBs 抗原量 <2000 IU/ml ”であれば、治療経過中の NA 中止も含めた治療計画設計を可能にし、また NA 中止をする際の患者認容性の向上にも貢献できると思われる。

E. 結論

ETV 開始時点における HBcr 抗原量、HBs 抗原量をみることで、より低い再燃リスクになりえるか予測できると思われる。再燃リスクを予測することで、個々の患者における治療目標、Drug-free へ向けての治療計画を立てる上で貢献できると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mineko Shibayama, Jesus Serrano-Luna, Tetsuro Sohda, Motoko Kawashima, Eri Yamauchi, Takashi Tanaka, Shu-ichi Ueda, Daisuke Morihara, Akira Anan, Yasuaki Takeyama, Makoto Irie, Kaoru Iwata, Satoshi Shakado, Shotaro Sakisaka, Restoration of albumin production by nucleoside analogue therapy in patients with chronic hepatitis B. Med Mol Morphol. epub ahead of print, 2013

2. 学会発表

- 1) 吉兼誠、渡邊洋、向坂彰太郎 当院におけるB型急性肝炎症例の検討 第40回日本肝臓学会西部会 ワークショップ 岐阜
2013年12月7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

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanaka E, Matsumoto A.	Guidelines for avoiding risks resulting from discontinuation of nucleos(t)ide analogues in patients with chronic hepatitis B.	Hepatol Res			In press
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			In press
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
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
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	9 (1)	e86007	2014
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	51 (11)	3484-3491	2013

Kodama T, Hikita H, Kawaguchi T, Saito Y, Tanaka S, Shigekawa M, Shimizu S, Li W, Miyagi T, Kanto T, <u>Hiramatsu N</u> , 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	288 (42)	30009-18	2013
Kawaguchi T, Kodama T, Hikita H, Tanaka S, Shigekawa M, Nawa T, Shimizu S, Li W, Miyagi T, <u>Hiramatsu N</u> , Tatsumi T, Takehara T.	Carbamazepine promotes liver regeneration and survival in mice.	J Hepatol	59 (6)	1239-45	2013
Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, <u>Suzuki Y</u> , Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H.	Long-term entecavir treatment reduces hepatocellular carcinoma incidence in patients with hepatitis B virus infection.	Hepatology	58	98-107	2013
Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, Akuta N, <u>Suzuki Y</u> , Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Kumada H.	Clearance of hepatitis B surface antigen during long-term nucleot(s)ide analog treatment in chronic hepatitis B: results from a nine-year longitudinal study.	J Gastroenterol	48	930-941	2013
Suzuki F, Hosaka T, <u>Suzuki Y</u> , Akuta N, Sezaki H, Hara T, Kawamura Y, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kobayashi M, Watahiki S, Mineta R, Kumada H.	Long-term efficacy and emergence of multidrug resistance in patients with lamivudine-refractory chronic hepatitis B treated by combination therapy with adefovir plus lamivudine.	J Gastroenterol	Epub ahead of print		2013
Akuta N, Suzuki F, Kobayashi M, Hara T, Sezaki H, <u>Suzuki Y</u> , Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H.	Correlation between hepatitis B virus surface antigen level and alpha-fetoprotein in patients free of hepatocellular carcinoma or severe hepatitis.	J Med Virol	Epub ahead of print		2013
Kobayashi M, Hosaka T, Suzuki F, Akuta N, Sezaki H, <u>Suzuki Y</u> , Kawamura Y, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Miyakawa Y, Kumada H.	Seroclearance rate of hepatitis B surface antigen in 2,112 patients with chronic hepatitis in Japan during long-term follow-up.	J Gastroenterol	Epub ahead of print		2013

Ito K, Yotsuyanagi H, <u>Yatsushashi H</u> , 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, Mizokami M; Japanese AHB Study Group.	Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults.	Hepatology	59 (1)	89-97	2014
Enomoto M, <u>Nishiguchi S</u> , Tamori A, Kobayashi S, Sakaguchi H, Shiomi S, Kim SR, Enomoto H, Saito M, Imanishi H, Kawada N.	Entecavir and interferon- α sequential therapy in Japanese patients with hepatitis B e antigen- positive chronic hepatitis B.	J Gastroenterol	48	397-404	2013
Enomoto M, Tamori A, <u>Nishiguchi S</u> , Kawada N.	Combination therapy with a nucleos(t)ide analogue and interferon for chronic hepatitis B: simultaneous or sequential.	J Gastroenterol	48	999-1005	2013
Kosaka K, Hiraga N, Imamura M, Yoshimi S, Murakami E, Nakahara T, Honda Y, Ono A, Kawaoka T, <u>Tsuge M</u> , Abe H, Hayes C.N, Miki D, Aikata H, Ochi H, Ishida Y, Tateno C, Yoshizato K, Sasaki T, Chayama K.	A novel TK-NOG based humanized mouse model for the study of HBV and HCV infections.	Biochem Biophys Res Commun	441 (1)	230-5	2013
<u>Tsuge M</u> , Chayama K.	Availability of monitoring serum HBV DNA plus RNA during nucleot(s)ide analogue therapy.	J Gastroenterol	48 (6)	779-80	2013
Masaki K, Takaki S, Hyogo H, Kobayashi T, Fukuhara T, Naeshiro N, Honda Y, Nakahara T, Ohno A, Miyaki D, Murakami E, Nagaoki Y, Kawaoka T, <u>Tsuge M</u> , Hiraga N, Hiramatsu A, Imamura M, Kawakami Y, Aikata H, Ochi H, Takahashi S, Arihiro K, Chayama K.	Utility of controlled attenuation parameter measurement for assessing liver steatosis in Japanese patients with chronic liver diseases.	Hepatol Res	Epub ahead of print		2013

Arataki K, Hayes C.N, Akamatsu S, Akiyama R, Abe H, <u>Tsuge M</u> , Miki D, Ochi H, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Aikata H, Kawaoka T, Kawakami H, Ohishi W, Chayama K.	Circulating microRNA-22 correlates with microRNA-122 and represents viral replication and liver injury in patients with chronic hepatitis B.	J Med Virol	85 (5)	789-98	2013
<u>Tsuge M</u> , Murakami E, Imamura M, Abe H, Miki D, Hiraga N, Takahashi S, Ochi H, Nelson Hayes C, Ginba H, Matsuyama K, Kawakami H and Chayama K.	Serum HBV RNA and HBeAg are useful markers for the safe discontinuation of nucleotide analogue treatments in chronic hepatitis B patients.	J Gastroenterology	48 (10)	1188-204	2013
Miyauchi T, <u>Kanda T</u> , Shinozaki M, Kamezaki H, Wu S, Nakamoto S, Kato K, Arai M, Mikami S, Sugiura N, Kimura M, Goto N, Imazeki F, Yokosuka O.	Efficacy of lamivudine or entecavir against virological rebound after achieving HBV DNA negativity in chronic hepatitis B patients.	Int J Med Sci	10 (6)	647-652	2013
Matsui T, <u>Kang JH</u> , Nojima M, Tomonari A, Aoki H, Yamazaki H, Yane K, Tsuji K, Andoh S, Sakai H, Maemori M, Maguchi H, Tanaka Y.	Reactivation of hepatitis B virus in patients with undetectable HBsAg undergoing chemotherapy for malignant lymphoma or multiple myeloma.	J Med Virol	85	1900-1906	2013
<u>Kurosaki M</u> , Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Izumi N.	Serum HBV RNA as a possible marker of HBV replication in the liver during nucleot(s)ide analogue therapy.	Journal of Gastroenterology	48	777-778	2013
Shibayama M, Serrano-Luna J, Sohda T, Kawashima M, Yamauchi E, Tanaka T, Ueda SI, Morihara D, Anan A, Takeyama Y, Irie M, Iwata K, Shakado S, <u>Sakisaka S</u>	Restoration of albumin production by nucleoside analogue therapy in patients with chronic hepatitis B.	Med Mol Morphol	epub ahead of print		2013