



Title	B型慢性肝炎患者における核酸アナログ長期治療によるHBs抗原減少効果の検討
Author(s)	梅村, 真知子
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13288号
Issue Date	2018-09-25
DOI	10.14943/doctoral.k13288
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/90695
Type	theses (doctoral)
Note	配架番号 : 2423
File Information	Machiko_Umemura.pdf



[Instructions for use](#)

学位論文

B型慢性肝炎患者における核酸アナログ長期治療による

HBs 抗原減少効果の検討

(Long-term effects of nucleoside and nucleotide analogs
on hepatitis B surface antigen reduction in chronic
hepatitis B patients)

2018年9月

北海道大学

梅村 真知子

学位論文

B型慢性肝炎患者における核酸アナログ長期治療による
HBs 抗原減少効果の検討

(Long-term effects of nucleoside and nucleotide analogs
on hepatitis B surface antigen reduction in chronic
hepatitis B patients)

2018年9月

北海道大学

梅村 真知子

目 次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
緒言	2 頁
略語表	7 頁
研究方法	8 頁
研究結果	13 頁
考察	37 頁
総括	43 頁
謝辞	44 頁
引用文献	45 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に投稿中である。

1. Machiko Umemura, Koji Ogawa, Kenichi Morikawa, Taku Shigesawa, Kazuharu Suzuki, Akihisa Nakamura, Masatsugu Ohara, Naoki Kawagishi, Tomoe Shimazaki, Megumi Kimura, Takaaki Izumi, Masato Nakai, Takuya Sho, Goki Suda, Mitsuteru Natsuizaka, Kota Ono, Kazumoto Murata, Masaya Sugiyama, Masashi Mizokami, and Naoya Sakamoto.

Long-term effects of nucleos(t)ide analogs on hepatitis B surface antigen reduction in chronic hepatitis B patients
Journal of Gastroenterology (投稿中)

本研究の一部は以下の学会にて発表予定である。

1. 梅村真知子、森川賢一、坂本直哉
B型慢性肝炎患者における核酸アナログ長期治療によるHBs抗原減少効果の検討
第42回日本肝臓学会東部会、2018年12月7日～12月8日、東京

緒 言

B型肝炎ウイルス(hepatitis B virus, HBV)は、ヘパドナウイルス科に属する約3.2 kbの不完全二本鎖環状DNAウイルスで(Grzegorzewska et al., 2016; Hoofnagle et al., 2007)、本邦では約90万人のHBVキャリアが存在すると推定されている(Tanaka et al., 2011)。世界には約2億5700万人のHBVキャリアが存在すると推定されており、世界的な健康問題となっている(World Health Organization, 2017)。母子感染による垂直感染、乳幼児期の水平感染、医療行為や性交渉などによる水平感染が主な感染経路となる。成人におけるHBV初感染の大部分は一過性感染で経過するが、一部慢性化し、キャリアとなる。免疫応答の未発達な乳幼児期に垂直感染や水平感染によりHBVに感染すると、9割以上の症例でHBV持続感染が成立する。大部分は、免疫応答が発達する思春期頃に肝炎を発症するが、若年期にhepatitis B e (HBe)抗原陽性からHBe抗原陰性へとHBe抗原セロコンバージョンを起こして非活動性キャリアとなり、病態が安定する。一部の症例では、hepatitis B surface (HBs)抗原が消失し、HBs抗体が出現するHBs抗原セロコンバージョンがおこり、臨床的寛解へと至る。HBV持続感染者での自然経過におけるHBs抗原消失率は年率約1%と考えられている。しかし、残りの症例はHBV感染によって引き起こされるB型慢性肝炎が持続し、肝障害の進行により年率約2%で肝硬変へと進展、肝硬変からは年率5-8%の肝細胞癌が発生し、最終的に肝不全へと至る予後不良の疾患である(Fattovich et al., 2008a; Fattovich et al., 2008b; Trepo et al., 2014)。

日本肝臓学会によるB型肝炎治療ガイドライン(Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of Hepatology, 2014)では、HBV持続感染者に対する抗ウイルス療法の治療適応は、年齢、病期、肝病変の程度、病態進行のリスク、特に肝硬変や肝細胞癌への進展リスクを基に判断するとされ、治療開始基準は、慢性肝炎においてHBV DNA量高値($4.0 \log_{10}$ copies/mL以上)かつ肝障害を認める症例、肝硬変においてはHBV DNA陽性例となっている。HBV持続感染者に対する抗ウイルス療法の短期治療目標として、alanine aminotransferase (ALT)持続正常化、HBe抗原陰性かつHBe抗体陽性状態を保つこと、HBV DNA増殖抑制の3項目が挙げられている。HBV持続感染者における最も有用なサロゲイトマーカーをHBs抗原とし、抗ウイルス治療の長期目標は“HBs抗原消失”に設定されている。これらの短期・長期目標を達成し、「肝炎の活動性と肝線維化進展を抑制することにより、肝不全や肝癌発生を抑制し、患者の生命予後とQOLを改善すること」が、HBV持続感染者における治療目標と定めている(図1)。これらの目標を達成するために、我が国でのHBV治療は、インターフェロン(Interferon, IFN)と核酸アナログ製剤(nucleoside and nucleotide

analogs; NAs) が用いられている。

B型慢性肝炎の治療目標

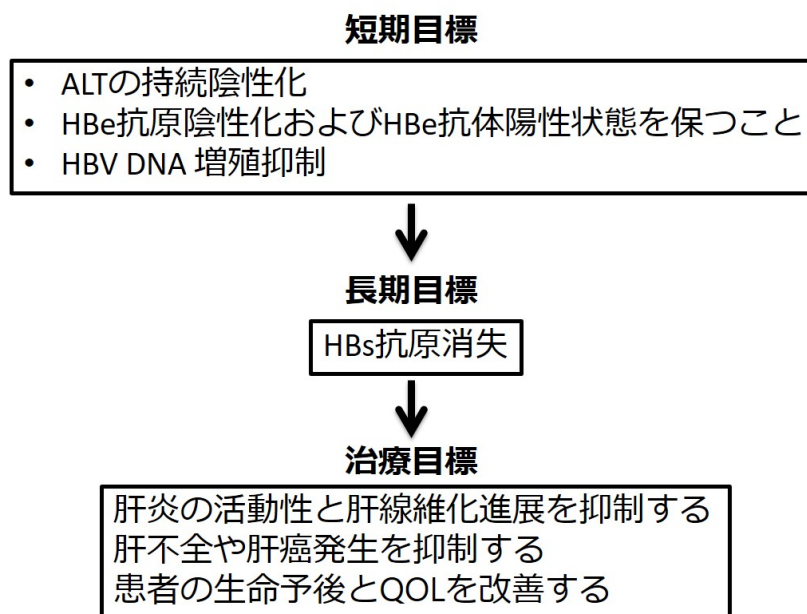


図 1. B 型慢性肝炎の治療目標、文献(Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of Hepatology, 2014) より作成

1987 年に最初の IFN 治療が開始され、当初は投与期間が 28 日間に限定されていたが、2002 年には 6 か月間に延長され、さらに 2011 年になってペグインターフェロン (pegylated IFN, Peg-IFN) が使用可能となり、治療成績が向上している。IFN は感染肝細胞において抗ウイルス活性を有する蛋白誘導による直接的な HBV 抑制作用とともに、リンパ球やマクロファージなどに作用し、免疫賦活を介した間接的な抗ウイルス作用を有している。治療期間は限定されており、薬剤耐性ウイルスも出現せず、治療反応例では投与後も治療効果が持続する。一方、治療反応例は約 30 %前後にとどまり (Buster et al., 2009)、治療反応の投与前予測は困難で、週一回の通院を要し、様々な副作用を高頻度に伴う。また、肝硬変症例への適応も認められていない。これらことから、現在実臨床では使用される症例は、限定的である (表 1)。

表 1. Peg-IFN と核酸アナログ製剤：薬剤特性、文献(Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of Hepatology, 2014) より作成

	Peg-IFN	ETV・TDF・TAF
作用機序	抗ウイルス蛋白の誘導 免疫賦活作用	直接的ウイルス複製阻害
投与経路	皮下注射	経口投与
治療期間	期間限定(24~48週)	原則として長期継続投与
薬剤耐性	なし	まれ
副作用頻度	高頻度かつ多彩	少ない
催奇形性・発癌	なし	否定できない
妊娠中の投与	原則不可	危険性は否定できない
非代償性肝硬変への投与	禁忌	可能
治療反応例の頻度	予測困難	非常に高率
治療中止後の効果持続	セロコン例では高率	低率

NAs は、ヒト免疫不全ウイルス(human immunodeficiency virus, HIV) 感染症の治療薬として開発された抗ウイルス剤であるが、HBV 増殖に必須な逆転写酵素を阻害することがわかり、本邦では2000年から2006年にかけてラミブジン(lamivudine, LAM)、アデホビル(adeфовir dipivoxil, ADV)、エンテカビル(entecavir hydrate, ETV)がB型慢性肝炎に対して保険適用となり、さらに2014年にはテノホビル・ジソプロキシシルフマル酸塩(tenofovir disoproxil fumarate, TDF)、2017年にはテノホビル・アラフェナミド(tenofovir alafenamide, TAF)が保険適用となった。NAs は、HBV の逆転写酵素阻害により、直接的抗ウイルス作用としてウイルスの複製を抑制するが、宿主核内に存在するHBV ゲノムに対しての影響はごくわずかで、ウイルスそのものの排除には寄与しないと考えられている。NAs は構造によってヌクレオシドに対するアナログと、ヌクレオチドに対するアナログに大別される。ヌクレオシドアナログには、デオキシシチジンに対するアナログであるLAM、グアニンに対するアナログであるETVがあるが、LAM は薬剤耐性株の出現率が高く、現在では新規治療には使用されていない。一方、抗ウイルス効果が高く、耐性株出現率も低いエンテカビルは広く使用されている。ヌクレオチドアナログであるADVはアデニンのアナログでLAM耐性株にも有効だが、腎機能障害等の副作用のためこちらも現在は新規投与されていない。テノホビルは、デオキシアデノシン3リン酸のアナログであり、TDF、TAFはテノホビルのプロドラッグである。現在第一選択薬となっているETV、TDF、TAFは、耐性変異株出現

率がまれであり、副作用も少なく、治療前因子にかかわらず高率にHBV DNA 陰性化とALT 正常化が得られるという大きな利点がある(表1)。NAs 治療はアメリカ、ヨーロッパ、アジア太平洋地域、日本における慢性B型肝炎治療ガイドラインに収載・推奨されており、ウイルス肝炎の進展や肝細胞癌のリスクを抑制することにより、HBV 関連疾患による死亡率を抑えることが広く知られている(Drafting Committee for Hepatitis Management and the Japan Society of Hepatology, 2014; European Association for the Study of the Liver, 2017; Liaw et al., 2008; Terrault et al., 2016)。しかし、治療の中断により高率に肝炎の再燃を来すことから、患者はほぼ終生にわたりNAs治療の継続を強いられる(Liang et al., 2015; Simonetti et al., 2010)。NAs治療によりどのような症例がHBs抗原陰性化に至るのか、どの核酸アナログがHBs抗原減少効果に優れているのか、あるいはHBs抗原陰性化に関わる因子には強い関心が寄せられているが、未だ長期間観察におけるエビデンスは得られていない。

近年、NAs治療でもヌクレオシドアナログとヌクレオチドアナログでHBs抗原減少効果に差があるという短期観察結果が、報告されてきている。イタリアから遺伝子型DのHBs抗原陰性症例に限った報告では、ETV、TDFを含む5種のNAsの2年間投与を行なった試験において、TDF投与例では他の薬剤投与例に比較して有意に血中HBs抗原が減少していた(Bogliione et al., 2013)。また、本邦からETVとTDFを前向きに無作為割り付けで1年間直接比較したところ、TDF投与例でのHBs抗原低下量がETV投与例より有意に多かった(Koike et al., 2018)。これらのHBs抗原低下に関与する因子として、IFN- λ 3(IFN- λ 3)が注目されている。IFN- λ はIII型インターフェロンと呼ばれる生体内のサイトカインで、ウイルス、バクテリア、真菌、寄生虫などにより誘導され、JAK-STAT系を介しIFN stimulated genes (ISGs)を誘導することで強い免疫応答を發揮することが知られている。IFN- λ のなかでもIFN- λ 3は、C型慢性肝炎に対するPeg-IFN+リバビリン併用療法における治療効果(Tanaka et al., 2009)やHBVワクチン接種によるHBs抗体陽性化率(Grzegorzewska et al., 2017)に関与する事が知られている。NAs治療患者の血清を用いた検討では、ヌクレオチドアナログ(ADVおよびTDF)投与例で、ヌクレオシドアナログ(LAMおよびETV)投与症例に比較し血清IFN- λ 3が有意に上昇していることが報告された。基礎研究の検討で大腸ガン由来細胞株(WiDr)にヌクレオチドアナログ(ADVおよびTDF)を添加したところ、IFN- λ 3が誘導され、その培養上清は肝癌由来細胞株(Huh-7、HepG2)においてISGsを誘導し、HBs抗原恒常発現細胞株(PLC/PRF/5)においてはHBs抗原産生が抑制された。このIFN- λ 3誘導は、ヌクレオシドアナログ(LAMおよびETV)添加によっては認められなかった(Murata et al., 2018)。これらの結果は、ヌクレオチドアナログが直接的な抗ウイルス作用を有するのみなく、宿主免疫に対する間接的免疫賦活作用を有している可能性を示唆するものである。し

かし、ヌクレオチドアナログによるIFN- λ 3誘導とHBs抗原減少効果について、直接相関関係を示した報告はない。

我々は、長期間観察においてもヌクレオチドアナログ投与群の方がヌクレオシドアナログ投与群よりもHBs抗原減少効果に優れているという仮説をたてた。それを証明するため、本研究では実臨床におけるNAs長期間治療の効果を検討した。主要評価項目としてHBs抗原減少量、副次評価項目としてHBV DNA陰性化率、ALT正常化率、HBe抗原陽性症例におけるHBe抗原セロコンバージョン率、HBs抗原セロクリアランス率、HBs抗原セロコンバージョン率について、観察期間中1年毎に検討を行なった。また事後解析として、治療に伴う血清IFN- λ 3値の変化に着目し、ヌクレオシドアナログ投与群とヌクレオチドアナログ投与群で治療開始前と治療開始1年後の保存血清を用いて比較検討を行い、IFN- λ 3が治療効果に及ぼす影響について検討を行なった。

本研究では、ヌクレオチドアナログ投与群(ADV/TDF群)はHBV DNA陰性化率、ALT正常化率、HBe抗原セロコンバージョン率等の治療成績については、ヌクレオシドアナログ投与群(ETV群)と有意差を認めなかったが、HBs抗原減少量については有意差をもって多く、特に治療7年目以降で差が出てくる可能性が示唆された。観察期間中、ヌクレオシドアナログ投与群(ETV群)では3例2.5%に、ヌクレオチドアナログ投与群(ADV/TDF群)では2例3.6%にHBs抗原セロクリアランスを認めた。HBs抗原セロクリアランスまでの期間を試算すると、ヌクレオチドアナログ投与群(ADV/TDF群)は約27年、ヌクレオシドアナログ投与群(ETV群)は約87年で、約3.23倍短縮可能であった。血清IFN- λ 3値の検討では、ヌクレオチドアナログ投与群(ADV/TDF群)では、ヌクレオシドアナログ投与群(ETV群)よりも、投与後1年目血清でIFN- λ 3が有意に誘導されていた。血清IFN- λ 3値とHBs抗原減少量の検討においてヌクレオチドアナログ投与群(ADV/TDF群)では、遺伝子型C、治療開始前HBs抗原量が比較的少なく、NAs治療反応性が良い症例では、血清IFN- λ 3値とHBs抗原減少量が多い症例と関連しており、IFN- λ 3がHBs抗原早期低下の指標となる可能性が示唆された。この相関は、ヌクレオシドアナログ投与群(ETV群)では認められなかった。治療開始1年でHBs抗原が $0.1 \log_{10}$ IU/mL低下に関連する因子として、多変量解析で年齢、ヌクレオチドアナログ投与(ADV/TDF治療)が抽出された。

本研究で明らかとなったNAs製剤によるHBs抗原低下効果の差を、今後多施設共同研究によるヌクレオシドアナログ投与群(ETV単独投与群)とヌクレオチドアナログ投与群(TAF単独投与群)の前向き観察研究を長期間行うことが、さらなる検証に必要と考えられた。

略 語 表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである

AASLD,	American Association for the Study of Liver Disease
ADV,	adefovir dipivoxil
EIA,	enzyme-linked immunosorbent assay
ETV,	entecavir hydrate
ALT,	alanine aminotransferase
HBe,	hepatitis B e
HBV,	hepatitis B virus
HBV DNA,	hepatitis B virus deoxyribonucleic acid
HBs,	hepatitis B surface
HIV,	human immunodeficiency virus
IFN,	interferon
IFN- λ 3,	interfereon-lambda3
ISGs,	interferon stimulated genes
LAM,	lamivudine
NAs,	nucleoside and nucleotide analogs
Peg-IFN,	Pegylated IFN
RT-qPCR,	real-time polymerase chain reaction
TAF,	tenofovir alafenamide
TDF,	tenofovir disoproxil fumarate

研究 方 法

1. 患者

北海道大学病院において、2003年6月から2016年10月の間に1年間以上のETV、ADV、TDFによるNAs治療を受けた患者176名を研究対象とした。治療導入は、日本肝臓学会B型肝炎治療ガイドラインに基づき薬剤の承認年度に応じて行われ、ADV投与はLAM投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例32例およびETV投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例2例の計34例に施行された。TDF投与はLAM投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例2例およびETV投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例8例、TDF単独投与9例、ETV投与後1年以内の早期に嘔気等の臨床症状により薬剤変更した2例の計21例に施行された。これらADV/TDF治療を受けた総計55名をヌクレオチドアナログ投与群とし、ETV単独投与を受けた121例をヌクレオシドアナログ投与群として検討を行った。

(1) 対象患者

北海道大学病院に通院または入院中のB型慢性肝炎(但し、代償性肝硬変患者を含む)患者

(2) 選択基準

- ① 同意取得時において年齢が20歳以上の患者
- ② 本試験参加について、試験参加前に本人に十分な説明を行い、本人による同意文書が得られた患者
- ③ HBV持続感染者で、かつ以下の除外基準に抵触しないB型慢性肝炎患者
- ④ 核酸アナログ製剤投与中、またはこれから受ける予定の患者

(3) 除外基準

- ① コントロールの困難な心疾患(心筋梗塞、心不全、不整脈等)のある患者
- ② 核酸アナログ製剤に過敏症の既往歴のある患者
- ③ 添付文書にある併用禁忌の薬剤を投与中の患者
- ④ その他、主治医が本検討に際し、参加が不相当であると判断した患者
- ⑤ その他、研究責任者が被験者として不相当と判断した患者
 - ・ 同等のクラス間の薬剤変更症例(TDF治療を受けた症例のうちADV治療を先行していた症例、ETV治療を受けた症例のうちLAM治療を先行していた症例)
 - ・ 非代償性肝硬変症例
 - ・ 自己免疫性肝疾患、アルコール性肝障害、C型肝炎ウイルス、HIV合併例
 - ・ 肝移植既往
 - ・ 免疫抑制療法併用

これらの患者のうち、保存血清で測定可能であったETV治療群51名、ADV/TDF群43名の治療開始時、治療開始1年後の血清でIFN- λ 3値を測定した。

本研究は、北海道大学病院倫理委員会の承認を得て行われ（IRB-017-0013）。全ての対象患者に 1964 年ヘルシンキ宣言に拠るヒトを対象とする医学研究の倫理原則に基づきインフォームドコンセントを行い、書面での同意を得た。この研究は UMIN 臨床試験に登録している（UMIN000029439）。

2. 研究の方法

(1) 研究の種類・デザイン

レトロスペクティブ観察研究

(2) 観察の対象となる治療方法

ラミブジン 100 mg 一日一回投与

アデホビル ピボキシル 10 mg 一日一回投与

エンテカビル 0.5 mg 一日一回投与

テノホビル ジソプロキシルマル酸塩 300 mg 一日一回投与

(3) 観察および検査項目とその実施方法

以下の項目について、3 ヶ月～1 年毎に観察および検査を実施し、そのデータを本研究に利用する。7)、8)、10) は本研究のために実施するものであり、各々の測定のために採血量が 7) のために約 5 ml (初回のみ)、8) と 10) で約 7 ml 増加する (トータル最大 292 ml / 10 年間)。1)～6)、9)、11) はすべて日常診療で実施される項目であり、その頻度も日常診療と同等である (表 2)。

【診療情報】

性別、年齢、家族歴、身長、肝組織診断、治療歴、アレルギーの有無、既往歴、合併症の有無

【血液等検査項目】

- 1) ウイルス側因子：HBV-DNA、HBs 抗原、HBe 抗原、HBe 抗体、HBc 抗体、HB コア関連抗原
 - 2) 末梢血液検査：WBC、WBC 分画、Hb、Plt
 - 3) 肝機能検査：AST、ALT、 γ -GT、ALP
 - 4) 生化学検査：LDH、BUN、総ビリルビン、直接ビリルビン、ALP、 γ -GTP、総タンパク、アルブミン、クレアチニン、Na、K、Cl、
 - 5) 肝線維化・腫瘍マーカー：P-III-P、ヒアルロン酸、IV 型コラーゲン 7S、M2BPGi、AFP
 - 6) 耐糖能関連検査：空腹時血糖、インスリン、HbA1c、脂質代謝検査：TC、LDL-C、TG
- 凝固能検査
- 7) IL28B SNP (初回のみ)
 - 8) 血清 IFN- λ 3
 - 9) (任意) フィブロスキャンによる肝硬度測定
 - 10) 保存血清 7 ml

11) 肝画像検索 (年1または2回)

なお、血清保存に関しては、臨床経過ではすぐに判明しないHBV耐性株の出現に対して、後日測定する必要性が出て来た場合、遡って以前の耐性株の有無を調べることは臨床上非常に意義のあることであり、保存血清を要する。また現在では上記項目以外に明らかにされていない効果予測因子に近い将来明らかになった場合、その予測因子を調べるために血清保存する。なお、新たな検討を加える場合には、再度自主臨床研究審査委員会に具体的に調べる内容を報告する。保存した血清は、研究終了5年後にはすべて廃棄する。

表2. 検査測定場所および観察期間

● : 保存血清 (血清 IFN-λ3) ○ : 院内測定 △ : 可能な限り実施する

項目	測定場所	観察間隔
血液一般検査	○	3ヶ月毎
肝機能検査	○	3ヶ月毎
生化学検査	○	3ヶ月毎
肝線維化マーカー	○	6ヶ月毎
腫瘍マーカー	○	3ヶ月毎
脂質代謝検査	○	3ヶ月毎
耐糖能関連検査	○	3ヶ月毎
ウイルス側因子 (但し HBe 抗原、HBe 抗体、HBc 抗体は初回のみ)	○	1年毎
血清 IFN-λ3	●	1年毎
血清保存 (7mL)	●	3ヶ月毎
フィブロスキャン測定	△	1年毎

(4) 被験者の研究参加予定期間

各被験者は同意後、3ヶ月～1年毎に最大10年の観察期間で参加する。

(5) 研究終了後の対応

本研究終了後は、この研究で得られた成果も含めて、研究責任者は被験者に対し最も適切と考える医療を提供する。

3. HBV マーカーおよび IFN-λ3 測定

血清 HBs 抗原測定は Architect HBs 抗原 QT assay kit (Abbott Japan, Tokyo, Japan) (検出域 0.05-250 IU/mL) で行なった。検出限界上限を超えた検体では、1:20 から

1: 500 の段階希釈法を用い、250-125,000 IU/mL までの測定を行なった。HBe 抗原の検出はEIA法(特殊免疫研究所、Tokyo, Japan)により行なった。血清HBV DNA値の測定はRT-qPCR(Cobas Taqman HBV Auto, Roche Diagnostics, Tokyo, Japan)(検出感度 $2.1 \log_{10}$ copies/mL以上)を用いた。HBV 遺伝子型の同定はEIA法(特殊免疫研究所、Tokyo, Japan)により行なった。

血清IFN- λ 3測定は、in-houseの蛍光免疫測定法(国立国際医療研究センター研究所)により測定した。組み換えIFN- λ 3蛋白より、マウスモノクローナル抗体を作成し、一次抗体をマイクロウェルプレートへコーティングした後、サンプル 50μ lを用いて測定を行った。二次抗体は、異なるエピトープを認識するマウスモノクローナル抗体のFab断片をアルカリフォスファターゼと共役させたものを用いた。患者血清を用いてリウマチ因子の干渉が、最も少ない一次抗体と二次抗体の組み合わせを採用した。測定範囲は、0.1-10000 pg/mLであり、IFN- λ 1やIFN- λ 2との交差反応は認めなかった(Aoki et al., 2015; Murata et al., 2018; Murata et al., 2014; Sugiyama et al., 2012)。

4. 分析方法

ヌクレオチドアナログ投与群(ADV/TDF群)、ヌクレオシドアナログ投与群(ETV群)の治療開始時における患者背景、血液学的データ、ウイルス学的データを比較検討した。治療開始時、開始後1年毎にHBV DNA量、ALT値、HBe抗原量、HBe抗体量、HBs抗原量、HBs抗体量、その他血液学的データを採取し、検討を行った。HBV DNA陰性化の定義は、HBV DNA量が検出感度以下(lower limit of quantification, LLQ)とした。ALT正常化の定義はCentral laboratory criteria(≤ 34 U/L for women <69 years or ≤ 32 U/L for women ≥ 69 years; ≤ 43 U/L for men <69 years or ≤ 35 U/L for women ≥ 69 years)、およびAmerican Association for the Study of the Liver Disease (AASLD)によるcriteria (≤ 19 U/L for women and ≤ 30 U/L for men)を用いた。

5. 統計解析

カテゴリーデータは、 χ^2 検定およびフィッシャー検定によって解析した。数値データは、Wilcoxon検定で解析した。治療群間の効果解析及び95%信頼区間、P値の算出はCochran-Mantel-Haenszel検定を用い、HBV DNA量($6.0 \log_{10}$ copies/mL未満、 $6.0-8.0 \log_{10}$ copies/mL、 $8.0 \log_{10}$ copies/mLより高値)による層別解析を行なった。早期HBs抗原減少に関与する因子を検討するため、多重ロジスティック回帰分析を行った。単変量解析において有意であった要素を用いて、多変量解析を行った。HBe抗原セロコンバージョン達成率およびHBs抗原セロクリアランスは、Kaplan-Meier法およびlog-rank検定にて解析した。統計解析には、解析ソフトであるJMP(v14.1.0

software package, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を使用した。 P 値0.05未満を有意差ありと定義した。

研 究 結 果

1. 患者背景

ETV 群とした 121 例は ETV 単剤投与であった。ADV/TDF 群 55 例中、ADV 投与は LAM 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 32 例および ETV 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 2 例、TDF 投与は LAM 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 2 例および ETV 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 8 例、TDF 単剤投与 9 例、ETV 投与後 1 年以内の早期に嘔気等の臨床症状により薬剤変更した 2 例であった。ETV 群 (n=121)、ADV/TDF (n=55) 群の治療開始時年齢中央値はそれぞれ、57 歳と 51 歳であった。男女比はそれぞれ 63/58 例、41/14 例であった。肝細胞癌既往症例は ETV 群で 40 %、ADV/TDF 群で 20 %と ETV 群で多い傾向にあったが、有意差を認めなかった。肝硬変症例の割合は ETV 群で 31 %、ADV/TDF 群で 31 %であった。治療開始時の HBe 抗原陽性率はそれぞれ 34 例 (28 %)、31 例 (56 %) であった。HBV 遺伝子型の内訳は、ETV 群で遺伝子型 B/C/判定不明が 19/72/9 (%)、ADV/TDF 群で 11/84/5 (%) であった。

ETV 群では高齢、女性の割合、HBe 抗原陰性例が、ADV/TDF 群に比べ有意に高かった。治療開始時の血液検査所見では、ALT 値、HBV DNA 量、HBs 抗原量に両群間で偏りはなかった。治療期間中央値も ETV 群 4.8 年、ADV/TDF 群 6.1 年で偏りを認めなかった。(表 3)。

表 3. 患者背景 [中央值 (範圍) 、* ; $P < 0.05$]

	ETV 群 (n=121)	ADV/TDF 群(n=55)	<i>P</i>
年齡 (歲)	57 (30–83)	51 (26–76)	0.0444*
男性、n (%)	63 (52%)	41 (75%)	0.0049*
肝細胞癌既往、n (%)	48 (40%)	11 (20%)	0.2643
肝硬變、n (%)	38 (31%)	17 (31%)	0.9475
HBe 抗原陽性、n (%)	34 (28%)	31 (56%)	0.0003*
HBV 遺伝子型、n (%)			
A	0	0	
B	23 (19%)	6 (11%)	0.1794
C	87 (72%)	46 (84%)	0.0931
D	0	0	
判定不明	11 (9%)	3 (5%)	0.4086
ALT (IU/L)	59.0 (9–952)	60.0 (9–1364)	0.5421
HBV-DNA (\log_{10} copies/mL)	5.90 (1.8–9.0)	6.70 (2.1–9.0)	0.0715
HBs 抗原 (\log_{10} IU/mL)	3.23 (-1.10–5.41)	3.39 (0.70–5.33)	0.0544
HBe 抗原陽性症例	3.85 (1.18–5.41)	3.58 (1.70–5.33)	0.7775
HBe 抗原陰性症例	3.04 (-1.10–4.42)	3.33 (0.70–4.11)	0.1646
治療期間 (年)	4.8 (1.2–11.4)	6.1 (1.3–14.3)	0.2598

2. HBV DNA 陰性化率の検討

HBV DNA 陰性化率を時系列で示す。ETV 治療群を実線と黒丸で、ADV/TDF 治療群を破線と白丸で、図中のエラーバーは 95 %信頼区間を示す。P 値は HBV DNA 量により層別化した Cochran-Mantel-Haenzel test により算出した。

患者全体では、ETV 群で HBV DNA 陰性化率は 1、3、5、7、9 年目で 88、95、97、100、100 % であるのに対し、ADV/TDF 群では 76、87、90、89、92 % と、全経過を通じて ETV 群が ADV/TDF 群に比較して HBV DNA 陰性化率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図 2)。

HBe 抗原陽性症例では、ETV 群での HBV DNA 陰性化率は 1、3、5、7、9 年目で 65、83、88、100、100 % であるのに対し、ADV/TDF 群では 61、80、84、82、88 % と、全経過を通じて ETV 群が ADV/TDF 群に比較して HBV DNA 陰性化率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図 3)。

HBe 抗原陰性症例では、ETV 群での HBV DNA 陰性化率は 1、3、5、7、9 年目で 98、99、100、100、100 % であるのに対し、ADV/TDF 群では 96、100、100、100、100 % と、両群とも開始後 1 年目より高い HBV DNA 陰性化率を示し、統計学的に有意差を認めなかった (図 4)。

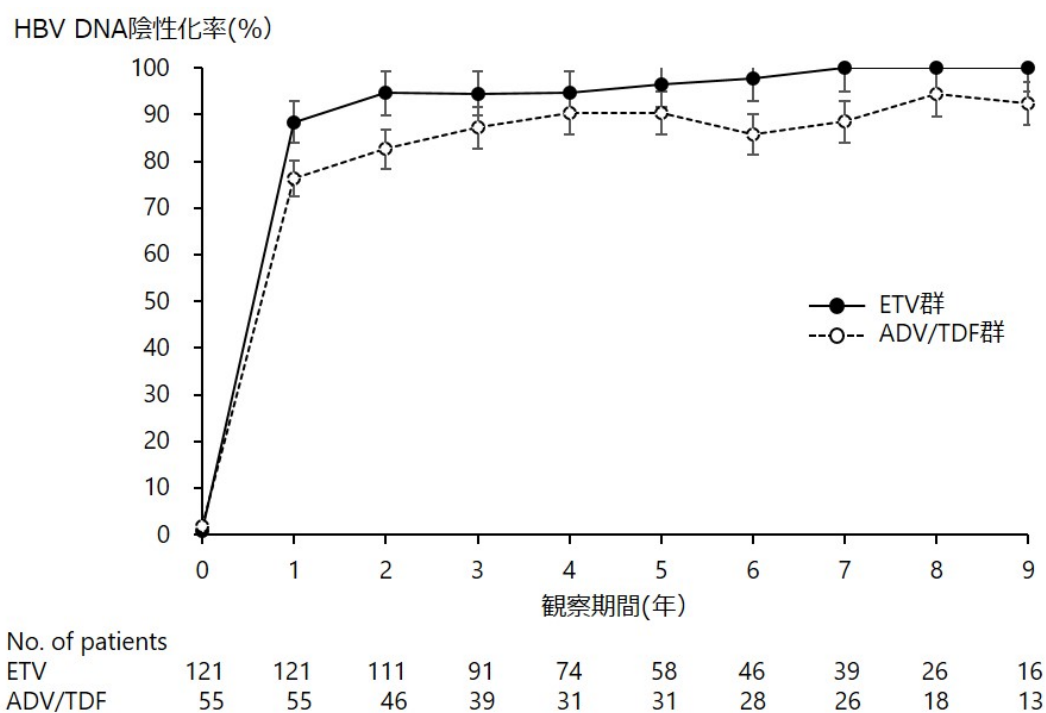


図 2. HBV DNA 陰性化率：患者全体

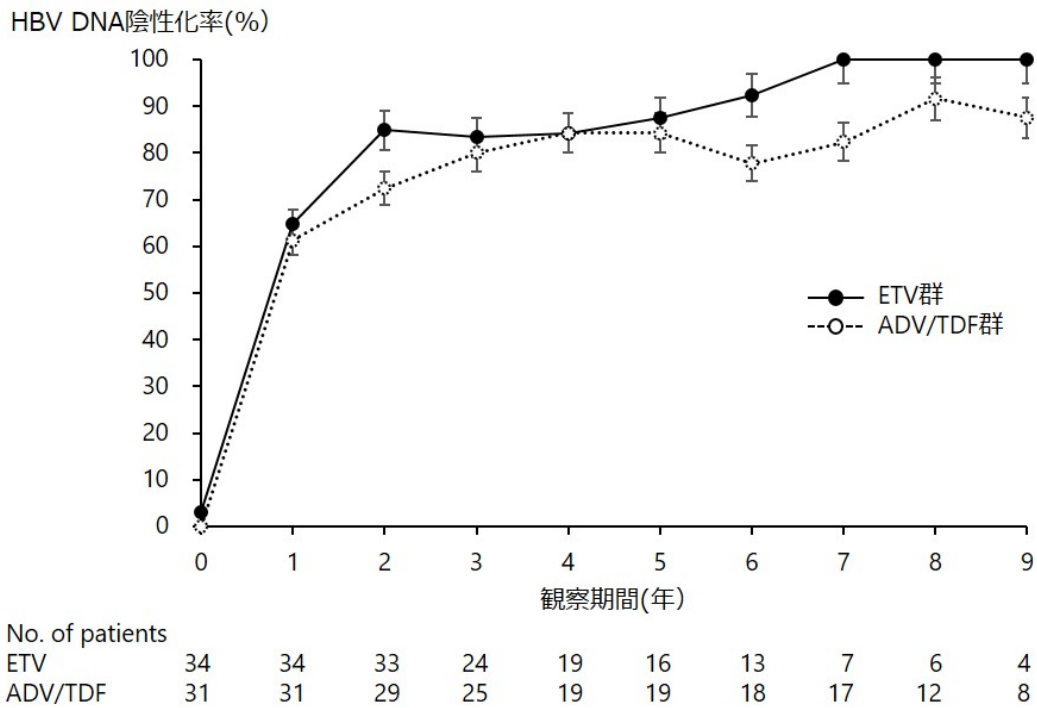


図 3. HBV DNA 陰性化率：HBe 抗原陽性症例

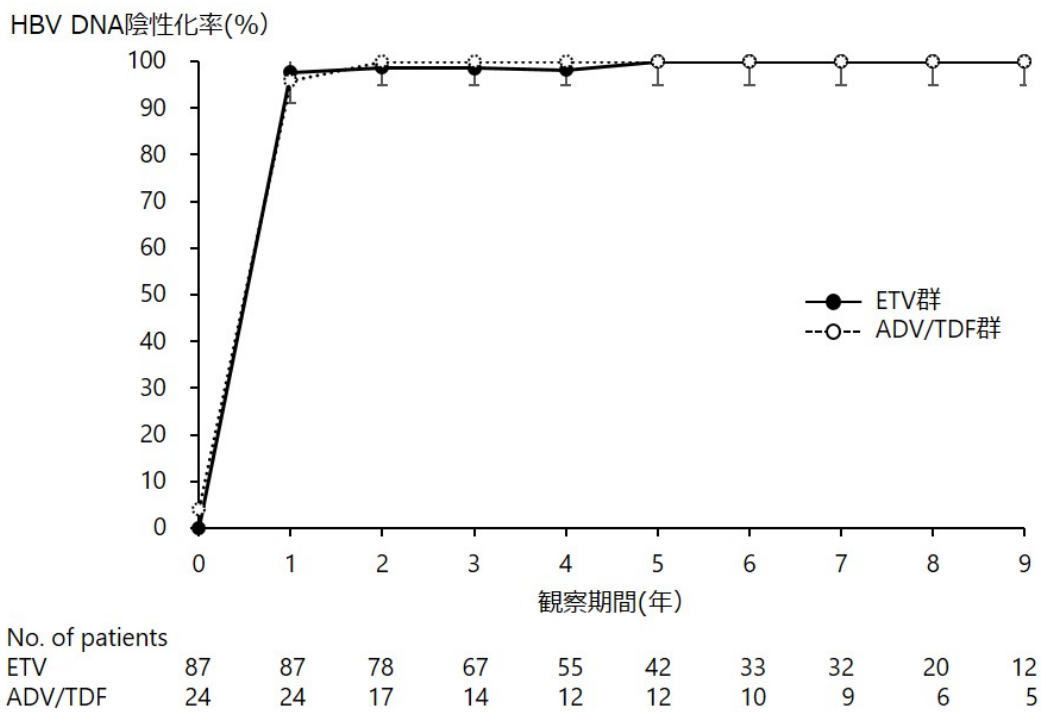


図 4. HBV DNA 陰性化率：HBe 抗原陰性症例

3. ALT 正常化率の検討

ALT 正常化率の検討を Central laboratory criteria、AASLD criteria の2つの基準を用いて検討した。これまで ALT の正常値についての明らかなコンセンサスは存在せず、国内・海外の臨床研究のほとんどがその施設における基準値を正常値として用いていた。欧米においては、AASLD criteria (≤ 19 U/L for women and ≤ 30 U/L for men) が多く採用されており、男性では日本国内で一般的に採用されている日本肝臓学会及び厚生労働省の示す基準値 (< 31 U/L for all patient) と一致する。一方女性については、これらの基準値に較べ、より厳格で低い値となっている。また、中央検査機関 (Central laboratory) による criteria (≤ 34 U/L for women < 69 years or ≤ 32 U/L for women ≥ 69 years; ≤ 43 U/L for men < 69 years or ≤ 35 U/L for men ≥ 69 years) は AASLD criteria と比較してより年齢、性差を反映している。AASLD criteria は統計学的有意差がつきやすく、Central laboratory criteria は多群間の差等、全体的な傾向を把握しやすいという特色がある。現在多くの国内外の治験および学術論文で、AASLD criteria と Central laboratory criteria の両者が採用されており (Agarwal et al., 2018; Koike et al., 2018)、本研究でもこれに倣った。

ETV 治療群を実線と黒丸、ADV/TDF 治療群を破線と白丸で示す。図中のエラーバーは 95 %信頼区間を示す。P 値は HBV DNA 量により層別化した Cochran-Mantel-Haenzel test により算出した。

患者全体の比較では、Central laboratory criteria による ETV 群での ALT 正常化率は 1、3、5、7、9 年目で 91、91、91、93、80 %、ADV/TDF 群では 78、83、87、84、77 % と、全経過を通じて ETV 群が ADV/TDF 群に比較して ALT 正常化率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図 5)。AASLD criteria による ETV 群での ALT 正常化率は 1、3、5、7、9 年目で 57、69、71、78、80 %、ADV/TDF 群では 58、68、65、56、54 % と、開始後 5 年目以降は ETV 群の方が ADV/TDF 群に比較して ALT 正常化率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図 6)。

HBe 抗原陽性症例では、Central laboratory criteria による ETV 群での ALT 正常化率は 1、3、5、8 年目で 85、96、88、83 %、ADV/TDF 群では 68、73、79、58% と、全経過を通じて ETV 群が ADV/TDF 群に比較して ALT 正常化率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図 7)。AASLD criteria による ETV 群での ALT 正常化率は 1、3、5、8 年目で 38、71、56、83 %、ADV/TDF 群では 52、58、53、42 % と、開始後 5 年目以降は ETV 群の方が ADV/TDF 群に比較して ALT 正常化率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図 8)。

HBe 抗原陰性症例では、Central laboratory criteria による ETV 群での ALT 正常化率は 1、3、5、7、9 年目で 93、90、93、91、83 %、ADV/TDF 群では 92、100、100、100、100 % と、開始後 3 年目以降は ADV/TDF 群が ETV 群の方に比較して ALT 正常化率が高い

傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図9)。AASLD criteria による ETV 群での ALT 正常化率は 1、3、5、7、9 年目で 64、68、76、73、83 %、ADV/TDF 群では 67、87、83、89、100 %と、全経過を通じて ADV/TDF 群が ETV 群に比較して ALT 正常化率が高い傾向にあったが、統計学的に有意差を認めなかった (図10)。

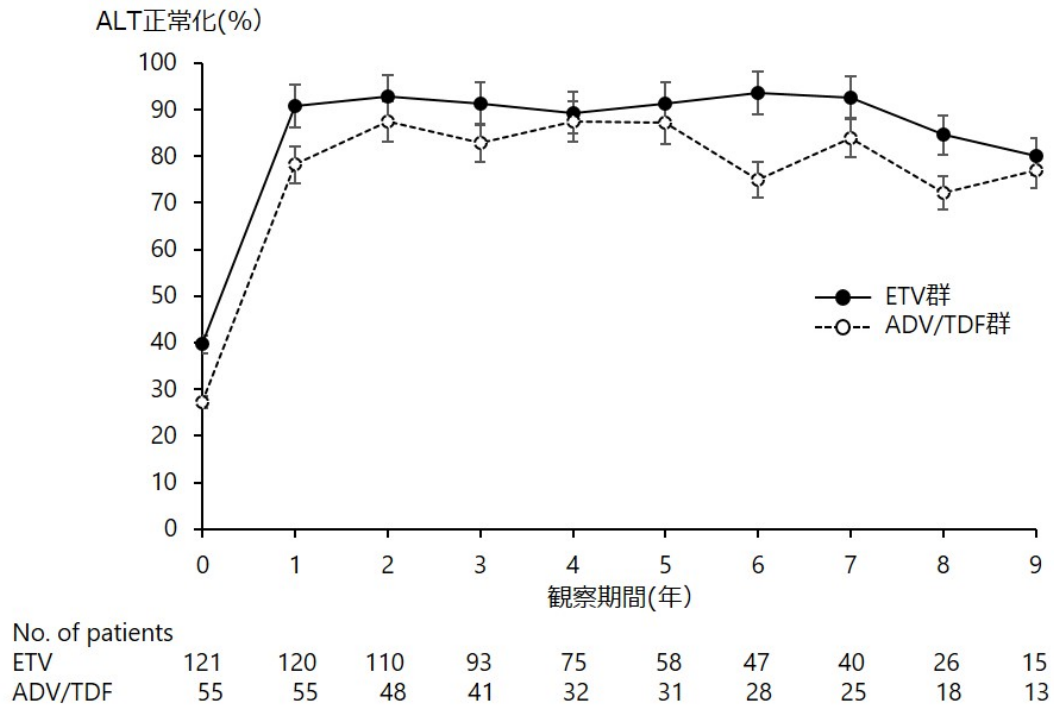


図 5. ALT 正常化率(Central laboratory criteria) : 患者全体

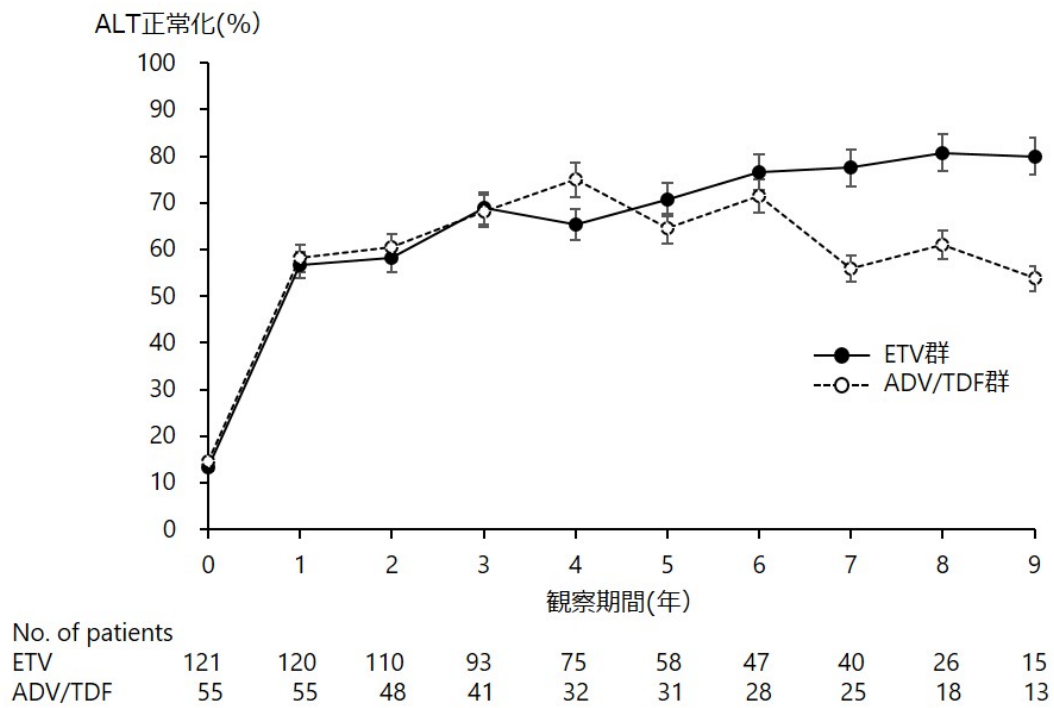


図 6. ALT 正常化率(AASLD criteria) : 患者全体

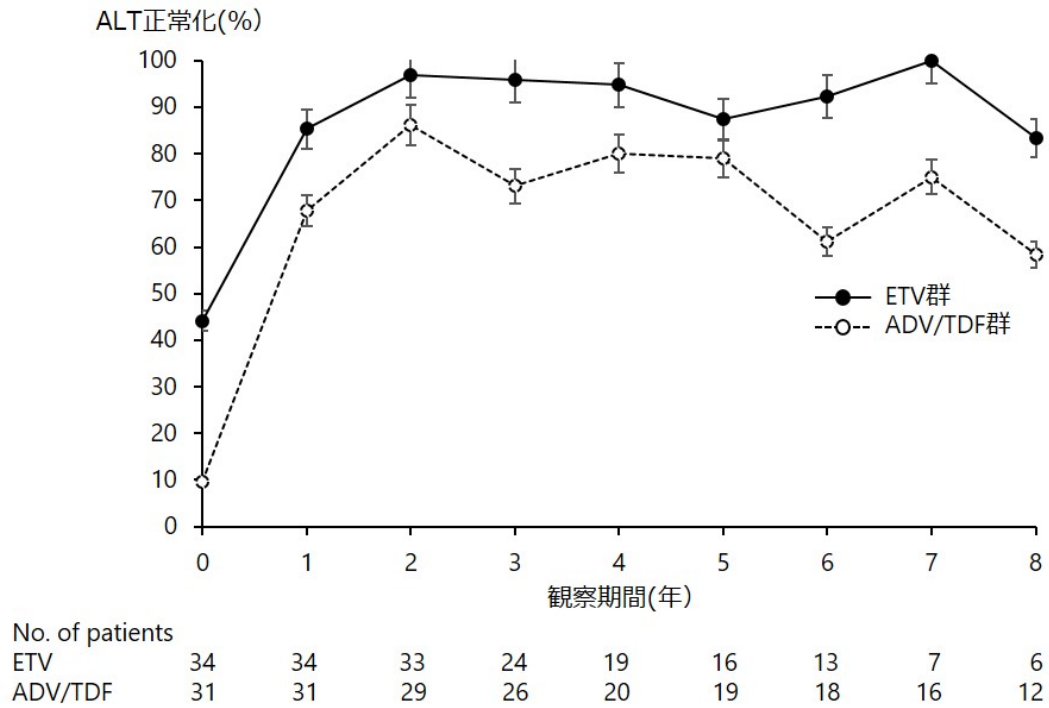


図 7. ALT 正常化率(Central laboratory criteria) : HBe 抗原陽性症例

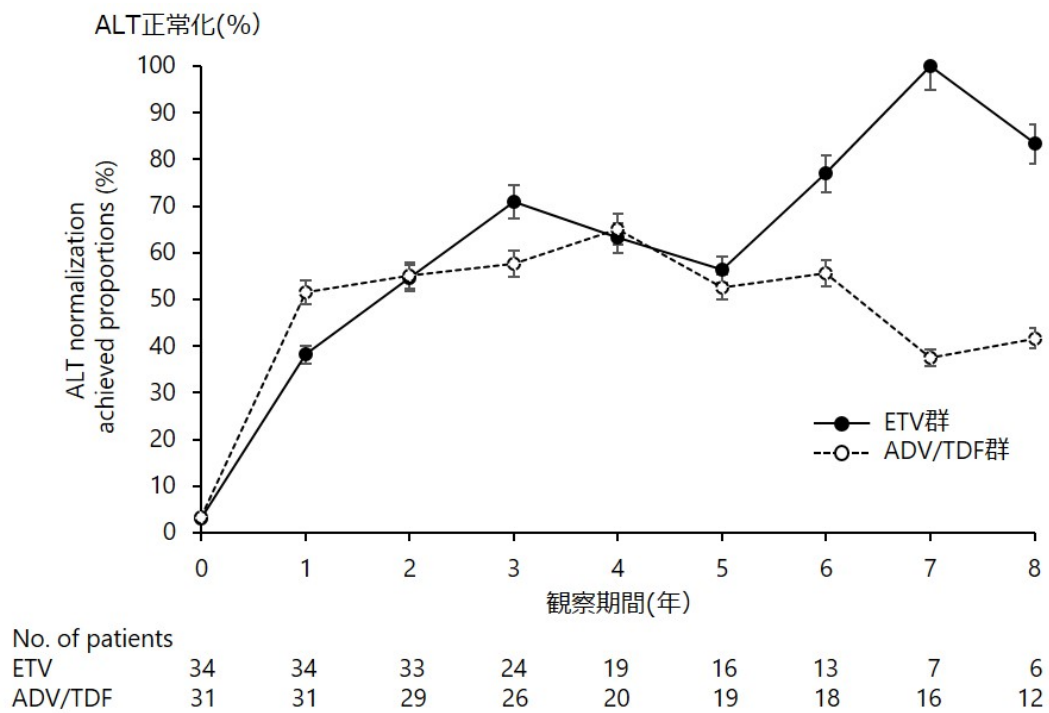


図 8. ALT 正常化率(AASLD criteria) : HBe 抗原陽性症例

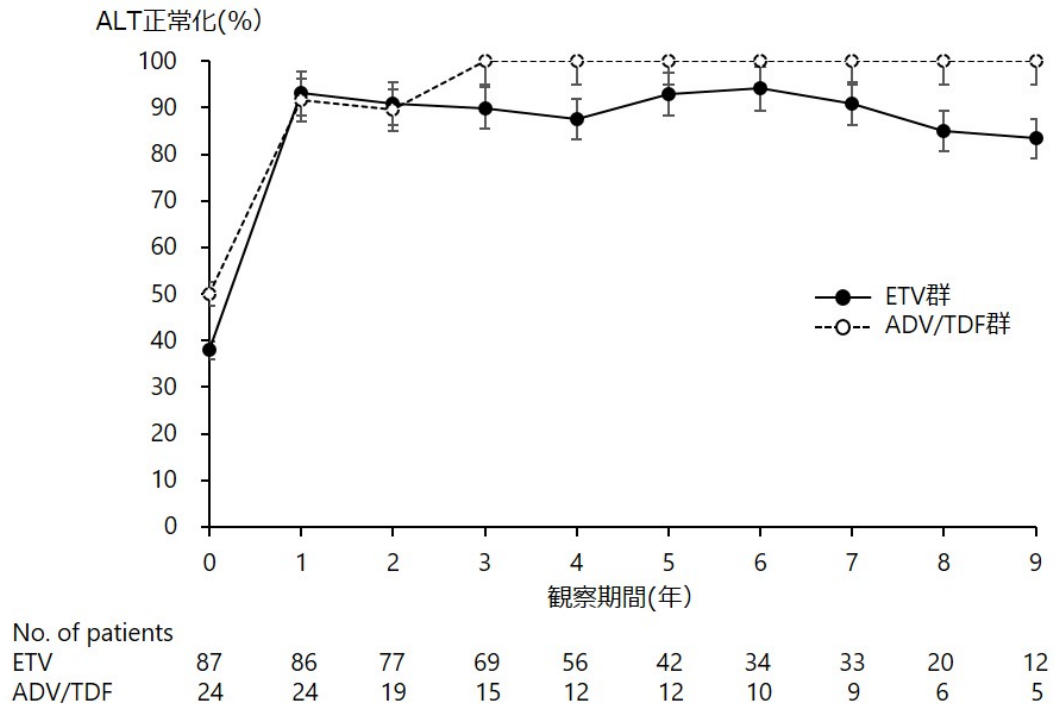


図 9. ALT 正常化率(Central laboratory criteria) : HBe 抗原陰性症例

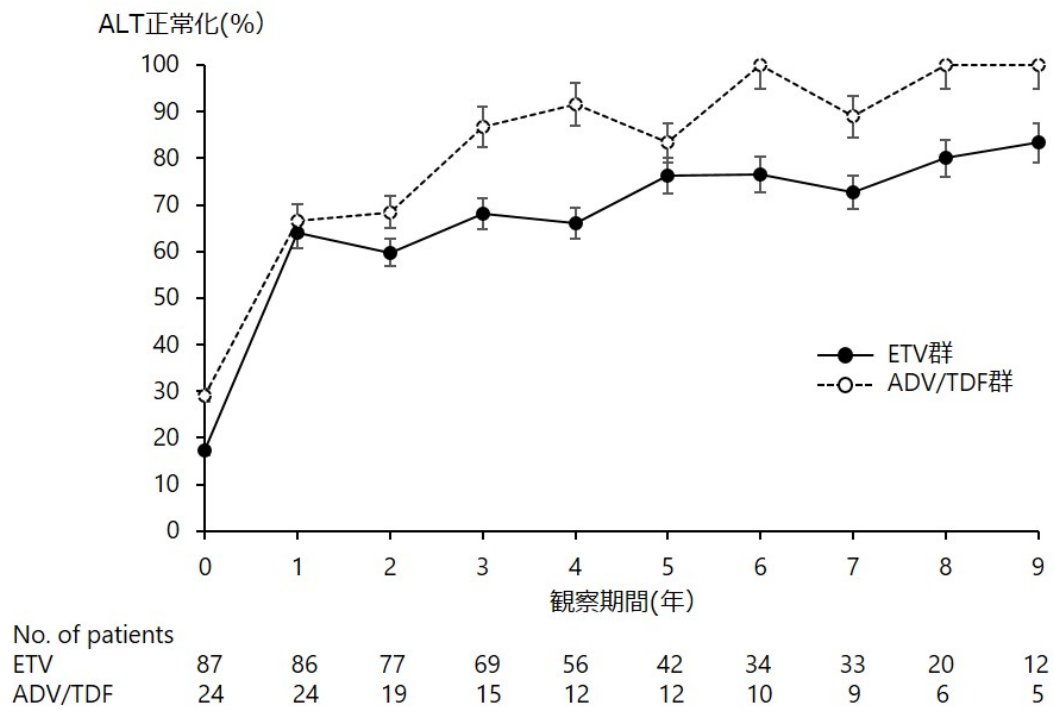


図 10. ALT 正常化率(AASLD criteria) : HBe 抗原陰性症例

4. HBs 抗原減少量の検討

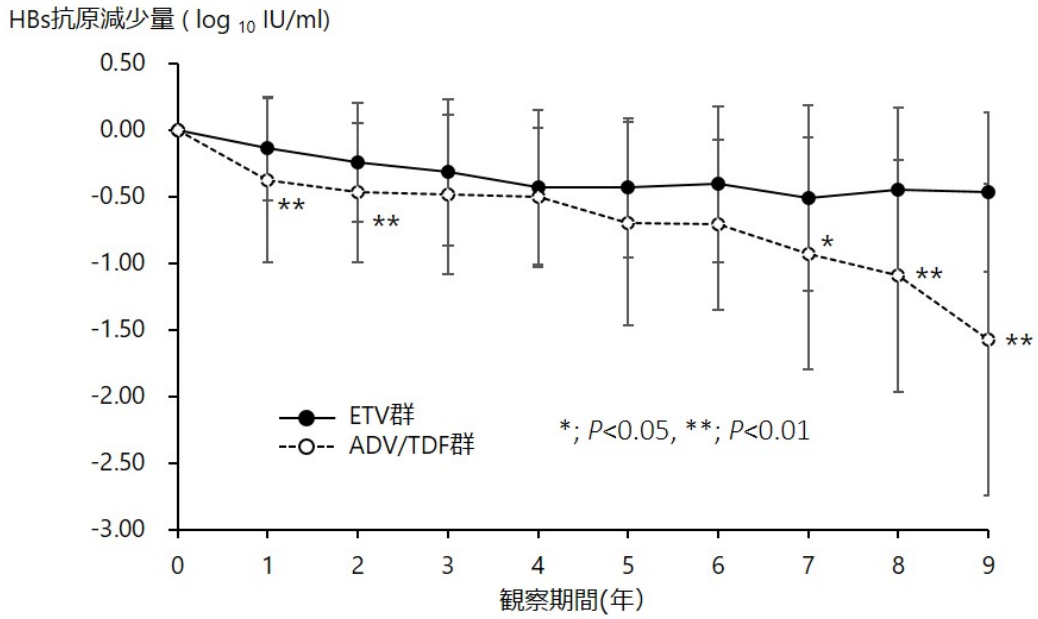
治療開始時 HBs 抗原量をベースラインとし、各治療群の HBs 抗原減少量の経時変化を平均値±標準偏差で図中に示す。T 検定により P 値を求め、 $P < 0.05$ を有意差ありとし図中に示した (* ; $P < 0.05$ 、** ; $P < 0.01$)。

患者全体における HBs 抗原減少量の経時変化 (平均値±標準偏差) は、ETV 群で 1、3、5、7、9 年目に -0.139 ± 0.391 、 -0.318 ± 0.548 、 -0.433 ± 0.524 、 -0.515 ± 0.697 、 -0.470 ± 0.599 \log_{10} IU/mL、ADV/TDF 群では -0.375 ± 0.617 、 -0.487 ± 0.598 、 -0.703 ± 0.766 、 -0.927 ± 0.869 、 -1.572 ± 1.171 \log_{10} IU/mL であり、1、2、7、8、9 年目で有意差を認めた ($P = 0.0028$ 、 0.0090 、 0.0453 、 0.0097 、 0.0064) (図 11)。

ETV 治療群における HBs 抗原減少率の経時変化 (平均値±標準偏差) は、HBe 抗原陽性例で 1、3、5、8 年目に -0.247 ± 0.488 、 -0.412 ± 0.600 、 -0.412 ± 0.415 、 -0.678 ± 0.679 \log_{10} IU/mL であり、HBe 抗原陰性例では -0.098 ± 0.342 、 -0.286 ± 0.530 、 -0.442 ± 0.568 、 -0.386 ± 0.607 \log_{10} IU/mL であった (図 12)。

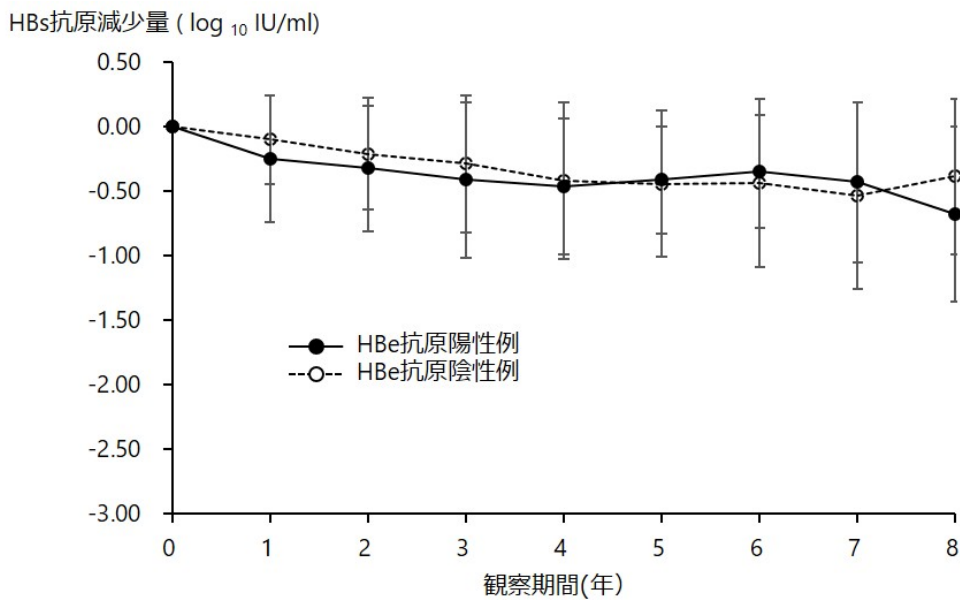
ADV/TDF 治療群における HBs 抗原減少率の経時変化 (平均値±標準偏差) は、HBe 抗原陽性例で 1、3、5、8 年目に -0.452 ± 0.738 、 -0.533 ± 0.636 、 -0.831 ± 0.855 、 -1.130 ± 0.970 \log_{10} IU/mL であり、HBe 抗原陰性例では -0.283 ± 0.427 、 -0.415 ± 0.549 、 -0.522 ± 0.606 、 -1.039 ± 0.754 \log_{10} IU/mL であった (図 13)。

患者全体では、ETV 治療群に較べて ADV/TDF 群で HBs 抗原減少量が高い傾向にあり、1、2、7、8、9 年目で有意差を認めた。HBe 抗原陽性例、HBe 抗原陰性例における比較では、ETV 治療群、ADV/TDF 治療群いずれにおいても、HBs 抗原減少量に有意差を認めなかった。



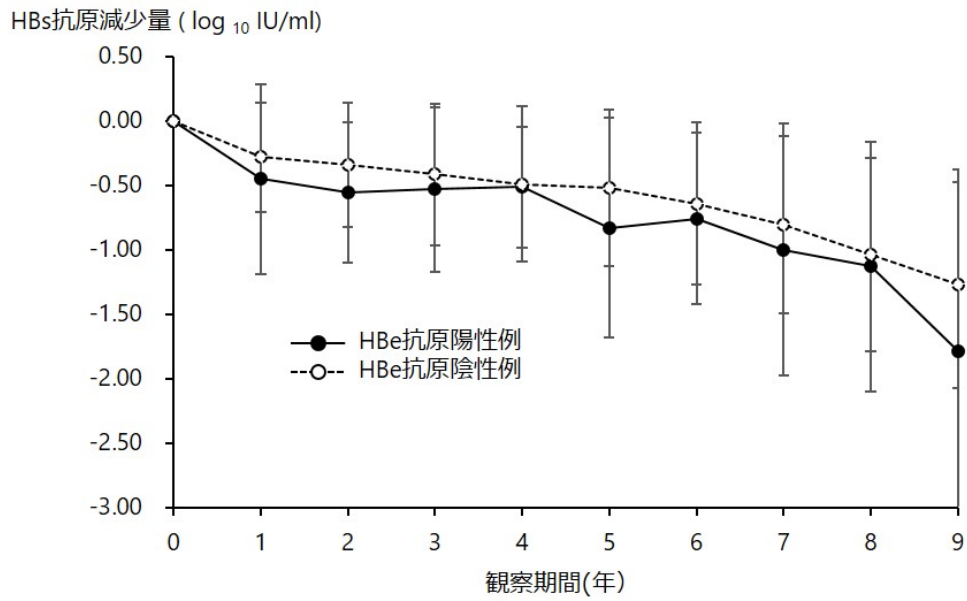
No. of patients	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ETV	121	120	104	85	66	55	40	37	22	13
ADV/TDF	54	53	44	36	27	29	26	24	18	12

図 11. HBs 抗原減少量：患者全体



No. of patients	0	1	2	3	4	5	6	7	8
HBe抗原陽性例	34	33	32	22	17	16	13	7	5
HBe抗原陰性例	87	87	72	63	49	39	27	30	17

図 12. HBs 抗原減少量：ETV 治療群での HBe 抗原陽性例と陰性例の比較



No. of patients		観察期間(年)									
HBe抗原陽性例	30	29	26	22	15	17	15	15	11	7	
HBe抗原陰性例	24	24	18	14	12	12	11	9	7	5	

図 13. HBs 抗原減少量 : ADV/TDF 治療群での HBe 抗原陽性例と陰性例の比較

5. HBe 抗原セロコンバージョン率の検討

HBe 抗原陽性慢性肝炎では、HBe 抗原の陰性化により肝不全のリスクが減少し、生存期間が延長することから、抗ウイルス治療において目指すべき短期目標は HBe 抗原セロコンバージョンとされている。

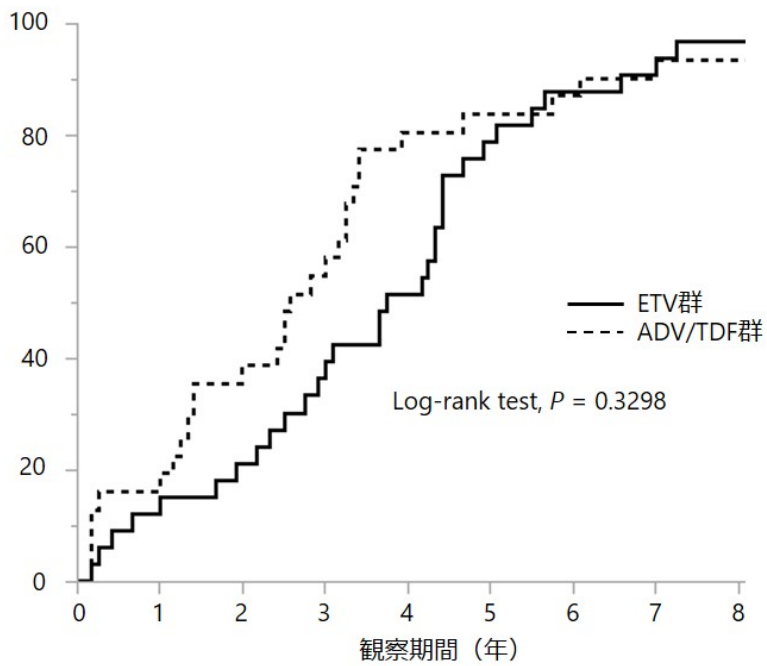
ETV 治療群、ADV/TDF 治療群における、治療開始後各年における HBe 抗原セロコンバージョン（HBe 抗原の消失かつ HBe 抗体の陽性化）率の検討を行なった。治療開始時における HBe 抗原陽性症例数は ETV 治療群で 34 例、ADV/TDF 治療群で 31 例であった。累積 HBe 抗原セロコンバージョン率は、ETV 群において 1、3、5、8 年目で 18、25、69、100 %、ADV/TDF 群で 19、46、74、83 %であった(表 4)。

HBe 抗原セロコンバージョン率は、ETV 群、ADV/TDF 群の間で明らかな有意差を認めなかった (図 14)。

表 4. HBe 抗原セロコンバージョン率：年次推移

治療開始時 HBe 抗原陽性および HBe 抗原陰性例	ETV 群 (n=34) ADV/TDF 群 (n=31)	
	HBe 抗原セロコンバージョン率 [達成数 / 総数 (%)]	
Year 1	6/34 (18%)	6/31 (19%)
Year 2	7/33 (21%)	10/29 (34%)
Year 3	6/24 (25%)	12/26 (46%)
Year 4	10/19 (53%)	15/20 (75%)
Year 5	11/16 (69%)	14/19 (74%)
Year 6	10/13 (77%)	15/18 (81%)
Year 7	6/7 (86%)	13/16 (81%)
Year 8	6/6 (100%)	10/12 (83%)

HBe抗原セロコンバージョン達成率 (%)



No. at risk										
ETV		34	34	33	24	19	16	13	7	6
ADV/TDF		31	31	29	26	20	19	18	16	12

図 14. HBe 抗原セロコンバージョン率： Kaplan-Meierプロットおよびログランク検定

6. HBs 抗原セロクリアランスの検討

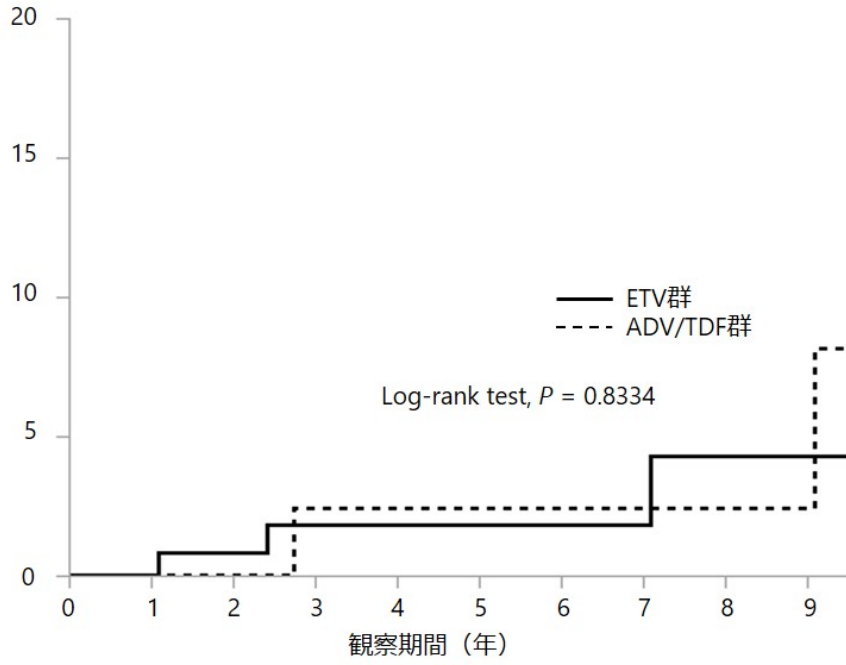
HBs 抗原消失後の肝細胞癌の発症率は HBs 抗原持続陽性例と比較して有意に減少することが報告されており (Simonetti et al., 2010)、HBV 持続感染者における抗ウイルス治療の長期目標は“HBs 抗原消失”に設定されている (Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of Hepatology, 2014)。ETV 治療群、ADV/TDF 治療群における、治療開始後各年における HBs 抗原セロクリアランス (HBs 抗原消失) 率の検討を行なった (表 5)。HBs 抗原セロクリアランス率は、ETV 群、ADV/TDF 群の間で明らかな有意差を認めなかった (図 15)。

観察期間中 5 例で HBs 抗原のセロクリアランス (HBs 抗原消失) を達成した、これら 5 症例の患者背景を表 6 に示す。ETV 群 3 例、ADV/TDF 群 2 例の 5 症例中、ADV 治療を受けていた 2 症例が HBs 抗原セロコンバージョン (HBs 抗原消失かつ HBs 抗体陽性) を達成した。HBs 抗体は HBV に対する中和抗体と考えられており、HBs 抗原セロコンバージョンが得られた症例は、免疫抑制・化学療法による HBV 再活性化がおこりにくいとされている。治療開始時 HBs 抗原量が低い症例で、HBs 抗原セロクリアランスを達成していた。観察期間における各治療群の HBs 抗原セロクリアランスの割合は、ETV 群 121 例中 3 例で 2.5%、ADV/TDF 群 54 例中 2 例で 3.6%であった。本研究における、ヌクレオシドアナログ投与 (ETV 群) とヌクレオチドアナログ投与 (ADV/TDF 群) における HBs 抗原セロクリアランス (HBs 抗原消失) を達成するまでの期間を算出したところ、ETV 群で約 87 年間であったのに対し、ADV/TDF 群では約 27 年間であった (図 16)。

表 5. HBs 抗原セロクリアランス率

治療開始時 HBs 抗原陽性例	ETV 群 (n=121) ADV/TDF 群 (n=55)	
	HBs 抗原セロクリアランス率 [達成数 / 総数 (%)]	
Year 1	1/121 (0.8%)	0/55 (0%)
Year 2	1/104 (1.0%)	0/44 (0%)
Year 3	2/85 (2.4%)	1/36 (2.8%)
Year 4	2/66 (3.0%)	1/27 (3.7%)
Year 5	1/55 (1.8%)	1/29 (3.4%)
Year 6	1/40 (2.5%)	1/26 (3.8%)
Year 7	2/37 (5.4%)	0/24 (0%)
Year 8	1/22 (4.5%)	0/18 (0%)
Year 9	0/13 (0%)	1/12 (8.3%)

HBs抗原セロクリアランス率 (%)



No. at risk		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ETV		121	121	104	85	66	55	40	37	22	13
ADV/TDF		55	55	44	36	27	29	26	24	18	12

図 15. HBs 抗原セロクリアランス率： Kaplan-Meier プロットおよびログランク検定

表6. HBs 抗原セロクリアランス達成症例の患者背景

No.	年 (歳)/性	治療開始前					治療開始1年後			HBs抗体
		HBs抗原 (log ₁₀ IU/mL)	HBV DNA (log ₁₀ copies/mL)	HBe抗原	HBV 遺伝子型	背景肝	NAs	HBs抗原減少量 (log ₁₀ IU/mL)	HBs抗原セロクリアランス までの期間 (年)	
1	79/M	0.23	3.7	-	判定不明	慢性肝炎	ETV	- 1.30	1.1	-
2	62/F	1.32	4.4	-	判定不明	慢性肝炎	ETV	- 0.24	7.1	-
3	83/F	2.03	5.8	-	B	肝硬変	ETV	- 2.07	2.4	-
4	63/F	3.54	8.5	+	C	肝硬変	ADV	(- 1.90 at 5 year)	9.1	+
5	46/M	1.79	5.5	+	C	肝硬変	ADV	- 1.01	2.8	+

ETV群

投与前HBs抗原量 ; $3.23 \log_{10} \text{IU/mL}$

HBs抗原減少量 (投与開始後9年時) ; $-0.470 \pm 0.599 \log_{10} \text{IU/mL}$

HBs抗原減少量 (年率) ; $-0.052 \log_{10} \text{IU/mL/年}$

HBs抗原セロクリアランス予想年数 ; $(3.23+1.30) / 0.052 = 87.12 \text{ 年}$

ADV/TDF群

投与前HBs抗原量 ; $3.39 \log_{10} \text{IU/mL}$

HBs抗原減少量 (投与開始後9年時) ; $-1.572 \pm 1.171 \log_{10} \text{IU/mL}$

HBs抗原減少量 (年率) ; $-0.174 \log_{10} \text{IU/mL/年}$

HBs抗原セロクリアランス予想年数 ; $(3.39+1.30) / 0.174 = 26.95 \text{ 年}$

図 16. HBs 抗原セロクリアランス予想年数の算出

7. 血清 IFN- λ 3 測定可能であった症例の患者背景

治療開始時および開始1年後の血清 IFN- λ 3 値測定可能であった症例は、ETV 群 51 例、ADV/TDF 群 43 例であった。ETV 群は全例単独投与、ADV/TDF 群中 ADV 投与は LAM 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 25 例および ETV 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 2 例、TDF 投与は LAM 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 2 例および ETV 投与後耐性ウイルス出現による肝炎再燃例 7 例、TDF 単独投与 6 例、ETV 投与後 1 年以内の早期に嘔気等の臨床症状により薬剤変更した 1 例であった。両群の患者背景を表 7 に示す。年齢、性別、背景因子、ウイルス学的因子に両群間で偏りはなかった。

表 7. 血清 IFN- λ 3 測定可能であった NAs 投与前患者背景

[中央値 (範囲) 、* ; $P < 0.05$]

	ETV 群 (n=51)	ADV/TDF 群 (n=43)	<i>P</i>
年齢 (歳)	53 (30–77)	55 (26–76)	0.9364
男性、n (%)	28 (55%)	31 (72%)	0.0859
肝細胞癌既往、n (%)	14 (27%)	11 (20%)	0.2643
肝硬変、n (%)	20 (39%)	15 (35%)	0.9475
HBe 抗原陽性、n (%)	21 (41%)	24 (56%)	0.1564
HBV 遺伝子型、n (%)			
A	0	0	
B	7 (14%)	4 (9.3%)	0.1794
C	41 (80%)	38 (88.4%)	0.1214
D	0	0	
判定不明	3 (6%)	1 (2.3%)	0.4086
ALT (IU/L)	64 (14–913)	61 (9–1364)	0.6515
HBV-DNA (log ₁₀ copies/mL)	7.4 (2.2–9.0)	6.7 (2.2–9.0)	0.4275
HBs 抗原 (log ₁₀ IU/mL)	3.36 (0.00–5.41)	3.40 (0.70–5.33)	0.6379
HBe 抗原陽性症例	3.91 (1.18–5.41)	3.69 (1.70–5.33)	0.7674
HBe 抗原陰性症例	3.27 (0.00–4.36)	3.38 (0.70–4.11)	0.7660

8. 治療前後の血清 IFN-λ3 値の推移

ETV 治療群(n=51)を図左、ADV/TDF 治療群(n=43)を図右に投与前、投与開始1年後の血清 IFN-λ3 の値を示した(図17)。投与前血清 IFN-λ3 値は、ETV 群、ADV/TDF 群間で明らかな差を認めなかった。ADV/TDF 治療群では投与開始1年後の血清 IFN-λ3 中央値は25.5 pg/mL(範囲: 1.9-117.2)であり、ETV 治療群の1.3 pg/mL(範囲: 0.0-19.8)に比較して高値であり、統計学的有意差を認めた($P < 0.0001$) (表8)。

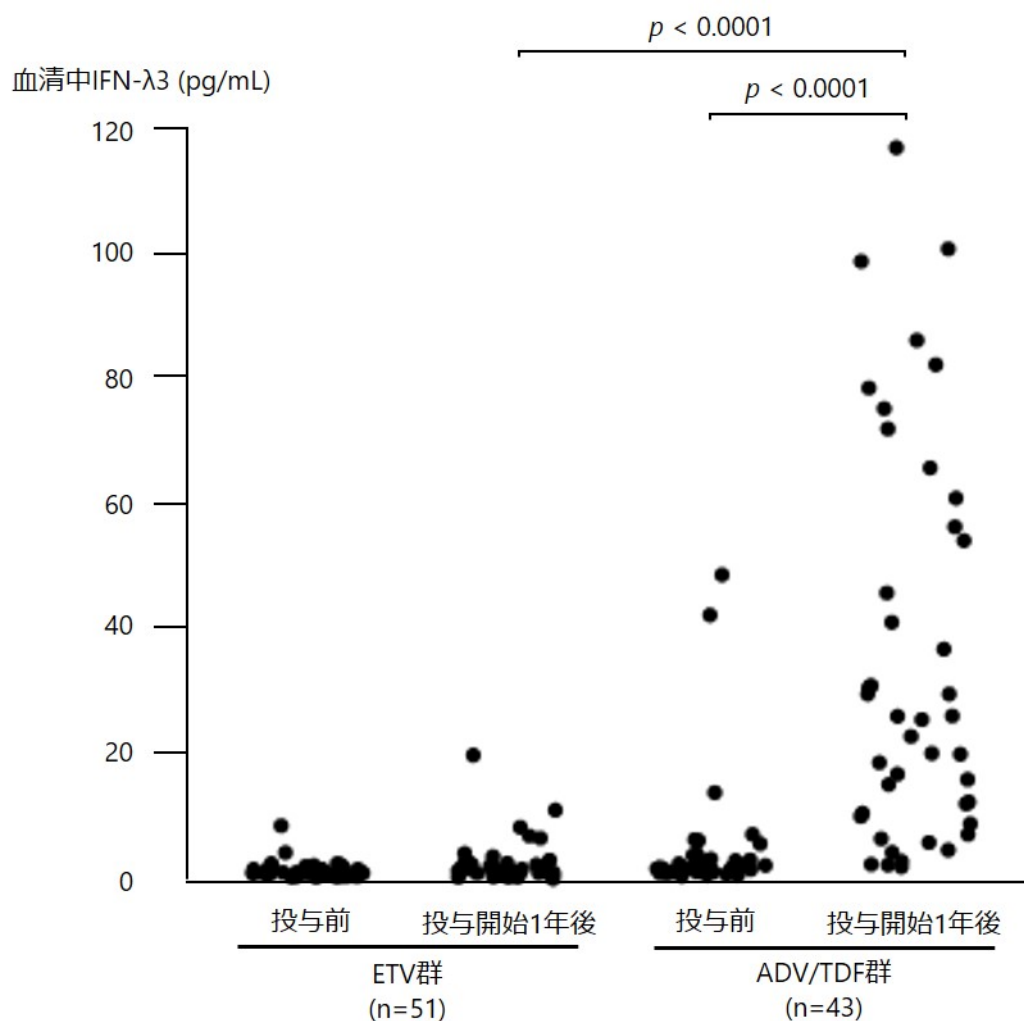


図17. 各群における投与前後の血清 IFN-λ3 値の推移

表 8. 各群における投与前後の血清 IFN- λ 3 値および HBs 抗原量
[中央値 (範囲)]

	ETV 群 (n=51)		ADV/TDF 群 (n=43)	
	投与前	投与開始 1 年後	投与前	投与開始 1 年後
IFN- λ 3 (pg/mL)	1.0 (0.3–8.5)	1.3 (0–19.8)	1.8 (0.5–48.7)	25.5 (1.9–117.2)
HBs 抗原 (Log ₁₀ IU/mL)	3.36 (0.00–5.41)	3.39 (-0.30–5.30)	3.40 (0.70–5.33)	3.26 (0.30–4.92)

9. 血清 IFN- λ 3 値と HBs 抗原減少量の検討

投与開始 1 年後の血清 IFN- λ 3 値と HBs 抗原減少量の相関関係を解析した。図中に 95% 確率楕円を示す。ETV 群では、血清 IFN- λ 3 値と HBs 抗原低下量の間、正の相関を示した (図 18)。ADV/TDF 群では有意差は認めなかったが、ゆるやかな負の相関を認めた (図 19)。

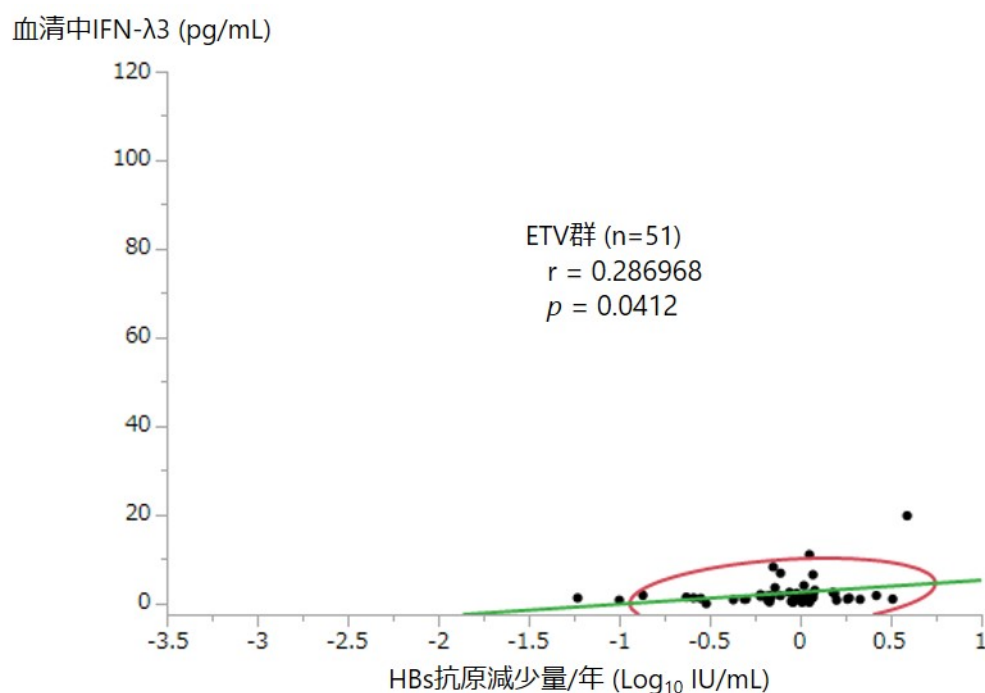


図 18. ETV 群における投与開始 1 年後の血清 IFN- λ 3 値と HBs 抗原減少量との相関

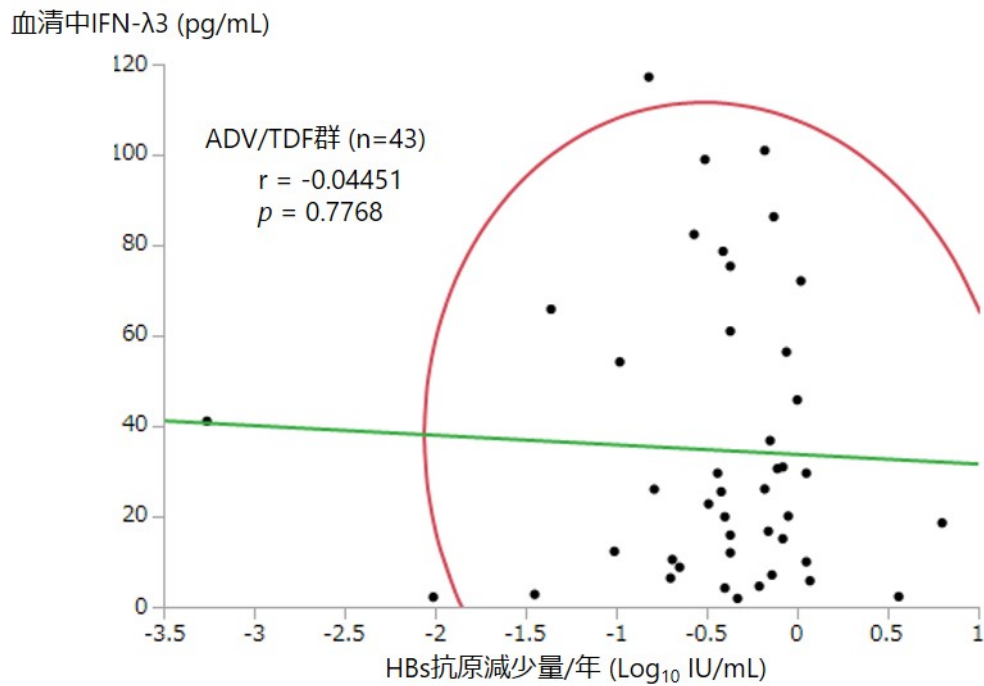


図 19. ADV/TDF 群における投与開始 1 年後の血清 IFN-λ3 値と HBs 抗原減少量との相関

全症例より、HBV 遺伝子型 C、治療開始前 HBs 抗原量が比較的少なく ($4.5 \log_{10}$ IU/mL 未満)、NAs 治療反応性が良い症例 (投与開始 1 年後の HBV DNA 量 $4.0 \log_{10}$ copies/mL 未満) を選別して解析してみると、ヌクレオチドアナログ投与群 (ADV/TDF 群、n=27) では、血清 IFN-λ3 値と HBs 抗原減少量が多い症例と有意差をもって相関していた ($P = 0.038$) (図 20)。この相関は、ヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 群、n=28) では認められなかった ($P = 0.569$) (図 21)。

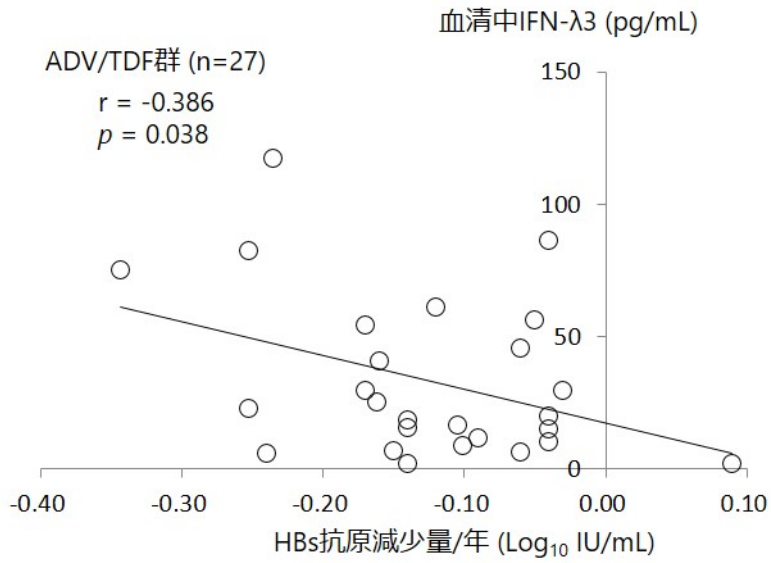


図 20. 症例選別後の ADV/TDF 群における投与開始 1 年後の血清 IFN-λ3 値と HBs 抗原減少量との相関

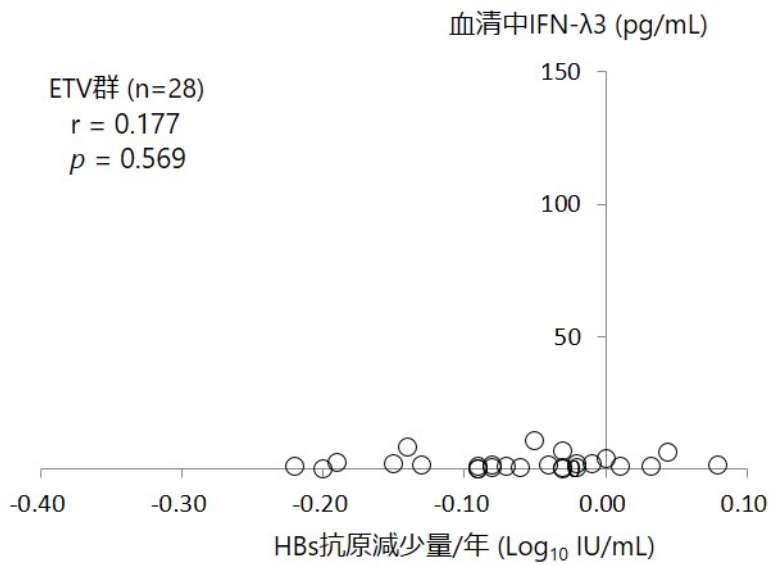


図 21. 症例選別後の ETV 群における投与開始 1 年後の血清 IFN-λ3 値と HBs 抗原減少量との相関

10. HBs 抗原早期減少に関与する因子の検討

ETV 群 121 例、ADV/TDF 群 55 例で、HBs 抗原量が治療開始 1 年で $-0.1 \log_{10}$ IU/mL 低下に関与する因子を検討した (表 9)。

単変量解析では投与開始時年齢 50 歳より上、核酸アナログが ADV/TDF 群であること、開始時 HBV DNA $3.0 \log_{10}$ copies/mL 未満、HBe 抗原陰性例が抽出された。

多変量解析では、投与開始時年齢と核酸アナログが ADV/TDF 群が、HBs 抗原量早期低下に関与する因子として抽出された。

表 9. 投与開始 1 年後の HBs 抗原量早期減少 ($-0.1 \log_{10}$ IU/mL) に関連する因子解析 [*; $P < 0.05$]

因子	単変量解析		多変量解析	
	OR (95%信頼区間)	<i>P</i>	OR (95%信頼区間)	<i>P</i>
男性	1.55 (0.84–2.86)	0.1566		
年齢 (>50 歳)	2.26 (1.20–4.26)	0.0107*	1.98 (1.01–3.85)	0.0443*
核酸アナログ (ADV/TDF 群)	2.66 (1.33–5.30)	0.0043*	2.29 (1.11–4.74)	0.0234*
ALT (> 90 IU/mL)	0.86 (0.43–1.71)	0.6589		
HBs 抗原(<500 IU/mL)	0.95 (0.47–1.95)	0.8937		
HBV DNA (< $3.0 \log_{10}$ copies/mL)	4.13 (1.10–15.58)	0.0224*	3.57 (0.90–14.12)	0.0514
HBe 抗原陰性例	2.24 (1.17–4.28)	0.0130*	1.50 (0.75–3.02)	0.2543
HBV 遺伝子型 C	1.09 (0.55–2.17)	0.8006		

考 察

HBV 持続感染者に対する治療の最終目標は、肝炎の持続に伴う線維化進展抑制、肝発癌の抑止である。そのためには、ALT の持続正常化、HBe 抗原セロコンバージョンを得ること、HBV DNA 量を抑制することが必要とされる。これまでの知見により、40 歳以上、男性、HBV DNA 高値、肝細胞癌の家族歴、活動性肝炎、肝線維化進展を反映する血小板数 15 万未満、HBV 遺伝子型 C では、発癌リスクが高いことが判明している (Chu and Liaw, 2007; Fattovich et al., 2008a; Park et al., 2012; Wan et al., 2011; Yim and Lok, 2006)。そのため、高発癌リスクを有する HBV 持続感染者に対する抗ウイルス治療として、IFN と NAs 製剤が使用されてきた。

我が国では、1987 年より従来型 IFN の使用が認められてきたが、2002 年までは 28 日間に限定されており、使用対象も HBe 抗原陽性症例に限定されていた。従来型 IFN は、週 3 回の通院と、高頻度に多彩な副作用が出現すること、HBV 遺伝子型 A 以外で 35 歳以上および線維化進展例では治療効果が得にくいとの報告より、使用が限定的であった (Lin et al., 2004; Lin et al., 2007)。2011 年に従来型 IFN より治療効果が高い Peg-IFN が HBe 抗原の有無を問わず使用できるようになった。Peg-IFN は、年齢 (35 歳以上) や線維化進展例でも治療効果に差は認めなかったが、治療前に治療反応を予測する方法は HBV 遺伝子型 A であることのみであった (Buster et al., 2009)。また、肝硬変症例の使用も認められていない。そのため、HBV 遺伝子型 B および C が大勢を占める本邦では、2011 年以前より多くの症例が NAs 治療を受けている。

NAs は HBV の逆転写酵素を特異的に阻害し、HBV DNA の合成を強力に抑制する。この結果、血中 HBV DNA 量は速やかに低下し、ALT 値も改善する。NAs 治療により持続的にウイルス増殖が抑制されることにより、LAM 単独治療、LAM+ADV 併用療法、ETV 投与において、肝発癌抑止効果が示されている (Eun et al., 2010; Hosaka et al., 2013; Papatheodoridis et al., 2005; Wong et al., 2013; Yuen et al., 2007)。また、治療効果は HBV 遺伝子型に関係なく、副作用も少ないという利点がある。しかし、短期間の治療では、投与中止後高頻度にウイルスが再増殖し肝炎が再燃するため (van Nunen et al., 2003)、長期予後改善の目標達成のために長期間にわたる継続投与が必要となる。しかし、長期投与に伴う薬剤耐性株出現の可能性や長期投与に伴う安全性が確認されていない点、ならびに医療経済的な問題がある。

HBs 抗原は NAs の逆転写酵素阻害による影響を受けづらいと考えられ、NAs 治療中止時の HBs 抗原が低値群 (< 1000 IU/mL) では、中止後の再治療率が有意に低率であった (18% vs. 63%, $P = 0.049$) ことから、本邦での NAs 治療中止に関する指針では、HB コア関連抗原量とともに、HBs 抗原が $1.9 \log_{10}$ IU/mL 未満を中止後の肝炎再燃リスクが低リスクと予測している (Matsumoto et al., 2012; Tanaka and Matsumoto, 2014)。しかし

ながら、NAs長期投与によるHBs抗原の減少効果については、現在のところ十分なデータの報告がない。

本研究ではNAs治療におけるヌクレオシドアナログ投与群とヌクレオチドアナログ投与群で実臨床における長期間治療のHBs抗原減少効果を含む治療効果をレトロスペクティブに検討することを目的とした。主要評価項目をHBs抗原減少量、副次的評価項目をHBV-DNA陰性化率、ALT正常化率、HBe抗原陽性症例におけるHBe抗原セロコンバージョン(HBe抗原消失かつHBe抗体陽性)率、HBs抗原セロクリアランス(HBs抗原消失)率、HBs抗原セロコンバージョン(HBs抗原消失かつHBs抗体陽性)率について、観察期間中1年毎に検討を行なった。また事後解析として、治療に伴う血清IFN- λ 3値の変化に着目し、ヌクレオシドアナログ投与群とヌクレオチドアナログ投与群で治療開始前と治療開始1年後の保存血清を用いて比較検討を行い、IFN- λ 3が治療効果に及ぼす影響について検討を行なった。

患者背景における検討では、ADV/TDF群はETV群に比較し、若年者、男性、HBe抗原陽性症例が多く、LAMを早くから使用するような、医学的に治療の緊急度や重要性の比較的高い症例が多いことが明らかになった(表3)。このような患者背景因子の偏りを完全に是正し、純粋な治療効果のみを検討することは困難であるが、治療背景に横たわるこのような因子の偏りは全世界に共通するものと考えられ、本研究においてはより実臨床に則した条件で、NAs長期治療の効果を検討することに重きを置いた。その他の肝癌既往や肝硬変症例、ALT値、HBV DNA量やHBs抗原量、治療期間については、偏りはなかった。また、両群とも少数の判定不明を除くとHBV遺伝子型B、Cと日本人に多い遺伝子型で、欧米に多いとされる遺伝子型AやDは含まれていなかった(Ito et al., 2016)。

HBV DNA陰性化率の検討では、各症例の治療前HBV DNA量により影響を受ける可能性があるため、HBV DNA量による層別化した統計解析を行ったが、全症例(図2)、HBe抗原陽性症例(図3)、HBe抗原陰性症例(図4)における検討で、両群間に有意差を認めなかった。これまでETVを5年間投与した報告があるが、HBV DNA陰性化率は、1、2、3、4、5年目で、55~81、83、89、91、94%であった(Chang et al., 2010; Tenney et al., 2009)。本研究でも、ETV群のHBV DNA陰性化率は、1、2、3、4、5年目で、88、95、95、96、97%と同等以上の成績であった。一方、LAM+ADV併用療法における5年間のHBV DNA陰性化率の報告では、1、2、3、4、5年目で、56~82、74~84、81~86、80~92、85~86%と報告されている(Aizawa et al., 2011; Hosaka et al., 2007; Inoue et al., 2011; Shakado et al., 2008; Tamori et al., 2010; Wu et al., 2011)。本研究での、ADV/TDF群のHBV DNA陰性化率は、1、2、3、4、5年目で、76、83、87、90、90%と同等以上の成績であった。NAsはDNA複製過程を抑制することに

より、宿主因子に関わらず強力な抗ウイルス効果を発揮するため、患者背景等の違いによらず同等の結果となったものと考えられた。

ALT 正常化率の検討でも、各症例の治療前 HBV DNA 量により肝炎の程度に影響を受ける可能性があるため、HBV DNA 量による層別化した統計解析を行ったが、全症例 (図 5、図 6)、HBe 抗原陽性症例 (図 7、図 8)、HBe 抗原陰性症例 (図 9、図 10) において Central laboratory criteria と AASLD criteria による検討で、両群間に有意差を認めなかった。既報では ALT 正常化率の criteria が異なるが、ETV を 5 年間投与した報告では、1、2、3、4、5 年目で、65、78、77、86、80 % であり (Chang et al., 2010; Tenney et al., 2009)、本研究での Central laboratory criteria による検討では同等以上、AASLD criteria による検討ではやや劣る治療成績であった。一方、LAM+ADV 併用療法における 5 年間の ALT 正常化率の報告では、1、2、3、4、5 年目で、67~81、75~83、80~92、82~90、85 % と報告されており (Aizawa et al., 2011; Hosaka et al., 2007; Inoue et al., 2011; Shakado et al., 2008; Tamori et al., 2010; Wu et al., 2011)、本研究での ADV/TDF 群の Central laboratory criteria による検討では同等以上、AASLD criteria による検討ではやや劣る治療成績であった。

HBs 抗原減少量の検討では、5 年間の ETV 投与における解析が本邦より報告されており、HBs 抗原低下量の平均値では 1、2、3、4、5 年目で、-0.21、-0.27、-0.34、-0.42、-0.48 \log_{10} IU/mL であった (Hara et al., 2014)。本研究での ETV 群の 5 年間の HBs 抗原低下量平均値は -0.10、-0.21、-0.29、-0.42、-0.44 \log_{10} IU/mL と同程度であった (図 10)。LAM+ADV 併用投与での HBs 抗原低下量の報告はなく、本邦における TDF と ETV の 1 年間で短期の前向き無作為割り付け試験の結果では、ETV 群での HBs 抗原平均低下量は 0.5、1 年目で、-0.03、-0.05 \log_{10} IU/mL であったのに対し、TDF 群では、-0.15、-0.21 \log_{10} IU/mL と有意に低下していた (Koike et al., 2018)。本研究における ADV/TDF 群の 1 年間の HBs 抗原低下量平均値は、-0.28 \log_{10} IU/mL と同等以上の低下量を示していた。過去の報告で HBe 抗原陽性例の方が陰性例に比較して ETV 投与における HBs 抗原低下量が多いとの報告があったため (Hara et al., 2014)、本研究においても ETV 群 (図 12)、ADV/TDF 群 (図 13) において、HBe 抗原陽性例と HBe 抗原陰性例での比較を行ったが、HBs 抗原低下量に有意差は認めなかった。経過観察中 1、2、7、8、9 年目の HBs 抗原低下量に ETV 群と ADV/TDF 群で有意差を認めた (図 11)。全観察期間中、ADV/TDF 群の方が ETV 群よりも一貫して HBs 抗原低下量は多かったが、症例数の変化や値のバラツキにより 3 年目から 6 年目まで有意差を認めなかった可能性が考えられた。また、傾向として ETV 群は 4 年目以降の HBs 抗原低下量の減少速度が緩やかに変化していた。この傾向は既報とも一致するため (Hara et al., 2014)、長期投与における NAs 投与における HBs 抗原低下速度に関しては、今後も着目すべき点であると考えられた。

HBe 抗原セロコンバージョン率の検討では、本邦より NAs 治療初回 ETV 投与 4 年間の報告があり、1、2、3、4 年目で、12~20、18~20、29、38 %であった。本研究での NAs 治療初回 ETV 投与 4 年間の HBe 抗原セロコンバージョン率は、18、21、25、33 %と同等の成績であった(表 4)。LAM+ADV 併用投与での HBe 抗原セロコンバージョン率の既報では、1、2、3 年目で 9.8~23.5、25.0、61.5 %であり(Hosaka et al., 2007; Inoue et al., 2011)、本研究でも 19、34、46 %と良好であった。

HBs 抗原セロクリアランスの検討では、本研究では ETV 群で 3 例(2.5%)に、ADV/TDF 群では、2 例(3.6%)に認めた(表 6)。既報では、HBe 抗原陰性例からの ETV 4 年間投与の HBs 抗原陰性化率は 0 %であったが(Ono et al., 2012)、本研究で HBs 抗原セロクリアランスが得られた ETV 投与症例は、3 例とも HBe 抗原陰性例であった(表 6)。患者背景より、投与開始前 HBs 抗原量が少ない症例でかつ、NAs 開始後 HBs 抗原減少量が多い症例が HBs 抗原セロクリアランスを得やすい症例と考えられた。この傾向は、既報とも一致した(Hara et al., 2014)。

Marcellin らは B 型慢性肝炎の初回治療例に対し、TDF と Peg-IFN α の同時投与 48 週、TDF と Peg-IFN α 16 週投与に引き続き TDF 32 週投与、Peg-IFN α 単独治療 48 週、TDF 単独治療 120 週の 4 つの治療群に分け、治療開始 48 週および 72 週における治療効果を検討する、多施設間ランダム化、アクティブコントロール研究を行った(Marcellin et al., 2016)。この報告での治療開始 72 週における HBs 抗原セロクリアランス率は TDF+Peg-IFN α 群において 9.1 %、Peg-IFN α 単独治療群で 2.8 %、TDF 単独治療群で 0 %であった。本研究では、約 9 年間の観察期間における HBs 抗原セロクリアランス率は ETV 治療群で 2.5 %、TDF 治療群で 3.6 %のセロクリアランス率であり、Peg-IFN α 単独もしくは併用による治療成績が TDF 単独治療と比較して優れているように見える。しかし患者の背景因子を比較すると、この報告では初回治療のみだったが、本研究では初回治療症例は ETV 群の全例と ADV/TDF 群の 16.4 %にすぎず、ADV/TDF 群のうち薬剤耐性ウイルス出現のため肝炎再燃し、2 次治療として ADV/TDF 治療を開始している症例が 80 %を占めていた。また本研究での年齢中央値は ETV 群で 55 歳、ADV/TDF 群で 51 歳と中高年が中心であったが、この報告での年齢平均値は TDF+Peg-IFN α 群で 38 歳と若年者を中心とし、肝硬変症例を除外しており、かつ男性で ALT 54 U/L 以上かつ 400 U/L 以下、女性で ALT 36 U/L 以上 300 U/L 以下と、抗ウイルス療法開始に有利な免疫応答期にある症例が選別されているものと考えられた。またサブ解析では、HBs 抗原セロクリアランスが得られた症例は遺伝子型 A では 13.1 %であったが、遺伝子型 B で 4.4 %、遺伝子型 C で 1.6 %、遺伝子型 D で 0 %、遺伝子型 E-H で 0 %であり、年齢条件等が抗ウイルス療法に有利な条件であっても、遺伝子型 C ではセロクリアランスが得づらい可能性が示唆された。これらを鑑みると、本研究は中高年例、治療再燃例、肝硬変症例を含み、かつ遺伝子型 C が 80 %を占める患者群に

において、患者全体において176例中5例2.8%、ETV群で121例中3例2.5%、ADV/TDF群で55例中2例3.6%のHBs抗原セロクリアランス率は、比較的良好な結果であったと考えられた(表6)。

次に治療開始時および治療開始後1年目で血清IFN- λ 3が測定可能であった、ETV群51例、ADV/TDF群43例の検討を行った。患者背景は、背景因子およびウイルス学的因子とも両群に偏りを認めなかった。ADV/TDF群では、ETV群に比較して治療開始1年後の血清IFN- λ 3値は有意差をもって上昇しており(図17)、既報と一致した結果であった(Murata et al., 2018)。全症例での相関解析では、血清IFN- λ 3値とHBs抗原低下量の間ETV群では負の相関は認めなかったが(図18)、ADV/TDF群では有意差は認めなかったがゆるやかな負の相関関係を示した(図19)。ETV群の相関解析で正の相関関係に有意差を認めているが($P = 0.0412$)、IFN- λ 3値の基準値は5 pg/mL未満と考えられており、ほとんどの症例が基準値内のため意義はないと考えられた。同一治療群の中でも開始時HBs抗原量や治療反応性にバラツキがあるため、症例をHBV遺伝子型C、投与開始前HBs抗原比較的低値、投与開始後HBV DNAの低下が良い症例に限定して解析を行ったところ、血清IFN- λ 3値とHBs抗原低下量の間ADV/TDF群で有意差をもって負の相関関係を見いだせた(図20)。このことより、日本人に多いHBV遺伝子型Cで(Ito et al., 2016)、開始時HBs抗原量が比較的低値な症例においては、ヌクレオチドアナログ投与による血清IFN- λ 3値がHBs抗原低下量の指標になる可能性が考えられた。IFN- λ は、HBV(Robek et al., 2005)、デング熱ウイルス(Palma-Ocampo et al., 2015)においてウイルス複製に直接的な抑制効果として、ISGsの誘導を介したウイルス蛋白の翻訳、ウイルスのRNAのフラグメンテーション、およびウイルスRNAの合成を阻害することにより抗ウイルス作用を発揮することが報告されている。また、種々誘導されるISGsにより、宿主の免疫賦活作用も発揮することが知られている(Samuel, 2001)。これらの事象より、ヌクレオチドアナログではなく、ヌクレオチドアナログは直接的な抗ウイルス作用を持つだけではなく、宿主免疫に対する免疫賦活作用を有している可能性を示唆している。

NAs治療における早期HBs抗原低下に関与する因子を検討したところ、単変量解析では、開始時年齢、ヌクレオチドアナログ投与、開始時HBV DNA量低値、HBe抗原陰性例が、多変量解析で、開始時年齢、ヌクレオチドアナログ投与が抽出された(表9)。このことは、長期間服用を必要とされるNAs治療患者にとっては、日常臨床における治療選択理由となり得ると考えられた。

本研究において、ヌクレオチドアナログ投与(ETV群)とヌクレオチドアナログ投与(ADV/TDF群)におけるHBs抗原セロクリアランスを達成するまでの期間を算出したところ、ETV群で約87年間であったのに対し、ADV/TDF群では約27年間であった(図16)。本研究では中高年例、治療再燃例、肝硬変症例等、比較的予後不良で治療選択肢

の限られる症例が多く含まれていたが、ADV/TDF 治療はこのような背景因子に関わらず、生存期間中に HBs 抗原セロクリアランスが得られる有用な治療と考えられた。本研究より現時点において、60 歳程度までの HBV 陽性患者はヌクレオチドアナログ投与（今後は TDF より副作用を低減されている TAF の単独投与が中心となる）により HBs 抗原セロクリアランスを目標においた治療選択を、60 歳より高齢でかつ腎障害等の併存疾患を有する症例は安全性に関して高いエビデンスが証明されているヌクレオシドアナログ投与 (ETV 単独投与) により肝線維化進展抑制や肝細胞癌発生予防目標とした治療選択を行うべきと考えられた。

NAs 療法での HBs 抗原セロクリアランスを早期達成するために、現在世界中で NAs に追加投与する新規創薬研究が行われている (Liang et al., 2015; Morikawa et al., 2016a; Morikawa et al., 2016b)。本研究で明らかとなった NAs 製剤による HBs 抗原低下効果の差を、今後多施設共同研究によるヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 単独投与群) とヌクレオチドアナログ投与群 (TAF 単独投与群) の前向き観察研究を長期間行うことが、さらなる検証に必要と考えられた。

総括および結論

本研究では以下の知見が得られた。

- ・ヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 群) とヌクレオチドアナログ投与群 (ADV/TDF 群) では、HBV DNA 陰性化率や ALT 正常化率、HBe 抗原セロコンバージョン率における抗ウイルス効果は、有意差を認めなかった。

- ・ヌクレオチドアナログ投与群 (ADV/TDF 群) は、ヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 群) よりも HBs 抗原減少量が上回っていた。観察期間中ヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 群) では 3 例 2.5% に、ヌクレオチドアナログ投与群 (ADV/TDF 群) では 2 例 3.6% に HBs 抗原セロクリアランスを認めた。HBs 抗原セロクリアランスまでの期間を試算すると、ヌクレオチドアナログ投与群 (ADV/TDF 群) は約 27 年、ヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 群) は約 87 年で、約 3.23 倍短縮可能であった。

- ・ヌクレオチドアナログ投与群 (ADV/TDF 群) では、ヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 群) よりも、投与後 1 年目血清で IFN- λ 3 が有意に誘導されていた。ヌクレオチドアナログ投与群 (ADV/TDF 群) では、HBV 遺伝子型 C において、治療開始前 HBs 抗原量が比較的少なく、NAs 治療反応性が良い症例では、血清 IFN- λ 3 値と HBs 抗原減少量が多い症例と関連していた。この相関は、ヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 群) では認められなかった。

- ・本研究より現時点において、60 歳程度までの HBV 陽性患者はヌクレオチドアナログ投与 (今後は TDF より副作用を低減されている TAF の単独投与が中心となる) により HBs 抗原セロクリアランスを目標においた治療選択を、60 歳より高齢でかつ腎障害等の併存疾患を有する症例は安全性に関して高いエビデンスが証明されているヌクレオシドアナログ投与 (ETV 単独投与) により肝線維化進展抑制や肝細胞癌発生予防目標とした治療選択を行うべきと考えられた。

今後は、多施設共同研究によるヌクレオシドアナログ投与群 (ETV 単独投与群) とヌクレオチドアナログ投与群 (TAF 単独投与群) の前向き観察研究を長期間行うことが、本研究で明らかとなった事実のさらなる検証に必要と考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始有益な御指導・御助言をいただきました北海道大学大学院医学研究院内科学分野消化器内科学教室：坂本直哉教授に深く感謝いたします。

同教室：森川賢一助教には、研究遂行にあたり、実験方法、データベース作成、データ解釈、論文作成など多方面にわたり御指導・御援助頂きました、感謝いたします。

同教室：小川浩司助教には、研究遂行にあたり、実験方法、データベース作成、データ解釈など多方面にわたり御指導・御援助頂きました、感謝いたします。

国際医療福祉大学消化器内科学：村田一素教授には、研究遂行にあたり、IFN λ -3の測定、データ解釈など多方面にわたり御指導・御援助頂きました、感謝いたします。

統計解析を御指導頂いた北海道大学病院臨床研究開発センター：大野浩太先生に感謝いたします。

臨床における技術指導や、検体の採取、症例登録、臨床試験参加同意取得などにご尽力頂きました、北海道大学病院消化器内科 肝臓グループの諸先生方に、深謝いたします。

2018年 9月
梅村 真知子

引用文献

Agarwal, K., Brunetto, M., Seto, W.K., Lim, Y.S., Fung, S., Marcellin, P., Ahn, S.H., Izumi, N., Chuang, W.L., Bae, H., *et al.* (2018). 96weeks treatment of tenofovir alafenamide vs. tenofovir disoproxil fumarate for hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 68, 672-681.

Aizawa, M., Tsubota, A., Fujise, K., Tatsuzawa, K., Kono, M., Hoshina, S., and Tajiri, H. (2011). Clinical course and predictive factors of virological response in long-term lamivudine plus adefovir dipivoxil combination therapy for lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients. *J Med Virol* 83, 953-961.

Aoki, Y., Sugiyama, M., Murata, K., Yoshio, S., Kurosaki, M., Hashimoto, S., Yatsushashi, H., Nomura, H., Kang, J.H., Takeda, T., *et al.* (2015). Association of serum IFN- λ 3 with inflammatory and fibrosis markers in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol* 50, 894-902.

Boglione, L., D'Avolio, A., Cariti, G., Gregori, G., Burdino, E., Baietto, L., Cusato, J., Ghisetti, V., De Rosa, F.G., and Di Perri, G. (2013). Kinetics and prediction of HBsAg loss during therapy with analogues in patients affected by chronic hepatitis B HBeAg negative and genotype D. *Liver Int* 33, 580-585.

Buster, E.H., Hansen, B.E., Lau, G.K., Piratvisuth, T., Zeuzem, S., Steyerberg, E.W., and Janssen, H.L. (2009). Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B to peginterferon-alfa. *Gastroenterology* 137, 2002-2009.

Chang, T.T., Lai, C.L., Kew Yoon, S., Lee, S.S., Coelho, H.S., Carrilho, F.J., Poordad, F., Halota, W., Horsmans, Y., Tsai, N., *et al.* (2010). Entecavir treatment for up to 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 51, 422-430.

Chu, C.M., and Liaw, Y.F. (2007). Chronic hepatitis B virus infection acquired in childhood: special emphasis on prognostic and therapeutic implication of delayed HBeAg seroconversion. *J Viral Hepat* 14, 147-152.

Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society

of Hepatology. (2014). JSH Guidelines for the Management of Hepatitis B Virus Infection. *Hepatol Res* 44 *Suppl S1*, 1-58.

Eun, J.R., Lee, H.J., Kim, T.N., and Lee, K.S. (2010). Risk assessment for the development of hepatocellular carcinoma: according to on-treatment viral response during long-term lamivudine therapy in hepatitis B virus-related liver disease. *J Hepatol* 53, 118-125.

European Association for the Study of the Liver. (2017). EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 67, 370-398.

Fattovich, G., Bortolotti, F., and Donato, F. (2008a). Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol* 48, 335-352.

Fattovich, G., Olivari, N., Pasino, M., D'Onofrio, M., Martone, E., and Donato, F. (2008b). Long-term outcome of chronic hepatitis B in Caucasian patients: mortality after 25 years. *Gut* 57, 84-90.

Grzegorzewska, A.E., Swiderska, M.K., Mostowska, A., and Jagodzinski, P.P. (2017). Circulating Interferon-lambda3, Responsiveness to HBV Vaccination, and HBV/HCV Infections in Haemodialysis Patients. *Biomed Res Int* 2017, 3713025.

Grzegorzewska, A.E., Swiderska, M.K., Mostowska, A., Warchol, W., and Jagodzinski, P.P. (2016). Antibodies to HBV surface antigen in relation to interferon-lambda3 in hemodialysis patients. *Vaccine* 34, 4866-4874.

Hara, T., Suzuki, F., Kawamura, Y., Sezaki, H., Hosaka, T., Akuta, N., Kobayashi, M., Suzuki, Y., Saitoh, S., Arase, Y., *et al.* (2014). Long-term entecavir therapy results in falls in serum hepatitis B surface antigen levels and seroclearance in nucleos(t)ide-naive chronic hepatitis B patients. *J Viral Hepat* 21, 802-808.

Hoofnagle, J.H., Doo, E., Liang, T.J., Fleischer, R., and Lok, A.S. (2007). Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 45, 1056-1075.

Hosaka, T., Suzuki, F., Kobayashi, M., Seko, Y., Kawamura, Y., Sezaki, H., Akuta, N., Suzuki, Y., Saitoh, S., Arase, Y., *et al.* (2013). Long-term entecavir treatment

reduces hepatocellular carcinoma incidence in patients with hepatitis B virus infection. *Hepatology* 58, 98-107.

Hosaka, T., Suzuki, F., Suzuki, Y., Saitoh, S., Kobayashi, M., Someya, T., Sezaki, H., Akuta, N., Arase, Y., Ikeda, K., *et al.* (2007). Factors associated with the virological response of lamivudine-resistant hepatitis B virus during combination therapy with adefovir dipivoxil plus lamivudine. *J Gastroenterol* 42, 368-374.

Inoue, J., Ueno, Y., Wakui, Y., Niitsuma, H., Fukushima, K., Yamagiwa, Y., Shiina, M., Kondo, Y., Kakazu, E., Tamai, K., *et al.* (2011). Four-year study of lamivudine and adefovir combination therapy in lamivudine-resistant hepatitis B patients: influence of hepatitis B virus genotype and resistance mutation pattern. *J Viral Hepat* 18, 206-215.

Ito, K., Yotsuyanagi, H., Sugiyama, M., Yatsushashi, H., Karino, Y., Takikawa, Y., Saito, T., Arase, Y., Imazeki, F., Kurosaki, M., *et al.* (2016). Geographic distribution and characteristics of genotype A hepatitis B virus infection in acute and chronic hepatitis B patients in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 31, 180-189.

Koike, K., Suyama, K., Ito, H., Itoh, H., and Sugiura, W. (2018). Randomized prospective study showing the non-inferiority of tenofovir to entecavir in treatment-naive chronic hepatitis B patients. *Hepatol Res* 48, 59-68.

Liang, T.J., Block, T.M., McMahon, B.J., Ghany, M.G., Urban, S., Guo, J.T., Locarnini, S., Zoulim, F., Chang, K.M., and Lok, A.S. (2015). Present and future therapies of hepatitis B: From discovery to cure. *Hepatology* 62, 1893-1908.

Liaw, Y.F., Leung, N., Kao, J.H., Piratvisuth, T., Gane, E., Han, K.H., Guan, R., Lau, G.K., Locarnini, S., and Chronic Hepatitis, B.G.W.P.o.t.A.-P.A.f.t.S.o.t.L. (2008). Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2, 263-283.

Lin, S.M., Tai, D.I., Chien, R.N., Sheen, I.S., Chu, C.M., and Liaw, Y.F. (2004). Comparison of long-term effects of lymphoblastoid interferon alpha and recombinant interferon alpha-2a therapy in patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 11, 349-357.

Lin, S.M., Yu, M.L., Lee, C.M., Chien, R.N., Sheen, I.S., Chu, C.M., and Liaw, Y.F.

(2007). Interferon therapy in HBeAg positive chronic hepatitis reduces progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* *46*, 45-52.

Marcellin, P., Ahn, S.H., Ma, X., Caruntu, F.A., Tak, W.Y., Elkashab, M., Chuang, W.L., Lim, S.G., Tabak, F., Mehta, R., *et al.* (2016). Combination of Tenofovir Disoproxil Fumarate and Peginterferon alpha-2a Increases Loss of Hepatitis B Surface Antigen in Patients With Chronic Hepatitis B. *Gastroenterology* *150*, 134-144 e110.

Matsumoto, A., Tanaka, E., Suzuki, Y., Kobayashi, M., Tanaka, Y., Shinkai, N., Hige, S., Yatsunami, H., Nagaoka, S., Chayama, K., *et al.* (2012). Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* *42*, 139-149.

Morikawa, K., Shimazaki, T., Takeda, R., Izumi, T., Umumura, M., and Sakamoto, N. (2016a). Hepatitis B: progress in understanding chronicity, the innate immune response, and cccDNA protection. *Ann Transl Med* *4*, 337.

Morikawa, K., Suda, G., and Sakamoto, N. (2016b). Viral life cycle of hepatitis B virus: Host factors and druggable targets. *Hepatol Res* *46*, 871-877.

Murata, K., Asano, M., Matsumoto, A., Sugiyama, M., Nishida, N., Tanaka, E., Inoue, T., Sakamoto, M., Enomoto, N., Shirasaki, T., *et al.* (2018). Induction of IFN-lambda3 as an additional effect of nucleotide, not nucleoside, analogues: a new potential target for HBV infection. *Gut* *67*, 362-371.

Murata, K., Sugiyama, M., Kimura, T., Yoshio, S., Kanto, T., Kirikae, I., Saito, H., Aoki, Y., Hiramane, S., Matsui, T., *et al.* (2014). Ex vivo induction of IFN-lambda3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol* *49*, 126-137.

Ono, A., Suzuki, F., Kawamura, Y., Sezaki, H., Hosaka, T., Akuta, N., Kobayashi, M., Suzuki, Y., Saitou, S., Arase, Y., *et al.* (2012). Long-term continuous entecavir therapy in nucleos(t)ide-naïve chronic hepatitis B patients. *J Hepatol* *57*, 508-514.

Palma-Ocampo, H.K., Flores-Alonso, J.C., Vallejo-Ruiz, V., Reyes-Leyva, J., Flores-Mendoza, L., Herrera-Camacho, I., Rosas-Murrieta, N.H., and

Santos-Lopez, G. (2015). Interferon lambda inhibits dengue virus replication in epithelial cells. *Virology* *12*, 150.

Papatheodoridis, G.V., Dimou, E., Dimakopoulos, K., Manolakopoulos, S., Rapti, I., Kitis, G., Tzourmakliotis, D., Manesis, E., and Hadziyannis, S.J. (2005). Outcome of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B on long-term nucleos(t)ide analog therapy starting with lamivudine. *Hepatology* *42*, 121-129.

Park, C.H., Jeong, S.H., Yim, H.W., Kim, J.D., Bae, S.H., Choi, J.Y., and Yoon, S.K. (2012). Family history influences the early onset of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* *18*, 2661-2667.

Robek, M.D., Boyd, B.S., and Chisari, F.V. (2005). Lambda interferon inhibits hepatitis B and C virus replication. *J Virol* *79*, 3851-3854.

Samuel, C.E. (2001). Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev* *14*, 778-809, table of contents.

Shakado, S., Watanabe, H., Tanaka, T., Morihara, D., Nishizawa, S., Inomata, S., Ueda, S., Matsumoto, T., Anan, A., Takeyama, Y., *et al.* (2008). Combination therapy of lamivudine and adefovir in Japanese patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Int* *2*, 361-369.

Simonetti, J., Bulkow, L., McMahon, B.J., Homan, C., Snowball, M., Negus, S., Williams, J., and Livingston, S.E. (2010). Clearance of hepatitis B surface antigen and risk of hepatocellular carcinoma in a cohort chronically infected with hepatitis B virus. *Hepatology* *51*, 1531-1537.

Sugiyama, M., Kimura, T., Naito, S., Mukaide, M., Shinauchi, T., Ueno, M., Ito, K., Murata, K., and Mizokami, M. (2012). Development of specific and quantitative real-time detection PCR and immunoassays for lambda3-interferon. *Hepatol Res* *42*, 1089-1099.

Tamori, A., Enomoto, M., Kobayashi, S., Iwai, S., Morikawa, H., Sakaguchi, H., Habu, D., Shiomi, S., Imanishi, Y., and Kawada, N. (2010). Add-on combination therapy with adefovir dipivoxil induces renal impairment in patients with lamivudine-refractory hepatitis B virus. *J Viral Hepat* *17*, 123-129.

Tanaka, E., and Matsumoto, A. (2014). Guidelines for avoiding risks resulting from discontinuation of nucleoside/nucleotide analogs in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 44, 1-8.

Tanaka, J., Koyama, T., Mizui, M., Uchida, S., Katayama, K., Matsuo, J., Akita, T., Nakashima, A., Miyakawa, Y., and Yoshizawa, H. (2011). Total numbers of undiagnosed carriers of hepatitis C and B viruses in Japan estimated by age- and area-specific prevalence on the national scale. *Intervirology* 54, 185-195.

Tanaka, Y., Nishida, N., Sugiyama, M., Kurosaki, M., Matsuura, K., Sakamoto, N., Nakagawa, M., Korenaga, M., Hino, K., Hige, S., *et al.* (2009). Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 41, 1105-1109.

Tenney, D.J., Rose, R.E., Baldick, C.J., Pokornowski, K.A., Eggers, B.J., Fang, J., Wichroski, M.J., Xu, D., Yang, J., Wilber, R.B., *et al.* (2009). Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naive patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 49, 1503-1514.

Terrault, N.A., Bzowej, N.H., Chang, K.M., Hwang, J.P., Jonas, M.M., Murad, M.H., and American Association for the Study of Liver, D. (2016). AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 63, 261-283.

Trepo, C., Chan, H.L., and Lok, A. (2014). Hepatitis B virus infection. *Lancet* 384, 2053-2063.

van Nunen, A.B., Hansen, B.E., Suh, D.J., Lohr, H.F., Chemello, L., Fontaine, H., Heathcote, J., Song, B.C., Janssen, H.L., de Man, R.A., *et al.* (2003). Durability of HBeAg seroconversion following antiviral therapy for chronic hepatitis B: relation to type of therapy and pretreatment serum hepatitis B virus DNA and alanine aminotransferase. *Gut* 52, 420-424.

Wan, D.W., Tzimas, D., Smith, J.A., Kim, S., Araujo, J., David, R., Lobach, I., and Sarpel, U. (2011). Risk factors for early-onset and late-onset hepatocellular carcinoma in Asian immigrants with hepatitis B in the United States. *Am J Gastroenterol* 106, 1994-2000.

World Health Organization. (2017). WHO global hepatitis report 2017.

Wong, G.L., Chan, H.L., Mak, C.W., Lee, S.K., Ip, Z.M., Lam, A.T., Iu, H.W., Leung, J.M., Lai, J.W., Lo, A.O., *et al.* (2013). Entecavir treatment reduces hepatic events and deaths in chronic hepatitis B patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 58, 1537-1547.

Wu, S., Fukai, K., Imazeki, F., Arai, M., Kanda, T., Yonemitsu, Y., and Yokosuka, O. (2011). Initial virological response and viral mutation with adefovir dipivoxil added to ongoing Lamivudine therapy in Lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci* 56, 1207-1214.

Yim, H.J., and Lok, A.S. (2006). Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology* 43, S173-181.

Yuen, M.F., Seto, W.K., Chow, D.H., Tsui, K., Wong, D.K., Ngai, V.W., Wong, B.C., Fung, J., Yuen, J.C., and Lai, C.L. (2007). Long-term lamivudine therapy reduces the risk of long-term complications of chronic hepatitis B infection even in patients without advanced disease. *Antivir Ther* 12, 1295-1303.