HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	C型肝炎に対するDAA治療におけるB型肝炎再活性化の頻度と危険因子の検討
Author(s)	川岸, 直樹
Description	配架番号：2450
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13436号
Issue Date	2019-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k13436
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74245
Type	doctoral thesis
File Information	Naoki_Kawagishi.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文

C型肝炎に対するDAA治療におけるB型肝炎再活性化の頻度と危険因子の検討

(Prevalence and risk factors of hepatitis B virus reactivation in interferon-free direct-acting antiviral therapies for hepatitis C)

2019 年 3 月

北海道大学

川岸　直樹

学位論文

C型肝炎に対するDAA治療におけるB型肝炎再活性化の頻度と危険因子の検討

(Prevalence and risk factors of hepatitis B virus reactivation in interferon-free direct-acting antiviral therapies for hepatitis C)

2019 年 3 月

北海道大学

川岸　直樹

目　次

発表論文目録および学会発表目録・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 頁
要旨・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3 頁
略語表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6 頁
緒言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7 頁
方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・13 頁
結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・22 頁
考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・35 頁
結論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・39 頁
謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・40 頁
引用文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・41 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発表した。

1. Naoki Kawagishi, Goki Suda, Masahiro Onozawa, Megumi Kimura, Osamu Maehara, Jun Ito, Masato Nakai, Takuya Sho, Mitsuteru Natsuizaka, Kenichi Morikawa, Koji Ogawa, and Naoya Sakamoto
Hepatitis B virus reactivation during hepatitis C direct-acting antiviral therapy in patients with previous HBV infection
Journal of Hepatology, Nov;67(5)・1106-1108,(2017)

2. Naoki Kawagishi, Goki Suda, Masahiro Onozawa, Megumi Kimura, Osamu Maehara, Masatsugu Ohara, Takaaki Izumi, Machiko Umemura, Jun Ito, Masato Nakai, Takuya Sho, Mitsuteru Natsuizaka, Kenichi Morikawa, Koji Ogawa, and Naoya Sakamoto
Comparing the risk of hepatitis B virus reactivation between direct-acting antiviral therapies and interferon-based therapies for hepatitis C
Journal of viral hepatitis, Dec;24(12)・1098-1106,(2017)

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. Naoki Kawagishi, Goki Suda, Masahiro Onozawa, Megumi Kimura, Osamu Maehara, Masatsugu Ohara, Takaaki Izumi, Machiko Umemura, Jun Ito, Masato Nakai, Takuya Sho, Mitsuteru Natsuizaka, Kenichi Morikawa, Koji Ogawa, and Naoya Sakamoto
Prevalence and risk factors of hepatitis B virus reactivation in interferon-free direct-acting antiviral therapies for hepatitis C
The International Liver Congress (European Association for the Study of the Liver) 2017
2017年4月19-23日・アムステルダム, オランダ

2. 川岸直樹, 須田剛生, 坂本直哉
C型肝炎に対するDAA治療におけるB型肝炎再活性化の頻度と危険因子の検討

第 53 回日本肝臓学会総会　ワークショップ
2017 年 6 月 8-9 日・広島, 日本

要 旨

【背景と目的】 C型肝炎ウイルス（HCV）及び、B型肝炎ウイルス（HBV）感染者は世界でそれぞれ、1億6000万人、2億4000万人以上いるとされる。両疾患とも15～30％の患者で肝硬変や肝不全､肝癌などの重篤な肝疾患に進行し、公衆衛生上極めて重要な感染症である。

HBVは肝細胞内で増殖する際に、2本鎖閉鎖環状（covalently closed circular：ccc）DNAを形成し、臨床的には治癒したB型肝炎既往感染例であっても、肝細胞内にはcccDNAが残存し、遺伝子レベルではHBs抗原陽性の現感染例と差異はない。通常、B型肝炎既往感染者は免疫応答によってHBV増殖が制御されており、肝炎を発症しない。しかしながら、化学療法や免疫抑制薬、骨髄移植、肝臓移植などにより免疫応答バランスが崩れた場合、HBV再活性化が起こり、肝障害を引き起こす。またB型肝炎既往感染例からの再活性化に起因した肝炎(*de novo*肝炎)はHBV現感染例からの再活性化と比べ、より重篤な肝障害を引き起こし、死亡率も高い。

近年、C型肝炎治療はHCVのウイルス蛋白を直接ターゲットとしたdirect acting anti virals (DAAs) 製剤の出現により、高率に、迅速にウイルス排除が可能となった。HBV/HCV共感染例では、ウイルス間の干渉により、HCV感染にて誘導された内因性インターフェロン(IFN)やサイトカインがHBVの複製を抑制しており、治療によるHCVの排除はHBV複製の抑止効果を低下させ、結果HBV再活性化を引き起こすと考えられているが明らかではない。慢性C型肝炎に対する治療は最近まではIFNを中心とした治療であった。IFNは抗HBV活性を有していたが、HBV共感染例において、HCV排除に伴うHBV再活性化は少なからず認めていた。しかしながら、HBV再活性化に伴う肝炎は認めず、臨床上問題にはならなかった。一方で、DAAs製剤はHCVの特定領域にのみ効果を発揮し、抗HBV作用は有していないため、HBV再活性化の増加が危惧されていた。近年、HBV現感染合併例のDAAs治療に起因したHBV再活性化による重篤な肝障害や死亡例が報告され、臨床上大きな問題となっている。

現在、HBV既往感染/HCV共感染症例における、DAAs治療中に*de novo* 再活性化が起こりえるかは明らかにされていない。更に、IFNと比較し、DAAs治療はHBV再活性化の頻度、リスクを高めるかについては明らかではない。

そこで、

(1) C型肝炎患者に対するDAAs療法におけるHBV既往感染からの*de novo* 再活性化が起こりうるかどうか

(2) C型肝炎に対するIFN療法と比較してDAAs療法におけるHBV再活性化の頻度、重症度は上昇するかどうか、さらに再活性化の危険因子について検討した。

【対象と方法1】　2013年1月から2016年8月までに北海道大学病院にてDAAs製剤によりC型肝炎治療を受けた191例に対し、HBs抗原、HBV-DNA、HBs抗体、HBc抗体を用いてHCV治療前のHBV感染状況を評価した。B型肝炎既往感染例を検討対象とし、HBV-DNAをC型肝炎治療後に測定し HBVの*de novo*再活性化の有無について検討した。

HBV再活性化の定義は、HBV-DNAが検出感度以下から定性陽性となることとした。

【対象と方法2】　2004年1月から2016年8月までに、北海道大学病院にてIFN、DAAs製剤にてC型肝炎治療を受けた322例に対し、HBs抗原、HBV-DNA、HBs抗体、HBc抗体を用いてHCV治療前のHBV感染状況を評価した。B型肝炎現感染および既往感染例を検討対象とし、HBV-DNAをC型肝炎治療後に測定した。また、HBs抗体陽性例では、治療前後のHBs抗体価の変化も評価し、IFNとDAAs治療におけるHBV再活性化の頻度、重症度さらにB型肝炎再活性化の危険因子を検討した。

HBV再活性化の定義としてHBV-DNAが検出感度以下から定性陽性となる。治療前HBV-DNA陽性例では100倍以上HBV-DNAが増加することとした。またHBV再活性化による肝炎に関しては、HBV-DNAの検出かつ、ALT値が正常の3倍以上の上昇と定義した。

【結果1】　DAAs製剤にて慢性C型肝炎治療が行われた191症例のうち、22例がB型肝炎ワクチンの接種歴などにより除外された。適格症例169例のうち、HBV既往感染例の84例が検討対象となった。全例、治療開始時にはHBV-DNAは陰性であったが、5例が治療終了時にHBV-DNAを検出し、*de novo*再活性化が認められた。しかしながら、1例もHBV再活性化に伴う肝炎は認めなかった。

【結果2】　慢性C型肝炎治療が行われた322症例のうち、B型肝炎ワクチンの接種歴などにより35例が除外された。適格症例の287例のうち、157例がHBV既往感染または現感染症例であり、そのうちIFNを使用した（IFN治療群）72例、DAAsを使用した（DAAs治療群）85例が検討対象となった。DAAs治療群において6例のHBV再活性化を認めたが肝炎の発症は認めなかった。IFN治療群ではHBV再活性化は認めなかった。HBV再活性化の危険因子は、抗ウイルス薬でDAAs治療が選択されている事、HBs抗体陽性例では、治療終了時のHBs抗体価陰性化もしくは、12mIU/mL未満に減少する事が挙げられた。DAAs治療群のみの検討では、治療前HBs抗体価が陰性または、30mIU/mL未満であること

も危険因子として認められた。HBs抗体価の変動の検討では、IFN治療群と比較し、DAAs治療群では治療後のHBs抗体価が有意に低下した。HBV再活性化6例では肝炎は観察されなかったが、3例では、3か月以上に渡って、HBV-DNAが検出された。

【考察】　DAAs製剤によるHCV治療において、HBV既往感染からの*de novo*再活性化は84例中5例（5.9%）に認められた。全例HCVの排除後にHBVの再活性化が起きており、その後HCVの再燃が起こった症例ではすみやかに、HBV-DNAが検出感度以下となった。HCVがHBVの再活性化に深く関与していることが示唆された。また、IFN治療と比較してDAAs治療はHBV再活性化のリスクを有意に高めた。HBV再活性化の危険因子の検討では、HBs抗体価が深く関与していた。IFN治療と比較しDAAs治療では有意に治療後のHBs抗体価が低下しており、DAAs治療が、HBV再活性化を引き起こしやすいことを支持する所見と考えられた。

DAA治療は、高い安全性により高齢者や、透析やHIVなどの免疫不全因子をもつ症例にも多く使用される。本検討では重篤な肝障害は認めなかったが、B型肝炎再活性化に対する注意はより必要となると考えられた。

【結論】　B、C型肝炎共感染におけるC型肝炎の治療では、DAAs治療は、IFN治療と比して有意にHBV再活性化の危険度が高くなる。また、HBV既往感染者からの再活性化も認めるため、HBV既往感染例においてもDAAs治療の際は注意を要する。

略　語　表

本文中および図表に記載した略語は以下の通りである。

ALT：Alanine aminotransferase
ASV：Asunaprevir
CLIA：chemiluminescence immunoassay
cccDNA：Covalently closed circular deoxyribonucleic acid
DAAs：Direct acting antivirals
DCV：Daclatasvir
DNA：Deoxyribonucleic acid
Hb：Hemoglobin
HBc：Hepatitis B core
HBs：Hepatitis B surface
HBV：Hepatitis B virus
HCV：Hepatitis C virus
IFN：Interferon
ISGs：Interferon stimulated genes
LDV：Ledipasvir
PCR：Polymerase Chain Reaction
PEG-IFN：Pegylated Interferon
RBV：Ribavirin
RNA：Ribonucleic Acid
SMV：Simeprevir
SOF：Sofosubvir
SVR：Sustained virologic response
TPV：Telaprevir
VPV：Vaniprevir

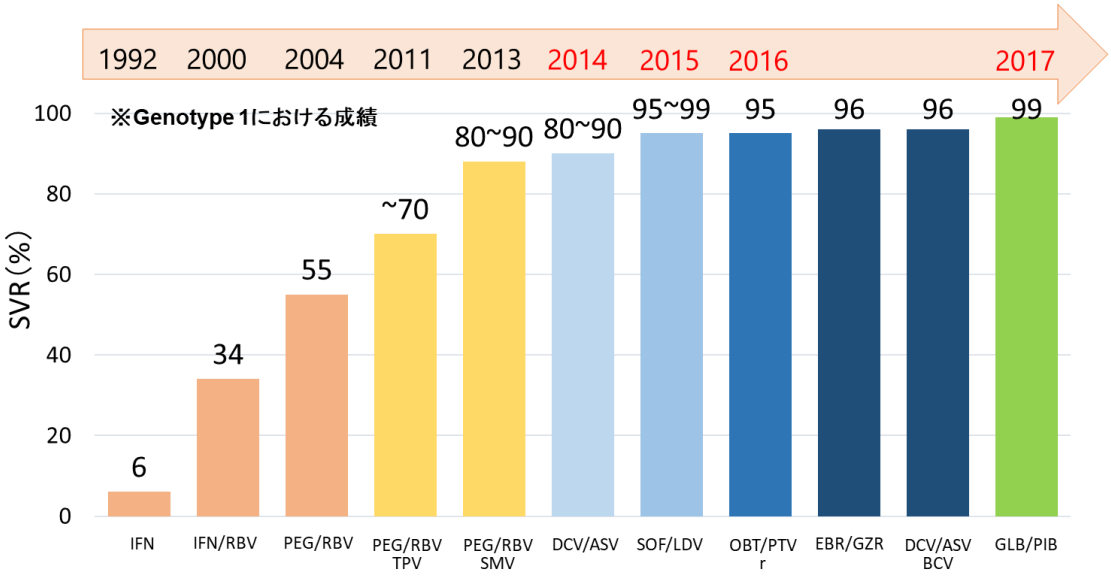
緒　言

C型肝炎ウイルス(Hepatitis C virus: HCV)、B型肝炎ウイルス(Hepatitis B virus: HBV) はそれぞれ、全世界で1億6000万人、2億4000万人の感染者が存在する(Lavanchy, 2011; Ott et al., 2012) 。両疾患とも15～30%の患者で肝硬変や肝不全、肝癌などの重篤な肝疾患に進行する公衆衛生上極めて重要な感染症である(Lok, 2002; Seeff, 2002)。本邦において、肝癌は年間粗死亡数が 3 万人を超え、年齢調整死亡率は悪性新生物全体のなかで第5位と、極めて予後不良な疾患である。その成因として、HCV、HBV に起因するものが約60%、15%と大部分を占めており(Kudo et al., 2016)、非B非C型肝癌が増加している近年においてもB型、C型肝炎治療は肝癌対策において重要な役割を担っている。

HBV はヘパドナウイルス科に属する DNA ウイルスである。HBV は肝細胞内に特異的に感染し、肝細胞に侵入後、不完全二重鎖 HBV-deoxyribonucleic acid (DNA) が完全二重鎖に修復され、2本鎖閉鎖環状 (covalently closed circular: ccc)DNA が形成され、宿主核内にプールされる(Seeger and Mason, 2000)。cccDNA は HBV 複製の起点であり、全ての複製過程がここから開始される。さらに、構造的に極めて安定しており、臨床的に自然治癒した Hepatitis B surface (HBs)抗原陰性、HBV-DNA 陰性であるB型肝炎既往感染例であっても、肝細胞内には cccDNA は残存し、遺伝子レベルでは HBs 抗原、HBV-DNA 陽性である現感染例と差異はない(Mason et al., 1998)。HBV に感染すると、非特異的な自然免疫及び、引き続いて起こる獲得免疫がウイルス排除の方向に向かう。B型肝炎既往感染例においても獲得免疫が作用し続けるため、HBV 増殖は制御され肝炎の再燃は通常起こさない(Rehermann et al., 1996)。しかしながら、化学療法や免疫抑制薬、骨髄移植、肝臓移植などにより免疫バランスが崩れた場合、HBV の再増殖が起こり、HBV 再活性化及び肝障害を引き起こす(Di Bisceglie et al., 2015; Yeo et al., 2009; Yeo et al., 2004)。B型肝炎既往感染例からの再活性化に起因した肝障害は *de novo* 肝炎と呼ばれ、HBV 現感染例からの再活性化と比し、肝障害はより重篤となり、死亡率も高く、臨床上の重大な問題となる(Hui et al., 2006; Umemura et al., 2008)。そのため、HBV 再活性化を予防するために、免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策ガイドラインが制定されている(Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of Hepatology, 2014)。ガイドラインでは、HBV 再活性

化の危険因子としてリツキシマブ、ステロイド併用療法などが挙げられている。申請者のグループでは以前、HBV 既往感染症例の、同種造血幹細胞移植において、経過中の HBs 抗体価の低下、消失が HBV 再活性化の危険因子であることを報告している(Onozawa et al., 2005)。

一方、HCV は 1989 年に発見されたフラビウイルス科に属する Ribonucleic Acid (RNA)ウイルスである。その発見以降、C 型肝炎に対して、インターフェロン（Interferon: IFN）治療が長らく抗 HCV 治療の中心となっていた。しかしながら、その治療効果は本邦に多い Genotype 1b 型高ウイルス量 C 型慢性肝炎例では十分なものではなかった。1 年間週 1 回の皮下注射による治療においても、ウイルス学的著効率(Sustained virologic response: SVR)は約 50%程度であった。しかしながら、ごく最近、慢性 C 型肝炎に対する治療は HCV の蛋白を直接ターゲットとした Direct acting antivirals (DAAs)製剤の出現で劇的な変化を遂げた。2011 年に DAAs 製剤の一種の HCV NS3/4A プロテアーゼ阻害剤であるテラプレビル（Telaprevir: TPV）が承認され、2013 年には第二世代のプロテアーゼ阻害剤であるシメプレビル（Simeprevir: SMV）が承認され、Pegylated Interferon (Peg-IFN)、リバビリン（Ribavirin: RBV）と併用した 3 剤併用療法が可能となり、SVR 率は約 80％と著明に上昇した(Izumi et al., 2014; Sakamoto and Watanabe, 2009)。さらに、2014 年より NS5A 阻害剤であるダクラタスビル(Daclatasvir: DCV）とプロテアーゼ阻害剤であるアスナプレビル（Asunaprevir: ASV）の併用療法により IFN を用いない、IFN-free DAAs 治療が実現し、SVR 率も約 85%と良好な治療成績が得られるようになった(Kumada et al., 2014)。現在第三世代 DAAs 製剤であるグレカプレビル(プロテアーゼ阻害剤)、ピブレンタスビル（NS5A 阻害剤）併用療法にて SVR 率 99％となり(Krishnan et al., 2018)、C 型肝炎は治癒が目指せる状態に近づきつつある（図１）。



IFN, Interferon; PEG, Pegylated interferon; RBV, Ribavirin; TPV, Telaprevir; SMV, Simeprevir; DCV, Daclatasvir; ASV, Asunaprevir; SOF, Sofosubvir; LDV, Ledipasvir; OBT, Ombitasvir; PTV, Paritaprevir; r, Ritonavir; EBR, Elbasvir; GZR, Grazoprevir; BCV, Beclabuvir; GLB, glecaprevir; PIB; pibrentasvir

図 1. C 型肝炎の抗ウイルス治療の変遷と治療効果
(Izumi et al., 2014; Krishnan et al., 2018; Kumada et al., 2015; Kumada et al., 2014; Sakamoto and Watanabe, 2009)より改変引用

HBV と HCV の生活環及び複製の起点は、HBV では主に肝細胞の核内で、HCV は細胞質であり、同一肝細胞内に共感染は起こりうる。実際に C 型慢性肝炎患者の 2-10%が HBs 抗原陽性である(Caccamo et al., 2014)。そして、共感染状態では、ウイルス間の干渉がおき、HCV は HBV の増殖を抑制し、HCV が肝炎の主体ウイルス（dominant ウイルス）となる事が多い(Chu et al., 1998; Raimondo et al., 2005）。機序は十分に明らかとはなっていないが、主に HCV 感染による内因性 IFN の増加が推測されている。

HCV などのウイルスに感染すると Toll-like receptor (TLR)で感知され、Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)を介して、IFN-regulatory factor(IRF)-3/IRF-7 および nuclear factor-κB (NF-κB) の活性化が誘導され、内因性の IFN、炎症性サイトカインが誘導される(McAllister and Samuel, 2009; Takeuchi and Akira, 2010)。内因性 IFN は細胞膜の I 型 Interferon Receptor (IFNR)に結合することにより作用し、チロシン型蛋白リン酸化酵素である Janus kinase (JAK) 1 が活性化され、Signal transducers and activators of transcription (STAT) 1 のリン酸化が引き起こされる。その結果、2 量体の形成が起こり核内に情報が伝達され、Interferon stimulated genes (ISGs) が誘導される。ISGs には Protein

kinase R (PKR)、2'-5'-oligoadenylate synthetase (2'-5'OAS) などが存在し、これらの発現の結果、ウイルス蛋白質の翻訳抑制やウイルスの messenger RNA 分解など抗ウイルス効果を発揮する(Haller et al., 2006; Sen, 2001)。その他、HCV 由来の蛋白である HCV core 蛋白も HBV の複製に影響を与えている可能性があるとされている(Chen et al., 2003)。事実、HCV/HBV 共感染例では HBV 単感染例と比較し、HBs 抗原量、HBV-DNA 値は有意に低く、サイトカインや ISGs の一つである IP-10 が有意に高いと報告されている(Chu et al., 1998; Wiegand et al., 2015) (図 2)。

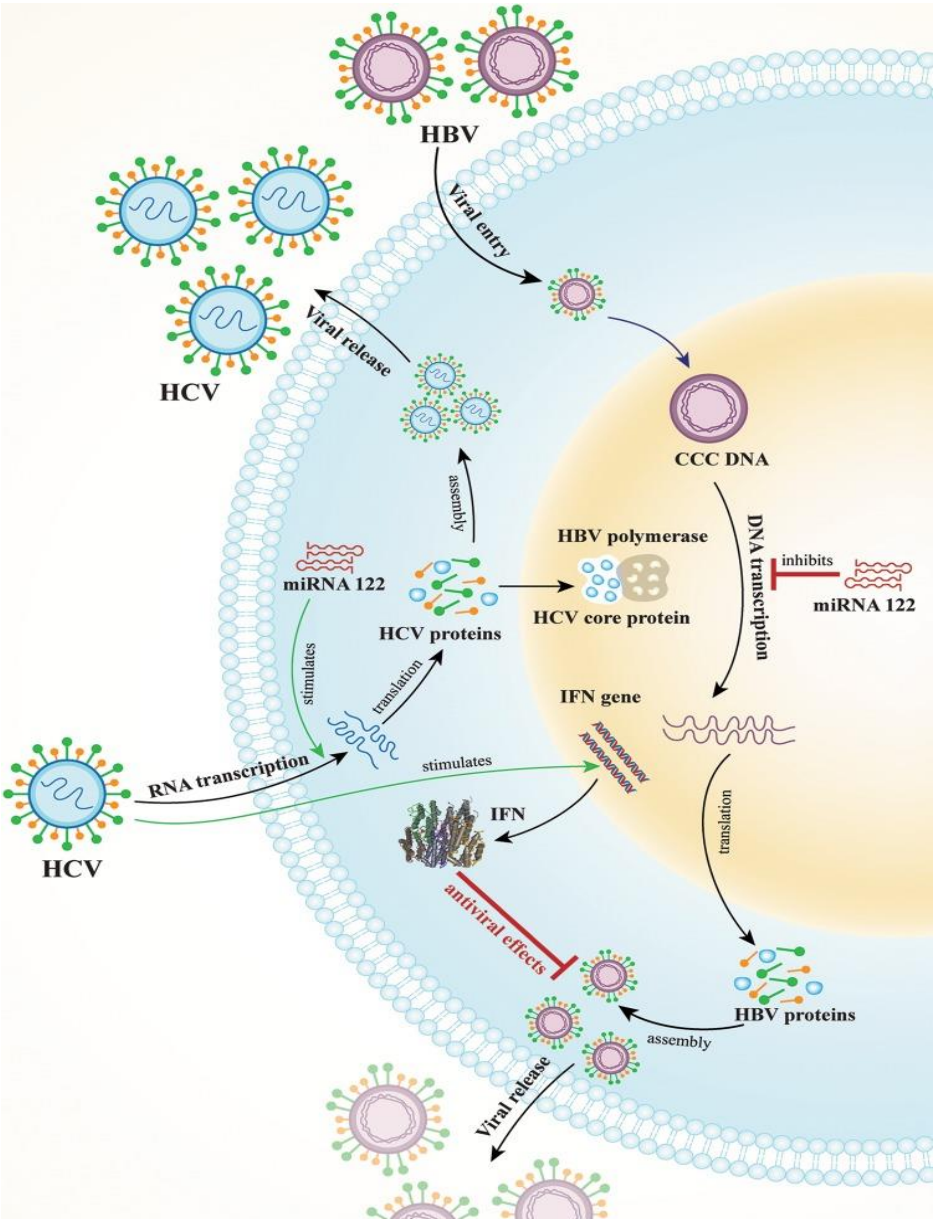


図 2. HCV、HBV 共感染における HBV 複製抑制機構

(Mavilia and Wu, 2018) より引用

IFN はその抗ウイルス作用により、C 型肝炎治療だけでなく、B 型肝炎の治療にも使用されている。治療成績は、HBe 抗原陽性の B 型肝炎患者に対する Peg-IFN による治療後 24 週の時点で、HBe 抗原セロコンバージョン率が 32%、DNA の 20000IU/ml 未満達成率も 32%、HBs 抗原セロコンバージョン率 3%の治療結果が報告されている。また治療終了時には無効であった症例であっても 69%の症例で HBe 抗原のセロコンバージョンが得られるなど長期的な治療効果が持続する報告が示されている(Lau et al., 2005; Wong et al., 2010)。

現在、C 型肝炎治療の主体はその高い治療効果より、IFN から DAAs 療法に移行した。一方で、DAAs は HCV の特定領域にのみ効果を発揮し、抗 HBV 作用を有していないため、HCV を排除することにより、HBV の複製抑止効果が低下し、結果として B 型肝炎再活性化の増加が危惧されている。IFN 療法でも B 型肝炎再活性化は少ないながらも認めていた。しかしながら、HBV 再活性化による肝炎は認められず、臨床上は大きな問題にはならなかった(Liu et al., 2009; Liu et al., 2012)。

それとは対照的に、2015 年に Collins らによって、HBV/HCV 共感染における、DAAs 治療による B 型肝炎再活性化による重症化例が初めて報告された(Collins et al., 2015)。それを受け 2016 年に、米国食品医薬品局(Food and Drug Administration: FDA)より注意喚起がなされた。日本でも同年に DCV/ASV 療法中の B 型肝炎再活性化による死亡例を認め、全 DAAs 製剤の添付文書の改訂が行われた。更に、2017 年に現感染である HBV 持続感染合併例における HCV の DAAs 治療による HBV 再活性化率は 30%と高く、全例重篤な肝障害を呈し、HBV 現感染合併例は再活性化のリスクであることが報告された(Wang et al., 2017)。

また重要な事として、化学療法、免疫抑制剤使用時の HBV 既往感染からなる *de novo* 再活性化、肝炎は多数報告されているが、HBV 既往感染/HCV 共感染症例において、DAAs 治療中に *de novo* 再活性化が起こりえるかは明らかにされていなかった。HBV 既往感染者は世界では人口の 1/3 の 22 億人、日本では人口の約 1/5 の 2600 万人と推定されており(Kusumoto et al., 2009; Merican et al., 2000; Purcell, 1993)、その影響は計り知れない。また、日本では人口の約 0.7%が HBV 現感染例と推測されているが、国内でも特に北海道は約 1.4%と B 型肝炎患者が最も多く、特に注意が必要とされる地域である(Tanaka et al., 2011)。加えて IFN 治療と比較し、DAAs 治療は HBV

再活性化の頻度、リスクを高めるかどうかについては未だ十分に明らかとなっていなかった。

そこで、このような臨床的背景を鑑みて、申請者は、

(1) C 型肝炎患者に対する DAAs 療法における HBV 既往感染からの *de novo* 再活性化が起こりうるかどうか

(2) C 型肝炎に対する IFN 療法と比較して DAAs 療法における HBV 再活性化の頻度・重症度は上昇するかどうか、さらに再活性化の危険因子について検討する事を本研究の目的とした。

方 法　検討 1

1.研究の種類・デザイン

探索的単施設後ろ向き観察研究で行った。

2.対象となる患者

対象者のうち、以下の(1) 選択基準をすべて満たし、かつ(2) 除外基準のいずれにも該当しない場合を適格とした。

(1) 選択基準

①北海道大学病院にて慢性Ｃ型肝炎に対して治療が行われた患者
②本研究への参加について自由意思による同意が得られた者､もしくは研究の参加について拒否しない患者
③治療開始時の年齢が 20 才以上の患者
④治療開始時、終了時に HBV 感染に関連する検査を実施していない対象者の場合は、研究目的で試料を保管していた患者

(2) 除外基準

①コントロール困難な心疾患（心筋梗塞、心不全、不整脈等）のある患者
②治療開始・終了時に、肝細胞癌を含め悪性腫瘍を有する患者
③B 型肝炎のワクチン接種の既往がある患者
④B 型肝炎の治療を受けている患者
⑤肝臓移植の既往がある患者

3.検討項目

2013 年 1 月から 2016 年 8 月までに北海道大学病院にて DAAs 製剤で C 型肝炎治療を受けた HCV 感染症例で、B 型肝炎既往感染の共感染例を対象として、DAAs 治療による B 型肝炎 *de novo* 再活性化の発生の有無と頻度を検討した。

4.定義

(1) B 型肝炎感染状況は以下のように定義した。

B 型肝炎現感染（持続感染）：HBs 抗原陽性または、HBV-DNA 陽性
B 型肝炎既往感染　　：HBs 抗原、HBV-DNA 陰性かつ HBs 抗体及び/又は HBc 抗体陽性
B 型肝炎未感染　　：HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体全て陰性

HBs 抗原、HBV-DNA、HBc 抗体陰性で、HBs 抗体のみ陽性の患者は問診にて HBV ワクチン接種の既往がないことを確認し、B 型肝炎既往感染とした。

(2) HBV 再活性化は以下のように定義した。

治療前 HBV-DNA が検出感度以下から、治療経過にて検出感度以上となる。

(3) HBV 再活性化による肝炎は以下のように定義した。

HBV-DNA の検出かつ、Alanine aminotransferase (ALT) 値が正常上限の 3 倍以上に上昇する。

5.観察及び測定項目とその実施方法

C 型肝炎治療開始時に B 型肝炎の感染状況を HBs 抗原、HBV-DNA、HBs 抗体、HBc 抗体を用いて評価した。HBV 再活性化の判定は治療終了時に HBV-DNA を測定し判定した。肝機能検査及び、HCV-RNA は全症例において治療開始から治療終了後 12 週まで 4 週ごとに測定した。

HBV 再活性化した症例は治療開始時から治療終了後 12 週までを 4 週ごとに HBV-DNA、HBs 抗体を測定した。治療終了後 12 週の時点で HBV-DNA が陽性であった場合は引き続き、長期間の観察、測定を継続した。欠損値に関しては適宜保存血清を使用し測定した。

6.肝炎ウイルス検査測定

肝炎ウイルス、肝機能検査は臨床検査に外注受託した(SRL, Tokyo, Japan)。HBs 抗原は Architect HBsAg-QT assay (chemiluminescence immunoassay :CLIA 法, Abbott Laboratory, Tokyo, Japan, 検出感度下限 0.05IU/mL)で、HBs 抗体は Architect anti-HBs assay (CLIA 法, Abbott Laboratory,検出感度下限 10mIU/mL)で、HBc 抗体は Architect anti-HBc assay(CLIA 法, Abbott Laboratory,サンプルカットオフ値　陽性 ≥1)で測定した。

HBV-DNA は Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HBV test,v2.0 (real-time polymerase Chain Reaction: PCR 法, Roche Diagnostics, Tokyo, Japan, 検出感度範囲 1.3-8.0 Log IU/mL)で、HCV-RNA は Cobas TaqMan HCV test, v2.0 (real-time PCR 法, Roche Diagnostics, 検出感度範囲 1.2-8.0 log IU/mL)で測定した。

7.肝線維化予測式

肝線維化予測として FIB-4 index を使用した(Vallet-Pichard et al.,

2007)。

FIB-4 index は［(年齢×AST)/(血小板数×(ALT)$^{1/2}$)］で計算される。

FIB-4 index >3.25 は肝線維化進行例とした。

8.倫理的遵守事項

本研究は「ヘルシンキ宣言（2013 年 10 月改定)」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号)」を遵守して実施され、あらかじめ臨床研究実施計画書と患者説明同意文書を北海道大学病院の長へ提出し､研究の実施に関して自主臨床研究審査委員会の承認及び研究機関の長の許可を得て行われた（自主臨床研究番号：自 016-0059)。

研究参加に際しては書面による同意が得られた症例を対象とした｡本研究は UMIN000023366 に登録した。

9.治療プロトコール

本研究において、HCV に対する DAAs 治療は本邦の標準的な治療法に準じて行われた。

(1) DAAs 治療プロトコール

① ダクラタスビル（DCV)、アスナプレビル（ASV）併用療法

DCV 1 回 60 mgを 1 日 1 回、ASV 1 回 100 mgを 1 日 2 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 24 週間経口投与した。

② ソホスブビル（Sofosubvir: SOF)、レジパスビル（Ledipasvir: LDV）併用療法

SOF 400 mgと LDV 90mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype1 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

③ ソホスブビル（SOF)、リバビリン（RBV）併用療法

SOF 400mg を 1 日 1 回、RBV は体重に応じて、60kg 以下は 1 日投与量として 600 mgを、60kg を超え～80kg 以下は 800mg を、80kg を超える場合は 1000mg を Genotype2 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

どの治療プロトコールにおいても、減量や中止、投与期間については薬剤添付文書の基準に従い行った。また、治療効果については、治療終了後 12 週または 24 週間後の HCV-RNA により評価し､HCV-RNA の陰性化をもって SVR (Sustained virological response)と判定した。

10.統計解析

統計解析には SPSS version 21.0 (IBM Japan, Tokyo, Japan)を用いた。カテゴリー変数の解析には$\chi 2$ 検定を使用し、連続変数の解析には Mann-Whitney の U 検定を使用した。いずれの検定においても、P 値が 0.05 未満の場合に統計学的に有意であると判断した。

方 法　検討 2

1. 研究の種類・デザイン

探索的単施設後ろ向き観察研究で行った。

2. 対象となる患者

対象者のうち、以下の(1) 選択基準をすべて満たし、かつ(2) 除外基準のいずれにも該当しない場合を適格とした。

(1) 選択基準

①北海道大学病院にて慢性Ｃ型肝炎に対して治療が行われた患者
②本研究への参加について自由意思による同意が得られた者､もしくは研究の参加について拒否しない患者
③治療開始時の年齢が 20 才以上の患者
④治療開始時、終了時に HBV 感染に関連する検査を実施していない対象者の場合は、研究目的で試料を保管していた患者

(2) 除外基準

①コントロール困難な心疾患（心筋梗塞、心不全、不整脈等）のある患者
②治療開始・終了時に、肝細胞癌を含め悪性腫瘍を有する患者
③B 型肝炎のワクチン接種の既往がある患者
④B 型肝炎の治療を受けている患者
⑤肝臓移植の既往がある患者

3. 検討項目

2004 年 1 月から 2016 年 8 月までに、北海道大学病院にて IFN・DAAs 製剤で C 型肝炎治療を受けた HCV 感染症例で、B 型肝炎現感染および既往感染の共感染例を対象として､IFN 治療と DAAs 治療における HBV 再活性化の頻度、重症度さらに HBV 再活性化の危険因子について検討した。

4. 定義

(1) B 型肝炎感染状況は以下のように定義した。

B 型肝炎現感染（持続感染）：HBs 抗原陽性または、HBV-DNA 陽性
B 型肝炎既往感染　　：HBs 抗原、HBV-DNA 陰性かつ HBs 抗体及び/又は HBc 抗体陽性
B 型肝炎未感染　　：HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体全て陰性

HBs 抗原、HBV-DNA、HBc 抗体陰性で、HBs 抗体のみ陽性の患者は問診にて HBV ワクチン接種の既往がないことを確認し、B 型肝炎既往感染とした。

(2) HBV 再活性化は以下のように定義した。

治療前 HBV-DNA が検出感度以下の場合は、治療経過にて検出感度以上となる。治療前 HBV-DNA 陽性の場合は、治療経過にて HBV-DNA 値が 100 倍以上増加する。

(3) HBV 再活性化による肝炎は以下のように定義した。

HBV-DNA の検出かつ、Alanine aminotransferase (ALT) 値が正常上限の 3 倍以上に上昇する。

5.観察及び測定項目とその実施方法

C 型肝炎治療開始時に B 型肝炎の感染状況を HBs 抗原、HBV-DNA、HBs 抗体、HBc 抗体を用いて評価した。HBV 再活性化の判定は治療終了時に HBV-DNA を測定し判定した。治療開始前 HBs 抗体が陽性であった場合は治療終了時にも HBs 抗体価を測定した。肝機能検査及び、HCV-RNA は全症例において治療開始から治療終了後 12 週まで 4 週ごとに測定した。

HBV 再活性化した症例は治療開始時から治療終了後 12 週までを 4 週ごとに HBV-DNA、HBs 抗体を測定した。治療終了後 12 週の時点で HBV-DNA が陽性であった場合は引き続き、長期間の観察、測定を継続した。欠損値に関しては適宜保存血清を使用し測定した。

6.肝炎ウイルス検査測定

肝炎ウイルス、肝機能検査は臨床検査に外注受託した(SRL, Tokyo, Japan)。HBs 抗原は Architect HBsAg-QT assay (chemiluminescence immunoassay :CLIA 法, Abbott Laboratory, Tokyo, Japan, 検出感度下限 0.05IU/mL)で、HBs 抗体は Architect anti-HBs assay (CLIA 法, Abbott Laboratory,検出感度下限 10mIU/mL)で、HBc 抗体は Architect anti-HBc assay(CLIA 法, Abbott Laboratory,サンプルカットオフ値　陽性 ≥1)で測定した。

HBV-DNA は Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HBV test,v2.0 (real-time polymerase Chain Reaction: PCR 法, Roche Diagnostics, Tokyo, Japan, 検出感度範囲 1.3-8.0 Log IU/mL)で、HCV-RNA は Cobas TaqMan HCV test, v2.0 (real-time PCR 法, Roche Diagnostics, 検出感度範囲 1.2-8.0 log IU/mL)で測定した。

7.肝線維化予測式

肝線維化予測として FIB-4 index を使用した(Vallet-Pichard et al., 2007)。

FIB-4 index は［(年齢×AST)/(血小板数×(ALT)$^{1/2}$)］で計算される。

FIB-4 index >3.25 は肝線維化進行例とした。

8.倫理的遵守事項

本研究は「ヘルシンキ宣言（2013 年 10 月改定)」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号)」を遵守して実施され、あらかじめ臨床研究実施計画書と患者説明同意文書を北海道大学病院の長へ提出し､研究の実施に関して自主臨床研究審査委員会の承認及び研究機関の長の許可を得て行われた（自主臨床研究番号：自 016-0059)。研究参加に際しては書面による同意が得られた症例を対象とした。本研究は UMIN000023366 に登録した。

9.治療プロトコール

本研究において、HCV に対する DAAs、IFN 治療は本邦の標準的な治療法に準じて行われた。

(1) DAAs 治療プロトコール

① ダクラタスビル（DCV)、アスナプレビル（ASV）併用療法

DCV 1 回 60 mgを 1 日 1 回、ASV 1 回 100 mgを 1 日 2 回、Genotype 1 型 C 型慢性肝炎症例に 24 週間経口投与した。

② ソホスブビル（Sofosubvir: SOF)、レジパスビル（Ledipasvir: LDV）併用療法

SOF 400 mgと LDV 90mg の固定用量配合剤を 1 日 1 回、Genotype1 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

③ ソホスブビル（SOF)、リバビリン（RBV）併用療法

SOF 400mg を 1 日 1 回、RBV は体重に応じて、60kg 以下は 1 日投与量として 600 mgを、60kg を超え～80kg 以下は 800mg を、80kg を超える場合は 1000mg を Genotype2 型 C 型慢性肝炎症例に 12 週間経口投与した。

(2) IFN 治療プロトコール

① IFN 単独療法

IFN としてIFNα、IFNβ、PEG-IFNα-2a、PEG-IFNα-2b を使用した。

IFNαは600万単位を2週連日皮下投与､その後300～600万単位を週3回隔日皮下投与した。

IFNβは600 万単位/日を 1 週、以後 300 万単位を5週連日、7週目より300万単位を週3回隔日皮下投与した。

PEG-IFNα-2aは180μg/週、Peg-IFNα-2bは、1.5μg/kg・週皮下投与した。

② IFNもしくはPEG-IFNα、リバビリン併用療法

IFNの投与量、投与方法はIFN単独療法と同様であり、RBV投与量は開始前のヘモグロビン(hemoglobin: Hb)値と体重によって決定された。治療前Hb値が14g/dL以上の場合は体重 60kg以下は1日投与量として 600 mgを、60kgを超え～80kg以下は 800mgを、80kgを超える場合は 1000mg を経口投与した。Hb値が14g/dL未満の場合は 60kg以下は1日投与量として 400 mgを、60kgを超え～80kg以下は 600mgを、80kgを超える場合は 800mg を経口投与した。

③ PEG-IFNα、リバビリンに、テラプレビル（TPV）もしくはシメプレビル（SMV）もしくは、バニプレビル（Vaniprevir: VPV）のいずれかを加えた3剤併用療法

PET-IFNαの投与量、投与方法はIFN単独療法と同様であり、RBV投与量は体重60kg以下は1日投与量として 600 mgを、60kgを超え～80kg以下は800mgを､80kgを超える場合は 1000mg を経口投与した。TPVは1回 750 mgを1日3回経口投与した。SMVは1回 100 mgを1日1回経口投与した。VPVは1回 300mgを1日2回経口投与した。

主なIFNの治療投与期間と選択基準は表1に示す。

表 1　IFN 治療プロトコール

	Genotype 1	Genotype 2
高ウイルス量 （HCV-RNA 5.0 Log IU/mL 以上）	PEG-IFN+RBV （24 週間） ±TPV or SMV or VPV （12 週間）	PEG-IFNα-2b+RBV （24 週間） IFNβ+RBV（24 週間）
低ウイルス量 （HCV-RNA 5.0 Log IU/mL 未満）	IFN（24 週間） PEG-IFNα-2a （24-48 週間）	IFN（8-24 週間） PEG-IFNα-2a （24-48 週間）

Genotype 3 に関しては Genotype 1 型に準じて治療を行った。

どの治療プロトコールにおいても、減量や中止、投与期間については薬剤添付文書の基準に従い行った。また、治療効果については、治療終了後 12 週または 24 週間後の HCV-RNA により評価し、HCV-RNA の陰性化をもって SVR (Sustained virological response)と判定した。

10.統計解析

統計解析には SPSS version 21.0 (IBM Japan, Tokyo, Japan)を用いた。カテゴリー変数の解析にはχ2 検定を使用し、連続変数の解析には Mann-Whitney の U 検定を使用した。HBs 抗体価の変化率に関しての検討では、各群間を比較し、対応のない *T* 検定を行った。いずれの検定においても、P 値が 0.05 未満の場合に統計学的に有意であると判断した。

結果　検討 1

1. 患者背景

検討 1

図 3 に示すように、DAAs 製剤にて慢性 C 型肝炎治療が行われた 191 症例のうち、22 例が肝移植例や B 型肝炎ワクチンの接種歴などにより除外された。適格症例 169 例のうち、HBV の既往感染例の 84 例が検討対象となった。

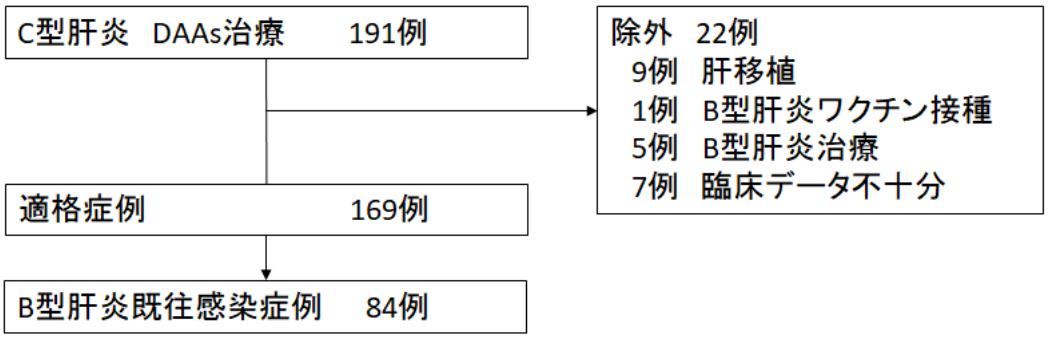


図 3. DAAs 製剤による C 型肝炎治療症例からの B 型肝炎既往感染例の拾い上げ

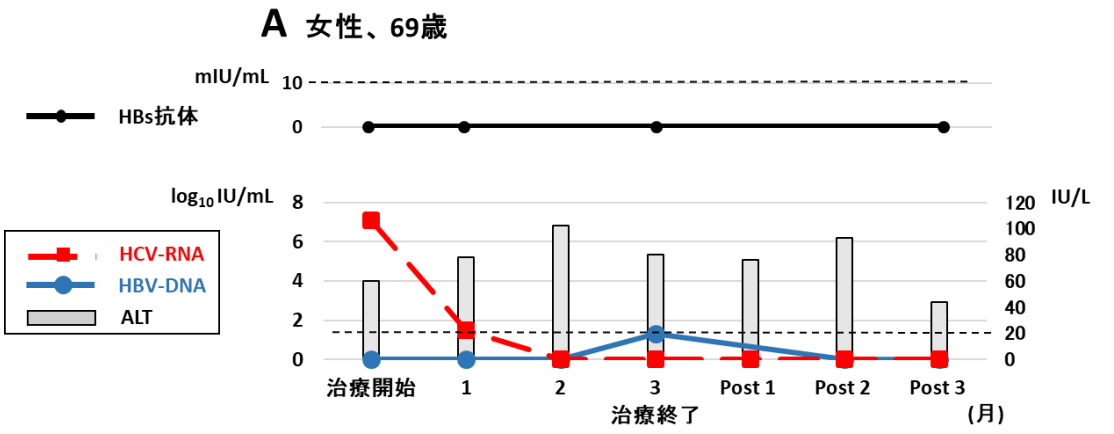
表 2 の患者背景に示すように、84 症例の年齢の中央値は 69 歳で、39 例（46%）が男性であった。HBs 抗体、HBc 抗体共に陽性が 47 症例、HBc 抗体陽性のみが 35 症例、HBs 抗体陽性のみが 2 症例であった。また Non-SVR 症例は 4 例であった。

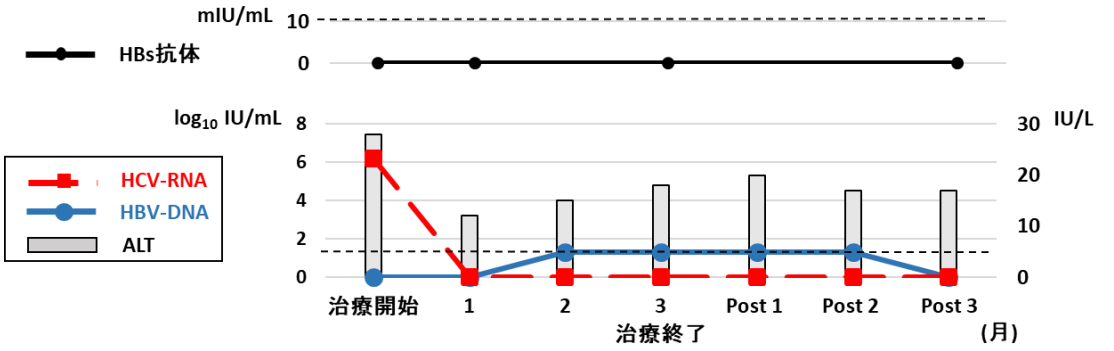
表 2　患者背景［中央値（範囲）］

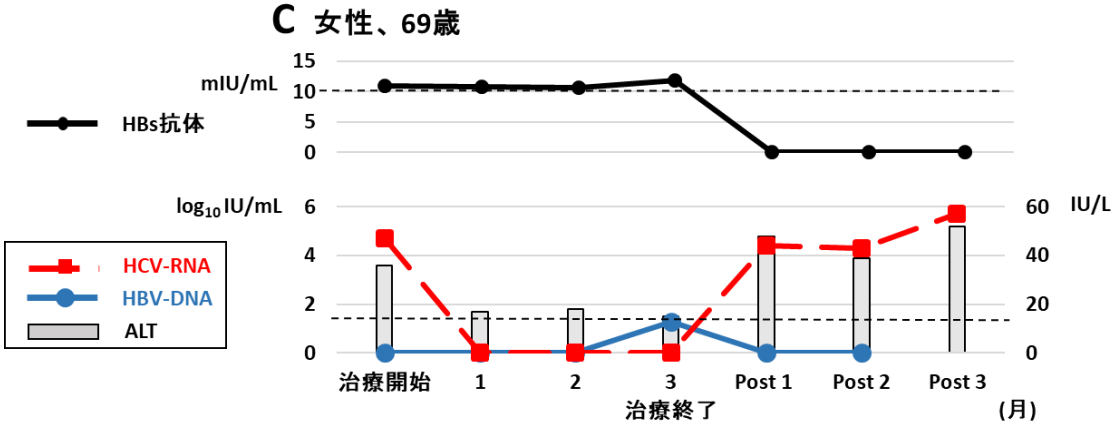
人数	84
年齢（才）	69（44-87）
性別(男性/女性)	39/45
DAAs 製剤（DCV/ASV, SOF/LDV, SOF/RBV）	27/34/23
SVR/non-SVR	80/4
血小板数（$\times 10^4$）	14.6（0.7-37.3）
ALT（IU/L）	42（13-173）
HCV-RNA（$\log_{10}$ IU/mL）	6.3（4.0-7.1）
HCV genotype（1/2）	61/23
FIB-4 index	3.37（0.54-82.78）
FIB-4 index >3.25 n（%）	42（50%）
HBV 既往感染状況	
HBc 抗体 +/HBs 抗体 +	47（56%）
HBc 抗体 +/HBs 抗体 −	35（42%）
HBc 抗体 −/HBs 抗体 +	2　（2%）
HBs 抗体陰性又は 30mIU/mL 以下	48（56%）

2. C 型肝炎患者に対する DAAs 治療中の HBV *de novo* 再活性化

84 例中 5 例（5.9%）において HBV *de novo* 再活性化を認めた。5 例とも免疫不全を呈する基礎疾患を有しておらず、治療前後で化学療法や免疫抑制剤の使用は認めなかった。再活性化例の臨床経過を図 4 に示す。


A 女性、69歳
mIU/mL
10
0
HBs抗体
log10 IU/mL
8
6
4
2
0
120
100
80
60
40
20
0
IU/L
HCV-RNA
HBV-DNA
ALT
治療開始
1
2
3
Post 1
Post 2
Post 3
治療終了
(月)


B 女性、75歳
mIU/mL
10
0
HBs抗体
log10 IU/mL
8
6
4
2
0
30
20
10
0
IU/L
HCV-RNA
HBV-DNA
ALT
治療開始
1
2
3
Post 1
Post 2
Post 3
治療終了
(月)


C 女性、69歳
15
mIU/mL
10
5
0
HBs抗体
log10 IU/mL
6
4
2
0
60
40
20
0
IU/L
HCV-RNA
HBV-DNA
ALT
治療開始
1
2
3
Post 1
Post 2
Post 3
治療終了
(月)

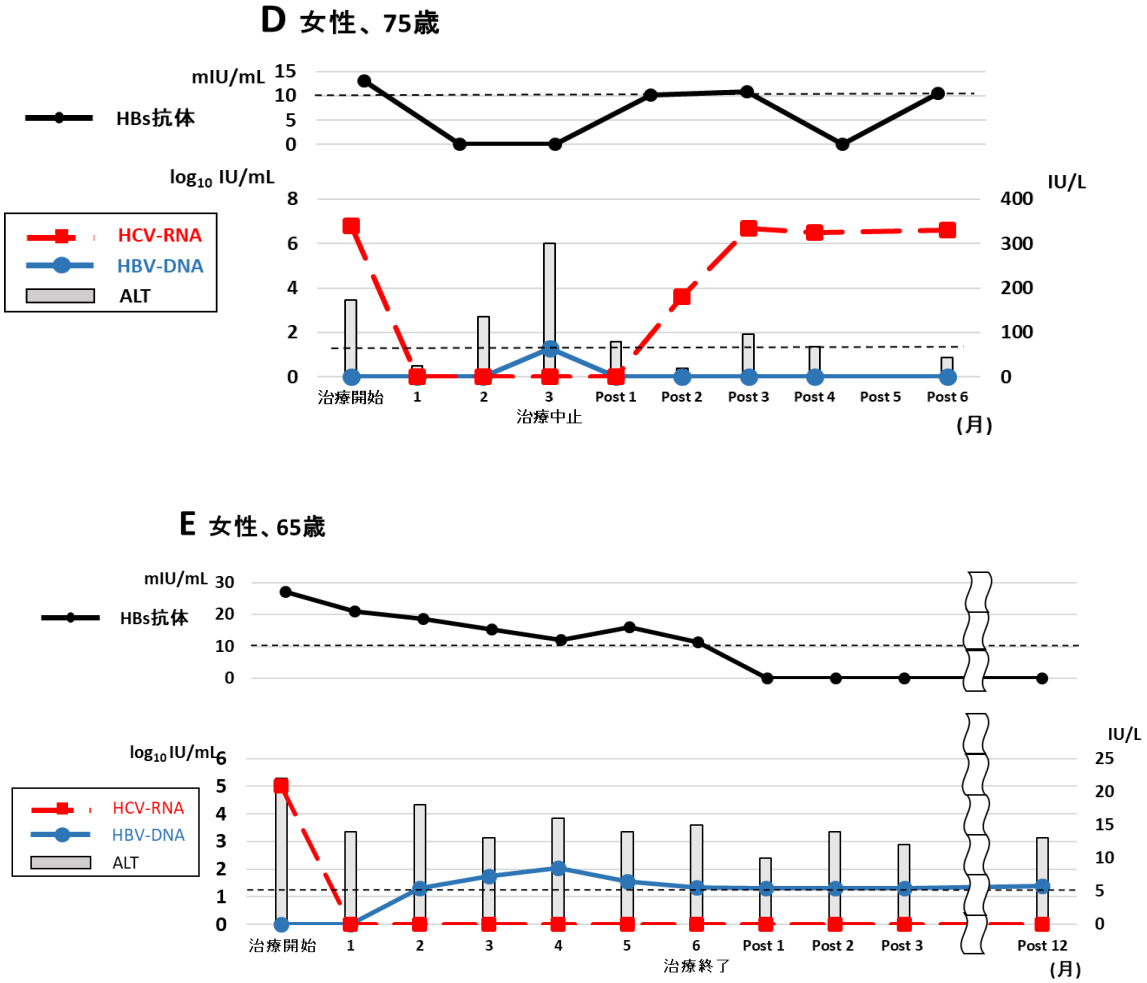


図 4. HCV/HBV 既往感染から DAAs 治療中の B 型肝炎 *de novo* 再活性化症例の臨床経過

症例 C と D では HCV 排除後に HBV-DNA の上昇を認めたが、HCV の再燃と共に HBV-DNA は検出できなくなった。症例 D では肝障害を認め、治療中に中止に至った。肝障害上昇時に HBV-DNA を検出しなかったため、DAAs 製剤による薬剤性肝障害と考えられた。その他の症例では治療経過にて、著明な肝障害は認めなった。症例 B と E では治療後 2 か月間 HBV-DNA が検出し続けた。特に症例 E に限っては治療後 1 年経過してもなお HBV-DNA を検出し続けた。

結果 検討 2

1. 患者背景

図 5 に示すように、慢性 C 型肝炎治療が行われた 322 症例のうち、肝移植例や B 型肝炎ワクチンの接種歴などにより 35 例が除外された。適格症例の 287 例中 157 例が B 型肝炎既往感染または現感染症例であり、そのうち IFN を使用した（IFN 治療群）72 例、DAAs を使用した（DAAs 治療群）85 例が検討対象となった。

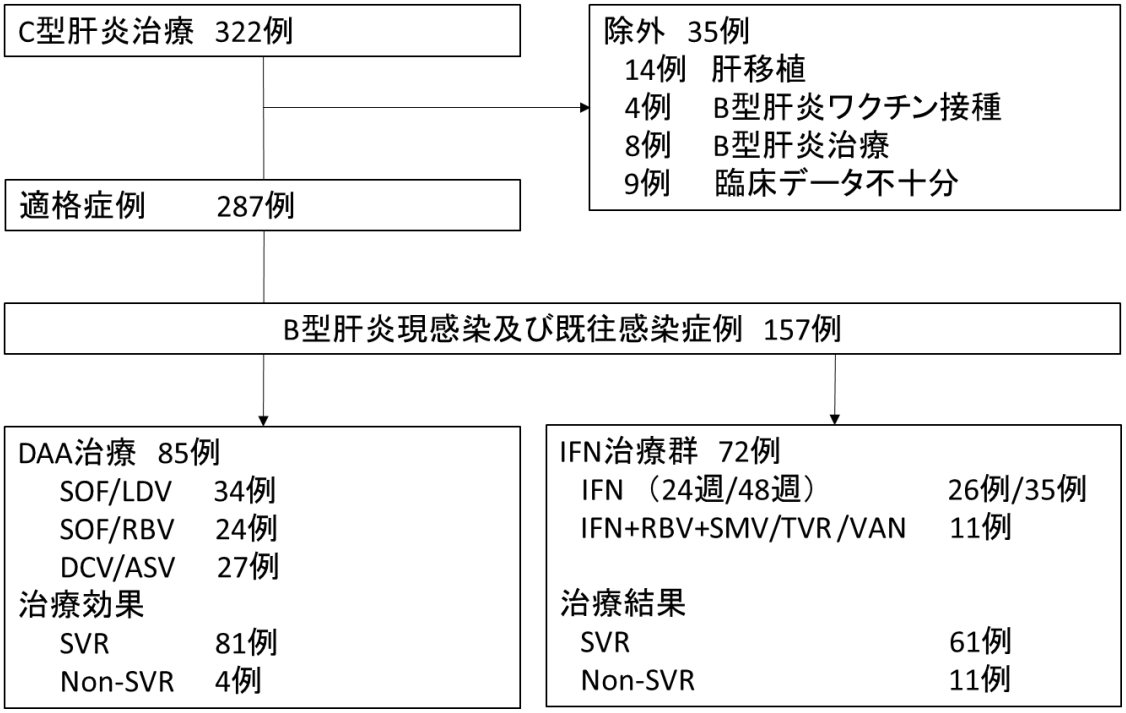


図 5. IFN と DAAs 製剤による C 型肝炎治療症例からの B 型肝炎症例の拾い上げ

DAAs 治療群では DCV/ASV 治療例が 27 例, SOF/LDV 治療例は 34 例､SOF/RBV 治療例は 24 例であり、Non-SVR は 4 例であった。
IFN 治療群では 24 週間の IFN 療法例が 26 例､48 週間の IFN 療法例は 35 例、IFN に DAAs 製剤を加えた 3 剤併用療法例は 11 例であり、Non-SVR は 11 例であった。

表 3 で示すように、患者背景の年齢の中央値は 64 歳で、74 例（47%）が男性であった。B 型肝炎既往感染例として、HBs 抗体、HBc 抗体共に陽性が

79 例、HBc 抗体陽性のみが 70 例、HBs 抗体陽性のみが 4 例であった。B 型肝炎現感染例として、HBs 抗原陽性例は 4 例（IFN 治療群 3 例、DAAs 治療群 1 例）おり、そのうち HBV-DNA 陽性例が IFN 治療群に 2 例認めた。その他の 2 例は HBV-DNA は検出されなかった。各治療群における背景間で、DAAs 治療群の方が IFN 治療群より高齢であり、線維化進展例が多く含まれていたが B 型肝炎の感染状況には明らかな差を認めなかった。

表 3 IFN 治療群と DAAs 治療群の患者背景　［中央値（範囲)］

C 型肝炎治療	全症例	IFN 治療群	DAAs 治療群	IFN vs DAAs 治療群
人数 (%)	157	72 (46%)	85 (54%)	
年齢(歳)	64 (33-87)	59 (33-74)	69 (44-87)	**P = 0.03**
性別 (男性/女性)	74/83	34/38	40/45	P = 0.98
白血球数 (/μL)	4700 (1900-9800)	5100 (2700-8800)	4400 (1900-9800)	**P = 0.04**
血小板数 ($\times 10^4$)	15.2 (0.7-40.3)	16.5 (6.8-40.3)	14.6 (0.7-37.3)	**P = 0.02**
ALT (IU/L)	46 (10-251)	59 (10-251)	41 (13-173)	**P < 0.01**
HCV-RNA ($\log_{10}$ IU/mL)	6.2 (3.0-7.3)	5.9 (3.0-7.3)	6.3 (4.0-7.1)	**P < 0.01**
HCV genotype (1/2/3)	109/47/1	48/23/1	61/24/0	P = 0.47
AFP (ng/mL)	5.0 (1.4-371.7)	4.8 (1.5-371.7)	5.7 (1.4-243.5)	P = 0.48
FIB-4 index	3.0 (0.4-82.8)	2.4 (0.4-8.1)	3.3 (0.5-82.8)	**P < 0.01**
FIB-4 index >3.25 n (%)	64 (41%)	21 (29%)	43 (51%)	**P < 0.01**
HBV 既往感染				
HBc 抗体 +/HBs 抗体 +	79	32	47	P = 0.18
HBc 抗体 +/HBs 抗体 −	70	35	35	P = 0.35
HBc 抗体 −/HBs 抗体 +	4	2	2	P = 0.87
HBV 現感染 (持続感染)				
HBs 抗原 +	4	3	1	P = 0.25
HBV-DNA +	2	2	0	P = 0.21
治療前 HBs 抗体陰性又は 30 mIU/mL 未満	98 (62%)	50 (69%)	48 (56%)	P = 0.07

2. HCV 治療後の HBV 再活性化の頻度

157 症例の B 型肝炎既往感染及び現感染例において、C 型肝炎の治療後に HBV 再活性化の評価をした。結果 6 例（3.8%）の再活性化症例を認めた（表 4）。6 例全例が DAAs 治療群であり、治療前 HBs 抗体価が 30 mIU/mL 未満もしくは陰性であった。そのうちの 1 例が治療前、HBs 抗原陽性、HBV-DNA 陰性であったが、治療開始 1 ヶ月後から HBV-DNA が検出された。

表 4　C 型肝炎治療による B 型肝炎再活性化の頻度

C 型肝炎治療	全体 n = 157	IFN 治療群 n = 72	DAAs 治療群 n = 85
HBV 再活性化	6/157	0/72	6/85
HBV 感染状況			
HBc 抗体 +/HBs 抗体 +	3/79	0/32	3/47
HBc 抗体 +/HBs 抗体 −	2/70	0/35	2/35
HBc 抗体 −/HBs 抗体 +	0/4	0/2	0/2
HBs 抗原 +	1/4	0/3	1/1
HBV-DNA +	0/2	0/2	0/0
治療前 HBs 抗体陰性 又は 30 mIU/mL 未満	6/98	0/50	6/48
治療後に HBs 抗体陰転化 又は 12 mIU/mL 未満に推移	3/10	0/4	3/6

3. C 型肝炎治療における B 型肝炎再活性化の危険因子

B 型肝炎既往感染及び現感染例において、C 型肝炎治療における HBV 再活性化の危険因子の検討を行った（表 5）。

DAAs 製剤で治療したこと、治療前 HBs 抗体が陽性（HBs 抗体価>10 mIU/mL）症例において、治療後に HBs 抗体価が陰転化するもしくは、12mIU/mL 未満になることが、有意な因子として挙げられた。また、治療前 HBs 抗体価陰性、もしくは 30 mIU/mL 未満であることも、再活性化の因子である傾向を認めた（P=0.06）。

DAAs 治療群 85 症例のみでの再活性化の危険因子検討（表 6）では、治療前 HBs 抗体価が陰性、もしくは 30 mIU/mL 未満であること、治療前 HBs 抗体価陽性例においては、治療後に HBs 抗体価が陰転化するもしくは、12mIU/mL 未満になることが有意な因子であった。

表 5　C 型肝炎治療における B 型肝炎再活性化の危険因子　［中央値（範囲)］

	非 HBV 再活性化群 n = 151	HBV 再活性化群 n = 6	p value
年齢(歳)	64 (33-87)	67 (63-75)	P = 0.55
性別 (男性/女性)	73/78	1/5	P = 0.13
白血球数 (/μL)	4700 (2400-9800)	4400 (1900-7000)	P = 0.69
血小板数 ($\times 10^4$)	15.1 (0.7-40.3)	16.7 (7.7-21.1)	P = 0.60
ALT (IU/L)	46 (10-251)	32 (22-173)	P = 0.46
HCV-RNA ($\log_{10}$ IU/mL)	6.2 (3.0-7.3)	5.5 (4.7-7.1)	P = 0.73
HCV genotype (1/2/3)	105/45/1	4/2/0	P = 0.96
AFP (ng/mL)	5.0 (1.4-371.7)	7.3 (1.6-19.4)	P = 0.30
FIB-4 index	2.9 (0.4-82.8)	3.4 (2.0-7.8)	P = 0.35
IFN 治療/ DAAs 治療	72/79	0/6	**P = 0.02**
HBc 抗体 +/HBs 抗体 +	76/151	3/6	P = 0.29
HBc 抗体 +/HBs 抗体 −	68/151	2/6	P = 0.46
HBc 抗体 −/HBs 抗体 +	4/151	0/6	P = 0.68
HBs 抗原 +	3/151	1/6	P = 0.15
治療前 HBs 抗体陰性 又は 30 mIU/mL 未満	98/151	6/6	P = 0.06
治療後 HBs 抗体陰転化 又は 12 mIU/mL 未満に推移 [a]	7/80	3/3	**P < 0.05**

[a] HBs 抗体価が治療前陽性例のみ対象

表 6　DAAs 治療における HBV 再活性化の危険因子　［中央値（範囲)］

	非 HBV 再活性化群 n = 79	HBV 再活性化群 n = 6	p value
年齢(歳)	69 (44-87)	67 (63-75)	P = 0.55
性別 (男性/女性)	39/40	1/5	P = 0.13
白血球数 (/μL)	4400 (2400-9800)	4400 (1900-7000)	P = 0.60
血小板数 ($\times 10^4$)	14.3 (0.7-37.3)	16.7 (7.7-21.1)	P = 0.33
ALT (IU/L)	42 (13-114)	32 (22-173)	P = 0.68
HCV-RNA ($\log_{10}$ IU/mL)	6.3 (4.0-7.1)	5.5 (4.7-7.1)	P = 0.51
HCV genotype (1/2/3)	57/22/0	4/2/0	P = 0.55
AFP (ng/mL)	5.4 (1.4-243.5)	7.3 (1.6-19.4)	P = 0.40
FIB-4 index	3.2 (0.5-82.8)	3.4 (2.0-7.8)	P = 0.79
HBc 抗体 +/HBs 抗体 +	44/79	3/6	P = 0.21
HBc 抗体 +/HBs 抗体 −	33/79	2/6	P = 0.52
HBc 抗体 −/HBs 抗体 +	2/79	0/6	P = 0.69
HBs 抗原 +	0/79	1/6	P = 0.07
治療前 HBs 抗体陰性 又は 30 mIU/mL 未満	42/79	6/6	**P = 0.03**
治療後に HBs 抗体陰転化、 又は 12 mIU/mL 未満に推移[a]	3/46	3/3	**P <0.01**

[a] HBs 抗体価が治療前陽性例のみ対象

4. C 型肝炎治療による治療前と治療後の HBs 抗体価の変化

治療前 HBs 抗体価陽性（HBs 抗体価>10 mIU/mL）例を対象に、治療前、治療後の HBs 抗体価の変化について IFN 治療群（34 例）、DAAs 治療群（49 例）で検討した（図 6）。図 6A は各治療群の治療前の HBs 抗体価を示しているが両群に差は認めなかった。図 6B は各治療群の治療前の HBs 抗体価に対する、治療後の HBs 抗体価の変化率を示しているが、IFN 治療群と比較し DAAs 治療群で治療後に HBs 抗体価の変化率に有意な低下を認めた。図 6C は、治療期間が同一（24 週間治療）症例のみの解析結果を示しているが、DAAs 治療群で HBs 抗体価の変化率の有意な低下を認めた。図 6D にて各 DAAs 製剤間（DCV/ASV、SOF/LDV、SOF/RBV）での治療後の HBs 抗体価の変化率を示しているが、DAAs 製剤間では HBs 抗体価の変化率に差は認められなかった。

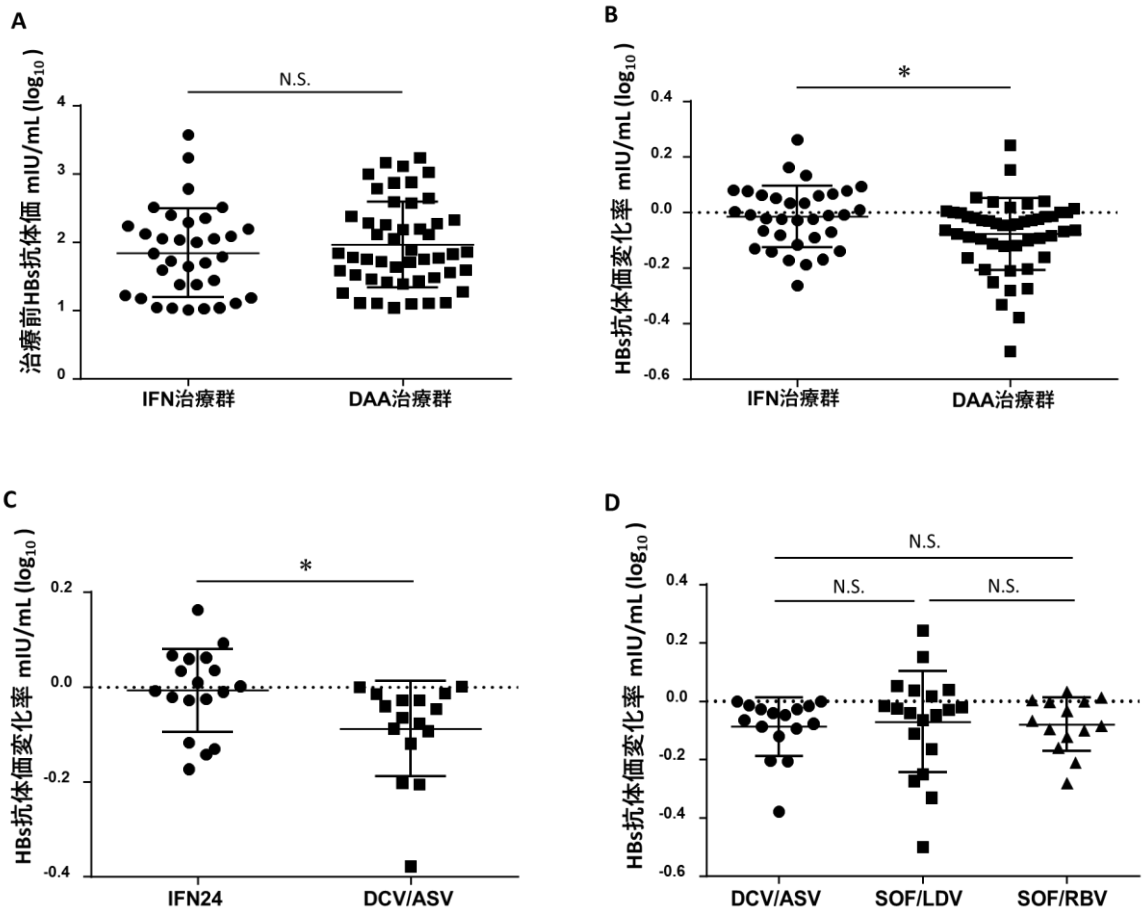


図 6.　C 型肝炎治療による治療前と治療後の HBs 抗体価の変化

(A) 治療前 HBs 抗体陽性患者における IFN 治療群（34 症例）と DAAs 治療群（49

症例）の治療前 HBs 抗体価の比較

(B) IFN 治療群と DAAs 治療群における、治療による HBs 抗体価の変化

点はそれぞれの HBs 抗体価の変化率（治療後 HBs 抗体価/治療前 HBs 抗体価）を Log スケールで表している。

(C) 治療期間が 24 週である IFN 治療群と DAAs 治療群（DCV/ASV）における、治療による HBs 抗体価の変化

治療期間が 24 週と同じである IFN 治療群（IFN24）（18 症例）と DCV/ASV 治療群（16 症例）で比較している。点はそれぞれの HBs 抗体価の変化率（治療後 HBs 抗体価/治療前 HBs 抗体価）を Log スケールで表している。

(D) DAAs 製剤間における、治療による HBs 抗体価の変化

DAAs 製剤である DCV/ASV 治療群（16 症例）、SOF/LDV 治療群（19 症例）、SOF/RBV(14 症例)で比較している。点はそれぞれの HBs 抗体価の変化率（治療後 HBs 抗体価/治療前 HBs 抗体価）を Log スケールで表している。

N.S. ; Not Significant, ＊ ; P <0.05

5. HBV 再活性化した症例の臨床的特徴

C 型肝炎治療で HBV 再活性化を認めた 6 例の臨床的な特徴を表 7 に示す。
6 例中 5 例は女性であった。全例 HBV 再活性化に伴う肝炎を発症しなかったが、3 例で 3 か月以上 HBV-DNA が持続的に検出された。

表 7 HCV 治療にて HBV 再活性化を起こした 6 例の臨床的特徴

No.	1	2	3	4	5	6
性別	女性	女性	男性	女性	女性	女性
年齢(歳)	63	75	63	69	65	75
FIB-4 index	2.2	3.5	2.0	3.4	7.0	7.8
治療前 HBV-DNA (Log_{10} IU/mL)	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
治療前 HBs 抗原 (IU/mL)	陰性	陰性	陽性	陰性	陰性	陰性
治療前 HBs 抗体 (mIU/mL)	陰性	陰性	陰性	10.95	27	13
HCV 治療プロトコール	SOF/LDV	SOF/LDV	SOF/RBV	SOF/RBV	DCV/ASV	DCV/ASV
HCV 治療結果	SVR	SVR	SVR	再燃	SVR	再燃
治療期間 (週)	12	12	12	12	24	12*
治療開始から再活性化までの期間 (週)	12	8	4	12	8	12
再活性化後 HBV-DNA 持続検出期間 (週)	4	≥12	≥12	4	≥12	4
最大値 HBV-DNA (Log_{10} IU/mL)	<1.3	<1.3	3.2	<1.3	2.0	<1.3
再活性化に伴う肝炎	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

*治療 12 週で薬剤性肝障害を発症し投与中止。

考　察

検討 1 では、C 型肝炎において、DAAs 治療で B 型肝炎既往感染からの *de novo* 再活性化が起こる事、その頻度を世界で初めて報告した。

現在、HBV 再活性化のメカニズムは、完全には明らかにされてはいないが、HBV の複製抑止機構の破綻や機能低下により、ウイルスの再増殖が起こることが主たる原因と考えられている。免疫抑制剤や化学療法などが投与される場合においては、それらの薬剤が HBV に対する免疫応答を直接抑制するため、結果として、B 型肝炎の再活性化が起こる(Yeo et al., 2009; Yeo et al., 2004)。HBV/HCV の共感染において、ウイルス間の干渉により HCV が肝炎の主体ウイルス（dominant ウイルス）となることが多く、HBV の複製を抑制していると考えられており、そのため、HCV の排除は結果として HBV の再活性化を促している可能性があった(Chu et al., 1998; Raimondo et al., 2005)。

本検討 1 では、DAAs 治療での HBV 既往感染からの *de novo* 再活性化は 84 例中 5 例（5.9%）に認められた。全例、HCV の排除後に HBV の再活性化が起きており、さらに、2 例（図 4C、D）においては HCV の再燃と共に、HBV-DNA は検出されなくなっていた。これらの臨床データからも、HCV そのものが HBV の再活性化に深く関与していることが示唆された。

一般的に HBV の *de novo* 再活性化は、高率に重篤なもしくは致死的な肝炎を引き起こす(Umemura et al., 2008)。本検討 1 では幸いなことに *de novo* 再活性化を認めた全例、再活性化に起因する肝障害は認めなかった。免疫抑制剤や化学療法使用によるものと HCV/HBV 感染からの *de novo* 再活性化では、それぞれ発生機序が違うため異なった結果が得られたと考えられた。

また、1 例（図 4D）においては肝障害を起こし、DAAs 治療の中止に至った。HBV 再活性化による肝炎は HBV-DNA の上昇後に起こる肝炎であるため、当症例においては、DAAs 製剤による薬剤性肝障害と判断した。

DAAs 製剤の中で特に、DCV/ASV では約 15%の症例で薬剤性肝障害を引き起こし、約 8%の症例においては Grade 3 以上の肝障害となり、度々臨床上の問題となっていた(Kumada et al., 2014)。DAAs 製剤が登場した 2014-2015 年の当時は HCV 治療後における HBV の再活性化の概念自体がほとんどなかったため、薬剤性肝障害として判断された一部症例では、B 型肝炎の再活性化であった可能性があると推測された。また 2 例（図 4B、E）において HCV 排除後に 2 か月以上 HBV-DNA が検出され、そのうち 1 例は 12 か月以上持続的に検出されるなど長期的に

ウイルス血症を有する症例を認めた。

DAA 治療は、薬剤性肝障害の副作用はあるが、その高い安全性により高齢者や、透析や HIV などの免疫不全因子をもつ症例にも多く使用されるため(Rockstroh et al., 2015; Suda et al., 2016)、B 型肝炎再活性化に対する注意はより必要となると考えられた。

検討 2 では IFN 治療と比較して、DAAs 治療で有意に HBV 再活性化が起こること、HBs 抗体価が再活性化の危険因子であることを世界に先駆けて報告した。

最近まで、C 型肝炎治療は IFN が主たるものであった。IFN は抗 HBV 作用を有していたが、HCV/HBV 共感染症例における治療において、少なからず HBV の再活性化を認めていた。しかしながら、再活性化に伴う肝障害は認めず、臨床上の大きな問題とはならなかった(Liu et al., 2009; Liu et al., 2012)。DAAs は HCV の特定の蛋白にのみ作用し、抗 HBV 作用を有していないため、IFN 治療より、B 型肝炎の再活性化が高頻度に発生することが危惧されていた。実際に、DAAs 治療にて HBV 現感染合併症例における、HBV 再活性化による重篤な肝炎の報告が幾つかされている(Collins et al., 2015; Wang et al., 2017)。しかしながら、DAAs 治療は IFN 治療と比べ、高い C 型慢性肝炎治療効果、安全性があるため、C 型肝炎治療は DAAs 製剤に移行した。今後もより多くの症例に使われる。IFN 治療と比較した DAAs 治療の HBV 再活性化のリスクや頻度、危険因子については明らかではなく、その解明と対策は急務であった。

本検討 2 において C 型肝炎治療にて、再活性化の頻度は、157 例中 6 例(3.8%)で見られた。6 例全例が DAAs 治療群からの再活性化であった。DAAs 治療群は IFN 治療群と比較し、有意に HBV 再活性化を引き起こした (表 5)。この結果は、IFN に比較し、DAAs 製剤は抗 HBV 作用を有していないためとする仮説を裏付けた。

申請者のグループでは以前に同種造血幹細胞移植後の B 型肝炎再活性化において、治療前 HBs 抗体価陽性症例において、経過中に HBs 抗体価が陰転化することが危険因子であることを報告しており(Onozawa et al., 2005)、HBs 抗体価が B 型肝炎の再活性化に関与していると考えていた。本検討で HBs 抗体価について着目したところ、HBV 再活性化の危険因子は DAAs 治療を行うこと以外に、治療前 HBs 抗体陽性例においては、HBs 抗体価が治療後に陰転化、又は 12 mIU/mL 未満に減少することが挙げられた。DAAs 治療群のみに対象を絞れば、上記の危険因子に加え、治療前の HBs 抗体価陰性もしくは、30 mIU/mL 未満も、HBV 再活性化の予測因子として挙げられた。

詳細な解析において、IFN 治療群と DAAs 治療群の治療前 HBs 抗体価に差は認

めなかったが、治療後においてDAAs治療群で有意にHBs抗体価が低下した。この結果は治療時期を一致させたIFN24週治療群、DAAs治療群（DCV/ASV）の場合でも同様であった。一方で、DAAs製剤間ではHBs抗体価の変化に違いは認められなかった（図6）。これらの結果は、DAAs治療がIFN治療と比較して、HBV再活性化を引き起こしやすいことを支持する所見と考えられた。

一方で、DAAs治療でHBs抗体価が低下する機構は明らかになっていない。申請者は以下の2つの機序を推測している。

(1)過去の報告で、HCVはHBVの複製を抑制している(Chu et al., 1998)。HCVの排除後に、肝細胞内でHBVの複製が始まり、それによって検出感度以下の微量なHBs抗原が産生される。HBs抗原は中和抗体であるHBs抗体と結合し、複合体を形成され、結果血清のHBs抗体価が低下する。

(2)HCVはB細胞の増殖や活性に関与している(Dai et al., 2016)。そのためHCVの排除により、DAAs治療群ではB細胞の活性が低下しHBs抗体産生能が低下する。しかしながら、IFN治療群は抗HBV作用に加え、免疫賦活作用があり、B細胞の活性の低下が起こりづらい。

以上の2点よりDAAs治療群においてHBs抗体価が低下する結果になると考えられる。

これらの結果により、DAAs治療において治療前と、治療経過のHBs抗体価の推移を測定することは、HBV再活性化を予測するうえで有用であると考えられた。事実、図4C、D、Eの症例ではC型肝炎の治療中にHBs抗体価が減少し、12 mIU/mL未満や陰転化しており、HBV再活性化を予測できた可能性があった。

なお、本研究1、2の限界と課題がいくつか存在する。本研究は後方視的研究であり、症例数も限られている。しかしながら、現在のC型肝炎治療において、DAAs治療の登場により、IFN治療は推奨されていない(AASLD-IDSA HCV Guidance Panel, 2018)。そのため今後IFN治療とDAAs治療を比較した前向き研究を行うことは困難と考えられる。

また検討2ではIFN治療群とDAAs治療群の患者背景間で明らかな違いが認められた。DAAs治療群で年齢が高く、白血球数、血小板数、ALT値が低く、FIB-4高値など肝線維化進展例が多く含まれていた。しかしながら、再活性化の危険因子の検討では上記項目では明らかな差は認められなかった（表3,5-6）。これらの背景間の違いはHBV再活性化の危険因子の検討において影響は軽微であると考えている。また、これらの違いはIFN治療を受けることが困難であった高齢の方や線維化進展例、合併症の多い方がDAAs治療まで待機していたという、臨床背景をよく反映している結果と考えている。今後、本研究の結果を検討すべく、

DAAs 製剤治療のみを対象とした大規模な前向き研究が望まれる。

C 型肝炎治療において、DAAs 治療は IFN 治療と比較し、HBV 再活性化を有意に引き起こしやすく、稀な現象ではなかった。B 型肝炎既往感染症例でも DAAs 治療を行う際には再活性化に十分気を付ける必要がある。また、C 型肝炎治療における HBV 再活性化の予防や対策が今度検討されることが望まれる。

結　論

本研究において、以下の知見が得られた。

・C 型慢性肝炎に対する DAAs 治療にて、B 型肝炎既往感染からの HBV の *de novo* 再活性化とその頻度（5.9%）を世界で初めて報告した。

・C 型慢性肝炎に対する治療にて、IFN 治療と比較し、DAAs 治療は HBV 再活性化の危険性が有意に高くなることを報告した。

・DAAs 治療における、B 型肝炎再活性化の危険因子の検討では、治療前の HBs 抗体価陰性もしくは、30 mIU/mL 未満であること、また HBs 抗体陽性症例に関しては、経過にて HBs 抗体価陰性化もしくは 12 mIU/mL 未満への減少することなど HBs 抗体価が関与していることが挙げられた。

本研究において、C 型肝炎治療において、DAAs 治療は IFN 治療群と比較し、HBV 肝炎再活性化の危険性は高く、稀な現象ではないこと、再活性化による肝炎は認めなかったが、少なくとも B 型肝炎既往感染症例でも再活性化に十分気を付ける必要があると考えられた。

本研究の結果を検討すべく、今後 DAAs 製剤治療のみを対象とした大規模な前向き研究が望まれると共に、C 型肝炎治療における HBV 再活性化の予防や対策の確立が検討されることが望まれる。

また申請者は現在、HBV の再活性化のメカニズムに関して、サイトカインに着目して研究を行っている。加えて、C 型肝炎は、SVR 後の諸問題も存在する。HBV 再活性化もその一つであるが、SVR 後の脂質異常・肝脂肪化、肝線維化なども挙げられる。

申請者は C 型肝炎 SVR 後の脂質異常・肝脂肪化に対して、その危険因子を宿主、ウイルス、遺伝的側面より解析し、また治療後の動脈硬化の危険性について検討している（PLOS ONE in press)。SVR 後の肝線維化例に関しても、特定の micro RNA の発現が線維化改善と関連する事を見出している。このように、C 型肝炎は根治を目指せる時代に近づきつつあるが、諸問題も多数あり、今後の検討課題であると考える。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり、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。

研究に対する心構えや信念、実験方法、データ解釈、論文作成など、様々な面において御指導・御援助頂きました北海道大学病院消化器内科特任助教　須田剛生先生には感謝の念に堪えません。厚く御礼申し上げます。

研究遂行にあたりB型肝炎再活性化における、実験方法、データ解釈、解析など様々な面において御指導して頂きました北海道大学病院血液内科助教　小野澤真弘先生に深謝申し上げます。

また、臨床における技術指導や、検体の採取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は、心より深く感謝申し上げます。

2019年3月

川岸　直樹

引用文献

AASLD-IDSA HCV Guidance Panel (2018). Hepatitis C Guidance 2018 Update: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 67, 1477-1492.

Caccamo, G., Saffioti, F., and Raimondo, G. (2014). Hepatitis B virus and hepatitis C virus dual infection. World journal of gastroenterology 20, 14559-14567.

Chen, S.Y., Kao, C.F., Chen, C.M., Shih, C.M., Hsu, M.J., Chao, C.H., Wang, S.H., You, L.R., and Lee, Y.H. (2003). Mechanisms for inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by hepatitis C virus core protein. The Journal of biological chemistry 278, 591-607.

Chu, C.M., Yeh, C.T., and Liaw, Y.F. (1998). Low-level viremia and intracellular expression of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in HBsAg carriers with concurrent hepatitis C virus infection. Journal of clinical microbiology 36, 2084-2086.

Collins, J.M., Raphael, K.L., Terry, C., Cartwright, E.J., Pillai, A., Anania, F.A., and Farley, M.M. (2015). Hepatitis B Virus Reactivation During Successful Treatment of Hepatitis C Virus With Sofosbuvir and Simeprevir. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 61, 1304-1306.

Dai, B., Chen, A.Y., Corkum, C.P., Peroutka, R.J., Landon, A., Houng, S., Muniandy, P.A., Zhang, Y., Lehrmann, E., Mazan-Mamczarz, K., et al. (2016). Hepatitis C virus upregulates B-cell receptor signaling: a novel mechanism for HCV-associated B-cell lymphoproliferative disorders. Oncogene 35, 2979-2990.

Di Bisceglie, A.M., Lok, A.S., Martin, P., Terrault, N., Perrillo, R.P., and Hoofnagle, J.H. (2015). Recent US Food and Drug Administration warnings on hepatitis B reactivation with immune-suppressing and anticancer drugs: just the tip of the iceberg? Hepatology (Baltimore, Md) 61, 703-711.

Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of

Hepatology (2014). JSH Guidelines for the Management of Hepatitis B Virus Infection. Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology 44 Suppl S1, 1-58.

Haller, O., Kochs, G., and Weber, F. (2006). The interferon response circuit: induction and suppression by pathogenic viruses. Virology 344, 119-130.

Hui, C.K., Cheung, W.W., Zhang, H.Y., Au, W.Y., Yueng, Y.H., Leung, A.Y., Leung, N., Luk, J.M., Lie, A.K., Kwong, Y.L., et al. (2006). Kinetics and risk of de novo hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. Gastroenterology 131, 59-68.

Izumi, N., Hayashi, N., Kumada, H., Okanoue, T., Tsubouchi, H., Yatsuhashi, H., Kato, M., Ki, R., Komada, Y., Seto, C., et al. (2014). Once-daily simeprevir with peginterferon and ribavirin for treatment-experienced HCV genotype 1-infected patients in Japan: the CONCERTO-2 and CONCERTO-3 studies. Journal of gastroenterology 49, 941-953.

Krishnan, P., Schnell, G., Tripathi, R., Beyer, J., Reisch, T., Dekhtyar, T., Irvin, M., Xie, W., Fu, B., Burroughs, M., et al. (2018). Integrated Resistance Analysis of CERTAIN-1 and CERTAIN-2 Studies in Hepatitis C Virus-Infected Patients Receiving Glecaprevir and Pibrentasvir in Japan. Antimicrobial agents and chemotherapy 62.

Kudo, M., Izumi, N., Ichida, T., Ku, Y., Kokudo, N., Sakamoto, M., Takayama, T., Nakashima, O., Matsui, O., and Matsuyama, Y. (2016). Report of the 19th follow-up survey of primary liver cancer in Japan. Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology 46, 372-390.

Kumada, H., Hayashi, N., Izumi, N., Okanoue, T., Tsubouchi, H., Yatsuhashi, H., Kato, M., Rito, K., Komada, Y., Seto, C., et al. (2015). Simeprevir (TMC435) once daily with peginterferon-alpha-2b and ribavirin in patients with genotype 1 hepatitis C virus infection: The CONCERTO-4 study. Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology 45, 501-513.

Kumada, H., Suzuki, Y., Ikeda, K., Toyota, J., Karino, Y., Chayama, K., Kawakami, Y., Ido, A., Yamamoto, K., Takaguchi, K., et al. (2014). Daclatasvir plus asunaprevir for chronic

HCV genotype 1b infection. Hepatology (Baltimore, Md) 59, 2083-2091.

Kusumoto, S., Tanaka, Y., Mizokami, M., and Ueda, R. (2009). Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma. International journal of hematology 90, 13-23.

Lau, G.K., Piratvisuth, T., Luo, K.X., Marcellin, P., Thongsawat, S., Cooksley, G., Gane, E., Fried, M.W., Chow, W.C., Paik, S.W., et al. (2005). Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. The New England journal of medicine 352, 2682-2695.

Lavanchy, D. (2011). Evolving epidemiology of hepatitis C virus. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 17, 107-115.

Liu, C.J., Chuang, W.L., Lee, C.M., Yu, M.L., Lu, S.N., Wu, S.S., Liao, L.Y., Chen, C.L., Kuo, H.T., Chao, Y.C., et al. (2009). Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for the treatment of dual chronic infection with hepatitis B and C viruses. Gastroenterology 136, 496-504.e493.

Liu, J.Y., Sheng, Y.J., Hu, H.D., Zhong, Q., Wang, J., Tong, S.W., Zhou, Z., Zhang, D.Z., Hu, P., and Ren, H. (2012). The influence of hepatitis B virus on antiviral treatment with interferon and ribavirin in Asian patients with hepatitis C virus/hepatitis B virus coinfection: a meta-analysis. Virology journal 9, 186.

Lok, A.S. (2002). Chronic hepatitis B. The New England journal of medicine 346, 1682-1683.

Mason, A.L., Xu, L., Guo, L., Kuhns, M., and Perrillo, R.P. (1998). Molecular basis for persistent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen. Hepatology (Baltimore, Md) 27, 1736-1742.

Mavilia, M.G., and Wu, G.Y. (2018). HBV-HCV Coinfection: Viral Interactions, Management, and Viral Reactivation. Journal of clinical and translational hepatology 6, 296-305.

McAllister, C.S., and Samuel, C.E. (2009). The RNA-activated protein kinase enhances the induction of interferon-beta and apoptosis mediated by cytoplasmic RNA sensors. The Journal of biological chemistry 284, 1644-1651.

Merican, I., Guan, R., Amarapuka, D., Alexander, M.J., Chutaputti, A., Chien, R.N., Hasnian, S.S., Leung, N., Lesmana, L., Phiet, P.H., et al. (2000). Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. Journal of gastroenterology and hepatology 15, 1356-1361.

Onozawa, M., Hashino, S., Izumiyama, K., Kahata, K., Chuma, M., Mori, A., Kondo, T., Toyoshima, N., Ota, S., Kobayashi, S., et al. (2005). Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. Transplantation 79, 616-619.

Ott, J.J., Stevens, G.A., Groeger, J., and Wiersma, S.T. (2012). Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. Vaccine 30, 2212-2219.

Purcell, R.H. (1993). The discovery of the hepatitis viruses. Gastroenterology 104, 955-963.

Raimondo, G., Cacciamo, G., and Saitta, C. (2005). Hepatitis B virus and hepatitis C virus co-infection: additive players in chronic liver disease? Annals of hepatology 4, 100-106.

Rehermann, B., Ferrari, C., Pasquinelli, C., and Chisari, F.V. (1996). The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. Nature medicine 2, 1104-1108.

Rockstroh, J.K., Nelson, M., Katlama, C., Lalezari, J., Mallolas, J., Bloch, M., Matthews, G.V., Saag, M.S., Zamor, P.J., Orkin, C., et al. (2015). Efficacy and safety of grazoprevir (MK-5172) and elbasvir (MK-8742) in patients with hepatitis C virus and HIV co-infection (C-EDGE CO-INFECTION): a non-randomised, open-label trial. The lancet HIV 2, e319-327.

Sakamoto, N., and Watanabe, M. (2009). New therapeutic approaches to hepatitis C virus. Journal of gastroenterology 44, 643-649.

Seeff, L.B. (2002). Natural history of chronic hepatitis C. Hepatology (Baltimore, Md) 36, S35-46.

Seeger, C., and Mason, W.S. (2000). Hepatitis B virus biology. Microbiology and molecular biology reviews : MMBR 64, 51-68.

Sen, G.C. (2001). Viruses and interferons. Annual review of microbiology 55, 255-281.

Suda, G., Kudo, M., Nagasaka, A., Furuya, K., Yamamoto, Y., Kobayashi, T., Shinada, K., Tateyama, M., Konno, J., Tsukuda, Y., et al. (2016). Efficacy and safety of daclatasvir and asunaprevir combination therapy in chronic hemodialysis patients with chronic hepatitis C. Journal of gastroenterology 51, 733-740.

Takeuchi, O., and Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. Cell 140, 805-820.

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.

Umemura, T., Tanaka, E., Kiyosawa, K., and Kumada, H. (2008). Mortality secondary to fulminant hepatic failure in patients with prior resolution of hepatitis B virus infection in Japan. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 47, e52-56.

Vallet-Pichard, A., Mallet, V., Nalpas, B., Verkarre, V., Nalpas, A., Dhalluin-Venier, V., Fontaine, H., and Pol, S. (2007). FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. Hepatology (Baltimore, Md) 46, 32-36.

Wang, C., Ji, D., Chen, J., Shao, Q., Li, B., Liu, J., Wu, V., Wong, A., Wang, Y., Zhang, X., et al. (2017). Hepatitis due to Reactivation of Hepatitis B Virus in Endemic Areas Among Patients With Hepatitis C Treated With Direct-acting Antiviral Agents. Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association 15, 132-136.

Wiegand, S.B., Jaroszewicz, J., Potthoff, A., Honer Zu Siederdissen, C., Maasoumy, B., Deterding, K., Manns, M.P., Wedemeyer, H., and Cornberg, M. (2015). Dominance of hepatitis C virus (HCV) is associated with lower quantitative hepatitis B surface antigen and higher serum interferon-gamma-induced protein 10 levels in HBV/HCV-coinfected patients. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 21, 710.e711-719.

Wong, V.W., Wong, G.L., Yan, K.K., Chim, A.M., Chan, H.Y., Tse, C.H., Choi, P.C., Chan, A.W., Sung, J.J., and Chan, H.L. (2010). Durability of peginterferon alfa-2b treatment at 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. Hepatology (Baltimore, Md) 51, 1945-1953.

Yeo, W., Chan, T.C., Leung, N.W., Lam, W.Y., Mo, F.K., Chu, M.T., Chan, H.L., Hui, E.P., Lei, K.I., Mok, T.S., et al. (2009). Hepatitis B virus reactivation in lymphoma patients with prior resolved hepatitis B undergoing anticancer therapy with or without rituximab. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology 27, 605-611.

Yeo, W., Zee, B., Zhong, S., Chan, P.K., Wong, W.L., Ho, W.M., Lam, K.C., and Johnson, P.J. (2004). Comprehensive analysis of risk factors associating with Hepatitis B virus (HBV) reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. British journal of cancer 90, 1306-1311.