

症 例

造血細胞移植前 HBs 抗体陽性レシピエントにおける移植後慢性 GVHD  
治療中の HBV 再増殖：HBV DNA 定量の重要性について

井本しおん<sup>1,2)</sup> 水野 石一<sup>2)</sup> 広畑 成也<sup>3)</sup> 波戸 章郎<sup>2)</sup>  
小泉 民雄<sup>2)</sup> 中村真佐徳<sup>4)</sup> 山下万利子<sup>1)</sup> 能勢 義介<sup>1)</sup>  
三戸 壽<sup>1)</sup> 安武 晃一<sup>3)</sup> 村山 徹<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>兵庫県赤十字血液センター

<sup>2)</sup>兵庫県立成人病センター血液内科

<sup>3)</sup>同 消化器科

<sup>4)</sup>同 検査室

(平成 14 年 6 月 3 日受付)

(平成 14 年 9 月 4 日受理)

HBV REACTIVATION AFTER HEMATOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION IN AN HBSAB-POSITIVE RECIPIENT :  
ROLE OF HBV DNA QUANTITATIVE ASSAY

Shion Imoto<sup>1,2)</sup>, Ishikazu Mizuno<sup>2)</sup>, Sigeya Hirohata<sup>3)</sup>, Akio Hato<sup>2)</sup>, Tamio Koizumi<sup>2)</sup>,  
Masanori Nakamura<sup>4)</sup>, Mariko Yamashita<sup>1)</sup>, Yoshisuke Nose<sup>1)</sup>, Hisashi Mito<sup>1)</sup>,  
Koichi Yasutake<sup>3)</sup> and Toru Murayama<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Hyogo Red Cross Blood Center, <sup>2)</sup>Division of Hematology/oncology, <sup>3)</sup>Division of Digestive disease,

<sup>4)</sup>Clinical Laboratory, Hyogo Medical Center for Adults

Reactivation of HBV during treatment of chronic GVHD in a recipient with positive HBs Ab.

Reactivation of HBV after hematopoietic cell transplantation is a major issue of concern. A 46-year-old female with AML in 2nd CR received an allogeneic bone marrow transplantation (BMT) in September 1999. Before BMT, she was positive with HBsAb and HBcAb. She suffered from chronic GVHD six months after BMT and has been treated with prednisolone. HbsAg became positive on 22 months post-BMT. HBV DNA titer measured by PCR was 5.5 log copy/ml, and was elevated to more than the upper limit of PCR (7.6 log copy/ml) two months later. HBV DNA was measured by TMA-HPA (transcription mediated amplification-hybridization protection assay) thereafter. HBV DNA was elevated to 8.0 log copy/ml at 28 months post-BMT, and we initiated lamivudine therapy. HBV DNA rapidly dropped to 1/100 one month later, and to 1/1000 three months later. She has remained free from liver dysfunction.

**Key words** : HBV reactivation, hematopoietic cell transplantation, chronic GVHD, lamivudine, lamivudine resistance

はじめに

HBV 感染は造血細胞移植でも重要問題の一つである。輸血からの感染リスクは、我が国では日本赤十字社の HBV 核酸増幅検査 (NAT) 導入により著しく低下し<sup>1)</sup>、現在では HBV キャリアにおける移植後ウイルス再増殖への対処が重要課題である<sup>2)-8)</sup>。レシピエントが移植前から HBs 抗原陽性の場合には、12% が造血細胞移植後に致命的肝障害をきたし得る<sup>2)-4)</sup>。従来はリスクグループと考えられなかった移植前 HBs 抗体陽性のレシ

ピエントでも、移植後 HBV 再増殖を起こし得ることが認識されつつある<sup>2,5)-8)</sup>。しかし造血細胞移植後の HBV 再増殖への対処法は、まだ確立されていない。我々は、移植前 HBs 抗体陽性であったが移植後の慢性 GVHD 治療中に HBV が再増殖し、抗ウイルス剤 lamivudine により肝炎を発症せずウイルス量を抑制できた症例を経験したので報告する。

症 例

47 歳女性 . 1996 年急性骨髄性白血病を発症 . 維

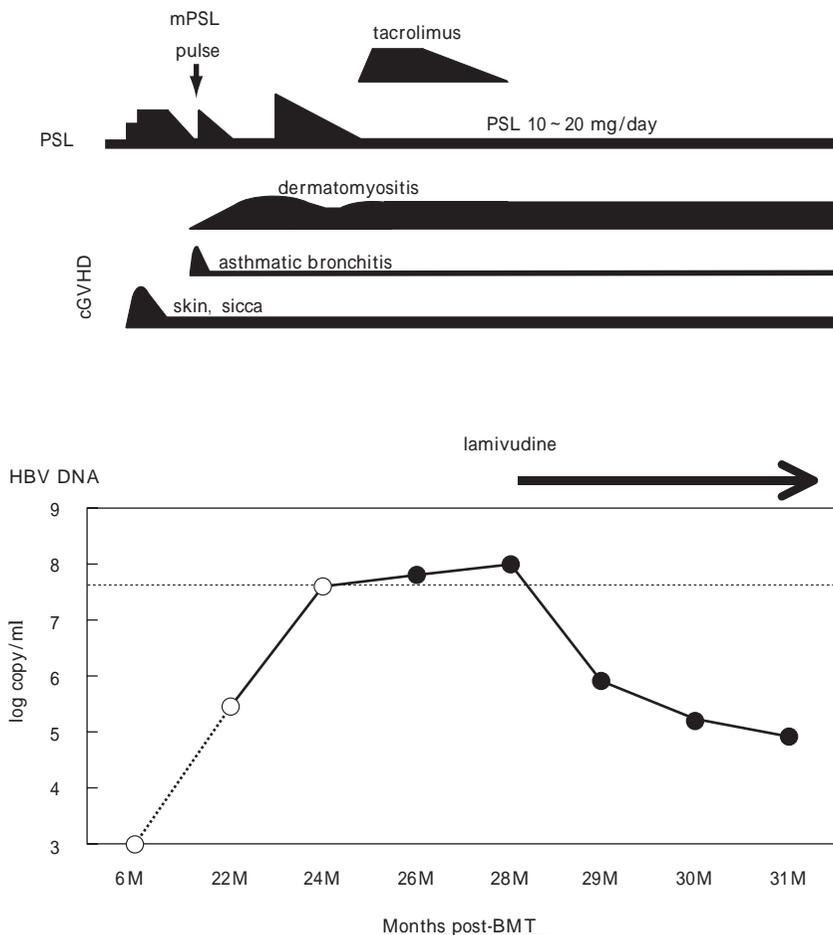


Fig. 1 Clinical course of chronic GVHD and HBV DNA titers.

The upper layer is clinical course of chronic GVHD. Abbreviations : cGVHD, chronic GVHD ; PSL, prednisolone ; mPSL, methyl prednisolone. In the lower layer, HBV DNA titers are shown in log scale ( log copy/ml( = log genome equivalent/ml in TMA-HPA )) . The broken line indicates the upper limit of PCR ( 7.6 log copy/ml ) . HBV DNA was measured by PCR up to 24 months, followed by TMA-HPA.

持療法中に再発したため同種骨髄移植目的で紹介された。1999年9月,HLA1 allele mismatchの非血縁者ドナーより骨髄移植を受け, day15に生着し day20で輸血不要となった。移植6カ月後頃より乾燥症状, 手掌紅斑, 肝障害が出現。皮膚生検にて慢性GVHDと診断し prednisolone 増量によりいったん改善した。その後, 気管支喘息症状が一過性に出現, 引き続いて皮膚筋炎が出現し増悪したため移植22カ月後に再入院 (Fig. 1)。入院時検査でHBs抗原陽性, HBV DNAもPCR法で検出された。肝機能正常のため経過観察していたが, HBV DNAは増加し続け半年間で数100倍となった。肝炎を発症すれば劇症化する可能性もあるため, 移植28カ月後より lamivudine を開始し経過観察中であるが, 肝機能正常で副作用も出現していない。

検査成績: HBVの検査結果をTable 1に示す。HBV DNA定量はPCR法 (AMPLICOR HBV MONITOR Test, Roche Molecular Systems Inc, 米国, プレザントン) またはTMA-HPA法 (transcription-mediated amplification, Hybridization protection assay, GEN-PROBE Inc, 米国, サンディエゴ) を用いた。移植前はHBs抗体陽性 (645.9

mIU/ml), HBc抗体も陽性 (阻害率96.5%) であった。移植6カ月後にHBs抗体価が10 mIU/mlに低下したが, HBs抗原は陰性, HBV DNAもPCR法で陰性であった。移植22カ月後にはHBs抗原とHBe抗原が陽性化した。HBV DNAはPCR法で5.5 log copy/ml ( $7 \times 10^5$  copies/ml) であった。以後増加し続け移植28ヶ月後にはTMA-HPA法で8.0 log genome equivalent (LGE)/ml ( $10^8$  copies/ml) と, 6カ月間で数100倍に増加した (Fig. 1)。しかし lamivudine 開始1カ月後には約1/100に, 3カ月後には約1/1,000に低下している (Fig. 1)。

### 考 察

HBV感染の知見が深まり, HBs抗原陰性であってもHBc抗体高力価の場合には少量のウイルスが潜伏感染していることがわかってきた<sup>2,5)-12)</sup>。丸澤らは, HBs抗原陰性かつHBc抗体陽性の健常人14名中13名において, 肝組織中にHBV DNAを検出し得た, と報告している<sup>12)</sup>。また, 移植前HBs抗体陽性でも同種造血細胞移植後にHBVが再増殖した報告が増加しており<sup>2,5)-8)</sup>, 劇症化死亡例も報告されている<sup>8)</sup>。したがって移植前にHBs抗原陰性でもHBc抗体が陽性であれ

Table 1 Laboratory data of patient

a) serological assays						
	normal range	pre-BMT	BMT-6M	22M	28M	31M
HBs Ag	( - ) < 1.0 COI	( - ) 0.4	( - ) 0.4	( + ) 243.6	( + ) 1,246	( + ) > 2,000
HBs Ab	( - ) < 5.0 mIU/ml	( + ) 645.9	( + / - ) 10	( - ) 0	( - ) 0	( - ) 0.1
HBe Ag	( - ) < 2.0 S/N	*ND	( - ) 0.6	( + ) 253	( + ) 298.1	( + ) 1,600
HBe Ab	( - ) < 50%	ND	( - ) 21.0	( - ) 0	( - ) - 779.4	( - ) 0.1
HBc Ab	( - ) < 50%	( + ) 96.50	( - ) 42.6	( + ) 95.50	( + ) 96.73	( + ) 100.0

\* ND; not done

b) HBV DNA quantitative assays									
HBV DNA		BMT-6 M	22M	24M	26M	28M ( lamiv. start )	29M ( 1M )	30M ( 2M )	31M ( 3M )
PCR	< 2.6 log copy/ml	< 2.6	5.5	> 7.6					
TMA	< 3.7 LGE/ml				7.8	8.0	5.9	5.2	4.9

ば、HBs 抗体の有無によらず移植後長期間 HBV モニターが必要となる。従来 HBV 増殖の指標とされた HBe 抗原は、変異株 (pre-C mutant) では産生されなくなるため、HBV DNA 検出が必要である<sup>2) 9) 11) - 14)</sup>。従来の DNA polymerase 活性測定法、branched probe assay (bDNA プロブ) 法、液相ハイブリダイゼーション法などは検出感度が不十分であった<sup>13)</sup>。最近開発された高感度定量 PCR 法は、測定限界が  $4 \times 10^2$  copies/ml で、従来の bDNA 法の約 1,000 倍高感度である<sup>13)</sup>。TMA-HPA 法は、感度は PCR 法よりやや劣るが定量性に優れ、 $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^8$  copies/ml ( $3.7 \sim 8.7$  log genome equivalent (LGE) /ml) の広範囲を定量測定できる<sup>14)</sup>。

本症例では、移植 22 カ月後に HBV 増殖が血清学的検査 (EIA 法で HBs 抗原陽性) でも PCR 法でも確認された HBV DNA が増加し PCR 法の定量上限を超えてからは、TMA-HPA 法で引き続き定量モニターできた。輸血等からの再感染は、最終輸血から約 22 カ月経過していることより考え難い。

問題は HBV 再増殖への対策であるが、移植前からウイルス増殖を認める場合は、予防的に抗ウイルス剤を投与することが推奨される<sup>2)</sup>。移植前 HBV DNA 陰性でも、移植後の免疫抑制期にウイルスが再増殖し免疫能が回復すると肝障害を発症し得る。肝障害の程度は様々であり、pre-C mutant で劇症肝炎をきたしやすいとの報告もあるが、予測は困難である<sup>2) - 9)</sup>。肝障害が出現してから治療を開始しても必ずしも肝障害増悪を阻止できず、劇症肝炎で死亡した症例も報告されている<sup>8)</sup>。したがって、移植後に HBV DNA が検出された時点で抗ウイルス剤を開始すべきであろう。lamivudine は HBV DNA polymerase 阻害剤であり増殖抑制効果が高く、経口で長期投与でき副作用の少ない優れた抗ウイルス剤である<sup>9) 15) 16)</sup>。しかしウイルスの完全な駆逐は困難で、投与を中止すると多くの場合ウイルスは再増殖する<sup>2) 9) 16) - 18)</sup>。しかし長期投与を続けると lamivudine 耐性変異ウイルスが高率に出現する<sup>9) 16) - 19)</sup>。したがって lamivudine 耐性 HBV 対策が今後の重要課題である。

最近、lamivudine と交差耐性のない adefovir が、lamivudine 耐性 HBV に有効と報告されている<sup>19)</sup>。

本症例のように慢性 GVHD で長期間ステロイドや免疫抑制剤の投与を要する場合には移植後長期経過しても HBV 再増殖が起こり得る。可能性のあるレシピエントでは移植後定期的に、特に慢性 GVHD 治療中は注意深く HBV DNA をモニターすることが必要である。再増殖が確認されたら速やかに lamivudine を開始し、さらには HBV に対する免疫能を高めてウイルスを駆逐できるような方法の開発や、新しい抗ウイルス剤が速やかに使用できる取り組み等が、今後重要と思われる。

謝辞：検査に御協力下さった兵庫県立成人病センター検査室の皆様、HBV DNA 測定に御協力頂いた SRL に謝意を表します。貴重な御助言を頂いた千葉勉先生 (京都大学消化器内科) に深謝します。

## 文 献

- 1) 松田利夫：輸血によるウイルス感染症：NAT の導入とその効果。日本輸血学会雑誌，48(2)：111，2002。
- 2) Strasser, S.I., McDonald, G.B. : Hepatitis virus and hematopoietic cell transplantation : A guide to patient and donor management. Blood, 93 : 1127 - 1136, 1999.
- 3) Liang, R., Lau, G.K.K., Kwang, Y.L. : Chemotherapy and bone marrow transplantation for cancer patients who are also chronic hepatitis B carriers : A review of the problem. J. Clin. Oncol., 17 : 394 - 398, 1999.
- 4) Chen, P.-M., Chiou, T.-J., Fan, F.S., et al. : Fulminant hepatitis is significantly increased in hepatitis B carriers after allogeneic bone marrow transplantation. Transplantation, 67 : 1425 - 1433, 1999.
- 5) Blanpain, C., Knoop, C., Delforge M.-L., et al. : Re-activation of hepatitis B after transplantation in patients with pre-existing anti-hepatitis B surface antigen antibodies. Transplantation, 66 : 883 - 886, 1998.
- 6) Dhedin, N., Douvin, C., Kuentz, M., et al. : Reverse seroconversion of hepatitis B after allogeneic bone marrow transplantation. Transplantation, 66 : 616 - 619, 1998.
- 7) Picardi, M., Selleri, C., De Rosa, G., et al. : Lamivudine

- vudine treatment for chronic replicative hepatitis B virus infection after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 21 : 1267-1269, 1998.
- 8) Iwai, K., Tashima, M., Itoh, M., et al. : Fulminant hepatitis B following bone marrow transplantation in an HbsAg-negative, HbsAb-positive recipient ; reactivation of dominant virus during the immunosuppressive period. *Bone Marrow Transplantation*, 21 : 1267-1269, 1998.
  - 9) Lok, A.S., Heathcote, E.J., Hoofnagle, J.H. : Management of Hepatitis B : 2000-Summary of a Workshop. *Gastroenterology*, 120 : 1828-1853, 2001.
  - 10) 佐藤功栄, 星 友二, 大沼 均, 他 : HBs 抗原陰性, HBc 抗体陽性の日本人の献血血液中における HBV-DNA の検出. *血液事業*, 23(3) : 543-550.
  - 11) Marusawa, H., Imoto, S., Ueda, Y., Chiba, T. : Reactivation of latently infected hepatitis B virus in a leukemia patient with antibodies to hepatitis B core antigen. *J. Gastroenterol.*, 36 : 633-636, 2001.
  - 12) Marusawa, H., Uemoto, S., Hijikata, M., Ueda, Y., Tanaka, K., Shimotono, K., Chiba, T. : Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology*, 31 : 488-495, 2000.
  - 13) 松山和弘, 林 邦彦, 三浦俊昭, 他 : HBV-DNA 高感度測定系 (PCR 法) によるウイルス量とウイルス変異の測定. *肝胆膵*, 41 (1) : 59-71, 2000.
  - 14) 飯野四郎 : TMA-HPA 法の測定原理および臨床的意義. *肝胆膵*, 41 (1) : 81-87, 2000.
  - 15) Grellier, L., Mutimer, D., Ahmed, M., et al. : Lamivudine prophylaxis against reinfection in liver transplantation for hepatitis B cirrhosis. *Lancet*, 348 : 1212-1215, 1996.
  - 16) Doo, E., Liang, T.J. : Molecular anatomy and pathophysiologic implications of drug resistance in hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*, 120 : 1000-1008, 2001.
  - 17) Bartholomew, M.M., Jansen, R.W., Jeffers, L.J., et al. : Hepatitis B-virus resistance to lamivudine given for recurrent infection after orthotopic liver transplantation. *Lancet*, 349 : 20-22, 1997.
  - 18) Mutimer, D., Pillay, D., Shields, P., et al. : Outcome of lamivudine resistant hepatitis B virus infection in the liver transplant recipient. *Gut*, 46 : 107-113, 2000.
  - 19) Mutimer, D., Ferez-Neto, B.H., Harrison, R., et al. : Acute liver graft failure due to emergence of lamivudine resistant hepatitis B virus : rapid resolution during treatment with adefovir. *Gut*, 49 : 860-863, 2001.
-