

## E. 結論

日本で使用されてきた 4 種の遺伝子組換え型 HB ワクチン接種者における血清 HBs 抗体評価について、各ワクチン種別に実施した PHA 法と WHO 基準国際単位表示法との整合性または乖離性の検討は一応の結果を得た。現場の混乱を回避し、また国内外の evidence を共有するためには、HBs 抗体測定は、筆者が指摘してきた各キットの特性乖離を認識したうえで、WHO 基準国際単位表示法に統一することが望ましいものとする。

HB ワクチン接種者の HBV 感染防御能の検討は重要であるが、今回までの調査では、米国 CDC 勸奨の妥当性を検証するには至らなかった。前向き調査として、血清 HBs 抗体と血清 HBc 抗体、血中 HBV DNA 検査を関連させることにより、さらに検討を継続したい。

## F. 研究発表

### 著作

小方 則夫. 医療従事者における B 型肝炎ウイルス (HBV)・C 型肝炎ウイルス (HCV) 陽性血液曝露事故後の感染予防対策：国際標準との整合性確立に向けて、労働者健康福祉機構・病院機能向上研究結果報告集、伊藤 庄平 (編集)、独立行政法人労働者健康福祉機構 (川崎)、2009、(印刷中)。

## 学会発表

小方 則夫. B 型肝炎ウイルス感染防御 HBs 抗体評価の混乱：国際単位表示法・PHA 法の特性乖離とその標準化の過程、第 44 回日本肝臓学会総会一般演題、松山、2008。

小方 則夫. 医療従事者の職業災害としての肝炎ウイルス感染症対策 - International Evidence の共有を目指して -、第 56 回日本職業・災害医学会学術大会ランチョンセミナー、東京、2008。

小方 則夫、内田 守昭、玄間 雅克、馬場 伸男、舟田 久. 日本において使用可能である (あった) HB ワクチンの HBs 抗体誘導能：PHA 法と国際単位表示法とによる比較、第 55 回日本臨床検査医学会学術集会一般演題、名古屋、2008。

厚生科学研究事業（肝炎等克服緊急対策事業）  
分担研究報告書（平成20年度）

「肝炎ウイルス感染防御を目指したワクチン接種の基盤構築」  
分担研究：B型肝炎の発生動向

研究代表者 水落 利明 国立感染症研究所血液・安全性研究部第2室室長  
研究分担者 岡部 信彦 国立感染症研究所感染症情報センター長  
研究協力者 多田 有希 国立感染症研究所感染症情報センター第2室室長

**研究要旨** B型肝炎は、感染症施定の1999年以降、4類感染症の急性ウイルス性肝炎（A, B, C, D, E型、その他）として全数把握疾患となっていた。2003年11月の感染症法の改正では、5類感染症である「ウイルス性肝炎（E型肝炎及びA型肝炎を除く）」に分類された。診断した医師は、7日以内の届出が義務付けられている。B型肝炎ウイルスキャリアの急性増悪は、この中には含まないことになっている。今回は発生動向調査の中から得られるB型肝炎の状況についてまとめた。報告数は1999年から減少傾向にあるが、2005-2008年は年間200例前後で推移している。年齢および性差では20代、30代を中心にして男性に多く、感染経路は国内での性的接触が増加している。母子感染例はキャリア例の報告ということになるが年々減少にあり、2006-2008年はゼロ例であった。劇症肝炎の報告は年間0-6例であった。B型肝炎は血液由来感染として重要であるが、従来之母児感染対策、医療行為による感染対策に加えて、性感染症としての観点からの対策も重要となって来ている。

#### A. 研究目的

B型肝炎に関する母児感染対策が奏功し、乳幼児におけるキャリア化は著しく減少した。また輸血液に対する対策も進み、輸血によるB型肝炎ウイルス感染も減少した。もちろんこれらに対する警戒、対応は引き続き緩めることなく行なっていくことが必要であるが、B型肝炎感染対策として考えた場合、現状のまま様子を見れば良いかどうかを判断するには、現状を把握する必要がある。B型肝炎は、感染症制定の1999

年以降、4類感染症の「急性ウイルス性肝炎（A, B, C, D, E型、その他）」として全数把握疾患となっており、また2003年11月の感染症法の改正では、B型肝炎は、感染症発生動向調査における全数把握の5類感染症である「ウイルス性肝炎（A型肝炎及びE型肝炎を除く）」に分類され、サーベイランスが継続されている。これらのデータを分析することによって、わが国におけるB型肝炎ウイルス性肝炎の動向を知り、今後の肝炎対策に資することを本研究の目的とする。

## B. 研究方法

1999年以降は4類感染症の「急性ウイルス性肝炎(A, B, C, D, E型、その他)」として報告されたB型肝炎、2003年11月の改正以降では5類感染症である「ウイルス性肝炎(E型肝炎及びA型肝炎を除く)」として届けられたB型肝炎について集計を行なった。なお、2006年4月に、届出基準と届出票が改正されている

(<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-05-02.html>)。

倫理面への配慮：本研究では、感染症に関する情報を取り扱うが、個人を特定できる情報の取り扱いはしない。万一個人的情報が本研究の中に含まれる場合があっても、それに関する機密保護に万全を期するものである。

## C. 研究結果

1999年には510例の報告であったが、2000年433例、2001年330例と年々減少を続け、2002年332例、2003年245例、2004年241例、2005年209例、2006年228例、2007年199例、2008年175例である(2009年1月6日現在。B型肝炎については2006年9月号の病原体微生物検出情報IASRで特集記事としてまとめているが、その後の修正例などがあり、数字は若干異なっている)。

2003年以降は報告数が安定して来ていること、また2008年の報告数はまだ数字が若干前後する可能性が高いことから、以下の集計は主に2003-2007年の5年間の報告(1122例)についてまとめ

たものである。

1122例の都道府県別の報告では、東京(185例)、大阪(129例)、兵庫(87例)、神奈川(67例)広島(58例)などの大都会に多く、福岡、岡山、宮城、愛知、京都などが続く。

性別では男性が835例、女性が287例(男/女=2.9/1)であった。年齢別に男女差をみると、10代は報告数も少なく男女差があるとは言えず、10代後半では女性が多く、20代以降の年代では男性の方が多い。男女別に年齢分布をみると、男性は20代後半及び30代前半をピークに、20代から50代まで両側に分布し、19歳以下、60歳以上では著しく少ない。女性は20代にピークがあり、10代後半から50代まで両側に分布し、14歳以下、60歳以上では少ない(図)。

感染経路では、性的接触が男女ともにもっとも多く、2003-2007年の報告数1122例のうち、性的接触は675例(60%)であった(図)。その他として感染経路に記載のあったものは81例(7%)で、母子感染4例、輸血・血液製剤8例、血液透析7例、歯科治療4例、院内感染4例、針治療4例、入れ墨3例、ピアス3例、針刺し事故2例、家族・知人からの感染(カミソリ・歯ブラシの共用など)15例などがあった。不明が364例あった。性的接触感染例の占める割合は、1999年43%から2007年67%へと徐々に増加がみられた。性的接触のうち国外感染例は75例あり(図)、中国が31例と最も多く、ついでタイ13例、フィリピン8例、韓国7例、インドネシア5例などであった。



母子感染例は、1999年7例をピークに以降2000年6例、2001年2例、2002年0例、2004年3例、2005年1例、2006年0例、2007年0例となっているが、母子感染例はキャリア例で、本来は届出対象外であり、今後の集計データの取り扱いを検討の必要がある。(2008年は2009年1月6日現在までに0例)

劇症肝炎は1999-2005年までに年間0-2例の報告があり、2006年、2007年はそれぞれ5例と若干多くなった。2006年4月に届出票が改正された際に症状の記載が自由記載から選択式になったが、劇症肝炎が選択項目の一つであることにより、報告されやすくなった可能性がある。しかしいずれにしても、報告後の発症については把握できていないと考えられる。1999-2007年の合計は18例であった。(2008年は2009年1月6日までに6例の報告)

報告時点での死亡の報告は、1999-2007年に15例あった。(2008年は2009年1月6日現在までに3例の報告)

#### D. 考察と結論

1985年に「B型肝炎母子感染防止事業」が開始され、これにより母子間のHBV感染によるキャリアの発生は劇的に減少した。献血におけるHBVスクリーニングでの陽性率は年々減少しているが、さらなる輸血後肝炎対策として、1999年よりHBV、C型肝炎ウイルス(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)に対する核酸増幅検査(NAT)が実施され、輸血によるこれらのウイルス感染の報告も

大きく減少した。

一方性的接触による若者年代での感染が多くを占めるようになった現状は、これまでの母子感染対策、医療行為あるいは針刺し事故などに対する対策に加えて、B型肝炎をSTD疾患の一つとして捉え、adult immunizationとして、あるいはuniversal immunizationとしてB型肝炎ワクチンを考慮し、今後の予防対策を考えていく必要がある。また、感染者の家族・性的パートナー、腎透析患者、医療従事者、救急隊員など、ハイリスク者はB型肝炎ワクチンによる予防を積極的にすすめるべきである。

今後さらに情報の解析を続ける予定である。

#### E. 健康危険情報

特になし

#### F. 研究発表

1. 岡部信彦、高島郁夫、吉川泰弘 人と動物の共通感染症の現状と課題 モダンメディア

第54巻1号 p1~23 栄研化学株式会社 2008.1

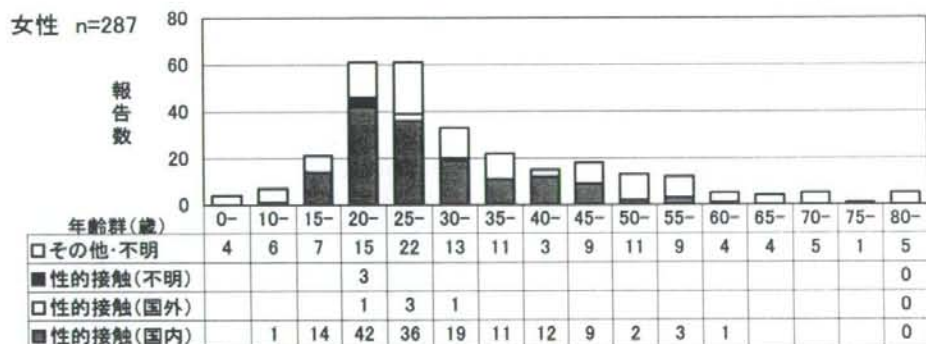
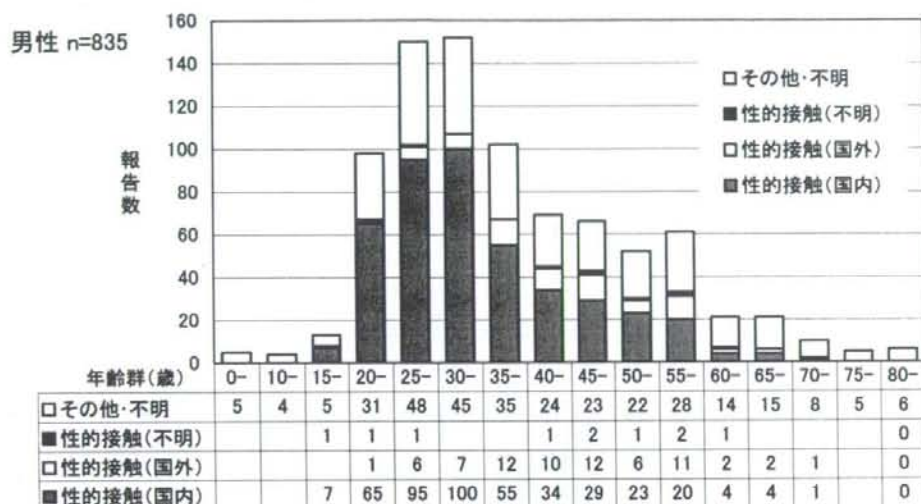
岡部信彦・多屋馨子

2. 予防接種に関するQ&A集 2008 日本細菌製剤協会 2008.8.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

現時点でなし

図 B型肝炎の性別・年齢群別・感染経路(性的接触の感染地域)別報告数  
2003-2007年(1122例)



厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)

肝炎ウイルス感染防御を目指したワクチン接種の基盤構築

(研究代表者:水落利明)

分担研究報告書

小児の HBV 水平感染の実態に関する検討

研究分担者 多屋 馨子 国立感染症研究所感染症情報センター第三室室長  
研究協力者 越田 理恵 金沢市福祉保健局こども福祉課長  
岡部 信彦 国立感染症研究所感染症情報センター長

研究要旨

保育関係者の B 型肝炎に関する知識は不十分と考えられた。乳幼児期の B 型肝炎ウイルス水平感染予防の観点から、保育関係者への正確な情報の提供と血液媒介感染症に関する教育啓発が必要と考えられた。特に、血液や浸出液に関する注意事項の徹底が必要である。保育施設での B 型肝炎ウイルス感染症の水平感染を予防するためには、教育啓発に加えて、現行の母子感染予防の徹底ならびに universal vaccination が必要であると考えられた。

A. 研究目的

乳幼児期に B 型肝炎ウイルスの初感染を受けると、キャリア化率が高いことが知られている。また、近年、成人になってから感染しても、キャリア化する可能性がある genotype が国内で増加している。

昨年度の本研究班では、乳幼児が集団で生活している保育施設の実態と、金沢市にある保育施設長(ないしは主任保育士)の B 型肝炎に対する意識について調査したが、今年度は、金沢市内の公立保育施設の一般保育士を対象として同様の調査を実施し、水平感染のリスクについて検討し、B 型肝炎ワクチンの universal vaccination の必要性について検討することを目的とした。

B. 研究方法

金沢市内にある公立保育所 13 か所・こども総合相談センター・幼児相談室・市立児童館の保育士(正規・臨時を含む)のうち、産休・育休・病休以外の者を対象に、KAP(knowledge 知識, attitude 態度, practice 実践) 調査を実施した。

方法は、全施設に質問票を送付し、無記名で金沢市福祉保健局(研究協力者)宛に郵送してもらい、国立感染症研究所感染症情報センターで集計・解析した。

回答は、昨年度の調査対象であった保育施設長を除いた、保育士に依頼した。

C. 研究結果

236 人から調査票の回収があり、回収



率は100%であった(一部の施設では、当初調査対象としていなかった育休中の保育士からの回答も得られたため、正確には100%以上となる。)

回答者の所属は、保育所 208 人(88.1%)、こども総合相談センター7人(3.0%)、幼児相談室 6 人(2.5%)、市立児童館 14 人(5.9%)、未記入1人(0.4%)で、職種は、クラス担任保育士 165 人(69.9%)、クラスフリーの保育士 20 人(8.5%)、次席(副施設長)14 人(5.9%)、その他 10 人(4.2%)、こども総合相談センターの相談業務担当、児童館の巡回指導保育士等 27 人(11.4%)であった。

回答者の年代は、中央値 40 代、10 代 1 人(0.4%)、20 代 40 人(16.9%)、30 代 56 人(23.7%)、40 代 46 人(19.4%)、50 代 87 人(36.9%)、60 代 4 人(1.7%)、年代未記入 2 人(0.8%)で、性別は、男性 4 人(1.7%)、女性 232 人(98.3%)であった。

B型肝炎ワクチンを受けていた回答者は誰もいなかった。また、施設の中にB型肝炎ワクチンの接種を受けている児童がいると回答した者はなく、受けているかどうか不明と回答した者が 62.7%であった。

次に、施設の児童の中にB型肝炎ウイルスのキャリアがいると回答した者はなく、61.4%は不明と回答していた。

近年、皮膚疾患(アトピー性皮膚炎など)を有する児童が増加しているが、施設内で薬剤の塗布を行ったことがある者は 138 人:58.5%で、この内、66 人は素手で薬剤を塗布していた。

おむつ交換時には、118 人(50.0%)が

常に手袋を着用し、便の時など、時々手袋を着用していたのは 89 人(37.7%)であった。しかし、昨年度の施設長に対する調査では、職員はおむつ交換時、常に手袋を着用していると考えている施設長が 75%で、時々を含めると、ほぼ全員が手袋をしておむつ交換をしていると考えており、現場の実態との間に若干の相違が認められた(図 1)。

一方、出血時の処置については、132 人(55.9%)が手袋の着用をしていないと回答し、いつもしているのは 29 人(12.3%)にとどまった(図 2)。この質問に関しては、施設長と保育士の間で相違はなかった。鼻血の処置の際、常に手袋を着用しているのは 23 人(9.7%)のみであり、時々が 53 人(22.5%)、148 人(62.7%)は手袋の着用はしていなかったが、施設長が考えているより手袋着用者の割合は多かった(図 3)。血の付いた綿球をビニール袋に入れて捨てるのは 143 人(60.6%)で、そのままゴミ箱に入れるが 76 人(32.2%)、専用のゴミ箱に入れるが 3 人(1.4%)であり、施設長が考えているより実際にはビニール袋に入れて捨てる割合が僅かながら多かった(図 4)。

B型肝炎についての知識に関する質問については、キャリアの数、感染者の数、低頻度国・高頻度国については、約 85~95%が知らないと回答した。B型肝炎ウイルスの感染経路については 30%が、予防法については 56%が知らないと回答した。乳幼児期に感染を受けるとキャリア化の率が高いことは 57%が、キャリア化した後の予後については、67%が知らないと回

答し、施設長よりその割合は高かった。また、以前保育施設で職員・児童を巻き込んだB型肝炎ウイルス感染症の集団発生があったことについては91%が知らないと回答した。

B型肝炎の深刻さは保育関係者にほとんど知られておらず、正確な知識が乏しいため、肝炎ウイルスについて、状況や対策など詳しく知りたい、勉強したい、気を付けるべき事を教えて欲しいという意見が多く寄せられた。また、ワクチンで予防して感染しない努力をすべきであり、保育関係者への周知とともに保護者への周知もお願いしたいとの意見が寄せられた。

#### D. 考察

保育所入所待機児童ならびに保育施設入所児童者数が年々増加傾向にあることから、乳幼児の集団生活における感染症対策は益々重要課題となっている。

昨年度実施した施設長への調査と、今年度実施したと保育士への調査で結果がほぼ同じのものと、結果が異なっている場合があり、対応を考える上で重要と考えられたが、保育関係者のB型肝炎に関する情報は不十分と考えられた。

教育啓発は重要な感染症対策の1つであるが、職種に応じた適切な情報提供が必要であり、本調査結果から考えると、その徹底には多くの時間がかかると想定された。

今後は、B型肝炎ウイルスキャリアの母親から生まれた新生児の感染予防を徹底させると共に、感染源を特定することなく広くB型肝炎ウイルス感染症を予防でき

るよう、日本でもUniversal vaccinationの必要性があると考えられた。

#### E. 結論

乳幼児期のB型肝炎ウイルス水平感染予防の観点から、保育関係者への正確な情報の提供と血液媒介感染症に関する教育啓発が必要と考えられた。特に、血液や浸出液に関する注意事項の徹底が必要である。保育施設でのB型肝炎ウイルス感染症の水平感染を予防するためには、教育啓発に加えて、現行の母子感染予防の徹底ならびにuniversal vaccinationが必要であると考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1) 多屋馨子: 保育所・幼稚園における感染症対策～肝炎ウイルスなど血液を介しての感染症を中心に～. 金沢市保育所(園)・幼稚園職員研修会. 金沢21世紀美術館シアター21. 平成20年7月31日(木). 金沢21世紀美術館シアター21

2) 多屋馨子: 保育園での感染症とその対策～保育園で推奨される予防接種～. 第14回日本保育園保健学会. 平成20年10月26日(日)シンポジウムII. 日本教育会館

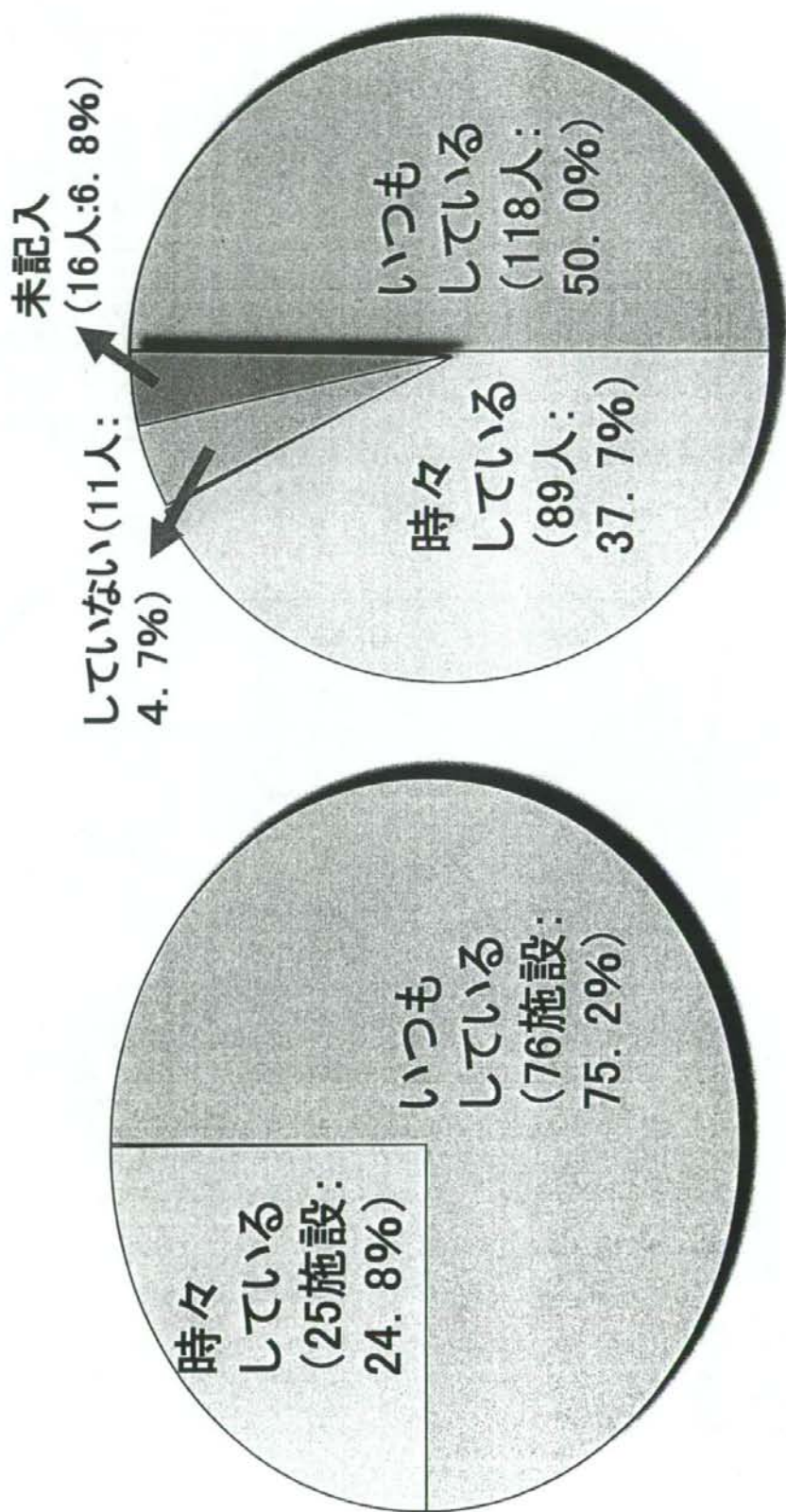
3) 竹澤 敦子、吉田 一郎、越田 理恵、多屋 馨子: 金沢市の保育所におけるB型肝炎に関する調査結果. 平成20年9月6日(土). 第19回石川県小児保健学会. 金沢市駅西健康ホール



G. 知的所有権の取得状況

なし

図1 おむつ交換時の手袋着用



施設長

保育士

図2 出血処置の際の手袋着用(保育士)

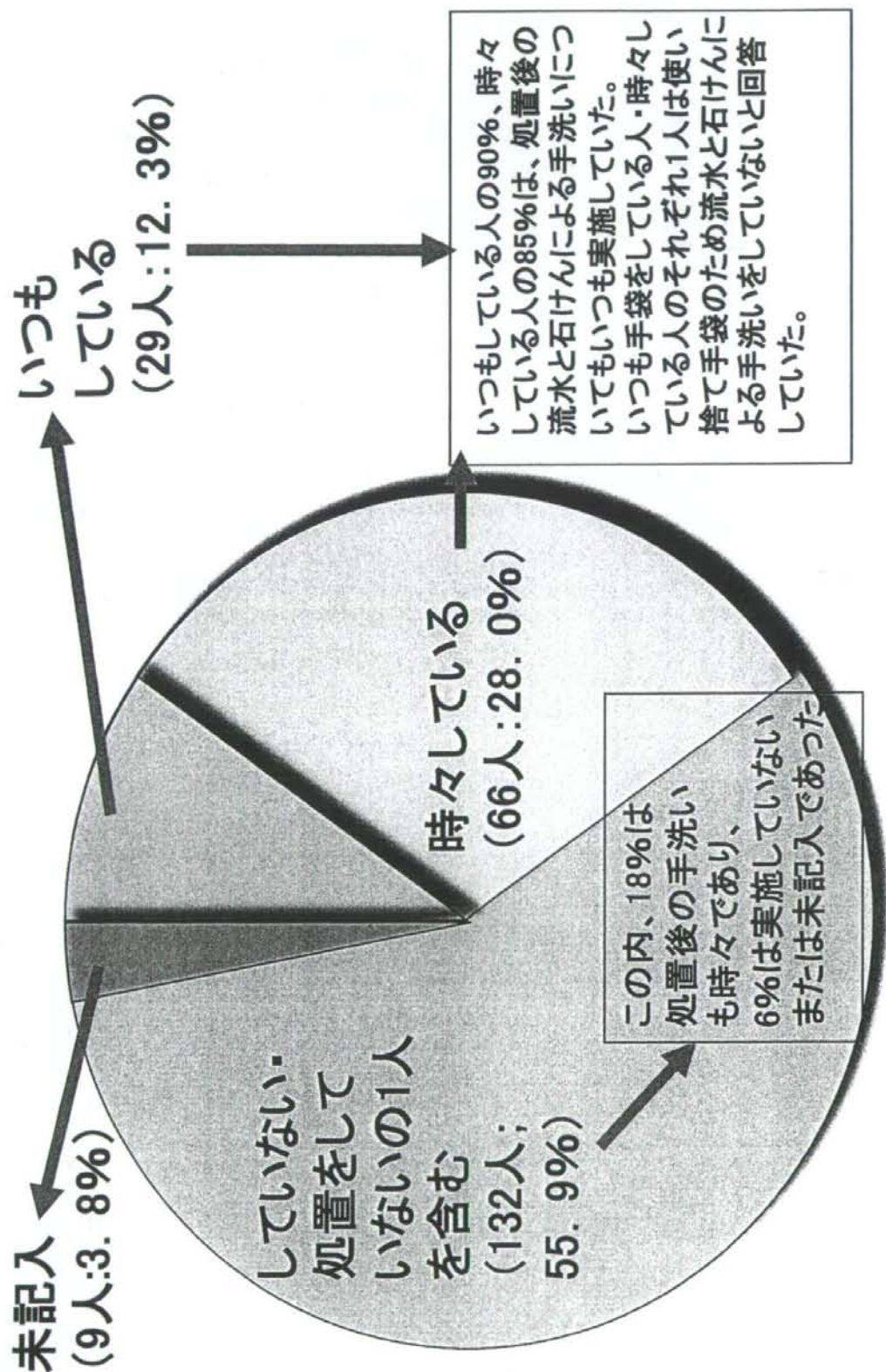
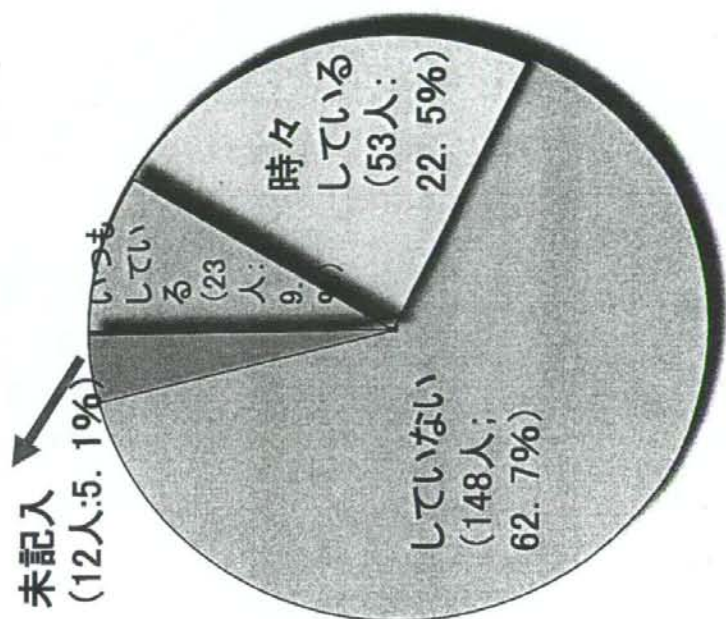
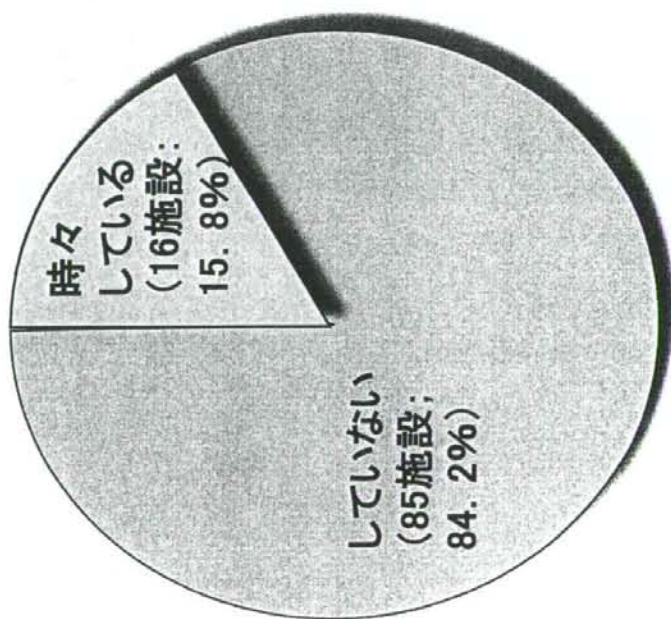




図3 鼻血の処置の際の手袋着用

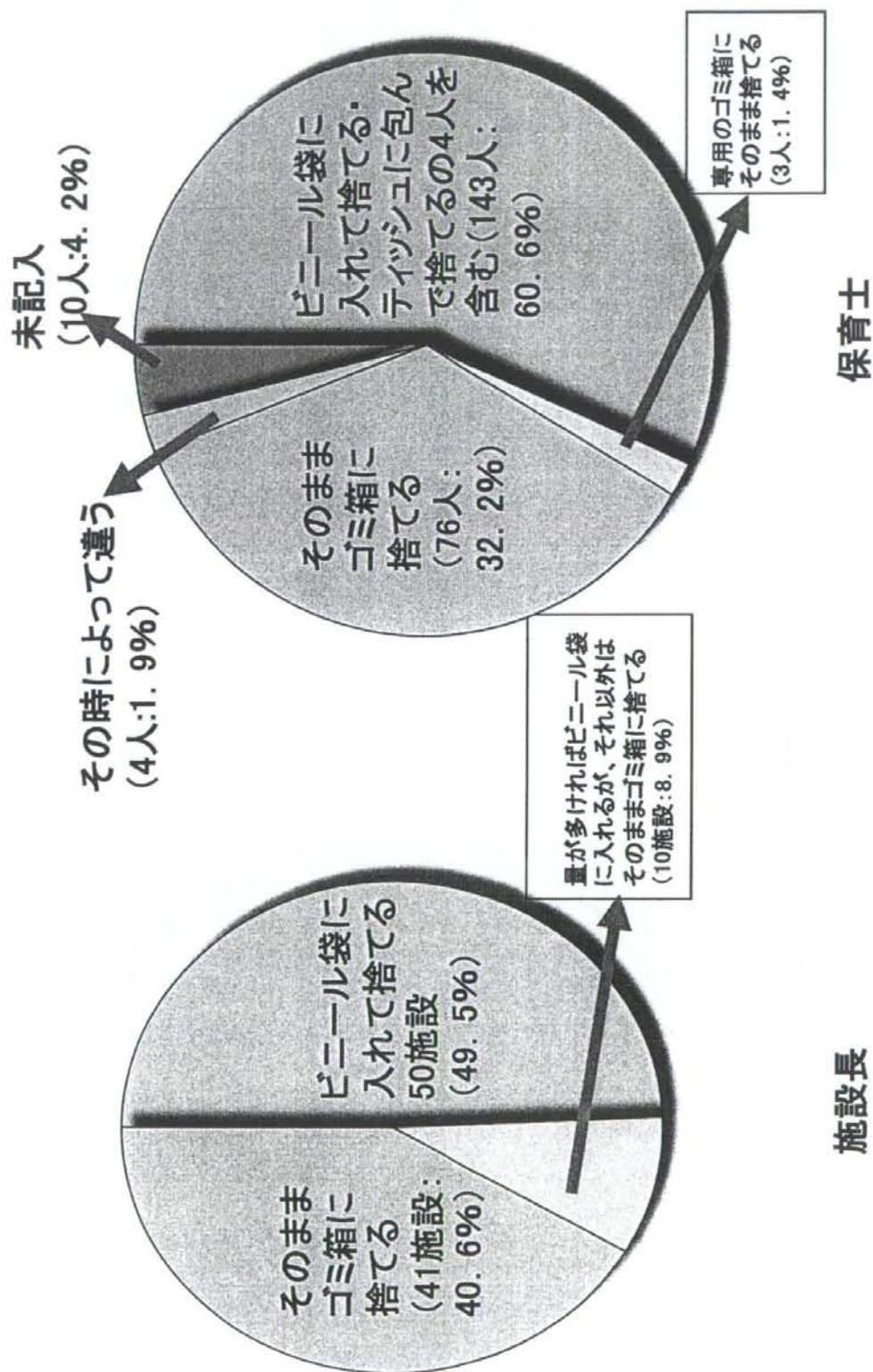


保育士



施設長

図4 血の付いた綿球の処置



HBs 抗体の in-vivo での  
感染阻止能定量のための基礎実験  
—受動免疫後のヒト肝細胞置換キメラマウスへの HBV 感染実験—

分担研究者 片山恵子<sup>1)</sup>  
研究協力者 田中純子<sup>1)</sup>、田淵文子<sup>1)</sup>、水井正明<sup>2)</sup>、  
島田卓<sup>3)</sup>、吉澤浩司<sup>1)</sup>

1) 広島大学大学院 疫学・疾病制御学

2) 広島県赤十字血液センター

3) (株) フェニックスバイオ

#### 研究要旨

HBs 抗体の in-vivo での感染阻止能を定量的に計測する基礎を確立することを目的として、(1) SCID マウスを用いた同一個体での HBIG 投与量別にみた受動免疫後の末梢血中の HBs 抗体価の推移、(2) ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた HBV genotype 別 (genotype A 及び genotype C) の最少感染価の標準化実験、(3) HBIG の投与量を変化させた受動免疫後に HBV genotype A と genotype C をそれぞれ接種材料とした HBV の感染実験、を行っている。

現在、実験は進行中である。この実験により、同一個体での末梢血中の HBs 抗体価の推移を HBIG 投与量別に明らかにすること、キメラマウスにおける最少感染価が genotype A 及び C とともに 1 コピー相当であることを確認すること、さらに最大  $10^5$  コピーの HBV 感染を阻止しうる末梢血中の HBs 抗体価を genotype 別に明らかにすることを予定している。

#### A. 研究目的

B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染に感受性を有するヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた感染実験により、in-vivo での HBs 抗体の HBV 感染阻止能を定量的に計測するための基礎を確立する。

HBV の genotype 別に見た感染価の標準

化を行い、genotype 別に感染阻止能に差があるか否かについても検証する。

#### B. 対象と方法

1) SCID マウスを用いた同一個体での HBIG 投与量別にみた受動免疫後の末梢血中の HBs 抗体価の推移 (図-1)

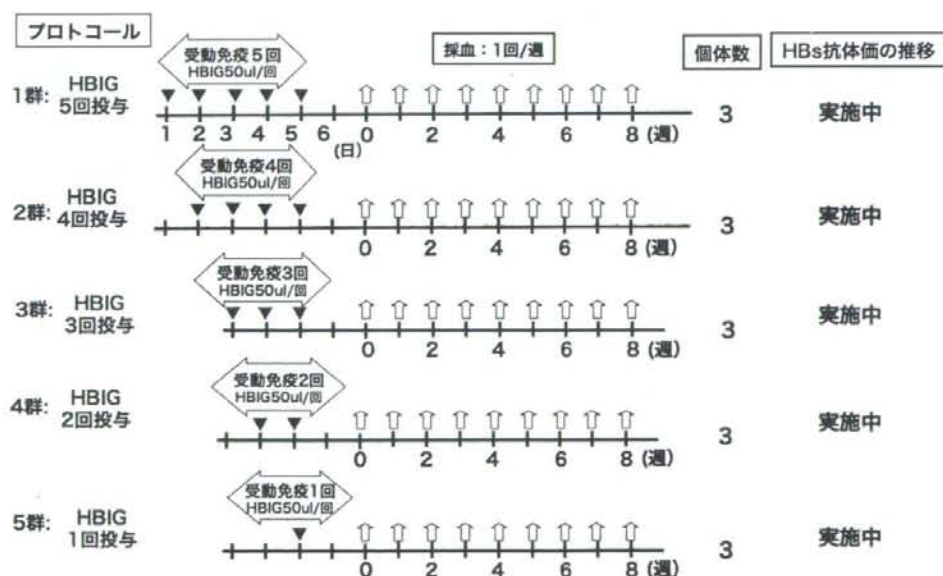


- (1) 実験動物  
ヒト肝細胞非置換 SCID マウス (SCID: Severe combined immunodeficiency disease mouse) 計 15 匹を用いた。
- (2) 受動免疫に用いた HBIG  
抗 HBs 人免疫グロブリン (HBIG: 日赤製、Lot No.2B020) HBs 抗体価 200 IU/ml を用いた。
- (3) HBIG 投与方法  
計 15 匹のヒト肝細胞非置換 SCID マウスを各群 3 匹ずつ、HBIG 連日 5 回投与、4 回投与、3 回投与、2 回投与、1 回投与群の 5 群に分け、HBIG を 1 日 1 回 50ul ずつ、後脚大腿部筋肉内に注射した。
- (4) 採血  
各群とも、筋注後 48 時間目、1 週目、2 週目、3 週目、4 週目、5 週目、6 週目、7 週目、8 週目に採血し、血中の HBs 抗

- 体価を同時測定する。
- (5) HBs 抗体価の測定  
Microparticle EIA 法 (AxSYM<sup>®</sup>、アボットジャパン KK、東京) を用いて測定し、HBs 抗体価 (mIU/ml) を求める。
- 2) ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた HBV genotype 別 (genotype A 及び genotype C) の最少感染価の標準化実験
- (1) 実験動物  
ヒト肝細胞 (LotBD87) 置換キメラマウス (以下キメラマウスと略記する) 計 12 匹を用いた。
- (2) 接種材料  
チンパンジーを用いた感染実験により、感染価が明らかとなっている genotype A と genotype C の感染材料を用いた<sup>1)</sup>。
- a) genotype A の接種材料 P-57:

図-1

HBIGの投与回数別にみた受動免疫後の末梢血中のHBs抗体価の推移



ヒト（献血者）由来のHBV感染早期の新鮮凍結血漿（FFP）を接種後57日目のチンパンジーの血清で、HBVのジェノタイプA、HBV DNA量 $2.6 \times 10^6$ コピー/ml、HBc抗体陰性である（図-2）。

この血清をチンパンジーに接種した場合の感染価（Chimpanzee Infectious Dose: CID）は、 $10^1$ コピー<sup>4)</sup>であり、キメラマウスに接種した場合の感染価（Mouse Infectious Dose : MID）は $10^1$ コピーである<sup>5)</sup>。

b) genotype C の接種材料 P-29 :

ヒト（献血者）由来のHBV感染早期の新鮮凍結血漿（FFP）を接種後29日目のチンパンジーの血清で、HBVのジェノタイプC、HBV DNA量 $3.0 \times 10^6$ コピー/ml、HBc抗体陰性である（図-3）。

この血清をチンパンジーに接種した場合の感染価（CID）は、 $10^1$ コピー<sup>4)</sup>であり、キメラマウスに接種した場合の感染価（MID）はこれまで検証したことがなく不明である。

(3) 標準化実験用感染材料の調製

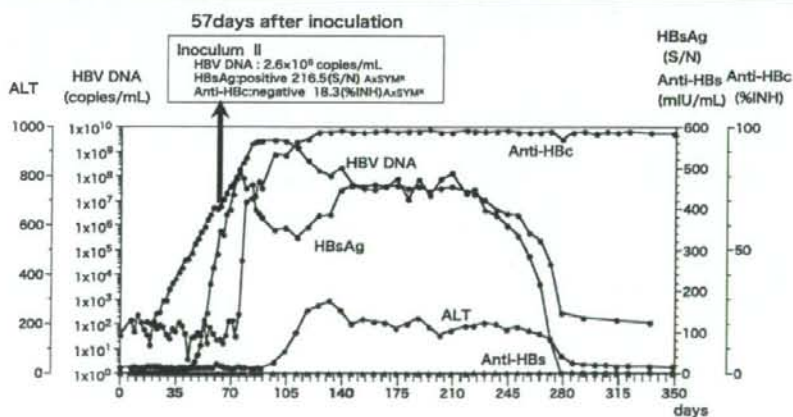
上記(2)に記述した接種材料を、ヒト肝細胞非置換SCIDマウスのプール血清を用いてそれぞれ $1:10^1 \sim 1:10^5$ まで $10^N$ 倍ずつ段階稀釈し、各稀釈サンプル中のHBV DNA量を測定し、稀釈が正しく行われていることを確認する。

(4) HBV DNA量の測定

Taq Man PCR®(ロシュダイアグノスティクスKK、東京)により測定し、HBV DNA量（コピー/ml）を求める。

図-2

ヒト由来のHBV（ジェノタイプA）を接種したC-246の経過  
—感染早期のチンパンジー由来のHBV（接種材料II）の採取—



Transfusion (2008) 48: 286-284

**ヒト由来のHBV (ジェノタイプC) を接種したC-272の経過  
—感染早期のチンパンジー由来のHBV (接種材料IV) の採取—**

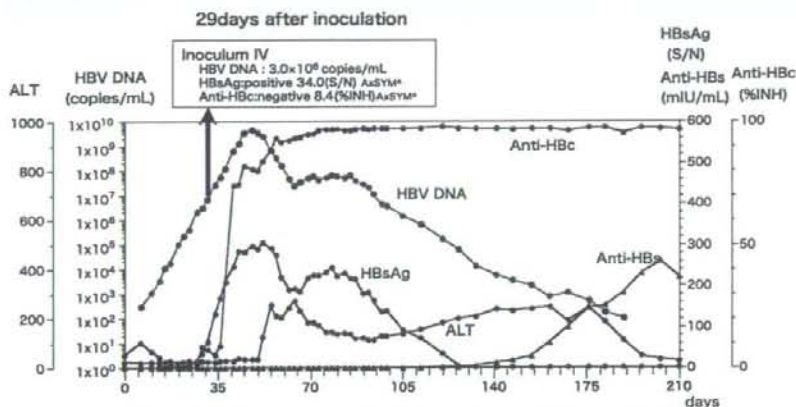
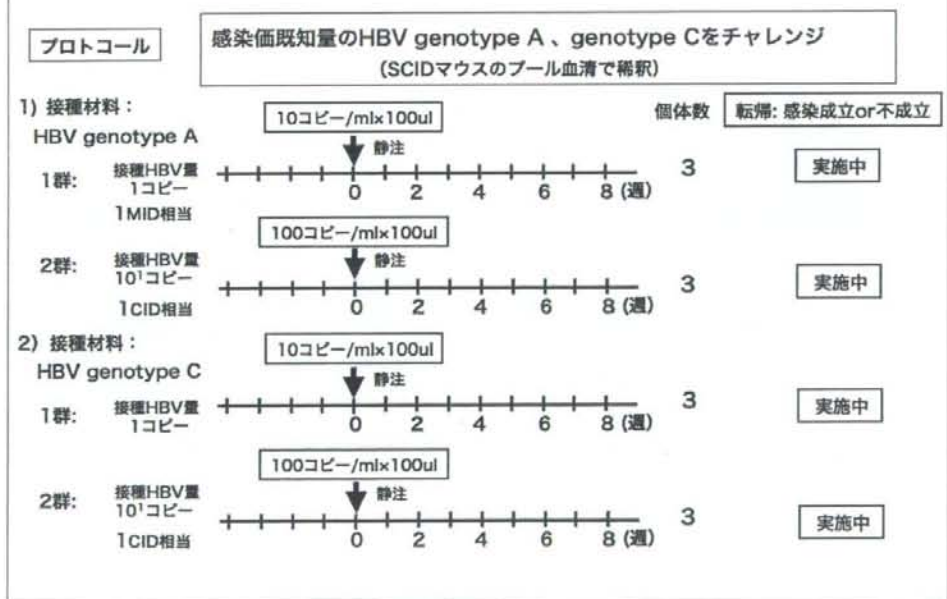


図-4 ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いたHBV genotype別 (genotype A & C)の最少感染価の標準化実験



(5)HBV genotype別の最少感染価の標準化実験(図-4)

接種材料の genotype 別にそれぞれキメラマウスを2群に分け、各群3匹ずつにそれぞれ10<sup>1</sup>コピー相当、10<sup>0</sup>コピー相当)のHBVを接種した。

1週間毎に8週目まで採血を行い、感染成立の有無を観察する。

3) HBIGの投与量を変化させた受動免疫後に、HBV genotype Aと genotype Cをそれぞれ接種材料としたHBVの感



## 染実験 (図-5)

### (1) 実験動物

ヒト肝細胞 (LotBD87) 置換キメラマウス (以下キメラマウスと略記する) を計 18 匹用いた。

### (2) 受動免疫に用いた HBIG

実験 1) と同一の抗 HBs 人免疫グロブリンを用いた。

### (3) 接種材料

実験 2) で用いた genotype A と genotype C の感染材料を用いた。

### (4) HBIG 投与方法

接種する genotype 毎に、1 回 HBIG 50ul を連日 5 回筋注する群、連日 3 回筋注する群、1 回筋注する群の 3 群に分け、各群 3 匹ずつ、HBIG を筋注した。

### (5) HBV 接種

各群の HBIG 筋注終了から 48 時間後に、genotype 別 (genotype A、genotype C) に接種材料  $10^5$  コピー相当をキメラマウスに接種した。

HBV 接種 (チャレンジ) 後、8 週目まで毎週 1 回の頻度で HBIG を追加投与し、

週 1 回採血をして感染成立の有無を観察している。

観察終了時に、末梢血中の HBs 抗体価を同時測定する。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、倫理審査を行い、実施している。また、マウスの採血時には、エーテル麻酔下で行っている。

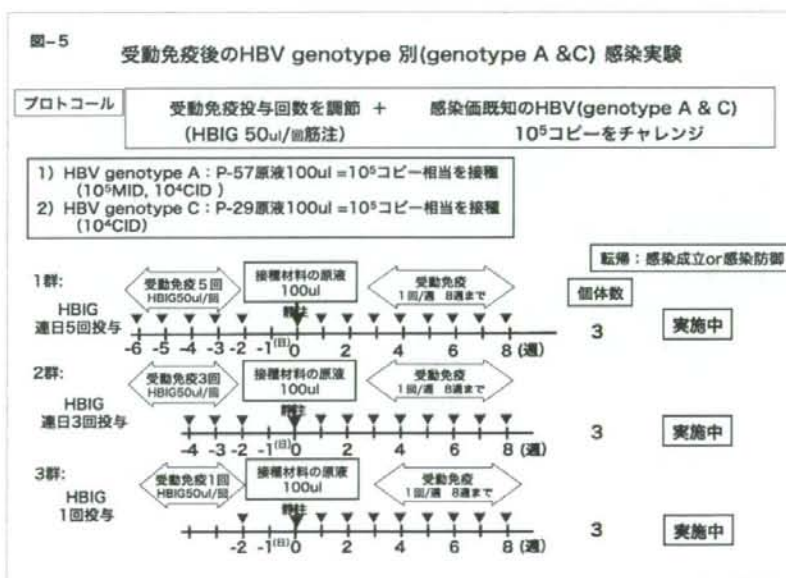
## C. 結果

1) SCID マウスを用いた同一個体での HBIG 量別にみた受動免疫後の末梢血中の HBs 抗体価の推移

血中の HBs 抗体価の測定を実施中のため、次年度の報告書にて報告の予定である。

2) ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた HBV genotype 別 (genotype A 及び genotype C) の最少感染価の標準化実験

現在、実施中であり、次年度の報告書にて報告の予定である。



- 3) HBIGの投与量を変化させた受動免疫後のHBV genotype Aと genotype Cをそれぞれ接種材料としたHBVの感染実験

現在、実施中であり、次年度の報告書にて報告の予定である。

#### D. 考察

今後、感染価が明らかな接種材料HBVの最大ウイルス量である $10^5$ コピー相当の感染を防御する末梢血中の最少のHBs抗体価を明らかにする予定である。

#### E. 文献

- 1) 吉澤浩司 他  
感染成立に必要な最少HBV量(コピー/ml)の決定  
「B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究」平成16年度報告書 pp93-96
- 2) 吉澤浩司 他  
ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いた肝炎ウイルス(HBV、HCV)の感染実験—チンパンジーの代替実験動物としての有用性の検証—  
「B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究」平成17年度報告書 pp87-90
- 3) 吉澤浩司 他  
ヒト肝細胞置換キメラマウスを用いたHBVの感染実験  
—チンパンジーの代替感染実験系としての有効性と、定量的感染実験系としての応用—  
「B型及びC型肝炎の疫学及び検診を含む肝炎対策に関する研究」平成18年度報告書 pp97-102
- 4) Komiya Y, Katayama K, Yugi H, Mizui M, Matsukura H, Tomoguri T,

Miyakawa Y, Tabuchi A, Tanaka J, Yoshizawa H.

Minimum infectious dose of hepatitis B virus in chimpanzees and difference in the dynamics of viremia between genotype A and genotype C. *Transfusion*, 2008; 48:286-294

- 5) Tabuchi A, Tanaka J, Katayama K, Mizui M, Matsukura H, Yugi H, Shimada T, Miyakawa Y, Yoshizawa H.

Titration of hepatitis B virus infectivity in the sera of pre-acute and late acute phases of HBV infection: transmission experiments to chimeric mice with human liver repopulated hepatocytes.

*J Med Virol*, 2008; 80; 2064-2068

#### F. 研究発表

1. Tabuchi A, Tanaka J, Katayama K, Mizui M, Matsukura H, Yugi H, Shimada T, Miyakawa Y, Yoshizawa H.  
Titration of hepatitis B virus infectivity in the sera of pre-acute and late acute phases of HBV infection: transmission experiments to chimeric mice with human liver repopulated hepatocytes.  
*J Med Virol*, 2008; 80; 2064-2068

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

# 厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業

## 分担研究報告書

「肝炎ウイルス感染防御を目指したワクチン接種の基盤構築」に関する研究

分担研究者 菅内 文中 名古屋市立大学大学院医学研究科 助教

研究要旨：近年、HBV ワクチンエスケープミュータント(HBV-EM)の出現とその増加が問題となっている。本邦の急性 B 型肝炎における HBV-EM の出現率とその変異株の結果を基に *in vitro* で HBV-EM のウイルス学的特徴について検討した。145R 変異株では、野生株と比較してウイルス複製能の低下を認めた。また培養上清中の HBsAg 値が野生株と比較して低下しており、145R 変異による HBs 抗原の構造変化により検出困難となっている可能性が示唆された。また不死化ヒト肝細胞(HuS-E/2 細胞)を用いた新規三次元培養系において HBV 感染の成立と、長期間の持続感染を認めた。同培養系による HBIG を用いた感染防御実において HBIG30mIU/mL の投与で培養上清中の HBV-DNA が検出不能となり感染防御の可能性が示唆された。

共同研究者

名古屋市立大学大学院医学研究科  
溝上雅史、田中靖人、日下部篤宣

### A. 研究目的

現在、100 カ国を超える諸外国において B 型肝炎ウイルス(HBV)のユニバーサルワクチンが施行されているが、ユニバーサルワクチン施行国においては、近年、HB ワクチンエスケープミュータント(HBV-EM)の出現とその増加が問題となっている。一方、我が国においては 1986 年からの母子感染予防法施行によって垂直感染からの HBV キャリア数は減少したが、近年、水平感染による急性 B 型肝炎(AHB)が増加傾向にあると報告されており、我が国においてもユニバーサルワクチンの必要性が議論となってきている。本研究では本邦の AHB における HBV-EM の出現率とその変異株の現状について検討し、その結果を基に HBV 複製モデルを用いた *in vitro* での HBV-EM のウイルス学的特徴について検討した。また不死化ヒト肝細胞 (HuS-E/2) を用いた新規三次元培養システムでの HBV 感染防御実験についても試みた。

### B. 研究方法

(1)我が国の急性 B 型肝炎患者における HB

V-EM の出現率とその変異株の状態についての検討

対象は本邦において AHB と診断された 46 例。このうち来院時に採取された血清で HBs 抗原陽性/HBs 抗体陽性と診断された 23 症例を A 群とし、この A 群と年齢・性別を match させた HBs 抗原陽性/HBs 抗体陰性 23 症例を B 群とした。

来院時の患者血清から抽出した HBV DNA に対して direct sequence 法を用いて S 遺伝子領域の遺伝子配列を決定し、HBs 抗原の共通抗原基 a 領域の変異についてこの 2 群間で比較検討した。なお a 領域の変異については、過去にエスケープミュータントとして報告されている変異に加えて、アミノ酸 profile の変化を伴う変異についても検討した。

(2)HBV-EM のウイルス学的特徴についての検討

今回の AHB 46 例の検討で一番多く検出された HBV-EM である I126S 変異と代表的な HBV-EM として知られている G145R 変異