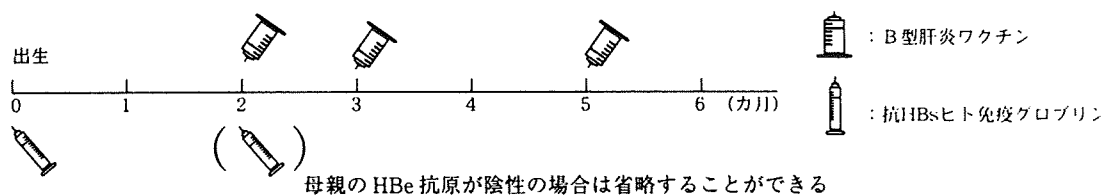


## ②母子感染予防スケジュール（HBs抗原陽性の母親から生まれた小児に対する接種）

通常、0.25mLを1回、生後2～3カ月に皮下に接種します。さらに、0.25mLずつを初回接種の1カ月後及び3カ月後の2回、同様の用法で接種します。（健康保険適用あり）

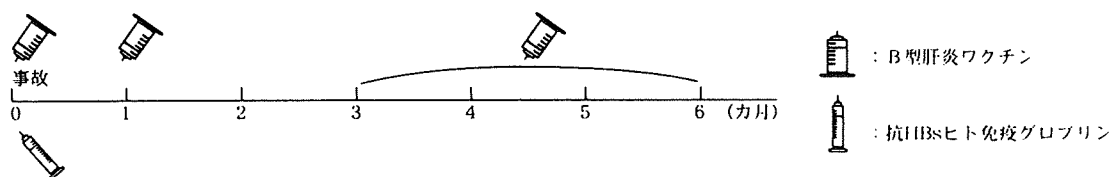
生後6カ月にHBs抗体が獲得されていない場合には、HBs抗原の検査を行い、陰性の場合には必要に応じてさらに追加接種します。なお、生後1カ月の時点でHBs抗原が陽性であった場合は以後の処置は行いません。



## ③汚染事故時の感染予防スケジュール

通常、0.5mLを1回、事故発生後7日以内に皮下または筋肉内に接種します。さらに、0.5mLずつを初回接種の1カ月後及び3～6カ月後の2回、同様の用法で接種します。なお、10歳未満の者には、0.25mLずつを同様の投与間隔で皮下に接種します。（労災保険、健康保険適用あり）

HBs抗体が獲得されていない場合にはさらに追加接種します。



Q1

通常3回が基本となっていますが、2回の接種で抗体が陽性になった場合、3回目は省略してもいいですか。

A

はじめてB型肝炎ワクチンを接種される場合は通常2回の接種では、抗体の上がり方が3回に比べて十分とはいえず、抗体の持続が望めません。3回目の接種によるブースター効果で抗体が急激に上昇しますので、医療関係者、海外長期滞在者等、長期にわたって抗体を持続させる必要のある方には是非とも3回の接種を勧めてください。

Q2

3回接種しても免疫応答が悪い人への対応を教えてください。

A

3回接種しても抗体ができない（免疫反応不応答者：non responder）の頻度は母子感染の場合は約4%、成人の場合は約10%とされています。何回まで追加接種すればいいという目安はありませんが、中には何回接種しても抗体陽転にならない人がいます。そのような場合は、それ以上のワクチン接種はせず、B型肝炎ウイルス曝露時には、HBIG（抗HBsヒト免疫グロブリン）で対応することになります。また、異なるメーカーのワクチンを用いることで免疫が獲得される場合もあるとされています。

Q3

3回接種後どのくらい経過したら追加接種が必要ですか。

A

3回の接種でHBs抗体ができて一生涯続くことはありません。血液を扱う医療関係者など感染のリスクが高い場合には、定期的に抗体検査を行って抗体の維持に努めた方がよいと考えられます。抗体陰性になった場合は、すみやかに1回追加接種することでブースター効果により抗体が上昇しますので、数年間免疫が維持されます。

Q4

汚染事故が起きた場合の対応の手順を教えてください。

A

HBs抗原陽性でかつHBe抗原陽性の血液で汚染を受けた場合、汚染された部分を流水でよく洗い流した後に、なるべく早く下表に従ってHBIG（抗HBsヒト免疫グロブリン）とワクチンの接種を行うことが必要です。業務上は労災保険、業務外は健康保険等が適用となります。

なお、適用はこれまで汚染源がHBs抗原陽性でかつHBe抗原陽性の血液とされてきましたが、平成16年（2004）4月から、HBe抗原が陰性であってもHBs抗原が陽性であれば労災保険を適用する旨の通知が出されました（平成16年3月30日付基労補発第0330001号厚生労働省労働基準局労災補償部補償課長通知）。ただし、健康保険の適用は汚染源がHBs抗原陽性でかつHBe抗原陽性の血液に限られます。また、HBワクチン接種既往者が汚染事故を受けた場合には、米国のACIP（予防接種諮問委員会）からの勧告が参考になります。

## 汚染事故後の対応

汚染血 汚染事故を受けた者	HBs抗原 (+)	
	HBe抗原 (+)	HBe抗原 (-)
・HBワクチン未接種者 (HBs抗体-)	HBIG 5~10mL (成人), 小児では0.16~0.24mL/kg筋注 HBワクチン 0.5mL (0, 1, 3~6カ月)	HBIG 5~10mL (成人), 小児では0.16~0.24mL/kg

## 米国ACIPの勧告

汚染血 汚染事故を受けた者	HBs抗原 (+)	HBs抗原不明
・HBワクチン既接種者 抗体陽転歴あり	まず抗体検査 抗体あり→処置不要 抗体なし→ワクチン1回追加	処置不要
・HBワクチン既接種者 抗体陽転歴なし	HBIG 2回又は HBIG 1回とワクチン1回	ハイリスクの血液であれば 抗原+の処置に準ずる
・HBワクチン既接種者	まず抗体検査	まず抗体検査

※抗体あり=PHA法で抗体陽性、国際単位10mIU/mL以上

Q5

授乳中の母親にHBワクチン接種してもよいでしょうか。

A

母乳中にワクチンの成分が分泌されてもごく微量であり乳児に与える影響はないと考えられます。また母体にできた抗体が母乳中に移行することも考えられますが、乳児に対する効果は期待できません。授乳中の母親がHBワクチンを受けても乳児に問題があるとは考えられません。

Q6

妊婦へ接種してもよいでしょうか。

A

妊婦に対する安全性は確立していませんので、妊婦や妊娠している可能性のある人には接種しないのが原則ですが、妊婦であっても特別に感染のリスクが高い人は接種可能と考えられます。妊娠している女性が妊娠末期に罹患すれば、胎児への垂直感染も考えられるからです。このワクチンは不活化ワクチンですので、胎児への感染あるいは催奇形性はありませんが、自然流産が一定の頻度で認められる妊娠初期は、リスクを避ける意味でワクチン接種は避けた方がよいでしょう。

# 新潟県内におけるB型肝炎母子感染防止対策の実際

新潟大学医学部産科婦人科学教室

芹川 武大・田中 憲一

## 概要

B型肝炎感染防止対策の実態を把握するため、新潟県において分娩取り扱い全55施設(診療所27, 病院28)に対し、平成16年から18年までの3年間における分娩数やHBs抗原陽性妊婦数等についてのアンケート調査を実施した。アンケートは100%の回収率を得た。3年間における全分娩数は延べ58,025であり、うちHBs抗原陽性妊婦は延べ190人と、全体の約0.3%であった。また、HBs抗原陽性妊婦のうち43人(23%)がHBe抗原陽性であった。自施設内で実施されているHBs抗原検査方法は、ほとんどが検出感度の高いEIA (Enzyme Immuno Assay) / CLIA (Chemiluminescent Immuno Assay) / CLEIA (Chemiluminescent Enzyme Immuno Assay) 法が採用されていた。HBs抗原陽性妊婦より出生した児に対しては、病院では直ちに自院小児科に対し、免疫グロブリン及びHBワクチン投与を依頼していた。一方、診療所では免疫グロブリンを自施設で投与していたが、1ヶ月健診以降は自施設でワクチン投与をする施設は少なく、2ヶ月目の免疫グロブリン及びHBワクチン、3ヶ月及び5ヶ月目でのHBワクチン投与は自施設以外の小児科に引き継がれていることがわかった。以上より、B型肝炎の母子感染予防のためには、産科から小児科への確実な連携が重要であることが示唆された。

## 緒言

我が国におけるB型肝炎ウイルス(HBV)のキャリアは約150万人いると推定され、全人口の約1-2%に相当し、B型肝炎は国民病とも呼ばれている<sup>1)</sup>。B型肝炎の主な感染経路の1つに分娩時における母子感染があげられるが、1986年から開始されたB型肝炎母子感染防止事業により、児のキャリア化は大幅に減少した。米国のようなuniversal vaccinationが行われていない我が国において、全妊婦を対象としたHBs抗原検査によるハイリスク集団の検出は、それに引き続く新規キャリアの発生を抑制することに、大きく寄与してきた。しかしながら、完全に抑制されておらず、その一例として、不完全な予防処置によって感染した事例や、一方で正しくHBワクチンが投与されていたにもかかわらず、HBVキャリアとなってしまった、いわゆるescape mutant例も報告されている<sup>2)</sup>。また、現在母体のスクリーニングや児への免疫グロブリン及び

ワクチン投与は行われているが、1995年からは健康保険給付に移管された<sup>3)</sup> ことにより、それまで各地方自治体により把握された同事業実施状況が、その後の児の抗体獲得に関する情報などの追跡が十分に実施されていないのが現状である。

そこで、母子感染防止対策の現状を明らかにし、その後の児の抗体獲得率等を調査し、より適切な免疫的治療法の確立が必要であると考えられる。今回の検討では、まず産科領域でのB型肝炎母子感染防止対策の実際を明らかにすることを目的とし、新潟県内における分娩取り扱い全施設に対し、B型肝炎母子感染防止対策の実際についてアンケート調査を行い解析した。

## 研究方法

平成19年7月における、当院を含む新潟県内分娩取り扱い全55施設(27診療所, 28病院)に対し、以下の項目等について平成16年から18年までの3年間における分娩に関してアンケート調査を実施した。アンケート内容の概要は、①HBVキャリア妊婦の実数及び全妊婦における割合、②予防的治療の実際、③児への治療の実際、④産科施設でのフォロー期間、などである。

## 結果

### (1) アンケート回収率

分娩取り扱い全55施設すべてから有効回答を得た(回収率100%)。これらの施設における分娩数は平成16年19,265件、同17年18,781件、同18年19,979件と大きな変動はなかった。また病院と診療所に分娩件数はほぼ同数であった(図1)。

### (2) 妊娠中のHBs抗原検査時期

55施設全てにおいて、HBs抗原検査が行われてお

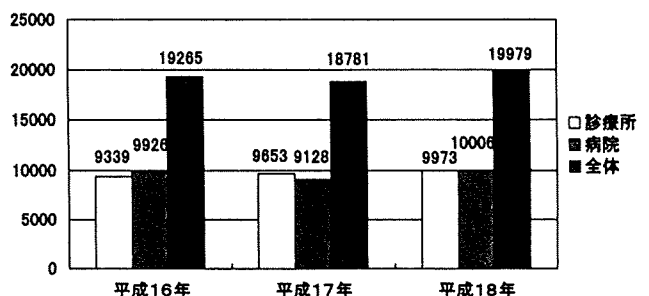


図1 3年間における分娩数

り、初診時3施設 (5.5%)、分娩予定日決定時 (妊娠8-12週頃) は50施設 (90.9%)、妊娠中期以降が2施設 (3.6%) であり、約9割の施設において、分娩予定日決定時 (妊娠8-12週頃) に検査が実施されていた (図2)。

### (3) HBs 抗原検査

病院では25施設 (89.3%) の施設において自施設内でHBs 抗原検査が実施されていたが、診療所では27全施設が外注検査であった (図3)。検査方法は、自施設で行っている病院では、イムノクロマト法が用いられていた1施設を除いた他は全て高感度測定法 (EIA/CLIA/CLEIA 法) であった (図4)。全妊婦におけるHBs 抗原陽性妊婦の割合は、平成16年72人 (0.37%)、同17年58人 (0.31%)、同18年60人 (0.30%) と概ね0.3%であり、従来言われている1-2%<sup>1)</sup> より遥かに低かった。また、病院と診療所では、診療所の方が割合は低かった (図5)。

### (4) HBe 抗原検査

診療所では、HBs 抗原同様全施設が外注検査であった。病院でも4施設 (14.3%) のみが自施設で検査が実施されていた (図6)。なお診療所のうち3施設は、母体がHBs 抗原陽性判明時に他の高次医療機関へ紹介していたため、HBe 抗原検査は実施されていなかった。

HBs 抗原陽性妊婦における HBe 抗原陽性妊婦の割

合は、平成16年17人 (23.6%)、同17年15人 (25.9%)、同18年11人 (18.3%) と約20%であった (図7)。

### (5) 新生児に対する治療

診療所では、20施設 (83.3%) の施設が自施設において免疫グロブリンを出生直後に投与していた。一方病院では、18施設 (64.2%) において自施設の小児科に免疫グロブリンの投与を依頼していた。また診療所では、2ヶ月、3ヶ月及び5ヶ月と引続きワクチン投与をしていた施設が4施設 (16.7%) あったが、病院では皆無であった (図8)。

小児科への引き継ぎ方法として、妊娠初期に他院へ紹介する3施設を除いた52施設中38施設 (73.0%) で、診療情報提供書 (紹介状) による引き継ぎが行われていたが、一部「母子手帳への記載」のみや「特になし」といった回答もあった (図9)。

## 考 察

現在、我が国における1年間の出生数は大凡100万人であり、新潟県内での総分娩数が約2万人 (図1) であることから、新潟県単独においては総分娩数の約50分の1を占めていた。

母体におけるHBs 抗原の検査時期は、妊娠8-12週頃といった予定日決定時に多かった (図2)。B型肝炎母子感染防止事業は、母子保健法第13条に規定する「妊産婦及び乳幼児に対する健康診査」に基づいて実施されており、母親が妊娠届を地方自治体に提出するこ

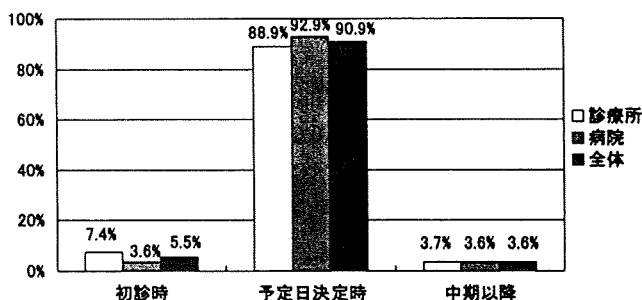


図2 HBs 抗原の検査時期

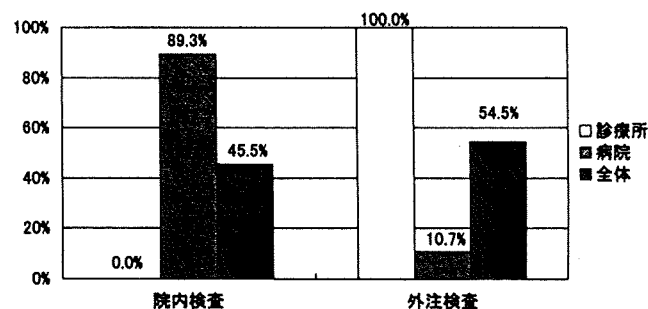


図3 HBs 抗原検査

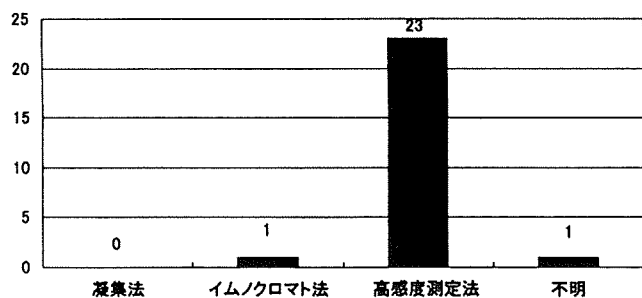


図4 HBs 抗原検査方法

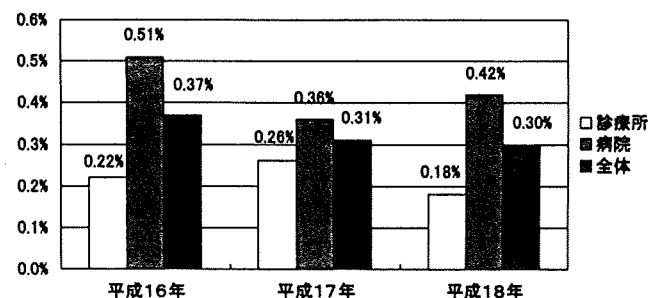


図5 HBs 抗原陽性妊婦

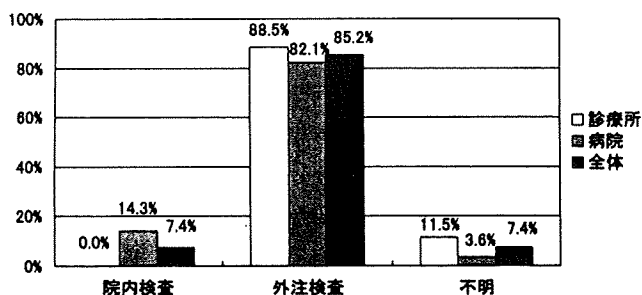


図6 HBe抗原検査

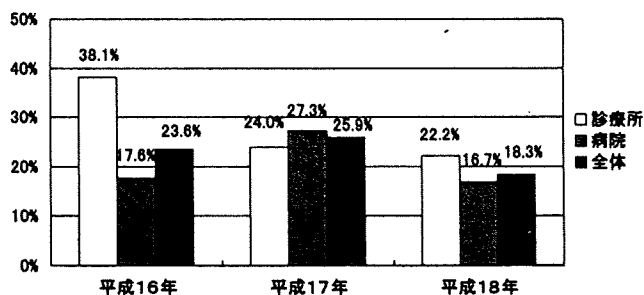


図7 HBe抗原陽性妊婦

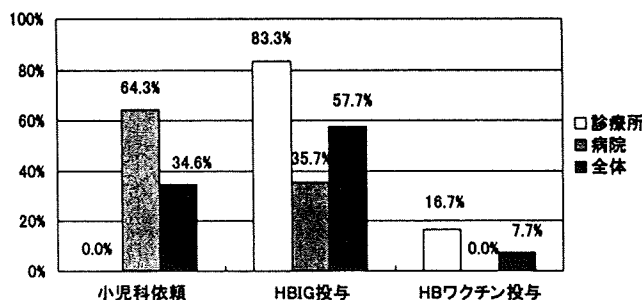


図8 新生児治療

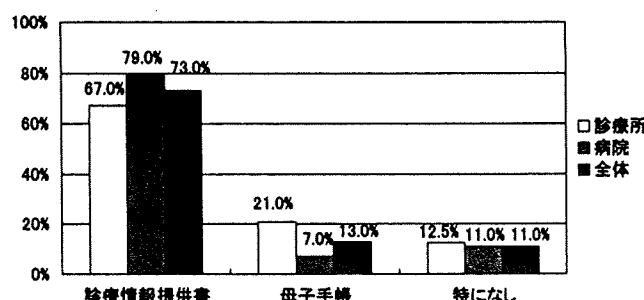


図9 小児科への引き継ぎ方法

とにより「HBs抗原検査受診票(市町村によっては妊婦一般健康診査受診票と一体)」が発行され、地方交付税を財源として受託医療機関において無料(公費)で検査を受けることができる<sup>4)</sup>ことから、予定日を確定し、妊娠届を提出する時期に検査をする施設が多いものと思われた。

HBs抗原検査は、病院では89.3%の施設が自施設で検査を行っていた(図3)。病院は消化器(肝臓)内科を有し、院内において十分数の検体が集まることによると思われた。一方、診療所では全施設外注検査であったのは、採算に見合う十分な検体数が確保できないことによるものと思われた。HBs抗原の検出方法については、全国的には「凝集法」「イムノクロマト法」「EIA/CLIA/CLEIA法」がそれぞれ約10%、40%、50%とみられている<sup>5)</sup>が新潟県内では感度の高い「EIA/CLIA/CLEIA法」がほとんどの病院で採用されており(図4)、HBs抗原偽陰性症例は少ないものと考えられた。

現在、HBVキャリアは全人口の約1-2%と言われている。今から約10年前に宮城県で調査された妊婦のHBs抗原陽性キャリア妊婦は0.97%であった<sup>5)</sup>が、本調査では新潟県における妊婦のHBs抗原陽性率は約0.3%であった(図5)。これは、母子感染防止対策事業が始まって22年が経過するが、若年妊婦など本事業により母子感染によるキャリア化を免れた妊婦も多数いるものと考えられた。また病院と診療所において、HBs抗原陽性率に差が認められたが、病院では高

齢や合併症を有する等ハイリスク妊婦を取り扱うことが多く、一方診療所には比較的若い妊婦が集まることが反映されているものと思われた。

HBe抗原検査については、病院においても14.3%しか自施設で検査を行っておらず、他は外注検査であった(図6)。これは、病院においてもHBs抗原検査と比較して検体数が少ないことによるものと思われた。またHBs抗原陽性者におけるHBe抗原陽性の割合については、本調査では平成16年23.6%、同17年25.9%、同18年18.3%であった(図7)が、前掲の論文でも21.4%と報告されており<sup>5)</sup>、HBe陽性率の割合は変わらなかった。

母親がHBVキャリアであった場合、分娩後児のキャリア化防止策が必要となってくるが、産科独自に行っている施設と小児科に依頼している施設とに二分された。病院では自施設内に小児科が併設されていることが多く、出生48時間後の免疫グロブリン投与を小児科に依頼する施設が多かった。診療所では1ヶ月健診まで自施設において母児ともにフォローすることが多いことから、免疫グロブリン投与までは自施設で実施している施設が多かった。しかしながら、母子感染予防対策が終了する5ヶ月目のワクチン投与まで行っている施設は16.7%と少なかった(図8)。一方で、小児科へ100%確実に情報提供がなされていないことも明らかになった(図9)。今後は、適切な小児科への確実な児への治療の引き継ぎが重要であり、何らかのシステム構築が必要と考えられた。

## 総括

産科におけるHBV母子感染防止対策の現状を、本アンケート調査により把握することができた。今後は、新潟大学小児科学教室の協力を得ながら、新潟県内の小児科施設にも同様のアンケート調査を実施し、更に感染予防の実態把握を進め、より適切な免疫的治療法の確立を目指していきたい。

## 謝辞

ご多忙の中、本アンケート調査研究にご協力いただきました、日本産科婦人科学会新潟地方部会の会員の諸先生方に深く感謝いたします。

また本研究は厚生労働省科学研究補助金(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(班長:水落利明)」の分担研究「HBワクチン効果に関する臨床的検討」

により実施されたものである。

## 文献

- 1) 水落利明: B型肝炎ウイルス感染の血清学的診断法—HBs抗原検査薬。病原微生物検出情報, 27: 221-222, 2006.
- 2) 森島恒雄: B型肝炎母子感染例におけるHBs抗原領域の分子生物学的検討。平成14年度厚生労働科学研究(子ども家庭総合研究事業), 530-532, 2002
- 3) 厚生省保険局医療課長通知: B型肝炎母子感染防止に係る保険診療上の取扱について。保険発第56号, 平成7年3月31日.
- 4) 厚生省児童家庭局長通知: 乳幼児に対する健康診査の実施について。児発第285号, 平成10年4月8日.
- 5) 谷川原真吾: B型肝炎ウイルス—母子感染としてのHBV—。産婦実際, 52: 885-893, 2003.

# 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

Ayako Tabuchi,<sup>1</sup> Junko Tanaka,<sup>1\*</sup> Keiko Katayama,<sup>1</sup> Masaaki Mizui,<sup>2</sup> Harumichi Matsukura,<sup>3</sup> Hisao Yugi,<sup>4</sup> Takashi Shimada,<sup>5</sup> Yuzo Miyakawa,<sup>6</sup> and Hiroshi Yoshizawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Epidemiology, Infectious Disease Control and Prevention, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Hiroshima, Japan

<sup>2</sup>Japanese Red Cross Hiroshima Blood Center, Hiroshima, Japan

<sup>3</sup>Japanese Red Cross Osaka Blood Center, Osaka, Japan

<sup>4</sup>Division of NAT, Japanese Red Cross Association, Tokyo, Japan

<sup>5</sup>Phoenix Bio Co., Ltd, Hiroshima, Japan

<sup>6</sup>Miyakawa Memorial Research Foundation, Tokyo, Japan

Studies of hepatitis B virus (HBV) infection in non-human primates such as chimpanzees are no longer possible due to ethical considerations and the endangered status of chimpanzees since April 2007 in Japan. A human hepatocyte transplanted chimeric mouse was used to characterize HBV infectivity in serial stages of acute infection. Chimeric mice were inoculated intravenously with serum samples obtained from an experimentally infected chimpanzee with HBV. Sera from the pre-acute phases (i.e., rump-up viremia prior to anti-HBc) and late acute phases (i.e., declining phase of HBsAg and anti-HBcAb positive) were collected from the chimpanzees 57 and 244 days after inoculation. These sera contained  $2.6 \times 10^6$  and  $2.8 \times 10^6$  copies/ml of HBV DNA, respectively. Three chimeric mice inoculated intravenously with 100  $\mu$ l of pre-acute serum (equivalent to  $10^0$  copy of HBV DNA) developed an HBV infection. The three chimeric mice that received 100  $\mu$ l of pre-acute serum (equivalent to  $10^1$  copies of HBV DNA), developed high levels of serum HBV DNA. None of the three chimeric mice inoculated with 100  $\mu$ l of  $1:10^4$  dilution (equivalent to  $10^1$  copies of HBV DNA) of late-acute serum was infected, while only one of three chimeric mice inoculated with 100  $\mu$ l of  $1:10^3$  dilution (equivalent to  $10^2$  copies of HBV DNA) of late-acute serum developed an HBV infection. Based on these results, chimeric mice can be used as animal models for the study of HBV infectivity, pathogenesis and control. The results show that pre-acute phase HBV serum is about 100-times more infectious than late acute

phase serum. *J. Med. Virol.* 80:2064–2068, 2008. © 2008 Wiley-Liss, Inc.

**KEY WORDS:** hepatitis B virus (HBV); acute HBV infection; HBV serum markers; HBV DNA; chimeric mice; minimum infectious HBV dose; experimental transmission of HBV

## INTRODUCTION

In the past, non-human primates such as chimpanzees, have been utilized successfully as human surrogates for the experimental transmission of human hepatitis viruses [Rizzetto et al., 1981; Dienstag, 1983; Prince and Brotman, 2001; Murray et al., 2005]. At present, however, the use of chimpanzees in such experiments is prohibited in Japan since April 2007 and many other countries. As an alternative animal model mice with severe combined immunodeficiency disease (SCID) transgenic for the urokinase-type plasminogen activator gene under the control of albumin

Grant sponsor: Health and Labour Sciences Research Grants of the Japanese Ministry of Health, Labour, and Welfare in Japan.

\*Correspondence to: Junko Tanaka, PhD, Department of Epidemiology, Infectious Disease Control and Prevention, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Kasumi 1-2-3, Minami-Ku, Hiroshima 734-8551, Japan.  
E-mail: eidep@hiroshima-u.ac.jp

Accepted 10 July 2008

DOI 10.1002/jmv.21320

Published online in Wiley InterScience  
(www.interscience.wiley.com)



promotor (uPA/SCID mice) can be transplanted with human hepatocytes [Heckel et al., 1990; Rhim et al., 1994; Tateno et al., 2004] and utilized for studies of viral transmission, replication and pathogenesis of human hepatitis in vivo [Dandri et al., 2001; Mercer et al., 2001; Meuleman et al., 2005; Tsuge et al., 2005; Sugiyama et al., 2007].

An understanding of the minimal infectious dose of hepatitis B virus (HBV) required for parenteral transmission from blood collected from donors in progressive stages of HBV infection is important for assessing the safety of transfusions and guiding decisions on implementation of nucleic acid amplification tests to interdict infectious units [Yugi et al., 2006; Komiya et al., 2008]. Such studies would also be useful to understand mechanisms of viral–host interactions controlling replication and disease pathogenesis. The present study using these chimeric mice offers a rare opportunity in determining the minimal infectious dose for human hepatitis viruses without resorting to the use of chimpanzees. This study shows that chimeric mice can be used as models in the study of the pathogenesis and control of HBV infection and in determining the infectious status of implicated human sera in the transmission of an HBV infection.

## MATERIALS AND METHODS

### Sera in Pre-Acute and Late Acute Phases of HBV Infection

A chimpanzee (13 years old, male, 60.7 kg) designated as chimp-246, was injected intravenously with 1 ml of fresh frozen plasma obtained from a blood donor in the pre-acute phase of HBV infection [Komiya et al., 2008]. The donor was identified by a nucleic acid amplification test (NAT) for HBV DNA at a Japanese Red Cross Blood Center. The plasma contained  $6.9 \times 10^4$  copies/ml of HBV DNA, genotype A, and was reactive for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and negative for antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBc). Chimpanzee serum samples were collected serially and immediately aliquoted in 1 ml volume, snap-frozen in liquid nitrogen and stored immediately at  $-80^\circ\text{C}$  for future studies. Individual tubes were thawed gently by immersing in a  $37^\circ\text{C}$  water bath before inoculation of chimeric mice. Experiments using chimpanzees were done before 2006 and ethical approval for each experiment was obtained and applied according to the available facilities.

### Inoculation of Chimeric Mice With the Liver Repopulated for Human Hepatocytes

The human hepatocytes were transplanted into the urokinase-type plasminogen activator transgenic SCID mice (uPA<sup>+/+</sup>/SCID<sup>+/+</sup> mice) and these chimeric mice using the same human hepatocytes lot; Chimeric mice's lot was BD 61.

These chimeric mice (ChiM); lot BD61 were purchased from Phoenix Bio Co., Ltd. (Hiroshima, Japan). The chimeric mice were kept in a clean room and supplied

with sterilized laboratory chaw and water. They were inoculated with 100  $\mu\text{l}$  of diluted chimpanzee sera containing known copy numbers of HBV DNA via the tail vein. Blood samples were taken from orbital venous plexus of the chimeric mice, and sera were separated.

## LABORATORY TESTS

HBsAg, antibody to HBsAg (anti-HBs) and antibody to core antigen (anti-HBc) were determined by micro-particle enzyme immunoassay (MEIA) with AxSYM<sup>®</sup> kits (Abbott Japan, Co., Ltd, Tokyo, Japan) according to the manufactures instructions. The results were expressed in S/N ratio for HBsAg, mIU/ml for anti-HBs and per cent inhibition for anti-HBc. HBV DNA in serum samples was quantitated by TaqMan PCR (Roche Diagnostics KK, Tokyo, Japan) with an established sensitivity of  $10^2$  HBV DNA copies/ml. Human serum albumin in the sera of chimeric mice was determined by the latex turbidimetric immunoassay (Eiken Chemical Co., Ltd, Tokyo, Japan).

## RESULTS

### Chronology of HBV Markers After Experimental HBV Infection in Chimpanzee-246

In chimpanzee-246, infected experimentally with HBV, four HBV makers were shown to appear sequentially during the course of disease. These markers appeared in the following sequential order: HBV DNA, HBsAg, anti-HBc and anti-HBs. The titers and time course of these markers are shown graphically in Figure 1. HBV DNA became detectable at 17 days after inoculation and increased exponentially to  $10^9$  copies/ml until day 83 and then started to decrease at day 118, although it stayed detectable until 335 days after inoculation. HBsAg became detectable 35 days after inoculation and increased to an S/N ratio of greater than 400 until day 71 followed by a gradual decrease and became undetectable 286 days after inoculation. Anti-HBc appeared 79 days after inoculation and increased sharply to high levels until 441 days after inoculation. Anti-HBs appeared 441 days after inoculation at a level 18.1 mIU/ml. Elevated ALT levels were observed at day 97 and remained elevated until 307 days after inoculation. A window of approximately 61 days was observed between the loss of HBsAg and the emergence of anti-HBs. The only markers of any previous HBV infection in this window period were HBV DNA and anti-HBs.

### Dilution of Sera From Chimp-246 in Pre-Acute and Late Acute Phases of Infection

Chimeric mice were inoculated intravenously with 100  $\mu\text{l}$  of serially diluted sera in the pre-acute phase (day 57) and late acute phase (day 244) of the acute HBV infection. Six chimeric mice each were inoculated with dilutions of sera in pre-acute and late acute phases of resolving HBV infection. Their sex, body weight and rate index of human hepatocytes repopulation that was

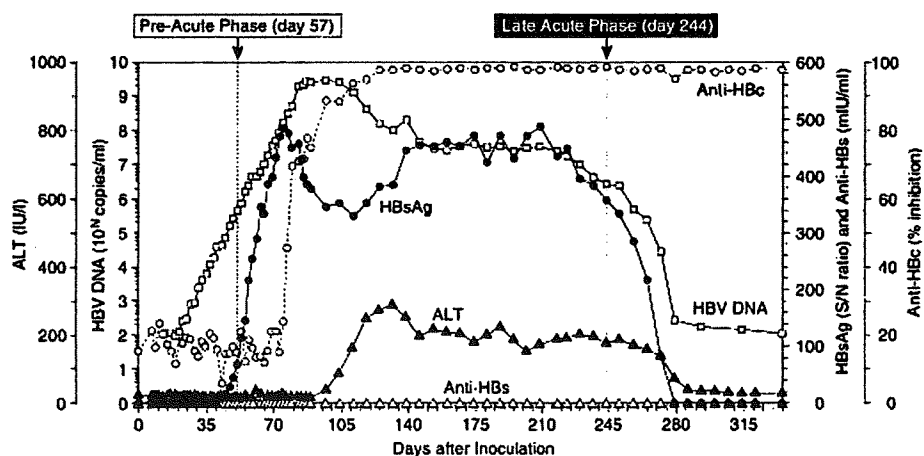


Fig. 1. Markers of HBV infection and transaminase levels of a chimpanzee (chimp-246) inoculated with fresh frozen plasma (FFP) from a donor in the pre-acute phase of infection with HBV of genotype A. Sera from chimp-246 obtained at pre-acute (day 57) and late acute phase (day 244) phases were titrated for HBV DNA, and infectious activity of them were determined in chimeric mice with the liver repopulated for human hepatocytes.

estimated by serum levels of human albumin, are shown in Table I.

Sera of chimp-246 collected either at day 57 in the pre-acute phase when HBV DNA was on the exponential rise or in a late acute phase at day 244 were serially diluted tenfold in pooled SCID mouse sera, and quantitated for HBV DNA by TaqMan PCR (Table II). HBV DNA (26–46 copies/ml) were estimated to be contained in  $1:10^6$  dilutions of serum in the pre-acute phase (day 57), and 20–35 copies/ml of HBV DNA in  $1:10^5$  dilutions of serum in a late acute phase (day 244). Every tenfold dilution of sera was aliquoted into tubes, snap frozen in liquid nitrogen and kept frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until used for inoculation into chimeric mice.

#### Infectious Activity of Serum in the Pre-Acute Phase of HBV Infection

Three chimeric mice (ChiM-1,-2,-3) were inoculated with  $100\ \mu\text{l}$  of  $1:10^5$  dilution inocula of pre-acute phase

taken 57 days after inoculation from chimp-246, containing approximately a  $10^0$  (min–max: 2.6–4.6) copy of HBV DNA. HBV DNA was detected in their serum 4 weeks after the inoculation (Fig. 2A). Similarly in the sera of three chimeric mice (ChiM-5,-6,-7) that were inoculated with  $100\ \mu\text{l}$  of  $1:10^4$  dilution of sera containing approximately  $10^1$  (min–max: 26–46) copies of HBV DNA, HBV DNA was detected (Fig. 2B).

#### Infectious Activity of Serum in a Late Acute Phase of HBV Infection

None of the three chimeric mice inoculated with  $100\ \mu\text{l}$  of a  $1:10^4$  dilution, containing approximately  $10^1$  (20–35) copies of HBV DNA, developed HBV DNA in serum (Fig. 3A). In contrast, one (ChiM-10) of the three chimeric mice inoculated with  $100\ \mu\text{l}$  of a  $1:10^3$  dilution, containing approximately  $10^2$  (200–350) copies of HBV DNA, exhibited HBV DNA in serum (Fig. 3B). Hence, the dose of HBV in serum in a late acute phase, required

TABLE I. Chimeric Mice Used for Experimental HBV Infection

Mouse no.	Sex	Body weight (g)	Human hepatocyte lot. no.	Serum level of human-albumin (mg/ml)	Rate of hepatocyte repopulation (%)
Mice inoculated with pre-acute serum of chimp 246 (57 days after inoculation)					
1	Female	15.3	BD61	13.0	86.0
2	Female	15.8	BD61	9.4	78.1
3	Male	16.6	BD61	6.9	70.7
4	Female	16.0	BD61	10.0	79.6
5	Female	15.5	BD61	7.5	72.7
6	Male	17.0	BD61	9.1	77.4
Mice inoculated with late-acute serum of chimp 246 (244 days after inoculation)					
7	Female	14.0	BD61	6.7	70.0
8	Male	15.2	BD61	5.3	64.3
9	Male	14.1	BD61	6.6	69.6
10	Male	15.8	BD61	6.5	69.2
11	Male	15.6	BD61	5.5	65.2
12	Male	16.8	BD61	5.7	66.1

TABLE II. Titration of HBV DNA in Sera From Chimpanzee Serially Diluted in Mouse Sera

	Dilution of chimpanzee serum					
	Original	1:10 <sup>1</sup>	1:10 <sup>2</sup>	1:10 <sup>3</sup>	1:10 <sup>4</sup>	1:10 <sup>5</sup>
Serum of chimp-246 in pre-acute phase (57 days after inoculation)						
HBV DNA (copies/ml)	2.6 × 10 <sup>6</sup>	NT	4.6 × 10 <sup>4</sup>	2.7 × 10 <sup>3</sup>	3.4 × 10 <sup>2</sup>	NT
Serum of chimp-246 in late acute phase (244 days after inoculation)						
HBV DNA (copies/ml)	2.8 × 10 <sup>6</sup>	3.5 × 10 <sup>5</sup>	2.6 × 10 <sup>4</sup>	2.7 × 10 <sup>3</sup>	2.0 × 10 <sup>2</sup>	NT

NT, not tested.

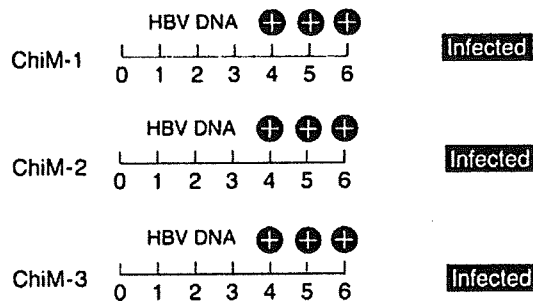
for transmitting infection to one third of chimeric mice, was estimated to be 10<sup>2</sup> (200–350) copies. This is about 100 times higher than serum in pre-acute phase at a single (2.6–4.6) copy.

DISCUSSION

A chimpanzee (chimp-246) was infected experimentally with HBV genotype A obtained from a blood donor during the early acute phase of infection [Komiya et al., 2008]. The patterns of appearance, disappearance, and persistence of hepatitis B markers in this chimpanzee

with acute resolving HBV infection were basically similar to experiments carried out previously [Ling et al., 1979]. Sera were collected from chimp-246 during the pre-acute phase (57 days after inoculation) before the appearance of anti-HBc in circulation, and also during the late acute phase (244 days) when both serum HBV DNA and HBsAg started to decline. A marked difference was observed in HBV infectivity of the two sera in vivo, based on the determination of serum HBV DNA concentration. All the three chimeric mice that were inoculated with pre-acute phase chimpanzee serum containing 2.4–4.6 copies of HBV DNA were infected

A 10<sup>1</sup> copies/ml × 100μl : equivalent to 10<sup>6</sup> copy



B 10<sup>2</sup> copies/ml × 100μl : equivalent to 10<sup>1</sup> copies

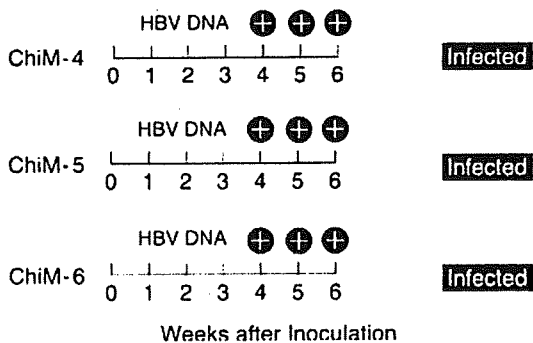
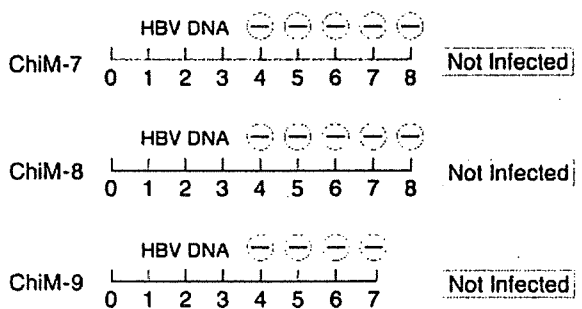


Fig. 2. Courses of six chimeric mice inoculated with serum from chimp-246 in the pre-acute phase 57 days after the inoculation. Three each mice were inoculated with 10<sup>0</sup> copy (A) and 10<sup>1</sup> copies (B) of HBV DNA.

A 10<sup>2</sup> copies/ml × 100μl : equivalent to 10<sup>1</sup> copies



B 10<sup>3</sup> copies/ml × 100μl : equivalent to 10<sup>2</sup> copies

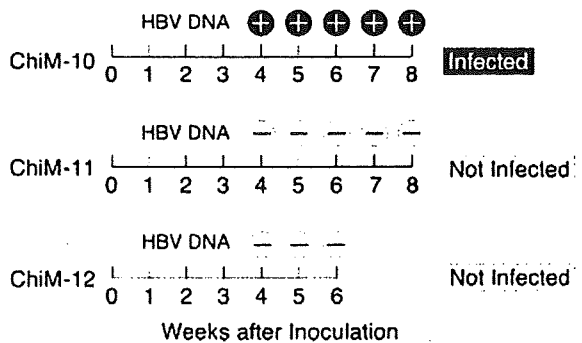


Fig. 3. Courses of six chimeric mice inoculated with serum from chimp-246 in the late acute phase 244 days after the inoculation. Three each mice were inoculated with 10<sup>1</sup> copies (A) and 10<sup>2</sup> copies (B) of HBV DNA.

with HBV (Fig. 2). In contrast, only one chimeric mouse out of three developed an HBV infection upon inoculation with late acute phase serum containing 200–350 copies of HBV DNA (Fig. 3A). Based on these limited studies with the absence of a human immune system precludes study of the impact of the innate and adaptive immune responses on viral replication and pathogenesis, the minimum infectious dose of a pre-acute and late acute HBV serum that is required for HBV transmission to chimeric mice with livers repopulated with human hepatocytes is about  $10^0$  and  $10^2$  copies, respectively. This difference may be an indirect indication of higher replication rate of HBV in pre-acute HBV sera. It is also reasonable to assume that the lower potency of HBV in late acute sera may be due to the formation of immune complexes of HBsAg and anti-HBs, 244 days after inoculation. These complexes as expected would be less infectious in chimeric mice than the free (uncomplexed) HBV in pre-acute sera as already has been demonstrated previously [Prince et al., 2001].

Non-human primates such as chimpanzees, have been used for many years to study the natural history, pathogenesis and treatment of several human hepatitis viruses. Substantial progress has been made in the last four decades in understanding the molecular virology, immune pathogenesis, diagnosis and treatment of various forms of hepatitis by the use of chimpanzees for such purposes. However, due to the scarcity of these animals and ethical considerations, the use of chimpanzees in such studies is prohibited in Japan and many other countries. Instead, chimeric mice, with severe combined immunodeficiency disease (SCID) transgenic for urokinase-type plasminogen activator gene under the control of albumin promoter (uPA/SCID mice) can be transplanted with human hepatocytes and used successfully for such studies. In this study, chimeric mice are as practical and chimpanzees for estimating the minimum infectious dose of HBV with a sensitivity 10-times higher than in chimpanzees. Furthermore, chimeric mice have already been used instead of chimpanzees for transmission experiments not only with HBV [Dandri et al., 2001; Meuleman et al., 2005; Tsuge et al., 2005; Sugiyama et al., 2007], but also for HCV transmission [Mercer et al., 2001; Meuleman et al., 2005].

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank Mr. Maruyama and Mr. Yokomichi of Experimental Laboratory, Phoenix Bio Co., Ltd for their excellent technical assistance in inoculating and taking blood samples from chimeric mice. We also thank Dr. Isa K. Mushahwar for his kind assistance in the preparation of the manuscript for publication. This work was

conducted under the viral hepatitis research group and supported by Health and Labour Sciences Research Grants of the Ministry of Health, Labour, and Welfare in Japan.

#### REFERENCES

- Dandri M, Burda MR, Torok E, Pollok JM, Iwanska A, Sommer G, Rogiers X, Rogler CE, Gupta S, Will H, Greten H, Petersen J. 2001. Repopulation of mouse liver with human hepatocytes and in vivo infection with hepatitis B virus. *Hepatology* 33:981–988.
- Dienstag JL. 1983. Non-A, non-B hepatitis. II. Experimental transmission, putative virus agents and markers, and prevention. *Gastroenterology* 85:743–768.
- Heckel JL, Sandgren EP, Degen JL, Palmiter RD, Brinster RL. 1990. Neonatal bleeding in transgenic mice expressing urokinase-type plasminogen activator. *Cell* 62:447–456.
- Komiya Y, Katayama K, Yugi H, Mizui M, Matsukura H, Tomoguri T, Miyakawa Y, Tabuchi A, Tanaka J, Yoshizawa H. 2008. Minimum infectious dose of hepatitis B virus in chimpanzees and difference in the dynamics of viremia between genotype A and genotype C. *Transfusion* 48:286–294.
- Ling CM, Mushahwar IK, Overby LR, Berquist KR, Maynard JE. 1979. Hepatitis B e-antigen and its correlation with other serological markers in chimpanzees. *Infect Immun* 24:352–356.
- Mercer DF, Schiller DE, Elliott JF, Douglas DN, Hao C, Rinfret A, Addison WR, Fischer KP, Churchill TA, Lakey JR, Tyrrell DL, Kneteman NM. 2001. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat Med* 7:927–933.
- Meuleman P, Libbrecht L, De Vos R, de Hemptinne B, Gevaert K, Vandekerckhove J, Roskams T, Leroux-Roels G. 2005. Morphological and biochemical characterization of a human liver in a uPA-SCID mouse chimera. *Hepatology* 41:847–856.
- Murray JM, Wieland SF, Purcell RH, Chisari FV. 2005. Dynamics of hepatitis B virus clearance in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:17780–17785.
- Prince AM, Brotman B. 2001. Perspectives on hepatitis B studies with chimpanzees. *Ilar J* 42:85–88.
- Prince AM, Lee DH, Brotman B. 2001. Infectivity of blood from PCR-positive, HBsAg-negative, anti-HBs-positive cases of resolved hepatitis B infection. *Transfusion* 41:329–332.
- Rhim JA, Sandgren EP, Degen JL, Palmiter RD, Brinster RL. 1994. Replacement of diseased mouse liver by hepatic cell transplantation. *Science* 263:1149–1152.
- Rizzetto M, Canese MG, Purcell RH, London WT, Sly LD, Gerin JL. 1981. Experimental HBV and delta infections of chimpanzees: Occurrence and significance of intrahepatic immune complexes of HBcAg and delta antigen. *Hepatology* 1:567–574.
- Sugiyama M, Tanaka Y, Sakamoto T, Maruyama I, Shimada T, Takahashi S, Shirai T, Kato H, Nagao M, Miyakawa Y, Mizokami M. 2007. Early dynamics of hepatitis B virus in chimeric mice carrying human hepatocytes monoinfected or coinfecting with genotype G. *Hepatology* 45:929–937.
- Tateno C, Yoshizane Y, Saito N, Kataoka M, Utoh R, Yamasaki C, Tachibana A, Soeno Y, Asahina K, Hino H, Asahara T, Yokoi T, Furukawa T, Yoshizato K. 2004. Near completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol* 165:901–912.
- Tsuge M, Hiraga N, Takaishi H, Noguchi C, Oga H, Imanura M, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Ochi H, Chayama K, Tateno C, Yoshizato K. 2005. Infection of human hepatocyte chimeric mouse with genetically engineered hepatitis B virus. *Hepatology* 42:1046–1054.
- Yugi H, Mizui M, Tanaka J, Yoshizawa H. 2006. Hepatitis B Virus (HBV) screening strategy to ensure the safety of blood for transfusion through a combination of immunological testing and nucleic acid amplification testing—Japanese experience. *J Clin Virol* S36:S56–S64.

## List of Errata

Journal of Medical Virology 80:2064-2068(2008)

Modified Part	Wrong	Correct
P2066 left line 8	1:10 <sup>6</sup>	1:10 <sup>5</sup>
P2067 Fig.2. A Title	equivalent to 10 <sup>6</sup> copy	equivalent to 10 <sup>0</sup> copy

## HBV感染症のnatural history up to date

菅内文中\* 溝上雅史\*\*

索引用語：HBVキャリア、HBe抗原、遺伝子型、核酸アナログ、肝癌

### 1 はじめに

B型肝炎ウイルス(HBV)の持続感染者は世界中で3億人以上存在し、既感染者は20億人に上るといわれている。HBVキャリアの自然経過は多様で、炎症が早期に終息して肝病態の進展しない例や、肝硬変・肝不全、肝細胞癌に至るものまでさまざまである。この経過の違いについては宿主側、ウイルス側、環境などさまざまな因子との関連が報告されている<sup>1-3)</sup>。最近、核酸アナログの登場により肝炎ウイルスの増殖抑制が可能となり肝硬変・肝不全、肝癌などへの進展を抑制できる可能性がでてきた。HBVキャリアの自然経過を理解することは核酸アナログなどの抗ウイルス療法の適応を決定するうえで重要であると考えられる。

### 2 急性HBV感染の現況と自然経過

現在は母子感染や輸血後肝炎がほぼ制御可能な状況となり、HBVキャリア例は激減し

ている。しかし、成人の水平感染による散発性急性B型肝炎の新規発症例は増加傾向にある。その感染の多くは一過性で、ウイルスは排除され臨床的治癒に至る。特徴的なことは、近年の国際交流の増加と性の多様化により遺伝子型Aによる急性肝炎が急速に都市部から広がりを見せていることである<sup>4)</sup>。HBVの遺伝子型分布には地域差が存在するが、本邦では遺伝子型BとCが大半を占め、遺伝子型Aは本来欧米やフィリピンに広く分布しており、本邦においては極めて稀である(表1)<sup>5-8)</sup>。遺伝子型BやCと比較して慢性化しやすいのが特徴であり、およそ10%程度と報告されている(表1)<sup>4,9)</sup>。したがって慢性化が危惧される症例では核酸アナログの投与が有効と考えられている。

急性肝炎の自然経過の病態の一つとして、慢性化のみならず重症化や劇症化についても大きな問題である。劇症化率については遺伝子型や遺伝子変異との関連がかなり明らかになってきている。本邦の検討において劇症化

*Fuminaka SUGAUCHI et al*: New aspects on the natural history of hepatitis B virus infection

\*名古屋市立大学大学院医学研究科消化器・代謝内科学 [〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1]

\*\*同 臨床分子情報医学

肝胆膵 56 (5) : 665-669, 2008

Presented by Medical\*Online

表1 HBV 遺伝子型の自然経過および臨床像の比較(文献4~9より引用)

慢性肝の割合(本邦)	2%	12%	85%
急性肝炎の割合(本邦)	19%	12%	68%
急性肝炎からの慢性化率	10%	稀	稀
HBe抗原陽性率	Aa: 31% Ae: 49%	Ba: 35% Bj: 18%	50%
PC変異	Aa: 0% Ae: 0%	Ba: 13% Bj: 50%	13%
CP変異	Aa: 50% Ae: 44%	Ba: 33% Bj: 15%	63%
IFN治療効果	高い	高い	低い
発癌率	Aa: 若年で高い	Bj: 低い Ba: 若年で高い	高い

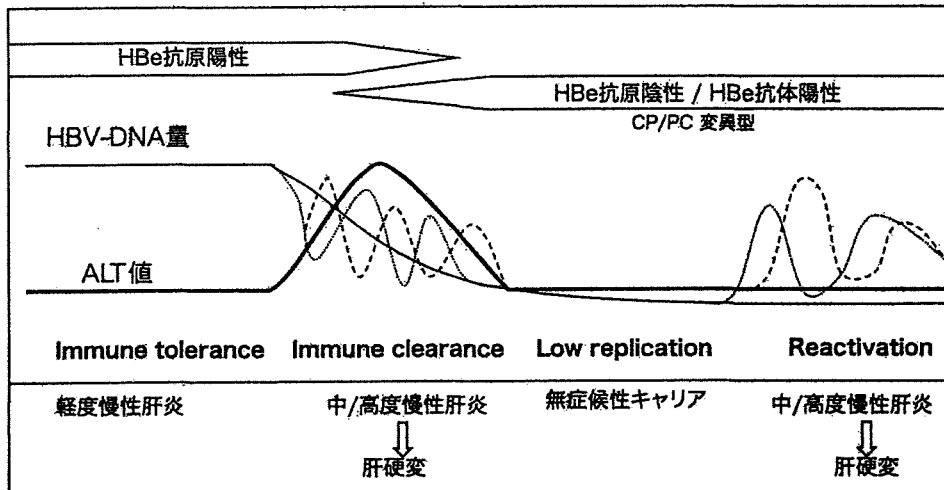


図1 慢性HBV感染の自然経過(文献1~3より引用)

例における core promoter および pre-core 変異株、遺伝子型 Bj の割合の増加が報告されている<sup>4,9)</sup>。また HBV 複製モデルを用いた *in vitro* の検討において他の遺伝子型と比較して遺伝子型 Bj の HBV 複製の亢進と劇症化との関連を推測している<sup>9)</sup>。これらのウイルス遺伝子情報を基にした早期治療介入(核酸アナログ投与など)による劇症化予防策が重要

である。

### 慢性HBV感染の自然経過

わが国において HBV の大部分は免疫機能が未発達の乳幼児期に母子感染、水平感染により HBV キャリアとなる。HBe 抗原陽性の母親からの出産では 95% がキャリア化するといわれ、水平感染により 3 歳以下では約

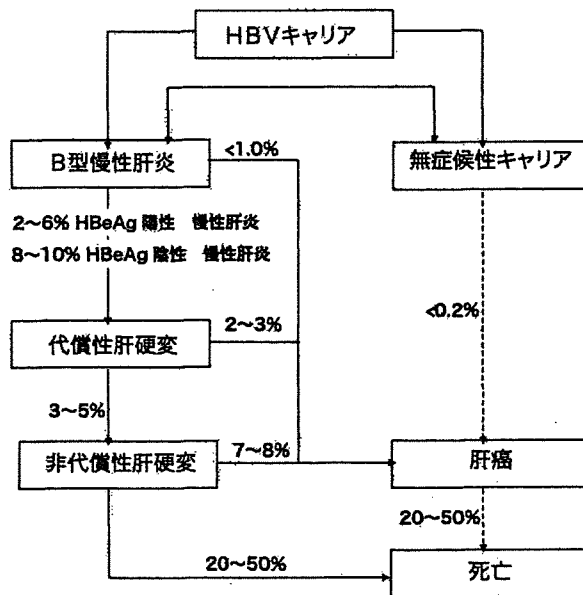


図2 慢性HBV感染における年間肝病態進展率(文献3より引用)

80%がキャリア化すると報告されている。最近では慢性HBV感染の自然経過についてはHBVウイルスマーカー(HBe抗原・抗体)、HBV-DNA、ALT値、肝組織所見の評価により「免疫寛容期」、「肝炎期」、「非活動期」、「再燃期」の大きく4つの時期に分けて考えられるようになってきている(図1)<sup>1-3)</sup>。

### 1. Immune tolerance (免疫寛容)期

乳幼児期の母子感染、水平感染でHBV持続感染が成立した場合に認められ、幼小期であるこの時期は免疫機能が十分に発達していないため、肝炎を起こさずHBe抗原陽性でHBV-DNAの増殖は活発でありながらも肝機能は正常で、肝組織像でもほとんど正常かごくわずかな炎症変化のみである。垂直感染症例の約9割程度がこのような経過をとり10代後半から20代にかけて免疫寛容が破綻して次の肝炎期に入ると考えられている。

### 2. Immune clearance (肝炎)期

この時期は免疫寛容が破綻して宿主の免疫応答の活性化により激しくALTの上昇する

肝炎が起こる。HBe抗原陽性、HBV-DNA量高値、ALT高値持続を示し、肝組織像でも高度の炎症変化を呈するいわゆるHBe抗原陽性慢性肝炎の時期である。炎症の程度が軽い場合は軽度の線維化のみであるが、この時期の激しい肝炎持続例では肝線維化は高度となり肝硬変・肝不全、肝臓へと進行する。一方ではHBV感染細胞が徐々に排除され、HBV増殖能の低下とともにウイルス量も減少する。肝炎期を経たあとは年率8~15%でHBe抗原-HBe抗体のセロコンバージョンが認められ、肝炎の沈静化へ向かう。このHBe抗原セロコンバージョンに関与する因子として1)高齡、2)ALT高値、3)肝炎急性増悪、4)HBV遺伝子型(Bj>Ba>C)、5)アジア人以外との関連が報告されている<sup>3)</sup>。

### 3. Low replication (非活動)期

HBe抗原陰性、HBe抗体陽性、正常ALT値、HBV-DNA量低値あるいは感度以下となり肝炎も沈静化している時期である。一般的には臨床的治癒とされる。また一部の患者で



表2 肝硬変進展に関する重要因子(文献3より引用)

高齢	HBV-DNA高値	HCV, HDV, HIV重複感染
男性	遺伝子型 C > Ba > Bj	アルコール摂取
免疫状態	HBV変異(core promoter)	糖尿病 肥満

表3 肝発癌に関する重要因子(文献3より引用)

高齢	HBV-DNA高値	HCV, HDV重複感染
男性	遺伝子型 C > Ba > Bj	アルコール摂取
肝硬変	HBV変異(core promoter)	アフラトキシン
肝癌家族歴	X遺伝子による転写促進	喫煙
アジア・アフリカ人		糖尿病 肥満

はHBs抗原が消失しHBs抗体陽性となる。HBs抗原の年間消失率は約1%とされている。

#### 4. Reactivation (再燃)期

非活動期の状態を維持し続けるのは70～80%程度で、残りの20～30%は免疫抑制剤の使用や自然経過により、HBe抗原陰性、HBe抗体陽性、ALT異常値、HBV-DNA陽性でcore promoterやprecore領域の変異を伴っている、いわゆるHBe抗体陽性慢性活動性肝炎の病態へと移行する。この時期は高齢者で進行した肝病態を呈していることが多く、肝硬変や肝癌進展へのhigh riskと考えられている。最近の欧米、アジアからの報告では、新規HBV感染者の減少によりHBe抗体陽性慢性活動性肝炎の増加とHBe抗原陽性慢性活動性肝炎の減少が認められている。HBe抗体陽性慢性活動性肝炎の増加は、今後HBV感染症にする戦略を検討するうえで重要と考えられる。

### HBV感染と肝硬変、肝癌への進展

平均すると、B型慢性肝炎の場合には、90%程度の症例が最終的にHBe抗原陰性の無症候性キャリアの状態になるが、残りの症例については病態の進展に伴い肝硬変、肝癌への移行が認められる。慢性肝炎から肝硬変への進展率はHBe抗原陽性と陰性慢性肝炎でそれぞれ年率2～6%と8～10%と報告されている(図2)。一方、肝発癌に関しては慢性肝炎から肝癌への進展率は年率0.1%以下、代償性肝硬からは2～3%、非代償性肝硬からは7～8%と報告されている(図2)。

肝硬変、肝癌の進展には宿主側、ウイルス側、環境などさまざまな因子との関連が報告されているが、現在までのところ肝病態進展に関連した重要因子については以下のようにまとめられている<sup>3)</sup>。肝硬変進展に関連した宿主因子としては、1)高齢者、2)男性、3)免疫低下状態とされ、ウイルス因子としては、

肝胆膵 56巻5号・2008年5月

Presented by Medical\*Online

1) HBV-DNA高値, 2) 遺伝子型C>Ba>Bj, 3) core promoter変異があげられている。また環境因子として, 1) HCV, HDV, HIVの重複感染, 2) アルコール摂取, 3) 糖尿病, 4) 肥満などが報告されている(表2)。一方, 肝発癌に関する宿主因子としては, 1) 高齢, 2) 男性, 3) 肝硬変, 4) 肝癌家族歴, 5) アジア・アフリカ人とされ, ウイルス因子は, 1) HBV-DNA高値, 2) 遺伝子型C>Ba>Bj, 3) core promoter変異, 4) X遺伝子による転写促進があげられている。また環境因子として, 1) HCV, HDVの重複感染, 2) アルコール摂取, 3) アフラトキシン, 4) 喫煙, 5) 糖尿病, 6) 肥満などが報告されている(表3)。

#### 文 献

- 1) Hoofnagle JH et al : Management of hepatitis B : summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 45 : 1056-1075, 2007
- 2) Fattovich G : Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 23 : 47-58, 2003
- 3) Yim HJ, Lok AS : Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology* 43 : S173-181, 2006
- 4) Sugauchi F et al : Spatial and chronological differences in hepatitis B virus genotypes from patients with acute hepatitis B in Japan. *Hepatology Res* 36 : 107-114, 2006
- 5) Orito E et al : Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34 : 590-594, 2001
- 6) Sugauchi F et al : Hepatitis B virus of genotype B with or without recombination with genotype C over the precore region plus the core gene. *J Virol* 76 : 5985-5992, 2002
- 7) Sugauchi F et al : Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C. *Gastroenterology* 124 : 925-932, 2003
- 8) Tanaka Y et al : A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology* 40 : 747-755, 2004
- 9) Ozasa A et al : Influence of genotypes and pre-core/core-promoter mutations on fluminant or chronic outcome of acute infection with hepatitis B virus. *Hepatology* 44 : 326-334, 2006

\* \* \*

肝胆膵 56巻5号・2008年5月

Presented by Medical\*Online

## B型肝炎治療 up to date

## B型慢性肝炎

## — HBV 遺伝子型と治療効果 —

管内文中 (名古屋市立大学大学院医学研究科消化器・代謝内科学)

溝上雅史 (名古屋市立大学大学院医学研究科臨床分子情報医学教授)

## Point

- わが国のB型慢性肝炎にけるHBV遺伝子型分布については遺伝子型Cが最も多く、85%に認められ、次いで遺伝子型Bが12%に認められている。
- わが国の急性肝炎では遺伝子型Aの割合が増加しており、特に都市部での性行為ルートによる若年層からの感染が急速に広がっていると考えられている。
- 従来型のIFN治療においては遺伝子型による効果の違いは明らかである。最近では、わが国においてはまだB型肝炎には認可されていないペグインターフェロン (Peg-IFN) 治療の有用性が海外から多く報告されている。
- ラミブジン治療効果とHBV遺伝子型との関連については、治療開始2年後のALT正常化率、HBV DNA陰性化率について、各遺伝子型群間に有意差はみられなかった。
- ラミブジンの長期投与に伴う耐性化の問題に関しては、その後わが国で認可された阿德フォビルの併用投与によってラミブジン耐性株も強力に抑制できるようになっている。

B型肝炎ウイルス (Hepatitis B virus ; HBV) は、約3,200塩基の不完全二重鎖DNAウイルスであり、その複製過程においてポリメラーゼ遺伝子がRNAを鋳型としてDNAを複製する逆転写酵素活性をもっていることが特徴である。この逆転写酵素にはいわゆる proof reading 機構が存在しないことがHBV遺伝子の多様性を生み出していると考えられる。世界各地のヒト

から分離同定されたHBV遺伝子は現在までにAからH型の8つの遺伝子型に分類され、その世界分布には地域特異性が存在することが知られている<sup>1)</sup>。本稿ではHBV遺伝子型の臨床的意義について最近の知見を述べるとともに、このHBV遺伝子型の違いが近年大きく進歩しているB型慢性肝炎の治療法に対してどのような影響を及ぼしているのかを概説する。

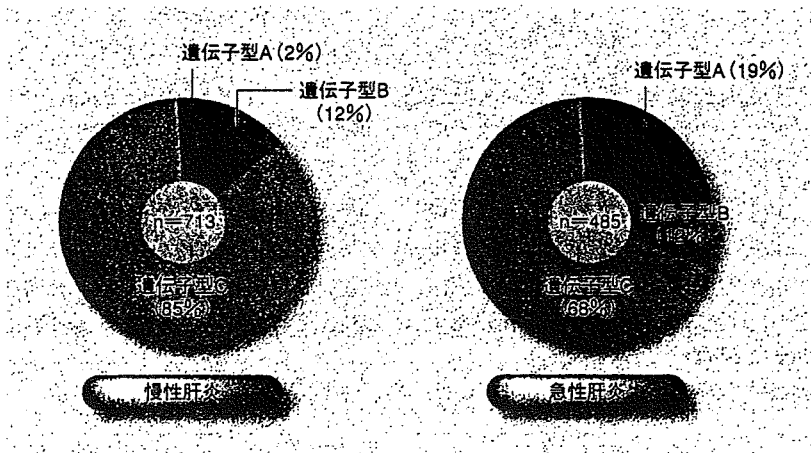


図1 わが国における慢性および急性B型肝炎における遺伝子型分布の比較

特徴	HBV遺伝子型	
	B	C
HBe抗原陽性率	低い	高い
HBe抗体陽性率	高い	低い
セロコンバージョンまでの期間	短い	長い
肝機能 (ALT)	低い	高い
HBVウイルス量	低い	高い
肝組織進展度	軽い	重い
コアプロモーター変異	少ない	多い
プレコア変異	多い	少ない
治療反応性	良好	不良
予後	様々	不良

表1 HBV遺伝子型BとCのウイルス学的、臨床的比較

## HBV 遺伝子型分類と臨床像

わが国のB型肝炎にけるHBV遺伝子型分布については遺伝子型Cが最も多く、85%に認められ、次いで遺伝子型Bが12%に認められている。遺伝子型AとDはわずかに認められるのみである(図1)<sup>2)</sup>。日本の各地域別におけるHBV遺伝子型分布については、沖縄と東北地方では遺伝子型Bの割合

が他の日本の地域と比較して高く認められ、それ以外の全地域では遺伝子型Cが圧倒的に多く分布している。このことはわが国の慢性HBV感染におけるHBV遺伝子型分布の大きな特徴の一つであると考えられる。

HBV遺伝子型とその臨床学的差異について、遺伝子型BはCと比較して早期にHBe抗原陽性からHBe抗体陽性へとセロコンバージョンを起こし肝炎が沈静化する。さらに、プレコア変

異(A1896)は遺伝子型Bで多く、コアプロモーター変異(T1762/A1764)は遺伝子型Cで多く認められている(表1)<sup>3)</sup>。また無症候性キャリアーから肝がんへと病態が進行するにつれ、遺伝子型Cの割合が多くなることも明らかとなっている。このことから遺伝子型CはBと比較してウイルスの活動性が強く肝硬変や肝がんへの進展に強く関連する予後不良な遺伝子型であるといえる(表1)。