

201030014A

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

B型肝炎ジェノタイプ A 型感染の慢性化など

本邦における実態とその予防に関する研究

(H21-肝炎-一般-003)

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 溝上 雅史

平成 23(2011)年 3 月

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

B型肝炎ジェノタイプ A 型感染の慢性化など
本邦における実態とその予防に関する研究

(H21-肝炎-一般-003)

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 溝上 雅史

平成 23(2011)年 3 月

***** 目 次 *****

I. 総括研究報告書

B型肝炎ジェノタイプA型感染の慢性化など本邦における実態とその予防に関する研究（溝上雅史）	1
---	---

II. 分担研究報告書

1. 臨床症例の集計と解析（伊藤清顕）	9
2. ヒト幹細胞キメラマウスにおけるB型肝炎ウイルス感染防御の試み（田中靖人）	13
3. 札幌地区の急性・慢性B型肝炎患者の遺伝子型分布の検討（狩野吉康）	17
4. 急性肝障害調査・研究に関する北東北地域ネットワークにおける 急性B型肝炎の発生状況（滝川康裕）	21
5. ジェノタイプB型高浸淫地域における急性B型肝炎の感染実態に関する 臨床研究（第2報）-HBs抗原陰性化およびHBV DNA陰性化に要する期間の 検討も含めて-（斎藤貴史）	27
6. 急性B型肝炎の発生状況に関する統計（正木尚彦）	31
7. 東京近郊におけるHBV Genotype Aによる急性肝炎の臨床学的・ウイルス学的 特徴（荒瀬康司）	35
8. 千葉県における平成22年の急性B型肝炎症例の検討（今関文夫）	37
9. B型急性肝炎の合併疾患に関して（四柳 宏）	41
10. B型肝炎ジェノタイプの分布と変遷（黒崎雅之）	43
11. 本邦におけるB型急性肝炎の現状（梅村武司）	45
12. 当施設におけるde novo B型肝炎の発生状況と予防対策の状況	47
13. 当院におけるB型急性肝炎の現況と治療介入（HIV感染者も含めて）（三田英治）	53
14. B型肝炎急性肝炎 Genotype Aの蔓延状況の実態と臨床像について（山本和秀）	57
15. 愛媛県における外来型HBVゲノタイプの推定感染者数の検討（道堯浩二郎）	61
16. B型肝炎ジェノタイプA型感染の慢性化など本邦における実態とその予防に 関する研究（八橋 弘）	63
17. B型急性肝炎の現況；沖縄における発生状況（前城達次）	67
18. 献血者におけるHBV遺伝子型分布（内田茂治）	71
19. HIVとHBVの混合感染に関する研究（田沼順子）	75
20. 感染症法に基づくB型肝炎の発生状況・届出状況（多田有希）	79
21. ジェノタイプの異なるB型肝炎ウイルス表面抗原(HBsAg)の検出感度比較 （水落利明）	87

III. 研究成果の刊行一覧	91
----------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	97
-----------------	----

I. 総括研究報告書

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者：溝上雅史 国立国際医療研究センター
肝炎・免疫研究センター センター長

研究要旨：HBVは近年世界的に10のgenotypeに分類され、各genotypeにより地理的分布が異なること、臨床像に違いがあるということが明らかにされた。以前より本邦ではB型急性、慢性肝炎ともにgenotype BおよびCが多数を占めていた。しかし近年、B型急性肝炎において欧米型であるgenotype Aの占める割合が増加しているということが報告された。また、これまで成人の水平感染によるB型急性肝炎は一過性感染に終息し慢性化はないと考えられていたが、genotype Aの急性感染では約10%程度に慢性化が起こると報告されている。本研究班においては、実際の慢性化率を把握するため、全国の研究協力者と共同で最近のB型急性肝炎の発生状況とgenotypeの分布、慢性化、遷延化の比率を調査した。国立感染症研究所のデータと比較すると、感染症法に基づき届出がされた症例は10%以下と低率であった。届出率と届出数およびDPCデータベースや献血者のデータより算定すると、B型急性肝炎の年間発生数は不顕性感染も含めて、年間10,000～11,000人であると推定された。1982年から2010年に発生したB型急性肝炎症例1088例の全国調査の結果、Genotype Aは首都圏だけでなく、地方部でも急速に増加しており、系統解析によるとすでにgenotype Aの大部分の症例が国内感染であった。B型急性肝炎の慢性化症例ではgenotype Aの割合が有意に高く、肝炎の程度が比較的軽い症例が多かった。国立国際医療研究センターエイズ治療研究開発センターの報告によると、HIV感染者の8.5%がHBV陽性で、そのうちgenotype Aが最も多く65.3%を占めていた。

研究分担者

伊藤 清顕 国立国際医療センター国府台病院 肝炎・免疫研究センター
田中 靖人 名古屋市立大学大学院医学研究科
狩野 吉康 北海道厚生連札幌厚生病院
滝川 康裕 岩手医科大学医学部内科学講座
斎藤 貴史 山形大学医学部消化器病態制御内科学
正木 尚彦 国立国際医療センター国府台病院 肝炎情報センター
荒瀬 康司 虎の門病院健康管理センター・画像センター
今関 文夫 千葉大学大学院医学研究院
四柳 宏 東京大学医学部感染症内科
黒崎 雅之 武蔵野赤十字病院消化器科
梅村 武司 信州大学医学部
三田 英治 国立病院機構大阪医療センター消化器科
山本 和秀 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
道堯浩二郎 愛媛県立中央病院消化器病センター
八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター・臨床研究センター

前城 達次	琉球大学第一内科
豊田 秀徳	大垣市民病院消化器科
内田 茂治	日本赤十字社血液事業本部 中央血液研究所
田沼 順子	国立国際医療センター戸山病院 エイズ治療研究開発センター
多田 有希	国立感染症研究所 感染症情報センター

研究協力者

石井 耕司	東邦大学消化器内科
野村 秀幸	新小倉病院診療部
今井 康陽	市立池田病院
井出 博生	東京大学
西田 次郎	東京歯科大学市川総合病院
三上 繁	キッコーマン病院
北村 庸雄	順天堂浦安病院
坪田 昭人	東京慈恵会医科大学柏病院
島田 紀朋	新松戸中央病院
石川 哲也	名古屋共立病院
上野 義之	東北大学医学部附属病院
大野 智義	社会保険中京病院
折戸 悦朗	名古屋第二赤十字病院
鈴木 通博	川崎市立多摩病院
高木 均	群馬大学医学部
富田 栄一	岐阜市民病院
水田 敏彦	佐賀大学医学部
峰 徹哉	東海大学医学部内科系
姜 貞憲	手稻溪仁会病院 消化器病センター
山田 典栄	清川病院
大日 康史	国立感染症研究所

A. 研究目的

本研究は最近本邦で増加しているジェノタイプ A 型による B 型急性肝炎の実態を把握し、その慢性化率および慢性化機序を解析することにより、有効な慢性化阻止の方策を確立し、肝硬変、肝癌への移行を阻止し、医療に貢献することを目標とした。今回の研究の目的は、**(1) 本邦における B 型急性肝炎の実数把握**：感染症法に基づく届出情報のデータと当研究班の研究分担者、研究協力者の所属する施設および関連施設から収集したデータを比較した。研究分担者の正木班員らにより DPC データベースを用いて解析し、B 型急性肝炎の年間発生数を推定した。**(2) B 型急性肝炎の届出状況の把握**：国立感染症研究所の多田班員とともに、感染症法に基づき届出された B 型急性肝炎症例と当研究班で収集した症例を比較し、届出率を算定した。**(3) HIV 感染者や献血者における genotype A の感染状況の調査**：国立国際医療研究センターエイズ治療研究開発センター (ACC) の田沼班員とともに、同センターを受診した HIV 患者の HBV 共感染率および HBV genotype を調査した。また、内田班員により献血者における HBsAg 陽性率および genotype A の比率を明らかにした。**(4) HBV genotype A の地域差および感染ルートの解析**：関連施設より B 型急性肝炎症例の血清を収集し、genotype の分布を解析した。**(5) Genotype A の慢性化機序および実際の慢性化率の解析**：多施設共同研究による前向き調査および後ろ向き調査により、慢性化率を調査した。**(6) Genotype A の慢性化要因および慢性化阻止法の解析**：収集した症例において慢性化要因を検討した。慢性化に関わる宿主側 SNPs の解析のため、DNA の収集を開始した。前向き研究による核酸アナログ製剤の慢性化阻止の有効性につき検討を開始した。

B. 研究方法

- 1) 後ろ向き研究による過去の B 型急性肝炎の発生状況調査：全国の研究協力施設と共同で、過去 5 年間の B 型急性肝炎の発生状況を調査した。報告には感染地域、感染源、発生時期の項目を含み、感染症法に基づく届出情報と比較した。
- 2) DPC データベースを用いた B 型急性肝炎の発生数推定：DPC データベースを用い、B 型急性肝炎例を抽出し、DPC のカバー率から国内全体の年間の発生数を推定した。
- 3) 献血者および HIV 陽性者における genotype A の感染率調査：日本赤十字社の内田班員により献血者における HBV の陽性率を調査し、genotype A の分布を解析した。また、ACC の田沼班員により、ACC を受診した HIV 患者に関して、HBV との共感染率を明らかにした。
- 4) 多施設共同研究による全国の B 型急性肝炎 (genotype A) の発生状況：全国の研究協力施設における 2005-2011 年に発生した B 型急性肝炎の臨床情報、血液検体を収集し、解析を行った (後ろ向き研究)。
- 5) 前向き研究による慢性化率、核酸アナログの有効性調査：全国の研究協力施設における新規発生の B 型急性肝炎を登録し、検体の収集を開始した。登録後長期にわたり観察し、治療介入の有無、慢性化の有無を調査することにより、慢性化率および核酸アナログによる慢性化阻止の有効性調査を開始した。
- 6) 慢性化に関与する宿主側 SNPs の探索：HLA-DP locus に存在する SNPs が慢性 B 型肝炎に関与することが判明しており、この SNPs が B 型急性肝炎の慢性化に関与するかどうか、また新規 SNPs と慢性化との関連も解析する。宿主側の遺伝子解析に関して DNA の収集を開

始した。

C. 研究結果

1) 感染症法に基づく届出調査 (多田班員) : B型肝炎の年間報告数は、1999年(4-12月) 510例、2000年425例、2001年330例、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178例、2009年178例と最近は横ばいであり、2010年は173例であった(図1)。

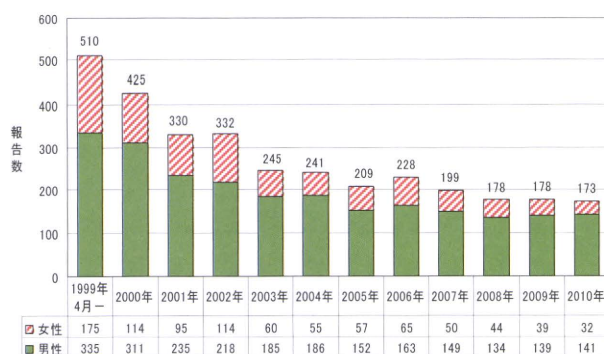


図1. B型肝炎の年別、性別届出数

最近の感染症法に基づく届出情報のデータによると、2007年の届出総数は199例であり、内訳は7例届出をしている病院が2病院、4例届出が4病院、3例届出が6病院、2例届出が20病院そして1例のみの届出が111病院であった。また、2008年に関しては届出総数が178例であり、内訳は5例届出をしている病院が1病院、4例届出が3病院、3例届出が7病院、2例届出が19病院、1例届出が99病院であった。このように、1例のみを届出している施設が圧倒的に多く、しかも大部分の病院が中小の病院であった。本研究班で収集した症例と感染症法による届出と比較すると、2007年6.6%、2008年5.8%、2009年6.3%といずれの年も届出率は10%以下と低率であった。届出数および届出率から逆算するとB型肝炎の発症数は年間3,000例程度であると推定された。

2) DPCデータベースによるB型肝炎の発症数予測(正木班員) :

わが国のDPCデータ調査研究班(厚生労働科学研究・伏見班)の協力により、2007年および2008年の7月1日から12月31日までの退院患者のDPCデータから、B型肝炎およびB型肝炎劇症のケースを抽出し検討を行った。DPCデータベースはわが国の急性期入院の約40%をカバーする大規模データベースである。DPCデータで抽出されたB型肝炎の症例数をX、日本の一般病床の総数をN、DPC参加病院の病床の総数をnとし、 $Y=2xXxN/n$ の式を病床規模別に適用することによって、本邦での推定発症数Yを推計した。表1に集計結果を示す。

表1. DPCを用いたB型肝炎推定発症数

病院規模(ベッド数)	DPC登録病院数		ベッド数(日本全国)(N)	DPC登録病院に於けるベッド数(m)		日本全国でのB型肝炎推定発症数(Y)	
	2007	2008		2007	2008	2007	2008
≥900	36	36	55,286	38,420	38,420	164	204
800-899	14	14	23,709	11,825	11,825	64	40
700-799	27	26	31,760	20,125	19,403	88	115
600-699	53	47	57,110	34,226	30,337	130	147
500-599	93	87	74,701	50,682	47,258	206	199
400-499	108	97	101,014	47,368	42,369	256	329
300-399	186	158	143,045	62,319	53,116	432	377
200-299	180	159	114,526	43,659	38,495	273	345
≤199	256	220	309,087	33,001	28,242	562	635
Total	953	844	910,238	341,625	309,465	2,175	2,391

2007年には446例、2008年には444例の急性B型肝炎入院症例が抽出され、本邦での発症数の推計値および95%信頼区間は2007年が2175(2026-2324)例、2008年が2391(2227-2555)例となった。

3) 献血者におけるHBs抗原陽性率およびgenotype分布(内田班員) : 輸血用血液のスクリーニング検査で、核酸増幅検査(NAT)およびHBs抗原検査で陽性となった検体を対象として陽性率およびgenotypeを決定した。NAT陽性は1999年7月から2010年12月までに検出された1095検体を、HBs抗原検査陽性は2010年4月から9月までに陽性となった887

検体のうち、genotype の測定が可能であった 807 検体を調査対象とした。

NAT 陽性となった 1095 検体の genotype は、A : 154 例 (14.1%)、B : 197 例 (18.0%)、C : 692 例 (63.2%)、D : 9 例 (0.8%)、E : 3 例 (0.3%)、H : 4 例 (0.4%)、解析不能 : 36 例 (3.3%) であった。HBV キャリアの報告例と比較すると、genotype A の比率が著しく高く、報告例では認められなかった genotype E や H も検出されていた。NAT 陽性例のうち HBc 抗体陰性の 778 検体の genotype は、A : 152 例 (19.5%)、B : 83 例 (10.7%)、C : 529 例 (68.0%)、D : 7 例 (0.9%)、E : 2 例 (0.3%)、H : 4 例 (0.5%)、解析不能 : 1 例 (0.1%) であった。Genotype A の献血者の年代は 20 歳代 49.0%、30 歳代 33.6% と 20・30 歳代で 82.6% を占めていた。一方、HBc 抗体陽性の 317 検体の genotype は、A : 2 例 (0.6%)、B : 114 例 (36.0%)、C : 163 例 (51.4%)、D : 2 例 (0.6%)、E : 1 例 (0.3%)、解析不能 : 35 例 (11.0%) であった。

HBs 抗原陽性で genotype が解析できた 807 検体の genotype は、A : 59 例 (7.3%)、B : 230 例 (28.5%)、C : 501 例 (62.1%)、D : 16 例 (2.0%)、E : 1 例 (0.1%) であった。2006 年 10 月から 1 年間同様の調査を行ったときの結果は、1887 検体中 A : 106 例 (5.6%)、B : 581 例 (30.8%)、C : 1181 例 (62.6%)、D : 15 例 (0.8%)、E : 2 例 (0.1%)、F : 2 例 (0.1%) であった。今回の調査では 2006 年の調査より genotype A の割合が若干増加していたが、他の genotype ではほとんど変化がなかった。また、HBs 抗原陽性率は 10 歳代 0.013% (2006 年 0.019%)、20 歳代 0.023% (2006 年 0.032%) と低下傾向が認められたが、10 歳代陽性者では genotype A の占める比率が 2006 年の調査より急増していた。

4) B 型急性肝炎における genotype A の特徴

(田中班員、狩野班員、滝川班員、豊田班員、斎藤班員、荒瀬班員、今関班員、四柳班員、黒崎班員、三田班員、梅村班員、道堯班員、山本班員、八橋班員、前城班員) : 対象は全国の共

同研究施設より報告された 1982 年から 2010 年に発生した B 型急性肝炎症例 1088 例。全国での B 型急性肝炎における genotype A の分布状況を解析すると、全国的には 1990 年代半ばより増加傾向にあり、2010 年には約 65% が genotype A であった。その中で首都圏においては、genotype A は 1990 年代半ばより増加傾向にあり、2010 年には約 70% を占めていた。この傾向は地方部にも拡大しており、1990 年代後半から増加傾向にあり、2010 年には約 60% を占めていた (図 2)。

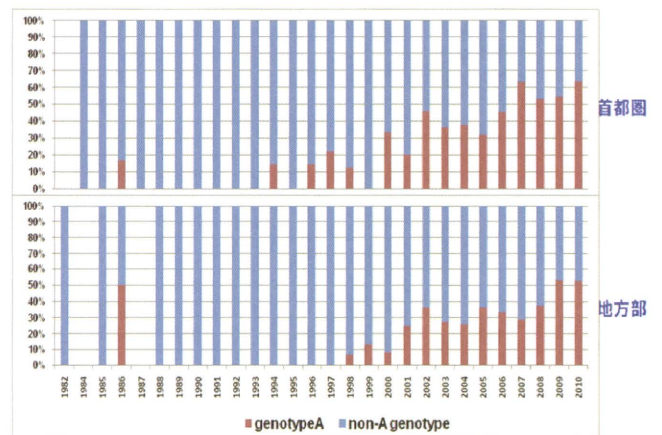


図 2. B 型急性肝炎における genotype A の割合 (首都圏と地方部での比較)

Genotype A と genotype A 以外 (non-A genotype) の臨床的な特徴を比較すると、genotype A においては年齢が若く (34.3 ± 12.2 歳 vs 38.4 ± 14.8 歳、 $P=0.0021$)、男性の症例を多く認めた (94.2% vs 64.6% 、 $P<0.0001$)。また、genotype A の症例では発症時の HBeAg の陽性率が高く (87.5% vs 77.1% 、 $P=0.041$)、peak の HBV-DNA が高値であり ($6.3 \pm 1.5 \log$ コピー/mL vs $5.6 \pm 1.4 \log$ コピー/mL、 $P=0.0002$)、ALT が低く ($2132 \pm 1020.2 \text{ IU/L}$ vs $2573.7 \pm 1715.3 \text{ IU/L}$ 、 $P=0.021$)、%PT は高い傾向であった ($74.6 \pm 22.6\%$ vs $66.9 \pm 32.1\%$ 、 $P=0.028$)。HBsAg の消失時期を比較すると genotype A では (6.2 ± 7.6 カ月 vs 3.2 ± 3.9 カ月、 $P<0.0001$) と non-A genotype と比較して有意に延長しており、6 カ月以上の HBsAg 持続陽性を指標とした慢

性化率でみると genotype A では 15.4%、non-A genotype では 3.0%と、genotype A において慢性化率が高いという結果であった（表 2）。

表 2. Genotype A に関連する臨床的特徴

	Genotype A (n=205)	Non-A genotype (n=438)	P
Age	34.3±12.2	38.4±14.8	0.0021
Gender (male:%)	194 (94.2)	283 (64.6)	<0.0001
HBeAg positivity (%) (診断時)	87.5	77.1	0.041
HBV-DNA (peak)	6.3±1.5	5.6±1.4	0.0002
ALT (peak)	2132.6±1020.2	2573.7±1715.3	0.021
T-bil (peak)	9.4±7.9	8.8±8.7	0.3
PT (%)	74.6±22.6	66.9±32.1	0.028
HBsAg消失までの期間 (month)	6.2±7.6	3.2±3.9	<0.0001
慢性化率 (%)	15.4	3.0	0.0015
感染原因(性行為感染)	90.5	82.8	0.136

HIV との共感染率を比較すると genotype A では 10%で共感染しており、non-A genotype では 1%であった（図 3）。HIV 共感染例と非共感染例で HBsAg の消失時期を Kaplan-Meier 法で比較すると、HIV 共感染例の方が有意に HBsAg 消失時期が延長していた（P=0.0064）。

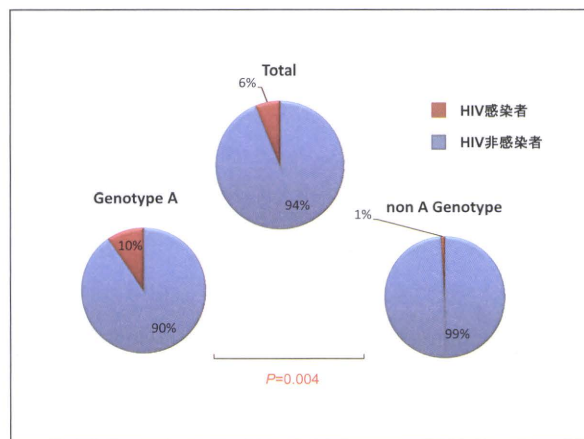


図 3. B 型急性肝炎例における HIV 共感染率

また、系統解析の結果、genotype A 症例は過去の国内の B 型急性肝炎症例や慢性肝炎症例とクラスターを形成しており、大部分の症例が国内感染であるということが判明した（図 4）。

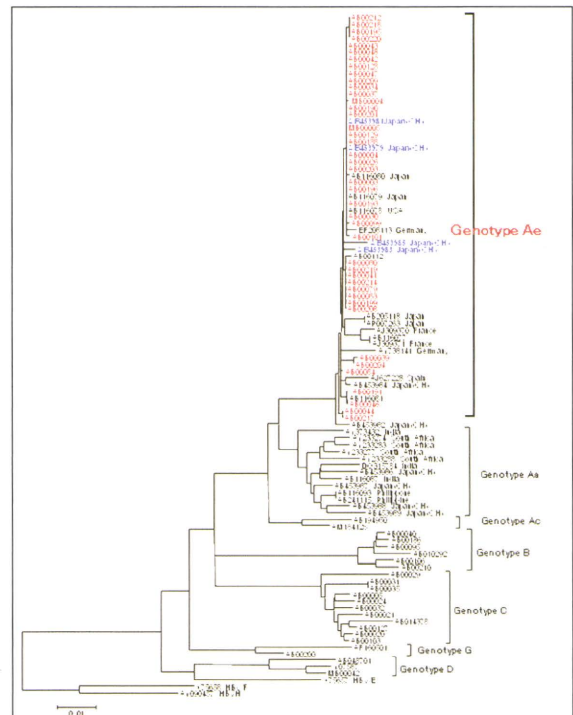


図 4. B 型急性肝炎症例の系統解析

5) HIV と HBV の混合感染に関する研究（田沼班員）：

a) HIV 感染者における HBV 混合感染率

1996 年より 2010 年までの 14 年間に、国立国際医療研究センターを受診した HIV 感染者 2993 名のうち、HBs 抗原のスクリーニング検査が行われた者は 2825 名で、そのうち 230 名が HBs 抗原陽性（陽性率 8.5%）であった。

一方、HBs 抗体は 62.5%（1911 名）に実施され、陽性率は 58.3%であった。HBc 抗体は実施されていない例が多いが、HBs 抗原 HBs 抗体ともに陰性で、HBc 抗体のみが陽性の症例も少なからず存在した。総じて、およそ 70%近くの HIV 感染者が、初診時すでに HBV に暴露していることが判明した。

b) HIV/HBV 混合感染者における HBV genotype

図 5 に、初診時 HBs 抗原陽性の HIV 感染者における HBV genotype の年次推移を示した。予想通り A 型が最も多く平均 65.3%を占めていた。しかし、B、C、D、G、H 型、もしくは、それらの混合感染もみられた。混合型は、すべ

て G と A・B・H 型のいずれかの混合型であった。

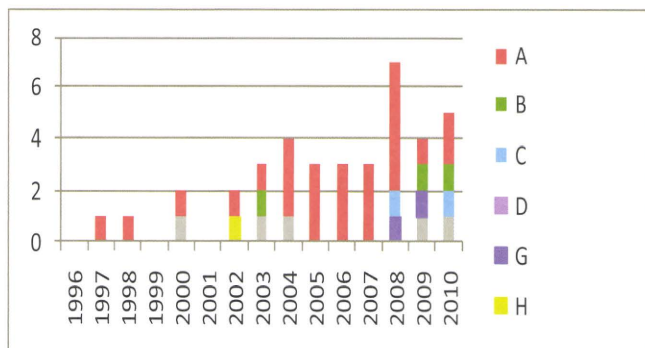


図 5. HIV 初診時 HBsAg 陽性者の HBV genotype

急性肝炎を発症した HIV 感染者の HBV genotype については、A 型が最も多かったが、2009-2010 年の傾向として、B・C・G 型が増加していることが判明した。

6) 慢性化に関与する宿主側 SNPs の探索

SNPs に関する研究を開始するにあたり、国立国際医療研究センターの倫理審査委員会により遺伝子研究の承認を得た。各研究協力施設での倫理審査委員会への申請が開始された。

D. 考察

B 型急性肝炎の感染症法に基づく届出率は低率であり、毎年 10%以下であると判明した。今後は、届出率が低率にとどまっている阻害要因に関して検討し、対策を講じる必要があると考えられた。

年間の B 型急性肝炎の発生数としては、DPC データベースを利用した解析より、年間の入院患者数は 2,175~2,391 人と推定された。また、大阪府の献血者コホートを利用した解析からは、B 型急性肝炎の不顕性感染者数は年間 8,409 人と推定された。両者を加えると年間およそ 10,000~11,000 人程度の B 型急性肝炎が発生していると推測された。

献血者における HBs 抗原陽性率は 10 歳代 0.013% (2006 年 0.019%)、20 歳代 0.023% (2006 年 0.032%) と低下傾向が認められ、1986 年に

導入された「B 型肝炎母子感染防止対策事業」以降の出生児が 20 歳代の半数を占めるようになったためと考えられた。しかし、10 歳代の HBs 抗原陽性者では、genotype A の占める比率が 2006 年の調査より急増しており、Universal Vaccination を含めた新たな対策の導入検討が必要であると考えられた。

新たに診断された HIV 患者における初診時の HBs 抗原陽性率は 8.5% と高率であった。HIV/ HBV 共感染例における genotype は、A 型が 65.3% を占め、その割合は時代を通じて比較的一定であった。

Genotype A においては non-A genotype と比較して、peak の ALT 値が低く、%PT 値が高値であることより、肝炎の程度が比較的軽度な症例が多く、HBsAg 消失までの時期が長期にわたり、慢性化に関与する可能性が示唆された。Genotype A は慢性化率が高いという結果であったが、発症後 6 カ月から 12 カ月の期間に HBsAg が消失する症例も多く、これらの症例をどのように定義するかを検討する必要があると考えられた。これまでの国内での genotype A の慢性化率に関する報告では、3% から 23% と施設により大きく異なり、これまでの「肝炎が持続し、HBsAg が 6 カ月以上持続陽性」という定義が適切であるかどうかについても併せて検討する必要があると考えられた。

今回の検討では、核酸アナログ投与により、慢性化が阻止できるという結果は得られず、今後どのように慢性化阻止が可能かを検討する必要があると考えられた。慢性化に関与すると考えられる宿主であるヒトの SNPs の解析は、慢性化のメカニズムを考える上で重要な結果が得られる可能性があり、今後重要な研究となる。

今後は、B 型慢性肝炎症例で genotype A の比率がどれほど増加しているかを調査し、実際に慢性化した症例がどの程度存在するかを明らかにする予定である。

E. 結論

B 型急性肝炎の届出率は 10%以下と低率であ

った。B型急性肝炎の年間発生数は不顕性感染も含めて、10,000～11,000人であると推定された。Genotype Aは首都圏だけでなく、地方部でも急速に増加しており、系統解析によるとすでに genotype Aの大部分の症例が国内感染であった。B型急性肝炎の慢性化症例では genotype Aの割合が有意に高く、肝炎の程度が比較的軽い症例が多かった。HIVとの共感染例においては genotype Aの比率が高く、共感染例はB型急性肝炎の慢性化に関与すると考えられた。

Ⅱ. 分担研究報告書

臨床症例の集計と解析

分担研究者：伊藤清顕 国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター

研究要旨：HBVは近年世界的に10のgenotypeに分類され、各genotypeにより地理的分布が異なること、臨床像に違いがあるということが明らかにされた。以前より本邦では急性、慢性B型肝炎ともにgenotype BおよびCが多数を占めていた。しかし近年、B型急性肝炎において欧米型であるgenotype Aの占める割合が増加しており、特に首都圏では70%以上がgenotype Aにより占められていると報告されている。また、これまで成人の水平感染によるB型急性肝炎は一過性感染に終息し慢性化はないと考えられていたが、genotype Aの急性感染では約10%程度に慢性化が起こると報告されている。本邦における各genotypeにおける慢性化率に関しては、報告により様々であり明らかではない。このため、実際の慢性化率を把握するため、全国の研究協力者と共同で最近のB型急性肝炎の発生状況とgenotypeの分布、慢性化、遷延化の比率を調査した。また、国立感染症研究所の多田班員より提出された感染症法に基づくB型急性肝炎の届出数と全国調査の結果を比較し、現在の届出率および届出率から推定したB型急性肝炎の年間発生数を算定した。

A. 研究目的

B型肝炎ウイルス(HBV)感染症では、HBVの発見以来世界的に臨床像が異なることが知られていたが、その理由は長い間不明であった。例えば、アジアにおいてはgenotype BとCが主で、成人への水平感染では慢性化しないが、欧米のgenotype Aは成人への初感染でも約10%が慢性化することである (Sherlock S and Dooley J. *Diseases of the Liver and Biliary System* 10th ed, Blackwell Sciences, London, 2002)。近年、分子進化学的解析で世界的に10のgenotypeに分類されること、また、それらのgenotypeは地理的分布が異なることからHBVの世界各地の臨床像の違いがgenotypeの違いで説明可能となった (Miyakawa Y & Mizokami M. *Intervirolgy* 2003)。我々は2000年に全国16施設と共同研究で本邦のB型慢性肝炎患者のgenotypeを検討し、1.7%にgenotype Aを認めた(Orito E, Mizokami M, et al. *Hepatology* 2001)。一方、B型急性肝炎では

genotype Aを14.3%、慢性化例も8.5%も認め、genotype Aは日本でも成人の急性感染から慢性化することを明らかにした(Ozasa A, Mizokami M, et al. *Hepatology* 2006)。本研究においては、これまでの全国調査の結果に加えて、2005年以降のB型急性肝炎症例を収集し、1.本邦におけるB型急性肝炎の実数把握、2. B型急性肝炎の届出状況、3. HBV genotype Aの増加率、地域差および感染ルート、4. HIV感染者や献血者におけるgenotype Aの感染状況、5. Genotype Aが本当に慢性化(キャリア化)しやすいか、6. Genotype Aの慢性化及び慢性化阻止法のそれぞれの項目に関して検討した。

B. 研究方法

対象は全国の共同研究施設より報告された1982年から2010年に発生したB型急性肝炎症例1088例。調査項目として、感染地域、感染源、抗ウイルス剤の投与の有無、慢性化、遷延

化の有無、HBV genotype、各種血液データ等を含め、感染原因、慢性化率、遷延化率等を解析した。多施設共同研究で収集した症例と感染症法に基づく届出情報を比較し、届出率および届出率より推定した B 型急性肝炎の年間発生数を推定した。また、genotype が不明な症例に関しては血清を収集し、肝炎・免疫研究センターで genotyping を施行し、genotype A とそれ以外の genotype (non-A genotype) で臨床データの特徴を比較検討した。収集した血清中の HBV が PCR により増幅が可能であった症例に関しては、遺伝子配列を決定し系統樹を作成し、国内感染か国外感染かの感染経路の推定を行った。

C. 研究結果

感染症法による届出と比較すると、2007 年 6.6%、2008 年 5.8%、2009 年 6.3%、届出数および届出率から逆算すると年間 3,000 例程度であると推定された。

全国での B 型急性肝炎における genotype の分布状況を解析すると、全国的には 1990 年代半ばより増加傾向にあり、2010 年には約 65% が genotype A であった。その中で首都圏においては genotype A は 1990 年代半ばより増加傾向にあり、2010 年には約 70% を占めていた。この傾向は地方部にも拡大しており、1990 年代後半から増加傾向にあり、2010 年には約 60% を占めていた(図 1)。

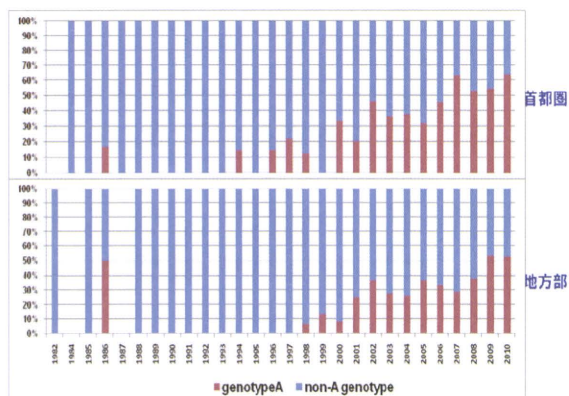


図 1. B 型急性肝炎における genotype A の割合 (首都圏と地方部での比較)

Genotype A と non-A genotype の臨床的な特徴を比較すると、genotype A においては年齢が若く (34.3±12.2 歳 vs 38.4±14.8 歳、P=0.0021)、男性の症例を多く認めた (94.2% vs 64.6%、P<0.0001)。また、genotype A の症例では発症時の HBeAg の陽性率が高く (87.5% vs 77.1%、P=0.041)、peak の HBV-DNA が高値であり (6.3±1.5log コピー/mL vs 5.6±1.4log コピー/mL、P=0.0002)、ALT が低く (2132±1020.2IU/L vs 2573.7±1715.3IU/L、P=0.021)、%PT は高い傾向であった (74.6±22.6% vs 66.9±32.1%、P=0.028)。HBsAg の消失時期を比較すると genotype A では (6.2±7.6 カ月 vs 3.2±3.9 カ月、P<0.0001) と non-A genotype と比較して有意に延長しており、6 カ月以上の HBsAg 持続陽性を指標とした慢性化率でみると genotype A では 15.4%、non-A genotype では 3.0% と、genotype A において慢性化率が高いという結果であった(表 1)。

表 1. Genotype A に関連する臨床的特徴

	Genotype A (n=205)	Non-A genotype (n=438)	P
Age	34.3±12.2	38.4±14.8	0.0021
Gender (male:%)	194 (94.2)	283 (64.6)	<0.0001
HBeAg positivity (%) (診断時)	87.5	77.1	0.041
HBV-DNA (peak)	6.3±1.5	5.6±1.4	0.0002
ALT (peak)	2132.6±1020.2	2573.7±1715.3	0.021
T-bil (peak)	9.4±7.9	8.8±8.7	0.3
PT (%)	74.6±22.6	66.9±32.1	0.028
HBsAg消失までの期間 (month)	6.2±7.6	3.2±3.9	<0.0001
慢性化率 (%)	15.4%	3.0%	0.0015
感染原因 (性行為感染)	90.5%	82.8%	0.136

HIV との共感染率を比較すると genotype A では 10% で共感染しており、non-A genotype では 1% であった(図 2)。HIV 共感染例と非共感染例で HBsAg の消失時期を Kaplan-Meier 法で比較すると、HIV 共感染例の方が有意に HBsAg 消失時期が延長していた (P=0.0064)。

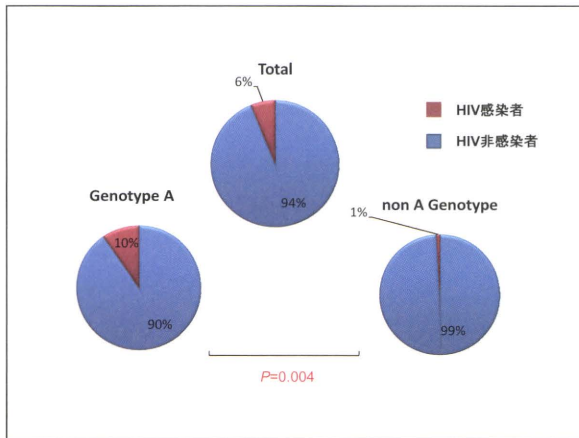


図 2. B 型急性肝炎例における HIV 共感染率

また、系統解析の結果、genotype A 症例は過去の国内の B 型急性肝炎症例や慢性肝炎症例とクラスターを形成しており、大部分の症例が国内感染であるということが判明した(図 3)。

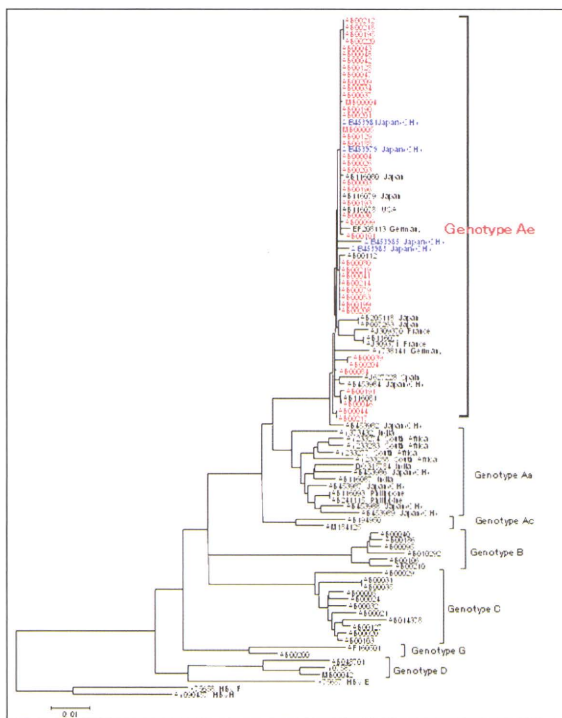


図 3. B 型急性肝炎症例の系統解析

D. 考察

B 型急性肝炎の感染症法に基づく届出率は低率であり、毎年 10%以下であると判明した。今後は、届出率が低率にとどまっている阻害要因に関して検討し、対策を講じる必要性が考えられた。

Genotype A においては non-A genotype と比較して peak の ALT が低く、%PT が高値であることより、肝炎の程度が軽度な症例が多く、HBsAg 消失までの時期が長期にわたり慢性化に關与する可能性が示唆された。Genotype A は慢性化率が高いという結果であったが、発症後 6 カ月から 12 カ月の期間に HBsAg が消失する症例も多く、これらの症例をどのように定義するかを検討する必要があると考えられた。これまでの国内での genotype A の慢性化率に関する報告では、3%から 23%と施設により大きく異なり、これまでの「肝炎が持続し、HBsAg が 6 カ月以上持続陽性」という定義が適切かどうかに関しても、併せて検討が必要であると考えられた。今回の検討では、核酸アナログ投与により、慢性化が阻止できるという結果は得られず、今後どのように慢性化阻止が可能かを検討する必要があると考えられた。

E. 結論

B 型急性肝炎の届出率は 10%以下と低率であった。Genotype A は首都圏だけでなく、地方部でも急速に増加していた。系統解析によると、すでに genotype A の大部分の症例が国内感染であった。B 型急性肝炎の慢性化症例では genotype A の割合が有意に高く、肝炎の程度が比較的軽い症例が多かった。HIV の共感染は B 型急性肝炎の慢性化に關与すると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Qin Y, Zhang J, Garcia T, Ito K, Gutelius D, Li J, Wands J, Tong S.

An improved method for rapid and efficient determination of genome replication and protein expression of clinical hepatitis B virus isolates.

J Clin Microbiol. 2011 Feb 2.

2. Ito K, Qin Y, Guarnieri M, Garcia T, Kwei K, Mizokami M, Zhang J, Li J, Wands J R, Tong S.

Impairment of hepatitis B virus virion secretion by single-amino-acid substitutions in the small envelope protein and rescue by a novel glycosylation site.
J Virol. 84 (24):12850-12861, 2010.

2.実用新案登録
なし
3.その他：なし

3. 伊藤清顕、正木尚彦
B型肝炎ウイルス再活性化
臨床消化器内科 26 (3):369-373, 2011

2.学会発表

1. Ito K, Mizokami M, Wands J, Garcia T, Qin Y, Guarnieri M, Kwei K, Zhang J, Li J, Tong S.
IMPAIRMENT OF HEPATITIS B VIRUS VIRION SECRETION BY SINGLE AMINO ACID SUBSTITUTIONS IN THE SMALL ENVELOPE PROTEIN AND RESCUE BY A NOVEL GLYCOSYLATION SITE.
2010 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B viruses, Taiwan, 133, 2010.

4. 伊藤清顕、溝上雅史, Suk-Fong Lok, Tong S.
B型肝炎ウイルス遺伝子変異の病態・治療に及ぼす影響 HBV遺伝子型間におけるHBeAg産生の違い,
第46回日本肝臓学会総会, 山形, 肝臓,
51,A100, 2010.

5. 伊藤清顕、溝上雅史, Jack R. Wands, Tong S.
B型肝炎ウイルス遺伝子変異の病態・治療に及ぼす影響 エンベロープ蛋白M133T変異による新規糖鎖結合部位はescape mutantにより抑制されたHBV分泌を改善する,
第46回日本肝臓学会総会, 山形, 肝臓,
51,A100, 2010.

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1.特許取得
なし

ヒト幹細胞キメラマウスにおけるB型肝炎ウイルス感染防御の試み

分担研究者：田中靖人 名古屋市立大学大学院医学研究科

研究要旨：HBVに対するモノクローナル抗体を用いてヒト肝細胞キメラマウスにおけるHBV中和試験を行った。感染源として遺伝子型AとCの野生株、遺伝子型C-145R導入変異株を用いた。ビームゲン（遺伝子型C）投与により得られたHBV116抗体およびHBV478抗体10 μ g投与群の遺伝子型AおよびC野生株群では全例でHBV-DNAの検出はされなかった。HBV116抗体およびHBV478抗体を1 μ gへ減量後においても遺伝子型AおよびC野生株HBV群ではHBV-DNAの検出はされなかった。C-145R導入変異株中和試験においては、HBV478抗体群では全例でHBV-DNAの検出はされなかったが、HBV116抗体群では全例でHBV-DNAが検出された。現在日本で使用されている遺伝子型CのHBワクチンで遺伝子型A及びC-145R導入変異株（ワクチンエスケープ）の感染防御が可能であると考えられた。

共同研究者：

菅内文中 名古屋市立大学大学院医学研究科

A. 研究目的

本邦では現在B型肝炎ウイルス(HBV)に対するユニバーサル(UV)ワクチンの導入に向けての検討が行われているが、異なるHBV遺伝子型やvaccine escape mutant (VEM)に対する防御能を明らかにする必要がある。

B. 研究方法

細胞マイクロアレイシステムを用いて精製された、HBVワクチン（ビームゲン、遺伝子型C、adr）接種後から得られた数種類の抗体のうち、最もHBV中和活性の高いモノクローナル抗体（HBV116抗体と478抗体）を取得した（Yoshihara et al. Cytometry 2007）。この抗体を用いてヒト肝細胞キメラマウス（uPA/SCID mice）におけるHBV中和試験を行った。感染源については3種類の1.24倍長HBV複製モデルを作成し（遺伝子型A野生株、遺伝子型C野生株、遺伝子型C-145R導入変異株）、これをHuh7細胞にtransfectionしてできた培養上

清をヒト肝細胞キメラマウスに接種、回収されたマウス血清を材料として感染実験を行なった（ 1.0×10^4 copies/匹）。HBV116抗体と478抗体は10 μ g or 1 μ g /匹をHBV感染源と同時に投与した。HBV-DNAの検出にはリアルタイムPCRを使用した。

C. 研究結果

HBV116抗体およびHBV478抗体10 μ g投与群の遺伝子型A(n=3)および遺伝子型C(n=3)野生株HBV群では全例でHBV-DNAの検出はされなかった。さらにHBV116抗体およびHBV478抗体を1 μ gへ減量後のHBV感染源投与においても遺伝子型A(n=3)および遺伝子型C(n=3)野生株HBV群ではHBV-DNAの検出はされなかった。Huh7細胞にHBV複製モデルをtransfection後の培養上清において遺伝子型C-145R導入変異株では遺伝子型C野生株と比較してHBs抗原に対する反応性の低下を認めた。また細胞内のHBV複製能について遺伝子

型 C-145R 導入変異株では遺伝子型 C 野生株と比較して、約 80%まで低下していた。ヒト肝細胞キメラマウスを用いた C-145R 導入変異株中和試験においては、HBV478 抗体群では全例で HBV-DNA の検出はされなかったが、HBV116 抗体群では 3/3 例で HBV-DNA が検出された。

D. 考察

本邦においては垂直感染からの HBV キャリア数は減少したが、近年、水平感染による急性 B 型肝炎が増加傾向にあると報告されている。また諸外国においては universal vaccination による HBV 感染予防が一般的であるが、HB ワクチンに対する 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。また本邦においても HBV 感染前に anti-HBs 陽性であった症例において、急性 B 型肝炎に感染し、感染ウイルスが HBV-EM であったことが報告されている。

HBV-EM のウイルス学的特徴を検討した結果、145R 変異を有するクローン株においては、これらを有さないクローン株と比較してウイルス複製レベルが約 8 割と低下しており、更に注目すべきは HBsAg 値が他のクローンと比較して低下していたことであった。このことから共通抗原基 a 領域における 145R 変異が HBs 抗原の構造変化を惹き起こし、従来の HBsAg 検出系では検出を困難としている可能性が示唆された。

現在、わが国で増加している欧米型 A 及び HBV-EM に関して *in vivo* 実験として、HBV に対するモノクローナル抗体を用いてヒト肝細胞キメラマウス (uPA/SCID mice) における HBV 中和試験を行った結果、単独あるいは複数のモノクローナル抗体により、遺伝子型 A 及び HBV-EM の感染防御が可能であった。

E. 結論

1) 現在日本で使用されている遺伝子型 C の HB ワク

チンで遺伝子型 A の HBV 感染防御が可能であると考えられた。2) VEM 株として多数報告されている HBV145R 変異株に対する HBV ワクチンによる感染阻止は限定的であったが、抗体を組み合わせることにより感染防御は可能であった。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshida T, Kusumoto S, Inagaki A, Mori F, Ito A, Ri M, Ishida T, Komatsu H, Iida S, Sugauchi F, **Tanaka Y**, Mizokami M, Ueda R. Reactivation of hepatitis B virus in HBsAg-negative patients with multiple myeloma: two case reports. *Int J Hematol.* 2010 ;91:844-9.
2. Sugauchi F, **Tanaka Y**, Kusumoto S, Matsuura K, Sugiyama M, Kurbanov F, Ueda R, Mizokami M. Virological and clinical characteristics on reactivation of occult hepatitis B in patients with hematological malignancy. *J Med Virol.* 2011 ;83:412-8
3. Yokosuka O, Kurosaki M, Imazeki F, Arase Y, **Tanaka Y**, Chayama K, Tanaka E, Kumada H, Izumi N, Mizokami M, Kudo M. Management of hepatitis B: Consensus of the Japan Society of Hepatology 2009. *Hepatol Res.* 2011; 41:1-21.
4. Wu S, Imazeki F, Kurbanov F, Fukai K, Arai M, Kanda T, Yonemitsu Y, **Tanaka Y**, Mizokami M, Yokosuka O. Evolution of hepatitis B genotype C viral quasi-species during hepatitis B e antigen seroconversion. *J Hepatol.* 2011;54:19-25.

2. 学会発表

1. Shinkai N, Tanaka Y, Matsuura K, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Evaluation and application of a novel high-sensitivite

chemiluminescent enzyme immunoassay for Chronic hepatitis B patients with HBsAg seroconversion. 61st American Association for the Study of Liver Disease (AASLD), Oct 29-Nov 2 2010, Boston MA, USA.

2. Sugauchi F, Tanaka Y, Tajiri K; Kishi H, Matsuura K, Sugiyama M, Joh T, Mizokami M. In vivo model using uPA/SCID mice with human hepatocytes to study cross-genotype protection of HBV and a role of HBs antigen mutation in immunity escape. 61st American Association for the Study of Liver Disease (AASLD), Oct 29-Nov 2 2010, Boston MA, USA.
3. 菅内文中, 田中靖人, 田尻和人, 岸 裕幸, 山内 学, 城 卓志, 溝上雅史. ヒト肝細胞キメラマウスにおける B 型肝炎ウイルス感染防御の試み。第 46 回日本肝臓学会総会 2010 年 5 月 26-27 日 山形