

表 2 厚生労働省研究班, NIH, AASLD, EASL のガイドラインの比較

	厚生労働省研究班	NIH	AASLD	EASL
HBs 抗原(+)の場合	原則として、抗ウイルス薬(エンテカビル)を併用。	原則として、抗ウイルス薬を併用。 HBV DNAが中～高レベルの慢性 B 型肝炎の場合、抗ウイルス薬(テノホビル, エンテカビルなど)の長期投与が必要。 活動性の低い B 型肝炎キャリアの場合、ラミブジン, アデホビルの予防投与。	原則として、抗ウイルス薬を併用。 治療期間が短い(12ヵ月以内)なら、ラミブジンまたは telbivudine を使用できる。 治療期間が長いなら、エンテカビルまたはアデホビルが望ましい(エンテカビルは即効性がある)。インターフェロンは骨髄抑制効果の観点で避けるべきである。	HBV DNAのレベルにかかわらず、抗ウイルス薬を併用。 HBV DNA 量が少なく、耐性リスクが少ない患者では、ラミブジンで十分。 HBV DNA が多い場合、有効性が高く、耐性が少ないエンテカビルまたはテノホビルを推奨する。
HBs 抗原(-)で、HBc抗体(+)または HBs 抗体(+)の場合	HBV DNA(+)の場合：抗ウイルス薬(エンテカビル)を併用。 HBV DNA(-)の場合：HBV DNAを毎月モニタリング。陽性化したら、抗ウイルス薬(エンテカビル)を併用。	ALTとHBV DNAを注意深くモニタリング。HBV DNAが陽性化すれば、抗ウイルス薬を併用。 もし、厳しく、長い免疫抑制状態(臓器移植)や化学療法(リツキシマブなど)を行う場合は、抗ウイルス薬の予防投与も行うことを検討してもよい。	たまに再活性化が起こる。予防投与を推奨できるほどの情報がない。	ALTとHBV DNAを注意深くモニタリング。 HBV DNAが陽性化すれば(ALTは上昇していない段階で)、抗ウイルス薬を併用。
化学療法終了後	化学療法終了後少なくとも12ヵ月は継続し、この継続期間中、ALTが正常化、HBV DNAが持続陰性化している場合は、抗ウイルス薬の投与終了の検討が可能。 予防投与中止後も12ヵ月は厳重に経過観察する。HBV DNAが検出感度以上になったら、直ちに投与を再開する。	一般的に、化学療法終了後、2～6ヵ月抗ウイルス薬は継続する。 予防投与中止後、再活性化が起こることや、何年後かに起こることもある。予防投与を終了できるかどうかは明らかにされていない。	化学療法前HBV DNA<2,000 IU/mLの患者は、化学療法終了後、6ヵ月予防投与を継続すべきである。 化学療法前HBV DNA>2,000 IU/mLの患者は、治療のエンドポイントを達成するまで、継続すべきである。	化学療法終了後、12ヵ月継続する。

肝機能障害が認められない状態での核酸アナログ製剤の予防投与は、保険算定上問題であったが、2011年9月22日に保険適応としてよいとの発表があり、使用可能となっている。

2) HBs 抗原陰性の場合

HBc 抗体と HBs 抗体を測定し、どちらかが陽性であれば再活性化のリスクがあると判断して、HBV DNA

の定量を行う。HBV DNA が陽性であれば、抗ウイルス薬として核酸アナログ製剤の予防投与を行う。陰性(検出感度以下)であれば、HBV DNAを毎月モニタリングしながら、陽性化したら核酸アナログ製剤の投与を開始する。このHBV DNAのモニタリングも、2011年9月22日に保険適応とする旨の公告があり算定可能

となっている。また、HBc 抗体と HBs 抗体がともに陰性であれば再活性化のリスクはないと判断して、定期的なHBV DNAの経過観察は必要とされていない。

3) 予防投与すべき抗ウイルス薬

HBVの再活性化に対する抗ウイルス薬の予防投与の有用性を示すランダム化比較試験では、ラミブジンが

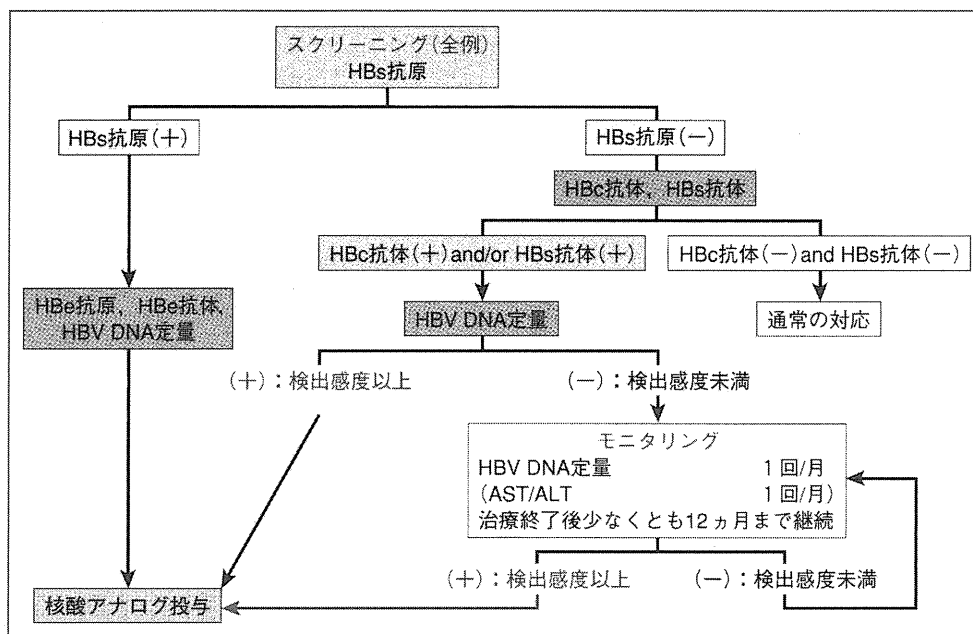


図1 免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策のガイドライン¹⁶⁾

使用されているが、HBV に対する治療効果、薬剤耐性の問題より、わが国ではエンテカビルが推奨されている。

4) 抗ウイルス薬の予防投与の投与中止時期

抗ウイルス薬の予防投与の終了に関する明確なエビデンスはない。化学療法終了後12ヵ月は投与を継続し、ALTの正常化とHBV DNAの持続陰性化がみられる場合には、投与終了を検討することが可能である。また、投与終了後も12ヵ月間は厳重な経過観察が必要である。

HBV 再活性化の今後の課題

上記のように「免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策のガイドライン」¹⁶⁾が作成されたが、こ

のガイドラインは、悪性リンパ腫におけるリツキシマブやステロイドのような免疫抑制の強い化学療法剤を意識し作成されたものであり、すべての症例でここまで厳密な対応が必要かどうかは疑問視されており、下記のような問題点が指摘されている。

- ① HBs 抗原陽性例での HBV 再活性化は、血液疾患に対する化学療法や骨髄移植時などではよく調べられているが、固形がんに対する化学療法時における HBV 再活性化の頻度、再活性化を起こしやすい化学療法の種類、再活性化の特徴などはまだ十分に明らかにされていない。
- ② HBs 抗原陰性で、HBc 抗体または HBs 抗体陽性例は高リスク群と位置づけられているが、HBV 再活性化の頻度、再活性化を起こ

しやすい化学療法の種類やがん腫、再活性化の特徴、対処方法などについて、まだ十分に明らかにされていない。

- ③ HBs 抗原陰性で、HBc 抗体または HBs 抗体陽性例に対して化学療法を施行するときにも、月に1回の定期的な HBV DNA のモニタリングが推奨されているが、その有用性は示されていない。

免疫抑制や化学療法による HBV の再活性化対策のガイドラインは、再活性化のリスクを避けるために、エビデンスも十分に示されないままガイドラインが先行している現状で、今後しっかり計画された前向き試験を行い、HBV の再活性化の現状を明らかにすることが必要である。

おわりに

HBV の再活性化はリツキシマブを含む化学療法において、HBs 抗原陰性で、HBc 抗体または HBs 抗体陽性のいわゆる既往感染と考えられていた症例からもしばしば認めることから近年注目されているが、実際にどのぐらいの頻度で再活性化が起こるのか、再活性化のリスクが高いレジメンは何か、どのような頻度でモニタリングをすべきなのかなど明らかにされていないことが多い。現在、国内外でさまざまな臨床研究が行われており、今後、HBV の再活性化のエビデンスがきちんと示されることに期待したい。

文 献

- 1) Dervite I, Hober D, Morel P : Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N Engl J Med* 344 : 68-69, 2001
- 2) Yeo W, Johnson PJ : Diagnosis, prevention and management of hepatitis B virus reactivation during anticancer therapy. *Hepatology* 43 : 209-220, 2006
- 3) Lubel JS, Angus PW : Hepatitis B reactivation in patients receiving cytotoxic chemotherapy ; diagnosis and management. *J Gastroenterol Hepatol* 25 : 864-871, 2010
- 4) Hui CK, Cheung WW, Zhang HY, et al : Kinetics and risk of de novo hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology* 131 : 59-68, 2006
- 5) Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, et al : Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma. *Int J Hematol* 90 : 13-23, 2009
- 6) Yeo W, Chan TC, Leung NW, et al : Hepatitis B virus reactivation in lymphoma patients with prior resolved hepatitis B undergoing anticancer therapy with or without rituximab. *J Clin Oncol* 27 : 605-611, 2009
- 7) Yeo W, Chan PK, Ho WM, et al : Lamivudine for the prevention of hepatitis B virus reactivation in hepatitis B s-antigen seropositive cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *J Clin Oncol* 22 : 927-934, 2004
- 8) Umemura T, Tanaka E, Kiyosawa K, et al : Mortality secondary to fulminant hepatic failure in patients with prior resolution of hepatitis B virus infection in Japan. *Clin Infect Dis* 47 : e52-e56, 2008
- 9) Lau GK, Yiu HH, Fong DY, et al : Early is superior to deferred preemptive lamivudine therapy for hepatitis B patients undergoing chemotherapy. *Gastroenterology* 125 : 1742-1749, 2003
- 10) Jang JW, Choi JY, Bae SH, et al : A randomized controlled study of preemptive lamivudine in patients receiving transarterial chemo-lipiodolization. *Hepatology* 43 : 233-240, 2006
- 11) Martyak LA, Taqavi E, Saab S : Lamivudine prophylaxis is effective in reducing hepatitis B reactivation and reactivation-related mortality in chemotherapy patients ; a meta-analysis. *Liver Int* 28 : 28-38, 2008
- 12) Loomba R, Rowley A, Wesley R, et al : Systematic Review ; the effect of preventive lamivudine on hepatitis B reactivation during chemotherapy. *Ann Intern Med* 148 : 519-528, 2008
- 13) Lok AS, McMahon BJ : Chronic Hepatitis B. *Hepatology* 45 : 507-539, 2007
- 14) NIH Consensus Development Conference Statement on Management of Hepatitis B. *NIH Consensus and State-of-the-Science Statements* 25 : 2008
- 15) European Association For The Study Of The Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines ; Management of chronic hepatitis B*. *J Hepatol* 50 : 227-242, 2009
- 16) 坪内博仁, 熊田博光, 清澤研道, 他 : 免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策 - 厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班 劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究」班合同報告 - . *肝臓* 50 : 38-42, 2009

<特別寄稿>

B型肝炎 universal vaccination へ向けて

四柳 宏^{1)*} 田中 靖人²⁾ 齋藤 昭彦³⁾ 梅村 武司⁴⁾ 伊藤 清顕⁵⁾
 柘植 雅貴⁶⁾ 高橋 祥一⁶⁾ 中西 裕之⁷⁾ 吉田香奈子⁸⁾ 世古口 悟⁹⁾
 高橋 秀明¹⁰⁾ 林 和彦¹¹⁾ 田尻 仁¹²⁾ 小松 陽樹¹³⁾ 菅内 文中¹⁴⁾
 田尻 和人¹⁵⁾ 上田 佳秀¹⁶⁾ 奥瀬 千晃¹⁰⁾ 八橋 弘¹⁷⁾ 溝上 雅史⁵⁾

要旨：B型肝炎ワクチンは諸外国では乳児期に全員が接種を受けるユニバーサルワクチンである。しかしながら我が国では任意接種（セレクトティブワクチネーション）となっており，母児感染防止の場合のみワクチン接種が健康保険でカバーされている。

こうしたセレクトティブワクチネーションのみでは我が国のB型肝炎を制圧することは困難である。

本稿では平成23年6月2日に第47回日本肝臓学会（小池和彦会長）において行われたワークショップ「B型肝炎 universal vaccination へ向けて」の内容を紹介しながら，ユニバーサルワクチネーションに関してまとめてみたい。

索引用語： セレクトティブワクチネーション 母子感染 水平感染
 De novo肝炎 HBV Genotype

1 B型肝炎の感染防止策

1) 我が国における感染防止策

1972年にHBs抗原の検査が広く行われるようになり，B型肝炎慢性肝疾患の自然史や実態が明らかにされていった。慢性肝炎の症例には家族集積性があることが以前からわかっていたが，その多くがHBs抗原陽性であることが判明した¹⁾。また，B型肝炎ウイルスキャリア妊婦から生まれた児の20～30%が持続感染へ移行することが明らかにされた²⁾。このため，我が国のB型肝炎対策の大きな柱は垂直感染の遮断に置かれることになった。

1975年，HBs抗原陽性の妊婦から生まれた児が高率に持続感染に移行すること，こうした症例の多くは胎内ではなく出生時に感染することが明らかにされた³⁾。また，持続感染に移行する症例のほとんどがHBe抗原陽性であり，HBe抗原陰性の場合は一過性感染を起こす場合はあるがキャリア化することは稀であることも判明した⁴⁾。このため，HBe抗原陽性の母親から生まれた児を対象に高力価抗HBsヒト免疫グロブリン(HBIG)を用いてHBs抗原陽性の母親からの垂直感染を防御しようとする試みが行われた。HBIGを約1年間反復投与している間は児はHBs抗原陰性であったが，中止するとやがてHBs抗原陽性となる児が生じ，受動免疫だけ

-
- 1) 東京大学医学系研究科生体防御感染症学
 - 2) 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学
 - 3) 国立成育医療研究センター内科系専門診療部感染症科
 - 4) 信州大学医学部消化器内科
 - 5) 国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター
 - 6) 広島大学大学院医歯薬学総合研究科分子病態制御内科学
 - 7) 武蔵野赤十字病院消化器科
 - 8) 大阪市立大学医学部大学院医学研究科肝胆膵病態内科学
 - 9) 京都第一赤十字病院消化器科
 - 10) 聖マリアンナ医科大学消化器・肝臓内科
 - 11) 名古屋大学医学部附属病院消化器内科
 - 12) 大阪府立急性期・総合医療センター小児科
 - 13) 済生会横浜市東部病院こどもセンター肝臓消化器部門
 - 14) 名古屋市厚生院附属病院
 - 15) 富山大学医学部薬学研究部第三内科
 - 16) 京都大学大学院医学研究科消化器内科学
 - 17) 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター

*Corresponding author: hyotsu-ky@umin.ac.jp

§利益相反申告：四柳 宏⇨MSD(株)，中外製薬(株)
 八橋 弘⇨中外製薬(株)

<受付日2011年10月12日><採択日2011年12月29日>

では児の HBV キャリア化を完全には防ぐことができないことが明らかになった⁵⁶⁾。

1984年に国産の HB ワクチンによる能動免疫が使用可能となり、HBIG との併用による感染防御が行われるようになった⁷⁾。1985年には厚生省「B 型肝炎母子感染防止事業」が開始され、HBe 抗原陽性の母から 1986 年 1 月 1 日以降出生した児に対して全国的に HBIG と HBV ワクチンによる B 型肝炎母子感染防止が始まった (1995 年に保険診療で予防を行うようになった時点で、対象は HBe 抗原陽性/陰性を問わずすべての HBs 抗原陽性の母親に拡大された)。この事業実施前後の HBs 抗原陽性率の推移がいくつか報告されているが、どの報告でも母子感染は大きく減少している^{8)~11)}。また、小児の B 型肝炎細胞癌の発生が減少したことも最近報告された¹²⁾。これら一連の成果は我が国の基礎研究者、内科医、産婦人科医、小児科医の連携が生んだものであり、我が国の誇るべき成果である。

2) 台湾における感染防止策

台湾の HBs 抗原陽性率は日本と比べてはるかに高く (15~20%)、感染率を低下させることが急務であった。このため、HBs 抗原陽性の母親から生まれた新生児を対象に 1984 年に HB ワクチンが導入された¹³⁾。1986 年には接種の対象がすべての新生児に上げられた。ワクチン接種の対象は徐々に上げられ、1991 年には 20 歳未満のすべての国民がワクチン接種の対象となった。さらに HBs 抗原陽性の母親から生まれた児には、出生時に HBIG の投与が行われるようになった¹⁴⁾。

その結果、ユニバーサルワクチネーション導入 10 年後には、小学 1 年生 (6 歳) の HBs 抗原陽性率が 10.5% から 1.7% にまで低下した¹⁴⁾。また、6 歳から 14 歳の子供の 10 万人当たりの肝細胞癌の発生率は、1981~1986 年の期間の 0.70 から 1990~1994 年の 0.36 へと短期間で大幅に減少した¹⁵⁾。

3) アメリカにおける感染防止策

アメリカでは HB ワクチンが 1981 年から使われるようになったが、当初は職業感染対策として使用されていた。1991 年 Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) の Immunization Practices Advisory Committee からレコメンデーションが出され、HBs 抗原陽性の妊婦から生まれた児に対して HBIG と HB ワクチンを併用することが定められた¹⁶⁾。その後すべての新生児、19 歳未満の青少年、ハイリスク集団と段階的に接種対象が上げられていった。その結果 2005 年には、19 歳未満の子供及び青少年の感染率は 96% 減少し

た。

しかしながら 19 歳以上では 76% の減少に留まった¹⁷⁾。これは成人のワクチン接種率が低いためと考えられた。

4) その他の国における感染防止策

イタリア、中国、タイ、ガンビアなどはユニバーサルワクチンを早い時期から導入してきた国である。こうした国では必ずしも高価な HBIG を使用できたわけではないが、国民の HBV 感染率を 70% 程度減少させることに成功している。乳幼児期以降の水平感染の防止効果と思われる¹⁸⁾。こうした事実もふまえ、WHO は出産時の母児感染予防としてユニバーサル HB ワクチンを推奨している¹⁹⁾。1992 年にはすべての WHO 加盟国に対して、1997 年までに B 型肝炎ワクチンを Expanded Program on Immunization (EPI : 予防接種拡大プログラム) に組み入れるよう勧告が出されている²⁰⁾。

2 セレクティブワクチネーションとユニバーサルワクチネーション

2007 年の段階で WHO の勧告を受け入れず、セレクティブワクチネーションを行っているのは、先進国ではヨーロッパの 7 カ国 (デンマーク、フィンランド、アイスランド、オランダ、ノルウエー、スウェーデン、イギリス) と日本のみである。アイルランドは国民の HBV キャリア率が 2% 未満であったが、移民の増加や STD や旅行に伴う感染者の増加を契機に、経済効果も考慮に入れた上で 1998 年からユニバーサルワクチンを導入した²¹⁾²²⁾。

セレクティブワクチネーションは、B 型肝炎に感染する可能性が高い人のみを対象としてワクチン接種を行う方法である。これまでの疫学的事実から、国民の HBs 抗原陽性率が中程度 (2% から 8%) 以上の場合には、国民全員を対象にしたユニバーサルワクチネーションを採用した方が効果的とされている。また、国民の HBs 抗原陽性率が低い (2% 未満) 場合は、ユニバーサルワクチネーションの他、ハイリスクグループを対象にしたセレクティブワクチネーションも効果的とされている²³⁾。

ハイリスクグループには様々な集団がある。どのような集団がヨーロッパ 7 カ国でセレクティブワクチネーションの対象にされているかを Table 1 に示した。母子感染防止以外に多くのハイリスクグループが公費助成の対象とされていることがわかる。特に B 型肝炎ウイルスキャリアの同居家族や静脈注射常習者 (IV drug

Table 1 Selective vaccination 実施国におけるワクチン接種対象者

	職業上の リスク*	家族 接触†	キャリア 妊婦から の出生児	養護施設、 介護施設の 患者や職員	免疫不全患者 や頻回輸血が 必要な患者‡	ハイ リスク 集団 §	両親が高また は中浸淫地域 出身の子供 \$	HB キャリア がいる保育 園 (託児所) の園児	職業ではないが 針刺しや血液へ の曝露の危険性 がある人
デンマーク	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
フィンランド	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No	No	Yes
アイスランド	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
アイルランド	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No
オランダ	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes**
ノルウェー	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
スウェーデン	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes (2005-)	Yes	No
英国	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes
日本	No	No	Yes	No	No	No	No	No	No

* 医療関係者、警察などの警備関係者、救急消防関係者、高浸淫地域で働く予定の学生、性風俗労働者。フィンランドでは HBV ワクチン接種は雇用者に責任がある。

† B 型急性肝炎、B 型慢性肝炎患者の配偶者、sex パートナー、家族、同居人

‡ 慢性腎不全、慢性肝炎、血友病患者

§ 薬物常用者の sex パートナー/子供/同居人、MSM (men who have sex with men)、複数の sex パートナーを有する人、囚人、刺青芸術家、高浸淫地域からの移民または高浸淫地域への旅行者

\$ 高浸淫地域からの移民の子ども、高浸淫地域からの養子とその教育者を含む家族

(文献 69 を一部改変)

user)、MSM (men who have sex with men) はすべての国で公費助成の対象とされている²²⁾。日本の公費助成(健康保険の適応)の対象がキャリア妊婦に限られているのとは大きな差がある。

このように日本はこれまで少ない費用で大きな効果を上げてきた世界でも希有な国である。その理由は母子感染防止事業の実施率が極めて高かったからと推測される。その背景には、ほとんどの出産が医療機関で行われること、産婦人科医/小児科医に母子感染防止事業の遵守が徹底したこと、乳児へのワクチン接種に家族が熱心であったこと、国民の衛生に対する意識が高かったことなどがある。

3 B 型肝炎の水平感染防止は重要である

1) 乳幼児期の水平感染防止

乳幼児期の B 型肝炎への感染に関してはこれまで長期にわたり検討が行われてきた。母子垂直感染の標準予防処置に関してはよく守られていることが本ワークショップでも田尻(仁)らにより報告された。従って母子感染阻止失敗例の多くは、妊娠中の母親の感染を主因とする胎内感染である。

その一方で父親を中心とする同居家族からの感染が母子感染阻止失敗例とほぼ同数認められる^{24)~26)}。B

型肝炎ウイルスキャリアの体液には感染性を持つ HBV が含まれることが今回小松らにより明らかにされたが、父子感染を含めた家族内感染の大きな原因と思われる。

以下に述べるように本邦の B 型急性肝炎の主体は Genotype A に代わりつつあり²⁷⁾、Genotype A の HBV キャリアに占める割合も増加傾向にある²⁸⁾²⁹⁾。これはヨーロッパにおける持続感染の 95% は水平感染によるという事実と整合する³⁰⁾。今後は本邦でも Genotype A の HBV キャリアから乳幼児への水平感染が問題になる可能性がある。

前述の通り B 型肝炎ウイルスキャリアの同居家族は海外では公費助成の対象となっており、本邦においても早急に検討が必要である。また、保育施設等での水平感染も乳幼児期の感染の原因として問題となる³¹⁾。

2) STD (sexually transmitted diseases) としての B 型急性肝炎の予防

現在思春期以降の B 型急性肝炎のほとんどは性交渉によって伝播する。性風俗の多様化に伴い、不特定多数の異性との性交渉、男性間での性交渉が増えてきており、半数以上を占めている²⁷⁾。

現在の B 型急性肝炎罹患患者(無症状の者も含む)は年間約 11,000 人程度と推定されている(伊藤)。症状を有する B 型急性肝炎に占める Genotype A の割合は増

加傾向にあるが²⁷⁾、今回のワークショップでも症状を有する B 型急性肝炎の約半数が Genotype A の感染によることが、複数の演者 (伊藤、柘植、中西、林) から報告された。従って不特定多数の異性との性交渉、男性間での性交渉による B 型急性肝炎(その多くが Genotype A)は年間 3,000 人以上を占めるものと推定される。

旧国立病院機構の調査によれば B 型急性肝炎の約 2% が劇症化するとされているが³²⁾、現在もなお B 型急性肝炎からの劇症化例、死亡例があることが梅村ら、松田らによって報告された。また、Genotype A の B 型急性肝炎の 1 割前後が遷延、慢性化することが明らかにされつつあるが³³⁾、今回のワークショップでもその傾向は同じであることが、梅村、伊藤、柘植の発表で明らかにされた。Genotype A の B 型慢性肝炎の自然史には不明な点もあるが、肝硬変/肝細胞癌に至る症例の割合はヨーロッパと東アジア諸国と大差はない³⁴⁾こと、Genotype A と D の進展肝疾患の合併率に大きな差がないこと³⁵⁾を考えると肝硬変/肝細胞癌に進展する例が数%存在することは間違いないと思われる。

こうした実態を考えると STD としての B 型急性肝炎をワクチンで予防することは重要なことである。海外からは STD としての B 型急性肝炎の予防には 11-12 歳でのユニバーサルワクチンが効果的であるとの報告がある。奥瀬らが発表したようにこの年代層の抗体獲得率は乳児期同様高い³⁶⁾。また、HPV ワクチンの接種は現在、主として中学 1 年生から高校 1 年生の女子に対し行われている。今後本邦でも中学生から高校生を対象にした HB ワクチンの接種を検討する必要がある。

3) De novo 肝炎の予防

リツキシマブが使用されるようになって以来、B 型肝炎既感染例からの HBV 再活性化が数多く報告されるようになった。本邦の前向き調査では B 型肝炎既感染例の 12% に再活性化が見られると報告されており³⁷⁾、さらに大規模な全国調査も現在名古屋市立大学を中心として進行中である。リツキシマブを使用する化学療法の際には日本肝臓学会から出された“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”³⁸⁾が適用されることが多く、重症化例の報告は見られなくなっているが、検査及び投薬に多額の費用がかかっている。また、TNF- α 阻害薬など分子標的薬による再活性化の報告も最近増えてきている^{39)~41)}。

こうした再活性化の防止のために、最も効率的な手段は HB ワクチンにより B 型肝炎ウイルスへの感染そのものを阻止することである。

4) 輸血後肝炎の予防

現在輸血時の B 型肝炎スクリーニングは 20 プール NAT (Nucleic Acid Amplification Test) で行われている。この方法ではウィンドウ期 (感染後 HBV DNA が陽性となるまでの時期) や肝炎治癒後に血中に微量に存在するウイルスを検出できない場合があり、現在も年間 10 例程度の輸血後 B 型肝炎が発生している (http://www.jrc.or.jp/vcms_lf/iyakuhin_yuketuj1010-125_10102_9.pdf)。輸血後肝炎の防止のためには HB ワクチンにより B 型肝炎ウイルスに対する免疫を獲得しておくことが最も有効である。

4 基調講演の内容

今回のワークショップでは国立成育医療研究センター感染症科、米国感染症専門医の齊藤昭彦先生による基調講演が行われた。その内容は以下の通りである。

(1) アメリカをはじめ、先進国をはじめとした多くの国々ではユニバーサル HB ワクチンが導入されているが、日本は HB ワクチンを含め、定期接種に組み入れられていない重要なワクチンが他の先進国と比べて多い。

(2) アメリカではワクチンの安全性、効果を ACIP (Advisory Committee on Immunization Practices) が政府と独立して科学的、客観的事実に基づいて評価しており、スケジュール等の決定に大きな役割を果たしている。日本でもこのような機関の設置が望まれる。

(3) ワクチンで防御可能な感染症に関しては、集団の接種率を上げることによって社会全体がその感染症に免疫を持ち (集団免疫, Herd Immunity)、予防接種が不完全あるいは不可能な新生児・乳幼児や高齢者、基礎疾患を持つ人などを守ることができる。この考えは HB ワクチンが海外でユニバーサルワクチンとなっている大きな理由である。

(4) 日本小児科学会は本年学会として勧奨するワクチンスケジュール (http://www.jpeds.or.jp/saisin/saisin_110427.pdf) を公表した。この中では HB ワクチンは“乳児期に他のワクチンと同時接種を行うべき”ワクチンと位置づけられている。また、乳幼児期の接種を行っていない 10 歳以上の学童に対しては、水平感染予防のための HB ワクチンを日本小児科学会として推奨すると明記されている。

5 ワorkshopで討議が行われたその他の問題

1) HIV/HBV 重複感染

B 型肝炎の感染経路、MSM が増加しつつあることを

考えると、B 型肝炎には HIV 感染症を合併する可能性がある。栢植、高橋（祥一）らは B 型肝炎 34 例中 7 例（21%）が HIV との重複感染だと発表した。また、世古口らは HIV 感染症患者 59 名中 6 名が HBs 抗原陽性であることを発表した。B 型肝炎の新規症例に対しては患者の了承を得て HIV スクリーニング検査を行うことが望ましい。なお、HIV 合併例に対するエンテカビル投与は、HIV 薬剤耐性を誘発する可能性が高いので、単独での使用は避けるべきであることがガイドラインで明記されている (http://www.hivjp.org/guidebook/hiv_14.pdf)。

2) 慢性化の予知は可能か？

B 型肝炎の慢性化を予知し、阻止することが今後重要である。高橋（秀明）らは HBs 抗原及び HBcr 抗原の定量で予測がある程度可能であることを発表した³³⁾。

3) 現在のワクチンで異なる Genotype の HBV 株やワクチンエスケープ変異株の感染防御は可能であるか
管内にはキメラマウスを用いた in vivo 系で、田尻（和人）らは in vitro の細胞培養系で検討を行い、Genotype の異なる HBV 株やワクチンエスケープ変異株の感染防御は可能であるとの成績を示した⁴²⁾。ただし、特に後者に関しては比較的高い抗体価が必要である。抗体価が低い場合はウイルスの再感染を完全には防御できないことを示唆する成績も出されており⁴³⁾、ワクチン接種により十分な抗体価を得ることが望ましい。肝移植のレシピエントの肝内ではエスケープ変異株が高率に検出されることが今回発表され(上田)、水平感染の可能性も含め今後の検討が必要と思われた。

4) HBIG に関して

HBIG は血液製剤であり、製造には HBs 抗体価が高力価陽性の供血者が必要である。このような供血者を確保するにはワクチン接種者の中で HBs 抗体の反応が良好な方の協力が必要不可欠であるが、ワクチン接種者が少ない現状では供血者の確保が困難になりつつある。八橋らは厚生労働省班研究の一環として、HBs 抗体陽性例に HB ワクチン投与し、HBs 抗体力価を上昇させ献血に協力いただくという積極的、能動的収集を日本赤十字社との共同研究で始めているが、非常に重要な HBIG の供給源となる可能性がある。

6 日本肝臓学会役員・評議員に対するアンケートの結果

2009 年のワークショップ「ユニバーサル HB ワクチン

ン：是か非か？」に先立ち、日本肝臓学会役員・評議員を対象にしたアンケートが行われ、結果が公表されている⁴⁴⁾。今回も同様のアンケートを実施した。アンケート項目を Table 2 に示す。回収率は全体で 40% (86/214) であった。

質問 1：ユニバーサルワクチンの導入に賛成かどうか
賛成 98%，どちらでもない 2%，であった。

質問 2：ユニバーサルワクチンの接種対象者はどうすべきか

乳幼児及び青少年 73%，乳幼児のみ 21%，青少年のみ 6%，であった。

質問 3：（乳幼児及び青少年と回答した場合）乳幼児、青少年のどちらから開始するか

同時に開始する 61%，青少年から 23%，乳幼児から 16%，であった。

質問 4：乳幼児の接種時期の変更は必要か
必要である 45%，どちらでもよい 37%，必要ない 16%，その他 2%，であった。

質問 5：青少年へ接種する場合その時期はいつが適当か
12 歳 69%，15 歳 27%，その他 4%，であった。

質問 6：ワクチン接種で陽性となった HBs 抗体の力価が低下した場合、ワクチンの追加投与（ブースター）は必要か

不要である 44%，どちらとも言えない 37%，必要である 19%，であった。

その他の意見

* 抗体陽性化した症例に対する数年後ブースターの是非（感染を防ぐのか肝炎を防ぐのか）を明確にしてほしい。

* UV の導入には諸家の意見があると思うが、日本では垂直感染予防プログラムが奏効していること、幼児期の水平感染は少ないと考えられること、青年期以降のゲノタイプ A の浸淫はきわめて危惧すべき状況であること、などから、まずは青年期から開始して、次に、その必要性を吟味した上で、乳幼児期へ拡大する 2 段階法で十分ではなかろうか。

* 麻疹ワクチンの接種でも判明したが、思春期は子宮頸癌ワクチンのようなインパクトのあるキャンペーンをしないと良好な接種率は得られないと思う。従って、あらゆる手段で啓発するとともに、青年期は小 6 での接種が最も効果的と考える。

* 乳幼児期にワクチン接種→青年期に抗体価チェック→陰性であればブースターワクチン接種、というのはいかがであらうか？

Table 2 HB ワクチンに関するアンケート

-
- 1 ユニバーサルワクチンへの導入に関して先生のご意見をお聞かせ下さい。(どれか一つを○で囲んで下さい。以下も同様です。)
 - a. 賛成
 - b. 反対
 - c. どちらでもない
 - 2 ユニバーサルワクチンを行う場合の接種時期はいつにすべきでしょうか
 - a. 乳幼児のみを対象とする
 - b. 青少年のみを対象とする
 - c. 乳幼児, 青少年の両方を対象とする
 - 3 (2でcとお答えの先生のみ) 乳幼児, 青少年のどちらから開始すべきでしょうか。
 - a. 乳幼児から開始する
 - b. 青少年から開始する
 - c. 同時に開始する
 - 4 乳幼児にワクチン接種を行う場合, 現在の接種時期 (2カ月後, 3カ月後, 5カ月後) を変更する (6日以内, 1カ月後, 6カ月後) ことにより, 接種率を上げるべきであるという意見がありますが, 先生はどうお考えですか。
 - a. 現在の接種時期のままでよい
 - b. 接種時期を変更すべきである
 - c. どちらでもよい
 - d. その他 (以下にお書き下さい。)
 - 5 青少年への接種を行う場合, 何歳が適当でしょうか。
 - a. 12歳 (小学校卒業時あるいは中学校入学時)
 - b. 15歳 (中学校卒業時あるいは高等学校入学時)
 - c. 18歳 (高等学校卒業時あるいは大学入学時)
 - d. その他 (歳)
 - 6 乳幼児期にワクチン接種を受け, HBs 抗体が陽転化した場合, 青少年期の追加接種は必要でしょうか。
 - a. 必要である
 - b. 不要である
 - c. どちらとも言えない。
 - 7 その他御意見があれば以下にお願い致します。
-

*B型のみならず, A型肝炎についても, ユニバーサル接種をご検討頂きたい。

*本邦の急性肝炎の実態調査を肝硬変同様学会として行うことが望ましい。

*社会全体のワクチンに対する理解が必要である。そのためには日本肝臓学会が主体となって啓発活動を行うことが重要かと考える。

*複数の施設の疫学調査による一般集団における高いHBc抗体陽性率を考えれば全年令においてHBVの感染リスクが存在することは明らかであり, アジア, 米国を始めとする各国の国際標準に合わせ, 本邦においても早急に導入すべきと思う。

*ユニバーサルワクチンがほぼ100%に行われれば de novo 肝炎も抑制できるはずである。

*当院でもHBVの急性肝炎により劇症化し, 肝移植

が必要だったり, 死亡したりする症例が転院してくる。ぜひHBワクチンの導入をお願いしたい。

前回に比較してアンケートの回収率は低かったものの(前回65%), ユニバーサルHBワクチンの導入に反対する意見はなかった。16%がユニバーサルHBワクチンに反対であった2年前と比べ, 学会役員, 評議員の考え方に変化が見られることが伺えた。

7 ワークショップからの提言

以上のアンケート結果及び発表内容をもとに, ワークショップの司会者及び発表者からユニバーサルワクチンに関して以下の提言を行う。なお, この提言はワークショップ当日提示した案を司会者及び発表者が改めて検討し, 提示するものである。今後学会内で議論して頂く必要があると思われる。

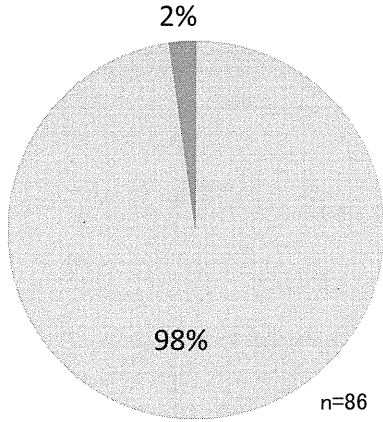


Fig. 1 ユニバーサルワクチンの導入に賛成かどうか

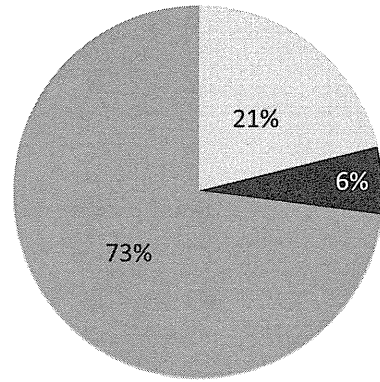


Fig. 2 ユニバーサル HB ワクチンの接種対象者はどうすべきか

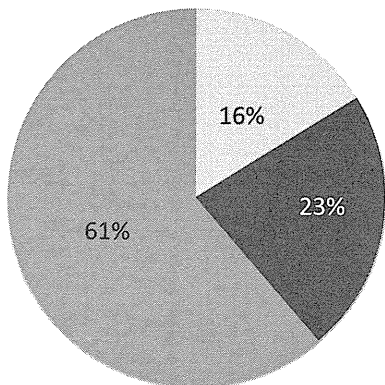


Fig. 3 乳幼児、青少年のどちらから開始するか

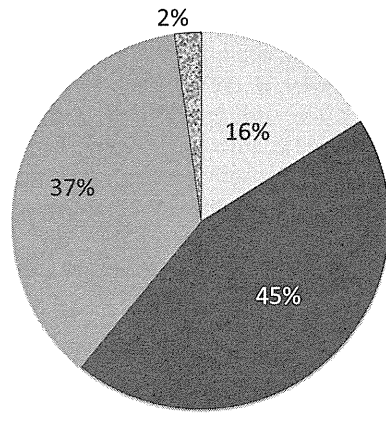


Fig. 4 乳幼児の接種時期の変更は必要か

1 すべての国民が HB ワクチンを接種するユニバーサルワクチンの実施を強く推奨する。

2 ユニバーサルワクチンの対象は乳児であるが、乳児期にワクチンを受けなかった 15 歳以下の児童を対象にキャッチアップを同時に施行する。この両年齢層に対する接種は同時に開始することが望ましい。

3 キャッチアップの時期は原則 12 歳(小学 6 年生)とする。また、12 歳以上 15 歳以下の児童で 12 歳時にキャッチアップを受けなかった者は 15 歳(中学 3 年生)時にキャッチアップを行う。

4 乳幼児の接種時期に関しては日本小児科学会など関連学会と今後も検討していく。

5 HBs 抗体が陽性から陰性に転じた場合のブースター接種の必要性に関しては今後も検討を続ける。

8 ユニバーサルワクチンを行う上での問題点

B 型肝炎の現状とユニバーサルワクチンの必要性を議論する機会は日本肝臓学会でも毎年行われている。以下はユニバーサルワクチンの導入にあたって検討が必要な問題である。

1) B 型肝炎疾患に関する正確な疫学データの収集

B 型急性肝炎の届け出数は、2003 年の新感染症法施行以来、年間数百例と大きく減少した。B 型急性肝炎は感染症法上 5 類感染症全数把握疾患に定められており、

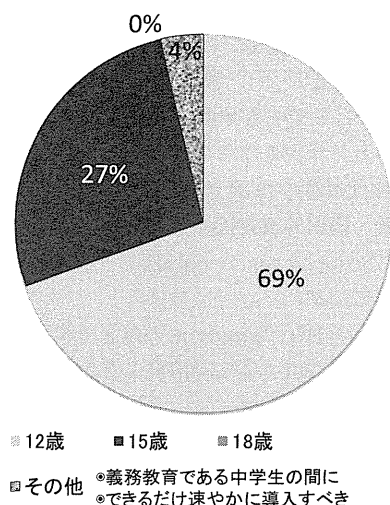


Fig. 5 青少年へ接種する場合その時期はいつが適当か

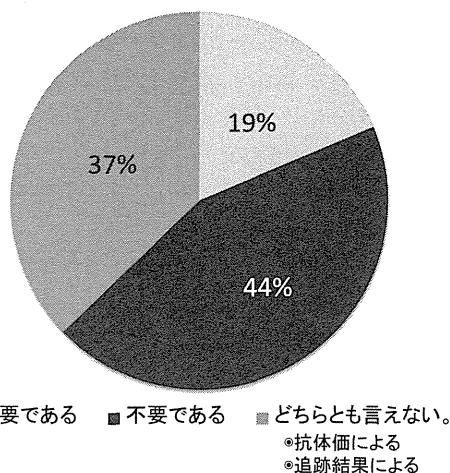


Fig. 6 HBs 抗体価低下の際にブースターは必要か

全例診断7日以内に届け出ることが義務づけられているが、このことが周知されていないためと思われる。B型急性肝炎で入院する患者をDPCで把握し患者数を推測する試み、劇症肝炎の補助金受給者数から患者数を推測する試み、献血者の解析から患者数を推測する試みが現在までに行われているが、届け出に基づかなければ正確な患者数の把握はできない。新規感染者及び慢性化例が増えているかどうかを把握することは重要なことであり、より正確なデータを収集する努力、届出率を向上させる努力が必要である。また、日本のキャリア率は主として献血者数から推計されているが、世界標準は無作為に抽出された5歳児のキャリア率である。健康診断や予防接種の機会などを利用して、国際的に認可されるキャリア率を算出することを検討すべきである。

2) ワクチンの長期効果に関する検討

ワクチンで獲得した抗体は抗原刺激がないと徐々に低下していく。乳児期の接種で獲得した抗体価が低下した場合、ワクチンの追加接種により抗体価は上昇するため、乳児期にユニバーサルワクチンを行った場合でも水平感染防止のためには青年期で追加接種を行うことが望ましいとの意見があり、実際にこのような接種を行っている国もある。ワクチンの長期効果と抗体が陰転化した場合の対応に関しては今回のアンケートでも意見が分かれたところであり、今後の検討が必要である。

3) ワクチン不応者に対する対策

現在日本には遺伝子組み換えで作られたワクチン2種類が存在するのみである。乳児期から青年期にかけての接種では2%程度のワクチン不応例が出る可能性があり、こうした症例に対する追加接種の経路、量、方法などに関する検討が必要である。

4) ワクチンの評価、副反応への対応

現在日本には米国のACIPに相当するワクチンの評価を行う専門機関が存在せず、行政主導で副反応への対応が行われている。今後は関連学会とも協議した上でワクチンの評価、副反応への対応を現在以上に科学的に行う体制を構築していくことが望ましい。

5) 現行の母子感染防御対策の継続

冒頭に述べたように、日本の母子感染防御事業は大きな成果を挙げた。これは出産時のHBVへの感染をHBIGで防ぎ、HBIGで中和できなかったウイルスによる肝炎の発症及び出生後の水平感染の予防をHBワクチンで行うという二段階の感染防御が行われて初めて可能なことであった。ユニバーサルワクチンのみでは母子感染は完全には防御できない。従来通りHBIGとHBワクチンを併用した母子感染防御を継続する必要がある。

9 コメント

本ワークショップでは溝上雅史先生のコメントがあった。コメントの内容は以下の通りである。

Workshop 4 : B 型肝炎 Universal vaccination へ向けて

B 型肝炎ウイルス (HBV) は、1964 年に Blumberg により発見され 45 年も経過し、そのワクチンも開発されたにも関わらず、現在も世界中で約 4 億人の持続感染者 (HB carrier) が存在し、年間約 50-70 万人もが死亡していると推定されている公衆衛生上世界的に重要な疾患である⁴⁵⁾。

HB carrier の多くはアジア・アフリカ地域に存在している。従って本邦の近隣地域のアジア諸国では一般住民の約 10% 以上の HB carrier が存在する国が多いにも関わらず、本邦と台湾は HBV 制圧に成功した国として世界的に知られている。

その対策の大きな役割を果たしたのが HB ワクチンの新生児への積極的導入である。本邦を例として取ると、2000 年の時点で全年齢での HB carrier 率は約 0.67%、50 歳以上で約 1.2%、25 歳以下では 0.017% となっている。このように若年の感染率が低下したのは、両国での先人の長年の疫学調査・ウイルス学的研究により、HBV の再生産が主に母児感染によることを明らかにしたことが大きい。そして、その対策として本邦では 1986 年以降全国規模で国費による全妊婦の HBs 抗原の測定と HBsAg 陽性母から生まれる新生児への生後一週間以内の高力価抗 HBs 抗体グロブリン (HBIG) と HB ワクチン投与 (Selective vaccination : SV 政策) が行われるようになった。一方、台湾もほぼ同じ時期に全新生児への HB ワクチン投与を開始し、HBV 感染予防に大きな成果をあげている (Universal vaccination : UV 政策)。

SV, UV の両政策とも HBV 感染予防対策としては公衆衛生上大きな成功をもたらしたが、行われた政策が異なった理由は、当時の両国の諸事情の違いによると思われる。日本の場合、1) 当時、各種ワクチンの副作用キャンペーンにより国民にワクチン恐怖症があったこと、2) 1980 年代の HB ワクチンの副作用の問題が必ずしも全面的に明らかでなかったこと、3) 妊婦検診や HBsAg 検査を行い且つ出生直後に HBIG, HB ワクチンを行うことが可能な全国的行政組織が完備していたこと、4) それらの政策を賄い得る状態に国の経済があったこと、などの理由から SV が選択されたが、現在から見て当時のどちらの政策が正しかったかは、先に上げたように各々の国の背景の違いによることであり、必ずしも優劣をつけられることでは無いと思われる。

本邦では HBV に対する SV 政策の成功により、現在では 25 歳以下の年代では HB carrier 率は 0.017% になっ

た。その結果、これらの若者は HBV に対しては免疫フリー状態となったと言っても過言ではない。その結果、成人の初感染が増加し、特に STD としての感染が増加し、現在では最低でも年間約 10,000 人も感染していると推測される状況となっている⁴⁶⁾。

1980 年代以降の PCR 革命に伴う HBV に関するウイルス学的・臨床的研究はめざましく、HBV に対する概念は、“Changing concept of HBV” と呼ばれるほど大きく変化した。

その一つが HBV Genotype の概念の確立である⁴⁷⁾⁴⁸⁾。これにより、今まで本邦には存在しなかった HBV genotype A が流入していること、それによる以前には考えられなかった成人の初感染からの慢性化が現実の問題となってきていることが判明した。しかし、その実態は必ずしも明らかではなく、慢性化率も、英国の Sherlock は自分の臨床的経験から 10% としているが⁴⁹⁾、本邦では 3~30% と報告により大きく異なっており⁵⁰⁾⁵¹⁾、一定の結論は得られていない。

二つ目の新たな概念は、HBV による劇症肝炎の詳細である。従来、HBV による劇症肝炎は本邦には多いが欧米には少なく長い間これは謎であった。本邦の研究者達は、HBV DNA の precore や core promoter の変異が劇症肝炎に関与することを明らかにした^{52)~54)}。更にこれらの変異は HBV genotype によりその頻度が異なり、本邦に多い genotype B や C に多く、欧米に多い genotype A には少ないことも明らかにした⁵⁵⁾。

これらの知見は、成人の HBV 初感染はほとんどが自然治癒し、慢性化しないから予防する必要が無いとする従来の考えに大きな疑問を投げかけることとなった。

三つ目の新たな概念として HBV の再活性化が明らかにされたことがある。1994 年 Chazouilleres らが肝移植例で術後 HBs 抗原が陽転化した 20 例中 6 例が HBc 抗体陽性ドナーからの移植例であることを明らかにしたのが始まりである⁵⁶⁾。この事実は、1997 年 Uemoto らが、HBc 抗体陽性ドナー 16 例から肝移植を受けた患者全員に、HBIG で予防したにも関わらず HBV 感染が成立したことを報告したことにより確定的となった⁵⁷⁾。しかしながら、これらの報告はあくまで肝移植という世界での免疫抑制下での特異例として従来考えられていた。

一方、1998 年 Yotsuyanagi は B 型肝炎を長期 follow し HBsAg 陰性化後も血中に HBVDNA が存在することを⁵⁸⁾、2003 年 Yuki には同様に B 型肝炎を最大 9.5 年も follow し、血中や肝組織中に HBVDNA が存在

し、肝組織中に cccDNA も存在していることを明らかにし⁵⁹⁾、免疫抑制下でない一般人でも一度 HBV に感染すると、HBsAg 陰性となったとしても長期にわたり HBVDNA 増殖が起こっていることを示した。

さらに決定的であったのは、2006 年 Hui らが、HBsAg 陰性且つ HBc 抗体陽性 Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) に対して其の標準治療薬である分子標的治療薬の Rituximab 投与により HBsAg 陽性に再活性化することを明らかにしたことである⁶⁰⁾。この現象は本邦でも起こっていることを我々も確認した。その後の本邦における全国調査でも Rituximab を含む全身化学療法後に重篤な肝炎を起こした 111 例中 50 例が HBsAg 陰性からの再活性化例で内 25 例が死亡し、その 25 例中内 19 例が劇症肝炎であったことも明らかになった⁶¹⁾。

これらの結果は、HBV の遺伝子内に逆転写酵素が存在することを考えれば納得のいく結果で、HBV は血清 HBsAg が陰性化しても肝組織では存在し、少量であるが増殖していること、免疫抑制下では容易に再活性化しうることを示している。さらにこのような免疫を作動させる主に各種癌に対する各種分子標的治療薬が続々と開発されており、それに伴う再活性化例も続々と報告されていることも先の DLBCL の Rituximab による再活性化を補完している。

HBV に対する概念が変化した一方、社会そのものの変化も HBV 感染症に影響を及ぼしている。その大きな要因は“性”に関する寛容度の高まりである。従来、日本では“性”、特に性感染症 (STD) は忌むべきものとして扱われてきたが、HIV の発生以降はこれを社会の一部として積極的に認め、社会に取り込み、一緒に自分の問題と考えることで、STD の感染拡大を防ごうという世界的な大きな流れとなっている。HBV と HIV との共感染率が高いのもその流れの中で考えると納得でき、本邦もその大きな流れの中にある⁶²⁾。従って、従来の性教育での感染防止は絶対に必要であるが、それだけでは感染拡大を防ぐことはできない社会状況にあることも認めざるを得ないと思われる。

社会的変化のもう一つの大きな要因は、経済の globalization とそれに伴う国際交流の増加にある。従来のように全てを国内で製造し、他国に輸出する日本に都合の良い経済体制は今や通用せず、全ての分野での国際協力体制を取らないと本邦の経済は成り立たなくなっているのが現状で、年間約 700~800 万人の外国人が入国し、約 2,000 万人の日本人が海外に出国している。しかも其の多くがアジア諸国である。その結果、好むと好

まざるとに関わらず HBV に感染する機会が増加することはいまでもない。

HBV 感染症が変化してきた原因の最後にワクチンそのもの問題がある。HBV の変異速度はヒトの遺伝子の変異速度と比較すると約 10,000 倍も早く、さらに HBV が quasispecies で存在することを考えれば、たった一つの HB ワクチンクローンに対して vaccine induced escape mutant (VEM) ができることは容易に推察できる。特に液性免疫や細胞性免疫の攻撃に常にさらされている S 領域のアミノ酸 111 番から 156 番までのいわゆる α -loop 領域は頻回に変異する。 α -loop 領域の変異に関する最初の報告は 1990 年 Carman らによる 145 番目のアミノ酸の変異 (Gly145Arg) だが⁶³⁾、その後の検討でこの領域の他の変異も報告され、それに伴う VEM が多数報告されている^{64)~67)}。しかし、その頻度や病態との関係等についての正確な報告が少ないのは大いに気にかかるところである。

更に全くデータが認められないのが異なる genotype 間での HB ワクチンの効果に関する検討である。本邦では HBV genotype C 株由来の HB ワクチンを使用して成功しているが、現在増加しつつある HBV genotype A に対する感染予防効果については全く検討されていないと言っても過言ではない。しかも、本年 3 月の New England Journal Medicine の Stramer らの報告によると、HB ワクチンの投与を受けた献血者が partner から HBV に感染したとされている⁶⁸⁾。この報告によると異なる genotype に対する予防効果は同じ genotype に対する効果より低いと思われる。さらにこの論文では、“Our findings show the efficacy of the HBV vaccine for the prevention of clinical diseases but not infection” と述べられている。即ち、HB ワクチン接種で予防できたと信じられている症例の中にも、臨床症状が無いために HBV には感染していないと思われる症例が含まれている可能性が高い。もし、そうであれば、HBsAg 陰性且つ HBc 抗体陽性例からの再活性化を防ぐためには単なる現在の universal vaccination では不十分だということになる。

B 型肝炎の対策には以上のように新たな事実や社会の変容など複雑な問題が絡みあっていることを認識すべきである。また、現在の本邦の経済状態から考えて多額の費用 (年間数百億円が必要と計算されている) を要する universal vaccination を導入しようとするなら、上記に上げた問題点をできるだけ早期に明らかにする必要がある。

謝辞：本総説論文の執筆にあたっては、白木和夫先生、藤澤知雄先生、矢野右人先生に御指導頂きました。篤く御礼申し上げます。

献辞：本総説論文を矢野公士先生に捧げます。

文 献

- 1) 大林 明. 「厚生省肝炎研究連絡協議会 昭和 59 年度研究報告」 p106—108
- 2) Shiraki K, Yoshihara N, Kawana T, et al. Hepatitis B surface antigen and chronic hepatitis in infants born to asymptomatic carrier mothers. *Amer J Dis Childr* 1977; 131: 644—647
- 3) Okada K, Yamada T, Miyakawa Y, et al. Hepatitis B surface antigen in the serum of infants after deliver from asymptomatic carrier mothers. *J Pediatr* 1975; 87: 360—363
- 4) Okada K, Karniyama I, Inomata M, et al. e antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *N Engl J Med* 1976; 294: 746—749
- 5) 白木和夫, 桜井迪朗, 衛藤 隆, 他. 抗 HB ヒト免疫グロブリンによる HB ウイルス垂直感染阻止に関する検討. *医学のあゆみ* 1981 ; 116 : 878—880
- 6) 藤澤知雄. B 型肝炎ウイルス (HBV) の母子垂直感染と抗 HBs ヒト免疫グロブリンおよび HB ワクチンの併用によるその予防. *日大医学雑誌* 1984 ; 43 : 133—152
- 7) Kanai K, Takehiro A, Noto H, et al. Prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus (HBV) to children of e antigen-positive HBV carrier mothers by hepatitis B immune globulin and HBV vaccine. *J Infect Dis* 1985; 151: 287—290
- 8) Shiraki K. Vertical transmission of hepatitis B virus and its prevention in Japan. *In: Viral Hepatitis and Liver Disease*, Edited by K Nishioka, et al. Springer-Verlag, Tokyo, 1994, p530—532
- 9) 白木和夫. 「厚生省子ども家庭総合研究事業「後障害防止に向けた新生児医療のあり方に関する研究」分担研究. 平成 11 年度研究報告書」 2000
- 10) Noto H, Terao T, Ryou S, et al. Combined passive and active immunoprophylaxis for preventing perinatal transmission of the hepatitis B virus carrier state in Shizuoka Japan during 1980—1994. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 943—949
- 11) Koyama T, Matsuda I, Sato S, et al. Prevention of perinatal hepatitis B virus transmission by combined passive-active immunoprophylaxis in Iwate, Japan (1981—1992) and epidemiological evidence for its efficacy. *Hepatol Res* 2003; 26: 287—292
- 12) Tajiri H, Tanaka H, Brooks S, et al. Reduction of hepatocellular carcinoma in childhood after introduction of selective vaccination against hepatitis B virus for infants born to HBV carrier mothers. *Cancer Causes Control* 2011; 22: 523—527
- 13) Chen DS, Hsu NH, Sung JL, et al. A mass vaccination program in Taiwan against hepatitis B virus infection in infants of hepatitis B surface antigen-carrier mothers. *JAMA* 1987; 257: 2597—2603
- 14) Hsu HM, Lu CF, Lee SC, et al. Seroepidemiologic Survey for Hepatitis B Virus Infection in Taiwan: The Effect of Hepatitis B Mass Immunization. *J Infect Dis* 1999; 179: 367—370
- 15) Chang MH, You SL, Chen CJ, et al, the Taiwan Hepatoma Study Group. Decreased Incidence of Hepatocellular Carcinoma in Hepatitis B Vaccinees: A 20-Year Follow-up Study. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1348—1355
- 16) CDC. Hepatitis B vaccine: a comprehensive strategy for eliminating transmission in the United States through universal childhood vaccination. *MMWR* 1991; 40: RR-13
- 17) CDC. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP); Part II: immunization of adults. *MMWR* 2006; 55: RR-16
- 18) CDC. Progress in hepatitis B prevention through universal infant vaccination—China, 1997—2006. *MMWR* 2007; 56: 441—445
- 19) WHO Weekly epidemiological record. 2009, 40, 405—420 (<http://www.who.int/wer/2009/wer8440/en/index.html>)
- 20) World Health Organization Report of the fourteenth meeting of the Global Advisory Group of the Expanded Programme on Immunization. *Wkly Epidemiol Rec* 1992; 3: 11—15
- 21) Tilson L, Thornton L, O'Flanagan D, et al. Cost effectiveness of hepatitis B vaccination strategies in Ireland: an economic evaluation. *Eur J Public*

- Health 2008; 18 (3): 275—282
- 22) Zuckerman J, Hattum J, Cafferkey M, et al. Should hepatitis B vaccination be introduced into childhood immunisation programmes in northern Europe? *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 410—419
- 23) Beutels P. economic evaluations of hepatitis B immunization: a global review of recent studies (1994—2000). *Health econ* 2001; 10: 751—774
- 24) 乾あやの, 小松陽樹, 日衛嶋栄太郎, 他. B 型肝炎母子感染防止不成功例の解析. *肝臓* 2010 ; 51 : 445—457
- 25) Komatsu H, Inui A, Sogo T, et al. Source of transmission in children with chronic hepatitis B infection after the implementation of a strategy for prevention in those at high risk. *Hepato Res* 2009; 39: 569—576
- 26) 広田俊子, 大野尚文, 矢野和則. HB virus 父子間感染の検討—子供に対する HB vaccine の適応. *肝臓* 1987 ; 28 : 427—432
- 27) 山田典栄, 四柳 宏, 小坂橋優, 他. 首都圏における B 型肝炎の実態と変遷: —Genotype A に焦点をあてて—. *肝臓* 2008 ; 49 : 553—559
- 28) Orito E, Ichida T, Sakugawa H, et al. Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 2001; 34: 590—594
- 29) Matsuura K, Tanaka Y, Hige S, et al. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection in Japan shifting toward an increase of genotype A. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1476—1483
- 30) Hadziyannis SJ. Natural history of chronic hepatitis B in Euro-Mediterranean and African Countries. *J Hepatol* 2011; 55: 183—191
- 31) Hayashi J, Kashiwagi S, Nomura H, et al. Hepatitis B virus transmission in nursery schools. *Am J Epidemiol* 1987; 125: 492—498
- 32) 矢野公士, 八橋 弘. 高齢者急性肝炎・劇症肝炎の実態と対策. *肝胆膵* 2006 ; 53 : 95—100
- 33) 高橋秀明, 奥瀬千晃, 四柳 宏, 他. B 型肝炎の経過予測における HBs 抗原定量の有用性. *肝臓* 2011 ; 52 : 380—382
- 34) Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol* 2008; 48: 335—352
- 35) Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, et al. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002; 123: 1848—1856
- 36) 奥瀬千晃, 四柳 宏, 山田典栄, 他. 当院および関連施設における B 型肝炎ワクチン接種の有用性に関する検討. *肝臓* 2011 ; 52 : 87—93
- 37) Niitsu N, Hagiwara Y, Tanae K, et al. Prospective Analysis of Hepatitis B Virus Reactivation in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma After Rituximab Combination Chemotherapy. *J Clin Oncol* 2010; 28: 5097—5100
- 38) 坪内博仁, 熊田博光, 清澤研道, 他. 免疫抑制・化学療法により発症する B 型肝炎対策—厚生労働省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」班劇症肝炎分科会および「肝硬変を含めたウイルス性肝疾患の治療の標準化に関する研究」班合同報告一. *肝臓* 2009 ; 50 : 38—42
- 39) Raftery G, Griffiths B, Kay L, et al. Chronic viral hepatitis and TNF-alpha blockade. *Rheumatology* 2007; 46: 1381
- 40) Montiel PM, Solis JA, Chirinos JA, et al. Hepatitis B virus reactivation during therapy with etanercept in an HBsAg negative and anti-HBs-positive patient. *Liver Int* 2008; 28: 718—720
- 41) Urata Y, Uesato R, Tanaka D, et al. Prevalence of reactivation of hepatitis B virus replication in rheumatoid arthritis patients. *Mod Rheumatol* 2011; 21: 16—23
- 42) Tajiri K, Ozawa T, Jin A, et al. Analysis of the epitope and neutralizing capacity of human monoclonal antibodies induced by hepatitis B vaccine. *Antiviral Res* 2010; 87: 40—49
- 43) Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic Acid Testing to Detect HBV Infection in Blood Donors. *N Engl J Med* 2011; 364: 236—247
- 44) 田中靖人, 四柳 宏, 矢野公士, 他. ユニバーサル HB ワクチネーション: 是か非か? *肝臓* 2009 ; 50 : 598—604
- 45) Blumberg BS, Alter HJ, Visnich SA. A new antigen in leukemia sera. *J Amer Med Ass* 1965; 191: 541—546
- 46) Sako A, Yasunaga H, Horiguchi H, et al. Acute hepatitis B in Japan: Incidence, clinical practices and health policy. *Hepato Res* 2011; 41: 39—45
- 47) Norder H, Hammas B, Lofdahl S, et al. Comparison

- of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. *J Gen Virol* 1992; 73: 1201—1208
- 48) Ohba K, Mizokami M, Ohno T, et al. Relationships between serotypes and genotypes of hepatitis B virus: genetic classification of HBV by use of surface genes. *Virus Res* 1995; 39: 25—34
- 49) Sherlock SDJ. *Virus hepatitis. In: Diseases of the Liver and biliary system*, Edited by S DJ Sherlock, 10th edn, Blackwell Scientific Publications, London, 1997, p265—392
- 50) Yano K, Tamada Y, Yatsushashi H, et al; Japan National Hospital Acute Hepatitis Study Group. Dynamic epidemiology of acute viral hepatitis in Japan. *Intervirology* 2010; 53: 70—75
- 51) Suzuki Y, Kobayashi M, Ikeda K, et al. Persistence of acute infection with hepatitis B virus genotype A and treatment in Japan. *J Med Virol* 2005; 76: 33—39
- 52) Akahane Y, Yamanaka T, Suzuki H, et al. Chronic active hepatitis with hepatitis B virus DNA and antibody against e antigen in the serum. Disturbed synthesis and secretion of e antigen from hepatocytes due to a point mutation in the precore region. *Gastroenterology* 1990; 99: 1113—1119
- 53) Omata M, Ehata T, Yokosuka O, et al. Mutations in the precore region of hepatitis B virus DNA in patients with fulminant and severe hepatitis. *N Engl J Med* 1991; 324: 1699—1704
- 54) Sato S, Suzuki K, Akahane Y, et al. Hepatitis B virus strains with mutations in the core promoter in patients with fulminant hepatitis. *Ann Intern Med* 1995; 122: 241—248
- 55) Laskus T, Rakela J, Nowicki MJ, et al. Hepatitis B virus core promoter sequence analysis in fulminant and chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1995; 109: 1618—1623
- 56) Chazouillères O, Mamish D, Kim M, et al. “Occult” hepatitis B virus as source of infection in liver transplant recipients. *Lancet* 1994; 343: 142—146
- 57) Uemoto S, Sugiyama K, Marusawa H, et al. Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplants. *Transplantation* 1998; 65: 494—499
- 58) Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998; 27: 1377—1382
- 59) Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003; 37: 1172—1179
- 60) Hui CK, Cheung WW, Zhang HY, et al. Kinetics and risk of de novo hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology* 2006; 131: 59—68
- 61) Umemura T, Tanaka E, Kiyosawa K, et al; Japan de novo Hepatitis B Research Group. Mortality secondary to fulminant hepatic failure in patients with prior resolution of hepatitis B virus infection in Japan. *Clin Infect Dis* 2008; 47: e52—56
- 62) Koike K, Kikuchi Y, Kato M, et al. Prevalence of hepatitis B virus infection in Japanese patients with HIV. *Hepatol Res* 2008; 38: 310—314
- 63) Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990; 336: 325—329
- 64) Fujii H, Moriyama K, Sakamoto N, et al. Gly145 to Arg substitution in HBs antigen of immune escape mutant of hepatitis B virus. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184: 1152—1157
- 65) Okamoto H, Yano K, Nozaki Y, et al. Mutations within the S gene of hepatitis B virus transmitted from mothers to babies immunized with hepatitis B immune globulin and vaccine. *Pediatr Res* 1992; 32: 264—268
- 66) Yamamoto K, Horikita M, Tsuda F, et al. Naturally occurring escape mutants of hepatitis B virus with various mutations in the S gene in carriers seropositive for antibody to hepatitis B surface antigen. *J Virol* 1994; 68: 2671—2676
- 67) Hino K, Okuda M, Hashimoto O, et al. Glycine-to-arginine substitution at codon 145 of HBsAg in two infants born to hepatitis B e antigen-positive carrier. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 566—570
- 68) Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med* 2011; 364: 236—247
- 69) 小松陽樹, 乾あやの, 藤澤知雄. B型肝炎ワクチン. *小児内科* 2010; 42: 1993—1997

Universal vaccination of hepatitis B virus vaccine

Hiroshi Yotsuyanagi^{1)*}, Yasuhito Tanaka²⁾, Akihiko Saitoh³⁾, Takeji Umemura⁴⁾, Kiyooki Ito⁵⁾,
 Masataka Tsuge⁶⁾, Shoichi Takahashi⁶⁾, Hiroyuki Nakanishi⁷⁾, Kanako Yoshida⁸⁾,
 Satoru Sekoguchi⁹⁾, Hideaki Takahashi¹⁰⁾, Kazuhiko Hayashi¹¹⁾, Hitoshi Tajiri¹²⁾,
 Haruki Komatsu¹³⁾, Fuminaka Sugauchi¹⁴⁾, Kazuto Tajiri¹⁵⁾, Yoshihide Ueda¹⁶⁾,
 Chiaki Okuse¹⁰⁾, Hiroshi Yatsushashi¹⁷⁾, Masashi Mizokami⁵⁾

Key words: selective vaccination mother-to-child transmission horizontal transmission
 de novo hepatitis HBV genotype

Kanzo 2012; 53: 117—130

- 1) Department of Infectious Diseases, Internal Medicine, University of Tokyo
- 2) Department of Virology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences
- 3) Division of Infectious Diseases, Department of Medical Specialties, National Center for Child Health and Development
- 4) Department of Medicine, Division of Hepatology and Gastroenterology, Shinshu University School of Medicine
- 5) The Research Center for Hepatitis and Immunology, National Center for Global Health and Medicine
- 6) Department of Medicine and Molecular Science, Division of Frontier Medical Science, Programs for Biomedical Research, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University
- 7) Department of Gastroenterology and Hepatology, Musashino Red Cross Hospital
- 8) Department of Hepatology, Graduate School of Medicine, Osaka City University
- 9) Department of Gastroenterology and Hepatology, Kyoto Daiichi Red Cross Hospital
- 10) Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, St Marianna University School of Medicine
- 11) Department of Gastroenterology, Nagoya University Graduate School of Medicine
- 12) Department of Paediatrics, Osaka General Medical Center
- 13) Department of Pediatrics, Saiseikai Yokohama Eastern Hospital
- 14) Department of Gastroenterology, Nagoya City Koseiin Medical Welfare Center
- 15) Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Toyama
- 16) Department of Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medicine, Kyoto University
- 17) Department of Therapeutic Research, National Hospital Organization (NHO) Nagasaki Medical Center

*Corresponding author: hyotsu-ky@umin.ac.jp

Hepatitis B virus–induced lipid alterations contribute to natural killer T cell–dependent protective immunity

Sebastian Zeissig^{1,2}, Kazumoto Murata³, Lindsay Sweet⁴, Jean Publicover⁵, Zongyi Hu³, Arthur Kaser^{1,9}, Esther Bosse², Jahangir Iqbal⁶, M Mahmood Hussain^{6,7}, Katharina Balschun⁸, Christoph Röcken⁸, Alexander Arlt², Rainer Günther², Jochen Hampe², Stefan Schreiber², Jody L Baron⁵, D Branch Moody⁴, T Jake Liang^{3,10} & Richard S Blumberg^{1,10}

In most adult humans, hepatitis B is a self-limiting disease leading to life-long protective immunity, which is the consequence of a robust adaptive immune response occurring weeks after hepatitis B virus (HBV) infection. Notably, HBV-specific T cells can be detected shortly after infection, but the mechanisms underlying this early immune priming and its consequences for subsequent control of viral replication are poorly understood. Using primary human and mouse hepatocytes and mouse models of transgenic and adenoviral HBV expression, we show that HBV-expressing hepatocytes produce endoplasmic reticulum (ER)-associated endogenous antigenic lipids including lysophospholipids that are generated by HBV-induced secretory phospholipases and that lead to activation of natural killer T (NKT) cells. The absence of NKT cells or CD1d or a defect in ER-associated transfer of lipids onto CD1d results in diminished HBV-specific T and B cell responses and delayed viral control in mice. NKT cells may therefore contribute to control of HBV infection through sensing of HBV-induced modified self-lipids.

Conventional T and B cells have a crucial role in HBV infection^{1–5}. In contrast, the contribution of cells at the interface between innate and adaptive immunity, such as NKT cells, remains controversial⁶. NKT cells respond in a T cell receptor (TCR)-restricted manner to lipid antigens presented by CD1d on professional and nonprofessional antigen-presenting cells and show pronounced cytokine secretion within hours of cognate antigen recognition, which enables broad effects on activation of other innate (NK) and adaptive (T and B) immune cells^{7,8}. Given the central role of NKT cells in both direct and indirect modulation of the immune system, NKT cells have been shown to be crucial in the defense against a variety of microbial pathogens⁸.

Analysis of liver gene expression in chimpanzees 2 weeks after HBV infection has shown evidence for a lack of induction of immune-related genes, suggesting that HBV acts a stealth virus that escapes innate immune responses during early infection⁹. However, studies in HBV-infected humans and chimpanzees have demonstrated the presence of HBV-specific T and B cells within weeks of infection, consistent with successful priming of an adaptive immune response^{1,10,11}. These observations suggest that HBV might be susceptible to recognition by the immune system directly after infection. Accordingly, recent studies in animal models of *Hepadnaviridae* infection and

in HBV-infected humans have shown activation of NKT cells at very early time points following infection^{10–12}. Thus, infection of woodchucks with woodchuck hepatitis virus led to hepatic NKT cell infiltration within 48 h, which correlated with interferon- γ (IFN- γ) secretion and temporary suppression of viral replication¹². These findings are consistent with the observation that pharmacological stimulation of invariant NKT (iNKT) cells, a subset of NKT cells defined by expression of the V α 14-J α 18 TCR in mice and V α 24-J α 18 TCR in humans, leads to rapid IFN- γ -dependent inhibition of viral replication in transgenic mice expressing replication-competent HBV genomes¹³. Similarly, a study of humans during the incubation phase of HBV infection showed increased levels of peripheral NK cells consistent with innate immune activation early after HBV infection¹¹. Most notably, a recent report on two humans with HBV demonstrated very early activation of peripheral natural T cells, a population of cells that phenotypically resemble classical NKT cells. Natural T cell activation preceded activation of NK and conventional T cells and was associated with subsequent control of HBV infection¹⁰. These studies demonstrate a correlation between viral control and NKT cell activation. To investigate whether NKT cells are an important checkpoint that contributes to control of HBV infection, we studied various *in vitro* and *in vivo* models of HBV infection.

¹Division of Gastroenterology, Hepatology, and Endoscopy, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA. ²Department of Internal Medicine I, University Medical Center Schleswig-Holstein, Christian-Albrechts-University, Kiel, Germany. ³Liver Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, US National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. ⁴Division of Rheumatology, Immunology and Allergy, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts USA. ⁵Department of Medicine, Liver Center, University of California–San Francisco, San Francisco, California, USA. ⁶Department of Cell Biology, State University of New York Downstate Medical Center, Brooklyn, New York, USA. ⁷Department of Pediatrics, State University of New York Downstate Medical Center, Brooklyn, New York, USA. ⁸Department of Pathology, University Medical Center Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Christian-Albrechts-University, Kiel, Germany. ⁹Present address: Division of Gastroenterology and Hepatology, Addenbrooke's Hospital, School of Clinical Medicine, University of Cambridge, Cambridge, UK. ¹⁰These authors contributed equally to this work. Correspondence should be addressed to R.S.B. (rblumberg@partners.org) or T.J.L. (tliang@nih.gov).

Received 15 February; accepted 24 April; published online 17 June 2012; doi:10.1038/nm.2811



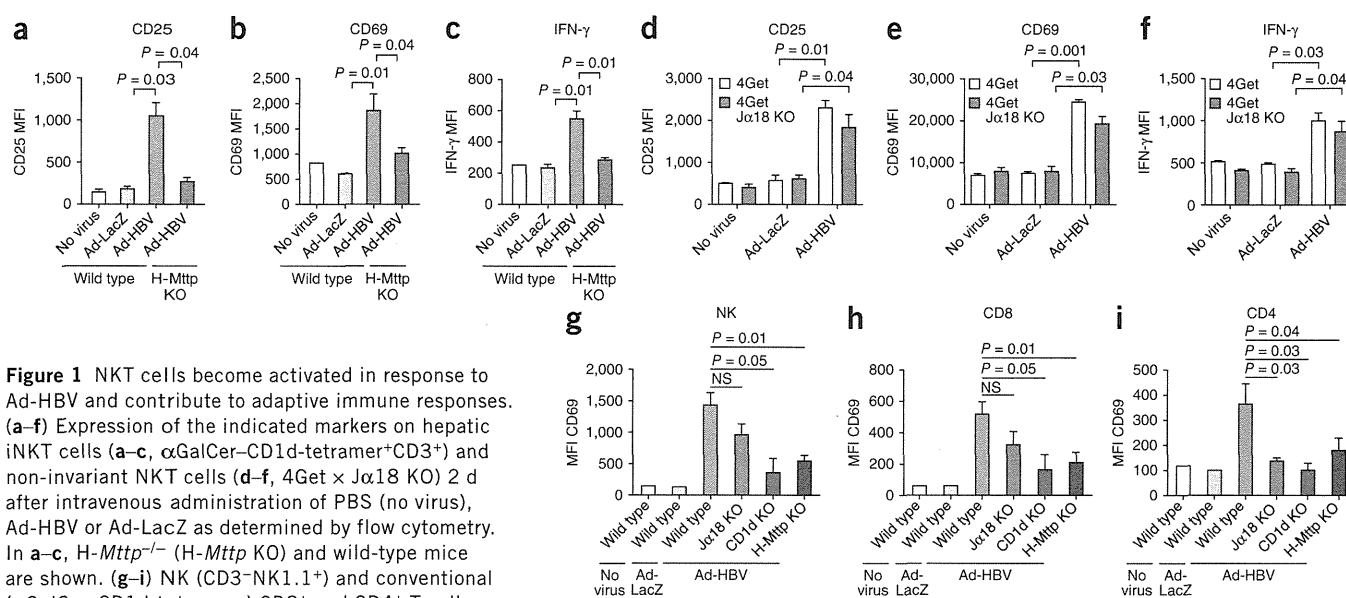


Figure 1 NKT cells become activated in response to Ad-HBV and contribute to adaptive immune responses. (a–f) Expression of the indicated markers on hepatic iNKT cells (a–c, α GalCer-CD1d-tetramer⁺CD3⁺) and non-invariant NKT cells (d–f, 4Get \times $J\alpha 18$ KO) 2 d after intravenous administration of PBS (no virus), Ad-HBV or Ad-LacZ as determined by flow cytometry. In a–c, H-Mttr^{-/-} (H-Mttr KO) and wild-type mice are shown. (g–i) NK (CD3⁺NK1.1⁺) and conventional (α GalCer-CD1d-tetramer⁻) CD8⁺ and CD4⁺ T cell activation 5 d after virus injection as described above. Shown is the mean fluorescence intensity (MFI). For all panels, data are means \pm s.e.m. of 4–6 mice per group. Results are representative of three independent experiments.

RESULTS

Early activation of NKT cells in response to Ad-HBV

To study NKT cell responses, we investigated a mouse model that overcomes the nonpermissiveness of mouse hepatocytes to HBV through adenoviral delivery of a replication-competent HBV genome under the control of its endogenous promoters^{14–16}. Injection of 1×10^9 HBV-expressing adenoviral particles (Ad-HBV), a dose shown by us (Supplementary Fig. 1a) and others¹⁶ to induce an immune response against HBV but not the adenoviral carrier, led to HBV replication (Supplementary Fig. 1b) followed by a rapid drop in hepatic HBV DNA and serum HBV surface antigen (HBsAg) that preceded hepatitis (Supplementary Fig. 1b,c). A control adenovirus expressing β -galactosidase (Ad-LacZ) did not lead to hepatitis, confirming HBV-dependent inflammation (Supplementary Fig. 1a)^{14–16}. As Ad-HBV infection in mice resembles the course of natural HBV infection in humans¹⁷, we further studied NKT cell responses in this model.

Notably, the entire population of liver but not splenic iNKT cells showed activation and IFN- γ secretion as early as 1 d after Ad-HBV but not Ad-LacZ administration and thus before histological inflammation and the rise in serum alanine aminotransferase (ALT) levels (Fig. 1a–c and Supplementary Fig. 2). Similar to iNKT cells, hepatic but not splenic noninvariant NKT cells, an NKT cell population expressing a rather diverse set of TCRs that were detected by a reporter model developed for these studies (see Supplementary Data and Supplementary Fig. 3), showed pronounced activation and IFN- γ secretion in response to Ad-HBV (Fig. 1d–f and Supplementary Fig. 4). In contrast, activation of NK and T cells was not observed until 3 d after Ad-HBV challenge (Fig. 1g–i and data not shown) and thus followed activation of NKT cells, similar to observations in patients with HBV¹⁰.

NKT cells contribute to the immune response against HBV

To investigate whether NKT cells contribute to innate and adaptive immune responses against HBV, we analyzed activation of liver mononuclear cells (LMNCs) in response to Ad-HBV in mice lacking

invariant NKT cells ($J\alpha 18$ -deficient mice) or all NKT cells (CD1d-deficient mice). In wild-type mice, hepatic NK, CD4⁺ and CD8⁺ T cells showed strong activation and IFN- γ secretion in response to infection with Ad-HBV, but not Ad-LacZ (Fig. 1g–i and data not shown). In contrast, CD1d-deficient mice showed significantly diminished NK, CD4⁺ and CD8⁺ T cell activation, whereas $J\alpha 18$ deficiency predominantly affected CD4⁺ T cell activation (Fig. 1g–i). Viral transduction of hepatocytes was similar in all mouse strains (Supplementary Fig. 5).

NKT-dependent activation was also observed for HBV-specific CD8⁺ T cell responses among liver mononuclear cells (LMNCs) against envelope (HBsAg, S, amino acids 190–197; VWLSVIWM) and HBV core (HBcAg, C, amino acids 93–100; MGLKFRQL) antigens analyzed *ex vivo* but not in response to phytohemagglutinin (Fig. 2a and Supplementary Fig. 6a,b). Analysis of LMNC responses to pools of peptides spanning the entire HBV envelope¹⁸ revealed pronounced defects in the magnitude but not diversity of HBV-specific CD8⁺ T cell responses in HBV envelope-transgenic \times $Rag1^{-/-}$ \times CD1d-deficient mice (HBVEnv $Rag1^{-/-}$ CD1d-deficient mice) that received, by adoptive transfer, wild-type splenocytes (Fig. 2b and Supplementary Fig. 6c). The adaptive immune defects extended to B cells, as levels of HBsAg-specific antibodies were lower in Ad-HBV-challenged CD1d-deficient and $J\alpha 18$ -deficient mice compared to wild-type mice (Fig. 2c) and in HBVEnv $Rag1^{-/-}$ CD1d-deficient mice compared to HBVEnv $Rag1^{-/-}$ mice (Fig. 2d), resulting in lack of sustained HBsAg clearance from serum (Fig. 2e). These data show that NKT cells contribute to activation of NK, T and B cells in different HBV mouse models.

In accordance with a central role of NKT cells in HBV-induced hepatitis^{19,20}, CD1d-deficient and $J\alpha 18$ -deficient mice showed reduced peak levels of serum ALT (Fig. 2f), liver IFN- γ (Fig. 2g) and hepatic immune cell infiltration (data not shown). However, CD1d-deficient and $J\alpha 18$ -deficient mice developed chronic low-grade inflammation that persisted at least to day 30 (Fig. 2f,h), the end of the observation period. This was associated with delayed clearance of serum HBsAg (Fig. 2i) and serum and liver HBV DNA

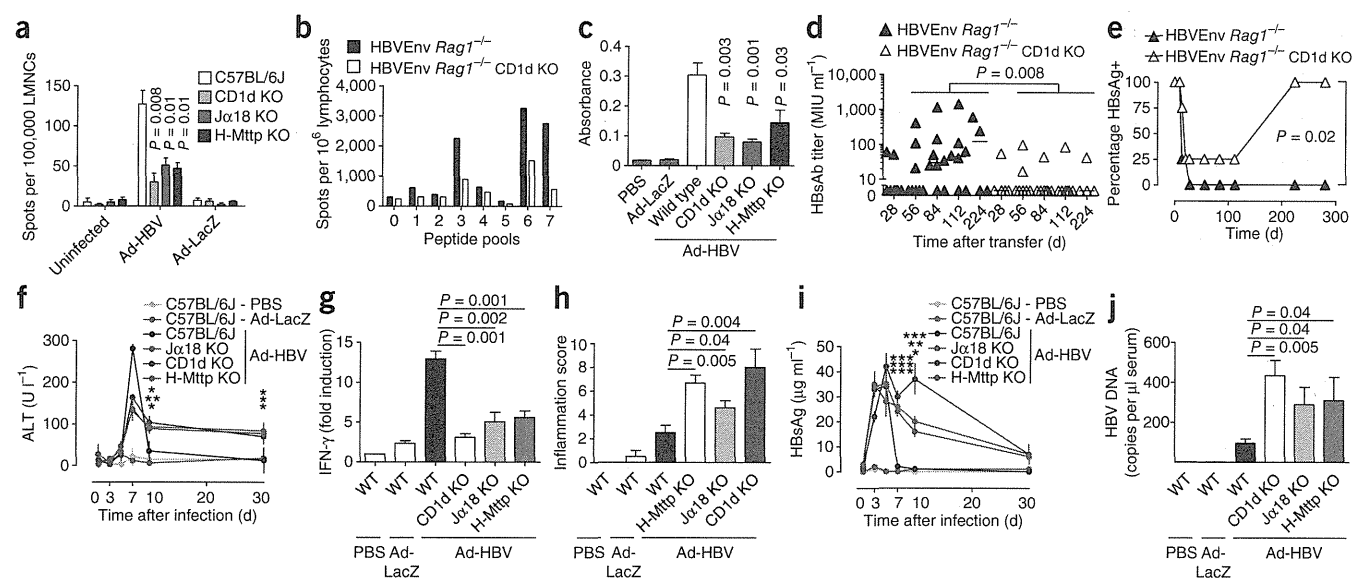


Figure 2 NKT cells contribute to control of Ad-HBV and prevent chronic hepatitis. (a) IFN- γ secretion by LMNCs after *in vitro* stimulation with HBsAg S190–197 peptide (VWLSVIWM) 14 d after injection of the indicated viruses. (b) IFN- γ -secreting cells as detected by enzyme-linked immunospot (ELISPOT) among LMNCs obtained 8 d after wild-type splenocyte transfer into HBV envelope \times Rag1 $^{-/-}$ (HBVEnv Rag1 $^{-/-}$) and HBVEnv Rag1 $^{-/-}$ CD1d-deficient mice (C57BL/6 background) and re-stimulation in the presence of the indicated HBV envelope peptide pools. (c) Anti-HBsAg level in wild-type mice 30 days after injection of the indicated viruses. (d,e) HBsAg-specific antibody (HBsAb) titers (d) and percentage of HBsAg-positive mice (e) at the indicated time after transfer of wild-type splenocytes into the indicated HBsAg-transgenic mouse strains. MIU, milli-international units. (f–j) Serum ALT (f), IFN- γ mRNA in liver tissue as determined by qPCR (g, day 5 after virus injection), histological grading of liver inflammation⁴⁴ (h, day 30 after virus injection), serum HBsAg (i) and serum HBV DNA (j, day 7 after virus injection). In f and i, significance levels as indicated by asterisks (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$) reflect from top to bottom α 18 KO, CD1d KO, H-*Mttp* KO versus control wild-type mice at each relevant time point. Mean \pm s.e.m. is shown in all panels (6–8 mice per group). Results are representative of two independent experiments.

(Fig. 2j) and **Supplementary Fig. 7d,e**), consistent with defects in viral control leading to chronic inflammation. Consistent with a crucial role of CD8 $^{+}$ T cells in the antiviral response against HBV¹, NKT cells were necessary but not sufficient for viral control, as *Tap1* $^{-/-}$ mice lacking CD8 $^{+}$ T cells also showed severe defects in HBV clearance (**Supplementary Fig. 7**). These results show that NKT cells contribute to the initiation of antiviral immune responses against HBV and to viral control and prevention of chronic viral replication in the Ad-HBV model.

HBV-infected human and mouse hepatocytes activate NKT cells

To identify the cell type responsible for NKT cell activation upon Ad-HBV challenge, we studied activation of NKT cell hybridomas in response to T cell-depleted liver and spleen mononuclear cells and primary hepatocytes obtained from Ad-HBV-infected mice. Ad-HBV-transduced hepatocytes but not T cell-depleted mononuclear cells induced activation of NKT cells (**Fig. 3a**, **Supplementary Fig. 8a** and data not shown). We observed similar activation of NKT cells upon *in vitro* exposure of primary hepatocytes to Ad-HBV (**Supplementary Fig. 8b**; for purity and transduction of primary hepatocytes see **Supplementary Fig. 9**).

NKT activation by Ad-HBV-infected hepatocytes was CD1d restricted (**Fig. 3b**) and limited to NKT cells, as demonstrated by unaffected major histocompatibility complex (MHC) class I presentation and CD8 $^{+}$ T cell activation (**Fig. 3c**). Activation was specific for a subset of invariant (24.7 cell line) and noninvariant (14S.6 cell line) mouse NKT cell hybridomas (**Fig. 3a**) and could also be demonstrated with human primary hepatocytes infected with Ad-HBV or a primary (nonadenoviral) HBV isolate (**Fig. 3d,e**). These data reveal an unanticipated role of hepatocytes in HBV-dependent NKT cell activation.

NKT cell activation is dependent on lipid transfer

Microsomal triglyceride transfer protein (MTP) is an ER-resident protein that transfers endogenous phospholipids onto CD1d and is crucial for CD1d function^{21–25}. To delineate the role of hepatocyte MTP and CD1d in Ad-HBV infection, we generated mice with hepatocyte-specific deletion of *Mttp*, which codes for MTP (H-*Mttp* $^{-/-26}$, **Supplementary Fig. 10a**). MTP deficiency led to severe defects in the presentation of endogenous and exogenous lipid antigens that were specific for hepatocytes and limited to CD1d (**Supplementary Fig. 10b–e**).

Consistent with a key role of MTP in HBV-induced and CD1d-restricted antigen presentation, primary hepatocytes from H-*Mttp* $^{-/-}$ mice showed impaired activation of NKT cells in response to Ad-HBV *in vitro* (**Fig. 3f,g** and **Supplementary Fig. 10**). We made similar observations upon chemical inhibition of MTP (**Supplementary Fig. 11**) and in human hepatocytes infected with a primary HBV isolate (**Fig. 3e**). These results were confirmed by *in vivo* experiments, in which NKT cells from Ad-HBV-challenged H-*Mttp* $^{-/-}$ mice showed reduced activation and impaired IFN- γ secretion (**Fig. 1a–c**). Accordingly, NKT cell-dependent activation of NK cells and HBV-specific T and B cells was impaired in H-*Mttp* $^{-/-}$ mice (**Fig. 1g–i**, **Fig. 2a,c** and **Supplementary Fig. 6a**). H-*Mttp* $^{-/-}$ mice showed diminished acute hepatitis, delayed viral control and chronic low-grade inflammation upon Ad-HBV challenge (**Fig. 2** and **Supplementary Fig. 7**). These data confirm that hepatocytes are the antigen-presenting cells responsible for NKT cell activation and show that this effect is dependent upon hepatocyte expression of MTP and CD1d.

Alterations in hepatocyte lipids upon Ad-HBV infection

Ad-HBV-induced NKT cell activation was not the consequence of altered CD1d expression or trafficking (**Supplementary Fig. 12a,b**).