

201320024A

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

小児におけるB型肝炎の水平感染の実態把握と
ワクチン戦略の再構築に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 須磨崎 亮

平成26 (2014) 年 3月

目 次

I. 総括研究報告書

- 小児におけるB型肝炎の水平感染の実態把握とワクチン戦略の再構築に関する研究----- 1
須磨崎 亮

II. 分担研究報告書

「小児期におけるB型肝炎ウイルス感染の実態把握」

1. 茨城県小学4年生における生活習慣病予防健診の残余血清を用いたB型肝炎疫学調査----- 25
福島 敬
2. 岩手県小学生におけるB型肝炎感染状況の研究----- 30
佐々木 美香
3. 小児HBV感染の調査に関する研究----- 32
清原 知子
4. 日本小児感染症学会（TORCH委員会）アンケート調査及び大阪小児科医会
小児期ウイルス肝炎アンケート調査からの小児B型肝炎キャリア率の推測----- 38
高野 智子
5. 垂直感染・水平感染別にみたB型肝炎ウイルス持続感染者の推計----- 42
田中 純子

「B型肝炎ワクチン接種後のHBs抗体陽転率とHBs抗体持続期間」

6. 筑波大学医学生におけるB型肝炎ワクチン初回接種後の効果および効果に寄与する
遺伝学的背景の検討----- 43
須磨崎 亮
7. 若年成人におけるB型肝炎ウイルス（HBV）およびHBVワクチンの抗体価持続期間と
初期低反応に寄与する遺伝的要因に関する研究----- 45
滝川 康裕
8. 大阪府立母子保健総合医療センターにおけるHBワクチン早期接種について----- 48
恵谷 ゆり
9. 筑波大学附属病院職員におけるB型肝炎ワクチン後の抗体価持続に関する研究----- 50
田川 学
10. B型肝炎ワクチンと免疫----- 53
村田 一素

「ジェノタイプの異なるウイルスに対するB型肝炎ワクチンの効果」

11. ジェノタイプが異なるウイルスに対するB型肝炎ワクチンの効果の検討----- 58
井上 貴子
12. B型肝炎ウイルスの異なるジェノタイプに対するワクチン効果に関する研究----- 60
黒川 真奈絵
13. HBs抗体保有者におけるHBV感染----- 65
内田 茂治

「B型肝炎ワクチン戦略の再構築」

14. HBV母子感染予防における問題点----- 70
森島 恒雄
15. 国際方式によるB型肝炎母子感染予防効果の検討----- 75
乾 あやの
16. HBワクチン接種のスケジュール変更に関する検討----- 81
久保 隆彦

Ⅲ. 参考資料： B型肝炎ウイルス母子感染予防のための新しい指針 -----	85
1. B型肝炎ウイルス母子感染予防のための新しい指針 -----	85
2. B型肝炎ワクチン接種時期の変更に伴う母子感染予防指針 低出生体重児等の特別な場合に対する日本小児科学会の考え方 -----	87
3. B型肝炎母子感染予防接種予診票（新生児・乳児用） -----	90
Ⅳ. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	93

I . 総括研究報告書

小児における B 型肝炎の水平感染の実態把握とワクチン戦略の再構築に関する研究

研究代表者 須磨崎 亮 筑波大学医学医療系 小児科 教授

研究要旨

B型肝炎(HB)ワクチン定期接種化の検討にあたり重要な以下の3課題について研究を行った。1. 小児期における B型肝炎ウイルス(HBV)感染の実態把握、2. HB ワクチンの効果：接種後の HBs 抗体陽転率と HBs 抗体持続期間、3. genotype の異なるウイルスに対する HB ワクチンの効果。また、本年 10 月 18 日に新生児期からの HB ワクチン接種が保険適用された。この新しい HBV 母子感染予防法を全国に普及させるために、4. HBV 母子感染予防処置の変更に伴うワクチン戦略の再構築に関する活動を行った。

1. 小児期における B 型肝炎ウイルス感染の実態把握

- (1) 茨城県で小児生活習慣病予防検診を受けた小学校 4 年生 3,469 名で残余血清を用いて検査を行った。HBs 抗原陽性者は 0 名、HBc 抗体陽性者は 18 名(0.52%、95%CI 0.28-0.76%)であった。HBV キャリアに比して HBc 抗体陽性者は多く、地理的に散在していることから、幼児期から学童期にかけて HBV 一過性感染が家族内など小集団で起こっている可能性がある。
- (2) 国立感染症研究所の血清銀行検体を用いて、15 府県の健康小児(4-9 歳)2,000 名について検査を行った結果、3 名(0.15%)が HBV キャリアであり、うち 2 名は同一感染源によると推定された。また、10 代の小児 200 名中 4 名(2%)が HBc 抗体陽性であった。
- (3) 日本小児感染症学会のアンケート調査に基づく推計では、母子感染による小児の HBV 感染数は全国で 107 例/年、水平感染も含めた小児 B 型肝炎発症者数は 150 人/年であった。大阪小児科医会の調査では、小児 B 型肝炎診療数は小児人口 10 万人あたり 7.8 例/年(0.008%)であった。この 2 調査を平均すると、小児 B 型肝炎キャリア率は 0.011%、小児 B 型肝炎の発症数は全国で年間 120 人程度と推計された。

2. HB ワクチン接種後の HBs 抗体陽転率と HBs 抗体持続期間

- (1) HBV 未感染かつ HB ワクチン接種歴のない医療系大学生 392 名に HB ワクチンを 3 回接種し、1 か月後に HBs 抗体を測定した。10 mIU/ml 未満(Non responder)は 24 名(6%)、10~100 mIU/ml(Low responder)は 113 名(29%)、100 mIU/ml 以上(Responder)は 255 名(65%)であった。HBV 母子感染予防処置のためにワクチン接種を受けた乳児では 90~98%が Responder であり、若年成人は明らかに乳児より HBs 抗体産生能が低かった。
- (2) HBV 感染リスクの高い医療従事者 676 名を対象に、HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体検査を行った。HBV 感染者は 10 名おり、詳細な二次検診により、うち 4 名で一過性の

HBV 職業感染が疑われた。感染者 10 名を除く 666 名の医療従事者は、HB ワクチン接種にもかかわらず、HBs 抗体陰性者 (10 mIU/ml 未満) が 150 名 (23%) に達した。これらの人に HB ワクチンの追加接種を行い、免疫記憶の有無を調べる予定である。

3. genotype の異なるウイルスに対する HB ワクチンの効果

日本で市販されている genotype C 由来の HB ワクチンによって得られたヒトモノクローナル抗体は genotype A の HBV に対しても、genotype C と同等に感染防御能を有する事が示された。

4. HBV 母子感染予防処置の変更に伴うワクチン戦略の再構築

- (1) 「B型肝炎ウイルス母子感染予防のための新しい指針」が小児科、産科の関連学会から発出され、標準的な HBV 母子感染予防法の詳細が定められた。
- (2) 出産前から使用できる HBV 母子感染予防専用のワクチン予診票を作成した。
- (3) 周産期専門医に HBV 母子感染予防法の変更に關するアンケート調査を行い、新方式の広報、周知がさらに必要なことが判明した。
- (4) これらの活動により、効率的な HBV 母子感染予防処置法の普及、生物学製剤である HBs ヒト免疫グロブリン製剤の使用削減などの効果が期待される。

研究分担者

乾 あやの	済生会横浜市東部病院 小児肝臓消化器科 部長
井上 貴子	名古屋市立大学大学院医学研究科 共同研究教育センター
内田 茂治	日本赤十字社中央血液研究所感染症解析部 部長
恵谷 ゆり	大阪府立母子保健総合医療センター 消化器・内分泌科 部長
清原 知子	国立感染症研究所ウイルス第二部 主任研究官
久保 隆彦	国立成育医療研究センター 周産期・母性診療センター 産科医長
黒川 真奈絵	聖マリアンナ医科大学 疾患プロテオーム・分子病態治療学 准教授
佐々木 美香	岩手医科大学 小児科 講師
高野 智子	大阪府立急性期・総合医療センター 小児科
滝川 康裕	岩手医科大学内科学講座 消化器内科肝臓分野 教授
田中 純子	広島大学大学院医歯薬保健学研究院 疫学・疾病制御学 教授
福島 敬	筑波大学医学医療系 小児科 准教授
村田 一素	国立国際医療研究センター国府台病院
森島 恒雄	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学 教授

A. 研究目的

- B型肝炎(HB)ワクチン定期接種化の検討にあたり重要な、以下の4課題について研究した。
- | | |
|---|--------------------------------------|
| (1) 小児期における B型肝炎ウイルス (HBV)感染の実態把握 | (3) genotype の異なるウイルスに対する HB ワクチンの効果 |
| (2) HB ワクチンの効果：接種後の HBs 抗体陽転率と HBs 抗体持続期間 | (4) HBV 母子感染予防処置の変更に伴う ワクチン戦略の再構築 |

B. 研究方法

1. 小児期におけるB型肝炎ウイルス感染の実態把握

(滝川康裕；須磨崎、福島、田川、酒井、佐々木、清原、高野、田中、四柳)

下記の集団を対象として、小児のHBV感染に関する疫学調査を行った。従来の調査ではHBs抗原陽性率(HBVキャリア率)が着目されてきたが、本研究ではワクチン定期接種化の検討に資するため、キャリア率のみでなく、一過性感染の評価も重要と考えて、HBc抗体を同時に調査した。HBc抗体陽性にはHBV既往感染も含まれる。

1-1. 小学校で行われる生活習慣病予防健診の残余検体を用いた疫学調査

小児生活習慣病予防健診では、小児期から生活習慣病を予防するために、身体計測、血圧測定、採血による血清脂質、肝機能などの検査が行われる。実施主体は市町村で、小学4年生と中学1または2年生が対象である。本研究では、被験者の負担を増やすことなくHBs抗原とHBc抗体を検査するために、この小児生活習慣病予防健診の残余血清を用いた。また性交渉開始前の小児におけるHBV感染状況を把握するために、小学4年生の健診を利用した。

本年度の対象は2013年11月から2014年1月に茨城県で健診が実施された8市町村の学童である。なお、茨城県教育庁、茨城県学校保健会、対象全市町村の教育委員会、各小学校のご協力によって本調査は実施できた。厚く御礼したい。

各保護者に対して本研究の説明書および同意書を配布し、同意が得られた児童の残余血清を用いて、HBs抗原およびHBc抗体を測定した。測定方法はCLEIA法(ルミパルス®、富士レビオ社製)で、カットオフ値はいずれも1.0 C.O.I.(cut of index)とした。測定および保護者への結果通知は、

小児生活習慣病予防健診の採血や検査業務を行う茨城県総合健診協会に委託した。研究者に対しては、検査結果を匿名化した上で、市町村名、性別、HBs抗原とHBc抗体の検査結果のみが通知された。個人名とその検査結果、個人の連絡先、学校名などは研究者、学校、教育委員会のいずれにも知らされないように配慮した。HBs抗原とHBc抗体のいずれか陽性の者には、二次健診の受診を勧める旨を結果説明書に記載し、保護者の自由意志によって健診を促すこととした(図1)。

図1 茨城県小学4年生のB型肝炎ウイルス感染率調査(2013年度)

対象者数	3,719人	
生活習慣病健診受診者数	3,549人	95.4%
検体数	3,469検体	97.7%
年齢	9-10歳	
性別	男児1,791検体 女児1,678検体	
地域	茨城県内8市町村	
由来	生活習慣病健診 残余血清	
マーカー	HBs抗原、HBc抗体	
測定方法	ルミパルス® 富士レビオ(CLEIA法)	

1-2. 国立感染症研究所の国内血清銀行残余検体を用いた疫学調査

国立感染症研究所には、感染症流行予測調査のために、国内各地から様々な年齢の健康人の血清が連結不可能匿名化されて収集されている。また、調査後の残余血清は血清銀行として集積されている。本研究では、血清銀行の血清を用いることで、各年齢別にB型肝炎マーカーの全国調査が可能になった。

小児(4-9歳)のHBVキャリア率の調査では、2005-2011年に収集された2,000検体(男児1,085検体、女児914検体、不明1検体)を検査対象とした。検体収集地域は15府県であった。HBs抗原(エンザイグノストHBs Ag 5.0変法、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製)を検査し、陽性検体ではHBV-DNAを確認して、キャリア率を検討した。

10-30 代の HBV 感染既往歴調査では、2010-2011 年に収集された、10 代、20 代、30 代の血清各 200 検体(計 600 検体)について HBc 抗体を測定した(エンザイグノスト HBcAb monoclonal®、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製)。検体収集地域は 12 県に分布した。各検体には、年齢、性別、採血地域、採血年情報のみが付与され、個人を特定できない状態で検査した。

1-3. 日本小児感染症学会および大阪小児科医会のアンケート調査による B 型肝炎ウイルス感染者数の推計

日本小児感染症学会の先天性・周産期感染症の実態調査委員会が、2006 年 1 月から 2008 年 12 月の 3 年間に診断された B 型肝炎母子感染を含む 10 種類の母子感染について、2009 年に横断的に 1 次調査を行った。調査対象は小児科を開設している病院 2,598 施設と新生児集中治療施設 105 施設とし、これらの施設にアンケート用紙を送付したところ、1,183 施設から回答が得られた(回答率 45.1%)。

大阪小児科医会において、2010 年 1 月から 2012 年 12 月の 3 年間に診療した小児 B 型肝炎患者数および感染経路についてのアンケート調査を行った。対象は大阪小児科医会加盟医療機関 550 施設で、263 施設より回答が得られた(回答率 47.8%)。

1-4. 数理モデルを用いた HBV キャリアの感染経路の推定

HBV キャリア妊婦から出生児への垂直感染率は、妊婦の HBe 抗原の有無により、それぞれ 90%、10%と仮定した。性・年齢階級別の HBs 抗原陽性率および HBe 抗原陽性率から垂直感染または水平感染による HBV キャリアの発生状況を年度別に計算した。

(倫理面への配慮)

いずれの研究においても、個人を特定できるデータを含まず解析を行うこと、関係各所の了承をえることを徹底した。すべての研究は、厚生労働省疫学研究指針に則って計画され、各施設の倫理委員会の承認を得て実施された。

2. HB ワクチン接種後の HBs 抗体陽転率および HBs 抗体持続期間

(須磨崎亮; 野口、田川、酒井、滝川、宮坂、柿坂、恵谷、村田)

2-1. 医療系大学生(若年成人)における HB ワクチンの反応性

筑波大学と岩手医科大学でビームゲン®を 1 回 0.5ml、計 3 回皮下接種し、3 回目の接種から 1 か月後に HBs 抗体および HBc 抗体を測定した(アーキテクト HBc II®, アボット社製)。筑波大は 0、1、12 か月のスケジュールで、岩手医科大学では 0、1、6 か月のスケジュールで接種した。いずれの大学でも、被験者から書面で同意を得て、抗体検査時に、遺伝学的検討を行うための採血も行った。

2-2. 母子感染予防における HB ワクチン早期接種プロトコールの検討

HBV キャリア母体から出生した児を対象に、HB ワクチンの早期接種プロトコールによって母子感染予防を行った例の経過を検討した。

早期接種プロトコール: HBIG は、Day0-1 および HBs 抗体低値(100 mIU/ml 未満)の場合は生後 2 か月時に追加投与。HB ワクチンは、Day5、1 か月、3 か月時に接種。採血検査(HBs 抗原および HBs 抗体測定)を、1、2、4 か月、1 歳、2 歳、3 歳に行った。母が HBe 抗原陰性の場合、生後 2 か月時の採血検査は省略可とした。

2-3. 病院職員における HBs 抗体の持続期間と感染防御効果の検討

筑波大学附属病院職員を対象として HBs 抗体の持続期間および感染防御効果を検討した。ワクチン接種歴のある職員を対象に、同意を得て HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体測定を行った。測定はアーキテクト®、アボット社製で行い、カットオフ値は HBs 抗体は 10 mIU/ml 未満を陰性、HBs 抗原および HBc 抗体は 1.0 C.O.I (cut of index) 未満を陰性とした。年齢、性別、職種、ワクチン接種歴、針刺し事故の既往や血液・体液暴露の既往、病院外でのリスク因子 (HBV 感染同居者の有無、輸血歴など) について質問紙を用いて情報を得た。HBs 抗原あるいは HBc 抗体いずれか陽性者について、二次検診により詳細な感染経路の調査を行った。

2-4. ワクチン不応例 (HBs 抗体獲得不良例) の遺伝学的背景の検討

筑波大学および岩手医科大学学生、計 392 人から EDTA-2Na 添加スピッツで全血 5ml を採取した。岩手医科大学の検体は筑波大学に凍結輸送された。DNA 自動抽出器 (Quick Gene610L) を用いて DNA を抽出した。ワクチン反応性を規定する遺伝子座を同定するために、国立国際医療センター肝炎情報センターに DNA を送付し、genome-wide association study (GWAS) を予定している。さらにその遺伝子の機能解析を行い、B 型肝炎ワクチンに対する宿主の免疫応答を規定する要因を明らかにする。

(倫理面への配慮)

全ての研究で書面による研究参加の同意を得た。大学生には 19 歳の未成年も含まれたが、小児科学会の見解に基づき、本人の意思により同意を確認した。ただし、希望者

は保護者に相談できるように、説明から同意書提出までに 1 週間以上の時間を空けた。DNA の施設外持ち出しに際しては、HBs 抗体価情報とともに連結可能匿名化処理を行い、対応表を各施設が有する体制とした。

2-5. HB ワクチン接種後の HBs 抗体獲得不良因子の検討

1. 国立国際医療研究センター国府台病院およびセンター病院職員を対象として DNA およびリンパ球採取を行う研究は、同センター倫理委員会で承認された。
2. 同施設において、過去の職員検診結果より HBs 抗体獲得不良例および良好例を抽出・選択し、同意書を取得後に採血を行った。
3. 各例よりリンパ球を分離・抽出し、naïve および memory CD4⁺T 細胞に分けた後、それぞれに対し、DUSP6 活性、miR-181a 発現を western blotting、real-time PCR により測定した。
4. DUSP6 活性、miR-181a 発現と年齢、性別、HBV ワクチン接種後の抗体獲得状況などを比較検討した。
5. 潜在性の HBV 感染例では、HBV が潜在的に存在するために HBV ワクチン接種後の HBs 抗体獲得が不良であるという可能性も否定できない。そこで、対象者血清について、HBc 抗体測定及び高感度 HBV DNA キットを用いた HBV DNA 測定を行う方針とした。

3. genotype の異なるウイルスに対する HB ワクチンの効果

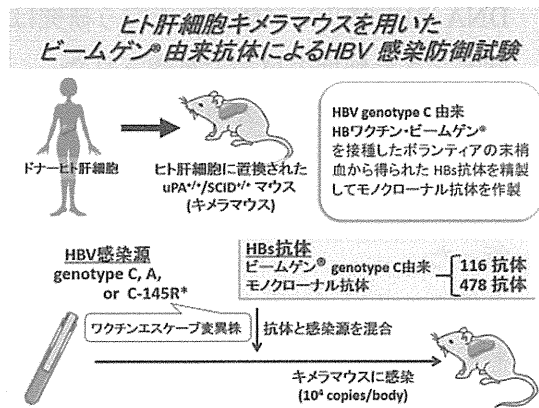
(井上貴子 ; 田中)

日本で市販されている HBV genotype C 由来のワクチンの、genotype C 以外の HBV に対する防御効果について、in vivo 及び in vitro の系で検討した。

3-1. ヒト肝細胞キメラマウスを用いたビームゲン®由来抗体の HBV 感染防御試験

genotype C 由来ワクチンであるビームゲン®を接種したボランティアの末梢血から精製したモノクローナル HBs 抗体のうち抗原決定基 a のループ構造部を認識する抗体 2 種について、ヒト肝細胞キメラマウスを用いて、HBV の感染防御試験を行った (図 2)。

図 2



3-2. キメラマウス肝細胞三次元培養による in vitro HBV 感染中和試験

ヒト肝細胞キメラマウスから単離した肝細胞の 3 次元培養を行い、in vitro で HBV 感染系を確立した。この系を用いて、抗体による HBV 感染中和試験を行った。具体的なプロトコールを図 3 と図 4 に示した。

図 3

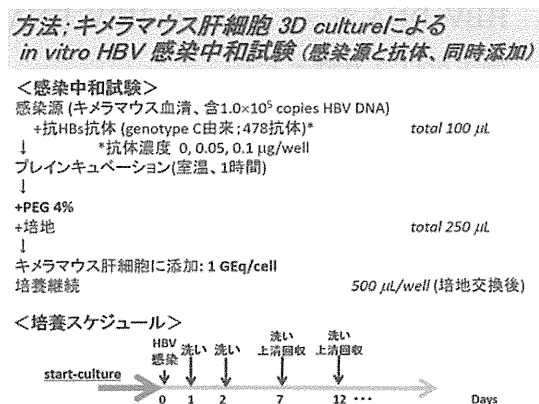
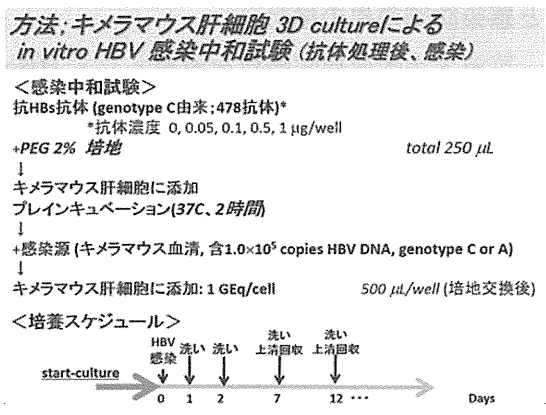


図 4



(倫理面への配慮)

遺伝子組み換えマウスの使用については学内倫理委員会の承認を得た。ヒト肝臓キメラマウス作成に用いるヒト肝細胞については、米国での倫理委員会承認済のものを輸入して使用した。

4. HBV 母子感染予防処置の変更に伴うワクチン戦略の再構築

(乾あやの ; 森島、久保、須磨崎、田川)

従来の母子感染予防法は煩雑であり、約 3 割の児で母子感染予防不完全実施となっていることが森島班 (岡山大学小児科教授) の調査で明らかとなった。これをうけて、2013 年 10 月 18 日、薬事・食品衛生審議会医薬品第二部会で公知該当性が了承され、新生児期からの HB ワクチン接種が保険適用となった。

日本全国で B 型肝炎ウイルスの母子感染予防処置がより確実に実施できるよう、標準的な予防法として、「B 型肝炎ウイルス母子感染予防のための新しい指針」が定められ、関連学会から発信された。

4-1. HBV 母子感染予防における問題点

2013 年 10 月に変更された HBV 母子感染予防法において予想される問題点、および 2005 年に岡山大学で実施した全国調査成績から、現在の HBV 母子感染予防にお

ける問題点を検討した。

4-2. 新生児期からの HB ワクチン接種による予防処置の評価

B 型肝炎母子感染予防処置において、新生児期からワクチンを接種する予防処置の効果を検討した。生後 12 時間以内に HBs ヒト免疫グロブリン (HBIG) 200 単位を筋注し、HB ワクチンは、ビームゲン® 1 回 5 μ g、生後 5 日以内、月齢 1、月齢 3 の合計 3 回皮下接種することとした。同意が得られた HBV キャリア妊婦から出生した児 119 名に対し、新生児期からワクチンを接種した。HBs 抗体価は EIA 法で、月齢 1 およびワクチン 3 回目接種から 1 か月後、1 歳、2 歳、3 歳の合計 5 回評価し、100 mIU/ml 以上を抗体産生良好者 (Good Responders) とした。

4-3. 母子感染予防スケジュール変更に関するアンケート調査

2013 年 10 月 18 日に公知申請による保険適用の変更が承認された。しかし、HB ワクチン、HBIG の添付文書には、従来法が記載され、現在、改訂作業が進行中である。周産期医療施設に対して、新方式導入に関する問題点の抽出と対策を立案することを目的として、アンケート調査を行った。2013 年 10 月 25 日にアンケートを発送し、同年 12 月 28 日を締切として集計した。アンケートは、母体・胎児部門用と新生児部門用の 2 種類を作成した。(詳細は、本誌中の久保隆彦氏の研究分担報告書を参照) 母体・胎児研究施設 328 施設に発送し、回収率は 73.5%であった。新生児医研修施設 286 施設に発送し、回収率 81.6%であった。

C. 研究結果

1. 小児期における B 型肝炎ウイルス感染の実態把握

1-1. 小学校で行われる生活習慣病予防健診の残余検体を用いた疫学調査

本年度は茨城県の 8 市町村で調査した。対象児童は 3,719 人で、そのうち生活習慣病予防健診受診者は 3,549 人 (95.4%)、本研究への同意が得られた学童は 3,469 人 (93.3%) であった。年齢は 9-10 歳で、性別は男児 1,791 名、女児 1,678 名であった。HBs 抗原陽性者は 0 人 (0%)、HBc 抗体陽性者は 18 人 (0.52%、95%CI 0.28-0.76%) であった。HBc 抗体陽性者は男児 6 人、女児 12 人で、各地域に散在していた (図 5)。

図 5

HBs 抗原陽性者: なし
HBc 抗体陽性: 18/3,469 = 0.52% (95%CI 0.28-0.76%)

対象者数	B型肝炎疫学調査 同意者数	HBs 抗原 陽性者数	HBc 抗体 陽性者数 (%)
A市町村 566	541	0	2(0.37)
B市町村 233	222	0	0(0.0)
C市町村 437	400	0	3(0.75)
D市町村 390	355	0	1(0.28)
E市町村 237	230	0	1(0.43)
F市町村 398	369	0	3(0.81)
G市町村 1,294	1,200	0	7(0.58)
H市町村 164	152	0	1(0.66)
合計 3,719 人	3,469	0	18(0.52%)

⇒各市町村の別の地域に散在していることから大規模な集団感染よりは、家族内感染など小規模な一過性感染の散在が推測される。
二次健診を行い、詳細な感染経路の確認を目指す。

1-2. 国立感染症研究所の国内血清銀行残余検体を用いた疫学調査

4-9 歳の HBV キャリア率調査では、2,000 検体中 3 検体 (0.15%、95%CI 0-0.39%) が HBs 抗原陽性かつ HBV-DNA 陽性で、キャリアと判定された。Genotype B の 2 検体は佐賀県で同年に採血され、遺伝子配列から共通の感染源が疑われた (図 6)。

図 6

結果

HBV キャリア率: 3/2,000 = 0.15% (95%CI 0-0.39)

地域	年齢	性別	採血年	OD値	PCR	判定	遺伝子型
宮城	6	F	2008	1.333	+	+	C
佐賀	6	M	2010	2.598	+	+	B*
佐賀	5	F	2010	Over	+	+	B*

*シーケンスから同一感染源が疑われた。
(Easy-to-use phylogenetic analysis system "E-PAS")

10-30 代の HBV 既往歴調査では、10 代・20 代・30 代各 200 検体ずつ計 600 検体中 15 検体（2.5%、95%CI 1.25-3.75%）が HBc 抗体陽性であった（図 7）。性別による有意差は見られなかった。HBc 抗体陽性者の年齢は 10 代 4 名、20 代 1 名、30 代 10 名で、九州地方に陽性者が多い傾向が見られた（図 8）。

図 7

HBc抗体陽性率: $15/600=2.5\%$ (95%CI 1.25-3.75%)
10代に限れば $4/200=2\%$ (95%CI 0.06-3.94%)

地域	年齢	性別
宮城	33	M
茨城	38	F
新潟	10	M
福井	38	M
長野	32	F
山口	31	F
福岡	11	M
	30	F
	31	F
	32	M
佐賀	16	F
	23	F
	35	M
	37	M
宮崎	16	M

図 8

HBc抗体陽性率(男女・年齢・地域別)

性別	陽性数
男性	8
女性	7
有意差無し	

年齢	陽性数
10代	4
20代	1
30代	10

地域	検体数	陽性数	陽性率
宮城	53	1	1.89
山形	57	0	0.00
福島	35	0	0.00
茨城	52	1	1.92
栃木	40	0	0.00
新潟	58	1	1.72
福井	39	1	2.56
長野	46	1	2.17
山口	86	1	1.16
福岡	56	4	7.14
佐賀	52	4	7.69
宮崎	26	1	3.85
合計	600	15	2.50

1-3. 日本小児感染症学会および大阪小児科医会のアンケート調査による B 型肝炎ウイルス感染者数の推計

日本小児感染症学会の「先天性・周産期感染症の実態調査委員会」によるアンケート調査から B 型肝炎母子感染例は 3 年間で 78 例（1 年あたり平均 26 例）報告された。この結果および、アンケートの回答率が 45.1%であることを考慮すると、B 型肝炎母子感染者数は年間 57 例と推測された。さ

らに、厚生労働省の保健統計による医療機関における分娩数の統計によれば、今回アンケートの対象となった一般病院と対象にならなかった一般診療所での分娩の比率は 0.53 : 0.47 であったことから、B 型肝炎母子感染数は全体で 107 例/年と推計された。

「小児期のウイルス性肝炎に対する治療法の標準化に関する研究」(田尻班)の調査によれば、小児 HBV 感染者における母子感染率は 71%と報告されているので、水平感染も含めた B 型肝炎発症者数は 150 人/年と推計された。2008 年出生数が 109 万人であることから、小児 B 型肝炎キャリア率は 13.7 例/10 万/年 (0.014%) と計算された。

大阪小児科医会のアンケートでは、2010-2012 の 3 年間の小児 B 型肝炎診療数は 105 例で年平均 35 例であった。回答率 47.8%および大阪小児科医会への加盟率 80%とすると 91.5 例/年となり、2012 年の大阪府の 15 歳未満小児人口が 117 万人であることから、7.8 例/10 万/年 (0.008%) と推計された。またこのアンケートによると、感染経路は母子感染 69%、水平感染 31%であった。

2 つの調査を平均すると、小児 B 型肝炎キャリア率は 0.011%、小児 B 型肝炎の発生は年間 120 人程度と考えられた。

1-4. 数理モデルを用いた HBV キャリアの感染経路の推定

HBV 感染率の年度変化を検討すると、垂直感染によるキャリア発生率は、1950 年から 1986 年に B 型肝炎母子感染防止事業が開始されるまで、出生児のほぼ 0.3%と一定であった。対照的に水平感染による HBV キャリア率は、1950 年から 1985 年の出生者で比較すると、男性で 1.43%から 0.10%に、女性で 0.95%から 0.03%に減少していた。現在 30 代以上の年代では、垂直感染お

よび水平感染による HBV キャリア数の割合は、男性では 1:2.20、女性では 1:1.06 であった。

2. HB ワクチン接種後の HBs 抗体陽転率および HBs 抗体持続期間

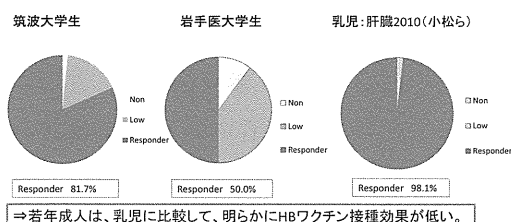
2-1. 医療系大学生（若年成人）における HB ワクチンの反応性

筑波大学 186 人、岩手医科大学 206 人で研究への参加同意が得られた。全員、ワクチン前に HBs 抗原陰性が確認されており、今回の採血で HBc 抗体は陰性であった。HBs 抗体は、10 mIU/ml 未満を Non responder、10 以上 100 mIU/ml 未満を Low responder、100 mIU/ml 以上を Responder と定義すると、筑波大学は Non responder 3 人 (1.6%)、Low responder 31 人 (16.7%)、Responder 152 人 (81.7%) であり、岩手医科大学では、Non responder 21 人 (10%)、Low responder 82 人 (40%)、Responder 103 人 (50%) であった (図 9)。

図 9

医学生における HB ワクチン接種効果

筑波大学 186 人、岩手医科大学 206 人、合計 392 人
3 回目のワクチン 1 か月後の HBs 抗体価獲得率の確認
(ビームゲン®0.5ml/回、皮下接種、Architect®で測定)



2-2. 母子感染予防における HB ワクチン早期接種プロトコルの検討

調査対象となった 121 名のキャリア母親では、HBe 抗原陽性が 28 例、HBe 抗体陽性が 85 例、不明 8 例であった。児の生後 4 か月時の HBs 抗原は全例陰性であり、HBV 母子感染予防失敗例はなかった。ワクチン 3 回接種終了の 1 か月後、すなわち生

後 4 か月時の HBs 抗体価は、121 名中 109 名 (90.1%) で 100 mIU/ml 以上に達しており、Responder であった。

2-3. 病院職員における HBs 抗体価持続期間と感染防御効果の検討

病院職員 676 名中、HBs 抗原陽性者が 3 名、HBc 抗体陽性・HBs 抗原陰性者が 7 人見出された。このうち、詳細な二次検診により 4 名で職業 (院内) 感染が疑われた。2 名は HBV 陽性者の針刺し事故の既往があり、他 2 名ではワクチン未接種時代の感染が疑われた。

職業感染以外の要因として、小児期の肝炎の既往や HBV 感染の多い外国で出生して小児期にも在住していた等、小児期の感染が推定される者が 3 名、感染経路不明者が 3 名であった。

感染が疑われた 10 名を除く 666 名の HBs 抗体価は、10 mIU/ml 未満が 150 名 (22.5%)、10 以上 100 mIU/ml 未満が 307 名 (46.1%)、100 mIU/ml 以上が 209 名 (31.4%) であった。

2-4. ワクチン不応例 (HBs 抗体獲得不良例) の遺伝学的背景の検討

医学生検体の DNA 抽出を終了した。

2-5. HB ワクチン接種後の HBs 抗体獲得不良因子の検討

現在、検体採取中で中間報告となるが、miR-181a の発現が年齢とともに低下する傾向がみられた。これは、HBV ワクチン接種後の抗体獲得反応が高齢者で低下しているとの臨床データに一致する所見である。

3. genotype の異なるウイルスに対する HB ワクチンの効果

3-1. ヒト肝細胞キメラマウスを用いたビームゲン®由来抗体の HBV 感染防御試験

ビームゲン®由来のヒトモノクローナル HB478 抗体は、抗体量がある程度多い場合 (>0.1 μg) には、genotype A およびワクチンエスケープ変異株(C-145R)の感染を防御できた (図 10)。HB116 抗体では、genotype A の HBV は感染を防止できたが、エスケープ変異株には無効であった。

図 10

結果:ヒト肝細胞キメラマウスにおける HBV 感染防御試験

HBV (感染源) Genotype	HBsAb (genotype C由来)				○ 感染防御 × 感染成立
	116抗体 (1 μg/body)		478抗体 (1 μg/body)		
C	n=3	○	n=3	○	
A	n=3	○	n=3	○	
C-145R	n=3	×	n=3	○	

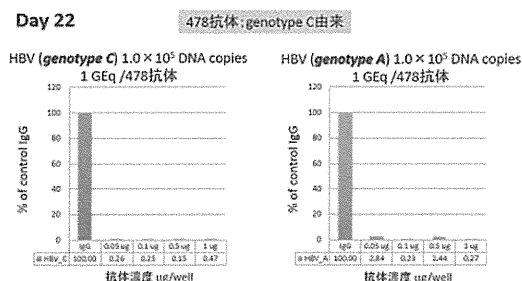
- ビームゲンの由来の抗体によって、genotype A の感染も防御することが可能であった。
- 478抗体により、ワクチンエスケープ変異株の感染を防御することができた。
- HBs抗体価がある程度高い場合は、いずれのgenotypeも感染の防御は可能と考えられる。

3-2. キメラマウス肝細胞三次元培養による in vitro HBV 感染中和試験

genotype C 由来の抗体は、genotype A の HBV に対しても、genotype C と同等以上の中和能を有する事が確認された (図 11)。あらかじめ抗体処理をした細胞に HBV を添加しても中和効果が示された (図 12)。

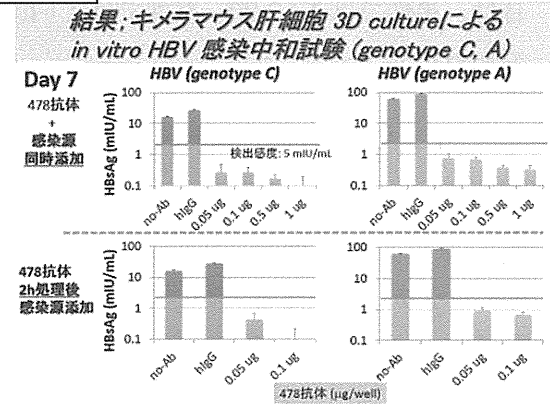
図 11

結果:キメラマウス肝細胞 3D cultureによる in vitro HBV 感染中和試験 (genotype C, A)



- genotype C 由来抗体の濃度を変えた検討の結果、genotype A に対しても genotype C と同等の中和能を有することが認められた。

図 12



4. HBV 母子感染予防処置の変更に伴うワクチン戦略の再構築

日本小児科学会、日本小児栄養消化器肝臓学会、日本産婦人科学会が合同で、「B 型肝炎ウイルス母子感染予防のための新しい指針」を作成・公表した。(Ⅲ.参考資料)

大きな変更点は、①出生早期から HB ワクチン接種を開始すること (以前の生後 2,3,5 か月から生後 0,1,6 か月に変更)、② 1 回目の HBIG をできるだけ早期に接種し、2 回目の HBIG 接種を廃止すること (生後 12 時間以内の HBIG 接種の推奨)、③ 児の血液検査の回数を減らし、生後 9-12 か月時の HBs 抗原 HBs 抗体検査のみとしたこと、である。

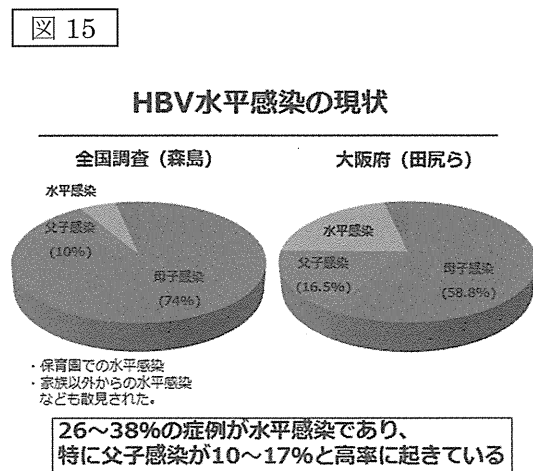
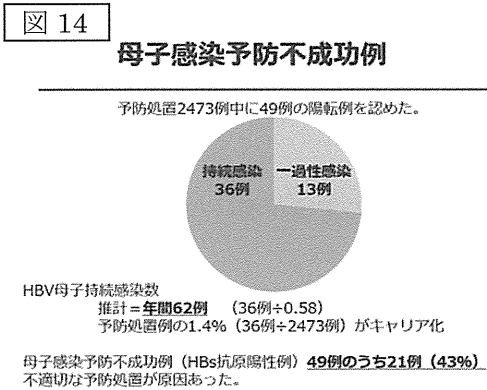
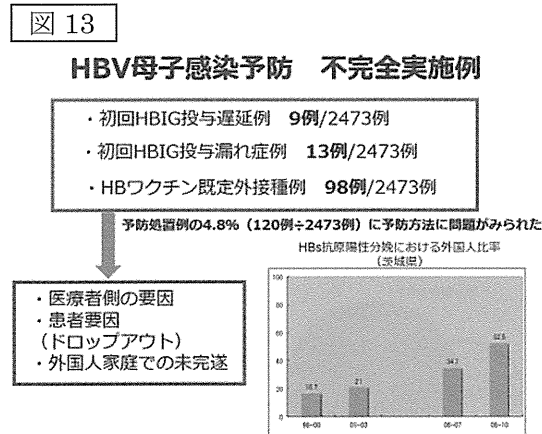
また、HB ワクチン接種のための専用予診票を作成した (Ⅲ.参考資料)。さらに、小児科・産科・保護者の確実な情報共有・連携を目的とする、母子手帳用のカードを作成中である。

4-1. HBV 母子感染予防における問題点

①HBV 母子感染予防処置の不完全実施例は全体の約 5%であった。②母子感染予防処置の不完全実施例において、医療者側のミスや連携不足が要因として挙げられるが、外国人家族の未完遂率が高い傾向にあった (図 13)。③2,473 例の予防処置中 49 例 (2.0%) で経過中に HBs 抗原陽性を認

め、そのうち 36 例が持続感染に移行した (図 14)。

④HBV 感染経路として母子感染が最大の要因ではあるが、1/4-1/3 の症例が水平感染で罹患しており、水平感染の半分以上が父子感染であった。一部保育施設内での感染事例も認めた (図 15)。



4-2. 新生児期からのHBワクチン接種による予防処置の評価

対象妊婦はHBe抗原陽性38名、HBe抗体陽性78名、不明3名であり、外国出生妊婦は44名 (44/119=40%) であった。HBs抗体価の推移は、月齢1 が23.3-3366.8 (中央値210.9)mIU/mL、ワクチン3回目接種から1か月後が28.0-9633.5(中央値666.1) mIU/mL、1歳時が0-7231.6 (中央値515.6)mIU/mL、2歳時が0-4352.1(中央値160.4)mIU/mL、3歳時が0-1304.9 (中央値104.3) mIU/mL、でありワクチン3回目接種から1か月後が最も高い抗体価 (中央値) を示した (図16)。新生児期からのHBワクチン接種で、反応良好者 (HBs抗体価100 mIU/mL以上) の割合は、月齢1で106名中103名 (97.2%)、ワクチン3回目接種1か月後107名中104名 (97.2%)、1歳69名中64名 (92.8%)、2歳48名中36名 (75.0%)、3歳32名中16名 (50%) であり、年齢とともに低下する傾向がみられた (図17)。妊婦HBe抗原の有無によって、HBs抗体価に有意差は見られなかった。

新生児期からワクチンを接種する予防処置を実施した119名で、1歳までに93%の児がHBs抗体価100 mIU/ml以上を示した。母子感染予防不成功例は認めなかった。

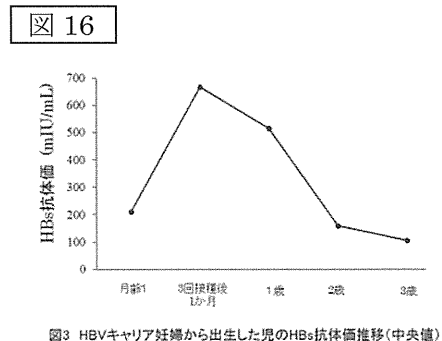


図 17

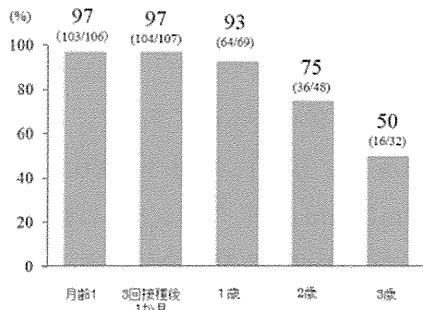


図4 Good respondersの割合

4-3. 母子感染予防スケジュール変更に関するアンケート調査

母体胎児専門医指導医は 99%、新生児専門医指導医は 94%が従来の HBV 母子感染予防法を知っていた (図 18)。一方新方式については、「知っていた」が母体胎児専門医指導医は 68%、新生児専門医指導医は 71%であった (図 19)。どちらの方法がよいかという質問には、「新方式」が母体胎児専門医指導医は 62%、新生児専門医指導医は 67%、「従来方式」が母体胎児専門医指導医は 11%、新生児専門医指導医は 13%、「どちらでもない」が母体胎児専門医指導医は 25%、新生児専門医指導医は 21%であった (図 20)。母子感染予防の経験の有無については、母体胎児専門医指導医は 89%、新生児専門医指導医は 97%がこれまでに HB 母子感染予防の経験があると答えた(図 21)。産科から小児科に申し送り・紹介をしていたか、との質問には、母体胎児専門医指導医の 83%は行っていたが、9%は行っていなかった (図 22)。一方、小児科医に産科の先生からの申し送り・紹介の有無を尋ねると、新生児専門医指導医の 77%は必ずあったが、15%はあつたり無かつたり、5%は無かつたという結果であった (図 23)。

図 18

1. 以前の母子感染予防法を知っていましたか？

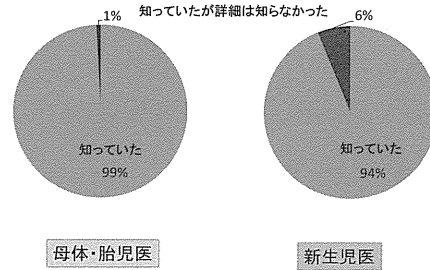


図 19

2. 新しい母子感染予防法を知っていますか？

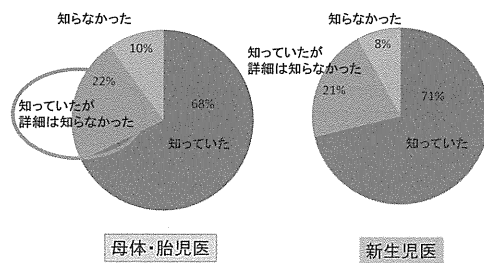


図 20

3. どちらの方法が良いと思いますか？

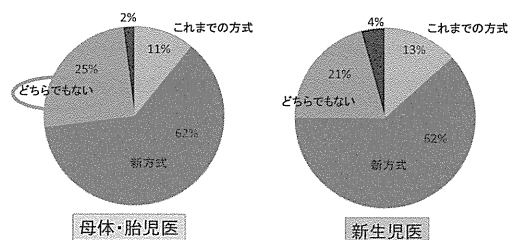


図 21

4. これまで母子感染予防の必要な症例の経験はありましたか？

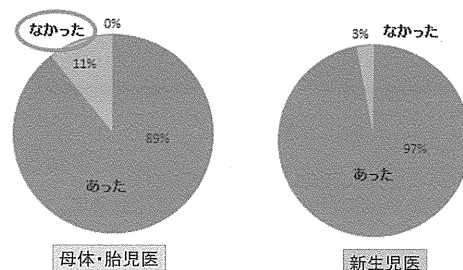


図 22

症例を経験したことがある先生で
小児科に母子感染予防の申し送り、紹介はしていましたか？

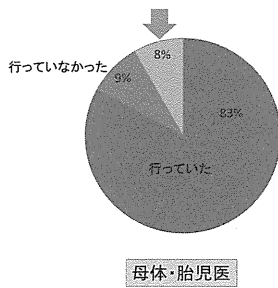
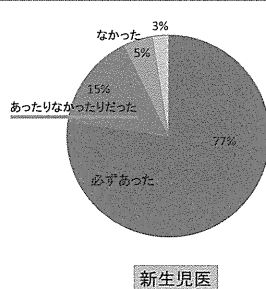


図 23

産科の先生から
母子感染予防の申し送り、紹介はありましたか？



新方式導入に関して、やや唐突であり、混乱があると感じたという意見が母体・胎児、新生児双方から認められ、関係する各学会からの十分な情報伝達が行われていない可能性がある。新方式の推進、広報、周知を今尚実施することが必要であることが判明した。

D. 考察

日本では1986年から全国でHBV母子感染防止事業が開始され、母子垂直感染予防に大きな効果を発揮してきた。しかし、家族内や小集団の感染事例が相次いで報告され、また国際交流が盛んになって、欧米に多い genotype A の B 型急性肝炎が都市部を中心に流行するなど、水平感染予防の重要性が高まっている。特に、従来は治癒したと考えられていた HBV 一過性感染が、免疫抑制療法、移植治療、強力な抗がん剤治療の普及と共に、再活性化することが判

明し、水平感染予防の意義がより一層、強調されるようになってきた。

このような背景から日本でも、HBV 水平感染予防を目的とした、全国民への HB ワクチン接種（定期接種化）が重要な課題となっている。世界的には2012年時点で、北欧、英国を除くほとんどの国（184 개국）で HB ワクチンは定期接種化（universal vaccination）されている。

HB ワクチン定期接種化導入の検討にあたり、特に以下の3課題の重要性が指摘されている。1.小児期における B 型肝炎ウイルス(HBV)感染の実態把握、2.HB ワクチンの効果:接種後の HBs 抗体陽転率と HBs 抗体持続期間、3.genotype の異なるウイルスに対する HB ワクチンの効果。1.の課題は定期接種化の必要性を評価するために、2.の課題は HB ワクチン3回接種後の追加接種の必要性を判定するために、3.の課題は日本で最も市販量の多い genotype C 由来の HB ワクチンが定期接種に利用できる事を確認するために、いずれも研究成果が強く求められている。これらの事情から、本研究班では、上記の3課題に研究の焦点を絞った。

また、2013年10月18日から公知申請によって、新生児期からの HB ワクチン接種が保険適用となった。これに伴って、新しい HBV 母子感染予防法が臨床現場へスムーズに導入されるように対策が必要である。さらに、1, 2回目のワクチン接種を主として担当する産科医から3回目以降の接種やワクチンの効果判定を担当する小児科医へ情報伝達が誤りなく行われるように仕組みを整えることが求められている。以上の課題に対応するため、4.HBV 母子感染予防処置の変更に伴うワクチン戦略の再構築について検討した。

1. 小児期におけるB型肝炎ウイルス感染の実態把握

既報および今回の中間解析からは、一般小児集団における HBs 抗原陽性率は0～0.15%と調査方法、年度ごとに異なっていた。基本的には小児の HBV キャリア率は極めて低いため、数千名規模の調査では信頼性のある結果が得られ難いことが確認された。一方、HBc 抗体陽性率により HBV 感染機会の広がりや推測すると、HBV キャリア率(HBs 抗原陽性率)の数倍以上の頻度で陽性者が認められた。3～5 歳以降になると HBV キャリア化することは少ないので、幼児期から学童期にかけての HBV 一過性感染が起こる機会が比較的多いことが推測された。

また、今回の調査では HBV キャリアも一過性感染者も都市部や西日本に多い傾向がみられた。小児期の調査においても、地域差は無視できないと考えられた。さらに、茨城県小学4年生の調査では、HBc 抗体陽性者が各市町村に散在し、集積性がみられなかった。このことから HBV の感染経路を推測すると、大規模な集団感染ではなく、家族内感染などの小規模集団内での感染が推測される。また、HBc 抗体単独陽性で、抗体価が低い者がしばしば見いだされたが、このような場合には、HBc 抗体検査の特異性についても検討が必要である。

今後の2年間で、検査対象者数を増やし、地域差を考慮した調査を行う予定である。また、小児では採血の機会が少なく、他方、地域差や環境要因などによって HBV 感染機会の頻度に差がある可能性があるため、多面的な調査方法を駆使して、小児期の HBV 感染機会の広がりを全体として理解できるように努める必要がある。

2. HB ワクチン接種後の HBs 抗体陽転率および HBs 抗体持続期間

ほとんどの国ですでに乳児期からの HB ワクチン接種が実施されているので、成人と乳児の HB ワクチン接種効果を比較できる機会は少ない。一方、日本の健常人で HB ワクチン接種を受けている集団は、母子感染予防の乳児と医療従事者に限られる。

本研究で岩手医科大学と筑波大学の成績を合算すると、10 mIU/ml 未満 (Non responder)は6%、10～100 mIU/ml (Low responder)は29%、100 mIU/ml 以上の Responder は65%であった。HBV 母子感染予防処置のためにワクチン接種を受けた乳児では90～98%が Responder であり、若年成人は明らかに乳児より HBs 抗体産生能が低かった。

HB ワクチンの定期接種化を導入する際には、接種に適した時期を定める必要がある。キャリア化率の高い乳児と性交渉による水平感染が起こり易い思春期を比較すると、HB ワクチン反応性の点からは、高い HBs 抗体産生が得られやすい乳児に接種すべきと考えられる。今後、HBs 抗体価や感染防御能の持続期間についても検討を加え、追加接種の必要性を考える際に有用な知見を得られるように努める。

3. genotype の異なるウイルスに対する HB ワクチンの効果

現在日本では genotype C と A 由来の2種類のワクチンが市販されている。特に genotype C 由来のワクチンは日本での販売実績は多い一方、海外での定期接種に使用された経は乏しい。そこで、このワクチンが日本の定期接種に使用できることを確認する必要がある。

米国では genotype A 由来のワクチンが使用され、国内で流行している HBV も大部分が genotype A である。最近、米国血液

銀行からの報告では、HB ワクチン接種者でも HBs 抗体価が低い場合には genotype A 以外の HBV 一過性感染が起こることが報告された。このことから、HB ワクチンの製造に用いられた genotype と異なる HBV が感染した場合、HBs 抗体価が低値であると、感染防御能が低下することが示唆される。

日本の HBV キャリアは genotype B と C が多く、一方、乳幼児の親となる若年成人では genotype A による B 型急性肝炎が急増している。このことから、genotype C 由来のワクチンが genotype C 以外の HBV に対して genotype C と同様の効果を示すか否か、検討が求められている。

本研究では genotype C 由来のワクチンをヒトに接種した際に得られた複数のモノクローナル抗体の感染防御能を、ヒト肝臓化キメラマウスやこのマウス由来のヒト肝細胞を用いて評価した。この系によって、HBV genotype C によって産生された抗体は、genotype A と genotype C の HBV を同程度に防御しうることを示された。また、一部のモノクローナル抗体は HBV エスケープ変異株に対しても有効なことが確認された。genotype C 由来のワクチンによって比較的高い HBs 抗体価が得られれば、genotype が異なる HBV に対しても感染防御能が得られると考えられた。

4. HBV 母子感染予防処置の変更に伴うワクチン戦略の再構築

今年度の成果として、日本小児科学会、日本小児栄養消化器肝臓学会、日本産婦人科学会が合同で、「B 型肝炎ウイルス母子感染予防のための新しい指針」を作成・公表した。これにより日本全国で標準的な HBV 母子感染予防処置が普及することが期待される。一方、本年度に予防法の変更が承認されてから後に行われたアンケート調査に

よれば、産科、小児科のさらなる連携強化および保護者や社会の理解向上のために、変更の意義・注意点について、医師および保護者への広報が必要である事が判明した。本研究班としてもこれらの活動に積極的に参画し、HBV 母子感染の完全防止に向けて貢献したい。

E. 結論

小児期の HBV 感染疫学、HB ワクチンの効果、新たな母子感染予防処置の導入につき、多面的な研究・活動を行い、多くの重要な成果が得られた。特に、小児の HBV 感染調査では、水平感染による小児期の一過性感染者が、性交渉開始以前の年代においても、HBV キャリアの頻度以上に存在することが示された。同時に、より正確な疫学調査のためには、被験者数の確保や地域差を含めた検討が必要である事も明らかになった。現在、これらの知見をもとに、大都市圏や九州地方を含めた地域の大規模病院ベースで、小児 HBV 感染者の頻度を調査する多施設共同研究を計画中である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 田川学、須磨崎亮：子どもから防ぐ肝臓がん 成人病と生活習慣病 44(1) 82-88, 2014
2. 田川学、須磨崎亮：A型肝炎ワクチン・B型肝炎ワクチン 日医雑誌 142(8) 1773-1775, 2013
3. 十河剛、森實雅司、乾あやの、藤澤知雄：小児急性肝不全の内科的治療戦略 日本小児科学会雑誌 117(4) ; 718-731, 2013
4. 藤澤知雄：小児期に B 型肝炎ワクチン接種がなぜ必要なのかーB 型肝炎ワクチンの定期接種化に向けてー 日本小児科医会会報 46 ; 150-154, 2013
5. Haruki Komatsu, Ayano Inui, Tomoyuki Tsunoda, Tsuyoshi Sogo,

- Tomoo Fujisawa. :Association between an IL-28B genetic polymorphism and the efficacy of the response-guided pegylated interferon therapy in children with chronic hepatic C infection. *Hepatology Research*, 43:327-338, 2013;
6. 乾あやの、角田知之、川本愛里：ウイルス性肝炎，その他の慢性肝疾患 診療と治療 101 (12) ; 1877-1880, 2013
 7. Taira R, Satake M, Momose S, Hino S, Suzuki Y, Murokawa H, Uchida S, Tadokoro K.: Residual risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus (HBV) infection caused by blood components derived from donors with occult HBV infection in Japan. *Transfusion*, 53: 1393-1404, 2013
 8. Uchida S, Tadokoro K, Takahashi M, Yahagi H, Satake M, Juji T.: Analysis of 66 patients definitive with transfusion-associated graft-versus-host disease and the effect of universal irradiation of blood. *Transfusion Medicine*, 23: 416-422, 2013
 9. Furui Y, Satake M, Hoshi Y, Uchida S, Suzuki K, Tadokoro K.: Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in Japanese blood donors and high detection frequency of CMV DNA in elderly donors. *Transfusion*, 53: 2190-2197, 2013
 10. 本田豊彦、小河敏伸、佐藤美津子、濱岡洋一、百瀬俊也、内田茂治：Occult HBV carrier からの輸血による急性 B 型肝炎が強く疑われた 1 例. *血液事業*, 36: 721-725, 2013
 11. Kimura Y, Gotoh A, Katagiri S, Hoshi Y, Uchida S, Yamasaki A, Takahashi Y, Fukutake K, Kiguchi T, Ohyashiki K. Transfusion-transmitted hepatitis E in a patient with myelodysplastic syndromes. *Blood Transfusion*, 12: 103-106, 2014
 12. Noguchi Y, Kurokawa MS, Okuse C, Matsumoto N, Nagai K, Sato T, Arito M, Suematsu N, Okamoto K, Suzuki M, Itoh F, Kato T. Serum peptides, represented by complement 3f des-arginine, are useful for prediction of the response to pegylated interferon- α plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 43:743-56, 2013
 13. Ando T, Iizuka N, Sato T, Chikada M, Kurokawa MS, Arito M, Okamoto K, Suematsu N, Makuuchi H, Kato T. Autoantigenicity of carbonic anhydrase 1 in patients with abdominal aortic aneurysm, revealed by proteomic surveillance. *Hum Immunol* . 74: 852-7, 2013
 14. Ishizu A, Tomaru U, Murai T, Yamamoto T, Atsumi T, Yoshiki T, Yumura W, Yamagata K, Yamada H, Kumagai S, Kurokawa MS, Suka M, Makino H, Ozaki S; for JMAAV. Prediction of response to treatment by gene expression profiling of peripheral blood in patients with microscopic polyangiitis. *PLOS ONE* .8, e63182, 2013
 15. Uchida T, Nagai K, Sato T, Iizuka N, Arito M, Takakuwa Y, Nakano H, Ooka S, Kurokawa MS, Suematsu N, Okamoto K, Ozaki S, Kato T. Comparative proteomic analysis of neutrophils from patients with microscopic polyangiitis and granulomatosis with polyangiitis. *J Proteomics*. 91C:259-69, 2013
 16. Yoshioka T, Kurokawa MS, Sato T, Nagai K, Iizuka N, Arito M, Takakuwa Y, Nakano H, Ooka S, Suematsu N, Okamoto K, Yudoh K, Nakamura H, Suzuki N, Ozaki S, Kato T. Protein profiles of peripheral blood mononuclear cells as a candidate biomarker for Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. (in press), 2013
 17. Noguchi M, Sato T, Nagai K, Utagawa I, Suzuki I, Arito M, Iizuka N, Suematsu N, Okamoto K, Kato T, Yamaguchi N, Kurokawa MS. Roles of serum fibrinogen α chain-derived peptides in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. (in press), 2013
 18. Onodera H, Arito M, Sato T, Ito H, Hashimoto T, Tanaka Y, Kurokawa MS, Okamoto K, Suematsu N, Kato T. Novel effects of edaravone on human brain microvascular endothelial cells revealed by a proteomic approach. *Brain Res*. 1534:87-94, 2013
 19. Endo W, Arito M, Sato T, Kurokawa MS, Omoteyama K, Iizuka N, Okamoto K, Suematsu N, Nakamura H, Beppu M, Kato T. Effect of sulfasalazine and tofacitinib on the protein profile of articular chondrocytes. *Mod Rheumatol* (in press), 2013