

201422009A

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服政策研究事業

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26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 須磨崎 亮

平成27 (2015) 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. 小学4年生における生活習慣病健診の残余血清を用いたB型肝炎疫学調査
 - 1-1. 茨城県小学4年生における生活習慣病健診の残余血清を用いたB型肝炎疫学調査----- 27
福島 敬
 - 1-2. 岩手県小学生の生活習慣病予防検診を利用したB型肝炎感染検査----- 30
佐々木 美香
2. 血清銀行の検体を用いた小児B型肝炎ウイルス（HBV）感染の調査に関する研究----- 32
清原 智子
3. 若年初回献血者のHBVマーカー陽性率 ----- 40
内田 茂治
4. 小児受診者の採血残余検体を用いたB型肝炎感染に関する多施設共同研究
 - 4-1. 北海道（医療法人溪仁会 手稲溪仁会病院） ----- 45
小杉山 清隆
 - 4-2. 東京都（東京大学医学部附属病院） ----- 47
四柳 宏
 - 4-3. 岐阜県（岐阜県総合医療センター） ----- 49
今村 淳
 - 4-4. 大阪府（大阪府立急性期・総合医療センター） ----- 51
高野 智子
 - 4-5. 兵庫県（神戸こども初期急病センター） ----- 55
森岡 一朗
 - 4-6. 福岡県（久留米医療センター） ----- 58
牛島 高介
 - 4-7. 佐賀県（佐賀大学医学部附属病院） ----- 61
江口 有一郎
 - 4-8. 長崎県（長崎大学病院） ----- 64
森内 浩幸
5. 学童期におけるHBV水平感染についての検討 ----- 66
山崎 一美
6. 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----- 69
田中 純子

「B型肝炎ワクチン接種後の効果と持続期間」

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----- 71
滝川 康裕
8. 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----- 74
須磨崎 亮
9. 国立国際医療研究センター職員におけるHBVワクチン接種の有効性に関する研究----- 77
柳瀬 幹雄
10. 病院職員におけるB型肝炎ワクチンの追加接種に関する研究----- 80
須磨崎 亮

11. B型肝炎ワクチンと免疫-----	83
	村田 一素
「遺伝子型の異なるB型肝炎ウイルスに対するHBワクチンの効果」	
12. 遺伝子型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-----	87
	井上 貴子
13. 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-----	90
	黒川 真奈絵
14. 遺伝子型AによるB型肝炎母子感染防止に対する遺伝子型C由来ワクチンの予防効果-----	95
	乾 あやの
「B型肝炎ワクチン戦略の再構築」	
15. ビームゲンとヘプタバックス-II併用例におけるHBs抗体価の推移について-----	97
	恵谷 ゆり
16. HBワクチン接種のスケジュール変更に関する検討-----	102
	久保 隆彦
17. 妊婦健診における検査項目の認知度調査-----	110
	江口 有一郎
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	115

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 総括研究報告書

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 つの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 ワクチン接種後の HBs 抗体陽転率と HBs 抗体持続期間、3. 遺伝子型の異なる B 型肝炎ウイルスに対する HB ワクチンの効果。本年 (2015 年) 1 月 15 日に開催された厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会において、本研究班の研究成果を報告し、乳児期に HB ワクチンを定期接種化する方針が承認された。

1. 小児期における B 型肝炎ウイルス感染の実態把握

健常小児から採血する機会は少なく、研究目的の採血は困難であることから、下記の 3 集団を対象にして、被験者に負担をかけずに疫学調査を行った。また HBs 抗原だけではなく、HBc 抗体も同時に測定し、小児における HBV 感染疫学の実態をなるべく正確に把握することとした。すなわち、①小学 4 年生を対象とした小児生活習慣病健診の残余血清（茨城県・岩手県）、②国立感染症研究所が感染症流行予測調査のために全国から収集した血清（血清銀行）、③小児の病院受診者の残余血清（大都市・北海道・九州地方を中心とした多施設共同研究）を用いて、B 型肝炎マーカーを検査した。昨年度と本年度の検査結果を合わせると、HBs 抗原陽性率は $6/18,690=0.032\%$ (95%CI: 0.006-0.058%)、HBc 抗体陽性率は $83/15,890=0.52\%$ (95%CI: 0.41-0.63%) であった。さらに、若年初回献血者のデータ、数理モデルを用いた垂直・水平感染別の検討、長崎県上五島列島の保存検体を用いた HBV 濃厚感染地域における小児の経年的な感染実態調査も合わせて、多方面から小児における HBV 感染の実態を明らかにした。小児～若年成人では、HBV 母子感染予防処置を開始後に母子感染者は約 1/7 に激減したが、現在もなお水平感染によると推計される HBV 感染者や既往感染者が一定数、各地域に散在していることが判明した。したがって全出生者を対象に HB ワクチンの定期接種を導入すれば、この水平感染を防ぐことによって、HBV 感染による社会的疾病負荷の更なる軽減が期待できる。

2. HB ワクチン接種後の HBs 抗体陽転率と HBs 抗体持続期間

医療系学生で HBs 抗原陰性、HBc 抗体陰性が確認され、HB ワクチンを初めて接種された人を対象に、3 回接種終了の 1-2 か月後に HBs 抗体価を測定し、ワクチンの接種効果を検討した。昨年と合わせて総計 802 人から研究参加の同意が得られた。HBs 抗体価が 10 mIU/mL 未満の non responder は 43 人 (5.4%)、10 mIU/mL 以上 100 mIU/mL 未満の low responder は 199 人 (24.8%)、100 mIU/mL 以上の responder は 560 人 (69.8%) であった。接種効果に寄与する遺伝的背景についても検討を進めている。また、上記の研究参加者のうち 68 名で 12 か月後の HBs 抗体価評価に協力が得られた。68 名のうち、20 名が初回接種後の HBs 抗体価が

50 mIU/mL 未満であり追加接種を受けていた。残り 48 名のうち 37 名が 10 mIU/mL 以上を維持していたが、11 名は 10 mIU/mL 未満に低下していた。

病院職員を対象に HBs 抗体の持続および感染防御効果について検討した。入職前に HB ワクチン接種を義務付けられている病院職員の HBs 抗体陽性（抗体価 10 mIU/mL 以上）率は、77.5-84.1%であった。いずれの病院においても HB ワクチン接種後にもかかわらず、HBV の職業感染が疑われる人が少数ながら存在する可能性が示された。一方で、HBs 抗体価が 10 mIU/mL 未満であっても、HB ワクチンの追加接種により抗体価が 10 mIU/mL 以上に上昇する人が 88.4%、1,000 mIU/mL 以上に上昇する人も 27.9%であったことから、ワクチン接種後経年的に HBs 抗体価は低下するが、多くの人で免疫記憶が残っていることが明らかになった。

3. 遺伝子型の異なる B 型肝炎ウイルスに対する HB ワクチンの効果

現在日本で市販されている HB ワクチンには、遺伝子型 A の HBV 由来（ヘプタバックス-II）と遺伝子型 C の HBV 由来（ビームゲン）の 2 種類がある。遺伝子型 A 由来ワクチンは、世界的に広く用いられ、遺伝子型 C の HBV に対する効果も立証されている。一方、日本で開発された遺伝子型 C 由来ワクチンは、欧米での使用実績が乏しく、近年日本でも流行しつつある遺伝子型 A の HBV 感染に対する感染防御効果は証明されていない。

遺伝子型 C 由来の HB ワクチン接種による遺伝子型が異なる HBV に対する感染防御効果について、*in vivo* と *in vitro* の両面から検討した。すなわち、ヒト肝キメラマウスおよびヒト初代肝細胞三次元培養系を用いた感染実験と ELISA 法による HBs 抗体の反応性についての研究を行った。遺伝子型 C 由来の HB ワクチン接種によって得られた抗体は、遺伝子型 A やエスケープミュータントの HBV に対しても反応し、一定濃度以上では感染防御効果を有することが示された。また、遺伝子型 A の HBV キャリア母体から出生した 4 人の児に対する母子感染予防処置に遺伝子型 C 由来の HB ワクチンを用いたところ、4 例とも HBs 抗体価は 1,000 mIU/mL 以上に上昇し、現在のところ HBV 母子感染は起こっていない。以上から、HB ワクチンの定期接種を行う場合には、遺伝子型 A、遺伝子型 C いずれのワクチンも使用可能と考えられた。

4. ワクチン戦略の再構築

昨年度の成果として、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」、「B 型肝炎母子感染予防接種予診票」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。今年度は、産科医・小児科医、および保護者間で出生直後の高力価抗 HBs ヒト免疫グロブリン投与や HB ワクチン接種についての情報共有を行い、予防処置の完遂を徹底するために、「母子手帳用の B 型肝炎母子感染予防接種記録」を作成した。

2015 年 1 月 15 日に開催された厚生科学審議会 予防接種・ワクチン分科会では、B 型肝炎ワクチン定期接種化の方針が承認された。定期接種化に向けて、残された技術的な課題として、シリーズ内で異なる遺伝子型の HB ワクチンを併用する場合の互換性についての検討が継続中である。さらに HB ワクチン接種が安全かつ安心に実施できるように、乳児への接種の必要性和安全性について理解が深められるように広報すること、対象者によって接種スケジュールが異なる点や既感染者に対する社会的差別を減らすことなど、正しい知識の普及に努める必要がある。

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 助教
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
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	もりおかこども病院 副院長、岩手医科大学小児科学講座 非常勤講師
高野 智子	大阪府立急性期・総合医療センター 小児科 部長
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
柳瀬 幹雄	国立国際医療研究センター病院 消化器内科・医長
江口 有一郎	佐賀大学医学部 肝疾患医療支援学講座 肝疾患センター 教授
山崎 一美	独立行政法人 国立病院機構長崎医療センター 臨床疫学研究室長
森内 浩幸	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 小児科学 教授
牛島 高介	久留米大学医療センター 小児科 准教授

A. 研究目的

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るにしたがって、欧米に多い遺伝子型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。2013年時点では世界194か国中183か国、すなわち北欧、英国を除くほと

んどの国で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の検討にあたり、厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会では、特に以下の3課題の重要性が指摘されてきた（<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000071262.pdf>）。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ワクチン接種後のHBs抗体陽転率とHBs抗体持続期間、3.遺伝子型の異なるB型肝炎ウイルスに対する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遺伝子型C由来のHBワクチンが定期接種に利用できるか否かを検討するために、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課題に焦点を絞って研究を進めた。

また平成25年度にHBV母子感染予防処置法が改訂されたので、この新しい方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ことから、4. ワクチン戦略の再構築、として、産科・小児科・保護者間の情報共有のためのカード作成ならびに意識調査や実態調査を行った。

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

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役立てるため、キャリア率のみでなく既往感染の評価も必要と考えて、HBc抗体を同時に調査した。匿名化された一時点の調査であり、HBs抗原陽性者にはHBVキャリアと一過性感染者が含まれ、HBs抗原陰性かつHBc抗体陽性者は既往感染と考えられる。

1-1-1. 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（茨城県）

（須磨崎、福島、田川、酒井）

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、健常小児における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年生を対象とした。

本年度の対象は2014年5月から2015年

1月に茨城県で健診が実施された9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。

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II HBsAg およびルミパルスHBcAb-N、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。キャリアオーバーに配慮し、HBマーカー用の血清を先に測定した。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抗体のいずれかまたは両方陽性の者には、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二次健診を促すこととした。

1-1-2. 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（岩手県）

（滝川、佐々木）

岩手県の小学4年生を対象とした生活習慣病健診受診者の保護者に説明文と同意書を配布し、文書で同意が得られた児の残余検体を用いて、HBs抗原およびHBc抗体を凝集法（マイセルII HBsAg およびマイセルanti-rHBc）で測定した。採血業務および測定は、生活習慣病健診の実施を委託されている岩手県予防医学協会で行われた。

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(清原、溝上、脇田)

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。

2005-2011年に収集された小児(10-15歳)の1,000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、陽性検体では遺伝子型別検査(Easy-to-use phylogenetic analysis system(E-PAS))を行った。

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. 若年初回献血者のHBマーカー陽性率調査(内田)

2010年4月から2012年3月までの全国の初回献血者1,079,341人(男性:619,582人、女性:459,759人)を対象として、出生年・男女別の献血者数、輸血用血液のスクリーニング検査(CLEIA法)でHBs抗原陽性(吸収試験も陽性)と判定された献血者数ならびにHBc抗体陽性者数の調査を行い、それぞれの陽性率を算出した。

1-4. 病院受診者の残余検体を用いた小児B型肝炎感染疫学についての多施設共同調査(牛島、江口、高野、森内、四柳、森岡、小杉山、今村、関、末岡、松尾、田尻、岡、岩中、石田、松居、田中靖人)

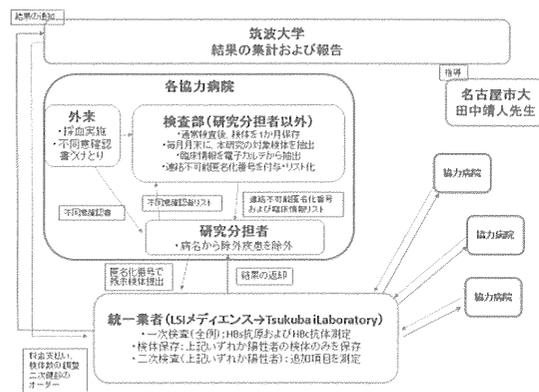
成人でB型肝炎感染者が比較的多いとされる大都市、北海道、九州地方などを中心

として、小児の病院受診者の残余検体を用いた多施設共同疫学調査を行った。協力病院で採血検査を受けた0~16歳未満の小児患者を対象として重複検体を除外、また、以下を除外項目とした。(1)明らかな「慢性B型肝炎」病名、(2)1年以内の輸血またはIVIG等の血液製剤の使用者(移行抗体の可能性を除外するため)。2015年2月の時点で計8施設(手稲溪仁会病院、東京大学附属病院、岐阜県総合医療センター、大阪府立急性期・総合医療センター、神戸こども初期急病センター、久留米大学医療センター、佐賀大学附属病院、長崎大学病院)の協力が得られ、採血時年齢・性別とリンクした連結不可能匿名化番号を付与された検体(400 μ L/人)が収集された。一次検査として、HBs抗原とHBc抗体を測定した(CLEIA法)。HBs抗原では、高感度測定法であるルミパルスHBsAg-HQによる測定を行い、その陽性者については一般に広く使用されているルミパルスIIHBsAgによる測定も行った。HBc抗体は、ルミパルスHBcAb-Nで測定した。ルミパルスHBsAg-HQは5.0 mIU/mL、ルミパルスIIHBsAgは1.0 C.O.I、ルミパルスHBcAbは1.0 C.O.Iをカットオフ値とした。測定は、外注業者に依頼して、統一されたプロトコルで行った(図1参照)。

(倫理面への配慮)

1-4の研究については、疫学研究に関する倫理指針(平成19年8月16日全部改正、文部科学省・厚生労働省)に従い、通常診療の残余検体を、連結不可能匿名化し、不同意の機会を担保する(病院への掲示、不同意確認書の設置)ことにより、研究を行った。研究代表者の所属する筑波大学附属病院倫理委員会で本研究について審査・承認を得た。さらに、各協力施設の倫理委員会の承認を得て、検体収集・提出を開始した。

図 1



1-5. 学童期における HBV 水平感染の検討 (山崎、八橋)

1985年から1992年に上五島在住の小学生および中学生を対象に行ったHBs抗原スクリーニング受診者の保存血清について、ルミパルスHBcAb-NによりHBc抗体を測定し、水平感染の有無を検討した。なお当時、HBs抗原スクリーニングは凝集法で行われ、検査費用を上五島病院が負担し、保護者と学校教員に説明のうえ、希望者のみが受診した。また残余血清は凍結保存し、後日再検またはB型関連マーカーの追加測定を行う旨を説明済みであった。

(倫理面への配慮)

1-1、1-2、1-5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、関係各所の上承をえることを徹底した。また必要に応じて陽性者に対する事後処置は、専門家が対応するように体制を整えて研究を行った。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。

1-6. 数理モデルを用いた垂直感染・水平感染別 HBV キャリアの推定 (田中純子)

献血者の年齢・性別にみた HBs 抗原陽性率と HBe 抗原陽性率、人口動態統計による年齢別出生数を元データとして、数理モデ

ルを用いて解析し、垂直感染または水平感染による HBV キャリア率を計算した。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%として推計した。

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

2-1-1. 岩手医科大学大学生における HB ワクチンの反応性 (滝川、宮坂、柿坂)

B 型肝炎ワクチン接種を受ける岩手医科大学医学部・歯学部・薬学部の4年生のうち研究協力の同意が得られた者を対象とした。HB ワクチン(ビームゲン)を0、1、6か月の合計3回皮下接種し、3回目のワクチン接種1か月後にHBs抗体とHBc抗体を測定した。また、昨年の協力者に接種後12か月のHBs抗体価の変動についても検査を依頼し、同意の得られた68名で、HBs抗体価を測定した。

被験者血清中のHBs抗体価をCLIA法(アーキテクトオーサブ、アボット社製)で測定し、10 mIU/mL未満を non responder、10 mIU/mL以上 100 mIU/mL未満を low responder、100 mIU/mL以上を responder の3群に層別化した。HBc抗体価はアーキテクト HBc II、アボット社製を用いて測定した。また、EDTA-Na 添加スピッツで採血した全血検体を筑波大学へ送付し、筑波大学でDNAを抽出した。HBワクチン応答に寄与する遺伝学的背景の研究に用いる予定である。

2-1-2. 筑波大学医学群学生における HB ワクチンの反応 (須磨崎、野口、岩淵、田川、福島、酒井)

入学時にHBs抗原が陰性で、HBワクチンを初めて接種した筑波大学医学群学生(医学、看護、医療科学類)で、遺伝学的背景の研究を含めて同意の得られた人を対象にしてHBワクチンへの反応性を検討した。

HB ワクチン(ビームゲン)を1回0.5ml、

0, 1, 12 か月のスケジュールで計 3 回皮下接種し、3 回目の接種から 1 か月後に岩手医科大学と同一の検査キットを用いて HBs 抗体と HBc 抗体を測定した。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。また、岩手医科大学と同様に HBs 抗体価を定義し、ワクチン反応性を評価し、遺伝学的背景の検討に用いる DNA 抽出を行い、保存した。

2-2. 国立国際医療センター病院職員における HB ワクチン接種の有効性（柳瀬）

同病院に勤務する医療従事者で同意の得られた人を対象に、ワクチン接種歴の問診、職員検診の記録調査および HBs 抗体価（ルミパルスプレスト HB s Ab-N、富士レビオ社製）と HBc 抗体価（アーキテクト HBc II、アボット社製）の測定を行った。

2-3. 筑波大学附属病院職員における HB ワクチン追加接種の有効性（須磨崎、田川、酒井）

同病院職員で、医師、看護師、検査技師など患者の体液に触れる職種に従事しており、同意の得られた 676 人を対象とし、平成 25 年度に HBs 抗原および HBc 抗体価の測定を行った。HBs 抗原あるいは HBc 抗体が陽性の 10 人を除外した 666 人では、HBs 抗体 10 mIU/mL 未満が 150 人、10 mIU/mL 以上 100 mIU/mL 未満が 307 人、100 mIU/mL 以上が 209 人であった。本年度はこの 100 mIU/mL 未満であった 457 人に説明して、希望者を対象に HB ワクチンの追加接種（ビームゲン 1 回 0.5ml 皮下注）を行って、1-2 か月後に HBs 抗体価を測定（アーキテクト オーサブ、アボット社）した。

（倫理面の配慮）

2-1-1, 2-1-2, 2-2, 2-3 のいずれの研究

においても、検査についての不安や結果について相談する窓口を設置、結果は連結可能匿名化して、院内感染管理の担当者には通知せず、個人に封書で通知した。

2-4. HB ワクチン不応例における HBs 抗体産生不全のメカニズムの検討（村田）

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、過去の職員検診の結果から HB ワクチン接種後の HBs 抗体獲得不良例および良好例を抽出・選択し、各々から採血した。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 法と real-time PCR 法で測定した。そして、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を比較検討した。また、潜在性の HBV 感染例では、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がある。そこで、対象者血清を用いて HBc 抗体や我々が最近開発した高感度 HBV DNA 検出キットを用いて HBV DNA を測定した。

（倫理面の配慮）

本研究のために、DNA およびリンパ球採取に当たり、国立国際医療研究センターで倫理申請を行い、承認されている。

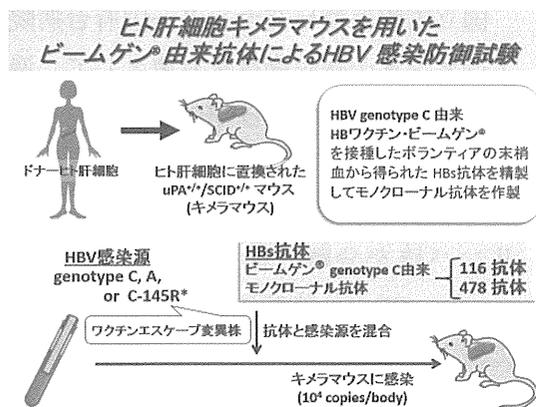
3. 遺伝子型の異なる B 型肝炎ウイルスに対する HB ワクチンの効果

日本で開発された HBV 遺伝子型 C 由来のワクチン（ビームゲン）の、遺伝子型 C 以外の HBV に対する感染防御効果について、in vivo 及び in vitro の両面から検討した。

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（井上、田中靖人、村上、堤）

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感染防御試験を行った。(図 2 参照)

図 2



3-2. ヒト初代肝細胞三次元培養による in vitro HBV 感染中和試験 (井上、田中靖人、村上、堤)

ヒト初代肝細胞の三次元培養を行い、in vitro で HBV 感染系を確立した。この系を用いて、ウイルスと遺伝子型 C 由来抗体を同時に細胞に添加した場合、または、抗体処理後の細胞にウイルスを添加した場合に、HBV 感染の有無を検討した。

3-3. ビームゲン接種者の血清中の抗体と各遺伝子型の HBV 由来ペプチドの反応性 (井上、田中靖人、村上、堤)

ビームゲンを接種した健常人から血清を採取し、各遺伝子型の HBV に由来するペプチドとの反応性を ELISA 法により検討した。

(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名古屋市立大学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。同意を得られ

たビームゲン接種者から血清提供を受けた。

3-4. ビームゲン接種者とヘプタバックス接種者における遺伝子型 C HBs 抗原蛋白との反応性 (黒川)

組換え酵母由来の遺伝子型 C の HBs 抗原蛋白 (ビームゲンに含有されている HBs 抗原蛋白) を化血研から供与された。遺伝子型 A 由来の HB ワクチン (ヘプタバックス II) を接種した健常人 193 名、遺伝子型 C 由来の HB ワクチン (ビームゲン) を接種した健常人 141 名、および HB ワクチン未接種で HBs 抗体陰性である健常人 109 名から、研究の同意を得て採血した。

ビームゲンの HBs 抗原蛋白を ELISA プレートに固相化し、血清およびペルオキシダーゼを標識した検出用 HBs 抗原を添加して、各抗原蛋白と結合する HBs 抗体を検出した (サンドイッチ ELISA 法)。血清は OD 値が 1.5 を超える場合は希釈し、OD 0.25-1.5 となるように調整した。内部標準血清の測定値を用いて実験間の誤差を補正し、補正 OD 値に血清の希釈倍数を乗じて、HBs 抗体価 (AU) を算出した。

(倫理面への配慮)

本研究は、多施設臨床試験として聖マリアンナ医科大学および筑波大学の倫理委員会に申請し、承認を得た。

3-5. 遺伝子型 A による B 型肝炎母子感染防止に対する遺伝子型 C 由来ワクチンの効果 (乾、小松、藤澤)

遺伝子型 A の HBV に対する遺伝子型 C 由来ワクチンの感染防止効果について検討した。対象は、2007 年から 2012 年に遺伝子型 A 由来の HBV キャリア妊婦から出生した児 4 例。母体の HBe 抗原の有無に関係なく、出生後 12 時間以内に HBIG 200 単位 (乾燥 HB グロブリンーニチヤク ; 日本製薬株式会

社)を筋注し、①生後5日以内、②月齢1、③月齢3にHBワクチン5 μ g(ビームゲン)を合計3回皮下接種した。HBs抗体価(EIA法)を月齢1およびワクチン3回目接種後1か月、以降、年毎に測定した。

(倫理面への配慮)

研究の趣旨について、患児の両親に説明し、書面にて承諾を得た。

4. ワクチン戦略の再構築

従来の母子感染予防法は煩雑であり、平成21~23年度の「B型肝炎の母子感染および水平感染の把握とワクチン戦略の再構築に関する研究」班(研究代表者;森島恒雄)による全国調査によれば、適切に母子感染予防のプロトコールが実施されなかった例が多数存在することが明らかとなった。この調査結果をうけて、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に、標準的な予防法として、日本小児科学会、日本小児栄養消化器肝臓学会、日本産婦人科学会から合同で「B型肝炎ウイルス母子感染予防のための新しい指針」が作成・公表された(平成25年度本研究会報告書および小児科学会HPに掲載)。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)、②1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、生後なるべく早期にHBワクチン接種を行えるよう、出産前に同意を確認しておくための専

用予診票を作成・公表した(平成25年度本研究会報告書および小児科学会HPに掲載)。

今年度も、ワクチン定期接種化の検討に資する1-3の研究と並行して、新しい指針の普及や小児科と産科の連携方法など、より確実に母子感染予防を行うための方策を検討した。

4-1. ビームゲンとヘプタックス併用例におけるHBs抗体価の推移(恵谷)

母児感染予防もしくは父子感染予防を目的にHBワクチン接種を受け、その後HBs抗体価の推移を経過観察中の226名について、後方視的に診療録を調べ、ビームゲンとヘプタックスを併用した症例22名について母もしくは父のHBe抗原およびHBe抗体の状態、予防成績、長期的なHBs抗体価の推移を検討した。なお、この母子感染予防では生後5日目、1か月目、3か月目にHBワクチンを接種した。また、HBs抗体100mIU/mL程度をめやすに、HBワクチン追加接種を反復しながら15歳前後まで経過観察した。

4-2. B型肝炎母子感染予防処置スケジュール変更に関する周産期専門医療施設での認知度調査(久保)

2013年10月18日に新方式のHBV母子感染予防法について公知申請が承認され、その後、2014年3月17日に添付文書が改訂され、同年10月からは新方式のみが保険適応となった。現場の医師が正しい知識を得ているのか、実際にはどのように予防処置が行われているのかを調査した。「日本周産期・新生児医学会周産期専門医研修基幹・指定施設」を対象とし、無記名アンケート調査を実施した。産科施設は322施設、新生児施設は279施設であった。ただし、産科施設と新生児施設の大半が重複しているため、産科と新生児の代表責任指導医に調査票を送

付した。質問項目は、①HBワクチン・グロブリンの添付文書が改訂され、以前のHB母子感染予防法の適応が無くなったこと知っていたか、②保険適応が無くなった旧予防法の移行猶予期間があることを知っていたか、③HB母子感染予防対象児の診療を行ったか、④どちらの予防法が良いと考えるか、の4項目とした。

4-3. 1歳半健診を利用した妊婦健診検査項目の認知度調査（江口、末岡、松尾）

平成26年6月～8月に佐賀市の1歳半健診に来訪された母親に対し、妊婦健診で検査された感染症の認知度を、調査員による対面式による聞き取りにより調査した。

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

1-1-1. 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（茨城県）

本年度（平成26年度）は茨城県の9市町村で調査した。対象児童は3,898人で、そのうち生活習慣病予防健診受診者は3,864人、本研究への同意が得られた学童は3,815人（対象者の97.9%）であった。年齢は9-10歳で、性別は男児1,985名、女児1,830名であった。HBs抗原陽性者は0人で、HBc抗体陽性者は13人（0.34%、95%CI 0.16-0.53%）であった。HBc抗体陽性者は男児8人、女児5人で、各地域に散在していた。同じプロトコールで行った昨年（平成25年度）の結果と合わせると、総計7,284人の検査を行い、HBs抗原陽性者はいなかったが、HBc抗体陽性者が31人（0.43%；95%CI 0.28-0.58%）であった。現在二次健診を実施中である。

1-1-2. 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（岩手県）

対象地域19市町村の小学4年生4,596名のうち生活習慣病健診（採血）を希望したのは3,985名（86.7%）であった。このうち本研究への非承諾58名（1.4%）を除く3,927名（98.5%）でHBVマーカーを検査した。HBs抗原陽性は0名、HBc抗体陽性は3名（0.076%）であった。このうち2名が2次調査を承諾した。1名は健康な男子で既往症や血液製剤既往症がなく、感染源は不明であった。他の1人は健康な女子で、母親がHBe抗原陽性のキャリア、本人は母子感染予防のプロトコールどおりγグロブリンとHB予防接種（ビームゲン）を受けていた。母はフィリピン国籍で、父に急性B型肝炎の入院歴があった。

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

10-15歳の調査では、1,000検体中2検体（0.2%、95%CI 0-0.48%）がHBs抗原陽性かつHBV-DNA陽性と判定された。両検体とも福岡県由来で遺伝子型はCで、これまでに日本で報告されている株と近縁であった。両検体は年齢、採血年から同一人物でないことが確認されたにもかかわらず、遺伝子型別で利用した配列（468bp）では相同性が高かった。

1-3. 若年初回献血者のHBマーカー陽性率調査

HBs抗原陽性率は1946～1950年出生の男性が最も高く陽性率は0.88%であった。女性では1951～1955年出生者の陽性率0.60%が最も高かった。

HBc抗体陽性率は1941～1945年出生の男性が最も高く陽性率は23.21%であった。女性では1946～1950年出生者の陽性率17.64%が最も高かった。

HBs抗原陽性率、HBc抗体陽性率とも出生年が新しくなるにつれ陽性率は低下し、1991～1995年出生者のHBs抗原陽性率は男

性 0.03%、女性 0.02%、HBc 抗体陽性率は男性 0.28%、女性 0.22%であった。1991 年以降の出生者を詳細に検討すると、献血者数のばらつきはあるものの、年齢が上がるるとともに HBs 抗原、HBc 抗体陽性者数が増加していた。

1-4. 病院受診者の残余検体を用いた小児 B 型肝炎感染疫学についての多施設共同調査

2015 年 2 月の時点で、合計 4,479 検体の一次検査が終了した。高感度 HBs 抗原検査であるルミパルス HBsAg-HQ（以下 HQ と記す。）での陽性判定（5.0 mIU/mL 以上）は 4,479 検体中 10 検体で、現在広く用いられているルミパルス II HBsAg でも測定できた 7 例については全例陰性であった。複数の検査法で陽性であったものを「陽性」と定義すると、sysmex 超高感度 HBsAg（名古屋市大 田中靖人教授のご厚意による）でも陽性であった 1 例のみが最終的に陽性と判定された（1/4,479=0.022%；95%CI:0-0.066%）（図 3 参照）。

ルミパルス HBcAb 陽性判定（1.0 C.O.I 以上）は 4,479 例中 45 例（1.00%；95%CI 0.71-1.30%）であった（図 3 参照）。HQ 陽性かつ HBcAb 陽性者はいなかった。また、HQ 陽性者のうち 2 人で、採血前日および 3 日前の HB ワクチン接種歴が確認された。ワクチン抗原による HBs 抗原陽性と推測された。このため、他の施設でも、可能な限りワクチン歴を聴取する方針とした。

図 3

<HBs抗原陽性者>					
	北海道	東京	岐阜・大阪・神戸	福岡・佐賀・長崎	Total
検体測定数	107	331	3,005	1,036	4,479
HQ陽性	0	0	5	5	10
「陽性」	0	0	0	1	1
陽性率(%)	0%	0%	0%	0.097%	0.022%

<HBc抗体陽性者>					
	北海道	東京	岐阜・大阪・神戸	福岡・佐賀・長崎	Total
検体測定数	107	331	3,005	1,036	4,479
c抗体陽性	2	6	29	8	45
陽性率(%)	1.87%	1.81%	0.97%	0.77%	1.00%

HBs抗原陽性率	0.022% (95%CI: 0-0.066%)
HBc抗体陽性率	1.00% (95%CI: 0.71-1.30%)

図 4

多施設共同疫学調査(中間解析) HBc抗体陽性者の年齢別検討

年齢	HBc抗体陽性者	検査数	HBc抗体陽性率(%)
0歳	4	469	0.85
1-3歳	18	1,625	1.11
4-8歳	12	1,289	0.93
9-16歳	11	1,096	1.00

検査数を増やして検討する必要があるが、乳児期から一定数のHBc抗体陽性者が存在することが示唆される。

年齢別 HBc 抗体陽性者の検討では、（中間解析のため今後、総数を増やして検討する必要はあるが）、0 歳児で 4/469 (0.85%)、1-3 歳児で 18/1,625 (1.11%)、4-8 歳児で 12/1,289 (0.93%)、9-16 歳児で 11/1,096 (1.00%) であった（図 4 参照）。

1-5. 学童期における HBV 水平感染の検討

1) HBs 抗原スクリーニング受診者

1985 年から 1992 年に長崎県上五島で実施された HBs 抗原スクリーニング検査の受診者は 1,616 人であった。その背景を表 1 に示す。その後も再受診の制限はせず希望者は HBs 抗原を測定し血清を凍結保存したが、再受診者は 739 例（46%）であった。

2) HBs 抗原陽性率

スクリーニング受診者 1,616 人のうち HBs 抗原（凝集法）が陽性であったのは 29 人（1.8%）であった。出生年度別の陽性率を図 1 に示す。1974 年度以前は 3%を超える高い陽性率であった。

3) HBs 抗原陰性者における HBc 抗体陽性率

スクリーニング受診者 1,616 人中 HBs 抗原（凝集法）陽性者 29 人を除いた HBs 抗原陰性者 1,589 人において測定に十分な保存血清量が残っていた 1,563 人について HBc 抗体（CLEIA 法）を測定した。陽性者は 130 人（8.3%）であった。

HBc 抗体陽性者 130 人中、抗体価 10 以上

で HBs 抗体陰性であった 9 例において超高度度の HBs 抗原検査法 (ICT-CLEIA 法) を用いて再検した。9 例中 4 例が明らかな陰性者であった。HBs 抗原陽またはボーダーライン判定計 5 例を除外した 1,558 例を非 HBV キャリアとして、改めて HBc 抗体陽性者数とその比率を計算すると 125 例 (8.0%) であった。

4) 学童期における HBc 抗体価の年齢に伴う推移

図 2 に HBc 抗体価の年齢に伴う推移を、出生年別に示した。年齢に伴う推移を追えた、1975 年出生者、1976 年出生者、1977 年出生者、1978 年出生者、1979 年出生者、1980 年出生者を対象にした。8 才から 15 歳までの小中学時期において HBc 抗体陽性率が上昇する傾向はなかった。

1-6. 数理モデルを用いた垂直感染・水平感染別 HBV キャリアの推定

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の期間について、HBV キャリア率の年度変化を検討すると、垂直感染による者は、出生児のほぼ 0.3% と一定であった。一方、水平感染による HBV キャリアの発生は経年的に急減しており、1950 年から 1985 年の 35 年間で、男性は 1.43% から 0.10% に、女性で 0.95% から 0.03% に低下していた。その結果、従来は水平感染がキャリア発生の主要な感染経路であったが、1970 年代以降に出生した若年層では、水平感染より母子感染によるキャリア化が多くを占める結果となった。

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

2-1-1. 岩手医科大学学生における HB ワクチンの反応性

平成 26 年度は同大学 4 年生 324 名のうち 230 名、71% が研究参加に同意した。230 名

の研究参加対象者の平均年齢は 22.7 歳、男女比は男:女で 119:111 であった。HBc 抗体陽性を 1.0 S/CO と定義した場合、HBc 抗体陽性者は 3 名で、既感染の可能性を考えて、ワクチン応答性の検討から除外した。

ワクチン接種後の HBs 抗体価は 224 名で測定され、16 名 (7%) が non responder、70 名 (31%) が low responder、138 名 (62%) が responder であった。昨年度の HBs 抗体反応性のデータと合算すると、検討総数は 430 名で 37 名 (9%) が non responder、152 名 (35%) が low responder、241 名 (56%) が responder であった。

昨年の協力者 206 名のうち、12 か月後の HBs 抗体価測定に 68 名が同意した。このうち 20 名が昨年の接種後の HBs 抗体価測定で 50 mIU/mL を下回り、昨年中に単回倍量のビームゲンを投与されていた。追加接種されなかった 48 名のうち 37 名が 10 mIU/mL 以上を維持していたが、追加接種した 20 名のうち 10 名は 10 mIU/mL 以下であった。

2-1-2. 筑波大学医学群学生における HB ワクチンの反応性

本年度 (平成 26 年度)、研究に同意が得られたのは 186 名で、全員 HBc 抗体陰性であった。平均年齢は、19.9 歳で、男女比は 60:126 であった。186 名のうち 3 例が non responder、16 例が low responder、167 例が responder であった。昨年の協力者 186 名のうち、初回ワクチン接種後 HBs 抗体価が 100 mIU/mL 未満の 34 人に HB ワクチン追加接種についての同意を再確認し、同意が得られた non responder 3 名を含む 22 名にビームゲン 1 回 0.5mL 皮下注射を行ったところ、21 例で HBs 抗体価が 10 mIU/mL 以上に上昇した。

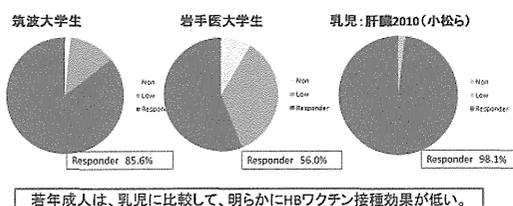
筑波大学および岩手大学において、昨年と合わせて本研究への同意者は総計 802 名で、non responder 43 名、low responder 199

名、responder 560 名であった (図 5 参照)。

図 5

医学生におけるHBワクチン接種効果

筑波大学372人、岩手医科大学430人、合計802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. 病院職員における HBV ワクチン接種の有効性

医療従事者 1,359 名中 1,085 名に調査ならびに測定を行った。性別：女性 729 名 (67.2%)、年齢：中央値 30 歳 (18-69 歳)、職種：医師 331 名、看護師 569 名、その他 185 名。

1) HBc 抗体陰性者 1,058 名 (97.5%) について：(a) 同集団の HBs 抗体陽性率は 83.1%、性別(女性/男性)では HBs 抗体陽性 (≥ 10 mIU/mL) 率 84.1%/81.0%、HBs 抗体価中央値 79.8/52.0 mIU/mL で、女性が有意に高かった。(b) ワクチン接種歴ありと回答した 902 名の HBs 抗体陽性率は 87.5% で、HBs 抗体陽性率、抗体価とも女性が高かった。(c) 29 歳以下の HBs 抗体陽性率は 77.4% で、30 歳代 (89.3%)、40 歳代 (90.8%) と比べて低かった。特に 25 歳未満において HBs 抗体陽性率が 80% を切っていた。(d) 前年度 HBs 抗体陰性による追加接種者の HBs 抗体陽転率は 93.8% であった。

2) HBc 抗体陽性者 27 名 (2.5%) について：(a) 年齢別陽性率は 29 歳以下 0.4%、30 歳代 2.4%、40 歳代 3.7%、50 歳代以上 13.6% であった。(b) 追加調査の結果 6 名がワクチン接種歴のある HBc 抗体陽性者であった。うち 2 名は HBV 陽性者からの血液曝露事故の既往をみとめ、そのうち 1 名は曝露事故

以前の HBV ワクチン接種歴があった。

2-3. 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および追加接種反応性

HBs 抗体価 10 未満であった 150 人および 10 以上 100 未満であった 307 人のうち、10 未満 43 名および 10 以上 100 未満 82 名の協力が得られた。本研究では、参加が任意であることから、不安の強い (これまでに抗体価陰性の通知を受けた) 人が協力しているバイアスのある集団であるが、追加接種 (ビームゲン 1 回 0.5 ml 皮下注) 後、HBs 抗体価 10 mIU/mL 以上の上昇が得られなかったのは、5/43 (11.6%) であった。昨年測定した HBs 抗体価 10 mIU/mL 未満の人の 27.9%、10 以上 100 mIU/mL 未満の人の 68.3% で追加接種後 1,000 mIU/mL 以上の HBs 抗体価上昇が得られた (図 6 参照)。

図 6

筑波大学附属病院職員における HB ワクチン接種後の免疫記憶の検討

	昨年測定した HBsAb	
	10 mIU/ml 未満 43	10 以上 100 未満 82
その後ワクチン 1 回接種した後の HBsAb	10 mIU/ml 未満 5 (免疫記憶なし)	0
	10 以上 100 未満 6	2
	100 以上 500 未満 15	13
	500 以上 1000 未満 5	11
	1000 以上 12	56

今回の検討では、バイアスのある集団であるが、1 回のワクチン接種を行って 10 以上の反応が得られなかった人は 5/43 (11.6%) であった。10 未満の人の 27.9%、10 以上 100 未満の人では 68.3% で、1000 以上の HBs 抗体価上昇が得られた。

2-4. HB ワクチン不応例における HBs 抗体産生不全のメカニズムの検討

前年度の解析にて、miR-181a の発現と年齢との間に逆相関を認めた。本年度は「過去に 1 回でも HBs 抗体陽性を示し、平成 24 年度検診で陰性を示した 15 例に限って検討した。

この 15 例では Naïve CD4+T 細胞の miR-181a の発現は年齢と逆相関にあり、memory CD4+T 細胞の miR-181a の発現は年

齢との相関を認めなかった。このことは過去の報告に一致する所見であった。

次に HBs 抗体が陰性であったため、1回のブースターワクチン接種を行った後の HBs 抗体価別に naïve CD4+T 細胞内の miR-181a 発現を検討すると、低い HBs 抗体価しか得られなかった例では miR-181a の発現が低く、高抗体価が得られた例では miR-181a の発現は高度であった。一方、memory CD4+T 細胞内の miR-181a 発現と獲得抗体価との関連は認めなかった。

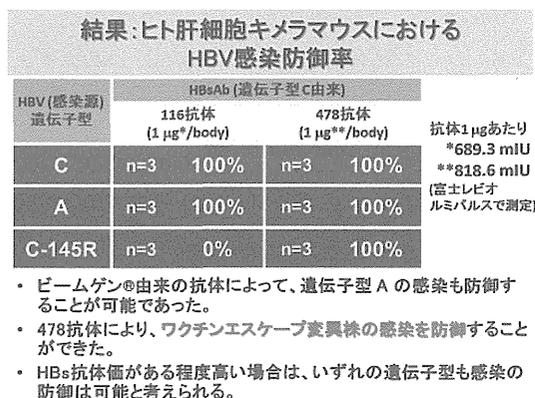
以上の結果から、本研究の仮説通り、年齢と共に miR-181a の発現低下することによってワクチン不応性となるものと考えられた。

3. 遺伝子型の異なる B 型肝炎ウイルスに対する 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抗体 116 抗体と 478 抗体を 1 匹あたり 1 μg 投与すると、遺伝子型 A の HBV 感染を防御できた。HB478 抗体は、ワクチンエスケープ変異株の感染も防御した (図7参照)。

図7

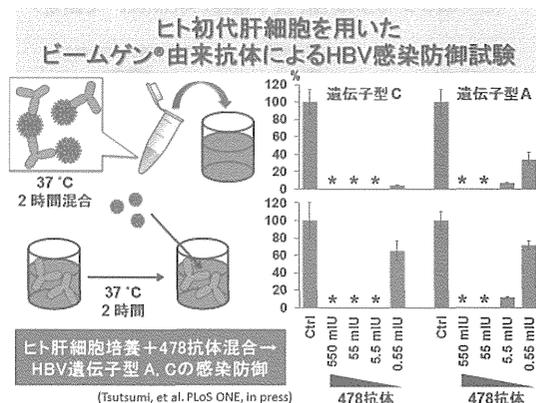


3-2. ヒト初代肝細胞三次元培養による in vitro HBV 感染中和試験

ヒト肝細胞系にビームゲン由来の 478 抗体を 10 倍希釈系列で添加し、さらに HBV を

加えては、感染が阻止できるか検討した。遺伝子型 C の HBV 感染を 5.5 mIU/mL で完全阻止、遺伝子型 A の場合は 55 mIU/mL で完全に阻止することができた (図8参照)。

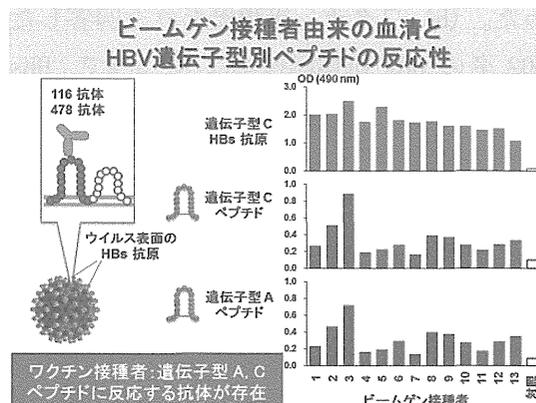
図8



3-3. ビームゲン接種者の血清中の抗体と各遺伝子型の HBV 由来ペプチドの反応性

HBs 抗原タンパクおよび遺伝子型 A と C の HBV 由来ペプチドとワクチン接種者ごとの抗体反応パターンは類似していることから、ワクチン接種者の血液中には遺伝子型に関係なく反応する抗体が存在することが示唆された (図9参照)。

図9



3-4. ビームゲン接種者とヘプタックス接種者における遺伝子型 C HBs 抗原蛋白との反応性

HB ワクチン未接種で HBs 抗体陰性である健常人 24 名の血清は、遺伝子型 C HBs 抗原蛋白 (ビームゲンの抗原) に対し、補正 OD の

平均値+2SD(SD:標準誤差)で0.082 AUを示したので、これらをHBs抗体陽性/陰性のカットオフ値とした。

ヘプタバックス接種者およびビームゲン接種者の全例で上記のカットオフ値を超える値を示した。しかし、ヘプタバックス接種者の平均値±標準誤差は6.107±7.158 AUであり、ビームゲン接種者のそれは15.042±15.269 AUであったことから、ヘプタバックス接種者が有意に低値(p=4.752E-3)であった。

3-5. 遺伝子型AによるB型肝炎母子感染防止に対する遺伝子型C由来ワクチンの効果

遺伝子型AのHBVキャリア母体から出生した4例の児のうち、症例1、2と症例3、4は各々同胞で症例1、2の母は日本人であり、出産時はHBe抗体陽性の非活動期であった。症例3、4の母はフィリピン人であり、出産時はHBe抗原陽性の免疫寛容期であった。全例で出生直後に、高力価HBsヒト免疫グロブリンを筋注した。さらに症例1のみ、旧厚労省方式(2、3、5か月)でHBワクチン接種を行い、他の3例では、生後0、1、3か月にワクチンを接種した。また、症例4は3回目のHBワクチン接種では遺伝子型A由来のワクチン(ヘプタバックス)を使用した。

ワクチン接種終了後1か月のHBs抗体価は全例で1,000 mIU/mL以上であった。3歳時に抗体が測定できた3例のHBs抗体価は134-425(中央値304) mIU/mLであり、全例で母子感染が予防できた。ビームゲンによる遺伝子型AのHBV母子感染防止効果は、母親のウイルス量の多寡に関わらず、良好であることが示された。

4. ワクチン戦略の再構築

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「B型肝炎母子感染予防接種記録」を作成した(図

10参照)。保育園に母子手帳を提出する際に保護者の意志で取り外しができるように配慮し、母子手帳にはさむカード状のものとし、ワクチン販売会社から接種医療機関に配布した。

図 10

B型肝炎母子感染予防接種記録

*HBIG: HBグロブリン製法用

接種予定日	接種回数	HBIG*およびHBワクチン (ロット番号等添付のこと)	接種または 投与日	サイン
年 月 日	1回目	HBIG*	年 月 日	
		ワクチン (シール貼付部)		
年 月 日	2回目	ワクチン (シール貼付部)	年 月 日	
年 月 日	3回目	ワクチン (シール貼付部)	年 月 日	
B型肝炎検査	9-12か月	HBs抗原(+/-)HBs抗体 (mIU/mL)	年 月 日	
年 月 日			年 月 日	
年 月 日			年 月 日	
年 月 日			年 月 日	

2015年1月の厚生科学審議会、予防接種ワクチン基本方針部会および予防接種・ワクチン分科会で、本研究班の成績を報告した。歴代の厚生科学研究の成果と合わせて、「日本では、母子感染予防処置により、小児及び若年成人のB型肝炎キャリアは激減したが、未だ主として水平感染によると推定されるHBV感染者が存在することから、B型肝炎による社会的疾病負荷の更なる軽減を目指して、全出生者にHBワクチンを接種する。」ことが承認された。

これをうけて、定期接種開始前に、①HBワクチンのシリーズ内での互換性についての検討、②医療従事者・非医療従事者問わず、HBV感染およびHBワクチンについての正しい知識の普及に努めることが重要であることから、現状を把握するために以下の調査を行った。

4-1. ビームゲンとヘプタバックス併用例におけるHBs抗体価の推移

ビームゲンとヘプタバックスを併用した症例22名うち男児は10名、女児は11名で現在もしくはフォロー終了時の年齢は10か月～18歳(平均14歳±3.3歳)であった。父子感染予防目的は1例のみで、残る21名

は母子感染予防として接種された。HBe 抗原陽性の母が 8 名、父が 1 名、HBe 抗体陽性の母が 12 名で、全例母子（父子）感染は予防された。しかし抗体価の獲得不良、もしくは早期減衰のために頻回に追加接種を施行している症例が多かった。初期の 3 回接種をヘプタバックスのみで施行され、その後追加接種としてビームゲンを使用されたものが 19 名、初期の 3 回接種をビームゲンのみで施行され、その後ヘプタバックスを追加接種された者が 1 名、初期の 3 回接種の時に両方のワクチンを使用されたのが 2 名であった。

ヘプタバックスで基礎免疫をつけた後にビームゲンで追加ワクチンを行っても、またその逆のパターンであっても多くの症例でブースター効果は得られた。しかし同じ児に同じワクチンを繰り返し投与している場合でも、接種後に得られる抗体価や減衰速度には非常に大きなばらつきがあった。いずれの場合も特別な副反応はみられなかった。

4-2. B 型肝炎母子感染予防処置スケジュール変更に関する周産期専門医療施設での認知度調査

回収率は、産科施設は258施設/322施設（80.1%）であり、新生児施設は186施設/279施設（66.7%）であった。

周産期センターの約8割の施設でHB母子感染予防の旧方式の保険適応が無くなったことは知っていたが、その切り替え時期を正確に知っていたのは、産科施設で約1割、新生児施設で約2割と極めて少なかった。

周産期センターでは新方式の認可後の約1年間で少なくとも700例近くのHBV母子感染予防を実施していた。移行期ではあったが、多くの施設で新方式が導入されていた。旧方式による予防処置は産科施設では15%で、新生児施設では27%で実施されていた。

予防方法としては産科施設も新生児施設も約6割近くが新方式の方が良いと考えていたが、旧方式の方が良いとの回答も、産科施設の3%、新生児施設の5%にみられた。

4-3. 1 歳半健診を利用した妊婦健診検査項目の認知度調査

1 歳半健診を受診した児の母親 197 名を対象に対面調査を行った。「妊婦健診ではどの検査をされたか覚えていますか」の問いに対し HBs 抗原の認知度は、医療従事者以外の一般の母親では 35%と低いことが判明した。さらに一般の母親では、項目によりばらつきがあり、病名を想起させる項目名は認知度が高い傾向が見られた。また、B 型肝炎に対するワクチンの存在の有無の調査とワクチンの効果に対しての調査では、65%の母親はワクチンの存在を知っているが、半数はその効果を知らなかった。

D. 考察

1. 小児期における B 型肝炎ウイルス感染の実態把握

近年、健常小児では採血の機会が少なく、採血検査を研究目的のみに行うことは困難である。また小児でも、地域差や環境要因などによって HBV 感染率に差がある可能性があることから、本研究班では、いろいろな集団な調査対象にして、小児期の HBV 感染の広がりを全体として理解できるように努めた。とくに今年度は、多施設共同研究を計画し、成人で HBV キャリア率が高い北海道・大都市・九州地方を中心に 8 施設の協力を得て、調査を開始した。今後さらに 4 施設の協力が得られる見込みである。

既報および昨年の中間解析からは、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 HBs 抗原陽性率は極めて低いため、数千名規模の調査では信頼性の