

## 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

研究分担者 黒川 真奈絵 聖マリアンナ医科大学大学院  
疾患プロテオーム・分子病態治療学 准教授

### 研究要旨

B型肝炎ワクチン接種者血清中のHBs抗体について、異なるジェノタイプ由来のHBs抗原に対する反応性を検討した。ジェノタイプA由来のヘプタバックスIIを接種し臨床検査でHBs抗体陽性となった健常人61例の血清(genoA血清)、同様にジェノタイプC由来のビームゲンを接種し臨床検査でHBs抗体陽性となった健常人52例の血清(genoC血清)、およびHBワクチン未接種であり臨床検査でHBs抗体陰性の健常人39例の血清(not immunized [NI]血清)を用い、ジェノタイプA由来HBs抗原の主要な蛋白質の型であるadw2(genoA抗原)、およびジェノタイプC由来HBs抗原の主要な蛋白質の型であるadrq+(ビームゲン、genoC抗原)に対する反応をsandwich ELISAにて測定した。実験間の差を内部標準血清で補正したところ、NI血清の補正OD値の平均+2x標準誤差は、genoA抗原の系で0.059 AU、genoC抗原の系で0.086 AUとなり、これをHBs抗体陽性/陰性のカットオフ値として規定した。その結果、genoA血清およびgenoC血清の全例が、genoA抗原およびgenoC抗原に対して陽性であった。genoA抗原に対するgenoA血清群の平均±標準誤差は4.379±4.051 AU、genoC血清群は、18.182±31.302 AUであった(p=2.457E-4)。genoC抗原に対するgenoA血清群の平均±標準誤差は6.888±6.347 AU、genoC血清群は34.758±53.046 AUであった(p=1.422E-7)。genoA血清のgenoA抗原とgenoC抗原への反応性は $\rho=0.9805$ ( $p<0.0001$ )、genoC血清のgenoA抗原とgenoC抗原への反応性は $\rho=0.9815$ ( $p<0.0001$ )と、両者とも非常に高い相関を示した。genoA血清10検体を両抗原で吸収したところ、genoA抗原では100%、genoC抗原では96.4±6.5%吸収された。同様に、genoC血清10検体を両抗原で吸収したところ、genoC抗原では100%、genoA抗原では96.0±2.0%吸収された。以上より、HBワクチンを接種しHBs抗体陽性となった血清は、接種ワクチンと異なるジェノタイプのB型肝炎ウイルスの感染も防御出来る可能性が高いと考えられた。

### A. 研究目的

本邦のB型肝炎ウイルス(hepatitis B virus, HBV)感染の主原因であった産道感染は、1986年開始の免疫グロブリンとワクチンによる母子感染事業により激減した。しかし家族内や幼児間での感染や性行為等による新規感染者は後を絶たず、また近年では既感染者の免疫抑制下におけるHBVの再活性化が問題となっている。故に日本国民

においてHBワクチンをユニバーサルに施行する必要性が考えられるが、それにはいくつかの課題を克服しなければならない。

その1つが、現行のワクチン製剤がHBVの全ての遺伝子型(ジェノタイプ)の感染を防御し得るかという点である。HBVは遺伝子変異により、複数のジェノタイプ(A-J)に分類される。「あるジェノタイプのHBVの配列から作製されたワクチンで、他のジェノタイ

プのHBV感染を効果的に防止できるか」について、疫学研究からは可能と考えられるが、試験管内の検討はなされてない。現在日本で使用可能なHBワクチンは、ジェノタイプA及びC由来の2種類がある。両者ともsmall S抗原の組換え蛋白質である。一方、日本人の幼児期を含めた主な感染HBVはジェノタイプCであるが、近年青年期において性行為等の水平感染による急性B型肝炎の発症が問題となっており、これは主にジェノタイプAの感染によることが知られている。

以上より、本研究ではHBVのジェノタイプA由来ワクチン接種により作製されたHBs抗体がジェノタイプC由来のHBs抗原と結合するか、またジェノタイプC由来ワクチン接種により作製されたHBs抗体がジェノタイプA由来のHBs抗原と結合するかを検討する。ヒト血清中のポリクローナルなHBs抗体のレベルでHBs抗原との結合能を測定することにより、他のジェノタイプに対する感染防御能の有無を検討することを目的とする。

## B. 研究方法

ジェノタイプA由来HBs抗原のワクチン(ヘプタバックスII、MSD)を接種し臨床検査(ステイシアCLEIA法 ad、LSIメディエンス社、またはアーキテクトオーサブ法 adw+ayw、アボット社)でHBs抗体陽性を示した健康人193例、およびジェノタイプC由来HBs抗原のワクチン(ビームゲン、化学及血清療法研究所)を接種し臨床検査(アーキテクトオーサブ法)でHBs抗体陽性を示した健康人141例、およびHBワクチン未接種であり臨床検査(ステイシアCLEIA法)でHBs抗体陰性を示した健康人109例より、同意のもとに血清を採取した。

ジェノタイプA由来HBs抗原の主要な蛋白質の型であるadw2(genotype A2由来、アブカム社、genoA抗原)、およびジェノタイプC由来HBs抗原の主要な蛋白質の型である

adrq+(ビームゲン、genoC抗原)に対する反応性を、ELISAにて測定した。具体的には、各HBs抗原を5 $\mu$ g/mLで固相化し、血清およびペルオキシダーゼを標識した検出用HBs抗原(ad+ay、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティック社、エンザイグノスト、Anti-HBsII)を反応させ、HBs抗体の反応を検出した。OD値が1.5を超える場合は血清を希釈し、OD0.25-1.5となるよう調整して使用した。内部標準血清の測定値を用いて実験間の差を補正し、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。

また、ヘプタバックスII接種HBs抗体陽性血清(genoA血清)10例およびビームゲン接種HBs抗体陽性血清(genoC血清)10例を、接種ワクチンと同一および異なるジェノタイプ由来のHBs抗原0.15、0.5、1.5、5.0  $\mu$ g/mLで吸収した後に、同一ジェノタイプ由来のHBs抗原を固相化した上記ELISAで測定し、接種ワクチンと異なるジェノタイプ由来のHBs抗原に対する反応を確認した。

(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生命倫理委員会に申請し、承認を得て行った。

## C. 研究結果

HBワクチン未接種でHBs抗体陰性である健康人39例の血清(not immunized [NI]血清)は、genoA抗原に対し0.033-0.058 AU、genoC抗原に対し0.039-0.093 AUを示した。NI血清の補正OD値の平均+2x標準誤差は、各々0.059 AU、0.086 AUとなり、これをHBs抗体陽性/陰性のカットオフ値として規定した。

genoA血清のうち61例、genoC血清のうち52例について測定したところ、全ての血清が両抗原のカットオフ値を超える値を示した。genoA抗原に対するgenoA血清群の平均 $\pm$ 標準誤差は4.379 $\pm$ 4.059 AUであり、genoC血

清群は同様に $18.182 \pm 31.302$  AUであった ( $p=2.457E-4$ )。genoC抗原に対するgenoA血清群の値は同様に $6.888 \pm 6.347$  AUであり、genoC血清群の値は $34.758 \pm 53.046$  AUであった ( $p=1.422E-7$ )。

HBs抗体陽性血清の、接種ワクチンと同一および異なるジェノタイプ由来のHBs抗原に対する反応性の相関を検討したところ、genoA血清のgenoA抗原とgenoC抗原への反応性は $p=0.9805$  ( $p<0.0001$ )、genoC血清のgenoA抗原とgenoC抗原への反応性は $p=0.9815$  ( $p<0.0001$ )と、両者とも非常に高い相関を示した。

異なるジェノタイプ由来のHBs抗原に対する反応性を詳細に検討するため、genoA血清およびgenoC血清に対し、同一および異なるジェノタイプ由来のHBs抗原を用いた吸収試験を行った。同一ジェノタイプ由来のHBs抗原を固相化した上記ELISAにて、HBs抗体陰性血清と同等かそれを下回るOD値を示した場合に完全に吸収されたと定義したところ、同一ジェノタイプ由来のHBs抗原 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ で吸収すると完全に吸収されることが分かった。この吸収率を100%とし、異なるジェノタイプ由来のHBs抗原 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ で吸収した場合の吸収率を測定した。

genoA血清10検体を両抗原で吸収したところ、genoA抗原では100%、genoC抗原では $96.4 \pm 6.5\%$ 吸収された。同様に、genoC血清10検体を両抗原で吸収したところ、genoC抗原では100%、genoA抗原では $96.0 \pm 2.0\%$ 吸収された。この20検体中19検体は、異なるジェノタイプ由来のHBs抗原により $92.4\text{--}100\%$ の吸収率を示したが、genoA血清の1例のみが $79.2\%$ と低い値を示した。

#### D. 考察

特定のジェノタイプ由来HBs抗原に対するHBs抗体の測定系をsandwich ELISA法とし

て確立した。genoA抗原、genoC抗原に対する測定系で、NI血清群は補正OD値で0.1を超えず、HBs抗体陽性血清は全例カットオフ値を超える抗体価を示した。このことから、当測定系はHBs抗体価を適切に反映していると考えられた。

genoA血清・genoC血清の両者が、genoA抗原・genoC抗原の両者に対して陽性であったことより、特定のジェノタイプ由来HBs抗原ワクチン接種により、他のジェノタイプ由来のHBs抗原へも結合するHBs抗体が得られることが示された。これは特定のHBワクチン接種により、将来的に異なるジェノタイプのHBVに感染した際に感染防御が成り立つ可能性を示しており、HBワクチンのユニバーサル化を推進する根拠の一つになると考えられる。

今回の測定では、genoA抗原・genoC抗原の両者に対して、genoC血清がgenoA血清より高い抗体価を示した。この理由としては、3回目のワクチン接種後、genoC血清は1~2か月後に採血されたのに対し、genoA血清は3~33か月に採血されており、ワクチン接種終了時から採血までの期間の差異によると考えられた。

genoA血清、genoC血清とも、genoA抗原とgenoC抗原への反応性に非常に高い相関を示した。接種ワクチンと同一および異なるジェノタイプ由来のHBs抗原への反応性が高い相関を示すことは、異なるジェノタイプ由来のHBVの感染防御も高い確率でなされることを示唆する。

異なるジェノタイプ由来のHBs抗原を用いた吸収試験では、両血清とも平均 $96\%$ という非常に高い値を示した。このことより、特定のワクチン接種により獲得したHBs抗体は、接種ワクチンと異なるジェノタイプのHBVの感染も防御出来る可能性が高いと考えられた。

吸収試験を行ったHBs抗体陽性血清は1例

を除き、異なるジェノタイプ由来のHBs抗原での吸収において92%以上の吸収率を示したが、1例のみが79.2%と低い値を示した。このような抗体のプロファイルをもつHBs抗体陽性者が低い頻度で存在すると考えられるが、このような症例のHBs抗体価が時間と共に低下した場合、異なるジェノタイプのHBVの感染を防御しきれぬかが問題となる可能性がある。

## E. 結論

HBワクチンを接種しHBs抗体陽性となった血清は、接種ワクチンと異なるジェノタイプのHBVの感染も防御出来る可能性が高いと考えられた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Suzuki I, Noguchi M, Arito M, Sato T, Omoteyama K, Maedomari M, Hasegawa H, Suematsu N, Okamoto K, Kato T, Yamaguchi N, Kurokawa MS. Serum peptides as candidate biomarkers for dementia with Lewy bodies. *Int J Geriatr Psychiatry* 2015;30:1195-206.
- 2) Arito M, Nagai K, Ooka S, Sato T, Takakuwa Y, Kurokawa MS, Sase T, Okamoto K, Suematsu N, Kato T. Altered acetylation of proteins in patients with rheumatoid arthritis, revealed by acetyl-proteomics. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33:877-86.
- 3) Tsuno H, Suematsu N, Sato T, Arito M, Matsui T, Iizuka N, Omoteyama K, Okamoto K, Tohma S, Kurokawa MS, Kato T. Effects of methotrexate and salazosulfapyridine on protein profiles of exosomes derived from a human synovial sarcoma cell line of

SW982. *Proteomics - Clin Applications*, in press.

- 4) Adachi T, Arito M, Suematsu N, Ikemori AK, Omoteyama K, Sato T, Kurokawa MS, Okamoto K, Kimura K, Shibagaki Y, Kato T. Roles of layilin in TNF $\alpha$ -induced epithelial-mesenchymal transformation of renal tubular epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2015;467:63-9.
- 5) 黒川真奈絵. リウマチ・膠原病と翻訳後修飾異常. *臨床リウマチ* 2015;27:313-7.
- 6) Suzuki H, Chikada M, Yokoyama MK, Kurokawa MS, Ando T, Furukawa H, Arito M, Miyairi T, Kato T. Aberrant glycosylation of lumican in aortic valve stenosis revealed by a proteomic analysis. *Int Heart J* 2016;57:104-11.

### 2. 学会発表

- 1) 表山和樹、佐藤利行、有戸光美、末松直也、黒川真奈絵、加藤智啓。サーフェスオミックスを利用したサラゾスルファピリジンの作用の解析。第59回日本リウマチ学会総会・学術集会、2015年4月。
- 2) 有戸光美、黒川真奈絵、表山和樹、遊道雄、中村洋、別府諸兄、加藤智啓。ヒト関節軟骨細胞における Layilin を介したシグナルによる炎症因子の誘導。第59回日本リウマチ学会総会・学術集会、2015年4月。
- 3) 有戸光美、小泉英樹、遠藤渉、黒川真奈絵、表山和樹、別府諸兄、加藤智啓。ヒト関節軟骨細胞における

- tofacitinib の核酸代謝に対する影響。第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2015 年 4 月。
- 4) 内田貞輔、永井宏平、佐藤利行、大岡正道、有戸光美、尾崎承一、黒川真奈絵、加藤智啓。ANCA 関連血管炎における好中球ミエロペルオキシダーゼの酸化修飾。第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2015 年 4 月。
- 5) 野澤洋平、有戸光美、黒川真奈絵、大岡正道、表山和樹、加藤智啓。SLE 患者末梢血単核球の表面蛋白質プロファイルの解析。第 59 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2015 年 4 月。
- 6) Suzuki H, Chikada M, Yokoyama M, Kurokawa MS, Furukawa H, Arito M, Miyairi T, Kato T. Aberrant Glycosylation of Lumican in Aortic Valve Stenosis Revealed by a Proteomic Analysis. 23th ASCVTS 2015, May, 2015.
- 7) Kurokawa MS, Suzuki I, Noguchi M, Arito M, Sato T, Omoteyama K, Maedomari M, Hasegawa H, Suematsu N, Okamoto K, Kato T, Yamaguchi N. Serum peptides as candidate biomarkers for dementia with Lewy bodies. 第 11 回日本臨床プロテオーム研究会、2015 年 5 月。
- 8) 岡本一起、表山和樹、佐藤利行、有戸光美、黒川真奈絵、末松直也、遊道和雄、磯橋文秀、加藤智啓。炎症性転写因子 NF- $\kappa$ B のコリプレッサー MTI-II を利用した抗炎症剤の in vivo 抗炎症効果と副作用。日本ビタミン学会第 67 回大会、2015 年 6 月。
- 9) 有戸光美、黒川真奈絵、大岡正道、表山和樹、加藤智啓。SLE 患者末梢血単核球の表面蛋白質プロファイルの解析。日本プロテオーム学会 2015 年会、2015 年 7 月。
- 10) 表山和樹、有戸光美、佐藤利行、岡本一起、末松直也、黒川真奈絵、加藤智啓。シェドミクス法の確立に関する研究。日本プロテオーム学会 2015 年会、2015 年 7 月。
- 11) Kurokawa MS, Arito M, Sato T, Omoteyama K, Suematsu N, Okamoto K, Kato T. Serum peptides as candidate biomarkers for dementia with Lewy bodies. 日本プロテオーム学会 2015 年会、2015 年 7 月。
- 12) 黒川真奈絵、有戸光美、加藤智啓。プロテオミクスを用いた RA の病態解析。第 43 回日本関節病学会、2015 年 11 月。
- 13) 岡本一起、佐藤政秋、表山和樹、佐藤利行、有戸光美、黒川真奈絵、末松直也、遊道 和雄、加藤 智啓。NF- $\kappa$ B コリプレッサー (MTI-II) の作用部位を利用した短鎖ペプチド抗炎症薬の In vivo 試験。BMB2015 (第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会)、2015 年 12 月。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし。
3. その他  
特になし。

## 周産期センター母体胎児専門医の HB 母子感染予防法についての 意識調査に関する研究

研究分担者 久保隆彦 シロタ産婦人科 名誉院長

### 研究要旨

2013 年にコンプライアンスに問題があり完遂率が低かった従来法から国際標準に準じた新方式が保険収載され、HB 母子感染予防法が変更された。従来方式に執着する産科医も存在することが危惧されていたが、全国の周産母子センターに従事する 97 人の産科専門医師へのアンケートにより半数以上が新方式を支持し、従来法を支持した産科医は 1 名のみであった。また、HB ワクチンの定期接種が開始したことを前提に B 型肝炎が撲滅できると考えている産科医は 1 割に過ぎず、1/3 は撲滅できないと考えていた。今後、我が国から B 型肝炎を撲滅するには、HB 母子感染予防事業、全ての赤ちゃんへの定期接種に加えた戦略を構築する必要がある。

### A. 研究目的

B 型肝炎は肝硬変、肝臓がんに至る極めて問題のある感染症である。血液・輸血感染は HB 検査が普及したことにより防止できてきたため、性行為による感染である STD と母子感染が残された感染ルートとなった。STD も母子感染防止と universal vaccination によって感染源を撲滅できれば B 型肝炎を撲滅できる可能性がある。

我が国の HB 母子感染予防事業は 30 年前から実施されていたが、ワクチン接種が生後 2, 3, 5 か月と不規則で日常臨床、乳児健診とも異なり接種漏れの可能性が指摘されていた。森島班の全国調査でもキャリア化した児の 3 割に母子感染予防が完遂されていなかった。そこで、我が国の産科、小児科の出生した児の管理体制にも合致し、国際標準の新方式（出生直後、12 時間以内にグロブリンとワクチン接種、1 か月健診でワクチン接種、6 か月にワクチン接種）を日本産科婦人科学会が中心となり、日本周産期・新生児医学会、日本産婦人科医会、日本小児科学会の上の了承を得て、HB 母子感染予防法の改善作業を行い、厚生労働省、PMDA とも協議し、2013 年 10 月に保険収載され

た。さらに、2014 年 3 月に HB グロブリン、HB ワクチンの添付文書が改訂され、従来方式の保険適用が消失した。しかし、臨床現場の混乱を回避するために、厚生労働省に働きかけ従来方式の併用期間を半年延長する通達で対応した。その結果、2014 年 9 月で従来方式は保険で実施できなくなった。

このような状況の中、HB 母子感染予防の実施者である周産期医へのアンケート調査を行ってきた。本年は新方式のみが保険適用となり 1 年、新方式が採用され 2 年が経過した時点で周産期医の産科専門医への HB 母子感染予防についてアンケート調査を行い、新方式の認知度さらには現在議論されている HB ワクチンの定期接種が開始された場合の B 型肝炎が撲滅可能かどうかの意識調査を行った。

### B. 研究方法

対象は日本の周産期医療の核となる MFICU (maternal fetal intensive care unit) を有する周産期センターに従事しているあるいは従事していた産科スペシャリストで構成される MFICU 連絡協議会のメンバーである。

方法はMFICU連絡協議会のメーリングリストを使用し、無記名のアンケート調査を行った。期間は2015年10月から12月とした。

アンケートには二つの情報を提示し行った。

- ① 2013年10月に国際標準に準じたコンプライアンスに優れたHB母子感染予防新方式が認可され、2014年9月で旧方式の保険診療が中止され、新方式のみが標準医療となりました。しかし、小児科医の中には従来方式を良しとする医師も存在しているとのことです。
- ② 2016年度からB型肝炎ワクチンの定期接種(先進国では大多数実施されている)が開始されようとしています。現在、厚生労働省は総務省・財務省との最終交渉中です。厚生労働省は、小児の定期接種とハイリスクの母子感染予防が完遂すればB型肝炎は撲滅できると考えています。しかし、31年前から母子感染予防、29年前から小児定期接種を行ってきた台湾で15才以上のB型肝炎のキャリアが増加していることが報告されました。これは小児期のB型肝炎ワクチンの有効期間が長期間持続しない可能性とSTDによる感染の可能性が指摘されています。

質問は2問で番号でのみ返答を得た。

問1：HB母子感染予防法として、先生方は現状でどの方式が良いとお考えですか？

1. 新方式
2. 旧方式
3. どちらが良いか判断できない

問2：我が国でも小児期の定期接種が開始され、母子感染予防も順調に実施された場合にB型感染は撲滅出来るとお考えですか？

1. 撲滅できる
2. 撲滅できない
3. 分からない

(倫理面への配慮)

無記名の意識調査アンケートであり、個人情報に関与せず、倫理面に問題はない。

## C. 研究結果

(1) 産科専門医が現状での望ましいHB母子感染予防法について

97人の産科スペシャリストから返答があった。新方式を支持した医師は52名(53.6%)、旧方式を支持した医師は1名(1.0%)しかおらず、どちらかよいか分からないと返答した医師は45名(46.4%)であった。

(2) 我が国でも幼小児期の定期接種が開始され、母子感染予防も順調に実施された場合にB型感染は撲滅出来るかについて97人の産科スペシャリストから返答があった。撲滅出来ると回答した産科医は10名(10.3%)、撲滅できないと考えた産科医は34名(35.1%)、現状では判断できないと考えた産科スペシャリストは53名(54.6%)であった。

## D. 考察

旧方式のHB母子感染予防法は我が国の産科医療・小児医療体制と合致しない極めて複雑な方式であった。出生した児は1ヶ月健診までは産科で、その後の健診は小児科で実施されることが一般的である。旧方式は出生直後にHBグロブリンのみ、生後2か月にHBグロブリンとHBワクチン接種し、その後3か月・5ヶ月にワクチン接種するものであった。すなわち産科と小児科が通常児を診察しない時のワクチン接種であり、産科と小児科の連携も取りにくかった。旧方式では母子感染予防が完遂せずにHBキャリアとなった多くの児が報告された。そこで、この点を改善した新方式は出生直後にグロブリンとワクチン接種し、必ず病院を訪れる1か月にワクチン接種、定期接種の始まる6か月に最後のワクチンを接種するものである。

新方式に円滑に移行できるように日本産科婦人科学会産科編のガイドラインを新方式に改訂し、日本周産期・新生児医学会周産期専門医システムを通しての周知、日本小児科学会の提言などで新方式

を広報した。さらに、現場での混乱をさけるために添付文書改訂によって旧方式が保険償還されなくなる3月から6か月間の猶予期間を厚生労働省保険局と議論し設けた。

しかし、30年近く旧方式に慣れた小児科医は新方式に違和感を覚えたかもしれない。そこで、新方式の認可から2年、新方式のみが保険償還され1年が経過した時点で、実際のHB母子感染予防事業の実施者である周産期センターに従事しているあるいは従事した周産期専門医の産科医にアンケート調査した。回答のあった97人の内旧方式を支持した産科医は1名のみで、多くはどちらが良いか分からないであった。半数以上の52名は新方式を支持し、日本全体に浸透していたことが判明した。臨床現場に合致した新方式が今後確実に実施されることが望まれる。さらに、新方式による抗体獲得効果の検証が不可欠である。

現在、B型肝炎ワクチンの定期接種が厚生労働省予防接種委員会で推奨され、その実施に向けて担当部署が鋭意進めている。これは母子感染予防だけではなく定期接種を加えることでB型肝炎を撲滅できると考えているからである。しかし、31年前から母子感染予防、29年前から小児定期接種を行ってきた台湾で15才以上のB型肝炎のキャリアが増加していることが報告された。これは小児期のB型肝炎ワクチンの有効期間が長期間持続しない可能性とSTDによる感染の可能性が指摘されている。風疹も定期接種が20年となるが、30歳以上の未定期接種妊婦の風疹抗体陰性率は4%以下にも関わらず、風疹定期接種した15-19歳の妊婦の風疹抗体陰性率は20%、20-24歳は13%と高かった。このことは風疹定期接種の効果は15年以上継続しないことが示唆されている。これは台湾でのHBワクチン定期接種の限界と合致していた。

そこで、台湾での現状を提供したうえで周産期センターの産科スペシャリスト

に予定されているHBワクチン定期接種と新母子感染予防法で我が国のB型肝炎が撲滅できるかを調査した。撲滅出来ると回答した産科医は10名(10.3%)に過ぎず、撲滅できないと考えた産科医は34名(35.1%)と撲滅できると回答者の3倍であり、約半数の53名(54.6%)現状では判断できないと考えていた。定期接種を妄信するのではなく、北南米で風疹を撲滅した方法である成人前にブースターの追加接種することではないかと考えている。

## E. 結論

肝硬変・肝臓がんの原因ウイルスであるB型肝炎の撲滅は我が国の悲願であるといえる。最大の感染ルートされる母子感染予防の精度向上させるために2013年にコンプライアンスに優れた母子感染予防新方式を保険収載し、2014年には新方式のみとした。このことに関して2年経過時点での臨床現場の産科専門医のHB母子感染予防法については新方式を支持し、旧方式を望む医師は1名のみであった。しかし、現在の母子感染予防に加えて幼児期の定期接種を開始したとしてもB型肝炎を撲滅できないと多くの産科専門医は考えており、成人前に追加接種を加えるなどの戦略が必要と考えられる。

## F. 文献

- 1) MING-WEI LAI, et al. Increased seroprevalence of HBV DNA with mutation in the S gene among individuals greater than 18 years old after complete vaccination. *Gastroenterology* 2012,143:400-407.
- 2) Takahiro Yamada, Takahiko Kubo, et al. Immune status among Japanese during nationwide rubella outbreak in Japan. *J.Infect.*2014,68:300-302.
- 3) Norma Mongua-Rodriguez, et al. A systematic review of rubella vaccination strategies implemented

in the Americas: impact on the  
incidence and seroprevalence rates of  
rubella and congenital rubella  
syndrome. Vaccine 31 (2013)  
2145– 2151

**G. 健康危険情報**

特になし

**H. 研究発表**

特になし

**I. 知的財産権の出願・登録状況**

特になし

## 異なる遺伝子型由来 HB ワクチン接種での予防効果

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  
研究協力者 小松 陽樹 東邦大学医療センター 小児科 准教授  
研究協力者 藤澤 知雄 済生会横浜市東部病院 こどもセンター 顧問

### 研究要旨

本邦において同一スケジュール内で遺伝子型 A (GTA) 由来 HB ワクチンおよび遺伝子型 C (GTC) 由来 HB ワクチンを組み合わせた、HBV 感染の予防効果に関する効果は不明である。同一スケジュール内で GTA 由来 HB ワクチンおよび GTC 由来 HB ワクチンを組み合わせた接種による HBV 感染の予防効果を後方視的に検討した。2007 年 4 月から 2015 年 5 月までに、当科で GTA 由来 HB ワクチンと GTC 由来 HB ワクチンを組み合わせて接種を行った 7 例を解析した。同時に GTC 由来ワクチン単独または GTA 由来ワクチン単独接種を行った 21 例を対象群とした。混合ワクチン群全例においてワクチン 3 回接種後の HBs 抗体価は 400mIU/mL 以上を示し、両群間でワクチン 3 回接種後の HBs 抗体価に有意差はなかった。異なる遺伝子型を組み合わせた HBV 感染予防効果は、同じ遺伝子型で行われた単独接種と同等の予防効果が得られると考えられた。

### A. 研究目的

本邦では B 型肝炎ワクチンは 2 つの異なる HBV 遺伝子型由来のワクチンが使用できる。一つは欧米で感染頻度が高い遺伝子型 A (genotype A:GTA) 由来のワクチン、もう一つは本邦で感染頻度が高い遺伝子型 C (genotype C:GTC) 由来 HB ワクチンである。それぞれ単独では、感染予防効果は証明されているが、3 回接種に両方のワクチンを用いた混合接種での感染予防効果は不明である。本研究の目的は同一スケジュール内で GTA 由来 HB ワクチンおよび GTC 由来 HB ワクチンを組み合わせた接種による HBV 感染の予防効果を明らかにすることである。

### B. 研究方法

対象:2007 年 4 月から 2015 年 5 月までに、済生会横浜市東部病院小児消化器肝臓科で

HB ワクチン接種を実施した症例を対象に後方視的に検討した。接種プロトコールは母子感染予防の場合、旧厚生省方式（妊婦の HBe 抗原の有無で HBIG 200 単位筋注投与回数が異なり、生後 2 か月からワクチン接種が開始）または国際方式（妊婦の 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 $\mu$ g を合計 3 回皮下接種）を用いた。母子感染予防以外の予防接種スケジュールは 2 回目接種が初回接種から 2 か月後、3 回目接種が初回から 6 か月後の 3 回皮下接種とした。GTA 由来のワクチンはビームゲン（化学及血清療法研究所）、GTC 由来のワクチンはヘプタバックス-II（MSD）を使用した。HBIG は乾燥 HB グロブリン—ニチヤク（日本製薬株式会社）を使用した。抗体価は EIA 法で測定

し、HBs抗体価の測定は3回接種から1か月後、6か月後および1年後の合計3回実施した。HBs抗体価の protective levels と考えられる 100mIU/mL 以上の抗体価を得た例を HBs 抗体産生良好者 (Good Responder : GR) と定義した。2 群間の検定には Mann-Whitney-U test を用いた。統計学的処理は Excel (Microsoft 社) と Stat MateIII (アトムス社) で行い、 $p < 0.05$  を有意とした。

(倫理面への配慮)

済生会横浜市東部病院倫理委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

対象期間内に58例の症例がHBワクチンの接種を受けた。58例中HBs抗体価などの評価判定が可能であった症例は28例あり、28例中7例において同一スケジュール内でGTA由来HBおよびGTC由来HBワクチンを組み合わせた接種が実施されていた(接種時年齢: median 月齢2[月齢0-13歳]、男/女: 3/4、母子感染予防4例; 父子感染予防1例; その他2例、接種回数GTA由来ワクチンが2回; 2例, GTC由来ワクチン2回; 5例)。一方、残りの21例は単独ワクチン接種症例であり(接種時年齢: median 月齢0: [月齢0-月齢2]、男/女: 12/9、母子感染予防20例; 父子感染予防1例、GTA由来ワクチン単独; 3例, GTC由来ワクチン単独; 18例) コントロール群とした。

混合ワクチン群のHBs抗体価の推移は、3回目接種から1か月後が2.7-3.0 log(中央値3.0 log) mIU/mL(N=7)、6か月後が2.4-3.0 log(中央値3.0 log) mIU/mL(N=3)、1年後が2.7-2.8 log(中央値2.75 log) mIU/mL(N=2)であった。一方、コントロール群である単独ワクチン群のHBs抗体価の推移

は、3回目接種から1か月後が1.5-3.0 log(中央値2.9 log) mIU/mL(N=21)、6か月後が0.8-3.0 log(中央値2.3 log) mIU/mL(N=8)、1年後が1.3-2.8 log(中央値2.0 log) mIU/mL(N=4)であった。両群間でHBs抗体価に有意差はなかった。

GRの割合は、混合ワクチン群では3回目接種から1か月後、6か月後、1年後すべてにおいて100%を示した。一方、単独ワクチン群のGRの割合は3回目接種から1か月後100%、6か月後88% (7/8)、1年後100%であった。両群ともに母子感染予防不成功例はなかった。両群ともに特記すべき重篤なワクチン副反応はみられなかった。

### D. 考察

単独ワクチン群と比較し、混合ワクチン群はHBs抗体価の推移およびGRの割合において有意差はみられなかった。本研究での混合ワクチン群の解析数は少ないが、小児期での混合ワクチン接種は単独ワクチン接種と同じ程度の感染予防効果が得られると推察された。

### E. 結論

異なる遺伝子型由来のHBワクチンを組み合わせたHBV感染予防効果は、同じ遺伝子型で行われた単独接種と同等予防効果が得られると考えられた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) 小松陽樹 意見投稿 日本周産期・新生児医学会雑誌 2015; 50(4): 1346-1346
- 2) 高野智子, 乾あやの, 牛島高介, 三善陽子, 虻川大樹, 宮川隆之, 藤澤知雄, 田尻仁. 30歳までに肝細胞がんを発症した小児期B型肝炎ウイルス感染者に

- 関する臨床的検討 肝臓 2015 ;  
56(1) : 18-20
- 3) 乾あやの, 小松陽樹, 梅津守一郎, 十河剛, 藤澤知雄. 小児 B 型慢性肝炎に対する IFN 療法. 日本臨床別冊 2015 ;  
73(9) : 685-691
  - 4) Komatsu H, Inui A, Sogo T, Tsunoda T, Fujisawa T. Chronic hepatitis B virus infection in children and adolescents in Japan. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2015 Jan ; 60(1) : 99-104.
  - 5) Haruki Komatsu, Ayano Inui. Hepatitis B virus infection in children. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2015 Apr ;  
13(4) : 427-450
  - 6) Haruki Komatsu, Ayano Inui , Tomoo Fujisawa, Tomoko Takano, Hitoshi Tajiri, Jun Murakami, Mitsuyoshi Suzuki. Transmission route and genotype of chronic hepatitis B virus infection in children in Japan between 1976 and 2010: A retrospective, multicenter study. *Hepatology Research* 2015 ;  
45 : 629-637
  - 7) Kentaro Iwasawa , Ayano Inui , Tomoyuki Tsunoda , Takeo Kondo , Manari Kawamoto , Tsuyoshi Sogo. Hepatitis B (HB) immunoglobulin plus HB vaccine for intrauterine HB virus infection. *Pediatrics International* (2015) ; 57 : 401-405
  - 8) Haruki Komatsu, Ayano Inui, Takeyoshi Murano, Tomoyuki Tsunoda, Tsuyoshi Sogo and Tomoo Fujisawa. Lack of infectivity of HBV in feces from patients with chronic hepatitis B virus infection, and infection using chimeric mice. *BMC Research Notes* 2015 ; 8 : 366
  - 9) 小松陽樹, 岩澤堅太郎, 乾あやの, 角田知之, 梅津守一郎, 藤澤知雄. Genotype A の B 型肝炎ウイルスキャリア妊婦に対する genotype C 由来の抗原を用いた HB ワクチンの母子感染予防効果
- ## 2. 学会発表
- 1) 岩澤堅太郎, 乾あやの, 角田知之, 梅津守一郎, 及川愛里, 十河剛, 小松陽樹, 藤澤知雄. 遺伝子型 A による B 型肝炎母子感染予防に対する遺伝子型 C 由来ワクチンの予防効果. 第 118 回日本小児科学会学術集会 (2015. 4. 17-19 大阪)
  - 2) 梅津守一郎, 角田知之, 吉田英里佳, 増澤雷吾, 十河剛, 乾あやの, 藤澤知雄, 中林玄一, 長澤耕男. 重症 B 型急性肝炎の 2 例. 第 118 回日本小児科学会学術集会 (2015. 4. 17-19 大阪)
  - 3) 藤澤知雄, 小松陽樹, 乾あやの. 0 歳から 20 歳までの HBV 感染の疫学的検討. 第 51 回日本肝臓学会総会 (2015. 5. 21-22 熊本)
  - 4) 田尻仁, 高野智子, 乾あやの. 小児期 HBV 感染者における若年発症肝細胞癌例の臨床像. 第 51 回日本肝臓学会総会 (2015. 5. 21-22 熊本)
  - 5) 梅津守一郎, 角田知之, 岩澤堅太郎, 及川愛里, 十河剛, 乾あやの, 藤澤知雄, 小松陽樹. 小児期の B 型急性肝炎の検討と現在の HBV 感染予防対策の問題点. 第 51 回日本肝臓学会総会. (2015. 5. 21-22 熊本)
  - 6) 梅津守一郎, 乾あやの, 岩澤堅太郎, 吉年俊文, 十河剛, 小松陽樹, 藤澤知雄. 異なる遺伝子型由来 HB ワクチン接種での予防効果. 第 47 回日本小児感染症学会 (2015. 1030-11. 1 福島)

- 7) 藤澤知雄, 乾あやの, 十河剛, 小松陽樹. 小児期における B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染. 第 47 回日本小児感染症学会 (2015.1030-11.1 福島)

**G. 知的所有権の取得状況**

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## 核酸増幅検査で検出された HBV ワクチンエスケープ変異株の頻度

研究分担者 内田茂治 日本赤十字社中央血液研究所 副所長  
研究協力者 星 友二 日本赤十字社中央血液研究所 感染症解析部 係長

### 研究要旨

B 型肝炎ウイルス（HBV）に対するユニバーサルワクチネーション（UV）導入時に問題となるワクチンエスケープミュータント（VEM）が、本邦にどの程度存在するのかを検討した。輸血用血液の核酸増幅検査で HBV 陽性となった献血者 1331 例中、VEM の変異部位である 126 番目のアミノ酸置換は 51 例（3.8%）で、145 番目の置換は 71 例（5.3%）で認められた。双方置換が 4 例（0.3%）あり全体で VEM が見られたのは 118 例（8.9%）であった。HBc 抗体陰性群と HBc 抗体陽性群とを比較すると、126 番目のアミノ酸で 4.5 倍、145 番目のアミノ酸では 20 倍 HBc 抗体陽性群の置換率が高く、HBc 抗体が陽性となる時期以降に VEM が発生する可能性が示唆された。また VEM 部位のアミノ酸置換は特定のアミノ酸に代わるのではなく、多様性があることも示された。

### A. 研究目的

WHO は B 型肝炎ウイルス（HBV）感染を撲滅するために、全出生児を対象としたユニバーサルワクチネーション（以下「UV」）を 1992 年に推奨した。現時点で WHO に加盟している 193 カ国のうち 180 カ国（93%）は、HB ワクチンを定期接種している。

本邦においても肝臓学会や厚生労働省等で議論がなされ、2016 年から公費負担による UV の実施が決定された。そこで、UV 導入時に大きな問題となるワクチンエスケープミュータント（以下「VEM」）が、UV 導入前にどの程度本邦に存在するのかを検討するために、輸血用血液の核酸増幅検査（NAT スクリーニング）で HBV が陽性となった献血者のデータ解析を行った。これらのデータは UV 導入後の効果評価や問題点等を検討するための基礎データとなると考えられる。

### B. 研究方法

1999 年～2013 年までの NAT スクリーニングで、塩基配列を決定できた HBV 陽

性献血者 1331 例を対象とした。HBV の塩基配列は S 領域 193bp（nt.475-667）を nested PCR 法で増幅後、ダイレクトシークエンス法で決定した。塩基配列からアミノ酸配列に変換し、ワクチンエスケープ変異部位である HBs 抗原の 126 番目アミノ酸置換（I or T→他のアミノ酸：T126S）と、145 番目アミノ酸置換（G→他のアミノ酸：G145R）について、アミノ酸置換の有無を確認し頻度を算出した。

### C. 研究結果

HBV-NAT 陽性 1331 例中、VEM の変異部位である 126 番目のアミノ酸置換は 51 例（3.8%）で、145 番目の置換は 71 例（5.3%）であった。双方置換が 4 例（0.3%）あり VEM が見られたのは 118 例（8.9%）であった。また、HBc 抗体陰性の 867 例では 126 番目が 15 例（1.7%）、145 番目が 6 例（0.7%）に置換が認められたのに対し、HBc 抗体陽性の 464 例では 126 番目が 36 例（7.8%）、145 番目が 65 例（14.0%）、双方置換が 4 例（0.9%）確認された。両者の重複が少ないことから、リンクした変異でないかと推察され

た。また VEM 部位のアミノ酸置換は特定のアミノ酸に代わるのではなく、多様性があることも示された。

#### D. 考察

UV 導入前の本邦に、すでに HBV 陽性献血者において VEM が約 9%存在していることが判明した。HBc 抗体陽性群の VEM 置換率は、HBc 抗体陰性群に比べ 126 番目で 4.5 倍、145 番目では 20 倍高く、HBc 抗体が陽性となる時期以降に VEM が発生する可能性が示唆された。また HBV の自然感染下でも VEM が発生することが知られており、VEM の発生機序やどのような経路で感染が拡大しているのかは興味のあるところである。

しかし、今回の HBc 抗体陰性群での検討で、VEM による新規の感染例があることや感染状況の一部を把握できたことは、UV 導入以降の問題解決や効果を評価するためのデータとして、有用なものであると考えられ、UV 導入後の VEM 置換率の変化把握や対策を講じるための基礎データとなり得る。

#### E. 結論

UV 導入前の本邦において、すでに VEM が HBV 陽性者の約 9%に存在していることが判明した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sobata R, Matsumoto C, Uchida S, Suzuki Y, Satake M, Tadokoro K. Estimation of the infectious viral load required for transfusion-transmitted human T-lymphotropic virus type 1 infection (TT-HTLV-1) and of the effectiveness of leukocyte reduction in preventing TT-HTLV-1. *Vox Sanguinis* 109: 122-128, 2015.
- 2) Shinohara N, Matsumoto C, Chatani M, Uchida S, Yoshikawa

T, Shimojima M, Satake M, Tadokoro K. Efficacy of the Mirasol pathogen reduction technology system against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV). *Vox Sanguinis* 109: 417-419, 2015.

- 3) 内田茂治. 輸血用血液の肝炎対策－血液スクリーニングの現況－日本臨牀 新ウイルス性肝炎学－最新の基礎・臨床研究情報－ 73 増刊号 9: 699-704, 2015.

##### 2. 学会発表

- 1) 星友二、山岸尚仁、長谷川 隆、安藤菜穂子 遠田静穂、五反田裕子、内田茂治、永井 正、佐竹正博：輸血用血液のスクリーニングにおける HBs 抗体基準 200mIU/mL についての検証. 第 63 回日本輸血・細胞治療学会総会 (2015 年 5 月 東京)
- 2) 長谷川 隆、安藤菜穂子 相馬静穂、山岸尚仁、星友二、五反田裕子、内田茂治、永井 正、佐竹正博、田所憲治：個別 NAT 導入後に検出された HBV-NAT 陽性 (HBsAg・HBcAb 陰性) 血液の解析. 第 63 回日本輸血・細胞治療学会総会 (2015 年 5 月 東京)
- 3) 星友二、長谷川 隆、相馬静穂、安藤菜穂子、山岸尚仁、五反田裕子、永井 正、内田茂治、佐竹正博、田所憲治：NAT スクリーニングで検出された HBV エスケープ変異株の頻度. 第 39 回日本血液事業学会総会 (2015 年 10 月 大阪)

