

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服政策研究事業）
平成 28 年度 分担研究報告書
肝炎ウイルス感染状況と感染後の長期経過に関する研究

ベトナムの HBV 高感染地域におけるウイルス遺伝子学的検討からみた
感染経路に関する考察

松尾 順子、片山 恵子、Son Huy Do、Channarena Chuon、高橋 和明、田中 純子
広島大学 大学院医歯薬保健学研究科 疫学・疾病制御学

研究要旨

東南アジアではまだ、HBV キャリア率が高く、ベトナムも高感染地域と知られている。2012 年にベトナム南部、Ho Chi Min City から約 200km 離れた海岸沿い地域で無作為に選んだ 1 万人規模の 3 つの地域から、住民台帳に基づき無作為抽出された一般住民 170 人ずつ計 510 人について population-based の肝炎に関する survey と 4 人の HBsAg 陽性持続感染者の家族を対象とした肝炎調査（family survey）を行った。HBsAg 陽性率は 15.3%であった。

HBV の感染経路と特徴について明らかにすることを目的とし、前回の調査で HBV キャリアと判明した一般住民とその家族の HBV について遺伝子学的解析手法を用い検討を行った。

保存血清より HBV DNA を抽出しえた 48 人の polymerase 領域の direct sequence を行った。系統樹解析を行い、さらに家族を中心とした近親株 21 人のフルシーケンスを行った。

polymerase 領域の系統樹解析で、ゲノタイプは B4 が 91.7% (44/48)、C1 が 18.3% (4/48) と判明した。家族同士で 1 つのクラスターを作る傾向があったが、違う家族の枝に入り込んでいる株や、住民株が家族のクラスターに入っていることを認めた。フルシーケンスでの系統樹解析にても、家族同士でのクラスター内に住民株が混在し、兄弟での homology が高いだけでなく、同年齢同性の homology の高いペアを 4 組認めた。

本研究では明らかな母子感染は捉えられなかったが、家族間での homology が高く保たれており、特に同胞間の感染が疑われた。家族と homology の高い住民を認め、特に同性、同年齢であることから 同世代のコホート内での水平感染が示唆された。

A . 研究目的

我々はこれまで、HBV キャリア率が高い東南アジアのカンボジアとベトナムについて住民を対象とした調査を行い、そのキャリア率を報告してきた。今回はベトナムで行った住民対象の肝炎調査で高い HBsAg 陽性率が判明しており、その感染経路と特徴について明らかにすることを目的として HBV の遺伝子解析の研究を行った。

B . 研究方法

前回の調査：2012 年にベトナム南部、Ho Chi Min City から約 200km 離れた海岸沿いのピントン州で無作為に選んだ 1 万人規模の 3 つの地域(wards)から、住民台帳に基づき無作為抽出した一般住民 170 人ずつ計 510 人を対象とした。

今回の調査：上記調査で HBsAg 陽性 と判明した一般住民 77 人のうち、同意の得られた 4 人の HBsAg 陽

性 index person とその家族 26 名(図 1-4) と、それ以外の HBsAg 陽性 住民 35 人のうち HBV DNA が検出できた 48 人を解析対象とした。

- 1) 保存血清より HBV DNA を抽出し polymerase 領域の direct sequence を行い、得られた塩基配列から Genetyx-Mac version 17 で NJ 法により系統樹解析を行った
- 2) HBV DNA 陽性の家族と、近親株を持つと考えられる住民について HBV の full sequence を行い、再度 NJ 法により系統樹解析と homology 解析を行った。

なお、本研究はベトナム社会主義共和国保健省の倫理委員会と、広島大学疫学研究倫理審査委員会の承認を得ている。

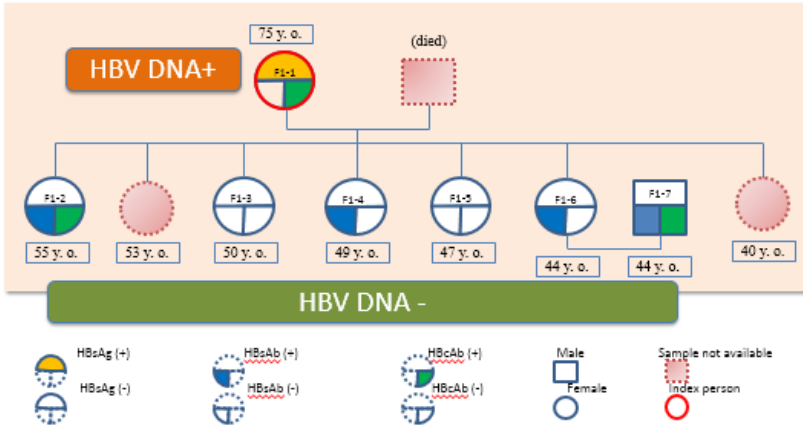


図 1. Family 1 の家系図

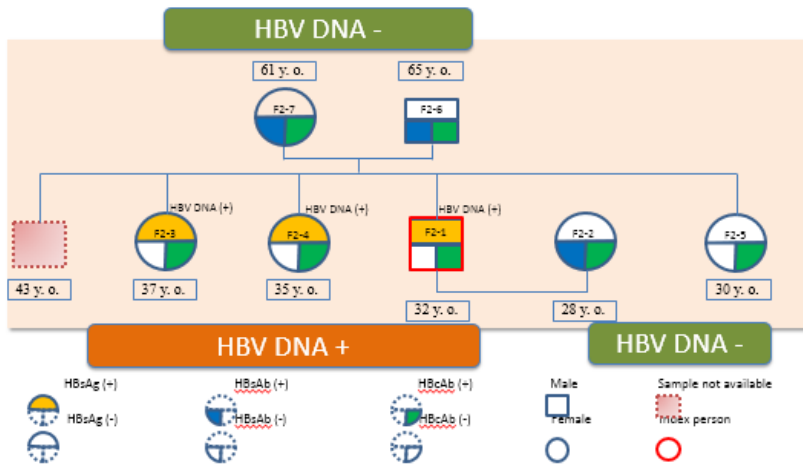


図 2. Family 2 の家系図

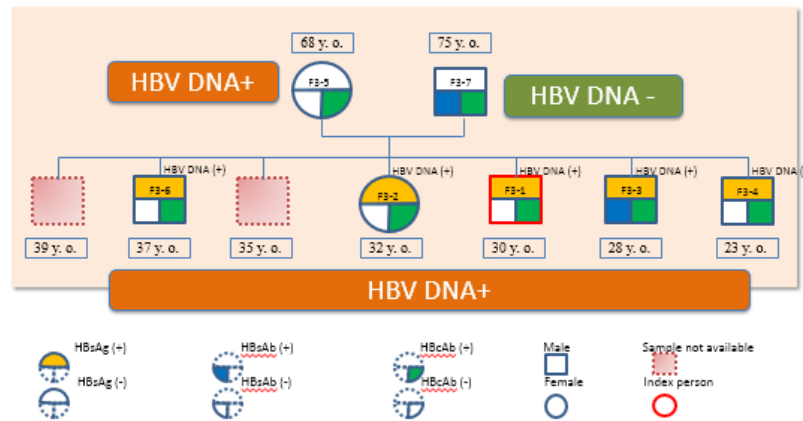


図 3. Family3 の家系図

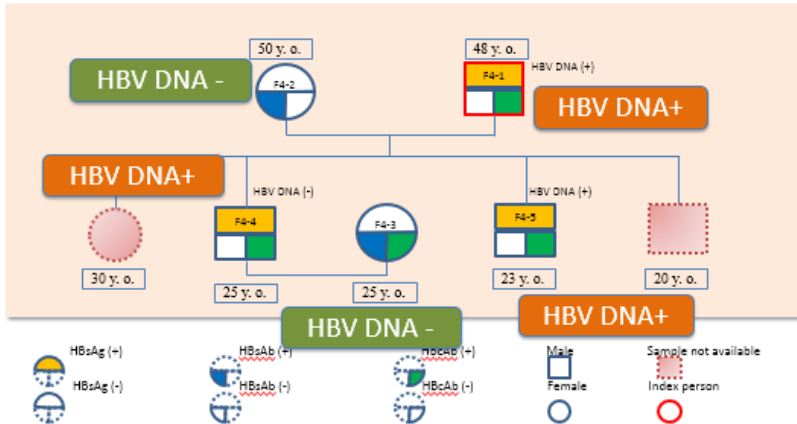


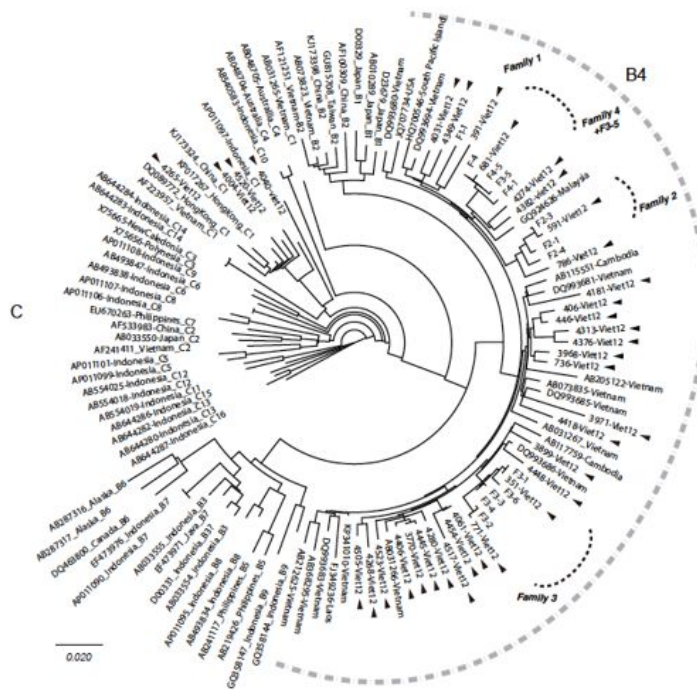
図4. Family 4 の家系図

C. 研究結果

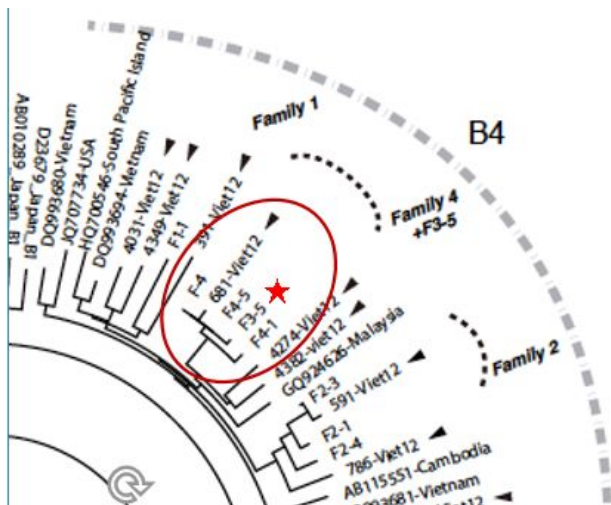
- 1) family 1 で母親が HBV キャリアであったが、複数の子供はキャリアではなく母子感染が捉えられなかった。family 3 の母親は HBeAg 陰性 HBV DNA 陽性の occult HB であった。
- 2) polymerase 領域の塩基配列によるの系統樹解析 (図 5-1) で genotype は B4 が 91.7% (44/48)、18.3% (4/48) と判明した。各家族で 1 つのクラスターを形成していたが、違う家族 (family 4)

- の枝に入っている F3-5 (family 3 の母) を認めた (図 5-2)。また、家族のクラスターの中に住民株が混在していることを認めた (図 5-3)。
- 3) これらの近隣株について full sequence を行った結果、家族のクラスターに入り込んでいる 4 つの住民株を認め (図 6)。一番近い株をもつ家族の member はその住人と同年齢、同性であることが確認された。

5-1)



5-2)



5-3)

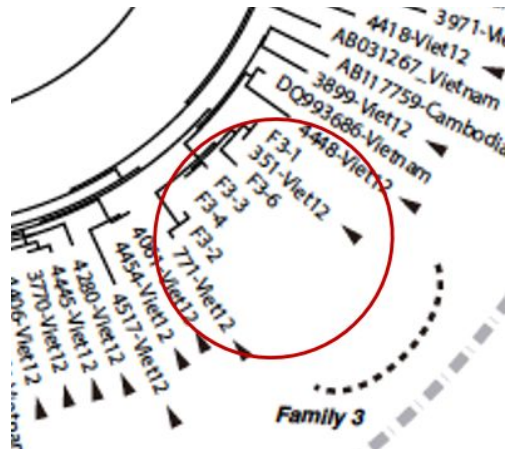


図 5. polymerase 領域の塩基配列による系統樹

5-1) 住民と家族の株の 44 株が genotype B4 で、4 株が C1 であった。5-2) family4 のクラスターに F3-5 (family3 の母) が存在している。5-3) family3 の子供同士でクラスターを形成しているが、351-Viet, 771-Viet が近親株として同じクラスターに存在している。

← : family member の株, ◀ : 住民株

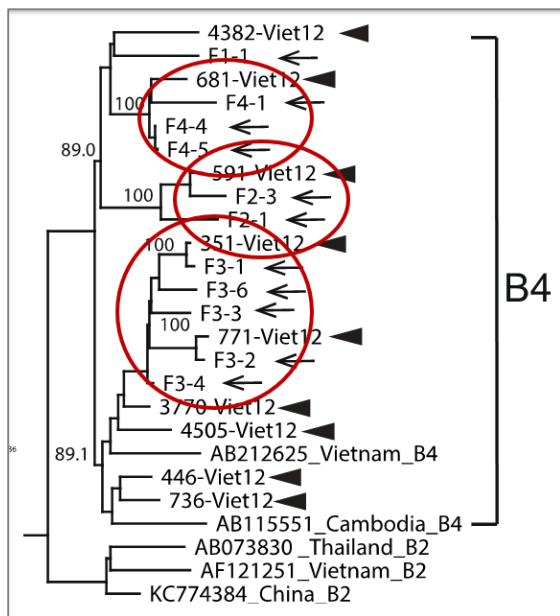


図 6 full sequence による近隣株の系統樹解析

(F4-4 と 681-Viet は 30 歳男性同士、F2-3 と 591-Viet は 37 歳女性同士、F3-1 と 351-Viet は 30 歳男性同士、F3-2 と 771-Viet は 32 歳女性同士の 4 組)

← : family member の株, ◀ : 住民株

で、4 家族しか対象にできなかった。高い HBsAg 陽性率のエリアであり、たくさん母子感染が起こっていることが予想されたが、それに反して、明らかな母子感染は捉えられなかった。family 内の homology は高く保たれており、特に同胞間での感染が疑われた。また、population-based の調査であったので、住民間との株の比較ができ、family member と homology の高い住民株が得られ、同性、同年齢であることから、同じ時代のコホート内での水平感染が示唆された。

E . 健康危険情報

該当なし

F . 研究発表

該当なし

G . 知的所有権の出願・取得状況

該当なし

D . 考察

本研究では文化風習や医療水準の違う外国の調査であって、家族調査に協力をえられたのはわずか