

- onset hepatic failure in Japan: Summary of 698 patients between 1998 and 2003 analyzed by the annual nationwide survey. *Hepatology Res* 2008; 38: 646-657.
2. Oketani M, *et al.* Etiology and prognosis of fulminant hepatitis and late-onset hepatic failure in Japan: Summary of the annual nationwide survey between 2004 and 2009. *Hepatology Res* 2013; 43: 97-105.
 3. 坪内博仁, *et al.* 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標準化に関する研究」班合同報告. *肝臓* 2009; 50: 38-42.
 4. Mochida S, *et al.* Diagnostic criteria of acute liver Failure: A report by the Intractable Hepato-Biliary Diseases Study Group of Japan. *Hepatology Res* 2011; 41: 805-812.
 5. Sugawara K, *et al.* Acute liver failure in Japan: definition, classification, and prediction of the outcome. *J Gastroenterol* 2012; 47: 849-861.
 6. 持田 智, *et al.* 我が国における急性肝不全および遅発性肝不全 (LOHF) の実態 (2010 年)：平成 23 年度全国調査. 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 23 年度報告書, 2012; pp101-112.
 7. 持田 智, *et al.* 我が国における急性肝不全および遅発性肝不全 (LOHF) の実態 (2011 年)：平成 24 年度全国調査. 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 24 年度報告書, 2013; pp.108-124
 8. 持田 智, *et al.* 我が国における急性肝不全および遅発性肝不全 (LOHF) の実態 (2012 年)：平成 25 年度全国調査. 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 25 年度報告書, 2014; pp29-44.
 9. 持田 智, *et al.* 我が国における急性肝不全および遅発性肝不全 (LOHF) の実態 (2013 年)：平成 26 年度全国調査. 厚生労働省科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究班」平成 25 年度報告書, 2015; (印刷中).
 10. 持田 智, *et al.* 免疫抑制薬, 抗悪性腫瘍薬による B 型肝炎ウイルス再活性化の実態解明と対策法の確立」全体研究 (平成 23 年度). 厚生労働省科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策事業 (肝炎分野), 「免疫抑制薬, 抗悪性腫瘍薬による B 型肝炎再活性化の実態解明と対策法の確立」班, 平成 23 年度研究報告書, 2012; pp1-32.
 11. Harigai M, *et al.* A proposal for management of rheumatic disease patients with hepatitis B virus infection receiving immunosuppressive therapy. *Mod Rheumatol* 2014; 24: 1-7..
 12. Oketani M, *et al.* Prevention of hepatitis B virus reactivation in patients receiving immunosuppressive therapy or chemotherapy. *Hepatology Res* 2012; 42: 627-636.
 13. B 型肝炎治療ガイドライン. *肝臓* 2013; 54: 402-472. (<http://www.jsh.or.jp/>)

- 2014年12月まで -

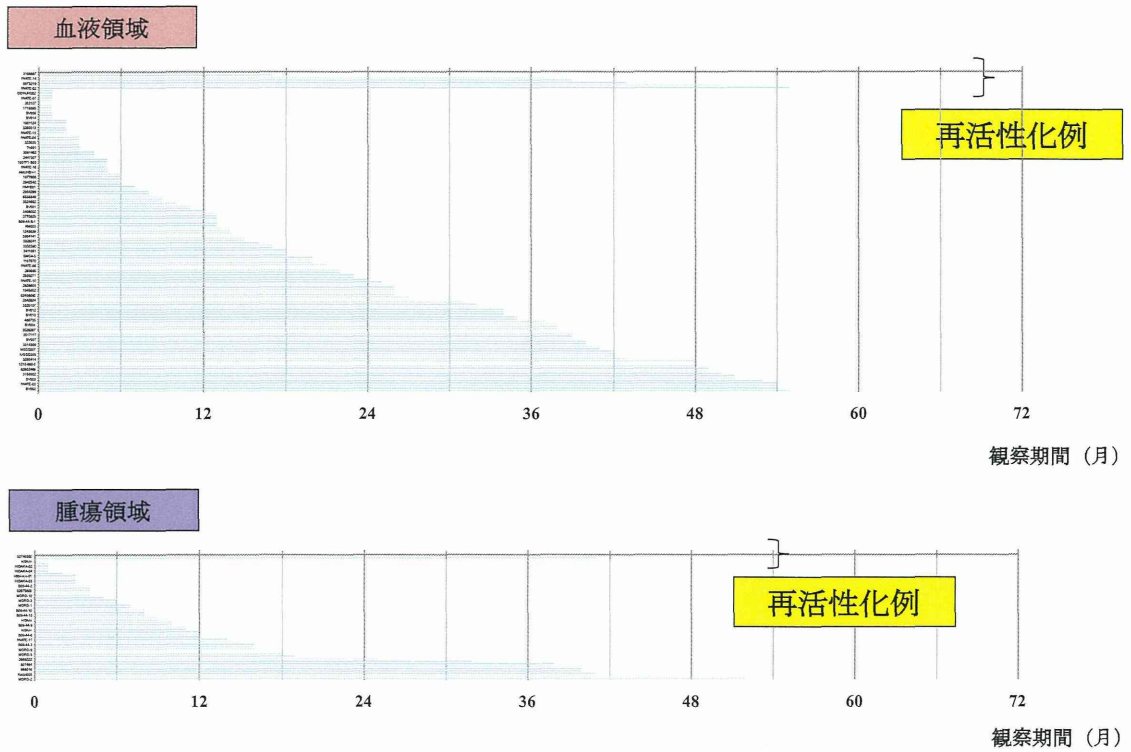


図1. 化学療法を実施したB型既往感染例における観察期間

- 2014年12月まで -

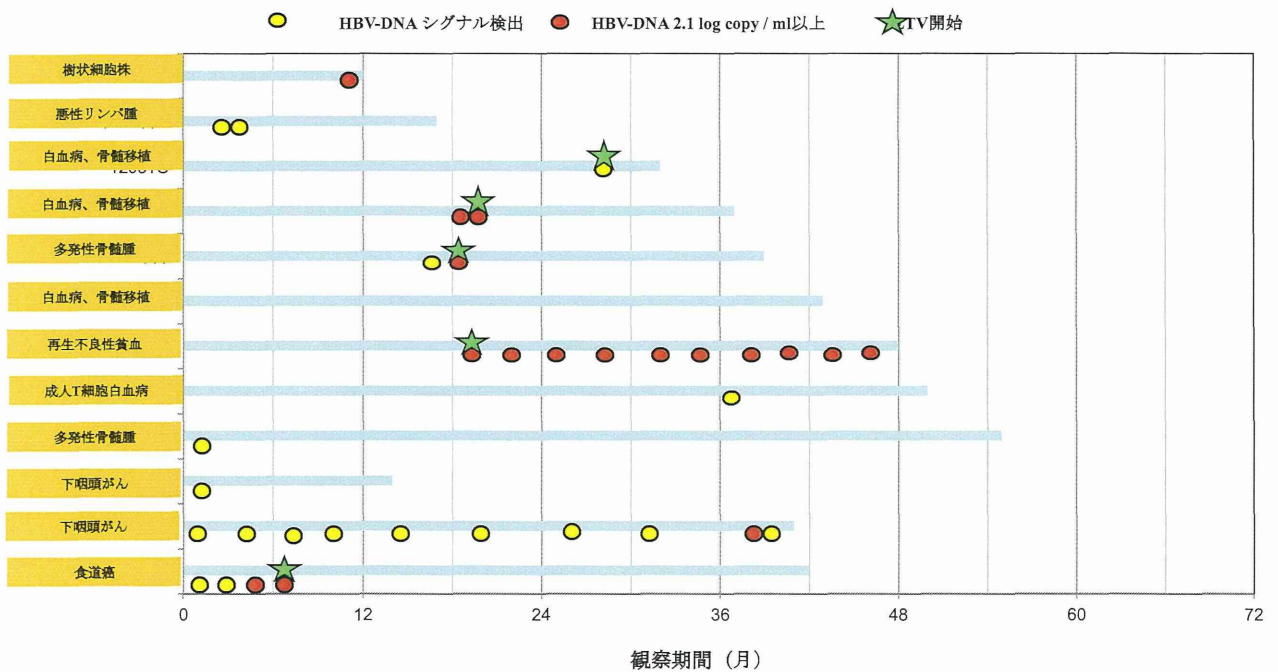


図2. 化学療法を実施したB型既往感染例における再活性化の時期

- 2014年12月まで -

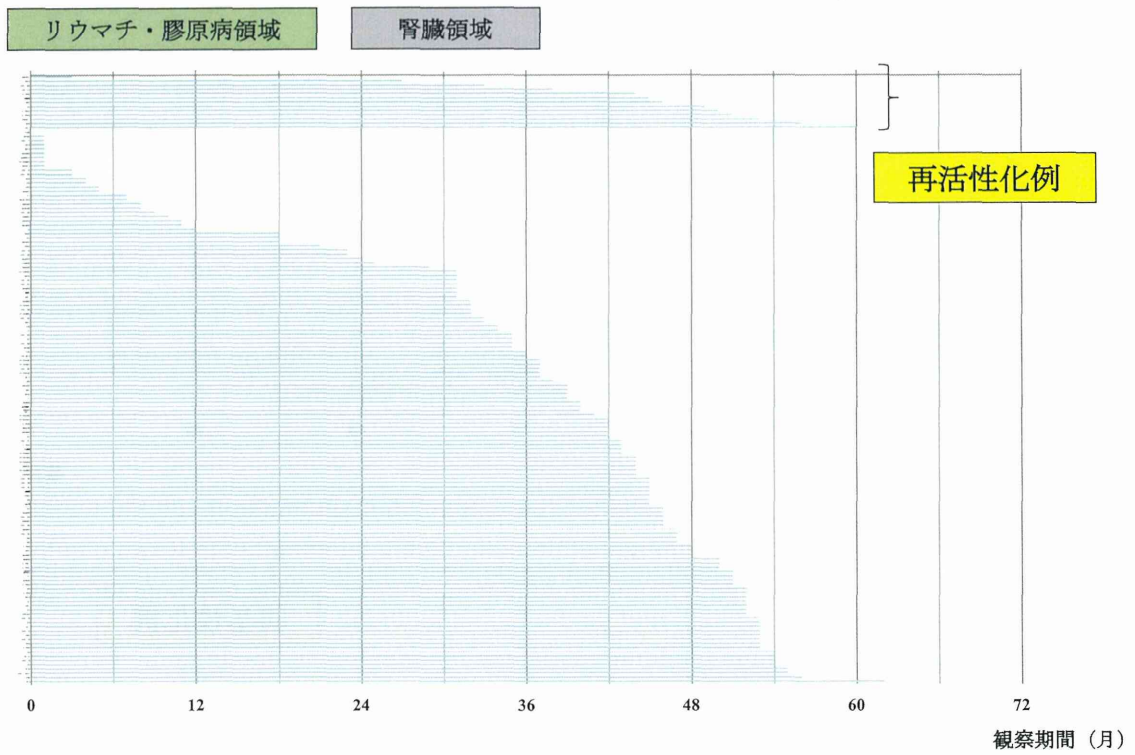


図3. 免疫抑制療法を実施したB型既往感染例における観察期間

- 2014年12月まで -

● HBV-DNA シグナル検出 ● HBV-DNA 2.1 log copy / ml以上 ★ CTV開始

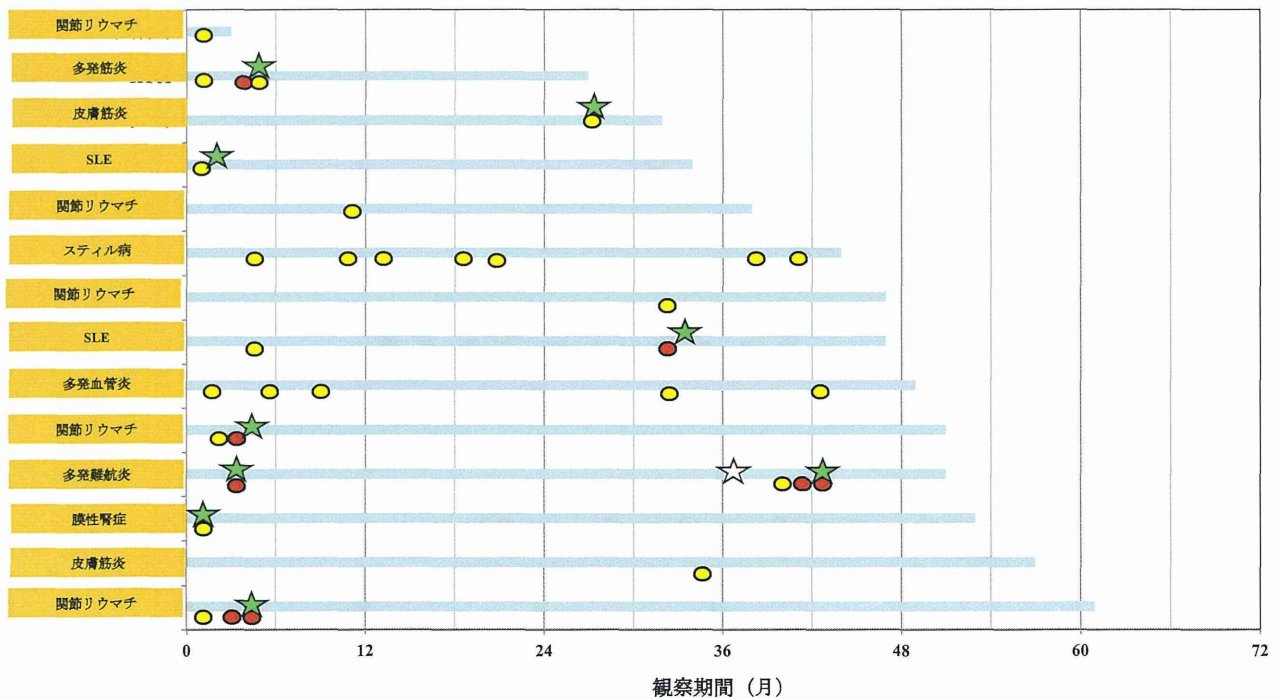


図4. 免疫抑制療法を実施したB型既往感染例における再活性化の時期

月 (%)	0	3	6	12	24	36	48	60
検出	3.8	6.2	7.9	8.7	8.7	12.0	12.0	12.0
2.1 Log以上	0	3.2	3.2	3.2	3.2	4.2	4.2	4.2

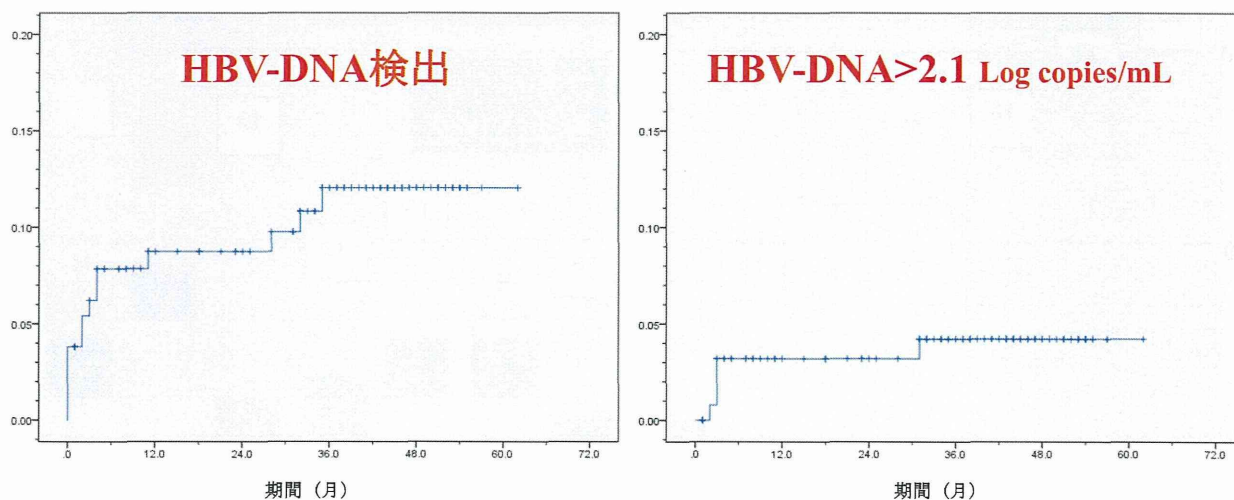


図5. 免疫抑制療法による再活性化 (%)
- Kaplan-Meier法 : 継続研究131例 -

月 (%)	0	3	6	12	24	36	48	60
検出	1.2	2.2	2.9	3.4	3.9	5.7	6.2	6.2
2.1 Log以上	0	1.0	1.0	1.0	1.5	2.5	2.5	3.2

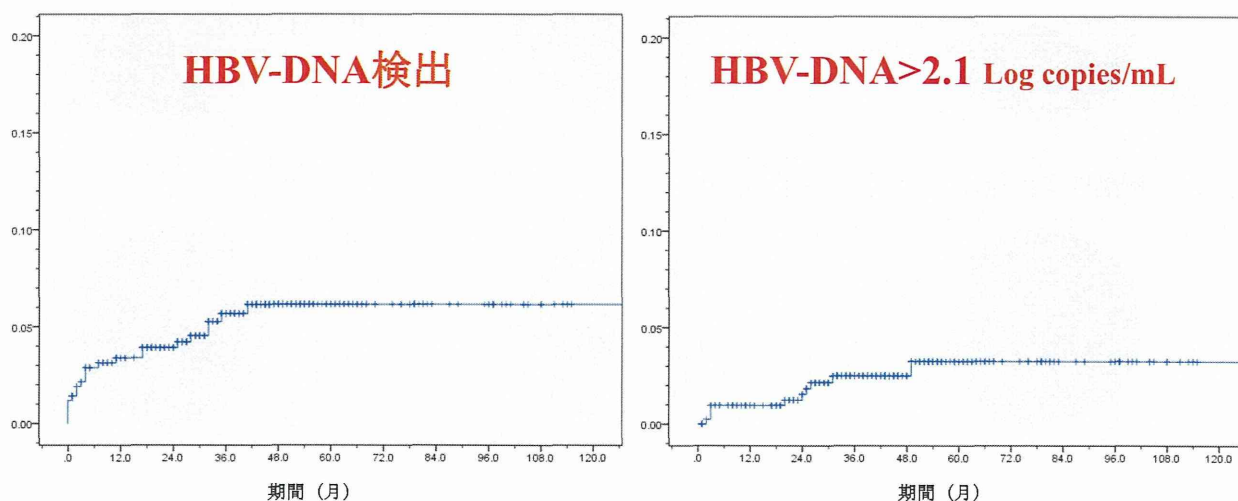


図6 免疫抑制療法による再活性化 (%)
- Kaplan-Meier法 : 計420例 (継続研究131例, 新規研究289例) -

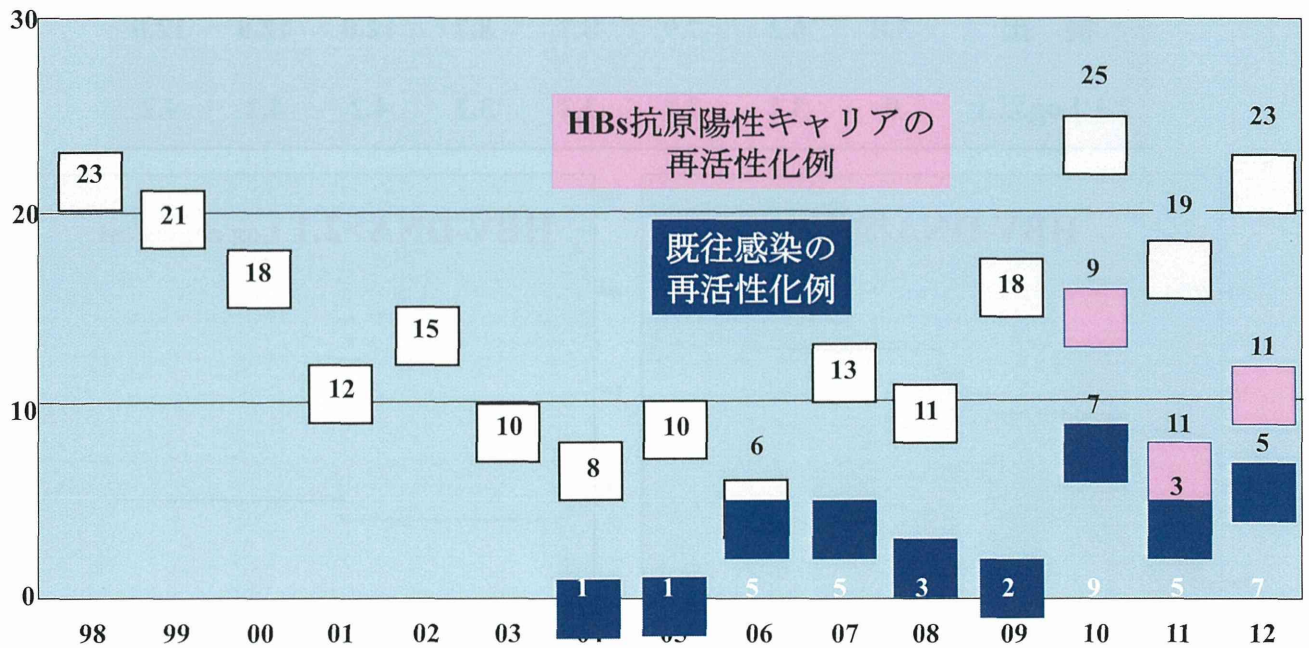
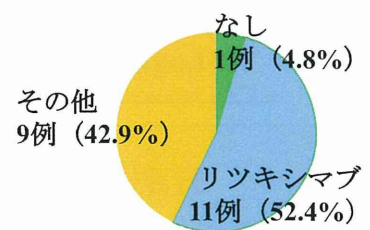
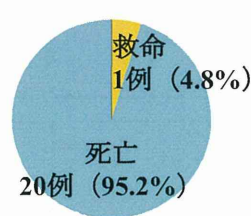
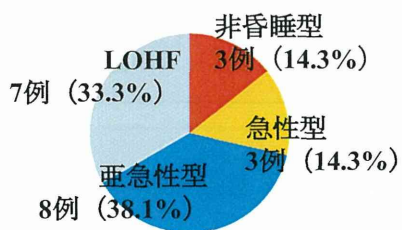
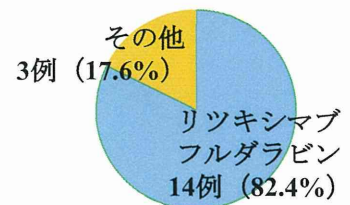


図7. 急性肝不全におけるHBVキャリア例 (1998~2012年)
- 2010年以降は非昏睡型も含む -

a) 急性肝不全, LOHF ; 21例 (2010~2012年) -



b) 劇症肝炎, LOHF : 17例 (2004~2009年) -



病型

予後

誘因

図8. 急性肝不全 (劇症肝炎), LOHFにおけるHBV既往感染の再活性化例-

a) 開始6ヶ月まで：継続研究131例

月 (%)	0	3	6	12	24	36	48	60
検出	3.8	6.2	7.9	8.7	8.7	12.0	12.0	12.0
2.1 Log以上	0	3.2	3.2	3.2	3.2	4.2	4.2	4.2

b) 6ヶ月後の増加：420例（継続研究131例，新規研究289例）

月 (%)	0	3	6	12	24	36	48	60
検出	1.2	2.2	2.9	+0.5	+1.0	+2.8	+3.3	+3.3
2.1 Log以上	0	1.0	1.0	0	+0.5	+1.5	+1.5	+2.2

図9. 免疫抑制療法による再活性化 (%)
 - Kaplan-Meier法：計420例（継続研究131例，新規研究289例） -

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）
分担研究年度終了報告書（平成24～26年度）

「がん化学療法及び免疫抑制療法中のB型肝炎ウイルス再活性化予防対策法の確立を目指したウイルス要因と宿主要因の包括的研究」

研究分担者：楠本 茂 名古屋市立大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学 講師

研究要旨

平成24-26年度（3年間）の研究成果としては、『リツキシマブ＋ステロイド併用悪性リンパ腫治療中のB型肝炎ウイルス（HBV）再活性化への対策に関する多施設共同臨床研究（UMIN000001299）～HBV-DNAモニタリング～（H20-肝炎-若手-014、H23-肝炎-若手-008、H24-肝炎-一般-004）』の実施計画書に基づき、症例登録（平成20年8月11日より平成23年8月10日まで）を完了し、平成26年1月末日をもって、全登録275症例の2.5年間のフォローアップ期間を完了した（総試験期間5.5年間）。平成26年2月14日時点（5年6ヶ月経過）で、275例中22例のHBV再活性化例を認めているが、いずれも肝障害・肝炎の発症を認めていない時点でHBV-DNAの上昇を検出し、抗ウイルス薬が開始された。プレコア変異を有するウイルス複製亢進例においても、本試験のHBV-DNAモニタリングによるpreemptive antiviral therapyで対策を講じることが可能であった。その最終解析結果を論文投稿中である。また、HBV既往感染歴を有する成人T細胞性白血病リンパ腫を対象としたレトロスペクティブな解析により、がん化学療法後のHBV再活性化リスクが12%程度あることを明らかにした。また、制御性T細胞除去作用を有するCCR4モノクローナル抗体であるモガムリズマブ投与後に、B型劇症肝炎を発症した症例経過を詳細に報告した。

研究協力者

上田龍三	愛知医科大学医学部 腫瘍免疫寄附講座 教授
小椋美知則	国立病院機構鈴鹿病院 内科・臨床検査科科长
木下朝博	愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部部长
鈴木律朗	島根大学医学部 腫瘍・血液内科 准教授
鈴木孝世	滋賀県立成人病センター 副院長 兼血液・腫瘍内科/化学療法部部长
渡辺 隆	小牧市民病院 血液内科部长
田中榮司	信州大学医学部 内科学第二 教授
田中靖人	名古屋市立大学大学院 医学研究科病態医科学 教授
丸山 大	国立がん研究センター中央病院

A. 研究目的

HBV-DNAモニタリングによる多施設共同前方視的研究では、HBs抗原陰性ハイリスク群悪性リンパ腫に対するリツキシマブ＋ステロイド併用化学療法治療中のHBV再活性化の頻度を明らかにすることおよびHBV-DNAを早期に検出し抗ウイルス薬を投与する対策法（“preemptive therapy”）を確立するためのデータを集積する。

保存検体を用いた付随研究では、1）超高感度real-time detection PCR法により微量のHBV-DNA検出を試み、早期診断の臨床的有用性を検証する。2）HBV再活性化した症例に関しては、HBV-DNAの遺伝子配列を決定することで、輸血後肝炎との鑑別のみならず、再活性化ハイリスク群および劇症化に寄与する遺伝子型や遺伝子変異の同定を試みる。

また、名古屋市立大学病院単施設のレトロスペクティブな研究として、成人 T 細胞性白血病リンパ腫を対象とし、HBV-DNA モニタリングによる HBV 再活性化リスクの評価および対策の有用性について検討した。また、本邦で開発された CCR4 モノクローナル抗体であるモガマリズマブ投与後の HBV 再活性化のリスクおよび肝炎発症について検討した。

B. 研究方法

<対象>

未治療 CD20 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫患者のうち、リツキシマブ+ステロイド併用全身化学療法 (R-CHOP、R-CVP、R-THP-COP、R-C-MOPP 6-8 コースのいずれか) を施行する HBs 抗原陰性 HBV 再活性化ハイリスク群 (HBc 抗体陽性あるいは HBs 抗体陽性、両者とも陽性を含む)

<方法>

(1) 適格規準を満たす、未治療 CD20 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫症例を C-SHOT データセンターへ登録する。

(2) 治療前 HBV-DNA 定量検査を行い、HBV-DNA が陰性 (－) であることを確認したのち、悪性リンパ腫治療を開始する。

(3) 月 1 回の頻度で HBV-DNA 定量検査を行い、登録後 1.5 年間までプロスペクティブにモニタリングする (HBV-DNA モニタリング)。

ただし、HBV-DNA 定量検査は本試験対象では保険適応外であるため、研究費負担にて行う。外注検査会社 (SRL 社に委託) に連結可能匿名化された検体として送付し、測定する。

(4) HBV 再活性化 (HBV-DNA 陽性化) が認められた場合には、慢性 B 型肝炎として治療介入を行うことを強く推奨する。(平成 18 年度厚生労働省 B 型慢性肝炎の治療ガイドラインに基づき、エンテカビルの使用を推奨する。)

<評価項目>

○プライマリーエンドポイント: HBV 再活性化割合

○セカンダリーエンドポイント:

- ・HBV 再活性化関連肝障害・肝炎発症割合
- ・HBV 再活性化関連劇症肝炎発症割合
- ・HBV 再活性化関連肝障害・肝炎による死亡

割合

- ・サルベージ治療後の HBV 再活性化割合
- ・無 HBV 再活性化生存期間
- ・全生存期間
- ・重篤な有害事象発生割合
- ・Preemptive therapy の有効性

<目標症例数>

321 例

発症割合の点推定幅をより正確に示すことができる症例数を算出する。

HBV 再活性化割合の 1-Kaplan-Meier (1-KM) 法による 2 年後の点推定値を 5%とした場合、区間推定幅が点推定値の±2.5%とすると、292 例が必要となる。

不適格例などを 10%見込むとすると、321 例が必要となる。

$$N = \frac{[Z_{\alpha}^2 \times p \times (1-p)]}{P_w^2}$$

p: Event 発生率

Z α : 1.96

P w : 95%信頼区間の幅

<倫理面への配慮>

(1) 多施設共同前方視的臨床研究 (HBV-DNA モニタリング) および保存血漿 (一部血清) による後方視的研究とともに、各施設における倫理審査委員会にて承認を受けるものとする。

(2) あらかじめ文書による同意を得た症例において保存血漿 (一部血清) を得ることとし、HBV-DNA 定量検査は、連結可能匿名化された検体として外注検査会社にて施行され、保存検体については名古屋市立大学で一括保管、解析を行う。

(3) また、新たな研究利用を行う際には、その都度研究計画書を作成し、審査承認を得てから行うこととする。

(4) レトロスペクティブ研究および症例報告においては、当院倫理委員会の審査を受けたものとする。

C. 研究結果

(1) リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中の B 型肝炎ウイルス (HBV) 再活性化

化への対策に関する多施設共同臨床研究 (UMIN000001299)～HBV-DNA モニタリング～最終解析結果：

2008年8月～2011年7月までに、全国50施設より275例が登録。うち解析対象となった269例の年齢中央値は65歳(範囲：26-79)、男性52.8%。HBV-DNA 観察期間中央値562日で、1.5年HBV再活性化割合は8.3%(95%信頼区間、5.5-12.4)。登録後HBV再活性化確認までの中央値は97日(32-490)。再活性化確認時のHBV-DNAは1.8～3.4Logコピー/mLで、HBV再活性化関連肝障害は認めなかった。多変量解析の結果、ベースラインのHBs抗体力価が10mIU/mL未満であることがHBV再活性化のリスク因子であった(調整ハザード比20.6;95%信頼区間、3.9-105.8 ; p<0.001)。

(2)成人 T 細胞性白血病リンパ腫におけるHBV再活性化のリスク：

2005年1月から2013年6月までに名古屋市立大学病院にて診療した成人T細胞性白血病リンパ腫(ATL)66例中24例がHBV既往感染を有し、うち3例(12.5%)が全身化学療法中にHBV再活性化(HBV-DNA 検出感度以上と定義)した。全例においてHBV DNA モニタリングにより早期にHBV再活性化を診断し、抗ウイルス薬による介入によって肝障害は生じなかった。3例中2例がCCR4モノクローナル抗体であるモガムリズマブ投与例であったが、投与の有無とHBV再活性化イベントには統計学的な有意差は認めなかった。(Totani H et al. International Journal of Hematology 2015, in press.)

(3)モガムリズマブ投与後のB型劇症肝炎：

ベースラインHBs抗原陰性、HBc抗体陽性かつHBs抗体陽性の成人T細胞性白血病リンパ腫症例がCHOP療法2コース、THP-COP療法6コース施行したが、原病増悪し、モガムリズマブ投与を行った。モガムリズマブ投与直前のHBs抗原は陽性であり、HBV-DNAは9.1 log copies/mL以上であったが、肝障害は認めなかった。エンテカビル予防投与しながら、モガムリズマブ単剤療法を開始、ATLの抗腫瘍効果を認めていたが、同抗体を3回投与後に急激な肝

障害が出現、急速に肝不全、肝性脳症に至り、死亡した。(Ifuku et al. Hepatology Research 2015, in press.)

D. 考察

(1) CD20陽性B細胞性非ホジキンリンパ腫に、CD20モノクローナル抗体であるリツキシマブが導入され、劇的に治療成績が向上したが、B型肝炎ウイルス(HBV)の再活性化による肝炎・肝障害が致命的な合併症となりうることが報告された。とくに、ベースラインにおいて、HBs抗原陰性でHBc抗体陽性 and/or HBs抗体陽性(以下、既往感染例)の症例において致死的なHBV再活性化が相次いで報告され、2013年10月にFDAはboxed warningを発令した(Mitka M. et al, JAMA. 2013 Oct 23;310(16):1664.)。

2009年1月、厚生労働省ガイドラインが発表され(坪内ら、肝臓2009)、その後2011年9月に改訂版が発表され、さらに2013年5月に日本肝臓学会B型肝炎治療ガイドラインが公表された。がん化学療法および免疫抑制療法後のB型肝炎対策としてHBs抗原陰性ハイリスク群に対して“HBV-DNA モニタリングによるpreemptive antiviral therapy”が推奨されているが、前方視的多施設共同臨床試験による質の高いエビデンスはなかった。

今回、我々はHBV既往感染歴を有するB細胞非ホジキンリンパ腫症例において、リツキシマブ+ステロイド併用化学療法中のHBV再活性化対策として、“月1回のHBV DNA モニタリング”によるpreemptive antiviral therapyの有用性を示した。とくにプレコア変異を有するウイルス複製亢進例においても肝炎発症予防は可能であった。

これまでの本研究結果は、厚生労働省ガイドラインの妥当性を支持する結果であり、HBV-DNA モニタリングの重要性について質の高いエビデンスを示すことができたと考えられる。現在、論文投稿中である。

(2) T細胞性リンパ腫であるATLにおいても、HBV再活性化は10%程度起こりうることを示した。

我々は、以前にモガムリズマブ単剤療法にて、HBV再活性化しうることを報告した(Nakano N et al. Hepatology Research 2013)が、今回は単施設レトロスペクティブな研究であるが、定期的なHBV DNA モニタリングにより、B細胞リンパ腫と同程度の再活性化リスクがあることを示唆する結果であった。

(3)モガムリズマブ投与後の B 型劇症肝炎発症報告：

極めて急激に肝障害が出現している理由については、モガムリズマブによる制御性 T 細胞の除去作用によって感染した肝細胞への免疫応答が著明に増強した可能性が示唆される。

ウイルス解析では、プレコア変異を認めず、ウイルス複製は比較的緩徐であった可能性があり、モガムリズマブ投与前に HBV DNA 量が 9.1 log copies/mL 以上であったにもかかわらず、肝障害を認めなかった理由のひとつと考えられる。

E. 結論

『リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中の B 型肝炎ウイルス再活性化への対策に関する多施設共同臨床研究～HBV-DNA モニタリング～』は、最終解析結果を投稿中である。これまでの結果では、HBV 再活性化ハイリスク群であるリツキシマブ+ステロイド併用例に対し、本試験の HBV-DNA モニタリングによる preemptive antiviral therapy で対策を講じることが可能であった。

今後は、宿主リスク因子の解明に加えて、リツキシマブ以外の抗体薬、分子標的治療薬による HBV 再活性化対策の確立が重要な課題であると考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべき情報なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

(1) Ifuku H, **Kusumoto S**, Tanaka Y, Totani H, Ishida T, Okada M, Murakami S, **Mizokami M**,

Ueda R, Iida S. Fatal reactivation of hepatitis B virus infection in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. Hepatol Res. 2015 Mar 9.

(2) **Kusumoto S**, Tobinai K.: Screening for and management of hepatitis B virus reactivation in patients treated with anti-B-cell therapy. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2014 Dec 5;2014(1):576-83.

(3) Totani H, **Kusumoto S**, Ishida T, Masuda A, Yoshida T, Ito A, Ri M, Komatsu H, Murakami S, **Mizokami M**, Ueda R, Niimi A, Inagaki H, Tanaka Y, Iida S. Reactivation of hepatitis B virus (HBV) infection in adult T-cell leukemia-lymphoma patients with resolved HBV infection following systemic chemotherapy. Int J Hematol. 2015 Jan 30. [Epub ahead of print]

(4) Takahashi H, Ikeda M, Kumada T, Osaki Y, Kondo S, **Kusumoto S**, Ohkawa K, Nadano S, Furuse J, Kudo M, Ito K, Yokoyama M, Okusaka T, Shimoyama M, **Mizokami M**. Multicenter cooperative case survey of hepatitis B virus reactivation by chemotherapeutic agents. Hepatol Res. 2015 Jan 27.

(5) **Kusumoto S**, Tanaka Y, **Mizokami M**, Ueda R. Strategy for preventing hepatitis B reactivation in patients with resolved hepatitis B virus infection after rituximab-containing chemotherapy. Hepatology. 2014 Aug;60(2):765-6.

(6) **Kusumoto S**, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R.: Is antiviral prophylaxis necessary to prevent hepatitis B virus (HBV) reactivation in patients with HBV-resolved infection receiving rituximab-containing chemotherapy? J Clin Oncol. 2013 Dec 10;31(35):4480. Epub 2013 Nov 12.

(7) Nakano N, **Kusumoto S**, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A. Reactivation of hepatitis B virus in a patient

with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. *Hepatol Res.* 2013 Mar 26. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- (1) **楠本茂**： がん化学療法中の B 型肝炎ウイルス再活性化のリスクとその対策：最新エビデンスより 第 50 回日本肝臓学会総会_イブニングセミナー 2014 年 5 月 東京
 - (2) Haruhito Totani, **Shigeru Kusumoto**, Takashi Ishida, Asahi Ito, Masaki Ri, Hirokazu Komatsu, Ryuzo Ueda, Yasuhito Tanaka, Akio Niimi, Shinsuke Iida : Reactivation of hepatitis B virus (HBV) in HBV-resolved patients with adult T-cell leukemia/lymphoma The 12th Annual Meeting of Japanese Society of Clinical Oncology 18 July 2014 (Oral presentation) Fukuoka
 - (3) **楠本茂**： がん分子標的治療中の B 型肝炎ウイルス再活性化のリスクとその対策 第 76 回日本血液学会学術集会 コーポレートセミナー36 2014 年 11 月 大阪
 - (4) **楠本茂**、田中靖人、**溝上雅史**： リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中の de novo B 型肝炎対策：HBV DNA モニタリングによる preemptive antiviral therapy の有用性の検討 JDDW2013 肝 S1 2013 年 10 月 東京
 - (5) 鈴木奈々, **楠本茂**, 李政樹, 伊藤旭, 石田高司, 小松弘和, 新実彰男, 田中靖人, 飯田真介： HBs 抗体単独陽性例からの B 型肝炎ウイルス再活性化を認めた多発性骨髄腫の 1 例 第 221 回日本内科学会東海地方会 2013 年 10 月 岐阜
 - (6) **楠本茂**： 血液疾患治療中の HBV 再活性化対策に関する最新エビデンス 第 75 回日本血液学会学術集会 コーポレートセミナー8 2013 年 10 月 北海道
 - (7) **Kusumoto S**, Tanaka Y, Susuki R, et al.: Prospective nationwide observational study of hepatitis B virus (HBV) DNA monitoring and preemptive antiviral therapy for HBV reactivation in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma following rituximab containing chemotherapy: results of interim analysis. Poster presentation, in 54th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Atlanta, GA/ December 8-11, *Blood.* 2012 Nov; 120 (21): abstract 2641.
 - (8) **楠本茂**、田中靖人、**溝上雅史**： B 細胞性リンパ腫治療における、月 1 回の HBV-DNA モニタリングは HBV 再活性化による肝炎発症対策として有用である JDDW2012 肝 PD1-3 2012 年 10 月 神戸
 - (9) **楠本茂**、田中靖人、田中榮司、**溝上雅史**： リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中の B 型肝炎ウイルス再活性化のリスク 第 48 回日本肝臓学会総会 WS11-2 2012 年 5 月 金沢
 - (10) **楠本茂**、田中靖人、**溝上雅史**： HBV-DNA モニタリングによる、リツキシマブ+ステロイド併用悪性リンパ腫治療中の B 型肝炎ウイルス再活性化への対策に関する多施設共同前方視的観察研究：中間解析結果 第 99 回日本消化器病学会総会 W3-6 2013 年 3 月 鹿児島
 - (11) **楠本茂**： 造血器腫瘍に対する化学療法中の HBV 再活性化対策 第 74 回日本血液学会学術集会 コーポレートセミナー 2012 年 10 月 京都
 - (12) Totani H, **Kusumoto S**, et al.: Reactivation of hepatitis B virus infection in patients with adult T-cell leukemia/lymphoma. 第 74 回日本血液学会学術総会, ポスター発表 (PS-2-356), 京都, 2012.
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得
該当事項なし
 2. 実用新案登録
該当事項なし
 3. その他
該当事項なし

固形がんにおける B 型肝炎ウイルス再活性化

研究分担者：池田公史	国立がん研究センター東病院 肝胆膵内科
研究協力者：伊藤清顕	愛知医科大学 消化器内科
大川和良	大阪府立成人病センター 肝胆膵内科
大崎往夫	大阪赤十字病院 消化器内科
楠本 茂	名古屋市立大学 腫瘍・免疫内科学
工藤正俊	近畿大学 消化器内科
熊田 卓	大垣市民病院 消化器科
近藤俊輔	国立がん研究センター中央病院 肝胆膵内科
土井俊彦	国立がん研究センター東病院 消化器内科
灘野成人	四国がんセンター 肝胆膵内科
古瀬純司	杏林大学 内科学腫瘍科

研究要旨：

HBs 抗原陽性と HBs 抗原陰性で HBc/HBs 抗体陽性の固形がん患者で、B 型肝炎ウイルス (HBV) の再活性化の発生割合を推定し、再活性化を認めた症例の転帰を、前向き観察研究を施行し調査した。HBs 抗原陽性 35 例から、HBV の再活性化を 10 例(28.5%)に認めた。再活性化を認めた 10 例中 7 例は、予防投与に用いた抗ウイルス療法をそのまま継続し HBV DNA の改善を認め、1 例は抗ウイルス療法を行わず、改善した。HBs 抗原陰性で HBc/HBs 抗体陽性 344 例から、HBV の再活性化を 7 例(2.0%)に認めた。再活性化を認めた 7 例のうち、4 例は抗ウイルス療法を行わず、HBV DNA の改善を認めた。定期的に HBV DNA を測定し、適切に対応することで、HBV 再活性化による肝障害も認めず、管理することが可能であった。固形がんの化学療法施行時には、HBV は再活性化を来たしても、自然軽快する症例があることが判明した。HBV の再活性化に対する治療介入のタイミングは、自然軽快することを考慮して、HBVDNA が低ウイルス量(4 log copies/mL 以下)である場合は 1 ヶ月ほど期間において 2 回測定したうえで検討すべきと考えられた。今後、HBV 再活性化に及ぼすウイルス側の因子や宿主側の因子について検討していく予定である。

A. 研究目的

固形がんの患者に対して、化学療法を施行した際の B 型肝炎ウイルス(HBV)の再活性化の発生割合はこれまでに明らかにされていない。HBV 再活性化の高リスクを有する初回化学療法を受ける悪性固形腫瘍の患者を前向きに集積し、HBV 再活性化の発生割合を推定し、再活性化を認めた症例の転帰を調べた。

B. 研究方法

本試験は、多施設共同(9 施設)の前向き観察研究(UMIN000005369)である。HBs 抗原陽性 [sAg(+)]、HBs 抗原陰性で HBc 抗体または HBs

抗体陽性[c/sAb(+)]の固形がん患者で、初回化学療法を予定している症例を登録し、定期的に HBV DNA を測定し、再活性化の有無を確認した。HBV 再活性化は HBV DNA が 10 倍以上上昇した場合または HBVDNA 検出感度以下の例での HBVDNA の陽性化と定義した。

C. 研究結果

対象は、2010 年 8 月から 2012 年 5 月までに登録された計 379 例(HBs 抗原陽性例 35 例、HBs 抗原陰性で HBc 抗体または HBs 抗体陽性例 344 例)である。HBV DNA の測定間隔の中央値(範囲)は 78.6 日(5-379 日)であった。HBs 抗原

陽性例からの再活性化を10例(28.5%)に認めた。再活性化を認めた10例中7例は、予防投与に用いた抗ウイルス療法をそのまま継続し、HBV DNAの改善を認め、1例は抗ウイルス療法を行わず、改善した。HBs抗原陰性でHBc抗体またはHBs抗体陽性例からの再活性化を7例(2.0%)に認めた。再活性化を認めた7例のうち、4例は抗ウイルス療法を行わず、HBV DNAの改善を認めた。また、HBV再活性化を認めた全例で、HBVの再活性化による肝障害をきたした症例は認めなかった。

D. 考察

sAg(+)例から25.7%に再活性化を認めたが、全例抗ウイルス薬を適切に使用することで、HBV再活性化による肝障害をきたした症例は1例も認めなかった。また、c/sAb(+)例から再活性化を認めた7例のうち、4例は抗ウイルス薬も投与せず自然軽快しており、抗ウイルス薬で介入した症例は3例(0.9%)に過ぎなかった。したがって、固形がんの化学療法において、臨床的に問題となるHBV再活性化は稀であることが判明した。また、HBVは再活性化を来たしても、自然軽快する症例があることが判明した。したがって、固形がんにおけるHBVの再活性化に対する治療介入のタイミングは、自然軽快することを考慮して、HBVDNAが低ウイルス量(4 log copies/mL以下)である場合は1ヵ月ほど期間をおいて2回測定したうえで検討すべきと考えられた。今後、固形がんに対する化学療法施行例におけるHBV再活性化に及ぼすウイルス側の因子や宿主側の因子についても検討していく予定である。

E. 結論

固形がんにおいて、HBs抗原陰性でHBc抗体またはHBs抗体陽性例からのHBV再活性化は稀であった。また、HBVの再活性化を来たしても、自然軽快する症例があることが判明した。固形がん患者に対する化学療法を施行時に、定期的にHBV DNAを測定し、適切に対応することで、HBV再活性化による肝障害も認めず、管理することが可能であった。また、固形がん

におけるHBVの再活性化に対する治療介入のタイミングは、自然軽快することを考慮して、HBVDNAが低ウイルス量(4 log copies/mL以下)である場合は1ヵ月ほど期間をおいて2回測定したうえで検討すべきと考えられた。

F. 研究発表(本研究に関わるもの)

1. 論文発表
 - 1) Ikeda M. Reactivation of Hepatitis B Virus in Patients Receiving Chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2013 Jan;43(1):8-16.
 - 2) Hagiwara S, Sakurai T, Nishina S, Tanaka K, Ikeda M, Ueshima K, Minami Y, Inoue T, Yada N, Kitai S, Takita M, Nagai T, Hayaishi S, Arizumi T, Park AM, Munakata H, Nishida N, Kudo M. Characteristic Pattern of Reactivation of Hepatitis B Virus during Chemotherapy for Solid Cancers. *Dig Dis*. 2012;30(6):541-6.
 - 3) Shiba S, Kondo S, Ueno H, Morizane C, Ikeda M, Okusaka T. Hepatitis B Virus Reactivation during Treatment with Multi-Tyrosine Kinase Inhibitor for Hepatocellular Carcinoma. *Case Rep Oncol*. 2012;5(3):515-9.
 - 4) 池田公史. 既往感染例におけるHBV再活性化の実態と対策⑤固形がんpp154-160 de novo B型肝炎 持田智編 医薬ジャーナル社 大阪 2013
 - 5) 池田公史. 固形がん領域におけるB型肝炎再活性化の現状 最新医学 68 (3) : 379-384,2013.
 - 6) Takahashi H, Ikeda M, Kumada T, Osaki Y, Kondo S, Kusumoto S, Ohkawa K, Nadano S, Furuse J, Kudo M, Ito K, Yokoyama M, Okusaka T, Shimoyama M, Mizokami M. Multicenter cooperative case survey of hepatitis B virus reactivation by

- chemotherapeutic agents. *Hepatol Res.* 2015 (In press)
- 7) 池田公史. 化学療法施行時のB型肝炎の再活性化と留意点 *JOHNS* 30 (8) : 1007-10,2014.
 - 8) 池田公史. B型肝炎ウイルス再活性化 消化器がん化学療法副作用マネジメント pp256-260 編集 小松義人 株式会社メジカルビュー社 東京都新宿区,2014
2. 学会発表
- 1) 池田公史. がん治療による B 型肝炎ウイルス再活性化と対策. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2012/07/28 大阪
 - 2) 池田公史. 化学療法施行時の B 型肝炎の再活性化-現状と対策 *JDDW2012* 肝臓学会 2012/10/11 神戸
 - 3) 池田公史. 化学療法により再活性化する B 型肝炎—どう対応すべきか?— 第 50 回日本癌治療学会学術集会 2012/10/25 横浜
 - 4) 新家卓郎、熊田卓、桐山勢生、谷山誠、久永康宏、豊田秀徳、金森明、多田俊史、安東直人、安田論、坂井圭介、木村純、安藤祐資、山本健太、曾根康博. 悪性リンパ腫に対するリツキシマブ併用化学療法における B 型肝炎再活性化の検討—ガイドライン前後の比較—. 第 48 回日本肝臓学会総会.2012/06/08 金沢
 - 5) 安田論、熊田卓、豊田秀徳. 抗腫瘍剤・免疫抑制剤使用時の HBV マーカーの検討. 第 16 回日本肝臓学会大会.2012/10/10
 - 6) 池田公史. 「B 型肝炎の再活性化にどう対応すべきか?—径カテーテル治療でも本当に必要か?—」第 38 回リザーバー研究会 2013/06/29 高松市
 - 7) 池田公史、大島浩、山本大輝 本邦における化学療法施行時の B 型肝炎ウイルスのスクリーニングの現状 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2013/08/29 仙台市
 - 8) Ikeda M, Ohshima H, Yamamoto H. Present status of screening of hepatitis B virus infection in patients with undergo chemotherapy in Japan. 17th ECCO-38thESMO-32nd ESTRO European Cancer Congress 27 September-1 October Amsterdam
 - 9) Ikeda M, Ohshima H, Yamamoto H. Current status of screening of hepatitis B virus infection in patients with undergo chemotherapy in Japan. 23rd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL2014) 12-15 March 2014 Brisbane
 - 10) Ikeda M. HBV Reactivation: Current status of patients receiving chemotherapy in Japan. 23rd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL2014) 12-15 March 2014 Brisbane
 - 11) Kondo S, Ikeda M, Kondo S, Kudo M, Nadano S, Furuse J, Osaki Y, Kumada T, Ohkawa K, Mizokami M. Multicenter observational study of reactivation of hepatitis B virus (HBV) caused by chemotherapy for solid tumors (ST). 2014 ASCO Annual Meeting May 30- June 3,2014 Chicago *J Clin Oncol* 32:5s, 2014 (suppl; abstr 1590)
 - 12) 池田公史 Liver dysfunction : Chemotherapy in patients with current of resolved hepatitis B viral infection / 肝機能障害・B型肝炎潜在感染患者における化学療法(ワークショップ) 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2014/07/17-19 福岡市
 - 13) 池田公史 化学療法施行時における B 型肝炎再活性化対策の Update (学術セミナー) 第 52 回日本癌治療学会学術集会 2014/8/28-30 横浜市
 - 14) Furuse J, Ikeda M, Kondo S, Kudo M, Nadano S, Osaki Y, Kumada T, Ohkawa K, Mizokami M. Multicenter observational study of reactivation of hepatitis B virus caused by

chemotherapy for solid tumors. 24nd
Conference of the Asian Pacific Association
for the Study of the Liver (APASL2015) 12-15
March 2015
Istanbul

- 15) Furuse J, Ikeda M, Kondo S, Kudo M, Nadano
S, Osaki Y, Kumada T, Ohkawa K, Mizokami
M. Multicenter observational study of
reactivation of hepatitis B virus caused by
chemotherapy with sorafenib . 24nd
Conference of the Asian Pacific Association
for the Study of the Liver (APASL2015) 12-15
March 2015
Istanbul

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

「HBV 再活性化症例のウイルス学的検討」

研究分担者：梅村武司 信州大学医学部消化器内科
研究協力者：田中榮司 信州大学医学部消化器内科

研究要旨： *de novo* B 型肝炎の発症に関連するウイルス学的特徴は明らかにされていない。本研究では全塩基配列を決定して *de novo* B 型肝炎に特徴的なウイルス変異の有無について検討を行った。最初に本邦における劇症肝炎と関連の強い 9カ所のウイルス変異について検討を行い、次に、*de novo* 肝炎 13 例と急性 B 型肝炎 16 例について direct sequencing 法で塩基配列を決定し、genotype B と C についてそれぞれ検討を行った。9カ所の検討では *de novo* B 型肝炎の劇症化症例に特徴的な変異は認めなかった。劇症化症例の検討では急性肝炎(3/3 100%)では *de novo* 肝炎(0/5 0%)と比較して T1753V 変異の比率が高い事が判明した。全塩基配列の検討によると系統樹解析では *de novo* 肝炎に特異的なクラスターの形成は認めなかった。塩基配列の比較では *de novo* 肝炎例で有意に高率に認められる変異が genotype B では 5カ所、genotype C では 7カ所見つかった。アミノ酸置換した場合に genotype B では S 領域、pre-S1 領域、polymerase 領域にそれぞれ 1カ所、genotype C では S 領域と polymerase 領域に 1カ所有意な変異を認めた。S 領域の変異は HBs 抗原産生と関連が報告されており今後の検討が必要である。最終的には ultra deep sequencing で詳細な検討が必要と考えられる。

A. 研究目的

B 型肝炎ウイルス(HBV)キャリアおよびその既感染者では、抗腫瘍製薬、免疫抑制薬を使用すると、その使用中または使用後に HBV が再活性化して肝機能異常を起こしうる。特に、HBV 既感染者で起こるものを *de novo* B 型肝炎と称している。本邦の疫学調査から *de novo* B 型肝炎は通常の急性 B 型肝炎より劇症化率が高く、劇症化した症例の死亡率が極めて高いことが明らかとなっているがそのメカニズムについては未だ不明である。*de novo* B 型肝炎発症例に関連するウイルス変異について検討を行った。

B. 研究方法

1) *de novo* B 型肝炎 16 例(劇症化 5 例)と急性 B 型肝炎 15 例(劇症化 3 例)について劇症肝炎と関連があると報告されている 9カ所のウイルス変異(T1753V, T1754V, T1762A, G1764A, G1896A, G1899A, T1961A, C1962D, A2339G)を測定した。保存血清から DNA を抽出し PCR で増幅し、直接塩基決定法で確認した。
2) *de novo* B 型肝炎 13 例(劇症化 4 例)と急性

B 型肝炎 16 例(劇症化 3 例)について保存血清から DNA を抽出し PCR で増幅し、直接塩基決定法で全塩基配列を決定した。急性 B 型肝炎例については本邦発症の 39 例をデータベースから加え、計 55 例(劇症化 29 例)として解析を行った。全塩基配列を用いて N-J 法で系統樹解析を行った。統計学的検討は *de novo* 肝炎例と急性肝炎例で同じ塩基について変異数を計算して、それぞれについてフィッシャー正確確率検定を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は信州大学医学部臨床倫理委員会で承認されており、倫理上の問題はない。

C. 研究結果

1) 9カ所のウイルス変異の検討では急性 B 型肝炎と比較して *de novo* B 型肝炎に高率に存在する変異はなかった。さらに、*de novo* B 型肝炎の劇症化症例に特徴的な変異は認めなかった。劇症化症例の検討では急性肝炎(3/3 100%)では *de novo* 肝炎(0/5 0%)と比較して T1753V 変異の比率が高かった。

2) 全塩基配列の検討

genotype B 症例の比較

de novo 肝炎 6 例 (劇症化 2 例) と急性肝炎 16 例 (劇症化 14 例) について検討した。

系統樹解析では *de novo* 肝炎例に特異的なクラスターを形成することはなかった。塩基配列の比較では統計学的に $P < 0.01$ の部位は 5 ヶ所確認された。アミノ酸置換すると S 領域で 1 ヶ所 (*de novo* 4/6 [67%] vs. 急性肝炎 0/16 [0%], $P = 0.0027$)、pre-S1 領域で 1 ヶ所 (*de novo* 3/6 [50%] vs. 急性肝炎 0/16 [0%], $P = 0.019$)、polymerase 領域で 1 ヶ所 (*de novo* 5/6 [83%] vs. 急性肝炎 0/16 [0%], $P = 0.00034$)、計 3 ヶ所に有意な差を認めていた。

genotype C 症例の検討

de novo 肝炎 7 例 (劇症化 2 例) と急性肝炎 33 例 (劇症化 15 例) について検討した。

系統樹解析では genotype B 同様に *de novo* 症例だけでクラスターを形成することはなかった。塩基配列の比較では統計学的に $P < 0.01$ の部位は 7 ヶ所確認された。うち 1 ヶ所は $P < 0.001$ であった。アミノ酸置換すると S 領域で 1 ヶ所 (*de novo* 5/7 [71%] vs. 急性肝炎 0/33 [0%], $P = 0.001$)、同じ部位が polymerase 領域として (*de novo* 5/7 [71%] vs. 急性肝炎 0/33 [0%], $P = 0.001$) 有意な差を認めていた。

de novo 肝炎例では劇症化症例が genotype B、C それぞれ 2 例ずつと少ないため劇症化と関連のある変異の有無については明らかにならなかった。

D. 考察

9 ヶ所のウイルス変異の検討では *de novo* B 型肝炎に高率に存在する変異はなく、*de novo* B 型肝炎の劇症化症例に特徴的な変異は認めなかった。劇症化症例の検討では急性肝炎では *de novo* 肝炎と比較して T1753V 変異の比率が高かった。

de novo 肝炎症例についての全塩基配列の検討では系統樹解析では特定のクラスターは作成されなかった。genotype B と C それぞれ *de novo*

肝炎で急性肝炎と比較して有意にアミノ酸置換を伴う変異が多く見つかった。特に Genotype B で見つかった S 領域の変異は HBs 抗原の産生に関与している可能性があり、今後の検討課題と考えられた。

E. 結論

急性 B 型肝炎と比較した際に *de novo* B 型肝炎症例に多くみられる変異があり、その中にはアミノ酸でも変化が認められた。今後は次世代シーケンサーで ultra deep sequencing を施行し、その特徴について検討を行う予定である。

F. 研究発表(本研究に関わるもの)

1. 論文発表

1. Morita S, Matsumoto A, Umemura T, Shibata S, Kamiyo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E. Characteristics and prediction of hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 2013 2014;44:E45-53.
2. Okuhara S, Umemura T, Joshita S, Shibata S, Kimura T, Morita S, Komatsu M, Matsumoto A, Yoshizawa K, Katsuyama Y, Ota M, Tanaka E. Serum levels of interleukin-22 and hepatitis B core-related antigen are associated with treatment response to entecavir therapy in chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 2014;44:E172-80.

3. 梅村武司、田中榮司 *de novo* B 型肝炎の臨床的特徴 *de novo* B 型肝炎 HBV 再活性化予防のための基礎知識(持田智編)、医薬ジャーナル社、大阪 pp78-85, 2013
4. 梅村武司 *de novo* B 型肝炎のウイルス学的特徴 *消化器内科*、pp624-626, 2013

2. 学会発表

1. 梅村武司、城下智、田中榮司 本法における *de novo* B 型肝炎症例の背景と予後 第 48 回日本肝臓学会総会 2012 年 6 月 金沢

2. 梅村武司、田中榮司 De novo B型肝炎におけるHBV 遺伝子変異と予後との関連 第16回日本肝臓学会大会 2012年10月神戸
3. Umemura T, Ota M, Katsuyama Y, Joshita S, Kiyosawa K, Tanaka E, and the Japan de novo hepatitis group. Viral Factors of Patients with Fulminant Hepatic Failure Due to Hepatitis B Virus Reactivation from HBsAg-negative Status AASLD 2011, Boston, USA, 2012.11.
4. 梅村武司、城下智、松本晶博:De novo B型肝炎発症HBVの全塩基配列決定とその特徴, 第99回日本消化器病学会総会、2013年3月鹿児島
5. 梅村武司、城下智、田中榮司 de novo B型肝炎発症HBVの全塩基配列の検討、第17回日本肝臓学会大会、2013年10月東京
6. 松本晶博、梅村武司、田中榮司:「B型慢性肝炎核酸アナログ治療例におけるシーケンシャル療法の効果判定方法と予測因子の検討」、第100回日本消化器病学会総会、2014年4月、東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

B 型肝炎ウイルス再活性化例における HLA-DP の解析

研究分担者：宮寺浩子・国立国際医療研究センター・上級研究員

研究要旨：

ヒト白血球抗原(human leukocyte antigen (HLA))領域にある *HLA-DP* 遺伝子領域の多型は B 型肝炎慢性化、ウイルス排除と強く関連する。このことから、*HLA-DP* アリル特異的な B 型肝炎ウイルス(HBV)抗原ペプチドの提示が、ウイルス排除、中和抗体産生に寄与していると推測される。本分担研究は、HLA-DP を介した HBV ウイルス抗原提示の機序を明らかにすることを目的として、HLA-DP が提示する HBs 抗原、HBc 抗原ペプチド領域を探索した。

A. 研究目的

B型肝炎慢性化と最も強く関連する遺伝要因は 6 番染色体短腕上、*HLA* 領域内の *HLA-DPA1*、*DPB1* 遺伝子座位および、その周辺領域である (Kamatani, et al. (2009) *Nat. Genet.*; Nishida, et al. (2012) *PLoS One*)。東アジア集団において高頻度に存在する *HLA-DPB1*05:01* は B型肝炎慢性化と強く関連する。一方、ヨーロッパ集団で最も高頻度に存在する *HLA-DPB1*04:01*、**04:02* は B型肝炎慢性化抵抗性と強く関連する。これらの知見は、HLA-DP による HBV 抗原提示がウイルス排除や B型肝炎慢性化の機序に関与することを示唆する。再活性化と HLA-DP 多型との関連は現時点では明らかではないが、HLA-DP を介した抗原提示が再活性化の機序にも寄与している可能性がある。HLA-DP を介した B型肝炎ウイルスに対する免疫応答のメカニズムを解明するため、本研究では、HLA-DP がアリル特異的に提示する HBs 抗原、HBc 抗原ペプチド領域を探索した。

B. 研究方法

B 型肝炎慢性化に対する感受性・抵抗性と関連する HLA-DP アリル、および、関連を示さない中立性アリル (*HLA-DPA1*01:03*、**02:01*、**02:02*、*HLA-DPB1*02:01*、**03:01*、**04:01*、**05:01*、**09:01*) cDNA を HLA 標準細胞株よりクローニングし、組換え HLA-DP タンパク質

を昆虫細胞安定発現系、哺乳類線維芽細胞株で発現した。HBs 抗原中の数カ所の候補領域、および HBs 抗原、HBc 抗原全長をカバーする 10-15mer の合成ペプチドライブラリーを作製し、組換え HLA-DP タンパク質との結合を測定した。

C. 研究結果

まず、先行研究が多く行われている HLA-DR タンパク質を対象として、ペプチド-HLA タンパク質相互作用測定系を構築した。HLA-DR β サブユニット C 末端に His タグを付加し、哺乳類線維芽細胞株を用いて発現した。安定発現株の可溶性分画を材料として NTA-Ni コートプレート上に HLA タンパク質を His タグを介して固定し、HLA へのビオチン化標識ペプチドの結合をアビジン-HRP を用いて検出した。この測定系で、ポジティブコントロールペプチドの HLA-DR への結合、および競合ペプチドによる濃度依存的な結合阻害を検出出来ることを確認した。次に、HLA-DP を発現する昆虫細胞株と哺乳類細胞株を作成し、それぞれの細胞株で発現、可溶化した HLA-DP タンパク質を Ni-NTA プレートに固定化し、固定化される HLA-DP タンパク質の量を細胞間で比較した。その結果、哺乳類細胞発現した HLA-DP について、より良好な結果を得た。以降の解析には哺乳類細胞発現した HLA-DP タンパク質

を用いることとした。

HLA-DP とペプチドとの結合解析は、まず、HLA-DP アリル産物（6 種類）と HBs 抗原候補領域ペプチド（10 種類）を対象として行った。いずれも、先行研究において HLA-DP との結合が報告されている領域であったが、これらの候補領域ペプチドについては HLA-DP との結合を再現することが出来なかった。

次に、HBs, HBc 抗原全長をカバーする合成ペプチドライブラリーを作成し、HLA-DP アリル産物 6 種類に結合するペプチド領域をスクリーニングした。その結果、慢性化抑制アリル DP04 に特異的に結合する高親和性ペプチド、慢性化進行アリル DP0901、中立アリル DP0301 に弱く結合する低親和性ペプチドを同定した（いずれも未発表）。

また、HLA とペプチドとを融合タンパク質として発現させ、細胞表面上に発現する HLA タンパク質の量を定量することで、HLA タンパク質とペプチドとの結合性を推測した。

D. 考察

HLA クラス II タンパク質へのペプチドの結合を、多数のアリル産物を対象として測定するために、本研究では HLA クラス II タンパク質を His タグを介してプレート上に固定した。この方法によって、従来の測定系で必要であった、抗 HLA 抗体を介した HLA のプレート上への固定を回避することが出来るだけでなく、固定した HLA タンパク質の向きを一方向に揃える事が出来る。この方法を用いて、本研究では HLA-DP とペプチドとの結合を測定し、HLA-DP にアリル特異的に提示されうる HBs, HBc 抗原タンパク質中の複数の領域を同定した。今後、これらの抗原領域に着目し、B 型肝炎ウイルスに対する免疫応答、特に、再活性化における免疫応答の機序の解明を進める予定である。

E. 結論

HLA クラス II とペプチドとの結合測定系を確立し、HLA-DP にアリル特異的に結合しうる

HBs, HBc 抗原領域を複数箇所同定した。

F. 研究発表(本研究に関わるもの)

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

1) 高柳彩、宮寺浩子、徳永勝士

Peptide binding studies on HLA-DP, associated with susceptibility to chronic hepatitis B in East Asian population

第 16 回国際 HLA ワークショップ、第 26 回欧州組織適合性学会合同大会

2012 年 6 月 1 日 英国・リバプール

2) 高柳彩、宮寺浩子、徳永勝士

慢性 B 型肝炎感受性・抵抗性に関連する HLA-DP の機能解析

第 21 回日本組織適合性学会大会

2012 年 9 月 15 日 東京

3) 高柳彩、宮寺浩子、徳永勝士

Functional analysis of HLA-DP, associated with susceptibility to chronic hepatitis B

第 41 回日本免疫学会学術集会

2012 年 12 月 7 日 神戸

4) Cindy Chia-Jung Chen, 宮寺浩子、徳永勝士

Interaction analysis of HLA-DP protein and HBV surface antigenic peptides in association to susceptibility of chronic hepatitis B

日本人類遺伝学会第 58 回大会

2013 年 11 月 21 日 仙台

5) Cindy Chia-Jung Chen, 宮寺浩子、徳永勝士

慢性 B 型肝炎感受性・抵抗性に関連する HLA-DP の機能解析

第 42 回日本免疫学会学術集会

2013 年 12 月 12 日 幕張

6) 岡部由紀、Cindy Chia-Jung Chen、宮寺浩子、

徳永勝士、溝上雅史