

生体肝移植後B型肝炎ワクチンの効果とHLA-DPの一塩基多型に関する研究

研究要旨

B型肝炎ウイルス(HBV)による非代償性肝硬変に対する究極の治療として肝移植が普及したが、移植後のウイルス制御が未解決である。HBV関連肝移植には末期B型肝炎に対する肝移植とHBc抗体陽性ドナーからの肝移植がある。HBV肝移植では高力価HBsヒト免疫グロブリン(HBIG)と核酸アナログはHBV再活性化を制御するが、生涯にわたるHBIG投与は患者QOLを低下させ、数百億の医療費が必要と推定される。ワクチン接種で抗体陽転化すればHBIGは不要だが、陽転化の予測ができず率も低いいため積極的な接種が行われていない。HLA-DPの遺伝子多型によるHBs抗体産生の規定が報告され、コンパニオン診断としての可能性がある。ワクチン高容量投与による抗体陽転化率の向上を示唆するデータが得られており、多施設共同研究の臨床試験で確認する。本研究期間に1) HBVワクチン療法によるHBs抗体陽転化率に関する全国的情報収集：HBVワクチン療法の現状について施行率、陽転化率、有害事象に関する調査を行う。2) HLA-DP遺伝子多型解析：全国のワクチン施行例のHLA-DP遺伝子多型と抗体陽転化との関連を明らかにし、コンパニオン診断としての意義を検討する。3) 高容量HBVワクチンによる陽転化率向上の試み：高容量ワクチンの効果を多施設共同で陽転化率を検討する。HBVのディープシーケンス解析：HBVのゲノム解析とワクチン効果予測との関連を検討する。肝移植後のB型肝炎感染予防を遺伝子解析の視点から行った研究はこれまで皆無である。遺伝子の多型によって変化するHLA蛋白の三次元構造の変化が明らかになれば、現在使用可能なB型肝炎ワクチンの問題点などが明らかになり、新たなワクチン開発にもつながると考えられる。

今年度は、九州大学で肝移植を施行した症例の中でB型肝炎ウイルス陽性例、B型肝炎既往感染例及びHBVワクチン投与例におけるHLA-DPA1及びDPB1の一塩基多型について検討した。

1) HBV の感染と HLADP の一塩基多型：生体肝移植前に HBs 抗原陽性であった（B型肝炎キャリア）26例と HBs 抗体陽性であった（B型肝炎既往感染）34例を用いた。背景因子では両群間に有意差を認めなかった。HLA-DPA1上の rs3077 の遺伝子多型の検討では、CC/CT/TT が HBs 抗原陽性 26 例では各 12/11/3 例、HBs 抗体陽性 34 例では各 14/7/3 例であった（有意差なし）。HLA-DPB1 上の rs9277535 の遺伝子多型の検討では、GG/GA/AA が HBs 抗原陽性 26 例では各 12/11/3 例、HBs 抗体陽性 34 例では各 10/21/3 例であった（有意差なし）。B型肝炎感染と HLA-DPA1 及び DPB1 の一塩基多型には関与は認められなかった。

2) HBV ワクチンの効果と HLADP の一塩基多型

生体肝移植後 HBIG と核酸アナログで B型肝炎感染予防を 10ヶ月以上行い、肝機能がほぼ正常な症例 19例に対し、B型肝炎ワクチンを毎月投与した。ワクチンが無効であった 8例とワクチンが有効で HBIG から離脱可能であった 11例を比較検討した。無効 8例の男/女比は 6/2、有効 11例の男/女比は 1/10 (P=0.002)、生体肝移植時の平均年齢は各々 54.3 歳、37.0 歳であった (P=0.01)。無効 8例の原疾患は壊死後性肝硬変 6例、B型肝炎 1例、血管腫 1例であった。有効 11例では壊死後性肝硬変 4例、B型肝炎 4例、胆道閉鎖症 3例であった。ワクチン開始時の平均年齢は各々 56.6 歳、40.3 歳であった (P=0.02)。HLA-DPA1 上の rs3077 の遺伝子多型の検討では、CC/CT がワクチン無効 8例では各 5/3 例、ワクチン有効 11例では各 6/5 例であった（有意差なし）。HLA-DPB1 上の rs9277535 の遺伝子多型の検討では、GG/GA がワクチン無効 8例では各 7/1 例、ワクチン有効 11例では各 3/8 例であった (P=0.007)。この結果から、B型肝炎ワクチン有効例では HLA-DPB1 上の rs9277535 は GA の可能性が有意に高い事が明らかとなった。

本年度の成果を基に、ワクチン有効の 3例で HBIG と核酸アナログの投与を中止可能であった。現在、2例でワクチン投与中、8例が肝移植後ワクチン待機中であるため、来年度はこれらの症例についても解析予定である。これらの症例で HLADP の SNP 解析のワクチン効果予測における有効性が証明されれば全国レベルの多施設共同研究を行う予定である。

A . 研究目的

B 型肝炎ウイルス(HBV)による非代償性肝硬変に対する究極の治療として肝移植が普及したが、移植後のウイルス制御が未解決である。HBV 関連肝移植には末期 B 型肝炎硬変に対する肝移植と HBc 抗体陽性ドナーからの肝移植がある。HBV 肝移植では高力価 HBs 抗原免疫グロブリン(HBIG)と核酸アナログは HBV 再活性化を制御するが、生涯にわたる HBIG 投与は患者 QOL を低下させ、数百億の医療費が必要と推定される。また、核酸アナログは移植後腎障害の原因となり、内服中の妊娠では胎児への影響も危惧されている。このため、ワクチン接種による能動免疫の獲得が理想的である。ワクチン接種で抗体陽転化すれば HBIG は不要だが、陽転化の予測ができず率も低いため積極的な接種が行われていない。HLA-DP の遺伝子多型による HBs 抗体産生の規定が報告され、コンパニオン診断としての可能性がある。ワクチン高容量投与による抗体陽転化率の向上を示唆するデータが得られており、多施設共同研究の臨床試験で確認する。肝移植後の B 型肝炎感染予防を遺伝子解析の視点から行った研究はこれまで皆無である。遺伝子の多型によって変化する HLA 蛋白質の三次元構造の変化が明らかになれば、現在使用可能な B 型肝炎ワクチンの問題点などが明らかになり、新たなワクチン開発にもつながると考えられる。

B . 研究方法

九州大学病院で肝移植を施行した症例の中で B 型肝炎ウイルス陽性 26 例、B 型肝炎既往感染 34 例及び HBV ワクチン投与 19 例を用いた。該当症例の末梢血より、ゲノム DNA を抽出した検体を、随時、国立国際医療研究センターに搬送した。国立医療センターに集積後、東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野へ搬送し、HLA-DPA1 及び DPB1 の一塩基多型について検討した。

(倫理面への配慮)

検体は、全て連結不可能匿名化し、国立国際医療研究センターに搬送した。本研究は九州大学臨床倫理委員会承認された上で行った。

C . 研究結果

1) **HBV の感染と HLADP の一塩基多型** : 生体肝移植前に HBs 抗原陽性であった (B 型肝炎キャリア) 26 例と HBs 抗体陽性であった (B 型肝炎既往感染) 34 例を用いた。背景因子では両群間に有意差を認めなかった。HLA-DPA1 上の rs3077 の遺伝子多型の検討では、CC/CT/TT が HBs 抗原陽性 26 例では各 12/11/3 例、HBs 抗体陽性 34 例では各 14/7/3 例であった (有意差なし)。HLA-DPB1 上の rs9277535 の遺伝子多型の検討では、GG/GA/AA が HBs 抗原陽性 26 例では各 12/11/3 例、HBs 抗体陽性 34 例では各 10/21/3 例

であった (有意差なし)。B 型肝炎感染と HLA-DPA1 及び DPB1 の一塩基多型には関与は認められなかった。

2) HBV ワクチンの効果と HLADP の一塩基多型

生体肝移植後 HBIG と核酸アナログで B 型肝炎感染予防を 10 ヶ月以上行い、肝機能がほぼ正常な症例 19 例に対し、B 型肝炎ワクチンを毎月投与した。ワクチンが無効であった 8 例とワクチンが有効で HBIG から離脱可能であった 11 例を比較検討した。無効 8 例の男/女比は 6/2、有効 10 例の男/女比は 1/10 ($P=0.002$)、生体肝移植時の平均年齢は各々 54.3 歳、37.0 歳であった ($P=0.01$)。無効 8 例の原疾患は壊死後性肝硬変 6 例、B 型劇症肝炎 1 例、血管腫 1 例であった。有効 11 例では壊死後性肝硬変 4 例、B 型劇症肝炎 4 例、胆道閉鎖症 3 例であった。ワクチン開始時の平均年齢は各々 56.6 歳、40.3 歳であった ($P=0.02$)。HLA-DPA1 上の rs3077 の遺伝子多型の検討では、CC/CT がワクチン無効 8 例では各 5/3 例、ワクチン有効 10 例では各 6/5 例であった (有意差なし)。HLA-DPB1 上の rs9277535 の遺伝子多型の検討では、GG/GA がワクチン無効 8 例では各 7/1 例、ワクチン有効 11 例では各 3/8 例であった ($P=0.007$)。

D . 考察

B 型肝炎 ワクチン有効例では HLA-DPB1 上の rs9277535 は GA の可能性が有意に高い事が明らかとなった。現在、2 例でワクチン投与中、8 例が肝移植後ワクチン待機中であるため、来年度はこれらの症例についても解析予定である。最近、HLA-DP のサブクラスの遺伝子型が B 型肝炎感染と相関するとの報告があった。来年度は、当該症例のサブクラス解析も行う予定である。

E . 結論

HBV 関連の生体肝移植において、レシピエントでの B 型肝炎再活性化予防は可能である。HLA-DPB1 上の一塩基多型が HBV ワクチンの効果と関連する事が示唆された。

F . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし