

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2016

課題番号：24591876

研究課題名(和文) 肝移植における肝炎ウイルス再発に対するテーラーメイド治療

研究課題名(英文) Tailor-made treatment for prevention of hepatitis after liver transplantation.

研究代表者

臼井 正信 (Usui, Masanobu)

三重大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10378341

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：B型肝炎ウイルスに対する生体肝移植の再発予防は、術後免疫グロブリン(HBIG)と核酸アナログ製剤の投与により一定のコンセンサスが得られ、HBIGの安全性と医療費の高さに問題が残りHBワクチンによるHBIG離脱が最終目的である。これまで当科でHBワクチン接種を開始した14例を対象に検討を行った。HBIGから離脱できた群と離脱出来なかった群に分け、13例中9例(69%)でHBIGから離脱できた。2群間比較では、ワクチン接種期間のみ有意に離脱群で長く全例50か月以上であった($p=0.009$)。これらの結果からHBIGからの離脱のためには50か月以上の長期継続ワクチン接種が重要であることを示した。

研究成果の概要(英文)：For the patients undergoing liver transplantation for hepatitis B virus (HBV)-related diseases, hepatitis B immunoglobulin (HBIG) should be administered to prevent reinfection. Because HBIG is highly expensive, an alternative strategy using HBV vaccination has been made in an attempt to discontinue use of HBIG. The ratio of male/female was 13/1 (median age: 55 years; range: 37 years to 67 years). The median follow-up time was 102 months (range: approximately 14 months to 148 months). All 14 patients were free of HBV recurrence. HBIG-free status could be achieved in 9 patients (64.3%) during the treatment period for more than 50 months after beginning of HBV vaccination, of whom 5 (35.7%) became HBV vaccine-free. T-cell proliferation was confirmed by fact that the stimulation index ranged from 2.34 to 5.2 in the patients who were HBIG-free. Long-term HBV vaccination after LT is a useful and effective treatment in preventing HBV recurrence, allowing the discontinuation of HBIG treatment.

研究分野：肝胆膵・移植外科

キーワード：肝移植 肝炎ウイルス テーラーメイド治療

1. 研究開始当初の背景

本邦では毎年約3万5千人が肝細胞癌で死亡するが、その約70%がC型肝炎ウイルス、約15%がB型肝炎ウイルス感染によるものであり、両ウイルスの感染対策は国民の健康に関わる重要な問題である。本邦においてHCVに伴う肝硬変、肝細胞癌に対する治療として肝移植症例が増加しており、今後も更に増加することが予測され、末期肝細胞癌やウイルス肝硬変末期患者に対しては肝移植しか救命の道が残されておらず、肝移植の成績向上が望まれている。昨年の法改正に伴い脳死肝移植の症例数増加が見込まれる中、肝移植の最近の問題点として、肝炎ウイルスの移植後再発が上げられる。B型肝炎では、移植後の再発予防として核酸アナログの投与とB型免疫グロブリン(HBIG)の投与による再発予防は確立されているが、escape mutant やコストの問題が生じている。

そこで最近このコスト問題の解決策としてワクチン療法の導入が話題となっている。当科でもこれまで10例にワクチン導入を行い、能動免疫獲得に伴うHBIGからの脱却ができた4例と、獲得までは至らなくても3例にコストの削減ができた。HBIGから脱却出来た3例のリンパ球についてB型ワクチンに対する反応を調べた結果、カルシニューリン・インヒビター(CNI)による免疫抑制下にも関わらず3例ともpositive controlと同等にcell proliferationを認め報告してきた。しかし、免疫抑制下の能動免疫獲得機序については明らかではなく、機序の解明とCNIを含めそれぞれの症例にあったワクチン療法が必要となる。一方、C型肝炎では、C型肝炎ウイルス(HCV)の再燃が生体肝移植の最も大きな問題となっている。生体肝移植後は高率にHCV再燃を引き起こすが、組織学的に軽度な肝炎を発症する例や、非常に重症な肝炎を起し急速に線維化が進行する例などその予後は様々である。最終的には慢性肝炎からの

線維化を経て肝硬変へ進行する症例があり、肝移植全体の成績を低下させている。C型慢性肝疾患の治療はPEG-IFN/RBV併用療法の登場で飛躍的に進歩したが、日本人に最も多いgenotype I型、高ウイルス量の症例では、50%程度の根治しか得られず、当科のC型肝炎硬変移植患者も全て1型であり、難治例が多く、C型肝炎治療中に慢性拒絶となる症例もあり、そのため、治療前の効果予測が重要で個別治療が必要であると考えられる。genotype、ウイルス量、コア領域やNS5A領域のアミノ酸変異などのウイルス側要因に加えてPEG-IFN/RBVアドヒアランス(薬剤因子)、年齢、性差、肝繊維化進展度、インスリン抵抗性などの宿主側要因の双方が移植後感染の予後を決定するとされている。最近、IL-28Bの遺伝子多型がIFN治療効果に強く関与することが報告され、更にはHCV自然治癒にも関連していることが明らかとされた。

また、宿主因子のなかで臓器移植における免疫抑制剤としてのCNIは体内動態において個体差が大きいことが注目され、中でも薬物代謝酵素のチトクロームP450(CYP)3Aに遺伝的多型が存在し、これら遺伝子多型が特にCNIの体内動態に及ぼすことが報告されている。特にCNIであるタクロリムスの代謝にはCYP3A5の遺伝子多型が重要であることが報告され、CYP3A5の一塩基多型である(SNP)CYP3A5*1が注目されている。これまで当科では、CIの体内動態に及ぼすレシピエントとドナーのCYP3A5の遺伝子多型の影響を同意の得られた生体肝移植例について経時的な解析を行った結果CYP3A5*1のアレルがレシピエントのみならずドナーの遺伝子多型も大きく関与していることを明らかとした。これらの遺伝子多型を認識したうえで、グラフトには拒絶は起こさないが、third partyは攻撃できる状態に近づけ、これにウイルス因子・宿主因子の組み合わせを検討して、それぞれの肝移植症例に対するC型肝炎

ウイルス治療をテーラーメイド化する必要があると考えられる。

2. 研究の目的

肝移植患者におけるウイルス肝炎再燃の克服は非常に重要な問題である。B型肝炎についてはいかにワクチンによる能動免疫を獲得するかが重要であり、個々の T cell activity より vaccination 療法を確立する。C型肝炎に関しては、治療前の効果予測が重要で個別治療が必要であると考えられる。genotype, ウイルス量, コア領域や NS5A 領域のアミノ酸変異などのウイルス側要因に加えて IL-28B の遺伝子多型に着目し、個々のテーラーメイド療法を確立する。また、ラット肝移植モデルを作成し、それぞれの HCV エピトープを同定し、これらのエピトープを認識する T 細胞を増殖させ、IFN 治療に加えて、T 細胞療法を個々の HCV に対して行う。

3. 研究の方法

B型肝炎硬変、肝癌肝移植患者における術後 B 型ワクチンの導入を行った患者の末梢血より PBMC を分離し、その中から T-cell を単離して HB ワクチンに対する反応を確認。最終的には HB ワクチンに反応する T-cell を単離し IL-2 で増殖させて患者に戻し、ワクチンに対する能動免疫の確立を獲得する。

C 型関連肝移植患者における PEG-IFN/RBV 治療選択のテーラーメイド化の検討として、まずこれまで当科で行った C 型肝硬変および肝癌患者の genotype, ウイルス量, コア領域や NS5A 領域のアミノ酸変異および IL28 遺伝子多型についてレトロスペクティブに検討し SVR との関係性を明らかにした後、プロスペクティブに PEG-IFN/RBV 治療の選択を行い、SVR 率の向上を目指す。

4. 研究成果

B型肝炎ウイルス肝疾患に対する生体肝移植の再発予防は、術後免疫グロブリン(HBIG)と核酸アナログ製剤の投与により一定のコンセンサスが得られ、HBIGの安全性と医療費の高さに問題が残り HB ワクチンによる HBIG 離脱が最終目的である。これまで当科で肝移植を受けた 149 例中、HB ワクチン接種を開始した 14 例を対象に検討を行った。HBIG から離脱できた群と離脱出来なかった群に分け、T 細胞の反応性をワクチン導入例の末梢血より PBMC を分離し、HBs に対する TH1 反応について、細胞増殖、TNF- α 、IFN- γ 産生により検討した。他病死した 13 例中 9 例(69%)で HBIG から離脱できた。2 群間比較では、年齢・性・原疾患・ワクチン接種期間のみ有意に離脱群で長く全例 50 か月以上であった(p=0.009)。HBIG 離脱例の HBs 抗原に対する Th1 反応はコントロールと比較し、細胞増殖、TNF- α 、IFN- γ 産生全て高値を示した。これらの結果から HBIG からの離脱のためには 50 か月以上の長期継続ワクチン接種が重要であることを示した。

C型肝炎に関しては、C型関連肝移植患者における PEG-IFN/RBV 治療選択のテーラーメイド化の検討として、これまで当科で行った C 型肝硬変および肝癌患者の genotype、ウイルス量、コア領域や NS5A 領域のアミノ酸変異および IL28 遺伝子多型についてレトロスペクティブに検討し SVR との関係性を明らかにし、発表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

1. Usui M, Sugimoto K, et al (12 人中 1 番目 2 番目). Discontinuation of Hepatitis B Immunoglobulin by Long-term Hepatitis B Vaccine Inoculation in Preventing Hepatitis B Recurrence After Liver Transplantation. *Transplant Proc.* 2016;48(4):1179-83.
2. Matsui T, Usui M, et al. (14 人中 2 番目) Influence of Angiotensin-converting Enzyme Genetic Polymorphism on Late Renal Dysfunction After Adult-to-adult Living-donor Liver Transplantation. *Transplant Proc.* 2016;48(4):1184-9
3. Inagaki Y, Sugimoto K, Usui M, et al. (14 人中 2 番目 12 番目). The long-term effects of splenectomy and subsequent interferon therapy in patients with HCV-related liver cirrhosis. *Mol. Med. Rep.* 2014,9:487-492
4. Fujinaga K, Usui M, et al. (10 人中 2 番目) Hypertension and hepatitis C virus infection are strong risk factors for developing late renal dysfunction after living donor liver transplantation : significance of renal biopsy. *Transplantation Proc.* 2014.46:804-810
5. Sugimoto K, Shiraki K, et al. (10 人 1 番目). Serum protein isoform profiles indicate the progression of hepatitis C virus-induced liver diseases. *Int J Mol Med.* 2013;31(4):943-50.
6. Sugimoto K, Shiraki K. Different aspects of CD4 T cells that lead to viral clearance or persistence of HCV infection. *Hepatology Int.* 2012 Jan;6:350-5.

[学会発表](計 6 件)

1. Usui M. Discontinuation of Hepatitis B Immunoglobulin by Long-term Hepatitis B Vaccine Inoculation in Preventing Hepatitis B Recurrence After Liver Transplantation. 14 回アジア移植学会 2015 年 8 月 23-26 日 Suntec Singapore Convention and Exhibition Centre (シンガポール)

2. Matsui T, Usui M. Influence of angiotensin converting enzyme (ACE) genetic polymorphism on late renal dysfunction after adult-to-adult living donor liver transplantation. 14回アジア移植学会 2015年8月23-26日 Suntec Singapore Convention and Exhibition Centre (シンガポール)
3. 臼井 正信 肝移植後 B 型肝炎再発予防における長期的なワクチン接種による HBIG からの離脱の試み 日本肝移植研究会 2015, 5月28日 ホテルオークラ (兵庫県・神戸市)
4. 松井 俊樹, 臼井 正信, 成人生体肝移植後の晩期腎障害における Angiotensin converting enzyme(ACE) 遺伝子多型の影響について日本肝移植研究 2015, 5月28日 ホテルオークラ(兵庫県・神戸市)
5. Usui M, Impact of an adjuvant hepatitis B vaccination after living donor liver transplantation for hepatitis B-related disease: treatment coat and weaning from hepatitis B hyperimmunoglobulin 第13回アジア移植学会 2013年9月2-6日 京都国際会議場(京都府・京都市)
6. 臼井正信 生体肝移植後の C 型肝炎再発に対する IFN 治療の効果-特に HCV 遺伝子変異、IL28B 遺伝子多型について- 日本肝移植研究会 2012年6月14日 ホテル日航福岡(福岡県・博多市)

7. 〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
http://www.medic.mie-u.ac.jp/hbpt/HBP_and_Transplant_Surgery/Welcome.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

臼井 正信 (Usui Masanobu)
 三重大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10378341

(2) 研究分担者

杉本 和史 (Sugimoto Kazushi)
 三重大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号：60378370

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()