

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：82610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461027

研究課題名(和文)健康成人のB型肝炎ワクチンに対する抗体獲得能に関わる宿主因子の研究

研究課題名(英文) Factors for favorable acquirement of anti-HBsAb by HBV vaccination in healthy adults

研究代表者

村田 一素 (Murata, Kazumoto)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・肝炎・免疫研究センター室長

研究者番号：40345971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：健康成人におけるHBVワクチンの効果を正確に把握するために、過去の感染を意味するHbc抗体陽性者を除いた上で、当院医療従事者1,085例のHBs抗体陽性率を検討した。Hbc抗体陰性者のHBs抗体陽性率は83.1%であり、従来の報告と同程度であった。ワクチン接種歴の記憶が曖昧な例があり、各医療機関における正確な把握の必要性を感じた。

HBVワクチンによるHBs抗体獲得不良の後天的要因をnaive CD4陽性細胞のmiR-181aで検討した。既報の如くmiR-181aは年齢とともに低下したが、抗体価獲得との関連は示せなかった。その原因としてワクチン接種者の背景因子が多様であったことが考えられた。

研究成果の概要(英文)： We analyzed a frequency of anti-HBs positive healthy volunteers (HV) without anti-HBc (that means previous infection of HBV). The frequency of anti-HBs positive with or without anti-HBc was similar. We found some HV did not memorize their histories of HBV vaccination, suggesting that each hospital should precisely control it.

We analyzed miR-181a in the naive CD4-T cells to study the factors for poor responses against HBV vaccination. miR-181a expression in the naive CD4-T cells was gradually decreased by their ages as previously reported. However, we were not able to demonstrate the association between miR-181a expression and poor response against HBV vaccination. We thought one of factors for it should be multiple backgrounds of HBV vaccinees.

研究分野：肝臓内科

キーワード：HBVワクチン 抗体獲得不良 細胞内シグナル 不顕性感染

1. 研究開始当初の背景

Genotype (遺伝子型) B, C が中心のわが国において、B型肝炎ウイルス (HBV) は宿主免疫が十分でない小児期に感染するとウイルス排除ができずに慢性化する。一方、健康成人が HBV 感染した場合は、急性肝炎で終息し、特殊な遺伝子型を除き (genotype A)、慢性化することはほとんどない。これらのことから HBV の慢性化機序として宿主因子の重要性が目まぐるしく注目されている。我々は、B型肝炎の発症機序として HBV 感染が誘導したリン脂質抗原により、肝 natural killer T(NKT)細胞が活性化し、それを起点とした sequential な免疫活性が HBV 排除における鍵であり、宿主免疫、特に NKT 細胞を中心とした innate immunity の重要性について報告した (Zeissig S, Murata K, et al. Nat Med 2012)。一方、genome-wide association study (GWAS)により宿主の抗原提示に重要な役割を持つ HLA-DPA1, HLA-DPB1 の遺伝子多型が B型肝炎の慢性化に関連があることが報告され (Kamatani Y, et al Nat Genet 2008)、我々も同所見を確認している (Nishida N, et al. PLoS One 2012)。この遺伝子多型は HBV に対するワクチン接種者における抗体獲得能にも関連があるとされており、青年に対する HBV ワクチンのブースター効果に HLA-DPB1 が関連するとの報告もなされた (Wu TW, et al. Hum Genet 2013)。しかし、ワクチン接種者における HBV 抗体獲得の成否は、遺伝子多型によってすべてを説明できない。また、HBV ワクチンは、感染リスクの高い医療従事者等 (健康成人) に接種されているが、接種を行っても感染防御可能な高い抗体価が得られない方が存在する。しかし、その機序は未だ明らかにされていない。

最近、dual specific phosphatase 6 (DUSP6)活性が年齢と共に上昇し、microRNA(miR)-181aの発現を低下させることによってT細胞機能が障害されることが報告された (Li G, et al.

Nat Med 2012)。すなわち、年齢とともに上昇する DUSP6 活性が miR-181a の発現低下を引き起こし、そのことが T 細胞の活性化の低下を引き起こすために、HBV ワクチン (抗原) に対する宿主獲得免疫反応が低下し、そのことが HBV 抗体獲得低下に関連していると仮説を立てた。このことは、医療従事者における HBV ワクチンによる抗体獲得不応例は高年齢で多いことは知られていたもので、臨床に則した現象であると考えられた。

2. 研究の目的

感染リスクが高い医療従事者において、HBV ワクチンの投与が行われているが、複数回の接種にも関わらず、感染防御可能な抗体価の獲得不良例が存在する。まずは、その実態を明らかにするために国立国際医療研究センターの医療従事者を対象に HBs 抗体陽性率を測定する。その際に HBV ワクチンによる抗体獲得率を明らかにするために HBc 抗体陽性者 (HBV 感染既往者) を除外して解析する。また、抗体獲得不良の原因として、高年齢、性別、接種方法 (皮下、筋肉内投与) などが考えられているが、未だ決定的な原因は不明である。本研究では、抗体獲得に係る後天的免疫要因 (抗原提示後のリンパ球内シグナル伝達異常) を中心に HBV ワクチン投与における抗体獲得不応原因を探る。

3. 研究の方法

- (1) 国立国際医療研究センターに勤務中の医療従事者のうち、研究に同意された方を対象に健康診断時に行った採血で、HBs 抗体とともに HBc 抗体を測定し、HBV ワクチン既往歴に係るアンケートとともに解析する。
- (2) HBV ワクチンによる抗体獲得不良の原因として、naïve CD4+T 細胞内の DUSP6 活性および miR-181a の発現を測定し、HBV ワクチンによる抗体獲得との関連を解析する。

4. 研究成果

- (1) 国立国際医療研究センターの医療従事者のうち、研究参加の同意が得られた 1,085 名のうち、HBc 抗体陽性者 27 名を除外した 1,056 名の HBs 抗体価を測定した。HBV ワクチン接種歴は、各対象者が記載した内容をまとめた。HBs 抗体陽性率は、83.1%と過去の

報告と同レベルであった。HBV ワクチン接種歴なしと回答した 87 名においても HBs 抗体の陽性率は 36.8%であった。これらの例において血液検査上は HBs 抗体陽性、HBc 抗体陰性であり、HBV ワクチン接種済み例と考えられるので、本人の記憶違いであった可能性が高い。これらのことから、個々のワクチン接種歴は、プライバシーの問題はあるものの、各医療機関で正確に把握し、転職の場合は次の医療機関へ情報伝達するなどの徹底管理が必要であると考えられた。このことにより、不要なワクチン接種を減らし、かつ抗体獲得不良例を囲い込める可能性がある。一方、ワクチン接種歴のある 908 例中 6 例で、HBc 抗体が陽性で、そのうち 2 例は状況からワクチン接種後に感染したものと考えられた。すなわち、同症例は臨床的肝炎を予防できたが、感染は予防できなかったことになり、今後の検討課題である。なぜなら一旦宿主に侵入した HBV は、完全に排除されるのではなく、細胞の核内で cccDNA を形成し、その後の抗がん剤などの影響で再活性化する可能性があるためである。

(2) HBs 抗体獲得不良の後天的要因として T 細胞内のシグナル伝達に焦点を当てて研究した。当センター職員のうち、年齢・性別をマッチさせた高 HBs 抗体獲得者 56 名と低抗体価の 56 例からリンパ球を抽出し、さらに naïve CD4+T 細胞と memory CD4+T 細胞を分離し、細胞内の DUSP6 および miR-181a を定量し、臨床データ、特に抗体獲得の有無との関連を解析した。すると、既報の如く miR-181a の発現は、年齢と共に低下し、それは男女の差を認めなかった。しかし、miR-181a の発現量と HBs 抗体価との関連を検討したが関連を見いだせなかった。その原因として、各症例間での HBV ワクチン接種回数や接種方法（皮下 or 筋肉内）などワクチン接種背景が大きく異なることが判明した。そこで、一旦有意な抗体価が得られたものの、その後の経過で抗体価が陰性化した症例で、HBV ワクチンのブースターを行った症例に限って検討すると、miR-181a の発現量が低い症例では、HBV ワクチンのブースター後に得られた HBV 抗体価は有意に低かった。今後、症例数を増やして検討を行う必要があると考えられた。

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 5 件)

1. Yanase M, Murata K, Mikami S, Nozaki Y, Masaki N, Mizokami M. Hepatitis B virus vaccination-related seroprevalence among health-care personnel in a Japanese tertiary medical center. *Hepatology* 2016;46:1330-1337
2. Ito K, Yotsuyanagi H, Sugiyama M,

Yatsuhashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Tanaka Y, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Koike K, Mizokami M, Japanese AHB and CHB Study Group. Geographic distribution and characteristics of genotype A hepatitis B virus infection in acute and chronic hepatitis B patients in Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31:180-189

3. Murata K, Asano M, Matsumoto A, Sugiyama M, Nishida N, Tanaka E, Inoue T, Sakamoto M, Enomoto N, Shirasaki T, Honda M, Kaneko S, Gatanaga H, Oka S, Kawamura IY, Dohi T, Shuno Y, Yano H, Mizokami M. Induction of IFN- λ 3 as an additional effect of nucleotide, not nucleoside, analogs: a new potential target for hepatitis B virus infection. *Gut* 2016, in press
4. 村田一素, 正木尚彦. 核酸アナログ製剤の投与により肝予備能が著明に改善した非代償性 B 型肝炎変例. *臨床消化器内科* 2015;30:1469-1474.
5. 村田一素. B 型肝炎ウイルスワクチンの現状とその対策 抗体が陽性にならない私、どうすればよいのか? -. *肝臓クリニカルアップデート* 2015;1:183-187

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Murata K, Mizokami M. Induction of IFN- λ 3 as an additional pharmacological effect of nucleotide, not nucleoside, analogs: A new potential target for HBV infection. The 26th Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Feb 15-20, Shanghai, China, 2017
2. Murata K, Mizokami M. Induction of IFN- λ 3 as an additional pharmacological effect of ADV or TDF: A new potential target for HBV infection. APASL single topic conference (The 6th HBV conference), Dec 16-18, Beijing, China, 2016
3. Murata K, Matsumoto A, Inoue T, Sakamoto M, Sugiyama M, Enomoto N, Tanaka E, Mizokami M. The 67th

annual meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Nov 13-17, Boston, USA, 2016

4. **村田一素**、本多政夫、溝上雅史. アデフォビル、テノフォビルによるIFN- λ 3誘導とそのHBs抗原低下作用. 第52回 日本肝臓学会総会、平成28年5月19日～20日、幕張
5. **村田一素**、本多政夫、溝上雅史. Nucleotide analogsによるIFN- λ 3およびISG誘導とその臨床的意義. 第102回 日本消化器病学会総会. 平成28年 4月 21日～23日、東京

〔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

6. 研究組織

(1)研究代表者

村田一素 (MURATA Kazumoto)
国立国際医療研究センター
肝炎・免疫研究センター・室長
研究者番号：40345971