

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：74314

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08759

研究課題名(和文) 糖尿病等の免疫低下時における带状疱疹予防のための水痘ウイルス特異的免疫反応の検討

研究課題名(英文) Investigation of Varicella zoster Virus Specific Immune Response for Prevention of Shingles in people with Diabetes.

研究代表者

羽田 敦子 (HATA, Atsuko)

公益財団法人田附興風会・医学研究所 第4研究部・研究主幹

研究者番号：70321685

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)：水痘带状疱疹ワクチンを成人用肺炎球菌ワクチンと共に50歳以上の糖尿病患者に接種したところ、水痘带状疱疹ウイルス(VZV)抗原皮内テストによる細胞性免疫反応が低反応であった。手法を変え、VZV抗原刺激による全血IFN- $\gamma$ アッセイ値にて、健康成人への水痘带状疱疹ワクチン接種後のVZV特異的細胞性免疫を評価できることを明らかにした。50歳以上の糖尿病患者を対象に水痘带状疱疹ワクチンとプラセボによる二重盲検プラセボ対照無作為化比較試験を行い、本手法にてVZVに対する特異的細胞性免疫と液性免疫及び安全性を評価した。2018年6月現在、85名が登録し、接種1年後の最終採血が2018年7月に終了予定である。

研究成果の概要(英文)：Cell-mediated immunity against live varicella-zoster vaccine with 23 valent pneumococcal polysaccharide vaccine simultaneously for people with diabetes aged 50 years or over resulted in a low response assessed by varicella-zoster virus (VZV) antigen skin test. We changed the method and found that VZV-specific cell-mediated immunity after varicella-zoster vaccination in healthy adults can be evaluated by whole blood IFN- $\gamma$  assay by VZV antigen stimulation. A randomized double blind placebo-controlled trial with varicella-zoster vaccine and placebo in people with diabetes over the age of 50 years was conducted. VZV specific cell-mediated immunity was assessed by this whole blood IFN- $\gamma$  assay and humoral immunity and safety to the varicella-zoster vaccine were also evaluated. 85 people were registered by June 2018, the final blood sampling one year after the last vaccination is scheduled to be completed in July 2018.

研究分野：ウイルス免疫学

キーワード：水痘带状疱疹ワクチン 糖尿病 細胞性免疫 液性免疫 IFN- $\gamma$  アッセイ 同時接種 23価肺炎球菌ワクチン

1. 研究開始当初の背景

米国では 60 歳以上の健常成人において带状疱疹をワクチンで発症予防効果及び带状疱疹後神経痛を軽症化できることが示され(1)、費用対効果の観点から、50 歳以上の成人において带状疱疹予防ワクチン接種が推奨されている(2)。

生活習慣病の代表的疾患である糖尿病患者は带状疱疹の発症頻度が高い。我々はこの糖尿病患者において水痘带状疱疹ウイルス(VZV)に対する免疫能が低下していることを示し、水痘ワクチン接種により、健常者同様に水痘带状疱疹ウイルス特異的免疫能を増強できる事を示した。さらに 23 価肺炎球菌ワクチンの同時接種下でのプラセボ対照二重盲検化比較試験において、高齢糖尿病患者に対する水痘ワクチン 1 回接種の安全性は示されたものの、プラセボと比較して有意な細胞性免疫、液性免疫能増強を示さなかった。そこで今回我々はさらに同ワクチン 2 回接種による免疫能増強効果がみられるか否かについて検討する。

VZV に対する細胞性免疫測定には、現在、商業的に確立された方法はない。前研究では市販の水痘抗原「ビケン」による皮内テストは皮膚の発赤部位の大きさの数値化した 5 段階評価により行った。これに代わり、今回は IFN-releasing assay を行った。IFN-releasing assay では、VZV 抗原特異的な細胞性免疫能として、抗原反応性ヘルパー 1 型 T 細胞による細胞性免疫応答を評価できる。この方法は、IFN- $\gamma$  を ELISA 法で定量するため、軽微な変化についても評価可能であると期待される (Otani N, Baba K, Okuno T. J Immunol Methods. 351:71-4. 2009 )。

2. 研究の目的

最終目的は、糖尿病等の免疫低下時における带状疱疹予防のための水痘带状疱疹ワクチンによるウイルス特異的免疫反応を検討し、その効果を評価することである。今回は評価方法を皮内テストから変更し、IFN-g アッセイによる評価法を確立する。このためにまず、健常成人における水痘ワクチン接種による水痘带状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫の変化を検討する。次に糖尿病患者における水痘ワクチン接種による水痘带状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫の変化を測定し、水痘ワクチンの带状疱疹予防効果を評価する。

3. 研究の方法

(1) 健常成人における水痘ワクチン接種による水痘带状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫の変化を IFN-g アッセイにより評価する。

方法 2015 年 6-12 月。同意を得た健常成人を対象とし、乾燥弱毒生水痘ワクチン「ビケン」、以下水痘ワクチン 0.5ml を皮下接種し、接種前と 3 ヶ月後に血液を採取した。96 穴マイクロプレートに RPMI で 2 倍に希釈し、不活化した水痘ワクチン液、陽性、陰性コントロールの PHA、RPMI を 100ul ずつ入れ、ヘ

パリン含有スピッツ採取血液をヘパリン量が 75 単位/血液 1ml になるようヘパリンを加えて調整後、4 時間以内に各々混合する。37 で 48 時間培養後上清を凍結保存し、IFN-量を ELISA 法にて測定した (J Immunol Methods. 351:71-4. 2009 )。

(2) 50 歳以上の糖尿病患者を対象に水痘带状疱疹ワクチンとプラセボによる二重盲検プラセボ対照無作為化比較試験を行う。

方法 主要評価項目は水痘带状疱疹ウイルス (VZV) 抗原刺激による全血 IFN- $\gamma$  アッセイ値にて、VZV に対する特異的細胞性免疫を評価する。副次評価項目は VZV 抗体価 (ELISA)、安全性とする。

対象 50 歳以上で HbA1c が 6-9.5 の糖尿病患者 90 名

対象患者のうち、以下の者は除外する。

- ・他の基礎疾患として悪性疾患、膠原病を合併している者
- ・血清 Cr 2 の腎機能低下のある者
- ・喫煙者
- ・ステロイド剤などの免疫抑制剤、アスピリン製剤などの抗血小板薬を投与されている者
- ・水痘生ワクチンに対するアレルギーの既往のある者
- ・带状疱疹の既往のある者

過去の研究成果を踏まえて、以下の 3 群に割り付け、二重盲検で試験薬の 2 回接種を行ってきた。

A: プラセボ(生理食塩水) + プラセボ(生理食塩水)

B: 水痘生ワクチン(乾燥弱毒生水痘ワクチン「ビケン」) + プラセボ(生理食塩水)

C: 水痘生ワクチン + 水痘生ワクチン

4. 研究成果

(1) 健常成人における水痘ワクチン接種による水痘带状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫の変化

結果：接種者 25 名 (24 ~ 80 歳、平均年齢 49.9 歳、男 10、女 15) の、接種前後の算術平均値はそれぞれ  $1.54 \pm 0.80$ 、 $1.62 \pm 0.64$ 、前後比は  $0.08 \pm 0.36$  であった。接種前後の幾何平均値、Geometric mean concentrations(GMCs)は各々  $34.70 \pm 6.24$ 、 $41.97 \pm 4.39$ 、Geometric mean concentration ratios(GMCRs)は  $1.21 \pm 2.29$  であった。測定値の常用対数値では、年齢と接種前後値との相関係数は各々  $r = 0.5617$ 、 $r = 0.3887$ 、前後比の相関係数は男性年齢と  $r = 0.2874$ 、女性年齢と  $r = 0.8257$  であった。

	対数の算術平均値	対数値の標準偏差	geometric mean	geometric S.D.
pre	1.540	0.7955	34.703	6.244
post	1.623	0.6423	41.969	4.388
ratio	0.083	0.3590	1.209	2.286

結論：成人に水痘ワクチンを1回接種後のGMCRは3か月後1.2であった。成人への水痘ワクチン接種は軽度の免疫増強効果があることが判明した。また、Otaniらによる全血でのIFN- ELISA法(J Immunol Methods. 351:71-4. 2009)により、VZV特異的細胞性免疫を定量測定できることが証明された。

(2) 50歳以上の糖尿病患者を対象に水痘帯状疱疹ワクチンとプラセボによる二重盲検プラセボ対照無作為化比較試験

結果：全血IFN-アッセイについて糖尿病患者での評価に適切な検査であるかを評価するために、水痘ワクチン接種と血液検査に同意された23歳から80歳までの健常成人男性10名女性10名計20名の水痘帯状疱疹ワクチン接種前後の変化を評価したところ、平均IFN値±標準誤差は、ワクチン接種前78.8±16.8、接種後84.1±17.9、と前後値のt検定での有意差はなく、接種前後比1.76±0.48と平均1.8倍の上昇がみられた。サンプルサイズは検出力(power)を0.8以上とするために74例を要したため、エントリー期間を2017年(平成29年)6月までの全24ヶ月、また安全性の観察期間を2018年(平成30年)2月までに延長した。H30年5月現在、85名の患者登録を終了し、1年後の最終採血がH30年7月までに終了予定である。

中間結果：接種者25名(50歳以上の糖尿病患者、男15、女10)全体の、接種前、1回接種、2回接種、1年後の幾何平均値、Geometric mean concentrations(GMCs)は89.32±16.87、172.64±12.17、177.78±74.86、78.09±17.07、1回接種後/接種前、2回接種後/接種前、1年後/接種前のGeometric mean concentration ratios(GMCRs)はそれぞれ3.70±4.81、1.65±1.50、1.44±1.45、であった。3群のどれにあたるかは2018年6月現時点で開示できていない。

GMCs:

	pre	Post 1 dose	Post 2 dose	Post 1 year
GMC	89.3234	172.637	177.783	78.0905
S.D.	16.866	12.172	74.8574	17.0742
(95%C.I.)	8.2414	30.1862	0.88384	7.03388
95%C.I.)	968.12	987.324	35761.1	866.966

GMCRs:

	1dose/pre	2dose/pre	1year/pre
Mean	3.7048	1.65202	1.44189
S.D.	4.81196	1.50064	1.44951
(95%C.I.)	00.0000	00.0000	00.0000
95%C.I.)	13.1362	4.59327	4.28294

結論：成人に水痘ワクチンまたはプラセボを1回接種後の水痘抗原刺激VZV特異的細胞性IFN- ELISA値のGMCRは3か月後3.7048、6か月後1.65202、1年後1.44189であった。これらは各群に分けていないため、プラセボ2回のワクチン接種のない群も含めての成績なので、成人糖尿病患者への水痘ワクチン接種は概ね良好な免疫増強効果が認められると考えられた。安全性については、これまでに被験者に帯状疱疹発症の報告はない。水痘帯状疱疹ワクチン接種前後の血液を採取し、IFN-アッセイを行った検体と抗体価測定用の血清は凍結保存しており、順次IFN-と抗体価測定を進めているが、群間比較は未だ行っていない。最終の血液検査を待って、糖尿病患者が、健常成人と同様の効果がみられるか否かを明らかにする方針である。

#### 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4件)

Atsuko Hata、Taisei Ishioka、Kazunori Oishi、Toshiro Katayama、Takayoshi Ohkubo、Altered immunogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly patients with diabetes who revealed lower responses to concomitant administration of BIKEN varicella zoster vaccine: results of post hoc analysis of a randomized double-blind trial.、Journal of Diabetes and Its Complications、査読有 *in press*

Itoh N、Motokura K、Kumakura A、Hata D、Hata A.、Herpes zoster meningitis in immunocompetent children: Two case reports and a literature review. Pediatr Int.、査読有、Vol.59、No.10、2017、pp1116-1118

Iwasaki S、Motokura K、Honda Y、Mikami M、Hata D、Hata A. Vaccine-strain herpes zoster found

in the trigeminal nerve area in a healthy child: A case report., J Clin Virol., 査読有, Vol.85, 2016, pp. 44-47

Hata A, Inoue F, Hamamoto Y, Yamasaki M, Fujikawa J, Kawahara H, Kawasaki Y, Honjo S, Koshiyama H, Moriishi E, Mori Y, Ohkubo T., Efficacy and safety of live varicella zoster vaccine in diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Diabet Med., 査読有, Vol.3, No.8, 2016, pp. 1094-1101

[学会発表](計 8 件)

Atsuko Hata, Kentaro Kato, Ryoko Akashi-Ueda, Kenji Nakagawa, Junya Abe, Sumie Yamashita, Akira Kumakura, Yui Itou, Toshihiko Nanbara, Takakazu Yoshioka, Hiroshi Mizumoto, Mitsutaka Shiota, Ken Watanabe, Daisuke Hata. Humoral immunity to varicella zoster virus 7 years after varicella vaccination, 35th annual meeting of the European Society Pediatric Infectious Diseases, 2017

羽田敦子, 辻本考平、加藤瑞樹、丸毛聡、上田覚、四茂野恵奈、菊池航紀、藤本卓司、秦大資、奥野壽臣、健常成人における水痘帯状疱疹ワクチンの細胞性免疫能増強、第91回日本感染症学会総会・学術講演会、2017

羽田敦子, 榊原敦子、奥野壽臣、健常成人における水痘帯状疱疹ワクチンの細胞性免疫能評価、第20回日本ワクチン学会学術集会、2016

Atsuko Hata, Taisei Ishioka, Kazunori Oishi, Toshiro Katayama, Takayoshi

Ohkubo, Post hoc analysis of a randomized double-blind trial of correlation of low varicella zoster vaccine responses by concomitant administration of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly patients with diabetes, 9th Vaccine and International Society for Vaccine ( ISV ) Congress, 2015

羽田敦子、片山俊郎、吉岡孝和、秦大資、水痘ワクチン接種7年後の免疫原性評価、第47回日本小児感染症学会 2015

羽田敦子、水痘ワクチン接種(7年)後追跡調査、第19回日本ワクチン学会学術集会 2015

羽田敦子、明石良子、辻本考平、松村拓朗、丸毛聡、秦大資、水痘ワクチン追加接種後追跡調査、第89回日本感染症学会総会・学術講演会 2015

6 . 研究組織

(1)研究代表者

羽田敦子 (HATA, Atsuko )  
公益財団法人田附興風会・医学研究所第 4  
研究部・研究主幹  
研究者番号：70321685