

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16677

研究課題名（和文）ロタウイルスワクチンに対する宿主免疫応答と腸内フローラとの関連性解析

研究課題名（英文）The effect of gut microbiota composition on rotavirus vaccine response.

研究代表者

平松 裕之（Hiramatsu, Hiroyuki）

藤田医科大学・医学研究科・研究員

研究者番号：80623206

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：先進国に比べロタウイルス感染に伴い死亡率の高い発展途上国でワクチンの重症化予防効果が乏しいことが指摘されており、その原因究明が重要な課題となっている。腸管内でのワクチン株の複製には、母乳や移行抗体、腸内細菌叢が影響を与えていると考えられている。本研究では、早産児の便中ワクチン株排泄量には個人差はあるが、様々な環境因子が類似している双生児は、1回目接種の排泄量と全経過期間のIgG抗体価について類似性を統計学的に証明した。更に、IgA抗体価の上昇が大きかった児は腸内細菌叢の多様性に富んでいる傾向を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、早産児の被接種児ごとに便中ワクチン株排泄パターンには多様性があり、IgA抗体価と便中ワクチン株の排泄量には正の相関がみられることを明らかにした。腸内環境などの免疫応答にかかわる因子が類似していると考えられる双生児間で、実際に免疫応答が類似したことを統計学的に証明したことや、腸内細菌叢の多様性と免疫応答との関係性を示したデータは、今後のワクチンの重症化予防効果を説明するための一助になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The efficacy of rotavirus vaccines have been varied, with low income countries showing significantly lower efficacy as compared to higher income countries in America and Europe. It has been suggested that intestinal rotavirus vaccine replication and immune response are affected by several factors, such as maternal antibodies, breastfeeding, and gut microbiome. In this study, although the kinetics of fecal rotavirus vaccine viral shedding and immune responses differed among vaccinated individuals, they appeared to be similar within twin pairs. RV shedding after the first dose and IgG titers during the entire observation period had a significantly better fit in the fixed effect model that assumed twins had the same response than that twins were different. We also revealed that variations in the diversity of the gut microbiome may contribute to individual differences in immune response to rotavirus infection.

研究分野：感染症

キーワード：ロタウイルス ワクチン

1. 研究開始当初の背景

早産児がロタウイルスに感染すると重症化しやすく、ロタウイルス感染症に伴う入院率は正期産児と比較して極低出生体重児の方が約 2.5 倍も高くなっている。そこで我々は、NICU 入院中のこれら患児に対し、安全に弱毒生ロタウイルスワクチンが接種できるか確認するために、先行研究で患児の便中ロタウイルスワクチン排泄量を解析した。その際、便中のワクチン株排泄量、排泄パターンは被験者毎に明確に異なっていた。

一方、これまでの多数の臨床試験の結果から、先進国に比べロタウイルス感染に伴い死亡率の高い発展途上国でワクチンの重症化予防効果が乏しいことが指摘されており、その原因究明が重要な課題となっている。ロタウイルスワクチンは、1 価、5 価のいずれも生ワクチンであり、経口投与したワクチン株が接種児の腸管内で増殖することによって宿主免疫応答を強く誘導するといわれている。最近注目を集めている腸内フローラの相違が腸管でのワクチン株増殖、宿主の粘膜免疫誘導に影響している可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本研究を実施するにあたり、先行研究同様、宿主免疫が未熟でロタウイルス感染症重症化のリスクが高く、かつ経時的なサンプリングが可能な NICU で長期間入院治療を受けている早産児を対象とし、ロタウイルスワクチン接種後の便中ワクチン株排泄と宿主免疫応答の関連性を検討するとともに、腸内フローラがどのように関連しているか明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1 価ワクチン (RV1) を接種した 26 例、5 価ワクチン (RV5) を接種した 20 例の児から、初回接種前の血清と便、2 回目と 3 回目 (RV5 の場合) 接種後の血清、接種後 8 日間の便を採取した。便から RNA を抽出し、便中ワクチン株 RNA を、RV1 特異的 Real-time PCR 法と G 遺伝子型別 RV5 特異的 Real-time PCR 法を用いて定量的に解析した。また、便から DNA を抽出し、マイクロバイーム解析を行った。血清については RV-IgG、IgA 抗体価を in-house ELISA 法で測定した。更に、RV1 を接種した双生児 4 組については、経時的な便中 RV1 ゲノム定量値、RV1-IgG、IgA 抗体価の推移について、双生児を同一人物としてモデル化した場合と別人としてモデル化した場合の適合度を Likelihood-ratio test で比較した。

4. 研究成果

(1) 早産児における RV1 と RV5 の便中ワクチン株排泄量の推移を図 1 に示す。便中ワクチン株排泄量には個人差はあるが、初回接種後に増加し、接種後 7~8 日後にピークを示した。2 回接種後以降の排泄量は、接種後一定の児と漸減する児がいた。

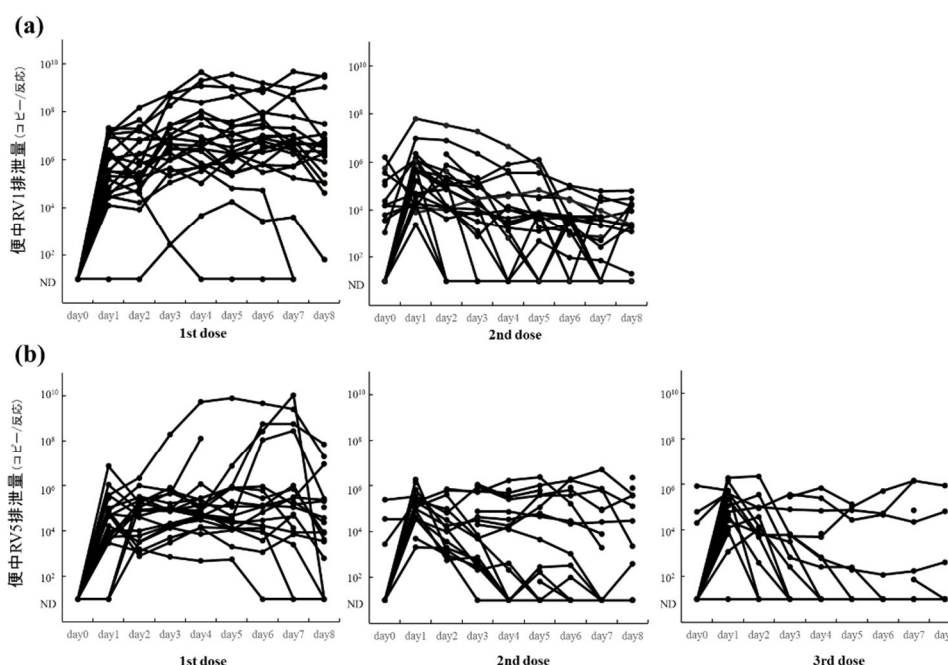


図 1 便中ワクチン株排泄量の推移

(a) RV1 接種後のワクチン株排泄量、(b) RV5 接種後のワクチン株(G1)排泄量

(2) ワクチン接種後の血中ロタウイルス IgA 抗体価は、多くの接種児で 2 回目接種前までに上昇した(図 2)。接種前と比較して 4 倍以上の上昇を有意な抗体上昇としたとき、RV1、RV5 のいずれも 90% 以上の接種児で有意な抗体上昇を認めた。また、RV1、RV5 の 1 回目接種後のロタウイルス株排泄量の平均値と、各接種児の血中ロタウイルス IgA 抗体価の最大値は相関していた。

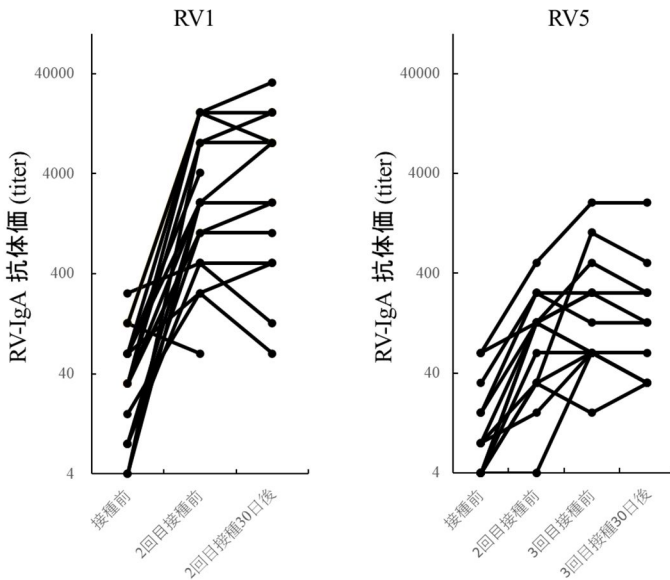


図 2 RV1、RV5 接種後の IgA 抗体価の推移

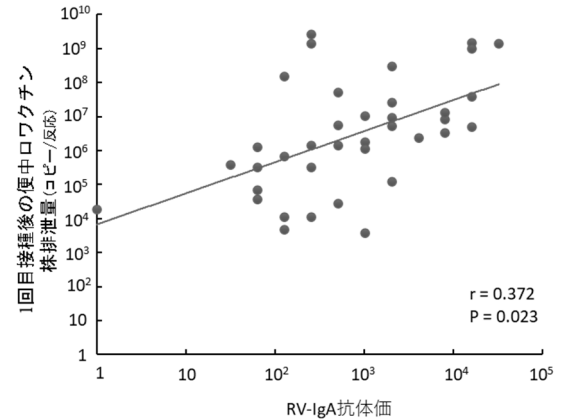


図 3 RV1、RV5 接種後の IgA 抗体価と 1 回目の平均ワクチン株排泄量の相関

(3) 様々な環境因子が類似している双生児は、腸管内のワクチン株の複製と免疫応答も類似している可能性が推察された。そこで、本研究で RV1 を接種した双生児 8 例(4 組)について、便中 RV1 排泄量や血中抗体価の類似性を混合効果モデルによる変量効果を使って単体児と比較することにより上記仮説を検証した(表 1)。

表 1 変量効果を使った解析結果

変数	AIC 値		P value
	Twin model	Personally allocated model (双子を除く)	
1 回目接種のみ			
RV1 株排泄量	782.09	783.93	0.049
RV IgG	134.71	136.34	0.057
RV IgA	147.81	147.4	0.207
全経過期間(1 回目と 2 回目接種)			
RV1 株排泄量	1757.7	1757.0	0.248
RV IgG	170.19	174.06	0.015
RV IgA	201.46	203.06	0.058

その結果、1 回目接種のみの RV1 排泄量と全経過期間の IgG 抗体価について有意差があり、これらの時系列変動が双生児間で類似していることを統計学的に証明した。

(4) 血中ロタウイルス IgA 抗体価の最大値の高低で 2 群に分け、腸内細菌叢の α 多様性解析を行った。 α 多様性解析では、Shannon と Simpson の 2 つの指標を用いた。その結果、統計的な有意な差はみられなかったものの IgA 抗体価の高い早産児はいずれの指数でも高い傾向が認められた(図 4)。また、抗体価の高い早産児では、Clostridium 属などの特定の菌種の割合が高かった(図 5)。

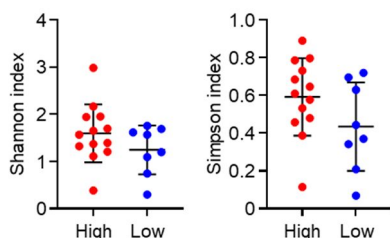


図 4 IgA 抗体価の高低と腸内細菌叢の多様度

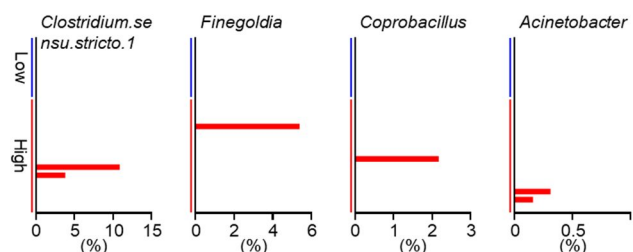


図 5 IgA 抗体価の高い群で割合の多い菌(属)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yasuko Enya*, Hiroyuki Hiramatsu* (*equally contributed), Masaru Ihira, Ryota Suzuki, Yuki Higashimoto, Yusuke Funato, Kei Kozawa, Hiroki Miura, Masafumi Miyata, Yoshiki Kawamura, Takuma Ishihara, Koki Taniguchi, Satoshi Komoto, Tetsushi Yoshikawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Similarities in rotavirus vaccine viral shedding and immune responses in pairs of twins.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Fujita Medical Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Higashimoto Yuki, Kozawa Kei, Miura Hiroki, Kawamura Yoshiki, Ihira Masaru, Hiramatsu Hiroyuki, Suzuki Ryota, Haga Kei, Takai-Todaka Reiko, Sawada Akihito, Katayama Kazuhiko, Yoshikawa Tetsushi	4. 巻 18
2. 論文標題 Correlation between anti-S IgG and neutralizing antibody titers against three live SARS-CoV-2 variants in BNT162b2 vaccine recipients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Human Vaccines & Immunotherapeutics	6. 最初と最後の頁 2105611-2105611
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/21645515.2022.2105611	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井平 勝, 塩谷 泰子, 平松 裕之, 鈴木 竜太, 東本 祐紀, 小澤 慶, 河村 吉紀, 河本 聡志, 谷口 孝喜, 吉川 哲史
2. 発表標題 RV1接種後ワクチン株便中排泄と免疫誘導能の双子児間における類似性解析
3. 学会等名 第63回日本臨床ウイルス学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩谷 泰子, 井平 勝, 服部 文彦, 東本 祐紀, 平松 裕之, 鈴木 竜太, 河村 吉紀, 小澤 慶, 河本 聡志, 谷口 孝喜, 吉川 哲史
2. 発表標題 Rotarix 接種後の宿主免疫応答と便中ウイルス増殖の関連
3. 学会等名 第25回日本ワクチン学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平松裕之 塩谷泰子 井平 勝 鈴木竜太 東本祐紀 三浦浩樹 服部文彦 河村吉紀 河本聡志 谷口孝喜 吉川哲史
2. 発表標題 早産児に対するロタウイルスワクチン接種後の便中排泄と免疫誘導能の検討
3. 学会等名 第24回日本ワクチン学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塩谷泰子 井平 勝 東本祐紀 平松裕之 鈴木竜太 三浦浩樹 服部文彦 河村吉紀 河本聡志 谷口孝喜 吉川哲史
2. 発表標題 NICU入院児に対するRV1接種後の便中ロタウイルスワクチン株排泄と免疫誘導能の関連性解析
3. 学会等名 第61回 日本臨床ウイルス学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------