



Title	腎臓移植後のB型肝炎ウイルス再活性化の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	山田, 錬
Description	配架番号 : 2720
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14985号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86124
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	YAMADA_Ren_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 山田 錬

学位論文題名

腎臓移植後の B 型肝炎ウイルス再活性化の検討

(Investigation of hepatitis B virus reactivation in kidney transplant patients)

【背景と目的】

B 型肝炎ウイルス (hepatitis B virus, HBV) は、ヘパドナウイルス科に属する不完全二本鎖環状 DNA (relaxed circular DNA; rcDNA) を有するウイルスである。肝細胞に感染するために、HBV はまず HBV 特異的な受容体を介して肝細胞の表面から侵入し、細胞質内に取り込まれる。肝細胞への侵入後、rcDNA は HBV スクレオカプシドから放出され、核内へ移行し、宿主の DNA 修復酵素を用いて完全閉鎖二本鎖 DNA (covalently closed circular DNA; cccDNA) に変換される。cccDNA から pregenomic RNA (pgRNA) を含む 4 本の mRNA が転写され複数の HBV 蛋白が翻訳され、HBV の複製が行われる。cccDNA は宿主クロモソームに囲まれて存在しており安定性が非常に高く、長期にわたり HBV 複製の供給源となるため、HBV の持続感染の鍵となる分子である。HBV ワクチンが存在しているにも関わらず、HBV 感染症は世界的な健康問題となっている。HBV は、宿主の免疫系を回避して持続的な感染を確立し、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌の主要な原因となっており、HBV キャリアは世界中で 2 億 5,000 万人以上と推定されている。本邦では、人口の約 1% が HBV キャリアであり、HBV 既往感染者は人口の約 20~30% と推定されている。腎移植は、末期腎不全の唯一の根治的治療法である。本邦における 2019 年の腎移植数は 2057 人と年々増加傾向にあるが、献腎移植登録数は 12,505 人であり相対的なドナー不足の状態である。移植実施数の増加に伴いドナー臓器の安全性の向上が求められている。HBV 既往感染者では、cccDNA は完全に体内から除去されずに長期間にわたって肝組織内に残存しているが、腎臓内に潜伏性または持続性の HBV 感染が存在するかの知見はない。したがって、HBV 既往感染者のドナー腎による HBV 感染リスクの可能性は否定できない。Mahboobi らは、HBc 抗体陽性ドナー腎を使用した腎移植後のレシピエントの HBV セロコンバージョン率に関するメタアナリシス解析を行った。1385 人の腎不全患者を対象とした 9 つの研究を解析しており、腎移植後の HBV マーカーのセロコンバージョン率の合計は 3.24% であった (45/1385 : HBs 抗原 (n=4)、HBc 抗体 (n=32)、HBs 抗体 (n=5)、HBc 抗体または HBs 抗体のいずれか (n=4))。腎移植患者は、移植後の維持期にステロイド剤、代謝拮抗剤、カルシニューリン阻害剤などの複数の免疫抑制剤を併用している。化学療法や免疫抑制療法を受けた HBV 既往感染者において、HBV の再活性化による肝炎を発症した症例報告がなされている。化学療法や免疫抑制剤による二次的な HBV の再活性化は、劇症肝炎を引き起こす可能性があるため、その防止は重要な課題である。腎移植後の免疫抑制剤による HBV 既往感染レシピエントにおける HBV 再活性化の割合はおよそ 2.9~6.5% である。HBV 既往感染者の腎臓内に HBV が潜伏または持続的に存在すると仮定すると、ドナーが HBV 既往感染者の場合、腎移植を介して HBV が感染する可能性がある。本研究の目的は、①HBV 既往感染ドナーから HBV 未感染レシピエント、②HBV 既往感染レシピエント、の腎移植後の HBV 再活性化の現状を明らかにすることである。

る。

【対象と方法】

北海道大学病院で1996年8月から2019年12月までに腎移植が施行された340症例のドナーとレシピエントを対象とし、臨床背景や血中HBVステータスの変化、HBV再活性化の頻度を後ろ向きに解析した。2019年9月から2021年8月にかけて腎移植に関連した腎生検が施行されたHBV既往感染ドナーからHBV未感染レシピエント群(A群、n=23)およびHBV既往感染レシピエント群(B群、n=24)の腎検体のcccDNAの測定を施行した。HBVの腎組織内での複製を評価するために、ヒト胎児腎細胞株であるHEK293T細胞およびヒト近位尿管細胞株であるHK-2細胞へHBVゲノムを含むプラスミドを用いてトランスフェクション実験を行った。また、肝細胞と腎細胞におけるHBV増殖能を比較するために、HEK293T細胞とヒト肝癌細胞株であるHepG2細胞へHBVプラスミドをトランスフェクションし、トランスフェクション効率を補正した上でHBV蛋白やpgRNAの発現量を比較検討した。

【結果】

HBs抗原陽性ドナーは認められなかったが、レシピエントでは5症例がHBs抗原陽性であった。HBV既往感染者はドナーが70症例(33%、70/212)、レシピエントが73症例(27.4%、73/266)であった。全ての症例で免疫抑制剤が3剤以上使用されていた。HBV既往感染ドナーからHBV未感染レシピエントへ腎移植が施行された45症例のうち、1/45症例(2.2%)でHbc抗体の陽性化、1/45症例(2.2%)でHBV-DNAの陽性化が認められた。HBV既往感染レシピエントの63症例のうち、3/63症例(4.8%)でHBVの再活性化がみられた。いずれの症例においても免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドラインに従いHBV再活性化対策を行った結果、肝炎の発症は認めなかった。A群(n=23)、B群(n=24)の腎生検検体のcccDNAの測定を施行したところ、A群のHBV-DNAが定性陽性化した1症例でcccDNAが3.2log copies/ugで検出された。HBVプラスミドをトランスフェクションしたHEK293T細胞およびHK-2細胞の培養上清にHBs抗原、HBe抗原、HBcr抗原の分泌が確認された。HBVプラスミドをトランスフェクションしたHEK293T細胞とHepG2細胞のHBV蛋白やpgRNAの発現量をeGFP陽性細胞で補正すると、いずれもHEK293T細胞での発現量が低いことが確認された。

【考察】

HBV既往感染ドナーからHBV未感染レシピエントへの移植では、HBVステータスの陽性化率は、Hbc抗体で2.2%(1/45)、HBV-DNAで2.2%(1/45)であり、HBV検出において最も感度の高いとされるHBV-DNAレベルでの報告はこれまでになく、本研究が新規の報告になる。また、HBV既往感染レシピエントにおける腎移植後のHBV再活性化率は2.9-6.5%と報告されており、既報と同等の結果であった。HBV既往感染ドナーからHBV未感染レシピエントへの移植群で血清HBV-DNAが定性陽性化した症例の腎生検検体からcccDNAが検出され、HBV既往感染ドナーの腎組織に潜伏していたHBVが移植時にレシピエントへ感染した可能性があると考えられた。HBVプラスミドを腎細胞株へトランスフェクションし、その後のHBV分泌蛋白を確認し、腎細胞がHBV複製能を有すると考えられたが、肝細胞株に比べてHBV蛋白の発現量は低く、腎細胞は肝細胞に比べてHBV複製能は低いことが考えられた。

【結論】

HBV既往感染レシピエントにおけるHBV再活性化の頻度は既報と同等であった。HBV既往感染ドナーからHBV未感染レシピエントへ腎移植が施行された症例のうち、1/45症例(2.2%)でHbc抗体の陽性化、1/45症例(2.2%)でHBV-DNAの陽性化が認められた。HBV-DNA陽性化症例の腎生検検体からcccDNAが検出され、HBV既往感染者におけるHBVの腎潜伏感染の可能性が示唆されたが、HBVに関連した肝炎の発症はなく、比較的安全であると考えられた。