



Title	腎臓移植後のB型肝炎ウイルス再活性化の検討 [全文の要約]
Author(s)	山田, 錬
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2720 他
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	<a href="https://hdl.handle.net/2115/86125">https://hdl.handle.net/2115/86125</a>
Type	doctoral thesis
File Information	YAMADA_Ren_summary.pdf



# 学位論文（要約）

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)

2022 年 3 月

北海道大学

山田 錬



# 学位論文（要約）

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)

2022 年 3 月

北海道大学

山田 錬

## 【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 スクロ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 2,057 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。1,385 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 (45/1,385: 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、① HBV 既往感染ドナーから HBV 未感染レシピエント(A 群)、②HBV 既往感染レシピエント(B 群)、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。

### 【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する腎生検が施行された症例の中で、HBV 既往感染ドナー腎を使用した 32 症例の腎組織中の cccDNA を測定した。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細管細胞株である 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。

HBV 既往感染ドナー腎を使用した 32 症例の腎生検検体の cccDNA 測定したところ、A 群の血中 HBV-DNA が定性陽性化した 1 症例から 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伝播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 複製能が低いと考えられた。

#### 【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。