

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 肝炎等克服緊急対策研究事業
(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

研究開発課題名：(日本語) B型肝炎ウイルス再活性化に関与するウイルス・宿主要因の解明に基づく
予防対策法の確立を目指す研究
(英語) Prevention of hepatitis B virus reactivation through the elucidation
of viral and host factors

研究開発担当者 (日本語) 国立国際医療研究センター プロジェクト長 溝上雅史
所属 役職 氏名：(英語) National Center for Global Health and Medicine, Project Leader,
Masashi Mizokami

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) B型肝炎ウイルス因子及び宿主因子の解明
開発課題名：(英語) Analysis of both hepatitis B virus and host factors

研究開発分担者 (日本語) 国立国際医療研究センター プロジェクト長 溝上雅史
所属 役職 氏名：(英語) National Center for Global Health and Medicine, Project Leader,
Masashi Mizokami

分担研究 (日本語) 免疫抑制療法による B型肝炎再活性化の予防ガイドラインの見直し
開発課題名：(英語) Establishment of strategy for prevention of severe liver due to
HBV reactivation caused by immunosuppressive therapies

研究開発分担者 (日本語) 学校法人埼玉医科大学 教授 持田智
所属 役職 氏名：(英語) Saitama Medical University, Professor, Satoshi Mochida

分担研究 (日本語) 造血器疾患治療中の B型肝炎ウイルス再活性化に関するリスク因子の解明
開発課題名：(英語) Evaluation of the risk factor relating to hepatitis B reactivation
on treatment of hematopoietic diseases

研究開発分担者 (日本語) 公立大学法人名古屋市立大学 講師 楠本茂
所属 役職 氏名：(英語) Nagoya City University, Associate Professor, Shigeru Kusumoto

分 担 研 究 (日本語) 固形がん例における B 型肝炎ウイルス再活性化リスク因子解析及び多施設
共同研究の総括

開 発 課 題 名 : (英 語) Analysis of risk factors of hepatitis B viral reactivation for solid
tumors and roundup of multicenter research

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 部長 池田 公史

所 属 役 職 氏 名 : (英 語) National Cancer Center, Director, Koji Ikeda

分 担 研 究 (日本語) 肝移植例における B 型肝炎ウイルス再活性化リスク因子解析

開 発 課 題 名 : (英 語) Risk factors of HBV re-activation after liver transplantation

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人九州大学・大学院医学研究院 准教授 吉住朋晴

所 属 役 職 氏 名 : (英 語) Kyushu University, Associate Professor, Tomoharu Yoshizumi

分 担 研 究 (日本語) 再活性化肝炎における HBV 遺伝子変異の検討

開 発 課 題 名 : (英 語) Clinical significance of HBV mutation on hepatitis B reactivation

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人信州大学 准教授 梅村武司

所 属 役 職 氏 名 : (英 語) Shinshu University Associate Professor, Takeshi Umemura

分 担 研 究 (日本語) 献血者における HBV-DNA 出現とその自然経過の再活性化例と比較検討

開 発 課 題 名 : (英 語) Comparative study of appearance and natural course of HBV DNA in blood
donors with HBV reactivation in patients

研究開発分担者 (日本語) 日本赤十字社中央血液研究所感染症解析部 係長 星 友二

所 属 役 職 氏 名 : (英 語) Central Blood Institute and Blood Service Headquarters, Japanese Red
Cross Society, Chief, Yuji Hoshi

分 担 研 究 (日本語) 診療情報に基づく B 型肝炎ウイルス再活性化の予防対策に関する実態調査

開 発 課 題 名 : (英 語) Retrospective survey for hepatitis B virus reactivation during
immunosuppressive therapies with administrative data

研究開発分担者 (日本語) 国立病院機構本部総合研究センター 主任研究員 今井志乃ぶ

所 属 役 職 氏 名 : (英 語) National Hospital Organization Headquarters, Senior Researcher,
Shinobu Imai

分 担 研 究 (日本語) 造血幹細胞移植後における B 型肝炎ウイルス再活性化の実態及び予防に関
する多施設共同臨床研究

開 発 課 題 名 : (英 語) A prospective, multiple center trial for incidence and prevention of
hepatitis B virus reactivation following hematopoietic stem cell
transplantation

研究開発分担者 (日本語) 東京都立駒込病院肝臓内科 部長 木村 公則
所属 役職 氏名: (英 語) Tokyo Metropolitan Komagome hospital Division of Hepatology
Director, Kiminori Kimura

分 担 研 究 (日本語) B型肝炎ウイルス再活性化例における HLA の解析
開 発 課 題 名: (英 語) Study of HLA function in the reactivation of HBV

研究開発分担者 (日本語) 国立国際医療研究センター 上級研究員 宮寺 浩子
所属 役職 氏名: (英 語) National Center for Global Health and Medicine, Senior Researcher,
Miyadera Hiroko

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

「国立国際医療研究センター 溝上雅史」既に進めている各種疾患群（リウマチ疾患、血液悪性疾患、固形がん、造血幹細胞移植、献血）から得られた検体とデータから、再活性化に関連すると考えられるホスト、ウイルス因子の抽出を行なった。宿主遺伝子としては、HLA-DP/DQ の遺伝子型を決定し、HLA 型のハプロタイプと HBV 全ゲノム配列の解析データから、各種疾患群での再活性化リスクの評価法を検討した。

「埼玉医科大学 持田智」B 型既往感染例で免疫抑制療法中に血清 HBV-DNA 量が 20 IU/mL 以上になる頻度は、治療開始 6 ヶ月後までが累積 3.2%で、その後の再活性化は稀であることが明らかにした（Mochida S, et al. J Gastroenterol 2016）。

「名古屋市立大学 楠本茂」3 つの臨床研究を計画し、実施中である。

プロジェクト 1：リツキシマブ＋ステロイド併用化学療法後の B 型肝炎ウイルス（HBV）再活性化リスク因子に関する、ヒト遺伝子解析プロジェクト（C-SHOT_1402）。

プロジェクト 2：HBV-DNA モニタリング研究（C-SHOT0802）の保存検体を用いた超高感度 HBs 抗原検査の有用性の検討。

プロジェクト 3：HBs 抗原陽性びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫患者における、リツキシマブ併用化学療法後の B 型肝炎ウイルス再活性化関連肝障害に関する多施設共同後方視的観察研究。

「国立がん研究センター 池田公史」実際の HBV 再活性化のリスクを回避するためのスクリーニングの運用状況を検討し、スクリーニングで漏れやすい項目やスクリーニングが不十分な対象を明らかにした。

「九州大学 吉住朋晴」生体肝移植患者における HBs 抗原・HBs 抗体の有無とレシピエントの HLA-DPB1 の遺伝子型に再活性化の関連があることが示唆された。また、HBV ワクチンを施行した 21 例で、HLA-DPB1 のアレルと HBV ワクチンの効果について解析した。HBV ワクチンが有効であった症例と無効であった症例では、HLA-DPB1 遺伝子型の保有頻度に違いを認めた。

「信州大学 梅村武司」次世代シーケンサーを用いて de novo B 型肝炎発症に関連するウイルス側因子を解析することにより、HBV 再活性化発症のメカニズム解明の基礎とした。エンベロップ蛋白のアミノ酸置換が de novo 群で有意に高率であった。precore 変異は de novo 群で有意に高率であった。

「日本赤十字社 星友二」複数回献血者の遡及調査により、HBV-DNA が前回陰性／今回陽性となる検体を収集し、当該献血者の年齢、性別、HBV 遺伝子の解析等を行った。HBVDNA 自然消失例と再活性化例の相違点やその背景の検討を進めた。

「国立病院機構本部 今井志乃ぶ」リウマチ性疾患患者で免疫抑制療法を開始する患者において、B 型肝炎感染の確認、予防投与の実施、再活性化の発現頻度について診療情報データベース、及び診療録を用いて評価した。二施設のデータを解析することで、再活性化の発症率を人年率で換算することに成功した。

「東京都立駒込病院 木村公則」造血幹細胞移植後の HBV 再活性化発症率を検討するため、当院で最近 8 年間に HBV 既往感染例に対して実施された移植症例 66 例を解析したところ、8 例（12%）に再活性化を認めた。また造血幹細胞移植を受ける HBs 抗原陰性(-)HBc 抗体陽性(+)の既往感染症例に対して HBV ワクチン接種を行い、再活性化の予防効果を前方視的調査を進めた。現在、症例追跡中であり、HBV ワクチン投与後における HBV 再活性化の発症率を検討する。

「国立国際医療研究センター 宮寺浩子」B 型肝炎慢性化感受性・抵抗性 HLA-DP 分子と B 型肝炎ウイルス由来ペプチドとの結合測定を実施した。HLA-DP と HBs, HBc 抗原ペプチドとの相互作用

を網羅的に解析し、HLA-DP アリル間での結合ペプチド数の違い、結合領域の違いを見出した。

「国立感染症研究所 大隈和」現在国内で使用されている HBV マーカー検査キットについて、HBV genotype 既知の献血由来検体を用いた性能調査を実施したところ、特に HBs 抗原・抗体検査キットにおいて、Genotype B 等の検体でキット間の判定乖離が顕著であった。また、他のキットよりも低感度と考えられた 1 検査キットについては、自主的な改良が進められ、それを促す効果があった。

People having previously resolved HBV infection and/or those with serum HBs-antigen positivity are likely to develop liver injuries after receiving immunosuppressive therapies. Host and viral genetic data were analyzed to elucidate the factors associated with hepatitis B reactivation in each study group of rheumatism, hematological malignancy, solid tumor, hematopoietic stem cell transplantation, or blood donation. We determined HLA-DP/DQ genotype and haplotype in each disease group, and sequenced whole viral genome. These genetic data were provided to assess the risk of the reactivation in each disease group.

The frequency of the reactivation in rheumatism group was 3.2% until 6 months after their treatment. The criterion of the reactivation is over 20IU/mL of HBVDNA.

Three clinical trials are ongoing on rituximab-combination chemotherapy. One of the projects is to analyze a host genetic factor on the reactivation after rituximab-combination chemotherapy. Second project is to elucidate availability of ultra-high sensitive HBsAg test. Third project is the retrospective study to determine the frequency of the reactivation on diffuse large B-cell lymphoma positive to HBsAg.

On solid tumor patients, no significant difference was found on their clinical and viral factors. Then, we focused on the improvement of the screening system to detect the patients with the reactivation risk.

On patients of liver transplant from a living donor, the association between the reactivation and genetic/clinical factors was found by analyzing HLA-DPB1 and HBsAg/Ab status. Next, their 21 patients who received HBV vaccination was analyzed to evaluate the factor associated with response to the vaccination. The frequency of a HLA-DPB1 genotype showed the significant difference between response and non-response group.

Whole HBV genome was sequenced to determine the viral factor relating with de novo hepatitis using next-generation sequencer. The significant difference of nucleotide mutations were found in the envelope and precore region.

The retrospective survey was determined to find the individuals who showed HBV DNA positive transiently in blood center using blood donation. Clinical and viral factors were analyzed to divide spontaneous disappearance from the reactivation.

The significance of HBV reactivation undergoing immunosuppressive treatments was studied by using administrative database and chart review. For verifying the HBV reactivation, 103 and 89 candidates were abstracted from administrative databases at National Hospitals Organization and chart reviews were conducted in two selected hospitals. As a result, rates of HBV reactivation per person years were obtained in these medical centers.

To investigate the incidence of HBV reactivation following hematopoietic stem cell transplantation, we analyzed 66 cases of transplantation performed in our hospital infected cases over the last 8 years at our hospital. All cases were allogeneic transplantation. Then, we found that 8 cases (12%) of HBV

reactivation was confirmed. We also conducted HBV vaccination for HBs antigen negative and HBc antibody positive patients who underwent hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and clarify the preventive effect of HBV reactivation by prospective survey. Register the patients of resolved HBV infection and measure serum HBV-DNA every month after HSCT. All patients will be injected HBV vaccine at 12 months after transplantation. Currently patient groups are under follow-up for trials registration.

The docking experiment between HLA-DP and HBV antigen were examined in our new vitro system. Some peptides of HBV antigen showed the specific binding to HLA-DP molecules which were related with chronic HBV infection by exhaustive research using whole peptide sequences of HBV.

The performance survey of HBV marker kits was prepared using blood donation samples. We found kits that showed low correlation value when these kits were compared among the other kits. The company producing the low performance kit has started to improve their kits.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 5 件、国際誌 6 件）

1. Trinks J, Nishida N, Hulaniuk ML, Caputo M, Tsuchiura T, Marciano S, Haddad L, Blejer J, Bartoli S, Ameigeiras B, Frías SE, Vistarini C, Heinrich F, Remondegui C, Ceballos S, Echenique G, Charre Samman M, D'Amico C, Rojas A, Martínez A, Ridruejo E, Fernández RJ, Burgos Pratz L, Salamone H, Nuñez F, Galdame O, Gadano A, Corach D, Sugiyama M, Flichman D, Tokunaga K, Mizokami M. Role of HLA-DP and HLA-DQ on the clearance of hepatitis B virus and the risk of chronic infection in a multiethnic population. *Liver Int*. 2017 Mar 7.
2. Nishida N, Ohashi J, Khor SS, Sugiyama M, Tsuchiura T, Sawai H, Hino K, Honda M, Kaneko S, Yatsushashi H, Yokosuka O, Koike K, Kurosaki M, Izumi N, Korenaga M, Kang JH, Tanaka E, Taketomi A, Eguchi Y, Sakamoto N, Yamamoto K, Tamori A, Sakaida I, Hige S, Itoh Y, Mochida S, Mita E, Takikawa Y, Ide T, Hiasa Y, Kojima H, Yamamoto K, Nakamura M, Saji H, Sasazuki T, Kanto T, Tokunaga K, Mizokami M. Understanding of HLA-conferred susceptibility to chronic hepatitis B infection requires HLA genotyping-based association analysis. *Sci Rep*. 2016 Apr 19;6:24767.
3. Yuen MF, Ahn SH, Chen DS, Chen PJ, Dusheiko GM, Hou JL, Maddrey WC, Mizokami M, Seto WK, Zoulim F, Lai CL. Chronic Hepatitis B Virus Infection: Disease Revisit and Management Recommendations. *J Clin Gastroenterol*. 2016 Apr;50(4):286-94.
4. Mochida S, Nakao M, Nakayama N, Uchida Y, Nagoshi S, Ido A, Mimura T, Harigai M, Kaneko H, Kobayashi H, Tsuchida T, Suzuki H, Ura N, Nakamura Y, Bessho M, Dan K, Kusumoto S, Sasaki Y, Fujii H, Suzuki F, Ikeda K, Yamamoto K, Takikawa H, Tsubouchi H, Mizokami M. Nationwide prospective and retrospective surveys for hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive therapies. *J Gastroenterol* 2016; 51 (10): 999-1010.
5. Mochida S, Nakayama N, Ido A, Takikawa Y, Yokosuka O, Sakaida I, Moriwaki H, Genda T, Takikawa H. Revised criteria for classification of the etiologies of acute liver failure and late-onset hepatic failure in Japan: A report by the Intractable Hepato-Biliary Diseases Study Group of Japan in 2015. *Hepatol Res* 2016; 46 (5): 369-371.
6. 持田 智. 我が国における急性肝不全の実態. *日本内科学会雑誌* 2016; 105: 1463-1471.
7. Ikeda M, Yamamoto H, Kaneko M, Oshima H, Takahashi H, Umemoto K, Watanabe K, Hashimoto Y, Ohno I, Mitsunaga S, Okusaka T. Screening rate for hepatitis B virus infection in patients undergoing chemotherapy in Japan. *Int J Clin Oncol*. 2016Dec;21(6):1162-1166.
8. 池田公史. B型肝炎ウイルス再活性化への予防対策 消化器がん化学療法 2016 臨牀消化器内科 6月増刊号 31(7): 56-60, 2016. 監修 古瀬純司 編集 臨牀
9. 池田公史. 肝炎ウイルスの再活性化に対するリスクマネージメント 臨床麻酔 41 臨時増刊号: 371-379, 2017.
10. 吉住朋晴, 伊藤心二, 内山秀昭, 池田哲夫, 播本憲史, 池上 徹, 木村光一, 調 憲, 前原 喜彦 肝移植後の HBV 再感染予防 肝胆膵, 2015;71(6):1162-1168.
11. 宮寺浩子, 野口恵美子, 溝上雅史, 徳永勝士. HLA クラス II 結合ペプチドの探索・同定法の開発. *日本臨床免疫学会会誌*. 2017, 40(1) 35-39.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Mochida S, Nakayama N, Nakao M. Acute Liver Failure and Late-Onset Hepatic Failure in Japan. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of Liver. 2016 Feb, Tokyo (口演)
2. 池田公史、高橋秀明、大野 泉、光永修一、梅本久美子、渡邊一雄、奥坂拓志. がん薬物療法における B 型肝炎再活性化のエビデンス (Evidence of reactivation of hepatitis B virus in patients receiving chemotherapy for malignancies.) (口頭) 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2016/07/28-30 国内
3. 吉住朋晴、調 憲、前原喜彦生体肝移植後 B 型肝炎ワクチンの効果と HLA-DP の一塩基多型に関する検討 第 101 回日本消化器病学会、仙台、2015. (シンポジウム)
4. 星 友二、山岸尚仁、長谷川 隆、安藤菜穂子、遠田静穂、五反田裕子、内田茂治、永井 正、佐竹正博 輸血用血液のスクリーニングにおける HBs 抗体基準 200mIU/mL についての検証 口頭 第 64 回日本輸血細胞治療学会総会 4 月 京都 国内
5. Shinobu I, Hayato Y, Manabu A, Kiyohide F, Kiyoshi M, Hiroshi Y, Retrospective survey for hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive therapies for rheumatoid with administrative data, poster presentation, in Viena, (1st/Nov/2017) 国際
6. 宮寺浩子、大橋順、徳永勝士, Stability profiling of HLA class II protein for disease association studies, ポスター, The 13th International Congress of Human Genetics, 2016/4/5, 国内
7. 宮寺浩子、岡部由紀, Cindy Chia-Jung Chen, 徳永勝士, 溝上雅史, A large scale screening of HLA-class II-binding peptides from HBs and HBc peptide libraries, ポスター, The American Association of Immunologist (AAI) annual meeting, 2016/5/16, 国外
8. 宮寺浩子、岡部由紀, Cindy Chia-Jung Chen, 徳永勝士, 溝上雅史, HLA-DP 提示 HBs、HBc 抗原領域の探索, 口頭, 第 52 回 日本肝臓学会総会, 2016/5/19, 国内
9. 宮寺浩子、大橋順、徳永勝士, HLA class II protein stability and disease susceptibility, ポスター, 16th International Congress of Immunology, 2016/8/26, 国外
10. 宮寺浩子、徳永勝士、野口恵美子, HLA 結合ペプチドの大規模探索法の開発, ポスター, 第 44 回日本臨床免疫学会総会, 国内
11. 宮寺浩子、岡部由紀, Cindy Chia-Jung Chen, 徳永勝士, 溝上雅史, HLA クラス II 提示 B 型肝炎ウイルス抗原領域の探索, 口頭, 第 25 回 日本組織適合性学会大会, 2016/10/24, 国内
12. 宮寺浩子、岡部由紀, Cindy Chia-Jung Chen, 徳永勝士, 溝上雅史, Large scale analysis of HLA-peptide interactions, ポスター, 66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, 2016/10/19, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. なし

(4) 特許出願

該当なし

平成 28 年度医療研究開発推進事業費補助金 (肝炎等克服緊急対策研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 肝炎等克服緊急対策研究事業

(英語) Program for Basic and Clinical Research on Hepatitis

補助事業課題名 : (日本語) B型肝炎ウイルス再活性化に関与するウイルス・宿主要因の解明に
基づく予防対策法の確立を目指す研究

(英語) Prevention of hepatitis B virus reactivation through the elucidation
of viral and host factors

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長 大隈 和

所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Infectious Diseases, Department of Safety
Research on Blood and Biological Products, Chief, Kazu Okuma

実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究課題名 : (日本語)

(英語)

補助事業分担者 (日本語)

所属 役職 氏名 : (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 補助事業分担者による報告の場合

補助事業代表者 : 国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所・ゲノム医科学プロジェクト・溝上雅史 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. 該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 該当なし

(4) 特許出願

該当なし