

令和 3 年 6 月 13 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08320

研究課題名(和文) 移植後の水痘带状疱疹ウイルスに対する免疫再構築を基盤とした感染予防戦略の確立

研究課題名(英文) Prevention strategy of Herpes zoster based on analysis of reconstruction of cell-mediated immunity after hematopoietic cell transplantation

研究代表者

田中 美幸 (Tanaka, Miyuki)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師

研究者番号：10550478

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：造血幹細胞移植後の带状疱疹発症率は30-50%と高く、重篤化する傾向にあるが定まった有効な予防法はいまだ確立していない。水痘・带状疱疹ウイルス(VZV)感染症制御には、細胞性免疫が重要であることが知られている。しかし、これまでに造血幹細胞移植後のVZVに対する細胞性免疫の再構築過程を明らかにした報告はほとんどない。本研究では、Enzyme-Linked Immunospot (ELISPOT)法を用いて、移植後のVZVに対する細胞性免疫の再構築過程を明らかにした。また、移植後患者VZVの感染制御において、重要と考えられる抗原が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、臨床的に有効なVZVサブユニットワクチンの開発における、抗原選択の重要性を示した。また、移植後細胞性免疫の再構築の評価は、ウイルス抗体価、リンパ球数、リンパ球機能などの検査値や免疫抑制剤内服の有無、带状疱疹発症の有無などの臨床経過と併せ、将来的にサブユニットワクチンが導入された際に問題になるであろう、個々の症例における「接種する最適な時期」を決定する重要な要素であることを示した。

研究成果の概要(英文)：Varicella zoster virus(VZV) reactivates in 30-50% of stem cell transplantation(SCT) recipients, causing herpes zoster. To minimize these complications, acyclovir (ACV) prophylaxis has been used. However, prolonged use of ACV may lead to antiviral resistance or may impair the reconstitution of VZV specific immunity. In this study we evaluated VZV specific cell mediated immune responses after SCT, aiming to develop a strategy for prevention of VZV reactivation.

The Enzyme-Linked Immunospot (ELISPOT) assay was optimal for analyze the reconstruction of cell-mediated immunity.

The results of this study show that the assessment of cell-mediated immunity reconstruction will be an important factor in determining the "optimal time of vaccination" in individual cases.

研究分野：ウイルス特異的T細胞、がん免疫療法

キーワード：移植後感染症 T細胞性免疫 感染症予防

## 1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞移植 (HCT) 後の免疫抑制状態で発症する水痘・帯状疱疹ウイルス (Varicella Zoster virus; VZV) 感染症の多くは、再活性化による帯状疱疹であり、移植の種類や GVHD、免疫抑制剤使用の有無にもよるが、10-68%と報告されている。一般に、VZV 感染症においては、VZV 抗体価の陽転化が見られていても水痘や帯状疱疹の発症がしばしば確認されることから、VZV 感染制御には、細胞性免疫が重要であることが知られている。発症後は、抗ウイルス薬による治療が有効であるが、時に播種性帯状疱疹や内臓播種性 VZV 感染症となり、致命的な経過をとることもある。また、帯状疱疹後神経痛は頻度の高い合併症であり、その後の QOL 低下を招く。このため、HCT 後 VZV 感染症の予防が行われているが、HCT 後帯状疱疹の确实で安全な予防法はいまだ確立されておらず、施設ごとに異なる方法がとられているのが現状である。

予防法のひとつである抗ウイルス薬の長期投与は、投与中の帯状疱疹を効果的に抑制するが、投与中止の指標が明確でなく、中止後の帯状疱疹発症も多く経験する。また、予防的な長期投与はわが国では保険収載されておらず、さらには薬剤耐性を招いたり、ウイルス特異的免疫再構築の障害となったりする可能性を否定できない。

一方、VZV ワクチンの接種は帯状疱疹の発症抑制に効果的であるが、現行のワクチンは弱毒生ワクチンであり、接種時期は、移植後 2 年を経て免疫学的回復が得られた時期とされている。HCT 後帯状疱疹の発症は移植後 3 か月から 1 年以内に特に多いとされ、現行のワクチンを用いた効果的な HCT 後帯状疱疹予防は期待できない。このため、免疫抑制患者に対する有効で安全なワクチン開発が望まれている。

近年、VZV の加熱不活化ワクチンやサブユニットワクチンの開発が進み、自家移植後の接種に関する報告は散見される。本邦でも帯状疱疹サブユニットワクチンが認可された。免疫正常な 50 歳以上の成人が対象であるが、今後、HCT 後、特に他家移植後の免疫抑制患者への適応拡大が期待される。実際の接種にあたっては、HCT 後における適切な接種時期や接種後の効果判定方法などに関し、検討を要すると考えられるが、これまでに他家移植後の VZV に対する細胞性免疫の再構築過程を解析した報告は少なく、明らかになっていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

本研究では、HCT 後の VZV に対する細胞性免疫の再構築過程を、VZV 特異的 T 細胞の解析から明らかにし、HCT 後の帯状疱疹発症予防法の確立を目指すことを目的とした。また、VZV 特異的 T 細胞を複数の VZV 抗原について解析し、HCT 後における VZV 再活性化を制御するために重要となる抗原を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1) 造血幹細胞移植後の VZV に対する細胞性免疫再構築の解析

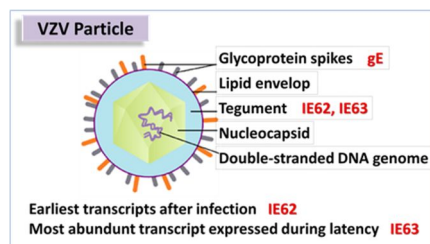
#### 抗原の選択

80 近いウイルス蛋白の中から、感染細胞の表面に、より早期に豊富に発現される、IE62、IE63、gE を選択し、これら抗原に対する抗原特異的 T 細胞の検出を試みた。

HCT 後の患者検体を用いた VZV 抗原特異的 T 細胞の検出

HCT を施行された、移植時年齢が 1 歳から 22 歳 (中央値 10 歳) の 13 症例について、Enzyme-Linked Immunospot (ELISPOT) assay を用いて解析した。

凍結保存された患者末梢血単核球を解凍し、抗原蛋白全体を網羅するオーバーラッピングペプチド Pepmix (JPT Technologies) を用いて 16-18 時間刺激した後、IFN- $\gamma$  産生細胞を ELISPOT 法を用いて検出した。スポットのカウントは、ELISPOT リーダー (AID) で行った。



### 2) VZV 抗原特異的 T 細胞の抗ウイルス抗原活性の評価

健康人から末梢血単核球を採取し、VZV 抗原蛋白全体を網羅する VZV pepmix を用いて刺激し、VZV 特異的 T 細胞を誘導した。この特異的 T 細胞の抗ウイルス抗原活性を評価した。

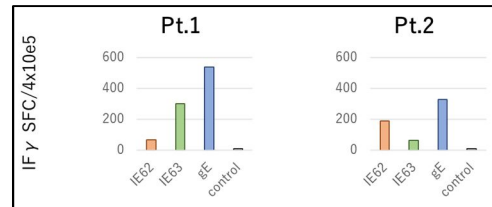
### 3) 患者末梢血からの VZV 特異的 T 細胞の誘導

2) の手法を用いて、患者末梢血からの VZV 特異的 T 細胞の誘導を試みた。

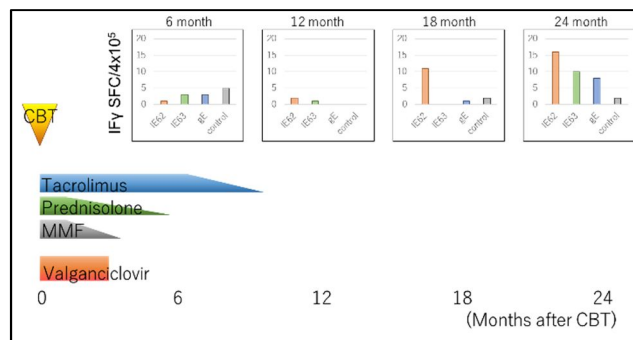
#### 4. 研究成果

- 1) 水痘罹患歴のある健常成人の末梢血中には、VZV 抗原刺激に反応して IFN- $\gamma$  を産生する VZV 特異的 T 細胞が検出された。(n=10)

- 2) 臍帯血移植 2 年以上経過後に VZV 弱毒生ワクチンを接種した患者末梢血中には、複数の抗原に対する VZV 特異的 T 細胞が多数検出された。

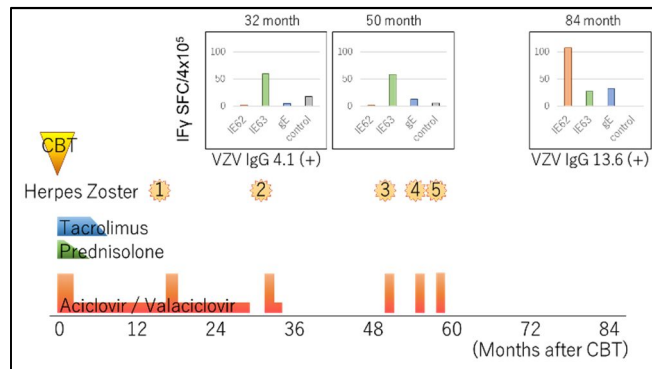


- 3) 臍帯血移植後のワクチン未接種症例における、末梢血中 VZV 特異的 T 細胞の評価では、移植後早期の免疫抑制剤投与中には、有意な VZV 特異的 T 細胞が確認されないかまたは、低いレベルの検出であるのに対し、移植後 2 年以上が経過し、免疫抑制剤フリーの症例では、複数の抗原に対する VZV 特異的 T 細胞が確認された。



臍帯血移植前に VZV 既感染であった症例では、CBT 後に帯状疱疹の発症がなくとも VZV 特異的 T 細胞の出現が見られていることから、潜在的抗原暴露により免疫再構築が行われることが示唆された。

- 4) 臍帯血移植後に帯状疱疹を頻回に発症した症例における、経時的評価では、帯状疱疹を反復している間の末梢血中に、IE63 特異的 T 細胞が検出された。一方、帯状疱疹発症をみとめなくなった後には、IE62 および gE 特異的 T 細胞が増加していた。これにより、IE62 および gE 特異的 T 細胞は、HCT 後 VZV 再活性化の制御において重要である可能性が示唆された。



- 5) 健常成人の末梢血単核球から、VZV 抗原刺激により樹立した、それぞれの VZV 抗原特異的 T 細胞は、VZV 抗原標識抗原提示細胞に対して細胞傷害活性を示した。

- 6) 患者末梢血からの VZV 特異的 T 細胞の誘導の試みにおいて、免疫抑制剤投与中の症例からの樹立は困難であった。

本研究期間中に、以下を明らかにした。

- VZV に対する細胞性免疫能は、ELISPOT 法を用いて評価することが可能である。
- IE62 および gE 特異的 T 細胞は、HCT 後 VZV 再活性化の制御において重要である可能性が示唆され、サブユニットワクチン開発における抗原の候補になり得る。
- 本研究の結果は、患者のウイルス抗体価、リンパ球数、リンパ球機能などの検査値や免疫抑制剤内服の有無、帯状疱疹発症の有無などの臨床経過と併せ、将来的にサブユニットワクチンが導入された際に問題になるであろう、個々の症例における「接種する最適な時期」を決定する基盤になる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中美幸, Rowaida Alahmadi, 中沢洋三
2. 発表標題 臍帯血移植後の水痘・帯状疱疹ウイルスに対する免疫再構築
3. 学会等名 第80回日本血液学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中美幸, Alahmadi Rowaida, 大倉絵梨, 盛田大介, 齋藤章治, 柳沢龍, 中沢洋三
2. 発表標題 帯状疱疹の予防法確立を目的とした移植後における水痘・帯状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫再構築の解析
3. 学会等名 第41回日本造血細胞移植学会
4. 発表年 2019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
---------	---------