

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：2019B-14

課題名：小児肝移植前・後ウイルス感染症の分子生物学的制御法の開発に関する臨床研究

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター
(所属・職名 氏名) 臓器移植センター・診療部長 福田 晃也

(研究成果の要約) 1) 術前の患児の免疫能の評価：TREGs(T-cell receptor excision circles)と同様に T リンパ球の新生を FCM (CD4+CD45RA+CD31+) にて迅速に検出できる測定系を立ち上げた。2) 移植後の網羅的ウイルス解析：HSV-1、HSV-2、PVB19、BKV、JCV、VZV、HHV-6、HHV-7、HHV-8 の PCR 検査を施行し EBV、CMV 以外に、早期発見・早期治療による発症制御可能なウイルスの有無について検討した。TREGs レベルをリアルタイム PCR 法にて測定すると同時に T リンパ球の新生を FCM (CD4+CD45RA+CD31+) にて迅速に検出できる測定系を開発した。2020 年度は新たに 27 例に測定を行い、TREGs レベルと FCM (CD4+CD45RA+CD31+) との相関の validation 解析を行っている。2020 年度はあらたに、38 種類のサイトカイン、ケモカインの放出能をもったリンパ球のフローサイトメトリーのパネルを作成した。肝移植症例 37 例 (80 検体) を拒絶反応の有無によって 2 群に分け (拒絶反応あり群 20 例、拒絶反応なし群 17 例) において、サイトカイン、ケモカインの発現強度の差異について解析 (肝移植術前のプロファイル、拒絶反応の前後、などのサブクラス解析) に着手した。拒絶反応を事前にあるいは早期に検出できる新規バイオマーカーの検討を行う予定である。

1. 研究目的

本研究の目的は、本研究では、小児臓器移植前の免疫能評価および移植後のウイルス感染状態を分子生物学的な早期診断法・モニタリング法の確立、ならびに、これらの評価・診断に基づく至適な治療 (免疫抑制療法、抗ウイルス療法、免疫グロブリン療法など) に結びつけるアルゴリズムを構築することを目的とする。

2. 研究組織

研究者	所属施設
福田 晃也	国立成育医療研究センター
今留 謙一	国立成育医療研究センター
笠原 群生	国立成育医療研究センター
阪本 靖介	国立成育医療研究センター

3. 研究成果

本年度の研究は、1) 術前の患児の免疫能の評価：TREGs(T-cell receptor excision circles)と同様に T リンパ球の新生を FCM (CD4+CD45RA+CD31+) にて迅速に検出できる測定系を立ち上げた。2) 移植後の網羅的ウイルス解析：HSV-1、HSV-2、PVB19、BKV、JCV、VZV、HHV-6、HHV-7、HHV-8 の PCR 検査

を施行し EBV、CMV 以外に、早期発見・早期治療による発症制御可能なウイルスの有無について検討した。TREGs レベルをリアルタイム PCR 法にて測定すると同時に T リンパ球の新生を FCM (CD4+CD45RA+CD31+) にて迅速に検出できる測定系を開発した。2020 年度の期間に新たに 27 例に測定を行い、TREGs レベルと FCM (CD4+CD45RA+CD31+) との相関の validation 解析を行っている。今年度はあらたに、38 種類のサイトカイン、ケモカインの放出能をもったリンパ球のフローサイトメトリーのパネルを作成した。肝移植症例 37 例 (80 検体) を拒絶反応の有無によって 2 群に分け (拒絶反応あり群 20 例、拒絶反応なし群 17 例) において、サイトカイン、ケモカインの発現強度の差異について解析 (肝移植術前のプロファイル、拒絶反応の前後、などのサブクラス解析) に着手した。拒絶反応を事前にあるいは早期に検出できる新規バイオマーカーの検討を行う予定である。

2) 移植後の網羅的ウイルス解析
移植後日和見感染症関連ウイルス制御法の検討：HSV-1、HSV-2、PVB19、BKV、JCV、VZV、HHV-6、HHV-7、HHV-8 の PCR 検査を継続して

行っている。特に、COVID-19 の流行以降は、発熱時の鑑別診断として、EBV、CMV 以外に、通常診療では検査しない HHV-6、HHV-7 を測定することにより、COVID-19 以外の熱源を特定でき、さらに不用意に免疫抑制療法を緩めることなく対応可能であるなど、新たなニーズが見いだされた。

3) HBc 抗体陽性ドナーからの肝移植における予防策ならびに HBV 再活性化の実態
当センターでの肝移植 645 例中、HBc 抗体陽性ドナーからの肝移植症例 20 例 (3.1%) であり、4 例のレシピエントにて HBs 抗原陽性 (再活性化) となった。長期外来 follow up している 16 例では全例 HBIgG により HBs 抗体価を 100 以上に維持していた。10 例に HBV ワクチン接種を開始でき、HBs 抗体産生が得られて、HBIgG が中止できたのは 6 例であったが、2 例で 1 年後に抗体価の低下を認めたことから、HBV ワクチンの追加接種を要したが抗体産生の反応は良好であった。昨年、成人肝移植において HBIgG なしの再活性化予防プロトコルの良好な治療成績が報告され

たことから 1) 、今後、小児における長期抗ウイルス薬を内服するリスクと、現行の HBIgG を含めた再活性化予防プロトコルの比較検討を考慮する必要がある。

4. 研究内容の倫理面への配慮

国立成育医療研究センターでは、臨床研究開発センター臨床研究教育部により年 10 回以上の臨床研究教育セミナーが開催され、さらに定期的に生命倫理・安全対策に関する講習会が開催されている。関連法令を遵守し適切に研究を遂行する。