

NewsLetter Vol.26 No.2

奨励賞受賞 | 第62回日本消化器免疫学会総会 (2025年7月31日・8月1日 SHIROYAMA HOTEL Kagoshima (城山ホテル鹿児島))

免疫抑制マウスへのHBs/HBc抗原の経鼻投与によるHBV特異的な免疫の誘導

島本 豊伎 吉田 理 盛田 真 矢野 怜 岡崎 雄貴 中村 由子
行本 敦 渡辺 崇夫 徳本 良雄 廣岡 昌史 阿部 雅則 日浅 陽一
愛媛大学大学院 消化器・内分泌・代謝内科学

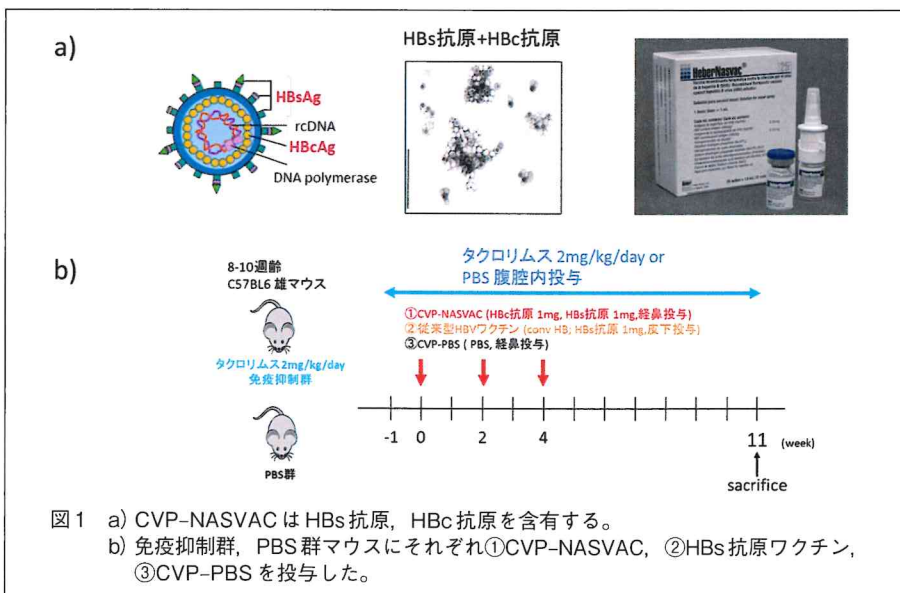
背景・目的：我々はB型肝炎ウイルス (HBV) の感染予防・治療に用いることができるワクチンであるCVP-NASVACを開発し、臨床応用を目指している。CVP-NASVACはHBs抗原とHBc抗原の2つの抗原を含有した経鼻投与ワクチンである。HBs抗原は中和抗体であるHBs抗体を誘導する。一方、HBc抗原はHBs抗原に対するアジュバントとして働き、免疫誘導の増強を行うほか、HBc特異的CTL (Cytotoxic T Lymphocyte) の誘導を介してHBVの増殖を抑制する。また経鼻投与の利点として、鼻腔粘膜中のリンパ組織 (Nasal-Associated Lymphoid Tissues: NALT) による粘膜免疫を介してIgA型抗体が誘導されるため、粘膜接触を介して感染するHBVの感染予防に効果的である。さらに、皮下投与、筋肉内投与より免疫誘導効果が高い。これまでの我々の検討では、CVP-NASVACはHBVに対して免疫寛容状態にあるB型慢性肝炎患者において、HBs抗体、HBc抗原特異的CTLを誘導することでHBs抗原量を低下させ、functional cureをも達成しうること、さらには従来型のHBV抗原ワクチンへのnon-responderに対しても有効であることを報告した (Yoshida O, et al. Hepatol Res. 2023; 53(3): 196-207, Shiraishi K, et al. Vaccines (Basel). 2023; 11(9): 1479.)。HBVキャリア、あるいはHBV既往感染の患者では、免疫抑制状態においてHBVの再活性化が起こる。HBV関連肝移植後患者でも術後の免疫抑制療法によるHBV再活性化が問題となるため、HBV再活性化予防として抗HBsヒト免疫グロブリン製剤 (HBIG) や核酸アナログ製剤が用いられるが、コストや安全性が課題となっている。CVP-NASVACは強い免疫誘導作用があるため、免疫抑制下にある肝移植後患者においても有効である可能性があり、本研究では肝移植後のHBV再活性化予防の観点から、免疫抑制下におけるCVP-NASVACのHBV特異的な免疫応答の誘導について検討した。

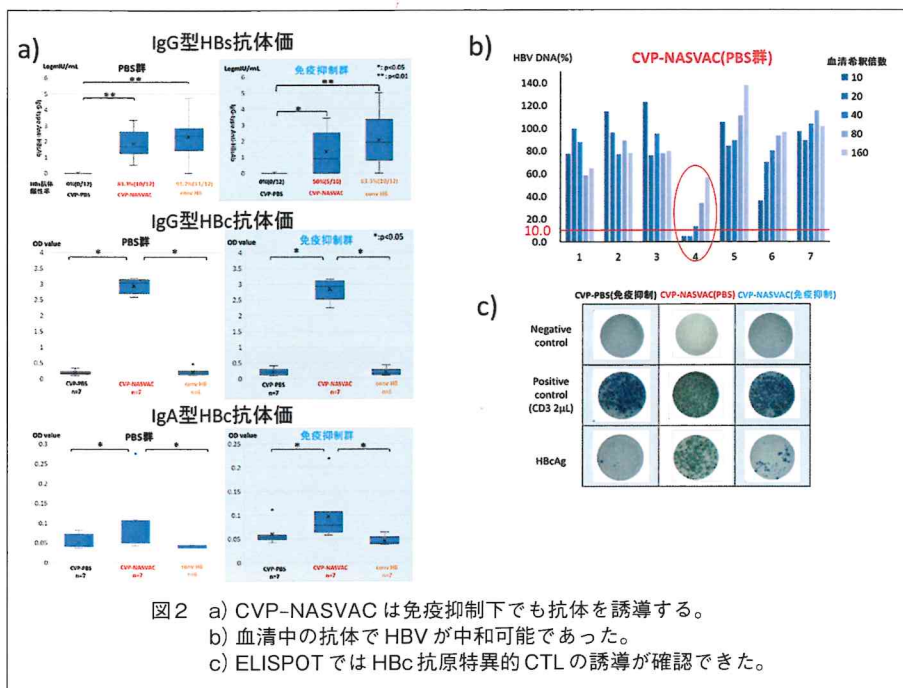
方法：8~10週齢のC57BL/6雄マウスに、ワクチン接種1週間前からタクロリムス

(2 mg/kg/day) を連日腹腔内投与した群 (免疫抑制群) と、コントロールとしてPBSを腹腔内投与した群 (PBS群) を用いた。CVP-NASVAC (HBs抗原 8 µg, HBc抗原 8 µg, 経鼻投与)、および従来型のHBs抗原ワクチン (conv HB; HBs抗原 10 µg, 皮下投与) を各々の群に4回 (0, 2, 4, 9週) 投与した。ワクチン投与開始後11週時点でマウスの血清、脾細胞を採取した。血清中のIgG型HBs抗体 (CLIA法)、IgG型HBc抗体、IgA型HBc抗体 (ELISA法) を測定した。またHBV中和活性の評価として、HBVの細胞内取り込みに関与する感染受容体であるNTCPを発現させたHepG2細胞 (HepG2-hNTCP-30) に、HBVとマウス血清を添加し、培養後にHepG2細胞に取り込まれたHBV DNA量を、Real-time PCRで定量した。血清を添加しないコントロールと比較し、HBV-DNA量が10%未満まで減少した場合に中和活性ありと判定した。また脾細胞を用いたELISPOTにてHBc特異的CTL (IFN-γ産生CD8+ T細胞) の誘導を評価し、PBS群、免疫抑制群それぞれのCVP-NASVAC投与群間でのspot数を比較した。

結果：CVP-NASVACはPBS群、免疫抑制群いずれにおいてもIgG型HBs抗体を誘導した。また、CVP-NASVACはPBS群、免疫抑制群いずれにおいてもIgG型HBc抗体、IgA型HBc抗体を誘導した。一方でHBs抗原のみを含む従来型のHBs抗原ワクチンの皮下投与は、IgG型HBs抗体は誘導されたものの、IgG型HBc抗体、IgA型HBc抗体は誘導しなかった。次にHBV中和活性を検討すると、CVP-NASVAC投与後の血清は、HepG2細胞内のHBV-DNA量が低下しており、HBV中和活性が得られることが示された。続いてELISPOTによる評価では、PBS群に対するCVP-NASVAC投与にてHBc特異的CTLが誘導されていた。免疫抑制群においてもPBS群と比較してspot数が減少しているものの、CVP-NASVACはHBc抗原特異的CTLを誘導していた。

考察・結論：肝移植後患者は拒絶反応防止のため免疫抑制療法が必須となるが、一方でHBV再活性化が危惧される。現在用いられているHBIGは血液製剤であるため、未知の感染症やコスト面での課題があり、核酸アナログ製剤も同様にコストの問題に





を投与する特定臨床研究が開始予定である。CVP-NASVACにより肝移植後患者でHBs抗体価が維持できれば、HBIGの使用量を減少させ、願わくはHBIGの投与自体が不要になる可能性があり、CVP-NASVACは将来的に既存の治療に代わる効果的で安全なHBV再活性化予防法となりうる。また、同じく免疫抑制状態にある化学療法中の患者のHBV再活性化予防への応用も期待でき、今後の検討課題である。今後の研究の展望としては各種抗体の経時的な変動の評価や、抗体価の個体差に関する免疫系の反応・成熟機構についての評価を検討している。またワクチンの有効性をより高め、長期的に抗体価を維持していくための投与プロトコルの構築・最適化を行っていく。

この度は第62回日本消化器免疫学会総会にて奨励賞を賜り、誠に光栄に存じます。発表にあたり指導医の吉田理先生、日浅教授をはじめ、教室の先生方にこの場を借りて厚く御礼申し上げます。今回の発表内容は学位論文のテーマとして取り組んでいる研究であり、奨励賞の受賞は研究を続けるうえで大変励みになりました。今後は学位取得に留まらず、CVP-NASVAC実用化に向けて微力ながら尽力してまいりますので、今後ともご指導ご鞭撻のほど何卒よろしくお願い申し上げます。(島本豊佑)



加え、将来的な耐性変異株の出現や内服を中止した際のHBV再活性化といったリスクを抱えている。今回の検討ではCVP-NASVACが免疫抑制下においても、HBVに対する各種抗体やHbc抗原特異的CTLを誘導し、HBVの増殖抑制に寄与することが確認できた。このことから、CVP-NASVACは肝移植後患者におけるHBV再活性化予防にも有用である可能性がある。

CVP-NASVACは強力な免疫誘導作用を持つだけでなく、経鼻投与であることから侵襲性が少なく、投与も簡便かつ確実である。これまでのヒトに対する投与例でも投与中止に至るような重篤な有害事象は報告されおらず、またHBIGのような血液製剤としての感染症などのリスクが存在しない、安全性の高い製剤である。今後は実際のHBV陽性肝移植後患者にCVP-NASVAC

奨励賞受賞 | 第62回日本消化器免疫学会総会 (2025年7月31日・8月1日 SHIROYAMA HOTEL Kagoshima (城山ホテル鹿児島))

潰瘍性大腸炎における腹腔内リンパ節腫大の臨床的意義

武部 友寛¹ 石田 夏樹¹ 高橋 賢一¹ 浅井 雄介¹ 松浦 友春³ 山出 美穂子¹
岩泉 守哉³ 山田 貴教² 濱屋 寧¹ 大澤 恵² 杉本 健¹

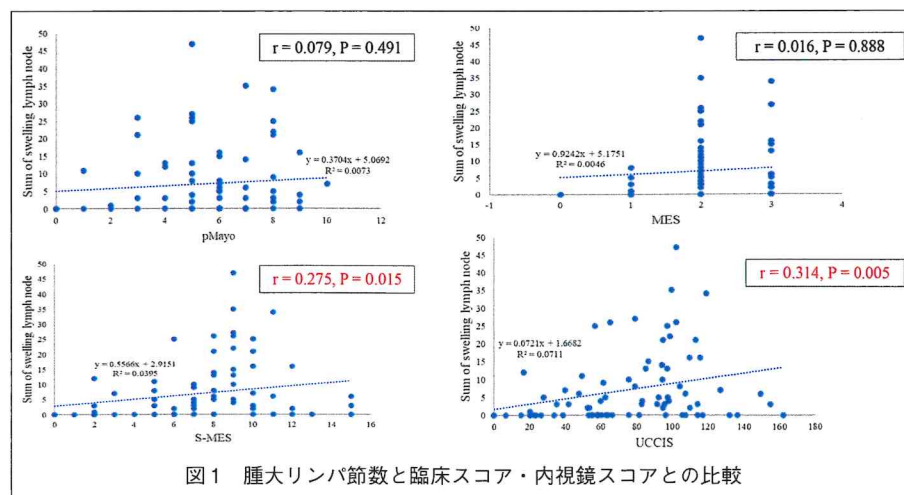
¹浜松医科大学 内科学第一講座, ²浜松医科大学 光学医療診療部, ³浜松医科大学 臨床検査医学講座

背景・目的：潰瘍性大腸炎 (Ulcerative Colitis: UC) の病状評価は、臨床的活動性を示すMayoスコアなどに加え、客観的指標である内視鏡スコアやCRP、便中カルプロテクチンといったバイオマーカーを統合的に評価することの重要性が増している。近年の画像診断技術の進歩により、腹部CT検査においてUC患者の腹腔内にリンパ節腫大が散見されることがあるが、その臨床的意義や病態との関連性については、これまで明確な報告がなされていなかった。リンパ節は免疫応答の中核を担う臓器であり、腸管の炎症活動をリンパ流を介して反映している可能性が考えられる。本研究では、UC患者における腹腔内リンパ節腫大と、内視鏡の重症度および再入院や外科治療移行といった臨床経過との関連性を詳細に検討し、その臨床的意義を明らかにすることを目的とした。

方法・結果：本研究は、浜松医科大学医

学部附属病院の単一施設における後方視的観察研究として実施した。対象は、2012年5月から2024年10月の期間に当院

で診療を受け、腹部CT検査と全大腸内視鏡検査 (Total Colonoscopy: TCS) の両方を施行されたUC患者78例 (男性52例、



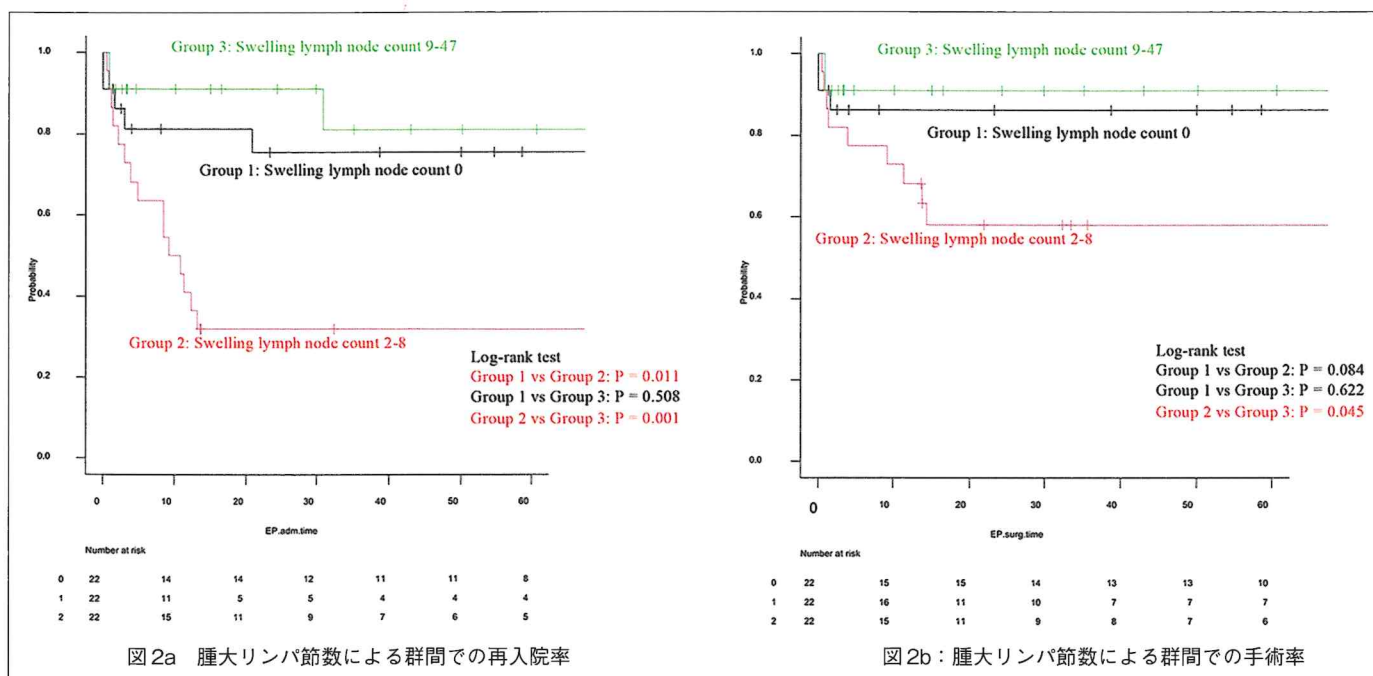


図2a 腫大リンパ節数による群間での再入院率

図2b: 腫大リンパ節数による群間での手術率

女性26例、年齢中央値38.5歳)である。腹腔内リンパ節腫大は、CT画像上にて短径5 mm以上で、かつ直近の腸管壁から1 cm以内に存在するリンパ節と定義した。UC以外の腸炎(虚血性、薬剤性など)や悪性腫瘍の合併例は解析から除外した。

主要評価項目として、腫大リンパ節の総数と各種内視鏡スコア(partial Mayo score, Mayo endoscopic subscore (MES), sum of MES (S-MES), Ulcerative Colitis Colonoscopic Index of Severity (UCCIS))との相関関係を評価した。副次評価項目として、内視鏡的に活動性を有するMES 2または3の患者66例を対象とし、腫大リンパ節数に基づき3群(Group 1: 0個, 22名; Group 2: 2-8個, 22名; Group 3: 9-47個, 22名)に層別化し、再入院率および外科治療移行率をKaplan-Meier法(Log-rank検定)を用いて比較検討した。さらに、臨床経過に影響を与える交絡因子を調整するため、多変量解析(Cox比例ハザードモデル)を実施した。統計学的有意水準は $p < 0.05$ とした。

結果、腫大リンパ節の総数とpMayoスコア($r = 0.079$, $P = 0.491$)およびMES($r = 0.016$, $P = 0.888$)との間には、統計学的に有意な相関は認められなかった。一方で、全大腸の炎症の程度を評価するS-MES($r = 0.275$, $P = 0.015$)およびUCCIS($r = 0.314$, $P = 0.005$)とは、統計学的に有意な正の相関関係を示した(図1)。結腸の部位別解析では、特に上行結腸の内視鏡スコア(pUCCIS)と最も強い正の相関が認められ($r = 0.445$, $P < 0.001$)、次いでS状結腸($r = 0.306$, $P = 0.006$)、横行結腸($r = 0.282$, $P = 0.012$)、直腸($r = 0.251$, $P = 0.027$)でも有意な相関を示した。

MES 2, 3の活動期患者66名における臨床経過の解析では、再入院率はGroup 2(腫大リンパ節2-8個)がGroup 1(0個)

およびGroup 3(9-47個)よりも有意に高かった(vs Group 1: $P = 0.011$, vs Group 3: $P = 0.001$)(図2a)。外科治療移行率に関しても、Group 2はGroup 3よりも有意に高かった($P = 0.045$)(図2b)。多変量解析の結果、腫大リンパ節数が2-8個であることは、年齢、性別、疾患範囲、薬剤使用状況といった他の臨床因子を調整した後も、再入院(ハザード比 5.417, 95%CI: 1.894-15.49, $P = 0.002$)および外科治療移行(ハザード比 4.355, 95%CI: 1.084-17.49, $P = 0.038$)の独立した有意な予後予測因子であることが示された。

考察・結論: 本研究により、UCにおける腹腔内リンパ節腫大の数は、pMayoスコアやMESといった局所の内視鏡スコアとの相関は乏しいものの、S-MESやUCCISといった全大腸の炎症範囲と程度を統合的に評価する内視鏡スコアと正に相関することが初めて明らかになった。これは、CTで観察されるリンパ節腫大が、腸管粘膜の広範な炎症を反映した免疫応答の結果であることを強く示唆している。

臨床的な予後(再入院・外科治療)は、リンパ節腫大が多数認められる症例よりも、中等度(2-8個)に認められる症例で最も不良であったという結果は、特筆すべき知見である。この一見矛盾した結果は、リンパ節腫大が著しい最重症群(Group 3)では、診断時点で既に全身ステロイド、生物学的製剤、カルシニューリン阻害薬などの強力な治療介入がなされている頻度が高く(患者背景より、Group 1のステロイド使用率59.1%に対し、Group 3は9.1%)、その後の臨床経過がある程度制御されている可能性を示唆している。一方で、中等度のリンパ節腫大を呈するGroup 2は、潜在的に高い炎症活動性を持ちながらも、必ずしも最も強力な治療が選択されないため、結果

として増悪や治療抵抗性に繋がりがやすい病態である可能性が考えられる。

本研究結果は、腸管粘膜の炎症がリンパ流を介して所属リンパ節での免疫応答を惹起するという病態を支持するものである。近年、リンパ球の体内動態を制御するS1P受容体作動薬がUC治療に導入された。リンパ節における免疫応答の強さを反映しうる腹腔内リンパ節腫大の評価は、これらの薬剤の治療効果を予測するバイオマーカーや、治療効果をモニタリングする際の指標となりうるか、今後の重要な検討課題としたい。

結論として、UCにおける腹腔内リンパ節腫大は、内視鏡的重症度を客観的に反映する有用な画像所見である。特に、活動期において2-8個のリンパ節腫大を認める症例は、その後の再入院や外科治療移行のリスクが最も高い独立した予後不良群である可能性が示された。CTによるリンパ節評価は、簡便かつ非侵襲的であり、UC患者の精密なリスク層別化と治療戦略の最適化に貢献しうる、新たな画像的バイオマーカーとなることが期待される。

この度は、第62回日本消化器免疫学会総会において奨励賞という栄誉を賜り、大変ありがたく光栄に存じます。日頃より多大なご指導を頂いております杉本教授、石田先生はじめ、医局の先生方に厚く感謝申し上げます。この受賞に慢心することなく、さらなる成果を目指し、研究に邁進していく所存です。引き続き、皆様のご指導を賜れますようお願い申し上げます。



(武部友寛)

ケトン食による実験的自己免疫性脳脊髄炎の抑制機構

谷口 勝城^{1,2} 竹内 直志^{1,3} 宮内 栄治^{1,4} 川住 雅美¹ 中西 裕美子¹
加藤 完¹ 関根 滋彦¹ 前田 慎² 大野 博司¹

¹理化学研究所 生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム, ²横浜市立大学医学部 消化器内科学,
³スタンフォード大学医学部 微生物/免疫学部門, ⁴群馬大学生体調節研究所 粘膜エコシステム制御分野

背景: 近年, マイクロバイオームと各種疾患との関係が報告されている。特に小腸の粘膜固有層には, 自己免疫疾患で中心的な役割を果たすTヘルパー17細胞(Th17)が恒常的に存在することが知られており, 小腸マイクロバイオームと自己免疫疾患との関連が示唆されている。実際に我々の研究室はこれまでに, 小腸でTh17を増加させ, マウスの実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を悪化させる *Erysipelotrichaceae* 科に属する新規分離株を報告している¹⁾。

近年, 超高脂肪・低炭水化物食, すなわちケトン食(KD)がTh17の発現に影響を与える可能性が示唆されたが, 自己免疫疾患への影響に関する詳細な検討はない。そこで本研究ではKDが小腸のマイクロバイオームや免疫応答に与える影響, さらに自己免疫疾患のモデルマウスへの影響とその機序を解明することを目的とした。

方法・結果: 本研究では脂質90.5%, 炭水化物0%を含む食餌をKDとして用い, 脂質20.2%, 炭水化物49.2%を含む食餌を通常食としてマウスに投与した。理化学研究所のSPF飼育環境下のC57BL/6JclマウスにKDおよび通常食を3週間投与した。小腸および大腸粘膜固有層を回収し, フローサイトメトリーによる解析を行ったところ, KD摂餌マウスでは, 通常食摂餌マウスに比較し小腸Th17の発現が有意に減少していたが, 大腸Th17への影響は確認されなかった。また小腸においてもTh1やTregなどは通常食摂餌マウスと有意差はなく, その影響は限定的であった。小腸および大腸内容物に16S rRNA遺伝子配列による菌叢解析を実施したところ, KDは大腸細菌数への影響は乏しいが, 小腸においては細菌数を著減させ, 特にTh17分化・誘導能のある *Erysipelotrichaceae* 科に属する菌株が減少していた。

小腸内容物に対してガスクロマトグラフィー質量分析(GS-MS)を用いた代謝物解析を実施したところ, 脂肪酸から産生される主要なケトン体であるβ-ヒドロキシ酪酸(BHB)が, KD摂餌マウスの小腸・血清内に有意に増加していた。また, 小腸内BHB濃度は *Erysipelotrichaceae* 科に属する菌株数と間に有意な負の相関を示していた。重要なことに, 同代謝物は *in vitro* の細菌培養において同 *Erysipelotrichaceae* 科菌株の増殖を直接阻害した。一方で, 同じ

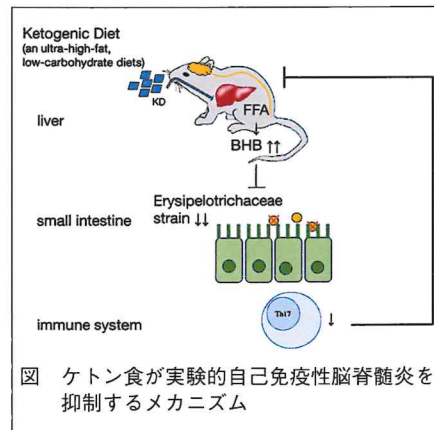
く小腸常在菌である *Lactobacillus. reuteri* の発育には影響を与えなかった。BHBが細胞分化に影響を与える可能性も考慮し, 脾臓からNaive CD4+ T Cell Isolation Kitを用いてnaive T細胞を単離し, IL-6およびTGF-βの刺激によるTh17誘導を行い, BHBの添加がTh17分化に影響を与えるか検討した。この *in vitro* の細胞刺激実験において, BHBの添加はTh17の分化に影響を与えなかった。このことから, KD給餌マウスにおける小腸Th17の誘導はBHB上昇による小腸細菌叢の変化を介していると考えられた。

次に, 自己免疫疾患のモデルマウスとして, ミエリン-オリゴデンドロサイト-糖タンパク質(MOG)と百日咳毒素(PTX)の投与による実験的自己免疫性脳脊髄炎を用いた。KDおよび通常食を1週間投与したのちにMOG, PTXを投与し, その後3週間にわたりKDまたは通常食を継続したところ, KD投与群では神経学的症状が著明に抑制された。Luxol fast blue染色ではKD給餌マウスで脱髄が有意に減少していることが確認され, 脊髄のフローサイトメトリーでは脊髄内リンパ球数の明らかな低下も確認された。定量PCRを実施したところ, TNF-αだけでなくIL-10やTGF-βといった抑制性サイトカインの低下も確認された。

最後に, ヒト再発寛解型多発性硬化症(RRMS)患者から提供された糞便を無菌マウス(C57BL/6N)に投与したヒト化モデルマウスでの検討を行った。ヒト糞便の定着後にKDおよび通常食を3週間投与し, フローサイトメトリーで小腸および大腸粘膜固有層を解析した。ヒト化モデルマウスにおいても, KD投与により小腸粘膜固有層における免疫細胞数を低下させたが, 大腸粘膜固有層ではその影響は認められなかった。代謝物解析ではKD投与により小腸内BHBが上昇しており, 16S rRNA解析では小腸菌叢を大きく変化していた。これら結果から, KDはヒトのマイクロバイオームにも影響を与えることが確認された。

結論: 本研究の結果をまとめると以下のようになる。

- ① ケトン食は小腸Th17と, 小腸 *Erysipelotrichaceae* 科を減少させた。
- ② ケトン食はケトン体(BHB)を上昇させ,



この代謝産物は同菌の発育を直接阻害した。

- ③ ケトン食はEAEの重症度を改善させた。
- ④ ヒト化モデルマウスにおいてもケトン食が小腸免疫応答および菌叢へ影響を与えた。

これらの知見は, ケトン食が小腸におけるマイクロバイオームの変化を介して自己免疫疾患の治療に有用であるという前臨床的なエビデンスを提供するものである。自己免疫疾患の治療アプローチとして, 小腸マイクロバイオームという新たなターゲットを提供するとともに, 低侵襲で持続可能な食事療法が有用であることを示す報告である。今後も新たな知見の集積が期待される。

- 1) Miyauchi E, Kim SW, Suda W, et al. Gut microorganisms act together to exacerbate inflammation in spinal cords. Nature. 585(7823): 102-106. (2020)

この度は第62回日本消化器免疫学会総会において奨励賞を賜り, 誠に光栄に存じます。大野先生を始めご指導いただきました皆様の方々にこの場をお借りして心より御礼申し上げます。本受賞を励みに, 今後も消化器免疫の理解を深める研究に真摯に取り組み, 学問の発展に寄与できるよう微力ながら精進して参ります。
(谷口勝城)

