

学位論文審査結果の要旨

氏 名	白石佳奈
審 査 委 員	主 査 田内 久道 副 査 熊木 天児 副 査 劉 爽 副 査 伊賀瀬 圭二 副 査 吉田 素平

論 文 名

HB ワクチン無反応者に対する HBs 抗原・HBc 抗原含有経鼻ワクチンによる中和型 HBs 抗体の誘導

審査結果の要旨

【背景と目的】

接種しても HBs 抗体が誘導されない HB ワクチン無反応者が 5～10%の割合で存在し、感染防御として十分ではない。より強く HBV 感染に対する予防免疫の獲得を目指して、従来の HBs 抗原に HBc 抗原を加え、経鼻免疫効果を高める増粘剤として carboxyl vinyl polymer を添加した経鼻ワクチン（CVP-NASVAC）を開発し、HB ワクチン無反応者に対する臨床試験を行い、HBV 特異的免疫誘導能について評価することを研究の目的とした。

【方法】

1. 書面による同意を得た HB ワクチン無反応・低反応者 34 人を対象とした。HB ワクチン無反応・低反応者は、従来の HB ワクチン接種を終了しており、HBs 抗体 $< 10 \text{ mIU/mL}$ および HBc 抗体 $< 1.0 \text{ C.O.I}$ と定義した。被検者は、2 週間毎に計 3 回の CVP-NASVAC を経鼻投与された。ワクチン接種の前と接種終了 1, 3, 6 カ月後に血液サンプルを採取した。本臨床試験は愛媛大学臨床試験の臨床研究審査委員会によって承認されている（18EC004）。
2. CVP-NASVAC の抗体誘導能を評価するため、ワクチン投与前後の被験者血清の IgG 型 HBs 抗体および IgG 型 HBc 抗体を CLEIA 法で測定した。
3. 粘膜免疫の誘導を評価するため、ELISA による IgA 型 HBs 抗体および IgA 型 HBc 抗体の検出を行った。プレートに HBs 抗原または HBc 抗原を固相化し、被験者血清を加えて培養

した後に抗ヒト IgA 抗体を加え、492nm での吸光度を測定した。

4. HBV に対する *in vitro* での中和活性を評価するため、中和実験を行った。10～160 倍希釈した被験者血清と HBV 粒子を混合し、HepG2-hNTCP-30 細胞に感染させ、細胞内に取り込まれた HBV-DNA 量をリアルタイム PCR で定量した。血清を加えないコントロールに対し HBV-DNA 量が 10%未満に低下した血清の最大希釈倍率を中和抗体価とした。
5. HBV 抗原特異的細胞性免疫応答を評価するため、被験者の末梢血単核球分画 (PBMC) を用いて ELISPOT を行った。IFN γ 特異的モノクローナル抗体でコーティングされたプレートに被験者の PBMC を播種し、HBs 抗原または HBc 抗原を加えて 72 時間培養した。IFN γ 産生細胞をスポットとして検出し、抗原特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 数を測定した。

【結果と考察】

CVP-NASVAC 投与後、HB ワクチン無反応者の 31/34 (91%) で IgG 型 HBs 抗体が誘導され、投与 6 月後に 30/34 (88%) で HBs 抗体陽性が維持された。IgG 型 HBc 抗体は CVP-NASVAC 投与 1 か月後で 27/34 (79%) で誘導され、6 か月後も 24/34 (70%) で抗体陽性が維持された。IgA 型 HBs 抗体は、CVP-NASVAC 投与 1 か月後に 21/29 (72%) で有意に上昇した ($p < 0.0001$)。IgA 型 HBc 抗体は CVP-NASVAC 投与 1 か月後に 28/29 (96%) で有意に上昇した ($p < 0.0001$)。中和活性の検討では、CVP-NASVAC 投与前は中和活性を示す症例がみられなかったが、ワクチン投与 1 か月後には 26/29 (89%) において中和活性が確認され、中和活性値は IgG 型 HBs 抗体価と正の相関がみられた ($p < 0.0001$)。HBs 抗原・HBc 抗原特異的 CTL の検討では、CVP-NASVAC 投与 6 か月後において、25/27 (92%) で HBs 抗原特異的 IFN γ 産生細胞数が有意に増加し、25/27 (92%) で HBc 抗原特異的 IFN γ 産生細胞数が増加した ($p < 0.0001$)。CVP-NASVAC 投与中、投与終了後に 9/34 (26%) で軽微な有害事象が観察されたが、重篤な有害事象はみられなかった。

CVP-NASVAC は従来の HB ワクチンで使用されている HBs 抗原に加えて HBc 抗原を含み、HBc 抗原がアジュバントとして作用して、中和活性を有する HBs 抗体の誘導を増強した可能性がある。また、HBs 抗原特異的 CTL に加えて HBc 抗原特異的 CTL が誘導されることによる感染防御作用とともに、経鼻投与による粘膜免疫によって得られた IgA 型の HBs 抗体および HBc 抗体は、粘膜を介する感染を防御する効果が期待される。

【結論】

CVP-NASVAC の経鼻投与は、HB ワクチン無反応者に対して IgG 型 HBs 抗体・HBc 抗体、IgA 型 HBs 抗体・HBc 抗体、HBs/HBc 抗原特異的 CTL を誘導し、誘導された抗体の HBV に対する中和活性を確認した。CVP-NASVAC 経鼻投与は HB ワクチン無反応者にも感染予防効果をもたらし、従来の HB ワクチンより効果的なワクチンとなる可能性がある。

本論文は、通常の HB ワクチン無反応者に対して HBs 抗原・HBc 抗原含有経鼻ワクチンを接種することにより中和型 HBs 抗体が誘導されることを初めて明らかにしたものであり、明確な結果と十分な考察が提示され、重要な知見を含んでいる。

公開審査会は令和 6 年 2 月 5 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した後に、審査委員から本研究に関する以下の質問がなされた。1) 欠測データ発生理由、2) 有害事象の詳細と抗体価の関連、3) 高い抗体価を得た例の詳細、4) ワクチン投与スケジュールの根拠、5) ELISA 法と CLEIA 法の違いと実際の手技について、6) 点鼻ワクチンの今後の展望、

7) 点鼻ワクチンの長期的な毒性、8) IgA 抗体の誘導と持続、9) ELISPOT の技術的問題、10) 今後長期に渡る抗体価の推移と抗体低下時の対応、11) ジェノタイプ C 以外で予想されること、12) 被験者性別の偏りについて、13) 動物への感染実験について、14) 本ワクチンを社会実装するについての問題点

これらに対して申請者は、質問の意図を十分に理解した上で、詳細かつ明解に応答した。審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。