

ディープシーケンス法による既往感染者から発生した B型肝炎再活性化症例のウイルス学的因子の解析

坂本和賢¹⁾、梅村武司²⁾、伊藤清顕¹⁾、奥村 彰規¹⁾
、城下智²⁾、太田正穂²⁾、杉山真也³⁾、溝上雅史³⁾、
米田政志¹⁾、田中榮司²⁾

1. 愛知医科大学 肝胆膵内科
2. 信州大学医学部 内科学第二教室
3. 国立国際医療研究センター 肝炎免疫センター

HBV再活性化におけるリスク因子

宿主因子

強い免疫抑制状態(特にリツキシマブ、ステロイドの使用や造血幹細胞移植)、SNPs等...

+

ウイルス側因子

HBs抗原陰性でHBV DNA陽性のoccult感染。ジェノタイプ、コアプロモーター領域やプレコア領域における突然変異等...



HBV 再活性化

(M Zobein. Hepat Res Treat 2013)

目的

次世代シーケンサーを使用してde novo B 型肝炎
発症に関連するウイルス側の要因を解析しその病態
解明を目指す。

方法

De novo B型肝炎 17例 (de novo群)および

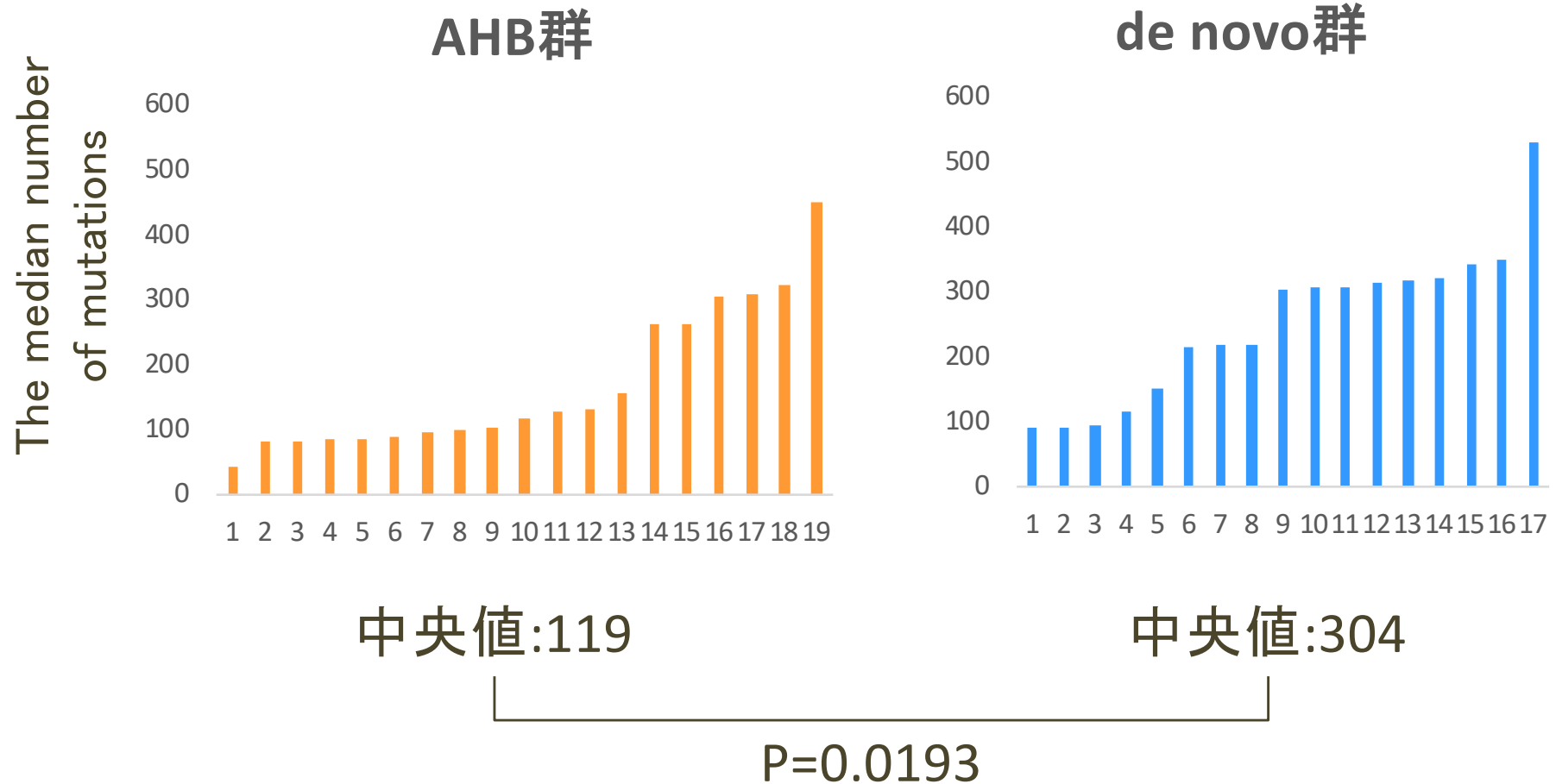
B型肝炎急性肝炎 19例 (AHB群)

の保存血清を使用し、血清中のDNAを抽出し次世代シーケンサーIon PGMを用いてHBVの塩基配列に関するデータを取得しCLC Genomics Workbenchによりminor cloneの1%以上を有意な遺伝子変異として解析し両群での比較を行った。

B型急性肝炎とde novo B型肝炎の患者特徴と血清学的特徴

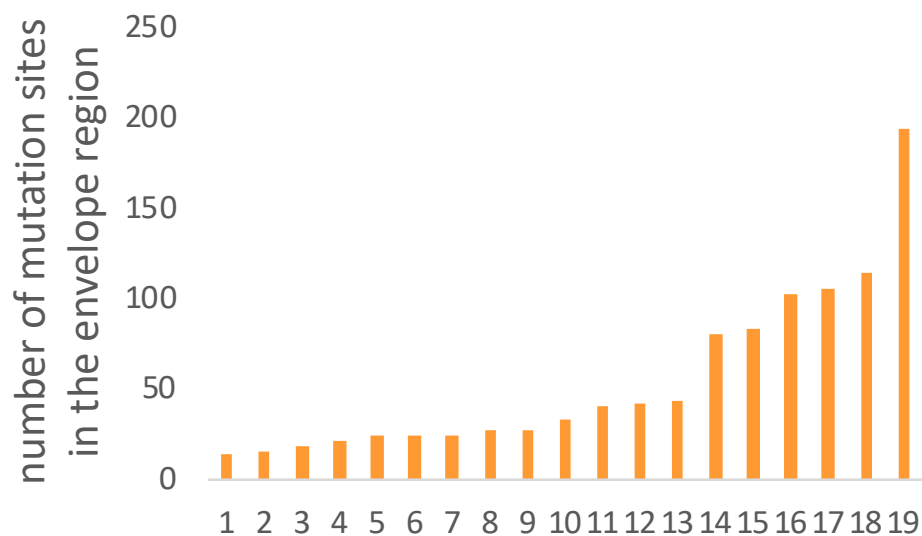
Features	Acute hepatitis B (n=19)	de novo hepatitis B (n=17)	P Value
Male sex	11 (57.9)	9 (50)	0.7380
Age, years	40.1±8.0	58.0±5.3	0.0014
Peak ALT	2675.3±648.7	801.5±297.8	<0.0001
Peak T-bill	13.0±4.5	13.9±7.6	0.8482
Peak PT%	50.6±14.4	64.1±15.1	0.2268
Survival (n, %)	12 (63.2)	12 (70.6)	0.3843
Genotype	A=2, B _j =1, C=16	A=0, B _j =8, C=11	<0.0001
Mutations (core-promoter, precore)			
C1653T	1/19 (5.3)	3/17 (17.6)	0.2379
T1753C/G/A	3/19 (15.8)	5/17 (29.4)	0.1441
A1762T/G1764A	4/19 (21.1)	5/17 (29.4)	0.3297
G1896A	6/19 (31.6)	11/17 (64.7)	0.0012
G1899A	0/19 (0)	11/17 (64.7)	<0.0001
Mutations (envelope)			
S3N	6/19 (31.6)	14/17 (82.3)	0.0022
novel N-glycosylation in the α-loop	1/19(5.3)	3/17(11.8)	0.238

HBVゲノム全体で変異があった箇所数の中央値



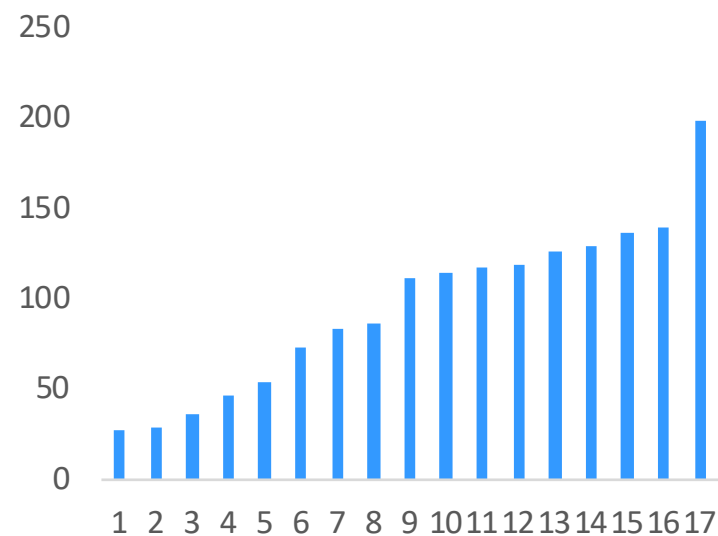
エンベロープ領域における 変異があった箇所数の中央値

AHB群



中央値:33

de novo群



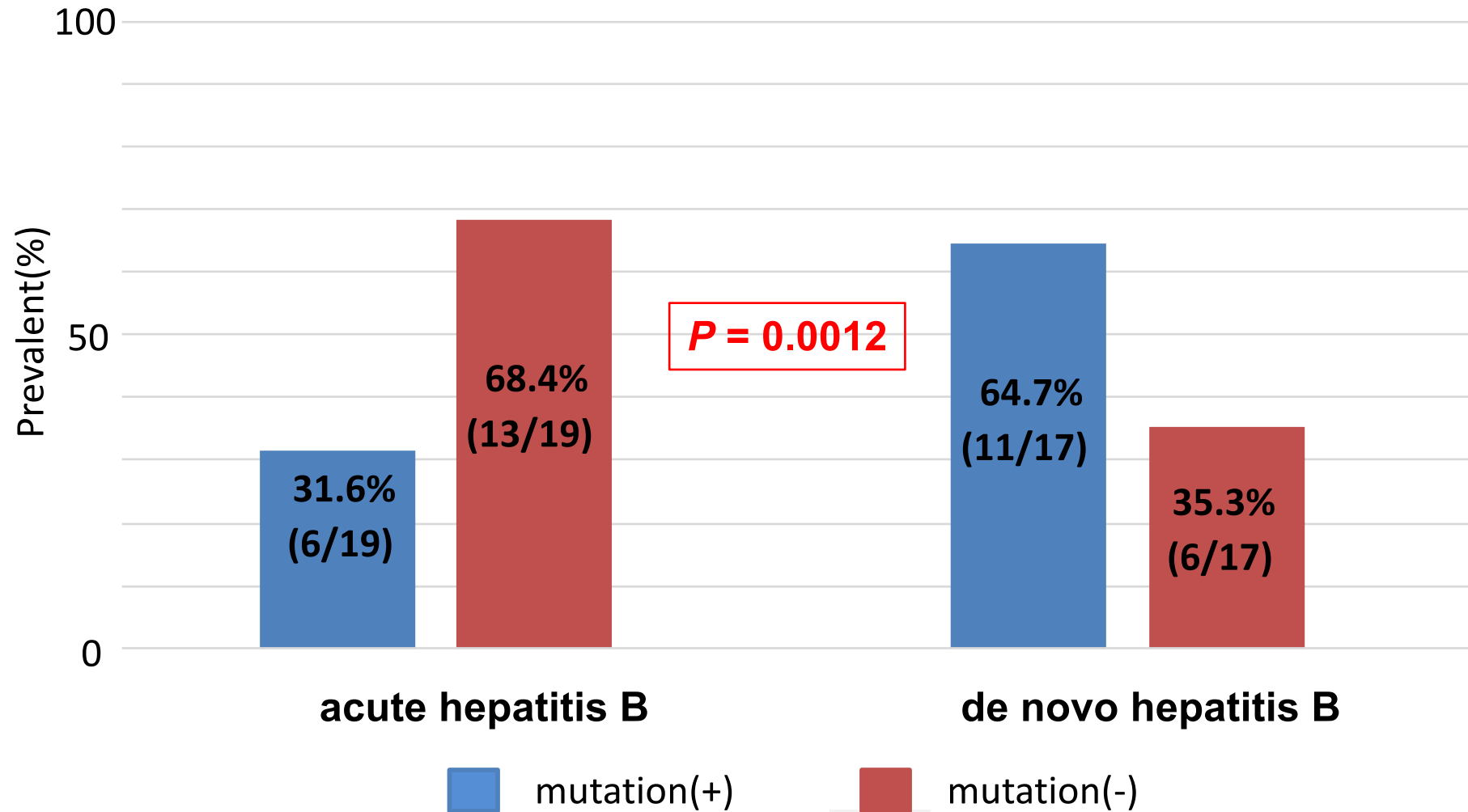
中央値:112

P=0.0069

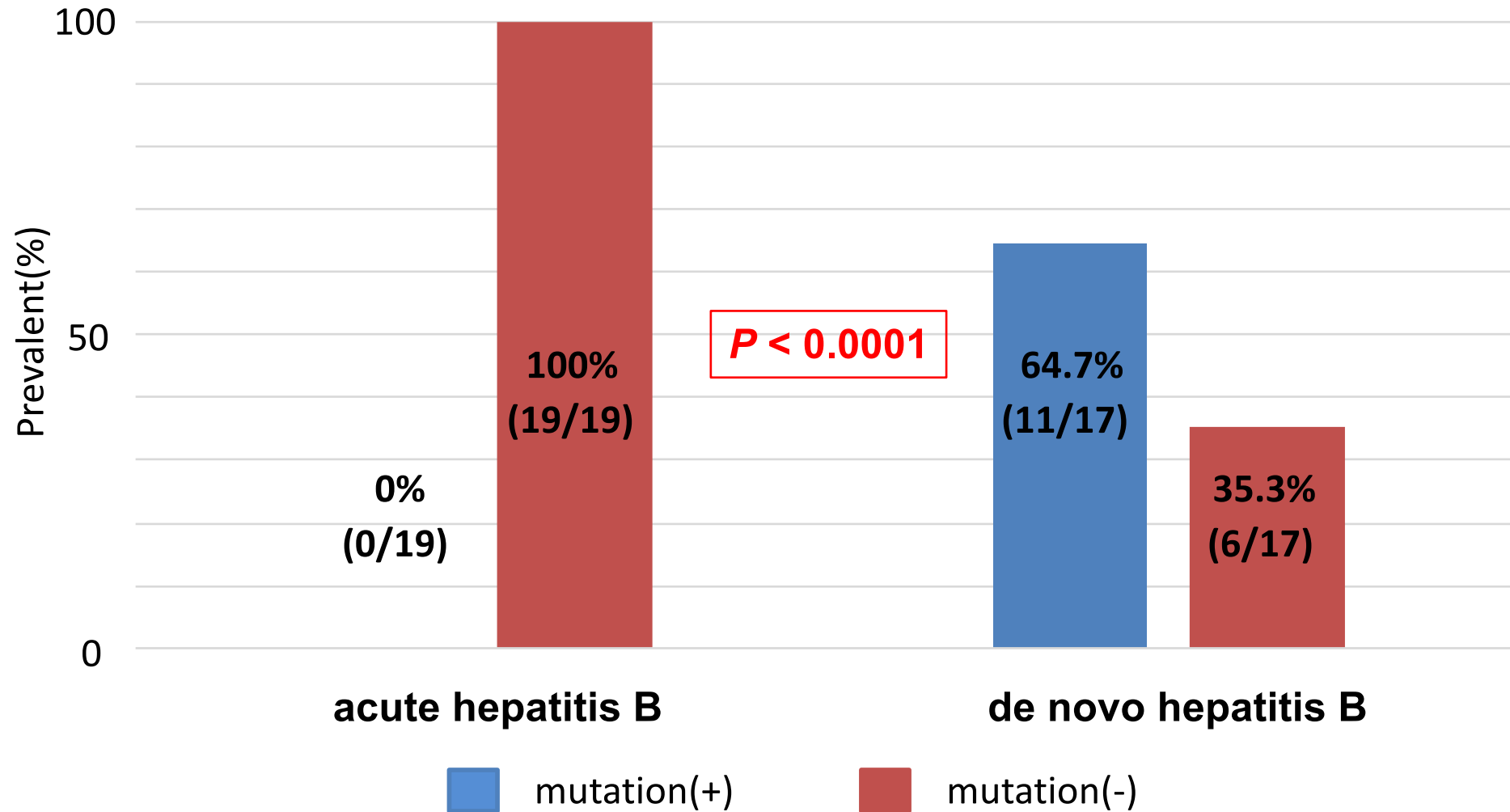
AHB群、de novo群におけるコアプロモーター領域、プレコア領域の変異

No.	etiology	Genotype	nt1753	A1762T	G1764A	G1896A	G1899A
1	AH	C	-	+(about100%)	+(about100%)	+(84.76%)	-
2	AH	C	-	-	-	-	-
3	AH	C	-	-	-	+(1.47%)	-
4	FH	C	-	-	-	-	-
5	AH	C	-	-	-	-	-
6	FH	C	+(T>C:90.42%)	+(93.79%)	+(93.59%)	+(98.50%)	-
7	AH	C	-	-	-	-	-
8	FH	C	-	+(about100%)	+(about100%)	+(97.72%)	-
9	AH	C	-	-	-	-	-
10	AH	C	+(T>C:91.26%)	+(about100%)	+(about100%)	-	-
11	AH	C	-	-	-	-	-
12	AH	C	-	-	-	+(97.85%)	-
13	FH	Bj	+(T>C:83.26%)	-	-	+(98.07%)	-
14	AH	Ae	-	-	-	-	-
15	AH	Ae	-	-	-	-	-
16	AH	C	-	-	-	-	-
17	AH	C	-	-	-	-	-
18	AH	C	-	-	-	-	-
19	AH	C	-	-	-	-	-
20	De novo	Bj	+(T>C:5.11%)	-	-	+(97.67%)	-
21	De novo	Bj	+(T>C:4.07%)	+(1.19%)	-	+(98.40%)	+(98.4%)
22	De novo	Bj	-	-	-	+(97.30%)	-
23	De novo	C	-	+(79.4%)	+(78.19%)	+(16.31%)	+(14.02%)
24	De novo	C	-	+(about100%)	+(about100%)	+(23.48%)	+(22.15%)
25	De novo FH	C	-	+(about100%)	+(about100%)	+(19.81%)	+(19.46%)
26	De novo FH	C	-	-	-	-	-
27	De novo	C	-	-	-	+(1.08%)	+(1.48%)
28	De novo	Bj	-	-	-	-	+(98.11%)
29	De novo	Bj	-	-	-	+(98.44%)	+(13.38%)
30	De novo FH	Bj	-	-	-	+(97.42%)	+(9.13%)
31	De novo FH	Bj	-	-	-	-	+(98.67%)
32	De novo	C	+(T>G:84.94%)	+(about100%)	+(about100%)	+(97.87%)	-
33	De novo	C	-	-	-	-	-
34	De novo	Bj	+(T>G:3.11%)	-	-	-	+(98.27%)
35	De novo	C	-	-	-	-	-
36	De novo	C	+(T>C:49.25%,T>A:18.39%)	+(about100%)	+(about100%)	+(89.11%)	+(89.84%)

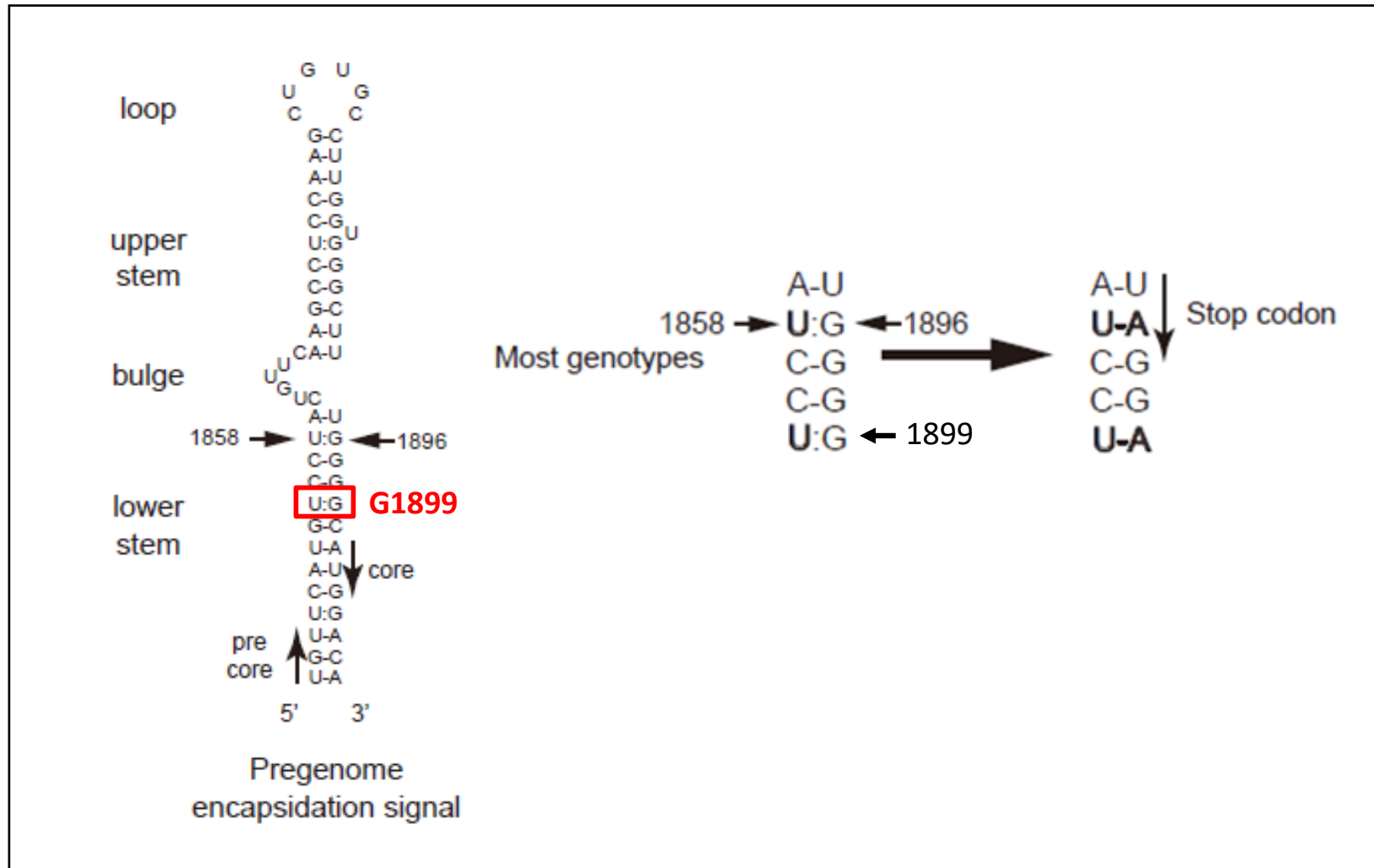
G1896A 変異



G1899A 変異



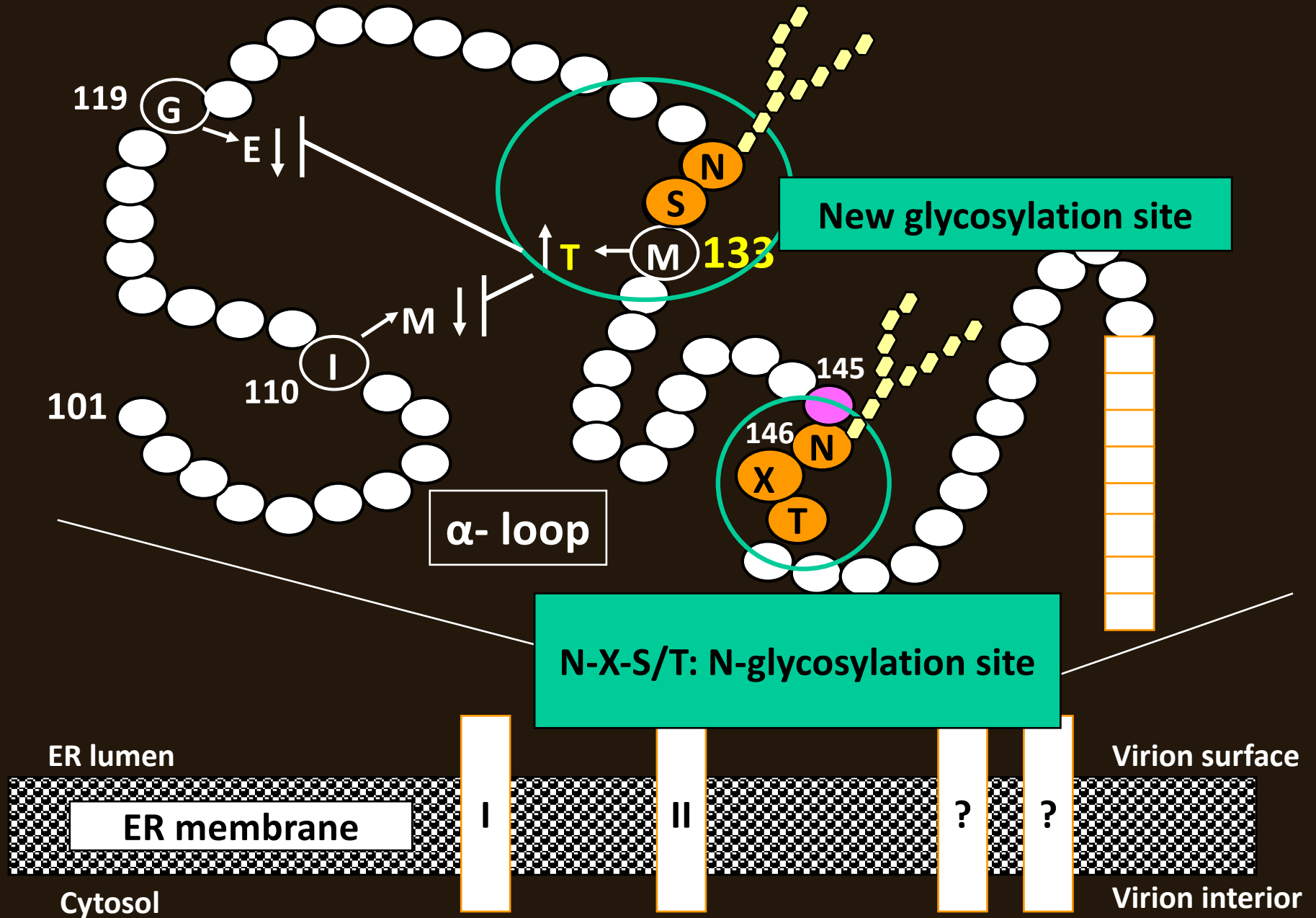
キャプシド形成シグナルとして機能するHBV RNAの イプシロン構造と G1896A、G1899A変異



(Ito K. Sakamoto K et al. J Gastroenterol 2017 review)

エンベロープ領域の変異

M133T 変異はエンベロープ領域に追加糖鎖修飾を作る



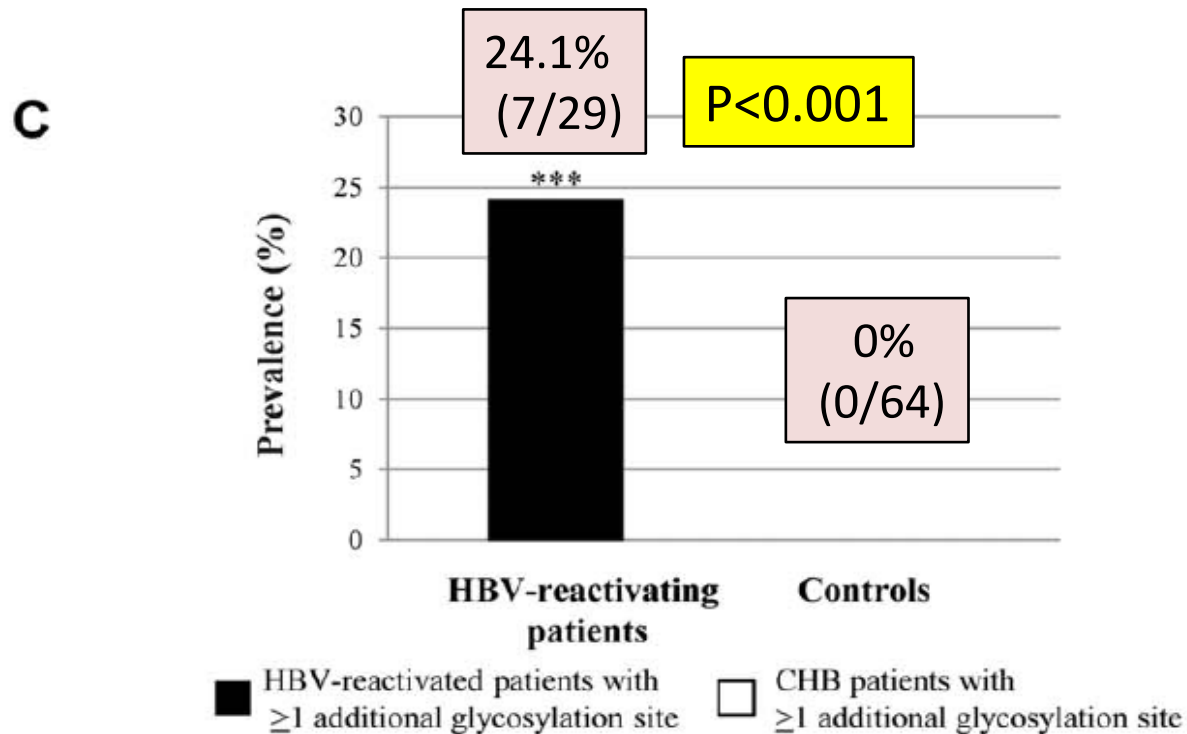
(Ito K. et al. J Virol 2010)

Hepatitis B Surface Antigen Genetic Elements Critical for Immune Escape Correlate With Hepatitis B Virus Reactivation Upon Immunosuppression

Romina Salpini,¹ Luna Colagrossi,¹ Maria Concetta Bellocchi,¹ Matteo Surdo,¹ Christina Becker,² Claudia Alteri,¹ Marianna Aragri,¹ Alessandra Ricciardi,³ Daniele Armenia,¹ Michela Pollicita,¹ Fabiola Di Santo,¹ Luca Carioti,¹ Yoram Louzoun,⁴ Claudio Maria Mastroianni,⁵ Miriam Lichtner,⁵ Maurizio Paoloni,⁶ Mariarosaria Esposito,⁷ Chiara D'Amore,⁸ Aldo Marrone,⁸ Massimo Marignani,⁹ Cesare Sarrecchia,³ Loredana Sarmati,³ Massimo Andreoni,³ Mario Angelico,¹⁰ Jens Verheyen,¹¹ Carlo-Federico Perno,¹ and Valentina Svicher¹

Detected by Ultra deep sequencing

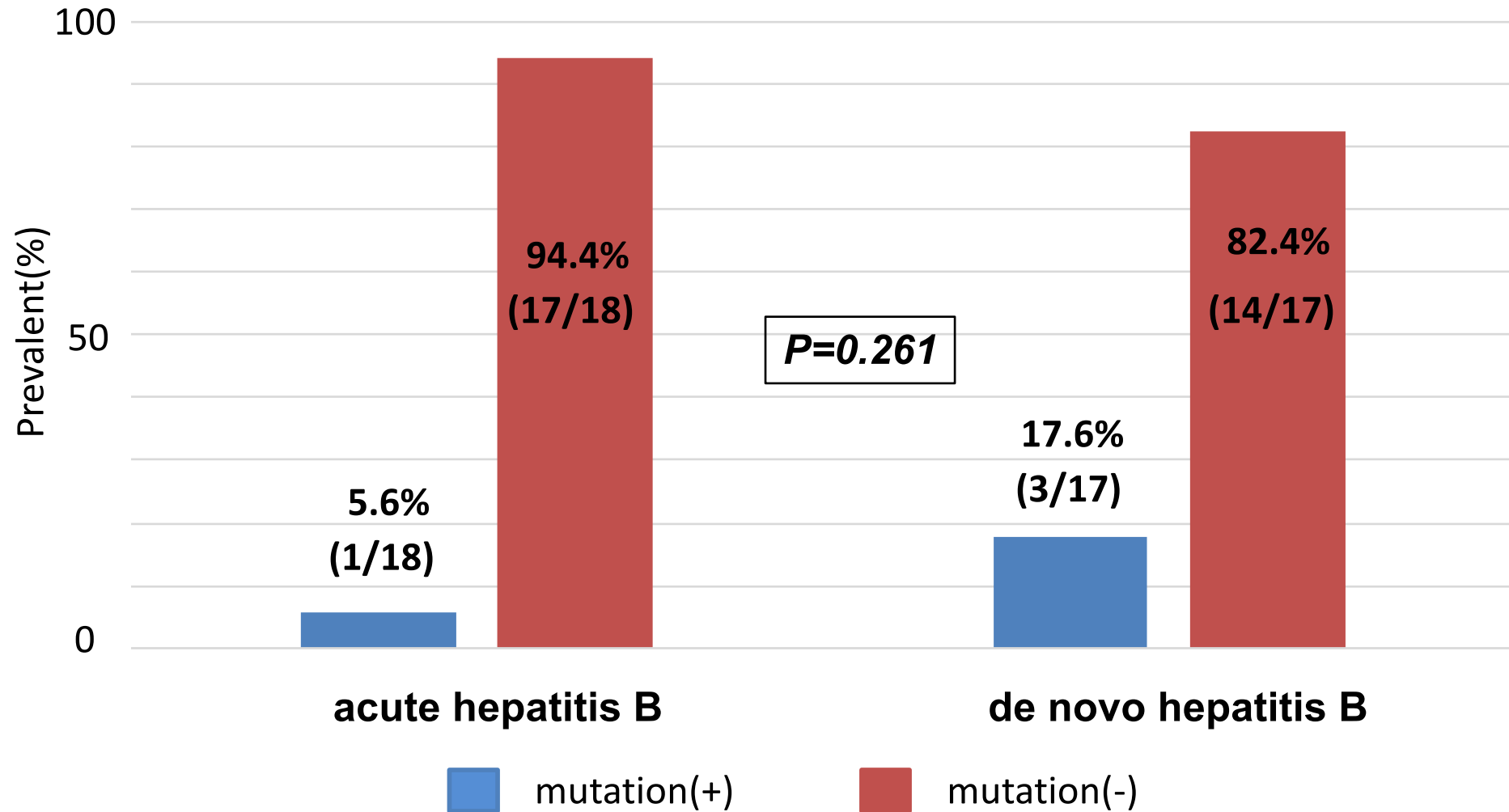
HEPATOLOGY, March 2015



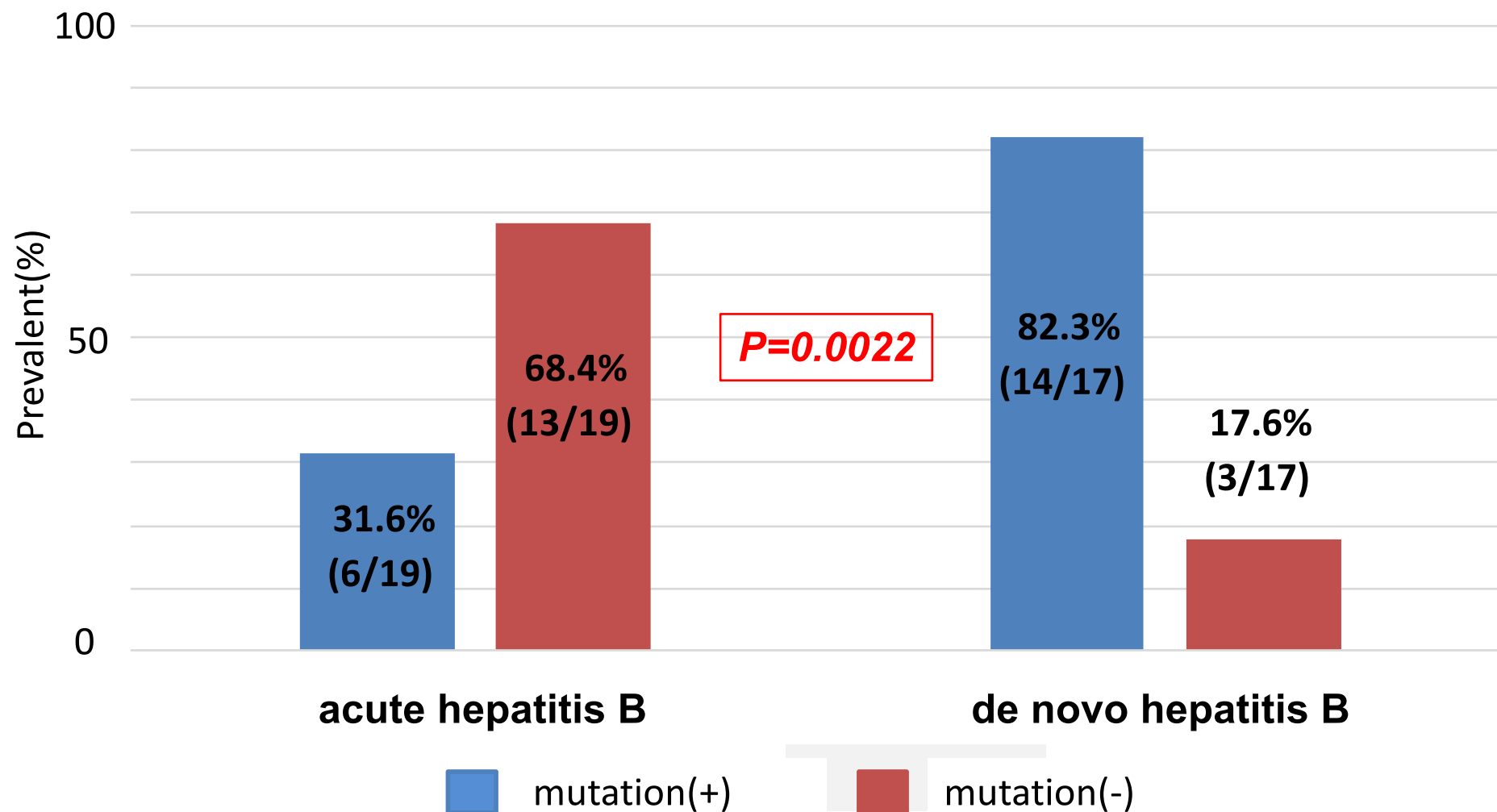
HBV再活性化との関連が疑われるエンベロープ領域のアミノ酸変異

No.	Etiology	Genotype	S3N substitution in the envelope	novel N-glycosylation in the α-loop
1	AH	C	—	
2	AH	C	—	
3	AH	C	+ (99.16%)	
4	FH	C	—	
5	AH	C	+ (99.87%)	
6	FH	C	—	
7	AH	C	—	
8	FH	C	—	
9	AH	C	—	
10	AH	C	—	
11	AH	C	—	
12	AH	C	—	
13	FH	Bj	—	
14	AH	Ae	+ (98.22%)	
15	AH	Ae	+ (97.97%)	
16	AH	C	—	
17	AH	C	+ (98.93%)	T123N (18.44%)
18	AH	C	—	
19	AH	C	+ (99.13%)	
20	De novo	Bj	+ (76.8%)	
21	De novo	Bj	+ (70.0%)	
22	De novo	Bj	—	
23	De novo	C	+ (19.72%)	
24	De novo	C	—	T115N (1.13%)
25	De novo FH	C	+ (98.88%)	
26	De novo FH	C	+ (98.08%)	
27	De novo	C	+ (98.92%)	
28	De novo	Bj	+ (98.09%)	
29	De novo	Bj	+ (82.34%)	
30	De novo FH	Bj	+ (15.93%)	S131N+M133T (2.73%)
31	De novo FH	Bj	+ (97.46%)	
32	De novo	C	+ (99.09%)	
33	De novo	C	+ (99.00%)	
34	De novo	Bj	+ (98.11%)	
35	De novo	C	+ (98.61%)	
36	De novo	C	—	G130N (33.19%)

エンベロープ領域の追加N結合型糖鎖修飾



エンベロープ領域のS3N置換の出現率



結 論

- De novo 群の方がAHB群に比べてS3N, G1896A, G1899A変異を有意に高頻度に認めた。



ご清聴ありがとうございます！