

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17509

研究課題名(和文) DAAによるHCV排除後の自然免疫修飾と肝がん早期再発機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of immune responses in patients with chronic hepatitis C after viral clearance

研究代表者

由雄 祥代(Sachiyo, Yoshio)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・肝疾患先端治療研究室長

研究者番号：10774060

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、C型慢性感染患者におけるDAA治療前後の樹状細胞(DC)、ナチュラルキラー(NK)細胞の変化を解析し、DAAによるC型肝炎ウイルス排除がDC-NKを中心とした抗腫瘍免疫応答に与える影響を明らかにしました。患者群において同年代の健康成人と比較し、NK細胞・DCともに活性が低下しておりウイルス排除半年後も完全な回復は認めなかった。ウイルス排除後も肝がんのスクリーニングは必須であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

以上の研究により、加齢によるNK細胞・樹状細胞の変化を明らかにすることができた。またDAA治療によるHCV排除が樹状細胞(DC) NK細胞の抗腫瘍免疫応答を完全には回復しないことが分かった。これらの結果は平均年齢の高いC型肝炎患者におけるウイルス排除後の肝がんスクリーニングの重要性を裏付けるものである。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the changes of natural killer(NK) cells and dendritic cells (DCs) after clearance of hepatitis C virus (HCV) with DAA treatment. In patients with chronic hepatitis C infection, compared with healthy volunteers in the same age range, NK cells and DCs are dysregulated. After HCV clearance, NK cells and DCs were not recovered. Therefore, annual screening for HCC is indispensable after HCV clearance.

研究分野：肝臓内科

キーワード：C型肝炎 肝がん ナチュラルキラー細胞 樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

HCV 慢性感染者は世界中で約 7100 万人と推計されており、慢性肝炎から肝硬変・肝がんに至る疾患である。近年、抗 HCV 治療薬(DAA)の開発によって約 9 割の患者で HCV 排除を得ることができる疾患となったが、DAA 治療後の発がんは、肝硬変患者ウイルス排除例で年率 2.2%、非排除例で 5% (Ioannou GN, J Hepatol 2018) さらに HCC 治療歴がある症例では、再発率は 1 年で 39%、2 年で 60%と高く (Nishibatake KM, J Hepatol 2018) 短期間で再発例も少なくない (Reig M, J Hepatol 2014)。

HCV 慢性感染者では、免疫不全に至らない程度の免疫細胞機能の低下をきたしており (Higashitani K, Yoshio S, et al. J Gastroenterol 2013; Yoshio S, et al, J Gastroenterol 2016)、HCV による免疫抑制作用の存在が指摘されてきた。HCV 排除後の免疫応答については、Interferon (IFN)-stimulated genes (ISGs)の低下、HCV 特異的 CD8T 細胞の機能回復が認められる一方で、制御性 T 細胞は変化しないことなどが知られている。NK 細胞に関しては、機能回復 (Serti E, et al. Gut 2017)・低下 (Spaan M, et al. J Infect Dis 2016) 両面の報告があり、樹状細胞(DC)に関する報告はない。DAA 治療後肝発がん、肝がん再発と DAA 治療による免疫系変容との関連については明らかではない (図 1)。

免疫細胞によるがんサーベイランス機構に関しては、NK 細胞 (Barrow AD, Cell 2018; Glasner A, Immunity 2018) および NK 細胞により BDCA3⁺DC(cDC1)が腫瘍微小環境に動員されることが重要であること (Bottcher JP, Cell 2018)、チェックポイント阻害剤の治療効果に NK 細胞が規定する BDCA3⁺DC の頻度が関連していること (Barryr KC, Nat Med 2018)などが報告されている。しかし、肝がん発生・再発抑止における BDCA3⁺DC, NK 細胞の役割について検討した報告はない。

2. 研究の目的

本研究は、C 型慢性感染患者において DAA 治療前後の DC、NK 細胞の遺伝子発現、表現型、機能の変化を解析することにより、DAA による HCV 排除が DC-NK を中心とした抗腫瘍免疫応答に与える影響を明らかにすることを旨とする。DAA 治療後の HCC 再発と DAA 治療による免疫系変容との関連を評価することにより、肝発がん・再発に対する予防法開発への示唆を得る。

3. 研究の方法

DAA 治療を行う C 型慢性肝炎・肝硬変患者 (HCC 治療歴のある症例を含む) を対象に、治療開始前・終了後 12 週において末梢血を採取し、対照として年齢をマッチングさせた健康成人も検証する。DAA 治療による HCV 排除が DC, NK 細胞に及ぼす影響を検討する。

4. 研究成果

- (1) 健康成人の NK 細胞 (男性 22 名、女性 22 名、20 代—80 代各 2-5 名ずつ) の頻度・表面マーカーを解析し、年齢による影響を検討した。年齢と正相関を示したのは、PD-1, LAG-3, TRAIL, 2B4, Siglec10, CD57, KIR2DL2/L3、負の相関を示したのは CD47, NKG2A, CD27 であった。

- (2) C型慢性肝炎患者と年齢をマッチングさせた健康成人におけるNK細胞・樹状細胞の頻度・表面マーカーを比較検討した。患者群において、NK細胞における活性化マーカーDNAM-1と2B4は低下、抑制型マーカーILT2が上昇していた。樹状細胞サブセットのうち、cDC1(mDC2)とAXL+DCの頻度低下を認めた。
- (3) (1)で認めた患者群での変化は、DAA治療によるウイルス排除後12週の時点においても肝線維化非進行例においてNK細胞におけるILT2の発現低下を認めたが、その他、改善は認めなかった。
- (4) 肝線維化進展とNK細胞・樹状細胞の変化について検討した。線維化進展に伴い、ウイルス排除後PD-1発現上昇、NKp46発現低下を認めた。これはウイルス排除後も同年代の健康成人と比較し、NK細胞は加齢した状態にあることを示唆していた。樹状細胞の頻度については線維化進展との関係は認めなかった。
- (5) 経過中ウイルス排除後の発がん症例を2例、ウイルス再燃症例を1例経験した。発がん症例においては、治療前よりDNAM1, 2B4の発現低下、ILT2の発現上昇を認めていた。

以上の結果より、C型慢性肝炎患者では加齢・ウイルスの持続感染により抗腫瘍効果のなめであるNK細胞、樹状細胞の頻度・機能低下をきたしており、ウイルス排除後半年の時点でもその改善はごく部分的である。このことはウイルス排除後の肝がんスクリーニング検査の重要性を示唆するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sakamoto Yuzuru, Yoshio Sachiyo, et al	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased Frequency of Dysfunctional Siglec-7-CD57+PD-1+ Natural Killer Cells in Patients With Non-alcoholic Fatty Liver Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 603133
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2021.603133	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hirano Junki, Yoshio Sachiyo, et al	4. 巻 118
2. 論文標題 Hepatitis C virus modulates signal peptide peptidase to alter host protein processing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2026184118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2026184118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Yuichi, Yoshio Sachiyo, et al	4. 巻 10
2. 論文標題 Phenotypic Characterization by Single-Cell Mass Cytometry of Human Intrahepatic and Peripheral NK Cells in Patients with Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1495 ~ 1495
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells10061495	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yoshio S, Sakamoto Y, Kawai H, Matsuda M, Mori T, Aoki Y, Osawa Y, and Kanto T.
2. 発表標題 Eradication of HCV by DAAs provides patients with immunological benefits by the restoration of antigen-presenting dendritic cells
3. 学会等名 The International Liver Congress: EASL（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本讓、由雄祥代、考藤達哉
2. 発表標題 NAFLDにおける肝線維化とNK細胞機能の関連 Siglec-7陰性疲弊型NK細胞の同定
3. 学会等名 第56回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 由雄祥代、考藤達哉
2. 発表標題 肝疾患病態研究を可能にするヒトサンプル免疫解析
3. 学会等名 第56回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田祐一、由雄祥代、考藤達哉
2. 発表標題 C型肝炎患者におけるDAA治療SVR後の免疫病態 マスサイトメトリーによる単一細胞解析の応用
3. 学会等名 第56回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020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
---------	---------