

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23868

研究課題名（和文）免疫療法を目指した、B型慢性肝炎・肝癌発症における宿主免疫制御機構の意義の解明

研究課題名（英文）Analysis of host immune systems in the onset of HBV-related chronic hepatitis / liver cancer

研究代表者

浦木 隆太 (Uraki, Ryuta)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：70843027

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：潜伏感染から、慢性肝炎、さらには肝癌を引き起こすB型肝炎ウイルス(HBV)は肝臓に持続感染するウイルスであり、治療法が確立されていない。本課題では自己免疫抑制の要として知られる制御性T細胞が、HBVの潜伏感染状態における免疫制御に関与しているかどうか検証した。制御性T細胞を選択的に除去可能なB型肝炎マウスモデルを用いた実験により、制御性T細胞がB型肝炎の潜伏状態維持に関与していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、C型肝炎に対しては抗ウイルス治療薬が開発されたものの、B型肝炎に対しては有効な治療薬は存在しない。B型肝炎ウイルスキャリアの患者が肝炎を発症する際に、細胞障害性T細胞などが関与していることは報告されているが、どのような宿主細胞が“発症”のトリガーとなっているかは不明な点も多い。私たちは自己免疫応答を抑える制御性T細胞が、B型肝炎ウイルスキャリアにおいてどのような役割を担っているか検証した。今後、本知見を発展させ、B型肝炎ウイルスキャリアに対する新たな免疫治療法の開発などに役立たせることができる。

研究成果の概要（英文）：Hepatitis B virus (HBV), which causes latent infection, chronic hepatitis, and even liver cancer, is a virus that persistently infects the liver, and there is no virus-specific treatment. In this study, we examined whether regulatory T cells, which are known to be the key in suppressing host immune responses, are involved in immunoregulation in the latent infection state of HBV.

By using a mouse model of HBV infection in which regulatory T cells can be selectively removed, we revealed that regulatory T cells are involved in maintaining the latent state of HBV

研究分野：免疫学

キーワード：B型肝炎ウイルス B型肝炎 免疫制御

1. 研究開始当初の背景

ヘパドナウイルス科 (Hepadnaviridae) に属する B 型肝炎ウイルス(HBV)は潜伏感染から、慢性肝炎、さらには肝癌を引き起こす。HBV 感染者は世界中で 20 億人、HBV 潜伏感染者は 3.5 億人、HBV 関連疾患での死亡者数は 50-70 万人にのぼる。HBV は感染患者の血液や精液などの体液を介してヒト-ヒト感染する。HBV に感染した患者は、不顕性感染となる場合が多いものの、一部の患者は急性肝炎を発症する。一方、インフルエンザウイルスなどの急性ウイルス感染症を引き起こす病原体とは異なり、HBV は肝細胞に潜伏感染することができる。特に出産時や幼児期に感染した患者は、免疫系が未熟であるが故に HBV の潜伏感染が起こりやすいことが知られている。しかし、潜伏感染がどのように維持され、どのような機序で肝炎・肝癌発症に至るのか、免疫学的に十分な解析は行われておらず、様々な課題が残されている。

本研究では、自己免疫抑制の要として知られる制御性 T 細胞が、HBV の潜伏感染状態からの病態発症に関与している可能性を検討することにした。

HBV の急性感染時に、抗ウイルス応答に伴う肝傷害を制御性 T 細胞が抑制するという報告(Stross et al. Hepatology 2012)はあるが、潜伏感染期における制御性 T 細胞の機能は解明されていない。制御性 T 細胞の「免疫抑制能」が HBV 潜伏感染から病態発症にどのように影響するのか、その詳細な機序を明らかにすることは、B 型肝炎・肝癌発症への予防・治療戦略の一助となるだろう。

2. 研究の目的

本研究では、B 型肝炎モデルマウスおよび、制御性 T 細胞を選択的に薬剤で除去できるモデルマウスを用いて、制御性 T 細胞が潜伏感染状態からの病態発症に及ぼす影響を明らかにすることにより、将来的には潜伏感染状態から肝炎・肝癌発症を抑制する新たな治療戦略の開発を目標とした。

3. 研究の方法

B 型肝炎モデルマウス(HBs-Tg マウス)の各種臓器における制御性 T 細胞の割合と、制御性 T 細胞の活性化や増殖に関する可能性のある様々な免疫細胞の割合を検証した。さらに、B 型肝炎モデルマウス(HBs-Tg マウス)および上述の制御性 T 細胞を薬剤選択的に除去可能な遺伝子改変マウス(Foxp3-DTR マウス)を掛け合わせ、薬剤選択的な制御性 T 細胞欠損 B 型肝炎モデルマウス(HBs-Foxp3-DTR マウス)の作出を試みた。

制御性 T 細胞の除去が肝炎、肝癌発症に影響を与えるか検証するために、作出した HBs-Foxp3-DTR マウスにジフテリア毒素を接種し、制御性 T 細胞の除去を試みた。制御性 T 細胞の除去条件を検証し、制御性 T 細胞が効率的に除去できる条件を決定した。その後の肝機能傷害マーカーを測定した。また、病理切片を作出し、病理解析やアポトーシス解析を行った。

4. 研究成果

HBs-Tg マウスの複数の臓器における制御性 T 細胞と様々な免疫細胞の割合を比較した。

HBs-Tg マウスは野生型マウスと比較して、特徴的な差は観察されなかった。一方で、各臓器における制御性 T 細胞とある種の免疫細胞の相関関係を解析したところ、興味深い結果が得られた（非公表）。

次に我々は、薬剤選択的に制御性 T 細胞を除去可能な HBs-Tg マウスの作出を試みた。制御性 T 細胞を薬剤選択的に除去できる Foxp3-DTR マウスと HBs-Tg マウスを掛け合わせ、ジフテリア毒素の注射によって制御性 T 細胞を除去できるマウスの作出に成功した。作出したマウスは血中に HBs 抗原を有し、また、一定濃度のジフテリア毒素を接種すると、制御性 T 細胞の割合を減少させることも確認できた。ジフテリア毒素の接種条件としては、2020 年度に我々の発表した成果(Shime and Odanaka et al. PNAS 2020)を参考に決定した。上記で決定した条件で、制御性 T 細胞を除去したマウスの肝臓の病理切片を解析した。また、制御性 T 細胞を除去後の肝機能傷害マーカーを測定したところ、興味深い結果が得られている(非公表)。

これまでの結果から制御性 T 細胞が B 型肝炎ウイルスの潜伏感染維持に関与している可能性を示唆するデータが得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Uraki Ryuta, Hastings Andrew K., Brackney Doug E., Armstrong Philip M., Fikrig Erol	4. 巻 4
2. 論文標題 AgBR1 antibodies delay lethal Aedes aegypti-borne West Nile virus infection in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 npj Vaccines	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41541-019-0120-x	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 該当する
1. 著者名 Okuda Moe, Yamayoshi Seiya, Uraki Ryuta, Ito Mutsumi, Hamabata Taiki, Kawaoka Yoshihiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Subclade 2.2.1-Specific Human Monoclonal Antibodies That Recognize an Epitope in Antigenic Site A of Influenza A(H5) Virus HA Detected between 2015 and 2018	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 321 ~ 321
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/v11040321	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 Hastings Andrew K., Uraki Ryuta, Gaitsch Hallie, Dhaliwal Khushwant, Stanley Sydney, Sproch Hannah, Williamson Eric, MacNeil Tyler, Marin-Lopez Alejandro, Hwang Jesse, Wang Yuchen, Grover Jonathan R., Fikrig Erol	4. 巻 93
2. 論文標題 Aedes aegyptiNeSt1 Protein Enhances Zika Virus Pathogenesis by Activating Neutrophils	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.00395-19	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 該当する
1. 著者名 Uraki Ryuta, Hastings Andrew K., Marin-Lopez Alejandro, Sumida Tomokazu, Takahashi Takehiro, Grover Jonathan R., Iwasaki Akiko, Hafler David A., Montgomery Ruth R., Fikrig Erol	4. 巻 4
2. 論文標題 Aedes aegypti AgBR1 antibodies modulate early Zika virus infection of mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Microbiology	6. 最初と最後の頁 948 ~ 955
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41564-019-0385-x	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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Uraki Ryuta, Hastings Andrew K., Marin-Lopez Alejandro, Sumida Tomokazu, Takahashi Takehiro, Grover Jonathan R., Iwasaki Akiko, Hafler David A., Montgomery Ruth R., Fikrig Erol
2. 発表標題 ネッタイシマカ AgBR1 蛋白質に対する抗体はジカウイルスの蚊-哺乳類間伝播・感染を抑制する.
3. 学会等名 第190回日仏生物学会例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦木隆太
2. 発表標題 ジカウイルスの蚊 - 哺乳類間伝播モデルの確立とその応用研究
3. 学会等名 第8回 実験動物科学シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Uraki Ryuta, Hastings Andrew K., Marin-Lopez Alejandro, Sumida Tomokazu, Takahashi Takehiro, Brackney Doug E., Armstrong Philip M., Grover Jonathan R., Iwasaki Akiko, Hafler David A., Montgomery Ruth R., Fikrig Erol
2. 発表標題 Aedes aegypti salivary protein AgBR1 antibodies protects mice from mosquito-borne flavivirus infection by modulating local inflammatory responses
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Uraki Ryuta, Hastings Andrew K., Marin-Lopez Alejandro, Sumida Tomokazu, Takahashi Takehiro, Grover Jonathan R., Iwasaki Akiko, Hafler David A., Montgomery Ruth R., Fikrig Erol
2. 発表標題 Aedes aegypti salivary protein AgBR1 antibodies protects mice from mosquito-borne Zika virus infection by modulating local inflammatory responses
3. 学会等名 第48回日本免疫学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦木隆太
2. 発表標題 ネッタイシマカAgBR1蛋白質に対する抗体はジカウイルスの伝播・感染を抑制する
3. 学会等名 名古屋市立大学医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦木隆太
2. 発表標題 ネッタイシマカの唾液腺蛋白質AgBR1に対する抗体はフラピウイルスの蚊・哺乳類間伝播・感染を抑制する
3. 学会等名 新学術領域研究「ネオ・セルフの生成・機能・構造」 第3回 若手の会（第6回 領域班会議）
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
研究協力者	山崎 小百合 (Yamazaki Sayuri)		
研究協力者	田中 靖人 (Tanaka Yasuhito)		
研究協力者	五十川 正記 (Isogawa Masanori)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	今井 優樹 (Imai masaki)		
研究協力者	志馬 寛明 (Shime Hiroaki)		

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