

機関番号：81303

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590713

研究課題名 (和文) 培養 HCV を用いた肝免疫環境の構築と新規免疫治療の検証

研究課題名 (英文) Analysis of immunological reaction in liver using JFH-1 and establishment of novel therapy

研究代表者

椎名 正明 (SHIINA MASAOKI)

地方独立行政法人宮城県立がんセンター (研究所) ・がん先進治療開発研究部 ・  
共同研究員

研究者番号：50455820

研究成果の概要 (和文)：

われわれは HCV 感染において、コーヒーが HCV の肝線維化に与える影響を検討した。その結果、コーヒーは、培養 HCV 系における作用は明らかにならなかったが、星細胞に起因する肝線維化を抑制する可能性があることが判明した。このような繊維化は、細胞内ストレスを抑制することでも、抑えられることが従来より知られている。現在、肝細胞における HCV 感染が引き起こす細胞内ストレスを制御するために、Nrf2-Keap1 系に着目し、ノックダウン細胞を樹立して HCV 感染に由来する細胞内ストレスの変化を検討中である。

研究成果の概要 (英文)：

We analyzed the effect of coffee in liver fibrosis induced by HCV infection. Results: 1) It was not unclear whether coffee can affect the proliferation of HCV *in vitro*. 2) Coffee may suppress the liver fibrosis induced by stellate cells. Because it was reported that intracellular stress could be induced by HCV infection, we investigate the role of Nrf2-Keap1 system, known as an antioxidant pathway, in HCV-infected cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
総計	2,900,000	820,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：肝臓学

## 1. 研究開始当初の背景

C型慢性肝炎治療の第一選択は、インターフェロンを用いた抗HCV治療により、HCV排除を目指すことである。HCV排除が不能な場合は、肝庇護療法を行うことにより、肝炎進展を予防する。ペグインターフェロン・リバビリン併用治療は、約60%のウイルス排除率を達成するようになった。一方で、投与法の工夫によっても、HCVが排除されない、いわゆる「難治例」が残こされている。その一因として、C型肝炎の病態が十分に解明されていないことが挙げられる。生活習慣や嗜好は、様々な疾患のリスクと関連している。近年、コーヒー飲用が肝炎の進行や肝癌発症のリスクを下げているという報告が相次いでいる。C型肝炎ウイルス(HCV)の持続感染では、自然経過で肝硬変や肝癌へと進行する。C型肝炎の治療では、インターフェロン(IFN)を主軸とした治療法の改良により、50%の患者ではHCV排除が得られるようになったが、一方で、IFN以外では、HCVや肝炎に有効な薬剤はあまり存在しないのが現状である。

## 2. 研究の目的

今回、われわれはHCV感染において、コーヒーがHCVの肝線維化に与える影響を検討した。

## 3. 研究の方法

肝細胞株Huh7にHCV株JFH-1を感染させ、クロロゲン酸、カフェインを培養上清中に添加し、上清に放出されるHCV-RNA量・サイトカイン・細胞内mRNA量を検討した。

## 4. 研究成果

Huh7細胞からのHCV産生は、高濃度のクロロゲン酸により阻害された。また、クロロゲン酸は細胞増殖を誘導したが、カフェインでは認めなかった。LX2細胞のLPS刺激では、クロロゲン酸は培養上清中のTGFβ産生を抑制したが、カフェインではみられなかった。一方、細胞内MMP2, MMP9のmRNA発現は、両薬剤により抑制された。コーヒーは、培養HCV系における作用は不定であるが、星細胞に起因する肝線維化を抑制する可能性がある。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

- ① Tamai K, Shiina M, Tanaka N, Nakano T, Yamamoto A, Kondo Y, Kakazu E, Inoue J, Fukushima K, Sano K, Ueno Y, Shimosegawa T, Sugamura K. Regulation of hepatitis C virus secretion by the Hrs-dependent exosomal pathway. *Virology*. 2012 Jan 20;422(2):377-85. doi: 10.1016/j.virol.2011.11.009.
- ② Suzuki S, Tamai K, Watanabe M, Kyuuma M, Ono M, Sugamura K, Tanaka N. AMSH is required to degrade ubiquitinated proteins in the central nervous system. *Biochem*

- Biophys Res Commun. 2011 May 20;408(4):582-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.04.065.
- ③ Saeed M, Shiina M, Date T, Akazawa D, Watanabe N, Murayama A, Suzuki T, Watanabe H, Hiraga N, Imamura M, Chayama K, Choi Y, Krawczynski K, Liang TJ, Wakita T, Kato T. In vivo adaptation of hepatitis C virus in chimpanzees for efficient virus production and evasion of apoptosis. Hepatology. 2011 Aug;54(2):425-33. doi: 10.1002/hep.24399.
- ④ Kondo Y, Ueno Y, Kakazu E, Kobayashi K, Shiina M, Tamai K, Machida K, Inoue J, Wakui Y, Fukushima K, Obara N, Kimura O, Shimosegawa T. Lymphotropic HCV strain can infect human primary naïve CD4+ cells and affect their proliferation and IFN-γ secretion activity. J Gastroenterol. 2011 Feb;46(2):232-41. doi: 10.1007/s00535-010-0297-2.
- ⑤ Tamai K, Tanaka N, Nakano T, Kakazu E, Kondo Y, Inoue J, Shiina M, Fukushima K, Hoshino T, Sano K, Ueno Y, Shimosegawa T, Sugamura K. Exosome secretion of dendritic cells is regulated by Hrs, an ESCRT-0 protein. Biochem Biophys Res Commun. 2010 Aug 27;399(3):384-90. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.07.083.
- ⑥ Kimura O, Takahashi T, Ishii N, Inoue Y, Ueno Y, Kogure T, Fukushima K, Shiina M, Yamagiwa Y, Kondo Y, Inoue J, Kakazu E, Iwasaki T, Kawagishi N, Shimosegawa T, Sugamura K. Characterization of the epithelial cell adhesion molecule (EpCAM)+ cell population in hepatocellular carcinoma cell lines. Cancer Sci. 2010 Oct;101(10):2145-55. doi: 10.1111/j.1349-7006.2010.01661.x.
- ⑦ Kondo Y, Ueno Y, Kobayashi K, Kakazu E, Shiina M, Inoue J, Tamai K, Wakui Y, Tanaka Y, Ninomiya M, Obara N, Fukushima K, Ishii M, Kobayashi T, Niitsuma H, Kon S, Shimosegawa T. Hepatitis B virus replication could enhance regulatory T cell activity by producing soluble heat shock protein 60 from hepatocytes. J Infect Dis. 2010 Jul 15;202(2):202-13. doi: 10.1086/653496.
- [学会発表] (計 4 件)
- ① 玉井恵一, 田中伸幸, 上野義之, 下瀬川徹, 菅村和夫. Hrs 依存性エクソゾーム経路による HCV 放出制御. 第 69 回日本癌学会学術総会. 2010 年 9 月 22-24 日, 大阪.
- ② 玉井恵一, 田中伸幸, 上野義之, 下瀬川徹, 菅村和夫. HCV 感染における小胞輸送タンパク Hrs の役割. 第 64 回日本細菌学会東北支部総会. 2010 年 8 月 20 日, 仙台.

③ 嘉数英二, 上野義之, 福島耕治, 近藤泰輝, 椎名正明, 井上淳, 玉井恵一, 小原範之, 木村修, 涌井祐太, 下瀬川徹. 非代償性肝硬変のアミノ酸 imbalance は樹状細胞の成熟化を抑制し、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) により改善する. 静脈経腸栄養. 2010年2月25日, 東京.

④ Tamai K, Shiina M, Kondo Y, Kakazu E, Inoue J, Fukushima K, Ueno Y, Tanaka N, Shimosegawa T, Sugamura K. Regulation of hepatitis C virus secretion by the Hrs-dependent exosomal pathway. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Sep. 10-14, 2010, Yokohama, Japan

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

椎名 正明 (SHIINA MASAOKI)  
地方独立行政法人宮城県立がんセンター  
(研究所)・がん先進治療開発研究部・  
共同研究員  
研究者番号：50455820

### (2) 研究分担者

小林 光樹 (KOBAYASHI KOJU)  
栗原市立栗原中央病院・院長  
研究者番号：30250781

### (3) 連携研究者

玉井 恵一 (TAMAI KEIICHI)  
地方独立行政法人宮城県立がんセンター  
(研究所)・がん先進治療開発研究部・  
主任研究員  
研究者番号：40509262