

論文内容要旨

Interferon alpha treatment stimulates interferon gamma expression in type I NKT cells and enhances their antiviral effect against hepatitis C virus

(IFN- α は I 型 NKT 細胞の IFN- γ 発現を促進し、
C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス効果を増強する)

PLOS ONE,12 (3):e0172412,2017.

主指導教員：茶山 一彰 教授
(応用生命科学部門 消化器代謝内科学)

副指導教員：田妻 進 教授
(広島大学病院 総合診療医学)

副指導教員：伊藤 公訓 准教授
(応用生命科学部門 消化器代謝内科学)

宮木 英輔

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景と目的】近年、C型肝炎ウイルス（hepatitis C virus : HCV）に対する直接作用型抗ウイルス薬（direct-acting antiviral : DAA）が開発され、C型慢性肝炎患者に対する抗ウイルス効果は著明に改善した。一方、DAAは耐性ウイルスを有する場合には治療効果が低下すること、ウイルス排除が得られなかった場合、より強力な耐性ウイルスが獲得されることが問題であり、これらの患者には従来のインターフェロン（interferon : IFN）も治療選択肢となる。IFNは、肝細胞表面にあるIFN受容体に結合しIFN誘導遺伝子を発現させることにより、HCVの複製阻害効果を発揮する。一方、IFN- α によって活性化される免疫細胞には、NK細胞、T細胞、T細胞抗原レセプターとNK細胞レセプターを共発現するNKT細胞が知られている。IFNは、これら免疫細胞を活性化し、活性化した免疫細胞が様々なサイトカインを産生することによっても抗ウイルス効果を発揮すると考えられている。しかし、HCV感染におけるIFN投与後の生体の免疫応答ならびにNKT細胞の役割については明らかではない。本研究はHCV感染モデルマウスを用いて、IFN投与後の免疫応答細胞の活性化および抗HCV効果の機序を明らかにすることを目的とする。

【方法】マウス肝臓が高度にヒト肝細胞に置換されたuPA-SCIDマウスにHCV感染血清を接種し、HCV感染マウスを作製した。マウス血中HCV RNAが 10^6 - 10^7 copy/mLに達した後、健康者から比重遠心法により分離したヒト末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell : PBMC） 2×10^7 個を隔日で2回腹腔内投与後、1,000 IU/gのIFN- α を7日間連続筋肉注射した。PBMCを投与せずIFN- α のみを投与したIFN- α 単独投与群、およびヒトPBMC+IFN- α 併用群において、経時的に血中HCV RNA量（real-time PCR）、ヒトアルブミン値（ELISA）、alanine aminotransferase（ALT）値を測定し、さらにサイトカイン assayにて12種類のサイトカインを測定した。またマウス肝還流液中のヒトPBMCの表現型についてFACSを用いて解析した。

【結果】1週間のIFN- α 投与によりマウス血中HCV RNA量は 1.3 ± 0.5 log copy/mL低下した。一方、ヒトPBMC投与を併用したヒトPBMC+IFN- α 併用群での、血中HCV RNA低下量は 3.1 ± 1.2 log copy/mLであり、IFN- α 単独群に比べ有意に高度であった（ $p < 0.01$ ）。ヒトPBMCあるいはIFN- α の投与によっても、マウス血中ヒトアルブミン値の低下やALT値の上昇は認めず、組織学的にも肝細胞障害の所見は認められなかった。ヒトPBMCあるいはIFN- α 投与後、サイトカイン assayにてマウス血中ヒトIFN- γ の上昇が認められた。血中IFN- γ 濃度はIFN- α 単独群では、4日後は感度以下、7日後に 501 ± 203 pg/mLであったが、ヒトPBMC+IFN- α 併用群では4日後 $1,421 \pm 612$ 、7日後 611 ± 221 pg/mLと高値であった。マウス肝還流液中のヒトPBMCを解析したところIFN- γ 産生細胞はCD3⁺CD56⁺NKT細胞、特にV α 24⁺V β 11⁺ type I NKT細胞であった。IFN- γ の役割を解明するため、抗IFN- γ 抗体をヒトPBMC投与前日に投与しIFN- γ の作用を阻害したところPBMC+IFN- α 併用による抗HCV効果の増強はキャンセルされた。また、MACSを用いてtype I NKT細胞を除いたヒトPBMCを投与した場合、ヒトPBMC+IFN- α 併用投与による抗HCVの増強は認められなかった。これらの結果は、IFN- α 投与後、type I NKT細胞が産生するIFN- γ が抗HCV効果に重要な役割を果たしていること

を示すものと思われた。

【結論】HCV感染マウスにヒト PBMC および IFN- α を投与することにより、IFN- α は肝細胞に直接作用し抗 HCV 効果を発揮するのみならず、type I NKT 細胞を活性化させ、活性化した type I NKT 細胞が IFN- γ を産生することにより、抗 HCV 効果を増強することが見いだされた。また NKT 細胞を標的としてこれを活性化させる治療は、既存の抗ウイルス薬では治療困難な C 型慢性肝炎例に対して有効な治療法となる可能性があると思われた。