

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	宮木 英輔
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主 査 教 授	坂 口 剛 正	印	
審査委員 教授	田 中 純 子		
審査委員 教授	菅 野 雅 元		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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これらの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して行った。</p> <p>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感染患者血清を接種し、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、健常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</p>			

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。

1 週間の IFN- α 単独投与によりマウス血中 HCV RNA 量は $1.3 \pm 0.5 \log \text{ copy/mL}$ 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 $3.1 \pm 1.2 \log \text{ copy/mL}$ 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 $501 \pm 203 \text{ pg/mL}$ 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 $611 \pm 221 \text{ pg/mL}$ 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考えられた。

以上の結果から、本論文は 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を示し、NKT 細胞を標的としてこれを活性化させる治療が、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を明らかにした点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	宮木 英輔
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
<p>論文題目</p> <p>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)</p>			
<p>最終試験担当者</p> <p>主 査 教 授 坂 口 剛 正 印</p> <p>審査委員 教 授 田 中 純 子</p> <p>審査委員 教 授 菅 野 雅 元</p>			
<p>[最終試験の結果の要旨]</p> <p style="text-align: center;">判 定 合 格</p> <p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年2月1日の第73回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年2月5日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 Type1、type2 NKT cell の HCV 感染の自然経過における変動 2 IFNα 投与後の IFNγ 陽性細胞の内訳 3 肝内の NKT と末梢血の NKT の差異 4 DAA 時代の IFN 治療の役割 5 耐性変異を有する HCV の増殖能力と IFN 応答 6 ヒト血球移入時の GVHD の起こり方 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			