



Title	Comparative analyses of regulatory T cell subsets in patients with hepatocellular carcinoma : A crucial role of CD25-FOXP3-T cells
Author(s)	垣田, 成庸
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59828
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	垣 田 成 庸
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 5 6 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 5 月 16 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Comparative analyses of regulatory T cell subsets in patients with hepatocellular carcinoma: A crucial role of CD25-FOXP3-T cells (肝細胞癌患者における制御性T細胞サブセットの比較検討: CD25-FOXP3-T細胞の重要な意義について)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 竹原 徹郎 (副査) 教 授 松浦 善治 教 授 熊ノ郷 淳

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕 制御性T細胞 (Treg) は癌を含む各種疾患でその疾患活動性や病態形成に関与する。TregにはCD127陰性を特徴とする抑制細胞サブセットが存在するが、C型慢性肝疾患における意義は明らかでない。本研究ではC型慢性肝疾患のTreg頻度・機能を解析し、Tregの肝発癌過程への関与と治療効果、再発との関連性の解明を目的とした。またTregサブセットのひとつであるTr1細胞の誘導機序を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕 C型慢性肝炎 (CH群)、C型肝硬変 (LC群)、C型肝細胞癌患者 (HCC群) とHCV陰性者 (HS群) を対象とした。末梢血でのCD4+CD25+CD127-FOXP3+(nTreg)、CD4+CD25-CD127-FOXP3-(Tr1)細胞のregulatory markerのmRNAと頻度を解析した。HCC群のうちRFAによる治療前後のTreg頻度を解析し、治療後に再発した症例では経過中の頻度の推移を解析した。またC型慢性肝疾患の各StageにおけるCD4+CD25+CD127-(CD25+Treg)、CD4+CD25-CD127-(CD25-Treg)細胞の抑制機能をalloのT細胞との共培養にて検討し、中和抗体 (抗IL-10抗体、抗TGF-β抗体) とtranswell-cultureによる抑制機能の変化についても検討した。またnaive CD4+CD25-T細胞よりHCC cell line (HuH7) の存在下で誘導されるCD4+CD25-CD127-FOXP3-IL10+(Tr1)細胞の頻度を検討し、中和抗体 (抗TGF-β抗体、抗HLA-DR抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗IL-T4抗体) やtranswell-cultureにおいて誘導されるTr1細胞の頻度変化について検討した。

C型慢性肝疾患各StageとHS群におけるCD4+CD25+CD127-(CD25+Treg)、CD4+CD25-CD127-(CD25-Treg)細胞の機能関連分子のmRNAは、FOXP3、CTLA-4、GITRにおいてCD25+Tregで、またLAG-3、IL-21、c-Maf、PD1でCD25-Tregで、有意に発現していた。CD4+T細胞中のnTreg細胞の頻度は、HCC群はCH群に比して有意に高く ($P < 0.05$) 他の群間に有意な差は認めなかったが、Tr1細胞の頻度は、HCC群は他群に比して有意に高かった ($P < 0.001$)。RFA治療で抗腫瘍効果を得た症例では特にTr1頻度が低下し、再発した症例ではnTreg、Tr1頻度が増加する傾向を認めた。CD4+CD25-T細胞との共培養においてCD25+Treg、CD25-Treg細胞は、濃度依存性にT細胞の増殖を抑制したが、C型慢性肝疾患の各Stage間で單一細胞あたりの抑制能に有意な差はなかった。また抗IL-10抗体・抗TGF-β抗体の添加でCD25+Treg、CD25-Treg細胞のT細胞増殖抑制能は減ぜられた。またtranswell-cultureでCD25+Treg細胞のT細胞増殖抑制機能は減ぜられた。以上より各細胞の抑制機序は、Tr1はcytokine-dependent/contact-independent、nTregはcytokine-dependent

contact-dependentであることが示唆された。また肝癌細胞株、樹状細胞の存在下naive CD4+CD25-T細胞より誘導されるTr1細胞の頻度は、IL-10の除去や抗TGF-β抗体で減少したが、抗PD-L1抗体や抗IL-T4抗体の添加で強く抑制された。またtranswellにてnaiveCD4+CD25-T細胞とHCC cell lineの接触をblockした場合にTr1細胞の誘導が抑制された。

〔総括〕 C型慢性肝疾患においてTregの増加と肝癌の発症に関連を認めた。HCCに対する治療効果とTregの増減に関連性を認め特にTr1は発癌との関連がnTregより強かった。またTr1細胞の誘導において、液性因子 (TGF-βやIL-10など) と細胞間のcontact (特にT細胞と肝癌細胞株間) の関与を認め、肝細胞癌の病態メカニズムを解明する一助となることが示唆された

論文審査の結果の要旨

制御性T細胞 (Treg) は免疫抑制細胞として、癌を含む各種疾患でその疾患活動性や病態形成に関与するが、C型慢性肝疾患における意義は明らかでない。またC型肝細胞癌の発症、再発に、Tregなどの免疫抑制細胞の増加の関与が明らかになれば、Tregの抑制は肝癌に対する免疫反応を増強し、発癌や再発予防に繋がる可能性がある。本論文では、Tregサブセットの一つである末梢誘導性のTr1 (CD4+CD25-CD127-FOXP3-IL10+) が、胸腺誘導性のnatural-occurring Tregより肝癌の病態や肝癌治療効果、再発過程などに強く関与する事、かつその分化誘導系を確立した上でTr1誘導の責任分子としてILT4、PDL1、HLA-Gが関与することを解明した。この業績は肝細胞癌の免疫学的治療介入の確立につながる点が独創的であり、博士 (医学) の学位授与に値する。