



Title	Frequency and role of NKp46 and NKG2A in hepatitis B virus infection
Author(s)	吉岡, 鉄平
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67033
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		吉岡 鉄平	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	竹 原 徹 郎
	副 査	大阪大学教授	梁 木 亮 実
	副 査	大阪大学教授	仁 田 啓 次
論文審査の結果の要旨			
NK細胞の活性化はNK細胞レセプターによって制御されているが、B型肝炎ウイルス (HBV) 感染におけるその意義は未だ明らかにされていない。B型慢性肝炎患者 (CHB) 71例、健康者37例において、末梢血NK細胞における活性型レセプターNKp46及び抑制型レセプターNKG2Aの発現を検討すると、いずれも高ウイルス血症患者で増加していた。In vitroの検討で、HBV関連蛋白発現肝癌細胞株 (HepG2. 2. 15) では親株 (HepG2) よりもNKp46-ligandの発現が亢進していた。NK細胞との共培養でNKp46を阻害すると、HepG2との共培養ではNK細胞機能は変化しなかったが、HepG2. 2. 15との共培養ではNK細胞活性の著明な低下を認めた。また、本検討で同定されたNKp46^{high}NKG2A^{high}NK細胞はTRAIL、STAT1、Fas-ligand及びCD107aの発現が亢進する一方で、IFN-γの発現が低下していた。本分画の頻度は高ウイルス血症患者で増加し、血清ALT及びHBV DNA値と正の相関を認めた。 本研究では、NKp46とそのリガンド及びNKp46^{high}NKG2A^{high}NK細胞の発現がHBV感染におけるNK細胞活性に関連し、その病態形成に寄与している可能性が示された。これらの結果は、明確にされていないHBV感染におけるNK細胞の役割の一部を明らかにしており、学位に値すると考えられた。			

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	吉岡 鉄平
論文題名 Title	Frequency and role of NKp46 and NKG2A in hepatitis B virus infection (B型肝炎ウイルス感染におけるNKp46とNKG2Aの頻度と役割)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 B型肝炎ウイルス(HBV)感染症は世界で3億人が罹患していると推定されており、肝硬変や肝細胞癌の主要な原因の一つであり、世界的に重大な問題である。HBV感染症には免疫寛容期、ウイルス排除期、再活性化と多彩な臨床病期があり、宿主の自然免疫応答がその病態形成に重要な役割を果たしている。自然免疫の中でも主要な役割を果たすナチュラルキラー(NK)細胞は、感染細胞に対する傷害活性とともにインターフェロン(IFN)-γを産生し、適応免疫への橋渡しを行っている。NK細胞活性は活性化型・抑制型レセプターのバランスによって制御されているが、その関与は未だ不明である。本研究ではHBV感染におけるNK細胞の関与を、活性化型レセプターNKp46と抑制型レセプターNKG2Aに着目して解析した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 B型慢性肝炎患者71例、健康者37例を対象とし、末梢血単核球におけるCD3/CD56/活性化型レセプターNKp46/抑制型レセプターNKG2Aの発現をフローサイトメトリーで解析した。CHBは血中のウイルス量 4 log copies/mlを基準とし、無治療高ウイルス群24例、無治療低ウイルス群28例、核酸アナログ投与群19例 に分類した。高ウイルス群では健康者/低ウイルス群/核酸アナログ投与群に比べて、リンパ球中のNK細胞の頻度が少なく、NKp46及びNKG2Aの発現が亢進していた。NKp46のリガンド (NKp46-ligand) を検討するために、肝癌細胞株HepG2及びHuh6とこれらを親株としてHBV関連蛋白を強制発現させたHepG2.2.15及びHB611を用いて検討を行った。ヒトIgG1とNKp46の融合蛋白を用いてNKp46-ligandの発現をフローサイトメトリーで解析すると、HepG2.2.15及びHB611でNKp46-ligandの発現が亢進していた。NKp46-ligandの役割を検討するために、NK細胞とHepG2及びHepG2.2.15の共培養の際にNKp46の中和抗体を添加した。するとNKp46-ligandの発現が乏しいHepG2との共培養ではNK機能は細胞傷害活性・IFN-γ産生能ともに中和抗体添加群でも変化しなかった。その一方で、NKp46-ligandが発現しているHepG2.2.15では中和抗体投与により細胞傷害活性及びIFN-γ産生能の低下を認めた。NKp46とそのligandの経路が、HBV感染におけるNK細胞の活性化に関連していることが示された。 また無治療B型慢性肝炎患者52例において、NKp46とNKG2Aの発現は正の相関があり、NKp46とNKG2Aが共に高発現となるNK細胞亜分画が存在した(NKp46^{high}NKG2A^{high}亜分画)。本亜分画の頻度は高ウイルス群で亢進し、血中ALT値及びHBV DNA値と正の相関を認めた。また、NKp46とNKG2Aの発現から、NKp46^{high}NKG2A^{high}亜分画以外のNK細胞をNKp46⁻NKG2A⁻亜分画、NKp46⁻NKG2A⁺亜分画、NKp46⁺NKG2A⁻亜分画及びNKp46⁺NKG2A⁺亜分画に分けて解析したが、これらの亜分画の頻度と臨床データには関連がなかった。NKp46^{high}NKG2A^{high}亜分画はその他の亜分画と比べてTRAIL/STAT1/FasLの遺伝子発現が高く、IFN-γの遺伝子発現が低かった。NK細胞感受性白血病細胞株K562との共培養によるNK細胞機能解析でも、本亜分画において脱顆粒マーカーCD107aが高く、細胞内IFN-γの発現が低かった。この点はウイルス性肝炎において報告されているNK細胞機能の二面性、すなわち細胞傷害活性が亢進し肝障害に関連する一方でIFN-γの産生能が低下し持続感染に関連しているという点と矛盾ない結果であった。さらに、NKp46^{high}NKG2A^{high} 亜分画はその他の亜分画よりも活性化CD4あるいはCD8⁺T細胞を傷害し、適応免疫への橋渡しを阻害している可能性が示唆された。 〔総括(Conclusion)〕 HBV感染状態でNKp46及びNKp46-ligandの発現が高く、NK細胞の活性化に関与していた。高い細胞傷害活性と低いIFN-γ産生能を特徴とするNKp46^{high}NKG2A^{high}亜分画は高ウイルス群でその頻度が亢進し、肝障害とHBV複製と関連がある可能性が示唆された。	