

総括研究報告書

1. 研究開発課題名: 多機能幹細胞を用いた自然免疫再構築による肝炎治療法の開発と臨床応用
2. 研究開発代表者: 大段 秀樹(広島大学大学院医歯薬保健学研究院 消化器・移植外科学)
3. 研究開発の成果

我々は、未成熟 NK 細胞を IL-2 により賦活化することで、CD81 を介した抑制機構に抵抗性を示し、強い HCV 複製抑制効果を誘導し得ることを確認した(特許第 5696317 号)。さらに、造血幹細胞や iPS 細胞から抗 HCV 効果を有する NK 細胞の誘導に成功した。本研究では、これまで蓄積した多機能幹細胞を用いた自然免疫再構築の技術を応用して、副作用が少なく、耐性変異出現と発癌を防ぎ得る HCV 根治療法の確立と臨床研究の開始を目標として基礎研究および臨床解析を行った。

1. 新たな自然免疫機構の解明

a) iPS 誘導性 NK 細胞の誘導効率の検討

ヒト線維芽細胞由来 iPS 細胞からの NK 細胞への 2 段階分化培養誘導によって、IFN- γ の産生能を有する誘導 NK 細胞に HCV の増幅抑制が確認できた。また、新たな iPS 細胞 7 クロウンを樹立した。

b) 不死化ヒト肝細胞株を用いた新規抗 HCV 療法の機序解析

ヒト不死化肝細胞において HCV タンパク質により発現誘導する自然免疫応答関連遺伝子を探索し、NKG2D リガンドの一つである ULBP1 遺伝子の発現亢進が、NK 細胞の HCV 感染細胞の認識に関与する可能性を確認した。

c) 肝臓内抗原提示細胞による HCV 抗原提示機能の解明

肝内マクロファージが感染肝細胞を貪食する際に、抑制的 SIRP α -CD47 システムが作用することを解明した。また、HCV 感染を受けた肝細胞の貪食細胞による排除に、CD47-SIRP α 系阻害抗体が有効である可能性を解明した。

2. 臨床応用への橋渡し研究および臨床研究

a) KIR/HLA の遺伝子多型と HCV 増幅機構の関連解析

KIR/HLA の遺伝子多型解析により、肝臓癌患者において非 HCV 感染者では高応答性 NK 細胞保持者が、低応答性 NK 細胞保持者に比べ再発リスクが有意に低い一方、HCV 感染例では licensing の癌再発との関連を認めず、HCV による NK 細胞機能抑制が癌再発と関連する事を確認した。

b) CD34⁺血液幹細胞誘導 NK 細胞の誘導効率および機能解析

骨髄および末梢血由来 CD34⁺細胞からの誘導 NK 細胞は、HCV 増幅抑制能および感染抑制能に加え、抗 HCC 活性を有することを確認した。

c) ヒト肝細胞キメラマウスを用いた IFN による免疫応答の解析

HCV 感染ヒト肝細胞移植マウスに、ヒト末梢血単核球を移入後、IFN- α を投与することにより NKT 細胞が活性化され、IFN- γ を介して抗ウイルス効果を増強することを確認した。

d) NK 細胞移入療法による抗癌/HCV 効果

広島大学における NK 細胞療法の臨床試験に登録された生体肝移植 25 症例を解析した。全例でグレード 3 以上の投与関連有害事象を認めず、 270×10^6 個/個体以上の高用量投与群において良好な無再発生存率を示す傾向を認めた。また、case control stud では、術後病理学的にミラノ基準外となる再発危険症例で、NK 療法群の無再発生存率が有意に良好であった。米国マイアミ大学との共同研究(Clinical Trials.gov #NCT01147380)では、脳死肝移植 18 症例が登録された。その結果、脳死肝移植に対しても、NK 細胞療法の安全性が確認され、36 か月観察において癌無再発生存率は 100%であった。再生医療等安全性確保法に従い、「感染症予防を目的とした肝臓移植におけるドナー肝臓由来活性化 NK 細胞移入療法を用いた術後免疫賦活療法の臨床研究」として、2015 年 11 月に厚生労働大臣の承認を得た。