

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： HBV cccDNA の制御と排除を目指す新規免疫治療薬の開発
2. 研究開発代表者： 金子 周一（金沢大学医薬保健研究域医学系）
3. 研究開発の成果

H25、26 年度までに、計画した cccDNA の動態と、免疫状態を明らかにする研究は計画通りに進捗し、ペプチドワクチン療法、サイトカイン療法、TCR を用いた免疫治療法の基礎検討が計画通りにすすめられた。H27 年度の研究成果を研究者ごとに下記に示した。

- ・研究開発代表者(金子周一) 核酸アナログによる肝臓内の免疫応答遺伝子の動態は HBcr 抗原の量と相関していた。HBcr 抗原陽性例においては HNF4、Sp1、LRH1 など HBV の転移促進因子の発現亢進がみられた。
- ・研究開発分担者(今村道雄) 高容量のインターフェロンとエンテカビルを投与することにより、ヒト肝細胞キメラマウスにおける肝内 cccDNA は減少した。ヒト肝細胞移植 TK-NOG マウスにヒトリンパ球を用いて免疫再構築を行い、重症肝炎モデルマウスの系を作製した。アバタセプトが重症肝炎に有効であった。
- ・研究開発分担者(中本安成) B 型慢性肝炎マウスモデルの解析からケモカイン CCL5 が肝細胞内の STAT3 をリン酸化してウイルス産生 (HBsAg) を抑制する可能性が示唆された。
- ・研究開発分担者(橋本真一) ヒストンアセチル化阻害剤である SAHA 及びエピジェネティック薬剤と相乗効果がある抗 HIV 薬、prostratin が HBV DNA の量を低下させた。Single cell 解析により、HBV に感染している細胞に特異的に変動している遺伝子を同定した。
- ・研究開発分担者(大石尚毅) HBx により発現が誘導される遺伝子群を同定し、その遺伝子群を用いた転写因子解析により 6 個の転写因子を HBx 関連活性化転写因子と同定した。KDM5B は特異的に活性化されている転写因子であり、ヒストンメチル化の修飾により HBV の複製を制御していた。
- ・研究開発分担者(石川哲也) K タイプの CpG-oligodeoxynucleotide である K3、あるいは K3 に Schizophyllan を結合させた K3-SPG をアジュバントとして用いることによって、高い HBs 抗体価、HBs-CTL の誘導能、樹状細胞比率の上昇が確認された。
- ・研究開発分担者(考藤達哉) 樹状細胞は NK 細胞の HBV 複製抑制効果を増強し、NK 細胞は Endosome/MyD88 依存性に HBV を認識していた。STING のアゴニスト (cGAMP) を添加することによって HBV 複製を強く抑制した。
- ・研究開発分担者(高橋 健) HBV を感染させた iPS-Hepa 細胞と NTCP 発現 HepG2 細胞を用いた RNA-seq を行い、cccDNA 感染細胞内で生じる自然免疫系遺伝子の発現変化を解析した。
- ・研究開発分担者(加藤孝宣) NK 細胞による HBV 感染細胞に対する細胞障害を評価する系を構築した。遺伝子型 A の株を導入した HepG2 細胞では誘導される細胞死が抑制されていた。
- ・研究開発分担者(村口 篤) HBV core タンパク質由来ペプチドを用いて HBV 感染患者由来末梢血リンパ球を刺激し TCR を取得した。取得した TCR が細胞傷害活性を示すことを確認した。
- ・研究開発分担者(池田裕明) 非自己のリンパ球は宿主の骨髄破壊を起こすこと、開発した siTCR ベクターを用いることにより骨髄破壊が防がれることを示した。NY-ESO-1 特異的 TCR 遺伝子は極めて効果的な TCR 遺伝子であることが示された。
- ・研究開発分担者(山本拓也) 新規アジュバント K3-SPG を班員に提供する事で B 型肝炎治療法としての有用性の評価を推進した。K3 CpG-ODN をカニクイザルへ投与することで自然免疫応答ならびに安全性の検討を行った。
- ・研究開発分担者(水腰英四郎) HBV genotype C のアミノ酸配列を基に作製したペプチドにおいて同エピトープと HBV 遺伝子変異との関連を明らかにした。このペプチドワクチンの安全性、免疫誘導効果をマウスモデルにおいて確認した。