



2024年10月9日

分野: 生命科学・医学系

キーワード: B型肝炎ウイルス、TLR7、免疫疲弊、マウスモデル、HBV

免疫を標的とした B 型肝炎の創薬へ B 型肝炎慢性化に関わる免疫の変化を発見 —TLR7 を標的とした治療開発に期待—

【研究成果のポイント】

- ◆ B型肝炎ウイルスが持続感染した場合に、生体内の免疫がどのように変化するのかについて観察できるマウスモデルの開発に成功
- ◆ B型肝炎の慢性化に細胞傷害性 T 細胞^{※1}の疲弊^{※2}が関与していることを同定
- ◆ 新規 Toll 様受容体 7(TLR7)^{※3} 作動薬 SA-5 が免疫賦活により抗ウイルス効果を発揮することを証明

❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科の小玉尚宏助教、竹原徹郎教授(消化器内科学)、大阪大学医学部附属病院未来医療開発部の滋野聡医員、国立国際医療研究センターの考藤達哉肝炎・免疫研究センター長らの研究グループは、**B型肝炎ウイルス(HBV)が持続感染している状態における免疫細胞の疲弊状態をマウスで再現させることに成功し、新規 Toll 様受容体 7(TLR7)作動薬 SA-5 が免疫賦活により、抗ウイルス効果を発揮することを示しました(図 1)。**

B型肝炎ウイルスは、慢性肝炎や肝硬変、そして肝がんを引き起こす世界的な感染症であり、現在までに体内からのウイルス排除を高率に達成できる治療法は存在していません。B型肝炎の慢性化にはウイルスによる免疫のかく乱が関与していると考えられていますが、免疫動態を模倣した動物モデルが極めて少なく、未だ不明な点が多く残されています。

今回研究グループは、**HBV が持続感染し、慢性肝炎による免疫動態を観察できるマウスモデルの作成に成功しました。**このモデルを用いた解析から、細胞傷害性 T 細胞の機能低下(=疲弊)が B型肝炎の慢性化と関係していることを同定しました。またこのマウスでは、B型肝炎の治療薬である I 型インターフェロン^{※4}の投与により、免疫系の活性化や体内のウイルス減少効果が認められ、免疫を標的とした創薬評価にもこのモデルが有用であると考えられました。そこで、大日本住友製薬株式会社(現 住友ファーマ株式会社)と国立国際医療研究センターが共同研究を行なっている新規 Toll 様受容体 7(TLR7)作動薬 SA-5 の効果を検証した結果、インターフェロンよりも更に強力な免疫賦活が誘導され、ウイルス減少効果も認

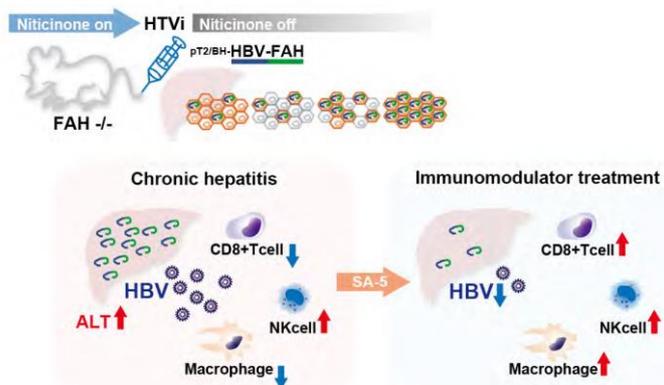


図 1. HBV 持続感染による肝内の免疫動態と SA-5 の免疫賦活による抗 HBV 効果

Press Release

められました。以上から、SA-5 が B 型肝炎に対するウイルス排除を目指した新たな治療薬になる可能性が示されました。

本研究成果は、米国科学誌「Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology」に、9 月 28 日(土)にオンライン公開されました。

❖ 研究の背景

B 型肝炎ウイルス(HBV)は世界で約 3 億人が罹患する世界的な感染症であり、国内においてもその感染者数は 110–140 万人(およそ 100 人に 1 人)に及びます。HBV に感染すると、一部の症例では持続的な肝障害が生じ、肝硬変や肝がんを発症します。現在、B 型肝炎に対する治療薬としてはインターフェロン製剤や核酸アナログ製剤^{※5} があり、ウイルス増殖抑制効果と肝炎沈静効果が認められています。一方で、HBV は肝細胞の核内に姿を変えて潜むことが知られており、現状の治療法では体内からウイルスを完全に排除することは困難です。また、免疫システムがウイルスを感知し、適切に作動することがウイルス排除に重要と考えられていますが、HBV は免疫をかく乱させその監視から逃れていることも知られています。

HBV は実験動物として汎用されるマウスには感染しないことから、感染する動物モデルは非常に少なく、HBV による免疫逃避機構の詳細な検討は困難であり、いまだに不明な点が多くあります。

❖ 研究の内容

研究グループは、B 型肝炎持続感染による生体内の免疫動態を観察できるマウスモデルを樹立し、免疫を標的とした治療法を開発することを目的として研究を開始しました。

マウスモデルの作成に当たり、フマリリアセト酢酸ヒドラーゼ(FAH)欠損マウスを用いて開発を行いました。FAH 遺伝子は高チロシン血症 I 型の原因遺伝子であり、その欠損によりチロシン代謝が阻害されることで、肝毒性のあるフマリリアセト酢酸が増加し肝細胞が傷害されます。一方、FAH 欠損マウスは高チロシン血症 I 型の治療薬であるニチシノン[®]を服用することで、フマリリアセト酢酸の産生が抑えられ、肝障害が抑えられます。そこで、FAH 欠損マウスを用いて、FAH 遺伝子と HBV ゲノムを直列に繋いだ発現ベ

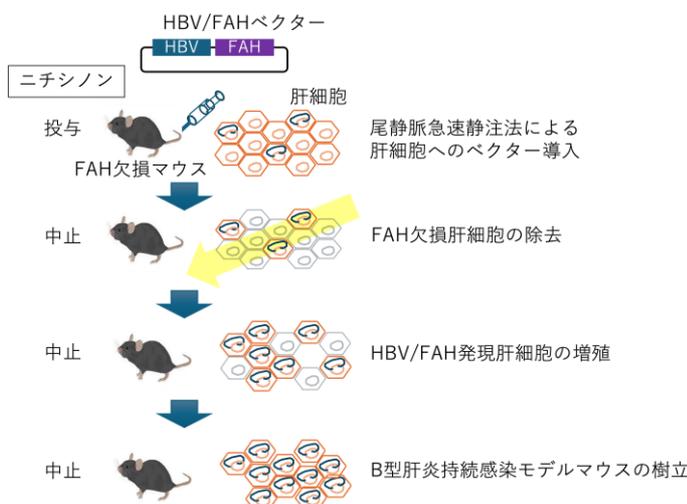


図 2. B 型肝炎マウスモデルの樹立方法

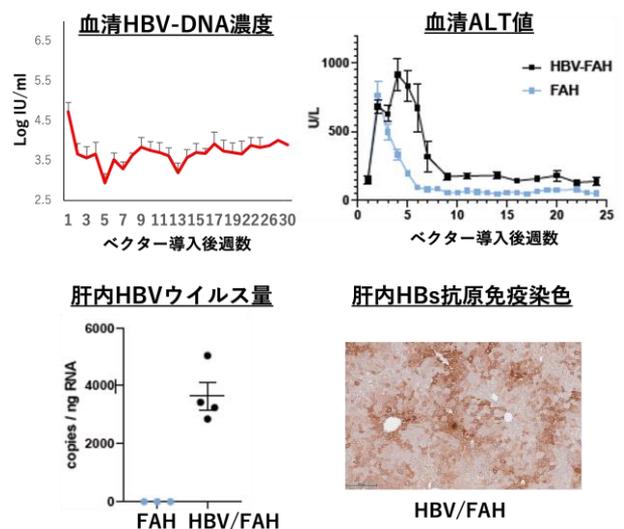


図 3. B 型肝炎マウスモデルにおける持続ウイルス血症と肝障害

Press Release

クター※6 を一部の肝細胞に導入し、ニチシノンの投与を中止しました(図2)。これによりFAH遺伝子が導入されていない肝細胞はFAH欠損による毒性のため細胞死が誘導される一方、HBVゲノムとFAH遺伝子を含む肝細胞は、ニチシノンの非存在下でも生存しました。その結果、HBVとFAHを共に発現する肝細胞が肝内で増殖し、バクter導入8週後には肝臓全体をほぼ置換しました。その結果、このマウスでは肝細胞内でHBV持続感染が生じ、ウイルス血症や肝障害が約1年にわたり継続しました(図3)。

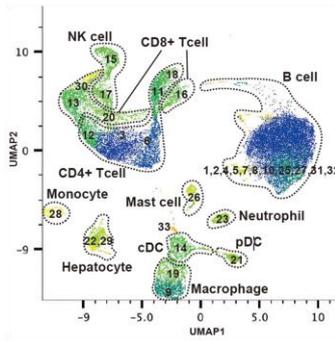
そこで、このB型肝炎が持続感

染するマウスモデルを用いて、肝臓内における免疫動態をシングルセル遺伝子発現解析により検討しました。その結果、このマウスでは、ウイルス排除に重要な免疫系として考えられている細胞傷害性T細胞(CTL)やナチュラルキラー(NK)細胞※7、マクロファージ※8などの機能が変化している事がわかりました(図4)。HBVウイルスを認識するCTLは、インターフェロン γ やTNF α などのサイトカイン※9産生低下や免疫チェックポイント分子※10であるPD-1の発現上昇が生じており疲弊状態を呈していました(図4)。また、CTLの疲弊状態とウイルス血症が正に相関していたことから、CTLの疲弊による機能低下がB型肝炎慢性化に関与していることが示唆されました(図4)。NK細胞においては細胞傷害活性が亢進しており、マクロファージにおいては炎症応答機能の低下が認められました(図4)。

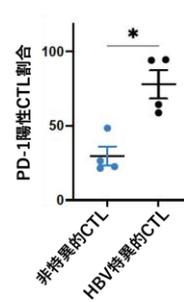
次に、このマウスを用いて、B型肝炎の治療薬として用いられるインターフェロンの免疫賦活効果を検証しました。インターフェロンの投与により、このマウスでは様々な免疫系の活性化や体内のウイルス減少効果が認められました。以上より、このマウスはHBV持続感染による生体内の免疫動態を観察できることに加えて、B型肝炎に対する免疫を標的とした創薬評価にも有用と考えられました。

そこで、大日本住友製薬(現住友ファーマ)と国立国際医療研究センターが共同研究中のTLR7作動薬SA-5の効果はこのモデルで検証した結果、有意なウイルス減少効果が認められました(図5)。SA-5投与により、CTLのインターフェロン γ 産生能、NK細胞の細胞傷害活性、マクロファージの炎症応答機能はいずれも亢進しており、また、これらの免疫活性化作用はインターフェロンよりも有意に強力でした(図5)。以上から、

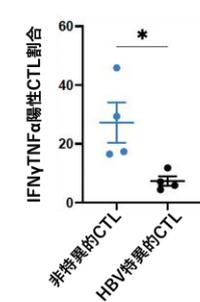
肝内の各免疫細胞集団



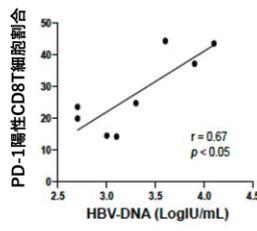
PD-1陽性CTL頻度



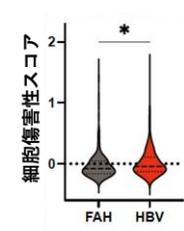
IFN γ /TNF α 陽性CTL頻度



肝内CTL疲弊とウイルス血症の相関



NK細胞細胞傷害活性



マクロファージ炎症応答

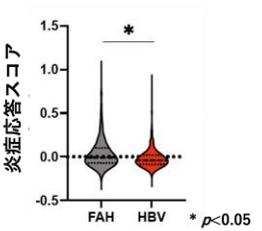
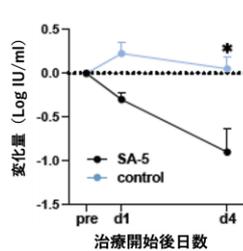
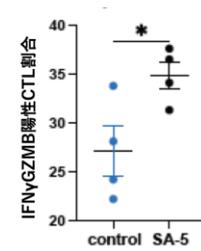
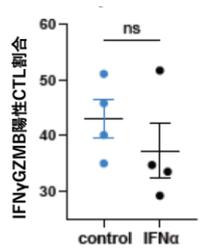


図4. B型肝炎マウスモデルの肝内シングルセル遺伝子発現解析

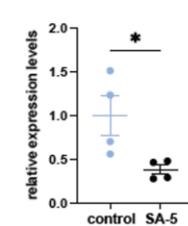
血清HBV-DNA濃度



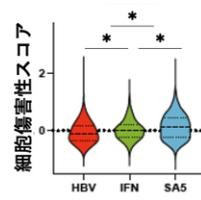
IFN γ /GZMB陽性CTL細胞頻度



肝内HBVウイルス量



NK細胞細胞傷害活性



マクロファージ炎症応答

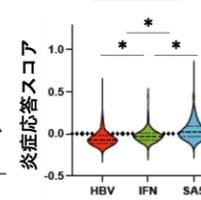


図5. SA5治療による抗ウイルス効果とIFN \cdot SA-5治療による肝内免疫動態変化

Press Release

SA-5 が B 型肝炎に対するウイルス排除を目指した新たな治療薬になる可能性が示されました。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

HBV 持続感染による免疫動態を観察できる新たな動物モデルが樹立されたことで、B 型肝炎の慢性化に関わる免疫学的機序のさらなる解明が期待されます。また、TLR7 作動薬 SA-5 の抗ウイルス効果が動物モデルで示されたことで、臨床試験への展開など薬剤開発が加速され、免疫を標的とした B 型肝炎創薬の実現に繋がることが期待されます。

❖ 特記事項

本研究成果は、2024 年 9 月 28 日(土)に米国科学誌「Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology」(オンライン)に掲載されました。

タイトル: “Intrahepatic exhausted antiviral immunity in an immunocompetent mouse model of chronic hepatitis B”.

著者名: Satoshi Shigeno^{1,#}, Takahiro Kodama^{1,#}, Kazuhiro Murai¹, Daisuke Motooka², Akihisa Fukushima³, Akira Nishio¹, Hayato Hikita¹, Tomohide Tatsumi¹, Toru Okamoto⁴, Tatsuya Kanto⁵, and Tetsuo Takehara^{1,*}(#共同筆頭著者、*責任著者)

所属:

1. 大阪大学 大学院医学系研究科 消化器内科学
2. 大阪大学 微生物病研究所
3. 大日本住友製薬株式会社(現 住友ファーマ株式会社)
 4. 順天堂大学 大学院医学研究科 微生物学
 5. 国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2024.101412>

なお、本研究は、日本医療研究開発機構(AMED)肝炎等克服実用化研究事業 B型肝炎創薬実用化等研究事業「免疫・オミクス研究を基盤とした B 型肝炎に対する治療法の開発」、「B型肝炎ウイルス持続感染モデルを活用した病態解明および新規治療法の開発」、肝炎等克服緊急対策研究事業「NAFLD/NASH および非ウイルス性肝がんの病態解明と治療法開発」、日本学術振興会(JSPS)科学研究費補助金研究の一環として行われました。

❖ 用語説明

※1 細胞傷害性 T 細胞

細胞表面に CD8 という分子を持つ T 細胞で、宿主にとって異物になる細胞(がん細胞、ウイルス感染細胞など)を認識して破壊する細胞。

※2 疲弊

T 細胞などが免疫チェックポイント分子などの発現により機能が低下すること。

※3 Toll 様受容体 7(TLR7)

Toll 様受容体は自然免疫に重要な役割を果たす抗原受容体で、TLR7 はウイルス由来の 1 本鎖 RNA を認識する。

※4 I 型インターフェロン

自然免疫における抗ウイルス活性の中心的な役割を担っているサイトカイン。

Press Release

- ※5 核酸アナログ製剤
B型肝炎ウイルスの遺伝子を作る核酸(DNA)の合成を阻害して、ウイルスの増殖を抑制する薬剤。
- ※6 発現ベクター
細胞内で目的の遺伝子を発現させるための運び屋で、環状二本鎖 DNA のプラスミドなどが用いられる。
- ※7 ナチュラルキラー(NK)細胞
ウイルス感染細胞や癌細胞などを殺傷することができるリンパ球。
- ※8 マクロファージ
体内に侵入したウイルスや細菌などの病原体や死んだ細胞などを食べる細胞。
- ※9 サイトカイン
主に免疫系細胞から分泌されるたんぱく質で細胞間の情報伝達を担っている。
- ※10 免疫チェックポイント分子
免疫応答を制御する分子。

【滋野聡医員のコメント】

臨床医として B 型慢性肝炎診療に携わる中で、drug free を可能とする新規治療法開発への期待を患者さんより頂くことが多く、HBV 治療におけるアンメットニーズを実感しています。多くの関係者のご協力により開発することが出来た本マウスモデルを用いることで、SA-5 をはじめとした抗 HBV 免疫作動薬の開発と実用化が進むよう、研究を継続していきたいと思えます。

❖ 参考 URL

小玉尚宏助教 研究者総覧 URL

<https://rd.iai.osaka-u.ac.jp/ja/0beed4448a279bc6.html>

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関すること>

小玉 尚宏(こだま たかひろ)

大阪大学 大学院医学系研究科 消化器内科学 助教

TEL: 06-6879-3621 FAX: 06-6879-3629

<報道に関すること>

大阪大学大学院医学系研究科 広報室

TEL: 06-6879-3387

Email: medpr@office.med.osaka-u.ac.jp

国立研究開発法人 国立国際医療研究センター(NCGM)

企画戦略局 広報企画室

TEL: 03-3202-7181

E-mail: press@hosp.ncgm.go.jp