

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

高亀道生より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2716 号

学位申請者 : 高 亀 道 生

学位審査論文 : Th2 dominance might induce carcinogenesis in patients with HCV-related liver cirrhosis

(C 型関連肝疾患症例において Th2 細胞優位は発癌を誘導するかもしれない)

著 者 : Michio Kogame, Hidenari Nagai, Mie Shinohara, Yoshinori Igarashi, Yasukiyo Sumino, Koji Ishi

公 表 誌 : ANTICANCER RESEARCH 36 (9) : 4529-4536, 2016

論文内容の要旨 :

癌に対する宿主免疫監視機構において、Th1 サイトカインは抗腫瘍免疫を活性化し、Th2 サイトカインは抗腫瘍免疫を不活性化することが既に報告されている。我々は、肝細胞癌(HCC)を発癌したC型肝硬変症(LC)例における宿主免疫の検討を行い、Th2 細胞優位な状態が発癌に寄与する可能性を既に報告している。しかしながら、Th2 細胞優位な宿主免疫は、Th2 細胞優位な状態が発癌を誘導するのか、それとも発癌がTh2 細胞優位な状態を誘導するのかは明らかでできなかった。

目的:

C 型関連肝疾患症例において、Th2 細胞優位な状態が発癌を誘導するのか、それとも発癌がTh2 細胞優位な宿主免疫を誘導するのかどうかを明らかにすることを目的とした。

対象:

当院において肝生検により病理学的に診断されたC型慢性肝疾患患者82例(HCC非合併群)と、早期肝細胞癌(eHCC)を合併したLC患者21例(HCC群)を対象とした。

方法:

HCC非合併群をDesmetらの線維化スコアリングシステムに基づいて、4つのサブグループ(F1~F4)に分けた。HCC群はラジオ波焼灼療法(RFA)を用いて加療し、4週間後にCT検査にて完全焼灼を確認した。採血は、RFA開始前および4週後に施行した。フローサイトメトリーを用いて、末梢血中CD4陽性Tリンパ球中サイトカイン分析を行い、IFN- $\gamma$ 陽性、IL-4陰性(Th1)、

IFN- $\gamma$  陰性、IL-4 陽性(Th2)、CD25 陽性、CD127 陰性(Treg)に分画した。

結果：

肝生検組織の線維化の程度は、F1 が 21 例、F2 が 21 例、F3 が 18 例で、F4 が 22 例だった。Th1 細胞分画では、F4 群と HCC 群の RFA 前において F1 群に比し有意な高値を認めた。Th2 分画では、HCC 群の RFA 前後ともに F1 群に比し有意な高値を認めた。また、抑制性 T(Treg) 細胞分画では、RFA 前後で有意な低下を認めた。

考察：

我々は、C 型慢性肝疾患患者は健康者に比し Th1 と Th2 細胞が増加していること、末梢血中の Th1 および Th2 細胞数は血清 ALT 値と関連していないことを報告している。本研究において、F1~F4 群、HCC 群の間で HCV-RNA 量と血清トランスアミナーゼ値に有意差を認めておらず、この結果は我々が以前に報告した肝細胞の炎症と HCV-RNA 量が末梢血の Th1 と Th2 細胞分画のバランスに影響しないことを示唆している。血小板数は F4 群と HCC 群で、F1 群に比し有意な低値を認めたが、AST 値、ALT 値、WBC 数に有意差を認めなかった。また、血小板数は Th1、Th2、Treg 細胞に対して有意な相関を認めなかった。HCC 合併 LC 患者において肝切除時に脾臓の合併切除を行うと、Th1 細胞は増加し、Th2 細胞は減少すると報告されているが、本研究の対象症例は fibrocarcinogenesis からの発癌であり、血小板数は肝線維化と関連するが、宿主免疫とは関連し難いと考えられた。

腫瘍微小管傷害における Th1 と Th2 サイトカインとの不均衡が、HCC 再発に重要な役割を果たすことが報告されており、また HCC 再発患者の肝組織においては Th1 サイトカインが低く、HCC 再発のない患者と比較して Th2 サイトカインが高いことが報告されていることから、Th2 細胞が優位であることが発癌にとって重要であると思われる。また、T 細胞の免疫応答は Treg によって制御されており、Treg は natural と induced Treg に分類される。Natural Treg は、主に胸腺で分化して外部からの人為的な抗原感作とは無関係に固体に自然発生しており、健康な動物および人の CD4 陽性 T 細胞の 5~10% を占めるとされている。一方、誘導性 Treg は抗原刺激に応じて末梢ナイーブ T 細胞から抗原特異的に誘導され、これら両者は互いにネットワークを形成し、相乗的に作用し免疫応答の恒常性を維持している。また、HCC 患者では Foxp3 (forkhead box protein 3) Treg が増加することも報告されている。我々は、C 型 LC 患者の発癌が Th2 細胞優位な宿主免疫と関連していることを既に報告しているが、Th2 細胞優位な状態が発癌を誘導するのか、それとも発癌が Th2 細胞優位な宿主免疫を誘導するのかは明らかにできていなかった。本研究では、RFA 療法による HCC の排除により、Th1 細胞が正常化し、Treg 細胞が減少した。

これは natural Treg が HCC 抗原には曝露されていないこと、そして RFA による HCC の排除により宿主免疫が HCC に対して免疫応答する必要がなくなり、Th1 細胞が正常化することとともに、natural Treg が induced Treg の減少を誘導したことを意味していると考えられた。RFA 療法後に HCC が消失し Treg が減少したにもかかわらず、Th2 細胞の割合が増加していることから、LC 症例において発癌が Th2 細胞優位な宿主免疫を誘導するのではなく、Th2 細胞優位な宿主免疫が発癌を誘発し得ることを示していると考えられた。Treg の消耗と効果 T 細胞の活性化が組み合わさることによって、より効果的に HCC の再発を抑え込めるといふ報告があり、この報告は本研究結果を支持するものと思われる。LC 症例では、発癌予防のために Treg および Th2 細胞を抑制することが重要である可能性があり、C 型慢性肝疾患患者では宿主免疫学的変化を検討することが発癌の予測に重要であると思われる。

結論：

RFA 治療前後で Th2 細胞優位に変化はなかったことから、発癌が Th2 細胞優位な宿主免疫にするのではなく、Th2 細胞優位な宿主免疫が発癌を誘発する可能性が明らかとなった。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2716 号	氏名	高 亀 道 生
学位審査担当者	主 査	瓜 田 純 久
	副 査	島 田 英 昭
	副 査	近 藤 元 就
	副 査	岡 住 慎 一
	副 査	中 野 裕 康

学位審査論文の審査結果の要旨 :

抗原刺激を受けた helper T cell (Th) は、その産生するサイトカインの profile により Th1 と Th2 に分けられる。両者は牽制し合っているため、Th1/Th2 バランスの偏りが種々の病態に深く関与している。C 型慢性肝炎においては、CD4 陽性細胞のうち Th1 細胞優位であることが報告されている一方、肝細胞癌合併肝硬変では Th2 細胞優位となっている報告もある。抗腫瘍免疫を活性化する Th1 サイトカインよりも、抗腫瘍免疫を抑制する Th2 サイトカインが優位な状態においては、発がんが増加することが予想される。今回、病理学的に診断された C 型慢性肝炎 82 例 (HCC 非合併群) と、早期肝細胞癌を合併した肝硬変 21 例 (HCC 群) を対象として、末梢血の Th1/Th2 バランスを検討した (Table 1)。HCC 群ではラジオ波焼灼療法 (RFA) を用いて加療し、4 週間後に確認した。フローサイトメトリーを用いて、末梢血中 CD4 陽性 T リンパ球中サイトカイン分析を行い、Th1/Th2 バランスを検討した。IFN- $\gamma$  (+) IL-4(-) を Th1、IFN- $\gamma$  (-) IL-4(+) を Th2、CD25(+) CD127(-) を抑制系 T 細胞 (Treg) とした (Fig1、Fig2)。線維化スコアリングシステムにて F1~F4 と分類すると、血小板数のみ F4、HCC 群が F1 に比較して有意に低値であった (Table 2、Fig3)。Th1 細胞も同様に F4、治療前の HCC 群で F1 群に比して有意に高値であり (Fig5)、Th2 においては、HCC 群の治療前後ともに F1 に比して有意に高値であった (Fig6)。RFA 治療前後では腫瘍マーカーの変化はなかったが (Fig4)、Th1 細胞がわずかに低下、Th2 が上昇傾向を示した。抑制性 T (Treg) 細胞分画では、RFA 後に有意に減少した (Fig7)。C 型肝炎においては抗腫瘍免疫を活性化する Th1 優位となっているが、何らかの原因で Th2 優位になると発癌しやすい宿主環境であることが明らかとなった。肝癌治療後には Th1 細胞、Treg 細胞ともに、わずかに減少しており、治療による宿主免疫の変化が明らかとなった。Th1/Th2 バランスの解析により、発癌予測や再発リスクの評価に臨床応用できる可能性が示唆された。学位審査は 3 月 29 日に行われ、活発な討論が展開された。患者背景について、宿主免疫を左右する治療薬、腸内細菌の違い、ラクツロース治療や probiotics の影響、Th1/Th2 比の結果、治療前後での Th1/Th2 バランスの比較、血小板数に比較した Th1/Th2 バランスの臨床的意義、アレルギー疾患と HCC の関連、Th1/Th2 バランスは肝癌の存在に由来するのが、肝線維化に依存するのか、肝癌焼灼によって壊死した癌細胞を処理する免疫細胞の動きによるのか、など活発な議論が行われた。高亀氏はそれぞれの質問に誠心誠意考え、的確に回答していた。消化器内科が総力を挙げて長年行ってきたびまん性肝疾患から発癌に至る機序を解明する継続的研究のひとつであり、学位に相当すると結論し、審査は終了した。