

## Licensed /Unlicensed NK 細胞の肝細胞癌切除後再発予後に対する影響

研究分担者 田中 純子 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 教授  
研究協力者 谷峰 直樹 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 院生  
研究代表者 大段 秀樹 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 教授

### 研究要旨

Natural killer (NK) 細胞は自己のHLAを認識する抑制性 Killer immunoglobulin-like receptors (KIRs) を表出することで潜在的活性強化がおこることが近年報告されており、この機構は「License」と呼ばれている。In vitro で報告されている Licensed NK 細胞の抗腫瘍活性強化が、生体内で固形がんの長期成績に与える影響について十分な知見はない。我々は遺伝子解析により個人の潜在的 License 経路の判定と肝細胞癌(HCC)術後再発予後に対する影響を検討した。

### A. 研究目的

NK細胞活性は細胞表面に存在する抑制性受容体と活性化受容体により制御されていることが知られており、その中で自己のヒト白血球抗原(Human leukocyte antigen 以下HLA)を認識し、自己の細胞に対する寛容を誘導する Killer immunoglobulin-like receptor(以下KIR)は、遺伝的な多様性が報告されている。また、近年自己のHLAを認識する抑制性KIRを表出することで、NK細胞の潜在的な活性強化が生じることがIn vitroの研究で報告され「License」機構として知られるようになった。一方、KIRによって自己HLAを認識せずLicenseをうけないNK細胞も存在し、これらは「Unlicensed NK細胞」と呼ばれ、自己細胞からの抑制がかからないことからサイトカインによる活性環境下ではLicensed NK細胞と変わらないかもしくはそれを凌ぐ活性を有するという報告もなされている。Licenseに関わる抑制性KIRは5種類(KIR2DL1, 2DL2, 2DL3, 3DL1, 3DL2)存在

し、それぞれ特定のHLA配列を認識すること、抑制性KIRの保有、HLA遺伝子型は個体において遺伝的多様性を認めるため、潜在的に機能しうるKIR-HLAペアには個体差が存在することが知られている。

In vitro で報告されている Licensed/Unlicensed NK 細胞の抗腫瘍活性が、生体内で固形がんの長期成績に与える影響について十分な知見はない。

我々は遺伝子解析により個人の潜在的 License 経路の判定と肝細胞癌(Hepatocellular carcinoma 以下 HCC)の術後再発予後に対する影響を検討した。

### B. 研究方法

1997年～2010年に施行したHCCに対する初回肝切除症例170例を対象とした。術前肝予備能不良症例(Child-Pugh grade BまたはC)および非治癒切除症例は対象より除外した。患者血球より精製したDNAをrSSO-PCR法を用いてKIR, HLA 遺伝子タイピングを行った。

Propensity score matching法による調整後、再発予後解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は広島大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会にて承認を得て実施している。

### C. 研究結果

遺伝子タイピングの結果、個体内で機能する KIR-HLA ペアである KIR2DL1-C2, KIR2DL2-C1, KIR2DL3-C1, KIR3DL1-Bw4, KIR3DL2-A3/11 の保有はそれぞれ 14.1%, 10.0%, 98.2%, 80.0%, 15.9%であった。

これら遺伝子型は過去の健常日本人での報告と大きな差異は認めず、HCC患者に特徴的な遺伝子型の偏りは認めなかった。これらの遺伝的License経路の保有が単独でHCC術後再発予後に影響するかを検討するため、年齢、性別、背景肝、腫瘍個数、最大腫瘍径、組織学的分化度、脈管侵襲、肝内転移、切除断端陽性の有無、計9項目を用いてPropensity score matching法による調整後、再発予後解析を行った。Propensity matching解析の結果、単独のKIR-HLAペアの保有は再発予後に有意な影響を認めなかった(図1)。

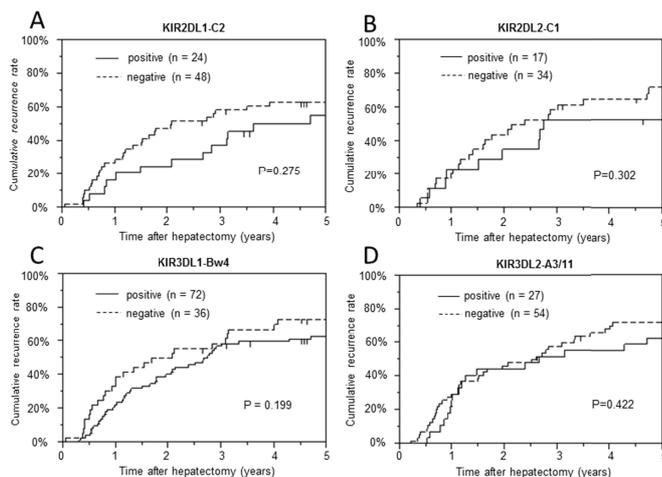


図1

しかし、個体における遺伝的なKIR-HLAペアの保有数により累積再発率曲線が階層化された(図2)。

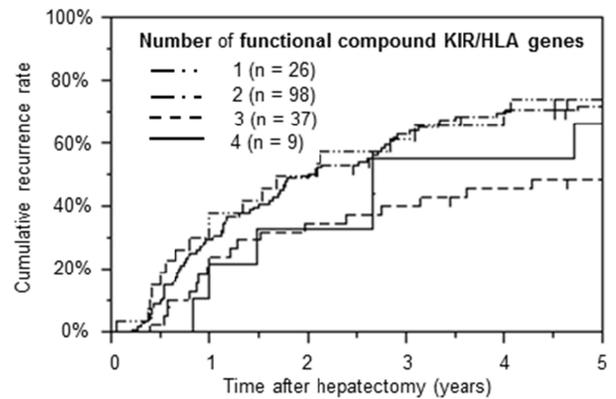


図2

そこで遺伝的に有効な KIR-HLA ペアが多い患者群(3個以下 Highly licensed NK 群)とペアが少ない群(2個以下 Poorly licensed NK 群)を同じく Propensity score matching法を用いて解析すると、Highly licensed NK 群の術後再発予後は Poorly licensed NK 群に比べ有意に良好であった(P = 0.0183, 調整 Hazard ratio 0.57, 95%信頼区間 0.35-0.90)(図3)。

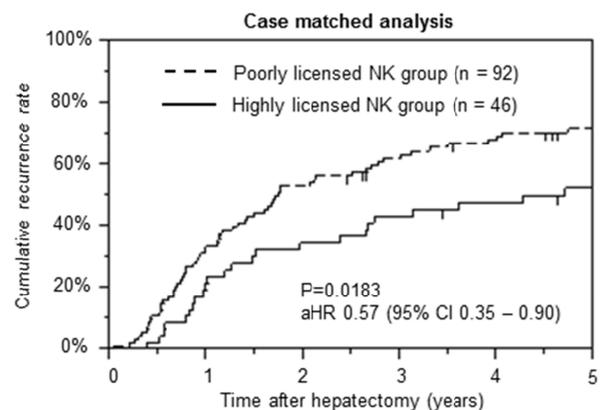


図3

この再発に対する有意性は HCV 感染の有無によるサブ解析では、非 HCV 感染患者群の解析では統計学的有意差を示したが、HCV 感染患者群の解析において統計学的有意差に至らなかった(図4)。

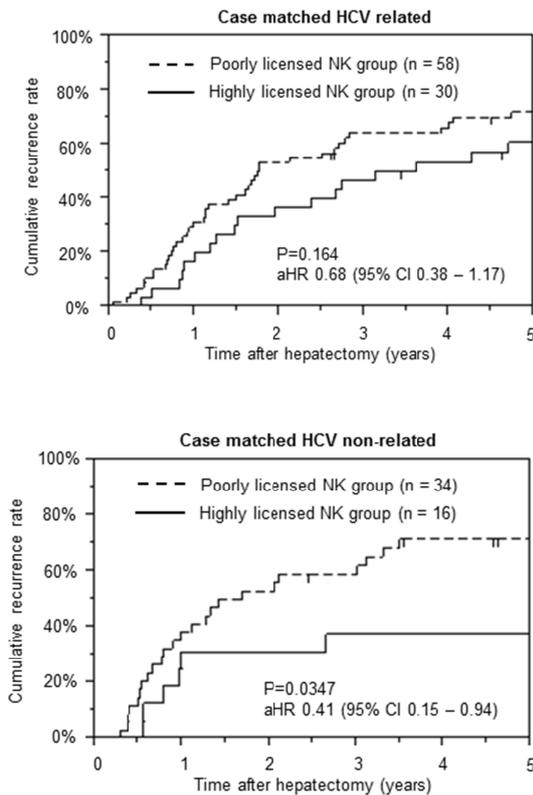


図4

#### D. 考察

治癒切除後のHCC再発は依然多く、残存腫瘍細胞からの再発、もしくは障害肝を背景としたDe novo発癌に分けられるが、いずれも宿主の抗腫瘍免疫による制御の影響を受けていると考えられる。NK細胞のLicense機構は、細胞レベルで複数のLicense経路の存在により、NK細胞の潜在活性強化がより増強されることが報告されている。

本研究により遺伝レベルのKIR-HLAペアの累積により、HCC術後再発予後が良好な患者群が存在し、NK細胞のLicense効果がHCC術後予後に強く関わることを示唆された。

また、HCVに関してはこれまでLicenseに関わるKIR-HLAペアのうちKIR2DL3-C1の保有による自然寛解率の増加が報告されているが、今回の研究結果におけるHCV感染患者でのLicense効果の減弱は、報告されているHCVウイルス表面分子を介したNK細胞活性抑制と矛盾しない結果であったと考える。

#### E. 結論

KIR-HLAによってもたらされるLicense効果を意図的に操作することができれば、HCCに対するNK細胞を用いた養子免疫療法を行う上で非常に強力なツールとなると考える。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 【総説】

1. 田中純子、片山恵子, HCV感染の疫学の変化, 肝胆臓, 2013;67(6):811-818.
2. 田中純子、片山恵子, B型肝炎の疫学 -キャリア率, キャリア数について-, 最新医学, 2013;68(3):14-21.
3. 田中純子, C型肝炎はどのように日本で蔓延し肝癌をもたらしたのか -肝癌抑制の実地診療のすすめかた-, Medical Practice, 2013;30(2):194-202.

##### 【原著】

1. Akita T, Ohisa M, Kimura Y, Fujimoto M, Miyakawa Y, Tanaka J, Validation and limitation of age-period-cohort model in simulating mortality due to hepatocellular carcinoma from 1940 to 2010 in Japan, Hepatology Research, 2013, in press.
2. Sato T, Do H S, Asao T, Akita T, Katayama K, Tatara K, Miyakawa Y, Tanaka J, Estimating numbers of persons with persistent hepatitis B virus infection transmitted vertically and horizontally in the birth cohort during 1950–1985 in Japan., Hepatology Research, 2013, in press.
3. Chen D-S, Locarnini S, Wait S, Bae SH, Chen PJ, Fung JY, Kim HS, Lu SN, Sung J, Tanaka J, Wakita T, Ward J, Wallace J, Report from a Viral

- Hepatitis Policy Forum on implementing the WHO framework for global action on viral hepatitis in North Asia, *Journal of Hepatology*, 2013;59(5):1073-1080.
4. Kumada T, Toyoda H, Tada T, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tanaka J, Kagebayashi C, Satomura S, High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma, *Journal of Gastroenterology*, 2013, in press.
  5. Kumada T, Toyoda H, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J, Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2013;28(2):357-364.
  6. Kumada T, Toyoda H, Tada T, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Niinomi T, Yasuda S, Ando Y, Yamamoto K, Tanaka J, Effect of nucleos(t)ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: a propensity score analysis, *Journal of Hepatology*, 2013;58(3):427-433.
  7. 仁科惣治、栗原淳子、則安俊昭、糸島達也、山本和秀、田中純子、日野啓輔、岡山県における肝炎ウイルス検診陽性者の医療機関受診等に関する追跡調査, *肝臓*, 2013;54(1):84-86.
  8. 松尾順子、片山恵子、中島歩、頼岡徳在、田中純子、広島透析患者肝炎 Study Group, 血液透析患者における肝炎ウイルス感染率と生命予後, *日本透析医会雑誌*, 2013;28(1):161-166.
  9. Shima T, Uto H, Ueki K, Takamura T, Kohgo Y, Kawata S, Yasui K, Park H, Nakamura N, Nakatou T, Tanaka N, Umemura A, Mizuno M, Tanaka J, Okanoue T, Clinicopathological features of liver injury in patients with type 2 diabetes mellitus and comparative study of histologically proven nonalcoholic fatty liver disease with or without type 2 diabetes mellitus, *Journal of Gastroenterology*, 2013;48(4):515-525.
- 【著書】
1. 田中純子、片山恵子, 新しい診断と治療のABC 肝硬変, 最新医学, 最新医学社, 2013:20-30.
  2. 田中純子, B型肝炎に関する疫学調査の最新情報, B型肝炎 最新治療コンセンサス(別冊・医学のあゆみ), 医歯薬出版株式会社, 2013:5-12.
  3. 片山恵子、田中純子, ウイルス肝炎 最新の疫学, 診断と治療, 診断と治療社, 2013;101(9):1287-1292.
  4. 田中純子、片山恵子、松尾順子, わが国におけるHBV感染の疫学, de novo B型肝炎, 医薬ジャーナル社, 2013:14-29.
  5. 片山恵子、田中純子, 肝炎・肝癌の疫学, Annual Review 消化器, 中外医学社, 2013:88-93.
  6. 田中純子, HBV感染症のインパクト, HEPATOLOGY PRACTICE, 文光堂, 2013;1:27-35.
2. 学会発表
1. 田中純子, ウイルス肝炎・肝がんの疫学と対策, 第16回長崎肝癌研究会学術総会(長崎), 2014.02.19.
  2. 田中純子, 肝炎ウイルス健診、新しいHCV検査手順と今後の展望, 第46回日本臨床衛生検査技師会中四国支部医学検査学会 ランチョンセミナー(広島), 2013.11.10.
  3. 田中純子, ウイルス肝炎の疫学と対策最前線, 第46回日本臨床衛生検査技師会中四国支部医学検査学会(広島),

2013.11.09.

4. 田中純子, 肝癌死亡率の予測に関する APC モデルを用いた解析の試み, 第 72 回日本癌学会学術総会(横浜), 2013.10.05.
5. 田中純子, B 型・C 型肝炎の疫学, 第 7 回 SMART-C ( Specific Molecule Antiviral tReatment Tokyo - Hepatitis C)(東京), 2013.06.22.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし