

Role of Th17 and Treg during the Chronic Infection of Hepatitis C Virus

Hyun Mu Shin, Jae-Won Lee and Nam-Hyuk Cho*

Department of Microbiology and Immunology, Department of Biomedical Science, Seoul National University College of Medicine, Institute of Endemic Disease, Seoul National University Medical Research Center and Bundang Hospital, Seoul, Korea

Hepatitis C virus (HCV) is one of the main causes of liver disease. 1~2% of the Korean people has been reported to be infected by HCV. Although HCV is less infectious than hepatitis B virus (HBV), it is more prone to develop chronic infection (~ 80%) which may link to cirrhosis and hepatocellular carcinogenesis. In addition, prevalence of hepatitis caused by HCV infection is gradually increased every year in Korea. Recently, a large number of clinical trials using direct-acting antiviral (DAA) drugs have been shown efficient therapeutic results for chronic HCV infections and some of them are on the market. However, there is still a concern on viral evasion to the DAAs and the effective mechanisms of immunological clearance of HCV remains to be elucidated. Here, we introduce the recent findings on the role of Th17-Treg axis which may play a critical role of the viral pathogenesis and/or immunological defense against HCV infection. The underlying regulatory mechanisms of Th17-Treg axis might be a potential candidate for the better control of HCV chronic infections.

Key Words: Hepatitis C virus, IL-17, Chronic infection, Anti-viral agents

INTRODUCTION

C형 간염바이러스(Hepatitis C virus, HCV)는 간질환을 유발하는 주요 원인 중 하나로, 우리나라 국민의 약 1~2%가 감염된 것으로 보고되었으며, B형 간염바이러스(Hepatitis B virus, HBV)보다 감염률은 낮지만 급성감염 후 80% 이상의 환자들에서 간경변증 및 간암으로 이어질 수 있는 만성감염을 일으키는 것으로 알려져 있다 (1). C형 간염은 상용화된 백신이 없고, 해마다 간염 유병률이 증가하고 있어 HCV 감염에 대한 효과적인 치료는 감

염환자의 합병증 발생과 진행을 막기 위해 매우 중요하다. 최근 들어 항-HCV 효과가 확인된 다양한 항바이러스제제들이 상업화 되어 보급되고 있으나, 이 제제들에 대한 내성 돌연변이 출현 가능성과 효과적으로 반응하지 않는 환자들이 여전히 보고되고 있어 이에 대한 연구가 계속되어야 할 것으로 보인다. 본 리뷰에서는 HCV에 대한 인체의 면역학적 항바이러스 작용기전을 소개하고 HCV 만성감염 치료 시 고려되어야 하는 Interleukin-17 (IL-17)⁺ 세포와 regulatory T (Treg) 세포의 역할을 중심으로 면역병인 기전과 항바이러스 치료효과와의 연관성에 대하여 논의를 하고자 한다.

Received: November 18, 2015/ Revised: November 21, 2015/ Accepted: November 25, 2015

*Corresponding author: Nam-Hyuk Cho, Ph.D. Department of Microbiology and Immunology, Seoul National University College of Medicine, Seoul 03080, Korea.

Phone: +82-2-740-8392, Fax: +82-2-743-0881, e-mail: chonh@snu.ac.kr

**This work is supported by grants (800-20140047, 800-20140048) from the SNUBH and SNUH Research Fund.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

HCV는 Flaviviridae에 속하는 positive-sense RNA 바이러스로, 6개의 주요 유전형으로 분류된다. HCV는 RNA genome의 특수성 때문에 복제과정에서 빈번한 유전자 변이가 일어나고 숙주의 면역반응을 회피하여 만성감염을 유발한다. 현재 상용화된 백신이 없기 때문에 다른 간염 바이러스와는 달리 감염환자의 발생이 지속적으로 증가하고 있고, 완치환자의 경우에도 재감염의 위험성이 있다 (2). 1991년 interferon- α (IFN- α)을 이용한 C형 간염의 치료를 시작으로 ribavirin (RBV)과의 병용요법이 만성감염으로 진행된 환자들의 표준치료법으로 사용되고 있으며, 지난 수년간 바이러스 단백 활성을 직접적으로 표적 (direct-acting antivirals, DAAs)화 하는 항바이러스 제제들이 임상시험을 거쳐 HCV에 감염된 환자들에게 사용되고 있다 (3). 현재에도 HCV 감염환자들에서 상당히 성공적인 치료효과를 보이고 있는 다양한 DAA 항바이러스 제제들이 임상시험 중에 있으며, 복합병용요법을 통하여 HCV의 감염을 근절할 수 있을 것이라는 기대가 높아지고 있다 (3).

HCV 감염 치료에 쓰이는 항바이러스 제제들은 크게 두 가지로 분류되는데, 인체의 항바이러스 면역반응을 촉진하는 면역조절제와 바이러스 단백을 직접 표적으로 하는 DAAs로 분류된다 (4). 지난 25년 동안 IFN- α 가 주된 항바이러스 면역조절제제로 사용되었고, 생체 내 효능을 연장시키는 pegylation (peg-)을 통해서 치료의 효능을 향상시켰다 (4). 현재는 peg-IFN과 RBV의 병용요법이 주로 사용되고 있지만, 모든 HCV 유전형 감염에 효과를 보이지는 못하고 있으며, 많은 수의 환자들에서 치료반응이 나타나지 않거나 재발이 일어나고 있다 (4). 또한 인터페론 치료와 관련된 부작용으로 전신쇠약, 발열, 관절통, 두통을 수반하는 독감 유사 증세, 백혈구 감소증, 혈소판 감소증 등이 보고되고 있다 (5, 6). 따라서 이러한 부작용을 줄일 수 있는 표적치료제 개발이 고려되고 있고, 현재 적용이 가능한 DAA 제제들을 이용하여 치료효과를 극대화하려는 노력이 진행되고 있다. 2011년에 NS3/4A protease inhibitors telaprevir와 boceprevir의 두 종류가 치료가 어려운 HCV 유전형1 감염을 위해 사용허가를 받아, peg-IFN과 RBV과의 3중 병용요법이 시행되었지만, 여전히 낮은 적응증과 경제적인 부담이 문제가 되고 있다 (7, 8). 최근 수년간 새로이 개발된 2세대 및 3세대 DAA 항바이러스 제제는 모든 유전형의 HCV 감염에 대해서 비교적 높은 효능을 보이는 것이 보고되었으며, 인터페론 병용 유무와

상관없이 90% 이상의 치료효과를 보여주었다 (7). 그러나 항바이러스 제제에 의해 일어날 수 있는 바이러스의 유전자 변이가 향후 출현할 가능성이 있고, 복제과정에서 새로운 변이를 생산하여 항바이러스 제제에 대한 내성이 야기될 수 있다. 비록 인터페론 치료법이 제공하는 HCV에 대한 항바이러스 면역체계의 조절기전이 정확히 밝혀져 있지 않아 면역제어를 통한 바이러스 치료제 개발과 효과적인 면역백신 개발에 한계가 있지만, 지속적인 연구를 통하여 기존의 치료방법에 대한 효과를 증대시키고, 부작용을 줄일 수 있는 노력이 필요하다.

선천면역반응과 적응면역반응은 HCV를 제거하는 데 중요한 역할을 수행하는데, 바이러스 감염 초기에는 선천면역세포들, 특히 natural killer (NK) 세포에 의한 면역반응을 통해 바이러스들이 제거되고, 이어서 유도되는 적응면역세포인 T 세포의 활성을 통하여 감염된 바이러스를 완전한 제거하게 된다. 하지만 HCV 만성감염은 선천면역세포 및 적응면역세포의 분화를 교란하여 항바이러스 기능성이 떨어진 세포들로 변화시키고, 바이러스를 완전한 제거할 수 없게 된다 (9). 최근 연구결과에 따르면 조직 내 염증반응에 관여하는 주된 T 세포 중 하나로 Interleukin-17을 분비하는 세포, 즉 Th17 세포는 손상된 간에서 흔하게 증가되어 있는 것이 보고되고 있다 (10, 11). Th17 세포는 정상면역상태에서는 박테리아나 곰팡이 감염에 대한 방어면역을 제공하지만, 다양한 자가면역질환 및 염증질환의 원인이 되기도 한다 (12). 특히 IL-17에 대한 수용체는 epithelial cells 및 stromal cells, monocytes, macrophages 등 다양한 세포에서 발현이 되고 있고, 분비된 IL-17이 이들이 발현하는 수용체에 결합하여 CXCL1, CXCL8, CXCL6 및 granulocyte colony-stimulating factor, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, IL-6, adhesion molecules의 발현을 유도함으로써 neutrophils 등과 같은 면역세포의 recruitment 및 activation을 유도한다 (Fig. 1) (13). HCV의 유전형을 고려하지 않은 실험군에서 Th17 세포의 빈도수 또는 혈액 내의 IL-17의 양은 HCV virus의 replication에는 상관관계를 보이지 않지만, 간의 손상 정도를 나타내는 alanine aminotransferase (ALT) 레벨과 밀접한 관련이 있고, 대조군의 간조직과 비교하여 IL-17을 생산하는 세포의 침윤이 증가되어 있는 것을 확인할 수 있다 (11). 이러한 IL-17⁺ 세포의 증가는 조직의 손상 정도와 밀접한 관련이 있다 (11). 그러나 Th17 세포뿐만 아니라, 인체에는 IL-17을 분비하는 다양한 세포들이 존재하고, 이

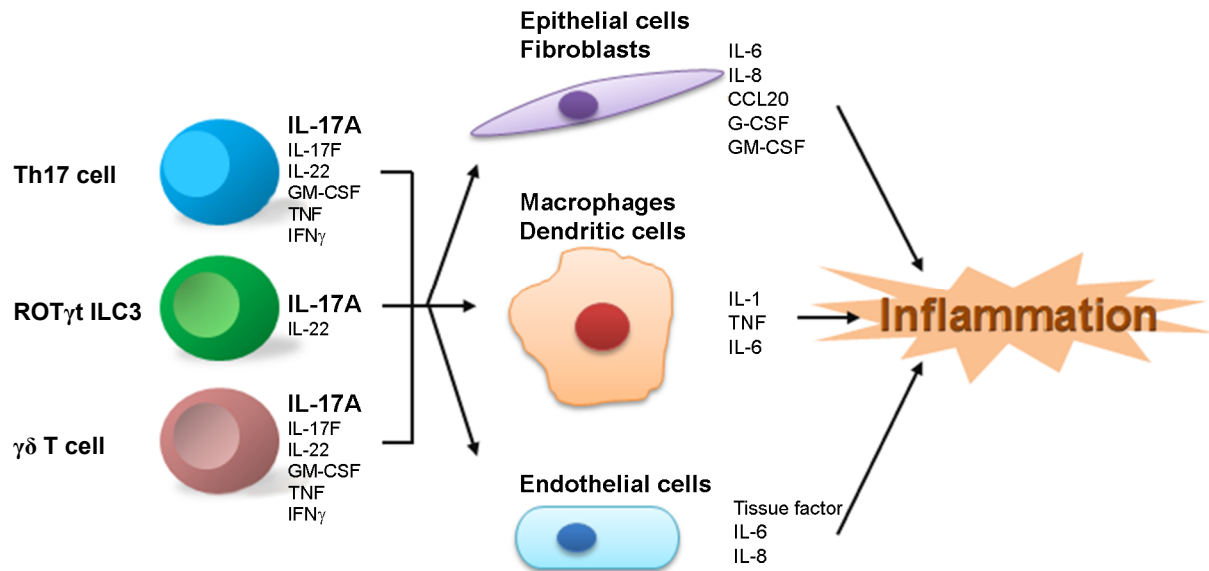


Figure 1. Subsets of immune cells producing IL-17 and their targets. There are three major subsets of IL-17-producing cells; T helper 17 (Th17), $\text{ROR}\gamma\text{t}^+$ innate lymphoid cells (IL-17^+ ILC3) and gamma-delta T cells ($\gamma\delta$ T cells). IL-17 produced from these cells contributes to inflammation by increasing production of inflammatory cytokines from the target cells, such as epithelial cells, fibroblasts, macrophages, dendritic cells, and endothelial cells. CCL20, chemokine CC motif ligand 20; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; GM-CSF, granulocyte-macrophage CSF.

면역세포들에는 CD4^+ T cells, CD8^+ T cells, gamma-delta T cells, NKT cells, regulatory T cells, eosinophils, neutrophils, monocytes들이 있다 (12, 13). 비록 박테리아 감염이나 조직의 염증과 관련된 주된 세포는 Th17이지만 gamma-delta T 세포는 피부, 폐 및 장에서 염증질환을 유발하는 것으로 알려져 있고, innate lymphoid cells (ILCs) 중 IL-17을 분비하는 ILC3는 점막면역의 염증반응 유발하는 데 중요한 세포로 보고되고 있다 (14, 15). 이러한 세포들은 HCV 만성감염 시 분비되는 IL-17에 의해 간조직 내 염증을 유발하는 다양한 면역세포들을 recruitment함으로써 조직 손상을 유발하는 데 관여할 가능성이 있다.

Th17 세포와 더불어 CD4^+ CD25^+ FoxP3^+ regulatory T (Treg) 세포는 CD4 T 세포의 subtype 중 하나의 세포로 다양한 생물학 기능을 수행한다. Treg 세포가 발현하는 FoxP3 전사인자는 이 세포의 genetic program을 조절하여 분화과정에 관여를 하고, 또한 trimeric IL-2 receptor에 high affinity를 제공하는 component인 CD25 (IL-2Ra)를 발현하지만, 일반적인 T 세포와는 달리 IL-2를 분비하지 못한다 (16). 특히 Treg 세포는 자가면역질환을 방지하는 역할을 수행함과 동시에 감염원이 제거되는 시점에서 IL-10,

TGF- β 를 분비하여 면역반응을 억제하는 것으로 알려져 있다 (16). 일반적으로 IL-17을 분비하는 Th17 세포와 Treg 세포들간의 균형유지가 염증질환의 완화와 감염원에 대해 정상적인 면역반응을 제공하는데 중요한 요소로 작용한다는 보고가 있다 (16). HCV 감염환자에서는 IL-17의 증가와 더불어 혈액이나 간조직에서 Treg 세포들이 정상인과 비교하였을 때 증가되어 있는 것이 보고된 바 있다 (17, 18). 또한 HCV 만성감염 시, IL-10의 수준이 증가되어 있고, 이에 의해 HCV 항원 특이적인 CD8^+ T 세포의 기능이 억제된다 (17). 더불어 HCV 감염 시 나타나는 Treg의 수적 증가는 CD8^+ T 세포의 기능 억제와 serum 내의 HCV RNA load 증가와 관련성이 있는 것으로 보고되었다 (18, 19). peg-IFN- α 와 RBV의 병용요법 시행 후, Treg의 감소와 더불어 HCV의 RNA load가 감소되는 것이 관찰되었는데 (17), 이러한 결과들은 HCV의 만성감염에서 IL-17을 생산하는 면역세포들과 suppressive Treg 세포들의 기능적 상호작용이 항바이러스 면역반응이나 만성염증반응을 조절하는 데 매우 중요한 역할을 담당하고 있음을 시사한다.

HCV의 유전형은 크게 두 그룹으로 광범위한 분포를

보이는 1, 2, 3형과 일부 지역에 국한되어 있는 4, 5, 6형으로 나눌 수 있고, 우리나라의 경우 HCV 유전형 1b와 유전형 2a/c가 주종을 이루고 있다 (1). HCV 만성 감염의 자연경과 또는 간이식 후 경과에서 유전형 1이 다른 유전형에 비해 빠른 간질환 진행을 보이는가에 대한 논란이 있지만, 유전형 1b에 감염된 환자군의 간세포암종 발생위험이 다른 유전형에 감염된 환자의 경우에서 보다 1.78배의 상대위험도를 보이고, 현재 시행되고 있는 peg-IFN과 RBV 병합 치료에서 다른 유전형에 비해 유전형 1b에 감염된 환자의 치료율이 가장 낮으며, 치료 후 재발 확률도 높은 것으로 보고되고 있다 (20). 이렇게 HCV의 유전형은 항바이러스 치료성적을 결정하는 가장 중요한 인자로서 인식이 되고 있으므로 C형 간염바이러스의 유전형 1b와 유전형 2a/c의 표현형적 차이는 항바이러스 면역 활성화의 제어기전을 이해하는데 중요한 요소로 판단된다 (1, 20). 따라서 만성 HCV 감염 시 나타나는 IL-10, TGF- β 등 항염증 관련 사이토카인들 및 IL-17의 발현 정도, 이 사이토카인들을 분비하는 세포들의 양적-질적 변화는 항바이러스 치료 전후에 나타나는 간조직의 손상 정도 변화와 치료반응을 예측하는데 중요한 지표로 사용될 수 있는 가능성이 있다. 그리고 이러한 변화가 HCV의 유전형과 어떠한 관련성이 있는지 비교하여 분석하는 것은 항바이러스 기능을 하는 선천면역체계와 적응면역체계의 작동원리를 규명하고 새로운 치료 표적을 발굴하는데 매우 유용한 모델이 될 수 있을 것으로 생각된다.

CLOSING REMARKS

현재까지 HCV를 포함한 여러 만성감염 바이러스들에 대한 항바이러스 제제들이 개발되어 일부 바이러스 감염 환자들에서 탁월한 치료효능을 보여주고 있지만, 여전히 치료가 잘 되지 않는 환자들 존재하고 있고, 개발된 DAA 제제들에 대한 내성돌연변이 발생의 우려를 근본적으로 극복할 수 없기 때문에, 여전히 세포의 항바이러스 면역 활성을 증가시킬 수 있는 항바이러스 면역증강제 및 조절제의 개발이 꾸준히 진행되어야 한다. 또한 DAA 제제들에 반응을 보이지 않는 감염증에 대해서는 숙주의 항바이러스 활성을 증가시키는 약물들의 개발을 통하여 새로운 치료의 기회를 제공하여야 한다. 현재 HCV 유전형의 차이에 의해 나타나는 항바이러스 제제들의 치료 반응성을 조기에 판단할 수 있고, 이러한 현상이 나타나는

인체 면역체계의 조절기전을 이해하기 위해 여러 연구들이 진행 중이다. 특히, 서로 다른 HCV 유전형 감염에 따른 혈액 및 간조직 내의 Treg 세포의 분포와 IL-17 분비하는 세포들의 비교, 분석은 항바이러스 면역반응의 작동기전과 항바이러스 치료제들에 대한 반응성을 예측하는데 필요한 면역학적 근거를 마련하는데 중요한 실마리를 제공할 수 있을 것으로 보인다.

REFERENCES

- 1) Park SY, Rim MY, Yo IK, Ha MS, Kim JS, Lee JW, *et al.* [Efficacy of peginterferon and ribavirin combination therapy of chronic hepatitis C: a pooled analysis]. *Korean J Gastroenterol* 2012;60:306-14.
- 2) Heim MH. 25 years of interferon-based treatment of chronic hepatitis C: an epoch coming to an end. *Nat Rev Immunol* 2013;13:535-42.
- 3) Muir AJ, Naggie S. Hepatitis C Virus Treatment: Is It Possible To Cure All Hepatitis C Virus Patients? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13:2166-72.
- 4) Chung RT, Baumert TF. Curing chronic hepatitis C--the arc of a medical triumph. *N Engl J Med* 2014;370:1576-8.
- 5) Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-65.
- 6) Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL Jr, *et al.* Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-82.
- 7) Coppola N, Pisaturo M, Zampino R, Macera M, Sagnelli C, Sagnelli E. Hepatitis C virus markers in infection by hepatitis C virus: In the era of directly acting antivirals. *World J Gastroenterol* 2015;21:10749-59.
- 8) Cotte L, Barrail-Tran A, Vincent C, Valantin MA, Fournier I, Lacombe K, *et al.* Telaprevir enhances ribavirin-induced anaemia through renal function impairment. *Antivir Ther* 2015;20:479-86.
- 9) Heim MH, Thimme R. Innate and adaptive immune responses in HCV infections. *J Hepatol* 2014;61:S14-25.
- 10) Lemmers A, Moreno C, Gustot T, Maréchal R, Degré D,

- Demetter P, *et al.* The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009;49:646-57.
- 11) Chang Q, Wang YK, Zhao Q, Wang CZ, Hu YZ, Wu BY. Th17 cells are increased with severity of liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2012;27:273-8.
- 12) Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol* 2007;25:821-52.
- 13) Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. *Nat Rev Drug Discov* 2012;11:763-76.
- 14) Lockhart E, Green AM, Flynn JL. IL-17 production is dominated by gammadelta T cells rather than CD4 T cells during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol* 2006;177:4662-9.
- 15) Cupedo T, Crellin NK, Papazian N, Rombouts EJ, Weijer K, Grogan JL, *et al.* Human fetal lymphoid tissue-inducer cells are interleukin 17-producing precursors to RORC+ CD127+ natural killer-like cells. *Nat Immunol* 2009;10:66-74.
- 16) Pandiyan P, Zhu J. Origin and functions of pro-inflammatory cytokine producing Foxp3(+) regulatory T cells. *Cytokine* 2015;76:13-24.
- 17) Hao C, Zhou Y, He Y, Fan C, Sun L, Wei X, *et al.* Imbalance of regulatory T cells and T helper type 17 cells in patients with chronic hepatitis C. *Immunology* 2014;143:531-8.
- 18) Wang JP, Zhang Y, Wei X, Li J, Nan XP, Yu HT, *et al.* Circulating Toll-like receptor (TLR) 2, TLR4, and regulatory T cells in patients with chronic hepatitis C. *APMIS* 2010;118:261-70.
- 19) Cabrera R, Tu Z, Xu Y, Firpi RJ, Rosen HR, Liu C, *et al.* An immunomodulatory role for CD4(+)CD25(+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2004;40:1062-71.
- 20) Yu JW, Wang GQ, Sun LJ, Li XG, Li SC. Predictive value of rapid virological response and early virological response on sustained virological response in HCV patients treated with pegylated interferon alpha-2a and ribavirin. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:832-6.
-