



Title	Enhanced expression of HLA class I by inhibited replication of hepatitis B virus
Author(s)	竹原, 徹郎
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38643
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 ^{たけ}竹 ^{はら}原 ^{てつ}徹 ^お郎

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 9 9 8 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 12 月 15 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 Enhanced expression of HLA class I by inhibited replication
of hepatitis B virus

(B型肝炎ウイルス増殖による HLA Class I 発現の抑制)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 鎌 田 武 信

(副査)
教 授 平 野 俊 夫 教 授 松 沢 佑 次

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

B型肝炎ウイルス(HBV)には直接的な肝細胞障害性はなく、宿主側に誘導された細胞障害性 T 細胞が肝細胞膜上に表出されたウイルス標的抗原と自己の HLA Class I を同時に認識して、肝細胞傷害を引き起こすと考えられている。ウイルス感染において細胞膜上の HLA Class I 発現量を調節する因子としては、ウイルス感染によって誘導される各種のサイトカインによる影響と共に、ウイルス感染そのものが感染細胞膜上の Class I 発現量に与える影響が考えられる。B型肝炎では HBc 抗原により HLA Class I の強力な inducer であるインターフェロン(IFN) gamma が誘導され、これが感染細胞上の HLA Class I の発現を誘導する因子の一つである可能性が考えられている。一方、他のいくつかのウイルスでは、ウイルス感染により感染細胞膜上の MHC Class I の発現が抑制されることが知られているが、HBV ではそのような現象は明らかにされていない。本研究では HBV 産生肝細胞株を用いて HBV DNA の複製と、細胞膜上の HLA Class I 発現の関連について検討を行った。

〔方 法〕

1. 付着培養細胞における細胞膜上の HLA Class I 発現量の定量的解析。

HB611(後述)を0.1%コラゲナーゼ処理にて single cell suspension とした。5×10⁵個の細胞を抗 HLA Class I モノクロナル抗体と反応させ、さらに FITC-標識山羊抗マウスイムノグロブリン抗体と反応させ、0.5%パラホルムアルデヒドにて固定した。FACSscan システムを用いて10,000個の細胞について蛍光強度の測定を行った。HLA Class I の発現量は、抗 HLA Class I 抗体で染色した細胞の平均蛍光強度と二次抗体のみで染色した細胞の平均蛍光強度の差で評価した。HLA Class I の定量的な解析が可能であるかどうかを明らかにするために、HB611を0.1-10,000U/ml の IFN alpha, IFN beta, IFN gamma で24時間処理し、誘導された HLA Class I の発現量について検討した。

2. Acyclovir 処理をした HB611における細胞膜上の HLA Class I 発現量の解析。

HBV DNA をゲノム内に組み込んだ肝芽腫細胞株である HB611は、細胞内で HBV DNA の複製を行うが、こ

れを Acyclovir で12日間処理することにより、HBV 増殖が抑制されることが知られている。HBV DNA の複製と HLA Class I の発現との関連を明らかにするために、Acyclovir 処理をした HB611 と Acyclovir 非処理の HB611 について、その HLA Class I 発現量について解析した。また、HBV DNA の複製が各種 IFN に対する反応性に与える影響を明らかにするために、Acyclovir 処理と、非処理の HB611 について IFN alpha, IFN beta, IFN gamma 処理後の HLA Class I 発現量について検討した。

〔成 績〕

1. HB611 では 100-10,000 U/ml の IFN alpha, IFN beta, 10-10,000 U/ml の IFN gamma により濃度依存性に細胞膜上の HLA Class I の発現が誘導された。このことから、間接蛍光抗体法と flow cytometry を用いて、HB611 の細胞膜上の HLA Class I を定量的に測定することが可能であると考えられた。
2. HB611 の細胞膜上の HLA Class I 発現量は Acyclovir 処理により濃度依存性に増加した。この Acyclovir による HLA Class I の発現量の増加は、IFN alpha, IFN beta, IFN gamma 刺激時にも同様に認められた。Acyclovir は HB611 の parent cell である Huh6 の細胞膜上の HLA Class I 発現には影響を与えなかった。

〔総 括〕

間接蛍光抗体法と flow cytometry を用いて付着培養細胞における細胞表面 HLA Class I の定量的な解析が可能であった。HBV 産生肝芽腫細胞株である HB611 は、Acyclovir 処理により HBV DNA の複製が抑制され、同時に細胞膜上の HLA Class I 抗原量が増加した。HB611 の parent cell である Huh6 ではそのような効果は認められなかった。以上のことから、HBV DNA の複製はなんらかの機序をかいして、細胞膜上の HLA Class I の発現を抑制している可能性が示唆された。このことは HBe 抗原陽性の肝細胞は陰性の肝細胞に比し細胞膜上の HLA Class I の発現が減少しているという免疫組織学的な検討結果と一致しており、HBV は感染細胞膜上の HLA Class I の発現を抑制することにより、宿主の免疫監視機構からのがれ、これが HBV の持続感染の一因となっていると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

B 型慢性肝炎の肝細胞障害およびそれに引き続くウイルスの排除には、感染肝細胞膜上の HLA Class I の発現が重要であるが、B 型慢性肝炎において、その発現調節がどの様に行われているかは不明であった。今回培養細胞系を用いて、HBV の複製が感染肝細胞上の HLA Class I の表出を抑制することと、B 型慢性肝炎患者においては HLA Class I の強力な誘導物質である IFN gamma が HBe 抗原刺激により単核球から特異的に産生され、かつ肝炎の増悪時にこれが増強されることが明らかにされた。このことは B 型慢性肝炎における肝細胞障害成立機序を解明するのに役立つと共に、B 型肝炎ウイルスの慢性感染の離脱には、HBV 増殖の抑制と IFN gamma の補充が有用であることを示唆している。

本研究は HBV 感染における肝炎の発症について、HLA Class I の発現から解明した点で独創的であり、加えて臨床的な示唆にも富むことから、学位に値すると判断する。