OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	C型肝炎ウイルス抗原ならびにFas抗原の発現動態からみたC型肝炎発症機序についての検討
Author(s)	平松, 直樹
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39399
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 40 】

氏名	平松直樹（ひらまつなおき）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 11563 号
学位授与年月日	平成6年10月5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	C型肝炎ウイルス抗原ならびに Fas 抗原の発現動態からみた C型肝炎発症機序についての検討
論文審査委員	(主査) 教授 鎌田 武信 (副査) 教授 松沢 佑次　教授 山西 弘一

論文内容の要旨

[目 的]

C型肝炎ウイルス（HCV）のクローニング以来，C型肝炎に関する研究は長足の進歩をとげているが，その肝細胞障害機序は未だ明らかにされていない。一方，従来より病理組織学的検討からウイルス肝炎において apoptosis による肝細胞死が重要な役割をもつことが知られてきたが，近年，apoptosis の分子生物学的解明が進み，なかでも ligand の存在下で細胞を apoptosis に導く Fas 抗原の cDNA がクローニングされ，自己免疫性疾患や AIDS をはじめとする多くの疾患における Fas 抗原の役割が明らかになってきた。C型慢性肝炎における肝細胞障害機序を明らかにするため，HCV genome の core 領域，envelope 領域ならびに NS3 領域に対するモノクローナル抗体を用いて免疫組織学的に HCV 感染肝細胞を同定し，Fas 抗原発現細胞ならびに肝組織像との関連について検討した。

[方 法]

1. HCV 感染肝細胞の同定：C100抗体陽性慢性肝疾患48例（慢性持続性肝炎4例，慢性活動性肝炎42例，肝硬変2例）及びC100抗体陰性慢性肝疾患12例（B型慢性肝炎8例，アルコール性肝障害4例）を対象とし，これらの針生検肝組織を Zamboni 液にて固定後，凍結切片を作製した。免疫組織染色は酵素抗体間接法（ABC 法）にて行った。一次抗体として用いた core 抗体，NS3抗体は，HCV genome の core 領域（塩基番号369 ～700）およびNS3領域（塩基番号3991～4730）より発現させた大腸菌由来の recombinant 蛋白をマウスに免疫して得られたモノクローナル抗体であり，envelope 抗体は，envelope 領域の16アミノ酸よりなる合成ペプチドをマウスに免疫して得られたモノクローナル抗体であった。
2. Fas 抗原発現細胞の同定：C型慢性肝炎40例（慢性持続性肝炎16例，慢性活動性肝炎24例）及び外科的肝切除（正常肝）10例，原発性胆汁性肝硬変2例を対象とし，1と同様の免疫組織染色を行った。一次抗体はマウス・モノクローナル抗体である Fas 抗体 IgM 分画を用いた。

[成 績]

1. HCV感染肝細胞の同定：C100抗体陽性慢性肝疾患の肝組織において陽性肝細胞が小葉内に散在しており，各抗体

で染色された陽性細胞はほぼ同一の領域に認められた。個々の陽性細胞はその細胞質に顆粒状に染色されたが，これらの陽性構造は吸収試験にて消失した。core 抗体，envelope 抗体，NS3抗体による免疫組織染色の陽性率は，各々23％（11／48），23％（8／35），24％（11／46）であり，C100抗体陰性慢性肝疾患ではいずれも陰性であった。肝組織像の検討では，HCV 抗原陽性例において小葉内の炎症ならびに線維化の程度が強かった。

2. Fas 抗原の発現：C型慢性肝炎肝組織に Fas 抗原の発現を認めた。陽性細胞は主に肝細胞であり，その細胞質（一部には細胞膜）に発現がみられた。Fas 抗原陽性細胞は周囲にリンパ球浸潤を伴い，特に肝炎の活動性の指標である piecemeal necrosis 領域（periportal 領域）に多く認められた。正常肝ならびに原発性胆汁性肝硬変では Fas 抗原の発現は認められなかった。慢性活動性肝炎における Fas 抗原の発現率は83％（24例中20例）であり，慢性非活動性肝炎の38％（16例中6例）に比し有意に高かった（$P < 0.05$）。また periportal 領域における Fas 抗原陽性群では陰性群に比し periportal 領域の炎症（piecemeal necrosis）ならびに portal 領域の炎症の程度が強かった。

3. HCV 抗原発現と Fas 抗原発現動態：HCV（core）抗原染色は36例に行い，HCV 抗原発現細胞（HCV 感染細胞）は12例（33％）に認められた。HCV 抗原染色陽性12例中1例を除く全例（92％）に Fas 抗原の発現を認め，HCV 抗原陰性例における Fas 抗原の発現率58％（14／24）に比し，有意に Fas 抗原の発現が多かった（$P < 0.05$）。また組織切片上では，HCV 抗原を発現した肝細胞の近傍に Fas 抗原陽性肝細胞を認めた。

［総　括］

1. core 領域，envelope 領域および NS3領域に対するモノクローナル抗体を用いてC型肝炎肝組織において HCV 感染肝細胞を同定しえた。HCV 感染細胞が認められた組織では肝の炎症像が強く，HCV の direct な肝細胞障害機序が示唆された。

2. C型肝炎肝組織に Fas 抗原発現細胞を認めた。Fas 抗原の発現領域では炎症像が強く，HCV 感染肝における肝細胞障害や炎症の活動性に Fas 抗原の発現が関与しているものと考えられた。また最近 rat の CTL の細胞膜上に Fas 抗原に対する ligand が証明されたが，C型肝炎肝組織においてリンパ球が Fas 抗原発現細胞の周囲に浸潤していたことから，C型肝炎における肝細胞障害に Fas 抗原の発現を介した apoptosis による細胞死が関与している可能性が考えられた。さらに HCV 感染細胞が認められた群では Fas 抗原の発現率が高く，また組織切片上においても HCV 感染細胞の近傍に Fas 抗原発現細胞が認められたことから，肝細胞における Fas 抗原発現の trigger として HCV 感染の関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

C型肝炎の発症機序に細胞障害性Tリンパ球（CTL）が関与していることが知られているが，その肝細胞障害機序は未だ明らかにされていない。本研究では，C型慢性肝炎の肝細胞障害における Fas 抗原関連のアポトーシスの役割を明らかにするため，HCV モノクローナル抗体を用いて免疫組織学的に HCV 感染肝細胞を同定し，Fas 抗原発現細胞ならびに肝組織像との関連について検討した。C型肝炎肝組織において HCV 感染肝細胞は小葉内に散在して認められ，吸収試験によりその特異性が確認された。またC型肝炎肝組織に Fas 抗原発現細胞の同定が可能であり，その発現は肝細胞の細胞質（一部には細胞膜）にみられた。Fas 抗原の発現領域では炎症像が強く，HCV 感染肝における肝細胞障害や炎症の活動性に Fas 抗原の発現が関与していることが示された。最近，長田らによって CTL の細胞膜上に Fas 抗原に対する ligand が証明されたが，本研究において Fas 抗原発現細胞の周囲にリンパ球の浸潤が示され，C型肝炎における肝細胞障害に Fas 抗原－Fas ligand の系を介したアポトーシスによる細胞死が関与している可能性が示唆された。さらに，HCV 感染細胞が認められた群では Fas 抗原の発現率が高く，また組織切片上においてもHCV感染細胞の近傍に Fas 抗原発現細胞が認められたことから，肝細胞における Fas 抗原発現の trigger としてHCV感染の関与が示唆された。

本研究はC型肝炎の肝細胞障害機序に Fas 抗原関連のアポトーシスが関与すること，ならびに肝細胞における Fas 抗原発現の trigger にHCV 感染が関与することを明らかにした点で独創的であり，学位の授与に値すると考えられる。