



Title	C型慢性肝炎患者における血中可溶性Fas抗原の検討
Author(s)	飯尾, 穎元
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40039
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	いい 飯 尾 祯 元
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13018 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	C型慢性肝炎患者における血中可溶性Fas抗原の検討
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 松澤 佑次 教授 長田 重一

論文内容の要旨

【目的】

従来よりC型慢性肝炎の肝細胞障害におけるアポトーシスの関与が形態学的検討より指摘されていた。また近年、C型慢性肝炎の肝組織におけるFasの発現が報告され、C型慢性肝炎における肝細胞障害にFasを介したアポトーシスの関与が示唆された。1994年、Fasにalternative splicingにより産生される可溶性Fas抗原(sFas)の存在が報告され、Fasを介したアポトーシスの抑制作用が指摘された。そこで、C型慢性肝炎患者において血中sFasを定量とともに肝浸潤リンパ球におけるFas ligand(FasL)の発現について解析し、C型慢性肝炎におけるFas systemの関与について検討した。

【方法ならびに成績】

1. 血中sFasおよび肝組織におけるFasの発現の検討

1. C型慢性肝炎患者68例について肝生検時の保存血清を用い、血中sFasの測定を行った。対照として、健常者17例の血清についてsFasの測定を行い、肝炎患者群と比較した。全例に肝生検を施行し、肝生検組織所見と血中sFas濃度の関係についても検討した。

2. C型慢性肝炎群の血中sFas濃度は $3.24 \pm 1.55 \text{ ng/ml}$ 、一方健常者では $1.70 \pm 1.01 \text{ ng/ml}$ でC型慢性肝炎群において有意に高値であった。 $(p < 0.01)$ 。肝生検組織の病理組織学的所見をDesmetらの方法で評価した。炎症の程度を示すGradeは、Minimal: 25例、Mild: 27例、Moderate: 14例、Severe: 2例で、組織学的な炎症の程度と血中sFas濃度は有意な正の相関を示した($rs = 0.33$, $p < 0.01$)。しかし、血中sFas濃度と血中ALT値、血中HCV-RNA量との間には相関を認めなかった。

3. 血中sFas濃度を測定したC型慢性肝炎患者のうち54例について肝組織におけるFasの発現を免疫組織化学的に検討した。Fasの発現は、おもに肝細胞の細胞質に認め、一部細胞膜にも陽性シグナルを認めた。Fas陽性の肝細胞は門脈域周辺に認められ、特にpiecemeal necrosisの周囲に著明であった。Fas陽性細胞の近傍には浸潤リンパ球が存在した。Fasの発現の程度をFas陽性細胞の割合により0:陽性細胞なし、1+:陽性細胞が小葉内の1/2未満、2+:陽性細胞が小葉内の1/2以上の3段階に分類した。その結果、0:4例、1+:17例、2+:33例で、Fas発現の程度は肝組織上の炎症所見と有意な正の相関を示した($rs = 0.34$, $p < 0.05$)。さらに、肝組織におけるFasの発現と血中sFasの間にも有意な正の相関を認めた($rs = 0.29$, $p < 0.05$)。

4. 肝生検組織より得られた RNA をもとに Fas 特異的な primer を用いて RT - PCR を行うと、膜型 Fas とともに sFas からの増幅産物を認め、肝組織より sFas が産生されていると考えられた。

2. 肝浸潤リンパ球における Fas ligand の発現の検討

1. C型肝癌患者の手術例より得られた切除肝組織のうち、非癌部より浸潤リンパ球を分離し、肝浸潤リンパ球における FasL の発現を flow cytometry により検討した。さらに、この FasL 発現細胞の Fas 発現細胞に対するアポトーシス誘導能を ⁵¹Cr release assay にて検討した。

2. 分離したリンパ球を抗 FasL 抗体と抗 CD 4 抗体、抗 CD 8 抗体、抗 CD56 抗体による二重染色により解析すると、FasL は CD 8 陽性細胞ならびに CD56 陽性細胞に発現されていることが明らかになった。

3. 肝浸潤リンパ球に発現した FasL の細胞障害活性を確認するため、Fas 発現細胞である W 4 細胞を標的として ⁵¹Cr release assay をおこなった。その結果、E : T ratio が 100 : 1 で細胞障害活性を認め、中和活性を持つ抗 FasL 抗体によりその細胞障害活性は抑制された。

【総括】

1. C型慢性肝炎においては、肝細胞における Fas の発現が増強しており、また肝浸潤リンパ球において FasL が発現していることから、肝細胞に発現した Fas と浸潤リンパ球に発現した FasL を介するアポトーシスが肝細胞障害機序に関与していることが示唆された。

2. 血中 sFas は、肝組織における炎症の程度を反映しており、また肝組織における膜型 Fas の発現の程度を反映していることが明らかになった。しかし、血中 sFas による Fas system を介したアポトーシスの抑制は明らかでなかった。

3. 肝浸潤リンパ球のうち CD 8 陽性細胞および CD56 陽性細胞に FasL の発現を認め、Fas 発現細胞に対してアポトーシスの誘導が可能であった。

論文審査の結果の要旨

C型慢性肝炎における肝細胞に Fas 抗原の発現が増加していることおよび肝浸潤リンパ球に Fas リガンド mRNA を検出できることが以前より報告されており、Fas - Fas リガンドを介するアポトーシスが肝細胞障害に関与することが示唆されてきた。

本研究は、まず C型肝炎ウイルス感染者より肝浸潤リンパ球における Fas リガンドのタンパクレベルでの発現を確認し、その Fas リガンドによって Fas 発現細胞に対してアポトーシス誘導能があることを示した。さらに、この Fas - Fas リガンドを介するアポトーシスを抑制する機能を持つ可溶性 Fas 抗原 (sFas) の血中濃度を C型慢性肝炎患者において測定し、肝細胞障害との関連について検討している。血中 sFas 濃度は、肝組織における炎症の程度と相関しており、肝組織における Fas 抗原の発現の程度を反映していると考えられた。血中 sFas 濃度が、今後肝炎における炎症の程度を知るための血液中の一つのマーカーとなりうることを示唆する結果であると考えられ、学位に値するものと認められる。