Osaka University Knowledge Archive

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, 禎元
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、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

【52】

氏　　名	飯尾禎元（いいお さだはる）
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を定量する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±1.55ng／ml，一方健常者では1.70±1.01ng／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^{51}Cr release assayにて検討した。

2．分離したリンパ球を抗FasL抗体と抗CD4抗体，抗CD8抗体，抗CD56抗体による二重染色により解析すると，FasLはCD8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W4細胞を標的として^{51}Cr 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CD8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。