

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	飯 尾 禎 元
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 0 1 8 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 $3.24 \pm 1.55 \text{ ng/ml}$ 、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 ($r_s = 0.33$, $P < 0.01$)。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 ($r_s = 0.34$, $P < 0.05$)。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 ($r_s = 0.29$, $P < 0.05$)。

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 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 ^{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 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。