



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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40039">https://hdl.handle.net/11094/40039</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

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 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 $3.24 \pm 1.55 \text{ ng/ml}$ 、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 を行くと、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  $^{51}\text{Cr}$  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  $^{51}\text{Cr}$  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。