

(46)

氏名(生年月日) ^{リョウ} 梁 ^{キョウ} 京 ^カ 賢
 本 籍
 学位の種類 博士(医学)
 学位授与の番号 乙第2188号
 学位授与の日付 平成14年12月20日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
 学位論文題目 **Significance of Fas antigen-mediated apoptosis in human fulminant hepatic failure**
 (劇症肝炎における Fas 抗原を介したアポトーシスの意義)
 論文審査委員 (主査) 教授 林 直諒
 (副査) 教授 内山 竹彦, 小田 秀明

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

劇症肝炎の発症機序には、以前より宿主の細胞障害性 T 細胞 (CTL) の異常な活性化による肝細胞障害が指摘されているが、これらの活性化および障害性がどのような機序によって引き起こされるのかはいまだ明らかではない。

劇症肝炎患者において、Fas 抗原を介したアポトーシスの関与を解析する目的で、免疫組織学および分子生物学的に検討した。

〔対象および方法〕

アポトーシスが関与しているかどうかを調べるため、劇症肝炎患者の肝組織を用いて、DNA nick end labeling (TUNEL) 法を行った。次に、劇症肝炎患者肝 3 例 (B 型 1 例, NBNC 型 2 例) を正常肝および急性肝炎肝をコントロールとして 1% PLP 液で固定の後、新鮮凍結切片を作製し、マウス抗ヒト Fas モノクローナル抗体 (ZB4) で免疫組織染色を行った。

Fas リガンドの解析には、劇症肝炎、急性肝炎患者の肝組織と末梢血リンパ球を用いて、RT-PCR 法により Fas リガンドの発現について検討した。また、劇症肝炎患者 10 例、急性肝炎患者 10 例の血漿を用いて可溶性 Fas リガンドについて ELISA 法により測定した。

〔結果〕

TUNEL 法により、劇症肝炎患者における肝組織では、残存した肝細胞に多数のアポトーシスを起こした肝細胞が認められた。また、残存した肝細胞に Fas 抗原が強く発現していることが示された。

Fas リガンドの発現は、劇症肝炎において肝浸潤リンパ球と末梢血リンパ球ともに急性肝炎に比し、増強が認められた。

可溶性 Fas リガンドの検討でも、劇症肝炎 2.91 ng/ml (n=10)、急性肝炎 1.62 ng/ml (n=10)、健常者 0.27 ng/ml (n=10) で、劇症肝炎患者において有意に高値が認められた。さらに、可溶性 Fas リガンドの値は、劇症肝炎、急性肝炎での、臨床的にも重症度の指標であるプロトロンビン時間と相関が認められた。

〔考察〕

マウスを用いた劇症肝炎モデルの解析は、劇症肝炎の発症機序に Fas 抗原を介したアポトーシスの関与が示唆されているが、ヒト劇症肝炎での解析は、まだ充分なされていない。今回我々は、劇症肝炎患者において肝組織での Fas 抗原の発現が増強し、Fas 抗原にアポトーシスのシグナルを伝達する Fas リガンドの発現も、肝浸潤リンパ球、末梢血リンパ球ともに増強していることを明らかにした。その結果、ヒト劇症肝炎においても、Fas 抗原を介したアポトーシスが関与していることを示した。さらには、劇症肝炎患者では、可溶性 Fas リガンドの値も、正常人、急性肝炎患者に比し有意に高値であり、臨床的にも重症度の指標であるプロトロンビン時間と相関が認められた。このことから、可溶性 Fas リガンドの値の測定が、急性肝障害の重症度の指標となる時期がもたれた。

〔結論〕

Fas 抗原を介したアポトーシスが、ヒト劇症肝炎発

症におけるひとつのトリガーであることが示唆された。

論文審査の要旨

劇症肝炎は、急激に広範な肝細胞壊死を来す予後不良の疾患である。この機序として Fas 抗原を介したアポトーシスの関与を想定し検討した。対象は劇症肝炎 10 例、急性肝炎 10 例、正常例 3 例とした。まず肝臓組織で、アポトーシスの存在を確認するために TUNEL 法、Fas 抗原の証明にマウス抗ヒト Fas モノクローナル抗体による免疫染色を行った。次いで Fas リガンドは、劇症肝炎と急性肝炎の肝組織と末梢リンパ球を RT-PCR 法で、さらに可溶性 Fas リンパ球リガンドは血漿を ELISA 法により測定した。結果では劇症肝炎の残存肝細胞に多数の Fas 抗原を認めた。Fas リガンドの発現は、急性肝炎に比し劇症肝炎において肝浸潤リンパ球と末梢リンパ球に増強が見られた。可溶性 Fas リガンドの劇症肝炎で著高、急性肝炎で軽度上昇していた。

以上により、Fas 抗原を介したアポトーシスがヒトの劇症肝炎における一つのトリガーであることがわかった。この論文は学位論文として十分なものと判断する。

主論文公表誌

Significance of Fas antigen-mediated apoptosis in human fulminant hepatic failure (劇症肝炎における Fas 抗原を介したアポトーシスの意義)

American Journal of Gastroenterology Vol 95 No 8 2047-2055 頁(2000年8月発行)梁 京賢, 鴨川由美子, 池田郁雄, 山内克巳, 米原 伸, 長田重一, 林 直諒

副論文公表誌

1) 劇症肝炎の発症における Fas 抗原の関与. 消化器科 22(6):665-670(1996)梁 京賢, 宮園裕子, 鴨川由美子, 山内克巳, 林 直諒

- 2) 劇症肝炎の発症機序と Fas/Fas リガンドの関与. 日臨 54(7):239-243(1996)梁 京賢, 鴨川由美子, 山内克巳, 林 直諒
- 3) 肝炎, 肝硬変とアポトーシス. 現代医療 29(1):165-169(1997)梁 京賢, 宮園裕子, 鴨川由美子, 山内克巳, 林 直諒
- 4) ヒト抑制 T 細胞クローンからのサイトカイン産生. 臨免疫 27(11):1347-1350(1995)山内克巳, 木村 知, 梁 京賢, 西川瑞穂
- 5) 消化器疾患(主に IBD)とヘルパー T 細胞サブセット. 臨免疫 27(6):641-645(1995)鴨川由美子, 梁 京賢, 山内克巳