

氏名(生年月日)	ササキ ミナ 佐々木 美 奈
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第2304号
学位授与の日付	平成17年2月25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	In vitro binding of hepatitis C virus to CD81-positive and -negative human cell lines (CD81陽性および陰性細胞株におけるC型肝炎ウイルスの接着に関する研究)
主論文公表誌	Journal of Gastroenterology and Hepatology 第18巻 第1号 74-79頁 2003年
論文審査委員	(主査) 教授 立元 敬子 (副査) 教授 高崎 健, 笠貫 宏

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

C型肝炎ウイルス(HCV)は我が国の肝疾患の主要な原因となっているが、肝細胞へのHCVの感染機序はいまだ明らかにされていない。最近CD81がHCVに対する細胞膜の受容体である可能性が示された。そこで、本研究では様々な細胞株を用い、それらの細胞への感染性を検討し、さらにHCVの細胞結合性にCD81が関与するか否かを検討した。

〔方法〕

全8種類(肝細胞由来のhuH-7, huH-2, HepG2, Hep3B, 大腸癌由来のCw2, TCF-P, 胃癌由来のSS90, 膵臓癌由来のMIA PaCa-2)の細胞株についてCD81の発現性をFACSスキャンにより解析した。次いでこれらの細胞株にC型肝炎患者血清を加え37℃で1時間培養後洗浄し細胞のHCV-RNA量を測定し、HCVの細胞結合性を解析した。さらに、CD81陰性株にCD81遺伝子を導入し同様の検討を行った。また、HCVの細胞結合性が抗CD81抗体により阻止できるか否かについても検討を加えた。

〔結果〕

CD81の発現はHepG2のみが陰性で、他の7種類の細胞株ではCD81陽性であった。これらの細胞を用いてHCV陽性ヒト血清と反応させたところ、肝細胞由来のhuH-7(CD81陽性)、HepG2(CD81陰性)ではヒト血清に対し用量依存的にHCV-RNAの検出量が増加した。しかし、CD81陽性の大腸癌由来のCw2をはじめ他臓器由来の細胞株においては、HCV-RNAは検出されず、HCVの結合性にCD81は関与しない可能性が示された。次に、遺伝子導入により作製したCD81陽性のHepG2にHCV陽性ヒト血清を反応させたが、結合性はCD81陰性のHepG2の場合と同程度であった。また、CD81陽性であるhuH-7を抗CD81抗体で前処理しても、HCV結合性に変化を認めなかった。

〔考察〕

各種細胞に対するHCVの感染性をHCV結合性として検討した。その結果、HCVの結合性は肝細胞由来の細胞株にのみ認められたことから、その細胞の起源がHCV感染を規定すると考えられた。そして最近、CD81がHCV結合の受容体である可能性が発表されたが、我々の検討からはHCVの結合性はCD81発現の有無には規定されないことが確認された。この結果からHCV結合にはCD81分子を介さない別のメカニズム、すなわちまだ同定されていない未知の受容体が存在する可能性があり、それがHCV感染の初期段階として重要な役割を担っていると考えられた。

〔結論〕

細胞に対するHCV結合性にCD81の関与は考えにくく、細胞の起源、すなわち肝由来であることがHCV結合

に重要であることが示された。

論文審査の要旨

C型肝炎ウイルス (HCV) は我が国の慢性肝疾患の主要な原因となっている。最近、CD81 が HCV の細胞膜受容体である可能性が報告されたが、肝細胞への HCV 感染機序はいまだ明らかでない。

本研究では、肝細胞由来の細胞株をはじめ 8 種類の細胞株で HCV の細胞結合性を検討した。各細胞株における CD81 発現を FACS で解析し、CD81 陰性の肝細胞由来細胞株には CD81 遺伝子を導入した。各細胞株で、HCV 陽性血清添加後の細胞内 HCV-RNA 定量により HCV の細胞結合性を比較し、抗 CD81 抗体による HCV 結合抑制効果も検討した。その結果、肝細胞由来細胞株では CD81 発現の有無に関わらず HCV 結合性が用量依存性に認められ、他臓器由来細胞株では CD81 陽性でも HCV 結合性が認められなかった。

HCV 感染には CD81 よりも、細胞の起源、すなわち肝由来であることが HCV 結合性に重要であることが示された。肝細胞に特異的な HCV 受容体が存在する可能性が証明され、学術的に価値ある論文である。