

氏名(本籍) うえ の 野 よし 義 ゆき 之

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 博 第 1 0 6 9 号

学位授与年月日 平 成 3 年 3 月 28 日

学位授与の条件 学位規則第5条第1項該当

研究科専攻 東北大学大学院医学研究科
(博士課程)内科学系専攻

学位論文題目 慢性ウイルス性肝炎におけるインターフェロン療法時の末梢血単核球TNF α , IL-1 β , IFN γ 産生能の検討

(主 査)

論文審査委員 教授 豊田隆謙 教授 名倉 宏

教授 菅村和夫

論文内容要旨

【目 的】

インターフェロン (IFN) は、1) 抗ウイルス作用と 2) 免疫賦活化作用を有し、慢性ウイルス性肝炎に対して主に 1) の作用を期待して投与されているが、2) についての検討はない。そこで 2) の検討を目的に、免疫応答のプロモーター作用を有する Tumor Necrosis Factor α (TNF α), Interleukin 1 β (IL-1 β), Interferon γ (IFN γ) の産生能を、IFN 治療時に慢性 B 型肝炎 (CH-B), 慢性 C 型肝炎 (CH-C) の末梢血単核球で経時的に測定し、1) のマーカーである血清 2'-5' oligoadenylate synthetase (2-5AS) 値と比較した。更に CH-B ではウイルス量の定量的検討に HBV-DNA ポリメラーゼ (DNA-p) を用いた。

【方 法】

HBe 抗原陽性かつ DNA-p 陽性の CH-B 9 例、抗 C-100 抗体陽性の CH-C 10 例を疾患群とし、免疫応答が正常でありウイルスが完全に排除される急性 A 型肝炎 (AH-A) 10 例と急性 B 型肝炎 (AH-B) 5 例を疾患対照、更に正常健康者 (NC) 16 名を正常対照にした。CH-B, CH-C に IFN を投与し、IFN 投与前、投与 2 週後、終了直前に採血を行った。末梢血単核球は比重遠心法にて分離し、TNF α , IL-1 β の測定では LPS 20 μ g を添加・非添加で 24 時間、IFN γ 測定では 0.5% PHA を添加・非添加で 72 時間培養した。培養上清中の TNF α , IL-1 β は Amersham 社、IFN γ は Centocor 社 RIA キット、血清 2-5AS 値は栄研 RIA キットを用いて測定した。DNA-p は Kaplan の方法で測定した。IFN 療法により血清 ALT 値が投与前値の 50% 以下に改善した例を有効例とした。統計処理には Mann-Whitney, Wilcoxon, Friedman, Spearman の検定を用い、 $p < 0.05$ をもって有意とした。

【結 果】

[A] IFN 投与前の各サイトカイン産生能。(1) TNF の産生能 [単位 fmol/ml, Mean \pm SD ; LPS 非添加時, (LPS 添加時)] NC : 10.0 \pm 30.13 (55.83 \pm 31.36), AH-A : 105.48 \pm 131.88 (220.22 \pm 13.21), AH-B : 10.00 \pm 0.00 (126.62 \pm 77.69), CH-B : 21.57 \pm 18.21 (76.89 \pm 51.75), CH-C : 13.33 \pm 6.64 (76.70 \pm 32.06)。AH-A の添加・非添加時と AH-B の添加時のみ NC に比して有意の産生能亢進を認めた。(2) IL-1 β 産生能 [単位 fmol/ml, Mean \pm SD ; LPS 非添加時, (LPS 添加時)] NC : 6.12 \pm 3.52 (29.74 \pm 25.74), AH-A : 23.86 \pm 32.38 (89.85 \pm 92.00), AH-B : 4.00 \pm 41.31 (33.18 \pm 17.17), CH-B : 7.79 \pm 4.39 (44.07 \pm 21.27), CH-C : 7.53 \pm

2.87 (25.27±12.61)。AH-Aの添加・非添加時のみNCに比して有意の産生能亢進を認めた。(3) IFN γ 産生能 [単位units/ml, Mean±SD; PHA非添加時, (PHA添加時) NC : 1.23±1.29 (12.69±3.85), AH-A : 0.86±0.33 (17.55±12.05), AH-B : 1.83±1.26 (27.00±17.08), CH-B : 1.42±1.56 (21.05±23.17), CH-C : 0.83±0.71 (17.32±26.65)。いずれもNCに比して有意の差を認めなかった。[B] IFN治療前後でのサイトカイン産性能 (添加培養時), ALT値, 2-5 AS, DNA-pの変動。(1) サイトカイン産生能; IFN投与前, 投与2週後, 終了直前の順にTNF α がCH-Bで75.6±22.3, 116.8±36.6, 142.0±41.4, CH-Cで76.7±30.4, 113.3±44.9, 148.2±90.7, IL-1 β がCH-Bで40.9±21.5, 66.6±33.9, 59.9±22.7, CH-Cで25.3±12.0, 46.5±25.2, 42.6±24.9, IFN γ がCH-Bで22.7±22.6, 27.6±26.7, 30.5±19.0, CH-Cで17.3±24.3, 49.3±36.9, 55.8±46.0であり, IFN投与によりいずれのサイトカイン産生能もB型, C型共に亢進した。(2) 血清ALT値 (IU/L); 投与前, 2週後, 終了時の順にCH-Bで265.8±197.5, 225.7±268.9, 171.4±203.5, CH-Cで246.5±167.4, 161.7±135.4, 151.9±216.9と, CH-Bで低下傾向を示しCH-Cで有意に低下した。有効例はCH-Bで4例, CH-Cで8例認めた。(3) 血清2-5 AS値 (pmol/dl); CH-B 6例とCH-C 4例より測定し, 投与前 (33.3±27.5) に比し, 2週後 (176.3±96.8), 終了時 (155.9±128.7) で有意に上昇した。(4) DNA-p (cpm); 投与前262.1±5057.1, 2週後299.9±790.5, 終了時738.3±1410.0とIFN投与により有意に減少した。[C] 有効例・無効例のサイトカイン産生能, 2-5 AS, DNA-p値。(1) サイトカイン産生能のピーク値; CH-Bは有効例でTNF α 135.4±27.6, IL-1 β 83.2±43.9, IFN γ 34.12±31.26, 無効例で同じく159.4±29.0, 67.0±20.8, 31.03±17.03で有意差はなかった。CH-Cでは有効例でTNF α 176.9±88.2, IL-1 β 59.5±22.0, IFN γ 69.86±44.35, 無効例で同じく71.4±13.3, 22.5±4.3, 12.10±2.40であり, いずれの産生能も有効例で有意に亢進していた。(2) 2-5 AS, DNA-p値; いずれの増減も有効例・無効例の間に差を認めなかった。

【結 論】

①CHではAHに比しサイトカイン産生能は低い傾向を示した。②IFN投与によりサイトカイン産生能はCH-Bで増加傾向を示し, CH-Cで有意に亢進した。③CH-Cでは有効例において各サイトカイン産生能は有意に高値を示した。一方CH-Bでは有効例・無効例とで有意の差を認めなかった。

以上より, CH-CではIFNの免疫賦活作用が働き肝炎が鎮静化することが示唆された。

審査結果の要旨

我が国の慢性ウイルス性肝炎の大部分は、B型あるいはC型肝炎ウイルスの持続感染が原因で、肝炎が持続すると肝硬変、肝細胞癌へと進展する。肝炎ウイルスの持続感染を治療する目的で、抗ウイルス作用を有するインターフェロン（IFN）が投与される。ところが、慢性B型肝炎において、IFN投与後に肝炎の急性増悪を伴い、B型肝炎ウイルス量の著減と共に肝炎が鎮静化する症例を著者が臨床的に経験し、肝炎の鎮静化にIFNの抗ウイルス以外の作用、すなわち免疫賦活作用の関与も想定した。この想定を証明するのが本論文の目的で、慢性B型あるいはC型肝炎患者の末梢血単核球のサイトカイン産生能を、IFN投与前後で検討している。

用いた測定法はすでに確立された方法であり、至適測定条件が十分に検討されている。結果の中に以下に述べる重要な所見が含まれている。①B型、C型肝炎のいずれも、IFN投与後大多数の例で2-5AS活性（抗ウイルス作用のマーカー）が上昇するが、2-5AS活性の上昇と肝機能改善とが結びつかない事。すなわち、肝炎の鎮静化にIFNの抗ウイルス作用以外のものも関与している事。②B型、C型肝炎のいずれも、IFN投与によりサイトカイン産生能が上昇する。しかし上昇の程度がB型とC型の間に差がある事。実際IFN療法の有効率はB型、C型肝炎の間に差を認めるが、上記の所見はこの差を説明しうるかも知れない。③C型肝炎ではサイトカイン産生能上昇が肝炎鎮静化に結びつく事。C型肝炎ウイルスはウイルス遺伝子のクローニングから発見されたウイルスのため、*in vivo*でのウイルス関連抗原の同定は未だ行なわれていない。また、肝細胞内でのウイルスの増殖動態も不明である。従って、C型肝炎ウイルスによる肝障害の機序も現在のところ不明である。上記の所見は、C型肝炎の発生機序に、B型肝炎と異なる機序が存在する事を示唆する。本論文では、サイトカイン産生能を非特異的mitogenで単核球を刺激した後測定している。C型肝炎ウイルス関連抗原が不明な現在、ウイルス特異的な刺激によるサイトカイン産生能の検討は不可能である。将来、B型とC型の肝炎ウイルス関連抗原を用いて検討する事により、B型肝炎とC型肝炎の発生機序の差がより明らかになると思われる。一方、現在までIFN療法の効果を予測する因子が不明のため、慢性活動性肝炎に対しIFNを投与し、retrospectiveに有効性を判定しているのが現状である。そこで臨床上的有用性という点で、IFN投与後のサイトカイン産生能の動態はC型肝炎の鎮静化を予測する因子になりうる事も本論文が示している。

以上を総合すると、慢性ウイルス性肝炎の病像、治療効果を理解する上で本論文は重要であり、臨床研究の学位論文に値すると思われる。