

氏名	うめ だ まこと 梅 田 誠
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3062号
学位授与の日付	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Hepatitis B virus infection in lymphatic tissues in inactive hepatitis B carriers (B型肝炎ウイルス潜伏感染患者のリンパ組織におけるB型肝炎ウイルスの感染様式)
論文調査委員	(主査) 教授 下遠野邦忠 教授 真鍋俊明 教授 松岡雅雄

論 文 内 容 の 要 旨

B型肝炎ウイルス(HBV)はヒト肝細胞に感染し、急性肝炎、慢性肝炎、肝細胞癌といった様々なヒト肝疾患を引き起こす事が知られている。しかしながら、HBVが肝臓以外の臓器や細胞にも感染するかどうかについては議論が分かれている。事実、HBVキャリアーの末梢血リンパ球からHBVゲノムが検出されるという報告は多数なされているが、血清中に存在するウイルスが解析に用いた末梢血リンパ球に混在した可能性が否定することが出来なかった。本研究では、HBs抗原陰性・HBc抗体陽性という血清マーカー像を示す、HBVゲノムが血中には存在しない潜伏感染キャリアー症例を対象とすることにより、HBVの肝外組織における感染の有無とその存在形式の検討を行った。

1996年4月5日～2003年6月11日までの間、京都大学において生体肝移植を施行された肝移植ドナー701名中、HBs抗原陰性・HBc抗体陽性を示した健常人ドナーは99名(14.1%)であり、その中で肝臓およびリンパ組織の解析が可能であった21名(男性12名、女性9名)を対象とした。これらドナーの肝組織、肝門部リンパ節、血清、末梢血リンパ球からそれぞれ核酸を抽出し、高感度PCR法を用いHBVの存在診断と複製の有無の解析を行った。

各組織から抽出したDNAを用いたPCR解析結果から、血清中にHBVゲノムが検出された例はなかったが、肝組織からは15/21(71.4%)、リンパ節では11/21(52.4%)、末梢血リンパ球では3/21(14.3%)の症例でHBV-DNAが陽性であることが明らかとなった。そこで、これらHBc抗体陽性ドナー症例の肝組織およびリンパ組織においてHBVの複製増殖が行われているか否かを明らかにする目的で、HBVの複製中間体である閉環二本鎖DNA(cccDNA)、pregenomic RNAの存在の有無をそれぞれMungbean nuclease処理を用いたPCR法、RT-PCR法により各組織別に解析を行った。その結果、cccDNAおよびpregenomic RNAは肝組織では全例陽性であったのに対し、リンパ組織では全例陰性であることが明らかとなった。以上より肝組織と異なり、リンパ組織ではHBVは複製増殖していないと推測された。

HBVは、慢性肝炎組織では高率に宿主ゲノムへのウイルス遺伝子の組み込みが生じていることが報告されている。そこでHBs抗原陰性・HBc抗体陽性者のリンパ組織におけるウイルスゲノムの組み込みを検討する目的で、各組織から抽出したDNAサンプルをさらに宿主ゲノムを含む高分子量DNAとウイルスゲノムを含む低分子量DNAに分画した。これらの分画後DNAサンプルを鋳型としてHBVゲノムの存在診断を行ったところ、HBc抗体陽性者リンパ組織では50%の症例で宿主ゲノム分画にHBV-DNAが検出された。そこで、リンパ組織におけるHBVゲノムの宿主遺伝子への組み込みを直接証明する目的で、inverse PCR法による宿主-ウイルス連結部の塩基配列の検出を試みたところ、HBc抗体陽性者のリンパ組織中で、宿主17番染色体短腕へのHBV-DNAの組み込みが存在することが明らかになった。

本研究によりHBVはヒト体内においてリンパ組織にも感染は生じるが、ウイルスの複製増殖はなく、主として宿主ゲノムへの組み込み型として存在している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

B型肝炎ウイルス（HBV）はヒト肝細胞に感染するが、肝臓以外の臓器や細胞にも感染するかどうかは議論が分かれている。今回、申請者はHBs抗原陰性・HBc抗体陽性の、HBVゲノムが血中には存在しない潜伏感染キャリアー21名を対象とし、HBVの肝外組織における感染の有無とその存在形式の検討を行った。

まず各症例の肝組織、肝門部リンパ節、血清、末梢血白血球からそれぞれ核酸を抽出し、高感度PCR法を用いHBVの存在診断と複製の有無の解析を行った。その結果、血清中は全てHBV-DNA陰性であったが、肝組織からは15/21（71.4%）、リンパ節では11/21（52.4%）、末梢血白血球では3/21（14.3%）の症例でHBV-DNAが陽性であった。またHBVの複製増殖を示す閉環二本鎖DNA、pregenomic RNAは肝組織では全例陽性であったのに対し、リンパ組織では全例陰性であった。以上より肝組織と異なり、リンパ組織ではHBVは複製増殖していないと推測された。そこで、リンパ組織におけるHBVゲノムの宿主遺伝子への組み込みを疑い、inverse PCR法で検討したところ、一部の症例においてリンパ組織中へのHBV-DNAの組み込みの存在が明らかになった。

よって、HBVはヒト体内でリンパ組織にも感染は生じるが、複製増殖はなく、宿主ゲノムへの組み込み型として存在している可能性が示唆された。

以上の研究はHBVの体内動態の解明に貢献し、生体肝移植後の患者の術後管理に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成19年1月22日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。