

Fluctuations in sinusoidal endothelial Fcreceptors and Kupffer cells in D-galactosamine (GalN)-induced liver injury in rats. A histological study

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 伊藤, 以知郎 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/936">http://hdl.handle.net/10271/936</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 83号	学位授与年月日	平成 元年 3月31日
氏名	伊藤 以知郎		
論文題目	Fluctuations in sinusoidal endothelial Fc receptors and Kupffer cells in D-galactosamine (GalN)-induced liver injury in rats. A histological study (D-ガラクトサミンによるラット肝障害における肝類洞内皮 Fc受容体と Kupffer 細胞の変動. その組織学的検討)		

Fluctuations in sinusoidal endothelial Fc receptors and Kupffer cells in D-galactosamine (GalN)-induced liver injury in rats.

A histological study

(D-ガラクトサミンによるラット肝障害における肝類洞内皮Fc受容体とKupffer細胞の変動. その組織学的検討)

### 論文の内容の要旨

〔はじめに〕 可溶性免疫複合体(IC)は主に肝で代謝される。肝内では、Kupffer細胞(以下K細胞)のほかに、類洞内皮(以下内皮)がFc受容体(以下FcR)を持ち、ICを取込み、肝類洞内皮がK細胞とともに血中ICの代謝に関与していると考えられている。

一方、ヒトの肝障害では循環血液中にICがしばしば出現し、糸球体腎炎などの合併がときにみられる。従って障害肝におけるFcRやICの摂取の状態を検討することは重要な問題と考えられる。肝障害モデルとして汎用されているD-ガラクトサミン(GalN)を用いてラットに急性及び慢性肝障害を惹起し、障害肝におけるFcR、IC取込みの状態を観察し、あわせてK細胞数の変化を検討した。

〔材料と方法〕 Wistar rat雄、9週齢を用い、第1群(対照群、生食腹腔内注射)、第2群(急性少量投与群、GalN 300 mg/kg体重1回腹注)、第3群(急性大量投与群、GalN 750 mg/kg体重1回腹注)、第4群(慢性投与群、400mg/kg体重3日毎13回腹注)の4群に分け、第2、3群は投与後24、48、72、120時間後に、第4群を最終投与72時間後に、それぞれの対照群とともに屠殺し以下の実験をおこなった。

各群の一部の動物にウシ血清アルブミン(BSA)と家兎抗BSAIgGより調整した可溶性ICを静脈内投与し、5分後に屠殺した。これらの動物の肝凍結切片を用い、酵素抗体直接法によってICを検出し、PA-PIgGをリガンドに用いる方法でFcRを組織学的に観察した。FcRの観察時、対照動物と同一濃度のDAB反応産物を得るのに要した時間により、FcRの活性を決めた。また内因性ペルオキシダーゼ(以下PX)染色により、K細胞数を計測した。PXとFcRまたはICの2重染色も行った。

〔結果〕 1.FcRは各群とも類洞内皮とK細胞に認められ、第1群ではFcRは類洞に沿って連続的に分布した。2.第2、3群では、FcR活性に変動をみた。24時間以後、門脈周囲域では減弱し、中間及び中心域では24-72時間の範囲内で一過性に増強し、第3群に顕著であった。PXとFcRの2重染色により、この現象が少なくとも内皮で起こっている事を認めた。3.第2、3群では、炎症細胞浸潤のない壊死巣ではFcRを保持した内皮は保たれており、一部ではIC摂取もみられた。炎症細胞浸潤を伴う壊死巣ではFcRは減弱ないし消失していた。4.第4群では、門脈周囲域に線維化と胆管増生がみられ、FcRは減弱ないし消失した。5.K細胞は、急性投与群では門脈周囲域で概ね減少し、他の小葉域では48-72時間を中心に増加し、第3群により著しかった。第4群では、門脈周囲域で減少した。6.ICは内皮とK細胞に顆粒状に取込まれ、分布はほぼFcRの分布に一致した。第2、3、4群のFcRが減弱、消失した門脈周囲域ではICの取込みも減弱、消失した。浸潤する単球にはICの取込みは明らかに認められなかった。7.急性投与群では肝重量の減少が著しく、第3群の48時間では正常の55%にまで減少した。

〔考察〕 GalNによる障害肝では、類洞壁のFcRに増強、減弱さらには消失がみられ、FcRの消失した領域ではICの取込みはみられなかった。従ってFcRはICの摂取と密接な関係があると考えられる。また、PXとFcRの2重染色により、FcR活性の変動が少なくとも内皮で起こっていることが明らかとなった。FcRの増強の現象は大食細胞などで報告されており、FcRを介する貪食能の増強を伴うとの報告もみられる。一方今回、摂取されたICの分布とFcR活性の増減の分布に組織学的に一応の相関が認められたことから、類洞内皮のIC摂取能がFcR活性とともに変動する可能性が示唆される。

K細胞増加の現象は、既に四塩化炭素肝障害、ヒト肝炎などで報告されており、今回GalNによる急性肝障害でも同様の現象を認めたが、門脈周囲域では減少の傾向があることが明らかになった。

こうした類洞内皮FcR活性とK細胞数の変動は障害肝でのIC代謝に影響を与えるとみられ、FcR増強

とK細胞の増加は、肝重量著減に示される第3群のような高度の肝障害では、類洞の消失を代償する変化とも考えられるであろう。

## 論文審査の結果の要旨

可溶性免疫複合体は主として肝で代謝されるが、肝内では主にKupffer細胞(以下K細胞と略)と類洞内皮(以下内皮と略)がその役割を果している。さらに、共同研究者らがすでに明らかにしているように、K細胞以外に内皮がFc受容体(以下FcRと略)を有し免疫複合体のクリアランスに密接に関係している。

一方、肝障害の際に時に出現する血管炎や糸球体腎炎は血中免疫複合体がその発生に関与しているとされている。そこで申請者は、肝障害時における免疫複合体の代謝機序について基礎的研究を行った。

申請者は、ウイスター雄ラットにおける肝障害時の内皮とK細胞のFcRの消長を検索した。肝障害をもたらす薬剤としては、汎用されているD-ガラクトサミンを用いた。実験群として、対照生食投与群、急性大量一回投与群(750mg/kg)、急性少量一回投与群(300mg/kg)、慢性反復投与群(400mg/kg)とした。観察方法として、内皮細胞とK細胞の区別は内在性ペルオキシダーゼをDABで発色させることにより識別した。FcRはPAPIgG(horseradish peroxidase-抗horseradish IgG抗体)をリガンドとして用い、これを組織化学的に染色することによって観察した。なおFcRの活性は、DAB反応の発色に要する時間に反比例するものとしてその強弱を表現した。

その結果、次の様なことが明らかになった。

1. K細胞の数は大量投与群において、48時間後増加し、72時間でピークとなり以後減少した。その増加は特に小葉中心部と小葉中間帯に目立った。
2. FcR活性は、大量投与群において投与後48時間まで増強した。
3. FcR活性は、炎症性細胞浸潤を伴う壊死巣では減弱ないし消失し、細胞浸潤のない壊死巣ではよく保持されていた。
4. 免疫複合体の取り込みは内皮とK細胞に認められ、FcRの分布とほぼ一致した。
5. 投与群において、FcRが減弱ないし消失した領域では免疫複合体の取り込みも認められなかった。

これらのことから、免疫複合体の代謝は肝内FcRの変化と関連し、肝に高度障害が加えられる場合はFcRの活性の増強が起こることが判明した。

以上の研究成果に対して、次のような質問がなされた。

1. 肝内においてK細胞と単球を内因性ペルオキシダーゼ活性によって、識別することは実際に可能であったか。
2. FcRの活性の比較は定量的でなく定性的であり、より定量的な検索が必要でないか。
3. K細胞の免疫複合体の取り込みは受容体を介しない非特異的なendocytosis(細胞内取り込み)によるものも含まれていないか。
4. FcR活性の変動はどのようにおこるか。
5. 免疫複合体の取り込みは肝以外の臓器の類洞内皮ではおこらないのか。

これらの質疑討論の結果、本論文は免疫複合体の代謝過程における肝の役割と肝障害時における変化を明らかにした点で高い評価が与えられ、医学博士の学位授与に値するものであると全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	喜納	勇			
	副査	教授	山下	昭	副査	教授	吉見輝也
	副査	助教授	吉澤	浩司	副査	講師	中村達