

Title	Kupffer cell depletion attenuates superoxide anion release into the hepatic sinusoids after lipopolysaccharide treatment.
Sub Title	エンドトキシンによる肝類洞への活性酸素放出に対するKupffer細胞の役割： Kupffer細胞枯渇モデルを用いた検討
Author	福田, 正彦
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.3 (2005. 9) ,p.7-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050902-0007

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Kupffer cell depletion attenuates superoxide anion release into the hepatic sinusoids after lipopolysaccharide treatment.

(エンドトキシンによる肝類洞への活性酸素放出に対するKupffer細胞の役割；
Kupffer細胞枯渇モデルを用いた検討)

福田 正彦

内容の要旨

種々の肝障害の発生機序にエンドトキシンが関与していることが知られているが、その中でエンドトキシンの主成分のlipopolysaccharide (LPS) がKupffer細胞からTNF α 産生を促し、肝類洞への活性酸素放出をもたらすことが示されている。著者は、ラットを用いてKupffer細胞から肝類洞へ放出される活性酸素が肝類洞内皮細胞障害を起こすことを報告した。本研究ではGadolinium Chloride (GdCl $_3$) によりKupffer細胞を枯渇させることによりLPS投与時のTNF α 産生、肝類洞内への活性酸素放出、肝類洞内皮細胞障害の程度を検討した。また、好中球、IL-8の動態も併せて検討した。方法としてまずWistar系雄性ラットに10mg/kg体重のGdCl $_3$ を2回投与した後、2mg/kg体重のLPSを投与した。また別の群では、GdCl $_3$ 投与の後5000U/kg体重のTNF α を門脈より持続投与した。上述の処置後Bautistaらの方法により灌流肝を用いて肝類洞内の活性酸素を測定した。またLPS投与後、肝組織でのKupffer細胞、肝マクロファージ、好中球の観察、血清TNF α 、IL-8の経時的測定、灌流液中のPurine nucleoside phosphorylase (PNP)/GPT比測定による肝類洞内皮細胞障害も検討した。

その結果ED2抗体を用いた免疫組織化学では、GdCl $_3$ 投与により肝臓のKupffer細胞がほぼ枯渇されることを示した。しかし、Mar1抗体を用いた免疫組織化学では、GdCl $_3$ は肝臓に浸潤するマクロファージを完全に枯渇はしなかった。LPS投与により肝類洞内の活性酸素産生は増加したが、その増加はGdCl $_3$ により抑制された。しかし、肝臓のKupffer細胞がほぼ枯渇されていたにも関わらず、その産生は完全には抑制されなかった。LPSをTNF α に変えた実験でも同様の結果が得られた。LPS投与により増加した肝灌流液中のPNP/GPT比の増加もGdCl $_3$ により抑制された。しかし、GdCl $_3$ 投与はLPS投与後のTNF α の増加を抑制しなかった。LPS投与により肝臓への好中球浸潤、血清IL-8は増加したがGdCl $_3$ により抑制された。

以上、GdCl $_3$ はKupffer細胞を枯渇し、LPS投与後に起こる肝類洞内への活性酸素産生と、引き続き肝類洞内皮細胞障害を抑制した。GdCl $_3$ はTNF α 投与による活性酸素放出も抑制した。これらは、Kupffer細胞が肝類洞内への活性酸素産生源として重要であることを示唆する。しかし、GdCl $_3$ はLPSまたはTNF α による活性酸素産生は完全には抑制しなかった。これはKupffer細胞以外の活性酸素産生源の存在が示唆された。

以上の結果よりLPSは肝類洞内へのTNF α と活性酸素の放出を促すとともに、IL-8産生、それに引き続く好中球浸潤を惹起し、肝類洞内皮細胞障害を悪化させる可能性が示唆された。その過程には、Kupffer細胞が重要な役割を果たしており、Kupffer細胞を枯渇させることでその障害が軽減される可能性が示唆された。

論文審査の要旨

種々の肝障害の発症の機序にエンドトキシン (ET) が関与していると報告されている。ET投与は肝類洞への活性酸素放出を惹起するが、申請者らはその活性酸素が肝類洞内皮細胞障害を引き起こす可能性を示した。近年、その活性酸素の産生源としてクッパー細胞が着目されている。本研究では、その点を明確にするために、クッパー細胞を枯渇させるとET投与による活性酸素産生、肝類洞内皮細胞障害が抑制されるかどうかを検討した。まずGdCl $_3$ 投与により肝臓のクッパー細胞が枯渇されることを確認した。その動物ではET投与による肝類洞内への活性酸素産生の減少と肝類洞内皮細胞障害の軽減が観察された。しかし、クッパー細胞をほぼ完全に枯渇しても活性酸素産生の完全な抑制には至らず、本モデルの活性酸素産生には肝臓へ浸潤する好中球、マクロファージなども関与していると結論した。

本研究の結論に至るためには、肝臓におけるクッパー細胞、マクロファージ、好中球などの動態を明確にする必要があった。そのことに対し、本研究でクッパー細胞とマクロファージを識別するために用いたED2抗体、Mar1抗体の認識抗原が現在も確立されていないことから、本研究の結果の解釈には十分注意する必要があると指摘を受けた。また、本研究では、好中球動態をHE染色像で観察したが、免疫染色も併せて行うべきであったと指摘を受けた。また、種々の免疫組織染色には、核染色も併せて行い、より鮮明な画像を提供すべきとの指摘を受けた。また、すべての審査員から、肝小葉内の各細胞の分布と肝障害部位の局在の関係についての質問があった。本研究では、灌流肝モデルを用いて肝類洞内皮細胞障害を検討したが、このモデルでは、小葉内局在を同定することは難しかった。今後、組織学的な検討などを加え、本モデルにおける障害部位の同定を行う必要があると考えられた。一方、近年GdCl $_3$ によりクッパー細胞が枯渇しないとする報告もあり、本研究の結果との乖離が指摘された。今後、*in situ*でのクッパー細胞の食食能などの検討を加え、GdCl $_3$ のクッパー細胞動態への影響をさらに詳細に検討するべきと考えられた。申請者らは、すでにET投与による肝内皮細胞障害が、活性酸素除去酵素 (SOD) を投与することで抑制されることを示しており、本モデルでも、肝類洞内皮細胞障害はクッパー細胞などから産生された活性酸素に起因していると推測している。これに対し、本モデルでもSOD投与が肝細胞障害軽減するかどうかを追試し、その点をより明確にするべきであったと指摘を受けた。

以上の如く、本研究には今後検討されるべき課題が含まれているものの、ETによる肝障害におけるクッパー細胞の役割に新知見を加えたものであり、肝臓病学、特にアルコール性肝障害、非アルコール性脂肪肝炎などの病態解明にとって有意義な研究であるとの評価を受けた。

論文審査担当者 主査 内科学 日比 紀文
外科学 北島 政樹 医化学 末松 誠
病理学 坂元 亨宇
学力確認担当者：北島 政樹
審査委員長：北島 政樹

試問日：平成17年 4月25日