<短 報>

アルコール性肝障害におけるアセトアルデヒド結合細胞に
対する特異的キラーT細胞の証明

泉 並木 酒井 義法 蓮村 靖*

はじめに：近年，アルコール性肝障害において，免疫学的機序が肝障害に関与することが報告されてきている¹⁾。われわれはすでに，アルコール性肝障害患者末梢血リンパ球が，自己培養肝細胞に対して細胞障害能を有すること²⁾，アルコール性肝障害患者血清中には，IgA型抗肝細胞膜抗体³⁾のみならず，アルコールにより変化した肝細胞膜に対する抗体が存在すること⁴⁾，さらにこの特異的血中抗体が陽性の症例では，肝組織所見が悪化する症例が多いこと⁵⁾を報告した。またアルコール性肝炎の肝生検組織浸潤リンパ球サブセットを解析すると，Leu 2a陽性のキラーT細胞が主体であり⁶⁾，その一部がMallory bodiesと密に接合していることが認められた⁷⁾。これらの結果から，アルコール性肝炎の免疫機序の標的抗原の1つとしてMallory bodiesがあげられるが，他の大多数のキラーT細胞の標的抗原の性状は明らかではない。最近，アルコール性肝障害では，アセトアルデヒドにより修飾された蛋白に対する血中抗体が存在することが報告されている⁸⁾。そこで，今回アセトアルデヒドを結合させた細胞に対する特異的な細胞障害性T細胞が存在するか否かを，ハプテン基に特異的に反応するキラーT細胞の検出法⁹⁾を用いて検討した。

対象と方法：アルコール性肝障害18例と，過剰の飲酒歴のない非アルコール性肝障害14例を対象とした。なお，健康人11例を正常コントロールとした。細胞障害能の測定は，自己末梢血リンパ球にアセトアルデヒドを反応させたものをstimulatorおよびtarget cellとして用いた。すなわち，末梢血リンパ球をFicoll Conray比重遠心法によって分離し，その一部を10%ウシ胎児血清含有RPMI1640培地(以下培地)に 1×10^6 個/mlとなるよう浮遊し，effector cellとして用いた。他の一部は， $50 \mu\text{g/ml}$ のマイトマイシンC含有培地中で 37°C ，30分間反応させて不活化した後， $100 \mu\text{M}$ ア

セトアルデヒドと $20 \mu\text{M}$ sodium cyanoborohydride含有Hepes buffer中で 37°C ，2時間反応させた。洗浄後この細胞をstimulator cellとして用いた。このstimulator cellをeffector cellと1:1となるよう混合培養し，キラーT細胞を誘導した。Target cellは， $10 \mu\text{g/ml}$ のphytohemagglutinin添加培地で3日間培養後， $100 \mu\text{M}$ アセトアルデヒドと $20 \mu\text{M}$ sodium cyanoborohydride含有培地中で2時間反応させ，その後 ^{51}Cr でラベルした。そして，これを 1×10^6 個/mlとなるように調節して使用した。先に誘導したキラーT細胞と，このtarget cellを 0.1 ml ずつ 37°C ，4時間混合培養した。培養終了後細胞を遠心し，上清に放出された ^{51}Cr の放射活性をガンマカウンターで計測した。Spontaneous releaseはtarget cellを培地のみと培養し，0%とし，maximum releaseは0.1% TritonX-100添加培地中で培養したtarget cellの上清を測定し100%として，細胞障害能はそれぞれのコントロールに対する相対的な ^{51}Cr の放出量で表示した。なお，target cellにアセトアルデヒドを反応させる際に， 10 mM のL-cysteineを同時に添加して作成した標的細胞も別に用いてこの細胞の ^{51}Cr 放出の変化を検討した。

結果：正常コントロール11例の平均プラス2SDの

Fig. 1 Cytotoxic T-cell response to acetaldehyde-pulsed cells

* 東京医科歯科大学第2内科

Fig. 2 Cytotoxic T-cell response to acetaldehyde-pulsed cells; influence of addition of L-cysteine to the target cells

9.6%を正常上限とした。アルコール性肝障害18例中5例で細胞障害能が陽性であったのに対し、非アルコール性肝障害は1例も陽性例はみられなかった (Fig. 1)。アルコール性肝障害のうち細胞障害能が陽性であった5例中4例が肝生検組織所見ではアルコール性肝炎であった。一方、細胞障害能が陰性であった13例の肝生検組織所見は6例が肝硬変、5例が肝線維症、2例が脂肪肝であった。この細胞障害能は4例の非自己のリンパ球を標的としたものでは検出されなかった。標的細胞作製の際アセトアルデヒドとともにL-cysteineを添加した細胞をtarget cellとして用いると、細胞障害能は著明に抑制された (Fig. 2)。

考察：アルコール性肝障害の一部の症例でアセトアルデヒドを結合させた細胞に対する特異的キラーT

細胞活性が認められた。さらに、アセトアルデヒドと強力に結合することが知られているL-cysteineによって細胞障害能が抑制されたことから、この反応はアセトアルデヒドにより修飾された細胞膜蛋白に対するものであると推測された。今回検出できたキラーT細胞の細胞生物学的意義は明らかではないが、アルコール性肝炎における肝細胞破壊に関与している可能性が大いに考えられる。したがって、肝細胞壊死の成因としてのアセトアルデヒドと肝細胞膜蛋白との結合の重要性に今後注目する必要がある。

本研究に貴重な御助言を戴いた東京医科歯科大学小児科矢田純一教授に深謝いたします。

索引用語：アルコール性肝障害、アセトアルデヒド、キラーT細胞

文献：1) Israel Y, Orrego H, Niemela O: *Sem Liver Dis* 8: 81, 1988 2) Izumi N, Hasumura Y, Takeuchi J: *Clin Exp Immunol* 53: 219, 1983 3) Kaku I, Izumi N, Hasumura Y, et al: *Dig Dis Sci* 33: 845, 1988 4) Izumi N, Sato C, Hasumura Y, et al: *Clin Exp Immunol* 61: 585, 1985 5) 武内重五郎, 泉 並木, 小山 恒, 他: 文部省科学研究「アルコールと肝」昭和61年度報告書 6) 酒井義法, 泉 並木, 小山 恒, 他: アルコール代謝と肝, Vol. 7, 212, 1987 7) 酒井義法, 泉 並木, 入江徹也, 他: 肝臓 27: 1768, 1986 8) Niemela O, Kajner F, Orrego H, et al: *Hepatology* 7: 1210, 1987 9) 奥野清隆, 水落利明, 藤原大: 免疫実験操作法, XI, 3551, 金沢, 1983

Cytotoxic T-cell response to acetaldehyde-pulsed cells in alcoholic liver disease

Namiki IZUMI, Yoshinori SAKAI and Yasushi HASUMURA*

* Second Department of Internal Medicine, Tokyo Medical and Dental University