内科学の展望 (第9回)

—肝疾患について—

A 4. 免疫学的考察

大阪市立大学医学部第三内科

山本 祐夫

REVIEW ON INTERNAL MEDICINE, 1981—LIVER DISEASES—

A 4. IMMUNE-MEDIATED LIVER INJURY

Sukeo YAMAMOTO, MD

The Third Department of Internal Medicine, Osaka City University Medical School

はじめに

免疫学的機序により肝障害が惹起されることについては多くの研究がなされている。

本稿においては、①急性肝内胆汁うつ滞が、抗原刺激を受けた感作リンパ球から分泌される催胆汁うつ滞因子により惹起されうること、②自己免疫性肝障害の発生機構として、最も注目されているantibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC反応)においては、K-cellより産生分泌されるchemical mediatorが細胞障害性を発揮しうること、③ リンホカインにより活性化された活性化マクロファージ (mφ) は、monokineを産生分泌するが、このmonokineの中に細胞障害性因子 (cytotoxic factor) が存在すること、以上の三つの課題について最近、教室において行なわれた研究成績について述べる。

この研究の特徴点は、免疫学的機構による肝障害について、それぞれ障害因子を分離、精製して「物」として保持したこと、またこれら障害因子による実験的免疫性肝障害を作製し、この実験系を用いて免疫性肝障害の予防、治療にも応用しうる可能性を示した点である。

I. 催胆汁うつ滞因子

薬物アレルギーによる肝障害に際しては、定型な肝内胆汁うつ滞像を示す症例の多いことから、本症患者の末梢血リンパ球を起因薬物で刺激

し、その培養上清をイヌの上腸間膜静脈より注入して検討を加えた結果、明瞭な肝内胆汁うつ滞を惹起することを知りえた¹⁾²⁾。そこで、このリンホカインに含まれる催胆汁うつ滞因子について実験を進めた。

結核死菌でモルモットを感作し、この感作モルモットのリンパ節細胞を精製ツベルクリンPPDで刺激すると、その培養上清にも同様の催胆汁うつ滞因子が存在することが証明されたので、以後の実験は極めて易容になった。表1は催胆汁うつ滞因子 (cholestatic factor) による胆汁うつ滞の測定法である。次に催胆汁うつ滞因子の部分精製について述べる。

Sephadex G-75 カラムで分画すると図1に示すように第4分画に認められた。次に、DEAE-cellulose column chromatographyで分画すると、催胆汁うつ滞因子は第1分画と第5分画に認められた。図1の下段に示すようにマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) は第5分画に含まれており現在の所、催胆汁うつ滞因子 (第5分画) はMIFと同一の分画に共存している。第1分画の催胆汁うつ滞因子はMIF活性を示さない別個の因子である。

さらに、これらの催胆汁うつ滞因子はtrypsinおよびneuramidaseによつて失活することから、糖蛋白質であることが判明した。

表1. 催胆汁うつ滞因子の検索方法

また薬物アレルギー性胆汁うつ滞患者の初期血清中に同様の性格を有する催胆汁うつ滞因子が存在することを証明しえた³⁾。

以上により、免疫性急性肝内胆汁うつ滞という新しい概念を提唱すると共に、リンホカインには胆汁うつ滞を惹起させるcholestatic factorが含まれることを証明した。

II. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity

培養肝細胞に抗肝細胞膜抗体を作用させ、次いでリンパ球を添加すると、Fc receptorをもつK-cellが抗肝細胞膜抗体のFc部分と結合を起し、ADCC反応が惹起される。この実験系を用いて、ADCC反応に際してK-cellから肝細胞を障害するchemical mediatorが産生分泌される可能性について検討した。

まず上記の実験系を用いてin vitroでADCC反応を行ない、その上清をラットの腸間膜静脈に注入すると、肝に亜小葉性の細胞壊死が発生する。このように、K-cellから細胞障害性のchemical mediatorが産生分泌される可能性が認められた

図1. 催胆汁うつ滞因子の分離法

表2. ADCC検査法

図2. ADCC反応培養上清中の細胞障害因子の分離法

図3. 等電点カラム電気泳動法によるADCC反応培養上清中の細胞障害因子の分離

ので、次の実験を行なった。

表2に示す方法でADCC反応を行ない、その培養上清をSephadex G-75カラムを用いて分画する

図4. 等電点カラム電気泳動法によるADCC反応培養上清中の細胞障害因子の分離

と、細胞障害因子は第3分画に認められた(図2. 上段)。さらにDEAE celluloseカラムで分画すると、第3、第4分画に認められた(図2. 下段)。

次いで、DEAE-celluloseカラムの第3分画を等電点電気泳動を用いて部分精製すると、等電点がpH 6.5からpH 7.0の蛋白質であることが判明した(図3)。

DEAE-celluloseカラムの第4分画を等電点電気泳動法で分画すると、等電点がpH 6.0~6.5の蛋白質であつた(図4)。すなわち、ADCC反応に際してはK-cellから2種類の細胞障害因子が産生分泌されることがわかつた。

Meyer zum Bueschenfeldeによつて肝細胞膜に存在する肝特異蛋白が分離され、肝細胞膜に附着する特異的肝細胞膜抗体の存在が明らかになつた。自己免疫性肝細胞障害は、肝細胞に附着する特異的肝細胞膜抗体にリンパ球K-cellが作用して、ADCC反応が起こり、この免疫応答により惹起されるとする考え方が主流をなしている。私たちの研究により、ADCC反応に際して起こる肝細胞障害にはK-cellより細胞障害因子が産生分泌されることが明らかになつた。

この因子による肝細胞障害が副腎ステロイドや、グリチルリチンにより阻止されることも認めている。

表 3. 活性化マクロファージ依存細胞障害因子の検索方法

III. Macrophage-mediated cytotoxicity

特異抗原で感作T-cellを刺激すると、T-cellからリンホカインが産生される。このリンホカインの中にはマクロファージを活性化させる $m\phi$ 活性化因子(MAF)が存在する。このMAFにより活性化された $m\phi$ からは細胞障害因子が産生分泌される。本実験ではこの細胞障害因子の精製を行なった。

活性化 $m\phi$ から分泌される細胞障害性因子の測定法は表3に示す。

Sephadex G-75カラムで分画すると細胞障害因子は第4分画に認められる(図5, 上段)。この第4分画をさらにDEAE-celluloseカラムで分けると図5, 下段のように第3, 第4分画に細胞障害因子が認められた。

次に副腎ステロイドと類似した抗炎症作用を有するグリチルリチンが、活性化 $m\phi$ から分泌される細胞障害因子による肝細胞の障害を防止する実験について述べる。

培養肝細胞にあらかじめ $20\mu\text{g/ml}$, $40\mu\text{g/ml}$, $200\mu\text{g/ml}$ のグリチルリチンをそれぞれの濃度に加えておき、この系に活性化 $m\phi$ より産生分泌さ

図 5. 活性化 $M\phi$ 培養上清のSephadex G-75および DEAE Celluloseカラムによる分離

図 6. 活性化 $M\phi$ 培養上清の肝細胞障害におけるグリチルリチンの影響

れた細胞障害因子を加えた。肝細胞の障害性は H^3 -leucineのとり込みにより、肝細胞のアルブミン合成能を指標として測定した。その結果は図6に示すように、非活性化 $m\phi$ 培養上清を加えたcontrolのアルブミン合成能を100%とすると、活性化 $m\phi$ 培養上清では48%で、著明なアルブミン合成能の低下、すなわち肝細胞障害が起こる。一方、グリチルリチンを加えた系では、グリチルリチン濃度 $20\mu g/ml$ でのアルブミン合成能は89%であり、アルブミン合成能は殆ど対照に近い迄に防御されている。

すなわち、グリチルリチンは活性化 $m\phi$ より産生される細胞障害因子による肝細胞障害を防御しうることを示した。

むすび

以上述べた研究においては、免疫性肝障害における「肝障害因子」として、① 催胆汁うつ滞因子、② ADCC反応におけるK-cellより分泌される細胞障害因子、③ 活性化 $m\phi$ より分泌される細胞障害因子、の3因子に関して部分精製した成績を示した。さらに、これらの免疫性肝障害因子を用いて、肝障害の予防、治療の基礎研究が可能であることを述べた。

文 献

- 1) 山本祐夫, 他: 肝内胆汁うつ滞と免疫. 最近医学 32: 1863, 1977.
- 2) 溝口靖紘, 他: 薬物アレルギー性肝内胆汁うつ滞の発生機構に関する研究. 肝臓 20: 673, 1979.
- 3) 溝口靖紘, 他: 薬物アレルギー性胆汁うつ滞患者の血清中に認められた催胆汁うつ滞因子について. 肝臓 22: 38, 1981.