シンポジウム I

サイトカインと疾患

5. サイトカインと肝疾患

京都大学医学部第二内科 福田 善弘

はじめに

近年、種々のサイトカインが明らかにされ、遺伝子のクローニングも可能となり、疾患、病態との関連についての研究が急速に進展している。肝疾患においても自己免疫性肝炎のみならず、ウイルス肝炎、薬物性やアルコール性肝障害においても、その発症や、進展に免疫学的機序の関与が想定されており、サイトカインがどのように関わりあっているかは興味深い問題である。今回、サイトカインの中でもインターフェロン(IFN)、インターロイキン-1(IL-1)、IL-6、腫瘍壊死因子(TNF)をとりあげ主として慢性肝炎、肝硬変症、肝細胞癌(肝癌)について1. 血中動態、2. 末梢血単核球(単球)細胞での産生能、3. 慢性肝疾患組織での局在、4. 肝細胞障害との関連、5. 肝癌での産生、6. サイトカイン治療の面からわれわれの成績に文献的考察を混えて報告した。

1. 血中動態

従来ウイルス感染でありながらウイルス肝炎では血中IFNは検出できないとの報告が多かったがLevinら¹⁾の報告以来IFN- α 、IFN- γ についての報告が散見される^{2,3)}。急性肝炎でのIFN- α の検出は原因ウイルスにより異なるとの成績²⁾が見られるが、関係しないとの報告^{1,3)}もみられ、キャリアー化との関連で興味深い。一方B型慢性肝炎では活動性のシェーブに一致してIFN- α 、IFN-

γ が検出され、持続性肝炎や無症候性キャリアーでは検出されていない³⁾。

TNFに関して我々の検討では肝癌、肝硬変の一部で検出されたが、Yoshiokaら⁴⁾Müllerら⁵⁾同様その検出率は低く、濃度も低値であった。

IL-1、IL-2、IL-6に関する報告は未だほとんどなく、我々もIL-1に関してELISAで検討したが陽性例はなかった。IL-6については波田ら⁶⁾は慢性肝疾患の50~60%に検出され、血清 γ グロブリン値、組織でのリンパ球浸潤との関連を示唆している。

山口ら⁷⁾により可溶性IL-2レセプターが各種肝疾患患者で検出されており、IL-2との結合によりその作用をmodulateすることが推察されることから、これら疾患にIL-2が関与している可能性が示唆される。

肝疾患の特に胆汁うっ滞に特異的に検出されるサイトカインとして溝口ら⁸⁾は、催胆汁うっ滞因子(cholestatic factor, CF)を明らかにした。CFは最初、薬物アレルギー性肝炎で見いだされたが、急性ウイルス性肝炎、自己免疫性肝炎、アルコール性肝炎でも検出され、最近の免疫組織学的検討⁹⁾ではCFは肝細胞質にびまん性に認められるようである。

以上血中動態からはその測定方法、採取時期などによるが、CFを除いては肝疾患の病態を血中レベルで説明できる場合は少ないように思われる。これらサイトカインが本来は局所で働くべきものであるため血中ではきわめて微量しか存在し

Symposium on cytokines and diseases.

Cytokines and liver diseases.

Yoshihiro FUKUDA, Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyoto University.

ないのか、あるいは速やかに不活化されるためかもしれない、今後の課題と思われる。

2. 末梢血単核球（単球）細胞での産生能

血中動態同様 IFN に関する報告が比較的多くみられる。慢性肝炎患者末梢血単核球の IFN- α 、IFN- γ 産生能は種々の刺激によっても低下しているとの成績¹⁰⁾¹¹⁾が多く、血中動態の成績とあわせて後で述べる IFN 治療の根拠となっている。

しかし慢性肝炎のシェーブのさいにはむしろ IFN- γ 産生量は増加しているとの成績がみられる¹¹⁾。

IL-1 についても慢性肝疾患では一般にその産生能は低下している傾向がみられる¹²⁾¹³⁾が、逆に上昇しているとの報告¹⁴⁾も見られる。やはりシェーブ時にはいずれもその産生は高まっている¹³⁾。

TNF- α については用いる細胞、刺激物質により異なる成績が得られている⁴⁾⁵⁾。

このように末梢血での産生能は用いる細胞、刺激物質、病態により異なるものと思われる。また場合によっては必ずしも生体のとくに局所の状態を反映していないことも考えられる。したがって、肝炎ではやはり炎症の場である肝局所での解析が重要と思われる。

3. 慢性肝疾患組織での局在

肝組織でのサイトカインの局在をみた報告は意外に少なく、IFN- α に関しては Jilbert ら¹⁵⁾、Arao ら¹⁶⁾の報告がありいずれも門脈域に浸潤している約 5～20%の単核球、線維芽細胞で陽性所見を認め、その比率は持続性肝炎より活動性肝炎で高い。さらに Jilbert ら¹⁵⁾は一部小葉の HBc 抗原陽性肝細胞、すなわち HB ウイルスの増殖の旺盛な肝細胞の近くでの産生を示唆している。Arao ら¹⁶⁾も陽性細胞の比率は B 型では非 A 非 B 型より多く、また B 型の中では HBe 抗原陽性者で陰性者より多い成績を示している。

両者とも線維芽細胞で IFN- α の陽性所見を認

めており、線維芽細胞は従来の IFN- β 以外にも IFN- α も産生するのかもしれない。

一方 IFN- γ については Arao ら¹⁶⁾によりやはり門脈域の単核球にのみ陽性所見が得られているが、その数は IFN- α よりさらに少ないようである。

TNF- α に関しての検討は Yoshioka ら¹⁷⁾の報告のみで、それによると、門脈域、小葉内の単核球に陽性に染まり、慢性活動性肝炎で持続性肝炎や肝硬変に比し多く染まる傾向である。

IL-1 は Nadano ら¹⁸⁾の検討で Kupffer 細胞、内皮細胞、マクロファージ等に陽性染色を認め、急性肝炎や慢性肝炎の活動性で陽性細胞が多かった。我々も最近、IL-1 α を慢性肝炎で検討したところ B 型では特にシェーブに一致して、主として Kupffer 細胞に強く染色された。B 型と C 型との比較では B 型の方で陽性頻度が高く、染色性も強かった。

しかしながら同様に検討した原発性胆汁性肝硬変 (PBC)、ルポイド肝炎ではほとんどその染色は認められず、病因や疾患の活動性を反映するものと思われる。さらに C 型慢性肝炎でインターフェロン α 投与中の肝組織では 9 例中 7 例で強く染色されていた。同一症例で投与前 IL-1 α の染色が陰性であったものが投与中陽性化した症例が数例あり、IFN- α の投与により IL-1 α が誘導される可能性が示唆された。現在後述のように C 型慢性肝炎に IFN 治療が有望視されているが、その有効性は HCV 量と関連すると推察されるが、今後は生体側の免疫応答、サイトカイン相互の関連の面からの追求が望まれる。

以上肝組織では主として B 型慢性肝疾患で IFN- α 、 γ 、TNF- α 、IL-1 α の検討がなされており、いずれも活動性の強いものでその陽性細胞が多くみられるようである。とくにそのシェーブでは血中、単核球よりの産生などの成績からも IFN システム、IL カスケードがともに活性化され、なんらかの相互反応をおこしていることが推測される。今後それら、相互の関連、治療との関連などの検討が課題であろう。

4. 肝障害との関連

サイトカインが積極的に肝障害とくに肝炎劇症化に関与しているか否かが議論されている。すなわち劇症肝炎患者から得られた末梢血単核球のエンドトキシン刺激下での TNF, IL-1 の産生能は急性肝炎に比して著明に亢進しているとの Muto ら¹⁹⁾の報告や動物の肝不全モデルで血中 TNF の推移や抗 TNF 抗体による成績から TNF- α が深く関与しているとの Nakagawa ら²⁰⁾の報告がみられる。しかしながら動物実験においては TNF 単独では肝細胞障害はほとんどないことも明らかにされており²¹⁾、肝障害、さらには劇症化には他の因子の関与が重要かもしれない。現在検討がすすめられているアラキドン酸カスケードの関与も含めてこれらの問題は今後遺伝子工学的に作られた TNF, IL-1 の治療応用の面からも早急に解明されるべき問題であろう。

悪性腫瘍患者でまれに進行性黄疸、肝障害をとまう例が経験される。同時に、白血球増加、発熱を見るのも特徴的で多くは抗癌薬等薬物の関与は否定的である。教室の高橋らはこのような 5 症例における検討から悪性腫瘍から G-CSF, GM-CSF, IL-1, IL-6 などのサイトカインが産生されることを明らかにし、2 種の株化細胞をヌードマウスに移植して得られた肝組織に患者の剖検時にみられた組織所見が再現された。従って悪性細胞より産生されるこれらサイトカインの組合せ、あるいは未知のサイトカインが肝障害に関与している可能性がある。黄疸、胆汁うっ滞が見られたことから、悪性細胞より前述の催胆汁うっ滞因子 (CF) が産生されているか否かも今後の興味ある課題と思われる。

5. 肝癌細胞よりのサイトカインの産生

前章ではある種の悪性細胞からサイトカインが産生され、なんらかの病態に関与している可能性について触れたが、1985 年 Doyle ら²²⁾は肝癌細胞株, SK-hep1 から bioassay で IL-1 が産生され、

lipopolysaccharide (LPS) や ionophore の添加でその産生が増強されることを報告した。ついで Moore ら²³⁾は翌年、肝癌細胞、培養上清での IL-1 の分子量、等電点の検討から IL-1 α が産生される可能性を明らかにした。

我々も²⁴⁾PLC/PRF/5, HepG2 培養上清に bioassay で IL-1 を認め、さらに抗 IL-1 α 抗体, mRNA レベルでの検討からこれら肝癌細胞株から IL-1 α が産生されることを報告した。

ELISA による検討では HepG2 や Chang 細胞での産生は PLC/PRF/5 に比して極めて少なく、分化度と関連する可能性が示唆された。ついで肝癌細胞株で、免疫組織学的に IL-1 α の局在を検討したのち、肝癌細胞からの IL-1 α 産生の意義を明らかにすべく切除肝癌細胞でその局在を検討した。大部分が抗癌薬の肝動脈注入例ではあったが約半数例での肝癌細胞に陽性所見が得られ、特に増殖の旺盛な部、被膜浸潤部、転移部で陽性細胞が集簇する傾向がみられた。

最近 IL-6 に関しても肝癌細胞株よりの産生が報告されており²⁵⁾、また IL-1, IL-6 に対するレセプターの存在も明らかにされている。

我々はまた肝癌細胞株が, epidermal growth factor (EGF), insulin like growth factor-1 (IGF-1) を産生し、そのレセプターをもつことも明らかにしており²⁶⁾、肝癌細胞が産生するこれらサイトカインの意義の解明が望まれる。

6. 肝疾患におけるサイトカイン治療

サイトカイン治療として慢性肝炎における IFN- α , β , γ , IL-2 治療、肝細胞癌における IFN- γ , IL-2, TNF あるいは OK432 によるサイトカイン誘導療法などがあるが、ここでは最近注目されている C 型慢性肝炎での IFN- α 療法についての自験について述べた。投与終了後 1 年以上経過観察し得た 30 例での GPT の推移からおよそ 5 型に分類できた (図)。IFN- α は 500 万～1000 万で連日の場合は 4 週もしくは 6 週投与、間欠投与には連日 2 週間の後週 3 回を 12～16 週間投与した。C

図1. C型慢性肝炎におけるIFN- α 治療によるGPTの推移

型慢性肝炎ではB型の場合と少し異なり、IFN 投与後速やかにGPTの下降をみる例が多く、IFNが直接HCVの増殖に影響を与えている事が推測される。しかし、一方ではII型のようにB型でのリバウンド様あるいはIII型のように宿主の免疫反応による感染肝細胞の破壊が関与していることを推測させるタイプもあり、C型慢性肝炎のIFNによる反応にはheterogeneityがあるように思える。

I型を示したものは6例で1例の連日投与を除き5例が間欠投与であった。一方I型と同じく良好な反応を示したが中止後旧値に復したIV型は11例ありそのうち7例が連日投与であった。

I, II, III型を有効例と考えると約40%が有効であったが、恐らくIV型に対しては間欠、長期投与にもっていくことにより、有効率はまだまだ高められるものと期待できる。しかしながらV型のようにほとんど無効と思われる例もあり、これがHCVの量あるいはサブタイプなどウイルス側の問題であるのか、宿主の免疫応答の問題かは今後の課題であろう。

今まで述べてきたように生体防御や組織の修復にサイトカインが重要な役割を果たしていると思われるが、一方では肝障害を含む組織障害に働く可能性もある。また肝癌に対するサイトカイン治療においてもその効果は様々で必ずしも一定しない。すなわち内因性であれ外因性であれ、サイトカインに対して生体はプロスタグランディン、

ACTH、グルココルチコイドあるいはそれぞれのインヒビターを産生し、それらのバランスにより生体の恒常性が保たれている。従ってそれらの破綻が組織障害につながる可能性が考えられる。従って、肝疾患とサイトカインの問題はまだ緒に付いたばかりで、なお解明されるべき問題が山積されている。

文 献

- 1) Levin S, Hahn T: Interferon system in acute viral hepatitis. Lancet 1 : 592, 1982.
- 2) Chemelo L, et al: Natural killer cell in patients with acute viral hepatitis. Clin exp Immunol 64 : 59, 1986.
- 3) Kakumu S, et al: Serum levels of α -interferon and γ -interferon in patients with acute chronic viral hepatitis. Hepato - gastroenterol 36 : 97, 1989.
- 4) Yoshioka K, et al: Tumor necrosis factor α production by peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic liver disease. Hepatology 10 : 769, 1989.
- 5) Müller C, Zielinski C C: Impaired lipopolysaccharide-inducible tumor necrosis factor production in vitro by peripheral blood monocytes of patients with viral hepatitis. Hepatology 12 : 1118, 1990.
- 6) 波田寿一, 他: 慢性肝炎患者の血中、肝組織培養上清中のBSF-2/IL-6の検討. 肝臓 30 : 706, 1989.
- 7) 山口修司, 他: B型慢性肝炎における血中可溶性インターロイキン2レセプターの測定. 肝臓 28 : 274, 1987.
- 8) 溝口靖紘, 他: 薬剤アレルギー性肝内胆汁うっ滞症の胆汁うっ滞因子(Lymphokine)について. 日消会

- 誌 74 : 548, 1977.
- 9) Yamada S, et al: Immunocytochemical studies on cholestatic factor in human liver with or without cholestasis. *Liver* 10 : 129, 1990.
- 10) Ikeda T, et al: Evidence for a deficiency of interferon production in patients with chronic hepatitis B virus infection acquired in adult life. *Hepatology* 6 : 962, 1986.
- 11) Fuji A, et al: Interferon- γ production by peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic liver disease. *Hepatology* 7 : 577, 1987.
- 12) Sakamoto S, et al: Interleukin 1 activity in culture supernatant of lipopolysaccharide-stimulated monocytes from patients with chronic liver disease. *Hepato-gastroenterol.* 31 : 248, 1984.
- 13) Kakumu S, et al: Interleukin 1 α production by peripheral blood monocytes from patients with chronic liver disease and effect of sera on interleukin 1 α production. *J: Clin Lab Immunol* 26 : 113, 1988.
- 14) Anastassakos C, et al: Interleukin-1 and interleukin-2 activity in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 94 : 999, 1988.
- 15) Jilbert A R, et al: Cellular localization of α -interferon in hepatitis B virus-induced Liver Tissue. *Hepatology* 6 : 957, 1986.
- 16) Arao M et al: Interferon α and γ positive mononuclear cells and HLA antigen expression on hepatocyte membrane in the liver in chronic type B and non-A : non-B hepatitis. *Gastroenterologia Japonica* 24 : 255, 1989.
- 17) Yoshioka K, et al: Immunohistochemical studies of intrahepatic tumor necrosis factor α in chronic liver disease. *J Clin Pathol* 43 : 298, 1990.
- 18) Nadano S, et al: Identification of interleukin 1 positive cells in the livers of acute and chronic hepatitis patients. *J Clin Electron Microscopy* 20 : 5, 1987.
- 19) Muto Y, et al: Enhanced tumor necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure. *Lancet* 2 : 72, 1988.
- 20) Nakagawa J, et al: Involvement of tumor necrosis factor- α in the pathogenesis of activated macrophage-mediated hepatitis in mice. *Gastroenterology* 99 : 758, 1990.
- 21) 大西弘生, 他: 劇症肝炎の発症機序に関する実験的研究—とくに tumor necrosis factor (TNF) の役割について—. *肝臓* 30 : 103, 1989.
- 22) Doyle MV, et al: High level human interleukin 1 production by a hepatoma cell line BBRC 130 : 768, 1985.
- 23) Moore WM, et al: Production of Interleukin 1 by SK hepatoma tumor cells. *Biochemistry* 25 : 7696, 1986.
- 24) 瀬古修二, 他: ヒト肝癌細胞株よりの Interleukin-1 様因子産生についての研究. *肝臓* 30 : 883, 1989.
- 25) Northemann W, et al: Production of interleukin 6 by hepatoma cells. *Mol Biol Med* 7 : 273, 1990.
- 26) 長谷寛二, 他: ヒト肝癌培養細胞 (PLC/PRF/5) におけるヒト上皮成長因子の産生, ならびにその受容体の検討. *日消会誌* 84 : 128, 1987.