[Expanded Abstract]

膵星細胞における壊死腺房細胞の貪食による膵線維化抑制機構の検討

東京女子医科大学消化器内科

田原 純子 清水 京子 白鳥 敬子

背景と目的

膵実質が傷害を受けるとその修復過程で線維化が生じ、線維形成の中心的役割を果たすのが膵星細胞である。膵炎が起ると膵星細胞は静止期から α -SMA陽性の活性型に形質転換し、サイトカインの刺激によりコラーゲンなどの線維成分を生成する¹⁾。以前我々は、膵星細胞の貪食能を発見し報告した。この機能は、急性膵炎などで傷害を受け細胞死となった膵腺房細胞が膵星細胞に貪食されることで、宿主防御や組織の再構築を促進すると考えられる^{4,5)}。本研究では、膵星細胞による壊死腺房細胞の貪食が膵線維化に与える影響について検討した。

方 法

Wistar系雄性ラットより摘出した膵をコラーゲナーゼ処理し、膵星細胞を採取し、第3継代までの細胞を以下の実験に使用した^{2,3)}。ラットの膵よ

り腺房細胞を分離し、48時間培養して壊死を誘導した。染色識別した壊死腺房細胞を膵星細胞と共培養し、膵星細胞の貪食能を蛍光顕微鏡下で確認した。壊死腺房細胞を貪食した膵星細胞の12時間後と48時間後の増殖能をMTT assayにて測定し、さらに α -SMA発現をWestern blot法にて測定した。貪食した膵星細胞はAnnexin Vとpropidium iodide (PI)の二重染色、DNA断片化により細胞死を確認した。

次に壊死腺房細胞を貪食した膵星細胞の上清で新しい膵星細胞を培養し、コラーゲン、ファイブロネクチン濃度およびTGF- β 濃度をELISA法で測定した。

結果と考察

膵腺房細胞を分離後48時間培養したところ、Annexin VとPI陽性であり、細胞壊死であることを確認した。膵星細胞内に壊死腺房細胞が取り込まれていることが顕微鏡下で観察された。壊死

Fig. 1 MTT assayによる細胞増殖能。壊死腺房細胞と共培養した膵星細胞数は12時間後で明らかに低下していた。しかし、48時間後では回復傾向を示した。

Fig. 2 MTT assay による細胞増殖能 (上段) と α -SMA 発現 (下段). 壊死腺房細胞と共培養した膵星細胞の上清を, 新しい膵星細胞に添加し培養したところ, 膵星細胞数と α -SMA 発現ともに 12 時間後で著しく低下した.

腺房細胞を貪食した膵星細胞数と α -SMA 発現は, 12 時間後では正常膵星細胞と比較して有意に減少し, 貪食した膵星細胞はアポトーシスに至ることが確認された. 48 時間後には, 膵星細胞数と α -SMA 発現は回復傾向を示した (Fig. 1). また, 壊死腺房細胞を貪食した膵星細胞の上清は, 膵星細胞数と α -SMA 発現を抑制したが (Fig. 2), 上清中の TGF- β 濃度は貪食による変化はなかった. 壊死腺房細胞を貪食した膵星細胞の上清中のコラーゲンとファイブロンネクチン濃度は, 貪食していない正常膵星細胞の上清と比べ明らかに低下していた.

一般的に, 膵壊死は膵線維化を引き起こすことが知られているが, 本研究では, 貪食した膵星細胞はアポトーシスに至り, 他の膵星細胞の活性化も抑制することが証明された. 膵星細胞の貪食作用は急性膵炎のごく早期におこる局所的な防御機構であると考えられた. 炎症がさらに進行すると炎症性サイトカインや炎症性メディエーターが放出され, 膵星細胞の活性化が進行する. その結果, 細胞外基質の産生が促進され, 膵の線維化が形成されると考えられた.

文 献

- 1) Savill JS, Wyllie AH, Henson JE, et al. Macrophage phagocytosis of aging neutrophils in inflammation. *J Clin Invest* 1982; 83: 865-75.
- 2) Apte MV, Haber PS, Applegate TL, et al. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* 1998; 43: 128-33.
- 3) Apte MV, Haber PS, Darby SJ, et al. Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis. *Gut* 1999; 44: 534-41.
- 4) Shimizu K, Shiratori K, Kobayashi M, et al. Troglitazone inhibit the progression of chronic pancreatitis and the profibrogenic activity of pancreatic stellate cells via a PPAR γ -independent mechanism. *Pancreas* 2004; 29: 67-74.
- 5) Shimizu K, Kobayashi M, Junko T, et al. Cytokines and peroxisome proliferator-activated receptor γ ligand regulate phagocytosis by pancreatic stellate cells. *Gastroenterology* 2005; 128: 2105-18.

Expanded abstract cited from the original paper:

Junko Tahara, Kyoko Shimizu, Keiko Shiratori. Engulfment of necrotic acinar cells by pancreatic stellate cells inhibits pancreatic fibrogenesis. *Pancreas* 2008; 37: 69-74.

Department of Medicine, Institute of Gastroenterology, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine