

氏名 (本籍)	渡 邊 裕 (岐阜県)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	乙 第 1 0 7 7 号
学位授与日付	平成 8 年 9 月 11 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Immunohistochemical Localization of Adhesion Molecules in Autopsied Cases of Fulminant Hepatitis
審査委員	(主査) 教授 武 藤 泰 敏 (副査) 教授 高 見 剛 教授 野 間 昭 夫

論 文 内 容 の 要 旨

劇症肝炎の臨床病型のなかで、亜急性型は近年の集学的治療の進歩にもかかわらず、極めて予後不良とされており、その原因のひとつとして肝再生障害の存在が指摘されている。肝部分切除モデルにおける検討から、肝再生の停止機構にはtransforming growth factor (TGF) - β_1 などの肝細胞増殖抑制因子とともにnatural killer (NK) 細胞を主体とする免疫系の関与が指摘されている。劇症肝炎ではサイトカインネットワークの破綻など広範な免疫異常が報告されていることから劇症肝炎にみられる肝再生障害の機序に関しても、NK細胞などの活性化による再生肝細胞に対する障害活性によることが推定される。NK細胞の標的細胞に対する障害活性の発揮には、接着分子を介したシグナル伝達が重要な役割を演じていることが指摘されている。NK細胞に発現されているlymphocyte function associated antigen (LFA) -1はintercellular adhesion molecule (ICAM) -1をそのリガンドとすることが知られており、LFA-1-ICAM-1 pathwayによるシグナル伝達がNK細胞の標的細胞に対する障害活性の発揮に重要とされている。

そこで、申請者は劇症肝炎剖検肝におけるLFA-1ならびにICAM-1の発現を免疫組織化学的手法により検討するとともにG₁後期からS期細胞に発現するとされるproliferating cell nuclear antigen (PCNA) 陽性細胞との関連、さらに再生肝細胞におけるICAM-1の発現の有無をマウスを用いて免疫電顕学的手法により実験的検討をおこなった。

対象及び方法

劇症肝炎急性型 (FHA) 3例、亜急性型 (FHS) 6例を対象とした。なお対照として、急性肝炎3例の生検肝を用いた。これら症例より得られた肝組織を2分割し、一方は凍結切片を作製し、抗ICAM-1モノクローナル抗体 (Bekton Dickinson Advanced Cellular Biology Inc., San Jose, USA)、抗LFA-1モノクローナル抗体 (Bekton Dickinson Advanced Cellular Biology Inc., San Jose, USA) を用いたABC法により、一方は10%ホルマリン固定、パラフィン切片を作製し、抗PCNA抗体 (Novocastra Laboratories Ltd, Newcastle upon Tune, UK) を用いたABC法により免疫組織化学的検討をおこなった。そして残存肝細胞1000個当たりのICAM-1陽性肝細胞の割合を算出し、百分率 (%) で表示するとともに、LFA-1に関しては1ユニット (0.04mm²) 当たりの陽性細胞数を任意の25ユニット計測し、1mm²当たりの陽性細胞数として示した。またPCNAに関しては任意の残存肝細胞500個のうちの陽性肝細胞数の割合 (%) を算出し、labelling indexとした。実験的検討では雄性Balb/cマウス (Japan SCL. Inc., Sizuoka) (6~8週齢) を用い、70%肝部分切除を施行し、12時間後、30時間後に肝を摘出し、PLP固定後、凍結切片を作製し、抗マウスICAM-1モノクローナル抗体 (Seikagaku Co., Tokyo) による免疫染色を施行し、オスミウム酸による後固定をおこない、エポキシ樹脂に包埋後、超薄切片を作製し電顕にて観察した。

結果及び考察

残存肝細胞に占めるICAM-1陽性肝細胞の割合は劇症肝炎剖検肝においては48.1±23.6%であり、急性肝炎例

(13.9±12.4%) に比し有意に高値であった ($P<0.05$)。また劇症肝炎の臨床病型とICAM-1陽性肝細胞との関連では亜急性型では58.8±21.0%であり、急性型(26.7±9.6%) に比し有意に高値であり、その分布に関しても、急性型では壊死領域に接する部分に分布していたのに対し、亜急性型では汎小葉性に分布していた。さらにICAM-1の肝細胞における発現と再生肝細胞の指標とされるPCNA陽性肝細胞との関連性について検討したところ、ICAM-1陽性細胞の割合とPCNA labelling indexの間には有意な正の相関を認めた ($r=0.7409$, $P<0.05$)。すなわち、再生肝細胞にはICAM-1が発現される可能性が示唆された。

そこで、マウスを用いた実験的検討をおこなったところ、肝部分切除12時間後の肝細胞膜に抗ICAM-1抗体を用いた免疫電顕により反応産物が観察され、再生早期にICAM-1が肝細胞に発現されることが強く示唆された。従って、より多くの残存肝細胞にICAM-1の発現を認めるFHSにおいては、LFA-1陽性細胞の存在により、LFA-1-ICAM-1 pathwayにより再生肝細胞が特異的に障害され、肝再生不全がもたらされる可能性が考えられる。そこで劇症肝炎の臨床病型別にLFA-1陽性細胞数について検討したところ、FHSでは400.3±56.0/mm²と、FHAの156.7±47.1/mm²に比し有意に高値であった。 ($P<0.05$)

結 語

FHSではFHAに比し、肝細胞でのICAM-1の発現ならびにLFA-1陽性細胞数ともに有意に高値であった。またICAM-1陽性細胞の割合と肝細胞でのPCNA labelling indexとの間には有意な正の相関を認め、さらに肝細胞膜に免疫電顕によりICAM-1の発現を認めた。これらの結果よりFHSでは、ICAM-1-LFA-1 pathwayによるシグナル伝達により再生肝細胞が特異的に障害され、肝再生不全の少なくとも一部に関与していることが強く示唆された。

論文審査の結果と要旨

申請者渡邊裕は、肝再生とintercellular adhesion molecule (ICAM) -1の肝細胞における発現を検討し、実験的肝再生過程において肝細胞にICAM-1が発現することを明らかにした。また、劇症肝炎剖検肝におけるICAM-1とLFA-1の免疫組織化学的検討から、劇症肝炎亜急性型では再生肝細胞に対する特異的な免疫学的障害活性が肝再生障害に関与している可能性を示した。これらの新知見は肝臓病学の進歩に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

Immunohistochemical Localization of Adhesion Molecules in Autopsied Cases of Fulminant Hepatitis
岐阜大医紀 44 (3) : 462~470, 1996