

論文の内容の要旨

1 目的

肝切除後の肝再生に自然免疫が関与していることが報告されているが、その機序の詳細については未だ不明な点が多い。肝再生をその開始 (initiation)、維持 (maintenance)、停止 (termination) の各過程に分けた場合、肝切除後早期 (12時間以内) に肝内のnatural killer T (以下、NKT) 細胞が増加し、Kupffer細胞の産生するtumor necrosis factor (以下、TNF) やinterleukin-6 (以下、IL-6) などのサイトカインやNKT細胞のFas/Fas ligand (以下、FasL) を介した肝細胞増殖促進機構が肝再生開始に関与していることが報告されている。TNFで活性化されたNKT細胞はFasLを発現し、肝細胞のFasと相互作用することで古い肝細胞や傷害された肝細胞を排除するとともに、肝細胞の増殖を促す。一方、natural killer (以下、NK) 細胞機能不全のbg/bgマウスやanti-asialo GM1抗体投与でNK細胞を一時的に消失させたマウスでは、切除後の肝再生が亢進することが報告されており、NK細胞は肝再生に対して抑制的な影響を及ぼすとされている。

上記のようにKupffer細胞はサイトカインを介して肝再生に関与すると推測されるが、最近F4/80⁺ Kupffer細胞には、分化と機能の異なる二つのサブセットが存在することが報告された。主にサイトカイン産生能を有する骨髄由来CD11b⁺ Kupffer細胞と肝臓由来で主に貪食殺菌能を有するレジデントCD68⁺ Kupffer細胞である。これら両Kupffer細胞が肝切除後の肝再生にどのように関与するかは未検討である。本研究は肝再生における免疫細胞、特に異なる二つのKupffer細胞サブセットの関与について検討することを目的とした。

2 対象並びに方法

対象： C57BL/6マウス (8~12週齢の雄性)

実験1：(1) 70%肝切除モデル (肝切除後7~10日で元重量まで再生する) を作成し、切除後から術後14日目 (post operative days: POD14) までの残肝の単核球の分布の推移を経時的にフローサイトメトリーで測定した。(2) 肝再生中の血中サイトカイン・ケモカイン濃度の推移をELISA法で測定した。(3) 同様にCD11b⁺ Kupffer細胞の細胞内TNF陽性細胞の割合も測定した。

実験2：CD11b⁺ Kupffer細胞は放射線感受性であり、CD68⁺ Kupffer細胞は放射線抵抗性である。CD11b⁺ Kupffer細胞の選択的除去のために非致死量の放射線5Gyを照射し、一部のマウスにはCD11b⁺ Kupffer細胞の回復目的で直後に同種骨髄移植を施行し、肝切除後の再生を比較検討した。

実験3：CD11b⁺ Kupffer細胞はmonocyte chemotactic protein-1 (以下、MCP-1) とその特異的受容体のC-C chemokine receptor 2 (以下、CCR2) を介して骨髄から肝臓に分化誘導される。CD11b⁺ Kupffer細胞の肝への遊走を阻止するためにCCR2 antagonistを持続投与し、肝切除後の肝再生を検討した。

3 成 績

実験 1 : (1) NKT 細胞は POD1 までに増加したがそれ以降明らかな増加は認めず、CD11b⁺ Kupffer 細胞は POD3、NK 細胞は POD5 をピークとする増加を示した。経過中 CD68⁺ Kupffer 細胞の割合は明らかな増減を認めなかった。また、POD3 に増加のピークを示した CD11b⁺ Kupffer 細胞は CD11b の強発現と FasL 発現率の著明な上昇を伴っていた。(2) 血中の TNF- α 、IL-12、MCP-1 濃度は POD1 をピークとする上昇を示した。(3) CD11b⁺ Kupffer 細胞中の細胞内 TNF 陽性細胞の割合は肝切除後 24 時間をピークに上昇していた。

実験 2 : 放射線 5Gy 照射により、肝内単核球のうち CD11b⁺ Kupffer 細胞が選択的に消失し肝再生は抑制された。骨髓移植を施行したマウスでは POD3 の CD11b⁺ Kupffer 細胞数が増加し、肝再生は改善した。

実験 3 : CCR2 antagonist の持続投与により、肝内 CD11b⁺ Kupffer 細胞数は 1/3~1/2 に減少した。CCR2 antagonist を投与したマウスの肝再生は抑制された。

4 考 察

肝再生時の NKT 細胞、CD11b⁺ Kupffer 細胞、NK 細胞の増加ピークはそれぞれ肝再生開始期、維持期、停止期のはじまりにあたる。肝再生の開始には、NKT 細胞の TNF や IL-6 および Fas/FasL を介した肝細胞増殖促進機構が関与する。本研究結果は、肝再生維持期に MCP-1/CCR2 を介して骨髓から肝に分化誘導された CD11b⁺ Kupffer 細胞が、NKT 細胞に引き続き、自らが産生する TNF によって FasL を発現し、Fas/FasL を介して肝細胞増殖の促進維持に寄与していることをはじめて示したものである。また、肝再生停止期には NK 細胞の増加と活性化が観察され、NK 細胞の活性化による肝再生への抑制的影響が考えられた。

5 結 論

肝切除後の肝再生には、MCP-1/CCR2 を介して骨髓から肝に分化誘導される CD11b⁺ Kupffer 細胞が、自らが産生する TNF によって FasL を発現し、Fas/FasL 系を介して肝細胞増殖を促し肝再生維持に寄与すると考えられる。