

# 類洞内皮細胞の形態と機能

岡上 武 坂本真一 伊藤義人

病理と臨床・別刷

1995 vol. 13 no. 3

東京／文光堂／本郷

## 類洞内皮細胞の形態と機能

岡上 武\* 坂本真一\* 伊藤義人\*

### はじめに

肝類洞には動脈血のほか、腸管から吸収された種々の物質や脾臓からの血液を含む門脈血が流入し、特殊な環境下で肝微小循環が営まれている。肝類洞内皮細胞は細胞質に直径約100 nmの小孔(sinusoidal endothelial fenestration; SEF)を多数有し、類洞の裏打ちとしての基底膜構造を欠いているなど、一般の血管内皮細胞とは形態的に明らかに異なっている。これらの形態的特徴は類洞とDisse腔との物質交換など肝微小循環に重要な役割を果たしているが、種々の病態時にその形態は変化する。その一方で、類洞内皮細胞は血流調節、細胞表面レセプターを介した物質のとり込みや食作用、サイトカイン産生、細胞接着分子発現など実に多くの面で病態に深く関与していることが明らかになってきた。本稿では類洞内皮細胞の形態と機能につき、われわれの成績と最近の知見を述べる。

### I. 類洞内皮細胞の形態

#### 1. 正常状態における形態

類洞内皮細胞には細胞質を迷路状に貫く直径100 nm前後の小孔(SEF)が多数存在し、これらは一部集簇し、いわゆる篩板状構造(sieve plate)を形成している(図1)。他の毛細血管内皮細胞と異なり基底膜を

表1 正常およびエタノール投与ラットにおけるSEFの定量的解析

		正常ラット	エタノール長期投与ラット
Diameter (nm)	zone 1	97.9±1.6 p<0.001	99.1±2.9 p<0.001
	zone 3	86.8±2.6 p<0.001	103.5±3.4 —
Number (/μm <sup>2</sup> )	zone 1	8.7±0.3 p<0.001	7.9±0.7 p<0.001
	zone 3	15.0±0.7 p<0.01	13.6±0.6 —
Porosity (%)	zone 1	3.7±0.4 p<0.01	4.1±0.2 p<0.001
	zone 3	5.0±0.6 p<0.001	5.5±0.7 —

正常ラットでは門脈域周囲(zone 1)と中心静脈域周囲(zone 3)ではSEFの直径、数、有孔度(単位面積当たりのSEFの面積総和)に有意な差が存在した。また、エタノール投与によりSEFの直径、有孔度は増加し、SEFの数は減少した。この変化はzone 3で顕著であった。

欠いている。この類洞内皮細胞は薄く進展した扁平な細胞で、核は円形あるいは不整形を示し、ゴルジ装置の発達はよいものの、ミトコンドリアや粗面小胞体の発達は悪く、多くのフリーリボゾームを含んでいる。

ラットの肝臓を生理的門脈圧に近い10 cmH<sub>2</sub>O圧で灌流固定しSEFを観察すると、その直径はほとんどが300 nm以下で(多くは100 nm前後)、それ以上のいわゆるlarge SEFはごくまれにしか存在しないことより、少なくとも500 nm以上のものは人工産物の可能性が高い。この方法を用いてSEFを定量的に解析すると、門脈域周囲(zone 1)と中心静脈域周囲(zone 3)ではSEFの直径、数、有孔度(単位面積当たりのSEFの面積総和)に差が存在する<sup>1)</sup>。すなわちSEFの直径はzone 1ではzone 3に比して大きいが、SEFの数はzone 3に有意に多く、したがって有孔度もzone 3で大きくなっている(表1)。elutriation rotorを用いて分離した類洞内皮細胞を単離培養しても、in situでみられるのと同様、多数のSEFが観察される(図2)。透過電顕で観察するとこのSEFは細胞質内に迷路状に存在している(図3)。この単離類洞内皮細胞はwheat-germ agglutinin(WGA)binding capacityの違いにより二つのsubpopulationに分けることが可能

\*京都府立医科大学第三内科学講座

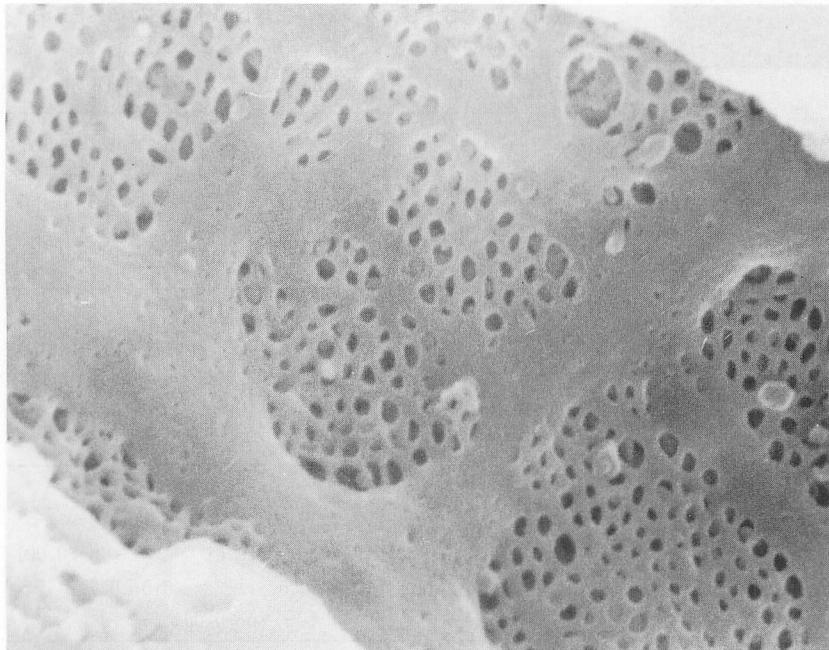


図1 正常ラット肝のzone 3の類洞内皮細胞の走査電顕像 直径100 nm前後の小孔(SEF)が多数存在し、集簇して sieve plate を形成している ( $\times 14,700$ )。

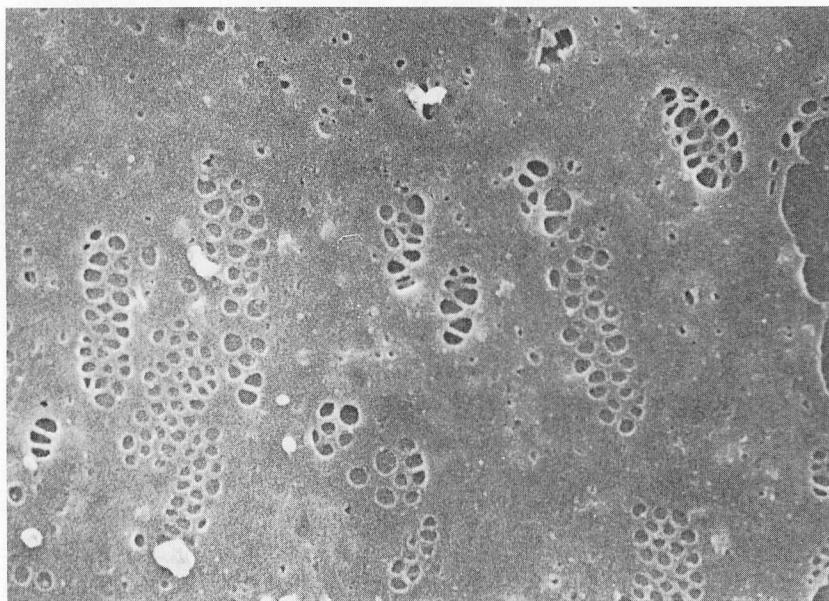


図2 単離類洞内皮細胞の走査電顕像 *in vivo* の類洞内皮細胞(図1)同様に多数の小孔(SEF)が存在する ( $\times 4,300$ )。

である<sup>2)</sup>。WGA binding capacity の高い type I の内皮細胞は細胞内小器官に富み有孔度 (porosity) は低く、逆に WGA binding capacity の低い type II の内皮細胞は細胞内小器官に乏しく有孔度は高い。形態的には type I は zone 1 の、type II は zone 3 の類洞内皮細胞に類似しており、肝細胞や Kupffer 細胞同様、類洞内皮細胞の heterogeneity についてのさらなる詳細な検討が期待される。

## 2. 病態時における形態

現在までに判明している病態時の類洞内皮細胞の変化は、肝線維化やアルコール性肝障害、肝移植などにみられる虚血再灌流時におけるものが中心である。硬変肝においては sieve plate は消失し、type IV コラーゲンやラミニンを含んだ基底膜が形成されてくる。また、一般血管内皮細胞に存在する von Willebrand factor が出現してくるなど、いわゆる類洞の毛細血管化

図3 単離類洞内皮細胞の透過電顕像 SEF は細胞質内に迷路状に存在する ( $\times 4,300$ ).

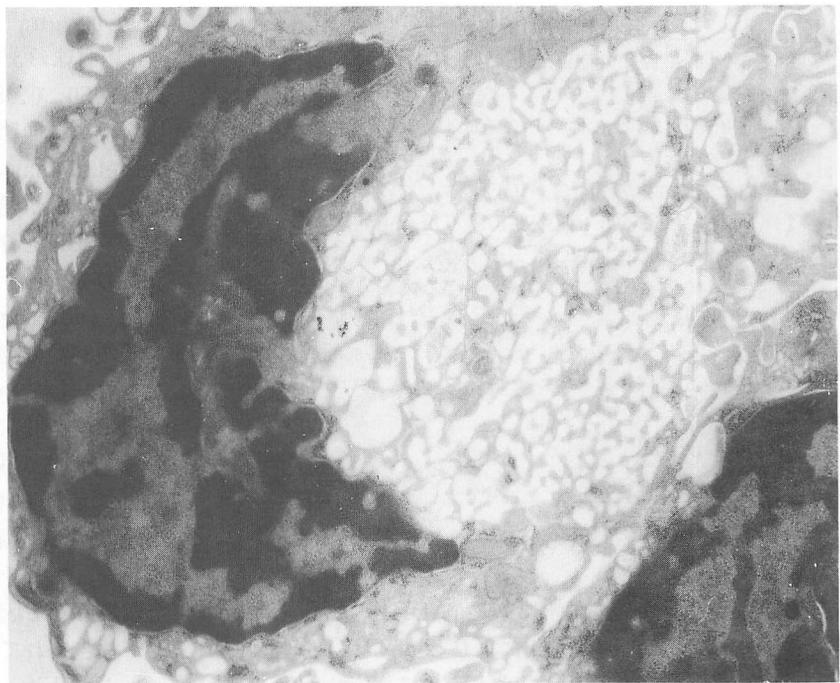
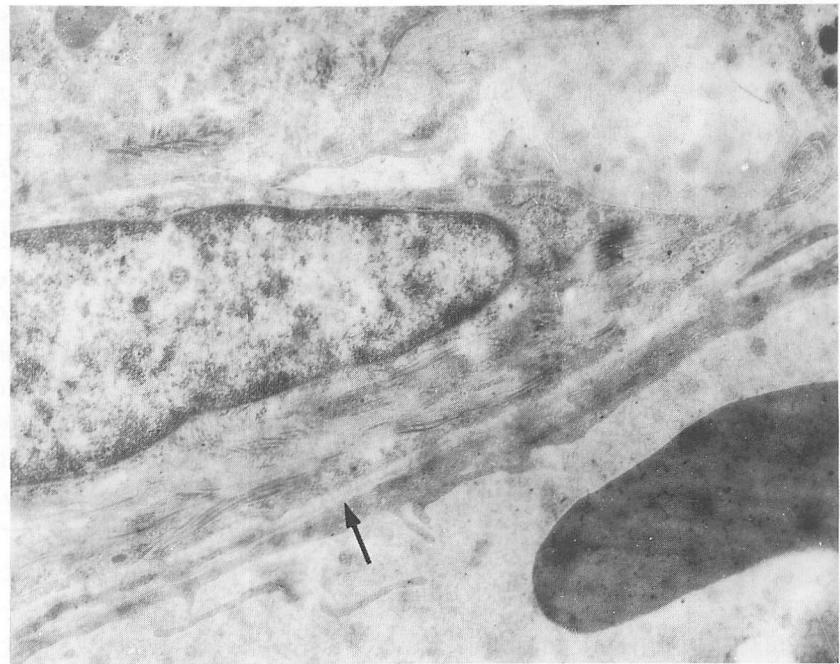


図4 thioacetamide (200mg/kg) 投与 6 週目のラット肝類洞の透過電顕像 Disse 腔には基底膜構造が出現している (矢印).



(capillarization) に伴う内皮細胞の phenotypic change がみられる<sup>3)</sup>. thioacetamide (TAA) 投与による肝硬変ラットを用いたわれわれの検討<sup>3)</sup>では、 TAA (200 mg/kg) 投与後 4 週以降より SEF の数および直径は減少し、Disse 腔にはラミニンがみられるようになる。6 週目には基底膜様構造が出現し (図4)，

Weibel-Palade body がみられる。こうした capillarization を起こした内皮細胞のマーカーとして factor VIII, UEA-1 が報告されているが、われわれは TAA 投与ラットモデルで QB-END/10 抗体もその有用なマーカーであることを報告している<sup>4)</sup>.

アルコール性肝障害の病変の主座は zone 3 にある

表2 類洞内皮細胞の機能

1) 類洞-Disse 腔間の物質交換・物質移送
2) 種々の物質産生
細胞外基質(コラーゲンタイプI, II, III, IV, フィブロネクチン), サイトカイン(IL-1, IL-6), エンドセリン, 肝細胞増殖因子(HGF), プロスタグラジン(PGD <sub>2</sub> , PGE <sub>2</sub> , 6-keto PGF <sub>α</sub> , Thromboxane B <sub>2</sub> ), oxygen radical (NOなど), 酸性アルコール脱水素酵素(クラスIII), アンギオテンシンI転換酵素
3) 物質代謝, 貪食
マンノースレセプター, Fcレセプター, scavenger receptor, ヒアルロン酸レセプター, ラミニンレセプター
—
4) 接着分子表出
ICAM-1など

が、これはアルコール脱水素酵素(ADH)がzone 3に多く存在し、アルコール多飲によりzone 3がより強くhypoxiaになるためであるとされている。Lieberらの方法に準じてラットにアルコール性脂肪肝を作製し、SEFの変化を走査電顕を用いて定量的に観察したところ、エタノール投与によりSEFの直径は増大し、その数は減少し、有孔度は増加していた(表1)<sup>5)</sup>。これらの変化はzone 3において顕著であった。このことは通常の状態ではSEFを通過しないような直径の大きなカイロミクロンがzone 3の肝細胞にとり込まれ、アルコール性脂肪肝が成立することを示唆するものである。SEFが拡張する機序は明らかではないが、Frenzelら<sup>6)</sup>は低酸素によりSEFが拡張すると報告しており、また慢性エタノール投与により出現する肝細胞の腫大が類洞の狭小化を引き起こし微小循環障害をもたらすこと<sup>7)</sup>を考慮すると、前述のSEFの変化は低酸素あるいは微小循環障害に対する合目的的な反応と考えられる。

## II. 類洞内皮細胞の機能

肝類洞内皮細胞は単に類洞内面を覆っているだけではなく、実に多くの機能を有し、肝臓での物質交換、線維化や炎症反応に深く関与している(表2)。

### 1. 類洞-肝細胞間の物質交換

肝類洞内皮細胞は基底膜を欠くことからSEFを介して類洞内の血漿成分をDisse腔から肝細胞へと移行させ、また逆の動きにも関与しており、いわゆるprotective mechanical barrierとしての性格を有している。Wisseら<sup>8)</sup>は、*in vivo*では類洞径はzone 1で

5.9±1.7 μm, zone 3で7.1±0.3 μmであるのに対し、赤血球および白血球の直径はそれぞれ7.32±0.03 μm, 8.50±0.08 μmであることより、SEFを介しての物質輸送に血球成分の関与するforced sievingとendothelial massageが働いているという概念を打ち出した。血球が類洞を通過する際に内皮細胞をマッサージし、SEFを介してDisse腔との物質交換を行うというものである。このことは、zone 1とzone 3との内皮細胞のheterogeneityや病態時におけるSEFの変化が肝類洞での物質交換に大きな役割を果たしていることを意味している。

SEFの開閉にはアクチン-ミオシン系や微小管などの細胞骨格が関与していると考えられているが<sup>8)</sup>、SEFの直径が増大する因子として前述したアルコールのほかに、類洞圧、絶食、低酸素、CCl<sub>4</sub>、エンドトキシン、アセチルコリン、イソプロテノールが、また収縮させる因子としてセロトニン、ノルアドレナリンが報告されている<sup>8)</sup>。

また、Witteら<sup>9)</sup>はラットの培養類洞内皮細胞に0.5~2%のエタノールを加え、その形態変化とアルブミン透過性を検討し、数分間のエタノール曝露により内皮細胞間隙の開大、アルブミン透過性の亢進が起り、この変化はエタノールを除去すると24時間以内に回復すると報告しており、SEFの変化以外にも物質交換に影響している可能性がある。

肝類洞内皮には、マンノースレセプター、Fcレセプター、scavengerレセプターなど細胞表面に数多くのレセプターが存在し、Kupffer細胞とともに類洞内皮細胞も物質代謝に関与している。類洞壁に存在するFcレセプターの70~80%は類洞内皮に由来している。またKupffer細胞とは異なるisoformを有しており、それぞれ機能分担のある可能性も示されている<sup>10)</sup>。このほか、ヒアルロン酸、コラーゲンなど細胞外基質成分に対するレセプターも存在している。慢性肝疾患では線維化的程度に相関してヒアルロン酸の血中濃度が上昇しており、その原因の一つとして類洞内皮細胞でのヒアルロン酸代謝の機能低下が考えられている<sup>11)</sup>。ラミニンレセプターは正常肝では門脈壁にのみ存在するが、硬変肝では類洞内皮にも強く表出しており病態時には形態のみではなくレセプターの表出を含め機能的にも変化することがうかがわれる。

### 2. 類洞内皮による物質産生

#### a. 細胞外基質

類洞内皮細胞はtype I, II, III, IVコラーゲンやフィブロネクチンを産生しうるが、肝での線維化は伊東

細胞が中心的役割を果たしていると考えられている。肝細胞に変性壊死が起こると類洞内皮細胞でもこれらの産生能は増加し、ラミニンも産生するようになるが、こうした現象は伊東細胞との相互関係のもとに発揮される。マウス類洞内皮細胞には b-FGF (basic fibroblast growth factor) 様物質が存在し、これが伊東細胞の増殖を促すことが報告されている<sup>12)</sup>ことより、類洞内皮細胞も伊東細胞を介して間接的に肝線維化に関与している。

#### b. サイトカインの産生

肝類洞内皮細胞は interleukin-1 (IL-1) や IL-6 などのサイトカイン産生能を有する<sup>13,14)</sup>。Kakumu ら<sup>14)</sup>はヒト肝生検組織を用いた免疫蛍光染色で IL-6 が類洞内皮細胞に陽性で、急性肝炎や慢性活動性肝炎例では、炎症部位に一致して類洞内皮細胞に強い染色がみられることより、局所で産生された IL-6 が炎症反応の調節に重要であると報告している。一方、IL-1 については、著者ら<sup>15)</sup>が elutriation rotor を用いて採取したラット肝類洞内皮細胞と Kupffer 細胞の IL-1 産生能を比較検討したところ、類洞内皮細胞は IL-1 産生能を有するものの、Kupffer 細胞のほうがより多くの IL-1 を産生していた。実際マウス肝を用いた IL-1 の免疫染色では Kupffer 細胞は強く染色されるものの類洞内皮細胞はほとんど染色されず、類洞内皮細胞は肝での IL-1 産生においては付加的存在である可能性が高い。

#### c. エンドセリン

1988 年 Yanagisawa ら<sup>16)</sup>により発見されたエンドセリン (ET) は強い血管平滑筋収縮作用を有し、血管内皮のみでなく類洞内皮細胞でも産生されている。坂本ら<sup>17)</sup>はラット肝で <sup>125</sup>I-ET を用いて ET が伊東細胞を中心に類洞内皮、門脈および中心静脈内皮細胞に結合することを報告している。ET は、IL-1、エンドトキシンなどの mediator により血管内皮細胞でその産生が亢進することが知られており、さまざまな病態下で肝局所で産生された ET あるいは流血中の ET が伊東細胞の contraction を介して肝類洞の微小循環を調節しているものと思われる。

#### d. 肝細胞増殖因子 (HGF)

HGF は種々の細胞で産生されており、類洞内皮細胞でも *in situ* hybridization 法でその産生が確認されている。Kupffer 細胞や類洞内皮で産生された HGF は paracrine 的に肝細胞に作用しているものと考えられる。

#### e. プロスタグラジン

類洞内皮細胞は Kupffer 細胞とともにプロスタグラジン D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) を産生している。この PGD<sub>2</sub> は肝細胞表面の binding site に結合しイノシトール 3 リン酸代謝系に作用している。分離ラット類洞内皮細胞が PGD<sub>2</sub> のみならず PGE<sub>2</sub>, 6-keto PGF $\alpha$ , thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) を産生するとの報告もあるが<sup>18)</sup>, PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, TXB<sub>2</sub> の活性は Kupffer 細胞の 1/3 から 1/6 とかなり低い<sup>18,19)</sup>ことから、elutriation rotor を用いての分離では類洞内皮細胞分画に Kupffer 細胞が混入することは避けがたく、その結果には注意が必要である。

#### f. 接着分子

接着分子は類洞壁細胞間ネットワークにおける相互の情報伝達や病態時における炎症性細胞との接着に重要な役割を果たしている。イムノグロブリンスーパーファミリーの一つである PECAM-1 (platelet-endothelial cell adhesion molecule-1) は多くの微小血管内皮細胞で常に表出しているが、ヒト正常肝類洞内皮細胞に表出はみられない。しかし硬変肝では類洞内皮細胞にもラミニンレセプターとともに PECAM-1 が表出するようになり<sup>20)</sup>、類洞内皮細胞間あるいは内皮-細胞外基質間との相互作用に変化のあることが示唆される。逆に類洞内皮細胞には他の微小血管内皮と異なり CD4 と ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) が常に表出している。CD4 は Kupffer 細胞など抗原提示細胞表面の MHC クラス II 分子のカウンターレセプターであり、類洞内皮-Kupffer 細胞間の接着に関与している可能性がある。

ICAM-1, VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), E-selectin などの接着分子は、サイトカインなどの炎症性刺激により類洞内皮表面に強く表出される。ICAM-1 や VCAM-1 はウイルス性肝炎例において炎症巣の類洞内皮細胞に強く表出され、そこには LFA-1 (lymphocyte-function antigen-1) や VLA-4 (very late antigen-4) を表出したリンパ球が数多く浸潤していることから、類洞内皮-白血球間の接着に深く関与していると考えられる<sup>21)</sup>。

セレクチンファミリーの一つ、P-selectin は一般的の血管内皮細胞では Weibel-Palade body に存在しているが、正常類洞内皮細胞は Weibel-Palade body をもたないため P-selectin は存在しない。

今後培養類洞内皮細胞を用いて細胞間相互作用や炎症反応時に果たす接着分子の役割について明らかにされるものと考えられる。

## おわりに

類洞内皮細胞は、SEF を介し “篩”としての役割を果たすとともに、さまざまな物質の生産、とり込みを行い、肝臓での代謝、微小循環、線維化、炎症反応など実に多くの面で重要な働きをしている。こうした類洞内皮細胞の働きを十分に理解することは種々の肝疾患の病態解明に重要であり、今後、類洞壁細胞の研究が炎症、線維化、肝移植など幅広く臨床面に還元されるものと期待される。

## 文 献

- 1) 金岡彦治, 岡上 武, 澤 美彦他: 種々の灌流圧におけるラット肝類洞内皮細胞小孔の定量的解析. 肝臓 1987, 28: 578-585
- 2) Vidal-Vanaclocha, F., Rocha, M., Asumendi, A. et al.: Isolation and enrichment of two sublobular compartment-specific endothelial cell subpopulations from liver sinusoids. Hepatology 1993, 18: 328-339
- 3) Mori, T., Okanoue, T., Sawa, Y. et al.: Defenestration of the sinusoidal endothelial cell in a rat model of cirrhosis. Hepatology 1993, 17: 891-897
- 4) 森 能史, 岡上 武, 堀 直樹他: 肝線維化と類洞内皮細胞のphenotypic change. 第9回近畿肝臓病研究会論文集, 1994, 47-51
- 5) 岡上 武, 金岡彦治: 臨床的, 実験的アルコール性肝障害における肝類洞内皮細胞小孔の変化について. 肝類洞壁細胞研究の進歩(谷川久一編), 第2巻, 国際医書出版, 東京, 1988, 24-30
- 6) Frenzel, H., Kremer, B., Hucker, H. et al.: The liver sinusoids under various pathological conditions. A TEM and SEM study of rat liver after respiratory hypoxia, telecobalt-irradiation and endotoxin application. Kupffer Cells and Other Liver Sinusoidal Cells (Wisse, E., Knook, D. L. eds.), Elsevier, Amsterdam, 1977, 213-222
- 7) Sawa, Y., Okanoue, T., Kanaoka, H. et al.: Pathogenesis of portal hypertension in alcoholic liver disease. Biochemical and Social Aspects of Alcohol and Alcoholism (Kuriyama, K., Takada, A., Ishii, H. eds.), Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford 1988, 409-412
- 8) Wisse, E., De Zanger, R. B., Chareles, K. et al.: The liver sieve: consideration concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and the space of Disse. Hepatology 1985, 5: 683-692
- 9) Witte, M. H., Borgs, P., Way, D. L. et al.: Alco-  
hol, hepatic microcirculation, and chronic liver disease. Alcohol 1992, 9: 473-480
- 10) Sedmek, D. D., Davis, D. H., Singh, U. et al.: Expression of IgG Fc receptor antigens in placenta and on endothelial cells in humans. Am J Pathol 1991, 138: 175-181
- 11) Guechot, J., Poupon, R. E., Giral, P. et al.: Relationship between procollagen III aminoterminal propeptide and hyaluronan serum levels and histological fibrosis in primary biliary cirrhosis and chronic viral hepatitis C. J Hepatol 1994, 20: 388-393
- 12) Rosenbaum, J., Mavier, P., Preaux, A. M. et al.: Demonstration of a basic fibroblast growth factor-like molecule in mouse hepatic endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1989, 164: 1099-1104
- 13) 市川祐三, 溝口靖絵, 河田則文他: 肝類洞内皮細胞におけるインターロイキン-1の産生に及ぼす血小板活性化因子およびアラキドン酸代謝産物の影響. 肝類洞壁細胞研究の進歩(谷川久一編), 第3巻, 国際医書出版, 東京, 1991, 159-162
- 14) Kakumu, S., Fukatsu, A., Shinagawa, T. et al.: Localization of intrahepatic interleukin 6 in patients with acute and chronic liver disease. J Clin Pathol 1992, 45: 408-411
- 15) 伊藤義人, 岡上 武, 圓城文雄他: ラット肝Kupffer細胞および類洞内皮細胞と肝細胞の相互干渉に関する研究—co-cultureによる検討. 肝類洞壁細胞研究の進歩(谷川久一編), 第4巻, 国際医書出版, 東京, 1992, 197-201
- 16) Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S. et al.: A novel vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 1988, 332: 411-415
- 17) 坂本雅晴, 上野隆登, 権藤和久他: 培養伊東細胞におけるエンドセリン-1の影響に関する検討. 肝類洞壁細胞研究の進歩(谷川久一編), 第4巻, 国際医書出版, 東京, 1992, 164-167
- 18) Decker, K.: Eicosanoids, signal molecules of liver cell. Semi Liv Dis 1985, 5: 175-190
- 19) Shaw, P. G., Johnson, A. R., Schulz, W. W. et al.: Sinusoidal endothelial cells from normal guinea pig liver: isolation, culture and characterization. Hepatology 1984, 4: 591-602
- 20) Scoazec, J. Y., Feldmann, G.: The cell adhesion molecules of hepatic sinusoidal cells. J Hepatol 1994, 20: 296-300
- 21) Volpes, R., van den Oord, J. J., Desmet, V. J. et al.: Immunohistochemical study of adhesion molecules in liver inflammation. Hepatology 1990, 12: 59-69