

慢性肝炎患者におけるマクロファージコロニー 刺激因子(M-CSF)産生亢進の機序と肝内での局在

坂本 真一* 岡上 武* 伊藤 義人* 圓城 文雄*
高見 史朗* 森 能史* 加嶋 敬*

(*京都府立医科大学第3内科学教室)

The production and intrahepatic localization of macrophage colony-stimulating factor in chronic liver disease

Key words : M-CSF, 慢性肝炎, 末梢血単核球, 肝組織

はじめに

Kupffer 細胞は、急性肝炎および慢性活動性肝炎時に増生し、貪食能、抗原提示能を示すだけでなく、interleukin-1 (IL-1), IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α) など炎症性サイトカインを放出し、肝炎時の病態に強く関与していることが知られている¹⁾。マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) は、単球/マクロファージ系前駆細胞の分化、増殖を刺激するだけでなく²⁾、Kupffer細胞を含めた分化、成熟したマクロファージの様々な機能—migration, 抗腫瘍効果、サイトカイン産生能—も亢進させる血球刺激因子の一種である³⁻⁵⁾。

従来よりわれわれは、急性肝炎、および慢性活動性肝炎時に血清中のM-CSFが上昇することを報告してきた⁶⁾。そこで本研究ではその産生細胞を明

らかにするとともに、肝組織中でのM-CSFの局在およびM-CSF陽性細胞数と肝炎の活動性との関連について明らかにすることとした。

I. 材料および方法

B型あるいはC型慢性肝炎患者27名 [慢性非活動性肝炎 (CPH) 13名, 慢性活動性肝炎 (CAH) 14名] および健康人コントロール11名に対し以下の検討を行った。

1. 末梢血単核球のM-CSF産生能

肝炎患者および健康人より得たヘパリン加全血よりLymphoprep (Nyegaard, Oslo, Norway) を用いた密度勾配遠心法にて末梢血単核球を分離し、10% fetal calf serumを含んだRPMI1640にて 1×10^6 cells/mlに調整後、CO₂ インキュベータにて37°C, 24時間培養した。この培養上清および同日の血清中のM-

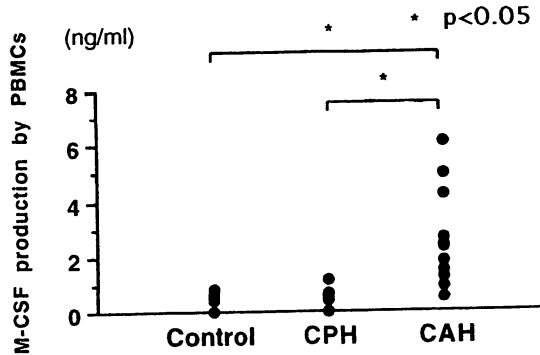


図1 健康人および慢性肝炎患者末梢血単核球のM-CSF産生能

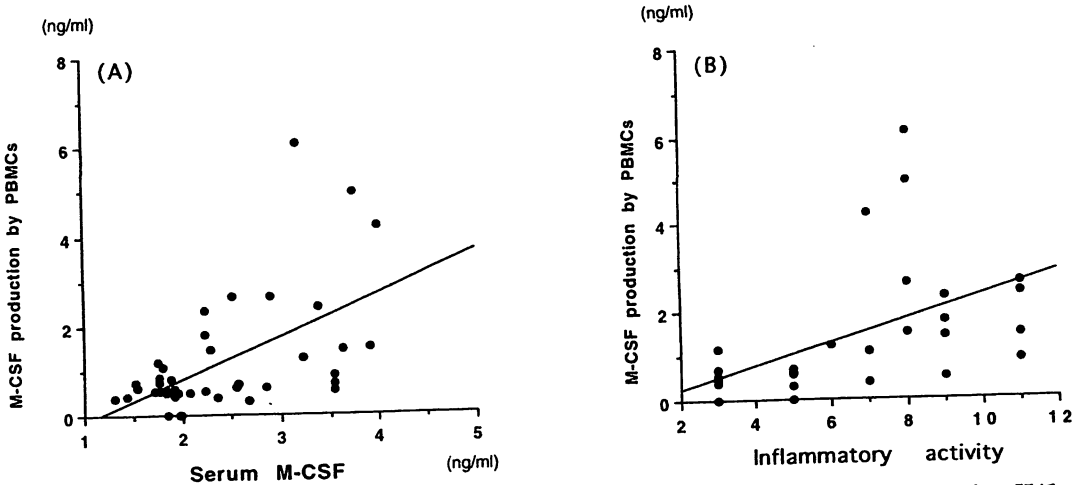


図2 末梢血単核球のM-CSF産生能と血清中M-CSF濃度(A)および肝組織inflammatory activity(B)との関係

CSFをRIA法にて測定した。

2. 肝生検組織の免疫組織学的検討

(1)を行った27名の肝炎患者より得た肝生検組織を2つに分け、一方は10%ホルマリン液で固定後、型のごとくH-E染色を行い、肝炎の活動性および線維化の程度を判定した。他方は4%パラホルムアルデヒド液にて固定後、凍結切片を作製し、抗recombinant human M-CSF抗体を用い、ABC法にて免疫染色を行った。なお、肝炎の活動性および線維化の程度は、KnodellらのHAI scoreにて判定し、4つの項目のうち、fibrosis以外の項目の点数の合計をinflammatory activityとした。

II. 結果

1. 末梢血単核球のM-CSF産生能

M-CSF産生能は、健康人およびCPH群に比べ、CAH群で有意に増加していた(図1)。また、M-CSF産生能は血清中のM-CSF濃度と有意な正の相関($r=0.519$, $p<0.001$)を認めた(図2-A)。肝炎患者において肝生検組織のinflammatory activityとM-CSF産生能との関係を見ると、両者は正の有意な相関関係($r=0.520$, $p<0.001$)を示した(図2-B)。

2. 免疫組織学的検討

肝生検組織を用いて肝内のM-CSFの局在をみた

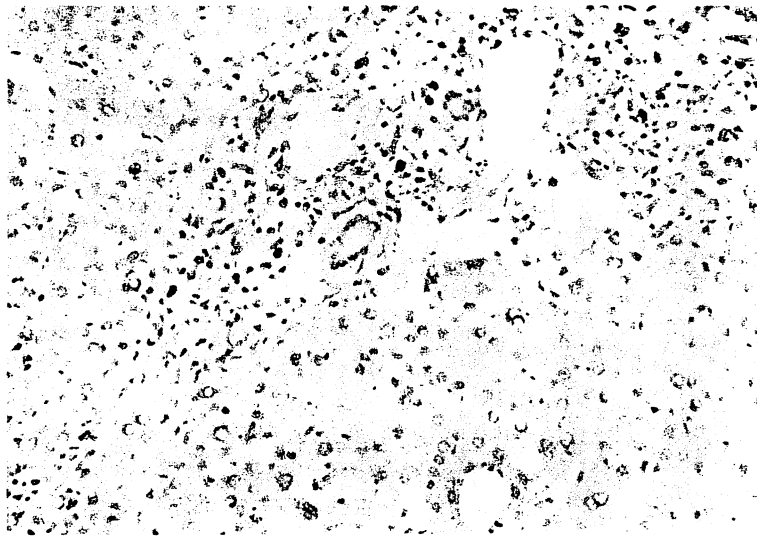


図3 慢性活動性肝炎患者におけるM-CSFの免疫染色像
門脈域浸潤単核球に陽性像を認める。

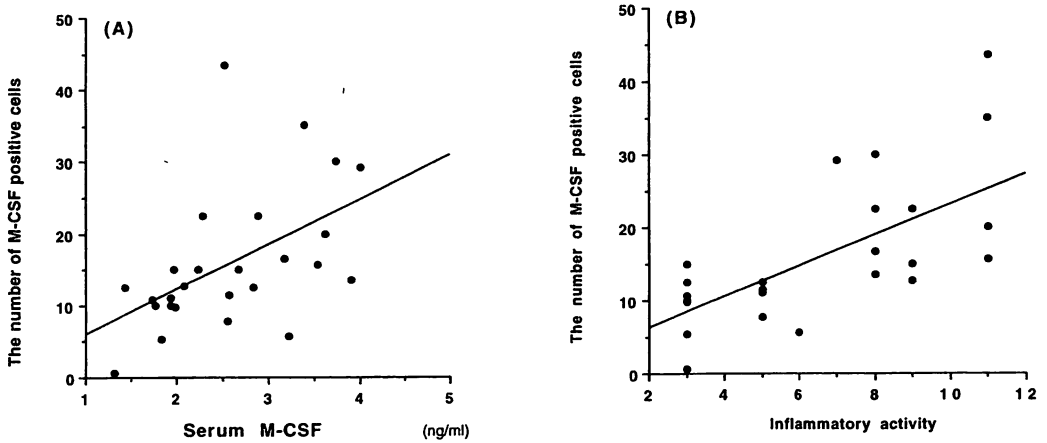


図4 肝内M-CSF陽性細胞数と血清中M-CSF濃度(A)および肝組織inflammatory activity(B)との関係

ところ、M-CSFは門脈域に浸潤した単核球に陽性であった(図3)。肝細胞およびKupffer細胞に明らかな陽性像を認めなかった。肝内のM-CSF陽性細胞数はCPH群に比べ、CAH群で有意に($p < 0.001$)増加していた(data not shown)。血清中のM-CSF濃度と肝内M-CSF陽性細胞数との関連をみると、両者は正の有意な相関($r = 0.529$, $p < 0.05$)を示した

(図4-A)。また、肝内M-CSF陽性細胞数はinflammatory activityとは正の有意な相関($r = 0.739$, $p < 0.001$)を認めたが(図4-B)、線維化の程度とは有意な相関関係はなかった(data not shown)。

III. 考 察

サイトカインは生体のホメオスタシスの維持に

重要な役割を果たしている。肝臓においても肝細胞壊死、再生、線維化に関与していることが報告されている⁷⁻⁹⁾。以前より、われわれはmonocyte/macrophage系細胞のhemopoietic factorであるM-CSFが急性肝炎および慢性活動性肝炎患者血清中で上昇することを報告してきた⁶⁾。今回は、その上昇機序を明らかにするとともに、肝内でのM-CSFの局在、肝炎の程度との関連について検討した。肝炎患者および健康人コントロールで末梢血単核球のM-CSF産生能は血清中M-CSF値と相関し、また肝炎の活動性の強い症例で上昇していた。肝炎患者肝生検組織の免疫組織学的検討では、M-CSFは門脈域の浸潤単核球に陽性で、その数は血中M-CSF値および肝炎の活動性と正の相関を認めた。M-CSFはmonocyte/macrophage系の前駆細胞の分化、増殖を刺激するが、最近Kupffer細胞などの分化した細胞の増殖にも関与するとの報告がある¹⁰⁾。また、monocyte/macrophageのmigration³⁾、抗腫瘍作用の亢進⁴⁾、さらにinterferon, TNF- α , IL-1などのサイトカインの分泌を増強させることも知られている^{5,11,12)}。急性肝炎および慢性活動性肝炎時に肝内でKupffer細胞の増生を認めることを考え合わせると、こうした病態時にはM-CSF産生能の亢進した単核球が肝内に浸潤し、肝局所でのKupffer細胞の増殖、monocyteのmigrationを増加させるとともにサイトカイン産生を刺激し、肝炎の活動性を調節している可能性が示された。

結 論

ウイルス性肝炎時にはM-CSFにより増生および機能亢進したKupffer細胞が重要な役割を果たしている可能性が示された。

文 献

- 1) Decker K : Biologically active products of stimulated liver macrophages(Kupffer cells). *Eur J Biochem* 192 : 245-261, 1990
- 2) Ralph P, Warren MK, Lee MT et al : Inducible production of human macrophage growth factor, CSF-1. *Blood* 68 : 633-639, 1986
- 3) Wang JIM, Griffin JD, Rambaldi A et al : Induction of monocyte migration by recombinant macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 141 : 575-579, 1988
- 4) Sampson-Johannes A, Carlino JA : Enhancement of human monocyte tumoricidal activity by recombinant M-CSF. *J Immunol* 141 : 3680-3686, 1988
- 5) Warren MK, Ralph P : Macrophage growth factor CSF-1 stimulates human monocyte production of interferon, tumor necrosis factor, and colony stimulating activity. *J Immunol* 137 : 2281-2285, 1986
- 6) Itoh Y, Okanoue T, Enjo F et al : Elevated serum levels of macrophage colony stimulating factor during interferon- α therapy for chronic hepatitis C. *Int Hepatol Commun* 2 : 161-165, 1994
- 7) Nakamura T, Arakaki R, Ichihara A : Interleukin-1 β is a potent growth inhibitor of adult rat hepatocytes in primary culture. *Exp Cell Res* 179 : 488-497, 1988
- 8) Skov Olsen P, Boesby S, Kirkegaard P et al : Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *HEPATOLOGY* 8 : 992-996, 1988
- 9) Peterson TC, Isbrucker RA : Fibroproliferation in liver disease : role of monocyte factors. *HEPATOLOGY* 15 : 191-197, 1992
- 10) Hoedemakers RMJ, Scherphof GL, Deamen T : Proliferation of rat liver macrophages in vitro : Influence of hemopoietic growth factors. *HEPATOLOGY* 19 : 666-674, 1994
- 11) Moore RN, Oppenheim JJ, Farrar JJ et al : Production of lymphocyte-activating factor(interleukin-1) by macrophages activated with colony-stimulating factor. *J Immunol* 125 : 1302-1305, 1980
- 12) Moore RN, Pitruzzello FJ, Robinson RM et al : Interferon produced endogeneously in response to CSF-1 augments the functional differentiation of progeny macrophages. *J Leukocyte Biol* 37 : 659-664, 1985