

氏名(本籍)	おお 太	た 田	しん 慎	いち 一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	医	第	1731	号
学位授与年月日	昭和61年2月26日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
最終学歴	昭和49年3月 東北大学医学部医学科卒業			
学位論文題目	マウスを用いた自己免疫性肝炎モデルの作製			

(主 査)

論文審査委員 教授 後藤 由夫 教授 涌井 昭

教授 京極 方久

論文内容要旨

マウスに肝の抽出物を免疫して、実験的肝炎モデルを作製した報告は数少なく、特に、syngeneic な系で作製した報告は、現在までほとんど見られない。自己免疫性肝炎モデルを syngeneic な系で作製することは、免疫学的に肝炎の解析を行なうために重要と考えられている。本研究では、以下の実験系で自己免疫性肝炎モデルの作製を行なった。

実験動物は SMA マウスを用いた。SMA マウスは、同系のマウスの眼球、甲状腺及び膵臓の抽出物を免疫することにより、高頻度に自己免疫性病変を引き起こすと報告されている。抗原は、肝細胞膜抗原として最もよく知られている Liver-specific membrane lipoprotein (LSP) を SMA マウス肝抽出物から精製して用いた。LSP の精製は McFarlane らの方法に準じて行なった。得られた LSP の特異性を検討するために、LSP を家兎に免疫し、抗 LSP 抗体を作製した。二重免疫拡散法では、抗 LSP 抗体と LSP 及び肝の抽出物との間に沈降線が見られた。又、蛍光抗体間接法では、抗 LSP 抗体が分離肝細胞膜表面に結合しているのが観察された。以上のことから得られた LSP が肝細胞膜構成成分であることが確認された。アジュバントは通常の Freund's complete adjuvant (FCA) と抗体産生を著明に増強すると報告されている Capsular polysaccharide of *Klebsiella pneumoniae* (CPS-K) を用いた。免疫は 8~10 週齢の SMA マウスを 3 群に分けて行なった。対照群は 8 匹 (雄 3 匹, 雌 5 匹), FCA 群及び CPS-K 群は各々 14 匹 (雄 7 匹, 雌 7 匹) を用いた。免疫方法は、FCA 群は 10 mg/ml の LSP 0.1 ml と等量の FCA 0.1 ml のエマルジョンを、CPS-K 群は 10 mg/ml の LSP 0.1 ml と等量の 1 mg/ml の CPS-K 0.1 ml をマウス腹腔内に 2 週間毎に合計 8 回投与した。対照群は何も投与しなかった。最終免疫後 5~7 日目に屠殺し、肝の組織学的検索を行なった。又、経時的に血清の GPT 活性値及び抗 LSP 抗体価を測定し、屠殺時に LSP に対する足蹠反応とマウス脾リンパ球の幼若化反応を検索した。免疫中に FCA 群と CPS-K 群で各々 3 匹ずつのマウスが死亡し、それらを効果判定から除外した。

肝組織病変を門脈域の炎症性細胞浸潤と小葉内の肝細胞壊死の程度により、0~Ⅲまでの 4 段階に分けた。0 は組織学的変化のないもの、Ⅰは門脈域に軽い炎症性細胞浸潤の見られるもの、Ⅱは門脈域の中等度の炎症性細胞浸潤と小葉内に巣状壊死の見られるもの、Ⅲは piecemeal necrosis を伴う門脈域の激しい炎症性細胞浸潤と小葉内に強い肝細胞壊死の見られるものとし、Ⅳ以上の病変を肝炎発生と判定した。その判定基準による肝炎の発生頻度は、CPS-K 群では 11 匹中 7 匹 (64%), FCA 群では 11 匹中 5 匹 (46%) で、両群共に高頻度であった。一方、対照群では全く見られなかった。又、肝炎の発生頻度は CPS-K 群, FCA 群共に雌に多かった。

肝組織病変部の浸潤細胞は、リンパ球、プラズマ細胞と共に多核白血球も多く見られた。このことは最終免疫から屠殺までの期間が影響していると推測された。

GPT活性の最高値は、対照群では 105 ± 29 IU/ℓ, FCA群では 139 ± 36 IU/ℓ, CPS-K群では 154 ± 50 IU/ℓ であった。免疫群で共に有意の上昇が見られ ($P < 0.05$), GPT活性値の上昇は肝細胞障害を反映していると考えられた。しかし、個々のマウスについて検討すると、必ずしも肝組織病変の程度と相関しなかった。

屠殺時の抗LSP抗体価は、FCA群ではすべて400以下であったが、CPS-K群では800以上の高力価のものが11匹中9匹に見られた。このことは、CPS-Kのアジュバント効果を反映しているものと考えられた。

LSPによる免疫反応は、in vivoの足蹠反応では3群間に差は見られなかった。しかし、in vitroでの脾リンパ球の幼若化反応のStimulation Indexは、対照では 1.27 ± 0.76 , FCA群では 2.33 ± 0.64 , CPS-K群では 2.33 ± 0.99 であった。FCA群で対照群に比べて有意の上昇が見られ ($P < 0.05$), CPS-K群でも同様の傾向が見られ、免疫群でLSPに対する感作が成立していると考えられた。

本研究の実験モデルにおいて、GPT活性値の上昇、LSPに対する感作の成立、抗LSP抗体価の上昇、又、肝組織での門脈域の細胞浸潤、及び小葉内に肝細胞壊死が見られ、ヒトにおける肝炎との類似性も多かった。

ヒトの慢性肝炎の発症に肝炎ウイルスと共に、肝細胞膜成分に対する自己免疫反応の機序が関与しているとの仮説が提唱されている。従って、著者の実験系による自己免疫性肝炎モデルの作製は、その解析のためにも有用であると考えた。

審 査 結 果 の 要 旨

この研究は自己免疫性肝炎の免疫機構の解析のためにマウスを肝抽出物で免疫して、実験的肝炎モデルの作製を試みたものである。

実験動物としては高頻度に自己免疫性病変を引き起こすSMAマウスを用い、抗原は、肝細胞膜抗原であるLiver-specific membrane lipoprotein (LSP)をSMAマウス肝抽出物から精製、アジュバントはFreund's complete adjuvant (ECA)とCapsular polysaccharide of klebsiella pneumoniae (CPS-K)を用いた。免疫方法は8~10週齢のSMAマウスを3群に分け、FCA群は10mg/mlのLSP0.1mlと等量のFCA0.1mlのエマルジョンを、CPS-K群は10mg/mlのLSP0.1mlと等量の1mg/mlのCPS-K0.1mlをマウス腹腔内に2週間毎に合計8回投与した。何も投与しないものを対照群とした。その結果、つぎのような成績を得たという。

肝組織病変を門脈域の炎症性細胞浸潤と小葉内の肝細胞壊死の程度により、4段階に分け、門脈域の中等度の炎症性細胞浸潤と小葉内巣状壊死の見られるもの以上の病変を肝炎発生と判定した。その基準による肝炎の発生頻度は、CPS-K群では11匹中7匹(64%)、FCA群では11匹中5匹(46%)で両群共に高頻度であり、対照群では全く見られなかった。又、肝炎の発生頻度はCPS-K群、FCA群で共に雌に多くみられた。経時的に測定したGPT活性の最高値は、CPS-K群、FCA群で対照群に比べて有意の上昇が見られたが、個々のマウスで検討すると必ずしも肝組織病変の程度とは相関しなかった。抗LSP抗体価はCPS-K群で高力価を示したものが多かった。LSPによる脾リンパ球の幼若化反応の結果から、CPS-K群、FCA群でLSPに対する感作が成立していると考えられる。

この実験モデルでは、GPT活性値の上昇、LSPに対する感作の成立、抗LSP抗体価の上昇、又、肝組織での門脈域の細胞浸潤、及び小葉内に肝細胞壊死が見られるなど、ヒトにおける肝炎との類似性も多いと結論している。

この研究は慢性肝炎の発症機序に重要な示唆を与えるものであり学位授与に値する。