

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

薬理と治療 (2002.11) 30巻suppl.2:S379-S382.

【肝病態生理研究のあゆみ】 Concanavalin A(Con A)誘発マウス肝障害モデルにおけるMacrophage Inflammatory Protein-1 α (MIP-1 α)の関与

横浜吏郎, 玉木陽穂, 伊藤拓, 岡本聡, 岡田充巧, 麻生和信, 中村公英, 牧野勲, 米田政志

Concanavalin A (Con A) 誘発マウス肝障害モデルにおける Macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) の関与

旭川医科大学第二内科

横浜吏郎、玉木陽穂、伊藤 拓、岡本 聡、岡田充巧、麻生和信、中村公英、牧野 勲

獨協医科大学消化器内科

米田政志

The role of macrophage inflammatory protein-1 α on concanavalin A induced liver injury in mice.

Shiro Yokohama¹), Yohsui Tamaki¹), Taku Ito¹), Satoshi Okamoto¹), Mitsunori Okada¹), Kazunobu Aso¹), Kimihide Nakamura¹), Isao Makino¹) and Masashi Yoneda²).

(1) Second Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College, Japan.

(2) Department of Gastroenterology, Dokkyo University School of Medicine, Japan.

KEY WORDS: Concanavalin A, Liver injury, Chemokine

はじめに

マウスに Concanavalin A (Con A) を投与することにより、Tリンパ球の活性化および炎症性サイトカインの産生亢進を介した免疫学的肝障害が生じることが報告されている(1-3)。一方、白血球の遊走活性化因子であるケモカインは、様々な炎症やアレルギーの場で重要な役割を果たしていることが知られているが、Con A 肝障害モデルへの関与、血中動態についてはいまだ十分解明されていない。

我々はこれまでに Con A 投与後早期に種々のケモカインが血中に増加すること、またマウス CXC ケモカインである Macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) が多核白血球の遊走および活性化を介して肝障害の増悪因子としてはたらくことを報告した(4)。

今回更に、本モデルにおけるケモカインの役割について検討するため、マウス CC ケモカインである Macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) に注目し、肝障害発症への関与および作用機序について考察した。

I. 方法

既報のごとく7週令の雌性 Balb/c マウスに Con A (20 mg/kgBW) を尾静脈より1回静注し、肝障害モデルを作成した(4)。Con A 投与 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 時間後に下大静脈より採血し、血漿 MIP-1 α 値を ELISA 法 (Genzyme 社) にて測定した。

次に抗マウス MIP-1 α 抗体 (50 μ g, 200 μ g/body, Genzyme 社) を Con A (20 mg/kgBW) 投与 30 分前に1回静注し、Con A 投与 8, 24 時間後の血漿 ALT 値を酵素法 (Wako 社) にて測定した。同様に Con A 投与 8 時間後に肝臓を摘除し、ホルマリン固定後、H-E 染色し、病理学的変化について検討した。

また、マウス recombinant MIP-1 α (2 μ g/body, Genzyme 社) を Con A (15 mg/kgBW) 投与 30 分前に腹腔内投与し、Con A 投与 8 時間後の血漿 ALT 値を測定した。

最後に MIP-1 α の作用機序について検討するため、抗マウス MIP-1 α 抗体 (200 μ g/body) を Con A (20 mg/kgBW) 投与 30 分前に1回静注し、Con A 投与 2, 8, 24 時間後の、血漿 IFN- γ および TNF- α 値を ELISA 法 (Genzyme 社) にて測定した。

統計学的検討は、血漿 ALT 値並びに IFN- γ 、TNF- α 値の結果を Mean \pm SE で示し、有意差検定は t 検定あるいは分散分析 (ANOVA) にて行った。

II. 結果

1. Con A 投与による血中 MIP-1 α 値の変化

Con A (20 mg/kgBW) を尾静脈より 1 回静注すると、投与 2 時間後をピークとした血中 MIP-1 α 値の増加が認められ、18 時間後には投与前値に復した(図 1)。

2. 抗 MIP-1 α 抗体、マウス recombinant MIP-1 α の Con A 誘発肝障害に及ぼす影響

抗マウス MIP-1 α 抗体の前投与により、Con A 投与 8, 24 時間後の血漿 ALT 値は対照群に比較して用量依存性に低下した(図 2)。また病理組織学的検討では、Con A 投与 8 時間後の肝細胞壊死像の軽減を認めた(図は呈示せず)。

一方、マウス recombinant MIP-1 α の前投与により、Con A 投与 8 時間後の血漿 ALT 値は対照群に比較して有意に増加した(図 3)。

3. 抗マウス MIP-1 α 抗体の Con A による IFN- γ および TNF- α 産生に及ぼす影響

抗マウス MIP-1 α 抗体の前投与により、Con A (20 mg/kg) 投与 8 時間後の血漿 IFN- γ 値、また 2 時間および 24 時間後の血漿 TNF- α 値は対照群に比較し有意に低下した(図 4)。

III. 考察

レクチンの一種である Con A をマウスに投与することにより、CD4 陽性 T リンパ球を介した免疫学的肝障害が生じ、また、本モデルにおいて活性化 T リンパ球から過剰産生される TNF- α や IFN- γ などの炎症性サイトカインが肝細胞障害の発症に深く関与していることが知られている(1-3)。

また、ケモカインは 8-14 kDa 程度の塩基性、ヘパリン結合性の蛋白群で、白血球遊走能を持ち、種々の炎症性、アレルギー性疾患において重要な役割を果たしていることが知られている。しかし、これまで本モデルにおけるケモカインの関与、動態については十分解明されてはいない。

我々は、これまでに Con A 肝障害モデルにおいてマウス CXC ケモカインである MIP-2 が多核白血球を肝内へ遊走活性化することによって肝障害発症に関与していること(4)、更にセリンプロテアーゼ阻害剤である Antithrombin III が MIP-2 産生抑制を介して肝障害発生を阻止することを報告してきた(5)。

一方、CC ケモカインは主としてリンパ球、単球系の遊走因子として知られているが、本モデルにおける役割については未だ報告されていない。CC ケモカインである MIP-1 α と肝胆道系疾患については、これまで GVHD による肝障害、肝移植後の拒絶反応への関与が報告されており(6,7)、また Yoneyama らはマウス肉芽腫性実験肝障害における、樹状細胞と MIP-1 α の役割について詳細に検討している(8)。今回我々

は、本モデルにおける MIP-1 α の関与に注目し、その役割、作用機序について検討した。

Con A を静脈内に単回投与することにより、投与後早期に血中 MIP-1 α 値の増加が認められた。また抗 MIP-1 α 抗体の前投与は肝細胞障害を用量依存性に軽減させ、逆に recombinant MIP-1 α の前投与により増悪した。これらの結果は MIP-1 α が MIP-2 と同様、Con A 誘発肝障害の発症進展に関与していることを示唆する。また、抗 MIP-1 α 抗体の前投与により、Con A により誘導される TNF- α および IFN- γ の血中濃度が低下したことは、Con A 投与により産生された MIP-1 α がこれらの炎症性サイトカインの産生亢進を介して肝障害の増悪因子として働いていることを示唆している。しかし、本研究において抗 MIP-1 α 抗体の投与は、ALT 上昇や炎症性サイトカインの増加を完全には抑制しておらず、MIP-1 α は Con A 肝障害の発症進展に部分的に関与しているものと考えられる。

我々は、これまでに Con A 誘発肝障害において MIP-2 が TNF- α によって誘導されることを明らかにしており(4)、今回の結果は、MIP-1 α と MIP-2 が異なる作用機序で肝障害発症に関与していることを示唆している。一方、Con A 誘発肝障害では、CXC ケモカインである interferon-inducible protein-10 (IP-10) が肝へのリンパ球遊走を促すことが報告されており(9)、様々なサイトカイン、ケモカインが複雑にクロストークしながら肝障害の発症、進展に関わっている可能性が考えられる。Con A 誘発肝障害の発症にはこれまでの CD4 陽性 T リンパ球あるいは単球、マクロファージ、クッパー細胞などに加え、好中球、natural killer T cell などの関与も報告されている(1-4,10,11)。今後サイトカイン、ケモカイン産生の経時的な変化、その産生細胞の検討、またそれぞれの相互作用を明らかにしていくことにより、本モデルにおける肝障害発症の詳細な機序、更には免疫学的肝障害の治療法開発へ寄与することが出来るかもしれない。

IV. 結語

Con A 肝障害モデルにおいて MIP-1 α は、TNF- α や IFN- γ などの炎症性サイトカイン産生亢進を介して、肝障害発症進展に関与しているものと考えられる。今後更にその産生細胞、他のケモカイン、サイトカインとの相互作用についての検討が必要と思われる。

文献

1. Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A T cell-dependent experimental liver injury in mice

- inducible by Concanavalin A. *J Clin Invest* 1992; 90: 196-203.
2. Gantner F, et al. Concanavalin A-induced T-cell-mediated hepatic injury in mice: The role of tumor necrosis factor. *Hepatology* 1995; 21: 190-198.
 3. Kusters S, et al. Interferon gamma plays a critical role in T cell-dependent liver injury in mice initiated by Concanavalin A. *Gastroenterology* 1996; 111: 462-471.
 4. Nakamura K, et al. Macrophage inflammatory protein-2 induced by TNF- α plays a pivotal role in concanavalin A-induced liver injury in mice. *J Hepatol* 2001; 35: 217-224.
 5. Nakamura K, et al. Antithrombin III prevents concanavalin A-induced liver injury through inhibition of macrophage inflammatory protein-2 release and production of prostacyclin in mice. *J Hepatol* 2002; in press.
 6. Murai M, et al: Active participation of CCR5+CD8+ T lymphocytes in the pathogenesis of liver injury in graft-versus-host disease. *J Clin Invest* 1999; 104: 49-57.
 7. Adams HD, et al. Hepatic expression of macrophage inflammatory protein-1 α and macrophage inflammatory protein-1 β after liver transplantation. *Transplantation* 1996; 61: 817-825.
 8. Yoneyama H, et al. Regulation by chemokines of circulating dendritic cell precursors, and the formation of portal tract-associated lymphoid tissue, in a granulomatous liver disease. *J Exp Med* 2001; 193: 35-49.
 9. Tamaru M, et al. Liver-infiltrating T lymphocytes are attracted selectively by IFN-inducible protein 10. *Cytokine* 2000; 12: 299-308.
 10. Schumann J, et al. Importance of Kupffer cells for T-cell-dependent liver injury in mice. *Am J Pathol* 2000; 157: 1671-1683.
 11. Kaneko Y, et al. Augmentation of V α 14 NKT cell-mediated cytotoxicity by interleukin 4 in an autocrine mechanism resulting in the development of concanavalin A-induced hepatitis. *J Exp Med* 2000; 191: 105-114.

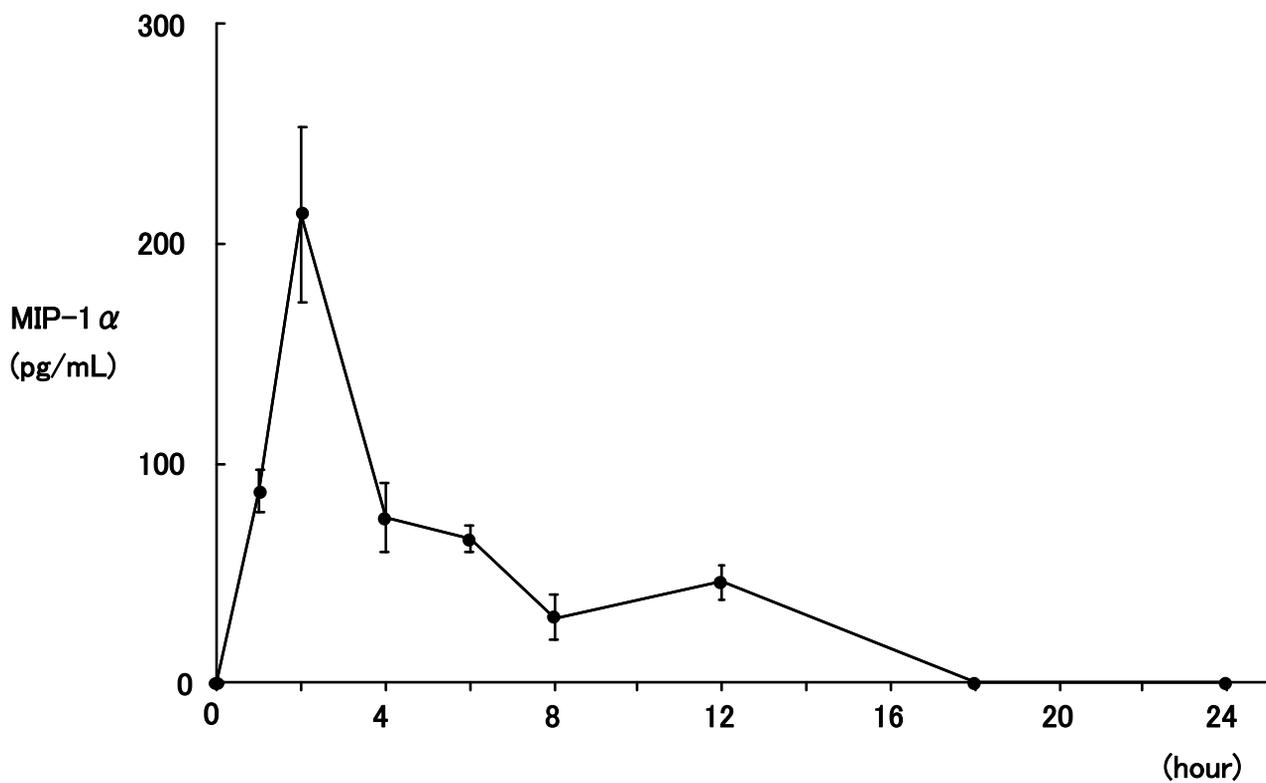


図1. Con A (20 mg/kgBW) 静注後の血漿MIP-1 α 値の経時的変化

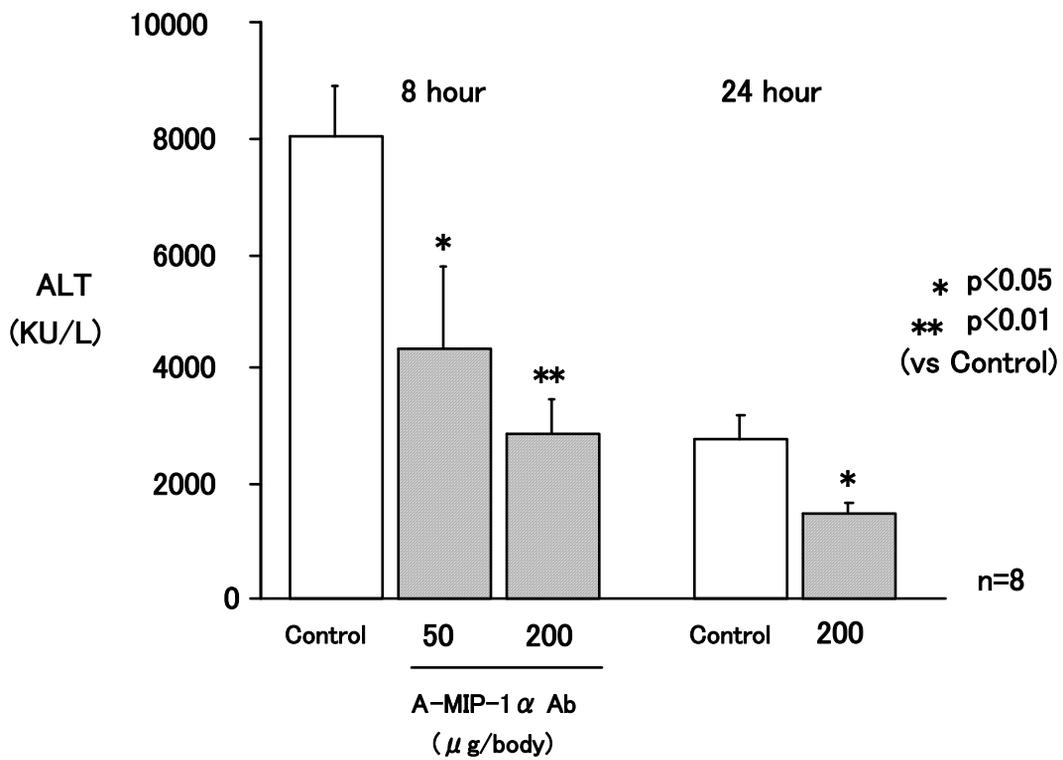


図2. 抗MIP-1 α 抗体 (200 μ g/body) の前投与がCon A (20 mg/kg) 静注後の血漿ALT値に及ぼす影響

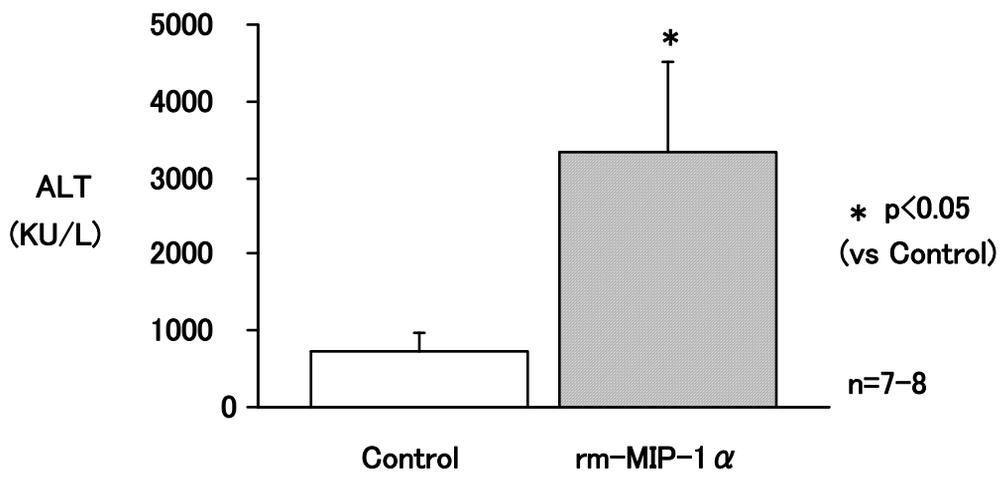


図3. rmMIP-1 α (2 μ g/body) の前投与がCon A (15 mg/kg) 静注8時間後の血中ALT値に及ぼす影響

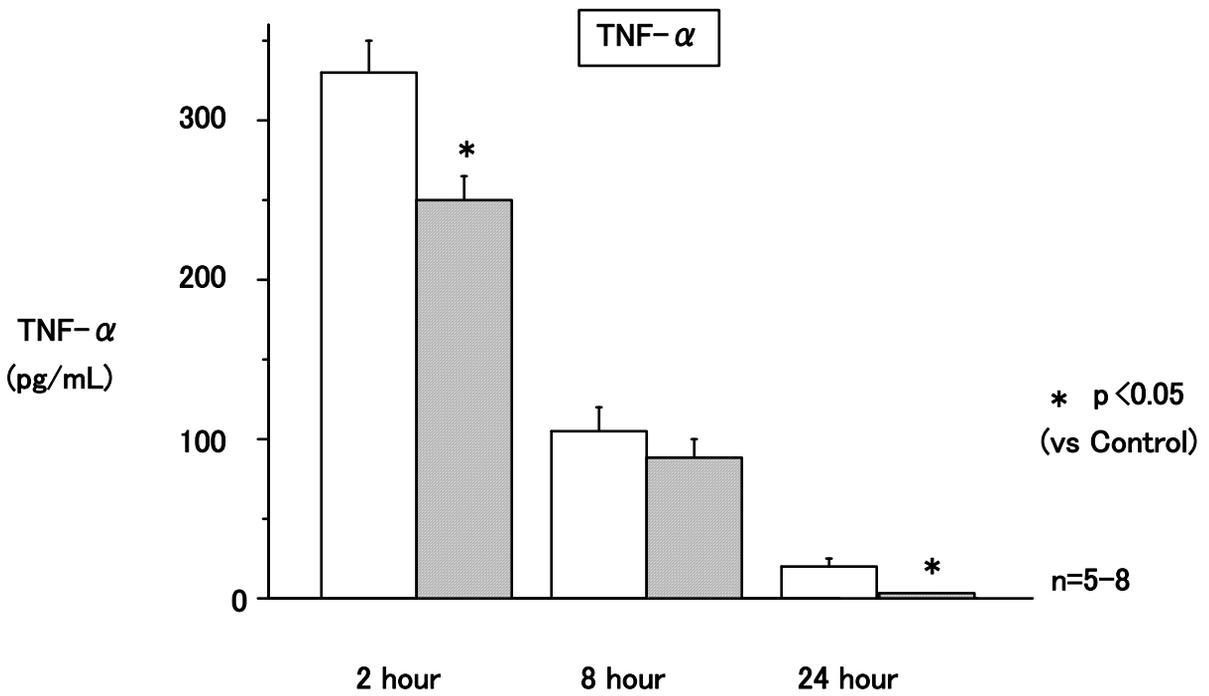
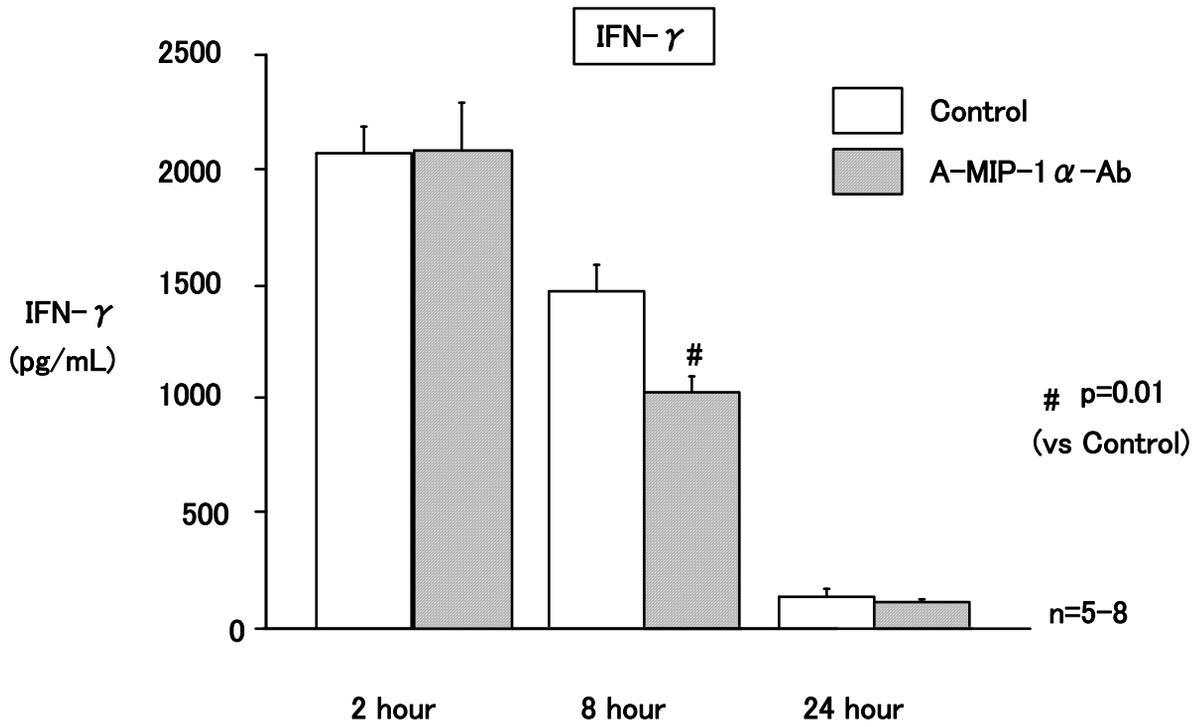


図4. 抗MIP-1 α 抗体 (200 μ g/body) がCon A投与後の血中IFN- γ 、TNF- α 値に及ぼす影響