

AMCoR

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

薬理と治療 (1999.04) 27巻Suppl.3:S831～S834.

肝病態生理研究のあゆみ
Concanavalin A誘発マウス肝炎の肝細胞障害重症度とサイトカイン産生能
における性差の検討

高本秀二郎, 中村公英, 中出幸臣, 田森啓介, 松井朋子,
麻生和信, 佐藤洋一, 青島 優, 牧野 勲, 米田政志

11. Concanavalin A 誘発マウス肝炎の 肝細胞障害重症度とサイトカイン産生能 における性差の検討

旭川医科大学 第二内科

高本 秀二郎 中村 公英 中出 幸臣
田森 啓介 松井 朋子 麻生 和信
佐藤 洋一 青島 優 牧野 勲

国際医療福祉大学 臨床医学センター

米田 政志

Gender Differences of Hepatic Injury and Cytokine Production in Concanavalin A Induced Hepatitis in Mice

Shujiro Takamoto¹⁾, Kimihide Nakamura¹⁾, Yukiomi Nakade¹⁾,
Keisuke Tamori¹⁾, Tomoko Matsui¹⁾, Kazunobu Aso¹⁾,
Yoichi Sato¹⁾, Masaru Aoshima¹⁾, Isao Makino¹⁾ and Masashi Yoneda²⁾

¹⁾Second Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College

²⁾Department of Medicine International University of Health and Welfare

KEY WORDS

Concanavalin A, Hepatitis,
Cytokines, Gender

はじめに

現在、種々の薬剤を用いた肝障害動物モデルが作製され検討されている。近年、Tiegsらにより、マウスにT細胞に対するマイトジェン活性をもつ concanavalin A (Con A) を静脈内投与することにより、T細胞の活性化を介した免疫学的肝炎モデルが報告されている¹⁾。一方、自己免疫性肝炎を含めた自己

免疫疾患は女性に好発し²⁾、免疫機能に性差が存在することが推察されている³⁾が、その発症機序についてはいまだ不明な点が多い。

そこで今回われわれは、本肝炎モデルにおいて、肝細胞障害の重症度と、免疫機能の指標としてのサイトカイン産生能に性差が存在するか否かについて検討した。

I 方 法

7~8週齢の Balb/c 雌雄マウスを用いて Con A (type IV, Sigma) 体重1kgあたり0, 10, 20, 30, 40mgを生理食塩水0.3mlに溶解し、尾静脈より1回静注後24時間で屠殺し、血清GPT値を酵素法にて測定した。また、肝臓を摘出しヘマトキシリン・エオジン染色を施した後、肝細胞の壊死炎症の程度を、A0: None, A1: Minimal to Mild, A2: Moderate, A3: Severe, の4段階に分類し比較検討した。

血中サイトカインの測定は Con A 20mg/kg を投与後2, 4, 6, 8時間で屠殺し、interferon- γ (IFN- γ), tumor necrosis factor- α (TNF- α) の血中濃度を ELISA 法にて測定し検討を行った。

統計処理については、血清GPT値ならびに IFN- γ , TNF- α の血中濃度の結果を mean \pm SE で示し、雌雄間の有意差検定は分散分析 (ANOVA) にて行った。

II 結 果

1 Con A 投与による血清 GPT 値の変化

Con A 投与後24時間での血清GPT値を雌雄で比較したところ、雌雄マウスともに Con A に対し容量依存性に血清GPT値は上昇し、20, 30mg/kg 投与群では雄性マウスに比べ雌性マウスで有意に高値であった (表1)。

2 組織学的検討

10mg/kg を投与したものは、雄、雌ともに門脈域に炎症細胞浸潤が軽度認められた。20mg/kg 投与群 (図1) では雌性マウスにおいて Zone 2 に带状壊死巣の出現が認められたが、雄性マウスでは壊死巣の出現は観察されなかった。

30mg/kg 投与群においては雌性マウスで壊死巣の範囲がいつそう広がり、また雄性マウスにおいても A2 相当の壊死巣の出現が認められた。

表2に組織学的検討結果のまとめを示す。Con A の投与濃度があがるに従い、壊死炎症の程度が強くなり、また、20, 30mg/kg 投与群では、雌性マウスで壊死炎症像がより強い傾向が認められた。

表1 Con A 投与後の血清 GPT 値の雌雄差

Con A (mg/kg)	GPT (KU/l)	
	Male	Female
0	60 \pm 20 (n=5)	36 \pm 7 (n=5)
10	108 \pm 51 (n=9)	158 \pm 37 (n=9)
20	153 \pm 52 (n=10)	837 \pm 229** (n=10)
30	817 \pm 487 (n=10)	2478 \pm 534** (n=12, 4 died)
40	984 \pm 953 (n=5)	ND

** $p < 0.01$ male vs female, ND: not determined

表2 Con A 投与後の肝組織像

Con A (mg/kg)	Sex	n	Inflammatory activity			
			A0	A1	A2	A3
0	Male	3	3			
	Female	3	3			
10	Male	3		3		
	Female	4		4		
20	Male	4		4		
	Female	4		2	2	
30	Male	4		3	1	
	Female	5		1	3	1

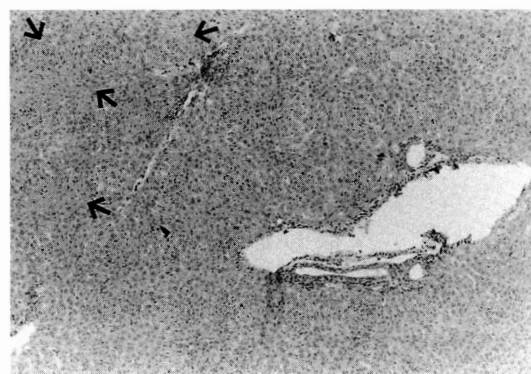
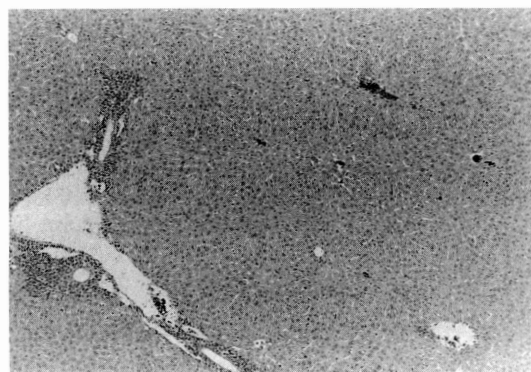


図1 Con A 20mg/kg 投与群の24時間後の肝組織像 (HE染色, $\times 60$)

上段: male, 下段: female (矢印は壊死巣を示す)

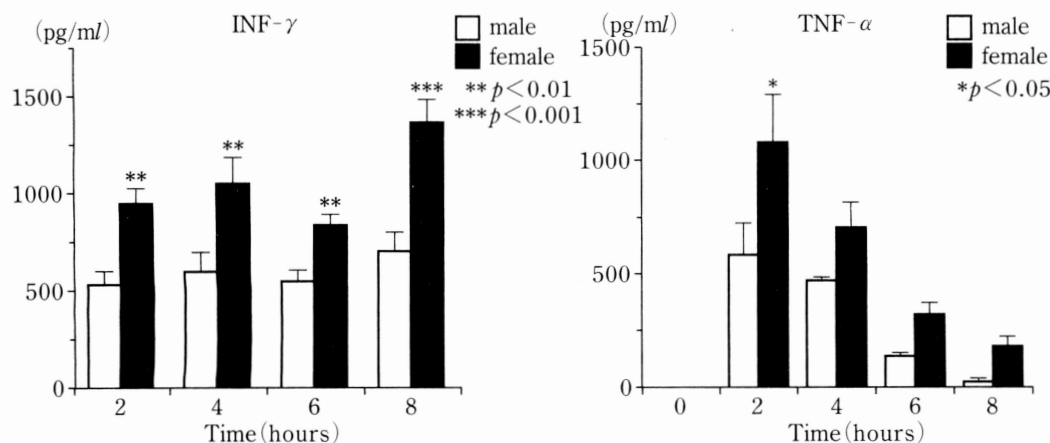


図2 Con A投与後の血中サイトカインの経時変化

3 サイトカインの産生能における雌雄差の検討

図2にINF- γ , TNF- α の経時変化を示す。

INF- γ はいずれの時間においても雌性マウスで有意に高値であった。

TNF- α については雄、雌ともCon A投与後2時間をピークに減少し、いずれの時間においても雌性マウスで高値であったが、統計学的には2時間値のみで有意差を認めた。

III 考 察

Con A誘発肝炎の発症機序としてはCon AによりT-cellが活性化され、その活性化により放出されたサイトカインによって肝細胞の炎症・壊死が生じるとされている。その発症に関わるサイトカインとしては、INF- γ , TNF- α などの炎症性サイトカインが重要な役割を担っていることはすでに報告されている^{4,5)}。一方、免疫機能には性差が存在し、雌(女性)でより高頻度に、またより強く免疫反応がみられることは、臨床あるいは実験動物において古くから報告されている⁶⁾。

以上のことより本研究では、Con A投与によるT細胞の活性化を介した肝炎モデルにおいて、その肝細胞障害の程度、および発症機序に関与しているINF- γ , TNF- α といったサイトカイン産生能の性差について検討を行った。その結果、組織学的変化および血清GPT値の上昇の程度から、雌マウスでより重度の肝細胞障害が生じ、また炎症性サイトカインは雌マウスでより高い産生が認められた。これらの結果よりCon A誘発マウス肝炎は雌マウスでより強く発症し、その発症機序にはINF- γ , TNF- α

などの炎症性サイトカイン産生能の性差の関与が示唆された。また、INF- γ , TNF- α により類洞内で血球成分の粘着、さらにうっ血が生じ、その結果necrosisが起こるとする報告があり⁷⁾、今回の組織学的検討結果においてZone 2にnecrosisがみられていることを支持するものと思われる。実際、今回は提示していないが、Con A投与後4, 6時間での組織像において類洞内のうっ血が確認されている。

一方、今回の検討ではCon A誘発肝炎において雌マウスでより重度の肝細胞障害が生じたが、INF- γ , TNF- α といったサイトカイン産生の亢進における性差がいかなる機序で生じるのかについては明らかにできていない。免疫反応と性差に関する研究はこれまでに多数報告されているが、その多くは性ホルモンの関与を示唆するものである⁸⁻¹⁰⁾。progesteroneやestradiolの血中濃度の変化によってマクロファージからのTNF- α 産生量が調節されている¹¹⁾、といった性ホルモンとサイトカイン産生の関連性を示唆する報告もあり、本モデルにおいても今後検討される必要があると考えられる。

結 語

Con A誘発マウス肝炎において肝細胞障害の重症度には性差が存在し、雌マウスでより重度であった。また、その発症機序にはINF- γ , TNF- α などの炎症性サイトカイン産生能における性差の関与が示唆された。

文 献

- 1) Tiegs G *et al* : A T cell-dependent experimental liver injury in mice inducible by Concanavalin A. *J Clin Invest* **90** : 196-203, 1992
- 2) Beeson PB : Age and sex associations of 40 autoimmune diseases. *Am J Med* **96** : 457-462, 1994
- 3) Cohn DA *et al* : High sensitivity to androgen as a contributing factor in sex differences in the immune response. *Arthritis Rheum* **22** : 1218-1233, 1979
- 4) Kusters S *et al* : Interferon gamma plays a critical role in T cell-dependent liver injury in mice initiated by Concanavalin A. *Gastroenterology* **111** : 462-471, 1996
- 5) Gantner F *et al* : Concanavalin A-induced T-cell-mediated hepatic injury in mice ; The role of tumor necrosis factor. *Hepatology* **21** : 190-198, 1995
- 6) Schuurs AHWM *et al* : Effects of gender and sex steroids on the immune response. *J Steroid Biochem* **35** : 157-172, 1990
- 7) Miyazawa Y *et al* : Involvement of intrasinusoidal hemostasis in the development of Concanavalin A-induced hepatic injury in mice. *Hepatology* **27** : 497-506, 1997
- 8) Ahmed SA *et al* : Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases ; Mechanisms of sex hormone action. *Am J Pathol* **121** : 531-551, 1985
- 9) Maria MC *et al* : Estradiol enhances leukocyte binding to tumor necrosis factor-stimulated endothelial cells via an increase in TNF-induced adhesion molecules E-selectin intercellular adhesion molecule type 1, and vascular cell adhesion molecule type 1. *J Clin Invest* **93** : 17-25, 1994
- 10) Dalal M *et al* : Testosterone therapy ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis and induces a T helper 2 bias in the autoantigen-specific T lymphocyte response. *J Immunol* **159** : 3-6, 1997
- 11) Chao TC *et al* : Steroid sex hormones regulate the release of tumor necrosis factor by macrophages. *Cell Immunol* **160** : 43-49, 1995

* * *