

学位授与番号	医博甲第1471号		
学位授与年月日	平成13年3月31日		
氏名	齋藤孝仁		
学位論文題目	ラクタシスチンによるマウス培養肝内胆管上皮のアポトーシス誘導 —原発性胆汁性肝硬変での胆管アポトーシスとの比較を中心に—		
論文審査委員	主査	教授	小林健一
	副査	教授	須田貴司
		教授	馬淵宏

内容の要旨及び審査の結果の要旨

原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis, PBC) は、中年以降の女性に好発する自己免疫性疾患で、小葉間胆管の進行性破壊が特徴である。この胆管破壊のエフェクター機序としてアポトーシスが重要と考えられ、Fas/Fasリガンド(Fas-L)系が注目されている。最近、PBCの胆管上皮のアポトーシス発生における核因子カッパB (nuclear factor kappa B, NF κ B) の役割やインターロイキン-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) などの炎症性サイトカインの関与が注目されている。

今回、PBCの胆管上皮アポトーシス機構の一端を明らかにする目的で、マウス肝内胆管上皮細胞を培養し、NF κ B阻害剤であるラクタシスチンによるアポトーシス誘導およびこれに伴うアポトーシス関連蛋白およびmRNAの発現を免疫組織化学法 (EnVision法) とRT-PCR法により検討し、さらにPBCの肝内小葉間胆管でのNF κ Bおよびその他のアポトーシス関連蛋白の発現を検討した。なお、胆管上皮細胞のアポトーシスはsingle stranded DNAの免疫染色で検討し、アポトーシス指数 (%) で評価した。

まず、BALB/cマウスおよび機能的Fas発現欠損C3H/lprマウスの胆管上皮細胞株を作製し、コラーゲンゲル上の単層培養を行い、以下の実験に用いた。ラクタシスチンを培地に段階的濃度5 μ mol/L~10 μ mol/Lで添加した。その結果、6~12時間で、BALB/cマウス胆管上皮にアポトーシスに関連する形態変化がみられ、アポトーシス指数が上昇した (最大16.4%)。また、これに関連して培養胆管上皮でのFas-LおよびFasの発現が亢進し、IL-1 β のmRNA発現が低下した。一方、C3H/lprマウスでは、これらの変化はみられなかった。Fas/Fas-Lの関与が重要と考えられた。

次に、PBC18例、肝外閉塞性黄疸6例、組織学的正常肝19例、C型慢性ウイルス性肝炎 (chronic viral hepatitis C, CVH-C) 15例のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用い、免疫組織化学的検討を行った。PBCの胆管上皮細胞では、Fas、Fas-Lの発現亢進がみられ、NF κ B、IL-1 β の発現低下を認めた。

以上、マウス培養肝内胆管上皮でのNF κ B減少状態およびIL-1 β などが、Fas/Fas-L系を介したアポトーシスの発生に関係すること、そしてこの機序がPBCの胆管障害でも作動している可能性が示唆された。

本研究は、代表的な肝の自己免疫性疾患であるPBCの胆管破壊のプロセスを、ヒト材料と胆管上皮培養系を用いて比較検討し、Fas/Fas-L系とこれに関わる転写因子や炎症性サイトカインがアポトーシス発生に重要な系であることを明らかにしたものであり、臨床肝臓病学に寄与する労作と評価された。