



Title	Receptor mediated clearance of chondroitin sulfate iron colloid in the rat liver
Author(s)	菅, 和臣
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39024">https://hdl.handle.net/11094/39024</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	菅 和 田
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 11810 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Receptor mediated clearance of chondroitin sulfate iron colloid in the rat liver (ラット肝におけるレセプターを介したコンドロイチン硫酸鉄コロイドの除去能の評価)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門田 守人 (副査) 教 授 岡田 正 教 授 木谷 照夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

細網内皮系 (RES) は、血中の異物を除去することによって、生体防御の一役を担っている。私達は、コンドロイチン硫酸鉄コロイド (CSFe) を用いた *in vivo* RES 機能検査法を確立し、RES による CSFe の貪食がレセプターを介して行われ、最大除去量 ( $V_{max}$ ) と  $1/2 V_{max}$  を与える CSFe 量 ( $K_p$ ) を用いて RES の機能を評価しうることを示した。本研究では、RES の最も重要な臓器である肝臓の各種細胞による CSFe 除去の機序を解明した。

#### 【方法】

##### 1. 肝臓による CS<sup>59</sup>Fe の取り込み

体重160-250 g の雄性 F344 ラットを用いた。麻酔したラットの下大静脈から体重100 g 当たり 2.4 mg または 24 mg の CS<sup>59</sup>Fe を投与30分後、ラット肝を *in situ* collagenase 濾流した後、遠心によって Kupffer 細胞 (KC), 肝内皮細胞 (LEC), 肝実質細胞 (PC) を分離採取した。分離した各細胞に取り込まれた CS<sup>59</sup>Fe 量を  $\gamma$  カウンターによって計測した。各細胞の total uptake と各細胞 10<sup>6</sup> 個当たりの specific uptake を計算した。

##### 2. 分離した KC, LEC, PC に結合した CS<sup>59</sup>Fe 量の測定

分離した KC, LEC, PC (各 10<sup>6</sup> 個/well) に CS<sup>59</sup>Fe を 0, 0.24, 0.48, 0.96, 1.92 mg 投与し 4 °C で 1 時間培養した。Plasma, fibronectin, 热処理 (57 °C で 30 分間) した plasma でそれぞれ前処理した CS<sup>59</sup>Fe を用いて同様の測定を行った。また、mannose receptor の関与を評価するため yeast mannan を投与して同様の測定を施行した。各細胞に接合した CS<sup>59</sup>Fe の specific radioactivity を求めた。

#### 【結果】

##### 1. 静注した CS<sup>59</sup>Fe の細胞分布

2.4 mg / 100g BW の CS<sup>59</sup>Fe を静注したとき、KC, LEC, PC の total uptake はそれぞれ、 $0.48 \pm 0.06$ ,  $0.16 \pm 0.07$ ,  $0.79 \pm 0.30$  mg であり、specific uptake は、KC, LEC, PC においてそれぞれ、 $0.025 \pm 0.003$ ,  $0.003 \pm 0.001$ ,  $0.004 \pm 0.002$  mg であった。24 mg / 100g BW の CS<sup>59</sup>Fe を静注したときは、total uptake と specific uptake はともに約 10 倍になったが、細胞分布に変化は認めなかった。

##### 2. *in vitro* において KC, LEC, PC に結合した CSFe 量

各細胞に結合した CSFe 量は飽和の過程をとり、Lineweaver-Burk の逆数プロットでは良好な直線性を示した。

$\text{CS}^{35}\text{Fe}$  はレセプターを介して各細胞に結合していると考えられ、 $V_{\text{max}}$  と  $K_p$  が求められた。KC, LEC, PC の  $V_{\text{max}}$  はそれぞれ、 $0.218 \pm 0.019$ ,  $0.133 \pm 0.007$ ,  $0.206 \pm 0.012$ ,  $K_p$  はそれぞれ  $1.147 \pm 0.145$ ,  $0.714 \pm 0.035$ ,  $1.131 \pm 0.098$  であった。各前処理した  $\text{CS}^{35}\text{Fe}$  を用いた場合も同様、Lineweaver-Burk の逆数プロットで良好な直線性を示し、 $V_{\text{max}}$  と  $K_p$  が求められた。Plasma 前処理により、KC と LECにおいて有意に  $V_{\text{max}}$  が大きくなり、 $K_p$  は小さくなかった。一方、PC では  $K_p$  が大きくなった。Fibronectin や熱処理した plasma で前処理した場合、あるいは mannan で競合阻害した場合は、いずれの細胞においても  $V_{\text{max}}$  と  $K_p$  に変化は認められなかった。

#### 【総括】

生体へ投与された CSFe は、肝において KC のみならず LEC, PC により取り込まれること、plasma によりオプソナイズされた場合、KC, LEC による結合が補体依存性に上昇することが結論された。さらに、今後 in vitro CSFe clearance test を用いて、肝細胞の貪食能に影響を与える各種の mediator の影響を評価しうることが判明した。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、ラットの肝臓における異物除去能を、コンドロイチン硫酸鉄コロイド (CSFe) を用いて評価する方法を検討したものである。

まず、CSFe がクッパー細胞 (KC) だけでなく肝内皮細胞 (LEC) や肝実質細胞 (PC) にもレセプターを介して結合し、各細胞の機能を最大除去量 ( $V_{\text{max}}$ ) と  $1/2 V_{\text{max}}$  を与える CSFe 濃度 ( $K_p$ ) を用いて評価しうることを証明した。次に、この方法を用いて、CSFe が plasma によりオプソナイズされたとき、KC や LEC による結合が補体依存性に上昇することを示した。さらに、LPS 投与により肝臓への CSFe の取り込みが増加するのは、KC 数の増加によることを明らかにした。

CSFe を用いて肝臓の各細胞の機能を評価する方法を確立し、この方法によって、今後肝細胞の貪食能に影響を与える各種のメディエーターの影響を評価しうることを示した点において本研究の意義は大きく、学位に値すると考える。