

## 肝線維化における腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )の役割

研究協力者 大澤陽介 岐阜大学大学院医学系研究科

**研究要旨:**肝線維化における腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )の役割を胆管結紮肝障害モデルと TNF- $\alpha$  欠損マウスを用いて検討した。TNF- $\alpha$  は肝細胞障害、炎症細胞浸潤、肝再生には関与せずに肝線維化を促進することが示唆され、その機序として肝星細胞の TIMP-1 発現が関与することが示唆された。

### A.研究目的

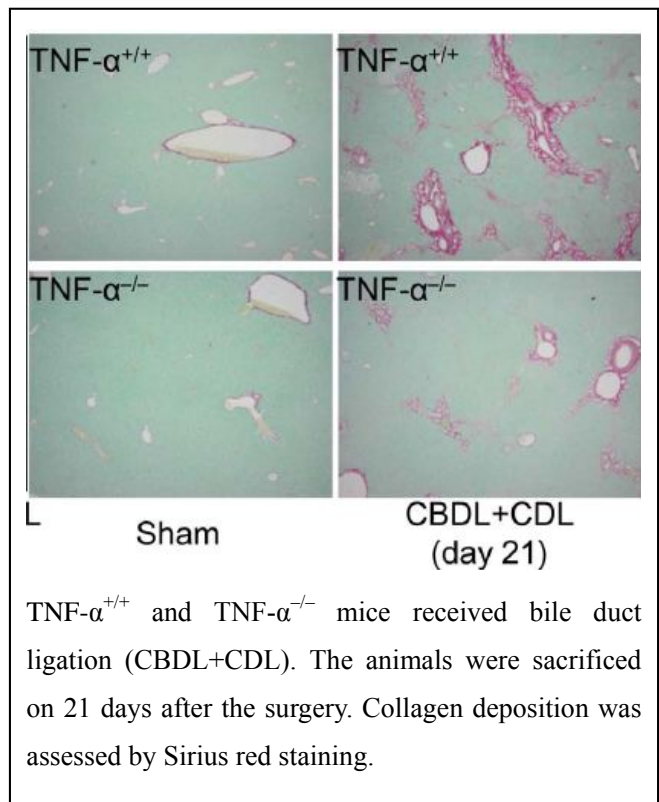
腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )は炎症性サイトカインの一つであり、C型肝炎をはじめとした種々の肝障害に深く関与している。動物実験モデルでは、TNF- $\alpha$  欠損マウスやその受容体の欠損マウスで、肝障害や肝線維化が抑制されることが報告されており、TNF- $\alpha$  は肝障害・肝線維化に促進的に働くと考えられている。しかし TNF- $\alpha$  が肝線維化を促進する機序については不明な点が多い。そこで、これらにおける TNF- $\alpha$  の役割について、胆管結紮肝障害モデルと TNF- $\alpha$  欠損マウスを用いて検討した。

### B.研究方法

TNF- $\alpha$ <sup>+/+</sup>および TNF- $\alpha$ <sup>-/-</sup>マウスの総胆管と胆のう管を結紮することにより、肝細胞障害および肝線維化を誘導し、肝障害・線維化、マクロファージ・リンパ球浸潤、肝再生を比較した。肝星細胞(HSCs)のコラーゲン産生における TNF- $\alpha$  の影響を検討するためラットより HSCs を分離し、TNF- $\alpha$  添加後のコラーゲン mRNA を測定した。さらに、肝線維化における TIMP-1 の役割を検討するため TIMP-1 mRNA 発現を比較し、肝組織における TIMP-1 の局在を検討した。また、TIMP-1 欠損の肝線維化におよぼす影響を検討した。

### C.研究結果

胆管結紮により血清中 TNF- $\alpha$  は増加した。TNF- $\alpha$ <sup>-/-</sup>マウスでは胆管結紮後の肝線維染色(下図)およびヒドロキシプロリンの増加が抑制された。



一方、血清 ALT, T-BIL, 肝組織中 F4/80 陽性細胞、CD3 陽性細胞、Ki67 陽性細胞、および Cyclin E 発現は、TNF- $\alpha$ <sup>+/+</sup>と TNF- $\alpha$ <sup>-/-</sup>マウスで差が無かった。このことから、TNF-

は肝細胞障害、炎症細胞浸潤、肝再生には関与せずに肝線維化を促進することが示唆された。初代培養 HSCs に TNF- $\alpha$  を添加するとコラーゲン mRNA の発現が低下し、TNF- $\alpha$  が直接コラーゲン発現を促進させる効果は無かった。MMP 阻害作用をもつ TIMP-1 は胆管結紮後の肝組織で発現が増加し、免疫染色では desmin 発現細胞で強く発現が認められた。また、初代培養 HSCs に TNF- $\alpha$  を添加すると TIMP-1 mRNA の発現が増強した。さらに TIMP-1<sup>-/-</sup>マウスでは胆管結紮後の肝線維化が抑制された。

#### D. 考察

TNF- $\alpha$  は肝細胞障害、炎症細胞浸潤、肝再生には関与せずに肝線維化を促進することが示唆された。これまで、TNF- $\alpha$  は肝細胞障害を介して肝線維化を誘導すると考えられていたが、この結果から、TIMP-1 を介して肝線維化に直接的な促進効果があることが明らかとなった。今後、肝星細胞や TIMP-1 欠損マウスを用いて Wnt シグナルとの関連に関する解析を進め、肝線維化に対する新規治療の開発を目指す。

#### E. 結論

TNF- $\alpha$  は HSCs の TIMP-1 発現を介して肝細胞障害後の肝線維化を促進する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Osawa Y, Hoshi M, Yasuda I, Saibara T, Moriwaki H, Kozawa O. Tumor necrosis factor- $\alpha$  promotes cholestasis-induced liver fibrosis in the mouse through tissue inhibitor of metalloproteinase-1 production in

hepatic stellate cells. PLoS One. 8, e65251, 2013.

- 2) Osawa Y, Suetsugu A, Matsushima-Nishiwaki R, Yasuda I, Saibara T, Moriwaki H, Seishima M, Kozawa O. Liver acid sphingomyelinase inhibits growth of metastatic colon cancer. J Clin Invest. 123, 834-843, 2013.

#### 2. 学会発表

- 1) 大澤陽介 森脇久隆：ワークショップ「胆汁酸研究の最近の進歩」胆汁酸による肝細胞障害および肝線維化における TNF- $\alpha$  の役割 第49回日本肝臓学会総会，東京，2013.
- 2) 大澤陽介 森脇久隆：パネルディスカッション3「機能性食品や補助食品の消化器疾患における役割」アミノ酸の肝脂肪化に対する影響．第55回日本消化器病学会大会，東京，2013
- 3) 大澤陽介 森脇久隆：肝線維化における腫瘍壊死因子（TNF- $\alpha$ ）の役割．第40回日本肝臓学会西部会 岐阜 2013

#### H. 知的所有権の出願・登録状況

特許取得 なし

実用新案登録 なし

その他 なし

