

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09339

研究課題名(和文) マクロファージ遊走阻止因子(MIF)-CD74系による肝発癌促進機構の解明

研究課題名(英文) Dissecting the role of MIF-CD74 signaling on hepatocarcinogenesis

研究代表者

堀口 昇男(HORIGUCHI, NORIO)

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：10550022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)はメタボリック症候群の肝臓での表現型と考えられており、日本における肝発癌の大きな原因のひとつである。マクロファージ遊走阻止因子(MIF)は自然免疫と獲得免疫の両免疫系に関与し、マクロファージの凝集を介して炎症反応を制御する。本研究ではMIF-CD74 signalingがAMPKの活性化を介して肝発癌を促進することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)は、日本や米国などの先進国における肝発癌の原因として頻度の高いものである。とりわけ、NAFLDに慢性炎症を伴い、肝硬変への経過をたどる非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)が大きな問題となっている。

今回、我々はマクロファージの集積/活性化に関与し、自然免疫と獲得免疫の両免疫系に関与するマクロファージ遊走阻止因子(MIF:Non-alcoholic fatty liver disease)-CD74系が非アルコール性脂肪性肝炎からの発癌に関与するという新たな知見を得た。

研究成果の概要(英文)：Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is known as a phenotype of metabolic syndrome in the liver. In Japan, NAFLD is one of the leading causes of liver cancer. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is involved in both innate and acquired immunity, which regulates inflammatory response via macrophage accumulation. In this study, we revealed that MIF-CD74 signaling promotes hepatocarcinogenesis via AMPK activation.

研究分野：消化器内科学

キーワード：MIF(マクロファージ遊走阻止因子) NASH(非アルコール性脂肪性肝炎) マクロファージ 肝発癌 メタボリック症候群

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪性肝炎 (NAFLD) は、日本や米国のなどの先進国においてメタボリック症候群の肝臓での表現型として注目され、肝障害の原因としてもっとも頻度の高いものであることが報告されている。このメタボリック症候群の発症には各臓器におけるマクロファージの活性化がインスリン抵抗性に關与することが報告されている。

マクロファージ遊走阻止因子 (MIF: macrophage migration inhibitory factor) は、マクロファージの集積/活性化に關与する因子として自然免疫と獲得免疫の兩者に關与することが報告されていたが、特に CD74 が MIF レセプターであること、また MIF-CD74 系の活性化はホメオスタシスの維持に重要な AMPK シグナル活性化を誘導する報告 (Nature 31; 451: 578-82, 2008) が breakthrough となり、MIF-CD74 系が慢性関節リウマチ等の慢性炎症疾患や膠原病に關与する報告がされていた。一方で、非アルコール性脂肪性肝炎 (NAFLD) からの肝炎、肝発癌における MIF-CD74 系の役割については不明であった。

2. 研究の目的

メタボリック症候群の発症には各臓器におけるマクロファージの活性化が重要であり、メタボリック症候群の肝臓での表現型である NAFLD の発症、進展、肝発癌にも肝常在のマクロファージ (クッパー細胞) の活性化が重要である。そこで、我々は “マクロファージの活性化に重要な MIF-CD74 系が NAFLD の発症、進展、肝癌の発症に重要な役割を果たすのでは?” と仮説をたて、遺伝子改変マウス、およびヒト NASH 検体を用いて MIF-CD74 系の役割を肝炎症、肝脂質沈着、肝線維化、肝腫瘍形成の観点から明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

我々は MIF の役割を明らかにするために WT (野生型マウス) および MIF-KO (MIF ノックアウトマウス) に 24 週間、72 週間の普通食、高脂肪食負荷を行い解析した。解析には (A) 肝炎症 (FACS 解析、免疫染色、サイトカインの発現、炎症の質 (pro-inflammatory に働く M1 マクロファージ、anti-inflammatory に働く M2 マクロファージの各々のマーカーの遺伝子発現))、(B) 肝脂質沈着 (肝組織中の中性脂肪、コレステロール測定、oil-red-O 染色) (C) 肝線維化 (SMA による免疫染色、線維化関連遺伝子の発現) (D) 肝腫瘍発生 (腫瘍発生数、腫瘍部/非腫瘍部における遺伝子発現の比較) を解析した。

4 . 研究成果

基礎実験として、高脂肪食負荷 WT においてコントロール食負荷 WT と比較して肝臓および脂肪組織において CD74mRNA の発現が亢進、高脂肪食負荷が MIF CD74 系を活性化することを確認した。

24 週間の高脂肪食

24 週間の高脂肪食負荷 MIF-KO では WT と比較して有意な肝臓/体重比の増加、高 ALT 値を呈しメタボリック症候群類似の表現型を示すことが明らかになった。

(A) 肝炎症について

MIF-KO では WT に比較して炎症細胞浸潤が減少しており、pro-inflammatory cytokine である肝組織中の TNF - mRNA の発現は有意に低下していた。

(B) 肝脂質沈着について

MIF-KO では WT に比較して肝組織中のトリグリセライド値の上昇、Oil-red O 染色により肝脂質沈着が亢進していることが明らかになった。このメカニズムとして肝組織中の AMPK 活性の低下の関与が示唆された。

(C) 肝線維化について

MIF-KO では WT に比較して SMA 染色陽性領域が優位に上昇しており、肝線維化が亢進していることが確認された。

72 週間の高脂肪食

72 週間の高脂肪食負荷 MIF-KO では WT と比較して有意な体重増加が確認され、24 週間の高脂肪食負荷の表現型がさらに著明となった。

(D) 肝線維化について

MIF-KO では WT に比較して 24 週間 SMA 染色陽性領域が優位に上昇しており、collagen1mRNA、MMP-13mRNA、TIMP-1mRNA の発現亢進が確認された。

(E) 線維化が亢進していることが確認された。

MIF-KO では WT に比較して有意に腫瘍形成が抑制していることが明らかになった。

結論

MIF はマウス NAFLD/NASH モデルにおいて抗肝脂質沈着作用、抗肝線維化作用を有する一方で、肝腫瘍形成促進に関与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Uehara D, Seki Y, Kakizaki S, Horiguchi N, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Yamada M, Uraoka T, Kasama K	4. 巻 Apr;29(4):
2. 論文標題 Long-term Results of Bariatric Surgery for Non-alcoholic Fatty Liver Disease/Non-alcoholic Steatohepatitis Treatment in Morbidly Obese Japanese Patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Obes Surg.	6. 最初と最後の頁 1195-1201
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11695-018-03641-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uehara D, Tojima H, Kakizaki S, Yamazaki Y, Horiguchi N, Takizawa D, Sato K, Yamada M, Uraoka T.	4. 巻 51
2. 論文標題 Constitutive androstane receptor and pregnane X receptor cooperatively ameliorate DSS-induced colitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dig Liver Dis.	6. 最初と最後の頁 226-235.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dld.2018.10.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sato K, Naganuma A, Nagashima T, Hoshino T, Uehara D, Arai Y, Horiuchi K, Yuasa K, Takayama H, Arai H, Hatanaka T, Ohyama T, Tahara H, Sohara N, Kobayashi T, Horiguchi N, Yamazaki Y, Kakizaki S, Kusano M, Yamada M, Murase T, Nakamura T.	4. 巻 48
2. 論文標題 Elevated Serum Uric Acid Level Was a Notable Adverse Event During Combination Therapy With Sofosbuvir and Ribavirin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hepatol Res.	6. 最初と最後の頁 E347-E353
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.12971.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Seki Y, Kakizaki S, Horiguchi N, Hashizume H, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Kusano M, Yamada M, Kasama K.	4. 巻 51
2. 論文標題 Prevalence of Nonalcoholic Steatohepatitis in Japanese Patients With Morbid Obesity Undergoing Bariatric Surgery	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Gastroenterol .	6. 最初と最後の頁 281-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-015-1114-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato K, Yamazaki Y, Kobayashi T, Takakusagi S, Horiguchi N, Kakizaki S, Andou M, Matsuda Y, Uraoka T, Ohnishi H, Okamoto H.	4. 巻 7
2. 論文標題 Sofosbuvir/Ribavirin Therapy for Patients Experiencing Failure of Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir + Ribavirin Therapy: Two Cases Report and Review of Literature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 World J Clin Cases.	6. 最初と最後の頁 1043-1052
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12998/wjcc.v7.i9.1043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki Y, Naganuma A, Arai Y, Takeuchi S, Kobayashi T, Takakusagi S, Hatanaka T, Hoshino T, Namikawa M, Hashizume H, Takizawa D, Ohyama T, Suzuki H, Horiguchi N, Takagi H, Sato K, Kakizaki S, Kusano M, Nagashima S, Takahashi M, Okamoto H, Yamada M.	4. 巻 47
2. 論文標題 Clinical and Virological Features of Acute Hepatitis E in Gunma Prefecture, Japan Between 2004 and 2015	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hepatol Res.	6. 最初と最後の頁 435-445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.12765.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki Y, Suzuki A, Hirayanagi K, Tsukagoshi Y, Uehara R, Horiguchi K, Ohyama T, Tomaru T, Horiguchi N, Nobusawa S, Ikota H, Sato K, Kakizaki S, Kusano M, Ikeda Y, Yokoo H, Yamada M.	4. 巻 56
2. 論文標題 An Autopsy Case of Fulminant Hepatitis in a Patient With Multiple Sclerosis Treated by Interferon-Beta-1a	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 1897-1901.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.56.7980.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Horiguchi et al.
2. 発表標題 Dissecting the role of macrophage inhibitory factor (MIF) in hepatic fibrosis and carcinogenesis on murine NAFLD model
3. 学会等名 DDW (米国消化器病学会週間) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 植原 大介, 柿崎 暁, 戸島 洋貴, 小林 剛, 堀口 昇男, 山崎 勇一, 佐藤 賢, 畑中 健, 長沼 篤, 滝澤 大地, 新井 弘隆, 浦岡 俊夫
2. 発表標題 NBNC肝癌の臨床病理学的検討
3. 学会等名 日本肝臓学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀口 昇男, 柿崎 暁, 植原 大介, 小林 剛, 戸島 博貴, 山崎 勇一, 佐藤 賢, 浦岡 俊夫
2. 発表標題 当院における肝臓病教室・患者サロンの現状
3. 学会等名 日本消化器病学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀口 昇男, 柿崎 暁, 浦岡 俊夫
2. 発表標題 アルコール性肝疾患:病態と治療の現状と今後の展望 新規マウスアルコール性肝障害モデルの検討
3. 学会等名 日本肝臓学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀口 昇男, 柿崎 暁, 滝澤 大地, 植原 大介, 小林 剛, 戸島 博貴, 山崎 勇一, 佐藤 賢, 浦岡 俊夫
2. 発表標題 NAFLD/NASHモデルにおけるマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の役割
3. 学会等名 日本消化器病学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀口 昇男(群馬大学医学部附属病院 消化器・肝臓内科), 柿崎 暁, 小林 剛, 戸島 洋貴, 山崎 勇一, 佐藤 賢, 橋爪 洋明, 濱田 哲也, 片貝 堅志, 竝川 昌司, 長沼 篤, 上野 敬史, 阿部 毅彦, 高草木 智史, 小曽根 隆, 高木 均
2. 発表標題 患者アンケートを実施してみえた痒みの顕在化 GLSG:Gunma Liver Study Group(
3. 学会等名 日本消化器病学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀口 昇男, 山崎 勇一, 柿崎 暁
2. 発表標題 群馬県における肝炎治療コーディネーター養成の取り組みと問題点
3. 学会等名 日本肝臓学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀口 昇男, 滝澤 大地, 柿崎 暁, 小林 剛, 戸島 洋貴, 山崎 勇一, 佐藤 賢, 草野 元康
2. 発表標題 マウス脂肪性肝炎モデルにおけるMIF(マクロファージ遊走阻止因子)の役割
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山田 英二郎 (YAMADA EIJIRO) (60645563)	群馬大学・医学部附属病院・講師 (12301)	

