

令和元年6月20日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19382

研究課題名(和文) 樹状細胞とトリプトファン代謝酵素(IDO)の制御に基づく肝線維化防止機構の解明

研究課題名(英文) The effect of kynurenine on liver fibrosis

研究代表者

由雄 祥代(Yoshio, Sachiyo)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・肝疾患先端治療研究室長

研究者番号：10774060

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪性肝疾患(non-alcoholic fatty liver disease;NAFLD)において、IL-34、YKL-40が線維化ステージ進展とともに増加することを見出し報告した。また、トリプトファンの代謝産物であるキヌレニン濃度がF3ステージ以上の患者において高値であった。肝切除検体より単離した肝線維芽細胞は、IL-34・キヌレニンを産生能を認めた。また、キヌレニン添加により、肝線維芽細胞の活性化を認めた。NAFLD患者において、キヌレニン高値である病態が肝線維芽細胞への直接作用により肝線維化亢進に寄与することが示唆された。

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、世界的にも国内でもその患者数が近年増加しています。肝臓の慢性的な炎症が続くことにより、肝臓に線維化がすすみ、肝硬変・肝がんが発症することがあります。この研究により、NAFLD患者において、トリプトファン代謝経路が亢進しキヌレニンがたくさん産生されることがその線維化を悪化させる一因である可能性が示されました。今後、治療標的として期待されます。

研究成果の概要(英文)：Serum levels of IL-34 and YKL-40 increased with the progression of liver fibrosis in NAFLD patients. The levels of serum kynurenine were also high in NAFLD patients with advanced fibrosis. Primary liver fibroblasts were obtained from surgical resections of non-cancerous liver from NAFLD patients. Primary fibroblasts produced IL-34 and kynurenine. The addition of kynurenine or the agonist of AhR, the receptor of kynurenine, upregulated the expression levels of ACTA2, TIMP1 and COL1A1 in primary fibroblasts. Upregulation of kynurenine pathway might exacerbate liver fibrosis though activating fibroblasts.

研究分野：肝臓免疫

キーワード：キヌレニン NAFLD 肝線維芽細胞 IL-34 YKL-40

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ウイルス性 (B 型、C 型) 肝炎、非アルコール性脂肪肝炎 (Nonalcoholic steatohepatitis, NASH) などの肝疾患においては、慢性炎症から数十年の緩徐な過程を経て肝硬変に進展する。肝硬変に移行すると、肝機能低下、肝不全を来し、肝癌の発生率は増加する。肝硬変は、病理学的に高度な線維化が肝臓に生じた状態であり、この線維化はウイルス排除後も Resolution は困難であり、患者の健康寿命を低下させる大きな問題である。この線維化進展の機序は、致死的でない中等度の炎症が持続する「くすぶり型」慢性炎症が重大な原因であると考えられているが、その詳細は不明であり、治療法も確立されていない。肝臓の線維化にはマウスモデルにおいてマクロファージが関与すると報告されているが、ヒトにおけるその意義は明らかになっていない。肝臓の慢性炎症の機序を解明することは、線維化の機序解明、さらには肝線維化進展抑制につながる治療介入点を見つけることにつながる。

2. 研究の目的

本研究は、肝線維化進展・発がん抑制につながる治療介入を目指し、線維芽細胞、免疫細胞、トリプトファン代謝 (IDO/ Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO)) の関与を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

臨床サンプルの解析・培養実験を用いて、肝臓の慢性炎症からの肝線維化・発がんに寄与する因子を探索した。慢性肝炎患者の患者血清中のマクロファージ活性化因子 (sCD163, YKL-40), IDO 活性 (キヌレニン/トリプトファン比), サイトカイン・ケモカインを網羅的に解析した。肝切組織の非がん部・癌部より肝線維芽細胞を単離培養し、培養上清中の液性因子を測定した。また、キヌレニン、およびキヌレニン受容体作動薬を添加し、肝線維芽細胞の活性に及ぼす影響を検証した。

4. 研究成果

非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) において、既報のマクロファージ活性化関連因子である sCD163 に加えて IL-34, YKL-40 が線維化ステージ進展とともに増加することを見出し報告した。また、トリプトファンの代謝産物であるキヌレニン濃度が F3 ステージ以上の患者において高値であった。NAFLD 患者血清中に上昇する因子である LPS, TNF- α , IL-1 β などをマクロファージに添加すると、sCD163, YKL-40 を高産生した。肝切除検体より癌組織から Cancer-associated fibroblast (CAF) を、非癌部の肝組織から Non-cancerous liver fibroblast (NF) を単離した。NF, CAF とともに IL-34・キヌレニンを産生し、LPS, TNF- α , IL-1 β の添加によりその産生は増強した。これらの結果は、NAFLD 患者において LPS、炎症性サイトカインを介しマクロファージ・線維芽細胞が活性化していることが病態形成の一因であることを示唆している。CAF は NF と比較しキヌレニン産生能が高かった。キヌレニン受容体である AhR 作動薬 (FICZ) の添加、およびキヌレニン添加により、LX-2 (肝星細胞) とプライマリー肝線維芽細胞における ACTA2, TIMP1, COL1A1 の発現上昇を認めた。キヌレニン高値である病態が免疫能低下および肝星細胞および肝線維芽細胞への直接作用により線維化亢進に寄与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Bone morphogenetic protein 4 provides cancer-supportive phenotypes to liver fibroblasts in patients with hepatocellular carcinoma. Mano Y, Yoshio S, Shoji H, Tomonari S, Aoki Y,

- Aoyanagi N, Okamoto T, Matsuura Y, Osawa Y, Kimura K, Yugawa K, Wang H, Oda Y, Yoshizumi T, Maehara Y, Kanto T. *J Gastroenterol*. 2019 Apr 2. doi: 10.1007/s00535-019-01579-5
- Interleukin-34 as a fibroblast-derived marker of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Shoji H, Yoshio S, Mano Y, Kumagai E, Sugiyama M, Korenaga M, Arai T, Itokawa N, Atsukawa M, Aikata H, Hyogo H, Chayama K, Ohashi T, Ito K, Yoneda M, Nozaki Y, Kawaguchi T, Torimura T, Abe M, Hiasa Y, Fukai M, Kamiyama T, Taketomi A, Mizokami M, Kanto T. *Sci Rep* 6:28814, 2016.
 - Serum YKL-40 as a marker of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Kumagai E, Mano Y, Yoshio S, Shoji H, Sugiyama M, Korenaga M, Ishida T, Arai T, Itokawa N, Atsukawa M, Hyogo H, Chayama K, Ohashi T, Ito K, Yoneda M, Kawaguchi T, Torimura T, Yuichi N, Watanabe S, Mizokami M, Kanto T. *Sci Rep* 10:35282, 2016.

〔学会発表〕(計 6 件)

- Critical roles of bone morphogenetic protein 4 in cirrhotic and cancer-associated fibroblasts that regulates cellular senescence and cancer-supportive phenotype in the human liver. Mano Y, Yoshio S, Shoji H, Sugiyama M, Doi H, Okamoto T, Osawa Y, Kimura K, Yoshizumi T, Shirabe K, Maehara Y, Mizokami M, Kanto T. The Liver Meeting 2016: The 67th Annual Meeting of AASLD. Boston, U.S.A, 2016.
- Interleukin-34 as a fibroblast-derived marker of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Shoji H, Yoshio S, Mano Y, Kumagai E, Doi H, Sugiyama M, Korenaga M, Arai T, Itokawa N, Atsukawa M, Aikata H, Hyogo H, Chayama K, Ohashi T, Ito K, Yoneda M, Nozaki Y, Kawaguchi T, Torimura T, Abe M, Hiasa Y, Kamiyama T, Taketomi A, Mizokami M, Kanto T. The Liver Meeting 2016: The 67th Annual Meeting of AASLD. Boston, U.S.A, 2016.
- Serum YKL-40 as a marker of liver fibrosis and hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Mano Y, Kumagai E, Shoji H, Yoshio S, Sugiyama M, Korenaga M, Arai T, Itokawa N, Atsukawa M, Hyogo H, Chayama K, Ohashi T, Ito K, Yoneda M, Kawaguchi T, Torimura T, Nozaki Y, Mizokami M, Kanto T. The Liver Meeting 2016: The 67th Annual Meeting of AASLD. Boston, U.S.A, 2016.
- 非アルコール性脂肪性肝疾患における IL-34 –新規マクロファージ関連肝線維化マーカー 正司裕隆、由雄祥代、考藤達哉 第 53 回日本肝臓学会総会
- 抑制型受容体 Siglec ファミリーの網羅的解析 坂本譲、由雄祥代、考藤達哉 第 54 回日本肝臓学会総会
- NAFLD における可溶性 Siglec-7 はマクロファージ関連バイオマーカーである 坂本譲、由雄祥代、考藤達哉 第 55 回日本肝臓学会総会

〔図書〕(計 2 件)

- B 型・C 型肝炎と免疫、臨床免疫・アレルギー科 71(4):1-9, 2019
- HCV 感染症における免疫応答と免疫異常、医学のあゆみ 262 (14): 1373-1376, 2017

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）:

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※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。