

令和 2 年 5 月 1 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09820

研究課題名(和文)細胞と細胞外基質の物理的相互作用による肝臓の代謝機能異常と線維化の分子基盤の解明

研究課題名(英文) Regulation of metabolism and fibrosis in liver by cell-extracellular matrix physical interaction

研究代表者

土屋 恭一郎 (Tsuchiya, Kyoichiro)

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号：60451936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肥満に伴う脂肪肝や糖脂質代謝異常において、肝実質へのCCR-2陽性骨髄系細胞の浸潤が促進的役割を果たしている。RMCが肝実質へ浸潤する機構及び肝細胞との相互作用について、細胞接着・接触の視点から検討した。肥満マウス由来肝類洞内皮細胞(LSEC)では、接着因子の発現が増加していた。細胞接着実験では、肥満マウス由来LSECにおいて単球の接着が著明に増加しており、VCAM-1のリガンドVLA-4に対する中和抗体の前処置により接着が抑制された。肝細胞とRAW264.7細胞の接触共培養では、Notchシグナル依存性に糖新生関連遺伝子の発現誘導と糖産生の増加が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炎症細胞と肝類洞内皮細胞、ならびに炎症細胞と肝実質細胞間の物理的相互作用が新しい糖尿病の治療標的になることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Obesity promotes infiltration of inflammatory cells into various tissues, leading to parenchymal and stromal cell interaction and development of cellular and organ dysfunction. Liver sinusoidal endothelial cells (LSECs) are the first cells that contact portal blood cells and substances in the liver. Here, we find that LSECs are involved in obesity-associated accumulation of myeloid cells via VLA-4-dependent cell-cell adhesion. VLA-4 blockade in mice fed a high-fat diet attenuated myeloid cell accumulation in the liver to improve hepatic inflammation and systemic glucose intolerance. Ex vivo studies further show that cell-cell contact between intrahepatic leukocytes and parenchymal hepatocytes induces gluconeogenesis via a Notch-dependent pathway. These findings suggest that cell-cell interaction between parenchymal and stromal cells regulates hepatic glucose metabolism and offers potential strategies for treatment or prevention of obesity-associated glucose intolerance.

研究分野：内分泌・代謝学

キーワード：肥満 糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームに伴う糖脂質代謝異常の発症・進展において、肝臓は極めて重要な役割を担う。肝臓における糖脂質代謝異常は肝臓自身への脂肪蓄積を促進するだけでなく、インスリン抵抗性、糖尿病、脂質異常症といった全身の糖脂質代謝異常を促進する。非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease; NAFLD) はアルコール多飲歴がなく生じる脂肪性肝疾患の総称であり、内臓脂肪型肥満、糖尿病、脂質異常症、インスリン抵抗性と深く関連するため、メタボリックシンドロームの肝臓における表現型と考えられている。NAFLD は組織学的に脂肪沈着と炎症を伴う単純性脂肪肝と、炎症が高度化し組織線維化を伴う非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis: NASH) に大別される。単純性脂肪肝による糖脂質代謝異常は動脈硬化性疾患のリスクを増大し、NASH においては肝硬変と肝細胞癌への進展が懸念されるため、NAFLD の病態解明と効果的な治療法の創出が求められる。肝臓には類洞が肝実質細胞を挟むように規則的に配列し、類洞の最内層には類洞内皮細胞 (liver sinusoidal endothelial cells: LSEC) が類洞と肝実質細胞を隔てるバリアーとして存在する。肝臓を構成する細胞の約 50% は肝実質細胞 (肝細胞) であり、残りの 50% は LSEC、クッパー細胞、星細胞などの間質細胞である。肥満に伴い肝実質細胞への脂肪蓄積が進行すると、肝実質には単球、好中球を主とした免疫細胞が浸潤し、肝臓の糖脂質代謝異常を促進する (Diabetes 2010;59:916-925, Immunity 2014;41:36-48 等)。従って、免疫細胞が類洞から肝実質細胞に浸潤する過程では何らかの物理的相互作用により LSEC のバリアーを超える必要があるものの、その分子機構は不明であった。加えて、浸潤した免疫細胞は組織学的に肝実質細胞と接触し、同様に物理的相互作用を生じうるものの、免疫細胞により惹起される細胞接触依存的な肝実質細胞の機能異常機構は未知である。

2. 研究の目的

肥満に伴い骨髄系細胞が肝実質へ浸潤する機構、及び肝細胞との相互作用を介した肝細胞の機能調節機構について、細胞接着・接触の視点から明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

肥満マウス由来の肝類洞内皮細胞 (LSEC) では、ケモカイン MCP-1 の受容体 CCR-2、及び接着因子 (VCAM-1, Selectins) の発現が増加していた。肥満マウス肝臓の電子顕微鏡による解析では、単球・マクロファージが LSEC と接着する像や、肝実質細胞間に浸潤している像が多数観察された (図 1)。

生体イメージングでは、ob/ob マウスの肝臓において類洞壁をローリングする細胞、および接着する顆粒球が野生型マウスと比較して有意に増加していた (図 2)。還流装置による細胞接着実験では、肥満マウス由来 LSEC において単球の接着が著明に増加しており、接着因子 VCAM-1 のリガンド VLA-4 に対する中和抗体の前処置により接着が抑制された。同様に、ob/ob マウスにおいて VLA-4 中和抗体を投与すると類洞壁に接着する細胞が有意に減少した。肝細胞とマクロファージ細胞株 RAW264.7 細胞の接触共培養では、糖新生関連遺伝子 (Pck1, G6pc) の発現誘導と糖産生の増加が認められ、Notch 阻害剤により Pck1, G6pc の発現誘導は抑制された。さらに、

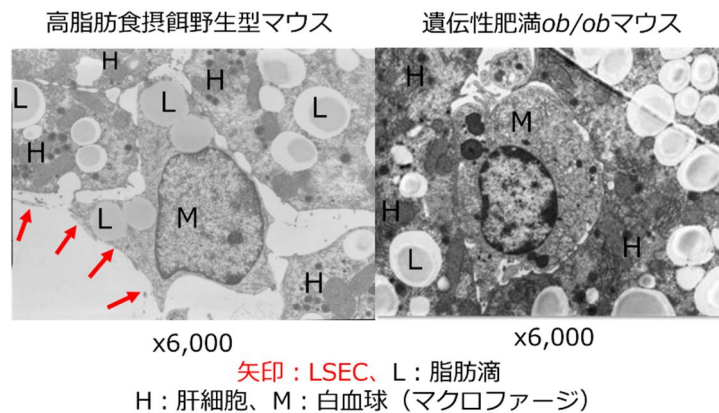


図 1 肥満マウス肝臓の電子顕微鏡写真

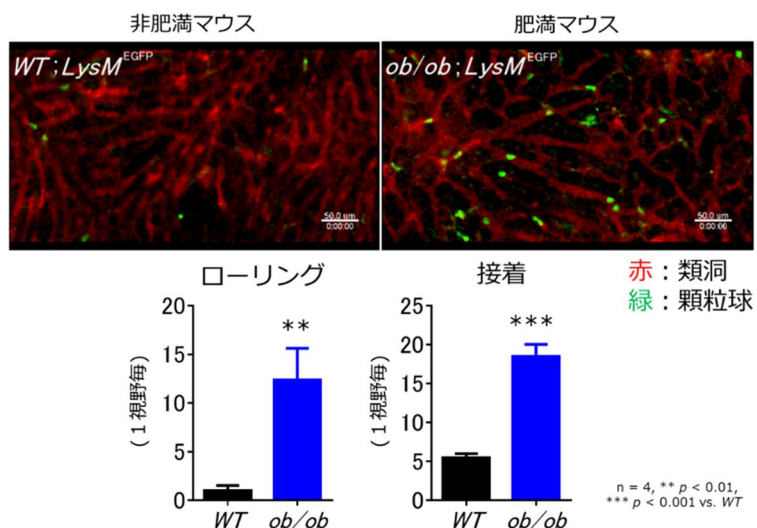
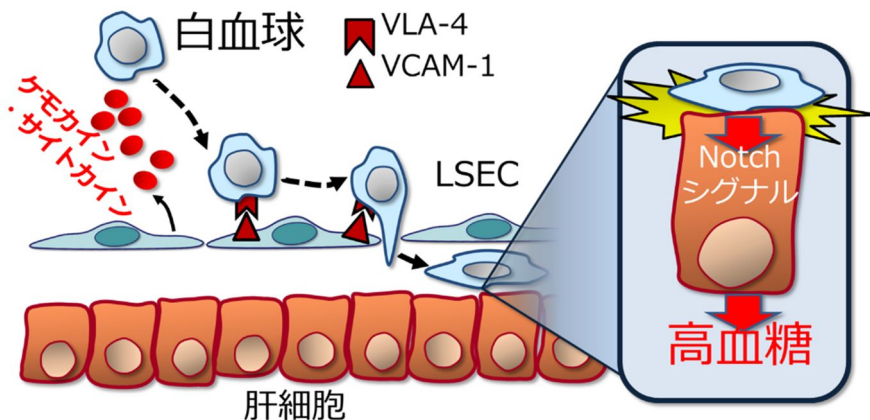


図 2 肥満マウス肝臓における類洞と顆粒球の生体イメージング 非肥満 (左上: WT; LysM^{EGFP} マウス) および肥満 (右上: ob/ob; LysM^{EGFP} マウス) の類洞 (赤) と顆粒球 (緑)。ローリング (左下) および接着 (右下) する細胞数。

高脂肪食負荷マウスへの抗VLA-4抗体投与により、肝臓へのGr-1およびCCR-2陽性細胞の浸潤が抑制され、MCP-1、CCR-2、TNF-の遺伝子発現の減少とインスリン抵抗性の改善が認められた。



4. 研究成果

肥満では、LSECにおいてMCP-1の発現が亢進しており、肝臓への骨髄系細胞の誘導に促進的役割を果たすことが示唆された。また、骨髄系細胞はLSECとの細胞接着亢進を介して肝実質に浸潤し、肝細胞との細胞接触を介して代謝異常を惹起する機構が推察された(図3)。

図3 本研究のまとめ 肥満により、LSECからケモカイン・サイトカインの分泌が増加し、類洞中の白血球が誘導される。類洞壁の外に白血球が遊走し、肝実質細胞との接触によりNotchシグナルが活性化され、糖産生の増加により血糖値の上昇が誘導される。

肥満では、LSECにおいてMCP-1の発現が亢進しており、肝臓への骨髄系細胞の誘導に促進的役割を果たすことが示唆された。また、骨髄系細胞はLSECとの細胞接着亢進を介して肝実質に浸潤し、肝細胞との細胞接触を介して代謝異常を惹起する機構が推察された(図3)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyachi Yasutaka, Tsuchiya Kyoichiro, Komiya Chikara, Shiba Kumiko, Shimazu Noriko, Yamaguchi Shinobu, Deushi Michiyo, Osaka Mizuko, Inoue Kouji, Sato Yuta, Matsumoto Sayaka, Kikuta Junichi, Wake Kenjiro, Yoshida Masayuki, Ishii Masaru, Ogawa Yoshihiro	4. 巻 18
2. 論文標題 Roles for Cell-Cell Adhesion and Contact in Obesity-Induced Hepatic Myeloid Cell Accumulation and Glucose Intolerance	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 2766 ~ 2779
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2017.02.039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----