

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 18 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22790631

研究課題名（和文） 非アルコール性脂肪性肝炎における細胞特異的な STAT3 の役割

研究課題名（英文） Cell-type-specific role of STAT3 in non-alcoholic steat hepatitis

研究代表者

堀口 昇男（HORIGUCHI NORIO）

群馬大学・医学部・助教

研究者番号：10550022

研究成果の概要（和文）：

非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）における細胞特異的な STAT3 の役割を肝細胞およびマクロファージ/好中球特異的な STAT3 ノックアウトマウスに、マウス非アルコール性脂肪性肝炎モデルであるメチオニンコリン欠乏食を投与し検討を行った。肝細胞における STAT3 は、SREBP1c の発現亢進を介し脂質合成を抑制していることが明らかになった。マクロファージ/好中球における STAT3 は炎症浸潤を促進する一方で、肝細胞の STAT3 の役割を活性化することにより脂質沈着を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The cell type specific role of STAT3 was examined by using hepatocyte-specific STAT3 knockout mice and macrophage/neutrophil specific STAT3 knockout mice. Both knockout mice and control wild type mice were fed with methionine-choline deficient diet, which is a murine NASH model. We have shown activation of STAT3 in hepatocyte prevents steatosis by inhibiting SREBP1c activation. On the other hand, we have revealed activation of STAT3 in macrophage/neutrophil accelerates inflammation in the liver, while it prevents steatosis by STAT3 activation in hepatocytes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：肝臓病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：非アルコール性脂肪性肝炎、STAT3、メチオニンコリン欠乏食、細胞特異

## 1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪肝（NAFLD）は、日本や米国などの先進国における肝障害の原因として最も頻度の高いものであ

り、その中でも、脂肪肝に慢性炎症を伴い、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。この慢性肝炎から肝硬変に

至る過程にはインシュリン抵抗性や、酸化ストレス、サイトカインの関与が示唆されているが、Janus Kinase (JAK)-Signal transducer and activator of transcription (STAT) 経路の関与については明らかではない。

## 2. 研究の目的

NASHの病態におけるIL-6-STAT3経路の関与やそのメカニズムを組織特異的STAT3ノックアウトにマウスNASHモデルであるメチオニンコリン欠乏食(MCD食)を投与し非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)におけるSTAT3の役割を解明する。

## 3. 研究の方法

“非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)におけるSTAT3の役割”を昨年度から継続して、(1)細胞特異的STAT3ノックアウトマウスを用いた実験系と(2)臨床検体を用いた実験系により、基礎および臨床の両面からNASHの病態を検討する。

## 4. 研究成果

1. 細胞特異的STAT3ノックアウトマウスを用いた検討  
肝細胞特異的STAT3ノックアウトマウスおよび、マクロファージ/好中球特異的STAT3ノックアウトマウスに、NASHの実験モデルであるメチオニンコリン欠乏食(MCD食)を投与して(A)炎症(B)脂質沈着(C)ROS産生の観点から組織特異的なSTAT3の役割を解析した。

第一に、MCD食の負荷により肝細胞特異的STAT3ノックアウトマウスではMCD食開始後3日-2週間では、野生型マウスに比較して、肝臓における有意な脂質沈着と血清中の中性脂肪の上昇を認めたが4週間および8週間の投与では有意な差を認めなかった。このMCD食開始早期の、脂質沈着にはSREBP1cの発現亢進および活性化が関与していることが示唆された。一方で、炎症性サイトカインや炎症細胞浸潤には差を認めず、肝細胞におけるSTAT3は脂質合成を抑制している可能性が示唆された。

第二にマクロファージ/好中球特異的STAT3ノックアウトマウスにおいては、MCD食開始後3日目より、野生型マウスに比較して著大な炎症細胞浸潤をみとめる一方で、肝臓における脂質沈着は軽度であった。この現象は4週間、8週間投与の時点でも確認された。このメカニズムとして、炎症細胞はIL-6をはじめとするサイトカイン産生を介して、肝細胞におけるSTAT3を活性化することにより、

抗脂質沈着に作用することが示唆された。

## 2. 臨床検体を用いた検討

免疫染色による検討において、NASHゲットと患者の肝生検サンプルでは、脂肪肝患者と比較して、肝細胞および炎症細胞におけるSTAT3の活性化が亢進していることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計17件)

1. Kong X, Horiguchi N, (他2名2番目). Cytokines and STATs in Liver Fibrosis. *Front Physiol.* 2012; 3:69 査読有
2. Tojima H, Kakizaki S, Yamazaki Y, Takizawa D, Horiguchi N, (他2名5番目). Ligand dependent hepatic gene expression profiles of nuclear receptors CAR and PXR. *Toxicol Lett.* 2012; 212:288-97 査読有
3. Sato K, Hashizume H, Yamazaki Y, Horiguchi N, Kakizaki S, (他1名4番目). Response-guided peginterferon-alpha-2b plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients with genotype 2 and high viral loads. *Hepatol Res.* 2012;42:854-63 査読有
4. Tojima H, Kakizaki S, Kosone T, Horiguchi N, (他4名4番目). Hepatocyte growth factor overexpression ameliorates liver inflammation and fibrosis in a mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Int.* (in press) 査読有
5. Namikawa M, Kakizaki S, Yata Y, Yamazaki Y, Horiguchi N, (他3名5番目). Optimal follow-up time to determine the sustained virological

- response in patients with chronic hepatitis C receiving pegylated-interferon and ribavirin. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27: 69-75 査読有
6. Ohyama T, Sato K, Kishimoto K, Yamazaki Y, Horiguchi N, (他 5 名 5 番目). Azelnidipine is a calcium blocker that attenuates liver fibrosis and may increase antioxidant defence. *Br J Pharmacol.* 2012;165:1173-87 査読有
  7. Namikawa M, Kakizaki S, Yata Y, Yamazaki Y, Horiguchi N, (他 3 名 5 番目). Optimal follow-up time to determine the sustained virological response in patients with chronic hepatitis C receiving Peg-IFN and ribavirin. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27:69-75 査読有
  8. Miller AM, Horiguchi N, (他 3 名 2 番目). Molecular mechanisms of alcoholic liver disease: innate immunity and cytokines. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011;35:787-93 査読有
  9. Miller AM, Wang H, Bertola A, Park O, Horiguchi N, (他 4 名 5 番目). Inflammation-associated IL-6/STAT3 activation ameliorates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in IL-10 deficient mice. *Hepatology* 2011;54:846-56 査読有
  10. Takizawa D, Kakizaki S, Horiguchi N, (他 3 名 3 番目). Constitutive active/androstane receptor promotes hepatocarcinogenesis in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. *Carcinogenesis* 2011 ; 32:576-83 査読有
  11. Suzuki H, Kakizaki S, Horiguchi N, (他 4 名 3 番目). Clinical characteristics of null responders to Peg-IFN $\alpha$ 2b/ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *World J Hepatol.* 2011; 27;2:401-5 査読有
  12. Ohyama T, Yamazaki Y, Sato K, Horiguchi N, Ichikawa T, Kakizaki S, (他 4 名 1 番目). Transforming growth factor- $\alpha$  attenuates hepatic fibrosis: possible involvement of matrix metalloproteinase-1. *Liver Int.* 2011;31:572-84 査読有
  13. Horiguchi N, (他 9 名 1 番目). Dissociation between liver inflammation and hepatocellular damage induced by carbon tetrachloride in myeloid cell-specific signal transducer and activator of transcription 3 gene knockout mice. *Hepatology.* 2010, 51:1724-34 査読有
  14. Takizawa D, Kakizaki S, Horiguchi N, (他 5 名 3 番目). Histone deacetylase inhibitors induce cytochrome P450 2B by activating nuclear receptor constitutive androstane receptor. *Drug Metab Dispos.* 2010;38:1493-8 査読有
  15. Miller AM, Wang H, Park O, Horiguchi N, (他 7 名 4 番目). Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Roles of Endothelial Cell STAT3 in Alcoholic Liver Injury. *Alcohol Clin Exp Res.* 2010;34:719-25 査読有
  16. Wang H, Park O, Lafdil F, Shen K, Horiguchi N, (他 4 名 5 番目). Interplay of hepatic and myeloid signal transducer and activator of

transcription 3 in facilitating liver  
regeneration via tempering innate  
immunity. *Hepatology*. 2010;51:1354-62  
査読有

(2)研究分担者  
なし

(3)連携研究者  
なし

〔学会発表〕(計2件)

1. 堀口 他。マウスアルコール性脂肪性肝  
炎における細胞特異的な STAT3 の役割  
第 32 回 アルコール医学生物研究会学  
術集会 2013 年 1 月 18 日—1 月 19 日  
東京 都市センター
2. Horiguchi et al. Macrophage Migration  
Inhibitory factor (MIF) attenuates  
liver inflammation, steatosis, and  
fibrosis in murine non-alcoholic  
liver disease model. 第 51 回米国消化  
器病学会週間 2012 年 5 月 19 日—5 月  
22 日 San Diego, U. S. A.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

堀口 昇男 (HORIGUCHI NORIO)  
群馬大学・医学部・助教  
研究者番号：10550022