

## 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24年 3月31日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590859

研究課題名（和文） 自然免疫機構による肝臓の代謝機能モデュレーションと脂肪性肝炎の病態形成機序

研究課題名（英文） Role of innate immune system in the regulation of hepatic metabolism and pathogenesis of steatohepatitis

研究代表者

池嶋 健一（IKEJIMA KENICHI）

順天堂大学・医学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：20317382

## 研究成果の概要（和文）：

非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の病態進展には肝の自然免疫系が深く関与していることが注目されている。本研究で私たちは、メタボリックシンドロームモデル動物である KK-A<sup>y</sup> マウスで肝 NKT 細胞の減少と機能低下が認められることを見出した。また、NKT 細胞の成熟分化に必須である CD1d 分子の欠損により肝 NKT 細胞が完全に枯渇している CD1d ノックアウト（KO）マウスでは、チオアセタミド投与で生じる肝線維化が著明に抑制されることを明らかにした。さらに、NK1.1 抗体による NK 細胞および NKT 細胞枯渇条件下では 70% 部分肝切除後の肝再生機転が抑制されることが判明した。以上の結果より、脂肪性肝炎の発症および肝組織損傷修復・線維化進展の過程では、NKT 細胞を主軸とした自然免疫系細胞が肝内サイトカイン発現調節などを介して極めて重要な役割を演じているものと考えられた。

## 研究成果の概要（英文）：

Recent lines of evidence support the hypothesis that innate immune system plays a pivotal role in pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. In this study, we found that KK-A<sup>y</sup> mice, which present metabolic syndrome-like phenotypes, show progressive depletion of hepatic natural killer T (NKT) cells in combination with functional abnormalities. On the other hand, CD1d-knockout (KO) mice, in which NKT cells are systemically defective, develop minimal hepatic fibrosis caused by thioacetamide. Further, deprivation of NK and NKT cells using an NK1.1 antibody resulted in impaired regenerative response following partial hepatectomy. Collectively, these findings indicate that hepatic NKT cells are required for tissue-repair and fibrogenic responses in the liver.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

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肝炎（NASH）、自然免疫、メタボリックシンドローム、NKT 細胞、肝線維化、肝再生

## 1. 研究開始当初の背景

本邦においても近年メタボリックシンドロームの概念が急速に普及し、それに伴う肝病態としての非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD)、殊に進行性の肝疾患である非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis: NASH) の重要性が広く認識されるようになってきている。私たちはこれまでメタボリックシンドロームのモデル動物である KK-A<sup>y</sup> マウスを用いて非アルコール性の脂肪性肝炎の病態解析を行ってきた。その過程で、同マウスではアルコール負荷およびメチオニン・コリン欠乏(MCD)食負荷による脂肪性肝炎の進展がより顕著であることおよび、その背景に低アディポネクチン血症を主体としたアディポカインの発現バランスの異常が認められることを報告してきた。

## 2. 研究の目的

本研究ではメタボリックシンドロームに伴う脂肪性肝障害の増悪メカニズムをより明らかにする目的で、KK-A<sup>y</sup> マウスの肝内リンパ球分画の量的および機能的発現に関する検討を行った。本研究の過程で、KK-A<sup>y</sup> マウスにおいて脂肪性肝炎の進展に伴い肝 NKT 細胞分画が減少し、サイトカイン産生能も低下していることが判明したが、肝の炎症・線維化のプロセスにおける NKT 細胞の機能的役割については不明の点も多い。そこで次年度には、NKT 細胞の成熟分化に必須である CD1d 分子のノックアウト (KO) マウスを用いて、チオアセトアミド (TAA) 肝障害における NKT 細胞の役割について検討を行った。さらに、最終年度は NKT 細胞の肝再生における役割を検討する目的で、NK1.1 抗体による NK 細胞および NKT 細胞枯渇条件下で 70% 部分肝切除した際の肝再生機転の異常およびそのメカニズムについて解析を行った。

## 3. 研究の方法

### 平成 21 年度

生後 7 週齢の雄性 KK-A<sup>y</sup> および C57Bl/6 マウス (日本クレアから購入) を 1 週間順化後、実験に供した。各系統のマウスをそれぞれ 2 群に分け、高脂肪食 (HFD32; 日本クレア社製) ないしコントロール食を 4 週間自由摂取させた。また、食餌負荷の前ないし後の各マウスに  $\alpha$ -galactosylceramide (GalCer, 100  $\mu$ g/kg BW) を腹腔内投与し、経時的に血清および肝組織を採取した。肝組織像は H-E 染色標本で検討し、肝組織中の顆粒球およびマクロファージの局在はエステラーゼ染色キット (Sigma Diagnostics 社製) を用いて評価した。肝組織内リンパ球は 30%

Percoll 液を用いた比重遠心法で単離した。単離したリンパ球に抗 CD3 $\epsilon$ モノクローナル抗体(145-2C111)と抗 NK1.1 抗体 (PK136) モノクローナル抗体 (PharMingen 社製) を加え、FACS Calibur (Becton Dickinson 社製) にて NKT 細胞分画 (抗 CD3 $\epsilon$ 抗体、抗 NK1.1 抗体二重陽性分画) を測定した。また、肝組織中の NKT 細胞由来サイトカイン mRNA 発現をリアルタイム PCR 法で検討した。

### 平成 22 年度

生後 7 週齢の雄性 CD1d-KO (順天堂大学医学部免疫学教室より供与) 及び WT マウス (C57Bl/6; 日本クレア社) に TAA (初期 1 週間は 0.1mg/g BW、2 週以降は 0.2mg/g BW, 和光純薬工業) を単回もしくは 9 週間に渡り週 3 回腹腔内投与した。また、両系統のマウスに高脂肪食 (HFD32) ないしコントロール食を 4 週間自由摂取させた。肝組織像は HE 染色、エステラーゼ染色および Sirius Red 染色を行い評価した。また、肝組織中の  $\alpha$ SMA 発現を免疫染色および Western blot 法で解析し、各種サイトカイン、マトリックス関連分子および脂質代謝関連分子の mRNA 発現をリアルタイム PCR 法で検討した。

### 平成 23 年度

生後 12 週齢の雄性 WT (C57Bl/6; 日本クレアから購入) および CD1d-KO マウス (順天堂大学医学部免疫学教室より供与) に 70% 肝部分切除を行い、経時的に血清および肝組織を採取した。一部のマウスには NK1.1 抗体 (150  $\mu$ g/body, i.p.) ないし asialoGM1 抗体 (200  $\mu$ g/body, i.p.) を肝部分切除 24 時間前に投与し、NK・NKT 細胞の双方ないし NK 細胞のみを枯渇させた。なお、一部のマウスでは検体採取の 2 時間前に BrdU (50 mg/kg BW) を腹腔内投与することにより標識した。肝細胞核への BrdU 摂取と PCNA 発現は免疫染色で解析した。肝組織中の CyclinD1 発現は Western blot 法で検出した。肝組織ホモジネート中の HGF 発現量は ELISA 法キット (特殊免疫研究所) を用いて測定した。また、肝組織中の各種サイトカインおよび増殖因子 mRNA 発現をリアルタイム PCR 法で定量的に解析した。

## 4. 研究成果

### 平成 21 年度

メタボリックシンドロームモデル KK-A<sup>y</sup> マウスにおける肝内 NKT 細胞分画の異常に関する解析

8 週齢の KK-A<sup>y</sup> マウスは肝内 NKT 細胞分画が C57Bl/6 マウスの約 1/3 に低下しており、 $\alpha$ -galactosylceramide (GalCer, 100  $\mu$ g/kg) を腹腔内投与した際の IL-4・IFN $\gamma$  mRNA 誘

導も著明に抑制された。KK-Ay に高脂肪食を 4 週間摂食させた際には顕著な脂肪性肝炎を呈すると共に、NKT 細胞は 8.3%に低下し、GalCer による IL-4 と IFN $\gamma$ の誘導も一層減弱した。KK-Ay にピオグリタゾン (25mg/kg) を経胃管的に 5 日間投与すると NKT 細胞分画は有意に上昇し、GalCer による IL-4・IFN- $\gamma$  mRNA 誘導も有意に増加した。高脂肪食負荷後の KK-Ay にピオグリタゾンを投与すると脂肪性肝炎は著明に改善し、肝 NKT 細胞の低下も有意に改善した。以上の検討より、肝内 NKT 細胞の減少と機能変化が脂肪性肝炎の進展に寄与しており、ピオグリタゾンは肝内自然免疫系の機能調節を介して脂肪性肝炎の病態改善効果を発揮する可能性が示唆された。

#### 平成 22 年度

##### 肝 NKT 細胞が脂肪性肝炎発症感受性および肝線維化進展に及ぼす影響に関する検討

肝 NKT 細胞が脂肪性肝炎の発症および線維化進展に及ぼす影響をより詳細に明らかにする目的で、NKT 細胞が全身性に枯渇している CD1d ノックアウト (KO) マウスを用いて、高脂肪食負荷時の脂肪性肝炎発症感受性およびチオアセタミド (TAA) 誘発肝線維化について検証した。CD1d-KO マウスは 4 週間の高脂肪食負荷で WT マウスと比較し脂肪肝および炎症性細胞浸潤がより高度に生じ、肝組織中での $\beta$ 酸化関連酵素の誘導亢進および ApoB 産生低下が認められた。一方、CD1d-KO では TAA 誘発肝障害および肝線維化が著明に減弱しており、NKT 細胞は肝線維化に対して促進的に作用していると考えられた。これらの背景には NKT 細胞が産生する Th2 サイトカインが関与している可能性が示唆された。

#### 平成 23 年度

肝再生機転における肝内自然免疫系細胞の機能的役割を詳細に解析することを目的とし、NK 細胞および NKT 細胞の選択的枯渇条件下における部分肝切除後肝再生の異常とそのメカニズムについて検討した。NK1.1 抗体の前投与により NK・NKT 細胞の双方を枯渇させた WT マウスでは、肝切除 48 時間後の BrdU 摂取率および PCNA 発現が著明に低下し、CyclinD1 発現誘導も抑制された。肝切除 1 時間後をピークとする TNF  $\alpha$  および IL-6 mRNA の発現誘導が NK1.1 抗体前投与で有意に抑制された。さらに、NK1.1 抗体投与マウスでは肝切除後の HGF 発現も有意に低値を示した。一方、WT マウスへの asialoGM1 抗体投与による NK 細胞枯渇条件下ないし、NKT 細胞のみ枯渇を認める CD1d-KO では部分肝切除後の肝再生機転に異常を認めなかったが、CD1d-KO に

asialoGM1 抗体を投与して NKT 細胞と NK 細胞の双方を欠失させた際には、部分肝切除後の BrdU 摂取および PCNA 発現の有意な抑制が認められた。NK・NKT 細胞の一方のみの欠損では再生機転は保たれるが、両者が同時に欠失すると肝再生が障害されることから、NKT 細胞と NK 細胞が肝再生時のサイトカインおよび増殖因子調節系において協調的に作用して、正常な肝再生機転の維持に寄与していると考えられた。以上の検討より、肝内自然免疫系による肝臓の組織損傷修復機転の制御機構は脂肪性肝炎の病態形成にも極めて重要な役割を演じている可能性が示唆された。

#### 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 24 件)

1. Aoyama T, Ikejima K, Kon K, Okumura K, Arai K, Watanabe S. Pioglitazone promotes survival and prevents hepatic regeneration failure after partial hepatectomy in obese and diabetic KK-Ay mice. *Hepatology* 49(5):1636-44, 2009. 査読有
2. Smedsrød B, Le Couteur D, Ikejima K, Jaeschke H, Kawada N, Naito M, Knolle P, Nagy L, Senoo H, Vidal-Vanaclocha F, Yamaguchi N. Hepatic sinusoidal cells in health and disease: update from the 14th International Symposium. *Liver Int.* 29(4):490-501, 2009. 査読無
3. Takashima M, Parsons CJ, Ikejima K, Watanabe S, White ES, Rippe RA. The tumor suppressor protein PTEN inhibits rat hepatic stellate cell activation. *J. Gastroenterol.* 44(8):847-55, 2009. 査読有
4. Piao N, Ikejima K, Kon K, Aoyama T, Osada T, Takei Y, Sato N, Watanabe S. Synthetic triglyceride containing an arachidonic acid branch (8A8) prevents lipopolysaccharide-induced liver injury. *Life Sci* 85(17-18):617-24, 2009. 査読有
5. Yamashina S, Sato N, Kon K, Ikejima K, Watanabe S. Role of mitochondria in liver pathophysiology. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 6(1-4), e25-230, 2009. 査読有
6. 柳沼礼子, 池嶋健一, 渡辺純夫. 特集 肝疾患を生活習慣から考える II. 非アルコール性脂肪性肝障害の最近の動向

- 2) NASH ①病因、病態の新しい展開。  
成人病と生活習慣病 39(4) : 2009.
7. 池嶋健一, 渡辺純夫. 特集 NASH NASHの治療 2 薬物療法. 治療学 43(10) : 69-74, 2009. 査読無
  8. 高島基樹, 池嶋健一, 今一義, 山科俊平, 鈴木聡子, 渡辺純夫. 特集 肝病態生理研究のあゆみ 16. 肝星細胞活性化に対するPTENの抑制効果. 薬理と治療 (JPT) 37 suppl : S99-S101, 2009. 査読無
  9. 今一義, 池嶋健一, 青山友則, 山形寿文, 渡辺純夫. 特集 肝病態生理研究のあゆみ 17. 肝細胞内脂肪の蓄積と肝細胞における肝細胞内貯蔵鉄の役割. 薬理と治療 (JPT) 37 suppl : S103-S105, 2009. 査読無
  10. 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. A Special Edition 4 NAFLD/NASHの発症機序. BIO Clinica 24(13) : 30-34, 2009. 査読無
  11. Mizui T, Yamashina S, Tanida I, Takei Y, Ueno T, Sakamoto N, Ikejima K, Kitamura T, Enomoto N, Sakai T, Kominami E, Watanabe S. Inhibition of hepatitis C virus replication by chloroquine targeting virus-associated autophagy. *J Gastroenterol* 45(2): 195-203, 2010. PMID: 19760134 査読有
  12. Kon K, Ikejima K, Okumura K, Arai K, Aoyama T, Watanabe S. Diabetic KK-A<sup>y</sup> mice are highly susceptible to oxidative hepatocellular damage induced by acetaminophen. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 299: G329-337, 2010. PMID: 20539006 査読有
  13. 池嶋健一. 特集「NASHの診断と治療」NAFLD・NASHの治療アプローチ—理論的背景とエビデンス—. 診療と新薬 47(2) : 37-45, 2010. 査読無
  14. 池嶋健一, 福原京子, 渡辺純夫. 臨時増刊 NASH/NAFLDのすべて 成因から栄養療法まで NASH/NAFLDと関連疾患 Topics 線維化の成立機構と診断法. 臨床栄養 116(6) : 665-670, 2010. 査読無
  15. 池嶋健一. III. 消化器疾患 7. 肝硬変・肝不全. テーラーメイド治療のための治療薬の選択と使用法ガイドライン 実地医家に必須の 56 疾患 Medical Practice臨時増刊号vol. 27, 136-142, 2010. 査読無
  16. 池嶋健一, 宮地隆史, 渡辺純夫. 特集 NASH II. 基礎的メカニズムの解明 1. NASHモデル *The Lipid* 21(3): 38-45, 2010. 査読無
  17. 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. 特集 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) —病態の解明と診断・治療法の確立 NASH/NAFLDの治療法 インスリン抵抗性改善薬. *Current Therapy* 28 (12) : 37-42, 2010. 査読無
  18. 池嶋健一. 特集 肝胆膵薬物治療学の進歩—この 30 年— 肝臓分野 : VII. NASH・AIH・PBC ベザフィブラート. 肝胆膵 61 (6) : 1107-1111, 2010. 査読無
  19. Ishikawa S, Ikejima K, Yamagata H, Aoyama T, Kon K, Arai K, Takeda K, Watanabe S. CD1d-restricted natural killer T cells contribute to hepatic inflammation and fibrogenesis in mice. *J Hepatol* 54(6): 1195-204, 2011. PMID: 21145835 査読有
  20. Wang X, Ikejima K, Kon K, Arai K, Aoyama T, Okumura K, Abe W, Sato N, Watanabe S. Ursolic acid ameliorates hepatic fibrosis in the rat by specific induction of apoptosis in hepatic stellate cells. *J Hepatol* 55(2): 379-87, 2011. PMID: 21168456. 査読有
  21. Inami Y, Yamashina S, Izumi K, Ueno T, Tanida I, Ikejima K, Watanabe S. Hepatic steatosis inhibits autophagic proteolysis via impairment of autophagosomal acidification and cathepsin expression. *Biochem Biophys Res Commun* 412: 618-625, 2011. PMID: 21856284 査読有
  22. Igusa Y, Yamashina S, Izumi K, Inami Y, Fukada H, Komatsu M, Tanaka K, Ikejima K, Watanabe S. Loss of autophagy promotes murine acetaminophen hepatotoxicity. *J Gastroenterol* 2011 Nov 29. [Epub ahead of print]. (in press) PMID: 22124574 査読有
  23. 池嶋健一, 山形寿文, 石川幸子, 細谷聡子, 今一義, 渡辺純夫. 特集 II NASH/NAFLD 発症のメカニズム 肝NKT細胞による脂肪性肝炎発症制御メカニズム. 消化器内科 52(5) : 543-547, 2011. 査読無
  24. 池嶋健一, 渡辺純夫. 特集 全身疾患としての非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) NAFLD/NASHの病態. 診断と治療 99(9) : 1498-1506, 2011. 査読無
- [学会発表] (計 64 件)
1. Yaginuma R, Ikejima K, Aoyama T, Yamagata H, Ishikawa S, Kon

- K, Yamashina S, Suzuki S, Watanabe S. Hepatic steatosis and serum adipokine expression profiles predict poor early viral response to pegylated-interferon and ribavirin therapy in Japanese patients with chronic hepatitis C. Poster Session, The 44<sup>th</sup> annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 22-26, 2009, Copenhagen, Denmark.
2. Ikejima K, Yamagata H, Takeda K, Aoyama T, Kon K, Yamashina S, Suzuki S, Watanabe S. Obese diabetic KK-A<sup>y</sup> mice are resistant to NKT cell-mediated liver injury induced by  $\alpha$ -galactosylceramide. Poster Session, The 44<sup>th</sup> annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 22-26, 2009, Copenhagen, Denmark.
  3. Yamagata H, Ikejima K, Takeda K, Aoyama T, Kon K, Yamashina S, Watanabe S. Pioglitazone restores expression and function of hepatic NKT cells in obese and diabetic KK-A<sup>y</sup> mice. Poster Session, The 44<sup>th</sup> annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 22-26, 2009, Copenhagen, Denmark.
  4. Ikejima K, Kon K, Yamagata H, Aoyama T, Yamashina S, Suzuki S, Watanabe S. Increased susceptibility to ethanol-induced liver injury in genetically diabetic KK-A<sup>y</sup> mice. AASLD Poster Session, Digestive Disease Week (DDW), June 2, 2009, Chicago, USA.
  5. Ikejima K, Yamagata H, Takeda K, Kon K, Aoyama T, Yamashina S, Watanabe S. Pioglitazone improves abnormal expression of hepatic NKT cells in obese and diabetic KK-A<sup>y</sup> mice. Poster session, EASL Special Conference on NAFLD/NASH and related metabolic disease, September 24-26, 2009, Bologna, Italy.
  6. Ikejima K. Adipokine regulation of innate immunity and tissue repair in steatohepatitis. The 4<sup>th</sup> international symposium on alcoholic liver and pancreatic disease and cirrhosis, October 8-9, 2009, Hurghada, Egypt.
  7. Yaginuma R, Ikejima K, Kon K, Okumura K, Yamashina S, Suzuki S, Watanabe S. Efficacy of low-dose pioglitazone for the treatment of NAFLD patients in Japan. Poster Session, The Liver Meeting 2009 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 1, 2008, Boston, USA.
  8. Ishikawa S, Ikejima K, Yamagata H, Aoyama T, Kon K, Takeda K, Watanabe S. Thioacetamide-induced hepatic fibrogenesis is ameliorated in mice genetically disruptive of CD1d. Poster Session, The Liver Meeting 2009 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 1, 2009, Boston, USA.
  9. Inami Y, Yamashina S, Izumi K, Fukada H, Kon K, Ikejima K, Watanabe S. Lipid accumulation inhibits induction of autophagy in the mouse liver. Poster Session, The Liver Meeting 2009 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 3, 2009, Boston, USA.
  10. Kon K, Ikejima K, Aoyama T, Ishikawa S, Hosoya S, Arai K, Yamashina S, Watanabe S. Ezetimibe prevents metabolic syndrome-related steatohepatitis exacerbated by trans-fatty acid in KK-A<sup>y</sup> mice. Poster Session, The Liver Meeting 2009 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 3, 2009, Boston, USA.
  11. Yamagata H, Ikejima K, Takeda K, Kon K, Aoyama T, Yamashina S, Watanabe S. Pioglitazone prevents apoptosis of hepatic NKT cells in obese and diabetic KK-A<sup>y</sup> mice. Poster Session, The Liver Meeting 2009 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 3, 2009, Boston, USA.
  12. 柳沼礼子, 池嶋健一, 渡辺純夫. C型慢性肝炎のインターフェロン治療効果規定因子としての肝脂肪化およびアディポカイン発現. パネルディスカッション6: C型肝炎治療の最前線. 第95回日本消化器病学会総会, 2009年5月8日, 札幌.
  13. 池嶋健一, 山形寿文, 渡辺純夫. NAFLDの病態進展における肝内自然免疫機構の

- 関与：メタボリックシンドロームモデル動物を用いた検討。ワークショップ 12：NAFLDの経時的進展。第 95 回日本消化器病学会総会，2009 年 5 月 9 日，札幌。
14. 今一義，池嶋健一，青山友則，山形寿文，柳沼礼子，石川幸子，高島基樹，山科俊平，鈴木聡子，渡辺純夫。HBs抗原陰性・HCV抗体陰性の肝細胞癌における臨床的特徴と腫瘍マーカー測定的重要性。一般演題（口演），第 95 回日本消化器病学会総会，2009 年 5 月 9 日，札幌。
  15. 今一義，池嶋健一，青山友則，山形寿文，内山明，高島基樹，石川幸子，柳沼礼子，山科俊平，鈴木聡子，渡辺純夫。脂肪性肝炎形成における肝細胞内貯蔵鉄の役割－マウス初代培養肝細胞を用いた検討－。ワークショップ 1，NASH・NAFLDの基礎。第 45 回日本肝臓学会総会，2009 年 6 月 4 日，神戸。
  16. 山形寿文，池嶋健一，青山友則，今一義，山科俊平，渡辺純夫。メタボリックシンドロームモデルKK-A<sup>y</sup>マウスにおける肝内NKT細胞分画異常に対するピオグリタゾンの影響。一般演題（口演），第 45 回日本肝臓学会総会，2009 年 6 月 5 日，神戸。
  17. 柳沼礼子，池嶋健一，福原京子，青山友則，今一義，山科俊平，鈴木聡子，渡辺純夫。NAFLD患者の低用量ピオグリタゾン療法におけるMRI肝脂肪測定の有用性。一般演題（ポスター），第 45 回日本肝臓学会総会，2009 年 6 月 5 日，神戸。
  18. 池嶋健一，山形寿文，石川幸子，今一義，渡辺純夫。脂肪性肝炎の病態進展における肝内自然免疫機構の関与－メタボリックシンドロームモデルKK-A<sup>y</sup>マウスを用いた検討。口演，第 46 回日本消化器免疫学会総会，2009 年 7 月 23 日，松山。
  19. 池嶋健一，山形寿文，渡辺純夫。肝内自然免疫系による非アルコール性脂肪性肝炎発症感受性の調節。パネルディスカッション 11：自然免疫と消化器疾患，第 13 回日本肝臓学会大会（JDDW 2009），2009 年 10 月 15 日
  20. 今一義，池嶋健一，渡辺純夫。NAFLD 関連肝細胞癌の治療にかかわる因子の解明－腫瘍マーカー測定的重要性－ワークショップ 1：NASHは声明予後に影響するか？，第 13 回日本肝臓学会大会（JDDW 2009），2009 年 10 月 14 日
  21. 山形寿文，池嶋健一，渡辺純夫。メタボリックシンドロームモデルKK-A<sup>y</sup>マウスにおける肝内NKT細胞分画異常のメカニズム解析。ワークショップ 3：免疫担
  - 当細胞異常からみた肝疾患の病態。第 13 回日本肝臓学会大会（JDDW 2009），2009 年 10 月 14 日
  22. 柳沼礼子，池嶋健一，青山友則，山形寿文，石川幸子，今一義，山科俊平，鈴木聡子，渡辺純夫。C型慢性肝炎のペグインターフェロンα-2b・リバビリン併用療法のガイドライン準拠率と治療奏効性の関連。ポスターセッション，第 13 回日本肝臓学会大会（JDDW 2009），2009 年 10 月 14 日
  23. 山科俊平，高島基樹，青山友則，柳沼礼子，今一義，鈴木聡子，池嶋健一，佐藤信紘，渡辺純夫。C型肝炎ウイルス複製におけるニコチンの作用。ポスターセッション，第 13 回日本肝臓学会大会（JDDW 2009），2009 年 10 月 14 日
  24. Ikejima K，Yamagata H，Ishikawa S，Arai K，Aoyama T，Kon K，Takeda K，Watanabe S. CD1d-restricted natural killer T cells modulate susceptibility to dietary-induced steatohepatitis in mice. Poster Session, The 45<sup>th</sup> annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 16, 2010, Vienna, Austria.
  25. Saito H，Kon K，Ishikawa S，Hosoya S，Arai K，Takashima M，Yamashina S，Ikejima K，Watanabe S. High-carbohydrate diet containing trans-fatty acid induces severe steatohepatitis via the enhancement of endoplasmic reticulum stress in KK-A<sup>y</sup> mice. Poster Session, The 45<sup>th</sup> annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 16, 2010, Vienna, Austria.
  26. Hosoya S，Ikejima K，Aoyama T，Ishikawa S，Yamagata H，Kon K，Takeda K，Watanabe S. Contribution of NK and NKT cells in hepatic regeneration after partial hepatectomy in mice. Poster Session, The 45<sup>th</sup> annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 17, 2010, Vienna, Austria.
  27. Ishikawa S，Ikejima K，Yamagata H，Aoyama T，Kon K，Arai K，Takeda K，Watanabe S. CD1d-restricted natural killer T cells contribute to thioacetamide-induced hepatic inflammation and fibrogenesis in mice. Parallel Session 11: Chronic liver injury and fibrosis, The 45<sup>th</sup> annual

- meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 17, 2010, Vienna, Austria.
28. Ikejima K. Adipocytokines and NASH. Symposium 2: NASH-Current insights in pathogenesis and clinical aspects. Part 2. Pathogenesis of NASH. The Japanese Society of Gastroenterology (JSGE) 2<sup>nd</sup> International Forum 2. Emerging Issues in AIH & NASH. April 24, 2010, Niigata, Japan.
  29. Ikejima K, Piao N, Yamagata H, Kon K, Yamashina S, Watanabe S. Ursolic acid ameliorates dietary steatohepatitis in obese diabetic KK-A<sup>y</sup> mice. AASLD Poster Session, Digestive Disease Week (DDW), May 2, 2010, New Orleans, LA, USA.
  30. Igusa Y, Yamashina S, Izumi K, Fukada H, Mikirai A, Inami Y, Kon K, Ikejima K, Watanabe S. Loss of autophagy enhances acetaminophen-induced liver injury. AASLD Poster Session, Digestive Disease Week (DDW), May 2, 2010, New Orleans, LA, USA.
  31. Ikejima K. Contribution of hepatic steatosis and adipokines in resistance formation to the current anti-viral therapy for chronic hepatitis C. BIT's 1<sup>st</sup> World Congress of Virus and Infections (WCVI)-2010, August 3, 2010, Busan, South Korea.
  32. Ikejima K, Ishikawa S, Yamagata H, Aoyama T, Kon K, Arai K, Takeda K, Watanabe S. Contribution of CD1d-restricted natural killer T cells to xenobiotics-induced hepatic inflammation and fibrogenesis in mice. Session II. Steatohepatitis-II (Oral presentation), 15<sup>th</sup> International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid, August 29, 2010, Pasadena, CA, USA.
  33. Yamagata H, Ikejima K, Ishikawa S, Aoyama T, Kon K, Arai K, Takeda K, Watanabe S. Impaired hepatic innate responses involving NKT cells in obese diabetic KK-A<sup>y</sup> mice. Poster Session I Steatohepatitis-NASH, 15<sup>th</sup> International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid, August 29-30, 2010, Pasadena, CA, USA.
  34. Ikejima K, Piao N, Kon K, Aoyama T, Yamashina S, Takei Y, Sato N, Watanabe S. Synthetic triglyceride containing an arachidonic acid branch (8A8) minimizes endotoxin-induced liver injury. Poster Session, 2010 International Society for Biomedical Research on Alcoholism (ISBRA) World Congress, September 13-16, 2010, Paris, France.
  35. Yamashina S, Inami Y Ikejima K, Watanabe S. Hepatic steatosis suppresses autophagic proteolysis. Poster Session, 2010 International Society for Biomedical Research on Alcoholism (ISBRA) World Congress, September 13-16, 2010, Paris, France.
  36. Ikejima K, Yamagata H, Arai K, Ishikawa S, Hosoya S, Kon K, Yamashina S, Takeda K, Watanabe S. Depletion of natural killer T cells increases the susceptibility to dietary-induced steatohepatitis in mice. Poster Session, The Liver Meeting 2010 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 1, 2010, Boston, MA, USA.
  37. Kon K, Ikejima K, Saito H, Ishikawa S, Hosoya S, Arai K, Okumura K, Yamashina S, Watanabe S. Trans-fatty acid induces apoptosis of hepatocytes by enhancement of oxidative stress in steatotic liver of KK-A<sup>y</sup> mice. Poster Session, The Liver Meeting 2010 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 1, 2010, Boston, MA, USA.
  38. Hosoya S, Ikejima K, Aoyama T, Ishikawa S, Yamagata H, Kon K, Yamashina S, Takeda K, Watanabe S. Hepatic NKT and NK cells regulate liver regeneration after partial hepatectomy in mice. Poster Session, The Liver Meeting 2010 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 3, 2010, Boston, MA, USA.
  39. Fukada H, Yamashina S, Izumi K, Inami Y, Kon K, Ikejima K, Watanabe S. Loss of autophagy enhances the sensitization of Kupffer cells to endotoxin. Poster Session, The Liver Meeting 2010 (Annual Meeting of American Association for Study of

- Liver Diseases), November 3, 2010, Boston, MA, USA.
40. Ikejima K, Yamagata H, Hosoya S, Ishikawa S, Aoyama T, Kon K, Yamashina S, Suzuki S, Watanabe S. Innate immunity and NAFLD/NASH. Session 4: Immunity and cytokine responses in NASH. The 9<sup>th</sup> Japan Society of Hepatology (JSH) Single Topic Conference NASH-2010, November 18, 2010, Tokyo, Japan.
  41. 池嶋健一, 山形寿文, 渡辺純夫. 肝NKT細胞とCD1d分子による脂肪性肝炎の発症制御メカニズムの解析. ワークショップ3: NASH/NAFLD発症のメカニズム. 第96回日本消化器病学会総会, 2010年4月22日, 新潟.
  42. 石川幸子, 池嶋健一, 山形寿文, 青山友則, 今一義, 渡辺純夫. チオアセタミド誘発性肝障害におけるCD1d拘束性NKT細胞の役割. 一般演題(口演), 第46回日本肝臓学会総会, 2010年5月27日, 山形.
  43. 池嶋健一, 山形寿文, 渡辺純夫. 脂肪性肝炎発症における肝NKT細胞とCD1d分子の関与. パネルディスカッション: NASH/NAFLDの病因・病態と予後. 第46回日本肝臓学会総会, 2010年5月28日, 山形.
  44. 今一義, 池嶋健一, 細谷聡子, 齊藤敏昭, 石川幸子, 柳沼礼子, 山科俊平, 渡辺純夫. 脂肪性肝炎の病態形成におけるトランス脂肪酸の影響と酸化ストレスの役割. ワークショップ7, 肝病態形成における酸化ストレスの意義. 第46回日本肝臓学会総会, 2010年5月28日, 新潟.
  45. 米合古麗阿不都雪克, 山科俊平, 深田浩大, 井草祐樹, 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. ジエチルニトロソアミン投与後肝障害におけるオートファジーの関与について. 一般演題(口演), 第46回日本肝臓学会総会, 2010年5月28日, 山形.
  46. 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. 非B非C原発性肝癌の腫瘍マーカーと背景疾患からみた検討. ワークショップ4: 慢性肝疾患からの発癌: 背景肝疾患(病理, 画像, 遺伝子異常を含む)からみた検討, 第14回日本肝臓学会大会(JDDW 2010), 2010年10月13日, 横浜.
  47. 井草祐樹, 山科俊平, 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. アセトアミノフェン投与後肝障害におけるオートファジーの役割の検討. 一般演題(ポスター). 第14回日本肝臓学会大会(JDDW 2010), 2010年10月13日, 横浜.
  48. 稲見義宏, 山科俊平, 渡辺純夫. 肝細胞内脂肪滴によるオートファジー機能障害と酸化ストレス. シンポジウム7: NAFLD/NASHの最近の知見. 第14回日本肝臓学会大会(JDDW2010), 2010年10月14日, 横浜.
  49. 池嶋健一, 石川幸子, 渡辺純夫. チオアセタミド肝障害の病態形成におけるNKT細胞の関与. ワークショップ12: 肝疾患における免疫病態形成と新たな治療戦略. 第14回日本肝臓学会大会(JDDW2010), 2010年10月14日, 横浜.
  50. 福原京子, 池嶋健一, 渡辺純夫. MRIによるfat fraction+T2 starを用いた肝脂肪化および鉄含有量の定量的評価. 第38回日本肝臓学会東部会, 2010年12月3日, 東京.
  51. 池嶋健一. NASHに関する最近の話題. 特別企画【最近の話題】2, 第38回日本肝臓学会東部会, 2010年12月3日, 東京.
  52. Ikejima K, Wang X, Kon K, Arai K, Fukuhara K, Hosoya S, Yamashina S, Watanabe S: Ursolic acid ameliorates hepatic fibrogenesis through induction of apoptosis in hepatic stellate cells. Parallel Session: Fibrogenesis Experimental, The International Liver Congress 2011: 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL), Berlin, Germany, 2011.
  53. Ikejima K, Ishikawa S, Hosoya S, Yamagata H, Arai K, Kon K, Yamashina S, Watanabe S: Differential role of natural killer T cell subsets in xenobiotics-induced hepatic inflammation and fibrogenesis. Poster Session (Poster of Distinction), Digestive Disease Week, Chicago, IL, 2011.
  54. Ikejima K, Yamagata H, Arai K, Ishikawa S, Hosoya S, Kon K, Yamashina S, Suzuki S, Takeda K, Watanabe S. Mice depleting natural killer T cells are more susceptible to dietary-induced steatohepatitis. Selected Oral Presentation 10, 18<sup>th</sup> International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid (Biannual Meeting of International Society for Hepatic Sinusoidal Research), September 22, 2011, Florence, Italy.
  55. Hosoya S, Ikejima K, Arai K, Aoyama T, Kon K, Ishikawa S, Yamagata



- H, Yamashina S, Suzuki S, Takeda K, Watanabe S. Impaired liver regeneration after partial hepatectomy in mice depleting NK and NKT cells. Poster Session, 18<sup>th</sup> International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid (Biannual Meeting of International Society for Hepatic Sinusoidal Research), September 22, 2011, Florence, Italy.
56. Yamashina S, Inami Y, Uchiyama A, Kon K, Ikejima K, Watanabe S. Hepatic steatosis suppresses mitochondrial autophagy. Poster Session 1: Animal Models and Pathogenesis-1, 6<sup>th</sup> International Symposium on Alcoholic Liver and Pancreatic Diseases (ALPD) and Cirrhosis. October 21, Fukuoka, Japan.
57. Fukada H, Yamashina S, Izumi K, Nakadera E, Fukuo Y, Uchiyama A, Kon K, Ikejima K, Watanabe S. Loss of parkin impairs liver regeneration. Poster Session, The Liver Meeting 2011 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 6, 2011, San Francisco, CA, USA.
58. Hosoya S, Ikejima K, Arai K, Kon K, Yamashina S, Takeda K, Watanabe S. Innate immune responses involving NK and NKT cells promote liver regeneration after partial hepatectomy. Poster Session (Poster of Distinction), The Liver Meeting 2011 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 7, 2011, San Francisco, CA, USA.
59. Miyaji T, Ikejima K, Hosoya S, Arai K, Kon K, Yamashina S, Watanabe S. Hepatic NKT cells are progressively depleted in steatohepatitis with tumorigenesis caused by hepatocyte-specific PTEN deficiency. Poster Session, The Liver Meeting 2011 (Annual Meeting of American Association for Study of Liver Diseases), November 7, 2011, San Francisco, CA, USA.
60. 池嶋健一, 山形寿文, 渡辺純夫. 脂肪性肝炎発症におけるNKT細胞の関与. ワークショップ7: Steatohepatitis (脂肪肝炎)の病態~その多様性と相同性~第97回日本消化器病学会総会, 東京, 2011.
61. 井草祐樹, 山科俊平, 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. アセトアミノフェン投与後の肝細胞死誘導に対するオートファジーの関与について. ワークショップ1 代謝・酸化ストレスの場としての肝臓. 第47回日本肝臓学会総会, 2011年6月2日, 東京.
62. 山科俊平, 稲見義宏, 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. 肝細胞内脂肪滴蓄積とオートファジー機能障害. ワークショップ2 NASH - 我が国の実態と発生病序の解明に向けて. 第47回日本肝臓学会総会, 2011年6月2日, 東京.
63. 今一義, 池嶋健一, 谷口源太郎, 内山明, 福原京子, 細谷聡子, 山科俊平, 渡辺純夫. 脂肪肝における低酸素暴露後のZone 3優位の酸化ストレスと肝細胞アポトーシス. 一般口演, 第47回日本肝臓学会総会, 2011年6月3日, 東京.
64. 池嶋健一, 今一義, 渡辺純夫. 肝S5-11 NASHの肝病態に対するウルソール酸の有用性: モデルマウスでの検討. シンポジウム5 NASH発症の分子機構と治療標的, 第15回日本肝臓学会大会 (JDDW2011), 2011年10月20日, 福岡.

#### 〔図書〕 (計5件)

1. 青山友則, 池嶋健一, 今一義, 山形寿文, 山科俊平, 佐藤信紘, 渡辺純夫. 脂肪性肝炎における肝再生不全に対するpioglitazoneの改善効果. アルコールと医学生物学Vol. 28, アルコール医学生物学研究会編, 東洋書店, 東京, 141-144, 2009.
2. 青山友則, 池嶋健一, 今一義, 奥村京子, 渡辺純夫. セッション5—肝疾患と酸化ストレス2— 一般演題13. メタボリック症候群における肝再生不全: pioglitazoneによる改善効果とそのメカニズム. 酸化ストレスと肝疾患 第5巻 谷川久一編, メディカルトリビューン, 東京, 128-132, 2009.
3. 池嶋健一, 渡辺純夫. 第8章 肝疾患 10. 脂肪肝, 脂肪性肝炎. 医学スーパーラーニングシリーズ 消化器内科学, 渡辺純夫編, シュプリンガー・ジャパン, 東京, 254-258, 2010.
4. 池嶋健一, 朴南哲, 今一義, 青山友則, 山科俊平, 竹井謙之, 佐藤信紘, 渡辺純夫. アラキドン酸側鎖含有合成脂質 8A8 によるエンドトキシン肝障害の抑制効果. アルコールと医学生物学Vol. 29, アルコール医学生物学研究会編, 東洋書店, 東京, 21-26, 2010.

5. 今一義, 池嶋健一, 渡辺純夫. 一般演題 10 トランス脂肪酸による肝細胞内脂肪貯留と酸化ストレス応答性の亢進. 第6回「酸化ストレスと肝」研究会 記録 酸化ストレスと肝疾患 第6巻, 沖田極編, メディカルレビュー, 東京, 101-105, 2010.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

池嶋 健一 (IKEJIMA KENICHI)  
順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授  
研究者番号: 20317382

### (2) 研究分担者

山科 俊平 (YAMASHINA SHUNHEI)  
順天堂大学・医学部・准教授  
研究者番号: 30338412

今 一義 (KON KAZUYOSHI)  
順天堂大学・医学部・准教授  
研究者番号: 30398672

### (3) 連携研究者

竹田 和由 (TAKEDA KAZUYOSHI)  
順天堂大学・医学部・准教授  
研究者番号: 80272821