

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670599

研究課題名(和文) NAFLDでの肝切除後肝再生障害における中枢神経性肝臓機能調節の有用性の解明

研究課題名(英文) The role of central-mediated hepatic responses in the obesity-induced impediment of hepatic regeneration

研究代表者

井上 啓 (Inoue, Hiroshi)

金沢大学・新学術創成研究機構・教授

研究者番号：50397832

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：摂食に伴い増加するインスリンや様々な栄養素が、中枢神経に作用し、迷走神経・クッパー細胞を介して、肝臓IL-6/STAT3シグナルを活性化することを見出している。一方で、転写因子STAT3は、抗アポトーシスおよび細胞増殖関連遺伝子の発現誘導を介し、肝再生のマスターレギュレーターとして重要な働きを担っている。本研究において、中枢神経による迷走神経制御と肝臓STAT3活性化の仕組みを明らかにするとともに、その仕組みがインスリン抵抗性・肥満状態では障害されることを見出している。肥満・インスリン抵抗性による中枢神経性肝臓機能調節の異常が、肝再生障害と関連する可能性を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：Brain-mediated hepatic responses, including gluconeogenic suppression, are mediated by the vagus nerve and hepatic IL-6/STAT3 activation. Meanwhile, hepatic STAT3 is known as the master regulator of hepatic regeneration, controlling the expressions of anti-apoptotic genes and cell-cycle related genes. In this project, we elucidate the mechanism of how brain regulates the vagus nerve and hepatic STAT3 activation. Further, we have found that the central-mediated hepatic responses are impeded in obesity. While hepatic regeneration is impaired in insulin-resistance and obesity, the impeded brain-mediated hepatic responses may be related to the obesity-induced dysfunction of hepatic regeneration.

研究分野：代謝学・食生活学

キーワード：外科 肝切除 脂肪肝

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) に伴う肝再生障害は、肝切除術後の肝不全の発症と密接に関連している。線維化を伴わない単純性脂肪肝においても、肝再生障害が発症するという事実は、高脂肪食負荷マウスでの 70% 肝切除モデルを用いた検討から代表者らも確認しており、実際の臨床の場において広く認識されている。このような NAFLD における肝再生障害の危険性が知られる一方で、その病因および治療法については、十分に解明されていない。

代表者は、中枢神経作用による肝臓機能調節の解明に取り組んできた。その過程で、インスリンなどのホルモンやヒスチジンなどの食事因子が、中枢神経に作用し、迷走神経・クッパー細胞を介して、肝臓 IL-6/STAT3 シグナルを活性化し、肝糖産生を抑制することを見出している (Cell Metab. 2006/ Nat Med. 2004/ Diabetes 2013)。一方で、転写因子 STAT3 は、抗アポトーシスおよび細胞増殖関連遺伝子の発現誘導を介し、肝再生のマスターレギュレーターとして重要な働きを担っている。代表者らも、本課題の予備検討において、アデノウイルスベクターによる肝臓 STAT3 の過剰発現により、マウスでの肝臓重量が 1.2 倍に増加することを見出している (対照; 1.01 ± 0.03 g v s STAT3 過剰発現; 1.26 ± 0.04 g)。

これらの知見は、肝臓 STAT3 の活性化、さらに、肝臓 STAT3 を活性化する中枢神経作用が、NAFLD における肝再生障害に対する新規な治療標的である可能性を示唆している。

2. 研究の目的

本研究課題では、NAFLD に伴う切除後肝再生障害における中枢神経性肝臓機能調節、特に肝 STAT3 活性化の有用性の解明を目的とする。

3. 研究の方法

中枢神経性に肝臓 STAT3 を活性化するメカニズムとして、中枢神経 ATP 依存性 K チャネルの活性化 ~ 迷走神経、さらにはクッパー細胞の関与を見出している。NAFLD に伴う肝切除後肝再生障害における中枢神経性の肝臓 STAT3 活性化機構の有用性の解明のために、(1)NAFLD での肝再生障害モデルを、マウス肝切除を用いて作出し、(2)NAFLD 条件下での中枢神経作用の肝臓 STAT3 活性化の制御とメカニズムの検討を行う。

4. 研究成果

(1)NAFLD マウスモデルにおける肝切除後肝再生障害の検討

高脂肪食負荷により、体重が増加し、肝臓中性脂肪含量が増加し、30 ~ 60% の肝細胞で

大滴性脂肪蓄積を呈する脂肪肝が発症する。このような脂肪肝では、70% 肝切除後の肝重量の回復が遅延し、血漿 ALT・AST 値が有意に増加した。脂肪肝による肝再生障害において、肝細胞増殖障害と肝細胞死の両者の関与が指摘されている。そこで、BrdU 染色により肝細胞増殖の、タネル染色によりアポトーシスの評価を行った。脂肪肝では、肝再生過程における BrdU 陽性細胞の出現が減少し、一方でタネル陽性細胞は有意に増加した。これらの結果は、脂肪肝における肝再生障害が、肝細胞増殖の減弱に加えて、肝細胞死の増強によって引き起こされることを示している。

(2)NAFLD 条件下での中枢神経作用の肝臓 STAT3 活性化の制御とメカニズムの検討

中枢神経インスリン作用による肝糖産生制御における迷走神経の役割を検討するために、脳室内インスリン投与下での迷走神経肝臓枝の電気生理活性を測定した。投与後 30 分から、脳室内インスリン投与群において、迷走神経肝臓枝の神経活動が有意に減弱した。そこで、迷走神経活動の減弱が、肝臓 IL-6/STAT3 に及ぼす作用を検討するために、迷走神経肝臓枝切除による検討を行った。迷走神経切除により、肝臓での STAT3 活性化および IL-6 発現が亢進した。

一方で、高脂肪食負荷マウスモデルでは肥満・高インスリン血症の発症に伴い、脳室内インスリン投与後の、迷走神経活動の変化を示さず、中枢神経インスリン作用が障害されている可能性が示唆された。高脂肪食負荷マウスでは、肝臓における IL-6/TNF の発現が増強していたが、脳室内インスリン投与による変化は消失していた。また、脳室内インスリン投与に伴う肝臓 STAT3 の活性化も障害されていた。これらの結果は、NAFLD において、中枢神経レベルにおいて、中枢神経性肝臓機能調節が障害される可能性を示唆している。高脂肪食負荷による NAFLD モデルにおいて、肝切除後の肝再生が障害されるが、中枢神経性肝臓機能制御の破綻が、その病因の一つである可能性が考えられた。

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 9 件)(すべて査読有)

Kimura K, Tanida M, Nagata N, Inaba Y, Watanabe H, Nagashimada M, Ota T, Asahara S, Kido Y, Matsumoto M, Toshinai K, Nakazato M, Shibamoto T, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H. Central Insulin Action Activates Kupffer Cells by Suppressing Hepatic Vagal

Activation via the Nicotinic Alpha 7 Acetylcholine Receptor. *Cell Rep.* 2016;14(10):2362-74.
doi:10.1016/j.celrep.2016.02.032.

Kobayashi K, Tanaka T, Okada S, Morimoto Y, Matsumura S, Manio MC, Inoue K, Kimura K, Yagi T, Saito Y, Fushiki T, Inoue H, Matsumoto M, Nabeshima Y. Hepatocyte β -Klotho regulates lipid homeostasis but not body weight in mice. *FASEB J.* 2016;30(2):849-62.
doi:10.1096/fj.15-274449.

Asahara S, Etoh H, Inoue H, Teruyama K, Shibutani Y, Ihara Y, Kawada Y, Bartolome A, Hashimoto N, Matsuda T, Koyanagi-Kimura M, Kanno A, Hirota Y, Hosooka T, Nagashima K, Nishimura W, Inoue H, Matsumoto M, Higgins MJ, Yasuda K, Inagaki N, Seino S, Kasuga M, Kido Y. Paternal allelic mutation at the *Kcnq1* locus reduces pancreatic β -cell mass by epigenetic modification of *Cdkn1c*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(27):8332-7.
doi:10.1073/pnas.1422104112.

Inaba Y, Furutani T, Kimura K, Watanabe H, Haga S, Kido Y, Matsumoto M, Yamamoto Y, Harada K, Kaneko S, Oyadomari S, Ozaki M, Kasuga M, Inoue H. Growth arrest and DNA damage-inducible 34 regulates liver regeneration in hepatic steatosis in mice. *Hepatology.* 2015;61(4):1343-56.
doi:10.1002/hep.27619.

Inoue H. Molecular basis of brain-mediated regulation of hepatic glucose metabolism. *Diabetol Int.* 2014;5:158-164

doi:10.1007/s13340-014-0185-8

Tsuneki H, Tokai E, Nakamura Y, Takahashi K, Fujita M, Asaoka T, Kon K, Anzawa Y, Wada T, Takasaki I, Kimura K, Inoue H, Yanagisawa M, Sakurai T, Sasaoka T. Hypothalamic orexin prevents hepatic insulin resistance via daily bidirectional regulation of autonomic nervous system in mice. *Diabetes.* 2015;64(2):459-70.
doi:10.2337/db14-0695.

Haga S, Ozawa T, Yamada Y, Morita N, Nagashima I, Inoue H, Inaba Y, Noda N, Abe R, Umezawa K, Ozaki M. p62/SQSTM1 Plays a Protective Role in Oxidative Injury of Steatotic Liver in a Mouse Hepatectomy Model. *Antioxid Redox Signal.* 2014;21(18):2515-30.
doi:10.1089/ars.2013.5391.

Tanaka M, Ikeda K, Suganami T, Komiya C, Ochi K, Shirakawa I, Hamaguchi M, Nishimura S, Manabe I, Matsuda T, Kimura K, Inoue H, Inagaki Y, Aoe S, Yamasaki S, Ogawa Y. Macrophage-inducible C-type lectin underlies obesity-induced adipose tissue fibrosis. *Nat Commun.* 2014;5:4982.
doi:10.1038/ncomms5982.

Harada K, Kakuda Y, Sato Y, Ikeda H, Shimoda S, Yamamoto Y, Inoue H, Ohta H, Kasashima S, Kawashima A, Nakanuma Y. Alteration of energy metabolism in the pathogenesis of bile duct lesions in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol.* 2014;67(5):396-402.
doi:10.1136/jclinpath-2013-201815.

[学会発表](計6件)

井上 啓:第38回日本分子生物学会 第88回日本生化学会 合同大会 「視床下

部を介した栄養素による肝糖代謝調節」
2015年12月2日(神戸)

井上 啓: 第36回日本肥満学会 「中
枢神経・肝臓クロストークと肥満症にお
けるその破綻の解明」2015年10月3日
(名古屋)

井上 啓: 第58回日本糖尿病学会年次
学術集会 第2回肝臓と糖尿病・代謝研
究会シンポジウム代謝中枢臓器として
の肝臓 「迷走神経による肝糖産生制
御」2015年5月23日(下関)

井上 啓: 第88回日本内分泌学会学術
総会「中枢神経インスリン作用による肝
糖代謝調節メカニズムの解明」 2015
年4月25日(東京)

井上 啓: 日本薬学会 第135年会 一
般シンポジウム -中枢を介した血糖制
御のパラダイムシフト 次なる Decade
に向けて- 「中枢神経による肝臓糖産
生の制御」2015年3月27日(神戸)

井上 啓: 第57回日本糖尿病学会年次
学術集会「中枢神経による肝糖代謝制御
の分子基盤の解明」2014年5月22日(大
阪)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計1件)

名称: 肝臓脂肪蓄積抑制剤
発明者: 井上 啓
権利者: 国立大学法人金沢大学
種類: 特願
番号: 2015-088118
出願年月日: 2015年4月23日
国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等
<http://inoue.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

井上 啓 (INOUE HIROSHI)
金沢大学・新学術創成研究機構・教授
研究者番号: 50397832

(2)研究分担者
該当なし

(3)連携研究者
該当なし