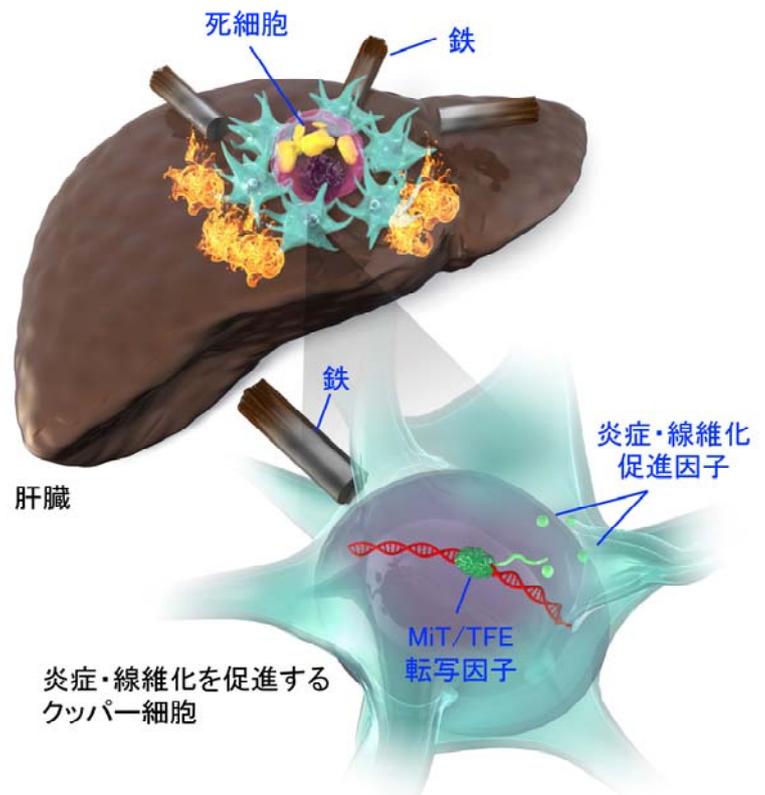


# 非アルコール性脂肪肝炎において クッパー細胞の鉄蓄積が肝線維化を促進する

名古屋大学環境医学研究所/医学系研究科の菅波孝祥 教授、田中都 講師、金森耀平 研究員を中心とする研究グループは、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）において、細胞内鉄含量の多い常在性マクロファージ（クッパー細胞）が肝線維化（硬化）の進行に重要であることを明らかにしました。NASH はメタボリックシンドロームに合併する肝病変であり、予後良好の単純性脂肪肝と異なり、炎症や線維化を伴って慢性に進行します。特に肝線維化は、肝硬変や肝がん、生命予後を規定する因子として重要です。また、わが国における肝がんの主要な原因は、従来はウイルス性肝炎でしたが、近い将来、NASH が取って代わると想定されています。これまでに、NASH 症例における鉄過剰が報告されていましたが、肝線維化における作用機序や肝臓内の原因となる細胞については十分に分かっていませんでした。今回、研究グループは、マウス NASH モデルの解析から、細胞内鉄含量の多いクッパー細胞が肝線維化の促進に働くこと、その機序として MiT/TFE 転写因子が関与することを見出しました。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構・革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）「生体組織の適応・修復機構の時空間的解析による生命現象の理解と医療技術シーズの創出」（研究代表者：京都大学医学研究科 柳田 素子 教授）、肝炎等克服実用化研究事業「NASH 肝癌マウスモデルの超高感度マルチオミクス解析による革新的診断マーカー・治療標的の探索」（研究代表者：阿部 雄一 主任研究員）、日本学術振興会・科学研究費助成事業、ならびに公益財団法人堀科学芸術振興財団、公益財団法人武田科学振興財団、公益財団法人持田記念医学薬学振興財団などの支援を受けて行われたもので、その研究成果は、国際科学誌 iScience に掲載されました（2021 年 1 月 19 日付）。



## ポイント

- NASH の肝臓において、細胞内鉄含量の多寡でクッパー細胞を分類しました。
- 鉄含量の多いクッパー細胞は、NASH の炎症・線維化を促進することを見出しました。
- この機序として、鉄の負荷により MiT/TFE 転写因子を活性化することで、炎症・線維化を促進する因子の遺伝子発現を誘導することを明らかにしました。
- クッパー細胞における MiT/TFE 転写因子の活性化は、マウス NASH モデルのみならずヒト NASH においても認められました。

## 1. 背景

ライフスタイルの欧米化により、わが国においてもメタボリックシンドロームの肝臓における合併症として、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）が増加しています。NASH は、予後良好の単純性脂肪肝とは異なり、炎症や線維化が慢性的に進行することで肝硬変や肝がんの発症に繋がること、現在有効な治療法がないこと等から注目を集めています。特に肝線維化は、肝硬変や肝がん、生命予後の規定因子として重要であり、NASH において肝線維化を抑制する治療法の開発は喫緊の課題です。わが国における肝がんの主要な原因は、従来はウイルス性肝炎でしたが、近い将来、NASH が取って代わると想定されています。NASH の病態メカニズムとして「multiple parallel hits 仮説」が提唱されており、過剰な脂肪蓄積やインスリン抵抗性などの代謝異常に、炎症性サイトカイン、酸化ストレスなどの炎症刺激が加わることで NASH 発症に至るとされています。この炎症刺激の1つとして鉄代謝異常の関与が指摘されており、実際、NASH 症例における鉄過剰が報告されていますが、肝線維化における作用機序や肝臓内の責任細胞については十分に分かっていませんでした。研究グループはこれまでに、肝常在性マクロファージ（クッパー細胞）<sup>※1</sup> が肝細胞死に応答して CD11c<sup>※2</sup> 陽性に形質転換し、炎症性サイトカインや線維化促進因子を産生して、脂肪肝から NASH に進展することを明らかにしてきました。

## 2. 研究成果

### ■NASH モデルにおける鉄蓄積の意義

遺伝性肥満を呈するメラノコルチン4型受容体欠損（MC4R-KO）マウス<sup>※3</sup>に対して高脂肪・高シヨ糖・高コレステロール食（ウェスタンダイエット）を負荷し、NASH を誘導しました。脂肪肝を発症した MC4R-KO マウスに鉄を投与すると肝線維化が増悪し、一方、鉄を吸着するキレート剤の投与により肝線維化が抑制されたことから、鉄は NASH における肝線維化の促進に働くことが明らかになりました（図1）。また、MC4R-KO マウスに鉄を投与すると、鉄は主にクッパー細胞に蓄積し、CD11c 陽性に形質転換しました（図1）。そこで、クッパー細胞と鉄代謝に注目して、詳細な解析を行いました。

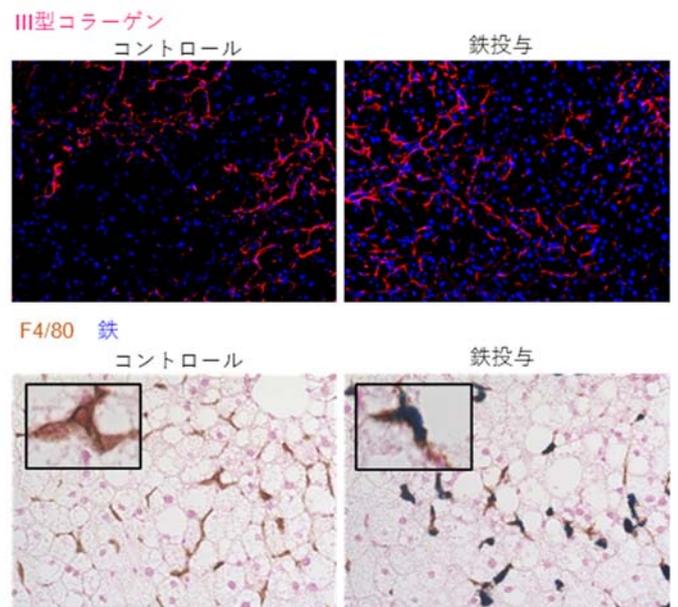


図1 鉄投与による肝線維化の促進とクッパー細胞における鉄蓄積

III型コラーゲン：線維化の評価、F4/80：クッパー細胞

■細胞内鉄含量によるクッパー細胞の分類  
 正常肝、脂肪肝、NASH 肝を呈する MC4R-KO マウスの肝臓からクッパー細胞を調製しました。磁力を利用して細胞内鉄含量の多い (Fe-hi) クッパー細胞と少ない (Fe-lo) クッパー細胞に分離すると、病態の進行とともに、Fe-hi クッパー細胞が炎症・線維化促進因子 (CD11c、TNF $\alpha$ 、CCL3、TIMP1 等) を高発現しました (図2)。

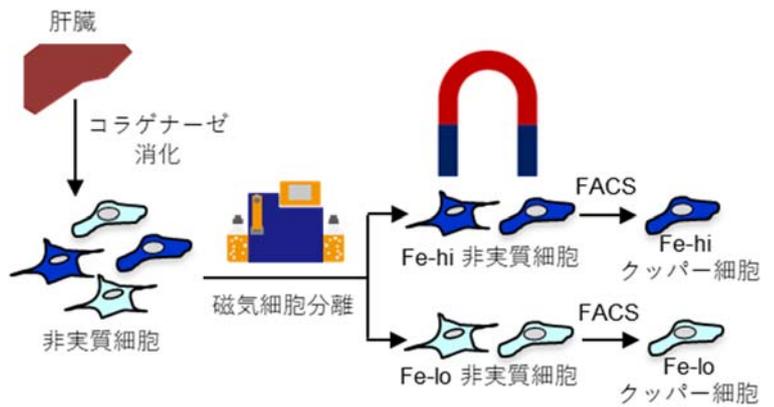


図2 磁力によるクッパー細胞の分離

■鉄負荷により炎症・線維化促進に働く分子メカニズム

次に、クッパー細胞における鉄蓄積が、どのように形質転換をもたらすかを検討しました。そこで、NASH 肝より単離した CD11c 陽性クッパー細胞と鉄を負荷した培養マクロファージを用いて、マイクロアレイ解析により遺伝子発現プロフィールを網羅的に解析しました。その結果、リソソーム機能調節に働く MiT/TFE 転写因子<sup>\*4</sup>に注目しました。クッパー細胞に鉄を負荷すると、リソソーム機能が障害され、MiT/TFE 転写因子の TFE3 が活性化しました (図3)。クッパー細胞において TFE3 は、形質転換マーカーの CD11c や種々の炎症・線維化促進因子の遺伝子発現を誘導しました。以上の結果から、NASH におけるクッパー細胞の形質転換には、鉄蓄積による MiT/TFE 転写因子の活性化が関わっていると考えられます。

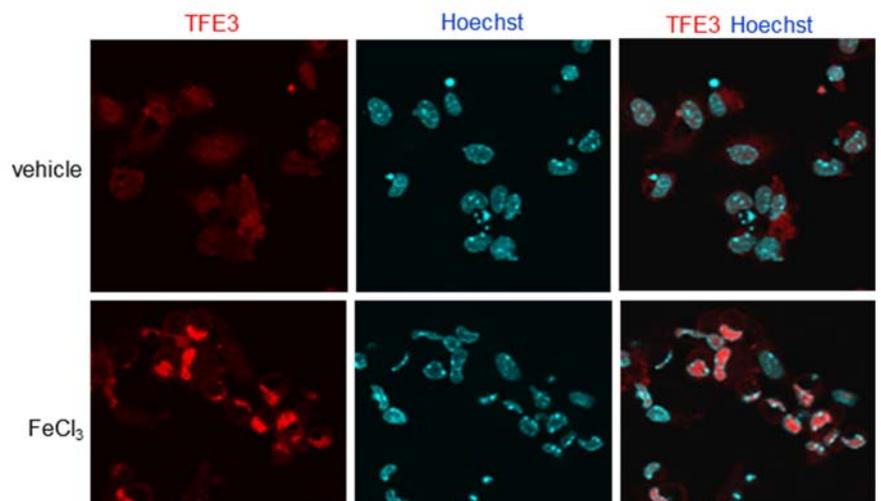


図3 鉄による MiT/TFE 転写因子の活性化  
 TFE3 : MiT/TFE 転写因子のひとつ、Hoechst : 核

■ヒトおよびマウス NASH と MiT/TFE 転写因子

最後に、クッパー細胞における MiT/TFE 転写因子の活性化が、NASH を発症した MC4R-KO マウスの肝臓において認められることを確認しました (図4)。研究グループはこれまでに、CD11c 陽性に形質転換したクッパー細胞が死細胞 (肝細胞) を取り囲むように配置する特徴的な組織像 (王冠様構造) を呈すること、ここを起点として炎症・

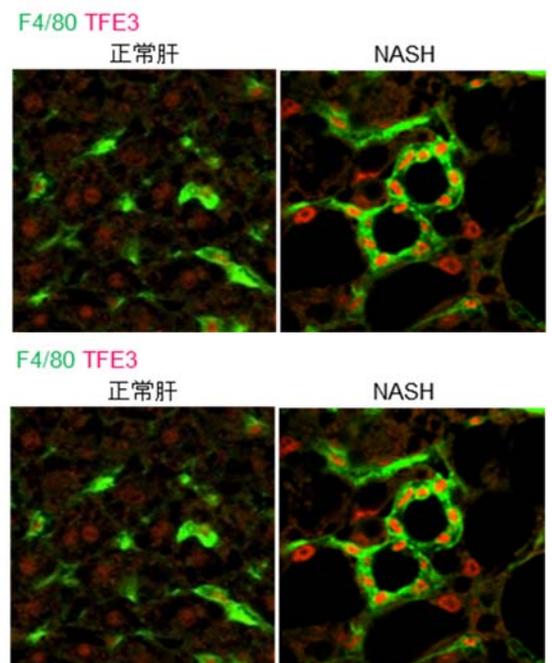


図4 王冠様構造と MiT/TFE 転写因子

線維化が進行することを報告しています。今回、MiT/TFE 転写因子は、王冠様構造を形成するクッパー細胞で活性化していることが明らかになりました。研究グループは、MC4R-KO マウス以外の NASH モデルやヒト NASH においても、同様の所見を確認しました。

### 3. 今後の展開

本研究により、①クッパー細胞は鉄含有量によって分類できること、②鉄含有量の多い Fe-hi クッパー細胞が NASH の発症過程において炎症・線維化促進的に働くこと、③その分子メカニズムとして MiT/TFE 転写因子の活性化が重要であること、④マウス NASH モデルのみならずヒト NASH においても同様のメカニズムが想定されることが明らかになりました（図5）。残された課題として、クッパー細胞に鉄が蓄積する機序、今回明らかになった経路を標的とする治療法の開発などが挙げられます。

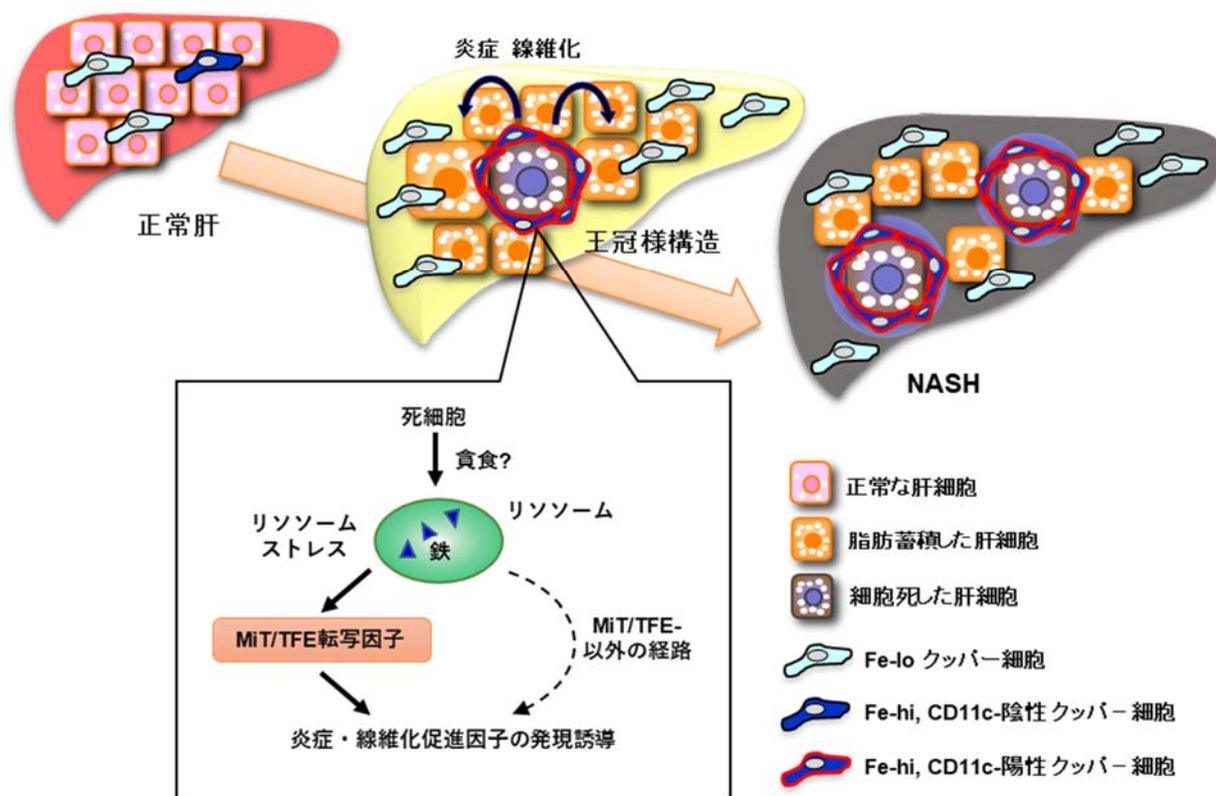


図5 本研究のまとめ

#### 4. 用語説明

- ※1 肝常在性マクロファージ（クッパー細胞）：肝臓には、元々存在する常在性マクロファージ（クッパー細胞）と、炎症に伴い骨髄から動員され肝臓に浸潤する骨髄由来マクロファージが存在します。NASHにおける炎症の進展とともに骨髄由来マクロファージの浸潤が起こるため、NASHの病態形成における浸潤性マクロファージの意義が広く認識されていましたが、クッパー細胞の意義については実態が不明でした。研究グループはこれまでに、NASHにおける肝線維化の発症にクッパー細胞の形質転換が重要であることを明らかにしてきました。
- ※2 CD11c：細胞表面に発現するタンパクで、マクロファージの活性化に伴って発現が上昇します。特にNASHにおいては、CD11cを高発現するクッパー細胞が炎症や線維化の進行を促進するため、NASHにおいてCD11cは「悪いクッパー細胞の指標」になります。
- ※3 メラノコルチン4型受容体欠損（MC4R-KO）マウス：メラノコルチン4型受容体（MC4R）はヒト遺伝性肥満の原因遺伝子で、脳の視床下部（食欲制御中枢）に発現して食欲抑制に働きます。従ってMC4Rを欠損するマウスは、過食による肥満を呈します。野生型マウスにウェスタンダイエットを負荷してNASHを発症させるためには約1年間を要しますが、MC4R-KOマウスを用いることで4～5ヶ月に短縮させることができます。研究グループは、MC4R-KOマウスを用いたNASHモデルを開発し、NASHの病態メカニズムを明らかにしてきました。
- ※4 MiT/TFE転写因子：リソソームは細胞内小器官の1つで、細胞内外から取り込んだ生体分子を分解する働きを持っています。リソソームに過剰な負荷がかかると、MiT/TFE転写因子が活性化してリソソームを新規に合成、あるいは修復することが知られていました。本研究では、クッパー細胞における鉄負荷がリソソームストレスを惹起し、活性化したMiT/TFE転写因子が炎症・線維化促進に働くことを見出しました。

#### 5. 発表雑誌

掲雑誌名：iScience

論文タイトル：Iron-Rich Kupffer Cells Exhibit Phenotypic Changes during the Development of Liver Fibrosis in NASH

著者：Yohei Kanamori<sup>1,2</sup>, Miyako Tanaka<sup>1,2</sup>, Michiko Itoh<sup>1,3,4</sup>, Kozue Ochi<sup>1,2</sup>, Ayaka Ito<sup>1,2</sup>, Isao Hidaka<sup>5</sup>, Isao Sakaida<sup>5</sup>, Yoshihiro Ogawa<sup>1,6</sup>, Takayoshi Suganami<sup>1,2</sup>

所属：<sup>1</sup>Department of Molecular Medicine and Metabolism, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, Nagoya 464-8601, Japan

<sup>2</sup>Department of Immunometabolism, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466-8550, Japan

<sup>3</sup>Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology, Ebina 243-0435, Japan

<sup>4</sup>Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo 101-0062, Japan

<sup>5</sup>Department of Gastroenterology and Hepatology, Yamaguchi University Graduate School of

Medicine, Yamaguchi 755-8505, Japan

<sup>6</sup>Department of Medicine and Bioregulatory Science, Graduate School of Medical Sciences,  
Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.102032>

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/iSci\\_210120en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/iSci_210120en.pdf)