肝再生における免疫担当細胞内インフラマソームの活性化とその役割

伊藤弘康

岐阜大学大学院医学系研究科 病態情報解析医学

【研究の背景】

腫瘍壊死因子（TNF-α）やインターロイキン（IL）-6 などの炎症性サイトカインは、肝再生時に発現が増強し、肝再生促進に働いている[1]。しかしながらTNF-αやIL-6の産生が部分肝切除後に増加する機構は明らかとなっていない。近年、自然免疫系の病原体認識受容体のひとつであるNOD様受容体の刺激によりによりインフラマソーム群が形成され炎症の惹起に重要であることが報告されている[2]。本受容体は、病原体のみならず宿主細胞からのデンジャーシグナルも感知して炎症を誘導する。したがって、部分肝切除においても、インフラマソーム群が活性化され、炎症性サイトカインを誘導する可能性が考えられる。しかしながら、これまで、インフラマソ—ムと肝再生との関連性を明らかにした報告はない。

【目　　的】

本研究では、インフラマソーム群の遺伝子可変マウスを用い、部分肝切除モデルを作成し、肝再生機構におけるインフラマソーム群の関与を肝内免疫担当細胞の解析を中心に検証する。また、肝再生の促進に有用なインフラマソーム群活性化分子を特定し、新たな肝疾患治療へ発展させる。

【方　　法】

① ワイルドタイプ（WT）およびインフラマソ—ム（ASC、ipaf、NALP3）ノックアウト（KO）マウスにおける肝再生の比較

WTマウスおよびインフラマソームのノックアウトマウス（ASCKOマウス、NALP3KOマウス、ipafKOマウス）に70％部分肝切除を施行し、実験的肝再生モデルを作成する。部分肝切除後、経時的に肝/体重比を計測する。また、肝実質細胞の分裂・増殖を確認するため組織標本を作製し、Ki67 染色を行い肝細胞の増殖能を検証する。同じく肝再生の指標に用いられるcyclin Dやcyclin E mRNA発現をリアルタイムPCR法にて評価する。

② インフラマソームKOマウスにおける部分肝切除後の肝内免疫担当細胞の解析と肝再生への影響

WTマウスおよびインフラマソームKOマウスに対して、70％部分肝切除を施行後、経時的に肝内免疫担当細胞を採取する。それらより mRNA 及びタンパクを抽出する。炎症性サイトカイン（IL1-β、IL-6、TNF-αなど）や成長因子（EGF、TGF、FGFなど）のmRNAの発現をリアルタイムPCR法にて検討する。

【結　　果】

① WTマウスとNALP3KOマウスに70％部分肝切除を施行し、24h、48h、72h後の肝臓を経時的に採取し肝体重比を測定したところ、WTマウスに比べNALP3KOマウスで優位な肝体重比の減少を認めた。ipafKOマウス及びASCKOマウスでは、WTマウスとの差は認められなかった。Ki-67染色では、部分肝切除24h後においてNALP3KOマウスに比べWTマウスでKi-67陽性細胞数の増加が認められた。48h後ではKi-67陽性細胞の割合がNALP3KOマウスで増加しており、72h後ではWT、KOマウスにおける差は認められなかった。同様に細胞増殖能の評価に用いられるcyclin D1やcyclin E1をRT-PCRにて測定すると、部分肝切除24h後の肝臓においてNALP3KOマウスと比較しWTマウスで発現の増強が認められた。

以上の肝再生能の比較により、NALP3KO マウスにおいて肝再生の遅延が示唆された。

② 肝再生時に重要となる炎症性サイトカイン（IL-6、TNF-α）とインフラマソーム活性化により産生される IL-1βmRNA 発現をリアルタイム PCR 法で比較したところ、部分肝切除後 24h、48h の肝臓において WT マウスに比べ NALP3KO マウスで IL-6、IL-1βmRNA 発現が減少していた。同様に成長因子（EGF、TGF-α）の発現をリアルタイム RCR 法にて測定したところ、部分肝切除 24h後において WT マウスで発現が増強していた。

【考　　察】

今回、各種インフラマソーム（ASC、ipaf、NALP3）KO マウスを用いて肝再生への影響を検討したところ、NALP3KO マウスのみで肝再生の遅延が認められた。すなわち、肝再生機構には、NALP3 分子が少なからず関与している可能性がある。さらに、NALP3 の欠損により IL-6 の発現が低下していた。前述の通り、IL-6 は、肝再生促進に働く重要なサイトカインの一つであり、この IL-6 の増強は NALP3 分子に依存していることが示唆された。また、EGF、TGF-α などの成長因子の発現も、NALP3KO マウスにて減弱しており、肝再生遅延に関与しているものと考えられた。NALP3 分子の肝再生における重要性は確認できたが、今後は、NALP3 に対するどのようなリガンドが重要であるかを確認する必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

今回の、研究課題により、インフラマソーム分子特に NALP3 と肝再生との関連性が明らかになった。しかしながら、肝再生における有効なインフラマソームのリガンドは確認できておらず、今後の課題である。このリガンドが同定できれば、劇症肝炎での広範な肝細胞壊死や肝移植時等、肝再生促進治療が必要な場合、大きな貢献ができるものと考える。さらに、他の再生医療分野へも拡大できる可能性がある。

【参考・引用文献】

1. Sudo K, Ito H et al. BBA-Molecular Basis of Disease. 1782(11):671. 2008
2. Kawai T, Akira S. Immunity. 34(5):637. 2011