

肝障害・再生のメカニズム —Jak/STAT3 および PI3-K/Akt 経路の役割と意義—

尾 崎 倫 孝

肝再生のメカニズムの解明に関してはこれまで精力的に研究されてきたが、いまだに十分理解されていない。これまでの研究の多くは、正常肝細胞の増殖機構に焦点を当てて行われてきた。しかしながら、肝切除後肝再生の initiation/maintenance/termination の機構とその制御にもまだ不明な点が多く、傷害肝からの再生のメカニズム、あるいは糖尿病、肥満（脂肪肝）、加齢などの状況下における肝再生などについては、今後のさらなる研究が待たれるところである。本稿では、肝細胞における Jak/STAT3 および PDK1/Akt シグナル系の解析から、細胞増殖、細胞成長およびアポトーシスの肝再生における役割と個々の重要性に関して、我々の得た知見を中心に概説する。

緒 言

肝の再生は、様々な因子により複雑に制御されている。その機序に関しては、これまで小動物を用いて数多くの研究がなされてきたが、正常状態あるいは病的状態における肝再生の開始 (initiation)、維持 (maintenance)、終止 (termination) 機構あるいは肝細胞障害との関連など詳細なメカニズムはいまだ十分には解明されていない。肝の再生には、様々な肝外臓器、自律神経系などが直接的に肝細胞を刺激するか、あるいはクッパー細胞などの肝の非実質細胞に情報を与え、いくつかのサイトカイン・成長因子を介して間接的に肝実質細胞の増殖、成長（細胞サイズの増大）および機能に影響を与えていると考えられている（図1）¹⁾。

臨床の現場では、内科的治療（劇症肝炎など）および外科的治療（正常あるいは硬変肝、脂肪肝の肝切除、肝移植など）の多くは、病的状態にある肝臓のすみやかな再生を期待して行われる。しかしながら、期待する肝再生が起こ

らない場合には肝不全状態となり、全身状態を悪化させ、患者の生命予後に重大な影響をあたえる。劇症肝炎では、血液濾過・透析などにより原因物質の除去を行って肝障害の進行を抑制し、アルブミンなど必要な物質を補充するが、その間に生き残った肝細胞の増殖（肝機能の回復）を期待する。肝細胞がん患者における肝切除術では、基礎疾患としてウイルス性慢性肝炎および肝硬変を通常伴っている。硬変肝の再生は強く障害されており、出血傾向などと相まって、しばしば患者予後を重篤なものとする。さらに、胆汁うっ滞²⁾、脂肪肝³⁻⁵⁾、糖尿病^{6,7)}、加齢^{8,9)}などの（病的）状態下でも肝再生は不良であるとされ、近年臨床的に大きな問題となっている。このように臨床の場で、正常肝よりも病的状態にある肝再生の機序の解明とその克服がより重要な課題となってきており、肝再生不全の原因の究明とともにその克服に向けた研究が必要とされている。

ところで、肝（実質）細胞は通常静的状態にあるが、肝切除あるいは種々の傷害が契機となり、爆発的な増殖能を示し元の状態に戻ろうとする¹⁰⁻¹³⁾。肝切除直後より種々のシグナル伝達機構が機能を始め、数時間以内に多くの遺伝子群が活性化される¹⁾。すみやかな再生の後、物理的・機能的に元の肝臓に戻ればその増殖（再生）を中止し、定常状態に戻る。この反応はタンパク質・遺伝子レベルで精密な制御を受けていると考えられるが、特に遺伝子レベルでは近年遺伝子チップなどを用いた手法などにより新たな網

北海道大学大学院医学研究科分子制御外科学講座
(〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目)

The roles of Jak/STAT3 and PI3-K/Akt pathways in liver injury and regeneration

Michitaka Ozaki (Department of Molecular Surgery, Hokkaido University School of Medicine, N-15, W-7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-8638, Japan)

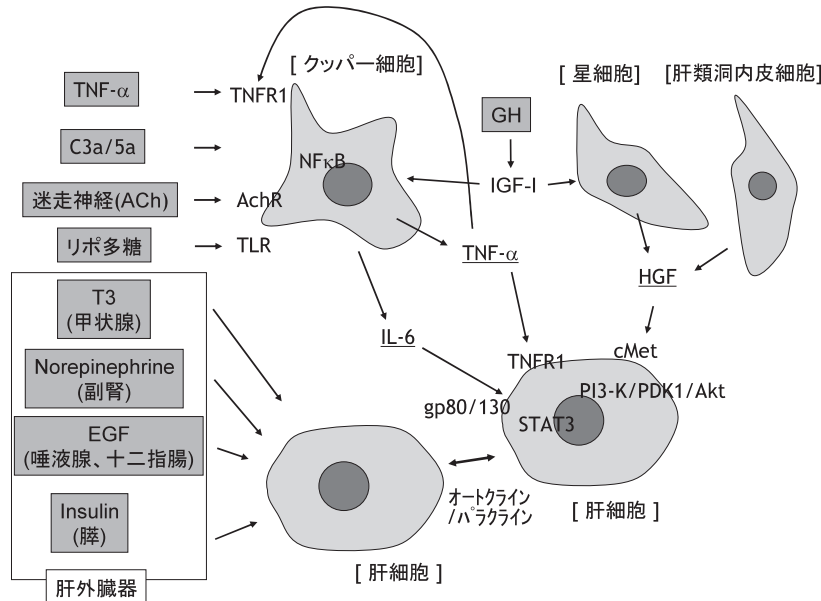


図1 肝再生における肝内外からの液性制御

肝切除後肝再生の開始には、肝内外からの様々な液性因子、および自律神経系が影響を与えていると考えられている。(T3: トリヨードサイロニン triiodothyronine, ACh: アセチルコリン, LPS: リポ多糖, EGF: 上皮細胞増殖因子, TLR: Toll 様受容体, HGF: 肝細胞増殖因子, GH: 成長因子, IGF-1: インスリン様増殖因子-1)

羅的解析が進んでいる¹⁴⁾。

病的状態にない肝の外科的切除では、切除後残った肝細胞が正常な機能を保持しており、主として成熟肝細胞の分裂(細胞増殖)により肝は再生すると考えられている。また、薬剤性あるいはウイルスなどによる肝傷害(劇症肝炎など)では広範な肝細胞の傷害が生じており、成熟肝細胞の増殖のみならず肝幹細胞からの再生(肝細胞への分化・増殖)が重要な役割を果たしている可能性がある^{15,16)}。しかしながら、いずれの場合にも物理的再生とともに機能的再生が十分でない場合には肝不全に陥る。

種々の病因による肝傷害からの肝再生のみならず、単純な肝切除後の肝再生についても細胞内および細胞間シグナル伝達機構の詳細は未だ明らかではない。肝再生には、非実質細胞(クッパー細胞、星細胞など)からのサイトカインの分泌による肝細胞増殖の制御などの機序が既に示されている^{17,18)}。しかしながら、そういった増殖シグナルの下流にあるターゲット遺伝子と細胞機能との直接的な関係、あるいはシグナルのフィードバック機構、二次的に発生するシグナルは十分に理解されていない。肝再生において、1) 個々の細胞内シグナル伝達を解析し、受けた刺激に対する個々の細胞が細胞内でどのように反応し、さらには隣接する細胞に対してどのように影響するか、あるいは2) 臓器の再生に関して、「細胞増殖」、「細胞成長」および「細胞間接着」という事象が時間的・空間的秩序の下でどのように関わりあいながら再生するかを理解することは、基礎

的な病態を理解するだけでなく臨床的な戦略を立てる上でも非常に重要と考えられる。

肝再生の機序全体をこの総説にて記述するには、あまりにも大きなテーマであり、筆者の能力の及ぶところではない。既に肝切除後肝再生における細胞増殖を中心としたメカニズムについては、多くのすぐれた総説が書かれている^{1,19)}。我々は、種々の原因による肝細胞の傷害機序およびそれら傷害からの再生の機序を、肝細胞内シグナル伝達の視点から研究してきた。本稿では、肝再生時における肝細胞内シグナル伝達、特に Jak/STAT3 経路および PI3-K (phosphoinositide 3-kinase)/Akt 経路の細胞増殖、細胞成長、肝細胞傷害抑制および代謝への影響に焦点を絞って、我々の研究成果を中心に記述する。

1. マウス肝切除後肝再生の制御

小動物(主としてマウス)を用いた肝切除後肝再生に関しては、これまでも多くの研究・検討がなされている。一般的に肝切除実験は、肝左葉および中葉をそれぞれ切除する2/3肝切除術が用いられる²⁰⁾。肝切除直後からの細胞増殖に関連する遺伝子発現に関しては、これまでに多くの報告がなされている^{21~23)}。しかしながら、肝切除後の肝再生は、切除直後から始まっており、遺伝子発現よりもタンパク質レベルでの解析(遺伝子を発現させる機序)がより重要と考えられ、近年肝の構成細胞(肝細胞、クッパー細胞など)のシグナルの解析、サイトカインの解析、タンパク

質レベルでの研究が盛んに行われている²⁴⁻²⁶。特に、クッパー細胞の肝障害および再生における役割に関しては、これまで多くの研究がなされてきた^{27,28}。

ところで、肝切除後の肝再生は、種々の肝外臓器により制御されていることが知られている。自律神経系²⁹、甲状腺^{30,31}、副腎^{32,33}、膵臓³⁴、十二指腸³⁵などは、肝切除に際してそれぞれの因子を速やかに分泌して、肝の再生に向けたシグナルを活性化する(図1)。肝臓内で肝再生時の肝細胞増殖に最も大きな影響を与えているのは、肝に常在するマクロファージであるクッパー細胞(KC)、星細胞(hepatic stellate cell:HSC)および肝類洞内皮細胞(hepatic endothelial cell:HEC)から分泌されるインターロイキン-6(IL-6)、腫瘍壊死因子- α (TNF- α)、肝細胞増殖因子(HGF)等と考えられている^{36,37}。リポ多糖(LPS)、TNF- α あるいはアセチルコリン(副交感神経系)などにより、それぞれの対応する受容体(Toll-like receptors:TLRs, TNFR, AchR)を介して刺激されたクッパー細胞は、少なくともNF κ Bの活性化によりIL-6, TNF- α などを産生・分泌し、それぞれの受容体を介して肝細胞およびクッパー細胞自身を活性化する^{38,39}。HSC, HECも、肝切除により同様に活性化されHGF分泌により肝細胞表面上のHGF受容体(cMET)を介して肝細胞にシグナルを伝達し、PI3-K/Akt経路, MAPK経路などを活性化し肝細胞増殖を促進する¹⁵。これらサイトカインは、肝細胞を直接刺激して、種々の細胞内情報伝達経路を活性化し、肝細胞の増殖, 成長, アポトーシス等を制御する。また、肝外からはトリヨードサイロニン:T₃(甲状腺)^{30,31}、ノルエピネフリン(副腎)^{32,33}、上皮細胞増殖因子(唾液腺, 十二指腸)³⁵、インスリン(膵臓)³⁴、成長ホルモン(脳下垂体)⁴⁰などから

の液性因子が、直接肝細胞の増殖などに関与していると考えられている。

2. 肝再生(細胞増殖, 細胞成長)における Jak/STAT3, PI3-K/Akt の役割

STATs (signal transducers and activators of transcription) は転写因子として、遺伝子の転写を調節することにより細胞機能を調節している⁴¹。不活性型として潜在的に細胞質内に存在するSTATsは、サイトカインなどの刺激に引き続いて、それぞれの受容体に会合したJakを介してチロシン部位のリン酸化を受ける。リン酸化を受けたSTATsは二量体化した後さらにセリン残基のリン酸化を経て活性化し、核内に移行してターゲット遺伝子のプロモーター部位に結合する。その後目的タンパク質の転写・翻訳・合成により種々の生理的作用を示すものと考えられている⁴²⁻⁴⁵(図2)。現在までにSTATsファミリーに属するものとして7種類のサブファミリー(STAT 1, 2, 3, 4, 5A, 5B, 6)が同定されており、種々の臓器, 病態での機能が解析されている⁴⁶(表1)。STAT3は、腫瘍細胞の増殖および生存に関与する腫瘍性タンパク質としてよく知られる転写因子であるが、肝におけるSTAT3は、肝再生の急性期反応において基本的な転写因子として働き、サイトカインを介した遺伝子発現の誘導に関与する非常に重要な転写因子であるということが明らかとなってきている⁴⁷。

Taubらのグループは、ラット肝切除後に引き続き肝再生の初期にSTAT3の活性化が起こることを報告した⁴²。また、IL-6遺伝子欠損マウスにおいて、肝切除後の肝再生が損なわれるだけでなく、広範な壊死も引き起こすことを報告した⁴⁸。これにより、IL-6およびその下流にある

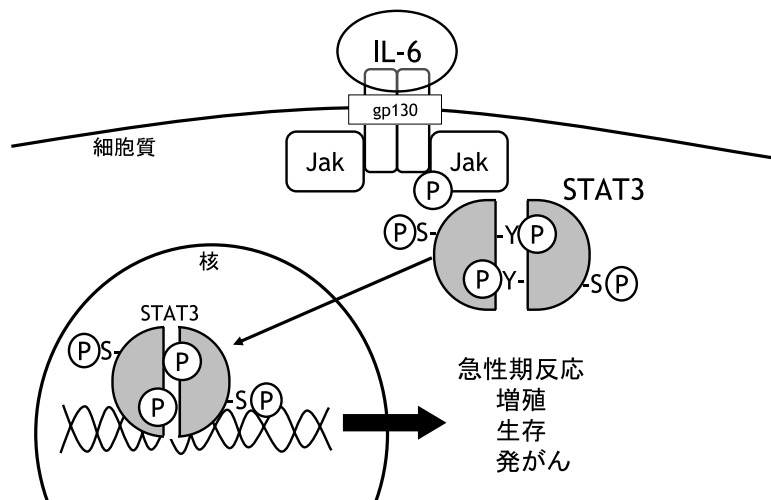


図2 STAT3の活性化機序と役割

STAT3は、IL-6による刺激の後、受容体gp130/Jakを介してチロシンのリン酸化を受け、さらにセリンのリン酸化後核内移行し、DNAと結合しターゲット遺伝子を発現する。

表1 STATs ファミリー

STATs	リガンド	STATs 欠損マウスの表現型	機能
1	IFN- α/β , IFN- γ	ウイルス・細菌感染にたいする自然免疫能低下	細胞増殖抑制
2	IFN- α/β	胎生早期致死	—
3	IL-6, IL-10, レプチン, 成長ホルモン	胎生早期致死; 消化器臓器形成不全	細胞増殖・分化・生存
4	IL-12, IL-23	Th1 細胞機能不全	Th1 細胞の増殖・分化・発達
5 (A/B)	IL-2, IL-15, 成長ホルモン	乳腺発生不全, 分泌不全	乳腺および分泌腺の働きの制御 成長ホルモン依存性成長制御
6	IL-4, IL-13	Th1 細胞機能不全	Th2 細胞の分化・発達

STATs ファミリーは、大きく六つのサブファミリーにわけられ、STAT3 は特に消化器系の臓器の形成に関与している。

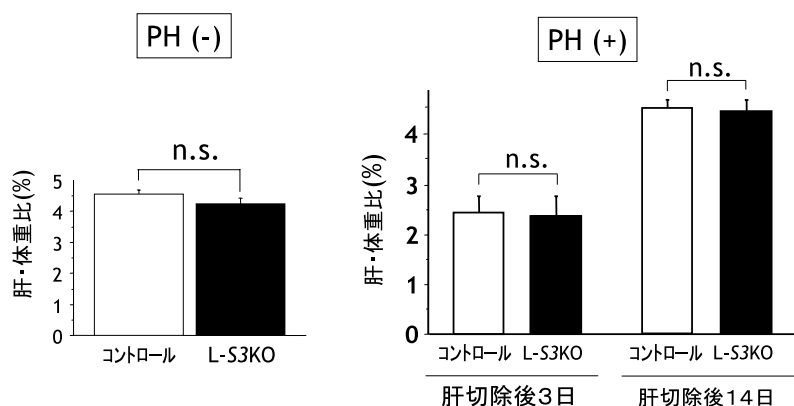


図3 肝 STAT3 欠損マウスにおける肝再生
肝特異的 STAT3 マウス (L-S3KO) において、肝切除後の肝再生は影響を受けない¹³⁾。PH (partial hepatectomy)：部分肝切除

STAT3 は肝再生時の細胞分裂・増殖に不可欠な因子であり、細胞生存にも重要な働きをしている可能性が示唆された⁹⁾。興味深いことに、我々の行ったアルブミンプロモーターで制御される Cre-loxP システムを用いた肝特異的 STAT3 欠損マウスにおける肝切除実験では、マウス肝再生において STAT3 欠損により細胞増殖は強く抑制されても肝再生自体は物理的にも、また機能的にも障害されてはなかった (図 3)¹³⁾。肝切除後の STAT3 活性の低下に伴い、そのターゲットであるサイクリン D1 などのタンパク質・遺伝子発現は抑制され、結果的に細胞増殖は強く抑制されていた。ところが、肝切除後早期において肝細胞分裂が障害されている間、肝細胞のサイズが代償的に増大しており、同時に Akt/GSK-3/mTOR/p70^{S6K} などいわゆる '生存シグナル群' の一時的な活性化が認められた (図 4)。肝特異的 STAT3 ノックアウトマウスでは、肝切除後 2 週間頃から遅れて緩やかな肝細胞の分裂が起こり始めるが、それに伴い肝細胞サイズも元に戻る傾向を示した。これらの結果から、肝再生時に細胞増殖が十分でない場合には、細胞サイズを増大させることにより一時的に肝再生を継続・

維持している可能性が示唆された。

これを確かめる目的で、'生存シグナル群' の上流に位置する 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) に対して、同様の手法で肝特異的 PDK1 ノックアウトマウスを作成し、肝切除実験を行った (未発表データ)。2/3 肝切除モデルでは、すべてのマウスが 24 時間以内に死亡した。また、1/3 肝切除では、すべて生存したもの、やはり肝の再生はほとんど認められなかった。興味深いことに、この時肝細胞の増殖は正常に起こっていたが、細胞サイズはむしろ低下し、アルブミンなどのタンパク質合成能も低下していた (コントロールマウスでは、肝切除後肝細胞サイズは増大していた)。さらに、肝特異的 STAT3 及び PDK1 のダブル・ノックアウトマウスにおける 1/3 肝切除実験を追加したところ、肝の再生は PDK1 ノックアウトマウスと同程度に抑制されたが、それ以上ではなかった。細胞増殖も、STAT3 ノックアウトマウスの場合と同程度に抑制されていた。

つまり、マウスを用いた肝切除モデルでは通常 Jak/STAT3 を主体とした細胞増殖機構により肝再生は継続・

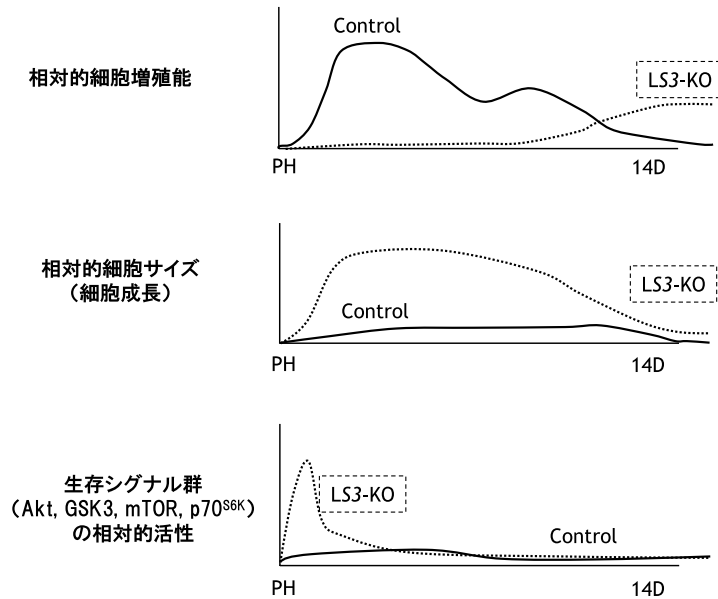


図4 STAT3欠損肝再生における生存シグナル群の動き
肝特異的STAT3マウスの肝切除後肝再生では、細胞のサイズの反応性の増大に伴い、直後から生存シグナル系が活性化されている¹⁹⁾。図のグラフは、細胞増殖、細胞成長、生存シグナル系の活性化について、それぞれの相対的強さの変化を時間的に表している。

維持されているが、何らかの原因でその機序が障害され十分な細胞増殖が起こらない場合には、PDK以下の経路(生存シグナル)が活性化される。この経路の活性化は、抗アポトーシスあるいはタンパク質合成促進などにより肝機能維持に重要な役割を果たし、細胞のサイズを増大(細胞成長)させることにより、肝再生(あるいは肝機能)を維持している可能性を示している。細胞増殖が障害された場合には、PDK1以下の経路を介した細胞成長の機序が代償的にバックアップ機構として働くことが考えられた。肝特異的PDK1ノックアウトマウス肝切除時に、その直ぐ上流であるPI3-Kを恒常活性型変異体(myr-p110)で活性化すると、PDK1以下のシグナル(Aktなど)は活性化されないが、STAT3は活性化した。肝細胞の増殖は、STAT3刺激により促進したが、にもかかわらず肝切除後の肝再生の改善は認められなかった(図5)。PDK1(およびそれ以下のシグナル群)は、肝の再生において細胞増殖ではなく細胞成長(あるいは細胞サイズと機能の維持)において、エッセンシャルな役割を果たしていると考えられた。他方、Jak/STAT3経路は、肝再生における細胞増殖においては中心的な役割を果たしていると考えられたが、肝の物理的・機能的再生には必須ではなく、この経路が障害されている場合、代償的にPDK1以下の経路が活性化され、肝再生を代償的に継続・維持していると考えられた(図6)。

さらに、肝特異的PDK1ノックアウトマウスにおいて、PDK1のpif結合ドメイン変異体^{49,50)}を用いて、p70 S6キナーゼ(S6K)/serum and glucocorticoid induced kinase(SGK)

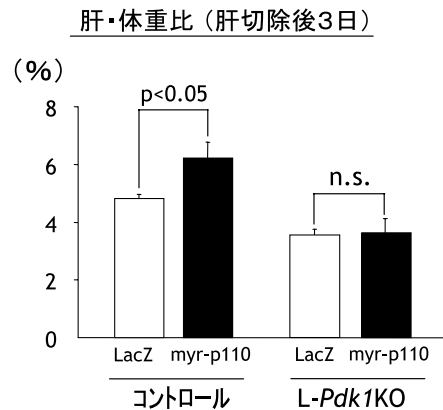


図5 肝PDK1欠損マウスにおける肝再生
肝特異的PDK1ノックアウトマウスにおける1/3肝切除モデルにおける肝再生。LacZ:βガラクトシダーゼを組み込んだコントロールアデノウイルス;myr-p110:恒常活性型変異体PI3-Kを組み込んだアデノウイルス(肝切除時にアデノウイルスベクターをそれぞれ1×10⁸pfu/bodyにて静脈注射し、肝にタンパク質を発現させた。)

上に存在する疎水性のHM(hydrophobic motif)キナーゼ部分とPDK1との結合を阻害することによりPDK1によるp70^{S6K}/SGKの活性化を阻害し、Aktのみのリン酸化を可能にしたところ(つまり、PDK1の下流へ流れるシグナルをAktのみとしたところ)、肝切除後肝再生は有意に改善された(未発表データ)。この事実は、肝細胞に強い傷害などが起こっていない状態での肝切除後肝再生においては、

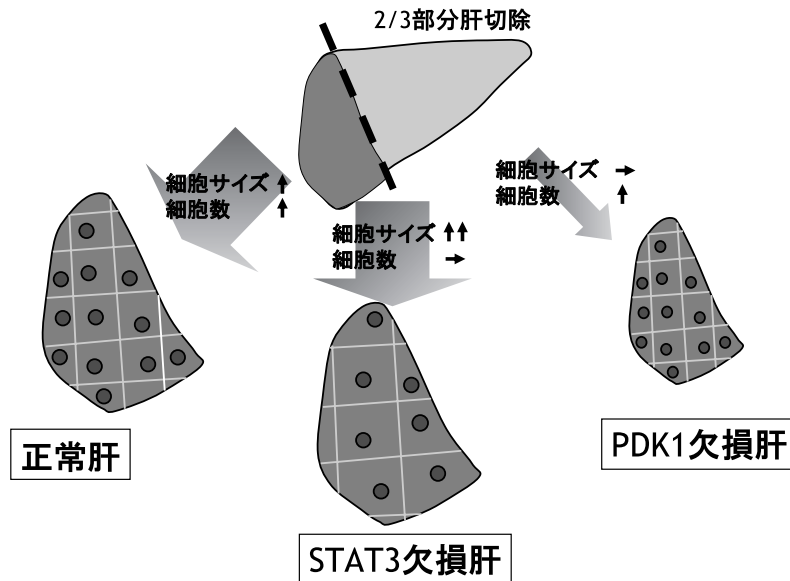


図6 肝特異的STAT3/PDK1ノックアウトマウスにおける肝切除後の肝再生
 正常肝では、肝の再生は細胞増殖および細胞成長により継続維持される。肝細胞のSTAT3が欠損しているとき、肝切除直後の細胞増殖は強く抑制されるが、代償的に活性化された生存シグナル群により細胞が成長し、肝再生を維持する。一方、PDK1が欠損しているとき肝切除後の細胞増殖は通常通り起こるが、細胞成長は抑制され肝の再生も強く抑制される。

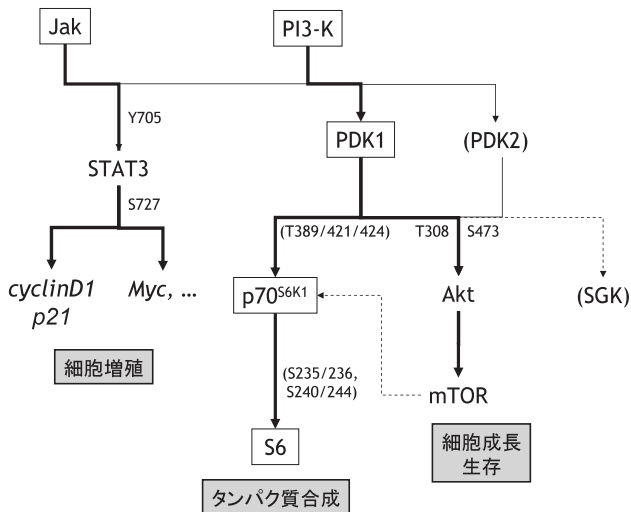


図7 肝再生におけるJak/STAT3およびPI3-K/PDK1主要シグナル経路の概略

通常の肝切除後肝再生では、STAT3を中心とした細胞増殖性シグナルが重要と考えられるが、何らかの原因で細胞増殖が抑制された場合には、PDK1/p70^{S6K}経路が代償的に働き、肝再生を継続・維持すると考えられる。また、強い傷害肝からの肝再生では、Jak/STAT3経路あるいはPDK1/Akt経路による抗アポトーシス能がより重要と考えられる。

Akt以下のシグナル経路の活性化とp70^{S6K}/SGK側に流れるシグナルはともに重要である可能性を示唆している。こうした観察から、少なくともマウス肝の再生では、再生するもとの肝の状態(傷害・障害の程度と機序)により、それぞれに適したシグナルが活性化され、最も適切かつ効率よい機序で肝再生が起こっていると考えられる(図7)。これらの可能性に関しては、種々の病態における更に詳細な検討が必要であろう。

3. 種々の病態における肝再生

a) 脂肪肝マウスの肝再生不全の機序

糖尿病、脂肪肝は、現在全世界的にその数を増やしてきており、内科的に、また外科的にも大きな問題となっている。日本では、2003年に行われた生体肝移植にて亡くなった患者が、術後NASH(non-alcoholic steato-hepatitis; 非アルコール性脂肪性肝炎)であると判明し、肝再生不全はこれが一因と考えられ注目された⁵¹⁾。レプチン受容体欠損マウス(db/dbマウス)でも、過食による体重増加、耐糖能異常、脂肪肝を認めるが、これを使った肝切除実験では、肝の再生不全が認められる^{3,52)}。一方、コリン欠乏食などで作成した脂肪肝では、肝再生は影響されないことも報告されている^{53,54)}。現在様々な脂肪肝モデルが存在し、それらによる解析結果が報告されているが、そのモデルにより様々な因子の影響があり、細胞内脂肪蓄積自体の肝再生への影響のコンセンサスも得られていないのが現状であ

る。db/db マウス (あるいは ob/ob マウス) では、肝切除後肝再生が障害されるが、その要因として肝切除後の反応性肝細胞増殖の低下が観察されている。我々は、脂肪肝細胞における Wee1, Myt-1 の発現の低下を認め、そのために Cdc2 のリン酸化が抑制されることを見出した³⁾。これによる S 期以降への細胞周期の進行障害により、細胞増殖プロセスの抑制が起これると考えられた。

また、db/db (ob/ob) マウスの脂肪肝モデルでは、肝切除後 STAT3 が強く活性化することが観察されている^{3,55)}。このモデルでは、脂肪代謝以外の代謝的な要因が関係し、それが STAT3 の活性に影響を与えている可能性があるが、この際 STAT3 が強く活性化されているのは、細胞増殖を促進するためのフィードバック機構によるもの、あるいは脂肪化した肝細胞を正常化するための機構が働くのではないかと考えられる。後者に関しては、STAT3 は SREBP-1 および PGD-1 α を介して肝細胞内の脂肪分解に働いている可能性を既に報告している⁵⁶⁾。

b) 加齢マウスの肝再生不全の機序

加齢による肝再生に関しても、特に臓器移植を含めた外科領域にて大きな問題となりつつある。これまでの臨床報告によれば、年齢による因子が肝再生に影響するというものと、あるいはあまり影響しないという両者の報告がある^{57,58)}。加齢小動物を用いた肝切除後肝再生実験では、肝切除後の肝再生は障害されるという報告がなされており、これらの原因は、一般に反応性の細胞増殖能の低下によるものとされている^{59,60)}。

我々が行った 20 月齢以上の加齢マウスを用いた肝切除実験では、確かに肝切除後の肝再生は月齢が進むごとに障害されていた。しかしながら、細胞増殖能は少なくとも低下しておらず、MAPK あるいは STAT3 など細胞増殖性のシグナル活性はむしろ増強しているのが観察された。その代わりに、Akt を中心とした一連の生存シグナル群の活性は低下していた (未発表データ)。肝切除直後の肝細胞のアポトーシスは、加齢肝で著明に増強しており、肝再生不全は増殖抑制というよりも、むしろ肝細胞傷害 (アポトーシス) によるものの可能性が強くと示唆された。

ところで、SHC は哺乳類の Ras/MAP キナーゼ経路における EGF 受容体のアダプタータンパク質として同定されたタンパク質である⁶¹⁾。加齢マウスの肝切除に際して、細胞増殖に関与する p46/52^{SHC} は STAT3 と同様にチロシン残基がより強くリン酸化されたが、p66^{SHC} に関しては、チロシン残基のリン酸化は抑制されていたが、逆にセリン残基のリン酸化は増強していた。後者は、細胞内酸化的ストレスに関与し、アポトーシスなどの誘導により細胞の老化・寿命に関与すると考えられており、事実カタラーゼ、Ref-1 (redox factor-1)、Mn-SOD およびチオレドキシンの発現していることが報告されている^{62,63)}。若年マウスではこの

ような変化が観察されなかったことから、加齢による肝再生 (あるいは細胞増殖) では酸化的ストレスが何らかの機序で関与しているのかもしれない。

脂肪肝および加齢肝における肝再生では、ともに STAT3 が強く活性化していたが、後者においては細胞増殖が誘導されているにもかかわらず肝再生は障害されていた³⁾。これらのデータは、肝再生における STAT3 の重要性を否定するものではないが、肝再生の本質が「細胞増殖」のみではなく、いわゆる生存シグナル群の制御する「細胞成長」「抗アポトーシス能」も同様に重要であることを示すものと考えている。

c) Fas 刺激による急性肝傷害からの肝再生

ところで、我々は STAT3 の肝細胞保護効果の機序を調べるため、Fas-L/Fas によって引き起こされるマウスの肝傷害モデルを作成し実験を行った⁶⁴⁾。活性化 STAT3 強制発現により Fas-L (Jo2) による肝傷害は強力に抑制されたが、肝特異的 STAT3 ノックアウトマウスでは重度の肝傷害が認められた。さらに、このマウス肝に活性化 STAT3 を導入することにより、肝傷害は改善された。これらの観察結果は、STAT3 が細胞増殖に関与するだけではなく、強力な細胞保護作用を有していることを示している。肝細胞においては、STAT3 の強制発現により、Bcl-2/Bcl-xL/FLIP (FLICE inhibitor protein) が上方制御され、その結果 FLICE/カスパーゼ-3 の活性が抑制されていた。ところで、この Fas-L/Fas 刺激による肝細胞傷害には、その機序の一つとして活性酸素の関与が示唆されており、レドックス感受性のシグナル (特にカスパーゼ) の活性化が関与していることも知られている⁶⁵⁾。事実 *N*-acetyl cysteine : NAC などの抗酸化剤は肝細胞傷害およびカスパーゼの活性を抑制する⁶⁶⁾。我々の実験により、STAT3 が抗アポトーシス関連分子をターゲットとするだけでなく、抗酸化に関連した Mn-SOD および Ref-1 をもターゲットとし、これにより抗酸化効果を発現することが判明した⁶⁷⁾。

STAT3 の細胞傷害抑制 (あるいは再生促進) のメカニズムには、a) 抗アポトーシスタンパク質の誘導、b) 酸化ストレスの抑制、c) 細胞増殖促進などの機構が関与していると考えられる (図 8)。

4. マウス肝における STAT3 の種々のターゲット遺伝子

STAT3 により制御されるターゲット遺伝子は現在盛んに研究が進められているが、いくつかのものがターゲット遺伝子として同定され、機能解析が行われている^{44,67)}。肝切除後肝再生時の STAT3 の活性化とそのターゲット遺伝子に関しては、細胞増殖関連遺伝子 (サイクリン D1, p21 など) があるが、種々の病態に応じて、様々な遺伝子をターゲットとしていると考えられる⁶⁸⁾。アデノウイルスベクターを用いて活性化 STAT3 を肝に導入すると、肝細胞

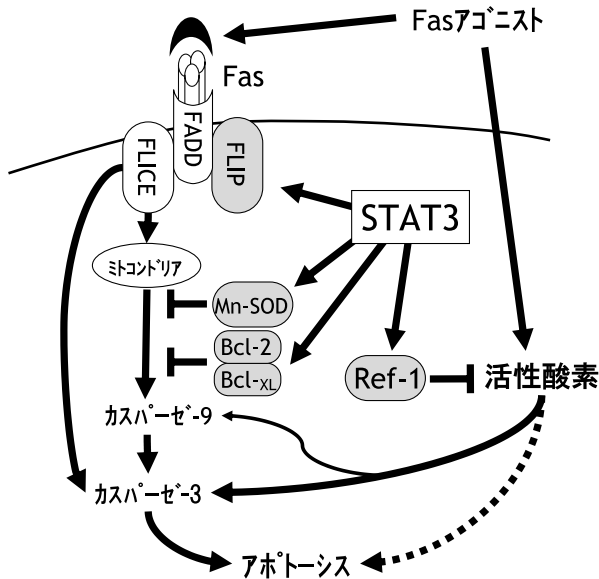


図8 STAT3によるカスケード反応抑制と抗酸化機能による肝傷害抑制効果の作用機序

肝における Fas アゴニストは、カスパーゼのカスケード反応、および活性酸素 (ROS) 産生によって肝細胞のアポトーシスを誘導し肝傷害を惹起する。STAT3 あるいはそのリガンドとしての IL-6 は、FLIP/Bcl-2/Bcl-xL などのタンパク質を誘導し直接カスパーゼ活性経路を抑制し、他方 Mn-SOD, Ref-1 の誘導により抗酸化的な機序でカスパーゼの活性を抑える。

は STAT3 発現増加に応じて著しく増殖し、肝重量を正常以上に増す⁶⁹。約 1 ヶ月でタンパク質発現が減少すれば、それにともない反応性の肝の腫大も正常に回復する。これは、サイクリンなどの一時的なタンパク質レベルの増加による細胞増殖により説明されよう。最近 STAT3 は、抗アポトーシス、抗酸化以外にも、肝細胞における糖代謝・脂肪代謝に関与することが示された⁵⁶。

a) 抗アポトーシス作用

Fas を介したアポトーシスシグナルによる細胞死の誘導系は比較的シンプルであり、その機序もよく研究されている^{70,71}。前述の我々の Fas 肝傷害実験では、IL-6 の主要な下流シグナルである STAT3 は Fas 抗原刺激後におこる肝のアポトーシスを著しく抑制し、これまで報告されていた IL-6 の抗アポトーシス効果は主に STAT3 を介して発揮されている可能性が示された⁶⁴。さらに STAT3 は、抗アポトーシスタンパク質である FLIP, Bcl-2, Bcl-xL 遺伝子をターゲットとし、上方制御することも判明した。このように STAT3 は抗アポトーシス関連タンパク質を上方制御することによってアポトーシス抑制作用を示し、細胞保護に働いていると考えられる。

b) 抗酸化効果

Fas-L などによる肝傷害では、細胞内に発生する活性酸素種がその傷害を仲介する重要な因子であると考えられ

ている^{72,73}。STAT3 は、心臓において Mn-SOD を上方制御することにより抗酸化効果を示すことが報告されていたが⁷⁴、我々は、肝細胞においても STAT3 が Mn-SOD をターゲットとすることを確認するとともに STAT3 の新たなターゲット遺伝子として、レドックス関連タンパク質である Ref-1 を特定した⁶⁴。Ref-1 は、当初エンドヌクレアーゼ活性を有する核内分子として報告されたが、その還元作用により AP-1 や NF- κ B などのさまざまなレドックス感受性転写因子の制御因子としても働くことが報告されている⁷⁵⁻⁷⁷。Fas 依存性肝傷害において、活性化 STAT3 は Mn-SOD とともに Ref-1 を上方制御し、Ref-1 の抗酸化作用により肝細胞の酸化的ストレスを抑制し、レドックス感受性カスパーゼ-3 の活性を抑えることによりアポトーシスを抑制すると考えられた⁶⁴。興味深いことに、STAT3 が Cu/Zn-SOD をターゲットにしている証拠は今のところなく、これら SOD 発現における STAT3 の詳細とレドックス依存性の細胞内情報伝達の機序の解明に関しては今後の研究が待たれるところである。細胞内レドックスシグナル制御に関与する活性酸素種の発生源に関しては、細胞膜上の Nox (非貪食細胞)/NADPH oxidase (貪食細胞) あるいはミトコンドリアなどが考えられるが⁷⁸⁻⁸⁰、その消去系である Cu/Zn-SOD あるいは Mn-SOD のそれらとの関連の詳細はいまだ不明である。

c) 糖代謝・脂肪代謝

最近、肝における STAT3 の糖代謝についての興味深い知見が得られた。生体内において糖新生関連遺伝子 (*PKC-1*, *G6P*) は、主にインスリンやグルカゴンによって制御されていることはよく知られている^{81,82}。近年、IL-6 はこれらの遺伝子を抑制的に制御していることが示された⁸³⁻⁸⁵。また、STAT3 は、肝糖新生系酵素 (*PGC-1 α* , *PEPCK*, *G6Pase*) の発現を介して肝糖産生の調節に重要な役割を果たすことが示されている⁵⁶。また、肝特異的 STAT3 ノックアウトマウスでは、肝での糖新生関連遺伝子の発現増加による耐糖能異常を伴ってインスリン抵抗性を示した。これらの事実より、肝における STAT3 の糖新生関連遺伝子への関わりが明らかとなり、糖新生・代謝の恒常的な制御に重要であることが示唆された。この発見は、糖尿病の新たな治療標的を示すものとなるかもしれない。

同様に STAT3 の脂肪代謝への影響も研究されている。STAT3 は、*SREBP-1* の発現を直接抑制することにより脂肪代謝にも関与することが示唆されている⁸⁶。我々の研究においても、STAT3 を強制発現することにより、レプチン受容体欠損 db/db マウスの高インスリン血症は改善され、さらに肝細胞内の *SREBP-1* が抑制されることにより、肝細胞の脂肪化を劇的に改善した⁵⁶。

最 後 に

当初 STAT3 は腫瘍性タンパク質として研究が始まったが、その後の研究により、細胞増殖・生存に最も重要な転写因子の一つであり、肝再生においても重要な役割を果たしていることが知られるようになってきた。STAT3 は肝傷害に対して、抗アポトーシス・抗酸化作用の両面から肝細胞保護に働き、さらに肝細胞内糖・脂肪代謝にも関与している。また、PDK1/AktあるいはPDK1/p70^{S6K}経路は、肝傷害（障害）の原因あるいはその程度に応じて、細胞保護あるいは細胞成長の面から肝再生の継続・維持に貢献している可能性がある。今後そのメカニズム、合目的性など更に詳しく研究されることが期待される。

謝辞

本稿で示した研究成果は、北海道大学をはじめ神戸大学、国立成育医療センター研究所、岡山大学の多くの共同研究者との共同研究の成果であり、心から感謝を申し上げます。

文 献

- 1) Taub, R. (2004) *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **5**, 836-847.
- 2) Yokoyama, Y., Nagino, M., & Nimura, Y.J. (2007) *Hepato-biliary Pancreat. Surg.*, **14**, 159-166.
- 3) Murata, H., Yagi, T., Iwagaki, H., Ogino, T., Sadamori, H., Matsukawa, H., Umeda, Y., Hagam, S., Takaka, N., & Ozaki, M. (2007) *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **22**, 2173-2180.
- 4) Yang, S.Q., Lin, H.Z., Mandal, A.K., Huang, J., & Diehl, A.M. (2001) *Hepatology*, **34**, 694-706.
- 5) Selzner, M. & Clavien, P.A. (2000) *Hepatology*, **31**, 35-42.
- 6) Devi, S.S. & Mehendale, H.M. (2005) *Eur. J. Pharmacol.*, **523**, 127-136.
- 7) Liatsos, C., Hadjileontiadis, L.J., Theocharis, S., Petridou, E., Margeli, A., Skaltsas, S., Mavrogiannis, C., & Mykoniatis, M. (2005) *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **20**, 126-134.
- 8) Schmucker, D.L. (2005) *Exp. Gerontol.*, **40**, 650-659.
- 9) Gagliano, N., Grizzi, F., & Annoni, G. (2007) *Dig. Dis.*, **25**, 118-123.
- 10) Shirabe, K., Shimada, M., Gion, T., Hasegawa, H., Takenaka, K., Utsunomiya, T., & Sugimachi, K. (1999) *J. Am. Coll. Surg.*, **188**, 304-309.
- 11) Topal, B., Kaufman, L., Aerts, R., & Penninckx, F. (2003) *Eur. J. Surg. Oncol.*, **29**, 248-253.
- 12) Fausto, N. (2004) *Hepatology*, **39**, 1477-1487.
- 13) Haga, S., Ogawa, W., Inoue, H., Terui, K., Ogino, T., Igarashi, R., Takeda, K., Akira, S., Enosawa, S., Furukawa, H., Todo, S., & Ozaki, M. (2005) *J. Hepatol.*, **43**, 799-807.
- 14) White, P., Brestelli, J.E., Kaestner, K.H., & Greenbaum, L.E. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 3715-3722.
- 15) Diehl, A.M. & Rai, R.M. (1996) *FASEB J.*, **10**, 215-227.
- 16) Sell, S. (2001) *Hepatology*, **33**, 738-750.
- 17) Malik, R., Selden, C., & Hodgson, H. (2002) *Semin. Cell. Dev. Biol.*, **13**, 425-431.
- 18) Diehl, A.M. & Rai, R. (1996) *J. Gastroenterol. Hepatology*, **11**, 466-470.
- 19) Khan, A.Z. & Mudan, S.S. (2007) *A N Z. J. Surg.*, **77**, 9-14.
- 20) Higgins, G.M. & Anderson, R.M. (1931) *Arch. Pathol.*, **12**, 186-202.
- 21) Taub, R. (1996) *FASEB J.*, **10**, 413-427.
- 22) Kountouras, J., Boura, P., & Lygidakis, N.J. (2001) *Hepato-gastroenterology*, **48**, 556-562.
- 23) Togo, S., Makino, H., Kobayashi, T., Morita, T., Shimizu, T., Kubota, T., Ichikawa, Y., Ishikawa, T., Okazaki, Y., Hayashi-zaki, Y., & Shimada, H. (2004) *J. Hepatol.*, **40**, 464-471.
- 24) Brenner, D.A. (1998) *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **13**, S93-S95.
- 25) Stepniak, E., Ricci, R., Eferl, R., Sumara, G., Sumara, I., Rath, M., Hui, L., & Wagner, E.F. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 2306-2314.
- 26) Natarajan, A., Wagner, B., & Sibia, M. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **104**, 17081-17086.
- 27) Baier, P.K., Baumgartner, U., Hempel, S., Wolff-Vorbeck, G., von Dobschuetz, E., & Hopt, U.T. (2005) *Eur. Surg. Res.*, **37**, 290-297.
- 28) Boulton, R.A., Alison, M.R., Golding, M., Selden, C., & Hodgson, H.J. (1998) *J. Hepatol.*, **29**, 271-280.
- 29) Kiba, T. (2002) *Digestion*, **66**, 79-88.
- 30) Moro, L., Marra, E., Capuano, F., & Greco, M. (2004) *Endocrinology*, **145**, 5121-5128.
- 31) Malik, R., Habib, M., Tootle, R., & Hodgson, H. (2005) *Am. J. Transplant.*, **5**, 1801-1807.
- 32) Koplow, K., Waysms, K., Enzmann, H., & Mayer, D. (2005) *Int. J. Oncol.*, **27**, 1551-1558.
- 33) Sabugal, R., Robert, M.Q., Julve, J., Auwerx, J., Llobera, M., & Peinado-Onsurbe, J. (1996) *Biochem. J.*, **318**, 597-602.
- 34) Tang, T.X., Hashimoto, T., Chao, L.Y., Itoh, K., & Manabe, T. (1997) *J. Surg. Res.*, **72**, 8-14.
- 35) Marti, U., Burwen, S.J., & Jones, A.L. (1989) *Hepatology*, **9**, 126-138.
- 36) Zimmers, T.A., McKillop, I.H., Pierce, R.H., Yoo, J.Y., & Koniaris, L.G. (2003) *Hepatology*, **38**, 326-334.
- 37) Patijn, G.A., Lieber, A., Schowalter, D.B., Schwall, R., & Kay, M.A. (1998) *Hepatology*, **28**, 707-716.
- 38) Freedman, A.R., Sharma, R.J., Nabel, G.J., Emerson, S.G., & Griffin, G.E. (1992) *Biochem. J.*, **287**, 645-649.
- 39) Imuro, Y., Seki, E., Son, G., Tsutsui, H., Nakanishi, K., & Fujimoto, J. (2007) *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **22**, S57-S58.
- 40) Pennisi, P.A., Kopchick, J.J., Thorgeirsson, S., LeRoith, D., & Yakar, S. (2004) *Endocrinology*, **145**, 4748-4755.
- 41) Darnell, J.E., Kerr, I.M., & Stark, G.R. (1994) *Science*, **264**, 1415-1421.
- 42) Darnell, J.E. (1997) *Science*, **277**, 1630-1635.
- 43) Bromberg, J. & Darnell, J.E. (2000) *Oncogene*, **19**, 2468-2473.
- 44) Bowman, T., Garcia, R., Turkson, J., & Jove, R. (2000) *Oncogene*, **19**, 2474-2488.
- 45) Levy, D.E. & Lee, C.K. (2002) *J. Clin. Invest.*, **109**, 1143-1148.
- 46) Cressman, D.E., Diamond, R.H., & Taub, R. (1995) *Hepatology*, **21**, 1443-1449.
- 47) Blindenbacher, A., Wang, X., Langer, I., Savino, R., Terracciano, L., & Heim, M.H. (2003) *Hepatology*, **38**, 674-682.
- 48) Cressman, D.E., Greenbaum, L.E., DeAngelis, R.A., Ciliberto, G., Furth, E.E., Poli, V., & Taub, R. (1996) *Science*, **274**, 1379-1383.
- 49) Collins, B.J., Deak, M., Arthur, J.S., Armit, L.J., & Alessi, D.

- R. (2003) *EMBO J.*, **22**, 4202–4211.
- 50) McManus, E.J., Collins, B.J., Ashby, P.R., Prescott, A.R., Murray-Tait, V., Armit, L.J., Arthur, J.S., & Alessi, D.R. (2004) *EMBO J.*, **23**, 2071–2082.
- 51) Yamamoto, K., Takada, Y., Fujimoto, Y., Haga, H., Oike, F., Kobayashi, N., & Tanaka, K. (2007) *Transplantation*, **83**, 257–262.
- 52) Yamauchi, H., Uetsuka, K., Okada, T., Nakayama, H., & Doi, K. (2003) *Exp. Toxicol. Pathol.*, **54**, 281–286.
- 53) Picard, C., Lambotte, L., Starkel, P., Sempoux, C., Saliez, A., Van den Berge, V., & Horsmans, Y. (2002) *J. Hepatol.*, **36**, 645–652.
- 54) Veteläinen, R., van Vliet, A.K., & van Gulik, T.M. (2007) *Ann. Surg.*, **245**, 44–50.
- 55) Torbenson, M., Yang, S.Q., Liu, H.Z., Huang, J., Gage, W., & Diehl, A.M. (2002) *Am. J. Pathol.*, **161**, 155–161.
- 56) Inoue, H., Ogawa, W., Ozaki, M., Haga, S., Matsumoto, M., Furukawa, K., Hashimoto, N., Kido, Y., Mori, T., Sakaue, H., Teshigawara, K., Jin, S., Iguchi, H., Hiramatsu, R., LeRoith, D., Takeda, K., Akira, S., & Kasuga, M. (2004) *Nat. Med.*, **10**, 168–174.
- 57) Rodríguez González, F., Jiménez Romero, C., Rodríguez Romano, D., Loinaz Seguro, C., Marqués Medina, E., Pérez Saborido, B., García García, I., Rodríguez Cañete, A., & Moreno González, E. (2002) *Transplant. Proc.*, **34**, 233–234.
- 58) Hirata, M., Harihara, Y., Kitamura, T., Hisatomi, S., Kato, M., Dowaki, S., Mizuta, K., Sugawara, Y., Kita, Y., Kubota, K., Takayama, T., Kawarasaki, H., Hashizume, K., & Makuuchi, M. (2001) *Transplant. Proc.*, **33**, 1416–1417.
- 59) Krupczak-Hollis, K., Wang, X., Dennewitz, M.B., & Costa, R. H. (2003) *Hepatology*, **38**, 1552–1562.
- 60) Biondo-Simões Mde, L., Matias, J.E., Montibeller, G.R., Siqueira, L.C., Nunes Eda, S., & Grassi, C.A. (2006) *Acta Cir. Bras.*, **21**, 197–202.
- 61) Pellegrini, M., Pacini, S., & Baldari, C.T. (2005) *Apoptosis*, **10**, 13–18.
- 62) Nemoto, S. & Finkel, T. (2002) *Science*, **295**, 2450–2452.
- 63) Haga, S., Terui, K., Fukai, M., Oikawa, Y., Irani, K., Furukawa, H., Todo, S., & Ozaki, M. (2008) *J. Hepatol.* (in press).
- 64) Haga, S., Terui, K., Zhang, H.Q., Enosawa, S., Ogawa, W., Inoue, H., Okuyama, T., Takeda, K., Akira, S., Ogino, T., Irani, K., & Ozaki, M. (2003) *J. Clin. Invest.*, **112**, 989–998.
- 65) Jaeschke, H., Gores, G.J., Cederbaum, A.I., Hinson, J.A., Pes-sayre, D., & Lemasters, J.J. (2002) *Toxicol. Sci.*, **65**, 166–176.
- 66) Wang, H., Xu, D.X., Lu, J.W., Zhao, L., Zhang, C., & Wei, W. (2007) *Acta Pharmacol. Sin.*, **28**, 1803–1809.
- 67) Bromberg, J. (2002) *J. Clin. Invest.*, **109**, 1139–1142.
- 68) Terui, K. & Ozaki, M. (2005) *Drugs Today*, **41**, 461–469.
- 69) Huda, K.A., Guo, L., Haga, S., Murata, H., Ogino, T., Fukai, M., Yagi, T., Iwagaki, H., Tanaka, N., & Ozaki, M. (2006) *Transpl. Int.*, **19**, 415–423.
- 70) Nagata, S. (1999) *Annu. Rev. Genet.*, **33**, 29–55.
- 71) Matsumura, H., Shimizu, Y., Ohsawa, Y., Kawahara, A., Uchiyama, Y., & Nagata, S. (2000) *J. Cell. Biol.*, **151**, 1247–1256.
- 72) Malassagne, B., Ferret, P.J., Hammoud, R., Tulliez, M., Bedda, S., Trébédén, H., Jaffray, P., Calmus, Y., Weill, B., & Batteux, F. (2001) *Gastroenterology*, **121**, 1451–1459.
- 73) Gulbins, E., Brenner, B., Schlottmann, K., Welsch, J., Heinle, H., Koppenhoefer, U., Linderkamp, O., Coggeshall, K.M., & Lang, F. (1996) *Immunology*, **89**, 205–212.
- 74) Negoro, S., Kunisada, K., Fujio, Y., Funamoto, M., Darville, M.I., Eizirik, D.L., Osugi, T., Izumi, M., Oshima, Y., Nakaoka, Y., Hirota, H., Kishimoto, T., & Yamauchi-Takahara, K. (2001) *Circulation*, **104**, 979–981.
- 75) Yan, M., Xu, W., Lu, L., Sun, L., Liu, X., & Zheng, Z. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **278**, 462–469.
- 76) Diamond, D.A., Parsian, A., Hunt, C.R., Lofgren, S., Spitz, D. R., Goswami, P.C., & Gius, D. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 16959–16964.
- 77) Hirota, K., Matsui, M., Iwata, S., Nishiyama, A., Mori, K., & Yodoi, J. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **94**, 3633–3638.
- 78) Suh, Y.A., Arnold, R.S., Lassegue, B., Shi, J., Xu, X., Sorescu, D., Chung, A.B., Griendling, K.K., & Lambeth, J.D. (1999) *Nature*, **401**, 79–82.
- 79) Lambeth, J.D., Cheng, G., Arnold, R.S., & Edens, W.A. (2000) *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 459–461.
- 80) Kohli, R., Pan, X., Malladi, P., Wainwright, M.S., & Whiting-ton, P.F. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 21327–21336.
- 81) Dong, X., Park, S., Lin, X., Copps, K., Yi, X., & White, M.F. (2006) *J. Clin. Invest.*, **116**, 101–114.
- 82) Salgado, M.C., Metón, I., Egea, M., & Baanante, I.V. (2004) *J. Mol. Endocrinol.*, **33**, 783–795.
- 83) Christ, B., Nath, A., & Jungermann, K. (1997) *Hepatology*, **26**, 73–80.
- 84) Christ, B., Yazici, E., & Nath, A. (2000) *Hepatology*, **31**, 461–468.
- 85) Metzger, S., Goldschmidt, N., Barash, V., Peretz, T., Drize, O., Shilyansky, J., Shiloni, E., & Chajek-Shaul, T. (1997) *Am. J. Physiol.*, **273**, E262–E267.
- 86) Ueki, K., Kondo, T., Tseng, Y.H., & Kahn, C.R. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **101**, 10422–10427.