



Title	Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Signaling Within Hepatocytes Attenuates Systemic Inflammatory Response and Lethality in Septic Mice
Author(s)	阪森, 亮太郎
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48873
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	阪森亮太郎
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第21869号
学位授与年月日	平成20年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学位論文名	Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Signaling Within Hepatocytes Attenuates Systemic Inflammatory Response and Lethality in Septic Mice (肝細胞 STAT3 はマウス敗血症において全身炎症を減弱し生存率を改善させる)
論文審査委員	(主査) 教授 林 紀夫 (副査) 教授 川瀬 一郎 教授 金倉 譲

論文内容の要旨

〔背景と目的〕

肝細胞 STAT3 は、急性期蛋白の発現に関わる DNA 結合蛋白として同定された。その後、肝切後の肝細胞増殖 (Li W et al. J. Biol. Chem. 2002, 277, 28411-28417) や、Fas による肝障害において抗アポトーシス効果 (Haga et al. J. Clin. Invest. 2003, 112, 989-998)、糖新生遺伝子の制御 (Inoue et al. Nat. Med. 2004, 10, 168-174) など、さまざまな作用を有することが報告された。さらにラット敗血症モデルにおいて肝 STAT3 が活性化されることが報告されたが (Andrejko KM et al. Am. J. Physiol. 1998, 275, G1423-G1429)、その役割については明らかとはならなかつた。STAT3 はサイトカインに反応して活性化するが、全身炎症時における肝細胞 STAT3 の重要性についての報告はなく、その意義についての検討が十分ではなかつた。そこで肝細胞特異的 STAT3 ノックアウトマウスを用いて、種々の敗血症モデルを作成し、生体防御における肝細胞 STAT3 の役割を明らかにすることを目的として検討を行つた。

〔方法〕

loxP 配列により STAT3 遺伝子を挟み込み Alb-Cre マウスと交配させる Cre-loxP システムにより、肝細胞特異的に STAT3 をノックアウトした。ノックアウトマウスには Alb(+)STAT3(f/f) マウス及び Alb(+)STAT3(f/-) マウスを、コントロールには同腹の Alb(-)STAT3(f/f) マウス及び Alb(-)STAT3(f/-) マウスを用いた。敗血症モデルとして CLP (cecal ligation & puncture) モデルと LPS 腹腔内投与モデル (4 mg/kg) を用いた。処置後、血中細菌量、血清 ALT、血中サイトカイン、肝臓組織染色を 2 群で比較検討した。またノックアウト群、コントロール群それぞれの初代培養肝細胞の培養液を用い、マウス・マクロファージ細胞 (RAW264.7) 及び脾細胞を培養し、LPS 刺激 (100 ng/ml) によるサイトカインの産生量を評価した。

〔成績〕

CLP モデルにおいて処置 6 時間後をピークに、肝臓 STAT3 が活性化された。CLP モデルにおいて、ノックアウト

群はコントロール群に比べ生存率が有意に低下していたが、血中の細菌量では2群間に差を認めなかった。CLP モデル、LPS モデルとともに、血清 ALT はノックアウト群で有意に高値を認めた。肝組織 TUNEL 染色により、ノックアウト群において有意に TUNEL 陽性細胞数の増加を認めた。また、IL-6 や TNF- α 、IFN- γ を含む炎症サイトカインとともに、IL-10 などの抗炎症サイトカインは、コントロール群に比しノックアウト群において有意に増加していた。さらに、フィブリノーゲンやハプトグロビンなどの急性期蛋白は、処置後、ノックアウト群に比ベコントロール群において有意に増加を認めた。ノックアウトマウスに比しコントロールマウスから得られた初代培養肝細胞の上清中にハプトグロビンを多量に検出した。両培養上清を用いて、マクロファージ細胞と脾細胞を培養したところ、LPS 刺激下の TNF- α 、IL-6、IFN- γ の産生量は、ノックアウトマウス肝細胞の培養上清を用いた培養液において有意に高値を認めた。

[総括]

肝細胞における STAT3 の欠損は、敗血症において肝細胞アポトーシスを増強した。さらに血中細菌量には影響を及ぼさないが、高サイトカイン血症を引き起こし、生存率を低下させることが明らかとなった。また STAT3 制御下において肝細胞の分泌する液性因子がマクロファージ細胞の TNF- α 産生を抑制することが明らかとなった。敗血症において活性化される肝細胞 STAT3 は、全身性の高サイトカイン血症を抑制する効果があり、生体を防御する上で必須な役割を持つことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

肝細胞 STAT3 は、急性期蛋白の発現に関わる DNA 結合蛋白として同定された。その後、肝切後の肝細胞増殖や、Fas による肝障害においての抗アポトーシス効果、糖新生遺伝子の制御など、さまざまな作用を有することが報告された。さらにラット敗血症モデルにおいて肝 STAT3 が活性化されることが報告されたが、その役割については明らかとはならなかった。STAT3 はサイトカインに反応して活性化するが、全身炎症時における肝細胞 STAT3 の重要性についての報告はなく、その意義についての検討は十分ではなかった。

本研究は、肝細胞特異的 STAT3 ノックアウトマウスを用いて実験系を組み、肝細胞 STAT3 と炎症との関わりを検討したものである。敗血症刺激により肝細胞 STAT3 が活性化されること、また肝細胞 STAT3 が急性期蛋白発現に関わることはすでに報告されているが、炎症に対する肝臓の関わりについては明示されなかった。本研究により肝細胞の分泌する液性因子が免疫細胞に影響を与えることが明らかとなり、肝細胞 STAT3 が全身炎症の抑制、さらには敗血症による致死からの回避という重要な役割を有することが証明された。このように肝臓の一つの遺伝子の欠損が個体生存に深く関わることの証明は数少ない。本研究は、肝臓が免疫システムに対してどのような影響を及ぼすのかについて明らかにした初めての報告であり、全身免疫系における肝臓の役割を位置づける意義のある検討であると考えられ、博士（医学）の学位に値する。