

<特集「間質細胞 その生理と病態制御」>

## 非アルコール性脂肪性肝疾患と肝星細胞

原 田 義 規\*

京都府立医科大学大学院医学研究科細胞分子機能病理学

### Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Hepatic Stellate Cells

Yoshinori Harada

*Department of Pathology and Cell regulation,  
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

#### 抄 録

非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD) は、肝細胞に中性脂肪が過剰に蓄積し肝障害を引き起こす病態で、アルコール性肝障害など他の肝疾患を除外した疾患である。NAFLD は、非アルコール性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver: NAFL) と非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis: NASH) に分類され進展すると線維化をきたし、肝硬変や肝癌を発症することがある。NAFLD において肝星細胞 (hepatic stellate cell) は活性化すると I 型コラーゲン等を産生し線維化進展に重要な役割を演じる。本稿では、NAFLD 病態形成における肝星細胞の役割と活性化機序について概説したい。

キーワード：非アルコール性脂肪性肝疾患、肝星細胞、線維化。

#### Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a liver damage in which triglyceride accumulates excessively in hepatocytes without any other liver conditions such as alcoholic liver injury and viral hepatitis. NAFLD is classified into nonalcoholic fatty liver (NAFL) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). NAFLD has potential to develop cirrhosis and hepatocellular carcinoma. In NAFLD, activated hepatic stellate cells produce collagens and play important roles in the progression of fibrosis. Here, we describe mechanisms of hepatic fibrosis and roles of hepatic stellate cells in NAFLD.

**Key Words:** Nonalcoholic fatty liver disease, Hepatic stellate cell, Fibrosis.

#### はじめに

肝星細胞 (Hepatic stellate cell) は、肝細胞

と類洞内皮細胞の間の Disse 腔に存在する非実質細胞の一つで、肝臓が障害を受け線維化する際に中心的な役割を果たす<sup>1)</sup>。正常肝では肝星

令和3年3月15日受付 令和3年3月15日受理

\*連絡先 原田義規 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465番地

yoharada@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.130.04.247

細胞は静止期にあり、ビタミンAを貯蔵する。肝障害が生じると肝星細胞は活性化し、分裂能・遊走能が増し、コラーゲン等の細胞外マトリックスを産生し、線維化に寄与する。肝線維化過程において、肝星細胞はI型コラーゲン産生の約80%を担う<sup>2)3)</sup>。従って、活性型肝星細胞の制御は肝線維化抑制に重要である。

非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD) は、肝組織に主に大滴性脂肪滴が沈着する肝疾患で、アルコール性肝障害など他の肝疾患を除外した病態である。糖尿病、肥満、脂質異常症などのさまざまな代謝異常を伴って発生することが多く、我が国では約1,500万人以上が罹患している。NAFLDは、非アルコール性脂肪性肝 (non-alcoholic fatty liver: NAFL) (単純性脂肪肝とも呼称) と非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis: NASH) に分類される<sup>4)5)</sup>。NAFLは、線維化や細胞の変性所見である肝細胞風船様変性 (hepatocellular ballooning) を伴わない肝細胞への脂肪沈着により特徴づけられる。脂肪沈着に加え、炎症を伴い肝細胞の風船様変性がみられるものをNASHと診断し、NASHではしばしば線維化を伴う。肝細胞の風船様変性は、水腫変性ともいわれ、NAFLかNASHかを判別するために重要とされる。従来、NAFLはほとんど進行せず、NASHは肝硬変や肝細胞癌に進行するリスクがあるとされたが、近年、NAFLとNASHの判別が困難な例やNAFLと診断されてもNASHに進展する例が報告され<sup>5)</sup>、NAFLは進行せず、肝硬変等に進行するのはNASHのみであるという概念は変わってきている。現在、NAFLDの予後は線維化の重症度により規定されることが明らかとなった<sup>6)</sup>。本稿では、NAFLDの線維化において重要な役割を果たす肝星細胞に焦点をあて、我々の開発した新たな肝組織イメージング法も含めて概説する。

### 肝星細胞の特徴

肝組織の構造単位である肝小葉の中心には中心静脈が見られ、中心静脈から放射状に1, 2細胞の厚さで実質細胞である肝細胞が配列す

る。その列構造を肝細胞索と呼ぶ。肝細胞索と肝細胞索の間には肝臓での毛細血管に相当する類洞 (洞様毛細血管) を認める (図1A)。類洞壁を構成する細胞には、肝星細胞、類洞内皮細胞、クッパー細胞、樹状細胞、ナチュラル・キラー細胞等があるが、通常のヘマトキシリン・エオジン染色標本でそれらを正確に判別することは難しい。肝星細胞はビタミンA貯蔵細胞や伊東細胞とも呼ばれ、肝小葉の実質細胞と類洞内皮細胞の間の空間 (類洞周囲腔, デイツセ腔) に存在する (図1B, C, 図2B)<sup>7)9)</sup>。生理的条件下で肝星細胞は、レチニルエステルとして全身のビタミンAの50~80%を貯蔵し、血中ビタミンA濃度調整に重要な役割を果たす。超微形態的に肝星細胞の細胞質内には多数のビタミンAを有する脂肪滴が見られる (図2A)<sup>8)</sup>。肝星細胞は刺激を受け活性化すると、ビタミンA含有脂肪滴を失って筋線維芽細胞様の形態に変化し、コラーゲン等の細胞外マトリックスを産生することで線維症をきたす。

### NAFLD/NASH 肝組織解析法の開発

NAFLD/NASHの診断には、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を用いるが、他分野の組織診断と比べて診断医間の不一致もあり、客観性に欠ける<sup>10)11)</sup>。また、ヘマトキシリン・エオジン染色標本はパラフィンに包埋したホルマリン固定組織から作製するが、標本作製過程で有機溶媒を用いるため脂質や脂溶性ビタミンであるビタミンAは溶解・流出する。我々は、肝組織中のビタミンA、脂質も含めた化学的環境を定量的に解析するために、ラマン分光イメージングによる肝組織解析に取り組んでいる<sup>12)13)</sup>。分子に光が入射する際、大部分の散乱光は入射光と同じ振動数を有するレイリー散乱光であるが、振動数がシフトするラマン散乱光もわずかに生じる。シフトする振動数は入射した分子の構造を反映するため、そのシフト量から生体組織中の分子種を大まかに判別でき、その分布や濃度、状態などの化学環境を定量分析可能である。ラマン分光イメージングは組織内分子情報を無標識・非破壊的に解析可能な方法といえる。

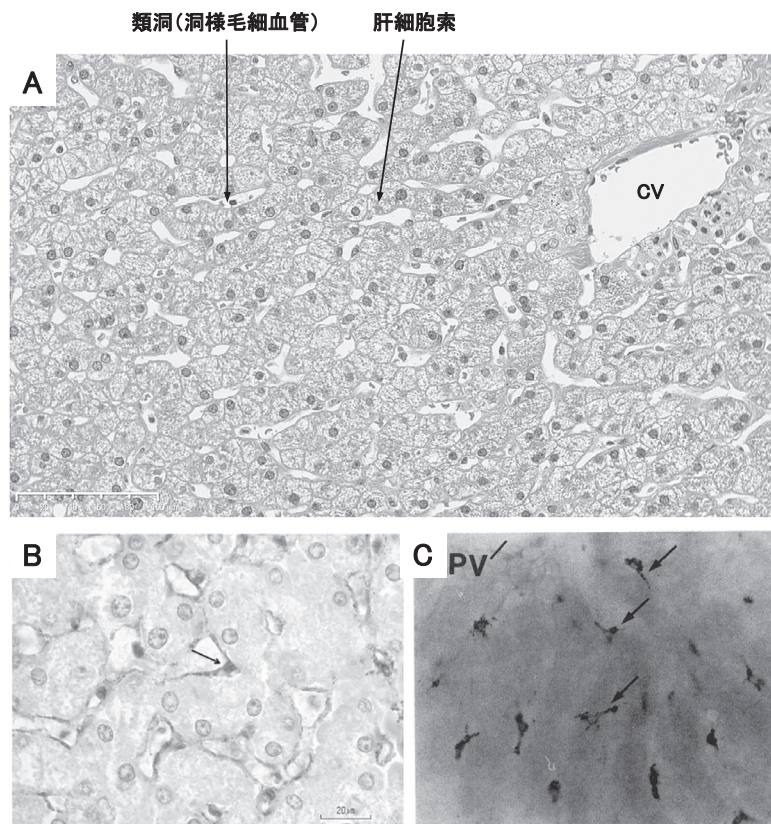


図1 肝組織の光学顕微鏡像

- A) ヘマトキシリン・エオジン染色像（ヒト正常肝組織）. CV：中心静脈。  
 B) 5型コラーゲンの免疫ペルオキシダーゼ染色像（ヒト正常肝組織）. 矢印は、5型コラーゲン陽性の肝星細胞が類洞周囲に存在することを示す. 許可を得て文献9を引用。  
 C) 塩化金染色像（ラット正常肝組織）. 肝星細胞（矢印）を可視化. PV：門脈. 許可を得て文献7を引用。

我々は、高脂肪食給餌肝疾患ラットモデルの肝組織ラマンスペクトルデータ（励起光：532 nm）を機械学習等により分析し、肝病理組織判別アルゴリズムを構築した<sup>13)</sup>。まず、採取した肝組織断面を5 $\mu$ m毎にマッピングしたラマン画像を取得し（図3A左）、非常に微弱なラマン光のシグナルノイズ比を高めるために、平均9ピクセルを含むスーパーピクセルを再構築した（図3A右）。スーパーピクセルは、類似したスペクトルを有する画素をひとまとめにした領域のことをいい、画像加工などの前処理に使われる。スーパーピクセル法を適用した

ラマン画像（図3A右）は、通常の長方形のグリッド（3 $\times$ 3ピクセル）（図3A中央）よりも元画像（図3A左）の空間的特徴をよりよく保存し、単一ピクセルの場合と比較すると平均誤差は約3分の1に減少していた。スーパーピクセル法によりラマン画像のシグナルノイズ比を向上させた後、肝組織内の類似のラマン情報を持つスペクトルを抽出した（図3B）。類似の分子情報を持つクラスタースペクトルに基づきクラスターマップを再構築することによって、組織状態の推測が可能となり（図3C）、ラマン病理判別アルゴリズムを作成することに成功

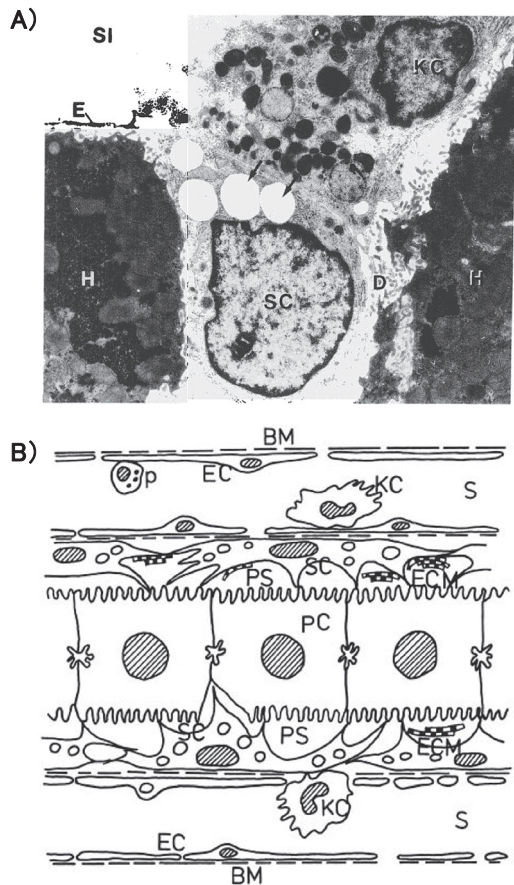


図2 肝超微形態像および肝小葉構造の模式図

A) 類洞周囲の星細胞・肝細胞の超微形態像。星細胞 (SC) には細胞質に vitamin A 含有脂肪滴 (矢印) が見られる。クッパー細胞 (KC) が星細胞に隣り合うように存在する。クッパー細胞にはリソソームが豊富である。Disse 腔: D, 内皮細胞の細胞突起: E, 肝細胞: H, 類洞腔: SI (x9000)。許可を得て文献 7 を引用。

B) 肝小葉構造の模式図。小葉内の肝細胞索は実質細胞 (PC) (肝細胞) で構成される。内皮細胞 (EC) は体循環の毛細血管に相当する類洞 (S) を形作る。クッパー細胞 (KC) は組織マクロファージであり、単球・マクロファージ系細胞である。ピット細胞 (p) はナチュラルキラー活性を有する。星細胞 (SC) は PC と肝類洞内皮細胞 (LSEC) の間の空間に存在し、レチニルパルミテートを含む脂肪滴を有する。BM, 基底膜; ECM, 細胞外マトリックス; PS, デイッセ腔)。許可を得て文献 8 を引用。

した。本法は、通常の病理組織学的検索では捉えることの難しい脂質やビタミン A の情報を

鋭敏かつ定量的に測定可能なラマン分光イメージングを肝組織解析に応用した点に特徴がある。今回紹介した結果は、 $5\mu\text{m}$  毎のマッピング画像を用いた解析結果であるが、 $300\text{nm}$  程度まで空間分解能を高めることは可能であり、本手法が肝組織診断に将来貢献することが期待される。

### NAFLD/NASH の病態形成

NAFLD/NASH の病態形成に関わる仮説として、two hit theory と multiple parallel hits hypothesis が挙げられる (図 4)<sup>14)</sup>。Day らは、NAFL から NASH への進展に関わる病態メカニズムとして、two hit theory を提唱した<sup>15)</sup>。すなわち、first hit である過食、運動不足、インスリン抵抗性に、酸化ストレス、アディポサイトカイン、腸内細菌叢の変化、小胞体ストレス、鉄負荷などの second hit が加わることで、壊死・炎症性変化を生じ、NASH が形成されるとした。近年、Tilg らは、NAFLD/NASH の病態形成機序として、multiple parallel hits hypothesis を提唱している<sup>16)</sup>。この仮説によれば、食事因子やアディポサイトカイン、腸内細菌叢など複数の hit が並行して起こることで肝臓に炎症および脂肪変性を生じるとされる。また、遺伝的背景では、NAFLD の発症に PNPLA3 遺伝子の遺伝子多型などの関与も報告されている<sup>17)</sup>。

### 肝線維化に関わるサイトカイン<sup>18)</sup>

TGF- $\beta$ , IL-1, IL-6, PDGF などのサイトカインは、肝星細胞の活性化を介して肝線維化を促進する (図 5) (表 1)<sup>19)</sup>。肝組織内で産生されるサイトカインに加えて脂肪組織に由来するサイトカイン (アディポサイトカイン) も線維化に重要な役割を果たす。肥満患者の場合、脂肪組織では TNF- $\alpha$  と IL-6 が産生され、肝臓のインスリン抵抗性、脂肪沈着、線維症を誘発する<sup>20)21)</sup>。TNF- $\alpha$  と PDGF は、肝星細胞の遊走、増殖など NAFLD における炎症の初期段階に関与する。TGF- $\beta$  は、細胞外マトリックスの蓄積が分解を上回る炎症の後期段階で重要で<sup>22)</sup>、

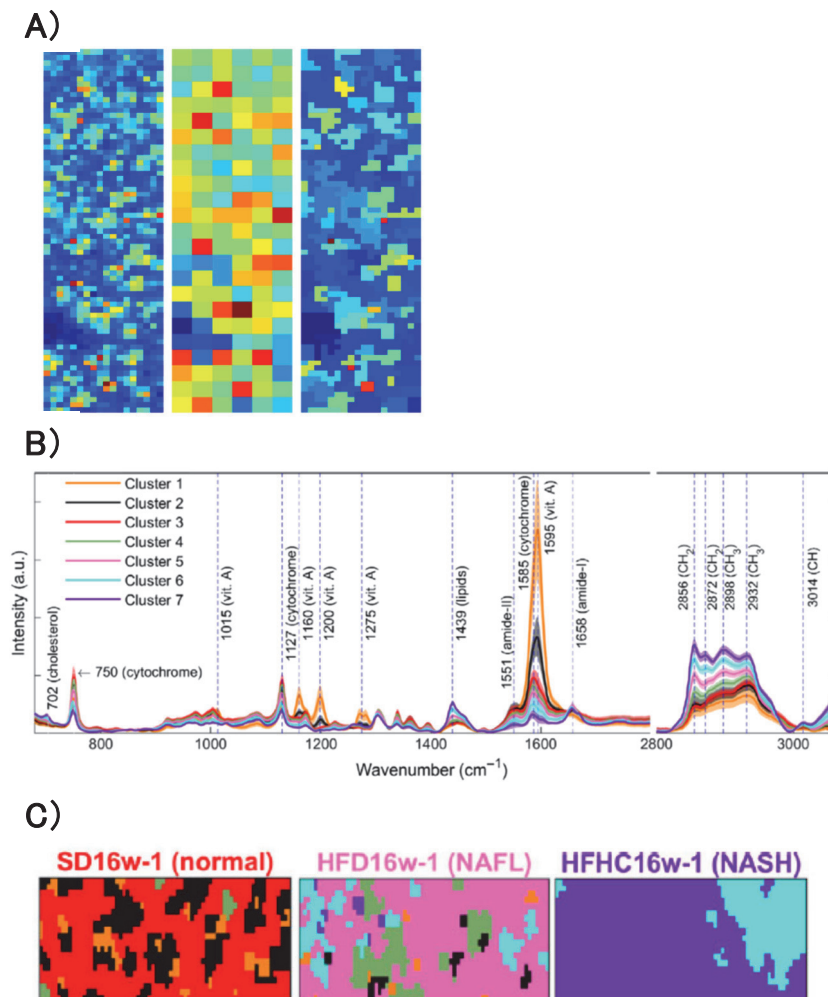


図3 ラマン分光イメージングを用いたNAFLDラットモデルの肝組織解析

3群(4匹/1群)のラットにそれぞれ標準食(SD),高脂肪食(HFD),高脂肪高コレステロール食(HFHC)を給餌し,肝組織を経時的に採取後,ラマンスペクトル(532 nm励起)を取得した。ラマンスペクトルは1検体当たり,点スキキャンで $5\mu\text{m}$ 毎に $20\times 70$ ポイント(計1400ポイント)取得した。

A) スーパーピクセルセグメンテーション。ラマン元画像の全波数にわたる各ピクセルでの平均強度を表す2次元画像(左),平均 $3\times 3$ ピクセルの長方形グリッド(中央),およびスーパーピクセルセグメンテーション(右)。

B) 平均クラスターラマンスペクトル。取得した全てのラマンスペクトルを類似の化学的環境を有するスペクトルを1グループとして7つのクラスターに分類した。Clusters 1, 2は肝星細胞が有するビタミンAのラマンピークが優位で, Clusters 6, 7は脂質のラマンピークが優位であった。

C) ラマン特性のクラスターマップ。給餌16週の例を示す。SD16w-1(normal)は標準食を16週間給餌したラット1番は病理組織学的には正常, HFD16w-1(NAFL)は高脂肪食を16週間給餌したラット1番は病理組織学的にはNAFL, HFHC16w-1(NASH)は高脂肪高コレステロール食を16週間給餌したラット1番は病理形態学的にはNASHの所見であったことを示す。正常 $\rightarrow$ NAFL $\rightarrow$ NASHと病変が進行するに伴い, Clusters 1, 2の領域が減少し, Clusters 6, 7の領域が増加した。許可を得て文献13, 32を改変し引用。

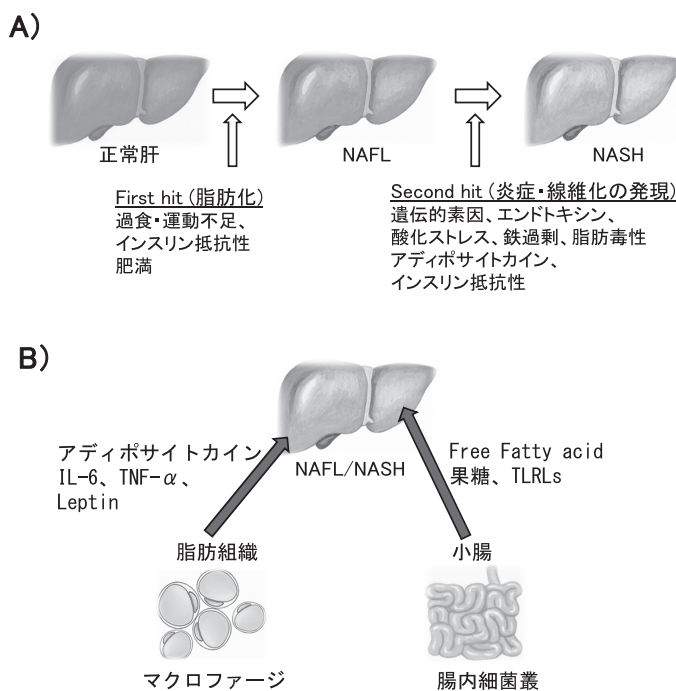


図4 NAFLD/NASHの病態形成に関わる仮説

A) two hit theory

B) multiple parallel hits hypothesis

クッパー細胞と肝組織に浸潤したマクロファージが、肝星細胞の分裂を促進するPDGF、TGF- $\beta$ を産生する。また、活性型となった肝星細胞はTGF- $\alpha$ とTGF- $\beta$ を産生し、オートクリン的に自身の増殖を誘導する。TGF- $\beta$ は、慢性肝疾患における肝星細胞活性化、肝線維症の主要なメディーターである。TGF- $\beta$ のアイソフォームの一つであるTGF- $\beta$ 1は、細胞膜のII型受容体に結合しI型受容体と複合体を形成する。II型受容体はI型受容体のセリン/スレオニンキナーゼをリン酸化し、リン酸化I型受容体は転写因子Smad2/3をリン酸化する。リン酸化Smad2/3はSmad4と複合体を形成し、核内移行してI型コラーゲンや $\alpha$ -SMAなどの遺伝子の転写を制御する。脂肪組織から分泌されるレプチンは、クッパー細胞からのTGF- $\beta$ 1の産生を刺激し、肝線維化に寄与する<sup>23)</sup>。

### NAFLDにおける 自然免疫系のメディエーター<sup>18)</sup>

NAFLDにおいて炎症の遷延化は過剰な線維化を引き起こす。星細胞やクッパー細胞には、Toll様受容体(Toll-like receptor: TLR)やNOD様受容体(Nucleotide binding oligomerization domain-like receptor: NLR)などのパターン認識受容体(Pattern recognition receptors: PRRs)が発現し、病原体関連分子パターン(pathogen-associated molecular patterns: PAMPs)やダメージ関連分子パターン(damage-associated molecular patterns: DAMPs)を認識することでNAFLDにおける線維化に関わる(図5)(表1)。NASH患者では腸内細菌叢のバランスが崩れ、腸内細菌の菌体成分やその代謝物に肝臓が曝露されることで炎症が惹起される。TLRは現在13種類同定されているが、肝

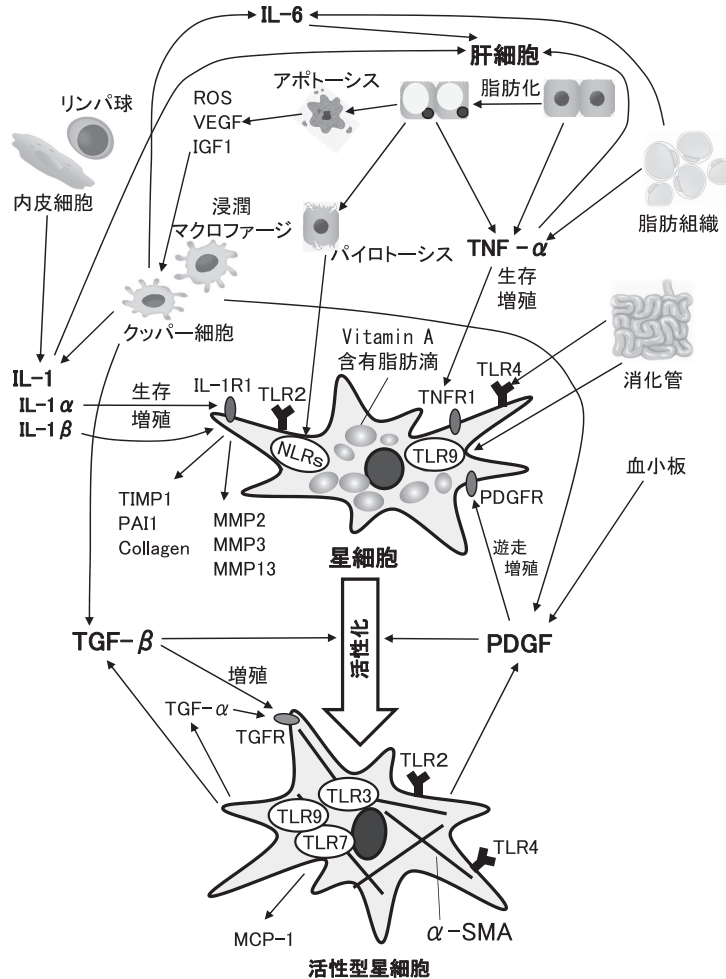


図5 NAFLDにおける線維化発症・進展に関与するメディエーター

肝星細胞の活性化は、肝線維症発症の主要なイベントである。肝臓の実質細胞、非実質細胞、脂肪組織や腸管などから放出されるさまざまなメディエーターは肝星細胞の活性化を促進する。TGF-βとPDGFは、主に肝マクロファージによって産生され、線維形成に中心的な役割を果たす。肝星細胞は活性化後にTGF-β、PDGF、MCP-1の産生を開始し、活性化型肝星細胞によるTGF-β、PDGFのオートクリン産生は、それらのさらなる増殖を誘導する。肝マクロファージ、リンパ球、内皮細胞はIL-1αとIL-1βを分泌する。これらの分子は、肝星細胞によるMMP2、MMP3、MMP13の発現誘導による初期の細胞外マトリックス分解に関与し、肝星細胞の生存と増殖にも関与する。特にIL-1βはTIMP-1、PAI-1、コラーゲンの発現を誘導する。さらに、IL-1β、IL-6、TNF-αなどの炎症性サイトカインは、肝細胞に脂質の蓄積を誘発し、肝細胞の損傷や炎症を引き起こす可能性がある。アポトーシス肝細胞は、活性酸素種、血管内皮増殖因子(VEGF)、およびIGF1を分泌し、肝マクロファージを活性化する。炎症誘導性のプログラムされた細胞死であるパイロトーシスは、肝星細胞のNLRの活性化を介して線維症の発症に寄与する可能性がある。肝臓マクロファージおよび肝星細胞に発現するTLR2、TLR4、TLR9は、これらの細胞による炎症性サイトカインの発現を誘発する。文献18を改変し引用。

表1 非アルコール性脂肪性肝疾患における肝線維化のメディエーターおよび経路. 文献 18 を改変し引用.

メディエーター	発現細胞	非アルコール性脂肪性肝疾患における作用
TNF- $\alpha$	クッパー細胞、肝細胞	星細胞生存・増殖の誘導による肝線維化促進
IL-1 $\alpha$ /IL-1 $\beta$	クッパー細胞	肝脂肪化と線維化の促進
IL-6	免疫細胞、クッパー細胞	STAT3経路による肝脂肪化の促進
TGF- $\beta$	クッパー細胞、内皮細胞 星細胞	TGF $\beta$ -SMAD経路による星細胞の活性化と増殖の促進
PDGF	クッパー細胞、活性型星細胞 血小板	Ras-MAPK経路による星細胞の遊走・活性化・増殖の誘導
TLR2	クッパー細胞、星細胞	MAPK/NF- $\kappa$ Bシグナル経路の活性化による線維化促進
TLR4	クッパー細胞、星細胞	NF- $\kappa$ Bシグナル経路による炎症・線維化誘導
TLR9	クッパー細胞、星細胞	星細胞の分化、クッパー細胞からのIL-1 $\beta$ 分泌 星細胞からMCP-1分泌
NLRs	自然免疫細胞、肝細胞 内皮細胞、星細胞	インフラサーム活性化・IL-1 $\beta$ ・IL-18分泌によるNAFLD/NASH進展

臓ではクッパー細胞や星細胞上でパターン認識受容体として機能する<sup>24)</sup>. TLRは、細胞内局在に応じて、2つのサブグループに分類される. すなわち、細胞膜上に発現し、外因性の細菌やウイルスの構成成分であるPAMPsを主に認識するTLR (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR11)と、細胞内小胞に発現し、細胞傷害に伴い細胞外に出て炎症反応を惹起するDAMPsを主に認識するTLR (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9)であるが、以下、NASH進展におけるTLR4, TLR9の役割を述べる.

TLR4は主にグラム陰性菌のリポ多糖 (LPS)を認識し、NF- $\kappa$ Bを活性化する<sup>25)</sup>. TLR4はクッパー細胞および星細胞に発現するが、TLR4シグナルを介して、クッパー細胞では炎症性・線維性サイトカイン産生に関与し、活性型星細胞ではケモカイン、細胞外基質を分泌する. Liらは、NAFLDマウスモデルを用いた実験で、TLR4シグナルを介して肝脂肪蓄積、炎症、線維化が生じることを示した<sup>26)</sup>. また、Miuraらは脂肪性肝炎から肝癌を誘導するモデルである

肝細胞特異的PTENノックアウトマウスを用いてTLR4の役割を検討している. すなわち、PTENノックアウトマウスにTLR4ノックアウトマウスを交配し実験を行ったところ、TLR4欠損により炎症、線維化、肝腫瘍の増生が抑制され、TLR4が炎症や肝腫瘍増大に寄与することが明らかとなった<sup>27)</sup>.

TLR9は、クッパー細胞、星細胞、樹状細胞等の小胞体に発現し、細菌由来DNAを認識する<sup>28)</sup>. ヒト肝星細胞株や初代マウス星細胞において、TLR9が星細胞の分化に影響することが報告されている<sup>29)</sup>. また、細菌DNA刺激により活性化されたTLR9を介して肝星細胞は線維化を促進する単球走化性因子 (MCP-1)を分泌し、肝線維化を誘導することがマウスモデルで示された<sup>30)</sup>.

## ま と め

NAFLDの線維化における星細胞の役割および活性化機序について概説した. NAFLDは診断する上でアルコール性肝障害などの他疾患を



除外する必要があるため、より実用的な疾患概念の確立が求められており、代謝関連脂肪肝疾患 (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: MAFLD) という新たな概念が提案されている<sup>31)</sup>。更なる研究の進歩により、脂肪性肝疾患の線維化の病態解析が進むことが期待される。

## 謝 辞

紹介した研究は、京都府立医科大学 田中秀

央教授、北海道大学 小松崎民樹教授、大阪大学 藤田克昌教授らとともに、2020年度物質・デバイス領域共同研究課題研究費、JST/CREST No. JPMJCR1662等の助成を受けて実施した。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。本稿は文献1), 7), 8), 9), 13), 14), 18), 32)を主に参照し作成した。

開示すべき潜在的利益相反はない。

## 文 献

- Zhang CY, Yuan WG, He P, Lei JH, Wang CX. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J Gastroenterol*, 22: 10512-10522, 2016.
- Lepreux S, Desmoulière A. Human liver myofibroblasts during development and diseases with a focus on portal (myo) fibroblasts. *Front Physiol*, 6: 173, 2015.
- Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol*, 3: 1473-1492, 2013.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 346: 1221-1231, 2002.
- Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*, 24: 908-922, 2018.
- Loomba R, Chalasani N. The Hierarchical Model of NAFLD: Prognostic Significance of Histologic Features in NASH. *Gastroenterology*, 149: 278-281, 2015.
- Blomhoff R, Wake K. Perisinusoidal stellate cells of the liver: important roles in retinol metabolism and fibrosis. *FASEB J*, 5: 271-277, 1991.
- Senoo H, Yoshikawa K, Morii M, Miura M, Imai K, Mezaki Y. Hepatic stellate cell (vitamin A storing cell) and its relative-past, present and future. *Cell Biol Int*, 34: 1247-1272, 2010.
- Mak KM, Png CYM, Lee DJ. Type V collagen in health, disease, and fibrosis. *Anat Rec*, 299: 613-629, 2016.
- 橋本悦子. NAFLD/NASH 診療の新たな展開. *日内会誌* 105: 1753-1760, 2016.
- 橋本悦子, 西原利治, 坂元亨宇, 竹井謙之. 座談会 NASH・NAFLD の診療ガイドと今後の方向性について. *肝臓*, 57: 434-446, 2016.
- Kumamoto Y, Harada Y, Takamatsu T, Tanaka H. Label-free Molecular Imaging and Analysis by Raman Spectroscopy. *Acta Histochem Cytochem*, 51: 101-110, 2018.
- Helal KM, Taylor JN, Cahyadi H, Okajima A, Tabata K, Itoh Y, Tanaka H, Fujita K, Harada Y, Komatsuzaki T. Raman spectroscopic histology using machine learning for nonalcoholic fatty liver disease. *FEBS Lett*, 593: 2535-2544, 2019.
- 小川 祐, 今城 健, 米田 正, 中島 淳. NAFLD の疫学と病態の update. *日消病会誌*, 111: 14-24, 2014.
- Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*, 114: 842-845, 1998.
- Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*, 52: 1836-1846, 2010.
- Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F, Okanoue T. Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PloS one*, 7: e38322, 2012.
- Katsarou A, Moustakas II, Pyrina I, Lembessis P, Koutsilieris M, Chatzigeorgiou A. Metabolic inflammation as an instigator of fibrosis during non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 26: 1993, 2020.
- Nati M, Haddad D, Birkenfeld AL, Koch CA,

- Chavakis T, Chatzigeorgiou A. The role of immune cells in metabolism-related liver inflammation and development of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Rev Endocr Metab Disord*, 17: 29-39, 2016.
- 20) Ganz M, Szabo G. Immune and inflammatory pathways in NASH. *Hepatology*, 7: 771-781, 2013.
- 21) Chung KJ, Nati M, Chavakis T, Chatzigeorgiou A. Innate immune cells in the adipose tissue. *Rev Endocr Metab Disord*, 19: 283-292, 2018.
- 22) Tsukamoto H. Cytokine regulation of hepatic stellate cells in liver fibrosis. *Alcohol Clin Exp Res*, 23: 911-916, 1999.
- 23) Wang J, Leclercq I, Brymora JM, Xu N, Ramezani-Moghadam M, London RM, Brigstock D, George J. Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis. *Gastroenterology*, 137: 713-723, 2009.
- 24) Kizilias S. Toll-like receptors in pathophysiology of liver diseases. *World J Hepatol*, 8: 1354, 2016.
- 25) Seki E, De Minicis S, Österreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, Schwabe RF. TLR4 enhances TGF- $\beta$  signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med*, 13: 1324-1332, 2007.
- 26) Liu J, Zhuang ZJ, Bian DX, Ma XJ, Xun YH, Yang WJ, Luo Y, Liu YI, Jia L, Wang Y. Toll like receptor 4 signalling in the progression of non alcoholic fatty liver disease induced by high fat and high fructose diet in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 41: 482-488, 2014.
- 27) Miura K, Ishioka M, Minami S, Horie Y, Ohshima S, Goto T, Ohnishi H. Toll-like receptor 4 on macrophage promotes the development of steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma in mice. *J Biol Chem*, 291: 11504-11517, 2016.
- 28) Latz E, Schoenemeyer A, Visintin A, Fitzgerald KA, Monks BG, Knetter CF, Lien E, Nilsen N J, Espevik T, Golenbock DT. TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome. *Nat Immunol*, 5: 190-198, 2004.
- 29) Watanabe A, Hashmi A, Gomes DA, Town T, Badou A, Flavell RA, Mehal WZ. Apoptotic hepatocyte DNA inhibits hepatic stellate cell chemotaxis via toll-like receptor 9. *Hepatology*, 46: 1509-1518, 2007.
- 30) Gäbele E, Mühlbauer M, Dorn C, Weiss TS, Froh M, Schnabl B, Wiest R, Schölmerich J, Obermeier F, Hellerbrand C. Role of TLR9 in hepatic stellate cells and experimental liver fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 376: 271-276, 2008.
- 31) Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, Zelber-Sagi S, Wai-Sun Wong V, Dufour JF, Schattenberg JM, Kawaguchi T, Arrese M, Valenti L, Shiha G, Tiribelli C, Yki-Järvinen H, Fan JG, Grønbaek H, Yilmaz Y, Cortez-Pinto H, Oliveira CP, Bedossa P, Adams LA, Zheng MH, Fouad Y, Chan WK, Mendez-Sanchez N, Ahn SH, Castera L, Bugianesi E, Ratziu V, George J. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatology*, 73: 202-209, 2020.
- 32) 原田義規, 望月健太郎, 田中秀央 ラマン分光で病気を見る 分光研究, 69: 213-221, 2020.

## 著者プロフィール



原田 義規 Yoshinori Harada

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科細胞分子機能病理学・准教授

略 歴：1992年3月 京都府立医科大学医学部 卒業

1992年5月 京都府立医科大学第三内科

1996年6月 カナダ Calgary 大学医学部生化学教室留学

1999年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科卒業，博士（医学）号取得

2004年4月 京都府立医科大学細胞分子機能病理学助手

2012年10月 京都府立医科大学細胞分子機能病理学講師

2015年7月～現職

専門分野：病理学，消化器病学

最近興味のあること：2016年より JST CREST の支援を受けて「一細胞ラマン計測と情報科学の融合による細胞診断の迅速解析技術の開発」のテーマに従事しています。先端光計測法の開発とその病態解析への応用を目指した研究を今後も展開します。

主な業績：1. Ikemoto K, et al. Raman Spectroscopic Assessment of Myocardial Viability in Langendorff-Perfused Ischemic Rat Hearts. *Acta Histochem Cytochem* in press.  
2. Helal KM et al. Raman spectroscopic histology using machine learning for nonalcoholic fatty liver disease. *FEBS Lett*, **593**: 2535-2544, 2019.  
3. Yamamoto T, et al. Label-free Evaluation of Myocardial Infarct in Surgically Excised Ventricular Myocardium by Raman Spectroscopy. *Sci Rep*, **8**: 14671, 2018.  
4. Matsuo H, et al. Efficient fluorescence detection of protoporphyrin IX in metastatic lymph nodes of murine colorectal cancer stained with indigo carmine. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, **19**: 175-180, 2017.  
5. Kumamoto Y, et al. Rapid and accurate peripheral nerve imaging by multipoint Raman spectroscopy. *Sci Rep*, **7**: 845, 2017.

知的財産権：特許第 5070549 号，特許第 5372137 号，特許第 6103700 号，特許第 6180404 号，特許第 6429145 号，特許第 6635363 号，特許第 6731216 号 特許第 6762703 号，他