

総説 (第8回徳島医学会賞受賞論文)

C型肝炎ウイルス持続感染患者の肝線維化における女性ホルモンの役割

清水 一郎, 糸 永 美 奈, Lu Guangming, Cui Xuezhi, 豊田 敬生,
久保 謙一郎, 四宮 寛彦, 筒井 朱美, 岡久 稔也, 柴田 啓志,
本田 浩仁, 伊東 進

徳島大学医学部病態予防医学講座臓器病態治療医学分野

(平成14年3月12日受付)

(平成14年3月15日受理)

はじめに

C型肝炎ウイルス(HCV)感染症は、世界中至る所に存在し、慢性肝炎や肝硬変、肝細胞癌(HCC)の主要な病因であると考えられている^{1,2)}。実際、世界保健機構(WHO)は、全世界の人口の最大3%がHCVに感染していると報告しており、1億7千万人以上の持続感染者が、肝硬変およびHCCを発症するリスクにさらされている³⁾。臨床疫学データや死亡統計を調べてみると、C型慢性肝炎は、女性よりも男性のほうがより増悪進展速度が早いという考え方が支持されており^{4,5)}、肝硬変は、古典的な自己免疫疾患、すなわち、原発性胆汁性肝硬変や自己免疫性肝炎などを除いて大部分が男性や閉経後女性が罹患する疾患である⁶⁾。肝硬変やHCC患者の男女比は2.3:1~2.6:1で、男性の患者比率が2倍以上と高い^{6,8)}。感染した年齢や飲酒量とは関係なく、男性のほうがより肝線維化が進行する⁵⁾。C型慢性肝炎の女性患者がHCCに罹患するリスクは、男性のそれと比較して1/3と低い⁹⁾。さらに、単変量解析および多変量解析を用いた検討から、HCCが、HCV持続感染の男性肝硬変患者により高頻度に発症することが明らかになっている¹⁰⁾。

肝線維化とは、細胞外マトリックス(ECM)の肝内沈着であり、炎症反応や細胞死に伴う修復過程の一つの必然的な結果として出現し、HCV持続感染患者を含む慢性肝疾患患者に生じる肝障害にตอบสนองながら肝内のECM沈着が進行していく病態である¹¹⁾。同時に、肝線維化は、軽度のECM沈着から、完全に進行した肝硬変に至るまでの進行性病期を表現する。異常なECM蛋白を産生する細胞が、肝星細胞(HSC)(伊東細胞や

fat-storing cellとも呼ばれている)である。HSCは肝細胞と類洞内皮細胞に接したディッセ腔に局在し、細胞体と何本かの長く分岐した細胞質突起から構成されている(図1)¹²⁾。HSCは、炎症性刺激のもとで細胞増殖し、 α 平滑筋アクチン(α -SMA)産生可能な筋線維芽様細胞に形質転換する。このように活性化したHSCが、肝硬変に至る過程で発生するコラーゲンを中心としたECMの過剰分泌や再生結節(偽小葉)形成の起源となる^{11,13)}。

我々は、雄性肝の実験的線維化反応が雌性肝のものより有意に強いこと、ジメチルニトロサミンやブタ血清誘導のラット実験的線維肝モデルにエストラジオール(E2)を投与すると、肝線維化が用量依存性に抑制され、肝コラーゲン含量や肝プロコラーゲンI・III型mRNAの発現レベルが低下することを報告した^{14,15)}。加えて、雄ラットに対するE2の特異的な中和抗体の投

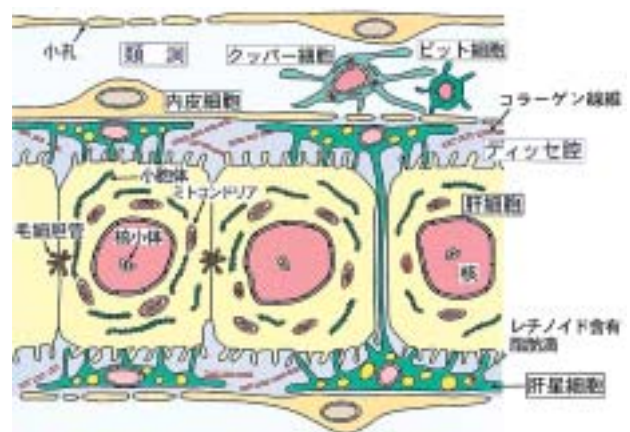


図1 肝細胞と類洞壁細胞(文献¹¹⁾から改変)

与や、雌ラットに対する卵巣除去は、それぞれ、線維肝をより増悪することを示した¹⁴⁾。さらに、ラット培養 HSC において、E2 が I 型コラーゲン産生を抑制し、 α -SMA 発現を低下させ、細胞増殖を減少させることを報告した^{14,15)}。また、小児期の放射線療法由来の精巣機能障害と輸血由来の C 型慢性肝炎に罹患した若い男性患者に、テストステロンに加えて E2 を同時投与すると、線維化マーカーや肝機能検査値の改善が認められることを報告した¹⁶⁾。これらの所見は、肝における E2 の抗線維化作用が、肝線維化の発生と増悪を制御し、慢性肝疾患の進展における性差存在に関連して何らかの影響を及ぼしている可能性を示唆するものである。しかし、肝線維化から細胞を保護する E2 の作用機序に関しては、まだほとんど解明されていない。E2 の作用の多くは、エストロゲン受容体 (ER) サブタイプの ER α と ER β を介して行われる^{17,18)}。本総説は、HCV 持続感染患者における E2 とその受容体である ER の生物学的機能と肝線維化に関連した現在までに明らかにされている知見を概説するものである (表 1)。

表 1 HCV 持続感染の肝障害における性差発症の機序

宿主の性差特性	
肝線維化反応	男 > 女
HCC 危険因子	
慢性肝炎例	男
肝硬変例	男
エストロゲン分泌	性差有り
肝鉄濃度	男 > 女
チトクローム P450 分子種	性差有り
成長ホルモン分泌	性差有り
ウイルスの性差関与	
肝脂肪化	男 > 女
肝鉄沈着	男 > 女
エストロゲンの特性	
抗酸化作用	
活性酸素種消去作用	
抗アポトーシス作用	E2 は Bcl 2 発現を増強
NF- κ B 活性化抑制	
IL 1 \cdot TNF- α 産生抑制	
肝星細胞活性化抑制	
NO 産生	
肝エストロゲン受容体濃度	男 < 女
変異型エストロゲン受容体	男 > 女

HCV 感染により誘発される肝細胞障害

典型的な HCV 持続感染では、全経過を通じて HCV の分裂増殖が維持されている¹⁹⁾。肝細胞が継続的に障害を受け複製されていると、遺伝子変異の頻度も、肝線維化の進展と共に上昇し、高癌化状態を惹起する。やがて、肝線維化の最終像である肝硬変や HCC の発症を招くものと思われる (図 2)¹⁾。突然変異により誘発される複数の遺伝子変化が、発癌に重要であることが一般に認められている。HCV 持続感染の肝硬変患者における HCC の発生率は、近年、着実に増加し、年間 1.4 ~ 7% であることが報告されている²⁰⁻²²⁾。しかし、HCV が肝細胞障害と肝細胞死を誘発する機序については、大部分が解明されていない。

細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) は、ウイルス感染に対する主要な宿主防御機序と考えられているばかりでなく、肝障害の病態にも深く関係している。2つの経路、すなわち、パーフォリンと Fas/Fas リガンド経路が CTL の細胞融解作用に関与している²³⁾。しかし、向炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 α (TNF- α) が、HCV 特異 CTL クローンの全てから放出されており²⁴⁾、TNF- α も CTL の細胞障害作用に関与していると考えられる²⁵⁾。注目すべきことは、HCV のコア蛋白が、CTL の標的エピトープであることである²⁶⁻²⁸⁾。さらに、ウイルス蛋白そのものが、宿主肝の細胞増殖特性を変化させ、多くのシグナル伝達経路に影響を及ぼす。すなわち、核内転写因子の NF- κ B や AP 1 など、いくつかのシグナル伝達因子が HCV 蛋白で活性化されることが報告され

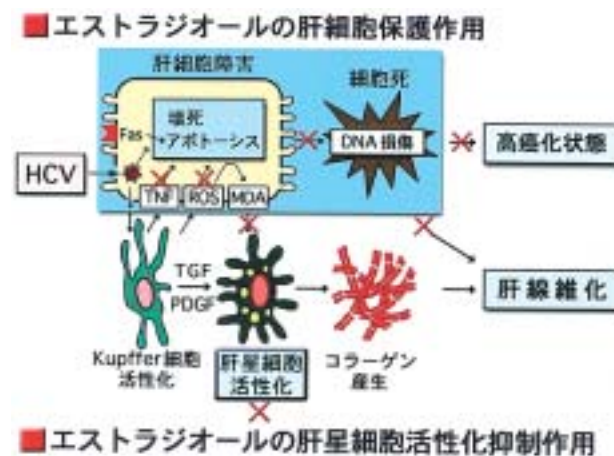


図 2 肝線維化と肝発癌におけるエストロジオールの作用点 ×印はエストロジオールの予想される作用点を示す。(文献¹¹⁾から改変)

ている。TNF- α やインターロイキン 1 (IL 1) を含む様々な細胞外刺激に対する細胞応答に、NF- κ B のシグナル伝達経路が重要な役割を果たしている。HCV コア蛋白は、TNF 受容体と p53 の両方と結合するので^{29, 30)}、HCV 蛋白により NF- κ B が誘発されると、肝細胞を死滅、または細胞死を抑制させる可能性があり、別の場合には、細胞増殖を増強させる。さらに、細胞増殖に関連する多くの遺伝子の制御転写因子である AP 1 がウイルス蛋白で活性化されると、発癌のプロモーター作用を含め、種々の効果が生じるものと考えられる。

閉経で卵巣機能が低下すると、IL 1 や IL 6, TNF- α のような向炎症性サイトカインが自然に増加することを示す多数の報告がある³¹⁾。全血培養実験で生理的濃度の E 2 がこれらの向炎症性サイトカインの自発的分泌を阻害することが示されている³²⁾。末梢単球細胞による IL 1 β や TNF- α の産生が、健常被験者と比較して C 型慢性肝炎の患者で高いことが報告されている³³⁾。E 2 は、ER を発現する HepG 2 細胞の IL 1 β の産生を低下させ³⁴⁾、ラットでの火傷により誘発された血清中 TNF- α レベルの上昇を抑制する³⁵⁾。

HCV 持続感染時の肝実質細胞は、炎症の持続的応答や肝細胞障害の結果の一つとして現れる活性酸素・フリーラジカルやその他の脂質過酸化反応由来の活性酸素種 (ROS) を産生し、放出する。同時に、酸化ストレスに対抗する生体内の抗酸化機構は枯渇することになる³⁶⁾。ほとんどの細胞は、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) やグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) などの抗酸化酵素を産生し、酸化ストレスに対する独自の生体内防御システムを有している。加えて、C 型慢性肝炎の肝病理組織学的検討から、患者の 31~72% に肝脂肪化が認められ、肝脂肪化が HCV 持続感染の重要な特徴であることが明らかになっている³⁷⁻³⁹⁾。肝脂肪化 (脂肪肝) は、HCV の直接の細胞障害作用を反映したものであり、肝障害の進行に一定の役割を果たしていることが示唆されている。このことは、HCV コア遺伝子を発現させたトランスジェニックマウスにおいて、進行性の肝脂肪化の出現と HCC の発症が観察されていることから支持されている⁴⁰⁻⁴¹⁾。肝細胞障害時には、肝脂肪化の過程で脂質過酸化反応が亢進し、過酸化脂質産物などの可溶性誘導因子が産生されて、ディッセ腔に放出され、今度は、これが HSC を活性化して肝線維化を誘導する⁴²⁻⁴³⁾。

E 2 およびその誘導体 (2 ヒドロキシエストラジオール) は、強力な内因性の抗酸化剤であり、肝や血清中の

脂質過酸化反応を抑制する⁴⁴⁻⁴⁵⁾。これまでの我々の検討で、酸化ストレスを誘導したラット培養肝細胞において、E 2 が肝細胞の逸脱酵素 lactate dehydrogenase (LDH) や脂質過酸化反応の最終産物であるマロンディアルデヒド (MDA) の産生を抑制し、酸化ストレス反応阻害を介して I κ B (NF- κ B の阻害蛋白) の分解と NF- κ B の活性化を阻害することを示した⁴⁶⁾。加えて、ラット単離肝ミトコンドリアを用いた検討で、E 2 が直接、ミトコンドリアの脂質過酸化反応を阻害することを明らかにした⁴⁶⁾。予備的研究では、*in vivo* ならびに *in vitro* での実験で、E 2 がラジカル消去活性を有すること、肝細胞質に局在する主要な SOD である銅 亜鉛 SOD (CuZn-SOD) や GPx の抗酸化酵素産生を誘導することも示した⁴⁷⁻⁴⁸⁾。以上の所見は、E 2 の NF- κ B 活性化抑制作用が、ROS 消去作用や、抗酸化酵素誘導作用を介して ROS の細胞内産生レベルを減少させ、I κ B のレドックス感受性リン酸化およびそれ以降の I κ B 分解を阻害することにより生じることを示唆している⁴⁹⁻⁵¹⁾。

Bcl 2 はアポトーシスを制御する主要な蛋白である。E 2 は、ラット線維肝⁴⁸⁾や酸化ストレス誘導のラット培養肝細胞⁵²⁾を含むいくつかの組織や細胞において、Bcl 2 蛋白発現を増加させる⁵³⁻⁵⁵⁾。Bcl 2 が過剰発現されると、脂質過酸化反応を抑制し、アポトーシスを阻害して細胞の寿命が延びることが知られている。これまでの所見とも考え合わせ、酸化ストレス障害、炎症性細胞障害ならびに細胞死から、NF- κ B 活性化抑制⁵⁶⁻⁵⁷⁾と Bcl 2 発現増強作用⁵²⁾を介して E 2 が肝細胞保護作用を発揮している可能性が示唆される。

古典的なエストロゲン応答エレメントを介した ER の作用に加えて、ER サブタイプである ER α ならびに ER β は、AP 1 エンハンサーエレメントからの遺伝子転写も制御している。この転写を活性化させるには、リガンドと AP 1 転写因子の Fos ならびに Jun の活性化が必要である⁵⁸⁾。Schiff らは、タモキシフェン (主に ER を競合的にブロックすることで抗エストロゲン作用を示すと考えられている) が、細胞の酸化ストレスを誘発し、抗酸化活性を抑制することを示した⁵⁹⁾。同時に、シグナル伝達経路の誘導を介して AP 1 が活性化されることを示した。Paech らは、ER α と ER β は、E 2 と複合体を形成すると全く逆の AP 1 活性を示すシグナル伝達を誘導することを報告した⁶⁰⁾。すなわち、ER α と複合体を形成した場合は、E 2 は転写を活性化させるのに対して、ER β との複合体形成の場合には、E 2 が転写を阻害

した。ウェスタンブロット法と、オートクレーブによる抗原賦活法を用いた免疫組織化学的検討にて、我々は、正常肝と線維肝の両方の肝細胞で ER β の発現レベルが高く、ER α の発現レベルが低いことを見出した⁶¹⁾。さらに、ラット培養肝細胞では、E2 が ER β を介して AP 1 活性を阻害すること、この E2 の AP 1 活性化抑制作用が、ER の特異的アンタゴニストである ICI 182, 780 にて遮断されることを示した⁵²⁾。これらの所見とは対照的に、E2 が上皮増殖因子 (EGF) との相乗作用により ER を介して、ラット培養肝細胞の DNA 合成を賦活化させ、同時に、この時、EGF との相互作用により *c-fos* 発現を増強 (AP 1 活性化) させると報告されている⁶²⁾。ただし、E2 単独では、*c-fos* 発現に影響を及ぼさない。この成績不一致の理由は明らかではないが、特に、我々の実験に比べ、E2 の投与量が多いこと、肝細胞密度が低いことなどの実験方法の相違点が挙げられる。

ER の濃度変化が HCV 持続感染の肝硬変患者において HCC 併発に関与する可能性があることを最近の我々の研究で示した⁶⁾。すなわち、HCV 抗体陽性の HCC を伴う肝硬変患者 1199 例を、49 歳の平均閉経年齢より若いが高齢であるかに基づいて 2 群に分割すると、若年群の女性比率 (15%) が高齢群 (30%) に比べ有意に低かった。閉経前女性から得られた硬変肝の ER 濃度は、男性の硬変肝に比べ有意に高かった。HCC の肝組織中の ER ならびに CuZn-SOD 濃度は HCC を伴わない硬変肝の濃度に比べ有意に低く、肝過酸化脂質産物 (MDA) 濃度は有意に高かった。多変量解析を用いた検討により、49 歳以上の年齢、男性、ER 濃度低下、ならびに MDA 濃度が高いことが、HCV 持続感染の肝硬変における HCC 併発の独立した危険因子であることが明らかになった。これらの所見は、閉経前の女性では、HCV 持続感染の肝硬変に罹患していても、ER と SOD などの抗酸化酵素を介して HCC 発症のリスクから肝が保護されていることを示唆している⁶⁾。Kasahara らも、C 型慢性肝炎患者がインターフェロン (IFN) 療法後に HCC を発症するリスクは、55 歳以上の年齢、もしくは男性の患者の方が、55 歳未満の患者、もしくは女性の患者に比べて高いと結論付けている⁶³⁾。さらに、最近、通常のリガンド結合活性を示さない変異型 ER が、男性の HCC 組織中により多く見出された⁶⁴⁾。加えて、変異型 ER は、肝障害の進展過程の初期段階から女性患者に比べ、男性により強く発現していることが報告されている⁶⁵⁾。変異型 ER

が生じると、エストロゲンに対する応答性が失われる可能性がある。これらの所見は、E2 の産生能や ER の活性変化が、肝細胞保護作用において一定の役割を果たすことを示唆している。

さらに、Nemoto らは、アロマターゼ欠損マウスを用いて E2 が肝脂肪化に關与していることを明らかにした⁶⁶⁾。アロマターゼ欠損マウスは、内因性にエストロゲンの産生能力が欠如し、肝細胞の脂肪酸 β 酸化に障害があつて、生後、脂肪肝を自然発症する。E2 を補充投与すると肝脂肪化が軽減し、脂肪酸 β 酸化障害が正常レベルまで回復することを明らかにした⁶⁶⁾。さらに、Adinolfi らは、C 型慢性肝炎患者のコホート研究から、進行した脂肪肝 (30% を越える肝細胞に脂肪変性を認める) の患者では、肝脂肪化の程度の低い患者 (30% 以下の脂肪化) や脂肪変性のない患者と比較して、肝線維化の程度が強く、肝線維化が 2 倍速く進展することを報告した⁶⁷⁾。加えて、女性に比べ、男性により進行した肝脂肪化を認めることを示した⁶⁷⁾。従って、男性において肝障害進展がより早い理由として、少なくとも一部には、E2 の産生能と E2 作用に対する応答能の低下が考えられた。

非アルコール性脂肪肝患者では、肝内の鉄貯蔵量が軽度増加している⁶⁸⁾。アルコール依存症でもなく輸血を受けたことのない HCV 持続感染患者でも、肝内の過剰鉄の存在が知られている⁶⁹⁾。C 型慢性肝炎では、鉄が肝線維化を誘発する補助因子である可能性がある^{70, 71)}。鉄は、ヒドロキシ・ラジカル産生における強力な *in vivo* 因子であり、このヒドロキシ・ラジカルにより脂質過酸化反応と DNA 開裂を誘発し⁷²⁾、DNA 突然変異を招く⁷³⁾。C 型慢性肝炎の肝内鉄濃度 (HIC) は、男性患者に比べ女性患者のほうがより低いと報告されており⁷⁴⁾、女性における低い HIC が、肝障害に対する細胞保護作用の高さの一部を説明している可能性がある。

性ホルモン、胆汁酸ならびに前発癌物質などの多くの生理活性物質や異物の生体内代謝に、肝細胞内ミトコンドリアのチトクローム P450 (CYP) 蛋白が重要な役割を果たしている。CYP の性に特異的な発現が、性ステロイド、成長ホルモン (GH) ならびにその他の化学物質で制御されていることは良く知られている^{75, 76)}。GH の分泌パターンは、男女で異なり、男性では、GH が定期的にパルス状に分泌され、その間は、分泌レベルが低く、しばしば検出限界以下である。これに対して女性では、高頻度で不規則なパルス状の分泌を示し、ベースラ

イン濃度が継続的に高い⁷⁷⁾。さらに、CYP3A4活性は、男性よりも女性で高い。実験的胆管結紮 (BDL) 胆汁うっ滞モデルの雄性ラットでは、雄に特異的なCYP2C11とCYP3A2の発現が低下し、同時に血清中のテストステロン濃度の低下と血清E2濃度の増加が出現する⁷⁸⁾。一方、雄には通常存在しない雌に特異的なCYP2C12発現が、BDL処置後の雌性肝では変化を認めなかった⁷⁸⁾。肝障害患者では、肝CYP蛋白発現が変化しているため、性ステロイドや薬剤の酸化反応が障害を受けている可能性があるが、肝障害進展における性差存在の機序に関連して、エストロゲンや種々の化合物の代謝に関する性差の臨床的意義については、今後さらに明らかにする必要がある。

HCV 持続感染における HSC 活性化

正常状態の肝では、HSCはレチノイド(ビタミンA誘導体)の主要な貯蔵細胞として機能する⁷⁹⁾。しかし、HCVに感染した肝では、HSCは炎症性刺激の主な標的細胞であり、ECM蛋白を産生する中心的な細胞となる^{13,80)}。すなわち、活性化したHSCでは、細胞内レチノイドの消失⁸¹⁾、 α -SMA発現、ならびに、I、III、IV型コラーゲンやラミニンなどのECMの合成と分泌が伴って出現する。コラーゲナーゼを含むマトリックスメタロプロテナーゼ(MMP)1⁸²⁾、MMP2⁸³⁾、ならびにコラーゲナーゼ・インヒビターを含むマトロプロテナーゼ組織インヒビター(TIMP)1⁸⁴⁾などの酵素をコードしている遺伝子をHSCが発現することも明らかにされている。III、IV型コラーゲンやラミニンのほとんどはHSCと類洞内皮細胞で合成されるのに対して、肝細胞を含むほとんどの細胞は少量のI型コラーゲンを合成する。しかし、活発に線維増生が行われている肝障害の持続時には、HSCがI型コラーゲンを含む主なECM産生担当細胞となる⁸⁵⁾。線維形成には、マトリックスの合成と分解の動的な相互作用が関与している。HCVの持続感染による細胞障害とその炎症性刺激由来のHSC活性化応答の過程で、このような相互作用が崩壊し、合成が分解を凌駕する。そして、肝内に過剰のECMが沈着し肝線維化が進展する。

我々は、ラットHSCにおいてE2刺激に直接機能するERサブタイプはER α ではなくER β であることを明らかにした⁶¹⁾。さらに、E2がTIMP1の発現を阻害し、HSCの細胞増殖と形質転換を抑制することを示し

た^{14,15)}。ウサギの大動脈やブタの冠動脈由来の血管平滑筋細胞の細胞増殖をE2が抑制することも報告されている^{86,87)}。血管平滑筋細胞は、解剖学的にHSCに類似しており、血管障害を受けた後にER β の発現が増加する一方で、ER α の発現には有意な変化を認めないことが報告されている⁸⁸⁾。実際、障害に対する細動脈平滑筋の応答は、障害刺激に対するHSCの応答と類似している⁸⁹⁾。動脈硬化症は、主に男性と閉経後女性の疾患である。これまでの研究報告から、エストロゲンの血管平滑筋細胞に対する線維化抑制作用が明らかにされている^{90,91)}。さらに、腎線維症は、女性よりも男性に多く発症し、メサンギウム細胞もHSCに類似した細胞で、線維形成に重要な役割を果たすことなど肝疾患におけるHSCの役割と同様の特性を有している^{92,93)}。そして、メサンギウム細胞の増殖とコラーゲン産生が、E2で抑制されることが既に明らかにされている⁹³⁾。これらの所見は、持続的な障害時には、線維産生担当細胞においてE2がER β を介して線維産生抑制作用と細胞増殖抑制作用を発揮している可能性を示唆するものである⁹⁴⁾。

酸化ストレス誘導を受け、障害に陥っている肝細胞から可溶性誘導因子が産生され、パラクリン刺激によってHSCの細胞増殖とコラーゲン合成が誘発されることが報告されている^{95,97)}。HSCの活性化は、Fe²⁺/アスコルビン酸により発生したROS刺激や⁴³⁾、脂質過酸化反応の最終産物であるMDA^{11,98)}や4ヒドロキシノナール⁹⁹⁾の投与によっても惹起されることが示されている。E2に加えて、 α トコフェロール(ビタミンE)¹⁰⁰⁾やレチニルパルミチン酸(ビタミンA誘導体の体内貯蔵型)⁸¹⁾、小柴胡湯(慢性肝障害の漢方治療薬として我国において汎用されている)¹⁰¹⁾、およびシリピニン(肝臓薬として欧州で使われているシリマリンの主要活性成分)¹⁰²⁾のような抗酸化活性を有する化合物がHSCの活性化を阻害することが認められている⁴³⁾。我々が予備的に行った検討で、E2がHSCの酸化ストレスを抑制し、細胞内MDA産生とI型コラーゲン分泌を減少させること⁴⁷⁾、同時に、MDAにより誘発されたHSCの活性化が、ROS産生を抑制することで阻害されることを明らかにした¹⁰³⁾。

サイトカイン類、特に、トランスフォーミング増殖因子 β 1(TGF- β 1)や血小板由来増殖因子(PDGF)を放出するクッパー細胞や浸潤単核細胞のような炎症細胞も、肝障害機序に応答した肝線維化に関与していると考えられている(図2)¹⁾。HSCの活性化を誘発するクッ

パー細胞由来因子の詳細な性質については、現時点ではあまり解明されていないが、例えば、TGF- β 1 と PDGF が HSC を直接活性化することは既に示されている^{104,105}。さらに、これらの増殖因子がパラクラインやオートクライン（活性化した HSC は自ら、TGF- β 1 と PDGF を産生し分泌する）の作用様式で *in vivo* で HSC の形質転換を誘発して活性化を惹起すると考えられている¹⁰⁶。PDGF は重要な細胞増殖因子であり、HSC の細胞増殖を促進する¹⁰⁷。さらに、TGF- β 1 は強力な線維化促進因子であり、MMP 活性を阻害し、EMC の産生と沈着を増加させることができる¹⁰⁸。一方で、TGF- β は肝細胞増殖の阻害因子であり¹⁰⁹、さらに、高濃度の TGF- β は酸化ストレスを誘発し、肝細胞のアポトーシスを招くことは注目すべきことである¹⁰⁹。

E2 に対する TGF- β や PDGF の応答に関しては、Bentzen らは、乳癌患者で、乳房切除後に放射線療法を受けた患者で、タモキシフェン（ER の競合的ブロッカー）が、TGF- β 分泌誘導を介して放射線誘発性肺線維症を増悪させていると結論付けた¹¹⁰。さらに、E2 がヒトの血管平滑筋細胞で PDGF 誘発性の細胞増殖を阻害することが報告されている¹¹¹。一方で、Ashcroft らは、E2 がヒトの皮膚創傷治癒を加速し、これに TGF- β 分泌誘導によるコラーゲン産生が伴っていることを示した¹¹²。いずれにせよ、E2 がこのような増殖因子を含む種々のサイトカイン類の制御を介して間接的に HSC の活性化に関与している可能性は否定できない¹¹³。

HSC の解剖学的位置関係や微細構造、さらに他の臓器における血流を制御する血管周囲細胞（pericyte）との類似性から判断して、HSC が肝に特異的な血管周囲細胞として機能しているという考えが受け入れられている⁸⁹。これまでの研究で HSC の収縮と弛緩が肝類洞内血流を制御していることが示されている^{89,114}。HSC の収縮弛緩運動に明らかに作用する血管制御物質として、エンドセリン（ET）1 と一酸化窒素（NO）がある^{115,117}。ET 1 は肝の *in vivo* での微小循環における強力な血管収縮物質で、肝類洞や類洞以外の部位の両方に作用していること¹¹⁸、外因性 NO が ET 誘発性の収縮を防ぎ、また既に収縮している細胞を弛緩させることが報告されている¹¹⁹。HSC や類洞内皮細胞は、エンドトキシン存在下 / 非存在下の様々な刺激に応答して NO を産生する^{120,121}。クッパー細胞を E2 で刺激すると、エンドトキシンに対する感受性が高まり、IL 1、IL 6 や TNF- α を含む種々の誘導因子の増加を招くことが報告されてい

る¹²²。Sakamoto らは、E2 が類洞内皮細胞の ER を介して NO 合成酵素（NOS）発現を促進し、類洞内皮細胞からの NO 産生を増加させることを示した¹²³。さらに、E2 は、ER を介して血管内皮細胞に影響を及ぼし、NO 産生を増加させることも報告されている¹²⁴。

おわりに

性別に伴う病態の違いは、HCV 持続感染患者だけに限定されるものではなく、他の臓器において線維化に関連した慢性疾患でも大きな関心が持たれている。男性と閉経後女性に動脈硬化症が圧倒的に多く、腎線維症の進行率が高いことは、創傷治癒 / 線維化過程にエストロゲンが一定の役割を果たしている可能性を強く示唆している¹²⁵。今回の総説では、肝線維化だけでなく、HCV 持続感染患者における肝発癌についても E2 が抑制的に関与する可能性を示した。しかし、留意すべきことは、女性に E2 を投与すること自体が、乳癌や子宮内膜異常のような重篤な副作用を惹起することである^{126,128}。加えて、E2 や ER が、胆汁うっ滞性肝障害時の典型的な所見である胆管細胞増殖に関して、促進的に関与していることも報告されている¹²⁹。

肝線維化進展や肝発癌における性差存在の根本的な機序を解明することは、HCV 持続感染に関連する慢性肝疾患の予防と治療に新たな展望を開くものであると確信している。

文 献

- 1) Takano, S., Yokosuka, O., Imazeki, F., Tagawa, M. *et al.*: Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B and C: a prospective study of 251 patients. *Hepatology* 21 : 650-655, 1995
- 2) Shiratori, Y., Shiina, S., Imamura, M., Kato, N. *et al.*: Characteristic difference of hepatocellular carcinoma between hepatitis B and C-viral infection in Japan. *Hepatology* 22 : 1027-1033, 1995
- 3) WHO: Hepatitis C: global prevalence. *Wkly Epidemiol. Rec.*, 72 : 341-344, 1997
- 4) Poynard, T., Bedossa, P., Opolon, P.: Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 349 : 825-832, 1997
- 5) Poynard, T., Ratziu, V., Charlotte, F., Goodman, Z. *et al.*:

- Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis c. *J. Hepatol.*, 34 : 730 739 , 2001
- 6) Shimizu, I., Inoue, H., Yano, M., Shinomiya, H. *et al.* : Estrogen receptor levels and lipid peroxidation in hepatocellular carcinoma with hepatitis C virus infection. *Liver* 21 : 342 349 2001
- 7) Zaman, S. N., Melia, W. M., Johnson, R. D., Portmann, B. C. *et al.* : Risk factors in development of hepatocellular carcinoma in cirrhosis : prospective study of 613 patients. *Lancet* ,1 : 1357 1360 ,1985
- 8) Villa, E., Baldini, G. M., Pasquinelli, C., Melegari, M. *et al.* : Risk factors for hepatocellular carcinoma in Italy. Male sex, hepatitis B virus, non-A non-B infection, and alcohol. *Cancer* 62 : 611 615 ,1988
- 9) Khan, M. H., Farrell, G. C., Byth, K., Lin, R. *et al.* : Which patients with hepatitis C develop liver complications? *Hepatology* 31 : 513 520 2000
- 10) Bruno, S., Silini, E., Crosignani, A., Borzio, F. *et al.* : Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis : a prospective study. *Hepatology* , 25 : 754 758 ,1997
- 11) Shimizu, I. : Antifibrogenic therapies in chronic HCV infection. *Current Drug Targets-Infectious Disorders* , 1 : 227 240 2001
- 12) Wake, K. : Cell-cell organization and functions of 'sinusoids' in liver microcirculation system. *J. Electron Microsc.*, 48 : 89 98 ,1999
- 13) Gressner, A. M., Bachem, M. G. : Cellular sources of noncollagenous matrix proteins : role of fat-storing cells in fibrogenesis. *Semin. Liver Dis.*, 10 : 30 46 ,1990
- 14) Yasuda, M., Shimizu, I., Shiba, M., Ito, S. : Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology* 29 : 719 727 , 1999
- 15) Shimizu, I., Mizobuchi, Y., Shiba, M., Ma, Y. -R. *et al.* : Inhibitory effect of estradiol on activation of rat hepatic stellate cells *in vivo* and *in vitro*. *Gut* 44 : 127 136 ,1999
- 16) Shimizu, I., Omoya, T., Kondo, Y., Kusaka, Y. *et al.* : Estrogen therapy in a male patient with chronic hepatitis C and irradiation-induced testicular dysfunction. *Intern. Med.*, 40 : 100 104 2001
- 17) Carson-Jurica, M. A., Schrader, W. T., O'Malley, B. W. : Steroid receptor family : structure and functions. *Endocr. Rev.*, 11 : 201 220 ,1990
- 18) Kuiper, G. G., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S. *et al.* : Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 93 : 5925 5930 ,1996
- 19) Hagiwara, H., Hayashi, N., Mita, E., Naito, M. *et al.* : Quantitation of hepatitis C virus RNA in serum of asymptomatic blood donors and patients with type C chronic liver disease. *Hepatology* ,17 : 545 550 ,1993
- 20) Oka, H., Kurioka, N., Kim, K., Kanno, T. *et al.* : Prospective study of early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Hepatology* ,12 : 680 697 ,1990
- 21) Ikeda, K., Saitoh, S., Koida, I., Arase, Y. *et al.* : A multivariate analysis of risk factors for hepatocellular carcinogenesis : a prospective observation of 795 patients with viral and alcoholic cirrhosis. *Hepatology* , 18 : 47 53 ,1993
- 22) Fattovich, G., Giustina, G., Degos, F., Tremolada, F. *et al.* : Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C : a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* ,112 : 463 472 ,1997
- 23) Kagi, D., Vignaux, F., Ledermann, B., Burki, K. *et al.* : Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science* 265 : 528 530 , 1994
- 24) Koziel, M. J., Dudley, D., Afdhal, N., Grakoui, A. *et al.* : HLA class I-restricted cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus. Identification of multiple epitopes and characterization of patterns of cytokine release. *J Clin. Invest* 96 : 2311 2321 ,1995
- 25) Braun, M. Y., Lowin, B., French, L., Acha-Orbea, H. *et al.* : Cytotoxic T cells deficient in both functional fas ligand and perforin show residual cytolytic activity yet lose their capacity to induce lethal acute graft-versus-host disease. *J. Exp. Med.*, 183 : 657 661 ,1996
- 26) Shimizu, I., Yao, D. -F., Horie, C., Yasuda, M. *et al.* : Mutations in a hydrophilic part of the core gene of hepatitis C virus in patients with hepatocellular carcinoma in China. *J Gastroenterol* 32 : 47 55 ,1997
- 27) Horie, T., Shimizu, I., Horie, C., Yogita, S. *et al.* : Muta-

- tions of the core gene sequence of hepatitis C virus isolated from liver tissues with hepatocellular carcinoma. *Hepatol. Res.*, 13 : 240-251, 1999
- 28) Kato, N., Yoshida, H., Kioko Ono-Nita, S., Kato, J. *et al.* : Activation of intracellular signaling by hepatitis B and C viruses : C-viral core is the most potent signal inducer. *Hepatology* 32 : 405-412, 2000
- 29) Zhu, N., Khoshnan, A., Schneider, R., Matsumoto, M. *et al.* : Hepatitis C virus core protein binds to the cytoplasmic domain of tumor necrosis factor (TNF) receptor 1 and enhances TNF-induced apoptosis. *J. Virol.*, 72 : 3691-3697, 1998
- 30) Lu, W., Lo, S. Y., Chen, M., Wu, K. *et al.* : Activation of p53 tumor suppressor by hepatitis C virus core protein. *Virology* 264 : 134-141, 1999
- 31) Pfeilschifter, J., Koditz, R., Pfohl, M., Schatz, H. : Changes in Proinflammatory Cytokine Activity after Menopause. *Endocr. Rev.*, 23 : 90-119, 2002
- 32) Rogers, A., Eastell, R. : The effect of 17beta-estradiol on production of cytokines in cultures of peripheral blood. *Bone* 29 : 30-34, 2001
- 33) Kishihara, Y., Hayashi, J., Yoshimura, E., Yamaji, K. *et al.* : IL-1 beta and TNF-alpha produced by peripheral blood mononuclear cells before and during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Dig. Dis. Sci.*, 41 : 315-321, 1996
- 34) Kilbourne, E. J., Scicchitano, M. S. : The activation of plasminogen activator inhibitor-1 expression by IL-1 beta is attenuated by estrogen in hepatoblastoma HepG2 cells expressing estrogen receptor alpha. *Thromb. Haemost.*, 81 : 423-427, 1999
- 35) Ozveri, E. S., Bozkurt, A., Haklar, G., Cetinel, S. *et al.* : Estrogens ameliorate remote organ inflammation induced by burn injury in rats. *Inflamm. Res.* 50 : 585-591, 2001
- 36) Houglum, K., Filip, M., Witztum, J. L., Chojkier, M. : Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal protein adducts in plasma and liver of rats with iron overload. *J. Clin. Invest.*, 86 : 1991-1998, 1990
- 37) Scheuer, P. J., Ashrafzadeh, P., Sherlock, S., Brown, D. *et al.* : The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 15 : 567-571, 1992
- 38) Bach, N., Thung, S. N., Schaffner, F. : The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis : a comparative analysis. *Hepatology* 15 : 572-577, 1992
- 39) Lefkowitz, J. H., Schiff, E. R., Davis, G. L., Perrillo, R. P. *et al.* : Pathological diagnosis of chronic hepatitis C : a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. The Hepatitis Interventional Therapy Group. *Gastroenterology* 104 : 595-603, 1993
- 40) Moriya, K., Yotsuyanagi, H., Shintani, Y., Fujie, H. *et al.* : Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J. Gen. Virol.*, 78 (Pt7) : 1527-1531, 1997
- 41) Moriya, K., Fujie, H., Shintani, Y., Yotsuyanagi, H. *et al.* : The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat. Med.*, 4 : 1065-1067, 1998
- 42) Gressner, A. M., Lotfi, S., Gressner, G., Lahme, B. : Identification and partial characterization of a hepatocyte-derived factor promoting proliferation of cultured fat-storing cells (parasinusoidal lipocytes). *Hepatology* 16 : 1250-1266, 1992
- 43) Lee, K. S., Buck, M., Houglum, K., Chojkier, M. : Activation of hepatic stellate cells by TGFβ and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myc expression. *J. Clin. Invest.*, 96 : 2461-2468, 1995
- 44) Yoshino, K., Komura, S., Watanabe, I., Nakagawa, Y. *et al.* : Effect of estrogens on serum and liver lipid peroxide levels in mice. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 3 : 233-239, 1987
- 45) Lacort, M., Leal, A. M., Liza, M., Martin, C. *et al.* : Protective effect of estrogens and catecholestrogens against peroxidative membrane damage *in vitro*. *Lipids* 30 : 141-146, 1995
- 46) Omoya, T., Shimizu, I., Zhou, Y., Okamura, Y. *et al.* : Effects of idoxifene and estradiol on NF-κB activation in cultured rat hepatocytes undergoing oxidative stress. *Liver* 21 : 183-191, 2001
- 47) Omoya, T., Shimizu, I., Liu, F., Honda, H. *et al.* : Estradiol enhances biological defense activities against oxidative stress and prevents hepatic fibrosis. *Hepatology* 30 : 490A, 1999
- 48) Shimizu I, Omoya T, Zhou Y, Itonaga M, *et al.* : Antioxidant and antiapoptotic activities of a tissue-specific selec-

- tive estrogen receptor modulator, idoxifene, in rat fibrotic liver and in cultured rat hepatocytes. In; Asakura H, Aoyagi Y, Nakazawa S, eds. Trends in Gastroenterology and Hepatology : Millennium 2000 Springer-Verlag Tokyo ,350-355 ,2001
- 49) Schreck, R., Meier, B., Mannel, D. N., Droge, W. *et al.* : Dithiocarbamates as potent inhibitors of nuclear factor κ B activation in intact cells. *J. Exp. Med.*, 175 : 1181-1194 , 1992
- 50) Sen, C. K., Packer, L. : Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J* ,10 : 709-720 ,1996
- 51) Grisham, M. B. : NF- κ B activation in acute pancreatitis : protective, detrimental, or inconsequential? *Gastroenterology* ,116 : 489-492 ,1999
- 52) Lu, G., Shimizu, I., Cui, X., Zhou, Y. *et al.* : Idoxifene and estradiol enhance antiapoptotic activity through the estrogen receptor beta in cultured rat hepatocytes. 2002(submitted)
- 53) Garcia-Segura, L. M., Cardona, G. P., Naftolin, F., Chowen, J. A. : Estradiol upregulates Bcl-2 expression in adult brain neurons. *Neuroreport* ,9 : 593-597 ,1998
- 54) Wang, T. T., Phang, J. M. : Effects of estrogen on apoptotic pathways in human breast cancer cell line MCF-7 . *Cancer Res.*, 55 : 2487-2489 ,1995
- 55) Gohel, A., McCarthy, M. B., Gronowicz, G. : Estrogen prevents glucocorticoid-induced apoptosis in osteoblasts *in vivo* and *in vitro*. *Endocrinology* ,140 : 5339-5347 ,1999
- 56) Ray, P., Ghosh, S. K., Zhang, D. H., Ray, A. : Repression of interleukin-6 gene expression by 17 β -estradiol : inhibition of the DNA-binding activity of the transcription factors NF-IL6 and NF- κ B by the estrogen receptor. *FEBS Lett.*, 409 : 79-85 ,1997
- 57) Sun, W. H., Keller, E. T., Stebler, B. S., Ershler, W. B. : Estrogen inhibits phorbol ester-induced I κ B α transcription and protein degradation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 244 : 691-695 ,1998
- 58) Umayahara, Y., Kawamori, R., Watada, H., Imano, E. *et al.* : Estrogen regulation of the insulin-like growth factor I gene transcription involves an AP-1 enhancer. *J. Biol. Chem.*, 269 : 16433-16442 ,1994
- 59) Schiff, R., Reddy, P., Ahotupa, M., Coronado-Heinsohn, E. *et al.* : Oxidative stress and AP-1 activity in tamoxifen-resistant breast tumors *in vivo*. *J. Natl. Cancer Inst.*, 92 : 1926-1934 ,2000
- 60) Paech, K., Webb, P., Kuiper, G. G., Nilsson, S. *et al.* : Differential ligand activation of estrogen receptors ER alpha and ER beta at AP1 sites. *Science* ,277 : 1508-1510 ,1997
- 61) Zhou, Y., Shimizu, I., Lu, G., Itonaga, M. *et al.* : Hepatic stellate cells contain the functional estrogen receptor β but not the estrogen receptor α in male and female rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 286 : 1059-1065 ,2001
- 62) Lee, C. H., Edwards, A. M. : Stimulation of DNA synthesis and c-fos mRNA expression in primary rat hepatocytes by estrogens. *Carcinogenesis* ,22 : 1473-1481 ,2001
- 63) Kasahara, A., Hayashi, N., Mochizuki, K., Takayanagi, M. *et al.* : Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. Osaka Liver Disease Study Group. *Hepatology* ,27 : 1394-1402 ,1998
- 64) Villa, E., Camellini, L., Dugani, A., Zucchi, F. *et al.* : Variant estrogen receptor messenger RNA species detected in human primary hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.*, 55 : 498-500 ,1995
- 65) Villa, E., Dugani, A., Moles, A., Camellini, L. *et al.* : Variant liver estrogen receptor transcripts already occur at an early stage of chronic liver disease. *Hepatology* ,27 : 983-988 ,1998
- 66) Nemoto, Y., Toda, K., Ono, M., Fujikawa-Adachi, K. *et al.* : Altered expression of fatty acid-metabolizing enzymes in aromatase-deficient mice. *J. Clin. Invest.*, 105 : 1819-1825 ,2000
- 67) Adinolfi, L. E., Gambardella, M., Andreana, A., Tripodi, M. F. *et al.* : Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* ,33 : 1358-1364 ,2001
- 68) George, D. K., Goldwurm, S., MacDonald, G. A., Cowley, L. L. *et al.* : Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology* ,114 : 311-318 ,1998
- 69) Hayashi, H., Takikawa, T., Nishimura, N., Yano, M. *et al.* : Improvement of serum aminotransferase levels after phlebotomy in patients with chronic active hepatitis

- C and excess hepatic iron. *Am. J Gastroenterol.*, 89 : 986 988 ,1994
- 70) Bonkovsky, H. L., Banner, B. F., Rothman, A. L. : Iron and chronic viral hepatitis. *Hepatology* 25 : 759 768 , 1997
- 71) Shimizu, I., Omoya, T., Takaoka, T., Wada, S. *et al.* : Serum amino-terminal propeptide of type III procollagen and 7S domain of type IV collagen correlate with hepatic iron concentration in patients with chronic hepatitis C following alpha-interferon therapy. *J Gastroenterol Hepatol* ,16 : 196 201 ,2001
- 72) Stohs, S. J., Bagchi, D. : Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol Med.*, 18 : 321 336 ,1995
- 73) Berger, M., de Hazen, M., Nejari, A., Fournier, J. *et al.* : Radical oxidation reactions of the purine moiety of 2'-deoxyribonucleosides and DNA by iron-containing minerals. *Carcinogenesis* ,14 : 41 46 ,1993
- 74) Farinati, F., Cardin, R., De Maria, N., Della, L. G. *et al.* : Iron storage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive hepatitis. *J Hepatol.*, 22 : 449 456 ,1995
- 75) Kato, R., Yamazoe, Y. : Sex-specific cytochrome P450 as a cause of sex-and species-related differences in drug toxicity. *Toxicol. Lett.*, 64 65 Spec No : 661 667 ,1992
- 76) Harris, R. Z., Benet, L. Z., Schwartz, J. B. : Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs* 50 : 222 239 ,1995
- 77) Clark, R. G., Carlsson, L. M., Robinson, I. C. : Growth hormone secretory profiles in conscious female rats. *J. Endocrinol.*, 114 : 399 407 ,1987
- 78) Chen, J., Robertson, G., Field, J., Liddle, C. *et al.* : Effects of bile duct ligation on hepatic expression of female-specific CYP2C12 in male and female rats. *Hepatology* 28 : 624 630 ,1998
- 79) Hendriks, H. F., Verhoofstad, W. A., Brouwer, A., de Leeuw, A. M. *et al.* : Perisinusoidal fat-storing cells are the main vitamin A storage sites in rat liver. *Exp. Cell Res.*, 160 : 138 149 ,1985
- 80) Pinzani, M. : Novel insights into the biology and physiology of the Ito cell. *Pharmac. Ther.*, 66 : 387 412 ,1995
- 81) Mizobuchi, Y., Shimizu, I., Hori, H., Shono, M. *et al.* : Retinyl palmitate reduces hepatic fibrosis in rats induced by dimethylnitrosamine or pig serum. *J Hepatol* 29 : 933 943 ,1998
- 82) Casini, A., Ceni, E., Salzano, R., Milani, S. *et al.* : Acetaldehyde regulates the gene expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 in human fat-storing cells. *Life Sci.*, 55 : 1311 1316 ,1994
- 83) Milani, S., Herbst, H., Schuppan, D., Grappone, C. *et al.* : Differential expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 genes in normal and fibrotic human liver. *Am. J. Pathol.*, 144 : 528 537 ,1994
- 84) Iredale, J. P., Murphy, G., Hembry, R. M., Friedman, S. L. *et al.* : Human hepatic lipocytes synthesize tissue inhibitor of metalloproteinases-1. Implications for regulation of matrix degradation in liver. *J. Clin. Invest.*, 90 : 282 287 ,1992
- 85) Maher, J. J., McGuire, R. F. : Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis *in vivo*. *J. Clin. Invest.*, 86 : 1641 1648 ,1990
- 86) Fischer-Dzoga, K., Wissler, R. W., Vesselinovitsh, D. : The effect of estradiol on the proliferation of rabbit aortic medial tissue culture cells induced by hyperlipemic serum. *Exp. Mol. Pathol.*, 39 : 355 363 ,1983
- 87) Vargas, R., Wroblewska, B., Rego, A., Hatch, J. *et al.* : Oestradiol inhibits smooth muscle cell proliferation of pig coronary artery. *Br. J. Pharmacol.*, 109 : 612 617 ,1993
- 88) Lindner, V., Kim, S. K., Karas, R. H., Kuiper, G. G. *et al.* : Increased expression of estrogen receptor- β mRNA in male blood vessels after vascular injury. *Circ. Res.*, 83 : 224 229,1998
- 89) Pinzani, M., Failli, P., Ruocco, C., Casini, A. *et al.* : Fat-storing cells as liver-specific pericytes. Spatial dynamics of agonist-stimulated intracellular calcium transients. *J. Clin. Invest.*, 90 : 642 646 ,1992
- 90) Iafrati, M. D., Karas, R. H., Aronovitz, M., Kim, S. *et al.* : Estrogen inhibits the vascular injury response in estrogen receptor alpha-deficient mice. *Nat. Med.*, 3 : 545 548 ,1997
- 91) Bayard, F., Clamens, S., Meggetto, F., Blaes, N. *et al.* : Estrogen synthesis, estrogen metabolism, and functional estrogen receptors in rat arterial smooth muscle cells in culture. *Endocrinology* ,136 : 1523 1529 ,1995

- 92) Johnson, R. J., Iida, H., Alpers, C. E., Majesky, M. W. *et al.* : Expression of smooth muscle cell phenotype by rat mesangial cells in immune complex nephritis. Alpha-smooth muscle actin is a marker of mesangial cell proliferation. *J. Clin. Invest.*, 87 : 847-858, 1991
- 93) Kwan, G., Neugarten, J., Sherman, M., Ding, Q. *et al.* : Effects of sex hormones on mesangial cell proliferation and collagen synthesis. *Kidney Int.*, 50 : 1173-1179, 1996
- 94) Britton, R. S., Bacon, B. R. : Role of free radicals in liver diseases and hepatic fibrosis. *Hepatogastroenterology*, 41 : 343-348, 1994
- 95) Tsukamoto, H., Rippe, R., Niemela, O., Lin, M. : Roles of oxidative stress in activation of Kupffer and Ito cells in liver fibrogenesis. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 10 (Suppl 1) : S50-S53, 1995
- 96) Baroni GS, D'Ambrosio L, Ferretti G, Casini A *et al.* : Fibrogenic effect of oxidative stress on rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 27 : 720-726, 1998
- 97) Shimizu, I. : Sho-saiko-to : Japanese herbal medicine for protection against hepatic fibrosis and carcinoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 15 : D84-D90, 2000
- 98) Baraona, E., Liu, W., Ma, X. L., Svegliati, B. G. *et al.* : Acetaldehyde-collagen adducts in N-nitrosodimethylamine-induced liver cirrhosis in rats. *Life Sci.*, 52 : 1249-1255, 1993
- 99) Parola, M., Pinzani, M., Casini, A., Albano, E. *et al.* : Stimulation of lipid peroxidation or 4-hydroxynonenal treatment increases procollagen (I) gene expression in human liver fat-storing cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 194 : 1044-1050, 1993
- 100) Chojkier, M., Houglum, K., Lee, K. S., Buck, M. : Long- and short-term D-alpha-tocopherol supplementation inhibits liver collagen alpha 1 (I) gene expression. *Am. J. Physiol.*, 275 : G1480-G1485, 1998
- 101) Shimizu, I., Ma, Y.-R., Mizobuchi, Y., Liu, F. *et al.* : Effects of Sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* 29 : 149-160, 1999
- 102) Boigk, G., Stroedter, L., Herbst, H., Waldschmidt, J. *et al.* : Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. *Hepatology* 26 : 643-649, 1997
- 103) Lu, G., Shimizu, I., Cui, X., Itonaga, M. *et al.* : Inhibitory effect of estradiol on oxidative stress-induced activation of NF-kappaB and AP-1 in cultured rat hepatic stellate cells. 2002 (submitted)
- 104) Pinzani, M., Gesualdo, L., Sabbah, G. M., Abboud, H. E. : Effects of platelet-derived growth factor and other polypeptide mitogens on DNA synthesis and growth of cultured rat liver fat-storing cells. *J. Clin. Invest.*, 84 : 1786-1793, 1989
- 105) Matsuoka, M., Tsukamoto, H. : Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta : implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology*, 11 : 599-605, 1990
- 106) Bachem, M. G., Meyer, D., Melchior, R., Sell, K. M. *et al.* : Activation of rat liver perisinusoidal lipocytes by transforming growth factors derived from myofibroblastlike cells. A potential mechanism of self-perpetuation in liver fibrogenesis. *J. Clin. Invest.*, 89 : 19-27, 1992
- 107) Friedman, S. L., Arthur, M. J. : Activation of cultured rat hepatic lipocytes by Kupffer cell conditioned medium. Direct enhancement of matrix synthesis and stimulation of cell proliferation via induction of platelet-derived growth factor receptors. *J. Clin. Invest.*, 84 : 1780-1785, 1989
- 108) Casini, A., Pinzani, M., Milani, S., Grappone, C. *et al.* : Regulation of extracellular matrix synthesis by transforming growth factor beta 1 in human fat-storing cells. *Gastroenterology*, 105 : 245-253, 1993
- 109) Sanchez, A., Alvarez, A. M., Benito, M., Fabregat, I. : Apoptosis induced by transforming growth factor-beta in fetal hepatocyte primary cultures : involvement of reactive oxygen intermediates. *J. Biol. Chem.*, 271 : 7416-7422, 1996
- 110) Bentzen, S. M., Skoczylas, J. Z., Overgaard, M., Overgaard, J. : Radiotherapy-related lung fibrosis enhanced by tamoxifen. *J. Natl. Cancer Inst.*, 88 : 918-922, 1996
- 111) Williams, M. R., Ling, S., Dawood, T., Hashimura, K. *et al.* : Dehydroepiandrosterone inhibits human vascular smooth muscle cell proliferation independent of ARs and ERs. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87 : 176-181, 2002
- 112) Ashcroft, G. S., Dodsworth, J., van Boxtel, E., Tarnuzzer,

- R. W. *et al.* : Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF-beta1 levels. *Nat. Med.*, 3 : 1209 1215 ,1997
- 113)Bissell, D. M. : Sex and hepatic fibrosis. *Hepatology* 29 : 988 989 ,1999
- 114)Bataller, R., Gines, P., Nicolas, J. M., Gorbig, M. N. *et al.* : Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells. *Gastroenterology* ,118 : 1149 1156 ,2000
- 115)Rockey, D. C., Housset, C. N., Friedman, S. L. : Activation-dependent contractility of rat hepatic lipocytes in culture and *in vivo*. *J. Clin. Invest.*, 92 : 1795 1804 ,1993
- 116)Sakamoto, M., Ueno, T., Kin, M., Ohira, H. *et al.* : Ito cell contraction in response to endothelin 1 and substance P. *Hepatology* ,18 : 978 983 ,1993
- 117)Rockey, D. : The cellular pathogenesis of portal hypertension : stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. *Hepatology* 25 : 2 5 ,1997
- 118)Bauer, M., Zhang, J. X., Bauer, I., Clemens, M. G. : ET-1 induced alterations of hepatic microcirculation : sinusoidal and extrasinusoidal sites of action. *Am. J. Physiol.*, 267 : G143 G149 ,1994
- 119)Rockey, D. C., Chung, J. J. : Inducible nitric oxide synthase in rat hepatic lipocytes and the effect of nitric oxide on lipocyte contractility. *J. Clin. Invest.*, 95 : 1199 1206 ,1995
- 120)Helyar, L., Bundschuh, D. S., Laskin, J. D., Laskin, D. L. : Induction of hepatic Ito cell nitric oxide production after acute endotoxemia. *Hepatology* 20 : 1509 1515 ,1994
- 121)Shah, V., Haddad, F. G., Garcia-Cardena, G., Frangos, J. A. *et al.* : Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids. *J. Clin. Invest.*, 100 : 2923 2930 , 1997
- 122)Ikejima, K., Enomoto, N., Iimuro, Y., Ikejima, A. *et al.* : Estrogen increases sensitivity of hepatic Kupffer cells to endotoxin. *Am. J. Physiol.*, 274 : G669 G676 ,1998
- 123)Sakamoto, M., Ueno, T., Nakamura, T., Hashimoto, O. *et al.* : Estrogen upregulates nitric oxide synthase expression in cultured rat hepatic sinusoidal endothelial cells. *J. Hepatol.*, 34 : 858 864 ,2001
- 124)Hayashi, T., Yamada, K., Esaki, T., Kuzuya, M. *et al.* : Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 214 : 847 855 ,1995
- 125)Pinzani, M., Romanelli, R. G., Magli, S. : Progression of fibrosis in chronic liver diseases : time to tally the score. *J. Hepatol.*, 34 : 764 767 ,2001
- 126)Grady, D., Rubin, S. M., Petitti, D. B., Fox, C. S. *et al.* : Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann. Intern. Med.*, 117 : 1016 1037 ,1992
- 127)Colditz, G. A., Hankinson, S. E., Hunter, D. J., Willett, W. C. *et al.* : The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women. *N. Engl. J. Med.*, 332 : 1589 1593 ,1995
- 128)Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. : Breast cancer and hormone replacement therapy : collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52705 women with breast cancer and 108411 women without breast cancer. *Lancet* ,350 : 1047 1059 ,1997
- 129)Alvaro, D., Alpini, G., Onori, P., Perego, L. *et al.* : Estrogens stimulate proliferation of intrahepatic biliary epithelium in rats. *Gastroenterology* ,119 : 1681 1691 , 2000

Estrogen and hepatic fibrosis in chronic HCV infection

Ichiro Shimizu, Mina Itonaga, Guangming Lu, Xuezhi Cui, Yoshio Toyota, Kenichiro Kubo, Hirohiko Shinomiya, Akemi Tsutsui, Toshiya Okahisa, Hiroshi Shibata, Hirohito Honda, and Susumu Ito
Department of Digestive and Cardiovascular Medicine, The University of Tokushima School of Medicine, Tokushima, Japan

SUMMARY

The most common cause of hepatic fibrosis is chronic hepatitis C virus infection, the characteristic feature of which is hepatic steatosis. Hepatic steatosis leads to an increase in lipid peroxidation in hepatocytes, which in turn activates hepatic stellate cells (HSCs). HSCs are also thought to be the primary target cells for inflammatory stimuli, and produce extracellular matrix components. Clinical observations and death statistics support the view that chronic hepatitis C appears to progress more rapidly in men than in women, and cirrhosis is predominately a disease of men and postmenopausal women. It should be noted in this respect that estradiol (E2) is a potent endogenous antioxidant. Our studies showed that E2 suppressed hepatic fibrosis in hepatic fibrosis models, and attenuated HSC activation in primary culture. Recently, variant estrogen receptors (ERs) were found to be expressed to a greater extent in male patients with chronic liver disease than in female subjects. We also demonstrated decreased levels of ERs in postmenopausal women and cirrhotic patients of both genders.

The present review summarizes our current knowledge of the biological functions of E2 and ER status as it relates to fibrogenesis in the liver.

Key words : HCV, hepatic fibrosis, hepatic stellate cell, estradiol, estrogen receptor