

令和元年6月21日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06691

研究課題名(和文) 肝内リンパ濾胞と肝星細胞活性化との排除の機序解明による組織線維化対策

研究課題名(英文) The Prevention of Fibrosis by the Elucidation of Interaction between Lymphoid Follicles and Activated Liver Stellate Cell.

研究代表者

上村 博輝 (Kamimura, Hiroteru)

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：40706420

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：肝内に形成されたリンパ濾胞組織は慢性C型肝炎の組織においてみられることが多かったが、肝炎ウイルス排除のための研究・臨床が第一義であったため、これまで肝リンパ濾胞組織と組織線維化について行われた研究はなかった。炎症の源を形成する肝内でのリンパ濾胞組織と間質細胞への細胞間コミュニケーションを解明し、革新的組織線維化対策に寄与することを目的として本研究を開始させて頂いた。慢性C型肝炎の診療で採取され、当科で冷所保存しているFFPE検体について、リンパ濾胞を有する組織で分化したと考えられる周囲インターフェイス領域の各種免疫担当細胞の解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで多額の国費を含めた投じられたC型肝炎の研究・治療について、医療において貢献をうける方は多かったが、これを後方視的に解析を行い、採取された既存の検体や組織を有効利用して、線維化改善のための研究結果を得た。高額な機器を利用することなく貴重な科研費を利用して肝-筋-腎の多臓器相関の結果を得た。老化現象がGDP伸び率1.27倍に対して、医療費1.54倍、介護費2.34倍という超高齢社会問題を引き起こす諸問題の観点から今後組織線維化対策につながる。

研究成果の概要(英文)：Reactive lymphoid follicle in the liver has been detected in the patients chronic hepatitis C(CH-C), primary biliary cholangitis and autoimmune hepatitis. The hepatic mass lesion characterized by a dense circumscribed, expansively growing lymphocyte infiltrate with lymph follicles and sometimes germinal centers. Using immunohistological methods, we studied the lymphoid follicles in liver biopsy specimens obtained from the CH-C patients before interferon and DAA therapy. We analyzed various immunocompetent cells in the surrounding interface area that appeared to be differentiated in tissues with lymphoid follicles. Mainly we detected an interesting finding about the relationship with hepatic stellate cells.

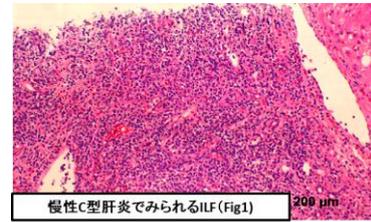
研究分野：肝不全

キーワード：組織線維化 肝筋相関 肝腎相関 サルコペニア

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

組織線維化は脳を除く、全身の主要な臓器に生じ、線維化を起こした臓器は最終的に機能不全に陥る。これらの現象には線維芽細胞、リンパ球、マクロファージ等の間質細胞が密接に関与している。肝内に形成されたリンパ濾胞組織は慢性C型肝炎の組織においてみられることが多かった(Fig.1)が、ウイルス型肝炎の小動物実験系が成立せず、また肝炎ウイルス排除のための研究・臨床が第一義であったため、これまで肝リンパ濾胞組織と組織線維化についてまとまった報告はなかった。炎症の源を形成する肝内でのリンパ濾胞組織と間質細胞への細胞間コミュニケーションを解明し、革新的組織線維化対策に寄与することを目的として本研究を開始した背景がある。



慢性C型肝炎でみられるLF (Fig1)

2. 研究の目的

骨格筋サルコペニア、慢性腎不全、肝硬変等の全身の主要な臓器に生じる線維化は各臓器を機能不全に陥らせる。加齢に伴う臓器・組織の機能低下は臓器線維化を含む多様な老化現象 (Senescence-Associated Secretory Phenotype : SASP) により引き起こされ、肉体的・精神機能低下を引き起こし、要介護者の増加の原因となる。代表者は文部科学省研究振興局学術調査員として【老化メカニズムの解明・制御】【細胞外微粒子による生体応答】【新興再興感染症】等の老化、エクソソーム、ウイルス研究に関わるプロジェクトに参画し、老化現象が GDP 伸び率 1.27 倍に対して、医療費 1.54 倍、介護費 2.34 倍という超高齢社会問題を引き起こす諸問題に対峙してきた。

ゼウスの意に背き人間に火を与えて処罰され、生きながらにして鷲に肝臓をついばまれたプロメテウスの神話からも肝臓は再生する臓器と古来よりされていたが、非アルコール性脂肪肝(Non-alcoholic steatohepatitis : NASH)由来の肝硬変が増加する等、高齢化社会に伴い肝臓も加齢により線維化を起こしている方が多い可能性が高い。肝臓に流入してきた門脈血は肝特有の血管網である類洞を通り、中心静脈へ集められるがその過程で類洞の周囲に存在する肝細胞と血液間で様々な物質の交換が行われる。類洞を構成する肝類洞内皮細胞と肝細胞との間には肝星細胞が存在している。この肝星細胞は、肝傷害時に活性化され、筋線維芽細胞様の形態を呈する。活性化した肝星細胞は、肝細胞の再生に必要な HGF 等のサイトカインを分泌し肝再生を促進する一方、コラーゲンや TGF- β を産生して肝臓の線維化にも関わる。肝星細胞が活性化するには肝内に豊富に存在するリンパ球を中心とする炎症細胞が肝細胞を傷害し、傷害を受けた肝細胞から DAMPs(Damage-associated molecular patterns)と総称される炎症惹起物質が放出され、炎症サイトカインやメディエーターが放出されることによる。直接肝星細胞活性化に強くかかわっている因子をヒト検体、メダカモデルで証明することを目的とした。

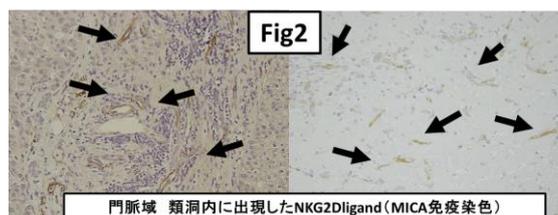
3. 研究の方法

肝内に形成されたリンパ濾胞から形成されるリンパ球と周囲門脈域への影響と活性化された星細胞の排除もしくは維持するためのリンパ濾胞の働きについて NKG2D リガンド (MHC class I-related chain A (MICA) を中心とした肝星細胞を細胞死に至らせるリガンドの発現の検討を開始した。 (Fig. 2)

活性化した星細胞は NKG2D リガンドを発現して、肝内の NK、NKT 細胞によって排除され、これらのシステムが働かないときは細胞老化した肝星細胞が線維促進化をも

たらずと動物実験ではされているがヒト検体では証明されていない。

これまで肝内の NKG2G リガンドの発現と肝内リンパ球の研究を行っており、ウイルス感染状況においてこの NKG2D リガンドの発現が抑えられることを証明し、HDAC、プロテアソーム阻害剤を利用した発現調整の研究成果を得ている。

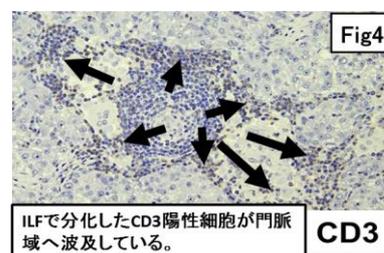


リンパ濾胞(Intrahepatic Lymphoid Follicle : ILF)を形成する慢性 C 型肝炎は抗ウイルス治療の進歩等により、長期生存が可能となり、線維化の経過を診察している症例を取り扱えることは、ヒトモデルを確実に反映しており、組織線維化へのブレークスルーとなる可能性が高い。

4. 研究成果

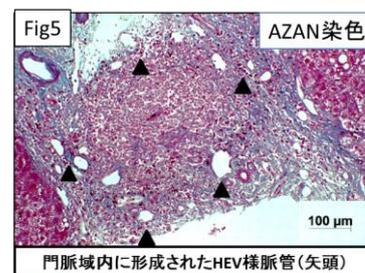
1. ILF とインターフェイス領域のリンパ球の分布の同定.

慢性 C 型肝炎の診療で採取され、当科で冷所保存している FFPE200 検体について、ILF を有する組織で分化したと考えられる周囲インターフェイス領域の NK 細胞、CD3、CD 4 T 細胞、CD 8 T 細胞、NKT 細胞、B 細胞、マクロファージ、樹状細胞の染色を行った (Fig 3. 4)。また老化メダカの ILF のリンパ濾様集簇部位を認めており、内皮細静脈(High endothelial venule : HEV)を中心としたリンパ球採取灌流技術 (Fig5) 等でリンパ球を抽出してフローサイトメトリーや核酸抽出を行い肝臓内領域でのリンパ球の存在部位と量的評価を行い全体像の再現性を確認した。



2. ILF と肝星細胞との細胞間コミュニケーション

レーザーキャプチャーマイクロダイセクション (LCM) 法を利用して、インターフェイス領域に存在し、ILF から分化したリンパ球の近傍に存在する肝星細胞と、近傍には存在しない肝星細胞、ILF を形成していない検体の肝星細胞について p75NTR やデスミン、 α SMA の定性的、定量的評価を行う。活性化された肝星細胞の評価について、IL-33、IL-13、とともに TGF- β 、PDGF、CTGF の定量的検討を同検体より開始している。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件)

(1)Diagnosis and management of fibromuscular dysplasia and segmental arterial mediolysis in gastroenterology field: A mini-review.

Ko M, Kamimura K, Ogawa K, Tominaga K, Sakamaki A, Kamimura H, Abe S, Mizuno K, Terai S

World journal of gastroenterology 24(32) 3637-3649 2018 年 8 月

(2)Rapidly declining skeletal muscle mass predicts poor prognosis of hepatocellular carcinoma treated with transcatheter intra-arterial therapies.

Kobayashi T, Kawai H, Nakano O, Abe S, Kamimura H, Sakamaki A, Kamimura K, Tsuchiya A, Takamura M, Yamagiwa S, Terai S

BMC cancer 18(1) 756 2018 年 7 月

(3)Persistent reduction of mucosal-associated invariant T cells in primary biliary cholangitis.

- (4) Setsu T, Yamagiwa S, Tominaga K, Kimura N, Honda H, Kamimura H, Tsuchiya A, Takamura M, Terai S
Journal of gastroenterology and hepatology 33(6) 1286-1294 2018 年 6 月
- (5) Renal Impairment in Chronic Hepatitis B: A Review.
Kamimura H, Setsu T, Kimura N, Yokoo T, Sakamaki A, Kamimura K, Tsuchiya A, Takamura M, Yamagiwa S, Terai S
Diseases (Basel, Switzerland) 6(2) 2018 年 6 月
- (6) Specific Gastric Blood Vessels in Sinistral Portal Hypertension.
Kamimura H, Ishikawa T, Ishihara N, Terai S
Internal medicine (Tokyo, Japan) 57(7) 1053-1054 2018 年 4 月
- (7) Bleeding from a Small-Intestinal Ulcer Associated with Chronic Hepatitis C.
Kamimura H, Yamagiwa S, Tomohiro I, Higuchi W, Ogata N, Tsuchiya A, Kamimura K, Takamura M, Kawai H, Terai S
The American journal of case reports 19 234-237 2018 年 3 月
- (8) Effect of a neural relay on liver regeneration in mice: activation of serotonin release from the gastrointestinal tract.
Inoue R, Kamimura K, Nagoya T, Sakai N, Yokoo T, Goto R, Ogawa K, Shinagawa-Kobayashi Y, Watanabe-Mori Y, Sakamaki A, Abe S, Kamimura H, Miyamura N, Nishina H, Terai S
FEBS open bio 8(3) 449-460 2018 年 3 月
- (9) Possible involvement of chemokine C-C receptor 7(-)programmed cell death-1(+) follicular helper T-cell subset in the pathogenesis of autoimmune hepatitis
Kimura Naruhiro, Yamagiwa Satoshi, Sugano Tomoyuki, Setsu Toru, Tominaga Kentaro, Kamimura Hiroteru, Takamura Masaaki, Terai Shuji
JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY 33(1) 298-306 2018 年 1 月
- (10) Effective prevention of sorafenib-induced hand-foot syndrome by dried-bonito broth.
Kamimura K, Shinagawa-Kobayashi Y, Goto R, Ogawa K, Yokoo T, Sakamaki A, Abe S, Kamimura H, Suda T, Baba H, Tanaka T, Nozawa Y, Koyama N, Takamura M, Kawai H, Yamagiwa S, Aoyagi Y, Terai S
Cancer management and research 10 805-813 2018 年
- (11) Prognostic value of subcutaneous adipose tissue volume in hepatocellular carcinoma treated with transcatheter intra-arterial therapy.
Kobayashi T, Kawai H, Nakano O, Abe S, Kamimura H, Sakamaki A, Kamimura K, Tsuchiya A, Takamura M, Yamagiwa S, Terai S
Cancer management and research 10 2231-2239 2018 年
- (12) Overexpression of a disintegrin and metalloproteinase 21 is associated with motility, metastasis, and poor prognosis in hepatocellular carcinoma.
Honda H, Takamura M, Yamagiwa S, Genda T, Horigome R, Kimura N, Setsu T, Tominaga K, Kamimura H, Matsuda Y, Wakai T, Aoyagi Y, Terai S
Scientific reports 7(1) 15485 2017 年 11 月
- (13) A Case of Hepatorenal Syndrome and Abdominal Compartment Syndrome with High Renal Congestion
Kamimura Hiroteru, Watanabe Takayuki, Sugano Tomoyuki, Nakajima Nao, Yokoyama Junji, Kamimura Kenya, Tsuchiya Atsunori, Takamura Masaaki, Kawai Hirokazu, Kato Takashi, Watanabe Gen, Yamagiwa Satoshi, Terai Shuji
AMERICAN JOURNAL OF CASE REPORTS 18 1000-1004 2017 年 9 月

〔学会発表〕 (計 11 件)

(1) B型肝炎由来肝細胞癌に関与する NKG2L, NAAs の検討

上村博輝, 薛徹, 寺井崇二

肝臓 59(Supplement 2) A629 2018 年 9 月

(2) 高齢者原発性胆汁性胆管炎に対する治療選択と長期予後

上村博輝, 寺井崇二

肝臓 59(Supplement 2) A632 2018 年 9 月

(3) 当院における循環器疾患が肝臓へ与える影響の指標の解析

上村博輝, 高村昌昭, 寺井崇二

肝臓 59(Supplement 1) A179 2018年4月

(4) 消化器内科医とNSTによる新たな疾患介入と病院内高齢者サルコペニア対策

小師優子, 上村博輝, 寺井崇二,

日本消化器がん検診学会雑誌 56(Supplement) 918-918 2018年9月

(5) 新潟県におけるウイルス性肝炎の動向と各啓発活動状況

上村博輝, 坂牧僚, 寺井崇二

肝臓 59(Supplement 1) A537-A537 2018年4月

(6) 唾液中HBVウイルス量と潜血測定による水平感染リスクの評価と歯科連携

上村博輝, 山際訓, 寺井崇二

肝臓 59(Supplement 1) A245 2018年4月

(7) 自己免疫性肝疾患の最新知見 自己免疫性肝疾患の治療方針決定における経時的肝生検の有用性

上村博輝, 山際訓, 寺井崇二

日本消化器病学会雑誌 115(臨増総会) A166-A166 2018年4月

(8) 当院におけるIFN Based TherapyとDAA治療後の発癌因子の検討

上村博輝, 坂牧僚, 寺井崇二

日本消化器病学会雑誌 115(臨増総会) A345-A345 2018年4月

(9) 世界的動向から考える消化器内科医として注意すべき薬剤耐性

上村博輝, 山際訓, 寺井崇二

日本消化器がん検診学会雑誌 55(Supplement) 940 2017年9月

(10) 内臓脂肪面積と生活習慣病、胆膵疾患、膵脂肪変性に関する検討

河久順志, 五十嵐聡, 林和直, 高橋一也, 富永顕太郎, 水野研一, 橋本哲, 上村博輝,

高村昌昭, 横山純二, 川合弘一, 寺井崇二

日本消化器病学会雑誌 115(臨増総会) A393-A393 2018年4月

(11) 新潟県における肝炎検査の未受検者に対する肝炎啓発の取り組み

坂牧僚, 上村博輝, 寺井崇二

肝臓 59(Supplement 1) A537-A537 2018年4月

[図書] (計3件)

(1) 肝性脳症治療の変遷 肝臓と消化管一腸・肝・脳相関をベースに—各種肝疾患における腸内細菌叢の変化

上村顕也, 坂牧僚, 薛徹, 横尾健, 上村博輝, 阿部聡司, 高村昌昭, 寺井崇二

肝胆膵 78(3) 441 - 446 2019年3月

(2) 肝疾患におけるサルコペニア サルコペニア研究の最前線

吉田智彰, 横山純二, 富永顕太郎, 上村博輝, 坂牧僚, 高村昌昭, 寺井崇二

月刊消化器・肝臓内科 5(1) 120 - 126 2019年1月

(3) Acute on chronic—慢性病態の急性増悪—総論 Acute-on-chronic liver failureの病態—感染症, 循環障害の焦点をあてて—

寺井崇二, 上村博輝, 坂牧僚, 高村昌昭

肝胆膵 76(6) 995 - 1000 2018年6月

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

<https://www.med.niigata-u.ac.jp/in3/index.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：薛 徹

ローマ字氏名：Toru Setsu

研究協力者氏名：上村 顕也

ローマ字氏名：Kenya Kamimura

研究協力者氏名：高村 昌昭

ローマ字氏名：Masaaki Takamura

研究協力者氏名：寺井 崇二

ローマ字氏名：Shuji Terai

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。