

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2007～2008
課題番号：19591606
研究課題名（和文）メカニカルストレス応答からみた肝再生・肝線維化の病態解析と肝臓器再生への応用
研究課題名（英文）Analysis of liver regeneration and liver fibrosis focusing on mechanical stress
研究代表者
飯室 勇二（IIMURO YUJI）
兵庫医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30252018

研究成果の概要：

ヒトにおける切除後肝再生のメカニズムをメカニカルストレス応答の面から解析し、相対的門脈血流量の増加（相対的ストレス増加）が、領域別肝再生を制御している可能性が明らかとなった。また、肝臓におけるメカニカルストレス受容体の存在が具体的に示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床学・消化器外科

キーワード：再生医学，細胞・組織，流体工学，シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、これまで硬変肝および切除肝からの臓器再生のメカニズムについて研究を重ね、肝の臓器再生促進法および傷害に対する肝保護法の開発に携わってきた。しかし、肝臓の再生が実際どのようにして開始されるのか、また再生の停止はいかに制御されるのか、さらには、なぜ線維肝では再生が不良なのかなどの詳細は未知のままであり、今後の再生医療の展開を考えるうえで、解決されなければならない問題が数多く存在する。今回、肝再生および肝線維化の病態をメカニカルストレス応答の面から解析することを目的とする。

2. 研究の目的

(1) メカニカルストレスが肝再生の制御因子であることをヒトで証明するため、3-D 肝切除シミュレーションソフトと、汎用流体力学解析ソフトの組み合わせで、肝切除後の各門脈枝における血流速度および門脈圧の変化と各門脈枝灌流領域の肝再生率とが直接関連するかを検討する。

(2) ヒトおよび実験動物の肝臓におけるメカニカルストレス受容体の存在を検討し、その同定を目的とする。また、同受容体の切除後肝再生および肝線維化における役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 肝切除症例（ヒト）における残肝門脈枝の血流・圧の変動と灌流領域の肝再生に関する検討

① 3-D 肝切除シミュレーションソフトを利用した、肝内門脈枝の抽出と亜区域別肝体積の測定

インフォームドコンセントが得られた肝切除症例に対して、術前に造影 MD-CT をおこない、肝 3-D 画像を作製しそれぞれの門脈形態を抽出し、亜区域体積を測定する。

② 流体力学解析ソフトによる術前後の肝内門脈枝の血流量変化シミュレーション

造影 MD-CT (DICOM データ) から肝内門脈枝の 3-D 画像を抽出し、流体解析ソフト (Fluent) を用いて門脈血流における流体力学解析を行い、門脈血流の部位による流速・圧をシミュレーションする。

③ 肝切除後の各亜区域別の再生肝体積測定と予測門脈血流変化との相関解析

肝切除後約 3 ヶ月に、術前と同様に造影 MD-CT による 3-D シミュレーションを行い、亜区域別の肝再生率を評価するとともに、②でシミュレーションした亜区域別門脈血流の変化（相対的増加）との相関を検討する。

(2) 機械的刺激を感知するメカノセンサー受容体の肝臓における同定

現在、他臓器を含めてメカニカルストレス受容体として同定されている（既知）受容体の存在を、肝組織を用いて免疫組織学的に検討するとともに、ヒト肝臓非実質細胞 cell line を用いて、その存在を検討する。

4. 研究成果

(1) 肝切除症例（ヒト）における残肝門脈枝の血流・圧の変動と灌流領域の肝再生に関する検討

ヒト肝切除症例において、術前および術後 2 週・3 ヶ月にそれぞれ造影 CT (DICOM データ) を基に門脈流体解析を行ったところ、いずれの症例においても、術後 2 週での残存各門脈枝における相対的血流増加率は均一ではなく、門脈の分岐角度・門脈径によってそれぞれ異なっていた。また、シミュレーション上で、肝切除直後に急上昇する門脈内圧も、正常肝（非線維肝）では術後 2 週までに正常化するのに対して、線維肝では内圧上昇の回復が遅れていた。

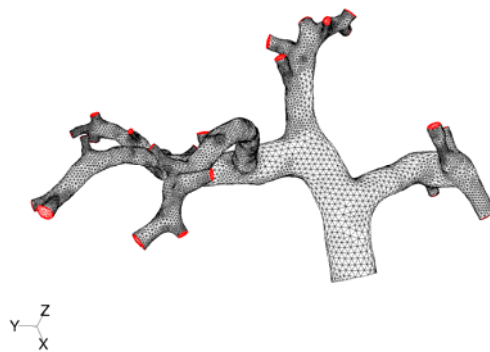
一方、切除後 3 ヶ月における残存肝の領域

別再生率を算出すると、門脈血流と同様に残肝においてその再生率は均一でなかった。

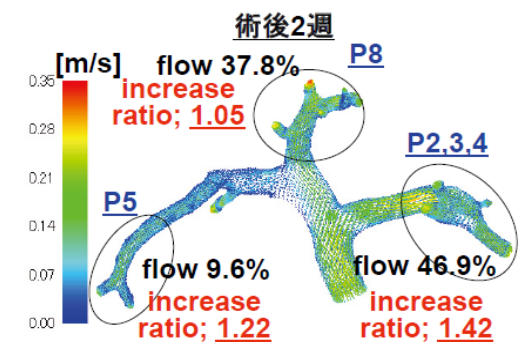
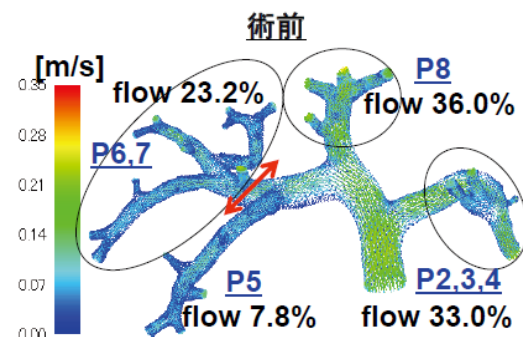
さらに、術後 2 週目の各門脈枝の相対的門脈血流増加率とその灌流領域における術後 3 ヶ月の再生率を比較すると、相互に有意な相関が見られた。

以上の結果から、ヒト肝臓において、肝切除後の相対的門脈血流変化がもたらすメカニカルストレス応答が肝再生を制御している可能性が示唆された。

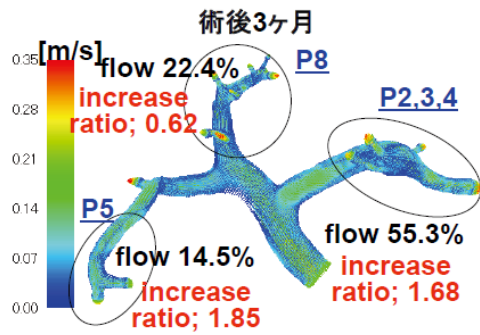
流体解析用メッシュモデル (CT-DICOM データから抽出し作成)



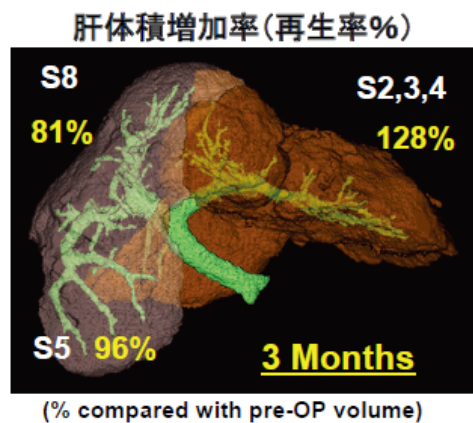
流体解析ソフトによる門脈血流シミュレーション (Fluent による解析)



術後 2 週目における各門脈枝の血流増加率は均一ではなかった。



術後3ヶ月での門脈血流変化も各門脈枝で異なっていた。

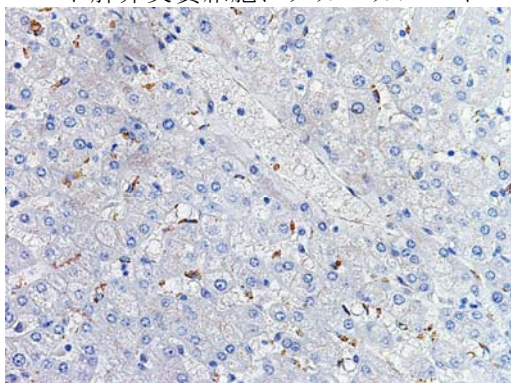


術後3ヶ月での領域別肝体積増加率(再生率)を算出すると、術後2週目の相対的門脈血流増加率と3ヵ月後の領域別再生率が相関する傾向が認められた。

(2) 機械的刺激を感知するメカノセンサー受容体の肝臓における同定

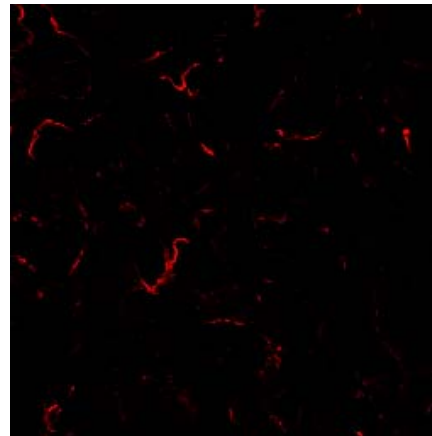
ヒト肝組織におけるメカニカルストレス受容体 (receptor A) の免疫組織染色

ヒト肝非実質細胞にメカニカルストレス



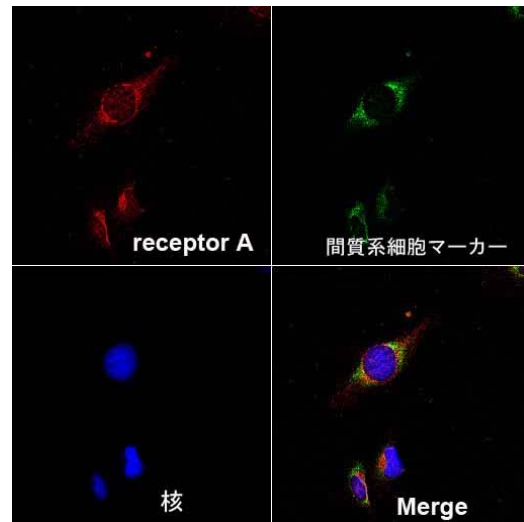
受容体候補の発現を認めた。一方、肝実質細胞には、同受容体の発現は見られなかった。

同受容体 (receptor A) の蛍光免疫組織染色



同様に肝非実質細胞にその発現が認められた。

ヒト由来肝非実質細胞 cell line の蛍光免疫染色



肝非実質細胞 cell line を用いた検討でも、同受容体 (receptor A) の発現が認められた。

以上の結果から、ヒト肝組織においてメカニカルストレスを感知するメカニカルストレス受容体の存在が示唆され、これら受容体の下流シグナルを解析することで、メカニカルストレスによる肝再生制御のメカニズムが明らかになる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 4件)

① Yuji Iimuro, Shin-ichi Saito, Jun-ichi Yamanaka, Tadamichi Hirano, Nobukazu Kuroda, Toshihiro Okada, Takaaki Sugimoto, Yasukane Asano, Naoki Uyama, Yugo Uda, Akito Yada, Jiro Fujimoto.

Computational simulation of peri-operative change in portal blood flow dynamics in fibrotic and non-fibrotic human livers.

19th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 2009, 2.13-15, Hong Kong, China.

(Hepatology International, 3, 176, 2009.)

② Yuji Iimuro, Shin-ichi Saito, Jun-ichi Yamanaka, Tadamichi Hirano, Nobukazu Kuroda, Toshihiro Okada, Takaaki Sugimoto, Yasukane Asano, Naoki Uyama, Yugo Uda, Jiro Fujimoto.

NON-UNIFORM REGIONAL LIVER REGENERATION AFTER HEPATIC SURGERY WELL CORRELATES WITH COMPUTATIONALLY SIMULATED INCREASES IN BLOOD FLOW AND PRESSURE IN PORTAL BRANCHES.

43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, 4.23-27, Milan, Italy.

(Journal of Hepatology, 48, 2, suppl, S68, 2008.)

③ Yuji Iimuro, Shin-ichi Saito, Jun-ichi Yamanaka, Tadamichi Hirano, Nobukazu Kuroda, Toshihiro Okada, Takaaki Sugimoto, Yasukane Asano, Naoki Uyama, Yugo Uda, Jiro Fujimoto.

Non-uniform increases in blood flow and pressure in portal branches after liver surgery assessed by computational flow dynamics simulation well correlate with the regional liver regeneration.

18th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 2008, 3.23-26, Seoul, Korea.

(Hepatology International, 2, A 177, 2008)

④ Yuji Iimuro, Shin-ichi Saito, Jun-ichi Yamanaka, Tadamichi Hirano, Nobukazu Kuroda, Toshihiro Okada, Takaaki Sugimoto, Yasukane Asano, Naoki Uyama, Yugo Uda, Jiro Fujimoto.

Computational flow dynamics simulation of portal branches is useful for analyzing the mechanism of non-uniform regional liver regeneration after surgical resection.

58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, 2007, 11.2-6, Boston, U.S.A.

(Hepatology, 46, 4, suppl. 429A.)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯室 勇二 (IIMURO YUJI)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30252018

(2) 研究分担者

藤元 治朗 (FUJIMOTO JIROU)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：90199373

平野 公通 (HIRANO TADAMICHI)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：90340968

宇山 直樹 (UYAMA NAOKI)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：70402873

(3) 連携研究者

なし