

平成 22 年 4 月 18 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間： 2008～2009  
 課題番号：20790488  
 研究課題名（和文） SDF-1 の血管再構築能向上作用に基づく肝幹細胞からの効率のよい肝再生を目指して  
 研究課題名（英文） Aiming for the improvement of regenerative ability of the liver from hepatic stem cells by analyzing the role of SDF-1  
 研究代表者  
 土屋 淳紀（TSUCHIYA ATSUNORI）  
 新潟大学医歯学総合病院 医員  
 研究者番号：70644005

研究成果の概要：SDF-1(stromal cell derived factor-1)は肝臓においては、胆管や肝幹前駆細胞にまた、人においては血管内皮にも発現が見られていた。SDF-1 のレセプターである CXCR4 の conditional knock out (KO) マウスを用いて検討した結果、KO マウスでは肝障害がより強く現れ、偽胆管様構造を呈する胆管構造が多く出現するにも関わらず結果として適切な肝再生には結びついておらず、SDF-1/CXCR4 の役割は肝再生を促進させる方向に働くことがわかった。

In the liver, stromal cell derived factor-1 (SDF-1) is produced in the bile duct and hepatic stem/progenitor cells. In this study, we analyzed the role of SDF-1 by using the CXCR4 conditional knock out (KO) mice (CXCR4 is the receptor of SDF-1). By analyzing the liver damaged CXCR4 KO mice, we realized that although in the liver hepatic stem/progenitor cells increased, the recovery of liver regeneration was delayed. These results reveal that the role of SDF-1/CXCR4 axis works positive effect for liver regeneration.

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：消化器内科

科研費の分科・細目：

キーワード：SDF-1, 肝再生

## 1. 研究開始当初の背景

肝幹前駆細胞に SDF-1 が発現することは知られていたがその役割に関して統一された見解はなく、結果として肝障害時どのような表現型（肝再生に正の方向に働くのか負の方向

に働くのか）として現れるのかは、現在に至るまで解明されていなかった。今回その役割を明らかにし、たとえば正の方向に働くのであれば、今後 SDF-1 を投与するもしくは阻害物質を抑制するなどの手法でより肝再生を

促す方向で加療ができないかと考え基礎的実験として今回実験を計画した。

## 2. 研究の目的

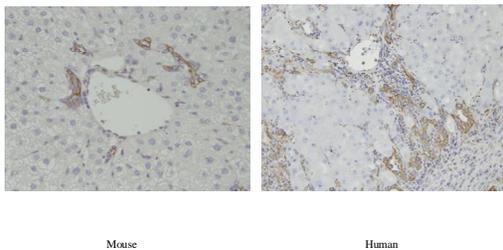
SDF-1 のレセプターである CXCR4 の conditional KO マウスである MxCre-CXCR4 f/-マウスを用い、生後に CXCR4 遺伝子を KO し、かつ慢性肝障害を起こした時に肝再生にどのような変化が起きるのかをコントロールマウスとして MxCre-CXCR4 f/+マウスを用いて解析を行い肝再生における役割を探究することを目的とした。

## 3. 研究の方法

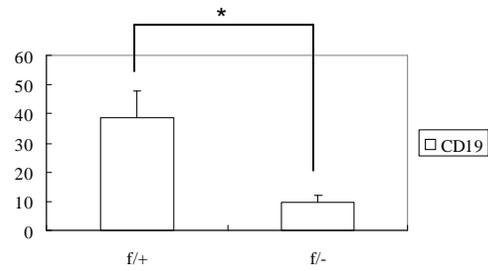
実験には MxCre-CXCR4 f/-マウス及び MxCre-CXCR4 f/+マウスを用いた。血球が未熟なためにおこる変化をさけるため、8週齢のマウスを PIPC(poly-I Poly-C)を用いて KO しさらに、PIPC による顆粒球等減少による実験の誤差をなくすため PIPC 投与後 6 週休んだ。その後肝障害を CCL4 (四塩化炭素) を 2 か月にわたり腹腔内投与することでおこし、KO 群、非 KO 群の慢性肝障害マウスにどのような変化が起きるか免疫染色、フローサイトメトリー、肝胆道系酵素の血清測定などを主に観察した。

## 4. 研究成果

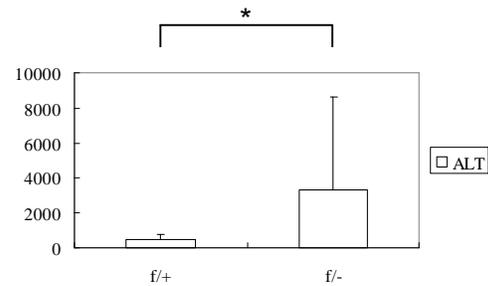
1) マウスの肝内では SDF-1 は胆管及び、肝幹前駆細胞に発現していた。



2) MxCre-CXCR4 f/-マウスは MxCre - CXCR4 f/+マウスに比し B 細胞の減少が見られ ALT の上昇が顕著であり、慢性肝障害に対して強くダメージを受けていた。

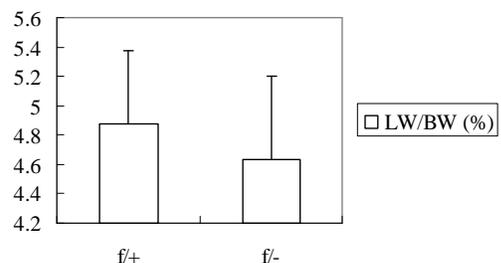
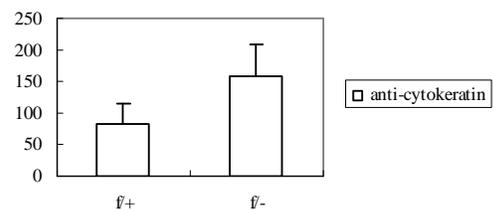


\*P<0.05, CD45 陽性細胞中の CD19 陽性細胞の割合

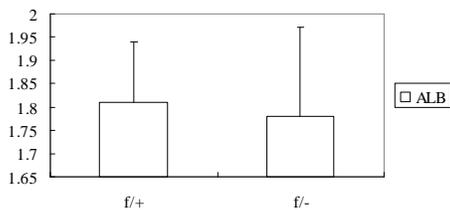


\*P<0.05, ALT; IU/l

3) MxCre-CXCR4 f/-マウスは MxCre-CXCR4 f/+マウスに比し胆管や肝幹前駆細胞マーカーである anti-cytokeratin 抗体を用いた検索にて多くの胆管、肝幹前駆細胞を認めたにも関わらず、肝体重/全体重比等やアルブミン等の数値に上昇傾向はなく再生に結びついていなかった。



LW; 肝体重、BW; 全体重



ALB: アルブミン g/dl

- 4) CXCR4 の発現細胞は単一ではなく、さまざまな細胞が関与しており、さらに詳細な検索を行うためには、特定の細胞に CXCR4 の発現を抑えるマウスの必要性が想定された。
- 5) マイクロアレイ解析により MxCre-CXCR4 f/-マウスと MxCre-CXCR4 f/+マウスの差異を見たところ、f/-群で血管形成に必要な FGF2 や VEGF が低下しており、逆に肝幹細胞マーカーである prominin-1 が上昇していた。

以上の結果から、SDF-1 は肝再生に関し促進する方向で働いていることが明らかになった。しかし、その役割は単一の細胞のみに関与するのではなく多岐に渡っていることが想定でき、それら一つ一つを明らかにし、今後動物実験にて SDF-1 を促進する方向、SDF-1 の阻害物質を抑制する方向 (DPP などは SDF-1 阻害物質として知られこの薬は現在臨床で糖尿病治療薬としてすでに使われている) を目指すことにより、肝再生促進をはかれる可能性があると考えている。

##### 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)

[雑誌論文](計 4 件)

1) Successful treatment of multiple lung metastases of hepatocellular carcinoma by combined chemotherapy with docetaxel, cisplatin and tegafur/uracil

Tsuchiya A, Imai M, Kamimura H, Togashi T, Watanabe K, Seki K, Ishikawa T, Ohta

H, Yoshida T, Kamimura T

*World J Gastroenterol* 2009 April 14; 15(14): 1779-1781

2) Successful Treatment in a Case of Massive Hepatocellular Carcinoma with Paraneoplastic Syndrome

Tsuchiya A, Kubota T, Takizawa K, Yamada K, Wakai T, Matsuda Y, Honma T, Watanabe M, Shirai Y, Maruyama H, Nomoto M, Aoyagi Y

**Case reports in gastroenterology** 2009;3:105-110

3) Clinicopathological analysis of CD133+ and NCAM+ human hepatic stem/progenitor cells in damaged livers and hepatocellular carcinomas

Tsuchiya A, Kamimura H, Takamura M, Yamagiwa S, Matsuda Y, Sato Y, Nomoto M, Ichida T, Aoyagi Y

**Hepatology Research** 2009; 39: 1080-1090

4) 劇症肝炎に対する再生医学の現実性 - 内科医の立場で -

土屋淳紀

肝胆膵 2009 Sep;59(3):469-476

[学会発表](計 2 件)

1) 内科学会総会

人障害肝内に出現する肝幹前駆細胞の分化階層性の解析および肝癌幹細胞マーカーとしての可能性

土屋淳紀、高村昌昭、山際訓、野本実、青柳豊

2) 肝細胞研究会

急性、慢性、人障害肝に見られる NCAM 陽性肝幹前駆細胞および NCAM 陽性肝細胞癌の

解析

土屋淳紀、野本実、青柳豊

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

土屋 淳紀 (TSUCHIYA ATSUNORI)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号: 70644005

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号:

