

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月10日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591510

研究課題名（和文） 肝組織の恒常維持・修復機構における中心的存在としての肝星細胞の役割解明とその応用

研究課題名（英文） Investigation of the central role of hepatic stellate cells in the tissue-repairing process of the liver

研究代表者

飯室 勇二（IIMURO YUJI）

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：30252018

研究成果の概要（和文）：本研究では、肝非実質細胞、とくに肝星細胞と類洞内皮細胞との関連に注目して、肝組織修復機構におけるその働きを検討した。純粋な肝臓組織修復機構である肝切除後の再生に注目し、門脈血流動態変化の解析と、それを感知する機械的ストレス受容体の同定を試みた。ヒト肝切除症例において、術前術後の門脈血流動態を造影 CT から得られる DICOM データを基に、流体解析用の門脈メッシュモデルを作製し、流体解析ソフトによる門脈血流動態変化を検討するとともに、region growing software を用いて正確な領域別肝再生体積との関連を検討した。その結果として、ヒト肝切除後の再生は残存肝で均一に誘導されるのではなく、領域別の門脈血流変化に比例して誘導されることが確認された。一方、ヒト肝組織の免疫組織学的検討からは、類洞内皮細胞に機械的ストレス受容体候補が確認され、ストレス受容体以下のシグナル伝達を示唆するタンパクおよびその受容体の存在が確認された。

研究成果の概要（英文）：The role of non-parenchymal hepatic cells, especially hepatic stellate cells and sinusoidal endothelial cells, in liver regeneration process was investigated focusing on the identification of mechanical stress-receptors on these cells. Meanwhile, relationship between the perioperative change in portal hemodynamics and the regional liver regeneration was analyzed in humans who underwent hepatic surgery. As a result, regional liver regeneration was not homogeneous after hepatic resection, and well correlated with preceding changes in portal flow distribution in each patient. Moreover, several mechanical stress-receptors were identified in resected human liver tissues, and existence of signal transduction pathways under the receptors was suspected by identification of some proteins.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：肝臓外科学

1. 研究開始当初の背景

肝臓の構造は多数の肝実質細胞の集団を数種類の非実質細胞が取り囲み、類洞という特殊な微小循環系と Disse 腔と呼ばれる隙間を形成しているところに特徴がある。研究代表者はこれまでに、肝切除後の門脈血流の相対的増加とそれに伴うメカニカルストレスが、肝再生開始の重要な因子である可能性に注目して検討を行ったが (H12-13 科研費基盤研究(B)、H19-20 科研費基盤研究(C))、培養肝マクロファージや類洞内皮細胞の検討では確定的な結果を得るに至らなかった。しかし、ヒトにおける肝切除後の門脈血流シミュレーションの結果 (H19-20 科研費基盤研究(C)) からは、術後の門脈血流増加が灌流領域の再生率を制御している可能性が強く示唆された。そこで、肝血流が急激に増加するとなりが起こるかを見直し、類洞内腔および類洞内皮にストレスが加わる他に、Disse 腔に存在して類洞内皮細胞を立体的に取り巻いている肝星細胞が伸展されるとともに、類洞内皮細胞に存在する多数の小孔を通して Disse 腔に各種ストレスが伝わることに再注目した。

2. 研究の目的

肝臓は、代謝・解毒・免疫などの中心的臓器であり、その再生能力が旺盛なことで知られている。研究代表者はこれまで、切除後の肝再生機構に関する研究や再生の妨げとなる肝線維化改善の検討を行ってきたが、本研究では、肝非実質細胞、とくに Disse 腔に存在する肝星細胞に注目してその働きに関する研究を行った。肝星細胞は、これまでも肝線維化との関連で多くの注目を集め、線維化における役割を中心に検討されてきたが、正常肝組織における働きや組織傷害からの再生機構における役割に関しては、いまだ不明な点が多い。本研究では、肝組織の恒常維持およびその組織修復機構における肝非実質細胞、特に肝星細胞の役割を明らかにし、今後の再生促進法開発および肝臓器再生研究へ応用することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 肝非実質細胞、特に肝星細胞におけるメカニカルストレス受容体の同定：肝臓におけるメカニカル受容体の存在は、これまで不明な点が多いが、他臓器 (神経、筋肉など) においては数種のメカニカル受容体の報告がなされている。これらの受容体の肝臓での存在を解析した。

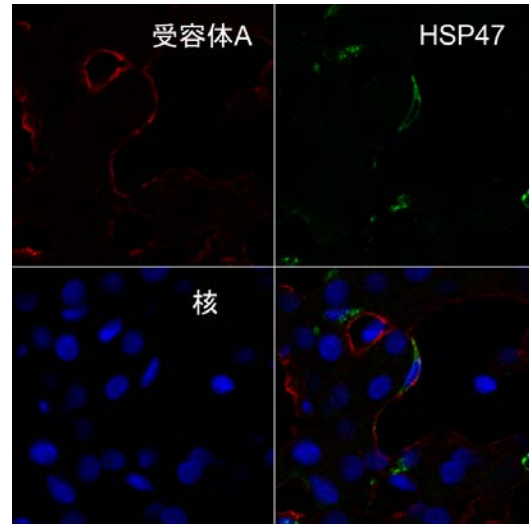
(2) 臨床例 (肝切除症例) における、術前後の門脈血流シミュレーションと再生率に関する検討：ヒトにおける門脈血流変化と再

生との関連を検討するとともに、メカニカルストレス受容体のヒトでの発現を検討した。

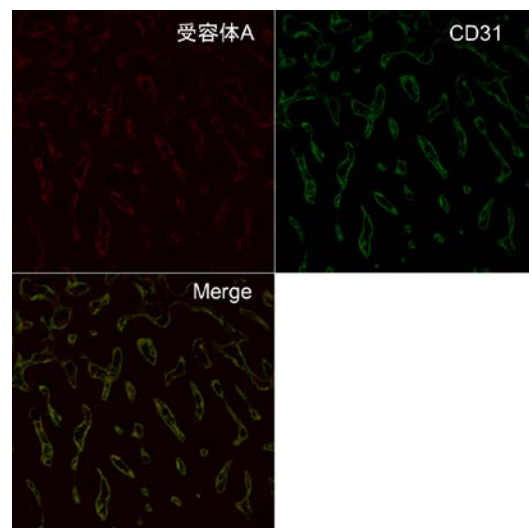
4. 研究成果

(1) 肝臓におけるメカニカルストレス受容体の同定：

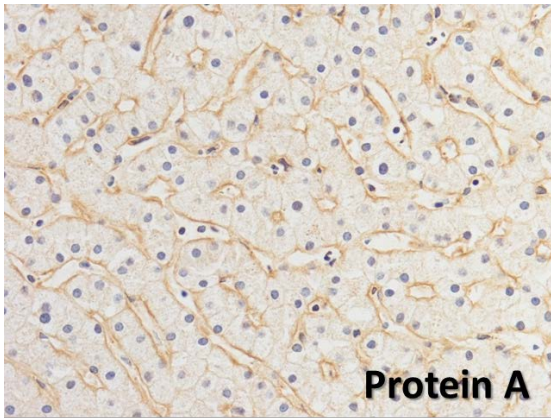
ヒト肝臓内に受容体 A の存在を免疫組織学的手法で同定したが、肝星細胞のマーカである HSP47 との関連で検討すると、星細胞表面とは一致していなかった。



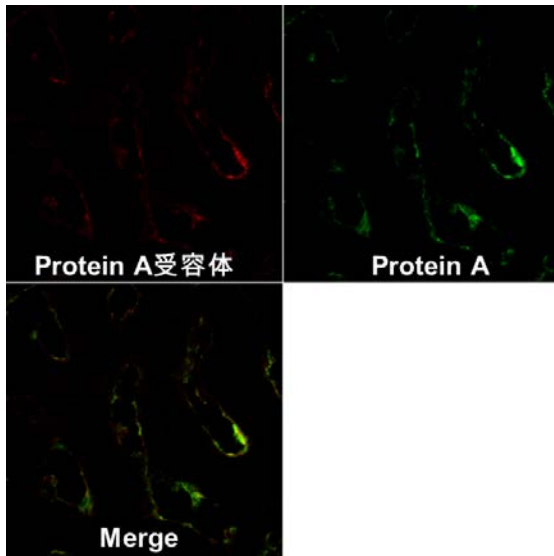
そこで、受容体 A の存在を類洞内皮細胞のマーカである CD31 との関連で検討すると、受容体 A の存在は、類洞内皮細胞表面と一致し、同細胞表面における受容体 A の存在が確認された。



さらに神経細胞において受容体 A の刺激により、産生されるタンパクの存在を同様に、免疫組織学的に検討したところ、Protein A が、ヒト肝臓内に同定され、類洞内皮細胞内に一致して存在していることが確認された。

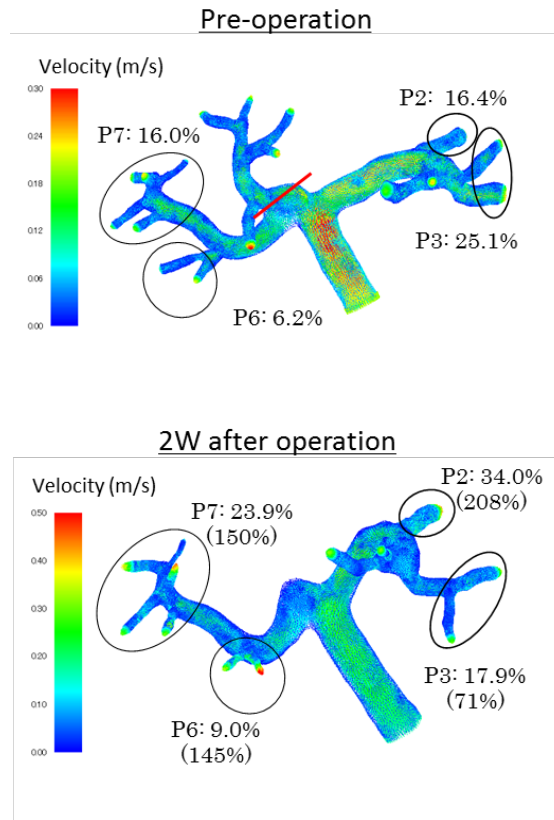


また、Protein A の受容体についても同様にその存在を検討すると、同様に類洞内皮細胞表面に存在しており、Protein A が受容体 A の刺激により産生され、オートクライン的に類洞内皮細胞に働きかける経路が推測された。

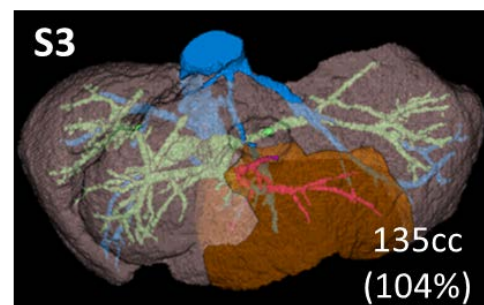
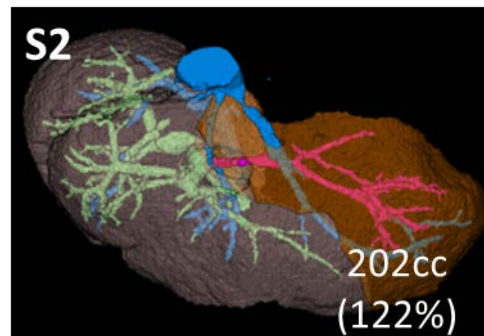


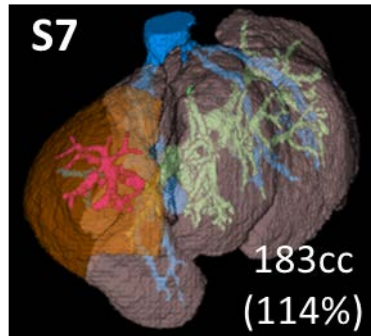
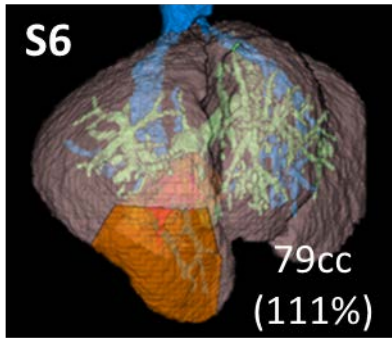
(2) 術前術後の領域別肝再生と門脈血流分布変化に関する検討：ヒト 22 症例において、肝切除後 2 週における門脈血流分布の変化と 3 ヶ月における領域別肝再生率をそれぞれ、コンピュータ流体解析と region growing soft により算出し、比較検討した。

① 術後 2 週における残肝における門脈血流分布の変化率は、それぞれの門脈枝において大きく異なっていた (例図 71-208%)。また、同じパターン of 肝切除を行った症例間でも残存門脈枝における血流分布の変化率は大きく異なり、切除のパターンよりも、残存する門脈の分岐形態や門脈枝径により影響されることが明らかとなった。

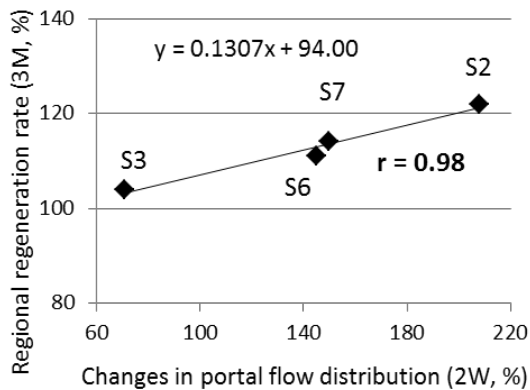


② 一方、術後 3 ヶ月における領域別肝再生率も領域によりまちまちであり、同様のパターンの肝切除後においても、症例によって再生率の大きい領域は異なっていた。以下に、肝前区域 (S5+8) 切除後の 3 ヶ月における領域別肝再生率を提示する。S2、3、6、7 における再生率は大きく異なっていた。





③しかし、これら3ヶ月における不均一の再生率を、術後2週の各門脈枝における血流分布変化率と比較すると強い相関がえられた。



同様に、他の症例でも強い相関 (0.77~0.99)、が認められ、術後比較的早期の各門脈枝における血流変化が、それに引き続く肝再生を制御している可能性がヒトにおいて示された。

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)

[雑誌論文] (計2件)

①Uda Y, Hirano T, Son G, Iimuro Y, Uyama N, Yamanaka J, Mori A, Ariei S, Fujimoto J. Angiogenesis is crucial for liver regeneration after partial hepatectomy. Surgery. 査読有、Vol.153、No.1、2013、pp.70-77. DOI: 10.1016/j.surg.2012.06.021.

②Uyama N, Iimuro Y, Kawada N, Reynaert H, Suzumura K, Hirano T, Kuroda N, Fujimoto J. Fascin, a novel marker of human hepatic stellate cells, may regulate their proliferation, migration, and collagen gene expression through the FAK-PI3K-Akt pathway. Lab Invest. 査読有、Vol.92、No.1、2012、pp.57-71、DOI: 10.1038/labinvest.2011.150.

[学会発表] (計5件)

① Iimuro Y. Preceded Laparoscopic Splenectomy is Useful for Hepatic Resection in HCC with Severe Hypersplenism and Impaired Liver Function. 10th World congress of IHPBA、2012年07月03日、(フランス、パリ)

② Iimuro Y. 他、Changes in blood flow in portal branches possibly regulate non-uniform regional regeneration in human liver after hepatic resection. 第16回 International Society for Hepatic Sinusoidal Research meeting. 2011年9月21日 (イタリア、フィレンツェ)

③ 飯室勇二 他、“流れ”による肝再生制御—ヒト肝切除症例における門脈流体解析と肝再生—、第18回肝細胞研究会、2011年6月24日 (東京)

④ Iimuro Y 他、Analysis of unique liver regeneration in patients with giant liver cysts after fenestration of cysts without liver resection. 第61回米国肝臓学会 (AASLD)、2010年11月1日、(米国、ボストン)

⑤ Iimuro Y 他、Prediction of regional liver regeneration in human at the late-phase of surgery based on the simulation of portal blood flow change at postoperative early period. 45th European society for surgical research、2010年6月11日、(スイス、ジュネーブ)

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・教授
研究者番号：3 0 2 5 2 0 1 8

(2) 研究分担者

鈴木 和夫 (SUZUMURA KAZUHIRO)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：5 0 4 3 4 9 4 9

宇山 直樹 (UYAMA NAOKI)
兵庫医科大学・医学部・研究生 (研究員)
研究者番号：7 0 4 0 2 8 7 3
平野 公通 (HIRANO TADAMICHI)
兵庫医科大学・医学部・講師
研究者番号：9 0 3 4 0 9 6 8
藤元 治朗 (FUJIMOTO JIRO)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号：9 0 1 9 9 3 7 3

(3) 連携研究者
()

研究者番号：