

令和元年6月11日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09370

研究課題名(和文)肝再生不全克服に向けた機能肝細胞増殖機構に関する研究

研究課題名(英文)The study for the proliferation mechanism of functional hepatocyte to address the impaired liver regeneration syndrome

研究代表者

滝川 康裕 (Takikawa, Yasuhiro)

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：50254751

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肝再生不全の際に認められる細胆管反応(偽胆管形成)に寄与する患者血液中の因子を特定し、その因子がどのような機序で再胆管反応を引き起こすのかを実験的に検索した。臨床的研究で血液中の因子の中でIL-8が最も増加していることを確認し、次に実験的研究で、IL-8が成熟肝細胞の増殖を抑制し、肝前駆細胞の増殖を促進することを見出した。さらに、IL-8は成熟肝細胞に作用して、胆管細胞の性質に転換させることを見出した。このことから、患者血液中のIL-8が肝再生不全因子の一つである可能性が示され、臨床的に、血液浄化を行う際の浄化標的になりうるということが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性肝不全は肝疾患の中で最も重篤な疾患で、急激な経過をたどる予後不良の疾患であり、専門施設での集中治療、人工肝補助治療あるいは肝移植など極めて高額な治療を必要とする。その理由は、急激かつ広汎な肝細胞死と肝再生不全にある。人工肝補助が発達し、高率に昏睡からの覚醒が得られるようになった現在、内科的救命に向けての最大の障壁は肝再生不全である。本研究は急性肝不全において肝再生不全を引き起こしている物質の候補の一つとしてIL-8を同定し、血液浄化療法の標的分子のとして位置づけることができた。将来の血液浄化療法の開発に重要な情報を与えると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Hepatocyte-cholangiocyte biphenotypic liver progenitor cell populations appear under the impaired liver regeneration syndrome following severe liver injury. IL-8 was determined to be one of the responsible factors for inhibiting hepatocyte proliferation and promoting progenitor cell proliferation. These findings suggest that IL-8 is an important target molecule of a purification using artificial liver support for the patients with acute liver failure.

研究分野：肝臓病学

キーワード：急性肝不全 肝再生不全 サイトカイン 細胆管反応

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

正常肝は旺盛な再生能力を持つにもかかわらず、障害肝では肝再生不全がしばしば致命的な結果をもたらす。応募者はこれまで急性肝不全の内科的救命率向上のため、血液浄化により肝の至適再生環境を達成することを最終目的として、臨床的に人工肝補助機器の開発を行う一方で、基礎的に肝前駆細胞の増殖機序の研究を行ってきた。これまで重症肝障害例では未分化な肝細胞が増殖しており、そのシグナルはATP P2Y 受容体、TNF 受容体から、JNK, ATF2 に伝達されることを明らかにしたが、この微小環境は機能(成熟)肝細胞の増殖を抑制することも判明した。

2. 研究の目的

上記の背景から、重症肝障害の患者血漿中に機能肝細胞の増殖を抑制する物質が含まれている可能性が示唆されたことから、これを仮説として増殖抑制物質の探索を行うことを第一の目的とした。さらにその増殖シグナル抑制機構を解明するとともに、機能肝細胞の至適増殖環境を明らかにし、浄化の標的分子の探索に繋げることを目的とした。

3. 研究の方法

- 1) ヒト重症肝炎血清がマウス分化・機能肝細胞の増殖、機能維持に与える影響の検討
重症肝炎患者およびドナー血清下の細胞増殖および増殖シグナルの解析
増殖シグナル抑制下の増殖および増殖シグナルの解析
ATP P2Y 受容体、TNF 受容体ほか、HGF、EGF 受容体などのシグナルへの関与の解析
- 2) 血液浄化による劇症肝炎血漿の細胞増殖抑制活性に与える影響の解析
血液浄化療法前後の劇症肝炎患者血清のLPC、分化肝細胞に対する増殖活性の比較。
上記増殖シグナルの比較解析とそれに基づく血清中増殖抑制、促進因子の候補選定

4. 研究成果

高度の肝障害により成熟肝細胞の増殖が抑制されると、細胆管とよばれる幼若な胆管構造(肝前駆細胞)が出現し、急性肝不全の肝再生不全病態の成立に重要な意義を持っている。我々は、急性肝不全血漿中のサイトカインが肝細胞から胆管上皮細胞への分化転換を誘導すると仮説を立て、急性肝不全血漿中のサイトカインの網羅的解析を行い、急性肝不全血漿中で高値を示したサイトカインが肝細胞から胆管上皮細胞への分化転換に寄与する可能性について分子生物学的手法を用いて検証した。

結果: 1. 急性肝不全患者の血漿サイトカインの中で、IL-8が最も高値を示した。2. マウスのIL-8相同体であるKC、MIP-2はマウス成熟肝細胞AML12の増殖を抑制し、肝前駆細胞の増殖を促進した。KC、MIP-2は胆管上皮細胞の増殖には影響を及ぼさなかった。3. AML12および初代培養肝細胞は、KC、MIP-2添加後にSox9 遺伝子および蛋白の有意な発現上昇を認めた。5. ヒト急性肝障害組織中の門脈周囲にSox9陽性肝細胞の出現を認めた。Sox9陽性肝細胞数は、単純性脂肪肝組織と比較して有意な増加を示した。ヒト急性肝障害組織中のSox9陽性細胞の一部は、成熟肝細胞マーカーのHep-par1、HNF4 を共発現していることを確認した。

結論: 急性肝不全患者の血漿で上昇するIL-8が成熟肝細胞において胆管上皮細胞の表現型を誘導することが明らかとなった。また、血清IL-8が生検時に高値を示したヒト急性肝障害組織中にSox9陽性肝細胞が観察された。以上より、IL-8は成熟肝細胞から胆管上皮細胞への分化転換に寄与しており、再生不全因子として浄化対象分子の有力な候補の一つと考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

1. Sasaki T, Suzuki Y, Wang T, Kakisaka K, Ishida K, Sugai T, Takikawa Y. IL-8 induces transdifferentiation of mature hepatocytes toward the cholangiocyte phenotype. 2019 submitted. 査読あり
2. Mawatari S, Moriuchi A, Ohba F, Kawano T, Oda K, Takikawa Y, Takikawa H, Ido A, Tsubouchi H. The recovery of the PT-INR to less than 1.3 predicts survival in patients with severe acute liver injury. *J Gastroenterol*. 2018 Jul;53(7):861-872. 査読あり
3. Kakisaka K, Suzuki Y, Kataoka K, Okada Y, Miyamoto Y, Kuroda H, Takikawa Y. A predictive formula of coma onset and prothrombin time to distinguish patients who recover from acute liver injury. *J Gastroenterol Hepatol*. 2018; 33(1): 277-82. 査読あり
4. Kakisaka K, Kataoka K, Suzuki Y, Kuroda H, Takikawa Y. Appropriate timing to start and optimal response evaluation of high-dose corticosteroid therapy for patients with acute liver failure. *J Gastroenterol*.2017; 52: 977-85. 査読あり
5. Kakisaka K, Kataoka K, Kuroda H, Takikawa Y. Predictive formula for acute liver failure is useful for predicting the prognosis of patients with acute-on-chronic liver failure. *Hepatol Res*. 2016; 46: 459-67. 査読あり
6. Takikawa Y, Kuroda H, Sawara K. The Brain and Liver. *The Liver in Systemic Disease*. Springer. 2016: 51-75. 査読あり
7. Suzuki Y, Katagiri H, Wang T, Kakisaka K, Kume K, Nishizuka SS, Takikawa Y. Ductular reactions in the liver regeneration process with local inflammation after physical partial hepatectomy. *Lab Invest*. 2016 Nov;96(11):1211-1222. 査読あり

〔学会発表〕(計 10 件)

1. Takikawa Y. Early prediction of ALF in patients with acute liver injury. APASL Sigle Topic Conference 2019; Tokyo
2. Suzuki Y, Kakisaka K, Sato T, Abe H, Sasaki T, Takikawa Y. Technetium-99m-GSA Scintigraphy Performed within the First 3 d After Admission as an Early Predictor of Outcome in Severe Acute Liver Injury. The International Liver Congress 2019. Apr 2019. Vienna, Austria.
3. Suzuki Y, Kakisaka K, Suzuki A, Takikawa Y. A Lille Model for Predicting Prognosis after Corticosteroid Treatment of Severe Alcoholic Hepatitis in Japanese Patients. 27th Annual Conference of the Asian Pacific Association for The Study of the Liver. 2018, March,16. New Delhi, India.
4. Takikawa Y, Suzuki Y, Kakisaka K, Miyamoto Y. A multicenter study for the consciousness- regain effect of a newly-developed artificial liver support (ALS) system for acute liver failure: an on-line continuous hemodiafiltration system. AASLD; 2018; San Fransisco.
5. 吉田雄一、米澤美希、鈴木彰子、宮坂昭生、滝川康裕 . 北東北における B 型肝炎ウイルス genotypeA 感染による肝障害の検討 第 54 回日本肝臓学会総会 大阪 06 月 14 日 2018 年
6. 柿坂啓介、鈴木悠地、吉田雄一、滝川康裕 . 急性肝障害患者におけるウイルス肝炎成

- 因が予後に及ぼす影響の検討 第44回日本急性肝不全研究会 大阪06月13日2018年
7. 柿坂啓介、鈴木悠地、滝川康裕 .薬物性肝障害の早期診断と重症化予測の試み .第104回日本消化器病学会総会 東京 04月20日2018年
 8. Suzuki Y, Kakisaka K, Sato T, Mikami R, Takikawa Y. Technetium-99m-GSA Scintigraphy Obtained Within Three Days of Admission as an Early Predictor of Outcome in Acute Liver Failure and Severe Acute Hepatitis. The Liver Meeting® 2017 – The 68th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). Oct 2017. Washington DC, USA.
 9. Suzuki Y, Katagiri H, Wang T, Kakisaka K, Kume K, Nishizuka SS, Takikawa Y. Liver Stem/Progenitor Cells In The Mouse Liver Regeneration Process With Local Inflammation After A Physical Partial Hepatectomy. International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 14th Annual Meeting. Jun 2016. San Francisco, CA USA.
 10. Kakisaka K, Kataoka K, Suzuki Y, Endo K, Miyamoto Y, Kuroda H, Takikawa Y. A predictive formula for the prognosis of patients with acute-on chronic liver failure. The 25th Annual Conference of Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Tokyo, Japan. Feb 20-24, 2016. Tokyo, Japan. Feb 20-24, 2016.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等 なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

(2)研究協力者

研究協力者氏名：王 挺
ローマ字氏名：(Wang Ting)

研究協力者氏名：柿坂 啓介
ローマ字氏名：(Kakisaka Keisuke)

研究協力者氏名：鈴木 悠地
ローマ字氏名：(Suzuki Yuji)

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。