

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19537

研究課題名（和文）脳-腸-肝ネットワークによる新規肝再生治療法の開発

研究課題名（英文）Effect of Organ Communication on Liver Function upon the Liver Injury

研究代表者

寺井 崇二（Shuji, Terai）

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：00332809

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では肝障害モデルマウスを対象として、神経ネットワークによる消化管ホルモンの分泌、肝再生への影響、神経系を介したフィードバック機構による肝再生シグナルの制御機構を解明することを課題とした。経シナプスウィルストレーサーによる肝障害に関する自律神経ネットワークの可視化に成功し、化学遺伝学的手法による腸、肝を結ぶ脳神経経路の活動の特異的な促進あるいは抑制により、肝障害時に神経ネットワークを介して活性化される消化管ホルモンの動態を解明できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性、慢性肝障害モデルマウスにおける肝臓からの求心性自律神経がその肝障害のシグナル伝達に重要で、遠心性に伝達された自律神経シグナルが、消化管ホルモンであるセロトニンやグレリンの発現増加を介して肝臓の病態悪化を防ぐ、生体の恒常性維持のために機能していることが明らかとなった。様々な疾患に関連するとされる自律神経ネットワークの肝障害での関連が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The development of therapeutic options to promote hepatic is essential. While humoral factors have been reported as mechanisms of liver regeneration, the contributions of inter-organ communication to liver regeneration have not been reported. Therefore, in this study, we examined the effect of neural relay on liver regeneration via activation of gastrointestinal hormone release from the gastrointestinal tract. Our results demonstrated that the afferent visceral nerve from the liver activates the efferent vagus nerve from the brain, leading to activation of hormone release from the gastrointestinal tract and contributing to the liver regeneration.

研究分野：消化器内科学

キーワード：脳腸肝ネットワーク 神経 臓器連関

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、臓器連関が様々な病態に関与することが明らかにされている。その中でも、脳、自律神経を介した全身的な臓器横断的なネットワークが難治性疾患の発症、進展に関与すると考えられている。例えば、自閉症やパーキンソン病など脳神経疾患では腸内細菌叢の関与が報告され、一方では自律神経系を介する膵臓のベータ細胞の増加現象が糖尿病治療へ有効とする報告がなされている。これらの観点から、難治疾患の病態解明や新規治療法の開発のためには、多臓器連関に着目した解析と方法論の確立が求められている。

申請者らは、この臓器連関、とくに脳腸肝ネットワークについて分野横断的に協力して基礎研究を行っている。申請者らはこれまでの予備研究で、重篤な急性肝障害時において、脳、自律神経系を介して活性化される消化管ホルモンが、肝の再生過程を促進することを示唆する結果を得ている。

こうした事例から、臓器連関における脳腸 - 腸脳ネットワークは、さまざまな病態を発症する鍵となる生体メカニズムの1つであり、その病態解析こそが肝障害時の新規治療法の開発につながる可能性が想定された。

2. 研究の目的

そこで、本研究課題では、脳-腸-肝ネットワークの関与が示唆される難治疾患の病態メカニズムの解明と新規治療法の開発にむけ、肝障害時に自律神経系を介したシグナル伝達により、腸管からの分泌が活性化される消化管ホルモンの分泌制御による肝再生のメカニズムを解明する、ことを目的とする。さらに得られた成果に基づき、様々な病態に関与すると示唆される消化管ホルモンの検証を行い、難治疾患に対する新規治療法の確立に向けた方法論の基盤を確立する。

3. 研究の方法

本研究では急性、慢性肝障害モデルマウスを対象として、神経ネットワークによる消化管ホルモンの分泌、肝再生への影響、神経系を介したフィードバック機構による肝再生シグナルの制御機構を解明することを課題とする。

申請者らはこれまでの予備研究で、部分肝切除モデルマウスによる急性肝障害時の肝再生過程において、自律神経系のネットワークを介した消化管ホルモンの分泌が肝再生に深く関与することを示唆する所見を得ている。

本研究では、急性、慢性肝障害モデルマウスにおける自律神経系を介した腸管からの消化管ホルモンの分泌制御機構の解明のために、部分肝切除による急性肝障害時の肝再生過程、四塩化炭素投与による慢性肝障害の病態において、肝-脳-腸をつなぐ神経経路の消化管ホルモン分泌への関与を明らかにする。まず経シナプスウィラストレーサーを用いて、肝-脳-腸を結ぶ神経経路の可視化と同定を行い、そのシグナル伝達の肝病態における変化を明らかにする。さらに化学遺伝学的手法を用いて腸、肝を結ぶ脳神経経路の活動を特異的に促進あるいは抑制し、消化管ホルモンの分泌が増加あるいは低下するか検証する。さらには、本手法を用いて、神経系を介した脳へのシグナル伝達によるフィードバック機構の解析を行い、肝障害時に一度活性化した、この神経ネットワークの制御、フィードバック機構について検討する。

その解析結果や方法論を基盤として、他の肝疾患についても腸-脳-肝連関を介した病態メカニ

ズムについて検討する。特に、現時点では有効な治療法のない非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) の病態に着目し、様々な消化管ホルモンの関与について検討を行う。

以上の研究から、自律神経系を介した肝臓の再生機序とその制御メカニズムが明らかとなる。本成果から、肝障害時の恒常性維持システムが明らかになり、その制御による新規再生療法が確立されることが期待される。

本研究グループでは、これまでの実績に基づき、自律神経ネットワークを介した腸・肝の動態・病態の解析法を用い、脳腸肝の解析を融合することが可能である。脳神経の解析は、分担研究者である、上野らの神経回路の可視化と制御により病態との関連の評価が可能である。肝再生の評価におけるピットフォールについては、連携研究者である東京医科歯科大学・難治疾患研究所・発生再生生物学分野の仁科博史 教授、宮村憲央 助教の助言を得ることが可能で、動物実験に関しては本学、動物実験施設の藤澤信義 助教の協力を得ることができ、応募者の研究遂行能力は十分にあると考える。さらに本研究は、臓器横断的で包括的な検討を異分野融合により可能とし、新規治療法の開発へも結びつくことが期待される。新たな研究体制が確立されることから、様々な基礎医学研究への応用へもつながると期待される。

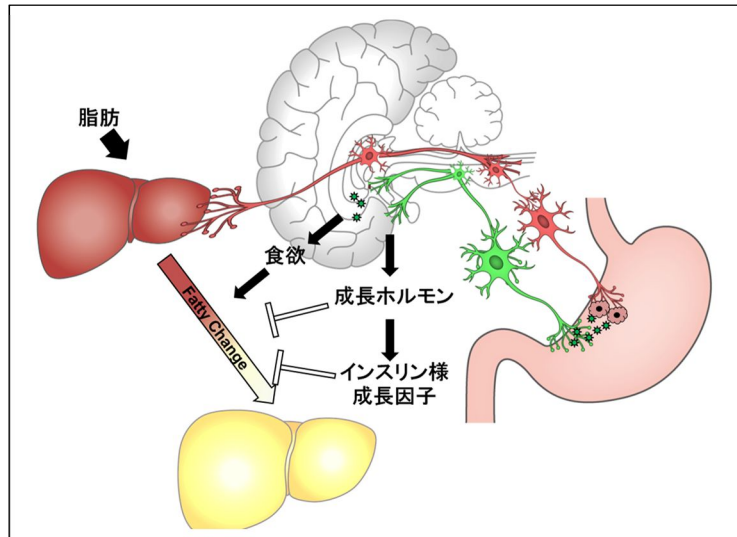
4 . 研究成果

(1) 部分肝切除マウスを対象として、経時的な遠心性迷走神経の活性化を膵 細胞の抗インスリン抗体による免疫染色により確認した。この活性化は、既報のとおり、カプサイシンによる求心性交感神経のブロックにより低下した。すなわち、肝障害時のシグナルが求心性交感神経系を介して中枢に伝達され、迷走神経が活性化されることが確認された。引き続き、小腸のクロム親和性細胞でのセロトニンの合成の変化について免疫染色法により、検討した。部分肝切除 24 時間後よりセロトニンの活性化を認め、カプサイシンによる内臓神経ブロックモデルでは、その活性化が抑制された。すなわち、肝障害時のシグナルが交感神経を介して中枢に伝達され、迷走神経を介して腸管に伝達され、消化管ホルモン分泌の活性化をきたしていることが示唆された。

肝再生は肝細胞への 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)、proliferating cell nuclear antigen (PCNA) の取り込み、肝/体重比によって評価した。カプサイシンによる求心性交感神経ブロックマウスでは、部分肝切除マウスに比較して肝切除後 48 時間後の肝臓で BrdU 及び PCNA の取り込みの低下 ($p < 0.01$) を認め、72 時間後には肝再生過程における肝/体重比の回復遅延を認めた。

以上の結果から、自律神経系のネットワークを介した、消化管からのセロトニンの分泌が、部分肝切除後の肝再生には重要な因子のひとつであることが示唆された。さらに、カプサイシンによる伝達障害の検証により、そのネットワークの活性化には、肝臓からの求心性の交感神経系路が重要であることが証明された。各種のサイトカインや、増殖因子も増加傾向を認めており、セロトニンを含む、様々な因子の関与があることは容易に想像されるが、このように神経のネットワークを介した臓器連関の報告は無く、重要な成果と考える (Inoue R, et al. FEBS Open Bio, 2018)。

(2) コリン欠乏・メチオニン減量食 (CDAA) 給餌マウス、高脂肪食 (HFD) 給餌マウス、メラノコルチン 4 型受容体 (MC4R) ノックアウトマウスを NAFLD モデルとして、通常食給餌マウスの対照群と比較検討する。肝臓の経時的な組織の変化、自律神経を介する脳の変化、消化管とくに消化管ホルモンの変化について、遺伝子発現量、免疫組織学的なタンパク量の変化から解析する。また、これらのマウス群で、自律神経経路をカプサイシン塗布、神経切除により各段階で遮断して同様の解析を行い、神経系の関与を検証する。



NAFLD モデルマウスにおいて、病態の進行とともに、胃グレリン

の発現が増大し、そのシグナル活性化が神経を介して脳内に伝達されていた。この連関が、NAFLD 進展を抑制することが知られている下垂体の成長ホルモン分泌、及び肝からのインスリン様成長因子分泌の上昇に寄与しており、このシグナル伝達は自律神経経路の遮断により抑制された (Nagoya T, et al. Neurogastroenterol Motil, 2020)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kamimura Kenya, Inoue Ryosuke, Nagoya Takuro, Sakai Norihiro, Goto Ryo, Ko Masayoshi, Niwa Yusuke, Terai Shuji	4. 巻 24
2. 論文標題 Autonomic nervous system network and liver regeneration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1616 ~ 1621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v24.i15.1616	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue Ryosuke, Kamimura Kenya, Nagoya Takuro, Sakai Norihiro, Yokoo Takeshi, Goto Ryo, Ogawa Kohei, Shinagawa-Kobayashi Yoko, Watanabe-Mori Yukari, Sakamaki Akira, Abe Satoshi, Kamimura Hiroteru, Miyamura Norio, Nishina Hiroshi, Terai Shuji	4. 巻 8
2. 論文標題 Effect of a neural relay on liver regeneration in mice: activation of serotonin release from the gastrointestinal tract	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 449 ~ 460
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12382	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	上村 顕也 (Kamimura Kenya) (00579146)	新潟大学・医歯学総合病院・講師 (13101)	
研究分担者	上野 将紀 (Ueno Masaki) (40435631)	新潟大学・脳研究所・教授 (13101)	