

令和 2 年 9 月 9 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15949

研究課題名（和文）肝星細胞のエネルギー代謝に着目した肝線維抑制法の開発

研究課題名（英文）The development of hepatic fibrosis suppression focusing on hepatic stellate cell energy metabolism

研究代表者

岩本 拓也 (IWAMOTO, Takuya)

山口大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80634716

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：我々はエネルギー代謝の視点から、肝星細胞の活性化について研究を行い、アデニル酸アイソザイムB(AKisoB)が肝星細胞活性化と関係が深いことを見出した。マイクロアレイ解析でAKisoBをノックダウンすると SMAが2.7倍、Col1A1が2.1倍に増加した。AKisoBをprotein Aにつけたカラムで精製し、ウエスタンブロッティングで評価したところAKisoのバンドの他にいくつかのバンドが確認された。以上の結果によりAKisoBは肝星細胞の活性化にかかわることが証明された。本研究により肝硬変の線維化改善治療薬の創薬、および肝線維化のメカニズム解析につながってゆくことが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝硬変は肝臓の線維化により発症するが、肝線維化の改善についての詳細なメカニズムは未だ解っていない。肝線維化と関係するといわれる SMAについて着目して研究したところ、アデニル酸アイソザイムB(AKisoB)が肝星細胞活性化と関係が深いことを見出した。本研究により肝硬変の線維化改善治療薬の創薬、および肝線維化のメカニズム解析につながってゆくことが期待される。

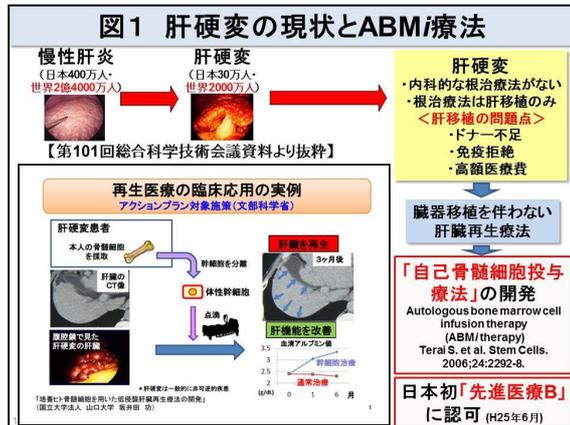
研究成果の概要（英文）：We studied the activation of hepatic stellate cells from the viewpoint of energy metabolism, and found that adenylate isozyme B (AKisoB) is closely related to hepatic stellate cell activation. Knockdown of AKisoB by microarray analysis increased SMA by 2.7-fold and Col1A1 by 2.1-fold. When AKisoB was purified by a column attached to protein IIA and evaluated by Western blotting, several bands were confirmed in addition to the AKiso band. The above results proved that AKisoB is involved in the activation of hepatic stellate cells. This study is expected to lead to the discovery of therapeutic agents for improving fibrosis in liver cirrhosis and the analysis of the mechanism of liver fibrosis.

研究分野：肝臓

キーワード：肝星細胞 肝硬変 骨髄細胞 SMA

1. 研究開始当初の背景

我々は世界に先駆けて肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法 (Autologous Bone Marrow Cell infusion, ABMi 療法) を開発した。現在までに、山口大学、山形大学、国立国際医療研究センター、韓国延世大学と多施設臨床研究を行い、その有効性を報告してきた。平成 25 年 6 月には日本初の“先進医療 B”に認められ、現在多施設臨床研究を推進している (図 1)。これまでの臨床研究の結果より明らかになったことは“肝硬変症患者に自己骨髄細胞



投与”を行うことで、ヒトでは肝前駆細胞の活性化、肝細胞の増殖の結果、肝機能が改善する (Terai S et al. Stem Cells 2006, Cell Transplantation 2010)。

肝線維症は肝細胞損傷が原因で細胞外基質の過剰生産や分解低下により生じる。肝線維化は慢性肝障害で見られ、コラーゲンなど細胞外マトリックスの過剰蓄積が原因と考えられている。肝星細胞は細胞外マトリックスの蓄積に関与する主な細胞である。静止期の肝星細胞は vitaminA と脂質をためる細胞であるが一度活性化すると myofibroblast 様の細胞になり fat vacuoles や vitaminA の蓄積がなくなり、 α -smooth-muscle actin (α -SMA) や Vimentin などの発現が増加し、多くのコラーゲンを蓄積し、線維化促進作用のある TGF- β 、CTGF、IL-6 が分泌されることが知られている。近年肝星細胞で Hypoxia-inducible factor 1 alpha (Hif-1 α) がラット肝星細胞培養細胞の活性化に関わることが報告されるなど、肝星細胞の代謝に関わる報告があるものの、肝星細胞自体についての詳細に関しては解っていないことが多い。そこで本研究では肝星細胞のエネルギー代謝に着目した。生物は核酸、タンパク合成、各種生体反応を行うために、エネルギーが必要である。主要なエネルギー通貨分子である ATP は人体で約 250g 含まれており、リサイクルされることで、一日当たり体重と同量程度合成されている。ATP 産生の重要な経路は解糖系、クエン酸回路/酸化的リン酸化、ベータ酸化である。これまでにエネルギー代謝調節についてはさまざまな分子が研究されている。

2. 研究の目的

これまでに骨髄細胞から肝細胞への分化評価モデル (GFP/CC14 モデル) の研究を行い、肝機能と生存率の回復、肝線維化改善について報告し骨髄細胞投与により硬変肝が修復されることを報告してきた。しかし肝線維化の改善についての詳細なメカニズムは未だ解っておらず、より効率のよい改善効果を得るために検討が必要である。本研究は肝硬変における肝星細胞のエネルギー代謝に着目した基礎的研究を行うことで、星細胞の活性化制御による肝線維化改善、さらには肝硬変治療につながる新たな治療法開発を目的とした。

3. 研究の方法

肝星細胞として HHStec 細胞と LI90 細胞を使用した。肝星細胞活性化に関わる分子をプラスミドベクターを用いた過剰発現もしくは siRNA でノックダウンした細胞を作製した。肝星細胞の活性化のマーカーである SMA やコラーゲンの発現を指標とし、肝星細胞の活性化状態の評価、ATP の濃度変化、細胞の増殖性などを解析した。さらに効果があることが期待された遺伝子については、ノックダウンした株のマイクロアレイ解析を行い遺伝子発現の網羅的解析を行った。さ

化における詳しい機序の解明が今後必要である。例えば AKi soB の遺伝子過剰発現させる薬剤のスクリーニングなどが必要であり今後解析予定である。さらに薬剤による活性型星細胞の発現抑制効果についても詳細な解析を行うためノックアウトマウス作製を行っている。本研究により肝硬変の線維化改善治療薬の創薬、および肝線維化のメカニズム解析につながってゆくことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 Iwamoto T, Maeda M, Saeki I, Hidaka I, Tajima K, Ishikawa T, Takami T, Sakaida I.	4. 巻 34 (7)
2. 論文標題 Analysis of tolvaptan non-responders and outcomes of tolvaptan treatment of ascites.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Gastroenterol Hepatol.	6. 最初と最後の頁 1231-1235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.14524	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 Takuya Iwamoto	4. 巻 vol6, Issue4
2. 論文標題 Long-Term Administration and Outcomes of Tolvaptan for Hepatic Edema	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Liver	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4172/2167-0889.1000220	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 -

1. 著者名 Iwamoto T, Sakaida I.	4. 巻 116(5)
2. 論文標題 Drug treatment for complications of portal hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi.	6. 最初と最後の頁 386-394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11405/nisshoshi.116.386.	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岩本 拓也、石川 剛、坂井田 功
2. 発表標題 トルバプタンが肝硬変患者の予後に与える影響の検討
3. 学会等名 門脈圧亢進症学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takuya Iwamoto, Tsuyoshi Ishikawa, Isao Sakaida
2. 発表標題 Recurrence prediction equation of esophageal varices
3. 学会等名 ISDE2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩本 拓也、石川 剛、坂井田 功
2. 発表標題 トルバプタンの有効使用法、予後に与える影響の検討
3. 学会等名 肝臓学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takuya Iwamoto, Tsuyoshi Ishikawa, Isao Sakaida
2. 発表標題 Clinical Outcomes of Balloon-Occluded Retrograde Transvenous Obliteration for the Patients with Decompensated Cirrhosis.
3. 学会等名 The 55th Annual Meeting of Japan Society of Hepatology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩本 拓也、石川 剛、坂井田 功
2. 発表標題 腎機能からみたトルバプタン投与時のフロセミド増減に関する検討
3. 学会等名 第26回 日本門脈圧亢進症学会総会
4. 発表年 2019年

〔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
研究協力者	藤澤 浩一 (FUJISAWA Koichi)		