

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03636

研究課題名(和文) NASHを反映する改良型MC4RKOマウスでの線維化改善治療開発と発癌機構の解明

研究課題名(英文) Development of a treatment to improve fibrosis and elucidation of carcinogenesis mechanisms in improved NASH model MC4RKO mice

研究代表者

寺井 崇二 (Terai, Shuji)

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) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々はNASHモデルマウスであるメラノコルチン4受容体(MC4R)-KOマウスを用いて、まず線維化と腫瘍に対する影響を検討し早期線維化モデルと早期腫瘍化モデルの確立をした。早期線維化モデルを用いて間葉系幹細胞およびそのエクソソームが炎症及び線維化を改善させる事を明らかにした。更に、腫瘍化に関しては我々はMC4R-KOマウスに高脂肪食を与えたモデルでS1P-S1PR2シグナルをJTE-013という薬剤でブロックすることで早期に高率に肝細胞癌を呈する事をつかみ早期腫瘍化モデルを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は日本国民の食生活の欧米化につれて増えてきており、進行すると肝硬変、肝癌へと至る可能性がある疾患である。本研究では、NASHモデルマウスとして知られる、MC4R-KOを用いて研究を行った。このマウスを使う実験は疾患に至るまで時間がかかるのが問題であったが、我々は、早期に線維化、腫瘍化するモデルを構築する事にまず成功した。引き続き、腫瘍化のモデルにも成功した。またこれらを用いて機序解析を行った。このように、実験期間を短縮させ、更に線維化の将来の治療の可能性、腫瘍の機序について解析が行えたことは有意義と考えている。

研究成果の概要(英文)：Using MC4R-KO mice, a mouse model of NASH, we first examined the effects on fibrosis and tumors to establish an early fibrosis model and an early tumorigenesis model. Using the early fibrosis model, we found that mesenchymal stem cells and their exosomes ameliorate inflammation and fibrosis. Furthermore, in the tumorigenesis model, we established an early tumorigenesis model by blocking S1P-S1PR2 signaling in MC4R-KO mice fed a high-fat diet with the drug JTE-013, and found that the mice showed a high rate of hepatocellular carcinoma at early stage.

研究分野：肝臓

キーワード：非アルコール性脂肪肝炎 線維化 腫瘍

1. 研究開始当初の背景

近年、治療法の進歩に伴いウイルス肝炎に対する予後は著しく改善したが、それとは相反して非アルコール性脂肪性肝炎(Non-Alcoholic Steato Hepatitis; NASH)が原因の肝硬変、発癌の増加が問題となっており、生活習慣の見直しと共に新たな線維化改善薬の開発や発癌機構の解明は喫緊の課題である。NASH を研究する上での大きな問題点は、過食による肥満、インスリン抵抗性、高脂血症、脂肪肝、線維化、発癌とヒト NASH 病態の自然史を反映する実験動物の欠如であった。寺井は、この問題を解決するために Melanocortin-4 Receptor(MC4R)ノックアウトマウスを導入した(Nature. 2000)。MC4R は主に視床下部に発現し摂取やエネルギー消費に重要な役割をし、このノックアウト(KO)マウスは、生後 8 週から高脂肪食を開始すると、8 週後に過食による肥満、インスリン抵抗性、高脂血症、脂肪肝、20 週後に線維化、52 週後に自然発癌をきたすヒト NASH 類似の自然史が再現できる稀有なマウスであることを明らかにしてきた(Am J Pathol. 2011, PLoS One. 2013)。しかし上記の様に研究まで時間がかかることが問題であった。

2. 研究の目的

今回 MC4R-KO マウスを用いて、より早期に炎症線維化、腫瘍化をきたすモデルを作成し、そのモデルを応用して治療法の開発、発癌メカニズムの解析を行うことを目的とした。また腸炎と NASH で併存する状態でのどのようなバランスの時にもっとも腫瘍形成しやすいかも検討した。

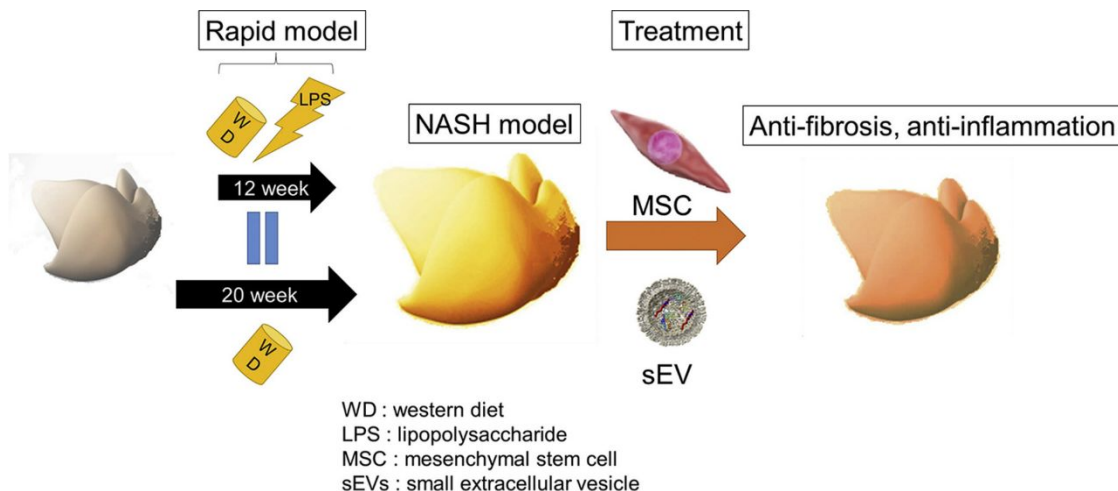
3. 研究の方法

より早期に炎症、線維化を起こさせるために Lipopolysaccharide(LPS)を投与して検討した。今回炎症線維化改善の治療としてヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞及びエクソソームを選択した。また、発癌モデルにはスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)のレセプターS1PR の阻害剤を投与する事で発癌にどのような影響を及ぼすかを検証し、更にその機序をリポドミクス、メタボロミクスで解析する事とした。更に、腸炎も出るとして Dextran sulfate sodium(DSS)を投与したマウスを用い、腸炎と NASH が併存する環境下でのどのような状態が発癌しやすいかを検討した。

4. 研究成果

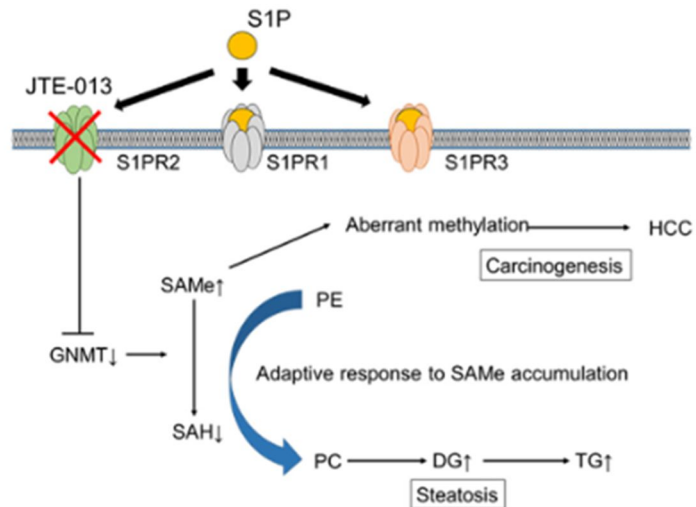
(1) MC4R-KO マウスに LPS を投与する事で早期に NASH モデルが形成され間葉系幹細胞やそのエクソソームは治療効果を及ぼした。

線維化に関しては本マウスに LPS を用いることで、通常高脂肪食を開始してから 20 週で NASH 様病態を起こすのに対し、12 週でもほぼ同様の結果が得られる事を確認し、早期線維化モデルの確立をした。更にこの系を用いて間葉系幹細胞およびそのエクソソームが炎症及び線維化を改善させる事を明らかにした。(Watanabe T, Tsuchiya A, Terai S et al. Regen Ther. 2020 May 15;14:252-261.)



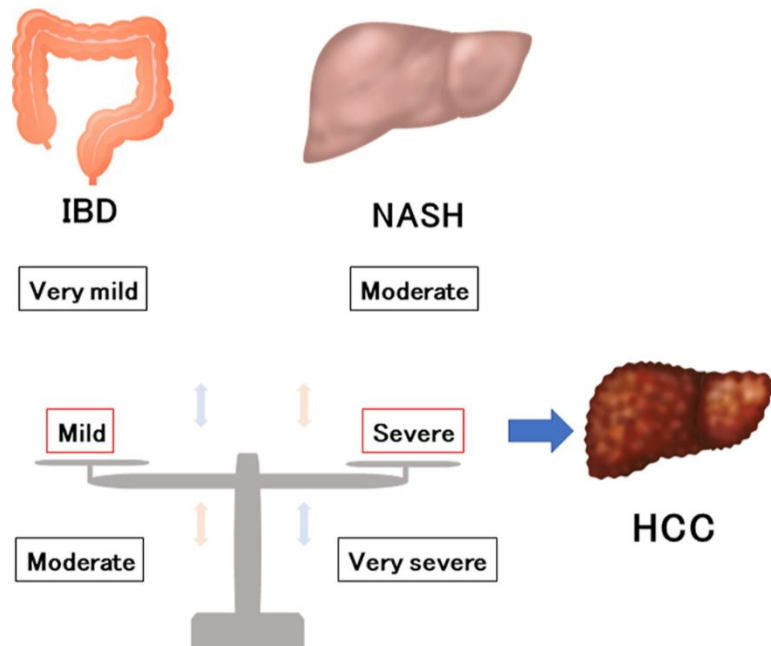
(2) S1P-S1PR2 シグナルをブロックすることで早期より発癌する。

腫瘍化に関しては我々は MC4R-KO マウスに高脂肪食を与えたモデルで S1P-S1PR2 シグナルを JTE-013 という薬剤でブロックすることで早期にこのグループだけに高率に肝細胞癌を呈する事をつかみ早期腫瘍化モデルを確立した。我々は更にリポミクス、メタボロミクス解析にて、JTE-013 を投与したマウスでは methylation に関わる S-adenosyl-l-methionine が上昇する事や diacylglycerol (DG) や triacylglycerol (TG)が増えている事が明らかになった。これらが腫瘍形成に繋がった可能性があると考えている。(Yoshida T, Tsuchiya A, Terai S et al. Biochem Biophys Res Commun. 2020 Oct 1;530(4):665-672.)



(3) 脂肪肝に適度な腸炎が加わると肝細胞癌の発生リスクが高まる

我々は、脂肪肝にどの程度の強さの腸炎が加わったときに最も発癌が高まるかを検討した。そうしたところ、当初は腸炎が強ければ強いほど肝癌の発癌率が高くなると予想していたが、それらは脂肪の程度が弱くなりかえって発癌は少なかった。検討の結果、適度な腸炎が脂肪肝に加わると肝細胞癌の発生リスクが高まる事を新たに明らかにした。(Sato T, Tsuchiya A, Terai S et al. Biochem Biophys Res Commun. 2021 Aug 20;566:36-44.)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Takeuchi Suguru, Tsuchiya Atsunori, Terai Shuji	4. 巻 6
2. 論文標題 Small extracellular vesicles derived from interferon- pre-conditioned mesenchymal stromal cells effectively treat liver fibrosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 npj Regenerative Medicine	6. 最初と最後の頁 なし
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41536-021-00132-4	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 Watanabe Yusuke, Tsuchiya Atsunori, Terai Shuji	4. 巻 27
2. 論文標題 The development of mesenchymal stem cell therapy in the present, and the perspective of cell-free therapy in the future	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and Molecular Hepatology	6. 最初と最後の頁 70 ~ 80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3350/cmh.2020.0194	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 Yoshida Tomoaki, Tsuchiya Atsunori, Kumagai Masaru, Takeuchi Suguru, Nojiri Shunsuke, Watanabe Takayuki, Ogawa Masahiro, Itoh Michiko, Takamura Masaaki, Suganami Takayoshi, Ogawa Yoshihiro, Terai Shuji	4. 巻 530
2. 論文標題 Blocking sphingosine 1-phosphate receptor 2 accelerates hepatocellular carcinoma progression in a mouse model of NASH	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 665 ~ 672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.07.099	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 Watanabe Takayuki, Tsuchiya Atsunori, Takeuchi Suguru, Nojiri Shunsuke, Yoshida Tomoaki, Ogawa Masahiro, Itoh Michiko, Takamura Masaaki, Suganami Takayoshi, Ogawa Yoshihiro, Terai Shuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Development of a non-alcoholic steatohepatitis model with rapid accumulation of fibrosis, and its treatment using mesenchymal stem cells and their small extracellular vesicles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 252 ~ 261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2020.03.012	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 Watanabe Takayuki, Tsuchiya Atsunori, Takeuchi Suguru, Nojiri Shunsuke, Yoshida Tomoaki, Ogawa Masahiro, Itoh Michiko, Takamura Masaaki, Suganami Takayoshi, Ogawa Yoshihiro, Terai Shuji	4. 巻 14
2. 論文標題 Development of a non-alcoholic steatohepatitis model with rapid accumulation of fibrosis, and its treatment using mesenchymal stem cells and their small extracellular vesicles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 252 ~ 261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2020.03.012	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 Ikarashi Shunzo, Tsuchiya Atsunori, Kawata Yuzo, Kojima Yuichi, Watanabe Takayuki, Takeuchi Suguru, Igarashi Katsuhide, Ideta-Otsuka Maky, Oki Katsuyuki, Takamura Masaaki, Terai Shuji	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of Human Adipose Tissue-Derived and Umbilical Cord Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in a Dextran Sulfate Sodium-Induced Mouse Model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BioResearch Open Access	6. 最初と最後の頁 185 ~ 199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/biores.2019.0022	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 Kojima Yuichi, Tsuchiya Atsunori, Ogawa Masahiro, Nojiri Shunsuke, Takeuchi Suguru, Watanabe Takayuki, Nakajima Kenji, Hara Yukio, Yamashita Junji, Kikuta Junichi, Takamura Masaaki, Ishii Masaru, Terai Shuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Mesenchymal stem cells cultured under hypoxic conditions had a greater therapeutic effect on mice with liver cirrhosis compared to those cultured under normal oxygen conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 269 ~ 281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2019.08.005	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 Tsuchiya Atsunori, Takeuchi Suguru, Watanabe Takayuki, Yoshida Tomoaki, Nojiri Shunsuke, Ogawa Masahiro, Terai Shuji	4. 巻 39
2. 論文標題 Mesenchymal stem cell therapies for liver cirrhosis: MSCs as "conducting cells" for improvement of liver fibrosis and regeneration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 なし
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41232-019-0107-z	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 Kawata Yuzo, Tsuchiya Atsunori, Seino Satoshi, Watanabe Yusuke, Kojima Yuichi, Ikarashi Shunzo, Tominaga Kentaro, Yokoyama Junji, Yamagiwa Satoshi, Terai Shuji	4. 巻 376
2. 論文標題 Early injection of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell after inflammation ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice through the induction of M2 macrophages and regulatory T cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell and Tissue Research	6. 最初と最後の頁 257 ~ 271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00441-018-02981-w	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 Sato Takeki, Tsuchiya Atsunori, Owaki Takashi, Kumagai Masaru, Motegi Satoko, Iwasawa Takahiro, Nojiri Shunsuke, Ogawa Masahiro, Takeuchi Suguru, Watanabe Yusuke, Kawata Yuzo, Kamimura Hiroteru, Terai Shuji	4. 巻 566
2. 論文標題 Severe steatosis and mild colitis are important for the early occurrence of hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 36 ~ 44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.05.097	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13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 寺井崇二, 土屋淳紀
2. 発表標題 肝硬変に対するExosome治療
3. 学会等名 日本再生医療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内卓, 土屋淳紀, 寺井崇二
2. 発表標題 間葉系幹細胞のエクソソームによる肝線維化改善抗炎症性マクロファージ誘導法の開発
3. 学会等名 第54回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土屋淳紀、高村昌昭、寺井崇二
2. 発表標題 間葉系幹細胞の治療効果メカニズム検証に基づく肝硬変に対するより効果的な治療法開発
3. 学会等名 JDDW
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土屋淳紀、竹内卓、寺井崇二
2. 発表標題 肝硬変に対する間葉系幹細胞由来エクソソーム療法の開発に向けて
3. 学会等名 第54回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土屋淳紀、竹内卓、寺井崇二
2. 発表標題 IFN- 刺激下間葉系幹細胞由来エクソソームの肝線維化改善における効果・メカニズムの検証
3. 学会等名 第106回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田智彰、土屋淳紀、寺井崇二
2. 発表標題 非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）モデルマウスを用いたスフィンゴシン1リン酸受容体ブロックによる脂質構成の変化と発癌機構の解明
3. 学会等名 第54回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土屋淳紀、高村昌昭、寺井崇二
2. 発表標題 間葉系幹細胞を用いた消化器疾患の再生医療の治療戦略
3. 学会等名 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊貴之、土屋淳紀、寺井崇二
2. 発表標題 新たなNASHモデルマウス開発及び間葉系幹細胞による治療効果の検証
3. 学会等名 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土屋淳紀、竹内 卓、野尻俊介、小川雅裕、寺井崇二
2. 発表標題 IFN- γ ; 刺激下採取間葉系幹細胞由来エクソソームは抗炎症マクロファージを誘導し貧食能を更新させ、肝線維化改善に寄与する
3. 学会等名 日本細胞外小胞学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsunori Tsuchiya, Suguru Takeuchi, Takayuki Watanabe, Shunsuje Nojiri, Masahiro Ogawa, Shuji Terai
2. 発表標題 EXOSOMES ISOLATED FROM HUMAN ADIPOSE TISSUE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS ATTENUATE INFLAMMATION AND FIBROSIS IN A CIRRHOSIS MOUSE MODEL
3. 学会等名 AASLD, Liver Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土屋 淳紀、高村 昌昭、寺井 崇二
2. 発表標題 消化器疾患での間葉系幹細胞を用いた治療法開発
3. 学会等名 JDDW2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsunori Tsuchiya, Suguru Takeuchi, Takayuki Watanabe, Shunsuke Nojiri, Masahiro Ogawa, Shuji Terai
2. 発表標題 EXOSOMES ISOLATED FROM HUMAN ADIPOSE TISSUE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS ATTENUATE INFLAMMATION AND FIBROSIS IN A CIRRHOSIS MOUSE MODEL
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土屋淳紀、渡邊貴之、小川雅裕、野尻俊介、竹内 卓、寺井崇二
2. 発表標題 新たなNASHモデルマウスの開発と間葉系幹細胞およびエクソソームによる治療効果の検証
3. 学会等名 肝類洞壁細胞研究会学術集会
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 分担者	上村 顕也 (Kamimura Kenya) (00579146)	新潟大学・医歯学総合病院・講師 (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	坂牧 僚 (Sakamaki Akira) (40792289)	新潟大学・医歯学系・助教 (13101)	
研究分担者	薛 徹 (Setsu toru) (40837184)	新潟大学・医歯学総合病院・特任助教 (13101)	
研究分担者	土屋 淳紀 (Tsuchiya Atsunori) (70464005)	新潟大学・医歯学総合病院・講師 (13101)	
研究分担者	横尾 健 (Yokoo Takeshi) (80750629)	新潟大学・医歯学総合研究科・特任准教授 (13101)	
研究分担者	高村 昌昭 (Takamura Masaaki) (20422602)	新潟大学・医歯学系・准教授 (13101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関