

機関番号：24601

研究種目：基盤研究 C

研究期間：平成 20 年度 ～ 平成 22 年度

課題番号：20590792

研究課題名（和文） レニンアンジオテンシン系の慢性肝疾患におけるクロストークと治療への応用

研究課題名（英文） Crosstalk of renin-angiotensin system in the chronic liver diseases and therapeutic applications

研究代表者

吉治 仁志（ YOSHIJI HITOSHI ） 奈良県立医科大学 医学部 講師

研究者番号：40336855

研究成果の概要（和文）：本研究期間においてレニンアンジオテンシン系（RAS）の慢性肝疾患、特に肝線維化進展および肝発癌の各過程における役割と作用機序を多角的に基礎、臨床両面から明らかにした。RASを構成する angiotensin-II (AT-II) および aldosterone (Ald) が慢性肝疾患過程において重要な役割を果たしていることを明らかにし、作用機序として血管新生の促進や活性化肝星細胞に対する直接的効果を細胞内シグナルと共に明らかにした。これら基礎的研究の知見と併せて各種臨床試験を行い、既に臨床で使用されている RAS 阻害薬（ACE 阻害薬/ARB）とビタミン K や分枝鎖アミノ酸（BCAA）の併用により根治治療後の肝癌再発が有意に抑制されることを明らかにした。さらに、肝癌再発や肝線維化進展抑制効果が各種薬剤をインスリン抵抗性などの患者背景に応じ、薬剤を組み合わせることにより最大の効果を引き出せることをさまざま条件下で明らかにした。これら本研究により RAS 系の慢性肝疾患におけるクロストークの詳細が明らかになり、肝線維化進展抑制、肝癌再発予防に対する RAS 阻害薬を中心として、既存の薬剤を複数で患者背景に応じ組み合わせて投与する個別化カクテル療法の可能性が確認できたことから本研究が慢性肝疾患患者の予後向上に寄与し得ると考える。

研究成果の概要（英文）：During the period of this grant, we revealed many new findings about the crosstalk of renin-angiotensin system (RAS) in the chronic liver diseases, especially the liver fibrosis development, hepatocarcinogenesis, and the growth of hepatocellular carcinoma (HCC). We reported that angiotensin-II (AT-II) and aldosterone (Ald) play important roles in the respective processes. Both AT-II and Ald could stimulate the proliferation of the activated hepatic stellate cells (HSC) and EC. AT-II and Ald utilizes the PKC and ERK1/2 signaling cascade for the proliferation of endothelial cells (EC), respectively. In the rat hepatocarcinogenesis studies, we observed that the clinically used safe agents such as vitamin K (VK) and branched-chain amino acid (BCAA) exerted a marked inhibitory effects on the progression of chronic liver diseases. And the combination treatment with these agents and ACE inhibitor (ACE-I)/AT-II receptor blocker (ARB) showed more potent inhibitory effects as compared with any single treatment along with anti-angiogenesis. Furthermore, not only in the animal studies, but also we revealed clinical usefulness with these agents. Collectively, our studies with this grant could contribute to the improvement of prognosis in patients with chronic liver diseases.

交付決定額

（金額単位：円）

|       | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 20 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 21 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 22 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度    |           |         |           |
| 年度    |           |         |           |
| 総計    | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：肝臓学

### 1. 研究開始当初の背景

我々は慢性肝疾患進展過程における血管新生の関与に注目し、血管新生阻害によりこれら一連の過程を抑制し得ることを証明してきた。特に、レニンアンジオテンシン系 (RAS) の中心分子である **angiotensin-II (AT-II)** が主要な血管新生因子である **VEGF (vascular endothelial growth factor)** の発現を促進することに注目し、RAS の肝線維化および肝臓における重要性について研究を行ってきた。

### 2. 研究の目的

本研究では、これまでに得られた研究成果をさらに発展させ、さまざまな角度から RAS の慢性肝疾患進展におけるクロストークを明らかにすると共に、その効果的な制御および臨床的治療効果を高める方法につき検討することを目的とする。

### 3. 研究の方法

遺伝子導入や既存薬剤を用いて各種モデルにおける新規治療法の開発を目指した。また、遺伝子多型に基づく治療効果予測の検討についても解析を加えた。さらに、RAS とインスリン抵抗性との関連について基礎・臨床の両面より解析を行った。

### 4. 研究成果

H20年度はさまざまな薬剤の組み合わせによる肝線維化および肝発癌抑制効果について基礎的側面から検討を加え、ACE阻害薬やビタミンKが血管新生阻害に基づく血管新生抑制作用などを有することを明らかにした。次年度は、H20年度までの基礎的検討において明らかとなったACE阻害薬とビタミンKによる抑制効果について、ラジオ波焼灼療法などで局所制御し得たと判断した肝臓患者を対象として臨床的に検討を加えた。書面にて同意を得た後、VK+ACE-I を連日投与し、累積肝臓再発率について対照群と比較検討した。さらに、VK+ACE-I投与による血管新生因子の変化につきProtein Arrayを用いて検討した。

VK+ACE-I投与群25例の累積肝臓再発率は1年 4 %、2年20 %、3年 32 %であり、対照群25例の1年24 %、2年48 %、3年 68 %に比べて低率で、併用投与は肝臓再発を有意に ( $p < 0.01$ ) 抑制した。なお、2年までの検討で、各薬剤の単独投与では有意な再発抑制はみられなかった。投与1年後のProtein Arrayによる検

討で、対照群では血清VEGFレベルが増加していたのに対し、VK+ACE-I投与群では著明に抑制されていた。上記結果を*J Hepatol*を含め後記の各種英文誌に掲載した。さらに、インスリン抵抗性と肝発癌の関連についてインスリン抵抗性を有するOLETFラットを用いて詳細な検討を加えた。さらにアンジオテンシンとインスリン抵抗性の関連に注目してインスリン抵抗性改善作用を有するとされている分枝鎖アミノ酸製剤とACE-Iの併用効果について検討し、著明な効果を認めた。これらの結果を*J Gastroenterol*に報告した。最終年度においては、H21年度までの研究で明らかとなったACE阻害薬(ACE-I)とビタミンKによる内科的治療後の肝臓再発抑制効果 (*J Hepatology* に報告)に加えて、インスリン抵抗性条件下における肝臓再発抑制効果を示す新たな組み合わせを見いだした。まずインスリン抵抗性と肝発癌の関連についてインスリン抵抗性を有するOLETFラットを用いて詳細な検討を加え、インスリン抵抗性改善作用を有するとされている分枝鎖アミノ酸製剤とACE-Iを併用投与することで各薬剤単剤投与よりも強い血管新生阻害を伴う著明な肝発癌抑制効果を示すことを確認し、*J Gastroenterol* に報告した。さらに効果予測に基づく効率的な治療を行うための治療効果予測マーカーについても血管新生因子のprotein arrayを用いて解析を加え、患者血清中の可溶性VEGFR-2がACE-IとVKによる治療効果を予測し得ることを確認し、*Oncol Lett*に報告した。また、NASHに対する新規治療法としてACE-Iと類似の臨床的効果を有するアンジオテンシンII受容体阻害薬 (ARB)と新規経口鉄キレート薬 (DSX)の肝線維化、肝発癌抑制効果を確認し、*Am J Physiol* に報告した。

これら本研究によりレニンアンジオテンシン系の慢性肝疾患におけるクロストークが明らかとなり、近い将来既存の薬剤を複数組み合わせる個別化カクテル療法の可能性が確認できたと考える。

### 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 14 件)

英文誌全て査読有り

1. Cocktail therapy with a combination of interferon, ribavirin and angiotensin-II type 1 receptor blocker attenuates murine liver fibrosis development. Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kaji K, Aihara Y, Shirai Y, Yoshii J, Yanase K, Fukui H. Int J Mol Med. 2011 Mar 23.
2. Impact of Renin-Angiotensin System in Hepatocellular Carcinoma. Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kaji K, Aihara Y, Fukui H. Curr Cancer Drug Targets. 2011 Mar 14.
3. Combination Treatment of Angiotensin-II Type I Receptor Blocker and New Oral Iron Chelator Attenuates Progression of Non-alcoholic Steatohepatitis in Rats. Kaji K, Yoshiji H, Kitade M, Ikenaka Y, Noguchi R, Shirai Y, Aihara Y, Namisaki T, Yoshii J, Yanase K, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2011 Mar 3.
4. The vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-2 is a major regulator of VEGF-mediated salvage effect in murine acute hepatic failure. Namisaki T, Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kitade M, Kaji K, Shirai Y, Aihara Y, Yoshii J, Yanase K, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. J Angiogenes Res. 2010 Aug 24;2:16
5. Selective aldosterone blocker ameliorates the progression of non-alcoholic steatohepatitis in rats. Noguchi R, Yoshiji H, Ikenaka Y, Kaji K, Shirai Y, Aihara Y, Yamazaki M, Namisaki T, Kitade M, Yoshii J, Yanase K, Kawaratani H, Tsujimoto T, Fukui H. Int J Mol Med. 2010 Sep;26(3):407-13.
6. Selective aldosterone blocker, eplerenone, attenuates hepatocellular carcinoma growth and angiogenesis in mice. Kaji K, Yoshiji H, Kitade M, Ikenaka Y, Noguchi R, Shirai Y, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. Hepatol Res. 2010 May;40(5):540-9.
7. Attenuation of insulin-resistance-based hepatocarcinogenesis and angiogenesis by combined treatment with branched-chain

- amino acids and angiotensin-converting enzyme inhibitor in obese diabetic rats. Yoshiji H, Noguchi R, Kaji K, Ikenaka Y, Shirai Y, Namisaki T, Kitade M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. J Gastroenterol. 2010 Apr;45(4):443-50.
8. Crosstalk between angiogenesis, cytokeratin-18, and insulin resistance in the progression of non-alcoholic steatohepatitis. Kitade M, Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kaji K, Shirai Y, Yamazaki M, Uemura M, Yamao J, Fujimoto M, Mitoro A, Toyohara M, Sawai M, Yoshida M, Morioka C, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. World J Gastroenterol. 2009 Nov 7;15(41):5193-9.
  9. Anti-fibrotic therapy: Are matrix metalloproteinases friends or foes? Yoshiji H. Hepatol Res. 2009 Aug;39(8):748-50.
  10. Synergistic inhibitory effect of gemcitabine and angiotensin type-1 receptor blocker, losartan, on murine pancreatic tumor growth via anti-angiogenic activities. Noguchi R, Yoshiji H, Ikenaka Y, Namisaki T, Kitade M, Kaji K, Yoshii J, Yanase K, Yamazaki M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Fukui H. Oncol Rep. 2009 Aug;22(2):355-60.
  11. Combination of vitamin K2 and angiotensin-converting enzyme inhibitor ameliorates cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma. Yoshiji H, Noguchi R, Toyohara M, Ikenaka Y, Kitade M, Kaji K, Yamazaki M, Yamao J, Mitoro A, Sawai M, Yoshida M, Fujimoto M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Uemura M, Fukui H. J Hepatol. 2009 Aug;51(2):315-21.
  12. Losartan, an angiotensin-II type 1 receptor blocker, attenuates the liver fibrosis development of non-alcoholic steatohepatitis in the rat. Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Namisaki T, Kitade M, Kaji K, Shirai Y, Yoshii J, Yanase K, Yamazaki M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Akahane T, Aihara Y, Fukui H. BMC Res Notes. 2009 May 5;2:70.
  13. Branched-chain amino acids suppress insulin-resistance-based hepatocarcinogenesis in obese diabetic rats. Yoshiji H, Noguchi R, Kitade M, Kaji K, Ikenaka Y, Namisaki T, Yoshii J, Yanase K, Yamazaki M, Tsujimoto T, Akahane T,

Kawaratani H, Uemura M, Fukui H. J Gastroenterol. 2009;44(5):483-91.  
14. Impact of insulin resistance on the progression of chronic liver diseases. Kaji K, Yoshiji H, Kitade M, Ikenaka Y, Noguchi R, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Moriya K, Tsujimoto T, Kawaratani H, Akahane T, Uemura M, Fukui H. Int J Mol Med. 2008 Dec;22(6):801-8.

[学会発表] (計 28件)

1. Yoshiji H, Ikenaka Y, Noguchi R, Kaji K, Shirai Y, Aihara Y, Fukui H. Renin-angiotensin system in hepatic fibrogenesis. JSH Single Topic Conference. 2010. 11. 19
2. Noguchi R, Yoshiji H, Kaji K, Aihara Y, Fukui H. Amelioration of the Non-alcoholic steatohepatitis by clinically available selective aldosterone blocker in rats. JSH Single Topic Conference. 2010. 11. 19
3. Yoshiji H. An alternative VEGF-targeted therapy and possible prediction against hepatocellular carcinoma (HCC) using combination of clinically available agents. Choshu International Liver Symposium 2010. 2010. 2. 6
4. Yoshiji H, Noguchi R, Kitade M, Kaji K, Ikenaka Y, Namisaki T, Aihara Y, Fukui H. VEGF-targeted therapy against insulin-resistance-based rat hepatocarcinogenesis with clinically available agent: branched-chain amino acid (BCAA) granules. APASL 2009. 2. 14
5. Noguchi R, Yoshiji H, Ikenaka Y, Kitade M, Kaji K, Namisaki T, Aihara Y, Fukui H. Suppressing effect on the cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma with combination treatment of clinically available vitamin K2 and angiotensin-converting enzyme inhibitor. APASL 2009. 2. 14
6. Yoshiji H, Ikenaka Y, Noguchi R, Kaji K, Shirai Y, Fukui H. An alternative VEGF-targeted therapy and possible prediction against hepatocellular carcinoma (HCC) using combination of clinically available agents. AACR. 2010. 4. 20
7. Noguchi R, Yoshiji H, Ikenaka Y, Kaji K, Shirai Y, Fukui H. Clinically used selective aldosterone blocker attenuates hepatocarcinogenesis via angiogenesis inhibition in rats. AACR. 2010. 4. 20
8. 吉治仁志, 鍛治孝祐, 福井博. インスリン抵抗性を示す肝硬変患者における肝癌再発予

防:分枝鎖アミノ酸 (BCAA) と ACE 阻害薬の併用は肝癌発生を抑制するか。日本消化器病学会大会 2010. 10. 15

9. 野口隆一, 吉治仁志, 福井博 アンジオテンシンIIとアルドステロン dual block による NASH 肝線維化進展抑制の試み。日本消化器病学会大会 2010. 10. 15
10. 吉治仁志, 野口隆一, 北出光輝, 鍛治孝祐, 池中康英, 白井勇作, 相原洋祐, 福井博. インスリン抵抗性条件下肝癌再発に対する安全な既存薬剤を用いた VEGF を分子標的とした新規治療法。日本癌学会学術総会 2010. 9. 22
11. 野口隆一, 吉治仁志, 池中康英, 鍛治孝祐, 白井勇作, 相原洋祐, 福井博. 選択的アルドステロン阻害薬による抗血管新生に基づく肝癌抑制効果。日本癌学会学術総会 2010. 9. 22
12. 吉治仁志, 鍛治孝祐, 福井博 NASH における可溶性 VEGF Receptor2, サイトケラチン 18, および細胞膜リン脂質成分変化の治療判定応用の可能性日本肝臓学会総会 2010. 5.28
13. 野口隆一, 吉治仁志, 福井博 NASH 進展過程におけるアルドステロンの役割と選択的アルドステロン阻害薬による治療の試み日本肝臓学会総会 2010. 5.28
14. 吉治仁志, 野口隆一, 福井博. 肝炎ウイルスによる肝癌に対する分子標的治療。日本感染症学会総会。2010. 4. 5
15. 野口隆一, 吉治仁志, 池中康英, 浪崎正, 北出光輝, 鍛治孝祐, 白井勇作, 福井博. 血管新生とインスリン抵抗性の肝線維化進展における役割:慢性 C 型肝炎患者における検討。日本肝臓学会西部会。2009.12. 5
16. 吉治仁志, 鍛治孝祐, 福井博. NASH 病態における血管新生とサイトケラチン18の意義。日本肝臓学会西部会。2009.12. 5
17. 吉治仁志, 野口隆一, 福井博. ACE 阻害剤, ビタミン K 杯用による肝癌の分子標的治療:VEGF の変動からみた肝癌再発抑制効果の予測。日本肝臓学会大会。2009.10.15
18. 野口隆一, 吉治仁志, 福井博. 肝線維化進展におけるアルドステロンの役割と作用機序。日本肝臓学会大会。2009.10.15
19. 野口隆一, 吉治仁志, 北出光輝, 鍛治孝祐, 池中康英, 白井勇作, 浪崎正, 山崎正晴, 福井博. 選択的アルドステロン阻害剤による血管新生阻害と肝癌発育抑制。日本癌学会学術総会。2009.10. 3
20. 吉治仁志, 野口隆一, 北出光輝, 加治幸祐, 池中康英, 白井勇作, 浪崎正, 山崎正晴, 福井博. 血管新生阻害に基づくBCAAとACE阻害薬併用によるインシュリン抵抗性条件下肝癌抑制効果。日本癌学会学術総会。2009.10. 3
21. 吉治仁志, 池中康英, 野口隆一, 北出光

輝、鍛治孝祐、白井勇作、浪崎正、吉井純一、築瀬公嗣、山崎正晴、福井博. インスリン抵抗性条件下の肝癌発生における血管新生の関与:分枝鎖アミノ酸(BCAA)と ACE 阻害薬併用による予防の試み. 日本肝臓学会総会. 2009. 6. 4

22. 野口隆一、吉治仁志、池中康英、鍛治孝祐、浪崎正、吉井純一、築瀬公嗣、福井博. 非アルコール性脂肪性肝炎における自然免疫:クッパー細胞機能と新しい診断と治療への応用. 日本肝臓学会総会. 2009. 6. 4

23. 吉治仁志、鍛治孝祐、福井博. インスリン抵抗性条件下における分枝鎖アミノ酸(BCAA)とACE阻害薬併用による肝発癌予防. 日本消化器病学会総会. 2009. 5. 9

24. 野口隆一、吉治仁志、池中康英、北出光輝、鍛治孝祐、浪崎正、吉井純一、築瀬公嗣、福井博. 選択的アルドステロンブロッカーによる肝線維化抑制効果の検討. 日本消化器病学会総会. 2009. 5. 9

25. 野口隆一、吉治仁志、池中康英、北出光輝、鍛治孝祐、浪崎正、吉井純一、築瀬公嗣、山崎正晴、福井博. 膵癌発育における Gemcitabine と Losartan 併用による相乗的抗腫瘍効果:血管新生の関与. 日本癌学会学術総会. 2008.10.29

26. 吉治仁志、北出光輝、鍛治孝祐、池中康英、野口隆一、浪崎正、吉井純一、築瀬公嗣、山崎正晴、福井博. インスリン抵抗性条件下における VEGF を標的とした BCAA 製剤による肝発癌抑制効果. 日本癌学会学術総会. 2008.10.29

27. 野口隆一、吉治仁志、鍛治孝祐、北出光輝、池中康英、山崎正晴、福井博. Gemcitabine 無効例に対する ARB 併用による膵癌発育抑制効果とその機序:血管新生因子 VEGF の関与. 日本消化器病学会大会. 2008.10. 3

28. 吉治仁志、鍛治孝祐、福井博. インスリン抵抗性条件下での肝発癌における VEGF に対する分子標的治療の試み:BCAA 製剤を用いた検討. 日本肝臓学会大会. 2008.10. 1

〔図書〕(計 5 件)

1. 吉治仁志、鍛治孝祐、北出光輝、池中康英、野口隆一、吉井純一、築瀬公嗣、山崎正晴、浪崎正、福井博. 血管新生因子 VEGF に対する既存薬剤を用いた分子標的治療の試み: インスリン抵抗性条件下での肝発癌に対する BCAA の効果. アークメディア. 消化器疾患におけるエピゲノミクスとゲノミクス. 2009, 135

2. 吉治仁志、野口隆一、福井博. 血管新生因子 VEGF を標的とした肝癌再発抑制: ACE 阻害剤、ビタミン K 併用療法の臨床的検討. 日本消化器病学会. 消化器病学の進歩—原点から未来への情報発信— 2009, 206

3. 吉治仁志、野口隆一、福井博. 日本臨牀

社. 慢性肝疾患 日本臨床. 2009. 799

4. 吉治仁志、野口隆一、福井博. 血管新生阻害剤の新しい展開「肝癌」アークメディア. 肝胆膵 2009, 307

5. 吉治仁志、野口隆一、福井博. レニン・アンジオテンシン系阻害薬. アークメディア. 肝胆膵 2009, 313.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉治仁志 (YOSHIJI HITOSHI)

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号: 40336856

(2) 研究分担者

野口隆一 (NOGUCHI RYUICHI)

奈良県立医科大学・医学部・特任助教

研究者番号: 30423908

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: