

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 9 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22877

研究課題名(和文)成熟肝細胞の脱分化に着目した肝再生機構の解明

研究課題名(英文)The resesarch on platicity and heterogeneity of hepatocyte in acute liver injury

研究代表者

合谷 孟 (Goya, Takeshi)

九州大学・大学病院・特別教員・特任助教

研究者番号：30884754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓は再生能に富んだ臓器で肝再生は肝疾患の病態形成に関与する。詳細については不明な点が多いが、成熟肝細胞が高い可塑性を有し障害時には成熟肝細胞の脱分化に引き続いて細胞増殖を行うことが示唆される。急性肝不全の発症機序には肝内低酸素が病態形成に関与していることが指摘されており、アセトアミノフェン肝障害モデル(APAPモデル)で組織低酸素を評価すると同様に組織低酸素の関与が示唆された。APAPモデルにおいても肝細胞の脱分化マーカーの発現上昇がみられ、類洞血流障害が関与する急性肝障害においても肝細胞の可塑性、多様性が関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性肝不全は肝移植以外に根本的治療の存在しない予後不良の疾患である。治療法開発には病態解明が必須であるが不明な点が多い。急性肝不全は種々の原因から発症する症候群であり、複数の病型、発症機序の存在が示唆されている。そのため、その病態解明にあたっては病型に応じたアプローチと解釈が必要である。我々の今回の検討から急性肝不全のうち組織低酸素が関与する急性肝障害モデルにおいても、肝細胞の脱分化マーカーの上昇が確認され、同病型にも肝細胞の可塑性、多様性が関与することが示唆された。今後更なる検討が必要であるが未だ治療法の確立されていない急性肝不全の新規治療開発のための有用な知見が得られたと考えている。

研究成果の概要(英文)：Liver has regenerative capacity and the liver regeneration is associated with pathogenesis of acute live injury. Recently, it is suggested that mature hepatocyte can dedifferentiate and proliferate in liver injury. It is reported that acute liver failure is associated with intrahepatic hypoxia. In the acetaminophen (APAP)-induced liver injury murine model, we showed that intrahepatic hypoxia was also associated with liver injury. In the APAP model, hepatic immature markers, such as Afp, Lgr5, and Prom1, were upregulated. Thus it was considered that the plasticity and heterogeneity of hepatocyte were involved in pathogenesis of acute liver injury with intrahepatic hypoxia.

研究分野：肝臓病学

キーワード：急性肝不全 肝細胞 低酸素

1. 研究開始当初の背景

肝臓は再生能に富んだ臓器であるが急性/慢性肝疾患の終末像では有効な肝再生が起こればならず肝機能は破綻し個体の死へと至る。このような肝不全状態では未だ根本的な治療法がなくその開発が急務であり、肝再生の正常化は新たな治療標的となりうる。肝障害後の肝再生機構については、古くは動物実験を根拠として胆管細胞と肝細胞の両方に分化可能なオーバル細胞のような肝幹細胞/前駆細胞が増殖するという説が提唱されてきた。しかし、臨床で経験する肝障害症例においてはオーバル細胞の増殖を示唆するとされる細胆管反応が殆んど認められないこと、細胆管反応を認める症例においてもその局在が門脈域周囲に限局していることから、肝再生時の肝小葉全体の肝細胞の増殖は細胆管反応のみでは説明できない。最近の報告からは、臨床における肝再生の本態は成熟肝細胞の脱分化とそれに引き続く増殖であることが示唆される。しかし、この肝細胞の脱分化については未だ不明な点が多い。本研究では、肝再生時にどのように肝細胞脱分化が起こり実臨床の肝疾患の病態形成に関わるのかを明らかにすることである。

2. 研究の目的

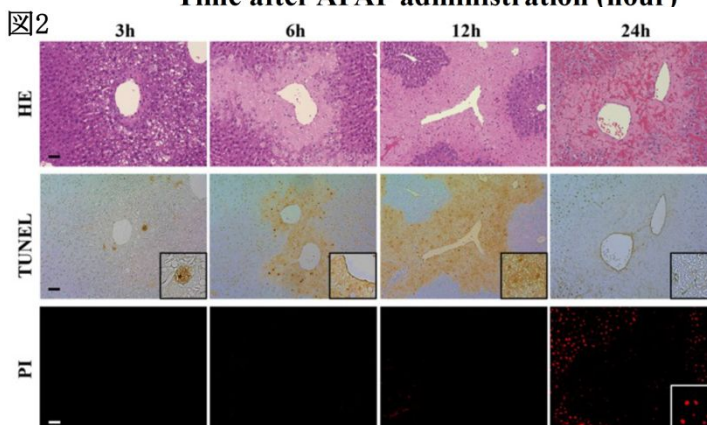
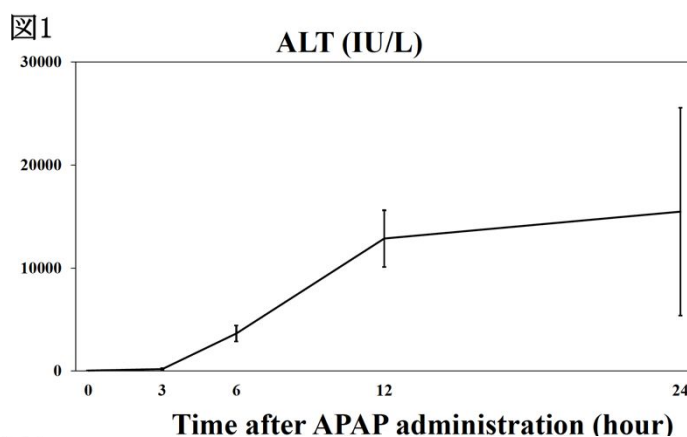
肝細胞の脱分化は急性/慢性肝疾患、肝癌を含めた広範な肝疾患の病態形成に関わっていると考えられる。本研究はこの脱分化機構を解析し肝再生における脱分化機構の役割、病態形成に関わるメカニズムを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

急性肝不全は種々の原因によって引き起こされる症候群でありその病態は不明な点が多い。その発症機序には類洞内の過凝固の関与が指摘され、過剰な免疫細胞の活性化と肝内の微小循環障害とそれに引き続く肝内低酸素が急性肝不全の病態形成に関与していることが指摘されている。実際に組織低酸素を反映する LDH が急性肝不全の肝組織で発現していることが報告されている。当院に蓄積している臨床検体を用いて血清の LDH を評価すると、急性肝不全は LDH 低値群 (ALT/LDH > 1.5) と LDH 高値群 (ALT/LDH ≤ 1.5) の 2 郡に分類され、LDH 高値群では肝障害の程度が強く、凝固異常も顕著であった。組織学的にも LDH 高値例では類洞内の血栓形成と組織低酸素によって誘導される HIF やその転写調節を受ける分子の発現上昇を認め、組織低酸素が顕著であることを確認した。以上の結果を踏まえ、急性肝障害モデルマウスにおける組織低酸素を評価した上で、肝障害時の肝細胞の多様性、可塑性を評価することで急性肝不全の病態解明を目指した。

4. 研究成果

急性肝障害モデルとして頻用されるアセトアミノフェン肝障害モデル (APAP モデル) では APAP 投与後に経時的に ALT の上昇を認めた (図 1)。また組織学的にも経時的な肝細胞の壊死範囲の拡大を認めた (図 2)。APAP 肝障害モデルにおいて虚血の関与を評価するため、遺伝子発現を検討すると低酸素マーカーの HIF1 や HO-1 の上昇、Tissue factor や PAI-1 といった凝固関連遺伝子の上昇を認め、APAP マウスモデルにおいても血栓形成と組織低酸素の関与が示唆された (図 3)。次に肝再生過程の評価のため投与 24 時間以降の肝再生について評価を行った。脱分化肝細胞が肝再生に寄与するという仮説の下、24 時間以降の肝細胞の未分化マーカーの遺伝子発現を検討したところ、投与 2 日目以降に AFP や PROM1、LGR5 といった肝細胞の脱分化マーカーの遺伝子発現の上昇を認めた (図 4)。以上か



ら臨床における LDH 高値群の急性肝不全の病型を反映すると考えられるアセトアミノフェン肝障害モデルにおいて、肝細胞の脱分化がその病態に関与していることが確認された。今後は同モデルを用いて肝細胞の多様性についても更なる解析を進め、急性肝不全の病態形成における肝再生、肝細胞の脱分化、肝細胞の多様性を明らかにすることでその病態解明、新規治療法の開発を目指している。

図3

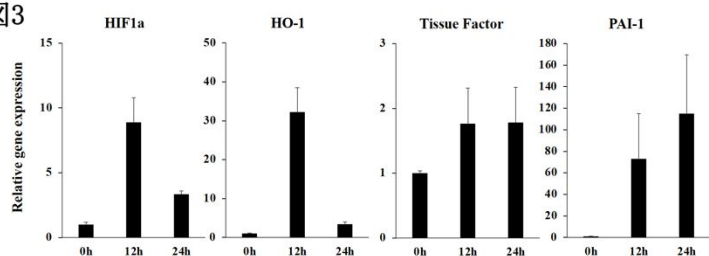
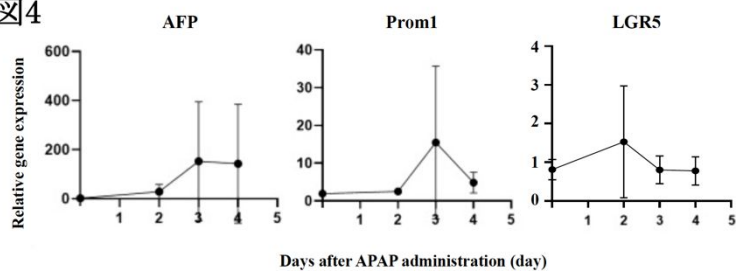


図4



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tashiro Shigeki, Tanaka Masatake, Goya Takeshi, Aoyagi Tomomi, Kurokawa Miho, Imoto Koji, Kuwano Akifumi, Takahashi Motoi, Suzuki Hideo, Kohjima Motoyuki, Kato Masaki, Ogawa Yoshihiro	4. 巻 434
2. 論文標題 Pirfenidone attenuates acetaminophen-induced liver injury via suppressing c-Jun N-terminal kinase phosphorylation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Toxicology and Applied Pharmacology	6. 最初と最後の頁 115817 ~ 115817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.taap.2021.115817	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 Takeshi Goya, Tomoyuki Kurashige, Miho Kurokawa, Masatake Tanaka, Tomomi Aoyagi, Motoi Takahashi, Koji Imoto, Shigeki Tashiro, Hideo Suzuki, Masaki Kato, Motoyuki Kohjima, Yoshihiro Ogawa	4. 巻 13
2. 論文標題 The Combination of Nucleotide Analog Therapy and Steroid Pulse Therapy for Acute HBV Infection Effectively Promotes HBV Clearance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology Insights	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/gastroent13010001	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 Takeshi Goya, Koji Imoto, Shigeki Tashiro, Tomomi Aoyagi, Motoi Takahashi, Miho Kurokawa, Hideo Suzuki, Masatake Tanaka, Masaki Kato, Motoyuki Kohjima, Yoshihiro Ogawa	4. 巻 13
2. 論文標題 The Efficacy of Tofogliflozin on Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology Insights	6. 最初と最後の頁 20-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/gastroent13010003	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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------