

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24590989

研究課題名(和文) 肝硬変への進展を阻止する新しい観点からの治療法の開発

研究課題名(英文) The new therapy of liver cirrhosis which inhibit the progression fibrosis

研究代表者

野尻 俊輔 (NOJIRI, SHUNSUKE)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50381843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：In vitroでの反応が予想に反して悪く従来の報告でのビタミンAによる反応がほとんどなかった。ゆえに肝細胞がん株以外で星細胞株を使用して様々なビタミンAを添加してみたが今のところ反応が出るものの非常に弱く今後の実験を進められる状況ではなかった。加えて免疫染色も複数個の抗体を用意したが肝細胞での染色がきれいにいかず現在病理部に頼み染色条件を再検討中である。  
これに対しin vivoは順調に準備が進み現在ノックアウトマウス作成の最終段階まで進んでいる。

研究成果の概要(英文)：Unfortunately expression of mRFA were very low level under vitamin A induction. So we tried several vitamin As such as cis-type and trans-type and also tried several cell lines such as HepG2, PLC, Hpe3B, Huh-1, Huh-7 and other type of liver components such as stellate cell. There are some good expressions in some kinds of cells but not efficient to proceed further examination. On the other hand we tried to perform immuno histochemically using cellline and the tissues which obtained from operation of HCC patients. we used several antibodies for immuno histochemically but it is difficult to obtain clear pictures in the tissues from patients because these specimen have a lot of background color. so we retried to do immuno histochemically with pathology session in our University trying under several condition.  
On the other hand in vivo making knock out mouse projet proceed quickly and nowadays we proceeds to final stage.

研究分野：肝臓病

キーワード：肝硬変

### 1. 研究開始当初の背景

肝臓がんは肝臓の線維化が進んだ肝硬変の状態から好発する。そのメカニズムは現在まで解明されていない。

### 2. 研究の目的

我々がクローニングしたATBF1が肝臓線維化の主因であるプロコラーゲン、さらに肝癌増殖因子であるPDGFRの両方に関係していることが分かったためこれら結びつける因子の可能性を探り新しい治療法の開発に役立てたい。

### 3. 研究の方法

実験は主に *in vitro* と *in vivo* からなる。

*In vitro* ではATBF1のPDGFRおよびATBF1を介したシグナルでの発癌に必須である栄養血管構築に対する役割を解明する。さらに肝臓内でのATBF1の発現様式を様々な抗体を使用して免疫染色する。

*In vivo* ではノックアウトマウスを作成し薬剤を使用して肝癌を発癌させATBF1の発癌にかかわる影響を調べる。

### 4. 研究成果

*In vitro* での反応が予想に反して悪く従来の報告でのビタミンAによる反応がほとんどなかった。ゆえに肝細胞がん株以外で星細胞株を使用して retinol, 9-sis-retinoic acid, all-trans retinoic acid, all-trans retinal, 13cis-retinoic acid等様々なビタミンAを添加してみたが今のところ反応が出るものの非常に弱く今後の実験を進められる状況ではなかった。

加えて免疫染色も複数個の抗体を用意したが肝細胞での染色がきれいにいかず現在病理部に頼み染色条件を再検討中である。

これに対し *in vivo* は順調に準備が進み現在ノックアウトマウス作成の最終段階まで進んでいる。

### 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11件)

1. Iio E, Ocho M, Togayachi A, Nojima M, Kuno A, Ikehara Y, Hasegawa I, Yatsushashi H, Yamasaki K, Shimada N, Ide T, Shinkai N, Nojiri S, Fujiwara K, Joh T, Mizokami M, Narimatsu H, Tanaka Y. A novel glycomarker, *Wisteria floribunda* agglutinin macrophage colony-stimulating factor receptor, for predicting carcinogenesis of liver cirrhosis. *Int J Cancer*. 2016 Mar 15;138(6):1462-71. doi: 10.1002/ijc.29880. (査読あり)
2. Uhm K, Kim M, Kawaguchi M, Akatsu H, Miura Y, Misumi S, Hida H, Choi E, Kim Y, Michikawa M, Jung C. ATBF1 is a novel amyloid- $\beta$  protein precursor (A $\beta$ PP) binding protein that affects A $\beta$ PP expression. *J Alzheimers Dis*. 2015;43(1):243-57. doi: 10.3233/JAD-140612. (査読あり)
3. Nojiri S, Joh T. Albumin suppresses human hepatocellular carcinoma proliferation and the cell cycle. *Int J Mol Sci*. 2014 Mar 24;15(3):5163-74. doi: 10.3390/ijms15035163. (査読あり)
4. Nojiri S, Fujiwara K, Shinkai N, Endo M1, Joh T. Evaluation of hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by EOB-MRI. *World J Hepatol*. 2014 Dec 27;6(12):930-8. doi:

- 10.4254/wjh.v6.i12.930. (査読あり)
5. Shi W, Bain AL, Schwer B, Al-Ejeh F, Smith C, Wong L, Chai H, Miranda MS, Ho U, Kawaguchi M, Miura Y, Finnie JW, Wall M, Heierhorst J, Wicking C, Spring KJ, Alt FW, Khanna KK. Essential developmental, genomic stability, and tumour suppressor functions of the mouse orthologue of hSSB1/NABP2. PLoS Genet. 2013;9(2):e1003298. doi: 10.1371/journal.pgen.1003298. (査読あり)
  6. Nojiri S, Kusakabe A, Fujiwara K, Shinkai N, Matsuura K, Iio E, Miyaki T, Joh T. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis in hepatitis C virus-infected patients using ethoxybenzyl-magnetic resonance imaging. J Gastroenterol Hepatol. 2013 Jun;28(6):1032-9. doi: 10.1111/jgh.12181. (査読あり)
  7. Ito J, Nagayasu Y, Hoshikawa M, Kato KH, Miura Y, Asai K, Hayashi H, Yokoyama S, Michikawa M. Enhancement of FGF-1 release along with cytosolic proteins from rat astrocytes by hydrogen peroxide. Brain Res. 2013 Jul 19;1522:12-21. doi: 10.1016/j.brainres.2013.05.035. (査読あり)
  8. Nojiri S, Fujiwara K, Shinkai N, Endo M, Joh T. A Case of Rapidly Developed Splenomegaly after Percutaneous Transhepatic Obliteration (PTO). J Liver 2013 2:128. doi: 10.4172/2167-0889.1000128. (査読あり)
  9. Kusakabe A, Nojiri S, Iio E, Matsuura K, Shinkai N, Miyaki T, Joh T. Case-control study of the RFA therapeutic effect of newly developed 4D US and conventional 2D US. J Med Ultrason (2001). 2013 Jan;40(1):39-46. doi: 10.1007/s10396-012-0388-1. (査読あり)
  10. Okumura-Noji K, Miura Y, Lu R, Asai K, Ohta N, Brindley PJ, Yokoyama S. CD36-related protein in Schistosoma japonicum: candidate mediator of selective cholesteryl ester uptake from high-density lipoprotein for egg maturation. FASEB J. 2013 Mar;27(3):1236-44. doi: 10.1096/fj.12-219816. (査読あり)
  11. Nojiri S, Kusakabe A, Fujiwara K, Shinkai N, Matsuura K, Iio E, Miyaki T, Nomura T, Sobue S, Sano H, Hasegawa I, Ohno T, Takahashi Y, Orito E, Joh T. Clinical factors related to long-term administration of sorafenib in patients with hepatocellular carcinoma. Cancer Manag Res. 2012;4:423-9. doi: 10.2147/CMAR.S38684. (査読あり)
- [学会発表](計 7 件)
1. 松波加代子、飯尾悦子、新海登、藤原圭、野尻俊輔、城卓志、田中靖人 当院の B 型慢性肝炎患者におけるテノホビル (TDF) 治療の現状 第 41 回日本肝臓学会西部会 2015 年 12 月 3 日~4 日 名古屋

屋国際会議場（愛知県・名古屋市）

2. 飯尾悦子、野尻俊輔、田中靖人 2型C型慢性肝疾患に対するSofosbuvir/Ribavirin併用療法の早期治療効果 シンポジウム2「肝胆膵疾患における治療の最前線」日本消化器病学会東海支部第123回例会 2015年11月21日(土) ウィンク愛知(愛知県・名古屋市)
3. Shunsuke Nojiri, Kei Fujiwara, etsuko Iio, Noboru Shinkai, and Takashi Joh. The dead box protein p68 can suppress the carcinogenesis and  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) gene expression via binding the new silencer region of AFP gene. AASLD2015 2015.11.17 San Francisco (USA)
4. Etsuko Iio, Makoto Ocho, Akira Togayachi, Masanori Nojima, Atsushi Kuno, Yuzuru Ikehara, Izumi Hasegawa, Hiroshi Yatsuhashi, Kazumi Yamasaki, Noritomo Shimada, Tatsuya Ide, Noboru Shinkai, Shunsuke Nojiri, Kei Fujiwara, Takashi Joh, Masashi Mizokami, Hisashi Narimatsu and Yasuhito Tanaka. A novel glycobiomarker, *Wisteria floribunda* agglutinin Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor can predict carcinogenesis and survival of liver cirrhosis with hepatitis C virus. AASLD2015 2015.11.16 San Francisco (USA)
5. 野尻俊輔, 藤原圭, 新海登, 飯尾悦子, 城卓志 肝癌治療における分枝鎖アミノ酸製剤投与の有用性(無作為前向き試験) 2015年5月22日 第51回日本肝臓学会

総会 鶴屋東館（熊本県・熊本市）

6. 藤原圭、新海登、飯尾悦子、松波加代子、野尻俊輔、城卓志 第51回日本肝臓学会総会 B型肝炎ウイルスの新しい遺伝子変異 2015年5月22日 ホテル日航熊本・熊本ホテルキャスル・鶴屋東館・同仁堂(熊本県・熊本市)
7. Etsuko Iio, Makoto Ocho, Akira Togayachi, Atsushi Kuno, Noboru Shinkai, Yuzuru Ikehara, Kei Fujiwara, Shunsuke Nojiri, Takashi Joh, Masashi Mizokami, Hisashi Narimatsu and Yasuhito Tanaka. A novel glycobiomarker: *Wisteria floribunda* agglutinin<sup>+</sup> - Mac-2 binding protein for predicting carcinogenesis and survival of liver cirrhosis patients. APASL2015 2015.3.12 Istanbul (Turkey)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計 件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

野尻 俊輔 (NOJIRI, Shunsuke)  
名古屋市立大学・医学研究科・准教授  
研究者番号: 50381843

### (2)研究分担者

藤原 圭 (FUJIWARA, Kei)

名古屋市立大学・医学研究科・助教

研究者番号： 70635804

三浦 裕 (MIURA, Yutaka)

名古屋市立大学・医学研究科・准教授

研究者番号： 90285198

宮木 知克 (MIYAKI, Tomokatsu)

名古屋市立大学・医学研究科・助教

研究者番号： 90285198

(平成25年度より削除)

(3)連携研究者

なし