

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 18 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860523

研究課題名(和文) NOTCH1選択的阻害による新たな肝再生療法の可能性

研究課題名(英文) Establishment of a new liver regeneration therapy by suppression of NOTCH1

研究代表者

北出 光輝 (Kitade, Mitsuteru)

奈良県立医科大学・医学部・学内講師

研究者番号：40526795

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓は元来再生能に優れているが、慢性肝炎や肝硬変にひとたび陥ると再生能力が著しく低下する。ウイルス性肝炎が撲滅に向かっていた近年、次なる肝臓病治療の主眼は肝再生治療の創出である。今回は、肝臓に少数存在し、肝障害時に肝再生を補助する肝前駆細胞に着目し、その再生効率を上げる方法について検討した。肝前駆細胞から肝細胞を作り出す際にこれを抑制しているのがNOTCH1というシグナルであることを発見し、NOTCH1を阻害することで肝前駆細胞からの肝細胞分化の効率が上がり、肝再生が促進されることをマウスモデルで発見することができた。

研究成果の概要(英文)：Liver originally possesses a strong capacity for regeneration. However, once a strong liver injury occur, this potential is strongly inhibited. In this situation, it has been clarified that hepatic progenitor cells (HPC) can expand and differentiate into hepatocytes to rescue the loss of liver volume. We have focused on NOTCH1 which controls HPC differentiation efficiency. By a blockade of NOTCH1, we found that HPC-mediated hepatocyte differentiation and efficiency of liver regeneration were improved in a mouse liver injury model. Therefore, inhibition of NOTCH1 can be a new strategy for a new liver regeneration therapy.

研究分野：肝臓病学

キーワード：肝再生 NOTCH1 肝前駆細胞

1. 研究開始当初の背景

慢性肝疾患のうち過半数を占めるウイルス性肝疾患に対する抗ウイルス療法が確立しつつあった。次なる課題のうち主たるものとして、肝炎制御後に慢性障害肝をいかに効率的に再生させるかということが重要視されていたが、研究開始当時、有効な治療法は確立されていなかった。今回我々は肝前駆細胞 (hepatic progenitor cell; HPC) をツールとした新規肝再生療法の可能性につき注目していた。HPC は人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells; iPSC) 等と並んで今後の再生医療の有力なツールとして大きな期待が持たれていたが、安定的な制御は困難な状況であった。一方我々は当時、EGFR を介した NOTCH シグナルが HPC の分化運命を握っていることを明らかにした。具体的には NOTCH シグナルの抑制によって HPC の分化運命が肝細胞に傾き、HPC を介した肝細胞増加、ひいては肝予備能の改善に寄与することを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

上述の背景に基づき、Interprotein 社で開発された NOTCH1 阻害剤を用いた新規肝再生療法の可能性につき、基礎的検討を加えた。

3. 研究の方法

NOTCH1 阻害による肝再生促進の確認を目標とし、以下について検討した。

in vitro において、HPC が胆管上皮細胞分化を有意に抑制し、肝細胞分化を有意に促進している事を確認する。

マウス DDC 投与モデルにおける有意な肝再生促進を体重比の増加、血清 T-bil 値や ALB 値の上昇で確認する。

具体的には以下のとおりである。

細胞試験：マウス HPC 株にこれらの NOTCH 阻害剤を投与し、肝細胞および胆管細胞への分化能を検討する。以前に得られたデータ通り、NOTCH 阻害によって胆管細胞分化抑制、および肝細胞分化促進を確認する。

マウス試験：これらの薬剤を DDC 投与マウスに DDC と同時のタイミングで投与 (4 週間) し、4 週間後にマウスを犠死させ、肝重量、肝障害の程度、HPC の肝細胞、胆管細胞分化能を評価する。これにより、NOTCH 阻害の肝再生促進効果の有無を検討する。

4. 研究成果

まず、マウス HPC 株を用いた細胞実験においては、NOTCH1 阻害剤は期待通り HPC 株の胆管上皮細胞への分化を抑制した一

方、肝細胞への分化効率を著明に上昇させた。マウスモデルにおいては、DDC 投与に伴い著明な肝線維化進展を伴う肝障害が生じた。NOTCH1 阻害剤投与群では非投与群と比較して、有意な肝重量増加、血清 T-bil 値低下を呈し、NOTCH1 制御による有効な肝再生が示唆された。組織学的検討を行ったところ、両群とも同程度に A6/CK19 両陽性 HPC が増殖していたものの、NOTCH1 阻害剤投与群において A6 陽性・CK19 陰性の新生肝細胞数が非投与群と比較して顕著に増加し、さらには A6/CK19 両陽性新生胆管数が非投与群と比較して減少していた。以上より、NOTCH1 制御によって HPC の分化運命が胆管上皮細胞から肝細胞に傾き、その結果障害肝の再生が効率的に行われた事が示唆された。これらの結果を総合すると、新規 NOTCH1 阻害剤による、HPC 分化運命制御を介した効率的な肝再生治療の可能性が示された。

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)

1. Combined treatment with dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (sitagliptin) and angiotensin-II type 1 receptor blocker (losartan) suppresses progression in a non-diabetic rat model of steatohepatitis. Okura Y, Namisaki T, Moriya K, Kitade M, et al. Hepatol Res. 2016 Dec 28. doi: 10.1111/hepr.12860.
2. Clinical significance of the Scheuer histological staging system for primary biliary cholangitis in Japanese patients. Namisaki T, Moriya K, Kitade M, et al. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2017 Jan;29(1):23-30.
3. DNA methylation of angiotensin II receptor gene in nonalcoholic steatohepatitis-related liver fibrosis. Asada K, Aihara Y, Takaya H, Kitade M, et al. World J Hepatol. 2016 Oct 8;8(28):1194-1199.

4. Predictive parameter of tolvaptan effectiveness in cirrhotic ascites. Kawaratani H, Fukui H, Moriya K, Kitade M, et al. Hepatol Res. 2016 Oct 5. doi:10.1111/hepr.12826.

5. Loss of c-Met signaling sensitizes hepatocytes to lipotoxicity and induces cholestatic liver damage by aggravating oxidative stress. Gomez-Quiroz LE, Seo D, Lee YH, Kitade M, et al. Toxicology. 2016 Jun 15;361-362:39-48.

6. Liver fibrosis progression predicts survival in patients with primary biliary cirrhosis. Namisaki T, Moriya K, Noguchi R, Kitade M, et al. Hepatol Res. 2017 Mar;47(3):E178-E186.

7. Ipragliflozin, a sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, ameliorates the development of liver fibrosis in diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Nishimura N, Kitade M, Noguchi R, Namisaki T, et al. J Gastroenterol. 2016 Dec;51(12):1141-1149.

8. Relationship between hepatic progenitor cell-mediated liver regeneration and non-parenchymal cells. Kitade M, Kaji K, Yoshiji H. Hepatol Res. 2016 Nov;46(12):1187-1193.

9. Beneficial effects of combined ursodeoxycholic acid and angiotensin-II type 1 receptor blocker on hepatic fibrogenesis in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Namisaki T, Noguchi R, Moriya K, Kitade M, et al. J Gastroenterol. 2016 Feb;51(2):162-72.

10. Curcumin effectively inhibits oncogenic NF- B signaling and restrains stemness features in liver cancer. Marquardt JU, Gomez-Quiroz L, Arreguin Camacho LO, Kitade M, et al. J Hepatol. 2015 Sep;63(3):661-9.

11. Reduction of endotoxin attenuates liver fibrosis through suppression of hepatic stellate cell activation and remission of intestinal permeability in a rat non-alcoholic steatohepatitis model. Douhara A, Moriya K, Yoshiji H, Kitade M, et al. Mol Med Rep. 2015 Mar;11(3):1693-700.

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)
2017年 日本消化器病学会総会
2017年 日本肝臓学会総会

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 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 0 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
北出 光輝 (KITADE, Mitsuteru)
奈良県立医科大学 第3内科学講座 講師

研究者番号：40526795

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
()