

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：肝星細胞脱活性化剤開発による肝硬変の肝機能改善と肝発がん予防
2. 研究開発代表者：河田 則文（大阪市立大学大学院医学研究科）
3. 研究開発の成果

肝硬変では実質が非実質細胞で置換されて細胞外マトリックスが蓄積し年率8%で発がんする。即ち肝硬変の肝細胞機能と発がん予防は密接に関係し、両者を達成する治療とは肝を脱線維化させ、残存成熟肝細胞を機能回復させ、発がん要因を排除する方法論となる。肝線維化は活性化星細胞（HSC）や myofibroblasts（MFB）が産生するI型コラーゲンやTGF β が主体で生じるが、最近ではHSCの持続活性化や老化、MFBが肝細胞機能を低下させる要因であり、肝発がんに寄与することも報告された。依って本研究の目的はHSCの脱活性化により肝脱線維化を誘導し、残存成熟肝細胞再生で肝機能を回復させ、延いては発がん抑制に繋がる治療法の開発である。研究代表者は本邦でHSCの機能解析を開始した先駆者であり、HSC活性化分子機構とその制御に関して研究を行ってきた。その過程でHSCにユニークに発現するCygbを発見した。Cygb欠損マウス（特開2010-5127）で解析したところ、Cygbが肝炎症・線維化、さらには発がんに寄与することが明らかとなった（Am J Pathol 2011;179:1050, Am J Pathol 2015;185:1045, Sci Rep 2016;6:24990）。逆にCygb過剰発現はHSC活性化を抑制する。即ち、Cygbは肝保護的グロビンであり、その欠損は肝炎・線維化・発がんを悪化させる。これらの事実を基に、Cygb活性化薬、あるいは、Cygbに関連する代謝経路の制御剤は肝機能回復と発がん抑制の鍵となるため、本研究では3年間をかけてPOCを作り、臨床試験への足がかりを創造する。星細胞Cygbの研究は申請者らが国の内外で優先的に行っており、その成果を用いて独創的コンセプトに基づく画期的な肝硬変治療剤を誘導する。

①Cygbの活性化 HSC や MFB 機能に対する効果：HSC を野生型、Cygb 欠損マウスから分離して機能比較を行った。Cygb 欠損 HSC はプライミングを受け、サイトカインやケモカイン、さらには活性酸素産生が増強していた。また細胞老化マーカーの γ H2AX の発現比率が増加した。HSC 機能への Cygb のさらなる in vivo 機能解析のため BAC クローンを用いて Cygb Tg を作製して実験を行い、HSC への Cygb 過剰発現は肝の炎症や線維化を軽減した（論文作成中）。GMP 準拠の Cygb 製剤を準備し活性化 HSC や MFB への効果を検討する（進行中）。（Le、祝迫）

②薬物スクリーニング：HSC や MFB 細胞内の Cygb を増加させ得る物質を大阪大学が所有する化合物ライブラリーを利用して見出す。染色体上の星細胞活性化指標遺伝子(COL1A2；分化、PPAR γ ；脱分化)プロモーターの下流にレポーター遺伝子（mCherry）を連結させてヒト星細胞株へ組換えその蛍光シグナルを指標とした in vitro 評価系等を構築し HTS した。その結果、HSC のコラーゲン産生を阻害し且つ Cygb を誘導する物質 C15 を見出した（特許出願準備中）。一方、現在見出している Cygb 脱活性化薬の一つ FGF2 の作用機序について FGF 受容体発現、細胞内シグナル伝達、関与する転写因子などを詳細に検討した。また microRNA29 の脱線維化効果について検討した。（河田、池田、村上、松原、松原）

③in vitro で効果が得られた C15 と FGF2 についてはマウス線維化モデルで in vivo 抗線維化効果が見られた（論文執筆中）。今後これらの候補化合物について、ヒト肝硬変に類似のマウスモデルを用いて、完成した線維化の復元を誘導するか、肝細胞の増殖と機能回復がみられるか、また、発がん抑制効果があるかを検討する。一方、精製したリコンビナント Cygb についても静脈内あるいは腹腔内投与でその効果を検討する。（河田、池田、松原、松原、Le、村上）