

皮膚細胞を利用した劇症肝炎治療の試み

九州大学生体防御医学研究所器官発生再生学分野 教授 鈴木 淳史

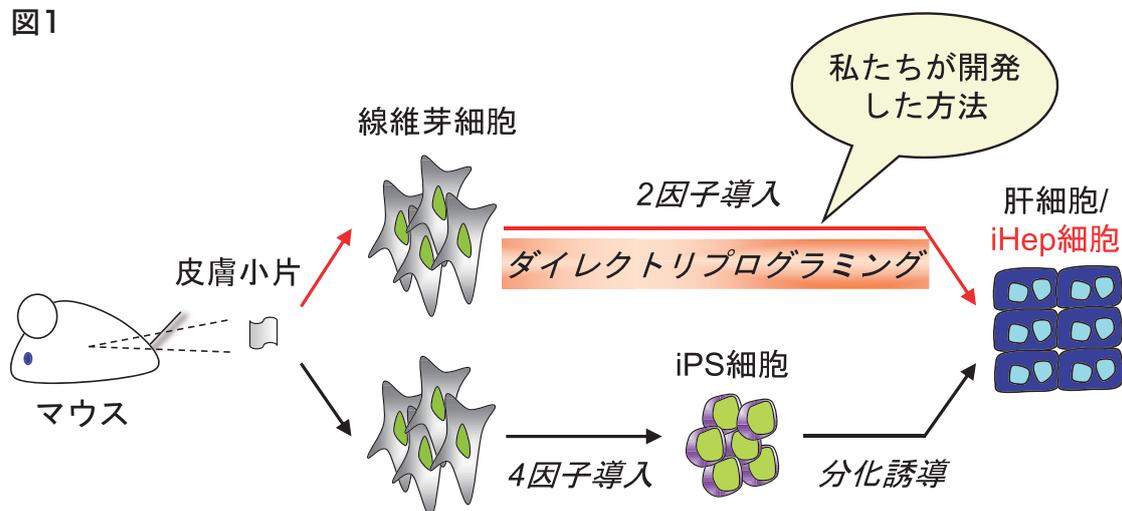


1. 背景と目的

突発的に発症する劇症肝炎は大量の肝細胞が急激に死滅することにより肝機能不全に陥る致死性の高い疾患であるが、肝臓は強い再生能力を持った臓器であるため、死滅した肝細胞が再生するまでの間、肝細胞移植や人工肝臓などで肝機能を補助することができれば、肝臓の自然再生によって危機的な状況を脱することができる。ところが、肝細胞は生体外で維持・保存することが極めて難しいため、肝細胞を使った肝機能補助を実現するためには、肝細胞を供給可能な細胞源が必要である。

肝細胞は多くの転写因子の働きによって胎生期に肝前駆細胞から分化するのが普通だが、稀に、障害を受けた膵臓の外分泌細胞や骨髄などに含まれる間葉系幹細胞から肝細胞が分化することがある。また、骨髄移植後に血液細胞が肝細胞と融合し、肝細胞として肝臓組織を構築することもある。これらの事象は、肝細胞以外の細胞を肝細胞に変化させる因子の存在を示唆しており、ある環境下ではそれらの因子が活性化して肝細胞以外の細胞を肝細胞に変化させていると考えられる。したがって、もし、このような肝細胞の運命決定因子を同定することができれば、それらを使って皮膚の線維芽細胞を肝細胞へと直接変化させることが可能になるかもしれない。そこでわれわれは、肝細胞の運命決定を担う特定因子を同定し、マウスの線維芽細胞から肝細胞を直接作り出すことを試みた。その結果、線維芽細胞にHnf4aとFoxa (Foxa1、Foxa2、Foxa3のいずれかひとつ) という肝細胞分化に関連した2種類の転写因子を導入することで、線維芽細胞を肝細胞の性質をもった細胞 (iHep細胞) へと直接変化させることに成功し、肝細胞の運命決定因子を同定した (Sekiya and Suzuki, *Nature*, 2011) (図1)。

図1



作製したiHep細胞は肝細胞の形態的特徴や遺伝子・タンパク質発現を有し、肝細胞特有の機能をもったまま培養下での増殖や維持、凍結保存が可能であった。また、肝機能不全で死に至る高チロシン血症モデルマウスの肝臓へiHep細胞を移植すると、肝細胞として障害を受けた肝臓組織を機能的に再構築し、マウスの致死率を大幅に減少させることが可能であった。このように、皮膚から作製できて増殖や保存が可能なiHep細胞は、ヒトに応用された場合、機能的な肝細胞として医療への応用が期待される。

以上を踏まえ、本研究では、マウスの皮膚から作製したiHep細胞を劇症肝炎モデルマウスの肝臓へ移植することで、その治療効果を検証し、ヒト皮膚由来のiHep細胞を用いた劇症肝炎治療の基盤研究を行った。

2. 結果と考察

まず、マウス胎仔及び成体マウスの皮膚組織から分離・培養した線維芽細胞に対し、肝細胞の運命決定因子として同定したHnf4aとFoxaをレトロウイルスによって導入し、コラーゲンや肝細胞増殖因子を含む肝細胞分化に適した培養環境を提供することで、それぞれの細胞からiHep細胞を作製した。また、同時にiHep細胞を緑色蛍光タンパク質（GFP）によって標識した。作製したiHep細胞を解析したところ、肝細胞の形態的特徴や遺伝子・タンパク質発現を有することが確認された。

次に、四塩化炭素投与によって劇症肝炎を誘導したマウスに対し、線維芽細胞もしくは作製したiHep細胞を門脈経由で肝臓に移植した。その結果、線維芽細胞をそのまま移植したコントロール群に対し、iHep細胞を移植した群においては、マウス生存率の改善が認められた。また、肝臓の組織解析を行ったところ、iHep細胞由来のGFP陽性細胞による肝臓の組織構築が観察された。

本研究の結果を踏まえ、今後は、レシピエントマウスの生存率や肝機能の解析をさらに進めるとともに、レシピエントマウスを長期的にフォローすることで、腫瘍形成の有無についても解析を行う。われわれは、現在、ヒトの皮膚組織から分離・培養した線維芽細胞からもiHep細胞の作製を進めている。そのため、ヒト皮膚細胞に由来するiHep細胞の作製が成功した際には、マウスでの実験をさらに発展させ、四塩化炭素投与によって劇症肝炎を誘導した免疫不全マウスの肝臓へヒトiHep細胞を移植する。そして、マウスiHep細胞に加え、ヒトiHep細胞が劇症肝炎に対する治療効果を有するか否かを、レシピエントマウスの生存率や肝臓の組織学的解析によって検証したいと考えている。

3. 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、公益財団法人難病医学研究財団より研究助成のご支援を賜りましたことを心より感謝申し上げます。