

Transplantation of Thy1⁺ cells accelerates liver regeneration by enhancing the growth of small hepatocyte-like progenitor cells via IL17RB Signaling

Stem Cells. 2017; 35: 920-931. doi: 10.1002/stem.2548.

Ichinohe N, Ishii M, Tanimizu N, Kon J, Yoshioka Y, Ochiya T, Mizuguchi T, Hirata K, Mitaka T.

要旨 障害肝から単離した Thy1 陽性細胞を、肝細胞の増殖を抑制した後に肝臓の 2/3 を部分切除したラット肝臓に移植すると、ドナー細胞が細胞外小胞を分泌し、レシピエント肝臓の内在性細胞に作用してサイトカインを分泌させることで、レシピエントに元々存在する肝前駆細胞の増殖を促進させ、肝再生を促進する、というメカニズムを解明しました。

1. 肝臓における細胞移植研究

現在、致死性肝疾患患者に対して肝臓移植が行われているが、脳死移植ではドナー不足、生体肝移植ではドナーへの侵襲性等の様々な問題がある。そこで代替医療として細胞移植による再生医療に期待が寄せられている。これまでの細胞移植は、ドナー細胞が患者の肝臓に生着・増殖し、臓器全体をドナー細胞で置き換えることを主目的としていた。従って、iPS 細胞からの肝細胞創成に注目が集まるが、これまでの研究では移植された細胞の生着率が低く、置換されるまでに時間がかかることが問題である。これまでの我々の研究においても、細胞源として、増殖能の高い肝幹・前駆細胞と肝機能が高い成熟肝細胞のどちらが適しているか検討したところ、成熟肝細胞に比べ、肝幹・前駆細胞では生着率が低く、生着した細胞は細胞老化に陥り、消失し易いことがわかっている¹⁾。しかしながら、D-galactosamine 投与薬剤性急性肝炎モデルラット肝臓から Thy1 陽性細胞を分離し、Retrorsine (Ret) / Partial Hepatectomy (PH) model ラット肝臓に移植したところ、Thy1 陽性細胞の生着数が少ないにも関わらず、肝臓が肥大し、肝再生が促進される (図A) という知見を得た。

2. 細胞移植における肝前駆細胞の増生

Ret/PH モデルでは、肝切除約 2 週間後に内在性肝前駆細胞の 1 つ、小型肝細胞様細胞 (Small hepatocyte-like progenitor cells; SHPCs) が出現することが報告されている²⁾。そこで、内在性 SHPCs の挙動を組織学的に検討したところ、Thy1 陽性細胞移植群で内在性 SHPCs の増殖が促進していた (図B)。そこで、Laser Micro-dissection 法で SHPCs を回収し、

DNA マイクロアレイで増殖因子受容体の網羅的解析を行ったところ、Interleukin 17 receptor B (*IL17rb*) 遺伝子の発現が顕著に増加していることが判った (図C)。

3. IL17rb のリガンド解析

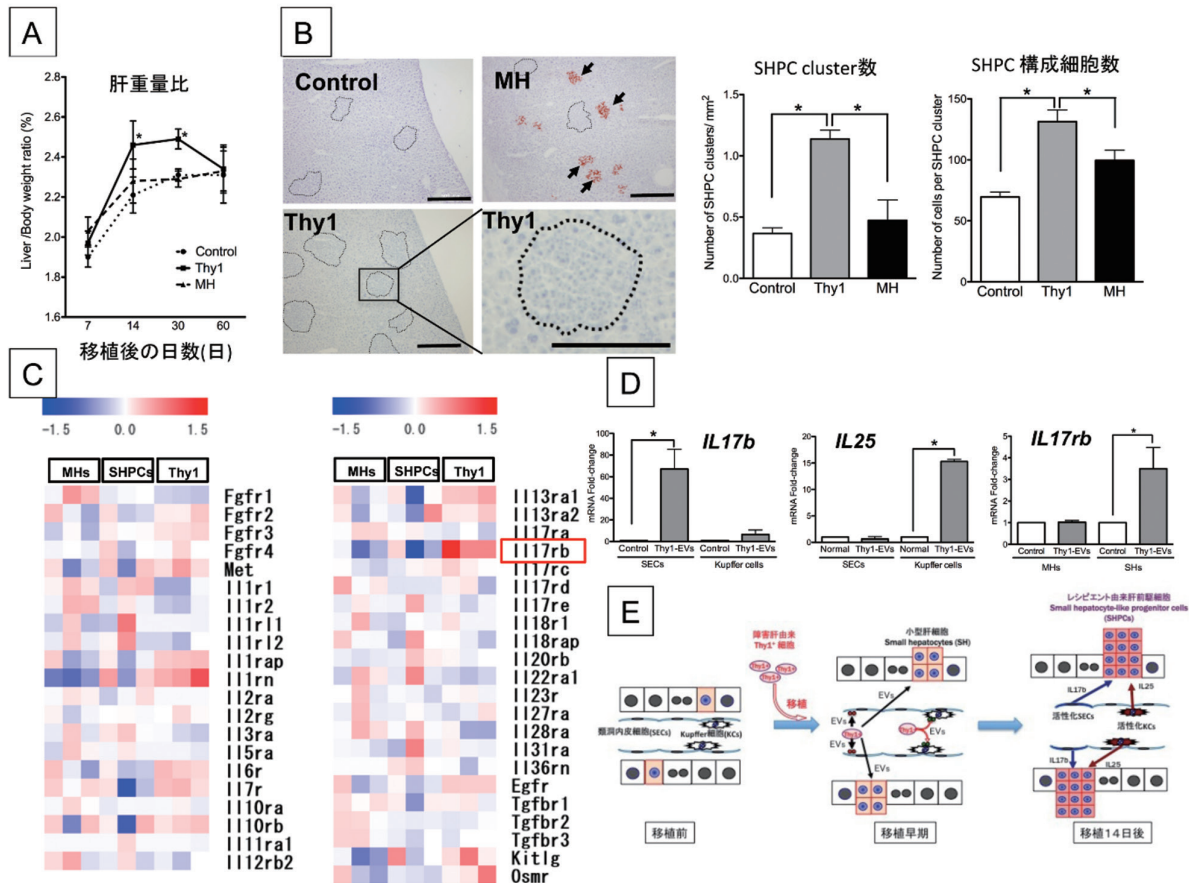
IL17RB に結合するリガンドとして、IL17B と IL25 が知られているが、移植した Thy1 陽性細胞には発現は認められなかった。この結果は、レシピエント肝に内在する細胞が分泌している可能性を示唆している。そこで、レシピエント肝臓の類洞内皮細胞 (Sinusoid endothelial cells; SECs) とクッパー細胞 (Kupffer cells; KCs) を単離して解析したところ、SECs で *IL17b* が、KCs で *IL25* の遺伝子発現が誘導されていることを確認した。

4. 細胞外小胞と IL17rb シグナルの誘導

最近、細胞間情報伝達物質としての細胞外小胞 (Extracellular vesicles; EVs) に関心が集まりつつあり、研究が進んでいる³⁾。移植したドナー細胞が EVs を分泌することで、IL17RB シグナルを誘導している可能性が示唆されたため、Thy1 陽性細胞の培養上清から EVs を抽出し、*in vitro* において投与したところ、肝前駆細胞である小型肝細胞 (Small hepatocytes; SHs) で *IL17rb* が、SECs で *IL17b* が、KCs で *IL25* の発現が誘導された (図D)。

5. 細胞移植による再生医療の可能性

従来、細胞移植は、疲弊した肝細胞を新鮮な肝細胞と置換することを目的として行われてきたが、本研究結果は、移植細胞が放出する EVs が非実質細胞に作



- A: 肝重量比の継時的変化。移植 14, 30 日後において非移植群 (Control) と比べて有意に大きかった。
- B: 移植 14 日後における組織写真, 単位面積当たりの SHPC cluster 数と構成細胞数。組織写真中の矢印は生着したドナー細胞。Thy1 陽性細胞を移植すると SHPCs の増殖は促進した。
- C: DNA マイクロアレイによる網羅的解析。IL17rb のみが有意に高く発現していた。
- D: Thy1 陽性細胞由来 EVs を投与すると, SECs で IL17b の, KCs で IL25 の, SHs で IL17rb の発現が有意に増大した。
- E: 細胞移植による再生メカニズムの概略図。移植した Thy1 陽性細胞が EVs を分泌し, SECs で IL17b を, KCs で IL25 を, SHPCs で IL17rb を誘導することで, 内在性肝前駆細胞の増殖を促進し, 肝再生を促進することが示唆された。

(Ichinohe et al, STEM CELLS (2017) の図から改変)

用しターゲットの内在性の肝前駆細胞の増殖を促進するサイトカインを分泌させるという間接的な効果によって, 肝再生を促進していることを示している (図 E)。EVs 内には mRNA や miRNA, lncRNA をはじめ, 様々な因子が内包されていることが分かっている。EVs に含まれる肝再生促進因子を同定出来れば, 肝線維化改善薬や肝賦活化薬を開発することに繋がると考えられる。今回用いた Thy1 は, 骨髄間葉系幹細胞 (Bone marrow mesenchymal stem cells; BMSCs) マーカーとしても知られていることから, 今後, BMSCs でも同様な再生促進作用があるか, 検討していく。本研究による肝再生メカニズムの解明は, 肝再生医療への臨床応用を目指す上で重要なステップになると考えている。

6. 参考文献

1. Ichinohe N, Kon J, Sasaki K, Nakamura Y, Ooe H,

Tanimizu N, Mitaka T. Growth ability and repopulation efficiency of transplanted hepatic stem cells, progenitor cells, and mature hepatocytes in retrorsine-treated rat livers. *Cell Transplant*. 2012; 21: 11-22.

2. Gordon GJ, Coleman WB, Hixson DC, Grisham JW. Liver regeneration in rats with retrorsine-induced hepatocellular injury proceeds through a novel cellular response. *Am J Pathol*. 2000; 156: 607-619.
3. Lemoine S, Thabut D, Housset C, Moreau R, Valla D, Boulanger CM, Rautou PE. The emerging roles of microvesicles in liver diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11: 350-361.

市戸 義久

略歴

平成 19 年 札幌医科大学大学院卒業

平成 19 年 札幌医科大学

フロンティア医学研究所組織再生学部門 研究生