

「免疫難病・感染症等の先進医療技術」

平成14年度採択研究代表者

宮島 篤

(東京大学 分子細胞生物学研究所 教授)

「肝臓における造血・免疫機構の解明と肝疾患治療への応用」

1. 研究実施の概要

肝臓は、成体における主要な代謝器官であるとともに造血・免疫組織でもある。特に、胎生期においては、肝臓は最も主要な造血組織である。一方、成体の肝細胞はほとんど増殖しないが、成体肝臓は再生能力を備えた臓器であり、肝炎ウイルス等による持続的な肝傷害と再生は肝癌発生の要因ともなる。本研究では、胎生肝臓細胞の初代培養系などを用いて胎生肝臓における造血をin vitroで再現することにより肝造血機構の解明を目指している。特に、造血幹細胞の増幅因子の同定は主要な目標である。また、肝臓の幹細胞は肝臓の細胞治療や肝炎治療薬開発の基礎となる重要な細胞であるが、その性状は不明である。そこで、当面、胎生肝臓に存在する肝幹細胞を分離して、その性状と分化機構の解析を行っている。一方、成体肝臓は主要な炎症の場でもあり、肝臓の分化と再生の過程には多くの共通点がある。そこで、肝臓での炎症および再生の分子機構の解析も行っている。重篤な肝障害においてオーバル細胞という肝幹細胞が出現することが知られているが、このオーバル細胞の解析も胎生期の肝芽細胞との比較しつつ行っている。

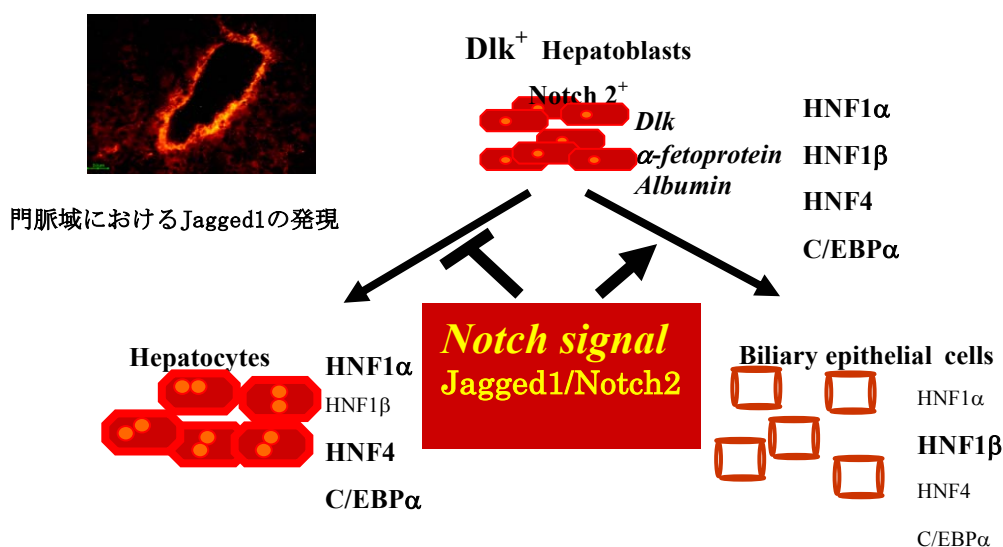
2. 研究実施内容

研究内容

肝臓の研究においては、造血・免疫系の研究で日常的に行われている細胞膜抗原による細胞分画法が確立されておらず、それが肝臓の分子生物学的研究の遅れの大きな原因となっている。そこで、我々は肝臓の分子細胞生物学的研究を展開するに当たり、まず細胞の分画に利用可能な抗原の同定とそれらに対するモノクローナル抗体の作製を行っている。我々はすでにマウス胎生肝臓で同定した膜タンパク質D1kが肝臓原基に発現すること、D1k⁺細胞がalbumin⁺細胞（肝細胞）およびCK-19⁺細胞（胆管上皮細胞）に分化することから、D1k⁺細胞が肝芽細胞（肝臓の幹細胞）であることを示した。胆管の形成にはNotchのシグナル系が重要であることが示唆されていたので、このD1k⁺細胞を使って肝細胞および胆管上皮細胞への分化に対するNotchシグナル系の機能を検討した。その結果、Notch2が肝芽細胞で発現しており、門脈域にのみJagged1が発現していること、Notchの活性化型をD1k陽性細胞で発現すると肝細胞への分化が抑制され胆管上皮細胞への分化が促進される

ことが明らかとなった。従って、Notch2を発現する肝芽細胞が門脈域のJagged1陽性細胞と接することで肝芽細胞の胆管上皮細胞への分化が誘導されることが考えられる（図）。また、Dlk陽性細胞以外の細胞の分離分画に利用可能な細胞膜抗原もすでに複数同定しており、そうした抗原の解析および分離した細胞の解析が進行中である。

成体肝臓には肝臓の幹細胞は通常認められないが、肝細胞の増殖が抑制された状態で部分肝切除を行うとoval細胞という肝前駆細胞が出現することが知られている。しかし、oval細胞と胎生期に出現する肝芽細胞との関係は不明である。そこで、両者を分離して遺伝子発現解析を行っており、すでに共通抗原を複数同定した。



成体型造血幹細胞は胎生中期のAGM領域で発生し、胎児肝臓で増幅するが、我々はすでにAGM領域の細胞と胎生肝臓細胞との共培養により造血系の再構築活性を増幅することに成功している。そこで、このin vitroシステムにおいて長期に渡る骨髄再構築能を備えた真の造血幹細胞が増幅しうるかどうか検討を重ねている。現在までの結果は、肝芽細胞であるDlk陽性細胞集団にこの造血支持活性があることを強く示唆している。

IL-6ファミリーのOncostatin M (OSM)は肝細胞の分化を強く促進することをすでに報告しているが、肝障害によって肝臓でのOSMとOSM受容体の発現が誘導されることからOSMは肝再生過程にも重要な機能を果たしている可能性が考えられた。そこで、四塩化炭素による肝障害/再生におけるOSMの機能をOncostatin M (OSM)受容体欠損マウスを使って検討した。傷害によりクッパー細胞がOSMを産生すること、OSMは肝細胞に対して細胞死の抑制および増殖の促進を行うことが明らかになった。さらに、OSMは、肝非実質細胞に作用してTIMPなどの発現制御により組織破壊/再生に重要な機能があることが明らかになった。

3. 研究実施体制

東大分生研グループ

研究グループ長：宮島 篤（東京大学分子細胞生物学研究所 教授）

研究項目1：造血幹細胞の発生と増幅機構の解析

研究項目2：肝臓の幹細胞および未分化肝細胞の遺伝子と機能の解析

研究項目3：サイトカイン等によるシグナル伝達機構の解析

研究項目4：肝傷害と肝再生の分子機構の解析

KASTグループ

研究グループ長：中村康司（神奈川科学技術アカデミー 研究員）

研究項目1：肝傷害と肝再生の機構の解析

研究項目2：再生過程の肝幹細胞の解析

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文発表

- 安西弘子^{1,4}、紙谷聡英^{1,4}、白土治己²、竹内隆²、宮島篤^{1,3,4}

1神奈川科学技術アカデミー、2三菱化学生命科学研究所、3東大・分子細胞生物学研究所

4CREST, JST (科学技術振興事業団)

Impaired differentiation of fetal hepatocytes in homozygous *jumonji* mice
Mechanisms of Development

投稿日：平成15年4月25日 (volume 120, issue 7, 2003. 7 pages 791-800)

- Tanimizu N^{1,5}, M. Nishikawa², H. Saito^{3,5}, T. Tsujimura⁴, and A. Miyajima^{1,3,5}

1 Stem Cell Regulation, Kanagawa Academy of Science and Technology (KAST),
Teikyo University Biotechnology Research Center, 907 Nogawa, Kawasaki,
Kanagawa, Japan

2 Kirin Pharmaceutical Research Lab, Takasaki, Gunma, Japan

3 Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo,
Japan

4 First Department of Pathology, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya,
Hyogo, Japan

5CREST, Japan Science and Technology Cooperation

Isolation of hepatoblasts based on the expression of Dlk/Pref-1.
J. Cell Sci.

オンライン掲載：2003. 5. 1(116: 1775-1786.)

- Esashi E^{1,4}, T. Sekiguchi¹, S. Koyasu^{2,3}, and A. Miyajima^{1,4}

1. Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo,

Tokyo, Japan

2. Department of Microbiology and Immunology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

3. Core Research for Evolutional Science and Technology, Japan Science and Technology Corporation, Kawaguchi, Japan

4. CREST, Japan Science and Technology Cooperation

A possible role for CD4+ thymic macrophages as professional scavengers of apoptotic thymocytes

J. Immunol. Cutting Edge (171: 2773-2777.2003.9)

- Tanaka M., Y. Hirabayashi, T. Sekiguchi, T. Inoue, M. Katsuki, and A. Miyajima.

From the Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo, Japan; Kanagawa Academy

of Science and Technology, Kawasaki, Japan; National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan; and

National Institute for Basic Biology, Okazaki National Research Institute, Okazaki, Japan. ; CREST, Japan

Science and Technology Cooperation

Targeted disruption of Oncostatin M receptor results in altered hematopoiesis.

Blood (102, 3154-3162, 2003.11)

- Armin Rump¹, Yoshihiro Morikawa², Minoru Tanaka^{1,4}, Sawako Minami³, Naohiko Umesaki³, Masaki Takeuchi^{1,4} and Atsushi Miyajima^{1,4}

¹Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo, Bunkyo-Ku, Tokyo 113-0032, Japan

²Department of Anatomy & Neurobiology and ³Department of Obstetrics and Gynecology,

Wakayama Medical University, Wakayama, Japan

⁴CREST of The Japan Science and Technology Corporation

Binding of ovarian cancer antigen CA125/MUC16 to mesothelin mediates cell adhesion

The Journal of Biological Chemistry

オンライン掲載 : 2003.12 279:9190-9198

- Koji Nakamura^{1,3}, Hidenori Nonaka², Hiroki Saito^{1,2}, Minoru Tanaka^{1,2,3}, and Atsushi Miyajima^{1,2,3}.

¹Stem Cell Regulation Project, Kanagawa Academy of Science and Technology (KAST)

²Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo

³CREST, Japan Science and Technology Cooperation

Impaired hepatocyte proliferation and tissue remodeling after liver injury
in Oncostatin M receptor knockout mice

Hepatology

オンライン掲載 : 2004.3 (volume39, issue 3, pages 635-644)

- Morikawa Y., Tamura S., Minehata K., Donovan P.V., Miyajima A., and Senba E.

1 Department of Anatomy and Neurobiology, Wakayama Medical University,
Wakayama, Japan,

2 Laboratory of Cell Growth and Differentiation, Institute of Molecular and
Cellular Bioscience, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan,

3 Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University, Philadelphia,
Pennsylvania

4 Core Research for Evolutional Science and Technology, Japan Science and
Technology Corporation, Kawaguchi, Japan

5 CREST, Japan Science and Technology Cooperation

Essential function of oncostatin M in nociceptive neurons of dorsal root
ganglia.

J. Neuroscience. (24(8):1941-1947. 2004.2)

- (2) 特許出願

H15年度特許出願件数 : 1件 (CREST研究期間累積件数 : 2件)