

201406006A

厚生労働科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞を用いた
肝再生療法実用化研究

平成26年度 総括研究報告書

研究代表者 金子周一

平成27 (2015) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞を用いた
肝再生療法実用化研究

平成26年度 総括研究報告書

研究代表者 金子 周一

平成27（2015）年 3月

肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞を用いた肝再生療法実用化研究

研究組織

<u>研究代表者</u>		
金子 周一	金沢大学医薬保健研究域医学系恒常性制御学	教授
<u>研究分担者</u>		
酒井 佳夫	金沢大学医薬保健研究域医学系	准教授
高村 雅之	金沢大学附属病院	講師
山下 竜也	金沢大学附属病院地域医療教育センター	特任教授
山下 太郎	金沢大学附属病院総合診療部	助教
荒井 邦明	金沢大学医薬保健研究域医学系	助教
砂子阪 肇	金沢大学附属病院	助教
藤原 忠美	名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センター	特任教授
中村 裕之	金沢大学医薬保健研究域医学系・環境生態医学	教授
長瀬 克彦	金沢大学附属病院先端医療開発センター	准教授
手良向 聡	京都府立医科大学大学院医学研究科	教授
今井 康人	金沢大学附属病院先端医療開発センター	特任教授

目 次

I. 総括研究報告

肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞を用いた肝再生療法実用化研究

金子 周一 ----- 1

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 13

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 15

I. 総括研究報告

肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞を用いた肝再生療法実用化研究

研究代表者：金子 周一 金沢大学医薬保健研究域医学系 教授

研究要旨：肝硬変は、慢性肝疾患の終末像であり、肝機能低下、肝不全に至る重篤な状態である。肝硬変に対する治療法には肝移植以外に根治的治療法はなく、新たな治療法開発が望まれている。間葉系幹細胞は、多分化能を有し、肝細胞への分化能も報告されている。脂肪組織由来間質細胞には間葉系幹細胞が豊富に含まれ、アクセスがよく、自己由来の細胞が獲得可能である。これまでにマウス肝硬変モデルにおいて、脂肪組織由来間質細胞の肝修復再生効果を確認し報告した。本研究では、自己脂肪組織由来間質細胞投与による肝再生療法実用化を目的としている。第20回ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会（平成24年5月）にて実施を承認された安全性試験である「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法の臨床研究」を実施する。平成27年2月までに、予定4例の実施を終了、3例は評価期間を終了した。評価期間を終了した3例において、重篤な有害事象の発生は認められなかった。安全性試験終了後の臨床試験計画策定における評価項目決定の参考のため、疫学研究「肝硬変患者の予後調査観察研究」を実施、肝硬変におけるプロトンピン活性、血清アルブミン値、血小板数の変化を検討した。本研究総括後の肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞を用いた肝再生療法実用化のため、厚生労働省研究開発振興課の先進医療に係る事前相談を実施した。医薬品・医療機器総合機構への事前面談を実施、対面助言に向けた準備を開始した。

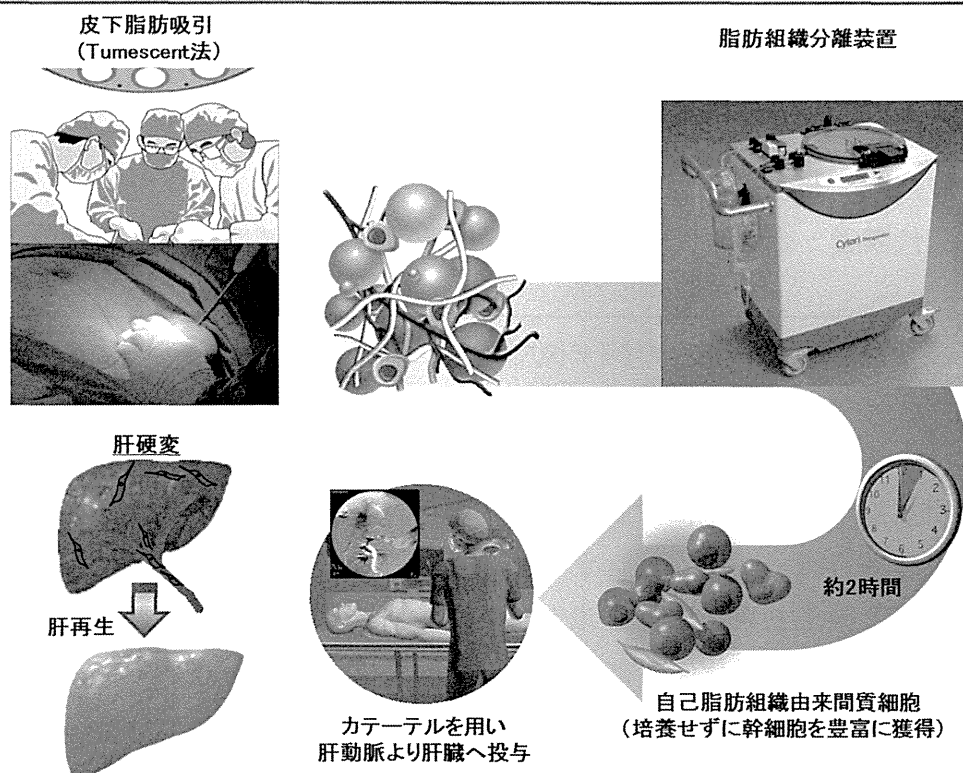
A. 研究目的

肝硬変患者は、我が国で約30-40万人存在し、年間1万7千人が死亡している。肝硬変に至ると最終的に肝臓の機能が著明に低下した肝不全に陥り、肝移植以外に治療法がない。また、肝移植療法においては、改正臓器移植法施行後においてもドナー不足は解消されず、生体肝移植が我が国では主

に対する新たな治療法開発が必要である。間葉系幹細胞は、多分化能を有し、肝細胞への分化能も報告されており、臓器再生療法への応用研究が進められている。脂肪組織間質細胞には、間葉系幹細胞が豊富に含まれるため、培養せずに自己由来の間葉系幹細胞を獲得できる。これまでに、非臨床

図

自己脂肪組織由来間質細胞投与による肝再生療法臨床試験



検討として、マウス肝硬変モデルに対する脂肪組織由来間質細胞投与による肝線維化改善、肝機能改善効果、肝炎抑制効果を確認し、報告した(Hepatology 2013)。本研究は、肝硬変患者を対象とし、自己脂肪組織より、脂肪組織分離装置を用いて間質細胞を分離、培養せずに経肝動脈的にカテーテルを用いて硬変肝へ投与する肝再生療法の実用化研究である。肝硬変に対する脂肪組織由来間質細胞投与による肝再生療法実用化を目標とし、安全性臨床試験「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法の臨床研究」を実施する。安全性試験後の、有効性を評価項目とする臨床試験計画案策定のため、肝硬変における疫学研究「肝硬変患者の予後調査観察研究」を実施する。厚生労働省研究開発振興課の先進医療に係る事前相談、

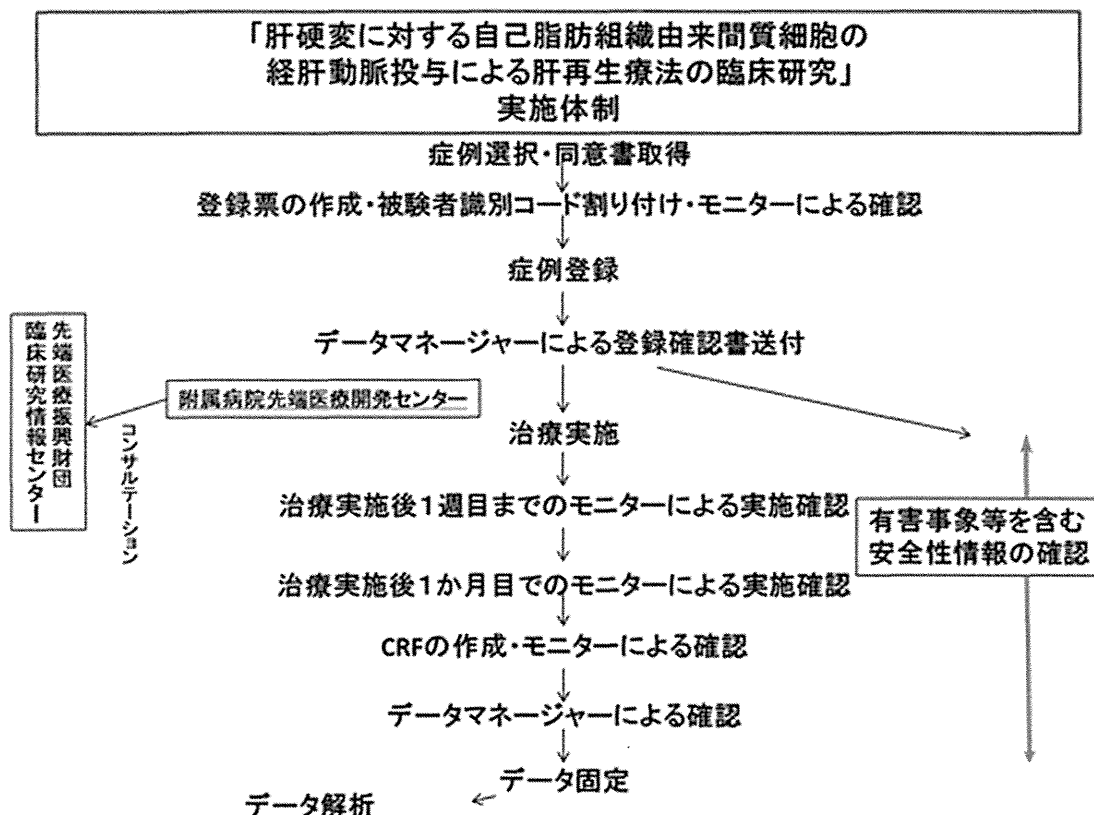
医薬品・医療機器総合の事前面談、対面助言を実施し、安全性臨床試験終了、総括報告後の、医師主導治験の実施への準備を行う。

B. 研究方法

・「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法」

以下のエントリー基準を満たす肝硬変患者を対象とする。①血液検査、画像診断、病理学的検査の方法にて、肝硬変と診断されている患者で、以下の条件を満たす症例。原因については、原因不明以外は原則として問わない。②年齢が20歳以上、80歳以下、③総ビリルビン値が3.0 mg/dl以下、④血小板が $7.0 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 以上、⑤プロトロンビン活性が70%以上、⑥血清クレアチニンが1.5 mg/dl以下、⑦試験の性質を理解する能力を有し、本試験の参加に関して

図2



同意が文書で得られる。対象者の腹壁、大腿、臀部のいずれかの皮下より、美容外科領域にて一般的に行われているチューメセント法により脂肪組織を採取、脂肪組織分離装置(Cytori Therapeutics 社、San Diego、米国)を用いて脂肪組織由来間質細胞を獲得し、経皮的に肝動脈へカテーテルを挿入し、細胞を投与する(図1)。余剰脂肪組織由来間質細胞浮遊液について、日本薬局法に準拠した無菌試験を実施する。細胞表面抗原解析として、ヒト間葉系幹細胞解析用 Human MSC Analysis Kit[®] (BD)を用いて、フローサイトメトリーにて評価する。また、余剰細胞の培養を試みる。余剰脂肪組織由来間質細胞、および継代培養した脂肪組織由来間質細胞について、DNA

マイクロアレイによる包括的遺伝子発現解析を行い、特性解析を行う。実施予定症例数は4例。2例は $3.3 \times 10^5 / \text{Kg}$ 、2

図3
スケジュール

	治療前	投与日	治療後		
			1日後	1週間後	1ヶ月後
同意取得	○				
脂肪採取 細胞投与		○			
腹部造影CT あるいは MRI	○1か月前				○
腹部超音波	○1か月前				
血液検査	○	○	○	○	○
遺伝子発現 解析	○		○	○	○
末梢血液単 核球凍結保 存	○		○	○	○
有害事象		○	○	○	○

例は $6.6 \times 10^5 / \text{Kg}$ の細胞を投与予定。主要評価項目として、細胞投与後1か月における安全性評価である。実施においては、金沢大学先端医療開発センターによる、モニタリング、データマネジメントの下（図2）、図3に示すスケジュールにて実施した。

・疫学研究「肝硬変患者の予後調査観察研究」

金沢大学附属病院消化器内科にて診療を受けた患者で2005年から2013年の期間において、電子カルテにて検査データ収集が可能で、肝硬変判別式 ($A = 0.124 \times \gamma$ グロブリン (%) + $0.001 \times$ ヒアルロン酸 ($\mu\text{g/L}$) + $(-0.413) \times$ 性別 (男=1, 女=2) + $(-0.075) \times$ 血小板数 (万/ μL) - 2.005、Aが+なら肝硬変と判定) にて肝硬変と診断される患者について、診療録にて肝硬変を確認する。重篤な心疾患、呼吸器疾患、血液疾患、透析を要する腎疾患、ステロイドや免疫抑制剤投与を実施している疾患を有する場合、悪性腫瘍根治治療後5年未満の場合は除外とする。判別式による肝硬変時より6ヶ月以上経過観察が可能である症例を解析する。肝癌の発症、脾臓摘出術、肝移植術の施行、継続的アルブミン投与、輸血、インターフェロン治療が実施された場合は、観察期間をその時点までとする。血清アルブミン値、プロトロンビン活性、血小板数の推移を評価する。

(倫理面への配慮)

臨床研究「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生

療法の臨床研究」は、第20回ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会（平成24年5月）にて実施の承認を得ている。実施において、モニタリング、データマネジメント体制を整備している。疫学研究「肝硬変患者の予後調査観察研究」は、金沢大学医学倫理審査委員会の承認を得ている（平成25年11月20日）。

C. 研究結果

・「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法」

実施予定4例中、4例について実施、3例について、観察期間を終了した。登録番号 HI-01 の症例は、C型肝硬変患者であり、エントリー基準を満たし、本臨床研究参加の文書同意を得た。臀部皮下より320 ml の脂肪組織を採取、脂肪組織分離装置にて間質細胞を分離、94.5%の生存率で 5.15×10^7 個の生細胞を獲得した。獲得した間質細胞における、間葉系幹細胞マーカー関連表面抗原発現は、CD90:12.7%、CD73 11.2%、CD33 10.3%、であった（表1）。

体重66.1Kgのため、 3.3×10^5 個/Kgの投与細胞数である 2.2×10^7 個の細胞を経肝動脈的に投与した。投与後1か月間において重篤な有害事象を認めなかった。血清アルブミン値は、細胞投与1週間前値3.6 g/dlであったが、研究期間、追跡調査において、投与後1か月目3.8 g/dl、6か月後3.7 g/dlをはじめ、概ね投与前値を維持、あるいは改善を示した（図4）。プロトロンビン(PV)活性値は、細胞投与前75%であったが、投与後2か月目78%、投与後4か月

図4

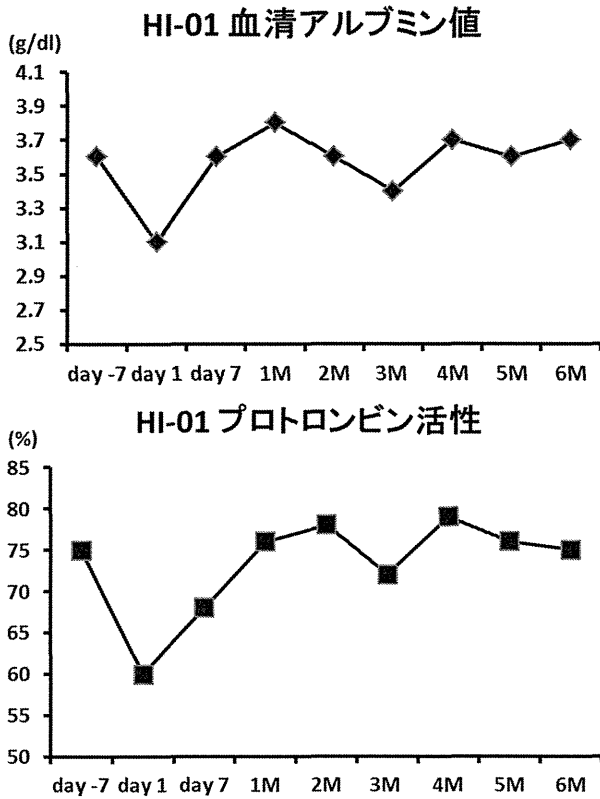
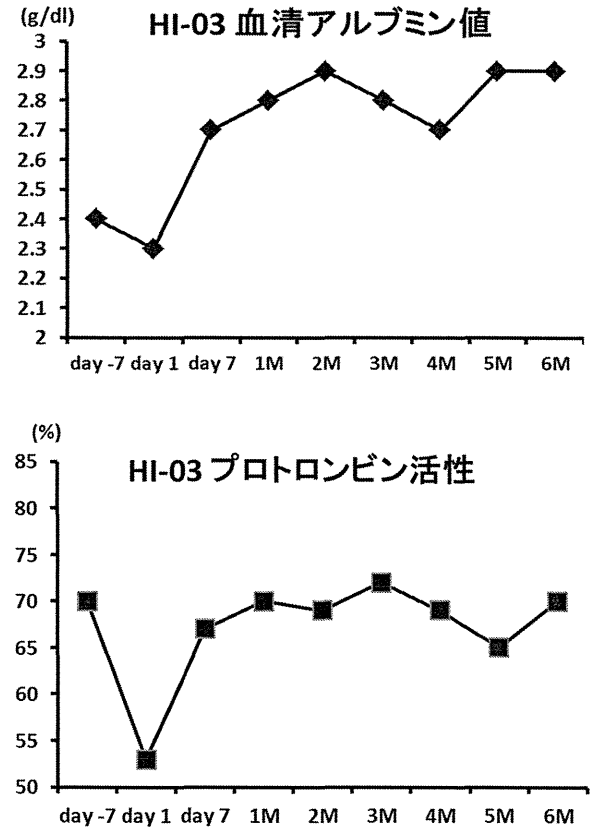


図5



目 79%をはじめ、ほぼ投与前値同等か改善を示した。採取した細胞について無菌試験による無菌性を確認した。

登録番号 HI-03 は、C 型肝硬変患者でエントリー基準を満たし、本臨床研究参加の文書同意を得た。腹部皮下より 150 ml の脂肪組織を採取、脂肪組織分離装置にて間質細胞を分離、100%の生存率で 2.5×10^9 個の生細胞を獲得した。獲得した間質細胞における、間葉系幹細胞マーカー関連表面抗原発現は、CD90:1.73%、CD73 0.42%、CD44 32.7%、であった(表1)。体重 67.9Kg のため、 3.3×10^5 個/Kg の投与細胞数である 2.2×10^7 個の細胞を経肝動脈的に投与した。研究期間の1か月間の経過中、一過性のグレード1の血小板減少($67,000/\mu l$)を認めただものの、研究終了時には $91,000/\mu l$ に回復し、重篤な有害事象は認めなかった。

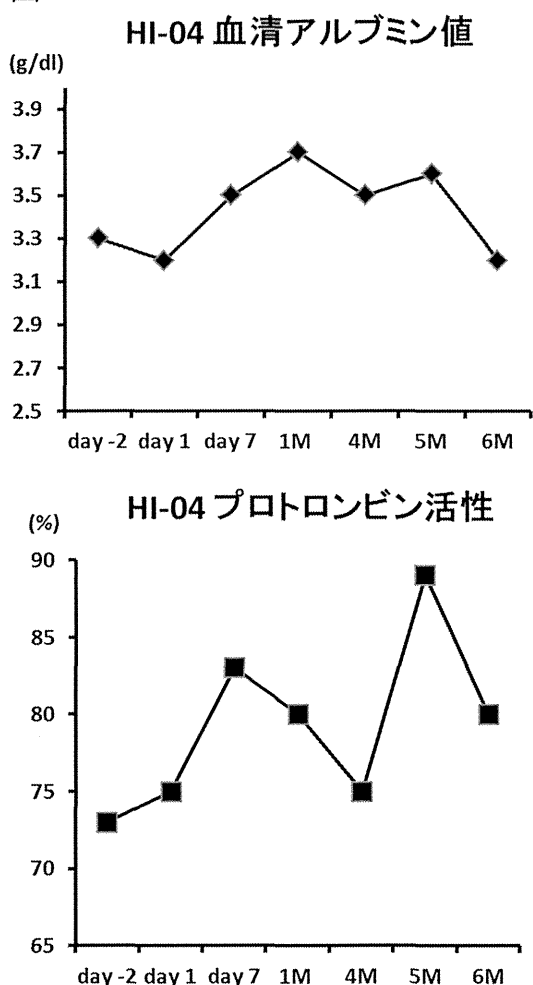
投与後1か月目において腹部造影MRIを実施、著変は認められなかった。血清アルブミン値は、細胞投与1週間前値 2.4g/dl であったが、治療後の研究期間、追跡調査において、2か月目の 2.9 g/dl をピークに前値より上昇した(図5)。プロトロンビン

表1

脂肪組織由来間質細胞の表面抗原発現

抗原	発現率		
	HI-01	HI-03	HI-04
CD90	12.7%	1.73%	5.6%
CD105	1.76%	0.01%	0.0%
CD73	11.2%	0.42%	4.8%
CD45	3.7%	0%	0.3%
CD44	10.3%	32.7%	28.8%
CD34	8.4%	0.9%	5.8%
CD31	5.6%	1.9%	1.0%

図6



活性は、治療後1週以降において、ほぼ治療前値と同等であった。採取した細胞について、無菌試験による無菌性を確認し得た。

表2
培養脂肪組織由来間質細胞の表面抗原発現

抗原	発現率		
	HI-01	HI-03	HI-04
CD90	96.6%	86.0%	37.2%
CD105	95.5%	82.9%	98.2%
CD73	96.7%	96.4%	99.2%
CD45	0%	0%	4.4%
CD44	80.9%	96.6%	98.4%
CD34	0%	0.6%	0.3%

登録番号 HI-04 は、非アルコール性脂肪性肝炎でエントリー基準を満たし、本臨床研究参加の文書同意を得た。腹部皮下より

425 ml の脂肪組織を採取、脂肪組織分離装置にて間質細胞を分離 93.5%の生存率で 4.5×10^7 個の生細胞を獲得した。獲得した間質細胞における、間葉系幹細胞マーカー関連表面抗原発現は、CD90:5.6%、CD73 4.8%、CD44 28.8%、であった(表1)。体重 87.0 Kg のため、 6.6×10^5 個/Kg の投与細胞数である 4.4×10^7 個の細胞を経肝動脈的に投与した。一過性の迷走神経反射が生じたが、研究期間の1か月間の経過中、重篤な有害事象は認めなかった。投与後1か月目において腹部造影 CT を実施、著変は認められなかった。血清アルブミン値は、細胞投与2日前値 3.3g/dl であったが、治療後の研究期間、追跡調査において、1か月目の 3.7 g/dl をピーク、6か月後は投与前と同レベルの値であった(図6)。プロトロンビン活性は、治療後6か月間の測定において、治療前の73%より上昇した。採取した細胞について、無菌試験による無菌性を確認し得た。

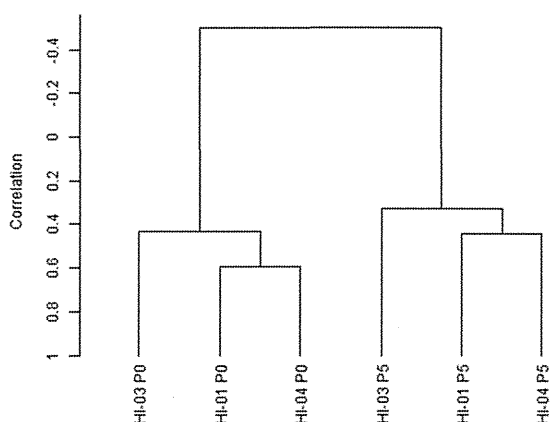
余剰脂肪組織由来間質細胞について、その特性解析を行った。HI-01、HI-03、HI-04 の余剰細胞の培養を試みたところ、継代培養が可能であった。HI-01 の余剰脂肪組織由来間質細胞を5代継代した細胞の表面抗原発現解析では、CD90:96.6%、CD105 95.5%、CD73 96.7%、CD44 80.9%、HI-03 では、CD90:86.0%、CD105 82.9%、CD73 96.4%、CD44 96.6%、HI-04 では、CD90:37.2%、CD105 98.2%、CD73 99.2%、CD44 98.4%であり、継代培養増殖した細胞の多数において、間葉系幹細胞マーカーと考えられている表面抗原が発現していた

(表2)。

HI-01、HI-03、HI-04 の余剰脂肪組織間質細胞、および5代継代培養した間質細胞について、DNA マイクロアレイにより遺伝子発現解析を行った。発現の Quality check を通過した 12919 遺伝子に関する階層クラスタリング解析では、非培養余剰脂肪組織間質細胞と培養脂肪組織由来間質細胞がクラスタを形成し、それぞれ発現プロ

図7

非培養および5代培養脂肪組織由来間質細胞の遺伝子発現の階層クラスタリング



ファイルが類似することが示された (図7)。非培養余剰脂肪組織由来間質細胞と5代継代培養脂肪組織由来間質細胞間に2倍以上の発現量差があった遺伝子は、3757個存在し、2204個が非培養余剰脂肪組織間質細胞で発現が亢進、1553個が5代継代培養脂肪組織において発現が亢進していた。非培養余剰脂肪組織由来間質細胞で発現が亢進していた遺伝子が関連する生物学的パスウェイの上位には、Immune response, Chemotaxis があがり (表3)、5代継代培養脂肪組織由来間質細胞で発現が亢進していた遺伝子が関連する生物学パスウェイの上位には、Cell adhesion、

表3

非培養脂肪組織由来間質細胞において発現が亢進していた遺伝子が関連するパスウェイ	
1	Immune response_Differentiation and clonal expansion
2	Chemotaxis_Leukocyte chemotaxis
3	Immune response_CD16 signaling in NK cells
4	Immune response_Alternative complement pathway
5	Protein folding and maturation_POMC processing
6	Immune response_T regulatory cell-mediated modulation
7	Inhibition of neutrophil migration by proresolving lipid
8	Cell adhesion_Integrin inside-out signaling in neutrophils
9	Immune response_Immunological synapse formation
10	Immune response_CCL2 signaling
11	Immune response_Inhibitory PD-1 signaling in T cells
12	Immune response_Role of integrins in NK cells
13	Immune response_NFAT in immune response
14	Cell adhesion_Integrin inside-out signaling in T cells
15	Role of cell adhesion in vaso-occlusion in Sickle cell disease

表4

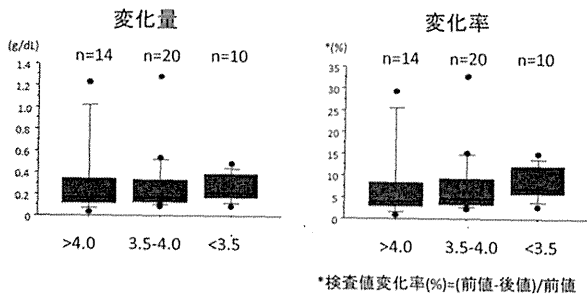
5代継代培養脂肪組織由来間質細胞において発現が亢進していた遺伝子が関連するパスウェイ	
1	Cell adhesion_Chemokines and adhesion
2	ATP/ITP metabolism
3	Transcription_Sirtuin6 regulation and functions
4	Cytoskeleton remodeling_TGF, WNT and cytoskeletal
5	Cytoskeleton remodeling_Cytoskeleton remodeling
6	Protein folding and maturation_Bradykinin / Kallidin
7	Transcription_Role of Akt in hypoxia induced HIF1
8	Cytoskeleton remodeling_Integrin outside-in signaling
9	Glycolysis and gluconeogenesis p.3
10	Glycolysis and gluconeogenesis p.3 / Human version
11	Cytoskeleton remodeling_Neurofilaments
12	GTP-XTP metabolism
13	Cell adhesion_Integrin-mediated cell adhesion and migration
14	Immune response_Oncostatin M signaling via MAPK in mouse cells
15	Role of Tissue factor in cancer independent of coagulation protease signaling

Transcription、Cytoskeleton remodelingがあがった (表4)。この結果より、非培養脂肪組織由来間質細胞の免疫系への関連、培養脂肪組織由来間質細胞の組織構築への関連が示された。

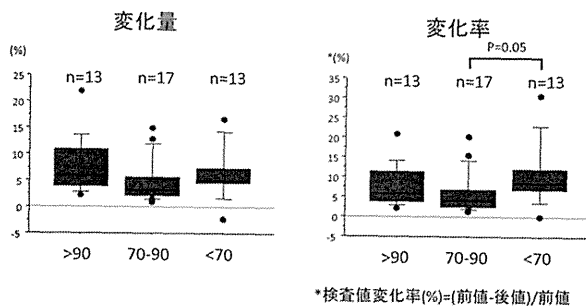
継代培養したHI-01、HI-03、HI-04の脂肪組織由来間質細胞の多分化能について、検討した。Human Mesenchymal Stem Cell Functional Identification Kit®(R&D)にて、多分化能を検証した。骨細胞、軟骨細

図8

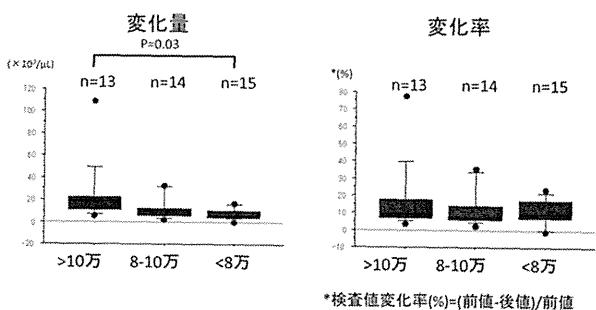
血清アルブミン値の変化量/率



プロトロンビン活性値の変化量/率



血小板数の変化量/率



胞、脂肪細胞への分化が確認され、獲得された脂肪組織由来間質細胞中に、間葉系幹細胞が存在することが示された。

・疫学研究「肝硬変患者の予後調査観察研究」

金沢大学附属病院消化器内科にて診療を受けた患者で2005年から2013年の期間において、電子カルテにて検査データ収集できた対象において、635例が判別式にて肝硬変と診断された。うち、重篤な心疾患、呼吸器疾患、血液疾患、透析を要する腎疾

患、ステロイドや免疫抑制剤投与を実施している疾患を有する場合、悪性腫瘍根治治療後5年未満の場合は除外し、肝硬変診断時より6か月以上経過観察可能であった対象は、44例であった。うち、1例でPTデータ欠損、2例がヘリコバクターピロリ除菌治療のため血小板数評価を除外した。各症例において、血清アルブミン値、プロトロンビン活性、血小板数の変動を評価、始値から終値を観察期間で除し、6か月あたりの変動を算出した。3項目ともに、始値より終値は低下していた。プロトロンビン活性、血小板数は、始値により絶対変化量あるいは変化率に影響がある可能性が示唆された(図8)。

D. 考察

肝硬変患者に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法臨床研究につき、実施予定4例中、 3.3×10^5 個/Kgの投与数を予定した2例、および 6.6×10^5 個/Kgを予定した2例に実施、3例について、評価期間を終了した。1例において一過性の血小板減少を、1例において一過性の迷走神経反射を認めたものの、研究終了時には回復し、重篤な有害事象は認められなかった。安全性に現在までの時点で問題はないと考えられ、来年度総括し、報告書を作成予定である。

獲得した脂肪組織由来間質細胞の特性について、間葉系幹細胞に発現していると考えられている表面抗原を発現する細胞群が、非培養および継代培養脂肪組織由来間質細胞において確認された。また、脂肪組織由来間質細胞の遺伝子発現解析により、非培

養脂肪組織由来間質細胞の遺伝子発現の特徴は免疫系に関連し、余剰細胞に含まれ継代培養可能な細胞の遺伝子発現の特徴は、様々な代謝、細胞および器官形成に関連するプロセスが関連することが示された。このことより、自己脂肪組織由来間質細胞は、慢性炎症を背景に生じる肝硬変に対して、抗炎症、肝再生を促すと考えられた。

疫学研究「肝硬変患者の予後調査観察研究」では、肝硬変患者の血清アルブミン値、プロトンビン活性、血小板数は、経過観察の始値より終値は低下していた。プロトンビン活性、血小板数は、始値により絶対変化量あるいは変化率に影響がある可能性が示唆された。治験デザインにおける主要評価項目を決定する上で、参考となるデータが得られた。

安全性臨床試験後について、医師主導治験あるいは先進医療Bでの臨床試験に関して、医薬品・医療機器総合機構との個別面談（平成26年2月19日）、事前面談（平成26年8月5日）、および厚生労働省医政局研究開発振興課との先進医療相談（平成26年3月12日）を実施した。

医薬品・医療機器総合機構の個別相談では、（相談当時における）将来の再生医療新法、改正薬事法を念頭とした薬事戦略の方向性の相談内容であった。本治療法において用いる脂肪組織分離装置（Celution[®]、Cytori Therapeutics社）、細胞等についての薬事戦略の考え方が提示された。両法案の動向を確認し、薬事戦略相談等を継続していくこととなった。

厚生労働省先進医療事前相談では、先進医療B実施、保険収載の可能性の相談でし

た。再生医療新法、改正薬事法の動向を確認しながら、先進医療相談、医薬品・医療機器総合機構の薬事戦略相談等を並行して引き続き相談していくこととなった。

医薬品・医療機器総合機構の事前面談では、治験実施の可能性に向けた助言を得るための相談を実施した。脂肪組織分離装置、ならびに本装置を用いて培養しないで獲得される自己脂肪組織由来間質細胞についての薬事戦略において、治験にむけた対面助言実施のため必要と考えられる資料についての相談を実施した。対面助言実施にむけ、現在実施している安全性臨床試験の結果および非臨床データのまとめ、脂肪組織分離装置の製品概要書を、医薬品・医療機器総合機構と相談し準備することとなった。

研究計画は予定通り実施され、医薬品・医療機器総合機構との事前面談を終了した。医師主導治験のための医薬品医療機器総合機構の対面助言実施への準備が進捗した。

E. 結論

安全性試験である臨床研究「肝硬変に対する自己脂肪組織由来間質細胞の経肝動脈投与による肝再生療法の臨床研究」において、実施予定4例中、4例を実施、3例について評価期間を終了した。獲得した脂肪組織由来間質細胞の無菌状態を確認、また、表面抗原解析、余剰脂肪組織由来間質細胞の培養により、間葉系幹細胞の特徴を有する細胞の存在を確認した。細胞投与による重篤な有害事象を認めなかった。次年度、本安全性試験を終了、医薬品・医療機器総合機構の対面助言を実施し、実用化を目指す。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Oishi N, Yamashita T, Kaneko S. Molecular biology of liver cancer stem cells. *Liver Cancer*. 2014 May;3(2):71-84.
- 2) Yamashita T, Kitao A, Matsui O, Hayashi T, Nio K, Kondo M, Ohno N, Miyati T, Okada H, Yamashita T, Mizukoshi E, Honda M, Nakanuma Y, Takamura H, Ohta T, Nakamoto Y, Yamamoto M, Takayama T, Arai S, Wang X, Kaneko S. Gd-EOB-DTPA-enhanced magnetic resonance imaging and alpha-fetoprotein predict prognosis of early-stage hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2014 Nov;60(5):1674-85.
- 3) Komura T, Taniguchi T, Sakai Y, Yamashita T, Mizukoshi E, Noda T, Okajima M, Kaneko S. The efficacy of Continuous Plasma Diafiltration Therapy in critical Patients with Acute Liver Failure. *J Gastroenterol Hepatol* Apr;29(4):782-6, 2014
- 4) Yamashita T, Kaneko S. Orchestration of hepatocellular carcinoma development by diverse liver cancer stem cells. *J Gastroenterol*. 2014 Jul;49(7):1105-10.
- 5) Chiba T, Suzuki E, Yuki K, Zen Y, Oshima M, Miyagi S, Saraya A, Koide S, Motoyama T, Ogasawara S, Ooka Y, Tawada A, Nakatsura T, Hayashi T, Yamashita T, Kaneko S, Miyazaki M, Iwama A, Yokosuka O. Disulfiram eradicates tumor-initiating

hepatocellular carcinoma cells in ROS-p38 MAPK pathway-dependent and -independent manners. *PLoS One*. 2014 Jan 13;9(1):e84807.

2. 学会発表

- 1) 酒井佳夫、関晃裕、東元真実、吉田佳子、ナスティ・アレクサンドロ、小村卓也、本多政夫、金子周一. 前臨床非アルコール性肝炎肝硬変マウスモデルに対する脂肪組織由来間質細胞投与による肝修復再生治療効果の検討、ワークショップ WS2-6、第50回日本肝臓学会総会、平成26年5月29日 ホテルニューオータニ、東京
- 2) 山下太郎、本多政夫、金子周一. Wnt/beta-catenin signaling activates different target genes in hepatocellular carcinoma based on the stem/maturational status and HNF4a. 第65回 AASLD 60巻S4号838A 2014.11.10
- 3) Kazunori Kawaguchi, Masao Honda, Taro Yamashita, Kouki Nio, Hikari Okada, Kuniaki Arai, Yoshio Sakai, Tatsuya Yamashita, Eishiro Mizukoshi, Shuichi Kaneko. Notch signal-activated hepatoma cells are associated with Jagged1 genomic abnormality, and Notch inhibitors efficiently suppress EpCAM+ liver cancer stem cells. 第65回AASLD 60巻S4号 131A 2014.11.9

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

「脂肪組織由来間質細胞群を含む肝炎治療剤」 (特願 2010-203796/2010-09-11)

[急性肝炎治療剤及び代謝異常治療剤]

特願 2014-142769

[脂肪組織由来間質細胞群を含む消化管

炎症治療] 特願 2014-142770

[幹細胞の製造方法] 特願 2014-114662

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Oishi N, (金子、山下太郎)	Molecular biology of liver cancer stem cells.	Liver Cancer	3(2)	71-84	2014
Yamashita T, (金子、山下竜也、山下太郎)	Gd-EOB-DTPA-enhanced magnetic resonance imaging and alpha-fetoprotein predict prognosis of early-stage hepatocellular carcinoma.	Hepatology	60(5)	1674-1685	2014
Komura T, (金子、酒井、山下竜也)	The efficacy of Continuous Plasma Diafiltration Therapy in critical Patients with Acute Liver Failure.	J Gastroenterol Hepatol	29(4)	782-786	2014
Yamashita T, (金子、山下太郎)	Orchestration of hepatocellular carcinoma development by diverse liver cancer stem cells.	J Gastroenterol	49(7)	1105-1110	2014
Chiba T, (金子、山下太郎)	Disulfiram eradicates tumor-initiating hepatocellular carcinoma cells in ROS-p38 MAPK pathway-dependent and -independent manners.	PLoS One	9(1)	e84807	2014

III. 研究成果の刊行物・別刷

Review

Molecular Biology of Liver Cancer Stem Cells

Naoki Oishi Taro Yamashita Shuichi Kaneko

Department of Gastroenterology, Kanazawa University Hospital, Ishikawa, Japan

Key Words

EpCAM signaling · Hepatocellular carcinoma · Liver cancer stem cell · miR-181 · Wnt signaling

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common and lethal cancers worldwide. The concept of cancer stem cells (CSCs) is based primarily on the clinical and experimental observations that indicate the existence of a subpopulation of cells with the capacity to self-renew and differentiate as well as show increased resistance to radiation and chemotherapy. They are considered as the factors responsible for the cases of tumor relapse. Hepatic progenitor cells (HPCs) could form the basis of some hepatocellular carcinomas (HCC) and cholangiocarcinomas. Liver CSCs have been reported in multiple subtypes of HCC and are considered as the master regulators of HCC initiation, tumor metastasis, and progression. HPCs activators such as epithelial cell adhesion molecule (EpCAM), Wnt/ β -catenin, transforming growth factor- β (TGF- β), Notch and Hedgehog signaling systems expedite tumorigenesis or conversely, serve as a powerful cancer-prevention tool. Recent work has also identified Sal-like protein 4 (SALL4) and some epigenetic regulations as important molecules, while several therapeutic drugs that directly control HPCs have been tested both *in vivo* and *in vitro*. However, liver CSCs clearly have a complex pathogenesis, with the potential for considerable crosstalk and redundancy in signaling pathways. Hence, the targeting of single molecules or pathways may have limited benefit for treatment. In addition to the direct control of liver CSCs, many other factors are needed for CSC maintenance including angiogenesis, vasculogenesis, invasion and migration, hypoxia, immune evasion, multiple drug resistance, and radioresistance. Here, we provide a brief review of molecular signaling in liver CSCs and present insights into new therapeutic strategies for their targeting.

Copyright © 2014 S. Karger AG, Basel

Taro Yamashita, MD, PhD

Department of Gastroenterology, Kanazawa University Hospital
13-1 Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-8641 (Japan)
E-Mail taroy@m-kanazawa.jp