

【目的】 近年、生活習慣病や糖尿病を背景として急増している非アルコール性脂肪性肝炎（non-alcoholic steatohepatitis : NASH）は、単純な脂肪肝から発展して、炎症や線維化を伴う進行性の慢性疾患である。NASH は高頻度で肝硬変や肝がんを発症するため、治療介入が必須であるものの、現在までに有効性の高い治療法が存在しないことが問題となっている。NASH に関する従来の研究は、主にモデル動物を用いて行われてきたが、ヒトの病態を十分に再現できないために、病態メカニズムの理解や薬剤開発には至っておらず、炎症や線維化などの複雑な病態を再現できるヒト肝臓モデルの開発は喫緊の課題となっている。NASH の病態は、肝細胞の脂肪蓄積、クッパー細胞が起点となって惹起される炎症反応、肝星細胞による細胞外基質の産生、といった複数種類の細胞の応答が連鎖して形成される。したがって、このようなヘテロな細胞間相互作用の観点から、NASH 発症機構をヒトレベルで理解することは、治療開発を前進させる上で極めて重要と考えられる。そこで本研究では、1. ヒト iPS 細胞から、NASH 病態に特徴的な脂肪蓄積、炎症、線維化を誘導できる多細胞系肝臓オルガノイドを創出するための培養システムを開発するとともに、2. ヒト肝臓オルガノイドを用いて、NASH の病態進展の起点となる細胞間相互作用の破綻をシグナル分子レベルで明らかにすることを目的とした。

【方法】 ヒト iPS 細胞から、胚体内胚葉細胞、後方前腸を経て、非実質細胞群を含む多細胞系の肝臓オルガノイドを誘導した。構築したオルガノイドの構成細胞種を、免疫染色法および遺伝子発現解析によって評価した。脂肪蓄積を起点とした炎症・線維化を誘導するために、肝臓オルガノイドを遊離脂肪酸で処理し、シングルセルトランスクリプトームを含む遺伝子発現解析と免疫組織学的解析により、炎症マーカーおよび線維化マーカーの発現を評価した。

【結果】 炎症や線維化を再現可能な肝臓オルガノイドを創出するために、ヒト iPS 細胞から、肝細胞に加えて、クッパー細胞や肝星細胞などの複数種類の細胞を同時に分化させる手法をとった。すなわち、前腸内胚葉の形成や、マクロファージ・肝星細胞の分化に重要とされるレチノイン酸シグナルに着目し、オルガノイドの形成初期にレチノイン酸を一過的に導入することで、複数系譜の細胞を同時に創出する手法を確立した。この肝臓オルガノイドに遊離脂肪酸を長期間暴露すると、肝細胞内への脂肪蓄積に引き続き、炎症性サイトカインの発現が上昇するとともに、線維化を示す病理的变化が起こることを見出した。この NASH に類似した表現型が引き起こされる多細胞連携基盤を明らかにするために、オルガノイドに発現する分泌因子をスクリーニングした結果、成長因子 X が抗線維化活性を有すること、また遊離脂肪酸処理によってその発現が顕著に抑制されることが明らかとなった。以上の結果から、本手法によるヒト肝臓オルガノイドをモデルとして、成長因子 X シグナルの異常が炎症・線維化の起点となっている可能性が示唆されるとともに、本成果は NASH 治療に対して臨床病態への外挿性に優れた創薬ツールを提供でき、治療法の開発に今後大きく貢献すると考えられる。

NASH における多細胞連携基盤に対する、ヒト iPS 細胞由来肝臓オルガノイドを用いたアプローチ

