

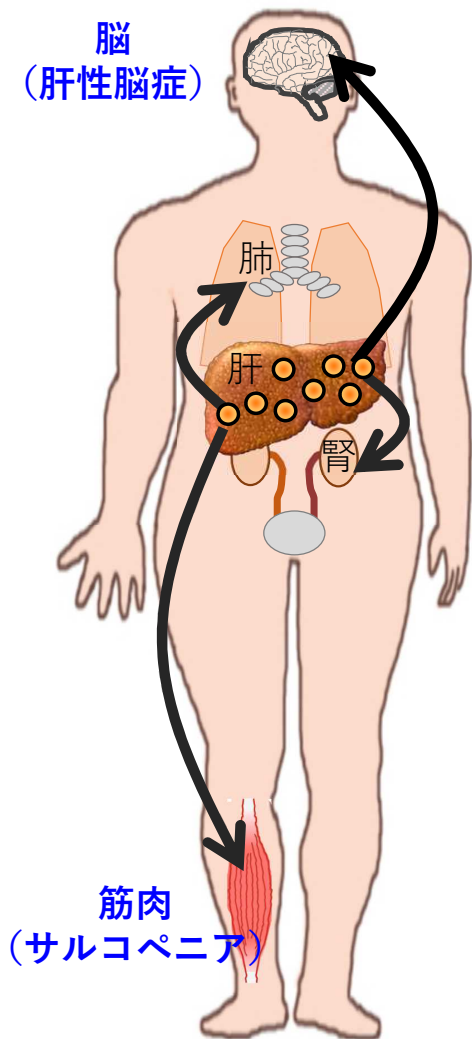
慢性肝疾患の合併症を予測 できる非侵襲性バイオマーカー

三重大学大学院医学系研究科 消化器内科

特任准教授 江口 暁子

2023年1月20日

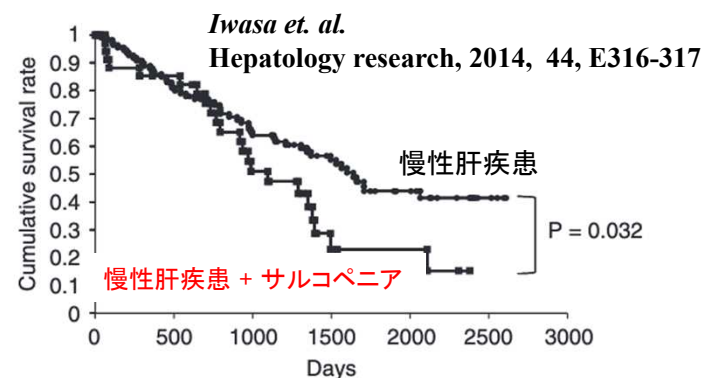
慢性肝疾患からの合併症併発を予測できない



肝性サルコペニア

- ✓ サルコペニア併発群で生存率が有意に低下
- ✓ 非アルコール性脂肪性肝炎肝線維化の重症度とサルコペニアが相関

「肝臓一骨格筋」を繋ぐ新たな液性因子が存在



肝性脳症

- ✓ 肝性脳症の発症には血中アンモニア濃度上昇が関与。
低アンモニア濃度でも肝性脳症を発症
- ✓ 脳症の本態はグリア細胞の膨化と機能異常であり、炎症に伴う血液脳関門の脆弱化が関与。肝由来の炎症性サイトカインが脳に到達した際の局所濃度は極めて低値

「肝臓一脳」を繋ぐ別の液性因子の存在が示唆

従来技術とその問題点

サルコペニアの判定基準

[臨床]

- ✓ 握力の計測
- ✓ CT(コンピュータ断層撮影)や
インピーダンス法により骨格筋量の測定

[バイオマーカー候補]

- ✓ 血中の分岐鎖アミノ酸やビタミンDの低下
- ✓ 血中の胆汁酸や活性酸素種の増加

サルコペニアを予測するバイオマーカーはない

肝性脳症の判定基準

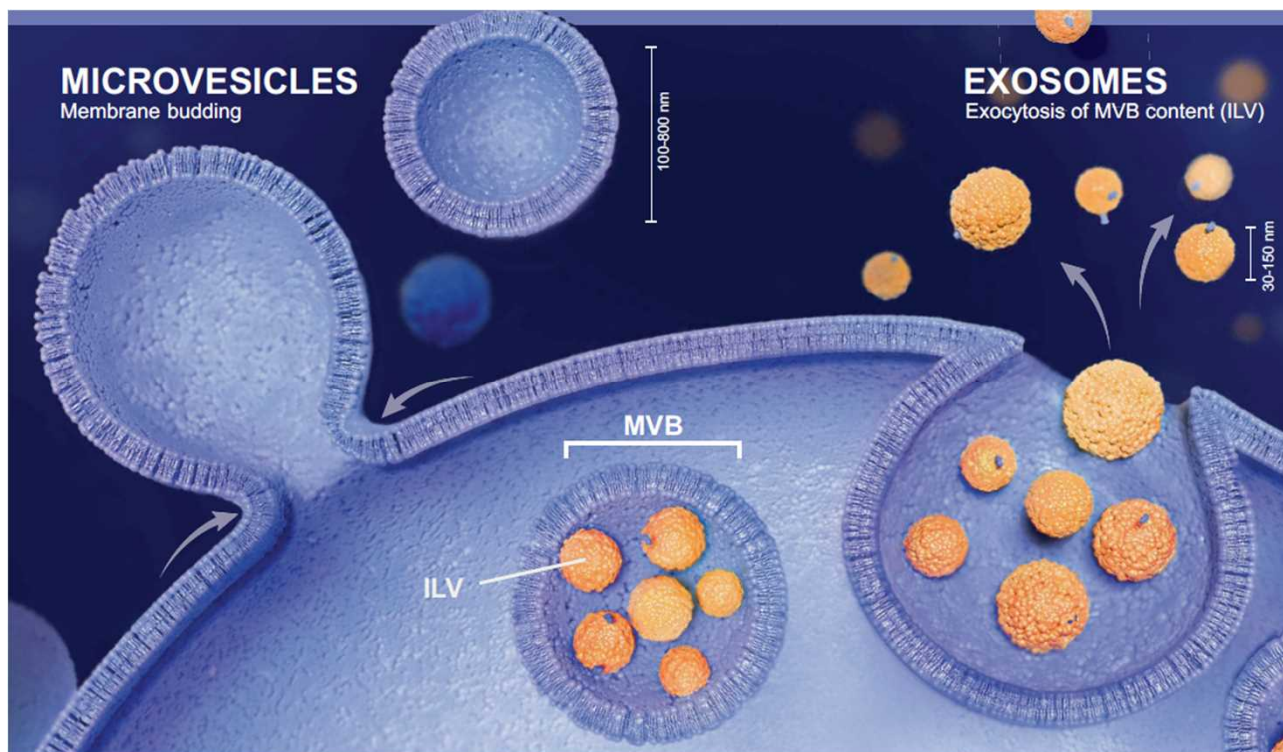
[臨床]

- ✓ 臨床症状
- ✓ 血中アンモニア濃度の上昇

現在の診断精度は十分ではない

さらに、これらの疾患に対する治療法は十分ではない

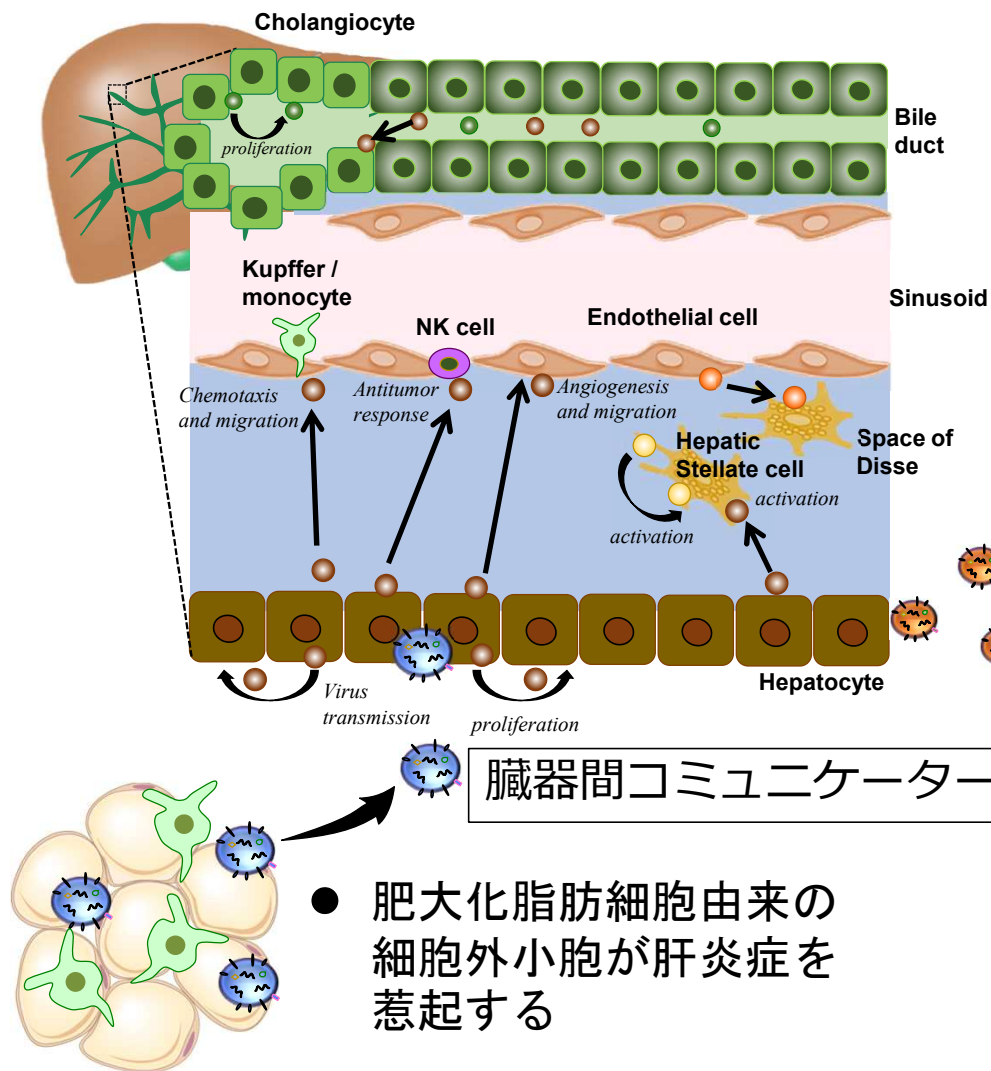
細胞外小胞は病態進展に寄与し かつバイオマーカーとなる



Eguchi A. et. al., J Hepatology 2019

- ✓ 細胞変化を鋭敏に反映
- ✓ 組織学的な変化より先に細胞外小胞の成分が変化
- ✓ 血中で安定
- ✓ 凍結血清も使用可能

慢性肝疾患の病態進展に細胞外小胞が寄与



非侵襲性バイオマーカー

- 血中の細胞外小胞数が増加
- 血中の肝臓特異的な細胞外小胞成分 (miR-122, アシアロ糖タンパク質受容体) が変化

肝線維化・インシュリン抵抗性等、臨床症状と相関

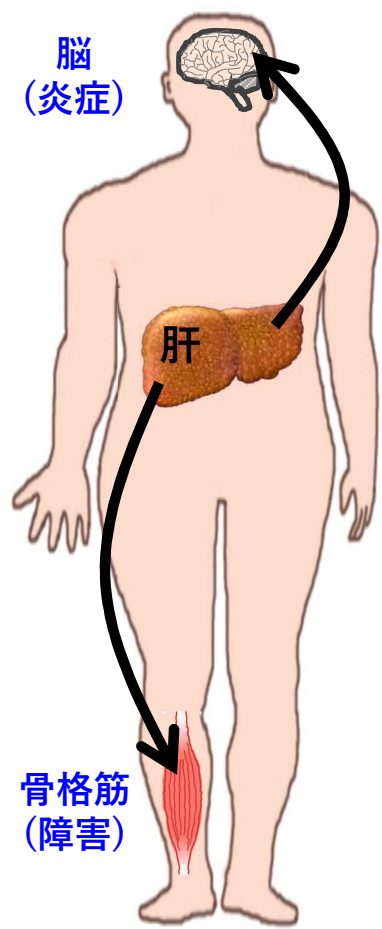
細胞間コミュニケーション

血管内皮細胞の活性化

肝星細胞細胞の活性化

- 細胞外小胞が標的細胞を活性化し、血管新生や肝線維化を惹起する

合併症を併発する肝疾患モデルマウス



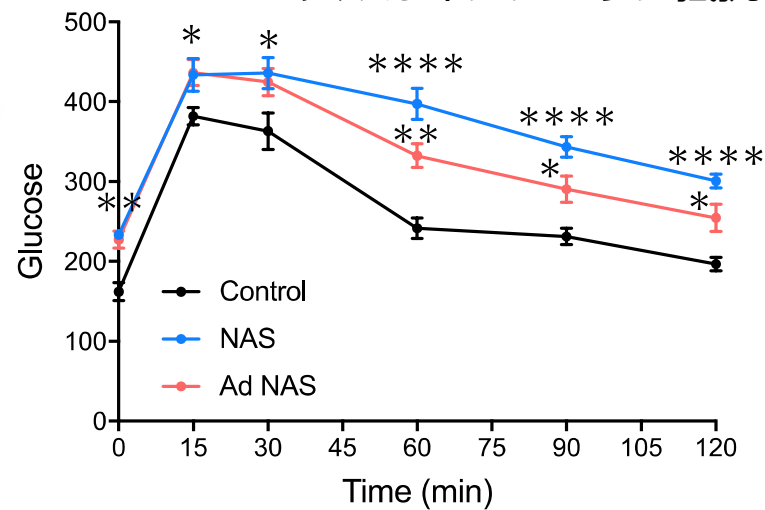
慢性肝炎マウス



マウスモデル

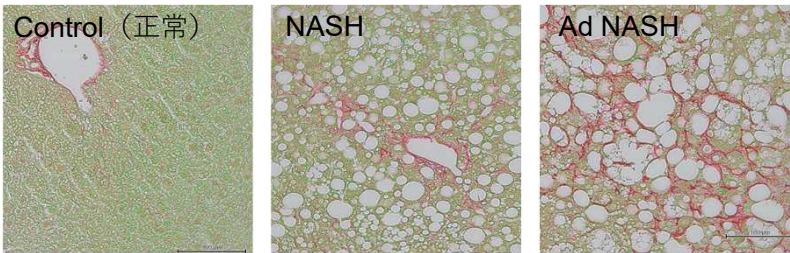
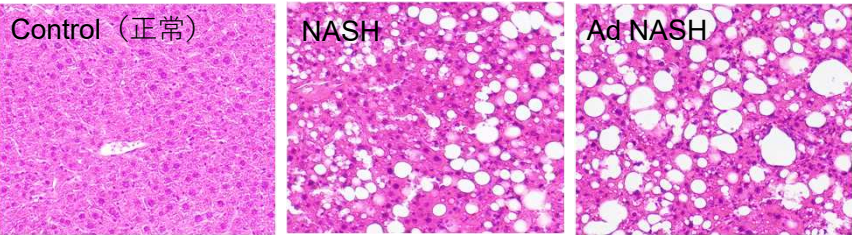
1. Normal
2. non-alcoholic steatohepatitis (非アルコール性脂肪性肝炎)
3. Advanced nonalcoholic steatohepatitis (進行した非アルコール性脂肪性肝炎)

NASHモデルはインシュリン抵抗性を示す

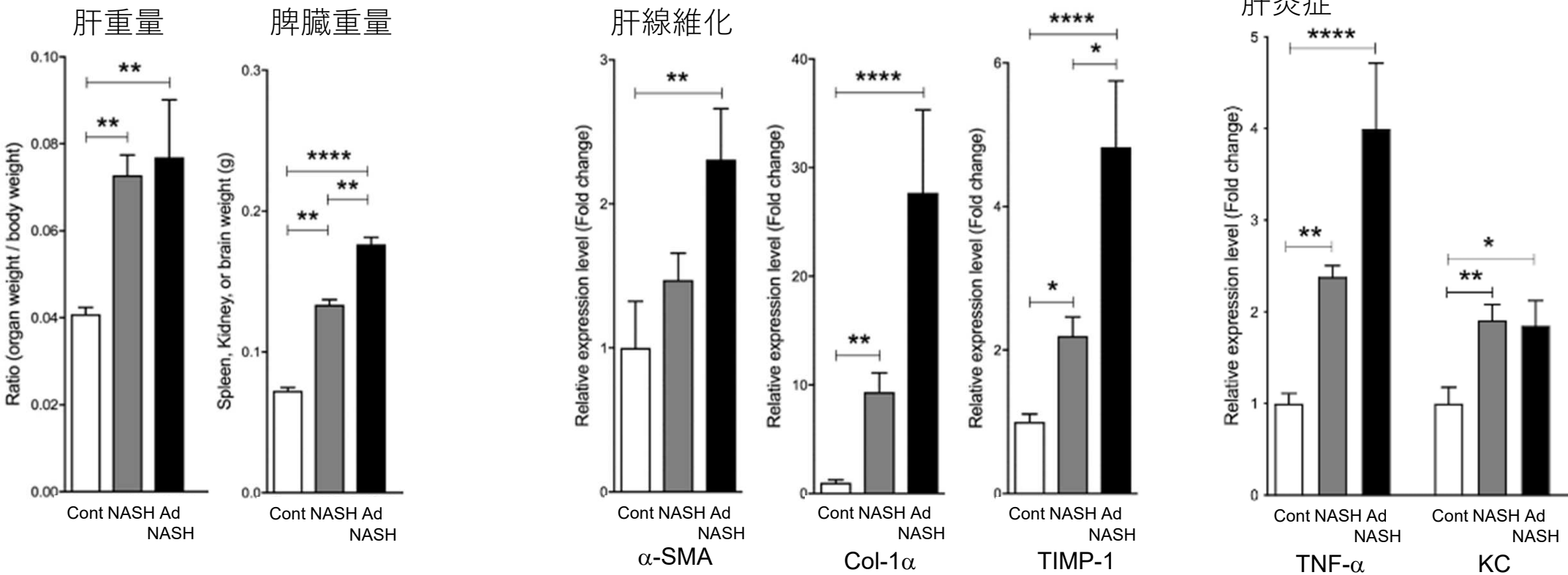


慢性肝疾患マウスの作製

肝組織



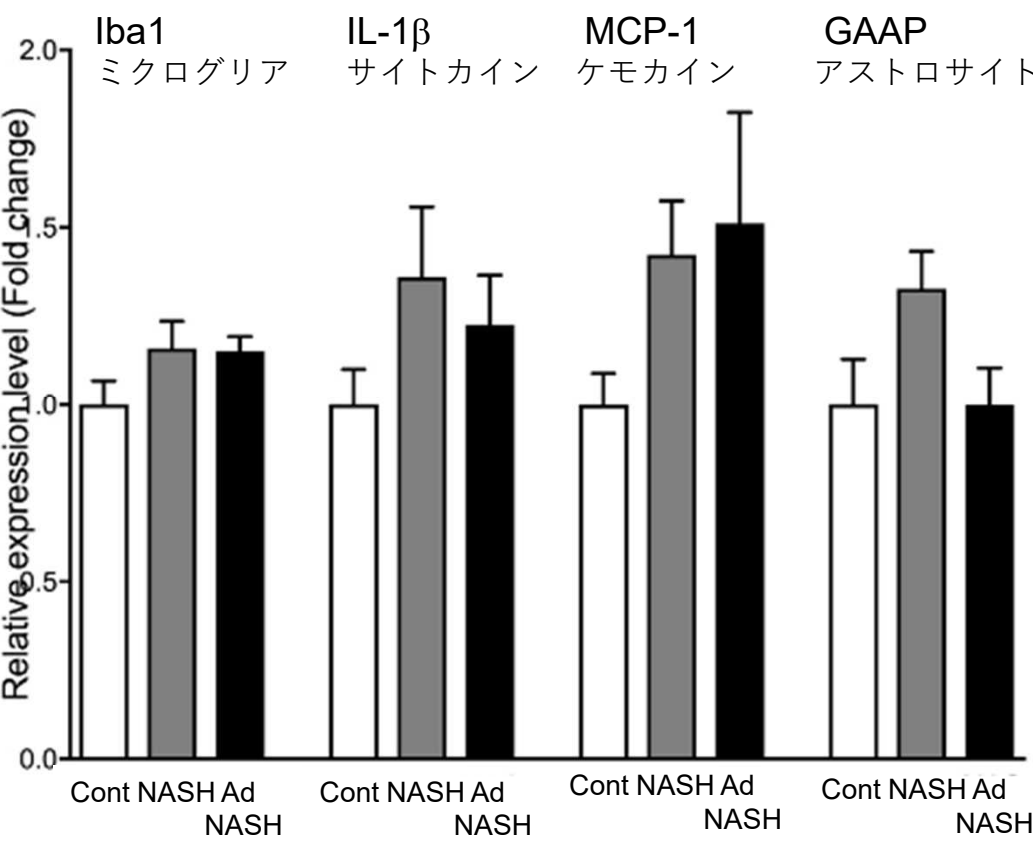
肝線維化



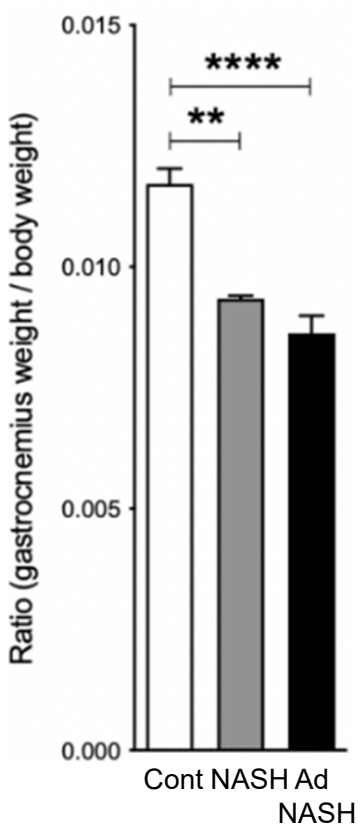
慢性肝疾患は脳炎症や腓腹筋障害を誘発する

脳炎症

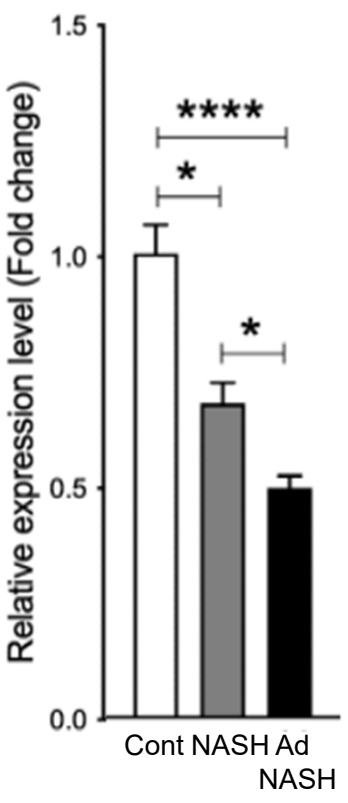
腓腹筋組織



筋重量

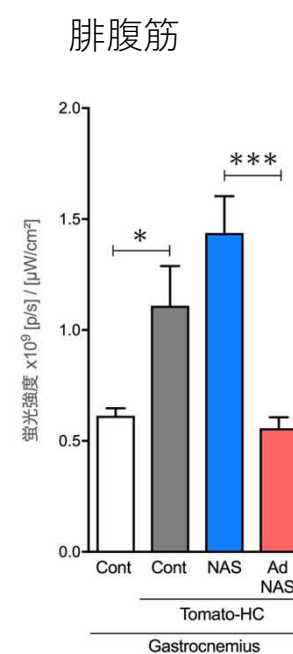
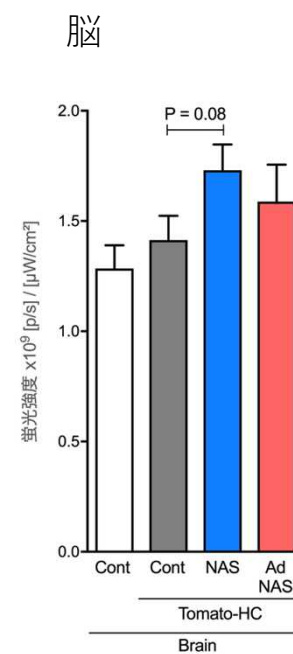
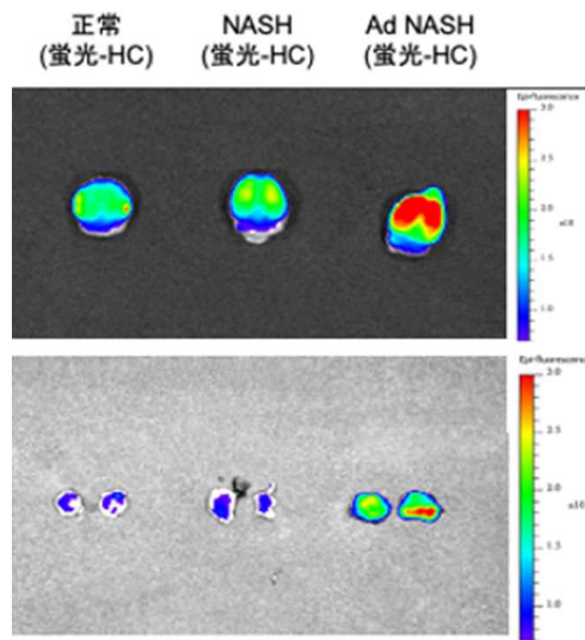
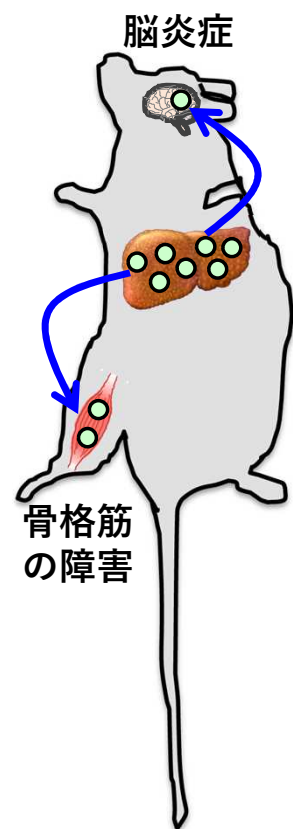


筋ミトコンドリア



障害肝細胞由来の細胞外小胞は 合併症併発臓器に伝播される

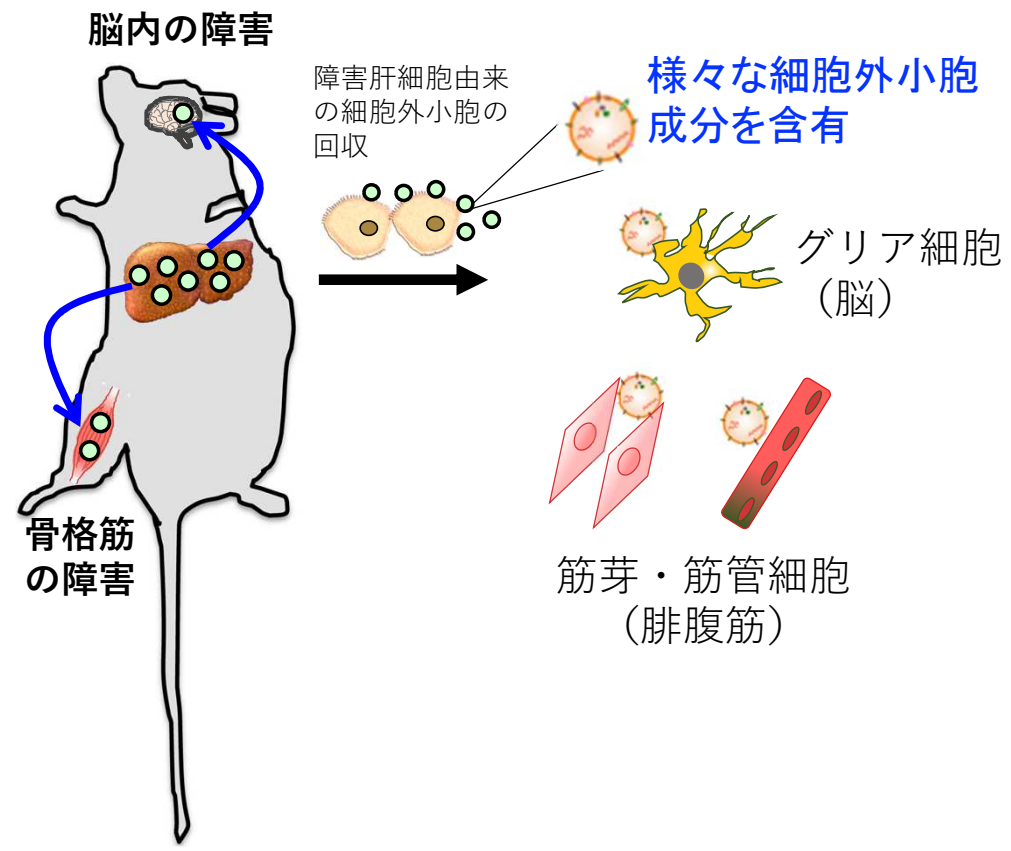
慢性肝疾患マウス



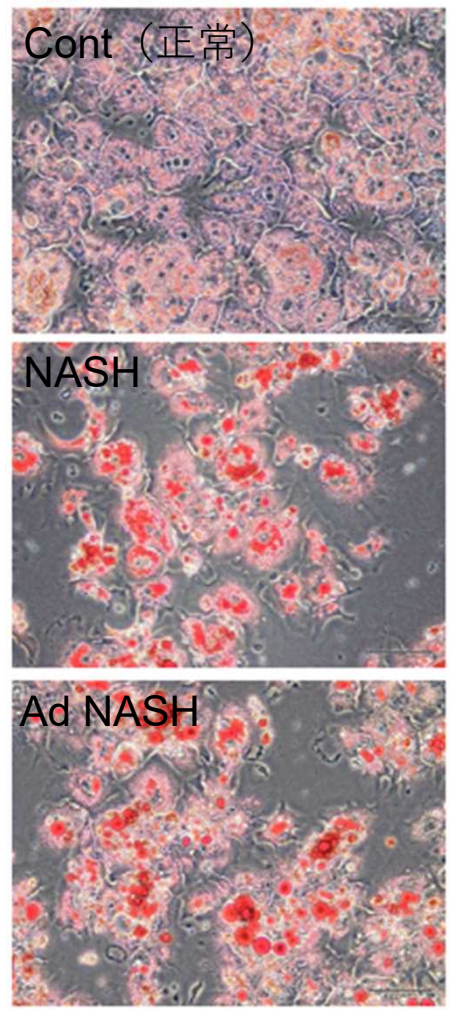
障害肝細胞由来の細胞外小胞を精製

慢性肝疾患マウス

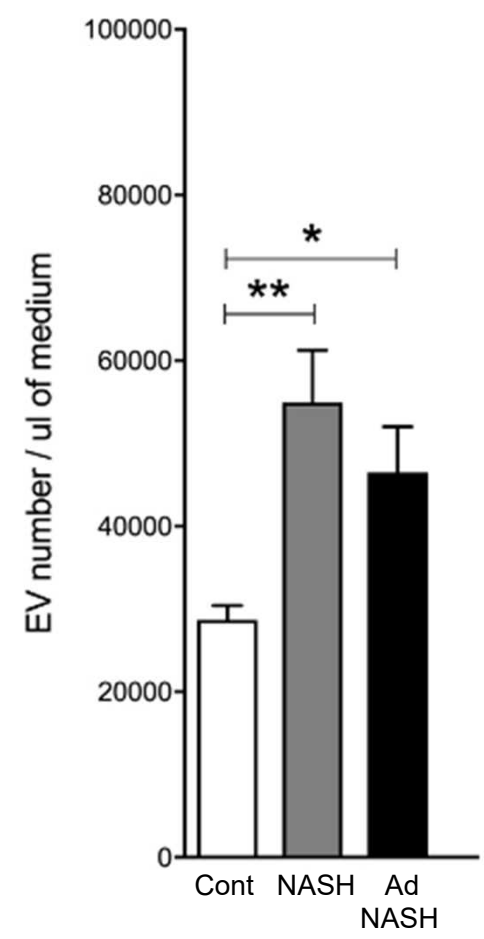
細胞



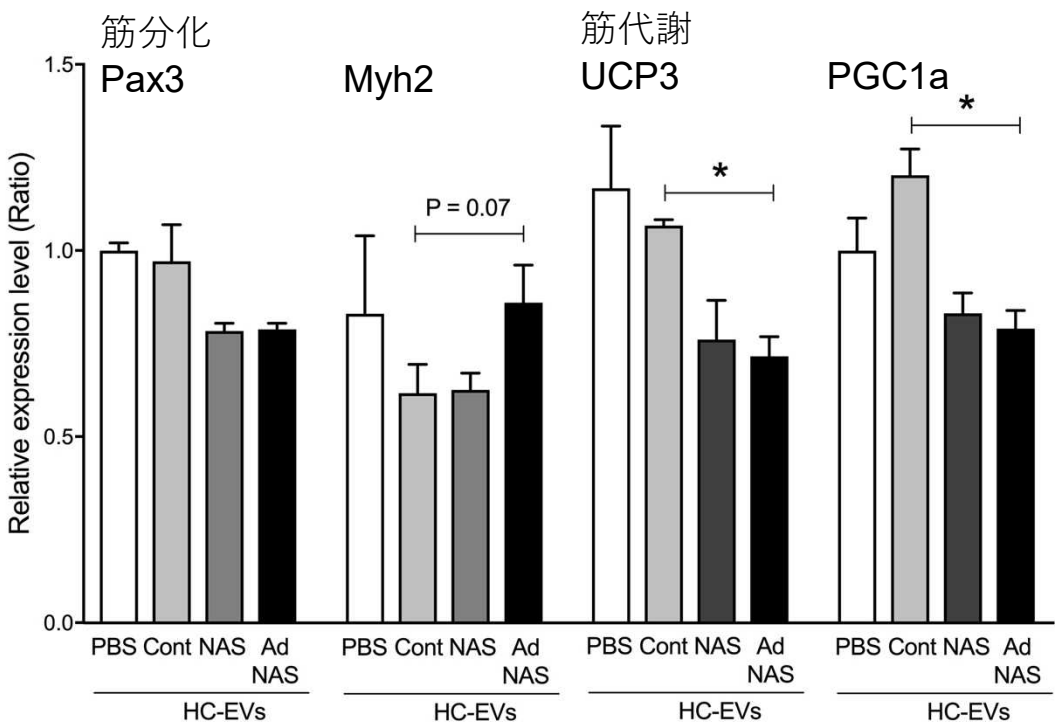
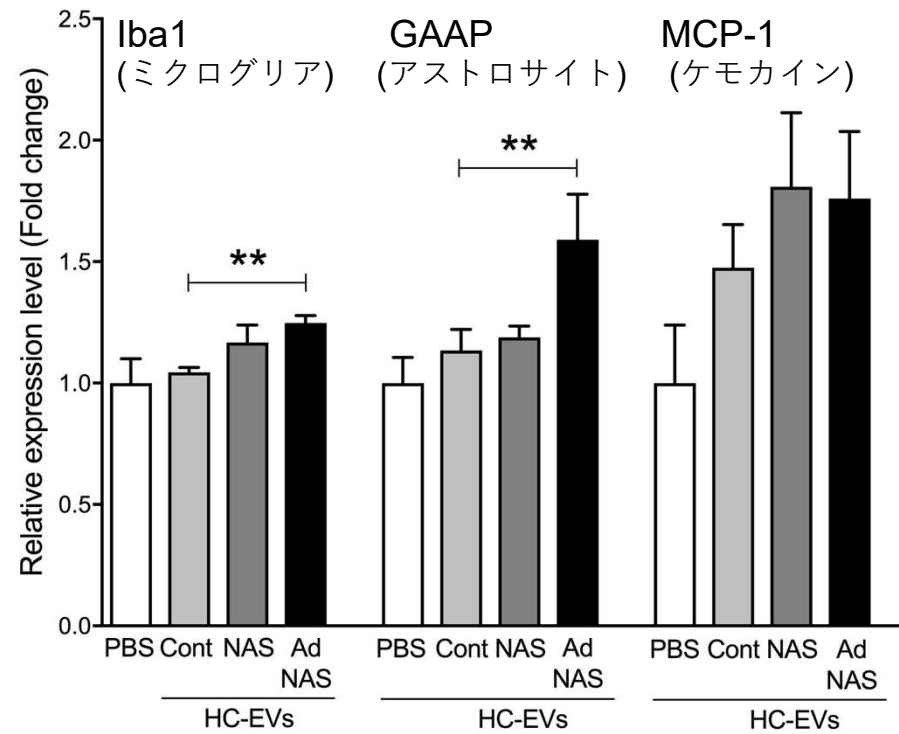
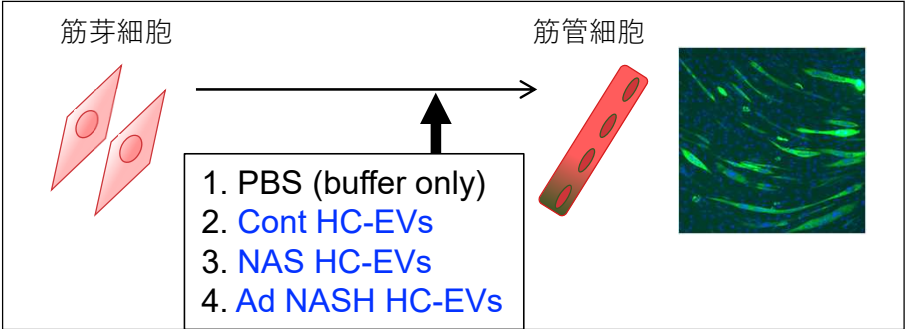
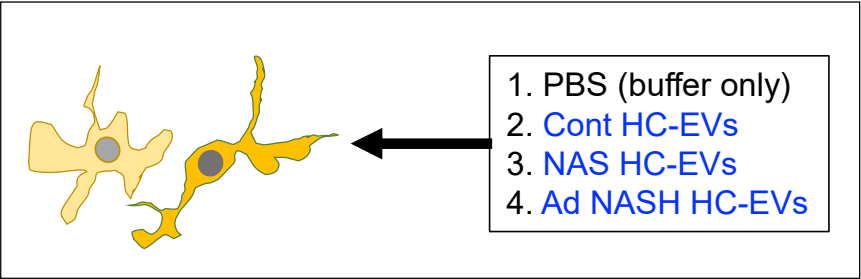
分離肝細胞



障害肝細胞由来の細胞外小胞

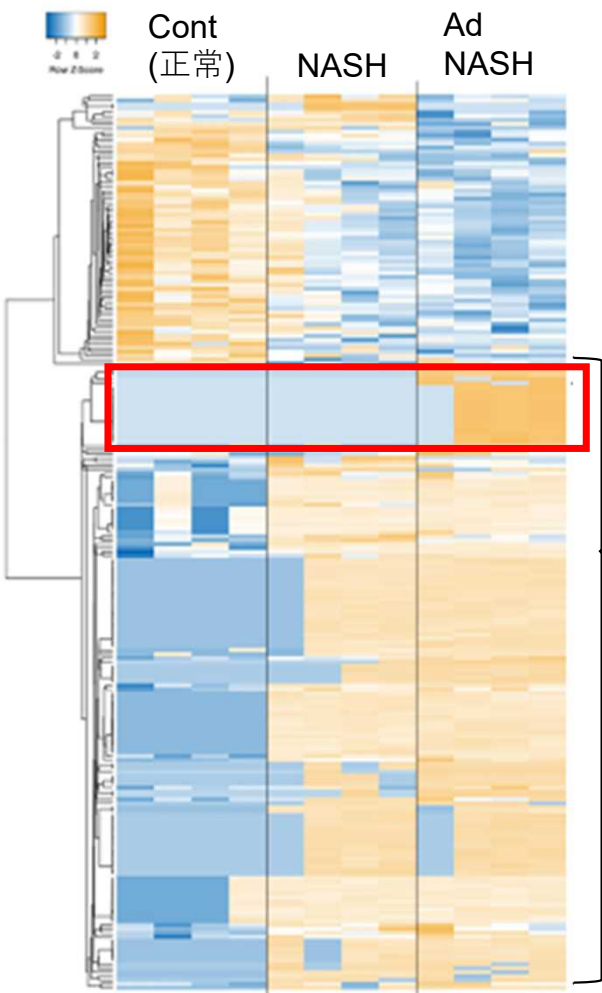


障害肝細胞由来の細胞外小胞は標的細胞を活性化する

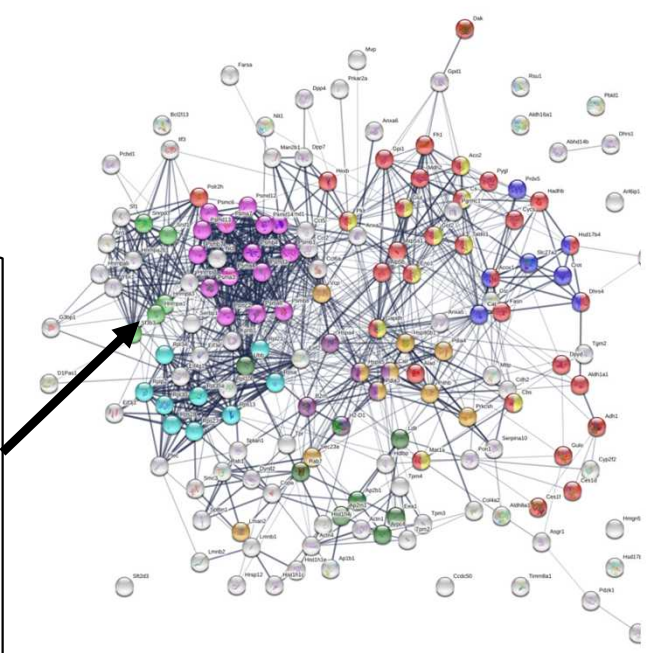


細胞外小胞成分は疾患により変化する

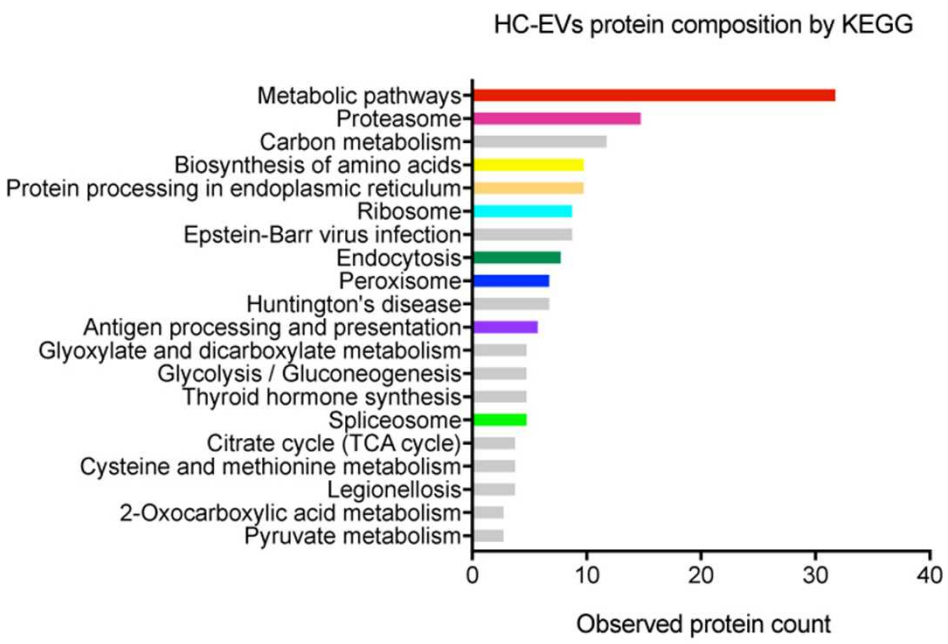
EV-蛋白質成分



NASHやAdvanced NASHで上昇：166個

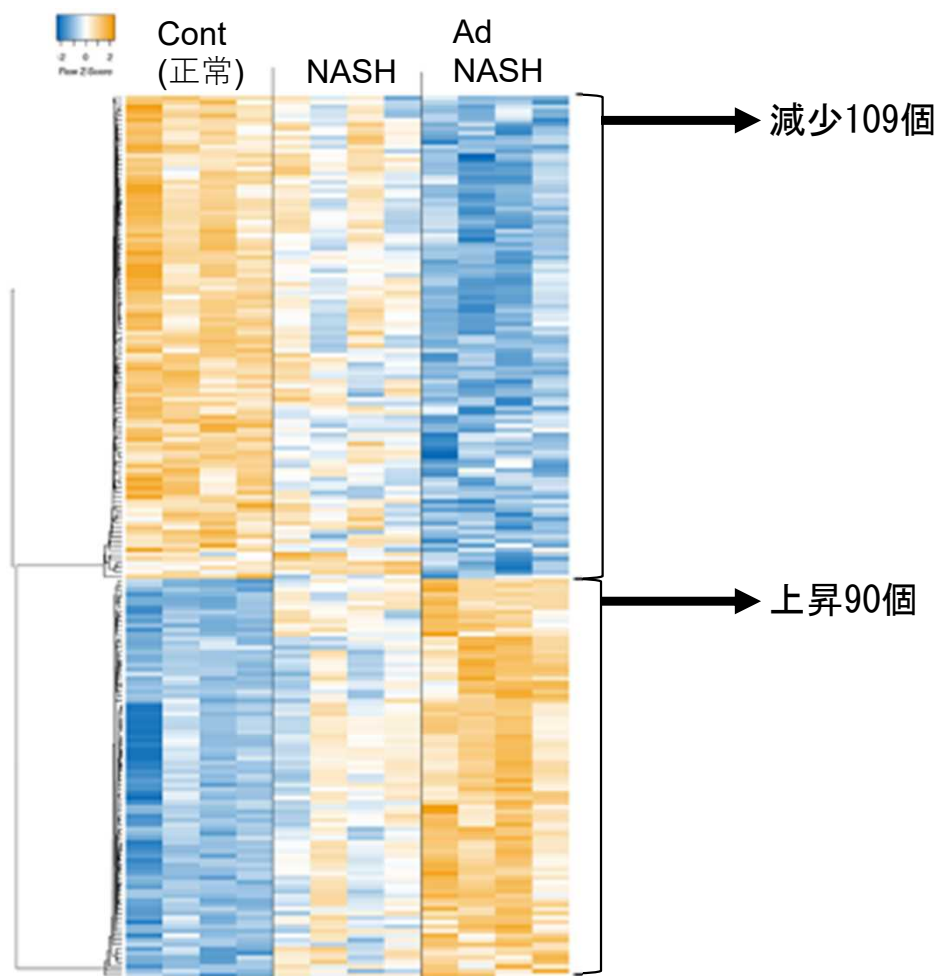


STRINGS



細胞外小胞成分は疾患により変化する

EV-microRNA成分

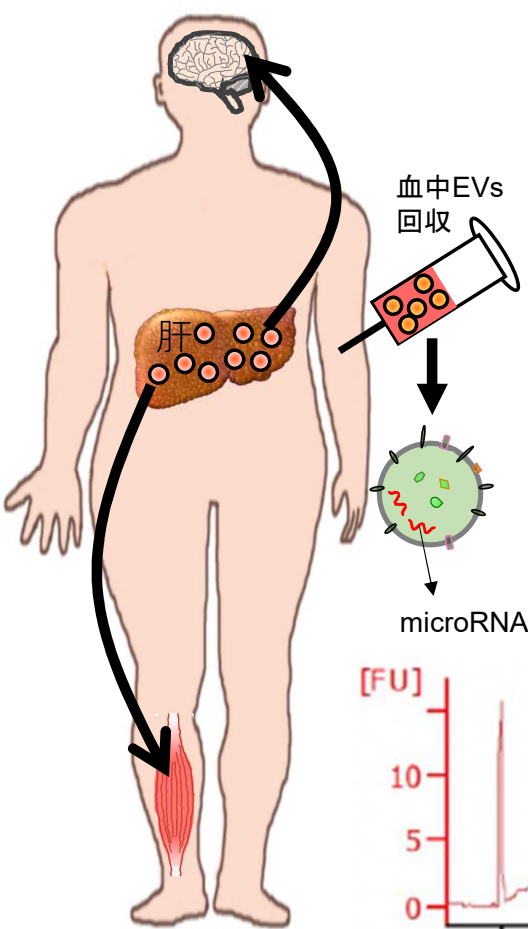


障害肝細胞から放出される細胞外小胞は、合併症併発臓器の標的細胞に病態情報を伝播することで、合併症併発に関与する。よって、細胞外小胞成分をモニターすることで、合併症予測が可能となる。

細胞外小胞は血中を安定に循環し、その成分も安定に保たれている。凍結血清を用いて測定することも可能。

早期に予測し合併症を予防する治療

ヒト慢性肝疾患合併症の細胞外小胞成分

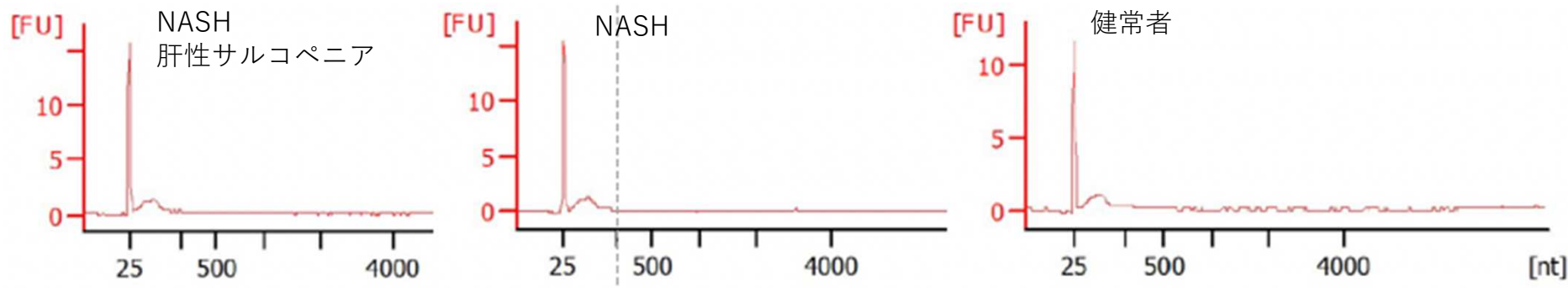


肝性サルコペニア

NASH + 肝性サルコペニア、NASH、健康者（すべて男性）

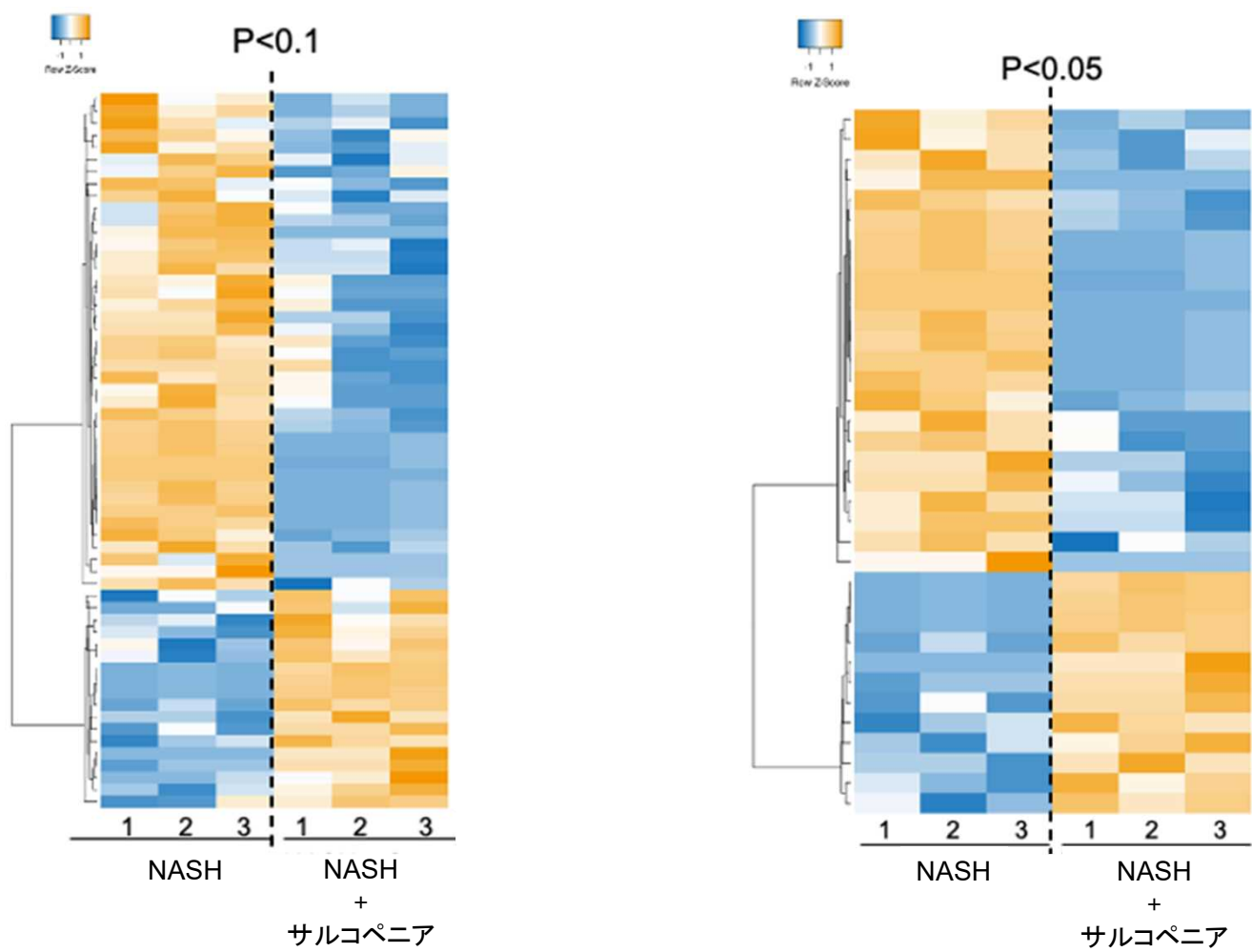
肝性脳症

肝硬変 + 肝性脳症、肝硬変、健康者（すべて男性）

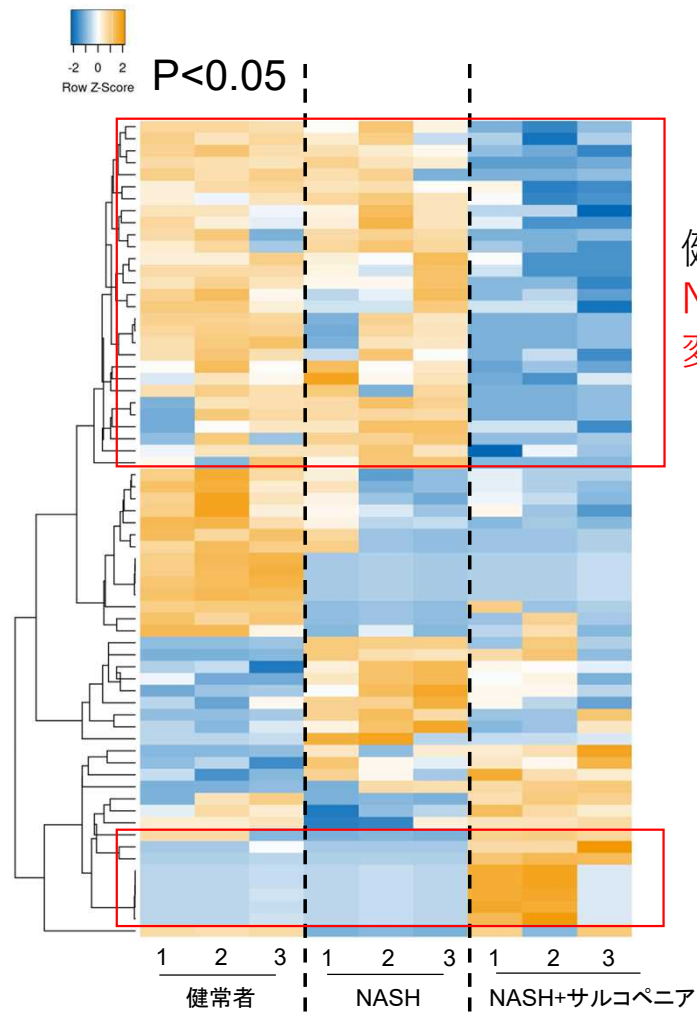
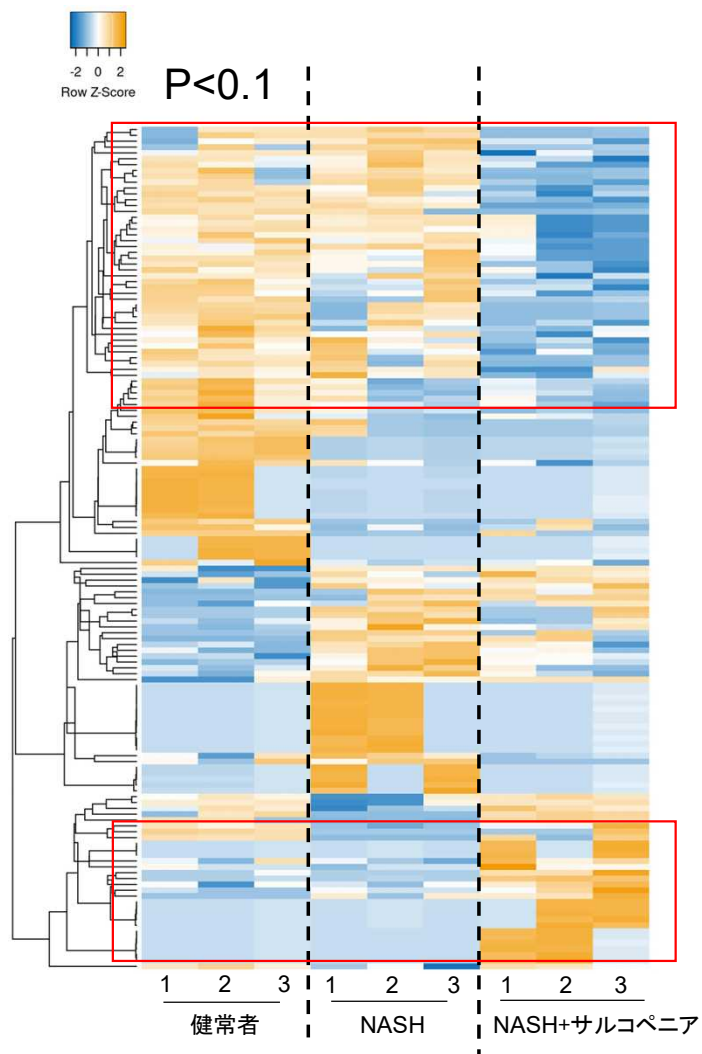


短いRNAを含有している → microRNA arrayで全miRNA検出

肝性サルコペニアの血中細胞外小microRNAの変化

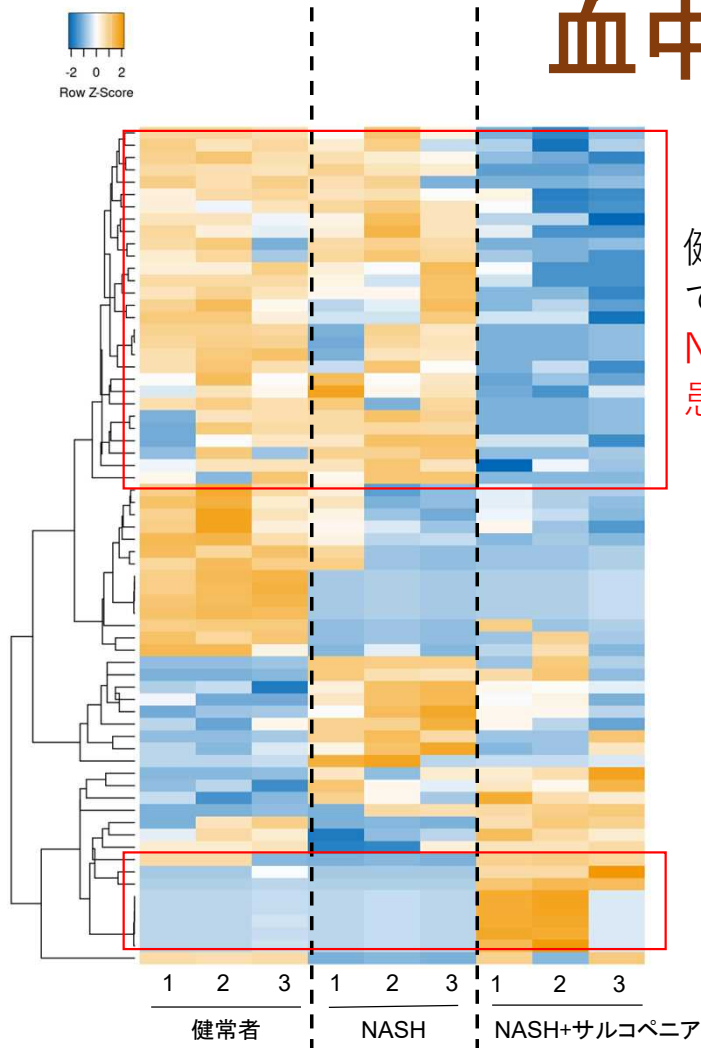


肝性サルコペニアの血中細胞外小胞microRNAの変化



健常者やNASHでは変化せず
NASH+サルコペニアのみで
変化

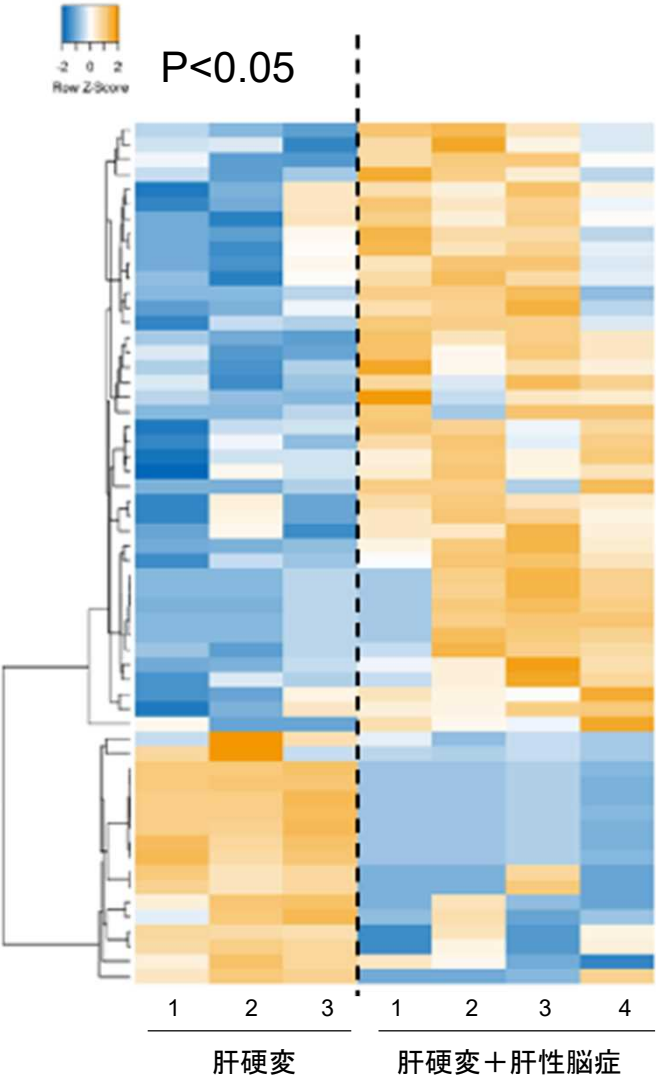
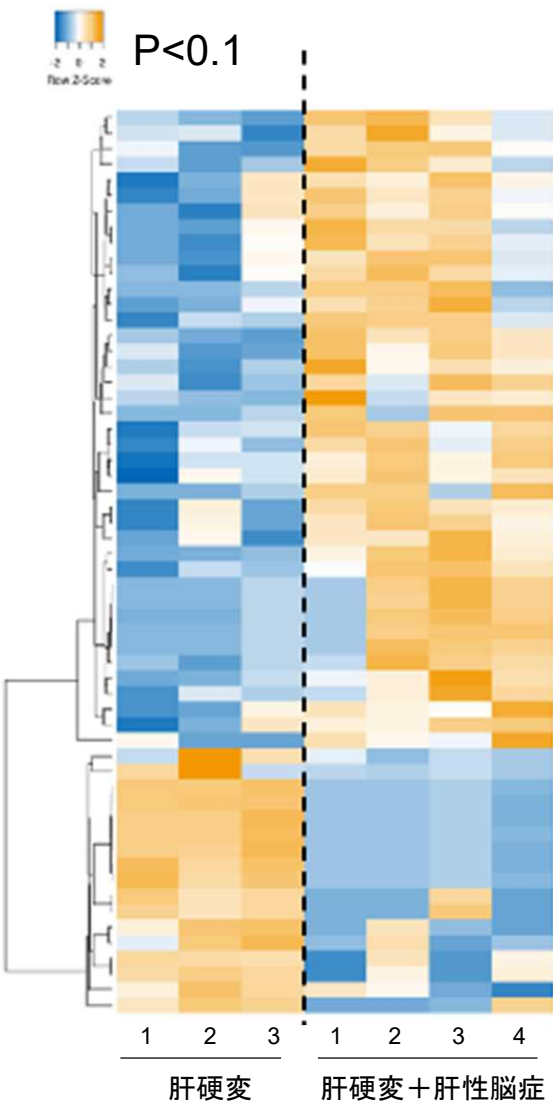
肝性サルコペニアを判定できる 血中の細胞外小胞microRNA成分



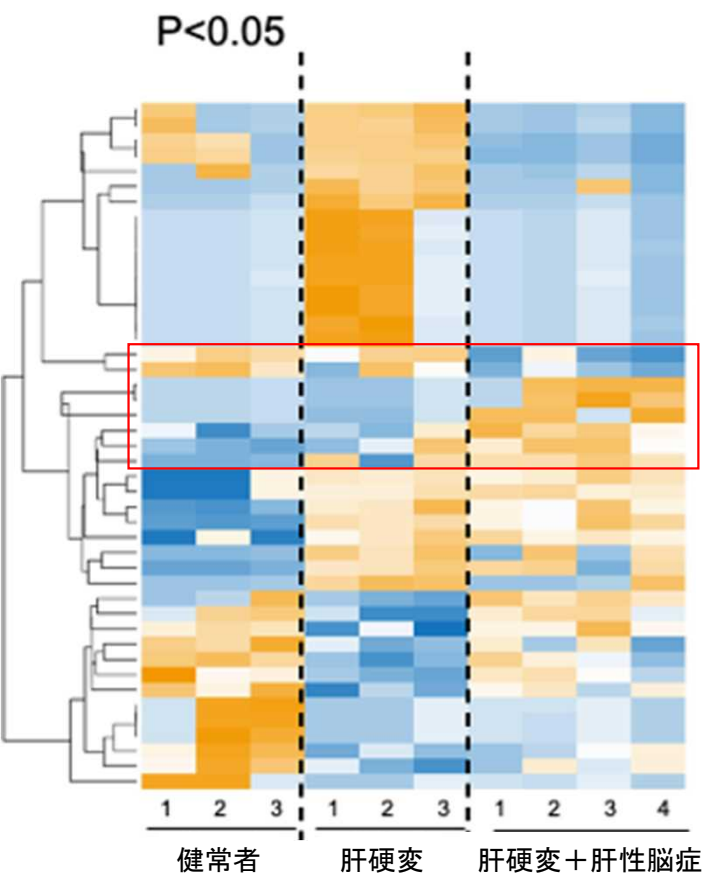
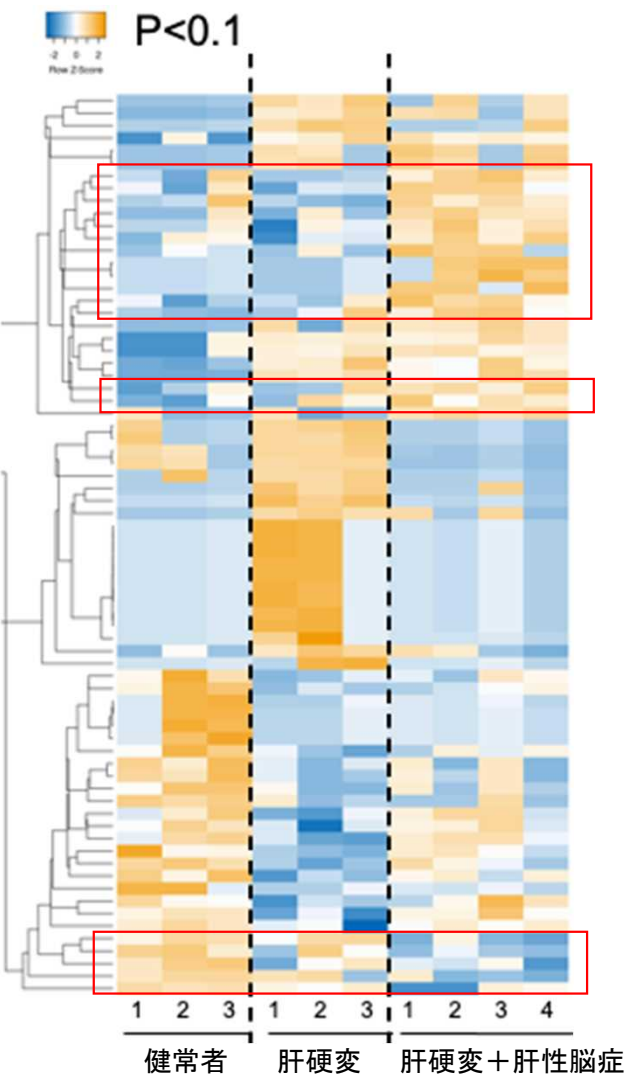
検体数が3-4人という少人数の解析においても、**感度が0.96、特異度が0.98**となる、5-8個のmicroRNAパネルを同定。

検体数を増やすことで感度や特異度が1.00になることが予想される。

肝性脳症の血中細胞外小胞microRNAの変化

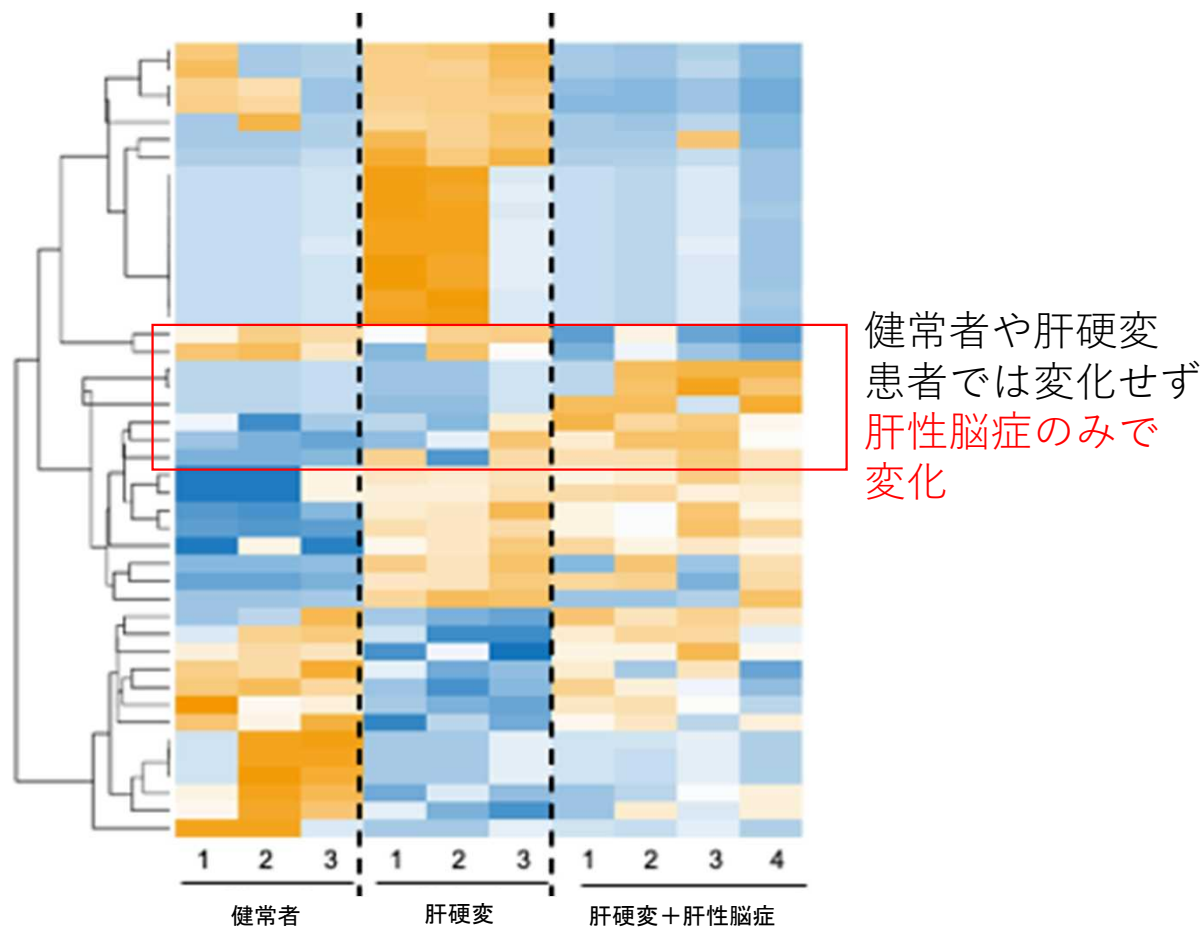


肝性脳症の血中細胞外小胞microRNAの変化



健常者や肝硬変患者では
変化せず
肝性脳症のみで変化

肝性脳症を判定できる 血中の細胞外小胞microRNA成分



検体数が3-4人という少人数の解析においても、**感度が0.84、特異度が0.92**となる、4-9個のmicroRNAパネルを同定。

検体数を増やすことで感度や特異度が1.00になることが予想される。

想定される用途

- 慢性肝疾患の合併症である肝性サルコペニアや肝性脳症の
 - ✓ 予測診断
 - ✓ 病態進行診断
 - ✓ 治療効果判定
- 慢性肝疾患の合併症である肝性サルコペニアや肝性脳症の新規治療法の開発

企業への期待

- 日本の高齢化社会における老人医療・老人介護領域に参画を企図する会社との共同研究を希望。
(血中microRNA解析を導入出来たら尚歓迎)
- 更に、血液診断領域での核酸科学を用いた研究・開発分野の大手企業 or ベンチャー企業に期待。
- 将来的にはOTC診断薬として自宅・自己診断薬への応用も企図したい。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：肝硬変または非アルコール性脂肪性肝炎の合併症を評価するための検出方法
- 出願番号：特願 2021-185392
- 優先権主張出願番号：特願 2022-182515
- 出願人：国立大学法人 三重大学
- 発明者：江口暁子、岩佐元雄

お問い合わせ先

三重大学

みえの未来図共創機構 知的財産マネジメント部門

TEL 059－231－5485

FAX 059－231－9743

e-mail chizai-mip@crc.mie-u.ac.jp