

# 血小板の持つ肝再生促進効果, 肝線維化抑制効果, ならびに抗アポトーシス効果

高橋一広<sup>\*1)</sup>, 村田聡一郎<sup>\*2)</sup>, 大河内信弘<sup>\*1)</sup>

## REVIEW ARTICLE

*Recent studies on effects of platelets on promoting liver regeneration, anti-fibrosis, and anti-apoptosis*

Platelets are the blood constituents which contain three types of granules, i. e., alpha granule, dense granule, and lysosomal granule. Each granule contains various biophysiological substances such as growth factors, cytokines, lipid mediators, etc. Platelets have been conventionally focused as trigger of inflammatory response and injury in the liver. However, in recent years, some studies uncovered that platelets have strong effects on promoting liver regeneration, anti-fibrosis, and anti-apoptosis. This review presents experimental and clinical evidences of platelets in accelerating liver regeneration, anti-fibrosis, and anti-apoptosis and their mechanisms.

Kazuhiro Takahashi<sup>\*1)</sup>, Soichiro Murata<sup>\*2)</sup>, Nobuhiro Ohkohchi<sup>\*1)</sup>

**key words** : platelets, liver regeneration, liver fibrosis, hepatocyte apoptosis

血小板は生体内で循環する最小の細胞で、大きさは2~3 μmであり、無核である。血小板は骨髄の巨核球に由来し、寿命は8~10日である。寿命に到達した血小板は脾臓により血液中から除去される<sup>1)</sup>。血小板はα顆粒、濃染顆粒、リソソーム顆粒の3種類の顆粒を含有し、それぞれの顆粒は成長因子をはじめとしてさまざまな生理活性物質を含有している<sup>1,2)</sup>(図1)。血小板由来成長因子、肝細胞成長因子(HGF)、インスリン様成長因子1(IGF-1)、血管内皮成長因子(VEGF)、セロトニン、トランスフォーミング成長因子-β(TGF-β)、アデノシン3リン酸(ATP)やアデノシン2リン酸などがあげられる<sup>1,2)</sup>。血小板はトロンピンなどによる生理的刺激や物理刺激により活性化すると、これらの生理活性物質を放出し、周辺組織にさまざまな生理的作用を及ぼす<sup>1,2)</sup>。

血小板の主な働きは血管が障害を受けたときの止血作用である<sup>1)</sup>。これは血小板が、障害により露出した血管内皮細胞に膠着、凝集することにより血栓を形成し、障害を受けた血管壁を塞ぐとい

う一次凝集作用である。そのほか、炎症<sup>3)</sup>、免疫<sup>4~7)</sup>、創傷治癒や組織再生作用<sup>8~14)</sup>など多彩な機能を有することが報告されている。近年は美容形成外科、歯科口腔外科および整形外科領域において、組織再生を目的とした自己多血小板血漿の局所療法が臨床応用されるようになり、血小板の再生医療に対する有用性が広く一般にも認知されるようになった<sup>15~17)</sup>。

血小板は動物種によってその形態<sup>18)</sup>、含有する生理活性物質の種類<sup>19)</sup>、生理的作用が異なることが知られている<sup>20,21)</sup>。ヒト血小板はマウスやラットよりもサイズが大きく、寿命が長い。また、含有するα顆粒数も多いことが知られている<sup>18)</sup>。さらに、ヒト血小板はHGFをほとんど含有せず<sup>22)</sup>、他種よりもセロトニン含有量が低いことが報告されている<sup>23)</sup>。また、種によって凝集能の違いが報告されており、abcimab, tirofiban, eptifibatateなど多くのglycoprotein(GP) IIb/IIIa阻害剤は、ヒト、サル、イヌで血小板凝集作用を発揮するが、ラットとマウスでは血小板凝集作用を示さないことが報告されている<sup>21)</sup>。

血小板は虚血再灌流障害<sup>24)</sup>、肝硬変<sup>25)</sup>、胆汁うっ滞<sup>26)</sup>、ウイルス性肝炎<sup>27)</sup>など、肝臓に侵襲が及んだときに、肝臓に集積することが報告されている。

<sup>\*1)</sup>Department of Surgery, Division of Gastroenterological Hepatobiliary Surgery, and Organ Transplantation, University of Tsukuba 筑波大学消化器外科・臓器移植外科

<sup>\*2)</sup>Department of Surgery, Teikyo University Chiba Medical Center 帝京大学ちば総合医療センター外科

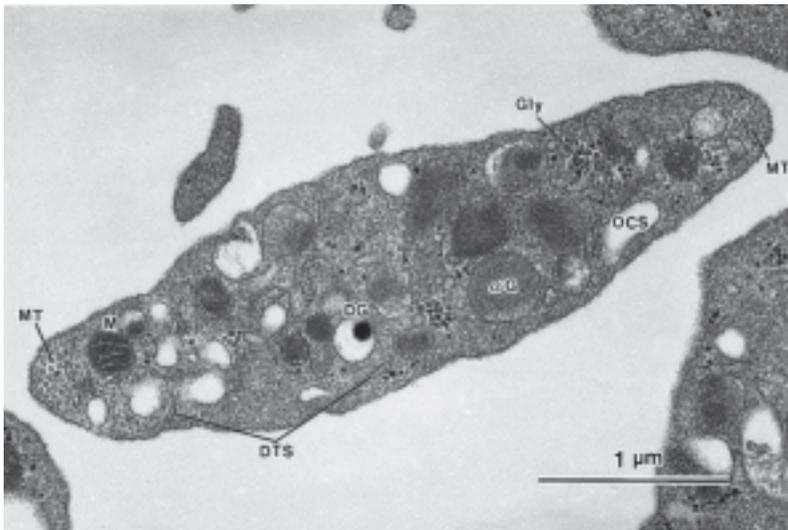


図1  
血小板の構造

MT: 微小管, microtubules. OCS: 開放小管系, open cannicular system. DTS: 暗調小管系, dense tubular system. M: ミトコンドリア, mitochondria.  $\alpha$ G:  $\alpha$  顆粒, alpha-granules. DG: 濃染顆粒, dense granules. Gly: グリコーゲン顆粒, glycogen particles  
この電顕像は、鈴木美紀先生(日本医科大学形態解析共同研究施設)のご厚意によりご提供いただいた。

これら過去の研究では血小板は炎症を惹起、助長するというネガティブな観点での研究が多かったが、2004年に血小板の肝再生促進効果が世界ではじめて報告されて以来<sup>28)</sup>、血小板の肝臓に対するさまざまなポジティブな作用について報告されるようになった<sup>29~31)</sup>。

本稿では、新たに発見された血小板の肝再生促進効果、肝線維化抑制効果、ならびに抗アポトーシス効果、およびその作用機序について概説する。

## 血小板の肝再生促進効果

### 1. 肝再生効果に関与するシグナル伝達系

肝再生は肝細胞、胆管上皮細胞、肝類洞内皮細胞、Kupffer細胞、肝星細胞などの肝臓を構成する複数の細胞の働きにより進行する<sup>32)</sup>。肝細胞は通常は休止状態であるが、肝切除後に1回もしくは2回の細胞分裂を行う<sup>33,34)</sup>。肝細胞の細胞分裂の開始時期は動物種により異なり、ラットでは肝切除後24時間、ヒトやマウスでは肝切除後48時間で開始するといわれている。この過程でHGF、腫瘍壊死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、インターロイキン6(IL-6)、トランスフォーミング成長因子- $\alpha$ (TGF- $\alpha$ )、上皮成長因子(EGF)など成長因子やサイトカインが関与する<sup>35)</sup>。それぞれの成長因子やサイトカインは下流の増殖系シグナル伝達系を活性化させ、最終的にG0期の休止状態の細胞をG1/S期に移行させ、細胞周期の開始となる。その過程にはい

くつかの転写因子が介在し、核内因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)<sup>36)</sup>、アクチベーター蛋白質1(AP-1)<sup>37)</sup>、塩基性ロイシンジッパー型転写因子(CCAAT)/エンハンサー結合蛋白質-1(C/EBP $\beta$ )<sup>38)</sup>、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK-1)<sup>39)</sup>、シグナル伝達兼転写活性化因子(STAT3)<sup>40)</sup>、ホスファチジルイノシトール-3キナーゼ(PI3K)/Aktシグナル伝達系<sup>41)</sup>などが知られている。これらの転写因子やシグナル伝達経路のなかでTNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B、IL-6/STAT3およびPI3K/Akt伝達系が血小板の肝再生促進効果において重要である<sup>42~45)</sup>(図2)。

TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B経路は肝切除後30分で活性化し、4~5時間活性化状態が持続する<sup>46)</sup>。NF- $\kappa$ Bは肝細胞や肝非実質細胞で発現する。NF- $\kappa$ Bはp65とp50のヘテロ重合体であり、細胞質内に存在する。NF- $\kappa$ Bは通常はp65でNF- $\kappa$ B抑制因子(I $\kappa$ B)と結合し、不活性化状態にある<sup>46)</sup>。TNF- $\alpha$ により活性化するとp65からI $\kappa$ Bが外れ、NF- $\kappa$ Bは核内に移動する。その後、NF- $\kappa$ BはサイクリンD1のプロモーターと接合し、その発現を促進する。サイクリンD1は結果として、細胞周期をG0期からG1/S期に移行させる<sup>46)</sup>。

STAT3はNF- $\kappa$ Bより遅れ、肝切除後1~2時間で活性化し、4~6時間活性化状態が持続する<sup>47)</sup>。IL-6は受容体と結合後、チロシンキナーゼを活性化し、gp130、引きつづきSTAT3のリン酸化を行う<sup>47)</sup>。リン酸化したSTAT3は核内に移動してサイクリンD1やp21の発現を増加させ、細

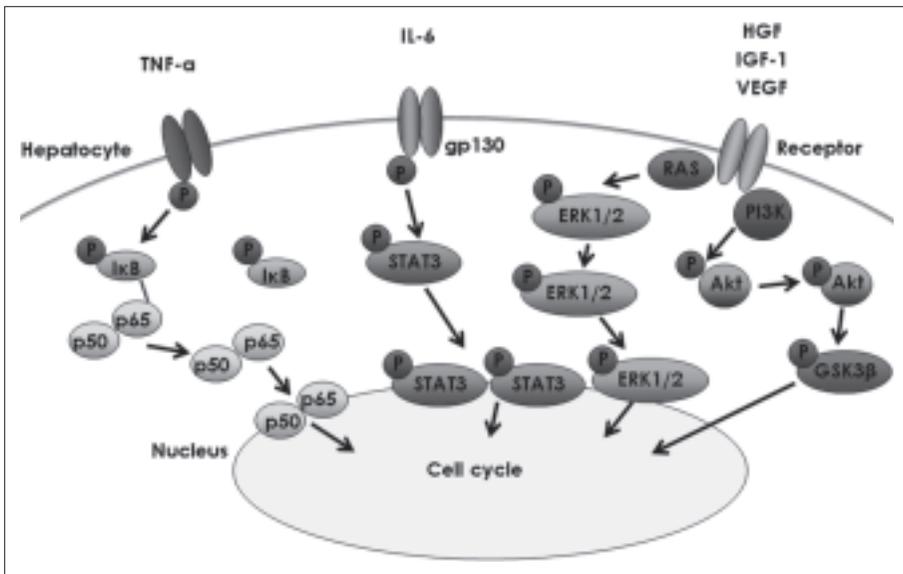


図2 血小板の肝再生促進効果に関するシグナル伝達系

血小板の肝再生促進効果に関連のある増殖系シグナル伝達系として、TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B、IL-6/STAT3 および PI3K/Akt 伝達系が重要である。

(Ohkohchi N, Murata S, Takahashi K. Platelet and liver regeneration. Tissue Regeneration-From Basic Biology to Clinical Application. ed. Davies J, p109-144. INTECH, Rijeka, Croatia, 2012 より許可を得て掲載)

胞周期を G0 期から G1/S 期に移行させる。Haga らは、STAT3 をロックアウトしたマウスでは肝切除後の肝再生が著明に抑制されたことを報告している<sup>48)</sup>。

PI3K/Akt 伝達経路は肝切除直後から活性化される<sup>42)</sup>。この経路はチロシキナーゼ受容体や G 蛋白と結合した受容体を通して活性化が開始し、そのリガンドとして、HGF、IL-6、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\alpha$  などが知られている<sup>49-53)</sup>。c-Met は肝細胞の細胞膜状に存在するチロシキナーゼの受容体の一つであり、HGF と結合する<sup>50)</sup>。HGF/c-Met 経路の活性化により、Akt を細胞膜上に誘導し、Akt のリン酸化が行われる<sup>54)</sup>。グリコーゲン合成酵素キナーゼ  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) は Akt の下流に位置する転写因子であり、Akt のリン酸化により GSK3 $\beta$  のセリン 9 のリン酸化が行われ、 $\beta$  カテニンやサイクリン D1 の発現を促進させる。結果として細胞周期は G0 期から G1/S 期に移行し、細胞分裂が開始する<sup>55)</sup>。

## 2. 血小板の肝再生促進効果

Murata らはトロンボポエチンを腹腔内投与し、

末梢血血小板数を増加させたマウスで 70% 肝切除後の肝再生が促進することを報告し<sup>42)</sup>、また、Myronovych らは同マウスで 90% 肝切除後の生存率が上昇することを報告した<sup>43)</sup>。加えて、Murata ら四塩化炭素で硬変させた肝臓においても血小板増加群で 70% 肝切除後に肝再生が促進したことを報告した<sup>44)</sup>。これら肝再生促進効果がトロンボポエチンによる直接的作用なのかどうかを確認するため、Murata らはトロンボポエチンで末梢血血小板数を増加させたマウスに抗血小板抗体を投与し、血小板数を低下させたところ、著明な肝再生遅延を認め、これら効果がトロンボポエチンによる直接的作用でなく、血小板数の増加によるものであることを確認した<sup>44)</sup>。

Matsuo らは同種ラットより採取した多血小板血漿を門脈輸血することで、70% 肝切除後の肝再生が促進することを報告し、外因性の血小板でも同様な肝再生促進効果を有することを証明した<sup>45)</sup>。さらに、Hisakura らはヒトにより近いモデルとしてブタを用い、トロンボポエチンによる血小板増加群において 70% 肝切除後の肝再生が促進したことを報告した<sup>46)</sup>。Lesurtel らは血小板セ

ロトニンをノックアウトしたマウスでは肝再生が著しく障害したことを報告している<sup>57)</sup>。また、Shimabukuro からもトロンボポエチンで末梢血小板数を増加させたラットでは肝切除後の肝再生が促進したことを報告している<sup>58)</sup>。

臨床研究において、Marubashi らは末梢血小板数の増加と肝移植後のグラフトサイズに正の相関があったと報告している<sup>59)</sup>。Alkozai らは肝切除後の肝機能の改善遅延と低血小板血症が相関していたと報告している<sup>60)</sup>。さらに、Kim らは生体肝移植後のグラフトの再生と血小板輸血の単位数に正の相関があったと報告している<sup>61)</sup>。

これまでに血小板の肝再生促進効果について三つの機序が解明されている。第一に血小板の直接的作用<sup>62)</sup>、第二に肝類洞内皮細胞を介した作用<sup>63)</sup>、第三に Kupffer 細胞を介した作用である<sup>64)</sup>。以下におおのこの機序について述べる。

### 3. 肝再生促進効果の機序——血小板の直接的作用

Murata らは血小板は肝切除直後に切除肝に集積し、肝切除前にくらべ2倍近く増加することを報告した<sup>42)</sup>。この際、集積した血小板が類洞腔から Disse 腔に移動し、肝細胞と直接接触することを電子顕微鏡で確認している<sup>42)</sup>。また、生体顕微鏡下で、血小板は肝切除前には類洞内腔を早い速度で流れていくのに対し、肝切除後は類洞に膠着したり、類洞内をローリングしながらゆっくりとした速度で流れることを確認した<sup>55,64)</sup>。これらの結果から、血小板が肝細胞と直接接触することで、肝再生に必要なシグナルを送っている可能性が示唆された。

そこで、Matsuo らは半透明膜を使用した共培養チャンバーを用いてこの血小板と肝細胞の接触の意義について調べた<sup>62)</sup>。その結果、血小板は肝細胞と直接接触することにより HGF, IGF-1, および VEGF などの成長因子を内部より放出することを確認した。そして、これら成長因子が肝細胞に作用して、肝細胞の DNA 合成と細胞周期を早めることが確認された<sup>62)</sup>。

以上の結果より、血小板の直接的作用とは、肝切除後、血小板は切除肝に集積し、類洞腔から Disse 腔に移動し、肝細胞と直接接触することで、HGF, IGF-1, および VEGF など成長因子を放出

する。これら成長因子が肝細胞に作用して、細胞分裂周期を促進し、肝再生を促進するというメカニズムである(図 3a)。

### 4. 肝再生促進効果の機序——肝類洞内皮細胞を介した作用

肝類洞内皮細胞は肝細胞と類洞腔を分離し、水溶性マクロ分子やナノ物質の交換に寄与している。肝類洞内皮細胞は肝再生早期における最も重要なサイトカインの一つである IL-6 をはじめとし、そのほか、IL-1, 各種インターフェロンを産生し、肝再生、免疫制御、炎症などに関与している<sup>65)</sup>。血小板と肝類洞内皮細胞の関係は虚血再灌流障害で広く研究されてきたが、肝再生と関連した研究は過去になかった。

Kawasaki らは血小板と肝類洞内皮細胞との関係を明らかにするため、半透明膜を使用した共培養チャンバーを用いて検討したところ、血小板は肝類洞内皮細胞と直接的に接触することで、血小板内部よりスフィンゴシン 1 リン酸(S1P)を放出することがわかった<sup>63)</sup>。また、S1P は肝類洞内皮細胞に作用して IL-6 の分泌を高め、最終的に STAT3 経路を介して肝細胞の細胞周期を早めることが明らかとなった<sup>63)</sup>。

S1P は細胞増殖、細胞移動、細胞骨格構築など多彩な機能を有するリン脂質である<sup>66)</sup>。S1P は血小板に大量に含有されており、活性化により内部より放出され、血栓形成、動脈新生、動脈硬化を誘導する<sup>66)</sup>。近年、S1P が肝障害の治癒過程におけるリモデリングに重要な働きをしていることが明らかとなった<sup>67)</sup>。

以上より、肝類洞内皮細胞を介した作用とは、血小板が肝類洞内皮細胞と直接的に接触することで内部より S1P を放出し、肝類洞内皮細胞から IL-6 の分泌を促進させる。IL-6 が肝細胞に作用してその細胞周期を早めることで肝再生を促進するというメカニズムである(図 3b)。

### 5. 肝再生促進効果の機序——Kupffer 細胞を介した作用

Kupffer 細胞は腸管系に由来する細菌、エンドトキシン、デブリスなどを貪食し、肝臓におけるマクロファージとして機能する<sup>68)</sup>。Kupffer 細胞は

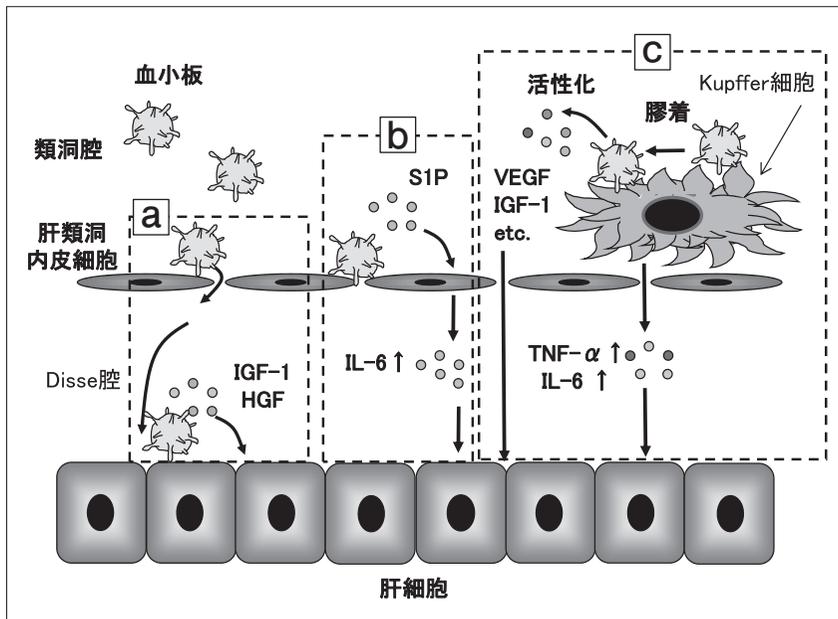


図3 血小板の肝再生促進作用

- a : 血小板の直接的な作用。血小板が肝類洞内腔からDisse腔に移動することで、肝細胞と直接接触し、HGF、IGF-1 および VEGF を放出する。これらサイトカインが肝細胞に作用して肝再生を促進する。
- b : 肝類洞内皮細胞を介した作用。血小板が肝類洞内で肝類洞内皮細胞と接触し、S1P を放出する。S1P が肝類洞内皮細胞に作用して IL-6 放出を促進し、肝細胞に作用して肝再生を促進する。
- c : Kupffer 細胞を介した作用。活性化 Kupffer 細胞に膠着することで血小板は切除肝に集積・活性化し、VEGF や IGF-1 をはじめとする成長因子を放出し、肝細胞に作用して直接的に肝再生を促進する。また、血小板は Kupffer 細胞から TNF- $\alpha$  と IL-6 のサイトカインの分泌を促進させることにより間接的に肝再生を促進する。

肝再生早期において重要なサイトカインである TNF- $\alpha$  と IL-6 を最も産生する細胞であり、クロドロネートにより Kupffer 細胞を除去したマウスでは、TNF- $\alpha$  と IL-6 の産生が著減することが報告されている<sup>69,70</sup>。血小板と Kupffer 細胞との関係は肝類洞内皮細胞と同様、虚血再灌流障害モデルでよく研究されてきた。Kupffer 細胞を除去したマウスに虚血再灌流を负荷した場合に、血小板の類洞との膠着の減少と肝障害の軽減が報告されている<sup>71</sup>。また、虚血再灌流早期において、血小板と Kupffer 細胞の膠着が肝細胞のアポトーシスに寄与していることが報告されている<sup>72</sup>。一方で、肝類洞内皮細胞と同様に血小板が Kupffer 細胞と関連して、肝再生に寄与したとする報告は過去になかった。

Takahashi らは肝切除後、活性化した Kupffer 細胞の存在下に血小板が切除肝に集積し、肝局所で

血小板の活性化が起きることを確認した<sup>64</sup>。また、血小板投与により肝組織における TNF- $\alpha$  と IL-6 の濃度の上昇を高めることから、血小板が Kupffer 細胞の機能を亢進させることが考えられた。さらに電子顕微鏡所見から、血小板が Kupffer 細胞表面と膠着し、この膠着が切除肝における血小板の集積、活性化、および Kupffer 細胞の機能亢進に寄与している可能性が推測された<sup>64</sup>。

以上から、Kupffer 細胞を介した作用とは、血小板が肝類洞内で Kupffer 細胞と膠着することで血小板が切除肝に集積・活性化し、含有する成長因子を放出し、肝細胞に直接作用するという直接的作用と、血小板が TNF- $\alpha$  や IL-6 など Kupffer 細胞由来サイトカインの分泌を高めることで、肝細胞に間接的に作用するという間接的作用により、肝再生を促進させるというメカニズムである(図 3c)。

## 血小板の肝線維化抑制効果

### 1. 血小板の肝線維化抑制効果

近年、血小板の抗肝線維化効果についての報告が散見されるようになった。Watanabe らはトロンボポエチン投与により末梢血血小板を増加させたマウスで肝組織内の TGF- $\beta$ 、 $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA)、およびヒドロキシプロリンの発現が低下し、肝線維化抑制効果を示したことを報告した<sup>73)</sup>。また、Kodama らは低血小板血症を呈するトランスジェニックマウスに線維化誘導を行うと、正常血小板数のワイルドタイプマウスよりも肝線維化が強かったことを報告した<sup>74)</sup>。さらに、血小板は肝星細胞と接触すると活性化し、内部より HGF を放出し、HGF/c-Met シグナル経路を介して、I 型コラーゲンの発現を抑制したと報告している<sup>74)</sup>。

臨床において、Maruyama らは Child-Pugh score A と B の慢性肝疾患患者に対する血小板輸血の効果についての prospective study を行い、週 1 回合計 10 回の血小板輸血で血清コリンエステラーゼ値および血清アルブミン値の上昇およびヒアルロン酸値の低下を認め、血小板輸血が肝機能改善および肝線維化の軽減に寄与したことを確認した(現在投稿中)。

これまでに血小板の肝線維化抑制効果について二つの機序が解明されている。第一に血小板の直接的な作用<sup>75)</sup>、第二に Kupffer 細胞を介した作用である。以下におおのこの機序について述べる。

### 2. 肝線維化抑制効果の機序——血小板の直接的な作用

肝星細胞は肝線維化の過程において、I 型コラーゲンをはじめとする細胞外器質蛋白質の産生、細胞質内脂質の消失、 $\alpha$ -SMA の発現などの重要な働きを担っている<sup>76)</sup>。cyclic adenosine 5'-monophosphate (cAMP) は肝星細胞の増殖に対して抑制的に作用し、細胞内 cAMP 濃度を増加させる cyclic nucleotide phosphodiesterase 阻害剤により肝星細胞の活性化が抑制される<sup>77)</sup>。

Ikeda らは、血小板の肝線維化抑制効果を *in vitro* で調べ、その結果、血小板は肝星細胞の増殖および  $\alpha$ -SMA の発現に抑制的に作用し、さらに

ACTA2 や COL1A1 など線維関連遺伝子の発現を抑制し、matrix metalloproteinase (MMP)-1 や tissue inhibitor of metalloproteinase-1 など器質溶解プロテアーゼの発現を亢進させたことを報告した<sup>75)</sup>。また、血小板内は大量の ATP を含有し、肝星細胞はその ATP をアデノシンまで分解することを確認した。さらに、血小板およびアデノシン投与により肝星細胞内 cAMP 濃度が上昇することを確認した<sup>75)</sup>。

以上から、血小板の直接的な作用とは、血小板に含有される ATP が肝星細胞によりアデノシンまで分解し、肝星細胞内でそのアデノシンが cAMP を誘導し、線維性蛋白質の発現を抑制するというメカニズムである<sup>75)</sup>(図 4a)。

### 3. 肝線維化抑制効果の機序——Kupffer 細胞を介した作用

肝臓において HGF は主に Kupffer 細胞から分泌され、HGF/c-Met シグナル経路を介して肝細胞分裂促進作用や抗アポトーシス作用など多彩な作用を呈する<sup>78)</sup>。TGF- $\beta$  は肝星細胞および Kupffer 細胞から産生され、肝星細胞を活性化させることにより I 型コラーゲンの産生を亢進させ、肝線維化を促進させる<sup>79)</sup>。HGF は TGF- $\beta$  の発現を低下させることで肝線維化を抑制し、また同時に肝線維性器質を溶解する MMP を誘導する<sup>80)</sup>。

筑波大学消化器外科・臓器移植外科では、HGF をほとんど含有しないヒト血小板輸血により、四塩化炭素投与により線維化を誘導したマウスの肝組織においてマウス HGF 濃度が高まることを明らかにした。また、これに対応してマウス TGF- $\beta$  濃度の低下と  $\alpha$ -SMA およびヒドロキシプロリンの発現の低下を認め、同時に MMP-9 の増加も認めた。さらに、肝線維化を促進する一因となる肝細胞のアポトーシスの軽減も認められた(未発表データ)。

以上から、血小板の Kupffer 細胞を介した機序とは、血小板が Kupffer 細胞の HGF 分泌能を亢進させ、TGF- $\beta$  濃度の発現を低下させることにより、肝星細胞の活性化を抑制し、また同時に肝細胞のアポトーシスを抑制することで肝線維化抑制作用を示すというメカニズムである(図 4b)。

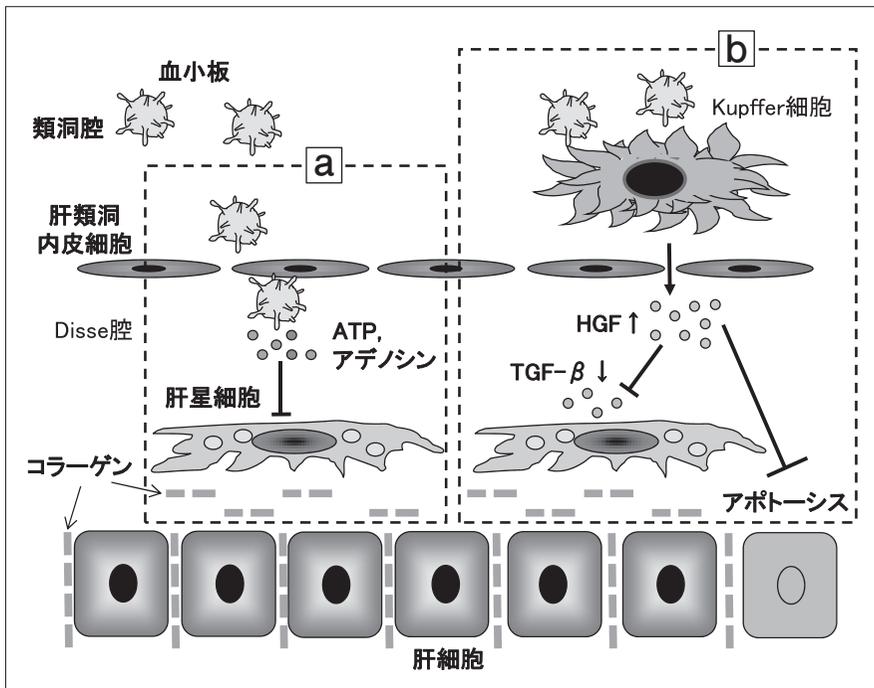


図4 血小板の肝線維化抑制作用

- a : 血小板の直接的な作用. 血小板に含有される ATP が肝星細胞によりアデノシンまで分解し、そのアデノシンが肝星細胞内で cAMP を誘導し、I 型コラーゲンなど線維性蛋白質の産生を抑制する。
- b : Kupffer 細胞を介した作用. 血小板は Kupffer 細胞の HGF 分泌能を亢進させ、TGF- $\beta$  濃度の発現を低下させることにより、肝星細胞の活性化を抑制し、また同時に肝細胞のアポトーシスを抑制することにより肝線維化抑制作用を示す。

## 血小板の抗アポトーシス効果

Fas リガンドは、caspase 3 の発現と活性化を通して肝細胞のアポトーシスを誘導し、重症肝炎発症の重要なトリガーとなる<sup>81)</sup>。Bcl-xL はアポトーシスを阻害する Bcl-2 ファミリーに属する蛋白質であり<sup>82)</sup>、Akt もまた同様にアポトーシスを抑制し、細胞の生存に関与する蛋白質である<sup>83)</sup>。

Hisakura らは Jo-2 抗体を用いて Fas リガンドを介した劇症肝炎モデルを作製したところ、トロンボポエチンで血小板数を増加させたマウスでは正常血小板数のマウスよりも ALT 値が低値であり、また肝細胞のアポトーシスが抑制され、caspase 3 の発現も低値であったことを報告した<sup>84)</sup>。さらに、血小板数正常群で、肝類洞内皮細胞の裏打ち構造が乱れ、Disse 腔の開大を認めたのに対し、血小板数増加群では類洞の形態が保持されていたことを報告し、血小板の重症肝炎軽減効果を

確認した<sup>84)</sup>。また、アポトーシスを誘導するスタウロスポリンを用いた *in vitro* の実験において、血小板投与により肝細胞に Bcl-xL および Akt が誘導されるのを確認した<sup>84)</sup>。

以上の結果より、血小板は Bcl-xL および Akt などアポトーシス阻害蛋白質を誘導し、caspase 3 の発現を抑制することで抗アポトーシス効果を発揮し、同時に重症肝炎軽減効果も示すことを明らかとした。

## おわりに

本稿では血小板の持つ機能として、肝線維化促進作用、抗線維化効果、ならびに抗アポトーシス効果の最新の知見について概説した。血小板はさまざまな生理活性物質を含有する可能性に満ちた生体内最小の細胞であり、近年、さまざまな分野において再生治療の一つとして着目されている。

トロンボポエチン投与や血小板輸血などの血小板治療が、大量肝切除残肝や small for size graft に対する肝再生促進療法として、また肝硬変や劇症肝炎など難治性肝疾患に対する新たな治療として、将来、臨床応用されるようになることを期待している。

## 文 献

- Holmsen H. Physiological functions of platelets. *Ann Med* 21 : 23-35, 1988
- 鈴木英紀. 【血小板 核のない“細胞”】血小板の微細構造. *細胞* 43 : 51-55, 2011
- McNicol A, Israels SJ. Beyond hemostasis : the role of platelets in inflammation, malignancy and infection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 8 : 99-117, 2008
- Elzey BD, Sprague DL, Ratliff TL. The emerging role of platelets in adaptive immunity. *Cell Immunol* 238 : 1-9, 2005
- Sowa JM, Crist SA, Ratliff TL et al. Platelet influence on T- and B-cell responses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 57 : 235-241, 2009
- Klinger MH, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res* 22 : 913-922, 2002
- Sprague DL, Elzey BD, Crist SA et al. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity : unique delivery of CD154 signal by platelet-derived membrane vesicles. *Blood* 111 : 5028-5036, 2008
- Yamaguchi R, Terashima H, Yoneyama S, Tadano S, Ohkohchi N. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats : PRP concentration is a key factor. *J Surg Res* 173 : 258-266, 2012
- Radice F, Yáñez R, Gutiérrez V et al. Comparison of magnetic resonance imaging findings in anterior cruciate ligament grafts with and without autologous platelet-derived growth factors. *Arthroscopy* 26 : 50-57, 2010
- Dugrillon A, Eichler H, Kern S et al. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31 : 615-619, 2002
- Hartmann EK, Heintel T, Morrison RH et al. Influence of platelet-rich plasma on the anterior fusion in spinal injuries : a qualitative and quantitative analysis using computer tomography. *Arch Orthop Trauma Surg* 130 : 909-914, 2010
- de Vos RJ, Weir A, van Schie HT et al. Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy : a randomized controlled trial. *JAMA* 303 : 144-149, 2010
- Rodeo SA, Delos D, Weber A et al. What's new in orthopaedic research. *J Bone Joint Surg Am* 92 : 2491-2501, 2010
- Nocito A, Georgiev P, Dahm F et al. Platelets and platelet-derived serotonin promote tissue repair after normothermic hepatic ischemia in mice. *Hepatology* 45 : 369-376, 2007
- 緒方寿夫, 矢澤真樹, 宮本純平・他. 【形成外科領域の臨床再生医学 update】多血小板血漿の顎裂骨移植への応用. *PEPARS* 50 : 74-81, 2011
- 川添 剛, 金 学嬉. 【注入剤による治療 実践マニュアル】陥凹の治療 多血小板注入について. *Dermatol* 168 : 29-35, 2010
- 影山康德. 整形外科領域における多血小板血漿療法の現況. *浜松医科大学保健医療学部紀要* 3 : 7-15, 2012
- Schmitt A, Guichard J, Massé JM et al. Of mice and men : comparison of the ultrastructure of megakaryocytes and platelets. *Exp Hematol* 29 : 1295-1302, 2001
- Meyers KM, Holmsen H, Seachord CL. Comparative study of platelet dense granule constituents. *Am J Physiol* 243 : R454-R461, 1982
- Sato M, Harasaki H. Evaluation of platelets and coagulation function in different animal species using the xylum clot signature analyzer. *ASAIO J* 48 : 360-364, 2002
- 鈴木宏治. 小動物の血小板の形態と機能. 1. 動物種による形態と機能の比較. 血栓症・動脈硬化モデル動物作製法. 鈴木宏治・編, p25-37, 金芳堂, 京都, 2007
- Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature* 342 : 440-443, 1989
- Meyers KM, Holmsen H, Seachord CL. Comparative study of platelet dense granule constituents. *Am J Physiol* 243 : R454-461, 1982
- Nakano Y, Kondo T, Matsuo R et al. Platelet dynamics in the early phase of postischemic liver *in vivo*. *J Surg Res* 149 : 192-198, 2008
- Zaldivar MM, Pauels K, von Hundelshausen P et al. CXC chemokine ligand 4 (Cxcl4) is a platelet-derived mediator of experimental liver fibrosis. *Hepatology* 51 : 1345-1353, 2010
- Laschke MW, Dold S, Menger MD et al. Platelet-dependent accumulation of leukocytes in sinusoids mediates hepatocellular damage in bile duct ligation-induced cholestasis. *Br J Pharmacol* 153 : 148-156, 2008
- Lang PA, Contalado C, Gergiev P et al. Aggravation of viral hepatitis by platelet-derived serotonin. *Nat Med* 14 : 756-761, 2008
- Murata S, Ohkohchi N, Abe T et al. Platelets promote G1-S progression of liver regeneration after hepatectomy. *XXXIX ESSR E512C0241* : 107-112, 2004
- Pereboom IT, Lisman T, Porte RJ. Platelets in liver transplantation : friend or foe? *Liver Transpl* 14 : 923-931, 2008
- Ohkohchi N, Murata S, Takahashi K. Platelet and liver regeneration. *Tissue Regeneration*. ed. Davies J, p109-144, INTEC, Rijeka, 2012
- Takahashi K, Murata S, Ohkohchi N. Novel therapy for liver regeneration by the platelet increment. *Surg Today* in press
- Malik R, Selden C, Hodgson H. The role of non-parenchymal cells in liver growth. *Semin Cell Dev Biol* 13 : 425-431, 2002
- Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 276 : 60-66, 1997
- Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 32 (1 Suppl) : 19-31, 2000
- Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy : critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* 176 : 2-13, 2010. doi : 10.2353/ajpath.2010.090675. Epub 2009 Dec 17
- Cressman DE, Greenbaum LE, Haber BA et al. Rapid activation of post-hepatectomy factor/nuclear factor kappa B in hepatocytes, a primary response in the regenerating liver. *J Biol Chem* 269 : 30429-30435, 1994
- Stepniak E, Ricci R, Eferl R et al. c-Jun/AP-1 controls

- liver regeneration by repressing p53/p21 and p38 MAPK activity. *Genes Dev* 20 : 2306-2314, 2006
- 38) Wang H, Peiris TH, Mowery A et al. CCAAT/enhancer binding protein-beta is a transcriptional regulator of peroxisome-proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha in the regenerating liver. *Mol Endocrinol* 22 : 1596-1605, 2008
  - 39) Borowiak M, Garratt AN, Wüstefeld T et al. Met provides essential signals for liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 101 : 10608-10613, 2004
  - 40) Cressman DE, Diamond RH, Taub R. Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration. *Hepatology* 21 : 1443-1449, 1995
  - 41) Jackson LN, Larson SD, Silva SR et al. PI3K/Akt activation is critical for early hepatic regeneration after partial hepatectomy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 294 : G1401-G1410, 2008
  - 42) Murata S, Ohkohchi N, Matsuo R et al. Platelets promote liver regeneration in early period after hepatectomy in mice. *World J Surg* 31 : 808-816, 2007
  - 43) Myronovych A, Murata S, Chiba M et al. Role of platelets on liver regeneration after 90% hepatectomy in mice. *J Hepatol* 49 : 363-372, 2008
  - 44) Murata S, Hashimoto I, Nakano Y et al. Single administration of thrombopoietin prevents progression of liver fibrosis and promotes liver regeneration after partial hepatectomy in cirrhotic rats. *Ann Surg* 248 : 821-828, 2008
  - 45) Matsuo R, Nakano Y, Ohkohchi N. Platelet administration via the portal vein promotes liver regeneration in rats after 70% hepatectomy. *Ann Surg* 253 : 759-763, 2011
  - 46) Solt LA, May MJ. The IkappaB kinase complex : master regulator of NF-kappaB signaling. *Immunol Res* 42 : 3-18, 2008
  - 47) Terui K, Ozaki M. The role of STAT3 in liver regeneration. *Drugs Today (Barc)* 41 : 461-469, 2005
  - 48) Haga S, Ogawa W, Inoue H et al. Compensatory recovery of liver mass by Akt-mediated hepatocellular hypertrophy in liver-specific STAT3-deficient mice. *J Hepatol* 43 : 799-807, 2005
  - 49) Osawa Y, Nagaki M, Banno Y et al. Tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 production via NF-kappaB and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathways inhibits cell apoptosis in human hepatocytes. *Infect Immun* 70 : 6294-6301, 2002
  - 50) Okano J, Shiota G, Matsumoto K et al. Hepatocyte growth factor exerts a proliferative effect on oval cells through the PI3K/AKT signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 309 : 298-304, 2003
  - 51) Tulasne D, Foveau B. The shadow of death on the MET tyrosine kinase receptor. *Cell Death Differ* 15 : 427-434, 2008
  - 52) Kato M, Putta S, Wang M et al. TGF-beta activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN. *Nat Cell Biol* 11 : 881-889, 2009
  - 53) Nechemia-Arbely Y, Shriki A, Denz U et al. Early hepatocyte DNA synthetic response posthepatectomy is modulated by IL-6 trans-signaling and PI3K/AKT activation. *J Hepatol* 54 : 922-999, 2011
  - 54) Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J et al. PI3K/Akt signaling pathway and cancer. *Cancer Treat Rev* 30 : 193-204, 2004
  - 55) Gotoh J, Obata M, Yoshie M et al. Cyclin D1 over-expression correlates with beta-catenin activation, but not with H-ras mutations, and phosphorylation of Akt, GSK3beta and ERK1/2 in mouse hepatic carcinogenesis. *Carcinogenesis* 24 : 435-442, 2003
  - 56) Hisakura K, Murata S, Fukunaga K et al. Platelets prevent acute liver damage after extended hepatectomy in pigs. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 17 : 855-864, 2010
  - 57) Lesurtel M, Graf R, Aleil B et al. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science* 312 : 104-107, 2006
  - 58) Shimabukuro R, Kawanaka H, Tomikawa M et al. Effect of thrombopoietin on platelet counts and liver regeneration after partial hepatectomy in a rat model. *Surg Today* 39 : 1054-1059, 2009
  - 59) Marubashi S, Dono K, Miyamoto A et al. Impact of graft size on postoperative thrombocytopenia in living donor liver transplant. *Arch Surg* 142 : 1054-1058, 2007
  - 60) Alkozai EM, Nijsten MW, Jong K et al. Immediate prospective low platelet count is associated with delayed liver function recovery after partial liver resection. *Ann Surg* 251 : 300-306, 2010
  - 61) Kim J, Yi NJ, Shin WY et al. Platelet transfusion can be related to liver regeneration after living donor liver transplantation. *World J Surg* 34 : 1052-1058, 2010
  - 62) Matsuo R, Ohkohchi N, Murata S et al. Platelets strongly induce hepatocyte proliferation with IGF-1 and HGF *in vitro*. *J Surg Res* 145 : 279-286, 2008
  - 63) Kawasaki T, Murata S, Takahashi K et al. Activation of human liver endothelial cell by human platelets induces hepatocyte proliferation. *J Hepatol* 53 : 648-654, 2010
  - 64) Takahashi K, Kozuma, Y, Suzuki H et al. Human platelets promote liver regeneration with Kupffer cells in SCID mice. *J Surg Res* 180 : 62-72, 2013. doi : 10.1016/j.jss.2012.11.030. Epub 2012 Dec 5
  - 65) Braet F, Wisse E. Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae : a review. *Comp Hepatol* 23 : 1, 2002. doi : 10.1186/1476-5926-1-1
  - 66) Yatomi Y, Ohmori T, Rile G et al. Sphingosine 1-phosphate as a major bioactive lysophospholipid that is released from platelets and interacts with endothelial cells. *Blood* 96 : 3431-3438, 2000
  - 67) Serriere-Lanneau V, Teixeira-Clerc F, Li L et al. The sphingosine 1-phosphate receptor SIP2 triggers hepatic wound healing. *FASEB J* 21 : 2005-2013, 2007
  - 68) Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int* 26 : 1175-1186, 2006
  - 69) Yamada Y, Kirillova I, Peschon JJ et al. Initiation of liver growth by tumor necrosis factor : deficient liver regeneration in mice lacking type I tumor necrosis factor receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 1441-1446, 1997
  - 70) Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science* 274 : 1379-1383, 1996
  - 71) Nakamura M, Shibasaki M, Nitta Y et al. Translocation of platelets into Disse spaces and their entry into hepatocytes in response to lipopolysaccharides, interleukin-1 and tumour necrosis factor : the role of Kupffer cells. *J Hepatol* 28 : 991-999, 1998
  - 72) Tamura T, Kondo T, Pak S et al. Interaction between Kupffer cells and platelets in the early period of hepatic ischemia-reperfusion injury-an *in vivo* study. *J Surg Res* 178 : 443-451, 2012
  - 73) Watanabe M, Murata S, Hashimoto I et al. Platelets contribute to the reduction of liver fibrosis in mice. *J Gastroenterol Hepatol* 24 : 78-89, 2009

- 74) Kodama T, Takehara T, Hikita H et al. Thrombocytopenia exacerbates cholestasis-induced liver fibrosis in mice. *Gastroenterol* 138 : 2487-2498, 2010
- 75) Ikeda N, Murata S, Maruyama T et al. Platelet-derived adenosine 5'-triphosphate suppresses activation of human hepatic stellate cell : *In vitro* study. *Hepato Res* 42 : 91-102, 2012
- 76) Sancho-Bru P, Bataller R, Gasull X et al. Genomic and functional characterization of stellate cells isolated from human cirrhotic livers. *J Hepatol* 43 : 272-282, 2005
- 77) Shimizu E, Kobayashi Y, Oki Y et al. OPC-13013, a cyclic nucleotide phosphodiesterase type III, inhibitor, inhibits cell proliferation and transdifferentiation of cultured rat hepatic stellate cells. *Life Sci* 64 : 2081-2088, 1999
- 78) Knittel T, Mehde M, Kobold D et al. Expression patterns of matrix metalloproteinases and their inhibitors in parenchymal and non-parenchymal cells of rat liver : regulation by TNF-alpha and TGF-beta1. *J Hepatol* 30 : 48-60, 1999
- 79) Baer HU, Friess H, Abou-Shady M et al. Transforming growth factor betas and their receptors in human liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 10 : 1031-1039, 1998
- 80) Kanemura H, Iimuro Y, Takeuchi M et al. Hepatocyte growth factor gene transfer with naked plasmid DNA ameliorates dimethylnirosamine-induced liver fibrosis in rats. *Hepato Res* 38 : 930-939, 2008
- 81) Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 88 : 355-365, 1997
- 82) Medema JP, Scaffidi C, Krammer PH et al. Bcl-xL acts downstream of caspase-8 activation by the CD95 death-inducing signaling complex. *J Biol Chem* 273 : 3388-3393, 1998
- 83) Datta SR, Dudek H, Tao X et al. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 91 : 231-241, 1997
- 84) Hisakura K, Murata S, Takahashi K et al. Platelets prevent acute hepatitis induced by anti-Fas antibody. *J Gastroenterol Hepatol* 26 : 348-355, 2011

別刷請求先：高橋一広  
〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1  
筑波大学消化器外科・臓器移植外科  
E-mail : kazu1123@hh.ij4u.or.jp