

2022年度 独創的研究助成費 実績報告書

2023年 3月 31日

報告者	学科名	栄養学科	職名	助教	氏名	戸田圭祐
研究課題	非アルコール性脂肪性肝炎の進展に伴う血小板型12-リポキシゲナーゼの発現調節機構					
研究組織	氏名		所属・職		専門分野	役割分担
	代表	戸田 圭祐	栄養学科・助教		脂質生化学	実験全般
	分担者	高橋 吉孝	栄養学科・教授		病態生化学	研究総括
研究実績の概要	<p>非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は、著しいアルコールの摂取がないにも関わらずアルコール性肝炎類似の肝組織所見を呈する疾患である。本疾患はメタボリック症候群や糖尿病を基盤とし、進行すると肝臓における炎症から肝細胞が傷害され、肝臓の線維化を引き起こし、高率に肝硬変や肝臓癌に至る。NASHの発症・進展のメカニズムについては国内外において多くの研究がなされているが、未だに不明な点が多い。これまで本研究室において、NASH進展における活性化肝星細胞（筋線維芽細胞）への分化に伴って、血小板型12-リポキシゲナーゼ遺伝子の発現レベルが上昇すること、ヒト肝星細胞株 TWNT-1における血小板12-リポキシゲナーゼの過剰発現によりコラーゲン遺伝子(<i>COL1A1</i>, <i>COL1A2</i>)の発現レベルが低下することを明らかにした。サイトカインの1つである腫瘍壊死因子(TNF)αで24時間処理したラットの肝星細胞から抽出したRNAのノザンプロット分析で、<i>Col1a1</i>の発現が低下したとの先行研究があるが、実際、ヒト肝星細胞株 TWNT-1をTNFαで24時間処理し、RNAを回収しリアルタイムPCRで確認すると、<i>COL1A1</i>の発現は低下した。そこで、サイトカインにより肝星細胞が活性化される過程で血小板型12-リポキシゲナーゼが誘導される仕組みを解明すること目的として実施した。</p> <p>本年度は、肝星細胞に受容体があり、NASHで発現レベルが上昇することが報告されているサイトカイン5種(TNFα、トランスフォーミング増殖因子β(TGFβ)、単球走化性促進因子(MCP-1)、血小板由来成長因子(PDGF)、結合組織成長因子(CTGF))を添加し、まず、これらにより血小板型12-リポキシゲナーゼの発現が上昇するかどうかを調べた。本遺伝子の転写調節領域(1288bp)の下流にガウシアルシフェラーゼ(GLuc)遺伝子をつないだ発現プラスミドをTWNT-1に導入し、6時間培養後に培地を交換し、さらに24時間培養後に先ほどの5つのサイトカインをそれぞれ添加し、さらに24時間培養後の培地に分泌されたGLuc活性を測定し、分泌型アルカリホスファターゼの活性値で補正した。その結果、TNFαとMCP-1について濃度依存的にGLuc活性が上昇した。一方、プラスミド未導入のTWNT-1にTNFαとMCP-1を添加し、24時間後にRNAを回収してリアルタイムPCRより発現レベルを測定すると、TNFα添加によって、活性では検出できないレベルの血小板型12-リポキシゲナーゼ遺伝子の発現レベルが濃度依存的に上昇したが、MCP-1においては上昇が見られなかった。</p> <p>以上の結果から、TWNT-1においてTNFαの刺激により血小板型12-リポキシゲナーゼの発現上昇を介し、<i>COL1A1</i>の発現が低下することが示唆された。今後、活性レベルで検出できない血小板型12-リポキシゲナーゼがどのように<i>COL1A1</i>の発現を抑制するか調べるとともに、血小板型12-リポキシゲナーゼ遺伝子の発現調節に寄与する転写調節領域を特定していく予定である。</p>					

※ 次ページに続く

<p>成果資料目録</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li data-bbox="384 192 1415 421">1. Izumi Tsukayama, Yuki Kawakami, Asako Tamenobu, Keisuke Toda, Saya Maruoka, Yuki Nagasaki, Yoshiko Mori, Risa Sawazumi, Kensuke Okamoto, Keita Kanzaki, Hideyuki Ito, Yoshitaka Takahashi, Yoshimi Miki, Kei Yamamoto, Makoto Murakami, Toshiko Suzuki-Yamamoto. Malabaricone C derived from nutmeg inhibits arachidonate 5-lipoxygenase activity and ameliorates psoriasis-like skin inflammation in mice. <i>Free Radical Biology and Medicine</i>. 193, 1-8, 2022. <li data-bbox="384 432 1415 613">2. Izumi Tsukayama, Nana Hojo, Takuto Mega, Keisuke Toda, Yuki Kawakami, Yoshitaka Takahashi, Toshiko Suzuki-Yamamoto. Diosgenin, a natural steroidal saponin, suppresses COX-2 and mPGES-1 via the glucocorticoid receptor and improves LPS-induced liver injury in mice. 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition, Tokyo, Japan, Dec. 6-11, 2022.
---------------	---