

令和元年9月20日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15963

研究課題名(和文) VEGF-Bシグナルを介した肝細胞による脂肪酸取り込み機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of VEGF-B signal-regulated fatty acid uptake in hepatocytes

研究代表者

山岸 直子 (YAMAGISHI, NAKO)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：40646840

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：既存の胃潰瘍・十二指腸潰瘍治療薬であるランソプラゾールを肝がん細胞株HepG2およびHep3Bに処理すると、VEGF-B発現量が減少することを見出した。また、VEGF-Bの類似機能を持つ複数の脂肪酸トランスポーターの発現量も減少していた。HepG2およびHep3B細胞株を用いて脂肪蓄積に対するランソプラゾールの効果を検証したところ、脂肪酸の取り込みには変化がみられず、一方でLDLコレステロールの取り込みが増加していた。実際にランソプラゾールによってコレステロール代謝を制御する転写因子LXRが活性化されており、LXR下流遺伝子群の発現量が増加していることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、胃酸分泌抑制剤であるランソプラゾールが肝細胞の脂質代謝機能に与える影響を明らかにした。我々は以前、ランソプラゾールが非アルコール性脂肪肝疾患(NAFLD)モデルラットの病態進行を遅延させるという新しい薬効の存在を報告しており、本研究結果はランソプラゾールによる脂肪肝抑制メカニズムの一つとして重要な知見となった。NAFLDはメタボリック症候群の原因として知られているが、現時点では脂肪肝を解消する有効な治療薬はなく、ランソプラゾールは有用な脂肪肝治療薬候補と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Lansoprazole reduced the expression of VEGF-B mRNA in HepG2 and Hep3B human hepatic cell lines. Some fatty acid transporters were also downregulated by lansoprazole. We investigated the effect of lansoprazole on intracellular lipid accumulation using HepG2 and Hep3B. There was no significant difference in the intracellular fatty acid uptake levels, whereas a marked increase in LDL-cholesterol uptake by lansoprazole. We observed that lansoprazole activated the Liver X receptor (LXR) that is a key transcriptional regulator of cholesterol metabolism in HepG2 and Hep3B cells.

研究分野：細胞生物学

キーワード：ランソプラゾール VEGF-B 脂肪肝 NAFLD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メタボリック症候群を惹起する「異所性脂肪」は、脂肪組織以外の器官に脂肪が蓄積する病態である。異所性脂肪の肝臓病態である非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) は日本人の 29.7% が罹患する国民病と言われている。しかし、現時点では脂肪肝を解消する有効な治療薬はなく、進行した異所性脂肪蓄積に対する新たな治療戦略の確立が望まれている。

これまでに申請者らは、プロトンポンプ阻害剤であるランソプラゾールが NAFLD モデルラットの病態進行を遅延させることを報告しているが、この効果は胃酸分泌抑制作用によるものではなかった。本研究によってランソプラゾールの NAFLD 抑制メカニズムを明らかにできれば、これまで治療薬のなかった NAFLD に対する新規治療法の開発につなげることができる。

2. 研究の目的

本研究では、細胞内脂肪蓄積を促進することが知られている VEGF-B の遺伝子発現に着目し、肝細胞に対するランソプラゾールの効果を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、ヒト肝細胞株 HepG2 および Hep3B を用いて以下の *in vitro* 解析を行った。

- 1) ランソプラゾールを処理した時の VEGF-B および VEGF-B によって制御される脂肪酸トランスポーター (FATP-2, -3, -4) の遺伝子発現量の変化を定量 RT-PCR 法にて解析した。
- 2) ランソプラゾールを処理した時の細胞内脂肪酸取り込み量の変化をフローサイトメトリ法によって解析した。
- 3) ランソプラゾールを処理した時の細胞内 LDL コレステロール取り込み量の変化をフローサイトメトリ法によって解析した。

4. 研究成果

- 1) 50 μ M ランソプラゾールを肝細胞株に 24 時間処理したところ、VEGF-B および脂肪酸トランスポーター (FATP-2, -3, -4) の mRNA 発現量が減少していた。(図 1 は HepG2 細胞の結果を示す)
- 2) 50 μ M ランソプラゾールを 24 時間処理した肝細胞に蛍光標識脂肪酸を取り込ませ、フローサイトメーターで細胞内蛍光量を測定した。その結果、予想に反してランソプラゾールでは脂肪酸取り込み量に変化は見られなかった。(図 2A)
- 3) 2) の結果を受け、今度はコレステロール取り込みについて検討を行った。50 μ M ランソプラゾールを 24 時間処理した肝細胞に蛍光標識 LDL コレステロールを取り込ませ、フローサイトメーターで細胞内蛍光量を測定した。その結果、ランソプラゾールによって肝細胞の LDL コレステロール取り込みが減少した。(図 2B)

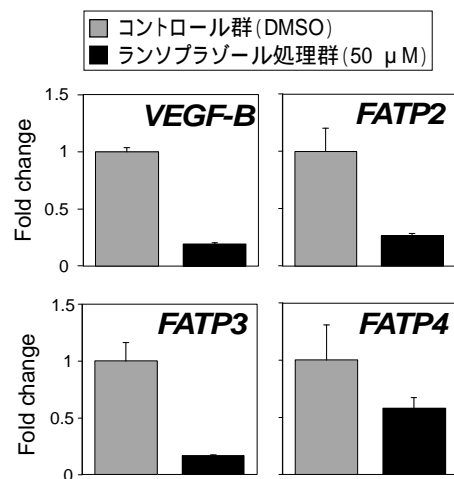


図 1

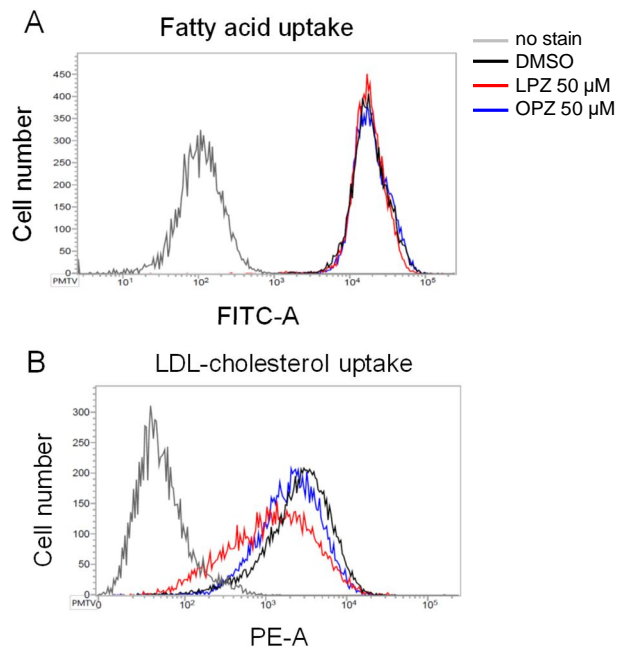


図 2

- 4) 3) の結果を受けて、ランソプラゾールを処理した細胞における脂質代謝因子群の遺伝子発現量の変化を解析した。その結果、ランソプラゾールの処理によって転写因子 Liver X Receptor (LXR) の標的遺伝子群の発現量が増加していた。(Table 1)

今回、ランソプラゾールによる肝細胞の脂肪酸取り込み抑制効果は確認できなかった。しかし、脂質およびコレステロール代謝を司る転写因子であるLXRがランソプラゾールによって活性化されることが示唆された。今後は、脂肪代謝全体の動態変化を明らかにし、ランソプラゾールのNAFLD治療薬としての有用性の確立を目指す。

Table 1. 定量RT-PCR結果

	ランソプラゾールによって	
	発現上昇↑	変動なし→
脂肪酸輸送		FATP1 FABP4 ACSL1
脂肪酸合成	FASN ACC1	SCD GPAT PPAR γ
胆汁排泄	ABCC2	ABCB11
脂肪酸化	ACOX1 CPT1 α	MCAD UCP1 HMGCS1 HMGCL
胆汁酸抱合	UGT1A3	BAAT
コレステロール輸送	ABCA1	ABCC3 OATP2

LXR標的遺伝子

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

Yamagishi N, Omata Y, Aoki-Yoshida A, Moriya N, Goto T, Toyoda A, Aoki R, Suzuki C, Takayama Y. Comparison of gut tight junction gene expression in C57BL/6J and BALB/c mice after chronic social defeat stress. JARQ 53(1):41-46 (2019) DOI: 10.6090/jarq.53.41. (査読有)

Tomida C, Yamagishi N, Nagano H, Uchida T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo S. VEGF pathway-targeting drugs induce evasive adaptation by activation of neuropilin-1/cMet in colon cancer cells. Int. J. Oncol. 52(4):1350-1362. (2018) DOI: 10.6090/jarq.53.41. (査読有)

Nishi T, Yamamoto Y, Yamagishi N, Iguchi M, Tamai H, Ito T, Tsuruo Y, Ichinose M, Kitano M, Ueyama T. Lansoprazole prevents the progression of liver fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis model rats. J. Pharm. Pharmacol. 70(3):383-392. (2018) DOI: 10.1111/jphp.12870. (査読有)

Tomida C, Nagano H, Yamagishi N, Uchida T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo S. Regorafenib induces adaptive resistance of colorectal cancer cells via inhibition of vascular endothelial growth factor receptor. J. Med. Invest. 64(3,4):262-265. (2017) DOI: 10.2152/jmi.64.262. (査読有)

Tomida C, Yamagishi N, Nagano H, Uchida T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo S. Antiangiogenic agent sunitinib induces epithelial to mesenchymal transition and accelerates motility of colorectal cancer cells. J. Med. Invest. 64(3,4):250-254. (2017) DOI: 10.2152/jmi.64.250. (査読有)

〔学会発表〕(計4件)

山岸 直子、山本 悠太、西 利男、伊藤 隆雄、金井 克光。ランソプラゾールはNrf2/Ho1経路を活性化することによって肝細胞保護作用を示す。第124回日本解剖学会、新潟、2019年3月27~29日。

山岸 直子、山本 悠太、西 利男、伊藤 隆雄、上山 敬司。ランソプラゾールはNrf2/Ho1経路を活性化することによって肝細胞保護作用を示す。第41回日本分子生物学会、横浜、2018年11月28~30日。

山岸 直子、山本 悠太、西 利男、伊藤 隆雄、上山 敬司。プロトンポンプ阻害剤はシスプラチンによるがん細胞傷害を増強する。第123回日本解剖学会総会、東京、2018年3月28~30日

山岸 直子、山本 悠太、西 利男、伊藤 隆雄、上山 敬司。プロトンポンプ阻害剤はシスプラチンによるがん細胞障害を増強する。第40回日本分子生物学会・第90回日本生化学会合同年次大会、神戸、2017年12月6~9日

〔その他〕

ホームページ

<https://www.wakayama-med.ac.jp/dept/igakubu/160411/index.html>

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山岸直子 (YAMAGISHI, Naoko)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：40646840

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 研究協力者

該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。