

令和元年6月26日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19648

研究課題名(和文)線維化促進分泌型タンパクを介した、非アルコール性脂肪性肝炎の新たな発症機序の解明

研究課題名(英文)The pathological role of secreted protein in promoting fibrosis in non alcoholic steatohepatitis.

研究代表者

清水 逸平(Shimizu, Ippei)

新潟大学・医歯学総合研究科・特任准教授

研究者番号：60444056

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は肥満関連分泌型線維化促進分子(OAFP)を介した、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)の肝臓線維化促進機構を明らかにすることであった。肥満ストレス下で血液中で発現が上昇する線維化促進分泌型タンパク質「OAFP」に着目し、肥満 NASH 肝臓線維化 肝硬変という一連の病態にOAFPが関与するか検証した。マウスOAFP過剰発現モデルや、発現抑制モデルを作製し表現型を解析したところ、OAFPを介して肝臓の線維化が促進されることが明らかとなった。本検討により、NASHの病態において線維化促進分泌型タンパク質OAFPが重要な役割を果たす可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満NASHモデルマウスとNASH患者の血液中で、線維化促進分泌タンパクOAFPが2倍程度増加することがわかり、肥満ストレス下で唯一褐色脂肪組織でのみ発現が増加することがわかった。OAFPは肥満時に褐色脂肪組織で発現レベルが上昇し、肝臓の線維化を促進する可能性が高い。バイオマーカーとしての有用性に加え、治療標的として重要である可能性が高い。NASHには未だ満たされない医療ニーズが存在し、疾患特異的治療法の開発は急務である。本研究をさらに発展させ、中和抗体による治療法や小分子による阻害剤を開発し、NASHの新たな治療法を創出したいと考えている。

研究成果の概要(英文)：Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) develops with obesity.

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is the extreme form of NAFLD characterized with sterile inflammation and fibrosis in the liver. NASH patients are increasing in many societies, however, the molecular mechanisms of fibrosis in the liver are largely unknown. We found a significant increase in obesity associated pro-fibrotic protein (OAFP) level in the serum from NASH patients compared to control groups. Obese-NASH model developed significant liver fibrosis associated with high circulating OAFP level. Injection of a plasmid encoding OAFP into skeletal muscle promoted fibrosis in the liver. In contrast, genetic suppression of OAFP inhibited liver fibrosis. Our studies from humans and rodents suggest the pathological role of OAFP in promoting fibrotic responses in liver upon metabolic stress. Suppression of OAFP would become next generation therapy for NASH.

研究分野：循環器内科

キーワード：非アルコール性脂肪性肝炎

1. 研究開始当初の背景

日本でのNASH罹患人口は約200万人にも及び、特異的な治療がなく、NASHには未だ満たされない医療ニーズが存在する。診断法は肝臓生検による侵襲的な組織診断のみであり、非侵襲的な診断法が存在しない点も問題である。肝臓で線維化がすすむことでNASHは肝硬変へと進展するが、その機序は未だ不明点が多い。肥満、及び褐色脂肪不全モデルマウスのDNAマイクロアレイデータをバイオインフォマティクス的手法を用いて解析した結果、Obesity associated fibrotic protein(OAFP)が分泌型タンパクとして候補分子に上がり、褐色脂肪で主に産生されること、肥満NASHモデルマウスやNASH患者の血液中で発現レベルが上昇することがわかった。OAFPは線維化を促進する分子であり、予備的検討の結果、OAFP過剰発現モデルでは肝臓の線維化が増悪し、抑制モデルでは肝臓の線維化が軽減することがNASHモデルマウスで明らかになった。線維化促進分泌型タンパクOAFPを介してNASHにおける肝臓の線維化が促進する可能性が高く、本研究課題においてその詳細な分子機序の解明に挑むこととした。

2. 研究の目的

本研究の目的は肥満関連分泌型線維化促進分子(Obesity associated fibrotic protein(OAFP))を介した、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)の肝臓線維化促進機構を明らかにすることであった。

3. 研究の方法

NASH 肥満マウスの作成と標的アディポカインの機能解析:

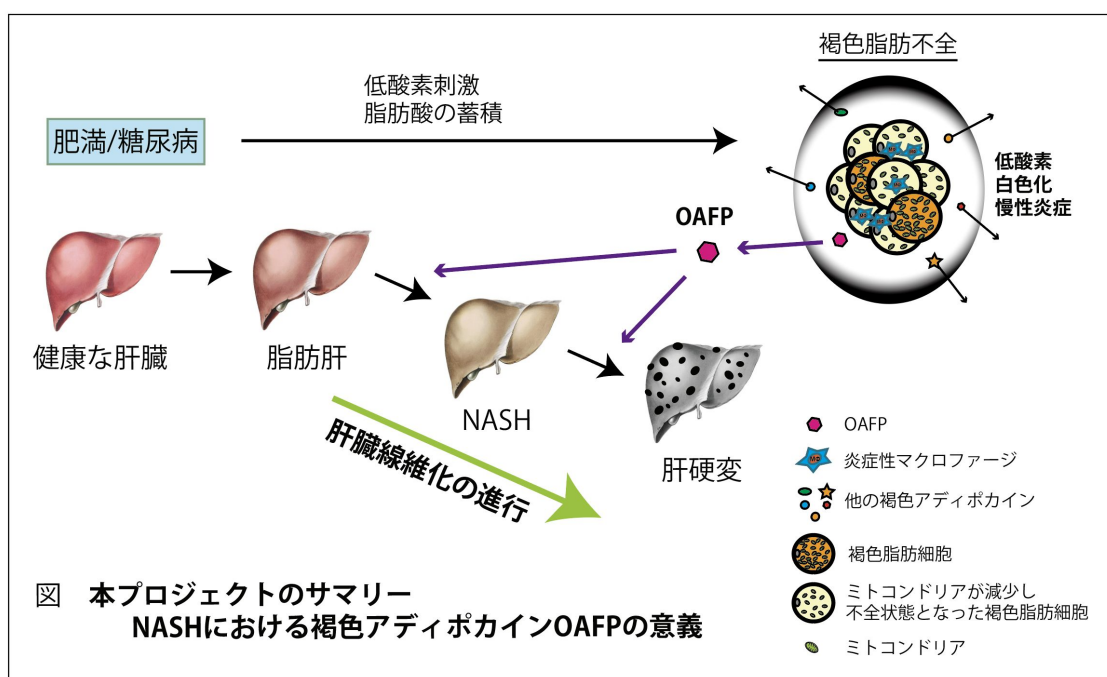
肥満、及び褐色脂肪不全モデルマウスのDNAマイクロアレイデータをバイオインフォマティクス的手法を用いて解析した結果、線維化促進分泌型タンパク質(Obesity associated fibrotic protein(OAFP))が分泌型タンパクとして候補分子に上がり、褐色脂肪で主に産生されること、肥満NASHモデルマウスやNASH患者の血液中で発現レベルが上昇することがわかった。野生型マウスに高脂肪食(肥満食)負荷を行い、NASH肥満モデルを作製したところ、褐色脂肪組織でOAFPすることがわかった。肥満NASHマウスに加え、NASH患者の血液でOAFPの発現が上昇することも確認できた。そこで、マウスにおいてOAFP過剰発現モデルや、発現抑制モデル(全身KOマウスなど)を作製し表現型を解析することとした。肝臓の線維化は、線維芽細胞が中心的役割を担う。肝臓線維芽細胞株に線維化促進分泌型タンパク質を添加することでコラーゲン産生が上昇するか検証し、NASHモデルマウスでOAFPが肝臓の線維化を促進する詳細な分子機序を検証した。

4. 研究成果

NASH 肥満マウスの作成と標的アディポカインの機能解析:

野生型マウスに8ヶ月高脂肪食(肥満食)負荷を行うと著しい肥満に加え肝臓の線維化が生じ、NASH肥満モデルを作成することができた。肥満マウスモデルの褐色脂肪組織を用いたDNAマイクロアレイの結果得られた候補分子のうち、肥満ストレス下で褐色脂肪組織特異的に発現が上昇する線維化促進分泌型タンパク質「OAFP」に着目し、肥満NASH肝臓線維化肝硬変という一連の病態に褐色脂肪から分泌されるOAFPが関与するか検証することとした。肥満NASHマウスの褐色脂肪組織や血液、NASH患者の血液でOAFPの発現の上昇を認めた。そこで、マウスにおいてOAFP過剰発現モデルや、発現抑制モデルを作成し表現型を解析することとした。肥満マウスにPlasmid筋肉注射にてOAFP過剰発現モデルマウスを作製したところ、肝臓の線維化が促進した。OAFP全身ノックアウトマウスでは、肥満に伴う肝臓の線維化が著しく抑制されること

もわかった。また、ペプチドワクチンの系を用いて NASH 肥満モデルマウスの OAFP の抑制を測ったところ、肝臓の線維化が抑制されることもわかった。褐色脂肪特異的 OAFP ノックアウトモデルマウス(UcpCre^{+/+};OAFP^{flox/flox} マウス)を開発し、NASH 肥満モデルを作製したところ、褐色脂肪特異的 OAFP ノックアウトモデルマウスでは肝臓の線維化が抑制されることもわかった。肝臓の線維化は、線維芽細胞が中心的役割を担う。そこで、肝臓線維芽細胞株に OAFP を添加したところ、上清中の Collagen type1a が上昇することを確認することができた。以上のことから、NASH の病態において線維化促進分泌型タンパク質 OAFP が重要な役割を果たす可能性が示唆された。褐色脂肪特異的 OAFP ノックアウトモデルマウスは肥満ストレスに伴う肝臓の線維化が抑制されており、OAFP が褐色アディポカインである可能性も強く示唆されている。OAFP が肥満ストレスに伴い褐色脂肪組織で発現レベルが上昇する詳細な分子機序を検証することが今後の課題であり、引き続き検討を行っている。ペプチドワクチンの系をさらに検討することで、次世代の NASH 治療法を開発できる可能性が高いと考えられる(図)。



5. 主な発表論文等 該当なし

〔雑誌論文〕(計 件)
該当なし

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Shimizu I, Yoshida Y, Nakagami H, Kamimura K, Terai S, Minamino T, Poster presentation, Obesity associated pro-fibrotic protein promotes pathologies in non-alcoholic steatohepatitis. Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group, SYMPOSIUM 2018, 2018, Oct 8th, Kobe Convention Center.

〔図書〕(計 件)
該当なし

〔産業財産権〕
出願状況(計 2 件)

1. 非アルコール性脂肪性肝炎マーカー及びその使用

出願日：2015年10月13日、出願番号：特願2015-202418

発明者：清水逸平、南野徹

特許出願人：国立大学法人新潟大学

2.MARKER FOR NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS AND USE THEREOF

PCT特許出願番号：PCT/JP2016/080346

出願日：2016年10月13日

取得状況（計 件）

該当なし

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者
該当なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：南野 徹
ローマ字氏名：Tohru Minamino
研究協力者氏名：吉田 陽子
ローマ字氏名：Yohko Yoshida
研究協力者氏名：奥田 修二郎
ローマ字氏名：Shujiro Okuda
研究協力者氏名：崎村 建司
ローマ字氏名：Kenji Sakimura
研究協力者氏名：寺井 崇二
ローマ字氏名：Shuji Terai
研究協力者氏名：笹岡 俊邦
ローマ字氏名：Toshikuni Sasaoka
研究協力者氏名：中神 啓徳
ローマ字氏名：Hironori Nakagami

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。