

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09024

研究課題名(和文)非アルコール性脂肪性肝炎の肝線維化に対するSynoviolinの役割の検討

研究課題名(英文)The function of Synoviolin on liver fibrosis in Non-alcoholic steatohepatitis

研究代表者

中村 郁夫 (NAKAMURA, IKUO)

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40251243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)の肝線維化に対するSynoviolinの役割をマウスモデルを用いて検討した。Synoviolinは、関節リウマチの病態形成に重要な役割を果たしているERタンパクである。C57BL/6マウスの生後3日でstreptozotocinを投与し、生後6週から高脂肪食を与えることによりNAFLD・NASHを起こさせた。このモデルに、Synoviolinの特異的阻害剤であるLS-102を投与したLS-102投与群では非投与群と比べて、肝線維化が低下している傾向が認められた。Synoviolinの作用の抑制が、このモデルにおける肝線維化を低下させる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of the study was to examine the function of synoviolin, that was one of the ER protein found in synovia of rheumatoid arthritis, on liver fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). The mouse NAFLD/NASH model induced by streptozotocin and high-fat diet was used in this study. LS-102 was one of the specific inhibitor of synoviolin, The degree of liver fibrosis in 12 week after birth in this mouse model was pathologically estimated and compared between LS-102 administration group and control group. It seemed that the degree of liver fibrosis in LS-102 administration group was lower compared with that of control group. Therefore, the results in this study suggested that inhibition of synoviolin function could reduce the fibrosis of liver in this mouse NAFLD/NASH model.

研究分野：肝臓病学

キーワード：非アルコール性脂肪性肝炎 肝線維化 Synoviolin

1. 研究開始当初の背景

本邦における Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) の患者数は約 2000 万人、非アルコール性肝炎(NASH)の患者数は約 250 万人と推定され、今後さらなる患者数の増加が推測されている。NASH は、持続的な肝の炎症・線維化の進行により肝硬変に至り、さらに、肝細胞癌を生じさせる疾患である。B 型慢性肝炎ウイルス(HBV)・C 型慢性肝炎ウイルス(HCV)によるウイルス肝炎に対する治療に一定のめどがついた現在、今後の診断・治療法の開発が優先されるターゲットの肝疾患は NASH に移った。私たちは、ウイルス肝炎の病態を解明する目的で、HBV・HCV に対する生体の免疫応答に関する検討を重ねてきた。HBV・HCV 感染に対する細胞障害性 C 細胞(CTL)のエピトープに関する解析 (Hepatology 18:1039-1044, 1993, J Med Virol 45:386-391, 1995, J Med Virol 53:85-95, 1997) や末梢血・肝組織における HCV 特異的ヘルパー T 細胞と慢性肝炎の病態に関する検討を行った。また、HBV 感染の動物モデル (Woodchuck-Woodchuck hepatitis virus(WHV) 感染系) を用いた検討を、米国 Cornell 大学・Georgetown 大学との共同研究として行い、慢性感染成立の機序を明らかにした。(Hepatology 32:807-817, 2000, Hepatology 33:439-447, 2001)。

一方、私たちは、関節リウマチの病態形成に重要な役割を果たしている滑膜細胞に因んだ遺伝子を世界で初めてクローニングし、Synoviolin と命名した(Genes

Dev 17:2436-49, 2003)。さらに、Synoviolin が ER ストレスを介して関節炎を起こすこと、四塩化炭素により惹起される急性肝炎マウスモデルにおいて肝線維化をもたらすことを明らかにした (PLoS One, 5: e13590, 2010, Genes Dev 28: 708-22, 2014)。また、炎症をもたらす機序は ER ストレスを介するのみでなく、Nrf2 の抑制が関与することを報告した。

前述した患者数が増加しつつあり、将来的に肝疾患の中で重要性が高まることが予想される NASH の病態に関しては、未だ、十分に明らかにされていない点が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、NASH における病態形成、特に、肝線維化に対する Synoviolin の役割を明らかにすることである。私たちは、NASH における肝線維化に Synoviolin が関与しているという仮説を想起した。本研究では、NASH のマウスモデルにおいて Synoviolin の作用を特異的に阻害することが、NASH における肝線維化の抑制をもたらすかどうかを検証する。

3. 研究の方法

NAFLD・NASH の動物モデルの一つとして、まず、C57BL/6 マウスに対する生後 3 日での streptozotocin 投与により 1 型糖尿病を起こし、さらに、生後 6 週から高脂肪食を与えることによる NAFLD・NASH を起こさせるマウスモデルが確立されている。同モデルに、Synoviolin の特異的阻害剤である LS-102 を投与することによって、NASH にお

ける肝線維化の進行を抑制できる可能性について検証する。同時に、NASHの肝線維化に対し Synoviolin が重要な役割を果たしているかどうかを明らかにすることができる。

初めに、LS-102の投与開始時期、投与回数、投与終了時期、肝臓の採取時期に関する検討を行う。次に、C57BL/6マウスに対し、生後3日でstreptozotocinを投与し、生後6週から高脂肪食を与え、さらに最適とされた条件に基づいてLS-102を投与し、肝臓を採取する。続いて、採取した肝組織を通常的手法でホルマリン固定、パラフィン包埋を行う。肝組織プレパラート標本に対し、HE染色、エラスチカ・マッソン染色および銀染色を行う。肝組織の線維化の評価は、病理学的な定性的評価に加えて、Definiens Tissue Studioを用いた定量的評価を行って、LS-102投与群とLS-102非投与群において比較する。さらに、抗Synoviolin抗体を用いた免疫染色を行って、2群において比較する。

4. 研究成果

C57BL/6マウスに対し、生後3日でstreptozotocinを投与し、生後6週から高脂肪食を与え、さらに最適条件として明らかにされたスケジュールに基づいて、生後6週から生後11週までLS-102を週2回投与し、生後12週において肝臓を採取した。上記で得られた肝組織の標本(HE染色、エラスチカ・マッソン染色および銀染色)に関する病理学的評価を、LS-102投与群とLS-102非投与群において比較した結果、LS-102投与群ではLS-102非投与群と比べて、肝線維化が低下している傾向が認められた。しかし、Definiens

Tissue Studioを用いた肝線維化に関する定量的評価の比較では、両群の間に有意な差は認められなかった。さらに、Synoviolinの発現は、LS-102投与群ではLS-102非投与群と比較して低下していた。これらの結果から、LS-102の投与によりSynoviolinの作用を抑制することが、本研究で用いたNAFLD・NASHマウスモデルにおいて肝線維化を低下させる可能性が示唆された。

NASHにおける病態、特に肝線維化に対するSynoviolinの役割を解析する研究は、世界で初めての研究と考えられるので、本研究の独創性は高い。本研究におけるANFLD・NASHのマウスモデルを用いた解析により、SynoviolinがNASHの病態形成に重要な役割を果たしていることが示唆された。今後はさらに、ヒトNASHの肝組織標本を用いた研究を行なうことにより、ヒトNASHにおいても同様に、Synoviolinが肝線維化に役割を果たしている可能性を検討することができる。その結果は、NASHに対し、Synoviolinの作用を抑制することによる新たなNASH治療法の開発に繋がることが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0件)

[学会発表](計 0件)

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

()

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 郁夫 (NAKAMURA IKUO)
東京医科大学・医学部・准教授
研究者番号：40251243

(2) 研究分担者

中島 利博 (NAKAJIMA TOSHIHIRO)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：90260752

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者