

令和 5 年 10 月 25 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K17041

研究課題名（和文）リソソームにおけるコレステロール代謝とHMGB1分泌を関連づける新機構

研究課題名（英文）Cholesterol metabolism and HMGB1 secretion

研究代表者

大出 貴資（ODE, Takashi）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：30804190

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）：High mobility group box protein-1(HMGB1)は全ての有核細胞の核内に存在する非ヒストン核蛋白質で、歯周病においては細菌感染や障害を受けた歯肉上皮細胞などからHMGB1が放出される炎症性メディエーターとして働く。このHMGB1放出にはオートファジーの分子装置が関与すると考えられている。本研究で RAW264.7マウスマクロファージ細胞にコレステロール輸阻薬のイトラコナゾール並びにU18666Aでの刺激を行うと、細胞外へのHMGB1分泌が上昇し、コレステロールがリソソームとエンドソームに蓄積することが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病においては細菌感染や障害を受けた歯肉上皮細胞などからHMGB1が放出される炎症性メディエーターとして働く。このHMGB1放出にはオートファジーの分子装置が関与すると考えられているが、これまでに代謝性疾患とHMGB1放出との関連は明らかになっていない。細胞質に存在するHMGB1がどのようにして細胞外に放出されるのかは謎であった。本研究は「コレステロール代謝」と「HMGB1放出」の関連を明らかにした。

研究成果の概要（英文）： High mobility group box protein-1 (HMGB1), which is increased and secreted extracellularly after inflammatory stimuli. HMGB1 may be associated with the onset and progression of periodontitis.

This study demonstrates that itraconazole and U18666A stimulates extracellular secretion of HMGB1.

研究分野：歯周病学

キーワード：HMGB1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯周病の原因は主に細菌感染による炎症反応であるが、肥満や糖尿病といった代謝性疾患と歯周病の関連が指摘されている。HMGB1 は細菌感染や障害を受けた細胞から放出される炎症メディエーターであり、細菌に曝露される歯肉上皮細胞からも放出される。HMGB1 放出にはオートファジーの分子装置が関与する。しかしこれまでに代謝性疾患と HMGB1 放出との関連は明らかになっていない。一方、細胞内での分解処理を担当する細胞内小器官 (オルガネラ) であるリソソームが、代謝と増殖のマスターレギュレーターである mTORC1 の活性化にも重要でありオートファジーを制御することが近年明らかになってきた。申請者はリソソームが「コレステロール代謝」と「オートファジー制御」のどちらにも関与することから「コレステロール代謝」と「HMGB1 放出」に関連があるのではないかと考え、代謝性疾患と口腔疾患を関連づける新たな分子機構と位置づけてその検証をおこなう。

本研究は「リソソーム/mTORC1 はコレステロール代謝と炎症を結ぶクロスロードになるか?」という問いに答えることを目的とする。この問いは以下の4つの学術的背景にもとづいている。

背景 1 炎症メディエーターである HMGB1 分泌にオートファジーの分子装置が関与する。

背景 2 mTORC1 はリソソーム上で活性化される。活性化された mTORC1 はオートファジーを抑制する。

背景 3 リソソームはコレステロール輸送に中心的役割を果たし、コレステロール輸送にともない他のオルガネラと膜接触する。

背景 4 膜接触はコレステロール動態と mTORC1 活性制御を関連づける鍵となる。

2. 研究の目的

本研究の目的はコレステロール輸送 リソソームにおける膜接触 mTORC1 不活性化 オートファジー HMGB1 分泌という流れの存在を検証することである。特にコレステロール輸送におけるリソソームと他のオルガネラとの膜接触による mTORC1 の活性化因子との解離による活性制御の可能性に着目する点に独自性がある。本研究は mTORC の活性制御に、従来知られていなかった視点をとり入れることにより、コレステロール代謝と HMGB1 分泌という新たな関連の可能性に挑戦するものである。

3. 研究の方法

本研究では刺激による HMGB1 分泌が報告されている実験系を用いてコレステロール輸送阻害剤の HMGB1 分泌への影響を明らかにし、さらにリソソームと小胞体・ペルオキシソームとの膜接触の関与の有無を検証する。

実験系

細胞はマクロファージ (RAW264 細胞、理研細胞材料開発室より購入)、コレステロール輸送阻害剤はイトラコナゾールおよび U18666A を用いる。

コレステロール結合色素(フィリピン)を用いた細胞染色によりコレステロールのリソソームへの蓄積を確認し、阻害剤の処理濃度・処理時間の条件検討をおこなう。設定した条件において

刺激による HMGB1 分泌への影響(タイムコース、分泌量)を評価する。 HMGB1 分泌量は抗 HMGB1 抗体を用いた ELISA キットを用いて測定する。

4 . 研究成果

RAW264.7 マウスマクロファージ細胞にコレステロール輸阻害薬のイトラコナゾール並びに U18666A での刺激を行うと、細胞外への HMGB1 分泌が上昇し、コレステロールがリソソームとエンドソームに蓄積することが確認された。さらに、コレステロール阻害剤の刺激によって、細胞外に HMGB1 が分泌されていることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------