

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07914

研究課題名（和文）NASH発症におけるRAGE発現亢進のメカニズム解明と肝線維化マーカー開発

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of increased expression of RAGE in the development of NASH and development of liver fibrosis markers

研究代表者

廣瀬 享（Hirose, Akira）

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師

研究者番号：30457395

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：コントロール食を与えたRAGE KOマウスでは、MTマウスと比べてRAGEのRNA発現量は低下していた。WTマウスでは、MCD食の投与によりRAGE RNAの発現量は増加するのに対して、RAGE KOマウスではRAGE RNAの発現量は有意に低値であった。また肝での線維化関連マーカーの発現量は、MTマウスに比べRAGE KOマウスでは有意に抑制され、RAGEに対する膜結合蛋白であるmDia1の肝組織中のRNAおよび蛋白発現量もともに低値であった。NASHの肝線維化進展においてRAGEからのmDia1を介したシグナル伝達経路が重要である事が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで我々は、NASH患者および動物モデルの肝臓でRAGEの発現が亢進し、RAGE欠損マウスではNASHの肝線維化進展が抑制される事を報告し、RAGEがNASHの病態および肝線維化進展において重要な役割を果たしている事を明らかにしてきた。NASHの線維化進展のメカニズムの詳細はいまだ不明な点が多い。その解明は将来NASH患者の線維化進展抑制を目的とした治療ターゲットとなりうる可能性があり、社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：In RAGE KO mice fed a control diet, RAGE RNA expression levels were lower than in MT mice. In WT mice, the expression level of RAGE RNA increased upon administration of the MCD diet, whereas in RAGE KO mice, the expression level of RAGE RNA was significantly lower. In addition, the expression level of fibrosis-related markers in the liver was significantly suppressed in RAGE KO mice compared to MT mice, and the expression levels of both RNA and protein in liver tissues of mDia1, a membrane-bound protein for RAGE, were also lower. These results suggest that the RAGE-mediated mDia1-mediated signal transduction pathway is important in the progression of liver fibrosis in NASH.

研究分野：non-alcoholic steatohepatitis

キーワード：NASH RAGE 肝線維化

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪肝炎(NASH)は脂肪肝を基盤とし肝硬変や肝癌発症などを来す進行性の病態であり、メタボリック症候群患者の増加とともに増加の一途を辿っているが、その発症病態および肝線維化進展機序は明かでない。他の慢性肝疾患同様に NASH でも肝線維化進展は肝癌発症などの予後に関わるため肝線維化の評価は重要である。終末糖化産物(AGE)は老化や糖尿病血管合併症など多くのメタボリック症候群の合併症形成などに関連しているが、NASH 患者でも肝線維化進展に伴って血清 AGE の上昇と、その受容体である AGE 受容体(RAGE)が血清および肝臓で増加している。これまで我々は、NASH 患者および動物モデルの肝臓で RAGE 発現が亢進し、RAGE 欠損マウスでは NASH の肝線維化進展が抑制されることを報告し、AGE-RAGE 系が NASH 病態進展に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。また、細胞骨格に関連する蛋白であり、RAGE に対しての膜結合蛋白である mDia1(Mannmalian diaph 1)は、NAFLD の肝線維化進展において RAGE から下流のシグナル伝達経路として重要であることを明らかにした。

2. 研究の目的

AGE は生体内におけるグルコースおよびその代謝中間体の分解物とタンパク質が結合した物質の総称であり、糖尿病血管合併症や神経変性疾患など多くのメタボリック症候群の合併症に関与する因子として注目されており、NASH 発症および病状進展にも深く関与する。また、RAGE の発現は各種疾患臓器や NASH の肝臓でも発現亢進が認められており AGE-RAGE 系の活性化による NASH 病状進展が示唆されている。しかし、その分子メカニズムなどの詳細については十分な解明がなされていない。そこで我々は、RAGE 遺伝子欠損(RAGE KO)マウスなどを用いて NASH における肝脂肪化、炎症、線維化進展における AGE-RAGE 系の役割の重要性について検討し、RAGE 遺伝子欠損(RAGE KO)マウスなどを用いて NASH における肝脂肪化、炎症、線維化進展における AGE-RAGE 系の役割の重要性について検討し報告してきた。このため本研究ではさらなる解析として、NASH の病状進展における重要な RAGE 発現増加のメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

コントロールマウス(C57BL/6j)及び RAGE ノックアウトマウス(RAGE KO)を用いて、メチオニン・コリン欠乏食(MCD)誘発 NASH 肝線維化モデルでの肝線維化進展の程度、RAGE の RNA 発現量、Tgf- β 1、Ctgf、 α -Sma、type1 collagen- α 1、Timp-1、Tnf- α 、Nos2 などの線維化マーカーの肝での RNA 発現量、蛋白発現量を real-time PCR 法およびウエスタンブロット法で評価する。また、コントロールマウス及び RAGE ノックアウトマウスにおいて、RAGE と mDia1 の肝での発現の局在について免疫染色法により評価する。

4. 研究成果

これまで我々は、NASH 患者および動物モデルの肝臓で RAGE の発現が亢進し、RAGE 欠損マウスでは NASH の肝線維化進展が抑制される事を報告し、RAGE が NASH の病態 および肝線維化進展において重要な役割を果たしている事を明らかにしてきた。さらに肝線維化シグナル伝達および SGE-RAGE 系シグナル伝達の活性化状態、さらに両シグナルのクロストークについて検討を行った。mDia1(Mannmalian diaph 1)は、細胞骨格に関する蛋白であり、RAGE に対しての膜結合蛋白である。コントロール食では MT マウスと比べて RAGE KO マウスでは RAGE の RNA 発現量は低下していた。さらに MCD 食負荷により WT マウスでは RAGE の RNA 発現量は増加するのに対して、RAGE KO マウスでは RAGE の RNA 発現量は増加せず、有意に低値であった。また肝での Tgf- β 1、Ctgf、 α -Sma、type1 collagen- α 1、Timp-1、Tnf- α 、Nos2 の 発現量は、MT マウスに比べ RAGE KO マウスでは有意に抑制されていた。また mDia1 の肝組織中の RNA の発現量と、蛋白発現量をウエスタンブロット法で評価したところ、RNA の発現、蛋白の発現ともに低値であった。また免疫染色法により発現の局在について評価したところ、MCD 食を負荷した WT マウスでは RAGE と mDia1 は肝星細胞に共同在しているが、クッパー細胞では RAGE は過剰発現しているが、mDia1 は検出されなかった。肝星細胞における mDia1 の過剰発現と共同在化が mDia1 の活性化に関連し、肝の線維化進展に関与している可能性が示唆された。NASH の肝線維化進展において RAGE からの mDia1 を介したシグナル伝達経路が重要である事が明らかになった。終末糖化産物(AGE)は糖尿病血管合併症や神経変性疾患など多くのメタボリック症候群の合併症に関与する因子として注目されており、NASH 発症および病状進展にも深く関与することが示唆されている。

今後は AGE-RAGE 系を介したレニン-アンジオテンシン系(RAS)による肝線維化進展との関わりについて更に検討していく。

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
研究分担者	越智 経浩 (Ochi Tsunehiro) (30617840)	高知大学・教育研究部医療学系基礎医学部門・助教 (16401)	
研究分担者	小野 正文 (Ono Masafumi) (70304681)	香川大学・医学部・寄附講座教員 (16201)	

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