

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17410

研究課題名（和文）異所性脂肪蓄積に寄与するVEGF-Bシグナルの分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）The role of VEGF-B signaling in the development of nonalcoholic fatty liver disease

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

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：酸化ストレスは非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）の進展の一因である。以前、既存医薬品であるランソプラゾールがNAFLDモデルラットの肝障害を軽減することを見出していたものの、その分子機序はわかっていなかった。本研究課題では、ランソプラゾールが肝細胞に発現する転写因子Nrf2を活性化することによって酸化ストレス障害を軽減することを明らかにした。また、ランソプラゾールによるNrf2の活性化と細胞防御はp38 MAPKシグナル伝達経路を介することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）はメタボリック症候群を基盤として発症し、一部は進行性の肝炎へと進行する。酸化ストレスを起因として進展すると言われているが不明な点が多く、有効な治療薬はまだない。本研究では、既存医薬品であるランソプラゾールが抗酸化ストレス因子Nrf2を活性化することによって細胞障害を軽減することを明らかにした。加えて、これらの効果は細胞内でp38 MAPKシグナル伝達経路を介することを明らかにした。安全性がすでに確立されたランソプラゾールは、非常に有用なNAFLD治療薬候補と考えられる。

研究成果の概要（英文）：Oxidative stress is a factor in the development of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Previously, we had found that the established drug lansoprazole reduced liver injury in a NAFLD rat model, but the molecular mechanism of this action had not been elucidated. In this study, we demonstrated that lansoprazole reduced oxidative stress injury by activating the transcription factor Nrf2, which is expressed in hepatocytes. In addition, we found that Nrf2 activation and cellular defense by lansoprazole are mediated by the p38 MAPK signaling pathway.

研究分野：細胞生物学

キーワード：NAFLD ランソプラゾール p38 MAPK Nrf2 酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

異所性脂肪はメタボリック症候群の基盤になると考えられているが、その発症メカニズムには不明な点が多く、有効な治療薬も存在しない。申請者らは既存のプロトンポンプ阻害剤であるランソプラゾールが非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) モデルラットの肝機能を改善することを報告した。この肝臓保護作用は、ランソプラゾールが持つ胃酸分泌抑制は関与していなかった。そこで、申請者はランソプラゾールが新たな NAFLD 治療薬候補となる可能性に着目した。

2. 研究の目的

本研究では、ランソプラゾールを新規 NAFLD 治療薬候補として位置づけ、肝細胞にどのような分子機序で働いて NAFLD 進行を抑制するのかを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

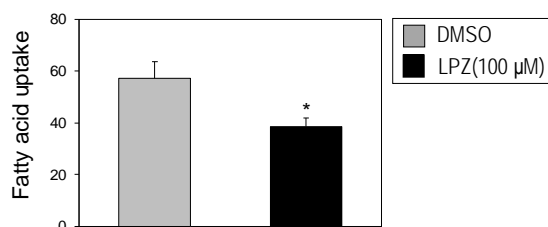
ヒト肝細胞株 HepG2 とラット肝細胞株 RL34 を用いて以下の *in vitro* 実験を行い、ランソプラゾールが脂肪肝炎発症段階に起こる脂質代謝異常や酸化ストレスレベル増大に対して与える影響を解析した。

- (1) 細胞内脂肪酸取り込み量の変動
- (2) 肝細胞に主に機能する脂肪酸トランスポーター遺伝子 (FATP-2, -3, -4, VEGF-B) およびその上流遺伝子 Nrf2 の発現量の変動
- (3) 酸化ストレスによって誘導される細胞死レベルの変動
- (4) 抗酸化ストレス作用のシグナル伝達経路の同定

4. 研究成果

(1) HepG2細胞にランソプラゾール (LPZ) を処理し、蛍光ラベル脂肪酸の細胞内取り込み量をフローサイトメトリー法を用いて測定した。その結果、ランソプラゾールによって脂肪酸取り込み量が減少した (図1A)。

図1. 脂肪酸取り込み量の減少



(2) HepG2細胞にランソプラゾールを処理し、肝細胞で主に働く脂肪酸トランスポーター遺伝子 (FATP-2, -3, -4, VEGF-B) の発現量を定量RT-PCR法にて解析した。その結果、いずれのトランスポーターもランソプラゾールによって顕著に発現量が減少した (図2A)。また、その上流で脂肪酸トランスポーターを制御し、かつ酸化ストレスを軽減させてNAFLD発症を抑制することが報告されている転写因子Nrf2の発現量を解析した。ランソプラゾール処理によってNrf2 mRNAおよびタンパク質発現量が増加していた (図2B)。

図2A. 脂肪酸トランスポーターmRNA発現量の減少

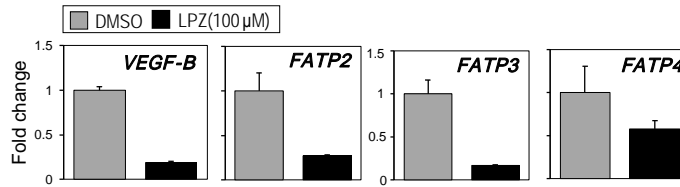
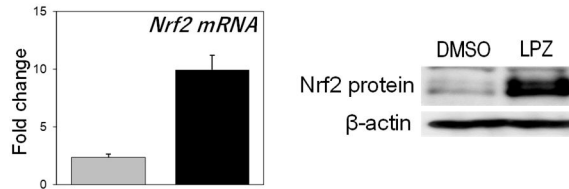


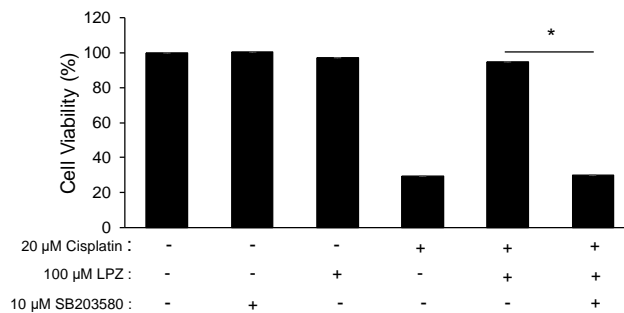
図2B. Nrf2発現量増加



(3) RL34細胞に酸化ストレス誘導剤シスプラチンを処理して細胞障害実験を行った。シスプラチンによって細胞は30%まで減ったが(図3)、あらかじめランソプラゾールを処理することによって細胞死は完全にキャンセルされた(図3)。これらの結果から、ランソプラゾールは酸化ストレスを軽減することによって肝細胞死を抑制していることが示唆された。

(4) ランソプラゾールによる肝細胞保護作用の分子機序を明らかにするために、シグナル伝達経路の同定を行った。Nrf2の活性化にはMAPKキナーゼ経路が関与していることが複数報告されていることから、主要なMAPKキナーゼであるp38 MAPK, ERK, JNKおよびそのリン酸化フォームの発現量をウェスタンブロット法で解析した。その結果、ランソプラゾールによってp 38 MPKのリン酸化フォームが増加していた。そこで、p38阻害剤SB203580を用いて細胞障害実験を行ったところ、p38阻害剤によってランソプラゾールによる肝細胞保護作用は消失した(図3)。また、p38阻害剤はNrf2の活性化と下流遺伝子の発現を抑制した。以上のことからランソプラゾールはp38 MAPK経路を介してNrf2を活性化させ、酸化ストレスを軽減させることが示唆された。

図3. ランソプラゾールによるp38シグナル経路を介した細胞死抑制効果



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yamagishi Naoko, Yamamoto Yuta, Nishi Toshio, Ito Takao, Kanai Yoshimitsu	4. 巻 18
2. 論文標題 Lansoprazole protects hepatic cells against cisplatin-induced oxidative stress through the p38 MAPK/ARE/Nrf2 pathway	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0287788
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0287788	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kunitatsu Kosei, Yamamoto Yuta, Nasu Shota, Taniji Akira, Kawashima Shuji, Yamagishi Naoko, Ito Takao, Inoue Shigeaki, Kanai Yoshimitsu	4. 巻 24
2. 論文標題 Novel Peritoneal Sclerosis Rat Model Developed by Administration of Bleomycin and Lansoprazole	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 16108 ~ 16108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms242216108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamamoto Yuta, Narumi Katsuya, Yamagishi Naoko, Nishi Toshio, Ito Takao, Iseki Ken, Kobayashi Masaki, Kanai Yoshimitsu	4. 巻 14
2. 論文標題 Oral administration of linoleic acid immediately before glucose load ameliorates postprandial hyperglycemia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1197743
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2023.1197743	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ito Daisaku, Yamamoto Yuta, Maekita Takao, Yamagishi Naoko, Kawashima Shuji, Yoshikawa Takanori, Tanioka Kensuke, Yoshida Takeichi, Iguchi Mikitaka, Kunitatsu Kosei, Kanai Yoshimitsu, Kato Seiya, Kitano Masayuki	4. 巻 101
2. 論文標題 Do synbiotics really enhance beneficial synbiotics effect on defecation symptoms in healthy adults?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e28858
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/MD.00000000000028858	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ito Takao, Yamamoto Yuta, Yamagishi Naoko, Kanai Yoshimitsu	4. 巻 4
2. 論文標題 Stomach secretes estrogen in response to the blood triglyceride levels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02901-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 MORIYA Naoko, YAMAGISHI Naoko, GOTO Tatsuhiko, OTABI Hikari, NIRA-KIMOTO Hiromi, TOYODA Atsushi, SUZUKI Chise	4. 巻 55
2. 論文標題 The Effects of Chronic Social Defeat Stress on Solid Gastric Emptying and Defecation in C57BL/6J Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ	6. 最初と最後の頁 77 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.6090/jarq.55.77	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Yuta, Tanichi Akira, Nasu Shota, Yamagishi Naoko, Ito Takao, Kanai Yoshimitsu	4. 巻 93
2. 論文標題 Lansoprazole promotes peritoneal fibrosis by bleomycin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings for Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society	6. 最初と最後の頁 1 ~ P-055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1254/jpssuppl.93.0_1-P-055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nagano Hikaru, Tomida Chisato, Yamagishi Naoko, Teshima-Kondo Shigetada	4. 巻 20
2. 論文標題 VEGFR-1 Regulates EGF-R to Promote Proliferation in Colon Cancer Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5608 ~ 5608
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20225608	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 YAMAGISHI Naoko, OMATA Yasuhiro, AOKI-YOSHIDA Ayako, MORIYA Naoko, GOTO Tatsuhiko, TOYODA Atsushi, AOKI Reiji, SUZUKI Chise, TAKAYAMA Yoshiharu	4. 巻 53
2. 論文標題 Comparison of Gut Tight Junction Gene Expression in C57BL/6J and BALB/c Mice After Chronic Social Defeat Stress	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ	6. 最初と最後の頁 41~46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.6090/jarq.53.41	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計18件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Yamamoto Y, Ito T, Yamagishi N, Kanai Y.
2. 発表標題 Stomach secretes estrogen in response to the blood triglyceride levels.
3. 学会等名 The 20th Congress of the International Federation of Associations of Anatomists. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山岸直子、山本悠太、伊藤隆雄、金井克光
2. 発表標題 Lansoprazole suppresses the cisplatin-induced cytotoxicity through p38 MAPK/Nrf2 antioxidant pathway in rat hepatic RL34 cells.
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本悠太、山岸直子、伊藤隆雄、金井克光
2. 発表標題 リノール酸のGPR120パスウェイを介した食後血糖抑制効果.
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤隆雄、山本悠太、山岸直子、金井克光
2. 発表標題 胃の壁細胞は血中トリグリセリド濃度の上昇に応じてエストロゲンを分泌する
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤隆雄、山本悠太、山岸直子、金井克光
2. 発表標題 血中トリグリセリド濃度の上昇は直接胃エストロゲンの分泌や血中エストロゲン濃度を上昇させる
3. 学会等名 第90回和歌山医学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤隆雄、山本悠太、山岸直子、金井克光
2. 発表標題 血中トリグリセリド濃度による胃由来エストロゲン分泌への影響
3. 学会等名 第98回日本解剖学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山岸 直子, 山本 悠太, 伊藤 隆雄, 金井 克光
2. 発表標題 Activation of p38 MAPK is required for the nuclear translocation of Nrf2 by lansoprazole in rat hepatic RL34 cells
3. 学会等名 第127回日本解剖学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤 隆雄, 山本 悠太, 山岸 直子, 金井 克光
2. 発表標題 胃の壁細胞は血中トリグリセリド濃度に応じてエストロゲンを分泌する
3. 学会等名 第127回日本解剖学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本 悠太, 伊藤 隆雄, 山岸 直子, 金井 克光
2. 発表標題 腹膜炎におけるランソプラゾールのマクロファージ遊走促進効果
3. 学会等名 第127回日本解剖学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山岸 直子, 山本 悠太, 西 利男, 伊藤 隆雄, 金井 克光
2. 発表標題 RL34細胞においてランソプラゾールによるNrf2核移行にはp38 MAPKの活性化が必須である
3. 学会等名 第126回日本解剖学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 隆雄, 山本 悠太, 山岸 直子, 金井 克光
2. 発表標題 胃由来エストロゲンが肝臓に及ぼす影響
3. 学会等名 第126回日本解剖学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ランソプラゾールはブレオマイシンによる腹膜硬化症を増悪させる
2. 発表標題 山本 悠太, 山岸 直子, 伊藤 隆雄, 金井 克光
3. 学会等名 第126回日本解剖学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山岸 直子, 山本 悠太, 西 利男, 伊藤 隆雄, 金井 克光
2. 発表標題 ランソプラゾールはp38MAPK/Nrf2/HO1経路を介してシスプラチン誘導性肝細胞死を抑制する .
3. 学会等名 第125回日本解剖学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤 隆雄, 山本 悠太, 山岸 直子, 金井 克光
2. 発表標題 胃切除がもたらす肝機能への影響
3. 学会等名 第125回日本解剖学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 悠太, 谷地 晃, 奈須 翔太, 山岸 直子, 伊藤 隆雄, 金井 克光
2. 発表標題 ランソプラゾールがブレオマイシンによる腹膜線維化を亢進させる
3. 学会等名 第125回日本解剖学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山岸 直子、山本 悠太、西 利男、伊藤 隆雄、金井 克光
2. 発表標題 ランソプラゾールはNrf2経路を活性化することによって肝細胞障害を抑制する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永野 ひかる、富田 知里、山岸 直子、近藤 茂忠
2. 発表標題 大腸がん細胞の増殖におけるVascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGF-R1) の役割解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山岸 直子、山本 悠太、西 利男、伊藤 隆雄、金井 克光
2. 発表標題 ランソプラゾールはNrf2経路を活性化することによって肝細胞保護作用を示す
3. 学会等名 第18回生体機能研究会
4. 発表年 2019年

〔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
---------	---------