

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07363

研究課題名（和文）肝星細胞の分化におけるリン脂質代謝酵素の役割の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the role of phospholipid metabolic enzymes in differentiation of hepatic stellate cells

研究代表者

飯塚 佳子（IIZUKA, Yoshiko）

北里大学・医療衛生学部・講師

研究者番号：60436574

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）：申請者は肝星細胞に発現するリン脂質代謝酵素の中で、筋線維芽細胞様細胞への分化過程において顕著に減少する酵素を見出した。初代マウス肝星細胞でリン脂質代謝酵素の遺伝子発現抑制を行うと未分化マーカーであるグリア線維性酸性蛋白質(GFAP)の発現が顕著に減少した。肝星細胞株において、PUFA含有リン脂質の減少はTGFβシグナル伝達因子を活性化し、線維化マーカーのmRNA発現、タンパク発現を誘導した。PUFA含有リン脂質は肝星細胞の未分化状態の維持に重要である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

本研究成果はリン脂質脂肪酸組成の変化と肝線維化の関連性を初めて明らかにした。リン脂質脂肪酸組成は臓器、細胞によって異なり、細胞機能にとって理にかなった分布であることが推察されるが、その生物学的意義は不明な点が多い。本研究においてPUFA含有リン脂質が肝星細胞の恒常性の維持に重要であるという重要な知見が得られた。組織線維化は臓器不全の入り口に当たる共通の病態である。組織線維化の共通原理につながる可能性がある点、肝臓のみならず、組織線維化の進行抑制、臓器不全の進行予防といった治療法の確立につながる点で学術的にも社会的にも重要であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Among the phospholipid metabolic enzymes expressed in hepatic stellate cells, the applicant discovered an enzyme that decreases significantly during the differentiation process into myofibroblast-like cells. When gene expression of phospholipid metabolic enzymes was suppressed in primary mouse hepatic stellate cells, the expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), an undifferentiation marker, was significantly reduced. In hepatic stellate cell lines, reduction of PUFA-containing phospholipids activated TGFβ signaling factors and induced mRNA and protein expression of fibrosis markers. It was suggested that PUFA-containing phospholipids may be important for maintaining the undifferentiated state.

研究分野：脂質生化学

キーワード：肝線維化 リン脂質 星細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性肝炎は(NASH)は肝臓に炎症や線維化が惹起され、肝硬変、さらに肝癌といった重篤な疾患へと進行することが知られている。試験管レベルでは肝線維化を抑制できる化合物が見つかったが、*in vivo* では大きな副作用の問題から創薬に至らず、有効な治療の手立てがないという厳しい状況にある。

炎症により静止型肝星細胞から筋線維芽細胞様細胞への形質転換の結果、コラーゲンの合成促進と収縮力の増強が肝線維化の本体であると考えられている。静止型肝星細胞はビタミン A を脂質滴として貯蔵している。病態時に肝星細胞が活性化され、筋線維芽細胞様細胞へ分化が進むと脂質滴は消失し、ビタミン A の枯渇と恒常性の破綻が生じる。*In vitro* の実験において、活性化型肝星細胞にオレイン酸を添加し、脂肪滴を人為的に貯蔵させると静止型肝星細胞様細胞に戻る。肝星細胞における脂質滴の維持は病態の進行抑制という観点でも重要であることが示唆される。脂肪滴はリン脂質一重膜に覆われており、リン脂質に含まれる脂肪酸鎖の種類により脂肪滴のサイズが変化することが分かっている。

2. 研究の目的

申請者は肝星細胞に発現するリン脂質代謝酵素の中で、筋線維芽細胞様細胞への分化過程において顕著に減少する酵素に着目した。siRNA 処理によるリン脂質代謝酵素の遺伝子発現抑制が分化に対してどのような影響を及ぼすのか調べることにより、静止型肝星細胞の恒常性の維持にどのような役割を果たしているのかについて明らかにし、分化抑制機構につながる知見の発見を目的とした。

3. 研究の方法

マウスの肝臓から collagenase 灌流法と Percoll 密度勾配遠心法により、初代肝星細胞を単離した。siRNA による遺伝子発現抑制を行い、遺伝子発現変動を調べた。肝星細胞の細胞株を用い、siRNA 処理の有無による TGF 刺激による線維化誘導に対する影響を RNA 発現、タンパク発現、形態学的解析により評価した。

4. 研究成果

初代マウス肝星細胞でリン脂質代謝酵素の発現抑制を行なった結果、未分化マーカーであるグリア線維性酸性蛋白質(GFAP) の発現が顕著に減少した。

肝星細胞の細胞株でリン脂質代謝酵素の siRNA 処理を行うと PUFA 含有リン脂質が減少した。2 ng/mL TGF 刺激後、RNA を抽出し発現解析を行ったところ、Col1A1 (collagen type I alpha 1 chain) の発現が誘導されるが、Col1A1 の発現レベルが siRNA 処理細胞で顕著に増加した。TGF 刺激後の細胞からタンパクを回収し Smad のリン酸化を調べたところ、siRNA 処理細胞でリン酸化が優位に増強されていた。SMA1 の発現は TGF の刺激の有無に関わらず、siRNA 処理により誘導されていた。100 μ M オレイン酸添加による脂肪滴の形成を脂肪滴染色にて調べたところ siRNA 処理による影響は観察されなかった。

PUFA 含有リン脂質は肝星細胞の未分化状態の維持に重要である可能性が示唆された。

図 後日再提出

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yoshiko Iizuka, Kinuko Inomata, Risako Nohara, Akimitsu Miyawaki and Yoshifumi Watanabe	4. 巻 3
2. 論文標題 Activation of intracellular antioxidant master gene Nrf2 by the extracts of <i>Garcinia subelliptica</i> , <i>Ocimum gratissimum</i> L., and <i>Plectranthus ornatus</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Herbal Medicine	6. 最初と最後の頁 54-60
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 飯塚 佳子	4. 巻 541
2. 論文標題 新型コロナウイルス感染症について	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 月刊浄化槽	6. 最初と最後の頁 4-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Daisuke Hishikawa, Keisuke Yanagida, Katsuyuki Nagata, Ayumi Kanatani, Yoshiko Iizuka, Fumie Hamano, Megumi Yasuda, Tadashi Okamura, Hideo Shindou, Takao Shimizu	4. 巻 23
2. 論文標題 Hepatic Levels of DHA-Containing Phospholipids Instruct SREBP1-mediated Synthesis and Systemic Delivery of Polyunsaturated Fatty Acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101495
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101495	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Lokadi Pierre Luhata, Yoshiko Iizuka, Ryotaro Eda, Hiroshi Uchida, Christian Nanga Chick, Makoto Kubo, and Toyonobu Usuki	4. 巻 53
2. 論文標題 Synthesis and Property of Silver Nanoparticles with Verbacoside	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Chem.Lett.	6. 最初と最後の頁 なし
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/chemle/upad024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yoshifumi Kurosaki, Rikke Nielsen, Motoshi Ouchi, Asuka Morita, Akemi Imoto, Fumitaka Kawakami, Yoshiko Iizuka, Geraldine Mollet, Ichikawa Takafumi, Masanori Yokoba, Masato Katagiri, Tsuneo Takenaka, Naohito Ishii
2. 発表標題 1.FATTY ACID-ASSOCIATED ALBUMIN INDUCES PROLIFERATION AND SENESCENCE OF PROXIMAL TUBULAR CELLS
3. 学会等名 59th ERA congress
4. 発表年 2022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
---------	---------