

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06544

研究課題名(和文) 加齢依存的脂肪性肝疾患の病態と分子機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of pathogenesis and molecular mechanisms of age-dependent fatty liver disease

研究代表者

小藤 智史 (Kofuji, Satoshi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・講師

研究者番号：00508153

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)：飽食や高齢化に伴い、肝臓の脂肪化という病態が問題となってきた。興味深いことに、加齢依存性の脂肪肝も報告されてきている。脂肪性肝疾患は線維化を発症し、肝硬変、肝がんへと重症化する可能性があるため、その発症機構の解明は急務である。本研究では、加齢依存性の疾患について寿命が半年であり、老化研究で注目されているモデル生物アフリカメダカを用いて解析した。肝臓の組織解析から、アフリカメダカの肝臓では、孵化後、脂肪肝を発症すること、加齢とともに蓄積した脂肪が消失していくこと、そして、逆に線維化が進むことを見出した。これらの結果は、アフリカメダカが脂肪肝の解析に有用なモデルとなることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢社会である現代社会においては、加齢に伴う疾患の予防法または治療法の開発が急務である。本研究は加齢依存性の肝疾患の新たな治療法確立のための基盤研究である。そのため、本研究を進展させることで学問的だけでなく、将来的にQuality of Lifeを高めることにも繋がりうる。

研究成果の概要(英文)：With the advent of a satiation period and an aging population, the fatty liver has become a growing problem. Interestingly, age-dependent fatty liver has also been reported. Since fatty liver disease can develop fibrosis, which can lead to severe disease progression to cirrhosis and hepatocarcinoma, there is an urgent need to elucidate the pathogenesis of this disease. In this study, age-dependent diseases were analyzed using the African turquoise killifish, a model organism that has attracted attention in aging research because of its half-life span. From histological analysis of the liver, we found that African killifish livers develop fatty liver after hatching, that accumulated lipids disappear with aging, and that, conversely, fibrosis develops. These results suggest that the African killifish is a useful model for fatty liver analysis.

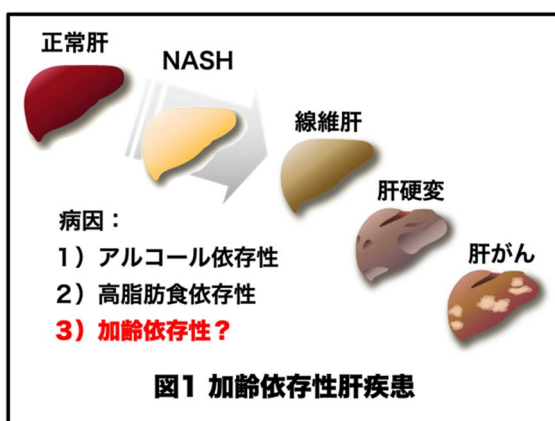
研究分野：分子生物学

キーワード：肝臓 脂肪化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国内外で豊かな時代になり、飽食や高齢化に伴う様々な健康問題が生じていた。例えば、飽食により、高脂肪食が原因となる脂肪性肝疾患 (NASH) が問題となっていた。NASH は、アルコール多飲歴が原因と考えられる脂肪性肝疾患に対し、非アルコール性脂肪性肝疾患と呼ばれる。脂肪肝には進行性のない単純性脂肪肝と線維肝、肝硬変を経て肝がんへと重症化する NASH が存在する。そのため、NASH の発症および進行を止めることは重要である。NASH の解析については、これまで高脂肪食を与えたマウスモデルが用いられてきた。興味深いことに最近、加齢依存性の脂肪肝が報告された (*Nat Commun* 2017; *Cell Rep* 2018)。しかしながら、肝がんへと重症化する NASH の加齢依存的な発症機構はほとんど未解明であった (図 1)。

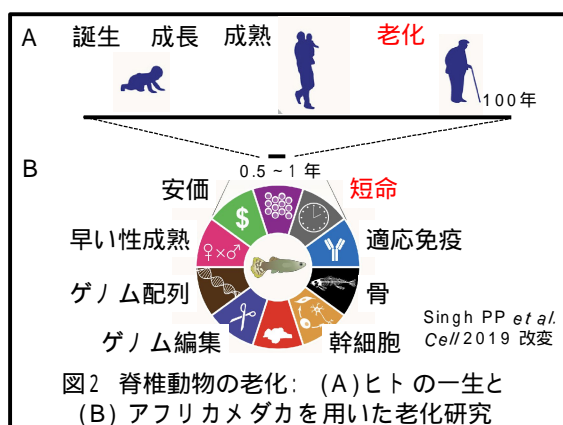


2. 研究の目的

高脂肪食の摂取が原因となる NASH については多くの研究が行われてきた。しかし、「加齢」という因子が引き起こす NASH の病態については不明であった。本研究では、加齢依存性 NASH 発症機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

加齢依存性の疾患研究において問題となるのが、疾患の発症までに時間がかかることであった。例えば、マウスにおける加齢依存性の脂肪肝の発症には 2 年近く必要である。よって、短期間に老化するモデル生物が求められていた。2000 年代に「老化研究に有用なモデル生物」としてアフリカメダカが報告された。脊椎動物であるアフリカメダカは、加齢による老化が早く、寿命が半年程度と短い。これに加えて、2015 年にはゲノム配列のドラフト版が報告され、CRISPR/Cas9 を初めとした様々な遺伝学の技術が利用可能である。そのため、ヒトの一生を 1 年未満に凝縮した老化モデルとして用いられている (図 2)。



本研究では、寿命の異なる二種類の系統のアフリカメダカにおいて寿命および肝臓の加齢に伴う病態の経時変化を脂肪化、そして線維化の観点から解析した。

4. 研究成果

1) 外観の変化と寿命

初めに、二種類のアフリカメダカの外観と寿命について検討を行った(図3)。その結果、より短命であるGRZ系統では、1ヶ月齢以降で徐々に死亡し始め、孵化後30週までには全例が死亡した。その平均寿命は22週であった。寿命が長い方のMZM系統では、GRZ同様に1-2ヶ月齢から死に始め、孵化後40週付近でほとんど全例が死亡した。その平均寿命は35週であった。外観は、どちらも年齢とともに色が薄くなり、鱗が少なくなるなどの変化が生じた。

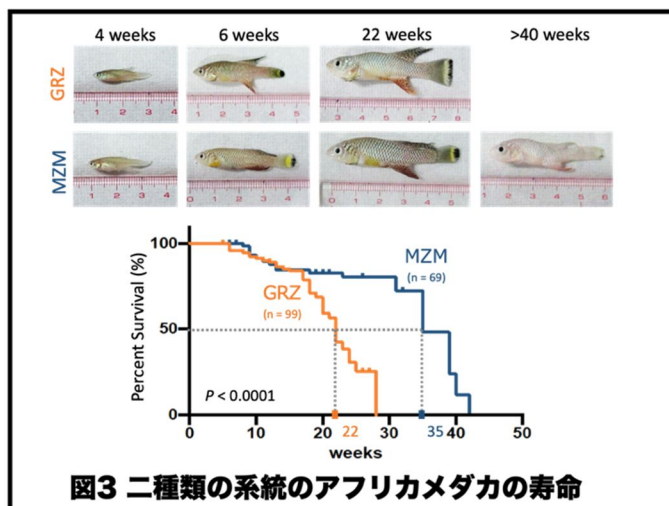


図3 二種類の系統のアフリカメダカの寿命

2) 加齢に伴う肝臓の組織変化

肝臓の加齢依存的な変化を経時的に(1, 2, 3, 4ヶ月齢)調べた。パラフィン切片を用いたヘマトキシリン-エオシン染色を行ったところ、両 strain ともに1ヶ月齢で肝細胞質に多数の空胞が生じていた(図4)。これは2ヶ月齢でも確認された。3ヶ月齢以降で空胞の程度が少なくなり、4ヶ月齢では、空胞は確認できなくなった。

次に、この空胞の中身を調べるために、オイルレッドO染色を行った(図5)。その結果、1ヶ月齢の肝臓で、オイルレッドOの強い染色を認めた。この染色の程度は、加齢とともに低下していき、4ヶ月齢ではほとんど検出できなかった。この結果は、空胞の中身が中性脂質であることを示唆している。

中性脂肪を含んだ液滴が消失した後の組織変化をより詳しく解析するために、シリウスレッド染色を行った。その結果、両 strain ともに3ヶ月齢以降で陽性像を認めた。この結果は、肝臓において加齢依存的に線維化が亢進することを示唆している。

以上の結果から、アフリカメダカの肝臓は、生後、脂肪を含んだ肝臓から加齢とともに線維化を発症する肝臓へと組織変化することが明らかとなった。それゆえ、アフリカメダカ肝臓は、ヒト NASH の病態変化の分子機構解明のための有用なモデルであると考えられる。

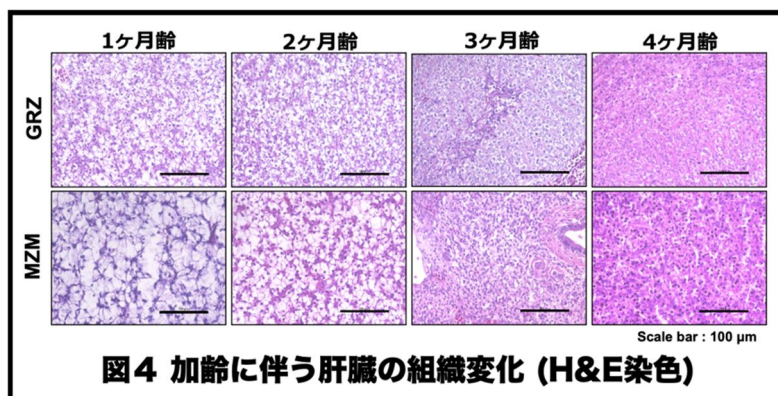
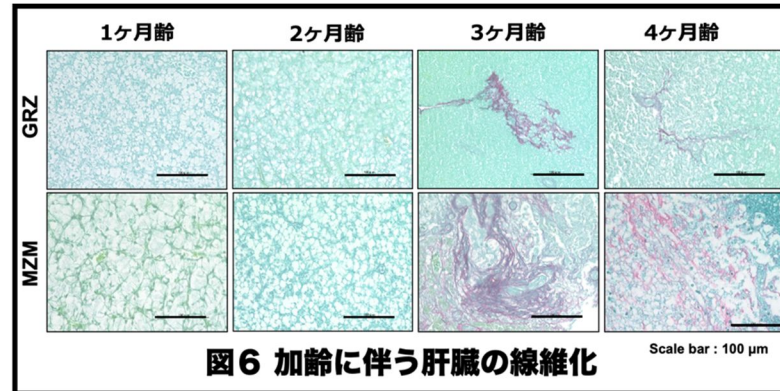
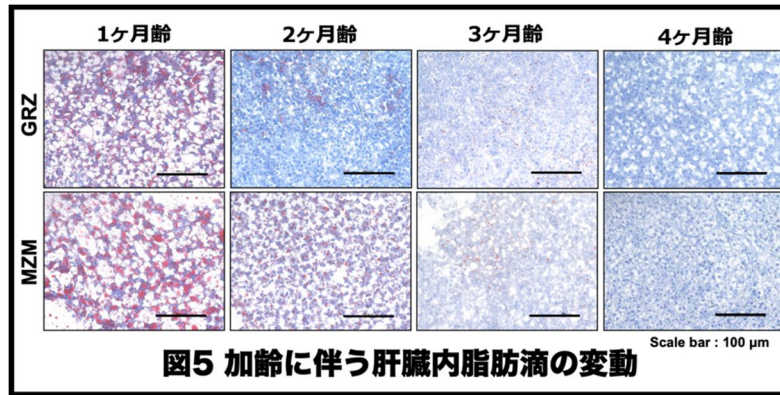


図4 加齢に伴う肝臓の組織変化 (H&E染色)



5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Shibata T, Kawana H, Nishino Y, Ito Y, Sato H, Onishi H, Kano K, Inoue A, Taketomi Y, Murakami M, Kofuji S, Nishina H, Miyazawa A, Kono N, Aoki J.	4. 巻 12
2. 論文標題 Abnormal male reproduction and embryonic development induced by downregulation of a phospholipid fatty acid-introducing enzyme Lpgat1 in zebrafish	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7312
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-11002-4.	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 Oda C, Kamimura K, Shibata O, Morita S, Tanaka Y, Setsu T, Abe H, Yokoo T, Sakamaki A, Kamimura H, Kofuji S, Wakai T, Nishina H, Terai S.	4. 巻 32
2. 論文標題 HBx and YAP expression could promote tumor development and progression in HBV-related hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 101352
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2022.101352.	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 Kobayashi S, Ogasawara N, Watanabe S, Yoneyama Y, Kirino S, Hiraguri Y, Inoue M, Nagata S, Okamoto-Uchida Y, Kofuji S, Shimizu H, Ito G, Mizutani T, Yamauchi S, Kinugasa Y, Kano Y, Nemoto Y, Watanabe M, Tsuchiya K, Nishina H, Okamoto R, Yui S.	4. 巻 42
2. 論文標題 Collagen type I-mediated mechanotransduction controls epithelial cell fate conversion during intestinal inflammation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41232-022-00237-3.	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 Pu Jing, Kofuji Satoshi, Okamoto-Uchida Yoshimi, Danzaki Keiko, Yu Ruoxing, Suzuki Akira, Kitajima Satoshi, Nishina Hiroshi	4. 巻 41
2. 論文標題 Lethal Phenotype-Based Database Screening Identifies Ceramide as a Negative Regulator of Primitive Streak Formation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Stem Cells	6. 最初と最後の頁 1142 ~ 1156
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/stmcls/sxad071	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13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小藤智史、長尾裕志、仁科博史
2. 発表標題 成熟神経細胞機能低下による加齢依存性肝再生不全誘導機構の解明
3. 学会等名 2023年度 日本生化学会関東支部例会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chen Junjie, Satoshi Kofuji, Hiroshi Nishina
2. 発表標題 Characterization of aging phenotypes in African turquoise killifish
3. 学会等名 ファーマバイオフォーラム2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satoshi Kofuji, Jing Pu, Yoshimi Okamoto-Uchida, Keiko Danzaki, Hiroshi Nishina
2. 発表標題 Identification of metabolic pathways regulating early mouse embryogenesis
3. 学会等名 第18回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小藤智史、Jing Pu、岡本-内田好海、檀崎敬子、仁科博史
2. 発表標題 スフィンゴ脂質代謝は臓器形成に必須組織である原始線条形成を制御する
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小藤智史、長尾裕志、岡本 内田好海、仁科博史
2. 発表標題 加齢依存的神経機能低下による肝再生不全機構の解明
3. 学会等名 第144回日本薬学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小藤智史、Jing Pu、仁科博史
2. 発表標題 スフィンゴ脂質代謝は臓器形成に必須組織である原始線条形成を制御する
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小藤智史、長尾裕志、仁科博史
2. 発表標題 肝再生における神経細胞内MKK-JNKシグナル経路の機能解明
3. 学会等名 第30回日本Cell Death学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 成熟神経細胞機能低下による加齢依存性肝再生不全誘導機構の解明
3. 学会等名 第3回細胞死コロキウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoshi Kofuji, Yikelamu Alifu, Sachi Sunaga, Mizuki Kusaba, Jun Hirayama, Hiroshi Nishina
2. 発表標題 The light-inducible genes Per2, Cry1a and Cry2a regulate oxidative status in zebrafish
3. 学会等名 第27回小型魚類研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 核酸代謝リプログラミングと核小体の活性化
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小藤智史
2. 発表標題 胎生致死から読み解くマウス原始線条形成機構
3. 学会等名 第2回細胞死コロキウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jing Pu, Satoshi Kofuji, Hiroshi Nishina
2. 発表標題 Identification of metabolic pathways involved in murine primitive streak formation
3. 学会等名 第29回日本 Cell Death 学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小藤智史、須永沙智、仁科博史
2. 発表標題 転写共役因子YAPはコリン代謝を活性化させることにより細胞競合を引き起こす
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021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
---------	---------