

2023年度 独創的研究助成費 実績報告書

2024年 3月 29日

報告者	学科名	栄養学科	職名	助教	氏名	戸田圭祐
研究課題	肝星細胞活性化における血小板型12-リポキシゲナーゼの誘導機構の解明					
研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	戸田圭祐	栄養学科・助教		脂質生化学	実験全般
	分担者	高橋 吉孝	栄養学科・教授		病態生化学	研究総括
研究実績の概要	<p>非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は、食の欧米化によって激増したメタボリック症候群や糖尿病を基盤とし、著しいアルコールの接種がないにも関わらずアルコール性肝炎類似の肝組織所見を呈する疾患である。本疾患は進行すると肝臓における炎症から肝細胞が傷害され、I型コラーゲンを主体とする細胞外マトリックスが過剰に蓄積する状態である線維化を引き起こし、その後高率に肝硬変や肝臓癌に至るが、そのメカニズムについては十分に解明されていない。</p> <p>これまで本研究室において、正常のマウス肝臓ではほとんど検出されない12-リポキシゲナーゼの酵素活性が、メチオニン・コリン欠乏(MCD)食給餌のNASHモデルマウス肝臓において検出できるレベルまで上昇すること、この血小板型12-リポキシゲナーゼは肝臓の中でも肝線維化において中心的な役割を担う肝星細胞に特異的に発現しており、NASH進展における活性化肝星細胞(筋線維芽細胞)への分化に伴って、その発現レベルが上昇することを明らかにした。また、血小板型12-リポキシゲナーゼノックアウトマウスにMCD食を給餌してNASHモデルマウスを作成したところ、野生型マウスのMCD食給餌群よりも線維化のレベルが有意に上昇していること、さらにヒト肝星細胞株TWNT-1における血小板12-リポキシゲナーゼの過剰発現によりコラーゲン遺伝子(<i>COL1A1</i>、<i>COL1A2</i>)の発現レベルが低下することを明らかにした。</p> <p>以上のことは、NASH進展における肝線維化の段階で、血小板型12-リポキシゲナーゼが抑制的に働くことを示している。そこで、肝星細胞に局在する血小板型12-リポキシゲナーゼの誘導がどのように調節されているのか、ひいては、本酵素の発現調節が、NASH進展にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的として本研究を行った。</p> <p>昨年度までに行った検討で、TWNT-1においてサイトカインの一種である腫瘍壊死因子(TNF)αが血小板型12-リポキシゲナーゼの転写活性を促進し、本遺伝子のmRNA発現レベルを濃度依存的に上昇させることが明らかとなった。また、TNFαで24時間処理したラットの肝星細胞から抽出したRNAのノザンプロット分析で、<i>Col1a1</i>の発現が低下したとの先行研究があるが、実際、ヒト肝星細胞株TWNT-1をTNFαで24時間処理し、RNAを回収しリアルタイムPCRで確認すると、<i>COL1A1</i>の発現は低下した。そこで、本年度は肝星細胞における本酵素の発現調節に寄与する転写調節領域を同定するために、5'非翻訳領域のシスエレメントを少しずつ削除するように設計したルシフェラーゼ発現プラスミドを構築した。今後は、この各プラスミドを使用し、転写活性調節効果の消失が見られた部分から、寄与するプロモーター領域を推定する予定である。</p>					

※ 次ページに続く

成果資料目録

1. ○Toshiko Suzuki-Yamamoto, Izumi Tsukayama, Yuki Kawakami, Asako Tamenobu, **Keisuke Toda**, Saya Maruoka, Hideyuki Ito, Yoshitaka Takahashi, Yoshimi Miki, Makoto Murakami. Malabaricone C derived from nutmeg inhibits arachidonate 5-lipoxygenase activity ameliorating murine psoriasis-like skin inflammation and OVA-induced allergic airway inflammation. 63th International Conference on the Bioscience of Lipids, Palma, Spain, Oct. 2-5, 2023.
2. ○川上祐生、津嘉山泉、**戸田圭祐**、伊東秀之、高橋吉孝、山本登志子. ナツメグ含有成分 malabaricone C による 5-リポキシゲナーゼ活性阻害と気管支喘息改善効果. 第 96 回日本生化学会大会, 福岡国際会議場・マリノメッセ福岡 B 館, 福岡, 10 月 31 日 -11 月 2 日, 2023.
3. ○**戸田圭祐**、岡本知子、津嘉山泉、川上祐生、山本登志子、高橋吉孝. 血小板型 12S-リポキシゲナーゼの肝線維化に及ぼす影響. 第 14 回 川崎医科大学学術集会, 現代医学教育博物館, 岡山, 7 月 29 日, 2023.
4. 津嘉山泉, 川上祐生, 爲延麻子, **戸田圭祐**, 丸岡紗也, 長崎祐樹, 高橋吉孝, 三木寿美, 村上誠, ○山本登志子. ナツメグ由来 malabaricone C による 5-リポキシゲナーゼ活性阻害と乾癬改善効果. 第 65 回日本脂質生化学会, KKR ホテル熊本, 熊本, 6 月 8-9 日, 2023.
5. ○川上祐生、伊澤歩、岩岡裕二、**戸田圭祐**、津嘉山泉、山本登志子、伊東秀之、高橋吉孝. チェリー・オブ・ザ・リオ・グランデ葉に含まれる 5-リポキシゲナーゼ阻害成分の探索. 第 77 回日本栄養・食糧学会大会, 札幌コンベンションセンター, 北海道. 5 月 12-14 日, 2023.