

平成 30 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	炎症性サイトカイン TGFβ による Sirt1 の制御と肝星細胞の活性化機構の解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：天野 恭志 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

肝臓の線維化は生活習慣や加齢に伴う老化、ウイルス感染によって生じる結果、慢性的な炎症を誘導し、肝硬変や肝がんを発症する病因となり得る。しかし一方で、薬剤によって改善する可能性が残されている。本研究では、線維化の主要因子である TGFβ による線維化を抑制する機構について明らかにすることを目的とする。

2. 研究経過及び成果

1. TGFβ による Sirt1 の発現の制御機構の解析

マウス胎仔線維芽細胞(以下 MEF)において、Sirt1 の発現を解析するために定量性 PCR を行なったところ、TGFβ 刺激による mRNA レベルでの発現において顕著な変化はなかった (Fig1.A)。ところが、時間依存的にタンパク質レベルでは低下することを明らかにした (Fig1.B)。また、TGFβ の下流で、Smad2 のリン酸化を解析したところ、刺激後 3 時間では検出されたが、24 時間後には検出されなかった (Fig1.C)。このことから、TGFβ による Sirt1 の発現の低下は、Non-canonical TGFβ シグナル伝達によるものと考えられた。

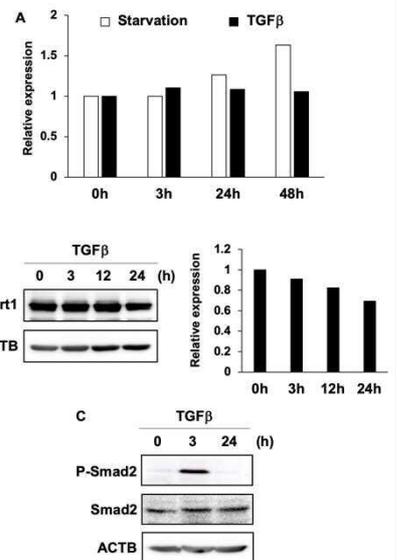


Figure 1. Sirt1 regulated by TGFβ signaling, independently of Smad pathway

2. ニコチンアミドモノヌクレオチドによる線維化の抑制機構の解析

Sirtuin や補酵素 NAD⁺合成による経路は、線維化形成に関与することが申請者らを含む複数のグループにより明らかになっている。しかし、線維芽細胞において、この分子経路がどのような機構によって線維化を抑制するのかについては明らかになっていない。そこで、ニコチンアミドモノヌクレオチドが TGFβ によって誘導された線維化形成を抑制する機構を明らかにするために、次世代シーケンサーによる RNAseq 解析を行った。MEF 細胞に対して Control、TGFβ、TGFβ とニコチンアミドモノヌクレオチドを投与した細胞を比較した。その結果、TGFβ を単独で投与した細胞と比較して、TGFβ とニコチンアミドモノヌクレオチドを投与した細胞では、TGFβ 経路や炎症性反応の経路に関与する遺伝子群が有意に低下していた (Fig2)。

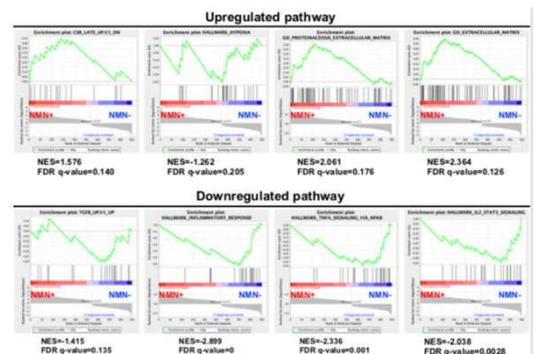


Figure 2. GSEA analysis revealed some genesets related with TGFβ pathway were down-regulated by Sirtuin pathway activation.

3. 本研究と関連した今後の研究計画

培養細胞を用いた実験により、TGFβによる線維化の誘導に対して Sirtuin 経路が抑制されていることが明らかになった。今後は、詳細な分子機構を明らかにするとともに、マウスモデルを用いた個体におけるこの分子経路について明らかにしていきたいと考えている。そのため、肝臓だけでなく、様々な臓器や組織に存在する線維芽細胞について、近年急速に進歩してきているシングルセル解析と NGS 解析を組み合わせることによって、遺伝子発現や調節における分子経路を解析していくことも考えている。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
日本がん分子標的治療学会	口頭	令和元年 6 月
日本生化学会	口頭	令和元年 9 月