

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	NASH根治に向けた活性型肝星細胞を標的とする時間治療型ナノDDS基盤技術の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部 創剤科学分野・准教授	氏名	金沢 貴憲
	研究分担者	所属・職名	薬学部 創剤科学分野・教授	氏名	近藤 啓
		所属・職名	薬学部 創剤科学分野・助教	氏名	照喜名 孝之
		所属・職名	薬学部 薬理学分野・助教	氏名	山口 桃生
		所属・職名	日本大学薬学部・准教授	氏名	和田 平
	発表者	所属・職名	薬学部 創剤科学分野・准教授	氏名	金沢 貴憲

講演題目	NASH根治に向けた活性型肝星細胞を標的とする時間治療型ナノDDS基盤技術の開発
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) において、肝線維化の責任細胞である活性型肝星細胞 (a-HSC) を標的とする創薬研究が活発に行われている。a-HSC は、NASH における肝線維化の責任細胞であり、この a-HSC を、肝再生能を有する静止型 HSC へ脱活性化できれば、NASH の根治および肝臓の再生が期待される。現在、a-HSC の脱活性化に関与するシグナル伝達経路とその候補薬物の報告はいくつかあるものの、in vivo では、a-HSC への薬物移行が著しく制限されるため、期待した治療効果を発揮できないケースが多い。よって、a-HSC 標的治療の実現には、NASH 病態下の肝臓で形成される硬く密な線維組織の物理的障害を掻い潜り、肝臓の 10%程度しか存在しない a-HSC に特異的な指向性を持つ DDS が必要不可欠である。一方、近年、生体において細胞間相互作用を担うエクソソームなどの細胞外小胞 (small extracellular vesicle: sEV) が、臓器・細胞特異性を示すことが報告されている。</p> <p>本研究では、a-HSC 指向性を持つ sEV の探索を目的として、NASH 病態下の肝臓内細胞間相互作用に着目し、脂肪酸で刺激した肝実質細胞由来 sEV の物性と HSC への取り込みについて無処置細胞由来 sEV と比較した。また、線維化の日内変動を検討するため、NASH モデルマウスを用いて、朝と夜における肝臓内でのコラーゲン量の測定を行った。</p> <p>sEV の検討において、マウス由来肝実質細胞株 AML-12 への脂肪酸の暴露は、パルミチン酸 (PA) で 48 時間培養することで行った。PA 処置および無処置 AML-12 細胞の馴化培地から、サイズ排除クロマトグラフィーにより sEV を単離し、物性ならびに、蛍光標識 sEV を用いてヒト HSC 株 LX-2 への細胞取り込みをフローサイトメトリーにより評価した。LX-2 は静止型および TGF-<math>\beta</math> 1 刺激した活性型を用いた。その結果、動的光散乱法により、いずれの sEV も同程度の物性を示し、Western blotting により、CD9 および CD63 の発現が確認された。このとき、PA 処置により sEVs の 1 粒子当たりのタンパク質量は、増大した。また、sEV の静止型 HSC への取り込みでは、PA 処置による変化が見られなかったのに対し、a-HSC への取り込みでは、PA 処理 AML-12 由来 sEV は、無処置 AML-12 由来 sEV に比べて有意に増大した。よって、肝実質細胞由来 sEV は、脂肪曝露により、a-HSC への指向性が増大する可能性が示された。また、NASH モデルマウスの肝臓内コラーゲン量は、朝と夜で有意な差があることを明らかとした。本知見をもとに、引き続き時間治療型ナノ DDS 基盤技術の開発を進めていく。</p>