

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	肝細胞と肝星細胞のクロストークに着目した肝薬物代謝酵素の発現調節に関する研究				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	保坂 卓臣
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	菅野 裕一郎
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	保坂 卓臣

講演題目	肝 CYP3A4 の発現制御における肝星細胞の役割
------	---------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

肝硬変や肝がん等の慢性肝疾患では、CYP3A4 等の薬物代謝酵素の発現が低下することが知られている。したがって、その原因解明は、これら疾患の患者に対するより安全で有効な薬物治療法の確立や、薬物治療の妨げとなる薬物代謝能低下を軽減する手法の開発につながると期待される。これら慢性肝疾患では肝線維化が進行しており、それには肝星細胞が重要な役割を果たしている。肝星細胞は肝臓内の肝細胞と類洞内皮細胞の間隙（ディッセ腔）に存在し、ビタミン A の貯蔵などの役割を担っているが、肝疾患時には活性化され、TGF- β や IL-6 等のサイトカインを分泌して炎症の憎悪や肝線維化を引き起こす。しかし、肝星細胞が慢性肝疾患時の CYP3A4 の発現低下に寄与しているか否かは明らかではない。そこで本研究では、肝 CYP3A4 の発現低下における肝星細胞の役割を明らかにすることを目的とした。

肝細胞と肝星細胞のクロストークを解析するため、モデル細胞としてヒト肝細胞様 HepaRG 細胞及び活性化型の不死化ヒト肝星細胞である LX-2 細胞を用い、定量的逆転写 PCR 法により mRNA レベルを測定した。まず、HepaRG 細胞を LX-2 細胞と共培養したところ、HepaRG 細胞の単独培養に比べて著しく CYP3A4 mRNA レベルが低下した。LX-2 細胞の培養上清 (LX-2 CM) を用いて HepaRG 細胞を培養した場合にも同様の結果が得られたことから、LX-2 細胞が CYP3A4 の発現を低下させる因子を分泌していることが示唆された。そこで、肝星細胞が分泌する主要なサイトカインである MCP-1、IL-6、IL-8 及び TGF- β の中和抗体を LX-2 CM に添加して HepaRG 細胞を培養したところ、TGF- β または IL-6 の中和抗体添加により CYP3A4 mRNA レベルの低下が部分的に抑制された。また、その抑制作用は TGF- β と IL-6 の中和抗体を共処置した方がより顕著であった。これより、LX-2 細胞が分泌する TGF- β 及び IL-6 が CYP3A4 の発現低下に寄与している可能性が考えられた。そこで、LX-2 CM 中の TGF- β 及び IL-6 の濃度を ELISA により測定したところ、それぞれ 100 pg/mL 以下、及び 1 pg/mL 以下であったことから、100 pg/mL TGF- β 及び 1 pg/mL IL-6 を HepaRG 細胞に単独または共処置したが、CYP3A4 mRNA レベルの低下は認められなかった。低分子が CYP3A4 の発現低下に寄与しているか否かを調べるために、LX-2 CM を分画分子量 3,000 の膜で限外ろ過し、そのろ液で HepaRG 細胞を培養したところ、LX-2 CM に比べて低下率は小さかったが、CYP3A4 mRNA レベルの低下が認められた。

以上より、肝星細胞から分泌される TGF- β 及び IL-6、並びにこれらの作用を補助する因子、さらには未知の低分子が、慢性肝疾患時における肝 CYP3A4 の発現低下に寄与している可能性が示された。