

プロスタシン発現調節メカニズムの解明による慢性炎症を標的とした治療法の開発

内村幸平

山梨大学医学部 内科学講座 第 3 教室

【研究の背景】

私たちはトリプシン様セリンプロテアーゼであるプロスタシンの新規生理的機能として、『肝臓において Toll 様受容体 4 を切断してその発現レベルを制御し、インスリン感受性を調節することによって飽食・肥満による 2 型糖尿病の発症に深く関与する』という新しい概念を昨年報告した(Nat Commun. 2014 Mar 11)。

【目的】

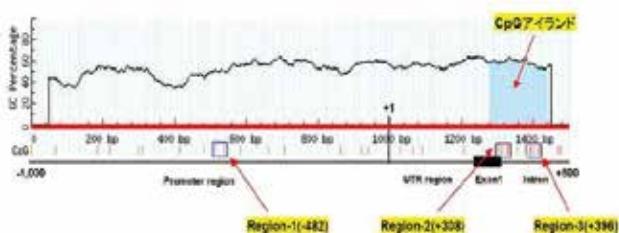
高脂肪食(HFD)負荷によって肝臓におけるプロスタシン発現が減少することが明らかとなっているが、その詳細な機序は未だ不明である。現在私たちは慢性炎症に対して防御的に働くプロスタシンの発現調節メカニズムを解明することによってプロスタシンを介した新規糖尿病治療薬の開発を目指している。

【方 法】

HFD 負荷によるプロスタシン遺伝子に対するエピジェネティックな変化の有無についての検討

・C57BL/6 マウスを HFD 負荷群、通常餌(ND)群(n=3)に分け 4 週間飼育し、HFD 群の肝臓におけるプロスタシン発現が低下していることを Realtime PCR および Western Blotting で確認した。肝臓におけるプロスタシン遺伝子のメチル化について Pyrosequencing assay を用いて比較検討を行った。プロスタシン遺伝子のプロモーター領域には CpG アイランドは存在せず、右図の Region-1、-2、-3 領域について Pyrosequencing assay を行った。

【結果】



Prostasin gene (-482) Region Pyrosequencing Data (C57BL/6J 2013 mice)					
	Genotype	CG%	G%	A%	T%
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.91	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.92	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.91	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.91	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79

Prostasin gene (+308) Region Pyrosequencing Data (C57BL/6J 2013 mice)					
	Genotype	CG%	G%	A%	T%
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.91	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.91	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79

Prostasin gene (+316) Region Pyrosequencing Data (C57BL/6J 2013 mice)					
	Genotype	CG%	G%	A%	T%
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.91	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79
ND	DD	2.92	21.27	73.00	5.81
ND	DA	2.91	21.09	73.00	5.98
ND	AA	2.79	20.99	73.00	5.98
HFD	DD	0.91	19.38	73.00	6.68
HFD	DA	0.92	19.28	73.00	6.78
HFD	AA	0.79	19.09	73.00	6.79

Region-1、-2、-3 領域のいずれにおいても HFD 群と ND 群で有意な差は認めなかった。今回調べた範囲において、HFD がプロスタシン遺伝子に与えるエピジェネティックな変化を検出することは出来なかった。

【考 察】

他領域のエピジェネティック変化を網羅的に検討する必要がある。また、エピジェネティック変化に拘らず、他の因子（ERストレスなど）についても検討・検索を行いたい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

肝臓におけるプロスタシン発現の調節機序を明らかにすることによって、飽食・肥満による糖尿病発症に対する新規治療法の確立が期待できる。近年、わが国においても食生活の欧米化や運動不足から肥満の人が急激に増加し、その病態進展予防は国家的課題となっている。本研究が目指す飽食・肥満によるインスリン抵抗性発症の抑制はメタボリック症候群の病態において上流での病態進展阻止を意味しており、医療経済面においても大きく社会貢献できると考えている。

【参考・引用文献】

The serine protease prostasin regulates hepatic insulin sensitivity by modulating TLR4 signalling.

Uchimura K, Hayata M, Mizumoto T, Miyasato Y, Kakizoe Y, Morinaga J, Onoue T, Yamazoe R, Ueda M, Adachi M, Miyoshi T, Shiraishi N, Ogawa W, Fukuda K, Kondo T, Matsumura T, Araki E, Tomita K, Kitamura K.

Nat Commun. 2014 Mar 11;5:3428. doi: 10.1038/ncomms4428