

iPS細胞肝臓分化誘導系を用いたDOHaDの検証

メタデータ	言語: jpn 出版者: 日本DOHaD学会事務局 公開日: 2019-08-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 五日市, 実侑, 白木, 伸明, 伊東, 宏晃, 桑, 昭苑 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003636

iPS 細胞肝臓分化誘導系を用いた DOHaD の検証

五日市実侑¹、白木伸明¹、伊東宏晃²、糸昭苑¹

1. 東京工業大学・生命理工学院、2. 浜松医科大学・産婦人科

【背景・目的】

胎児期の環境が将来の病気の発症に影響を与えるという概念 (Developmental Origins of Health and Disease : DOHaD) の検証に関しては、妊娠マウスに通常食のカロリー40%減の低栄養食を与えることにより胎仔期に低栄養暴露を受けたマウスは、出生後に高脂肪食が与えられると脂肪肝を発症することが分かっている。さらに胆汁酸の一種であるタウロウルソデオキシコール酸を出生後に投与することにより、この脂肪肝発症が抑制された (Kato et al., Scientific reports., 2015)。この動物実験の結果はマウス胎生期の低栄養暴露と出生後の高脂肪の食事が組み合わされることにより生体における肝臓疾患が惹起され、かつ胆汁酸により治療可能であることを示唆している。一方、ヒトにおいて低栄養暴露と出生後の高脂肪負荷の組み合わせによる脂肪肝発症を実験的に検証することは困難で、胆汁酸の治療効果についても不明である。

そこで、本研究では当研究室で構築済みであるヒト iPS 細胞の肝臓分化誘導系を利用して、上記の栄養環境変化による脂肪肝発症のモデル系の構築を目的とした。

【対象・方法】

肝臓分化では当研究室で開発した方法 (仲井ら, Biology Open, in press) を利用した。肝臓分化は、未分化細胞から内胚葉 (培養 0 から 3 日目)、内胚葉から未熟肝臓細胞 (3 から 15 日目)、さらに成熟肝細胞 (15 日目以降) への 3 段階に大きく分けられる。本研究では低栄養暴露時期として培養 10 日目から 15 日目を設定し、高脂肪負荷の時期として培養 15 日目から 28 日目を設定した。低栄養暴露では血中濃度と同程度のアミノ酸濃度培地を 100% コントロールとし、そこから 80, 60 および 40% アミノ酸濃度培地を作成し、細胞へ添加した。高脂肪負荷では脂質成分を豊富に含む分化誘導培地を作成して用いた。細胞分化についての評価は遺伝子発現、免疫染色により行った。遺伝子発現解析では肝臓マーカー遺伝子を網羅的に評価することが可能な PrimerArray Hepatic Differentiation (Takara) を用い、免疫染色では未熟肝臓マーカーの AFP および成熟肝臓マーカーの ALB を用いた。脂肪肝の評価としては細胞内の脂肪を染色する Oil Red O 染色によって行った。

【結果】

遺伝子解析および免疫染色の結果、培養 28 日目において高脂肪負荷群では ALB mRNA の発現が低下し、ALB 陽性細胞数も低下する傾向にあった。以上の結果から高脂肪負荷により肝臓分化が抑制されることが確認できた。さらに、Oil Red O 染色結果から低栄養暴露群では培養 28 日目における脂肪蓄積がコントロール群に比べて若干多いことが確認され、脂肪肝マーカー遺伝子の発現などについては現在検証中である。

【結論】

本研究では、低栄養暴露と高脂肪負荷の組み合わせによる脂肪肝発症についてヒト iPS 細胞分化誘導系を用いて検討した。その結果、コントロール群に対して低栄養暴露群では脂肪肝の指標である Oil Red O 陽性細胞が増加する傾向が確認された。今後はマウスの発生ステージに従って培養期間をより至適化するとともに、このモデルを用いて脂肪肝予防作用を有する化合物の探索等も行っていきたい。