

静岡県立大学・薬学部・分子病態学分野



- ・ 講師
- ・ 刀坂 泰史

2008 年 静岡県立大学薬学研究院博士後期課程修了
 2008 年 国立がんセンター研究所リサーチレジデント
 2010 年 静岡県立大学薬学部分子病態学分野助教
 2014 年 静岡県立大学薬学部分子病態学分野講師
 2016 年 ボストン大学医学部博士研究員
 2017 年 静岡県立大学薬学部分子病態学分野講師

ハナショウガ成分ゼルンボンの線維化予防効果の解析

[序論]

線維化は、線維性結合組織 (コラーゲンやフィブロネクチンなどの細胞外マトリックス (ECM) の成分) の過剰な蓄積と定義される心不全、慢性腎臓病、肝硬変、肺線維症など様々な慢性疾患において生じ、臓器機能を低下させることが知られている。組織線維化は末期病態への最終共通経路であり、線維化予防薬の開発が期待されている。線維形成は、ほとんどの慢性炎症性疾患の罹患率と死亡率の主な原因として認識されているが、線維症の病因を具体的に標的とする利用可能な治療戦略はほとんどない。

筆者はこれまでに線維化メカニズムの解明を目指した基礎研究、および緑茶成分やカカオポリフェノールなどの食品成分の機能性に関する基礎的および臨床研究を進めてきた^{1,2}。申請者の先行研究において、ゼルンボンは TGF- β による心臓線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化 (α -SMA の発現亢進) とマウスの心機能不全を顕著に抑制した³。線維化に共通するメカニズムとして、TGF- β /SMAD シグナルによる転写反応を介した筋線維芽細胞への分化が鍵となるため、ゼルンボンは、腎臓や肺、肝臓などの線維化についても抑制できることが推測される。申請者のこれまでの研究成果から、ショウガ成分ゼルンボンが心臓以外の慢性疾患に伴う線維化についても抑制作用を有する新たな機能性成分であることを考えた。そこで本研究では、腎臓や肺、肝臓など様々な組織における線維化に対するゼルンボンの機能性を解明することを目的とする。

[結果・考察]

Zer は TGF- β 誘導性の腎臓線維芽細胞の線維化を有意に抑制した

Zer は心臓線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を抑制したことから、腎臓線維芽細胞についても同様の作用を有することが推測できる。そこでラット腎臓線維芽細胞である NRK-49f に Zer を最終濃度が 0.3, 1, 3 μ M となるように処理した後、線維化反応を誘導する TGF- β で刺激を加えて、線維化関連遺伝子 (α -SMA (Acta2), Col3a1) の発現量について qRT-PCR 法を用いて検討した。その結果、TGF- β 刺激により増加した α -SMA 及び Col3a1 の mRNA 量は Zer 処理により有意に抑制された (図 1A)。同様に、Zer が腎臓線維芽細胞の線維化抑制効果を有するかどうかタンパク質レベルで検討を行った。 α -SMA 及び Col3a1 の発現量の変化を WB 法にて検討した。その結果、TGF- β 刺激により誘導された α -SMA 及び Col3a1 発現の増加は、Zer 処理で有意に抑制された (図 1B)。

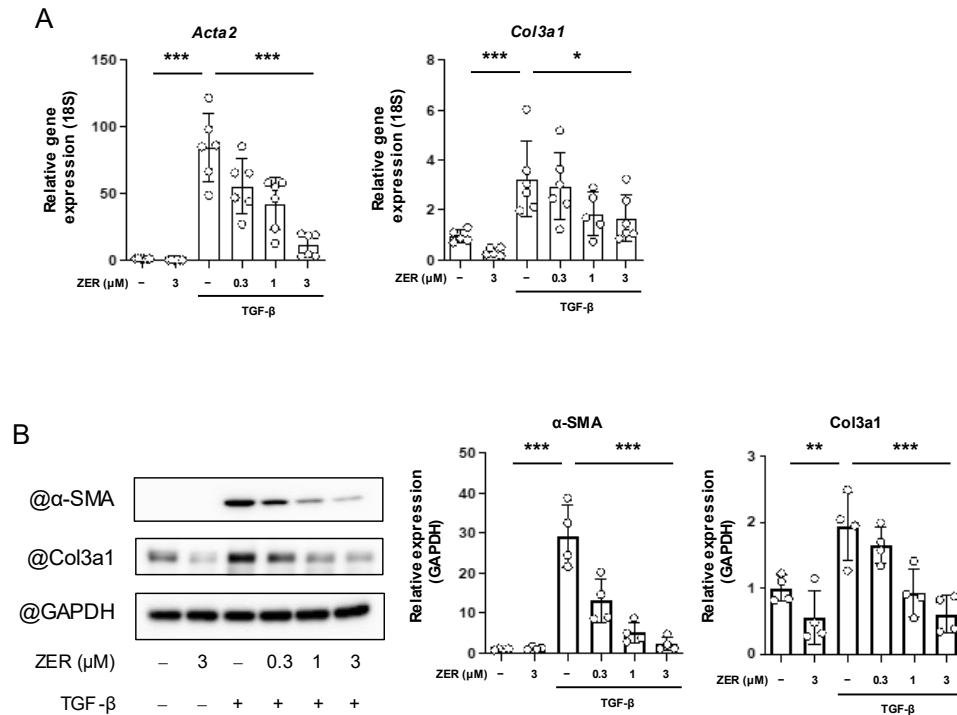


図 1. Zer suppresses TGF- β -induced fibrotic responses in NRK-49F. NRK-49F was stimulated with TGF- β (5 ng/mL) in the presence of Zer (0.3, 1, 3 μ M) for 24h. The gene expression levels of α -SMA and Col3a1 were quantified by qRT-PCR (A). The extracted proteins from the cells were subjected to Western blotting analysis for α -SMA, Col3a1 and GAPDH. The band density was quantified with ImageJ software (B). The values are presented as mean $\pm$ SD (n=4-6). * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001.

Zer は TGF- β 誘導性の肺線維芽細胞の線維化を有意に抑制した

腎臓線維化でも Zer の抑制効果がみられたことから、肺線維化についても有効である可能性が考えられる。そこで肺線維芽細胞に対する Zer の効果を検討した。ヒト肺線維芽細胞である WI-38 に Zer を最終濃度が 0.3, 1, 3 μM となるように処理した後、線維化反応を誘導する TGF- β で刺激を加えて、24 時間培養した。線維化関連遺伝子 (Colla1, Col3a1, α -SMA (Acta2)) の発現量について qRT-PCR を用いて検討した (図 2A)。その結果、TGF- β 刺激により増加した α -SMA 及び Colla1, Col3a1 の mRNA 量は Zer 処理により有意に抑制された。同様に、Zer が腎臓線維芽細胞の線維化抑制効果を有するかどうかタンパク質レベルで検討を行った (図 2B)。 α -SMA 及び Col3a1 の発現量の変化を WB にて検討した。その結果、TGF- β 刺激により誘導された α -SMA 及び Col3a1 発現の増加が、Zer 処理で抑制が見られた。またこれらの抑制効果が細胞毒性によるものかを検討するために、WI-38 に Zer を最終濃度が 0.3, 1, 3 μM となるように処理を行い、24 時間培養した。その後 MTT assay にて、細胞毒性試験を行った (図 2C)。Zer 未処理群を 100%として各サンプルの相対値を算出した。その結果、Zer はどの濃度でも細胞毒性を示さなかった。

[結論]

線維症は様々な器官で細胞外マトリックス成分の蓄積により、その機能不全を引き起こす。本研究では、腎臓と肺の線維化に対するハナショウガ成分 Zer の効果を検討した。本研究より明らかとなった結果は次の通りである。(1) 腎臓および肺の培養線維芽細胞で TGF- β 刺激による線維化応答を Zer は有意に抑制した、(2) これら結果より Zer は複数の臓器において線維化抑制効果を有することが示唆される。

[謝辞]

本研究を遂行するにあたり、ご支援いただきました公益財団法人サッポロ生物科学振興財団ならびに財団関係者の皆様に心より御礼申し上げます。

[参考文献]

1. Katanasaka Y., et al. Fibroblast-specific PRMT5 deficiency suppresses cardiac fibrosis and left ventricular dysfunction in male mice. *Nat. Commun.* 15(1):2472, 2024.
2. Sari N., Katanasaka Y., et al. Zerumbone prevents pressure overload-induced left ventricular systolic dysfunction by inhibiting cardiac hypertrophy and fibrosis. *Phytomedicine* 92:153744, 2021.
3. Katanasaka Y., et al. Ameliorating prediabetic subject status via fermented tea supplementation: A randomized, double-blind, parallel-group comparison study. *J. Funct. Foods* 97:105257, 2022.

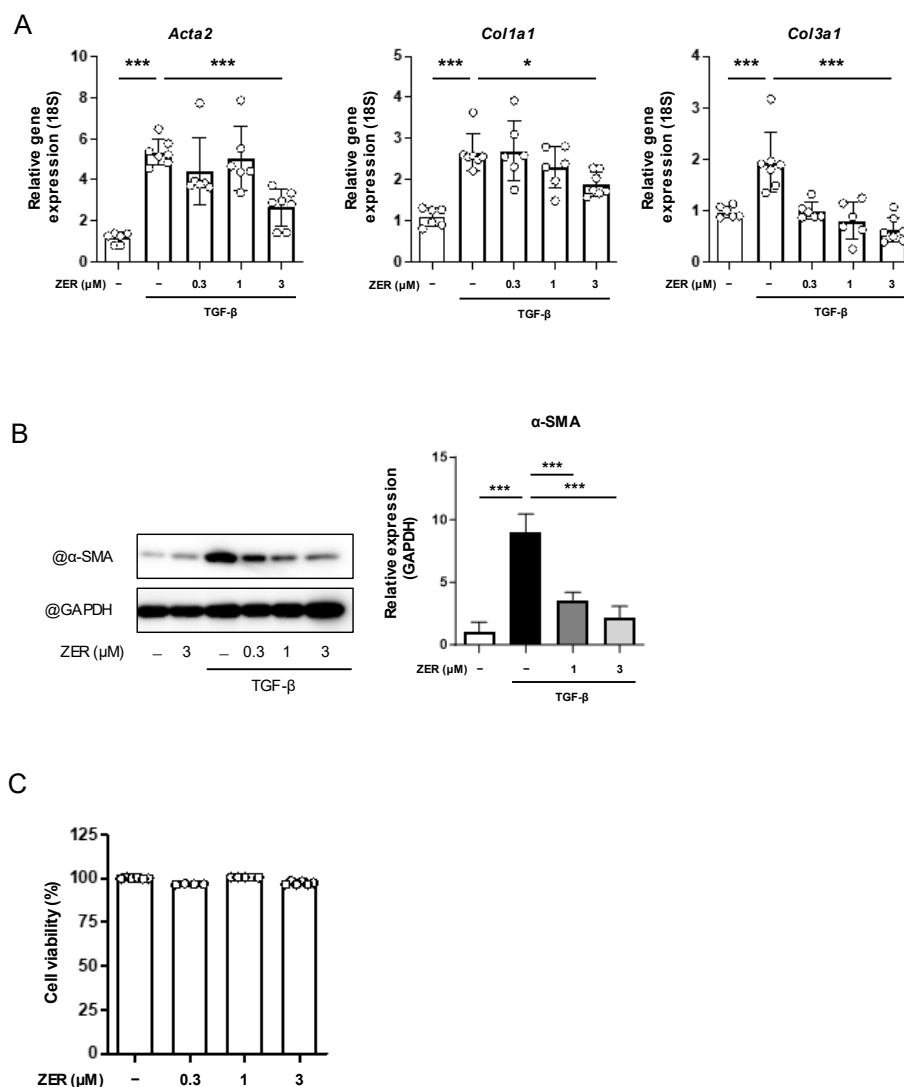


図 2. Zer suppresses TGF- β -induced fibrotic responses in WI-38. WI-38 was stimulated with TGF- β (10 ng/mL) in the presence of Zer (0.3, 1, 3 μ M) for 24h. The gene expression levels of α -SMA, Col3a1, and Col1a1 were quantified by qRT-PCR (A). The values are presented as mean $\pm$ SD (n=6-7). The extracted proteins from these cells were subjected to Western blotting analysis for α -SMA, Col3a1 and GAPDH (B). The cell viability of WI-38 cells was evaluated in the presence on Zer (0.3, 1, 3 μ M) (C). The values are presented as mean $\pm$ SD (n=4). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $p < 0.001$.