

Title	エポキシ化 ω 3脂肪酸産生系の医療応用に向けた研究開発
Sub Title	Research and development for medical application of production system of epoxidized omega-3 fatty acids
Author	遠藤, 仁(Endo, Jin)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>肺高血圧患者の遺伝子情報データベースをもとに本疾患とPAF-AH2との関連を調べた。当教室が保有する241名の肺高血圧患者（特発性、先天性心疾患合併、膠原病性を含む）のwhole exome sequencing (WES) による、個々の臨床データと符合可能な遺伝子変異のデータベースを用いて、PAF-AH2について、正常および病的variantのデータベースを対象に、CADDスコアなどの予測プログラムを用いてミスセンス変異の病的意義を評価した。PAF-AH2には酵素活性中心とは異なる部位に二か所、疾患との関連が示唆されるミスセンス変異が存在することを見出した。コンピューターシミュレーションを用いて、これらの変異によるPAF-AH2の構造変化を調べたところ、蛋白構造のダイナミックな変化が確認された。それぞれのミスセンス変異を導入した変異PAF-AH2蛋白を培養細胞に発現ベクターを用いて強制的に産生させたところ、2つの変異蛋白のどちらについても正常配列の蛋白と比べ、産生蛋白量が著しく減少した。mRNAレベルで変異PAF-AH2に異常がなかったため、翻訳後の変異蛋白質の不安定性が増していると考え、プロテアソーム阻害薬の投与を行なったところ、減少していた変異PAF-AH2の蛋白量はいずれもほぼ正常蛋白と同等にまで回復した。</p> <p>シスプラチン腎症におけるPAF-AH2の意義を調べた。腎臓においてPAF-AH2は尿細管上皮に選択的に発現しており、シスプラチン投与による尿細管障害で、PAF-AH2発現は有意に低下した。シスプラチンによる腎障害については、PAF-AH2 KOマウスでは血清BUN, Cre上昇および腎臓LCN2の発現上昇のいずれも野生型と比較し軽減していた。組織学的にもシスプラチンによる尿細管障害をスコアリングしたところ、PAF-AH2 KOマウスにおいて障害は減弱していた。現在、網羅的なリポミクス解析によって、PAF-AH2 KOマウスのシスプラチンで傷害された腎臓で選択的に変化している機能性脂質の探索を行なっている。</p> <p>1. Elucidation of the pathological significance of PAF-AH2 based on genetic information of patients with pulmonary hypertension</p> <p>The relationship between this disease and PAF-AH2 was investigated based on the genetic information database of patients with pulmonary hypertension. Using the gene mutation database of whole exome sequencing analysis for 241 patients with pulmonary hypertension (including idiopathic, congenital heart disease, and collagen disease) in our facility, we evaluated the pathological significance of missense mutations of PAF-AH2 using predictive programs such as CADD scores. We found two candidates of disease-related missense mutations in PAF-AH2 at sites different from the enzyme active center. When the structural changes of PAF-AH2 due to these mutations were analyzed using computer simulation, dynamic changes in its protein structure were observed. When the PAF-AH2 mutant protein of each missense variant was forcibly produced in cultured cells using the expression vector, the amount of protein production was significantly reduced in the two mutant proteins as compared with the production of normal protein. Since the mRNA level in mutant PAF-AH2 was not different from in normal PAF-AH2, the instability of the mutant protein after translation was considered to be increased. When a proteasome inhibitor was administered, the amounts of mutant PAF-AH2 protein were restored to almost the same level as normal protein.</p> <p>2. Significance of PAF-AH2 in cisplatin-induced renal injury</p> <p>PAF-AH2 was selectively expressed in the renal tubular epithelium in the kidney and was significantly reduced by cisplatin-induced tubular damage. In PAF-AH2 KO mice treated with cisplatin, increases in serum BUN, Cre and LCN2 expression were alleviated compared to in wild type mice treated with cisplatin. When cisplatin-induced tubular damage was scored histologically, the renal damage was attenuated in PAF-AH2KO mice relative to in wild type mice. And in the histological scoring for cisplatin-induced tubular damage, the renal injury was attenuated in PAF-AH2KO mice relative to in wild type mice. We are currently searching for functional lipids that are selectively altered in cisplatin-injured kidneys of PAF-AH2 KO mice by lipidomics analysis.</p>
Notes	
Genre	Research Paper

URL

https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200245

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	遠藤 仁	氏名 (英語)	Jin Endo		
研究課題 (日本語)						
エポキシ化 ω 3脂肪酸産生系の医療応用に向けた研究開発						
研究課題 (英訳)						
Research and development for medical application of production system of epoxidized omega-3 fatty acids						
1. 研究成果実績の概要						
<p>肺高血圧患者の遺伝子情報データベースをもとに本疾患と PAF-AH2 との関連を調べた。当教室が保有する 241 名の肺高血圧患者（特発性、先天性心疾患合併、膠原病性を含む）の whole exome sequencing (WES) による、個々の臨床データと符合可能な遺伝子変異のデータベースを用いて、PAF-AH2 について、正常および病的 variant のデータベースを対象に、CADD スコアなどの予測プログラムを用いてミスセンス変異の病的意義を評価した。PAF-AH2 には酵素活性中心とは異なる部位に二か所、疾患との関連が示唆されるミスセンス変異が存在することを見出した。コンピューターシミュレーションを用いて、これらの変異による PAF-AH2 の構造変化を調べたところ、蛋白構造のダイナミックな変化が確認された。それぞれのミスセンス変異を導入した変異 PAF-AH2 蛋白を培養細胞に発現ベクターを用いて強制的に産生させたところ、2つの変異蛋白のどちらについても正常配列の蛋白と比べ、産生蛋白量が著しく減少した。mRNA レベルで変異 PAF-AH2 に異常がなかったため、翻訳後の変異蛋白質の不安定性が増していると考え、プロテアソーム阻害薬の投与を行なったところ、減少していた変異 PAF-AH2 の蛋白量はいずれもほぼ正常蛋白と同等にまで回復した。</p> <p>シスプラチン腎症における PAF-AH2 の意義を調べた。腎臓において PAF-AH2 は尿細管上皮に選択的に発現しており、シスプラチン投与による尿細管障害で、PAF-AH2 発現は有意に低下した。シスプラチンによる腎障害については、PAF-AH2 KO マウスでは血清 BUN, Cre 上昇および腎臓 LCN2 の発現上昇のいずれも野生型と比較し軽減していた。組織学的にもシスプラチンによる尿細管障害をスコアリングしたところ、PAF-AH2KO マウスにおいて障害は減弱していた。現在、網羅的なリポミクス解析によって、PAF-AH2 KO マウスのシスプラチンで傷害された腎臓で選択的に変化している機能性脂質の探索を行なっている。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>1. Elucidation of the pathological significance of PAF-AH2 based on genetic information of patients with pulmonary hypertension</p> <p>The relationship between this disease and PAF-AH2 was investigated based on the genetic information database of patients with pulmonary hypertension. Using the gene mutation database of whole exome sequencing analysis for 241 patients with pulmonary hypertension (including idiopathic, congenital heart disease, and collagen disease) in our facility, we evaluated the pathological significance of missense mutations of PAF-AH2 using predictive programs such as CADD scores. We found two candidates of disease-related missense mutations in PAF-AH2 at sites different from the enzyme active center. When the structural changes of PAF-AH2 due to these mutations were analyzed using computer simulation, dynamic changes in its protein structure were observed. When the PAF-AH2 mutant protein of each missense variant was forcibly produced in cultured cells using the expression vector, the amount of protein production was significantly reduced in the two mutant proteins as compared with the production of normal protein. Since the mRNA level in mutant PAF-AH2 was not different from in normal PAF-AH2, the instability of the mutant protein after translation was considered to be increased. When a proteasome inhibitor was administered, the amounts of mutant PAF-AH2 protein were restored to almost the same level as normal protein.</p> <p>2. Significance of PAF-AH2 in cisplatin-induced renal injury</p> <p>PAF-AH2 was selectively expressed in the renal tubular epithelium in the kidney and was significantly reduced by cisplatin-induced tubular damage. In PAF-AH2 KO mice treated with cisplatin, increases in serum BUN, Cre and LCN2 expression were alleviated compared to in wild type mice treated with cisplatin. When cisplatin-induced tubular damage was scored histologically, the renal damage was attenuated in PAF-AH2KO mice relative to in wild type mice. And in the histological scoring for cisplatin-induced tubular damage, the renal injury was attenuated in PAF-AH2KO mice relative to in wild type mice. We are currently searching for functional lipids that are selectively altered in cisplatin-injured kidneys of PAF-AH2 KO mice by lipidomics analysis.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			