

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19336

研究課題名(和文) レチノイド受容体シグナルに着目した非アルコール性脂肪肝疾患の病態解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathological condition of non-alcoholic fatty liver disease regarding retinoid receptor signaling

研究代表者

白上 洋平 (Shirakmai, Yohei)

岐阜大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：50632816

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪肝炎(NAFLD)の病態を解明するために、レチノイド受容体(RARおよびRXR)シグナルに着目した。RARおよびRXRをdominant negativeに阻害する蛋白を発現するトランスジェニックマウス(dnRARおよびdnRXRマウス)を作製し、レチノイドシグナルが阻害されたそれらマウスの表現型を解析した。高脂肪食を給餌したdnRXRマウスでは、脂肪肝炎の増悪と耐糖能異常が確認されたため、RXRシグナルが、NAFLDの発症・進展と糖代謝において重要な役割を担っていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Retinoid receptor signaling is focused to elucidate the pathological condition of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Transgenic mice, in which retinoic acid receptor (RAR) or retinoid X receptor (RXR) is dominant-negatively inhibited, were generated and the phenotypes were investigated. Steatohepatitis and glucose intolerance were exacerbated in RXR-transgenic mice fed high-fat diet. The signaling of RXR is thought to play important roles in development and progression of NAFLD and glucose metabolism.

研究分野：消化器病学

キーワード：非アルコール性脂肪性肝炎 レチノイド 糖尿病 脂肪肝

1. 研究開始当初の背景

生活習慣の変化により、肥満人口とともにメタボリック症候群患者が増加している。非アルコール性脂肪肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) はメタボリック症候群と深く関連していると考えられており、また NAFLD の一部は慢性的な肝炎を引き起こし、非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) に至る。NASH は更に肝硬変へと進展し、肝細胞癌を合併する。一方、肥満の存在により、ウイルス性肝疾患の肝発癌リスクが上昇することも知られている。NAFLD の増加は社会的な問題となっているが、その発症や NASH へと進展する詳細なメカニズムは現在のところ解明されておらず、そのため有効な治療法の研究・開発も遅れており、早急な対策が求められている。

レチノイド(ビタミン A とその類縁体)は、生体の恒常性維持や生殖、発生、免疫など多岐にわたる重要な生理活性を有する。レチノイドは主に核内受容体であるレチノイン酸受容体 (retinoic acid receptor, RAR) およびレチノイド X 受容体 (retinoid X receptor, RXR) と結合し、その作用を発揮する。肝疾患とレチノイドの関連性は以前より知られており、合成レチノイドが肝癌の再発を抑制することや、慢性肝疾患の病態が進行するに伴い、肝に貯蔵されたレチノイドが失われること、様々な薬剤との併用によりレチノイドの肝癌細胞に対する作用が増強されること、レチノイド投与により肝脂肪化が改善されることなどが報告されている。また、レチノイドの輸送体であるレチノール結合タンパクが、インスリン抵抗性すなわち糖尿病の発症に関連することが知られている。

申請者らは、これまでの肥満・糖尿病マウスの実験において、レチノイド投与がその病態を改善すること、レチノイドシグナルの阻害により糖尿病・脂肪肝の病態が悪化することを見出した。

2. 研究の目的

レチノイド受容体シグナルに着目して、申請者らの研究グループにおいて作製したレチノイド受容体シグナル阻害マウスにおける、NAFLD の発症および進展について解析することで、NAFLD の病態を解明するとともに、NAFLD の予防/治療候補薬の同定に結びつける。

3. 研究の方法

リン酸化 RXR は RXR シグナルを dominant negative に阻害する蛋白であり、申請者らの研究グループにおいて、その蛋白発現をコンディショナルに調節できるトランスジェニックマウス (dnRXR マウス) を作製した。また、RAR シグナルを dominant negative に阻害する蛋白を発現するトランスジェニックマウス (dnRAR マウス) も作

製した。それらマウスの表現型および病理学的な解析をする。

通常食給餌での表現型とともに、高脂肪食やメチオニン・コリン欠乏食給餌による食餌誘発性の NAFLD/NASH についての影響も確認する。あるいは、グルタミン酸ナトリウム (monosodium glutamate, MSG) により、薬剤誘発性に肥満・糖尿病を発症する MSG 投与モデルも用いる。

病理学的解析の際は、マウス肝臓を摘出し脂肪肝形成の程度を調べるほか、肝組織の脂肪染色により肝脂肪化につき評価を行う。また、NAFLD/NASH 進展の指標として、肝線維化につき Azan 染色等の特殊染色を行うほか、酸化ストレスについても 8-OHdG 免疫染色にて解析する。

4. 研究成果

dnRXR マウスの表現型解析では、対照群との比較において、体重変化や飲水・摂食量には有意な差を認めなかった。また、通常食給餌では、当初予想されていた肥満傾向や糖代謝異常、脂肪肝形成がみられなかった。

そのため、高脂肪食および MSG を投与するモデルを作製し、比較検討した。高脂肪食給餌モデルにおいて、グルコース負荷試験で有意な耐糖能異常が確認されたほか、非常に興味深いことに、対照群と比較して著明な体重減少がみられたため「lipotrophic diabetes」の病態が想定された。また、酸化ストレスのマーカーである血清 d-ROM が有意に高値であった。

MSG 投与モデルにおいては、インスリン負荷試験で有意な差は認めなかったが、グルコース負荷試験の結果から dnRXR 群において耐糖能が低下している傾向がみられた。いずれのモデルにおいても、対照群と比較して血清トランスアミナーゼが有意に高値であり、肝脂肪化も顕著であったため、脂肪肝炎は増悪していると考えられた。

dnRAR マウスについては、対照群に比し、早期からの体重増加が確認され、病理組織にて比較的早期からの脂肪肝形成も認められた。しかし糖代謝については、グルコースおよびインスリン負荷試験ではいずれも対照群と有意な差はみられなかった。

上記結果より、肝脂肪化においては RXR および RAR シグナルが、糖代謝においては RXR シグナルが重要な役割を担っていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

1. Ideta T, Shirakami Y, Ohnishi M, Maruta A, Obara K, Miyazaki T, Kochi T, Sakai H, Tomita H, Tanaka T, Blaner WS, Shimizu M. Non-alcoholic steatohepatitis-related liver tumorigenesis is suppressed in mice

- lacking hepatic retinoid storage. *Oncotarget*. 2017;8:70695-70706. doi: 10.18632/oncotarget.19978. 査読有
2. Obara K, Shirakami Y, Maruta A, Ideta T, Miyazaki T, Kochi T, Sakai H, Tanaka T, Seishima M, Shimizu M. Preventive effects of the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor tofogliflozin on diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic mice. *Oncotarget*. 2017;8:58353-58363. doi: 10.18632/oncotarget.16874. 査読有
 3. Shirakami Y, Ohnishi M, Sakai H, Tanaka T, Shimizu M. Prevention of colorectal cancer by targeting obesity-related disorders and inflammation. *Int J Mol Sci*. 2017;18. pii: E908. doi: 10.3390/ijms18050908. 査読有
 4. Shirakami Y, Sakai H, Kochi T, Seishima M, Shimizu M. Catechins and its role in chronic diseases. *Adv Exp Med Biol*. 2016;929:67-90. 査読有
 5. Miyazaki T, Shirakami Y, Kubota M, Ideta T, Kochi T, Sakai H, Tanaka T, Moriwaki H, Shimizu M. Sodium alginate prevents progression of non-alcoholic steatohepatitis and liver carcinogenesis in obese and diabetic mice. *Oncotarget*. 2016; 7: 10448-58. doi: 10.18632/oncotarget.7249. 査読有
 6. Sakai H, Shirakami Y, Shimizu M. Chemoprevention of obesity-related liver carcinogenesis by using pharmaceutical and nutraceutical agents. *World J Gastroenterol*. 2016;22:394-406. doi: 10.3748/wjg.v22.i1.394. 査読有
 7. Qin XY, Tatsukawa H, Hitomi K, Shirakami Y, Ishibashi N, Shimizu M, Moriwaki H, Kojima S. Metabolome analyses uncovered a novel inhibitory effect of acyclic retinoid on aberrant Lipogenesis in a Mouse diethylnitrosamine-induced hepatic tumorigenesis model. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2016;9:205-14. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-15-0326. 査読有

[学会発表](計 17 件)

1. JSPS 拠点形成プログラムシンポジウム「難治疾患に対する分子標的薬創製のための国際共同研究拠点の構築」
2018 年 1 月 29 日 東京
The roles of acyclic retinoid in blocking hepatocellular carcinoma
Shirakami Y
2. 第 42 回日本肝臓学会西部会
2017 年 11 月 30 日 福岡
肥満に関連した肝疾患に対する糖尿病治

療薬の作用

- 白上洋平, 清水雅仁, 清島 満
3. 日本レチノイド研究会第 28 回学術集会
2017 年 11 月 18 日 神戸
レチノイド受容体遺伝子改変マウスにおける糖・脂質代謝異常
白上洋平, 境 浩康, 清水雅仁, 清島 満
 4. JDDW2017 (第 41 回日本肝臓学会大会)
2017 年 10 月 13 日 福岡
NASH および関連する肝発癌に SGLT-2 阻害薬が及ぼす影響
白上洋平, 清水雅仁, 清島 満
 5. 第 76 回日本癌学会学術総会
2017 年 10 月 8 日 横浜
The sodium glucose cotransporter 2 inhibitor tofogliflozin inhibits obesity-related liver tumorigenesis
白上洋平, 小原功輝, 大西雅也, 境 浩康, 田中卓二, 清水雅仁, 清島 満
 6. 第 49 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
2017 年 9 月 15 日 岐阜
糖尿病治療薬 SGLT-2 阻害薬による肥満関連肝発癌の抑制
白上洋平, 小原功輝, 河内隆宏, 境 浩康, 田中卓二, 清水雅仁, 清島 満
 7. 第 24 回肝細胞研究会
2017 年 6 月 30 日 旭川
糖尿病治療薬 SGLT-2 阻害薬が肝脂肪化および肝発癌に及ぼす影響
白上洋平, 小原功輝, 境 浩康, 田中卓二, 清水雅仁, 清島 満
 8. がん予防学術大会 2017 (第 24 回日本がん予防学会総会)
2017 年 6 月 16 日 大阪
糖尿病治療薬による肥満に関連する肝発癌の抑制
白上洋平, 小原功輝, 境 浩康, 田中卓二, 清水雅仁, 清島 満
 9. 第 103 回日本消化器病学会総会
2017 年 4 月 21 日 東京
パネルディスカッション「生活習慣病・メタボリックシンドロームからの消化器疾患」酸化ストレスの制御による肥満関連大腸発癌の抑制
白上洋平, 清水雅仁, 清島 満
 10. 第 7 回肥満と消化器疾患研究会
2017 年 4 月 19 日 東京
SGLT2 阻害薬の脂肪肝および肝発癌に対する効果
白上洋平, 小原功輝, 田中卓二, 清水雅仁, 清島 満
 11. Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) Single Topic Conference
2017 年 4 月 10 日 長崎
Preventive effects of the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor tofogliflozin on liver tumorigenesis in obese mice.
Shirakami Y, Obara K, Tanaka T,

- Shimizu M, Seishima M.
12. 108th American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting
2017年4月3日 Washington D.C., USA
Preventive effects of the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor tofogliflozin on liver tumorigenesis in obese and diabetic mice.
Shirakami Y, Koki Obara, Masaya Ohnishi, Takayasu Ideta, Hiroyasu Sakai, Takuji Tanaka, Shimizu M, Seishima M.
13. 日本レチノイド研究会第27回学術集会
2016年10月22日 町田
肝レチノイド貯蔵欠如マウスにおいて非アルコール性脂肪肝炎関連肝発癌は抑制される
白上洋平, 出田貴康, 大西雅也, 境 浩康, 田中卓二, 清水雅仁, 清島 満
14. 第74回日本癌学会学術総会
2016年10月6日 横浜
Non-alcoholic steatohepatitis-related liver tumorigenesis is suppressed in mice lacking hepatic retinoid storage.
白上洋平, 出田貴康, 境 浩康, 田中卓二, 清水雅仁, 清島 満
15. The 12th Japan Society of Hepatology Single Topic Conference
2016年9月22日 金沢
NASH-related liver tumorigenesis is suppressed in mice lacking hepatic retinoid storage.
Shirakami Y, Ideta T, Sakai H, Tanaka T, Blaner WS, Shimizu M, Seishima M.
16. FASEB Science Research Conference (3rd International Conference on Retinoids)
2016年6月20日 West Palm Beach, USA
Non-alcoholic steatohepatitis-related liver tumorigenesis is suppressed in mice lacking hepatic retinoid store.
Shirakami Y, Ideta T, Sakai H, Tanaka T, Blaner WS, Shimizu M, Seishima M.
17. 107th American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting
2016年4月20日 New Orleans, USA
Preventive effects of pentoxifylline on hepatic tumorigenesis in a novel mouse model of NASH-related liver cancer.
Shirakami Y, Sakai H, Ideta T, Takuji Tanaka, Shimizu M, Seishima M.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白上 洋平 (Yohei Shirakami)

岐阜大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 50632816

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし