

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08387

研究課題名(和文) 肝内胆管癌の発がんにおける核内受容体CARの役割

研究課題名(英文) The role of nuclear receptor CAR in the pathogenesis of intrahepatic cholangiocellular carcinoma

研究代表者

柿崎 暁 (Kakizaki, Satoru)

群馬大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：80344935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、核内レセプターCAR(constitutive androstane receptor)の肝内胆管癌の発癌における意義を明らかにすることを目的とした。マウスにThioacetamide (TAA) を投与し胆管癌の化学発癌モデルを作成し、CARのノックアウトマウスと野生型マウスで比較した。24週間TAA投与にて胆管癌を発症したが、両群間で発生頻度に有意差は認められなかった。肝細胞癌の化学発癌モデルでは、CARノックアウトマウスでは発癌が有意に抑制されることが報告されているが、今回用いた胆管癌モデルでは抑制されないことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝細胞癌(肝細胞由来)の化学発癌モデルでは、核内レセプターCARの発癌への関与が報告されている。同様に肝臓に発生し、胆管細胞由来の肝内胆管癌においてCARの関与の有無を検討した。Thioacetamide (TAA) による胆管癌モデルで検討したが、CARの関与は明らかでなかった。胆管癌モデルにおいてCARの関与の有無を検討したことは、胆管癌及びCARの病態生理を考える上で意義があったと考える。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the role of nuclear receptor CAR (constitutive androstane receptor) in the pathogenesis of intrahepatic cholangiocarcinoma. Thioacetamide (TAA) was administered to CAR knockout and wild-type mice to create a chemical carcinogenic model of cholangiocarcinoma. Cholangiocarcinoma developed after 24-weeks TAA administration. However, there were no significant differences between the two groups. In the chemical carcinogenesis model of hepatocellular carcinoma, it has been reported that carcinogenesis is significantly suppressed in CAR knockout mice. However, it is not suppressed in the TAA-induced cholangiocarcinoma model used in this study.

研究分野：消化器内科学

キーワード：核内受容体 CAR 胆管癌 化学発癌

1. 研究開始当初の背景

核内受容体 CAR (Constitutive androstane receptor)は、薬物代謝酵素の発現調節を担う核内受容体で生体異物センサー (Xenobiotic-sensing nuclear receptor)とも呼ばれる。薬物・異物代謝以外にも、発癌、糖・脂質代謝、免疫・炎症にも深く関与し、同じ核内受容体サブファミリーに属する PXR (pregnane X receptor) と、多くの遺伝子プロモーターで結合部位を共有しており、様々な生体現象の調節を行なっている (図1)。

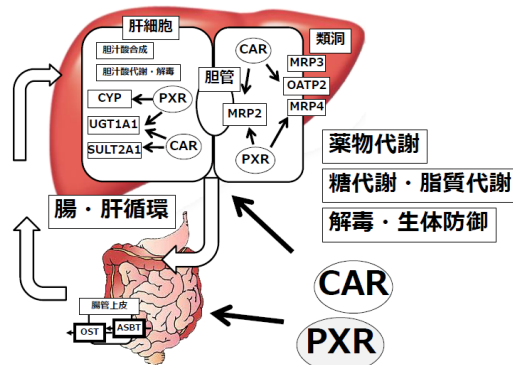


図1 CAR・PXRの作用機序

我々は、古くから知られていた phenobarbital による薬物代謝酵素の誘導は、CAR を介していることを明らかにした。また、phenobarbital はマウスにおいて肝がんを起こすため、マウスの化学発癌モデルとして用いられてきた。そこで、我々は、CAR のノックアウトマウス (KO) を用いて、phenobarbital による化学発癌モデルを解析し、phenobarbital による化学発癌が CAR を介していることを明らかにし報告した。同じ KO マウスを用いて、近年増加している非アルコール性脂肪肝炎からの発癌においても CAR は促進的に働くことを報告した。さらに、マウスだけでなく、ヒト肝細胞癌組織において、CAR の存在する 1q23 のクロモソーム領域が増幅されていることを報告した。つまり、我々は核内受容体 CAR は、肝細胞由来の肝細胞癌の発癌に関与していることを報告してきた。

近年、同じ肝臓から発生する肝内胆管癌の患者数は増加しており、印刷工場労働者での職業性胆管癌は社会問題にもなった。化学物質 (ジクロロメタン、1、2ジクロロプロパン) による化学発癌であり、肝臓で薬物や化学物質の解毒作用を制御する CAR と肝内胆管癌の関連は示唆される。しかし、肝細胞由来の肝細胞癌の発癌への CAR の関与は解明されているが、同様に肝臓由来である肝内胆管癌 (胆管細胞由来) と CAR の関連は未解明であった。

肝内胆管癌の患者数は増加し、その病態の解明は急務であり、肝内胆管癌と CAR の関連を解明することは、肝内胆管癌の病態・病因・治療を考えるうえで興味深いと考えたのが、本研究を計画した背景である。

2. 研究の目的

核内受容体 CAR の肝内胆管癌の発癌における意義を明らかにすることを目的とした。CAR は、肝臓・小腸に高発現し、薬物・異物代謝を制御する核内受容体として同定された。肝発癌に深く関与しており、CAR KO マウスでは、肝細胞癌 (肝細胞由来) の発癌が有意に抑制される。近年、肝がんの中で胆管細胞由来の肝内胆管癌の患者数は増加しており、特に、印刷工場労働者での職業性胆管癌 (化学発癌) は社会問題にもなった。化学物質の異物代謝の過程で発癌が誘発されていると考えられ、CAR との関連が示唆される。そこで、本研究では、CAR の肝内胆管癌の発癌における意義と肝内胆管癌の発癌メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

CAR KO マウスを用いた実験系と CAR 発現培養細胞を用いた実験系から CAR の肝内胆管癌発癌における役割、病態を解明しようと試みた。

1. CAR KO マウスを用いた解析

(1) CAR の化学発癌物質代謝における役割

CAR は生体異物センサーとして働き、生体防御に関与している。欠損した状態での化学発癌物質の代謝能の変化を検討する。野生型マウスとの比較 (薬物代謝酵素、トランスポーターの発現、胆汁中代謝産物濃度) や CAR の Ligand 投与での反応を比較検討する。

(2) Thioacetamide (TAA) 胆管癌モデルでの比較検討 (図2)

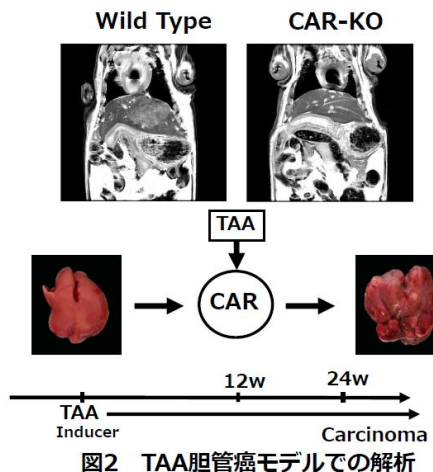


図2 TAA胆管癌モデルでの解析

胆管癌の化学発癌モデルである TAA を用いて、実験的胆管癌を作成し、CAR KO マウスと野生型(WT)マウスで比較する。胆管癌の発生頻度、生存曲線を比較する。さらに、得られた資料を用いて、CAR の発現、薬物トランスポーターの発現、薬物代謝酵素の発現を、mRNA、蛋白レベル、病理組織学的に比較検討し、胆管癌の発癌における CAR の役割、メカニズムを解明する。

2. CAR 発現培養細胞で化学発癌物質刺激によるシグナル伝達の解明

CAR を恒常的に発現した培養細胞 (g2CAR3 cell, Ym17 cell) で、化学発癌刺激による、サイトカイン、トランスポーター、薬物代謝酵素の変化、シグナル伝達を解明する。

4. 研究成果

1. CAR KO マウスを用いた解析

(1) CAR の化学発癌物質代謝における役割

CAR KO マウスと野生型マウスに、Thioacetamide (TAA) を短期投与 (3 日間) したところ、CAR KO マウスは、肝障害が野生型と比べ強い傾向にあった。

(2) Thioacetamide (TAA) 胆管癌モデルでの比較検討

TAA を長期投与することによる実験的胆管癌モデルを作成した。CAR KO マウスと野生型マウスに、それぞれ12週間、24 週間、0.03%TAA 含有飲料水を投与し飼育した。投与後に解剖し、肝臓での腫瘍発生を比較した。12 週間投与では両群とも腫瘍の発生は認めなかった。24 週間投与で、胆管癌の発生を両群に認めた (図3)。しかし、発生頻度、腫瘍径など、CAR KO マウスと野生型マウスで有意差はなく、両群間の生存曲線にも有意な差は認められなかった。

得られた資料を用いて、CAR の発現、薬物トランスポーターの発現、薬物代謝酵素の発現を、mRNA、蛋白レベル、病理組織学的に比較検討する計画であったが、胆管癌の発生頻度、腫瘍径、生存に有意差が認められなかったことから検討は見合わせた。

Diethylnitrosamine + phenobarbital (DEN+PB) によるマウス肝細胞癌モデルでは、図4に示すように CAR KO マウスでは有意に肝細胞癌の発癌が抑制されるが、今回使用した TAA 胆管癌モデルでは、CAR KO マウスにおいて発癌は抑制されなかった。すなわち、少なくとも今回用いた 0.03%TAA 飲水による胆管癌モデルでは CAR の胆管癌発癌への関連は否定的であった。

2. CAR 発現培養細胞で化学発癌物質刺激によるシグナル伝達の解明

CAR を恒常的に発現した Ym17 cell に、TAA 添加し、24 時間培養後に、CYP2B, GST, MRP2 の mRNA 発現を比較した。さらに、胆管癌におけるシグナル伝達を解明する計画であったが、CAR KO マウスを用いた解析で有意差が出なかったため、培養細胞の実験では、結論的な結果を得るまでの解析は行えなかった。

本研究は、核内受容体 CAR の肝内胆管癌の発癌における意義を明らかにすることを目的とした。マウスに 0.03%Thioacetamide (TAA) を飲水投与し胆管癌の化学発癌モデルを作成し、CAR KO マウスと野生型マウスで比較した。24 週間 TAA 投与にて胆管癌を発症したが、両群間で発生頻度や生存曲線に有意差は認められなかった。DEN+PB による肝細胞癌の化学発癌モデルでは、CAR KO マウスでは発癌が有意に抑制されることを報告しているが、今回用いた胆管癌モデルでは抑制されないことを明らかにした。すなわち、少なくとも今回用いた 0.03%TAA 飲水による胆管癌モデルでは CAR の胆管癌発癌への関連は否定的であった。



図3 TAA24週間投与後の肝臓

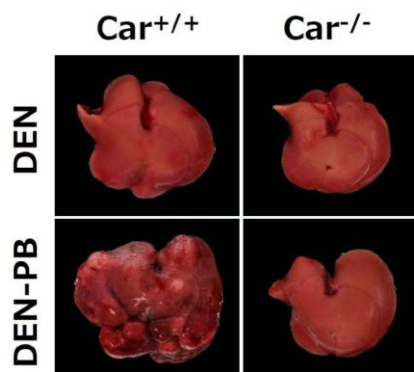


図4 DEN-PB化学発癌 (肝細胞癌) モデル

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Uehara Daisuke, Tojima Hiroki, Kakizaki Satoru, Yamazaki Yuichi, Horiguchi Norio, Takizawa Daichi, Sato Ken, Yamada Masanobu, Uraoka Toshio	4. 巻 51
2. 論文標題 Constitutive androstane receptor and pregnane X receptor cooperatively ameliorate DSS-induced colitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Digestive and Liver Disease	6. 最初と最後の頁 226 ~ 235
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dld.2018.10.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamasaki Yuki, Kobayashi Kaoru, Inaba Asumi, Uehara Daisuke, Tojima Hiroki, Kakizaki Satoru, Chiba Kan	4. 巻 48
2. 論文標題 Indirect activation of pregnane X receptor in the induction of hepatic CYP3A11 by high-dose rifampicin in mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Xenobiotica	6. 最初と最後の頁 1098 ~ 1105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00498254.2017.1400128	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shizu Ryota, Ishimura Mai, Nobusawa Sumihito, Hosaka Takuomi, Sasaki Takamitsu, Kakizaki Satoru, Yoshinari Kouichi	4. 巻 95
2. 論文標題 The influence of the long-term chemical activation of the nuclear receptor pregnane X receptor (PXR) on liver carcinogenesis in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Toxicology	6. 最初と最後の頁 1089 ~ 1102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00204-020-02955-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hatanaka Takeshi, Naganuma Atsushi, Kakizaki Satoru	4. 巻 14
2. 論文標題 Lenvatinib for Hepatocellular Carcinoma: A Literature Review	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 36 ~ 36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ph14010036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hatanaka Takeshi, Kakizaki Satoru, Nagashima Tamon, Namikawa Masashi, Tojima Hiroki, Shimada Yasushi, Takizawa Daichi, Naganuma Atsushi, Arai Hiroataka, Sato Ken, Harimoto Norifumi, Shirabe Ken, Uraoka Toshio	4. 巻 50
2. 論文標題 Analyses of objective response rate, progression free survival, and adverse events in hepatocellular carcinoma patients treated with lenvatinib: A multicenter retrospective study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 382 ~ 395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13460	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shibuya Kei, Ohno Tatsuya, Katoh Hiroyuki, Okamoto Masahiko, Shiba Shintaro, Koyama Yoshinori, Kakizaki Satoru, Shirabe Ken, Nakano Takashi	4. 巻 132
2. 論文標題 A feasibility study of high-dose hypofractionated carbon ion radiation therapy using four fractions for localized hepatocellular carcinoma measuring 3 cm or larger	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Radiotherapy and Oncology	6. 最初と最後の頁 230 ~ 235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.radonc.2018.10.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Sasaki S, Urabe M, Maeda T, Suzuki J, Irie R, Kakizaki S, Gonzalez FJ, Inoue Y.
2. 発表標題 Induction of hepatocyte-specific gene expression by a novel nuclear receptor.
3. 学会等名 4th International Symposium of Gunma University Medical Innovation (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山崎 勇一 (Yamazaki Yuichi) (00582404)	群馬大学・医学部附属病院・助教 (12301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	堀口 昇男 (Horiguchi Norio) (10550022)	群馬大学・大学院医学系研究科・助教 (12301)	
研究分担者	井上 裕介 (Inoue Yusuke) (90304302)	群馬大学・大学院理工学府・准教授 (12301)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	植原 大介 (Uehara Daisuke)		
連携研究者	吉成 浩一 (Yoshinari Kouichi) (60343399)	静岡県立大学・薬学部・教授 (23803)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関