

自己評価報告書

平成23年3月31日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20590759

研究課題名（和文）非アルコール性脂肪性肝炎の病態における核内レセプターPXRとCARのクロストーク

研究課題名（英文）The crosstalk between nuclear receptor PXR and CAR in the pathogenesis of non alcoholic steatohepatitis.

研究代表者

柿崎 暁 (KAKIZAKI SATORU)

群馬大学・医学部・助教

研究者番号：80344935

研究分野：肝臓病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：非アルコール性脂肪性肝炎，核内レセプター，CAR，PXR，Cytochrome P450，肝線維化

1. 研究計画の概要

非アルコール性脂肪性肝炎 (Non alcoholic steatohepatitis, NASH) の病態における核内レセプターPXRの意義、並びにレセプターCARとのクロストークの詳細を明らかにする。我々は、平成18-19年度科学研究費補助金を得て、CAR (constitutive androstane receptor) のNASHの病態への関与を解明し報告した (Gut. 56; 565-74:2007)。CARは、肝臓に発現し、薬物代謝酵素 (CYP、UGT、MRPなど) の発現調節を行う核内レセプターであるが、糖代謝、脂質代謝にも深く関与している。一方、PXR (pregnane X receptor) も、CARと同様にRXRとヘテロダイマーを形成し、薬物代謝酵素や脂質代謝を制御する核内受容体である。多くの遺伝子プロモーター領域で、CARと結合部位を共有しており、CARとPXRは互いに密接に関連している。メチオニン・コリン欠乏食 (MCD食) におけるNASHモデルで、CARの活性化がNASHの増悪因子であり、MCD食の投与で、CARは細胞質から核内へ移動し、標的遺伝子を誘導することによりROS (Reactive Oxygen Species) を産生しNASHを増悪させる。本研究では、PXR及びCAR KOマウス、double KOマウスを用い、NASHの病態における核内受容体の関与、PPARも含めた核内受容体相互間のクロストークを解明する。本研究は、NASHの病態の解明だけでなく、CAR及びPXRの生物学的意義の解明であり、臨床医学上非常に意義のある研究と考える。

2. 研究の進捗状況

PXR及びCARのNASHにおける意義の解明のため下記の実験を行った。

ノックアウト (KO) マウスを用いた動物実験

(1) C57BL/6N背景のPXR、CAR ノックアウトマウスの作成

マウスは系統間で、NASHの疾患感受性に差がある。我々の保有しているC3H/HeN系のKOマウスから、NASHに疾患感受性のあるC57BL/6N系へマウスをバッククロスし、C57BL/6N系を背景としたPXR KOマウス、CAR KOマウスを作成した。

(2) PXR、CARダブルノックアウトマウスの作成

C57BL/6N系のPXR KO及びCAR KOマウスを交配し、PXR、CAR double KOマウスを作成した。

(3) 各KOマウスのMCD食によるNASHモデルでの比較検討

メチオニン・コリン欠乏食 (MCD食) を投与し、実験的NASHモデルを作成した。各群で、8週、16週間 MCD食を投与した後、解剖し、血液、肝臓を採取した。CAR KOマウスでは、野生型マウス (WT) に比較し、MCD食事によるNASHが有意に軽かった。PXR KOマウスでは、WTマウスと比較し有意な差はみられなかった。PXR、CARダブルノックアウトマウスで、MCD食によるNASHモデルを作成、解析中である。

(4) CAR KOマウスを用いたMCD/NASHモデルでの発癌実験

CAR KOマウスでは、MCD食による肝障害がWTと比較し有意に軽かったことから、NASHからの発癌におけるCARの役割を検討するため発癌実験を行った。Diethylnitrosamine (DEN)

を投与した後、MCD食で長期飼育した。発癌は、WTでは、KOマウスに比べ有意に発癌が亢進していた。CARは細胞増殖を亢進させることにより発癌に関与していることが示唆された。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

PXR KO マウスでは、WT マウスと比較しNASHの程度に差がなかったことは、若干想定外ではあるが、発癌における意義など順調に解明が進んでおり、下記の8報の論文を報告した。

4. 今後の研究の推進方策

各KOマウスのMCD食によるNASHモデルでの解析及びMCD食におけるCAR活性化機構の解明を継続する。発癌モデルにおいて、メカニズムをさらに究明する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

①Takizawa D, Kakizaki S, et al. Constitutive active/androstane receptor promotes hepatocarcinogenesis in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. *Carcinogenesis*. 2011, in press. 査読有

②Tojima H, Kakizaki S, et al. Hepatocyte growth factor overexpression ameliorates liver inflammation and fibrosis in a mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Int*. 2011, in press. 査読有

③Kamino H, Yamazaki Y, Saito K, Takizawa D, Kakizaki S, et al. Nuclear receptor CAR-regulated expression of the *FAM84A* gene during the development of mouse liver tumors. *Int J Oncol*. 2011, in press. 査読有

④Takizawa D, Kakizaki S, et al. Histone deacetylase inhibitors induce cytochrome P450 2B by activating nuclear receptor constitutive androstane receptor. *Drug Metab Dispos*. 2010;38:1493-8 査読有

⑤Kakizaki S, et al. Xenobiotic-sensing nuclear receptors CAR and PXR as drug targets in cholestatic liver disease. *Curr Drug Targets*. 2009;10:1156-1163 査読有

⑥Suzuki H, Toyoda M, Horiguchi N, Kakizaki S, et al. Hepatocyte growth

factor protects against Fas-mediated liver apoptosis in transgenic mice. *Liver Int*. 2009;29:1562-8. 査読有

⑦Kakizaki S, et al. New insights on the xenobiotic-sensing nuclear receptors in liver diseases--CAR and PXR--. *Curr Drug Metab*. 2008;9:614-21. 査読有

⑧Kakizaki S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Japanese patients with severe obesity who received laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass surgery (LRYGB) in comparison to non-Japanese patients. *J Gastroenterol*. 2008;43:86-92. 査読有

[学会発表] (計4件)

①Horiguchi N, Kakizaki S, et al. HGF promotes DEN-induced hepatocarcinogenesis, but attenuates MCD-induced liver inflammation and fibrosis. AASLD Liver meeting. 2010/11/1. Boston, MA, USA

②Kakizaki S, et al. Hepatocyte growth factor overexpression ameliorates liver inflammation and fibrosis in a mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. 18th UEGW. 2010/10/27 Barcelona, Spain

③Yamazaki Y, Moore R, Kakizaki S et al. Nuclear xenobiotic receptor CAR is essential for DDC to proliferate oval cells in mouse liver. 18th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations. 2010/5/17 Beijing, China

④Kakizaki S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Japanese patients with severe obesity who received laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass surgery (LRYGB) in comparison to non-Japanese patients. 109th annual meeting of the AGA institute. 2008/5/19 San Diego, CA, USA