

令和元年6月12日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26460983

研究課題名(和文) 肝病態連繋における核内受容体転写共役活性化因子PDIP1の役割

研究課題名(英文) The role of a transcriptional coactivator (PDIP1) that functions as a transcriptional coregulator of several nuclear receptors in the physiopathological process of the liver

研究代表者

佐藤 賢 (SATO, KEN)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40396619

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内蛋白質の一種である核内受容体を介して標的遺伝子の発現を制御する因子であるPDIP1を全身で働かなくしたマウスでは、肝臓に線維化を引き起こす刺激を加えることにより、PDIP1が普通に働いているマウスと比べて肝臓の線維化(肝臓の硬くなり易さ)に差が生じ、また肝臓に癌を引き起こす刺激を加えることにより、肝臓の発癌の程度に差が生じた。また線維化及び発癌の差のメカニズムについても検討を行い、明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウスを用いた実験であり、必ずしもヒトにおける病態を反映するとは限らないが、今回の科研費の研究により、最近生体内エネルギー代謝調節系における機能が注目されている核内受容体転写共役活性化因子の一つであるPDIP1と肝臓の線維化や発癌のメカニズムとの関係について示すことができた。今後今回の研究を元に、多臓器の線維化や発癌モデルへの応用や、PDIP1を創薬ターゲットとした開発の端緒となる成果を示すことができたといえる。

研究成果の概要(英文)：PDIP1 regulates target gene expression through nuclear receptor that is a kind of intracellular proteins. In addition, there is a difference of the extent of liver fibrosis that is caused by the stimuli which accelerate liver fibrosis between PDIP1 knock out mice in which the function of PDIP1 is lost and wild type mice in which the function of PDIP1 is maintained. There is also a difference of the extent of liver tumor that is caused by the stimuli which induce liver tumor between PDIP1 knock out mice and wild type mice. The mechanisms of the differences of liver fibrosis and tumor were analyzed and clarified.

研究分野：肝臓病学

キーワード：トランスレーショナルリサーチ バイオテクノロジー 癌 マイクロアレイ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

連携協力者の佐藤哲郎らは、ヒト PPAR 2 の DNA-binding domain から PPAR DNA-binding domain-interacting protein1 (PDIP1) を単離同定した。続いてマウス PDIP1 を cloning し、肝臓、白色脂肪、褐色脂肪などの幅広い臓器での発現を確認し、PPAR 刺激で、濃度依存的に PDIP1 の転写活性が亢進することを確認した。(Tomaru T, Satoh T, Yoshino S, et al. *Endocrinology*. 2006;147:377-88.)。また佐藤哲郎らは、PDIP1 機能を解析する目的で PDIP1 ノックアウトマウス (KO マウス) を樹立した。ゲノタイプは正常に出生し、KO マウスは明らかな解剖学的異常を認めず、標準餌下で摂食量や体重増加も野生型マウス (WT マウス) と同様であった。KO マウスでは、空腹時血清中性脂肪が有意に低下し、高脂肪食負荷により、KO マウスは、WT マウスと比べ、明らかに肥満抵抗性及び脂肪肝抵抗性を示し、良好な耐糖能を認め、KO マウス肝臓では、中性脂肪合成系酵素群の発現低下に加え、脂肪酸酸化に関与する遺伝子群発現の増加を認め、AMP-activated protein kinase (AMPK) 活性化と脂肪酸酸化亢進を認めた。一方、研究代表者は、脂肪肝炎モデルである MCD diet (メチオニン・コリン欠乏食) モデルを用いて、KO マウスでは、WT マウスと比べて、脂肪肝形成抑制、肝炎症・線維化抑制を認めることを平成 23-25 年度の基盤研究 (C) で明らかにし、またそのメカニズムをいくつか解明した。

2. 研究の目的

上述のように、MCD diet 負荷モデルにおける脂肪肝炎モデルにおいても、PDIP1 は病態形成において重要な役割を示すことが明らかになった。しかし、これらの現象とメカニズムは、脂肪肝・線維化・炎症の密接な関わりを裏付けるものであるが、脂肪化を起こさない線維化モデルや肝発癌における PDIP1 の役割とメカニズムは明らかではない。従って本研究は、これまで取り組んできた研究を更に発展させ、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) をはじめとする慢性肝疾患の病態連繋の中核をなす肝炎・肝線維化・肝発癌における PDIP1 の役割を明らかにするためのものである。即ち、メカニズムの異なる肝線維化モデル及びヒト脂肪肝炎の病態進展をより mimic し発癌解析まで可能な STAM マウスを用いて、脂肪化を介さない肝炎症・肝線維化における PDIP1 の役割、ひいては、肝病態連繋の網羅的な解明を目的とした。

3. 研究の方法

現在特許出願準備中のため、詳細については記載しない。

PDIP1 KO マウスとそのコントロールマウス (WT マウス) の繁殖及び安定供給

平成 23-25 年度の基盤研究 (C) において、繁殖手技を確立し、安定供給も可能となり、すぐに実験に供与できるようにした。

四塩化炭素モデルの作成

まず、肝線維化を引き起こすモデルとして、四塩化炭素とコントロールとして、オリーブオイルを腹腔内注射するモデルを作成した。手技に関しては、Ohyama T, Sato K, Kishimoto K, et al. *Br J. Pharmacol.* 2012;165:1173-1187. にて確立しており、PDIP1 KO マウスと WT マウスで肝線維化の状態を比較し、メカニズムも検討した。

胆管結紮モデルの作成

次に、別のメカニズムで肝線維化を引き起こすモデルとして、胆管結紮モデルを作成した。PDIP1 KO マウスと WT マウスを用いて、sham 手術 (コントロール群) と胆管結紮手術 (胆管結紮群) の 4 群で、肝線維化の状態を比較し、メカニズムも検討した。

STAM マウスモデルの作成

脂肪肝炎を起こし、その後肝発癌を引き起こすマウスモデルとして、STAM マウスを作成した。生後まもなく Streptozotocin 処置を行い、高脂肪食を負荷することにより、16 週以降に発癌を起こし、CT で肝画像を比較し、PDIP1 KO マウスと WT マウスで、肝発癌状態を比較し、メカニズムも検討した。

4. 研究成果

現在特許出願準備中のため、詳細については記載しない。

四塩化炭素モデル

四塩化炭素モデルにおいて、肝組織において、PDIP1 KO マウスと WT マウスで肝線維化において明らかな差を認めた。また、血清や肝組織を用い、メカニズムの解析を行った。

胆管結紮モデル

胆管結紮モデルでも、肝組織において、PDIP1 KO マウスと WT マウスで肝線維化において明らかな差を認めた。また、血清や肝組織を用い、メカニズムの解析を行った。

STAM マウスモデル

PDIP1 KO マウスと WT マウスにおいて、STAM 処置を施し、16 週以降で解剖を行った。経過観察中に撮影した CT での腫瘍個数や、肝表面の腫瘍個数などを評価し、両マウスで明らかな差を認

めた。また、血清や肝組織を用いたメカニズムの検討は現在進行中である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

本研究の成果ではないが、関連性のある論文として 10 件を記載する。

1. Long-term Results of Bariatric Surgery for Non-alcoholic Fatty Liver Disease/Non-alcoholic Steatohepatitis Treatment in Morbidly Obese Japanese Patients. Uehara D, Seki Y, Kakizaki S, Horiguchi N, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Yamada M, Uraoka T, Kasama K. *Obes Surg.* 2019 Apr;29(4):1195-1201. 査読有

2. Impact of the Prognostic Nutritional Index on the Survival of Japanese Patients with Hepatocellular Carcinoma Treated with Sorafenib: A Multicenter Retrospective Study. Hatanaka T, Kakizaki S, Uehara D, Nagashima T, Ueno T, Namikawa M, Saito S, Hosonuma K, Suzuki H, Naganuma A, Takagi H, Sato K, Uraoka T. *Intern Med.* 2019 Mar 28. doi: 10.2169/internalmedicine.1594-18. 査読有

3. -Hydroxy- -methyl Butyrate/L-Arginine/L-Glutamine Supplementation for Preventing Hand-Foot Skin Reaction in Sorafenib for Advanced Hepatocellular Carcinoma.

Naganuma A, Hoshino T, Ohno N, Ogawa Y, Murakami T, Horiguchi S, Uehara D, Suzuki Y, Hatanaka T, Kudo T, Ishihara H, Sato K, Kakizaki S, Takagi H. *In Vivo.* 2019 Jan-Feb;33(1):155-161. 査読有

4. Non-invasive prediction of non-alcoholic steatohepatitis in Japanese patients with morbid obesity by artificial intelligence using rule extraction technology.

Uehara D, Hayashi Y, Seki Y, Kakizaki S, Horiguchi N, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Yasuda K, Yamada M, Uraoka T, Kasama K. *World J Hepatol.* 2018 Dec 27;10(12):934-943. 査読有

5. Factors predicting overall response and overall survival in hepatocellular carcinoma patients undergoing balloon-occluded transcatheter arterial chemoembolization: A retrospective cohort study.

Hatanaka T, Arai H, Shibasaki M, Tojima H, Takizawa D, Toyoda M, Takayama H, Abe T, Sato K, Kakizaki S, Yamada M. *Hepatol Res.* 2018 Feb;48(2):165-175. 査読有

6. Association between Skeletal Muscle Depletion and Sorafenib Treatment in Male Patients with Hepatocellular Carcinoma: A Retrospective Cohort Study.

Naganuma A, Hoshino T, Suzuki Y, Uehara D, Kudo T, Ishihara H, Sato K, Kakizaki S, Yamada M, Takagi H. *Acta Med Okayama.* 2017 Aug;71(4):291-299. 査読有

7. Prevalence of nonalcoholic steatohepatitis in Japanese patients with morbid obesity undergoing bariatric surgery.

Seki Y, Kakizaki S, Horiguchi N, Hashizume H, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Kusano M, Yamada M, Kasama K. *J Gastroenterol.* 2016 Mar;51(3):281-9. 査読有

8. Expression of amino acid transporters (LAT1, ASCT2 and xCT) as clinical significance in hepatocellular carcinoma.

Namikawa M, Kakizaki S, Kaira K, Tojima H, Yamazaki Y, Horiguchi N, Sato K, Oriuchi N, Tominaga H, Sunose Y, Nagamori S, Kanai Y, Oyama T, Takeyoshi I, Yamada M. *Hepatol Res.* 2015 Sep;45(9):1014-1022. 査読有

9. Safety and efficacy of balloon-occluded transcatheter arterial chemoembolization using miriplatin for hepatocellular carcinoma.

Arai H, Abe T, Takayama H, Toyoda M, Ueno T, Kakizaki S, Sato K. *Hepatol Res.* 2015 Jun;45(6):663-6. 査読有

10. MK-0626, a selective DPP-4 inhibitor, attenuates hepatic steatosis in ob/ob mice.

Ohyama T, Sato K, Yamazaki Y, Hashizume H, Horiguchi N, Kakizaki S, Mori M, Kusano M, Yamada M. *World J Gastroenterol.* 2014 Nov 21;20(43):16227-35. 査読有

〔学会発表〕(計 13 件)

本研究の成果ではないが、関連性のある発表として 13 件を記載する。

国際学会発表

1. DDW2019、ポスター . 2019 年 5 月 サンディエゴ、USA

Long-term results of bariatric surgery for non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis treatment in morbidly obese Japanese patients. Kakizaki S, Uehara D, Seki Y, Horiguchi N, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Yamada M, Kasama K, Uraoka T.

2. 3rd World Congress on Gastroenterology、招請講演 2019 年 4 月 大阪
The impact of DAA-based therapy for chronic hepatitis C on HCC development

Sato K.

3. ISBRA (International Society for Biomedical Research on Alcoholism)、シンポジウム . 2018 年 9 月 京都

Macrophage inhibitory factor (MIF) attenuates hepatic steatosis, but promotes

hepatocarcinogenesis.

Horiguchi N, Kakizaki S, Takizawa D, Uehara D, Kobayashi T, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Gao B, Uraoka T.

4. ESPEN2018、ポスター . 2018年9月 マドリード、スペイン

Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio predict overall survival in hepatocellular carcinoma patients with non-B, non-C cirrhosis

Hatanaka T, Naganuma A, Uehara R, Saito N, Nakano S, Yoshida S, Hachisu Y, Tanaka Y, Yoshinaga T, Sato K, Kakizaki S.

5. AASLD2018、ポスター . 2018年11月 サンフランシスコ、USA

Combined -Hydroxy- -Methylbutyrate, L-Glutamine, and L-Arginine As a Promising Supplement for Prevention of Hand-Foot Skin Reaction during Sorafenib Treatment for Advanced Hepatocellular Carcinoma.

Murakami T, Naganuma A, Hoshino T, Ohno N, Ogawa Y, Horiguchi S, Uehara D, Suzuki Y, Hatanaka T, Kudo T, Ishihara H, Sato K, Kakizaki S and Takagi H.

6. DDW2018、ポスター . 2018年6月 ワシントン、USA

Macrophage inhibitory factor (MIF) attenuates hepatic steatosis, but promotes hepatocarcinogenesis.

Horiguchi N, Kakizaki S, Takizawa D, Uehara D, Kobayashi T, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Gao B, Uraoka T.

7. APASL2018 Single topic conference、ポスター . 2018年5月 横浜

The clinical characteristic and prognosis on non-B, non-C patients with HCC.

Saito N, Hatanaka T, Uehara R, Nakano S, Kato M, Kato N, Yoshida S, Tanaka Y, Hachisu Y, Yata Y, Yoshinaga T, Sato K, Kakizaki S.

8. APASL2018 Single topic conference、ポスター . 2018年5月 横浜

Initial experience with microwave ablation therapy for hepatic malignant tumors using a new device.

Hatanaka T, Saito N, Uehara R, Nakano S, Kato M, Yoshida S, Tanaka Y, Hachisu Y, Yata Y, Yoshinaga T, Sato K, Kakizaki S.

9. JDDW、International session、ワークショップ . 2015年10月 東京

MK-0626, a selective DPP-4 inhibitor, ameliorates hepatic steatosis in ob/ob mice.

Ohyama T, Sato K, Yamada Y.

国内学会発表

1. JDDW、デジタルポスター . 2018年11月、神戸

肝細胞癌に対するダブルプラチナ療法の効果予測因子についての検討

戸島洋貴、新井弘隆、鈴木悠平、滝澤大地、豊田満夫、高山 尚、阿部毅彦、小林 剛、堀口昇男、山崎勇一、佐藤 賢、柿崎 暁、浦岡俊夫

2. JDDW、デジタルポスター . 2018年11月、神戸

当院におけるB型肝癌と潜在性B型肝癌

滝澤大地、鈴木悠平、豊田満夫、新井弘隆、高山 尚、阿部毅彦、佐藤 賢、柿崎 暁

3. JDDW、デジタルポスター . 2018年11月、神戸

NAFLD/NASHモデルにおけるマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の役割

堀口昇男、柿崎 暁、滝澤大地、植原大介、小林 剛、戸島洋貴、山崎勇一、佐藤 賢、浦岡俊夫

4. 第89回日本内分泌学会学術学会総会、シンポジウム . 2016年4月、京都

脂肪組織 アディポサイエンスの展開 PPAR の新たな転写共役因子 HELZ2 の肥満症における役割.

佐藤 哲郎、佐藤 賢、山田正信

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

出願準備中である。

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：山崎 勇一
ローマ字氏名：Yuichi Yamazaki
所属研究機関名：群馬大学
部局名：医学部附属病院
職名：助教
研究者番号（8桁）：00582404

研究分担者氏名：堀口 昇男
ローマ字氏名：Norio Horiguchi
所属研究機関名：群馬大学
部局名：医学部附属病院
職名：助教
研究者番号（8桁）：10550022

(2)研究協力者

研究協力者氏名：佐藤 哲郎
ローマ字氏名：Tetsurou Satoh
* 申請時点では、連携研究者。

研究協力者氏名：吉野 聡
ローマ字氏名：Satoshi Yoshino

研究協力者氏名：Bin Gyao
ローマ字氏名：Bin Gyao

研究協力者氏名：田原 博貴
ローマ字氏名：Hiroki Tahara

研究協力者氏名：中島 良美
ローマ字氏名：Yoshimi Nakajima

研究協力者氏名：大山 達也
ローマ字氏名：Tatsuya Ohyama

研究協力者氏名：滝澤 大地
ローマ字氏名：Daichi Takizawa

研究協力者氏名：戸島 洋貴

ローマ字氏名： Hiroki Tojima

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。