

機関番号：14501
 研究種目：研究活動スタート支援
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21890139
 研究課題名（和文） アリールハイドロカーボン受容体を介した NASH の新たな進展機構の解明
 研究課題名（英文） Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) via aryl hydrocarbon receptor signaling
 研究代表者
 三木 章 (MIKI Akira)
 神戸大学・医学部附属病院・特定助教
 研究者番号：40514964

研究成果の概要（和文）：非アルコール性脂肪肝炎 (Nonalcoholic steatohepatitis; NASH) は、単純性脂肪肝から肝炎を発症し、肝硬変・肝がんに至る進行性で予後不良な疾患である。動物実験レベルでは、環境汚染物質と脂質代謝障害・脂肪肝の発症との間に関係があると報告されており、NASH と環境汚染物質の関係を解明することは重要と考える。様々な環境汚染物質が細胞質内にあるアリールハイドロカーボン受容体 (AHR) に結合し、種々の反応を惹起することが知られている。申請者は AHR の活性化、つまり環境汚染物質が NASH の進行に関わっているのではないかと考え、その関係を明らかにする。

研究成果の概要（英文）： Non-alcoholic fatty hepatitis (NASH) is the progressive disease developing from the simple fatty liver disease to hepatitis and furthermore hepatic cirrhosis and cancer, and has a poor prognosis. The animal experiments have demonstrated the interrelationship among environmental contaminants, defective lipid metabolism and the pathogenesis of fatty liver, and these results raise the possibility that environmental contaminants are involved in the pathogenesis of NASH. Multiple environmental contaminants binds to aryl hydrocarbon receptor (AhR), resulting in enhancing various reactions. Therefore, we investigated whether the AhR activation by environmental contaminants leads to progression of NASH.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,050,000	315,000	1,365,000
2010年度	950,000	285,000	1,235,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：消化器内科学

キーワード：NASH, NAFLD, AhR

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患 (Nonalcoholic fatty liver disease; NAFLD) とは、明らかな飲酒歴がないにも関

わらず、アルコール性肝障害に類似した大滴性の肝脂肪沈着を特徴とする肝疾患である。その疾患概念には、予後良好な非進行性の単純性脂肪肝と、予後不良な進行性の非アルコ

ール性脂肪肝炎 (NASH) が含まれる。NASH は NAFLD の約 10% を占め、5~10 年間で約 5~20% が肝硬変へ至り、肝不全 (40~60%) もしくは肝がん (5 年肝細胞がん発がん率 0~15%) となり、死亡する (5 年生存率 60~90%) (Hepatology 37:1202-1219, 2003)。我が国では、成人の 0.5~1.0% が NASH であると推定され、肝細胞がんの 2~13% がこの疾患を基盤としている。メタボリックシンドロームの合併率が高く (約 50%)、メタボリックシンドロームが注目され増加している中、NASH も今後増加していく可能性が高い。

NASH の発症機序として、現在 two-hit theory が支持されている。まず肝臓に中性脂肪が沈着し (first hit)、その後、何らかの肝細胞障害要因 (second hit) が加わり NASH を発症すると考えられているが、詳しいことはわかっていない。今後、増加すると考えられる NASH の発症機序を明らかにすることは、新たな治療法の発見に結びつくものと考えられ、非常に重要と思われる。

一方、我々の周囲には様々な環境汚染物質、例えばゴミの不完全燃焼で生じる 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin

(TCDD)、接着剤や断熱材に使用されていた Polychlorinated biphenyls (PCBs)、煙突の煤や排気ガスに含まれる Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) などが存在する。これらはいずれも細胞質に存在する AHR に結合し、AHR は核内へ移行、様々な反応を惹起する。現在知られているのは腫瘍形成促進作用、催奇形性、免疫能低下、脂質糖代謝異常などである (Chem. Res. Toxicol. 21:102-116, 2008)。動物実験レベルでは、TCDD によりモルモットに高脂血症を生じたという報告がある (J. Pharmacol. Exp. Ther. 248:62-66, 1989)。我々もラットで sterol regulatory element-binding protein

(SREBP) の発現が増加して脂肪酸合成が促進、肝内の中性脂肪量が増加することを確認している (Toxicol. Appl. Pharmacol. 229:281-289, 2008)。

2. 研究の目的

AHR には、peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR α) の活性を抑制する作用が存在する (J. Vet. Med. Sci. 66:1377-1386, 2004)。PPAR α は inhibitor of κ B α (I κ B α) を活性化して nuclear factor κ B (NF κ B) を抑制し、炎症を抑える作用があるといわれており (J Clin Invest 116:571-580, 2006)、AHR により PPAR α が抑制されると、NF κ B が活性化されて炎症が惹起される可能性がある。我々は AHR リガンドのひとつである 3-メチルコラントレン (MC) をマウスに腹腔内投与すると、肝内の NF κ B が活性化されることを確認している。また、AHR にリガンドが結合すると CYP1A1 の発現が誘導される。CYP1A1 が過剰に発現することと発がんとの間に何らかの関係があると言われている (Drug Metab Rev 26:165-170, 1994)。以上から、AHR 活性化と肝脂肪化、炎症、発がんとは相関関係があることが推測される。したがって我々は、NASH の肝脂肪化・肝炎発症・肝がん発症に AHR の活性化が、つまり環境汚染物質が関与しているのではないかと考えた。AHR の活性化による肝脂肪化・炎症惹起の反応経路の中核となるのが PPAR α であり、AHR と PPAR α の関係を明らかにすることは非常に重要と考える。AHR にリガンドが結合すると PPAR α が抑制されることは知られており (J. Vet. Med. Sci. 66:1377-1386, 2004)、我々もまたそれを確認している。しかしその詳細は明らかでない。そこで、本研究では、AHR を介した NASH の肝脂肪化・肝炎発症・肝が

ん発症を明らかにする。

3. 研究の方法

(1)in vitroでのAHRとPPAR α の関係解析

肝がん培養細胞を用いて、AHRリガンドによってPPAR α が抑制されていることを確認し、その経路にユビキチン・プロテアソーム系が関与していることを明らかにする。

(2)in vivoでのAHRとPPAR α の関係解析

C57BL/6マウスを用いて、AHRリガンドによってPPAR α が抑制されていることを確認し、その経路にユビキチン・プロテアソーム系が関与していることを明らかにする。

(3)in vivoでのAHRとNASHの関係解析

NASHマウスモデルを用いて、AHRリガンドによってNASHの病態が促進されるかを明らかにする。

4. 研究成果

NASHは、単純性脂肪肝から肝炎を発症し、肝硬変・肝がんに至る進行性で予後不良な疾患である。動物実験レベルでは、環境汚染物質と脂質代謝障害・脂肪肝の発症との間に関係があると報告されており、NASHと環境汚染物質の関係を解明することは重要と考える。様々な環境汚染物質が細胞質内にあるAHRに結合し、種々の反応を惹起することが知られている。申請者はAHRの活性化、つまり、環境汚染物質がNASHの進行に関わっているのではないかと考え、その関係を明らかにするため、研究を行った。マウスを使用し、AHRの活性化が肝臓に与える影響を検討した。AHRのリガンドである3MCを腹腔内投与すると、8時間後には肝の脂肪化を認め、肝内の中性脂肪量と脂肪酸量の有意な増加を認めた。またAHR活性化による肝脂肪化には、肝細胞に脂肪酸を取り込むトランスポーターであるfatty acid translocase (FAT)の機

能亢進が関与していることを明らかにした。同時にPPAR α のmRNAも増加していることを確認しており、FATの機能亢進に関与していた。AHR刺激によりPPAR α が活性化していることを明らかにした。これらの結果は、AHRの活性化が肝脂肪化に深く関わっていることを示すものである。AHRの活性化による肝への影響を検討することにより、NASHの病態解明に迫ることができる可能性がある。

5. 主な発表論文等

(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2件)

1. Kawano Y, Nishiumi S, Tanaka S, Nobutani K, Miki A, Yano Y, Seo, Y, Ashida H, Kutsumi H, Azuma T, and Yoshida M. Activation of Aryl Hydrocarbon Receptor Induces Hepatic Steatosis via Upregulation of Fatty Acid Transport. Arch Biochem Biophys. 2010 Dec 15;504(2):221-7.
2. Tateiwa S, Yano Y, Seo Y, Miki A, Kawano Y, Azuma T, Hayashi Y. Clinical significance of hepatitis B virus-DNA in hepatocellular carcinoma negative for hepatitis B virus surface antigen. Exp Ther Med. 1(2), 343-346, 2010

[学会発表] (計8件)

1. 三木章、瀬尾靖、矢野嘉彦、川野佑輝、斉藤雅也、立岩心平、東健. 当科における非B非C肝細胞癌の背景疾患についての検討. 肝臓, A395, Suppl.1, 2010
2. 矢野嘉彦、瀬尾靖、三木章、立岩心平、川野佑輝、斉藤雅也、田村勇、東健、林祥剛. エジプト国イスマイリア地方の小児急性肝障害例におけるB型肝炎ウイルスの関与. 肝臓, A363, Suppl.1, 2010
3. 斉藤雅也、瀬尾靖、川野佑輝、田村勇、立岩心平、三木章、矢野嘉彦、東健. 肝細胞癌に対するRFAおよびPEIT施行患者における間接熱量測定法を用いた術侵襲の程度評価とBCAA製剤の術侵襲への

効果. 肝臓, A307, Suppl.1, 2010

4. 三木章、瀬尾靖、矢野嘉彦、川野佑輝、立岩心平、斉藤雅也、東健. 慢性C型肝炎に対しPEG-IFN α 2a療法後に顕在化したクリオグロブリン血症に伴う多発単神経炎の一例. 日本消化器病学会雑誌, A401, 2010
5. 矢野嘉彦、Ahmed, Youssef、瀬尾靖、三木章、斉藤雅也、川野佑輝、立岩心平、田村勇、東健、林祥剛. エジプト国イスマイリア地方における肝炎ウイルスの検討. 肝臓, A724, Suppl.3, 2009
6. 瀬尾靖、矢野嘉彦、三木章、加藤洋隆、廣畑成也、山下幸政、北嶋直人、尹聖哲、由宇芳才、東健. 神戸肝疾患治療研究会. アンケートによるB型慢性肝炎治療の現況調査 IFN治療と核酸アナログ治療を中心に
7. 三木章、矢野嘉彦、瀬尾靖、東健、林祥剛. Endothelial lipase K.Oマウスを用いたNASHの発症過程のインスリン抵抗性についての検討. 肝臓, A320, Suppl.1, 2009
8. 立岩心平、瀬尾靖、矢野嘉彦、三木章、川野佑輝、寒原芳浩、林祥剛. 非B非C肝疾患からの肝発癌例の背景. 肝臓, A279, Suppl.1, 2009

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/gi/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三木 章 (MIKI Akira)

神戸大学・医学部附属病院・特定助教

研究者番号：40514964

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし