

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19060

研究課題名(和文) Bcl6による脂質代謝制御機構の解明と創薬への応用

研究課題名(英文) Study of lipid metabolism by Bcl6 and application for drug discovery

研究代表者

近田 裕美 (CHIKADA, Hiromi)

東海大学・医学部・特定研究員

研究者番号：60712776

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：転写因子B cell lymphoma 6 (Bcl6) は肝臓の遺伝子発現の性差や脂質代謝の制御に重要である。そこで、肝臓特異的Bcl6欠損マウスを用いて、Bcl6と肝臓の薬物代謝酵素遺伝子群(Cytochrome P450s, Cyps)の発現性差との関連性を検証した。この結果、オス特異的Cypsの発現はBcl6欠損でメスレベルまで発現低下していた。また、メス特異的Cypsの発現はBcl6欠損でメスレベルまで発現上昇していた。これらのことから、Bcl6はCypsの発現パターンをオス型に維持するのに必要であることが示唆され、脂質代謝や代謝異常を背景とする肝疾患の発症や性差への関与を検証する。

研究成果の概要(英文)：B cell lymphoma 6 (Bcl6) is one of the key factors to regulate the sex specificity of the gene expression profiles or lipid metabolism in livers. We tried to confirm the Bcl6 function in the sex specificity of the Cytochrome P450 gene expression profiles. The expression of the male biased Cyps such as Cyp2d9 was decreased in Bcl6-LKO mice livers. The expression of the female biased Cyps such as Cyp3a41 was increased in Bcl6-LKO mice livers. These results suggested that Bcl6 was indispensable to regulate the sex specific expression of Cyps. We began to study the Bcl6 function in lipid metabolism and dyslipidemia and these sex specificities in livers.

研究分野：肝臓生物学

キーワード：Bcl6 性差 薬物代謝 脂質代謝

1. 研究開始当初の背景

食事の欧米化とともに、脂質代謝の破綻に起因するメタボリックシンドロームが急増している。メタボリックシンドロームが進行すると、脳梗塞や心筋梗塞等の循環器系疾患を発症する。循環器系疾患の発症には性差があるが、女性ホルモンのエストロゲンが脂質代謝を抑制し、疾患発症に抑制的に機能すると考えられている。しかしながら、エストロゲンが脂質代謝を制御する分子メカニズムについてはほとんど明らかではない。

我々は、肝臓特異的 Bcl6 欠損マウス (Bcl6-LKO) を用いた解析から、肝臓の遺伝子発現パターン、特に薬物代謝酵素遺伝子群の発現パターンの性差を制御するキープクターとして、転写因子 B cell lymphoma 6 (Bcl6) を同定し、Bcl6 の機能解析を進めている (Chikada et al., 2018 in press)。また、Bcl6 が脂質代謝の制御にも重要な役割を担うことが示唆されている (Lapensee et al., 2014)。これらのことから、Bcl6 の薬物代謝や脂質代謝における機能、また肝臓の機能や疾患における Bcl6 と性差との関連性を検証することとした。

2. 研究の目的

Bcl6-LKO の肝臓のマイクロアレイ等の遺伝子発現解析から、Bcl6 と薬物代謝酵素遺伝子群の発現およびその性差に焦点をあて、Bcl6 の機能解析を実施した。薬物代謝の性差制御の分子メカニズムを明らかにし、創薬への応用を目指す。

3. 研究の方法

マイクロアレイ解析により、Bcl6-LKO の肝臓の網羅的な遺伝子発現解析を実施した。Gene Ontology により遺伝子群を分類し、Cytochrome P450 群の発現、およびその性差と Bcl6 の関連性を、リアルタイム PCR 法や CYP 活性測定法などを用いて詳細に検証した。

4. 研究成果

肝臓の機能を制御する転写因子群の解析から、Bcl6 に着目した。Bcl6 は胎児期に比べて成熟肝臓において著しく発現が誘導されたことから、成熟肝臓における機能を探索した。Bcl6-LKO の肝臓の網羅的な遺伝子発現解析から、Bcl6 は薬物代謝酵素遺伝子群 Cytochrome P450 群 (Cyps) の発現性差を制御しており、特にオスにおいてオスの発現パターンを維持するのに必要であることが示唆された (Fig.1)。

定量的 PCR によりオス特異的な Cyps として、Cyp2d9 や Cyp2u1、Cyp4a12a/12b、Cyp7b1 を測定した結果、これらの遺伝子群はメスに比べてオスで優位に発現しており、Bcl6 欠損でメスレベルまで発現低下した (Fig.2)。また、メス特異的な Cyps として、Cyp2a4/2a5、Cyp2b9、Cyp3a41、Cyp17a1

等を測定した結果、これらの遺伝子群はオスに比べてメスで優位に発現しており、Bcl6 欠損でメスレベルまで発現上昇した (Fig.3)。このような遺伝子発現レベルでの変化が酵素活性にまで反映しているかを検証するために、メス特異的な Cyp2b の酵素活性を測定した。遺伝子の発現変化と同様に Cyp2b の活性測定でもオスに比べてメス肝細胞で活性が高い。加えて、オスマウスでも Bcl6 欠損肝細胞では活性が高いことが示された。

Bcl6 による Cyps の発現性差の制御に性ホルモンが関与するかを検証するために、血中性ホルモン濃度 (β -エストラジオールおよびテストステロン) を測定した。この結果、野生型と Bcl6-LKO で性ホルモン濃度は同等であった。また、性ホルモンシグナルの変化を検証するために、エストロゲン受容体の発現量を測定した結果、肝臓においては Bcl6 欠損によりエストロゲン受容体の発現量は上昇していた。この発現変化は脂肪組織では認められなかった。さらに Bcl6-LKO の生殖能力は野生型と同等であった。これらのことから、Bcl6-LKO は性ホルモンや生殖能力のような体全体の性差は野生型と同等でありながら、肝臓の遺伝子発現の性差がメス型に変化していることが示唆された。

以上の結果から、Bcl6-LKO は体全体の性差の影響を受けずに、肝臓の性差を解析することができ、薬物代謝等の性差の評価や性差を考慮した創薬に有用であると考えられた。さらに、脂質代謝の破綻に端を発するメタボリックシンドロームを背景とする肝疾患についても、Bcl6 の性差制御との関連性が考えられる。Bcl6-LKO を用いてそのような肝疾患の発症や発症性差の解析を進める。

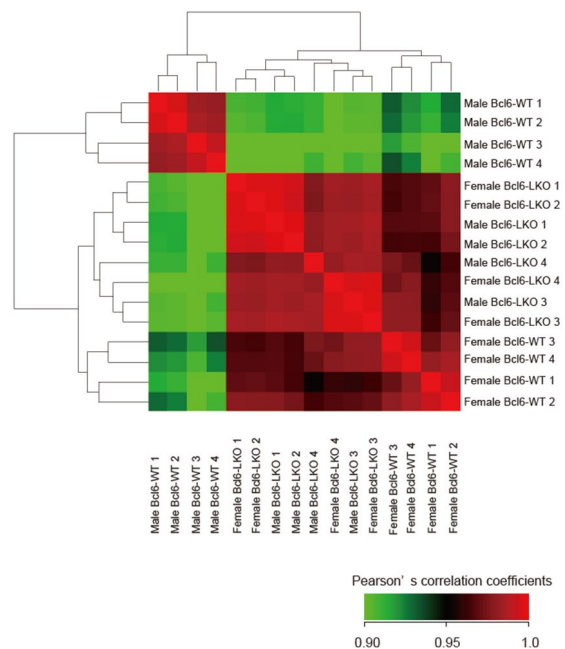


Fig.1 マイクロアレイ解析による Bcl6-LKO 肝臓の網羅的な遺伝子発現解析を実施し、Cyps に絞ったヒートマップを作成した。

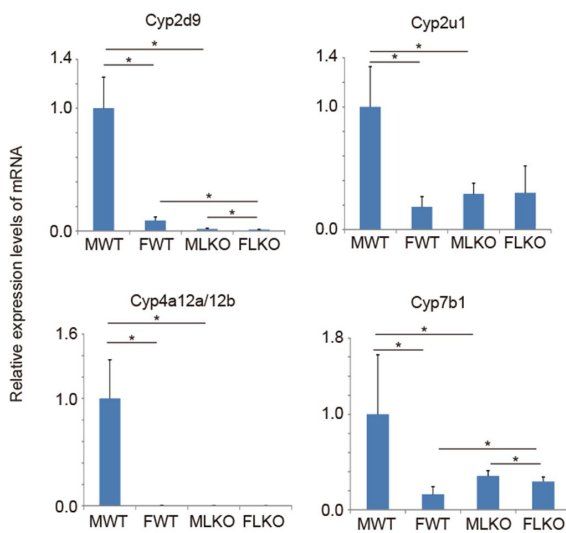


Fig.2 オス特異的 Cyp450 の発現量を定量的 PCR により測定した。

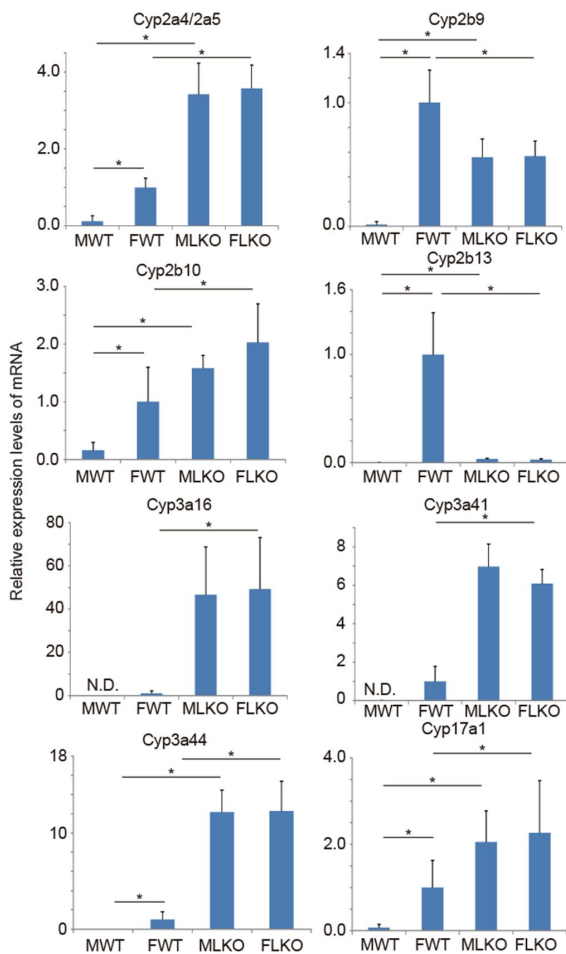


Fig.3 メス特異的 Cyp450 の発現量を定量的 PCR により測定した。

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 1 件)

(1)Hiromi Chikada, Kinuyo Ida, Emi Ando, Yutaka Inagaki, Akemi Sakamoto, and Akihide Kamiya, Establishment and analyses of a mouse model that regulates sex-related differences in drug metabolism in the liver **Laboratory Investigation**, 2018 in press
査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

(1)近田裕美、井田絹代、稲垣豊、紙谷聡英
「肝臓における薬物代謝の性差を制御する分子メカニズム」
第 24 回肝細胞研究会、北海道旭川、2017 年

(2)近田裕美、井田絹代、稲垣豊、紙谷聡英
「肝臓における薬物代謝の性差を制御する分子メカニズム」
第 16 回日本再生医療学会、宮城県仙台市、2017 年

(3)近田裕美、井田絹代、稲垣豊、紙谷聡英
「肝臓における薬物代謝の性差を制御する分子メカニズム」
第 23 回肝細胞研究会、大阪府大阪市、2016 年

〔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〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
近田 裕美 (CHIKADA, Hiromi)
東海大学・医学部・特定研究員
研究者番号：60712776

(2)研究分担者
(なし)

(3)連携研究者
(なし)

(4)研究協力者
(なし)