

令和 3 年 6 月 20 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15775

研究課題名(和文)新規NASH発癌モデルの開発とその機序解析

研究課題名(英文)The development and the analysis of novel mice model of NASH-related cancer

研究代表者

坂牧 僚 (Sakamaki, Akira)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：40792289

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：通常食投与下でMC4R,Maid両遺伝子欠損マウスとMC4R遺伝子単独欠損マウスの雌を28週まで飼育すると、体重の平均値はそれぞれ66.3g、36.8gであった($P<0.001$)。また両遺伝子欠損マウスは高度の内臓脂肪蓄積を認めたものの、肝脂肪沈着はMC4R遺伝子単独欠損マウスと同等であった。さらに、52週齢でも肝硬変や肝癌の所見は見られなかった。以上の結果より、Maid遺伝子欠損はMC4R遺伝子欠損マウスの脂肪細胞での脂肪蓄積を増加させるが、肝への異所性脂肪蓄積は増加させ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

Maid遺伝子は癌化や炎症に関係し、肝癌の発症にも関わることが知られているが、現在までのところ解明されていない部分も多い。本研究において脂肪細胞に作用し、脂肪蓄積を増加させるという、今まで知られていなかった表現型に参与することが明らかとなった。MC4R,Maid両遺伝子欠損マウスは異所性の脂肪蓄積を悪化させない生理的な肥満であり、この機序の解明は肥満症の病態解明及び治療に有用である可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The mean body weights of melanocortin-4 receptor (MC4R) and Maid gene-double knockout (DKO) mice and MC4R gene-single knockout (MC4R-KO) mice with regular diet were 66.3g and 36.8g, respectively ($P<0.001$). Although DKO mice showed a higher degree of visceral fat accumulation than MC4R-KO mice, hepatic fat deposition of DKO mice was similar to that of MC4R-KO mice. Furthermore, there was no evidence of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma even at 52 weeks of age in both knockout mice. These results indicate that Maid gene deletion increases fat accumulation in adipocytes of MC4R gene-deficient mice, but does not increase ectopic fat accumulation in the liver.

研究分野：消化器内科

キーワード：非ウイルス性脂肪性肝炎 メラノコルチン4受容体 NASHモデルマウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 肝硬変はウイルス、自己免疫、脂肪化など種々の原因により炎症が引き起こされ、肝細胞の壊死とそれに引き続く肝細胞再生が繰り返される課程で、肝組織が線維化を伴って結節状に硬化した状態であり、肝細胞癌は炎症、壊死、再生の過程で肝細胞の遺伝子変異が促進、蓄積することによって発生すると考えられている。その75%はB型及びC型肝炎ウイルスを背景としたウイルス性肝炎であるが、最近是非ウイルス性肝炎が増加してきており、なかでも非アルコール性脂肪肝 (Non-alcoholic fatty liver disease : NAFLD)の増加が問題である。脂肪肝は過栄養状態を背景として、肝細胞内に過剰の脂肪が蓄積した状態を指し、更にこの状態に複数の肝細胞障害要因が加わると約10%の症例で脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis : NASH) になり、肝は線維化を来し、肝硬変や肝癌に至ると考えられている。これはNASHの進展における有名な仮説 (multiple parallel hits hypothesis) であるが、NAFLDの90%はNASHに進展せず、どのような症例においてNAFLDからNASHおよび肝癌に進行するかは解明されていない。

(2) メラノコルチン4受容体(MC4R)は視床下部の摂食中枢に発現し、その欠損マウスは摂食中枢の異常により過剰な食事摂取を来し、高度肥満、高インスリン血症、高脂血症を呈する。その肝組織では脂肪蓄積と線維化を認め、NASHモデルマウスとしての有用性が報告されている[1]。

(3) Mtd 遺伝子は CyclinD1, SIRT6 などの様々な蛋白と結合し、ATM のリン酸化を介して細胞周期のチェックポイント遺伝子である Chk2 や、アポトーシスを制御する p53 を制御し、癌化や炎症の制御にかかわる[2]。ヒトでは肝細胞癌の遺伝子解析により、Mtd 遺伝子は早期の肝細胞癌に多く発現していることが知られている。

2. 研究の目的

Mtd 遺伝子の機能を解析することにより、多種多様な因子が影響する NASH の進展の理解と、NASH を背景とした肝発癌について評価することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) MC4R 単独遺伝子欠損マウスに高脂肪食を投与すると、脂肪肝から線維化を来し、NASH モデルとなるが、通常食投与のみで脂肪蓄積は高度になるが、線維化を来さないと考えられている。MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスと MC4R 単独遺伝子欠損マウスを通常食で28週飼育し、毎週体重測定を行った。28週齢で最終体重を記録し、肝臓を摘出、重量を測定の後、パラフィン包埋で検体を保存した。各群4個体とし、それぞれ肝重量、肝細胞内の脂肪蓄積量、アポトーシス細胞数、炎症細胞浸潤の有無、肝線維化の評価を行った。

(2) 既報より NASH モデルマウスでの発癌は1歳齢で認められる[1]ことより、MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスと MC4R 単独遺伝子欠損マウスを通常食で52週飼育し、肝重量、肝細胞内の脂肪蓄積量、アポトーシス細胞数、炎症細胞浸潤の有無、肝線維化に加え、肝腫瘍数および腹水、転移性病変の有無などを評価した。

4. 研究成果

(1) MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスは高度肥満を呈する

通常食投与下で MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスと MC4R 遺伝子単独欠損マウスの雌を28週まで飼育すると、MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスの体重の平均値は66.3g、MC4R 遺伝子単独欠損マウスは36.8gであった ($P < 0.001$, 図1)。また解剖を行うと、MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスは高度の内臓脂肪蓄積に加え、皮下脂肪蓄積が見られる一方、肝脂肪沈着は MC4R 遺伝子単独欠損マウスと同等であった。以上の結果より、Mtd 遺伝子欠損は MC4R 遺伝子欠損マウスにおいて高度の体重増加と脂肪細胞での蓄積増加を認めるものの、肝への異所性脂肪蓄積の増加は促進しないと考えられた。

(2) MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスは肝における脂肪沈着は軽度で、肝硬変や肝癌に至る頻度は増加しない

さらに、通常食投与下で MC4R, Mtd 両遺伝子欠損マウスと MC4R 遺伝子単独欠損マウスの雌を52週まで飼育すると、いずれもマウスにおいても肝硬変や肝癌の所見は見られなかった (いずれも0%, 図2)。以上の結果より、Mtd 遺伝子欠損は当初の想定とは異なり、高発癌の NASH モデルマウスとはなり得ないと判断した。

図 1

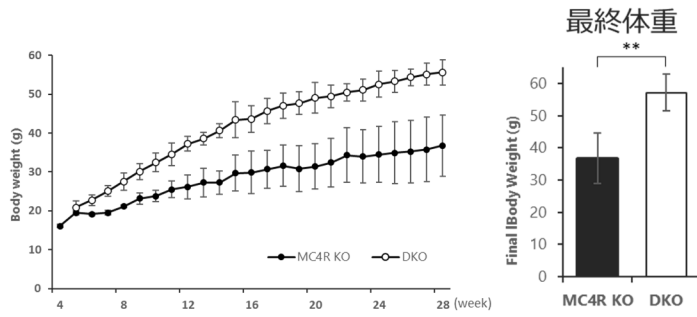
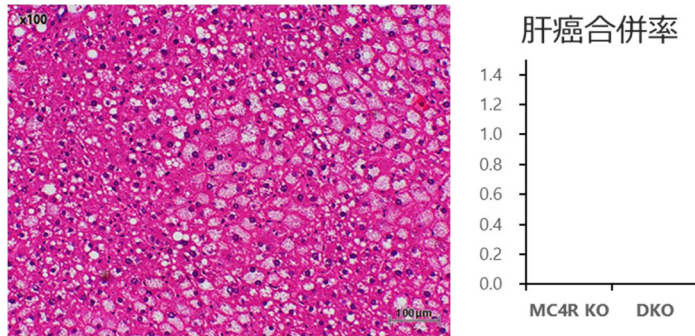


図 2



< 引用文献 >

- [1] Itoh M, Suganami T, Nakagawa N, et al. Melanocortin 4 receptor-deficient mice as a novel mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol.* 2011; 179(5): 2454-63. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.07.014.
- [2] Takami T, Terai S, Yokoyama Y, et al. Human homologue of maid is a useful marker protein in hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology.* 2005; 128(5): 1369-80. doi: 10.1053/j.gastro.2005.03.014.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂牧僚、森田真一、小山究太郎、阿部寛幸、上村顕也、高村昌昭、寺井崇二
2. 発表標題 大柴胡湯はメラノコルチン4受容体遺伝子欠損マウスの肥満を改善する
3. 学会等名 第41回 日本肥満学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森田真一、坂牧僚、小山究太郎、田中裕登、永山逸夫、山田麻理奈、大脇崇史、小田知友美、柴田理、木村淳史、阿部寛幸、上村顕也、寺井崇二
2. 発表標題 生理的な脂肪沈着を呈する新規肥満モデルマウスの開発
3. 学会等名 第11回 肥満と消化器疾患研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小山究太郎、坂牧僚、寺井崇二
2. 発表標題 肥満モデルマウスを用いた、大柴胡湯による肝脂肪化抑制効果の検証
3. 学会等名 第57回 日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------