

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590981

研究課題名(和文) AFP産生を伴う肝細胞増殖の制御機構解明を通じたNASHにおける肝発癌抑制

研究課題名(英文) Suppression of alpha-fetoprotein related hepatocellular proliferation and hepatocellular carcinogenesis in nonalcoholic steatohepatitis

研究代表者

西原 利治 (SAIBARA, Toshiji)

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：60145125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ArKOマウスの脂肪肝進展には、肝細胞の糖新生の亢進や脂肪酸負荷と、PPAR- α の活性低下による脂肪酸酸化能の低下が関与している。エストロゲンやPPAR- α リガンドを外因性に投与するとPPAR- α 発現の回復に伴い脂肪肝の改善が得られる。このマウスで肝発癌モデルを構築すると、PPAR- α の低下を背景に耐糖能の異常が顕在化して脂肪肝を生じる。脂肪肝の高度化に伴い慢性肝疾患に進展するとPPAR- α の発現は経時的に回復し、正常なしいし亢進の時期を経て肝発癌に至る。PPAR- α の欠損マウスでは発癌が抑制されることから、ArKOマウスにおける肝発癌にはPPAR- α を介するシグナルの関与することが示された。

研究成果の概要(英文)：Aromatase deficient mice develop hepatic steatosis spontaneously via enhanced lipogenesis with increased glyconeogenesis. PPAR- α expression is decreased in this model and it recovers gradually after exogenous estrogen and/or PPAR- α ligand administration. Impaired PPAR- α expression is a risk factor for the development of diabetes and hepatic steatosis in the hepatocarcinogenic model using these mice. PPAR- α expression in these mice recovered spontaneously in the liver with chronic inflammation and hepatocellular carcinoma emerged afterward. The frequency of hepatocarcinogenesis in these mice is suppressed when PPAR- α is deficient. These observation suggest that PPAR- α activation mediated process is involved profoundly in the hepatocarcinogenesis in these mice and that estrogen could affect this process to suppress the carcinogenesis efficiently.

研究分野：消化器内科

キーワード：肝臓学 NASH 肝発癌 エストロゲン PPAR-

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は肝硬変や肝細胞癌の先駆病変であり、肥満人口の増加による NASH の増加が非ウイルス性肝細胞癌の増加に繋がると危惧されている。肝細胞癌の罹患頻度は病因や種を超えて男性に多いが、その詳細は明らかでない。

2. 研究の目的

主要な女性ホルモンであるエストロゲンの合成酵素である Aromatase を欠損するマウス (以下 ArKO マウス) が脂肪肝を自然発症し、成長と共に NASH を発症することを利用して、肝発癌に性差をもたらす要因としてエストロゲンの関与を検討した。また、このマウスを用いて発癌モデルを構築して、その分子機構を解明した。

3. 研究の方法

ArKO マウスに通常食を負荷して、脂肪肝を惹起し、慢性肝炎を経て発癌に至る系を確立した。次いで発癌に關する経路の解明には欠失 PPAR- 遺伝子を導入した ArKO マウスを用いた。

4. 研究成果

ArKO マウスでは肝細胞における脂肪酸酸化を司る重要な分子である PPAR- の発現が低下している。しかし、PPAR- 欠損マウス (PPAR- KO) は脂肪食を負荷しない限り脂肪肝を発症しないこと、PPAR- の ligand の投与のみならずエストロゲンにより ArKO の脂肪肝の進展が抑制できることから、ArKO の脂肪肝の進展には肝細胞のインスリン感受性低下による糖新生の亢進を背景とした肝細胞への脂肪負荷と、PPAR- の活性低下による酸化低下が関与すると考えられた。ArKO の肝発癌モデルでは耐糖能の異常を伴う脂肪肝が増悪後、低下していた PPAR-mRNA の発現が経時的に回復して正常化あるいは亢進状態を経て、肝発癌に至った。他方、エストロゲンを補充した群では PPAR- の発現の回復に伴って脂肪肝の改善が得られ、後に耐糖能の異常が顕在化したものの肝発癌は回避できた。慢性的な PPAR- の活性化が肝発癌を惹起することはよく知られている。エストロゲンを投与されなかった高齡 ArKO マウスでは高度の脂肪肝と耐糖能異常に加えて、持続的な脂肪酸酸化の亢進が観察された。エストロゲン投与によりこれらの表現型が緩和されたことから、PPAR- などの慢性的活性化を制御する因子としてのエストロゲンの重要性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 10 件)

Hasegawa T, Yamao K, Hijioka S, Bhatia V, Mizuno N, Hara K, Imaoka H, Niwa Y, Tajika M, Kondo S, Tanaka T, Shimizu

Y, Kinoshita T, Kohsaki T, Nishimori I, Iwasaki S, Saibara T, Hosoda W, Yatabe Y: Evaluation of Ki-67 index in EUS-FNA specimens for the assessment of malignancy risk in pancreatic neuroendocrine tumors. *Endoscopy* 46:32-38, 2014. 査読有
doi:10.1055/s-0033-1344958.

Ono M, Ogasawara M, Hirose A, Mogami S, Ootake N, Aritake K, Higuchi T, Okamoto N, Sakamoto S, Yamamoto M, Urade Y, Saibara T, Oben JA: Bofutsushosan, a Japanese herbal (Kampo) medicine, attenuates progression of nonalcoholic steatohepatitis in mice. *J Gastroenterol* 49(6):1065-1173, 2014. 査読有
doi:10.1007/s00535-013-0852-8

Toda K, Hayashi Y, Yamashita A, Okabe M, Ono M, Saibara T: Aromatase-null mice expressing enhanced green fluorescent protein in germ cells provide a model system to assess estrogen-dependent ovulatory responses. *Transgenic Res* 23 (2): 293-302, 2014. 査読有
doi: 10.1007/s11248-013-9771-y.

Taniuchi K, Furihata M, Saibara T: KIF20A-mediated RNA granule transport system promotes the invasiveness of pancreatic cancer cells. *Neoplasia* 16 (12): 1082-1093. 2014. 査読有
doi: 10.1016/j.neo.2014.10.007.

Taniuchi K, Furihata M, Hanazaki K, Saito M, Saibara T: IGF2BP3-mediated translation in cell protrusions promotes cell invasiveness and metastasis of pancreatic cancer. *Oncotarget* 30(5): 6832-6845, 2014. 査読有
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4196166/>

Osawa Y, Hoshi M, Yasuda I, Saibara T, Moriwaki H, Kozawa O: Tumor necrosis factor- promotes cholestasis-induced liver fibrosis in the mouse through tissue inhibitor of metalloproteinase-1 production in hepatic stellate cells. *PLoS One* 8(6): e65251, 2013. 査読有
doi: 10.1371/journal.pone.0065251.

Ue M, Ikebe N, Munekage K, Ochi T, Ono M, Saibara T: Hepatocyte destruction with enhanced collagen synthesis in the liver of chronic hepatitis C patients on hemodialysis. *J Viral*

Hepat 20 (5): 350-357, 2013. 査読有
doi: 10.1111/jvh.12031.

Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Itoh Y, Ono M, Fujii H, Eguchi Y, Suzuki Y, Aoki N, Kanemasa K, Fujita K, Chayama K, Saibara T, Kawada N, Fujimoto K, Kohgo Y, Yoshikawa T, Okanou T: Validation of the FIB4 index in a Japanese nonalcoholic fatty liver disease population. BMC Gastroenterol 12:2, 2012. 査読有
doi: 10.1186/1471-230X-12-2.

Taniuchi K, Yokotani K, Saibara T: BART inhibits pancreatic cancer cell invasion by Rac1 inactivation through direct binding to active Rac1. Neoplasia 14(5):440-450, 2012. 査読有
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3384431/>

Toda K, Hayashi Y, Ono M, Saibara T: Impact of ovarian sex steroids on ovulation and ovulatory gene induction in aromatase-null mice. Endocrinology 153(1): 386-394, 2012. 査読有
doi: 10.1210/en.2011-1462.

[学会発表](計10件)
(国際学会)

Ohmi S, Ono M, Nishi Y, Hirano S, Tsugita S, Takata H, Yoshimura K, Mori S, Terada Y, Saibara T, Fujimoto S. Correlation between glucose intolerance and histological severity in non-alcoholic fatty liver disease. American Diabetes Association 74th Scientific Sessions 2014, (San Francisco USA) 2014.6.13-17.

Taketani H, Sumida Y, Tanaka S, Kanemasa K, Yoneda M, Imajyo K, Nakajima A, Hyogo H, Chayama K, Ono M, Saibara T, Fujii H, Eguchi Y, Itoh Y: The association of insomnia with gastroesophageal reflux symptoms in biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases 2013, Poster, Walter E, Washington Convention Center (Washington USA), 2013. 11.1-5

Ochi T, Hashiba M, Ono M, Hyogo H, Ikeda Y, Munekage K, Okamoto N, Iwasaki S, Chayama K, Eguchi Y, Saibara T: Glycemic variability is an independent predictive factor for development of hepatic fibrosis in nonalcoholic fatty

liver disease. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases 2013, Poster, Walter E, Washington Convention Center (Washington USA), 2013. 11.1-5.

Saibara T: NAFLD-An Epidemiological Perspective from the Asian Pacific Region. The 3rd Asian Pacific Topic Conference (APTC 2012). Shiba Park Hotel, Tokyo Japan, 2012.11.3

Ono M, Eguchi Y, Hyogo H, Takahashi H, Ochi T, Munekage K, Hirose A, Takahashi M, Okamoto N, Fujimoto K, Chayama K, Saibara T: Alcohol intake is less important as predictive factors for development of fatty liver disease compared to obesity, impairment of glucose metabolism and dyslipidemia. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Poster Sessions, Hynes Convention Center (Boston USA), 2012. 9.9-13

(国内学会)

越智経浩, 小野正文, 西原利治: PNPLA3 遺伝子は小胞体ストレスによる肝脂肪酸代謝による. 第56回日本消化器病学会大会. シンポジウム「NAFLD/NASHの病態解析と新規治療」, 神戸国際展示場(神戸), 2014.10.23-26

小野正文, 越智経浩, 西原利治: 75gOGTT およびCGMSから見たNAFLDの耐糖能異常の特徴について. 第50回日本肝臓学会総会. パネルディスカッション, ホテルニューオータニ(東京), 2014.5.29-30.

谷内恵介, 岩崎信二, 西原利治: KIF20AはRNA結合蛋白質とメッセンジャーRNAの複合体を郵送することにより肝癌浸潤・転移を亢進させる. 第100回日本消化器病学会総会. シンポジウム2「消化管癌の分子病態学に関する進歩」, 東京国際フォーラム(東京), 2014.4.23-4.26.

小野正文, 羽柴基, 西原利治: NASH肝線維化に影響を及ぼす耐糖能異常の病態. 第99回日本消化器病学会総会. シンポジウム「NAFLD/NASHの病態解明と治療への展開」, 城山観光ホテル(鹿児島), 2013.3.21-3.23

小野正文, 宇都浩文, 西原利治: NASH/NAFLD診療ガイドライン~疫学に関するミニレビュー~. 第98回日本消化器病学会総会. パネルディスカッション「日本消化器病学会診療ガイドライン

(NASH・NAFLD)を目指して」,東京,2012.
4.19-21.京王プラザホテル(栃木県)

〔図書〕(計13件)

西原利治,小野正文:NAFLD(NASH/NAFL).
菅野健太郎・上西紀夫・井廻道夫編,消化器疾患 最新の治療 2012-2013,
328-331,南江堂,小立鉦彦,東京,2013.

西原利治,小野正文:非アルコール性脂肪肝炎(NASH).下瀬川徹・渡辺守・木下芳一・金子周一・榎田博史編,専門医のための消化器病学 第2版,381-385,医学書院,金原優,東京,2013.

西原利治:脂肪肝・非アルコール性脂肪肝炎.菅野健太郎・井廻道夫・野島美久・春日雅人・山口恵三・三村俊英・北村聖編,臨床病態学,133-135,ヌーヴェルヒロカワ,廣川恒男,東京,2013.

西原利治:脂肪性肝疾患(NAFD・NASH).一瀬雅夫・岡政志・持田智編,治療過程で一目でわかる消化器薬物療法 STEP1・2・3,217-220,メジカルビュー社,浅原実郎,東京,2013.

西原利治:肥満症と脂肪肝,NASH.中尾一和編,最新内分泌代謝学,449-450,診断と治療社,東京,藤実彰一,2013.

西原利治:治療編1治療学総論.竹井謙之・竹原徹郎・持田智編,NASH・アルコール性肝障害,166-171,文光堂,浅井宏祐,東京,2013.

西原利治:アルコール性肝障害.山口徹・北原光夫・福井次夫編,今日の治療指針私はこう治療している TODAY'S THERAPY 2012,480-481,医学書院,東京,2012.

西原利治:非アルコール性脂肪肝炎では冠動脈疾患のリスクが高くなるのですか?.山岸昌一編集,糖尿病と血管合併症に関する100の質問,128-129,メディカルレビュー社,東京,2012.

西原利治,小野正文:非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の診断基準.田尻久雄・五十嵐正広・小池和彦・杉山政則編,消化器疾患の診断基準 病型分類 重症度の使い方,199-203,日本メディカルセンター,増永和也,東京,2012.

西原利治,小野正文:非アルコール性脂肪性肝疾患.林紀夫・日比紀文・上西紀夫・下瀬川徹編,Annual Review 消化器 2012,139-144,中外医学社,青木滋,東京,2012.

西原利治,羽柴基,小野正文:二次性糖尿病 慢性肝疾患と耐糖能異常.最新糖尿病学(下)-糖尿病学の最新動向-,日本臨牀 70 巻増刊号 5,165-169,日本臨牀社,大阪,2012.

西原利治,小野正文:非アルコール性脂肪性肝疾患.跡見裕・井廻道夫・北川雄光・下瀬川徹・田尻久雄・渡辺守監編,消化器疾患診療のすべて,S271-S273,日本医師会,東京,2012.

西原利治,小野正文:脂肪肝.馬場忠雄・山城雄一郎編,新臨床栄養学,569-574,医学書院,金原優,東京,2012.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kochi1nai.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西原 利治(SAIBARA,Toshiji)
高知大学・教育研究部医療学系・教授
研究者番号:60145125

(2) 研究分担者

戸田 勝巳(TODA,Katsumi)
高知大学・教育研究部医療学系・准教授
研究者番号:40197893

小野 正文(ONO,Masafumi)
高知大学・教育研究部医療学系・講師
研究者番号:70304681