

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成30年4月26日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬大学大学院理工学府
職 名 教授
研究代表者 若松 馨

下記のとおり平成29年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号: 17012)

1. 共同研究課題名	NASH 発症に関する核内受容体による転写制御機構の解明			
2. 共同研究目的	HNF4 α 欠損マウスにおける Cide ファミリー遺伝子の発現制御機構の解析により、HNF4 α 欠損マウスの NASH 発症機構の解明と NASH 診断薬・治療薬・開発の基盤とする。			
3. 共同研究期間	平成29年4月1日 ~ 平成30年3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 若松 馨	群馬大学大学院理工学府	教授	研究総括、研究全般	
(分担研究者) 井上 裕介	群馬大学大学院理工学府	准教授	研究全般	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース分野	氏 名	畑田 出穂

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は肝硬変や肝臓にまで進展する悪性の脂肪性肝炎である。しかし、NASH 発症の原因は不明な点が多く、また確立された治療法もない。

我々は肝臓特異的 HNF4 α 欠損マウス (KO マウス) が NASH を発症することを明らかにした。現在までに、核内受容体 PPAR α の活性化が KO マウスの NASH 発症の原因となることを明らかにしている。最近になり KO マウス肝臓では、脂肪の肥大化に関与する 3 種類すべての Cide ファミリー遺伝子が大きく発現変動することが明らかにした。Cide ファミリー遺伝子の一部は HNF4 α と PPAR α により制御されていることが報告されているが、HNF4 α と PPAR α によるクロストークによる制御機能については解明されていない。そこで本研究では、KO マウスにおける Cide ファミリーの発現制御機構の解析により、KO マウスの NASH 発症機構の解明を目的として、以下の解析を行う。

1. CideA と CideC 遺伝子のプロモーター解析

HNF4 α と PPAR α による発現制御が考えられる CideA と CideC のプロモーターについて (CideB はすでに HNF4 α の標的遺伝子であることが報告されている)、HNF4 α と PPAR α 発現ベクターの存在下でプロモーターアッセイを行う。また、HNF4 α と PPAR α の結合部位と相互作用を EMSA、ChIP、IP により同定し、HNF4 α と PPAR α による転写制御機構を解明する。

2. ヒト肝がん細胞における CideC バリエーションの発現解析

上記の解析で HNF4 α と PPAR α の標的であることが明らかになった CideC について、ヒト系でも特に HNF4 α の標的遺伝子であるのかどうかを HNF4 α 抑制系と HNF4 α 過剰発現系を用いて検証する。

7. 共同研究の成果

1. CideA および CideC 遺伝子のプロモーター解析

KO マウス肝臓では、CideA の発現は増加しているが、CideC の発現は低下している。このため、これらの遺伝子の発現が HNF4 α と PPAR α により制御されているのかをルシフェラーゼアッセイにより解析した。その結果、CideA については HNF4 α と PPAR α によりプロモーター活性の変化が認められなかったため、HNF4 α と PPAR α 以外の因子によって発現制御されていると結論づけた。一方、CideC については、HNF4 α によるプロモーター活性が転写開始点下流のイントロン領域の+924/+939 を介して増加することを明らかにした。さらに、ゲルシフトアッセイとクロマチン免疫沈降により、この領域に HNF4 α が結合することが確認された。また、この領域とは異なる部位を介して PPAR α により転写活性化されることが分かった。CideC には 2 種類のスプライシングバリエーションがあり、HNF4 α により制御されているのは CideC α 、PPAR α により制御されているのは CideC β であり、実際の KO マウスで発現減少しているのは CideC β であり、CideC α の発現に変化はなかった。

2. ヒト肝がん細胞における CideC バリエーションの発現解析

ヒト肝がん細胞に HNF4 α に対する siRNA を導入して HNF4 α を発現抑制したところ、CideC β の発現は大きく抑制されたが、CideC α の発現に変化はなかった。また、ヒト肝がん細胞に HNF4 α 発現ベクター、および Tet システムによる HNF4 α 発現誘導系を用いて CideC バリエーションの発現を解析したところ、HNF4 α の発現により CideC β の発現は大きく誘導されたが、CideC α の発現に変化はなかった。

以上より、肝臓で高発現する CideC β は HNF4 α の新規標的遺伝子であることが明らかになった。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

該当なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

該当なし