

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	一アミノ酸変異マウスを利用した、核内受容体CARシグナルの解明とその肝機能・肝毒性制御への応用				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一
	研究分担者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一

講演題目	CAR 依存的な肝細胞増殖の種差は、CAR の一アミノ酸の種差により決定される。
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>肝に高発現する核内受容体 CAR は、異物代謝酵素の発現調節を担う一方、その活性化は齧歯動物において肝細胞増殖とそれに伴う肝がんを惹起する。この CAR 依存的な肝発がんには種差があり、ヒトでは起こらないとされているが、分子レベルでの理解がなされていない。当研究室では、CAR 依存的な肝細胞増殖の機序解明を目指して研究を進め、Hippo 経路のエフェクター分子であり、肝細胞増殖促進因子である YAP の核局在（活性化）が CAR 依存肝細胞増殖に重要であることを報告した。さらに我々は、マウス CAR (mCAR) は YAP の WW ドメインと相互作用するが、ヒト CAR (hCAR) はしないこと、mCAR はそのタンパク質表面に存在する PY モチーフと呼ばれる PPAY のアミノ酸配列を介して WW ドメインと相互作用するが、hCAR ではこれが PPAH となっているため WW ドメインと相互作用しないことを見出した。そこで本研究では、CAR の PY モチーフの一アミノ酸の種差が YAP を介した肝細胞増殖並びに肝発がんの種差の原因であるという仮説を立て、mCAR の PY モチーフをヒト型に変異させた mCARY150H 変異体を用いた解析を行った。</p> <p>HepG2 細胞に GFP 融合 YAP を発現させ、その核局在に対する mCARY150H 変異体の影響をハイコンテント解析により調べたところ、YAP の核局在は、mCAR の共発現によって増強されたが、hCAR や mCARY150H の共発現では増強されなかった。次に、CAR に Y150H の一アミノ酸変異を導入した遺伝子組換えマウスを作製し、CAR 活性化薬の phenobarbital (PB) を投与した。肝核抽出画分を用いたウェスタンブロットにおいて、PB 投与により野生型マウスでは YAP の核局在が確認されたが、変異型マウスでは核局在は認められなかった。肝切片の Ki-67 抗体を用いた免疫染色で細胞増殖を調べたところ、野生型マウスでは PB 投与依存的な肝細胞増殖が認められたが、変異型マウスでは認められなかった。肝 RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析により野生型及び変異型マウスの遺伝子発現を比較した。CAR の標的遺伝子として知られる薬物代謝関連の遺伝子は、両マウスで PB 投与に伴い増加したのに対して、YAP 標的遺伝子をはじめとする肝細胞増殖関連遺伝子の発現は、PB 投与に伴い野生型では増加したが変異型では増加しなかった。以上の結果より、マウス CAR のヒト型一アミノ酸変異により YAP との相互作用が阻害され、YAP の核局在とそれに引き続く肝細胞増殖が抑制されることが明らかとなった。</p> <p>トランスクリプトーム解析では、肝細胞増殖関連遺伝子以外にも野生型マウスのみで PB 投与に伴い発現が増加する遺伝子群を見出した。これらには、小胞体ストレス関連遺伝子が多く含まれていた。WW ドメインは、YAP 以外のタンパク質にも存在することが知られており、CAR シグナルには肝細胞増殖以外の種差も存在する可能性がある。今後は、本研究で構築したヒト型一アミノ酸変異マウスを利用してさらなる毒性学的解析を進める予定である。</p>