

Impact of AhR and PPAR α interaction on CYP450 isoforms

(AhR と PPAR α の相互作用がシトクロム P 450に及ぼす影響)

学位論文内容の要旨

最近、ダイオキシン類が脂肪細胞の分化を抑制することや糖尿病の発症リスクを増加させることが報告されている。ダイオキシン類などの平面構造を持つ化学物質は転写調節因子 aryl hydrocarbon receptor (AhR)を活性化させ、その標的遺伝子である薬物代謝酵素 cytochrome P450 分子種のひとつ CYP1 ファミリーの発現を誘導する。一方 peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR α)は、ペルオキシソーム増殖薬によって活性化を受け、脂肪やグルコースのホメオスタシス、そして CYP4 ファミリーの発現を調節している。そこで、本研究では、AhR と PPAR α のクロストークのメカニズムと、それらが CYP 発現に対する影響を明らかにした。

第1章では PPAR α のリガンドが AhR の標的因子である CYP1A1/CYP1A2 の発現や薬物代謝活性に及ぼす影響を調べた。Wistar ラットに、AhR のリガンドである Sudan III (SIII)、PPAR α のリガンドであるクロフィブレート(CA)を、3 日間 in vivo でそれぞれ単独、および共投与した。AhR および PPAR α リガンドを同時投与したラットでは、SIII 単独投与に比べて CYP1A mRNA およびタンパク発現、代謝活性のいずれも有意に抑制されることが明らかとなった。そこで、その機構を解明するために、PPAR α の発現レベルが少ないヒト肝癌由来 HepG2 細胞を用いて実験を行った。HepG2 細胞ではラットの in vivo 実験と異なり、PPAR リガンド曝露は AhR リガンドによって誘導された CYP1A などの発現を抑制しなかった。しかし、PPAR α 発現ベクターを細胞にトランスフェクションすると、PPAR α リガンドはラットの in vivo 実験と同様に、HepG2 において AhR 標的遺伝子の発現を抑制することが分かった。

第2章では AhR リガンドが PPAR α の標的遺伝子に及ぼす影響を明らかにした。PPAR α の標的因子である CYP4A サブファミリーの蛋白発現や CYP4A1、CYP4A2、CYP4A3 の mRNA 発現量は、CA 単独投与に比べて SIII と CA の共投与で減少していた。そこで HepG2 に PPAR α 発現ベクターをトランスフェクションし、AhR リガンドに曝露したところ、無処置細胞に比べ、PPAR α のヘテロパートナーである RXR α の蛋白発現量が顕著に減少した。AhR リガンドの曝露は HepG2 細胞の RXR α の mRNA 発現レベルには大きな影響を及ぼさなかったことから (data not shown)、AhR リガンドが RXR α のタンパク分解を促進させたことが考えられた。従って、TCDD などの AhR リガンドが、PPAR α /RXR α シグナルを抑制して、脂肪代謝などを制御する新しい機構が示唆された。

AhR および PPARs をはじめとする核内受容体では、HSP90 や XAP2 との complex 形成、DNA 結合・転写活性時に必要な共役因子 (p300、SRC-1, etc) など、標的因子の転写調節に共通の機構が報告されている。核内受容体 CAR (constitutive active receptor) や PXR (pregnane X receptor) は PPARs と同じく RXR α をヘテロダイマーとし、CYP2 および CYP3 ファミリーの発現を調節している。そこで、第 3 章では、AhR および PPAR α リガンドが、CYP2 および CYP3 ファミリーの発現に与える影響について調べた。ラットに対する *in vivo* での CA 曝露は CYP2B および CYP3A の発現を増加させたが、SIII の共曝露は、CA によるこれらの誘導を抑制した。一方、CYP2C11 は成長因子 および STAT5b による発現調節を受けるが、AhR および PPAR α のリガンド曝露は相加的に CYP2C11 の発現を減少させた。

以上の結果により、AhR と PPAR α との間には、それぞれの target gene の転写調節について、受容体を介したネガティブクロストークが存在し、同じ転写調節機構をもつ CAR や PXR などとも、同様の機構でクロストークする可能性が考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 藤 田 正 一
副 査 教 授 桑 原 幹 典
副 査 助教授 木 村 和 弘
副 査 助教授 石 塚 真由美

学 位 論 文 題 名

Impact of AhR and PPAR α interaction on CYP450 isoforms

(AhR と PPAR α の相互作用がシトクロム P 450 に及ぼす影響)

最近、ダイオキシン類が脂肪細胞の分化を抑制することや糖尿病の発症リスクを増加させることが報告されている。ダイオキシン類などの平面構造を持つ化学物質は転写調節因子 aryl hydrocarbon receptor (AhR) を活性化させ、その標的遺伝子である薬物代謝酵素 cytochrome P450 分子種のひとつ CYP1 ファミリーの発現を誘導する。一方 peroxisome proliferators-activated receptor alpha (PPAR α) は、ペルオキシソーム増殖薬によって活性化を受け、脂肪やグルコースのホメオスタシス、そして CYP4 ファミリーの発現を調節している。そこで、ゼイン・シャバン・イブラヒム氏は、本研究で、AhR と PPAR α のクロストークのメカニズムと、それらが CYP 発現に及ぼす影響を検討した。

PPAR α のリガンドが AhR の標的因子である CYP1A1/CYP1A2 の発現や薬物代謝活性に及ぼす影響を調べた。AhR および PPAR α リガンドを同時投与したラットでは、AhR リガンド SudanIII (S.III) 単独投与に比べて CYP1A mRNA およびタンパク発現、代謝活性のいずれも有意に抑制されることが明らかとなった。PPAR α の発現レベルが少ないヒト肝癌由来 HepG2 細胞を用いて実験を行ったところ、HepG2 において PPAR α の発現に依存して AhR 標的遺伝子の発現を抑制することが分かった。また、PPAR α の標的因子である CYP4A サブファミリーの蛋白発現や mRNA 発現量は、AhR リガンドが RXR α のタンパク発現レベルを減少させるために、抑制されることが分かった。

核内受容体 CAR (constitutive active receptor) や PXR (pregnane X receptor) は PPARs と同じく RXR α をヘテロダイマーとし、CYP2 および CYP3 ファミリーの発現を調節している。本研究では、さらに AhR および PPAR α リガンドが、CYP2 および CYP3 ファミリーの発現に与える影響について調べたところ、ラットに対する *in vivo* での PPAR α リガンド Clofibric acid (CA) 曝露は CYP2B および CYP3A の発現を増加させたが、S.III の共曝露は、CA によるこれらの誘導を抑制した。

以上の結果により、ゼイン・シャバン・イブラヒム氏は、AhR と PPAR α との間には、それぞれの target gene の転写調節について、受容体を介したネガティブクロストークが存在し、同じ転写調節機構をもつ

CAR や PXR などとも、同様の機構でクロストークする新規機構を提示した。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者ゼイン・シャバン・イブラヒム氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規程による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。