

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 24 日現在

機関番号：32660

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12709

研究課題名(和文) 脂質代謝動態と腸内細菌叢に着目した肥満誘導性肝癌発症に及ぼす運動の効果とその機構

研究課題名(英文) The effect of regular exercise on obesity-associated liver cancer from the aspect of gut microbiota and lipid metabolites

研究代表者

大谷 直子(Ohtani, Naoko)

東京理科大学・理工学部応用生物科学科・教授

研究者番号：50275195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：がんを予防する可能性のある取り組みとして、規則的な運動に着目した。先行研究では高脂肪食摂取による肥満により、肝がんの発症が増加することをマウスモデルで見出していた。この実験において、マウスに毎日規則的な運動負荷を施した結果、体重変化はないものの肥満誘導性肝がんの腫瘍形成数が有意に減少することがわかった。詳細を検討した結果、肥満により増加した腸内細菌叢が産生する、DNA損傷を起こす二次胆汁酸のデオキシコール酸の血中濃度が、規則的な運動負荷により、有意に減少することがわかった。さらに、高脂肪食摂取で減少する胆汁酸トランスポータータンパク質の発現が、運動負荷では復活し、胆汁酸の循環が改善していた。

研究成果の概要(英文)：We have previously revealed that obesity promoted hepatocellular carcinoma (HCC) development in mice treated with a chemical carcinogen. In this study, we tried to investigate whether exercise could reduce HCC development. Interestingly, we found that HCC development was attenuated in mice with regular Treadmill running. Moreover, obesity increased the level of blood deoxycholic acid (DCA), which was known to cause DNA damage, and the mice with Treadmill running showed reduced level of blood DCA, and increased expression of a bile acid transporter, oatp1a1 (Organic anion transporting polypeptide 1a1) in their livers. Taken together, we suggest that a regular exercise such as running could prevent liver cholestasis, and thus obesity-associated HCC development by reducing blood DCA level.

研究分野：分子腫瘍生物学

キーワード：運動 がん予防 がん微小環境

### 1. 研究開始当初の背景

肥満は糖尿病や心筋梗塞のリスクを高めるだけでなく、肝臓癌、大腸癌など様々な癌の発症率を高めることが疫学的に明らかになっている。しかしその分子メカニズムは十分に解明されていない。申請者は DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene) を用いた全身性の発癌モデルマウスを用いて、食餌性または遺伝的にマウスを肥満させると 30 週後には肝臓の発症が著しく促進されることを見出した。肝臓促進のメカニズムとして、肥満により肝臓の間質に存在する線維芽細胞である肝星細胞が「細胞老化」を起こし、腫瘍促進性の高い癌微小環境を形成することが原因であることを見出した (Yoshimoto et al. Nature 2013)。「細胞老化」とは、正常細胞に発癌の危険性がある DNA 損傷(「発癌ストレス」と呼ばれる)が生じると誘導される、不可逆的増殖停止状態であり、生来、正常細胞に備った癌抑制機構である。しかし、細胞老化を起こした細胞はすぐには死滅せず長期間生存し続けるため、次第に、様々な炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリクス分解酵素など、かえって発癌や炎症を促進する作用のある様々な因子を分泌する SASP (senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれる現象を引き起こすようになる。申請者らの肥満マウスモデルでは、細胞老化を起こした肝星細胞から放出される IL-1 $\beta$ などの SASP 因子が肝臓を促進することが明らかになった。そこで次に肝星細胞が「細胞老化」を起こす原因を追究した結果、肥満により 2 次胆汁酸を産生するグラム陽性腸内細菌が増加することにより、腸内の 2 次胆汁酸であるデオキシコール酸量が増加し、それが腸肝循環を介して肝臓に到達し、肝星細胞に DNA 損傷を与えることで、細胞老化を起こすことがわかった (Yoshimoto et al. Nature 2013)。申請者らは肥満による肝臓発癌機構のひとつを明らかにすることができたが、次なる課題は、いかにして肝臓発症を予防できるかである。そのひとつとして、本研究では「適度な運動」が肝臓発症にもたらす効果に着目した。

### 2. 研究の目的

本研究では申請者らの知見を踏まえ、適度な運動がもたらす効果に着目し、適度な運動によって、肝臓・骨格筋を中心とした生体内の遺伝子発現、脂質や胆汁酸を含む生体内代謝物動態、腸内細菌プロファイル、肝臓周囲の微小環境、等にどのような変化をもたらすのか検討し、肥満誘導性肝臓発症に対する運動効果の分子メカニズムを明らかにし、その予防法の開発につなげることを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究の目的は、定期的な適度な運動が、肝臓・骨格筋を中心とした生体内の遺伝子

発現、脂質や胆汁酸を含む生体内代謝物動態、腸内細菌叢プロファイル、肝臓周囲の微小環境をどのように変化させ、肝臓発症にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることである。

そこで本研究では食餌性肥満マウスまたは普通食摂取マウスにおいて DMBA による肝臓発癌実験を行い、それぞれ、運動群、非運動群に分け 4 条件で実験を行った。さらに通常肝腫瘍がで始める 20 週齢から毎日 20 分間トレッドミルにて運動を负荷した。運動の程度はマウスを実際に走らせ、乳酸閾値を超えない適度な運動で 15 週間持続できるスピード (18m/min 程度) で運動负荷を与えた。35 週齢時に達したら肝臓組織や骨格筋、血液、糞便を解析し、上記の項目を調べこれらの相互関係を調べた。

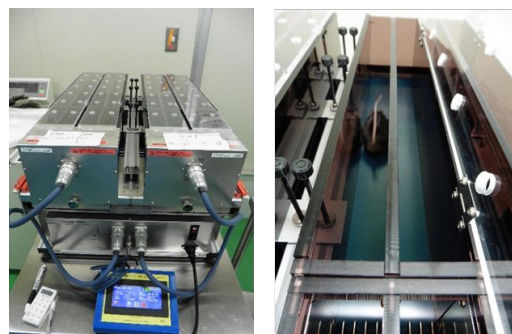


図 1 トレッドミルマシンと走行中マウス

### 4. 研究成果

先行研究では DMBA を用いた化学発癌のマウス実験系で、高脂肪食摂取による肥満により、30 週後には肝臓の発症が促進することを見出していた。この実験において、マウスにトレッドミルによる規則的な運動负荷を、毎日 20 分間 15 週間施した結果、体重変化はないものの、肥満誘導性肝臓の腫瘍形成数や大きさが有意に減少することがわかった。

また、これまでに行った 16SrRNA 遺伝子解析で、肥満により腸内細菌叢が大きく変化することを見出していたため、運動负荷による腸内細菌叢の変化を調べた。高脂肪食摂取による肥満マウスでは、Firmicutes 門のグラム陽性菌が著しく増加する (40%程度増加) が、運動负荷群では非運動负荷群に比べて、Firmicutes 門の菌叢が 10%ほど減少していた。肥満マウスでは発がん性が知られているデオキシコール酸の血中濃度が数倍上昇しており、グラム陽性菌を標的とする抗生剤バンコマイシンを投与したマウス群では、デオキシコール酸量が著しく減少していたことから、Firmicutes 門のグラム陽性菌腸内細菌が主にデオキシコール酸を産生することがわかっていった。興味深いことに、規則的な運動负荷により、血中デオキシコール酸量は有意に減少することがわかった。さらに、肝臓細胞に発現する胆汁酸トランスポータータンパク質の発現が、高脂肪食摂取で著しく

減少し、規則的な運動負荷により、その発現が復活することを見出した。このことから、がん微小環境におけるデオキシコロール酸のうっ滞が、肝がんの促進につながる可能性があると考え、今後その詳細を検討したいと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

1. Loo TM, Kamachi F, Watanabe Y, Yoshimoto S, Kanda H, Arai Y, Nakajima-Takagi Y, Iwama A, Koga T, Sugimoto Y, Ozawa T, Nakamura M, Kumagai M, Watashi K, Taketo M. M., Aoki T, Narumiya S, Oshima M, Arita M, Hara E and \*Ohtani N. Gut microbiota promotes obesity-associated liver cancer through PGE2-mediated suppression of antitumor immunity. *Cancer Discovery* 7, 522-538, 2017 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0932 (査読有)

[学会発表](計2件)

1 Naoko Ohtani. Obesity-induced Gut Microbial Metabolite Promotes Liver Cancer through Senescence Secretome. The 3rd JSGE International Topic Conference, Sendai International Center, Sendai, Japan, April 24, 2015 (invitation)

#### 2 大谷直子

細胞老化の誘導メカニズムとその生体内における役割  
日本生化学会東北支部第82回例会・シンポジウム 2016.5.21.弘前大学、弘前(招待講演)

#### 3 大谷直子

肥満による肝がん促進機構 ~腸内細菌代謝物の関与~  
第63回日本実験動物学会総会、シンポジウム 腸内細菌による生体恒常性維持 ~腸内細菌が引き起こす疾患~ 2016.5.18. ミューザ川崎シンフォニーホール、川崎(招待講演)

#### 4 大谷直子

細胞老化による炎症とその生体における役割  
第15回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム6 炎症を標的とした疾患発症メカニズムの解明 2015.05.29. 福岡国際会議場、福岡(招待講演)

#### 5 大谷直子

肥満による肝がん促進機構 ~腸内細菌代謝物の関与~

第18回日本臨床腸内微生物学会総会・学術集会 教育講演 III 病態と治療法を探る 2015.08.29. 日本医科大学同窓会橘桜会館、東京(招待講演)

6 Naoko Ohtani. Gut microbiota and obesity-associated hepatocarcinogenesis. The 74th Annual meeting of The JCA (日本癌学会) Symposium: "Microbiome and cancer" Nagoya Congress Center, Nagoya, Japan, October, 10, 2015

#### 7 大谷直子、羅 智文

肥満により増加する腸内細菌による肝がん促進機構  
第36回日本肥満学会 シンポジウム「肥満と臓器障害」2015.10.2.名古屋国際会議場、名古屋(招待講演)

#### 8 大谷直子

腸内細菌代謝産物による細胞老化の誘導と肝がん  
第11回日本食品免疫学会学術大会、シンポジウム3 老化と腸内環境、腸管機能 2015.10.16. 東京大学伊藤謝恩ホール、東京(招待講演)

#### 9 Naoko Ohtani.

Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence-associated secretome. 24th Symposium on Intestinal Flora, Dynamism of Intestinal microbiota - pathophysiology of microbial metabolites - ヤクルトホール Tokyo Japan, October, 30, 2015 (invitation)

#### 10 Naoko Ohtani.

The Mechanism of Obesity-associated Liver Carcinogenesis: a co-operation between gut microbial metabolites and lipid. The International Liver Congress 2016, Barcelona Spain, April, 14, 2016 (invitation)

#### 11 Naoko Ohtani.

Cellular Senescence and Tissue regeneration. 3rd ICRS Summit - Kyoto, Japan 2016, 京都大学芝蘭会館、Kyoto Japan, April, 10, 2016 (invitation)

#### 12 Naoko Ohtani

The mechanism of obesity-induced liver cancer development through gut microbial components and metabolites. Bridging Biomedical Worlds meeting, Frontiers in Human Microbiota Symbiotic Interactions, Hong Kong, China, May, 24, 2016 (invitation)

13 大谷直子

肥満により増加する腸内細菌による肝がん進展メカニズム 第 16 回抗加齢医学会総会シンポジウム 腸内フローラの臨床への展開 2016.6.12 パシフィコ横浜、横浜(招待講演)

14 Naoko Ohtani

The role of gut microbiota for obesity-induced liver cancer development. RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology 2016, Immune homeostasis and diseases. 2016.6.16 パシフィコ横浜、横浜, Japan (invitation)

15 Naoko Ohtani

The role of gut microbiota for obesity-associated liver cancer progression. Tokyo University of Science, International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2016 -Metabolic disease and Aging-. 2016.7.16 東京ガーデンパレス 東京, Japan (invitation)

16 大谷直子

p16INK4a による個体老化の新たなメカニズム 第 89 回日本生化学会大会 シンポジウム 加齢にともなう幹細胞変化と疾患の分子基盤 2016.9.27 仙台国際センター 仙台 (招待講演)

17 大谷直子

細胞老化・SASP とその生体における役割 日本放射線影響学会 第 59 回大会 シンポジウム 低線量放射線生物影響の課題への分子生物学的アプローチ 2016.10.28 JMS アステールプラザ 広島 (招待講演)

18 Tze Mun Loo and Naoko Ohtani

Cooperative role of gut microbial components and metabolites in obesity-associated liver cancer development. The 75th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association Symposium 10 (日本癌学会), Therapeutic vulnerability in infection/inflammation-associated cancer. 2016.10.7 パシフィコ横浜、横浜 (招待講演)

19 羅 智文、蒲池史卓、渡辺喜洋、大谷直子

肥満誘導性の腸内細菌代謝物による肝星細胞の細胞老化・SASP と肝がんの促進 第 39 回日本分子生物学会年会 シンポジウム 臓器老化による臓器間ネットワークの破綻を探る 2016.12.2 パシフィコ横浜、横浜(招待講演)

20 熊谷 実保、蒲池 史卓、安藤 達也、新井友里子、井手口 真理、中村 大、小澤 崇之、

渡辺 喜洋、山崎 翔太、羅 智文、大谷 直子  
規則的な運動は肥満誘導性肝腫瘍の発症を抑制する

第 39 回日本分子生物学会年会

2016.12.2、パシフィコ横浜、横浜

21 中村 大、蒲池 史卓、山崎 翔太、新井 達也、原田 陽介、久保 允人、羅 智文、吉本 真、中江 進、原 英二、大谷 直子

肥満誘導性肝臓癌における interleukin-33 の役割解明

第 39 回日本分子生物学会年会

2016.12.2、パシフィコ横浜、横浜

22 Fumitaka Kamachi, Shota Yamazaki, Tatsuya Arai, Yohsuke Harada, Masato Kubo, Susumu Nakae, and Naoko Ohtani

IL-33 promotes obesity-associated liver cancer development

第 45 回日本免疫学会学術集会 The 45th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology

2016.12.6、沖縄コンベンションセンター、沖縄県宜野湾市

〔図書〕(計 1 件)

1 Naoko Ohtani

Chronic Inflammation (Msayuki Miyasaka and Kiyoshi Takatsu Editors) Part III No 15. Cellular Senescence as a Novel Mechanism of Chronic Inflammation and Cancer Progression

2016 Springer (総ページ数 702 ページ)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

本件に関連する出願はなし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

〔その他〕

成果についてのホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大谷 直子 (Naoko Ohtani) 東京理科大学・理工学部・応用生物科学科・教授

研究者番号: 50275195