

機関番号：22701

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390212

研究課題名（和文）高脂肪食およびアディポネクチンが大腸がん発がんに与える作用の分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）Investigation of the mechanism underlying the effect of high-fat diet and adiponectin on colorectal carcinogenesis

研究代表者

中島 淳（NAKAJIMA ATSUSHI）

横浜市立大学・附属病院・教授

研究者番号：30326037

研究成果の概要（和文）：高脂肪食負荷によるマウス大腸がん亢進におけるアディポネクチンの発がん抑制作用は AMPK を介したことであることを解明し、AMPK 活性化薬であるメトフォルミンを実際の大腸がん化学予防にヒトで投与して発がん予防効果を実証した。

研究成果の概要（英文）：We clarified that the suppressive effect of adiponectin on colon carcinogenesis under high-fat diet condition is mediated by AMPK using mouse carcinogenesis model, and then demonstrated the chemopreventive effect of Metformin, AMPK activator, on human subject.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2009年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2010年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：消化器内科・消化管

キーワード：アディポネクチン

1. 研究開始当初の背景

ライフスタイルの欧米化に伴い近年わが国でも大腸がんが増加してきており、2004年の年齢別調整死亡率では女性で1位、男性で4位となっていており、本疾患が国民生活に与える影響はきわめて高い。大腸がんの発生に関してはその8%が遺伝因子、13%が運動不足、12%が欧米食摂取によるものと推定されている。また、欧米食の摂取は Stage III 大腸がんの再発および死亡率を増加させ

ることが報告されている。最近ではメタボリックシンドロームが大腸腺腫のリスクファクターとして報告されている。我々は最近、内臓脂肪量とヒト大腸前がん病変 ACF (Aberrant Crypt Foci) の数が正の相関をすること、血清アディポネクチン濃度の低下と ACF の増加が相関することを報告している。アディポネクチンと大腸がんに関する疫学報告ではアディポネクチンが発がんを抑制するとする報告と、促進するとの報告に分か

れており見解の一致を得ていない。

大腸がんの遺伝子異常は Vogelstein らにより詳細に解析されてきたが、肥満、欧米食などのライフスタイルの因子がどのようなメカニズムで発がんを促進するのかの詳細は全くわかっていない。動物モデルでは種々のモデルで高脂肪食摂取は大腸発がんを促進させることが証明されており、そのメカニズムとして高脂肪摂取による、肥満、高インスリン血症、インスリン様増殖因子(IGF)の持続的な増加が大腸上皮細胞の増殖刺激となり、大腸発がんを促進的に作用していることが示唆されている。

2. 研究の目的

我々はこれまでマウス発がんモデルにおける化学予防の研究を精力的におこなってきた。*(Gastroenterology 2003;124:361-367)* 今回の研究はこのマウス発がんモデルの研究のノウハウを用いてライフスタイルの因子、高脂肪食、アディポネクチン低下、高インスリン血症が大腸発がんをどのようなメカニズムで促進するのかの分子メカニズムに迫ろうとすることを目的とする。

3. 研究の方法

期間内に以下の課題を解明したい。

(1) アディポネクチン欠乏が大腸発がん・進展に与える影響の解析とその分子メカニズムの解明

(2) 高脂肪食摂取が大腸発がんおよび進展を促進する分子メカニズムの解明

具体的には

① 我々はアディポネクチン欠損マウスを用いた大腸発がん実験で普通食ではワイルドとノックアウトで大腸発がんの差異を認めなかったが、高脂肪食負荷にすることで、ノックアウトマウスは短期間に有意に多くの腫瘍が発生し、しかも浸潤癌ができること

を確認している。

高脂肪食負荷条件下ではアディポネクチン欠如はマウスモデルにおいて前がん病変である ACF の数を劇的に増加せしめ、BrdU の取り込みによる上皮の増殖能の解析では増殖の有意な亢進を認めた。アディポネクチンは2つのタイプのレセプターの存在が知られており、その下流の標的は AMP Kinase (AMPK) と PPAR α および MAPK である。AMPK はラパマイシンの標的分子である mTOR を抑制することが知られている。mTOR は蛋白翻訳を促進する機能を持ち、アディポネクチン欠損が mTOR 活性の亢進を介しての蛋白翻訳亢進を介して癌化を促進する機序を証明できれば、これまで考えられていた遺伝子異常とは全く異なる機序による発がん促進の新メカニズムにつながるものと考ええる。今回の研究ではアディポネクチン欠損マウスにおいて高脂肪負荷で亢進するアディポネクチンシグナルの下流の分子の状態をリン酸化ウエスタンなどを用いて明らかにする。また、アディポネクチン欠損マウスと、SCID マウスを交配し、ダブルノックアウトマウスを作成し、ヒト大腸がん細胞の Xenograft model においてアディポネクチン欠損が Xenograft の増殖・増大を促進するか、またその分子メカニズムは何かを解明する。

② 高脂肪負荷による発がん促進のメカニズム解明

高脂肪負荷によりアゾキシメタン誘発大腸発癌モデルにおいて大腸がんが有意に多く形成されるが、我々はマウスに高脂肪食を食べさせただけで上皮の増殖亢進を認めている。高脂肪食による大腸上皮の増殖の亢進メカニズムの解明はきわめて重要な課題である。高脂肪食では高インスリン状態になり、インスリン抵抗性状態となる。インスリンはレセプターを介して大腸上皮において Akt を

リン酸化して活性化する。Akt は活性化することにより、細胞増殖の亢進、アポトーシスの抑制、蛋白合成促進を促す。我々は高インスリンによる大腸上皮の増殖亢進のメカニズムは Akt の活性化によるものと考えていたが、調べてみると、Akt は逆に不活性化していた。また、Akt の活性化（リン酸化）はβカテニン（ β -ctn）を分解する GSK3 \cdot の活性を抑制することが知られているが、高脂肪食負荷の大腸粘膜では Akt が抑制されているにもかかわらず GSK3 \cdot も抑制されていた。今回の研究では期間内にこの意外な結果のメカニズム解明を目指す。

4. 研究成果

(1) 高脂肪食負荷時にアディポネクチンは AMP kinase (AMPK) を活性化して、その結果シグナル下流に位置する mTOR/S6K/S6 シグナルを活性化し、腸管上皮の増殖を亢進させる。

ノックアウトマウスを用いてアディポネクチンの高脂肪食負荷時の発がん抑制機序は AdipoR1 レセプターを介し、AMPK の活性化によることを、AMPK 特異的活性化薬 AICAR を用いて証明した。



図1 左ワイルド、右アディポネクチンノックアウトマウスで発がんさせた大腸マクロ写真。ノックアウトで著明な腫瘍の数の増加、増大を認めた。

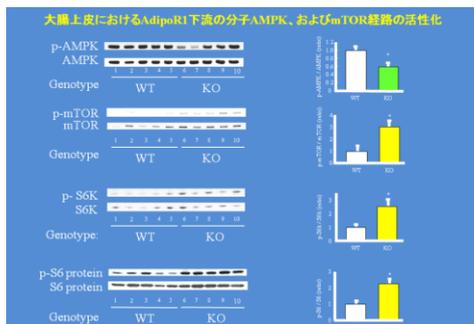


図2 アディポネクチン下流のシグナル解析の結果

(2) AMPK 活性化作用のある抗糖尿病薬メトフォルミンはマウス発癌モデルで腫瘍形成抑制作用を有することの証明およびその機序は AMPK/mTOR シグナル経路であることを解明した。

上記の結果は大腸がん化学予防の新しい分子標的が AMPK であり、その活性化薬メトフォルミンが化学予防効果がある可能性を動物実験で実証したものである。

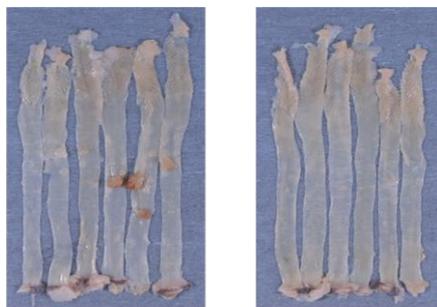


図3 左コントロール、右メトフォルミン投与群
メトフォルミンでポリプ形成の著明な抑制を示した。

(3) ヒトにおいてメトフォルミンを投与するとその前後で大腸前がん病変 ACF が有意に減少することを拡大内視鏡を用いて示した。

ヒトへの応用でメトフォルミンが大腸がんの予防に有効であることを示唆する知見を示した世界初の論文。

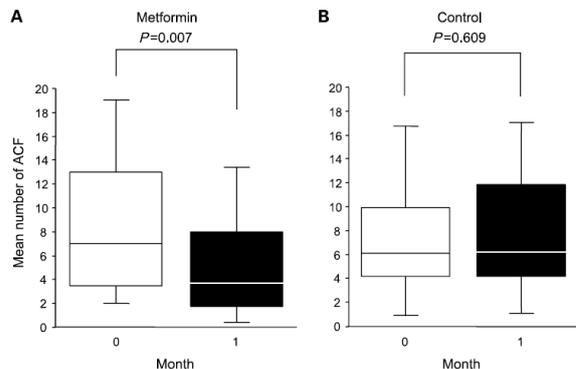


図4 ヒトに対してメトフォルミン投与前後のACF数の変化

まとめ

今回の研究では大腸がんの発がんにおけるアディポネクチンのメカニズム解明より新規の化学予防・治療の分子標的AMPKを同定し、その活性化薬メトフォルミンを用いることで大腸がんの新しい化学予防の可能性を示し、最終的に人への応用を行い実証した。基礎から臨床応用までの一連の研究成果を出し、米国癌学会などで非常に注目を集めた。

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32件)

1. Endo H, Hosono K, Uchiyama T, Sakai E, Sugiyama M, Takahashi H, Nakajima N, Wada K, Takeda K, Nakagama H, Nakajima A. Leptin acts as a growth factor for colorectal tumours at stages subsequent to tumour initiation in murine colon carcinogenesis. *Gut*. 2011. [Epub ahead of print]
2. Uchiyama T, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Hosono K, Endo H, Yoneda K, Yoneda M, Inamori M, Nagashima Y, Inayama Y, Wada K, Nakajima A. Leptin receptor is involved in STAT3 activation in human colorectal adenoma. *Cancer Science*. 2011 ;102(2):367-72.
3. Fujisawa T, Nakashima H, Nakajima A, Joshi BH, Puri RK. Targeting IL-13R α 2 in human pancreatic ductal adenocarcinoma with combination therapy of IL-13-PE and gemcitabine. *Int J Cancer*. 2011 ;128(5):1221-31
4. Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Uchiyama T, Suzuki K, Iida H, Sakamoto Y, Yoneda K, Koide T, Tokoro C, Abe Y, Inamori M, Nakagama H, Nakajima A. Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010 ;3(9):1077-83.
5. Nakajima A, Endo H, Yoneda K, Fujisawa T, Sugiyama M, Hosono K, Nozaki Y, Takahashi H, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Shimamura T, Kobayashi N, Kirikoshi H, Kubota K, Saito S, Wada K, Nakagama H, Molecular Mechanisms Linking Adiponectin Receptor Signalling and Cancer. *The Open Obesity Journal*. 2010, 2, 43-49
6. Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Uchiyama T, Suzuki K, Nozaki Y, Yoneda K, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Tomatsu A, Chihara T, Shimpo K, Nakagama H, Nakajima A. Metformin suppresses azoxymethane-induced colorectal aberrant crypt foci by activating AMP-activated protein kinase. *Molecular Carcinogenesis*. 2010 ;49(7):662-71
7. Endo H, Hosono K, Fujisawa T, Takahashi H, Sugiyama M, Yoneda K, Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Inamori M, Wada K, Nakagama H, Nakajima A. Involvement of JNK pathway in the promotion of the early stage of colorectal carcinogenesis under high-fat dietary conditions. *Gut*. 2009 ;58(12):1637-43
8. Sugiyama M, Takahashi H, Hosono K, Endo H, Kato S, Yoneda K, Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Wada K, Nakagama H, Nakajima A. Adiponectin inhibits colorectal cancer cell growth through the AMPK/mTOR pathway. *Int J Oncol*. 34(2):339-44. 2009
9. Fujisawa T, Endo H, Tomimoto A, Sugiyama M, Takahashi H, Saito S, Inamori M, Nakajima N, Watanabe M, Kubota N, Yamauchi T, Kadowaki T, Wada K, Nakagama H, Nakajima A. Adiponectin Suppresses Colorectal Carcinogenesis under the High-fat Diet Condition. *Gut* ;57(11):1531-8. 2008
10. Tomimoto A, Endo H, Sugiyama M, Fujisawa T, Hosono K, Takahashi H, Nakajima N, Nagashima Y, Wada K, Nakagama H, Nakajima A. Metformin suppresses intestinal polyp growth in ApcMin/+ mice. *Cancer Science* ;99(11):2136-41. 2008

[学会発表] (計7件)

- 1 中島淳 なぜ、今、消化器病研究に肥満が重要か？トピックセミナー (第28回日本医学会総会プレシンポジウム) 司会 第96回日本消化器病学会総会 平成22年4月24日 新潟
- 2 中島淳、高橋宏和 肥満と大腸がん 第96回日本消化器病学会総会 なぜ、今、消化器病研究に肥満が重要か？トピックセミナー (第28回日本医学会総会

- プレシンポジウム) 平成22年4月24日 新潟
- 3 細野邦広、高橋宏和、中島淳 大腸癌における生活習慣関連因子の実態と化学予防による対策の可能性 第96回日本消化器病学会総会 パネルディスカッション2:生活習慣病としての消化器疾患の実態と対策 平成22年4月22日 新潟
 - 4 Kunihiro Hosono, Hirokazu Takahashi, Eiji Sakai, Takashi Uchiyama, Hiroki Endo, Atsushi Nakajima. Metformin treatment suppresses colorectal aberrant crypt foci in humans: Results from a short-term feasibility study. *Frontiers in Cancer Prevention Research* 2010, Poster Nov 7-10, Philadelphia
 - 5 細野邦広、遠藤宏樹、加藤真吾、内山崇、飯田洋、馬渡弘典、野崎雄一、秋山智之、米田恭子、藤田浩司、米田正人、高橋宏和、稲森正彦、阿倍泰伸、桐越博之、小林規俊、窪田賢輔、斉藤聡、中島淳 メトホルミンによる大腸ポリープ抑制作用の解析—発癌モデルマウスにおける検討— 一般演題 22 大腸腫瘍 第5回日本消化管学会総会学術集会 東京 平成21年1月13日
 - 6 Fujisawa N, Takahashi H, Hosono K, Shinohara Y, Sugiyama M, Endo H, Nozaki Y, Akiyama T, Yoneda K, Fujita K, Yoneda M, Nakajima A Adiponectin suppresses colorectal carcinogenesis induced by high-fat diet via AMP protein kinase **2008 DDW** (20080518) San Diego
 - 7 Hirokazu Takahashi, Kyoko Yoneda, Hiroki Endo, Hiroshi Iida, Tomoyuki Akiyama, Yasunobu Abe, Masahiko Inamori, Atsushi Nakajima Visceral fat obesity and abnormal glucose tolerance correlate with dysplastic aberrant crypt foci in colorectal tumor free male **2008 DDW** (20080518) San Diego

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 淳 (NAKAJIMA ATSUSHI)
横浜市立大学・附属病院・教授
研究者番号: 30326037

(2) 研究分担者

阿部泰伸 (ABE YASUNOBU)
横浜市立大学・医学部・助教
研究者番号: 10347312

稲森正彦 (INAMORI MASAHIKO)
横浜市立大学・附属病院・助教
研究者番号: 10381477

高橋宏和 (TAKAHASHI HIROKAZU)
横浜市立大学・附属病院・助教
研究者番号: 70438159

(3) 連携研究者

該当なし