

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05471

研究課題名(和文)大腸ムチンの質的・量的制御に関する分子機序の解明と大腸がん予防への展開

研究課題名(英文) Involvement of the transcriptional repressor Bach1 in the maintenance of colonic mucus

研究代表者

東村 泰希 (Higashimura, Yasuki)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：70628924

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大腸粘液層の脆弱化は大腸がん発症に関与することから、粘液層を強固に保つことが大腸がん予防において肝要である。しかし、大腸における粘液分泌機構に関しては未だ不明な点が多く、粘液分泌を起点とした大腸がん予防確立における問題点となっている。申請者は本課題において、転写抑制因子であるBach1が大腸粘液の質的制御に関わることを見出した。遺伝子改変マウスを用いた結果より、Bach1欠損に伴い、ムチン糖鎖におけるシアル酸やN-アセチルガラクトサミンが増加することが観察され、その作用機序として糖鎖修飾酵素の発現変動が関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦における大腸がん罹患者は増加の一途を辿っている。また、大腸がんの発症には、大腸粘液層の脆弱化が深く関与する。本研究では、転写抑制因子であるBach1が大腸粘液の質的制御に関わることを新たに判明した。従って、Bach1は大腸がん予防における新たな分子標的となる可能性が示唆された。また、大腸粘液層の脆弱化に伴う腸管炎症は、大腸がん以外にも、糖尿病など多くの疾患発症と密接に関与している。そのため、上述の研究成果は多くの疾病の予防や進行抑制に対して大きな波及効果をもたらすことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：The maintenance of the colonic mucus layer is involved in the development of colorectal cancer. Thus, maintaining a strong mucus layer is essential for the prevention of colorectal cancer. However, the mechanism of mucus secretion in the large intestine is still unclear. In this study, we reveal that BTB domain and CNC homolog 1 (Bach1), a transcriptional repressor, is involved in the qualitative regulation of colonic mucus. The results using Bach1-deficient mice showed that sialic acid and N-acetylgalactosamine in the colonic mucus glycan increased in Bach1-deficient mice, compared with that of wild type mice. In addition, regulation of the expression of glycosyltransferases may be partially involved in the Bach1-mediated qualitative regulation of colonic mucus.

研究分野：食品生化学

キーワード：ゴブレット細胞 ムチン 大腸がん 炎症性腸疾患 糖鎖 Bach1 レクチン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸管の内壁は杯細胞から分泌される粘液で覆われている。特に、大腸内壁を覆う粘液層は分厚く、有害な微生物やその代謝物から上皮細胞を保護するバリアとして機能している。この粘液層の脆弱化は大腸がん発症のリスクとされており、実際に、粘液を高産生する大腸がん患者の予後は良好であることが報告されている。一方、本邦における大腸がん罹患者は急増しており、その背景には食習慣の変化が大きな要因として挙げられる。中でも、加工肉の過剰摂取は大腸がんリスクとされており、事実、加工肉に多く含まれる食品乳化剤の摂取は大腸粘液層を破壊し、結果として大腸がんを誘発することが明らかとなっている。即ち、大腸粘液層を起点とした大腸がん予防が注目される学術的背景があり、食品因子による杯細胞の機能制御が大腸がん予防における新たな着眼点になると申請者は考えている。

粘液層の主成分はムチン (Mucin) をコアとした糖タンパク質であり、大腸における主なコアタンパク質は Mucin 2 (MUC2) である。ゴブレット細胞にて生合成される過程で、MUC2 のセリン、スレオニン残基の水酸基に対して *O* 結合型糖鎖が連結され、さらに、システイン残基のチオール基を介した分子間ジスルフィド結合が形成される。これら翻訳後修飾を受けた MUC2 は、ゴブレット細胞の分泌小胞内において高密度にパッケージングされる。その後、細胞外に分泌されることで 1,000 倍以上の体積に膨潤し三次元の網目構造を形成するモデルが提唱されている。しかしながら、MUC2 が如何にして翻訳後修飾を受け、その修飾が維持されるのか、またその修飾過程を司る酵素群の活性や発現を制御する分子基盤に関しては不明な点が多い。この点が、食品因子を用いた大腸粘液層の増強を達成するうえでの解決すべき課題であると考えられる。

2. 研究の目的

これまでの研究において、ヘムオキシゲナーゼ-1 などの抗酸化酵素群の発現制御に関わる転写抑制因子である BTB domain and CNC homolog 1 (Bach1) に着目した研究を進めており、Bach1 欠損マウスを用いた解析により、Bach1 が大腸ムチンの質的・量的制御を担う新たな鍵因子である可能性を示している。従って本研究では、大腸がん予防の主役となりうる Bach1 に着目し、Bach1 が大腸ムチンの性状を制御する様相を分子レベルで解析し、大腸がん予防における Bach1 制御の意義について明らかにすることを研究目的とする。

3. 研究の方法

本研究課題では、Bach1 欠損マウスを用いた *in vivo* 試験ならびに、株化細胞や初代培養系を用いた *in vitro* 試験を施行し、Bach1 欠損に伴う大腸粘液の産生亢進に関する作用機序の解明を目指した。株化細胞としては、粘液産生能を有するヒト大腸がん細胞株である LS174T 細胞および HT29-MTX-E12 細胞を用いた。

4. 研究成果

(1) Bach1 欠損に伴う大腸ムチンの質的变化について

Bach1 欠損に伴う粘液産生の亢進が大腸特異的な現象であるかを検証するため、Bach1 欠損マウスより小腸および大腸を摘出し、PAS 染色法による粘液分泌細胞数の評価をおこなった。その結果、小腸下部から大腸にかけて、Bach1 欠損に伴う粘液分泌の亢進が観察され、その現象は大腸において特に顕著であった。得られた染色像を解析した結果、粘液産生を担うゴブレット細胞の数が有意に増加するのみならず、一細胞あたりにおける粘液を内包した分泌顆粒の面積が増大していた。一方で、糞便より粗精製したムチン画分を用いて便中ムチン含量を測定した結果、Bach1 欠損マウスと野生型マウスの便中ムチン含量は同程度であったことから、Bach1 欠損マウスではムチン分泌経路に異常が生じている可能性が示唆された。

ムチン糖鎖組成についてレクチンアレイを用いた網羅的解析を実施した結果、Bach1 マウスでは便中ムチンにおけるシアル酸や *N*-アセチルガラクトサミンが増加することを見出した。また、これら糖鎖を認識するレクチンを用いたレクチンプロットにおいても同様の結果が観察された。以上の結果より、Bach1 遺伝子の欠損に伴い、ムチンの糖鎖修飾様式が変化することが示唆された。

(2) Bach1 が大腸ムチンの糖鎖修飾様式を変化させる作用機序について

Bach1 に対する抗体を用いた免疫組織染色の結果、大腸における Bach1 の発現局在は広範であり、ゴブレット細胞を含む上皮組織にも発現することが確認された。ゴブレット細胞における Bach1 の機能解析を実施するため、ムチン産生能を有するヒト大腸がん細胞株である LS174T 細胞および HT29-MTX-E12 細胞を用いた *in vitro* 試験をおこなった。レンチウイルスシステムを用

いてBach1 に対する shRNA を導入し、恒常的にBach1 発現が低下した細胞株を樹立した(LS174T-Bach1KD および HT29-MTX-E12-Bach1KD)。樹立した細胞株を用いて、ムチン型糖鎖の修飾に関わる糖鎖修飾酵素の発現を解析した結果、Bach1 の抑制に伴い発現が上昇するいくつかの酵素を見出した。

(3) Bach1 がムチン分泌機構へ及ぼす影響について

これまでの研究経過において、Bach1 欠損マウスでは、腸ムチンの糖鎖修飾様式が変化すること、具体的にはシアル酸と *N*-アセチルガラクトサミンが増加することを見出している。従って本項目では、糖鎖の質的变化が生じたムチンが腸管腔内へと適切に分泌されるかについて検討した。*in vivo* 評価系として、マウス大腸を用いた *in vivo* 腸管灌流法を実施した。その結果、ATP 刺激に伴うムチン分泌に関しては、野生型マウスと Bach1 欠損マウスでは同程度であったことから、糖鎖の質的变化が生じたムチンにおいても管腔内へと分泌されることが推測された。その他の分泌刺激に関しては現在検討中である。また、*in vitro* 評価系として、HT29-MTX-E12 細胞を用いた測定法を構築した。Bach1 の関与については、Bach1KD 株を用いた評価を検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Desaka Natsumi, Nishikawa Hitomi, Honda Yuji, Matsumoto Kenji, Matsuzaki Chiaki, Mizushima Katsura, Takagi Tomohisa, Naito Yuji, Higashimura Yasuki	4. 巻 61
2. 論文標題 Oligosaccharides from agar extends lifespan through activation of unfolded protein response via SIR-2.1 in <i>Caenorhabditis elegans</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 4179 ~ 4190
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00394-022-02957-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsuzaki Chiaki, Shiraishi Tsukasa, Chiou Tai-Ying, Nakashima Yukari, Higashimura Yasuki, Yokota Shin-ichi, Yamamoto Kenji, Takahashi Tomoya	4. 巻 88
2. 論文標題 Role of Lipoteichoic Acid from the Genus <i>Apilactobacillus</i> in Inducing a Strong IgA Response	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/aem.00190-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakakida Tomoki, Ishikawa Takeshi, Doi Toshifumi, Morita Ryuichi, Endo Yuki, Matsumura Shinya, Ota Takayuki, Yoshida Juichiro, Hirai Yasuko, Mizushima Katsura, Higashimura Yasuki, Inoue Ken, Okayama Tetsuya, Uchiyama Kazuhiko, Takagi Tomohisa, Abe Aya, Inoue Ryo, Itoh Yoshito, Naito Yuji	4. 巻 113
2. 論文標題 Water soluble dietary fiber alleviates cancer induced muscle wasting through changes in gut microenvironment in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1789 ~ 1800
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15306	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Imamura Tomohiro, Isozumi Noriyoshi, Higashimura Yasuki, Koga Hironori, Segawa Tenta, Desaka Natsumi, Takagi Hiroki, Matsumoto Kenji, Ohki Shinya, Mori Masashi	4. 巻 77
2. 論文標題 Red-Beet Betalain Pigments Inhibit Amyloid- Aggregation and Toxicity in Amyloid- Expressing <i>Caenorhabditis elegans</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Foods for Human Nutrition	6. 最初と最後の頁 90 ~ 97
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11130-022-00951-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Desaka Natsumi, Ota Chinatsu, Nishikawa Hitomi, Yasuda Kayo, Ishii Naoaki, Bito Tomohiro, Kishinaga Yukio, Naito Yuji, Higashimura Yasuki	4. 巻 70
2. 論文標題 <i>Streptococcus thermophilus</i>; extends lifespan through activation of DAF-16-mediated antioxidant pathway in <i>Caenorhabditis elegans</i>;	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 7~13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.21-56	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Yoshinori, Kiuchi Masataka, Higashimura Yasuki, Naito Yuji, Koyama Katsuhiko	4. 巻 11
2. 論文標題 The effects of ingestion of hydrogen-dissolved alkaline electrolyzed water on stool consistency and gut microbiota: a double-blind randomized trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Gas Research	6. 最初と最後の頁 138~138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/2045-9912.318858	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuzaki Chiaki, Nakashima Yukari, Endo Ikuto, Tomabechi Yusuke, Higashimura Yasuki, Itonori Saki, Hosomi Koji, Kunisawa Jun, Yamamoto Kenji, Hisa Keiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Enzymatically synthesized exopolysaccharide of a probiotic strain <i>Leuconostoc mesenteroides</i> NTM048 shows adjuvant activity to promote IgA antibody responses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gut Microbes	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19490976.2021.1949097	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ushiroda Chihiro, Takagi Tomohisa, Fuke Nobuo, Mizushima Katsura, Hirai Yasuko, Higashimura Yasuki, Harusato Akihito, Kamada Kazuhiro, Uchiyama Kazuhiko, Ishikawa Takeshi, Aizawa Koichi, Suganuma Hiroyuki, Itoh Yoshito, Naito Yuji	4. 巻 33
2. 論文標題 Lycopene intake induces colonic regulatory T cells in mice and suppresses food allergy symptoms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Allergy and Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pai.13691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Higashimura Yasuki, Hirabayashi Misaki, Nishikawa Hitomi, Inoue Ryo, Nagai Emiko, Matsumoto Kenji, Enomoto Toshiki, Mizushima Katsura, Takagi Tomohisa, Naito Yuji	4. 巻 69
2. 論文標題 Dietary intake of yacon roots (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) affects gut microbiota and fecal mucin and prevents intestinal inflammation in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 272 ~ 279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcbrn.20-203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 東村泰希, 水島かつら, 高木智久, 武藤哲彦, 五十嵐和彦, 内藤裕二
2. 発表標題 転写抑制因子Bach1は多量体免疫グロブリン受容体の発現調節を介して腸管腔へのIgA分泌を制御する
3. 学会等名 第75回 日本酸化ストレス学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 東村泰希
2. 発表標題 Aggravation of intestinal inflammation mediated by zinc deficiency
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米澤明莉, 水島かつら, 平井泰子, 舘野浩章, 武藤哲彦, 五十嵐和彦, 高木智久, 内藤裕二, 東村泰希
2. 発表標題 大腸ゴブレット細胞の機能における 転写抑制因子 Bach1 の影響について
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 東村泰希
2. 発表標題 寒天由来のオリゴ糖：アガロオリゴ糖の健康機能性について
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部第516 回講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Natsumi Desaka, Hitomi Nishikawa, Katsura Mizushima, Tomohisa Takagi, Yuji Naito, Yasuki Higashimura
2. 発表標題 Oligosaccharides from agar extends lifespan through the activations of unfolded protein response and IIS pathway in <i>Caenorhabditis elegans</i>
3. 学会等名 22nd International Union of Nutritional Sciences International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Akari Yonezawa, Katsura Mizushima, Yasuko Hirai, Hiroaki Tateno, Akihiko Muto, Kazuhiko Igarashi, Tomohisa Takagi, Yuji Naito, Yasuki Higashimura
2. 発表標題 Involvement of transcription repressor Bach1 in function of intestinal goblet cells
3. 学会等名 22nd International Union of Nutritional Sciences International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米澤明莉、水島かつら、平井泰子、館野浩章、武藤哲彦、五十嵐和彦、高木智久、内藤裕二、東村泰希
2. 発表標題 大腸ムチンの糖鎖構造組成に及ぼす転写抑制因子 Bach1の影響
3. 学会等名 第72回日本酸化ストレス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀨田理久、水島かつら、高木智久、武藤哲彦、五十嵐和彦、内藤裕二、東村泰希
2. 発表標題 転写抑制因子Bach1が腸管粘膜免疫でのIgA分泌に及ぼす影響
3. 学会等名 第79回日本栄養・食糧学会中部支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米澤 明莉、水島 かつら、平井 泰子、舘野 浩章、武藤 哲彦、五十嵐 和彦、高木 智久、内藤 裕二、東村 泰希
2. 発表標題 大腸ムチンの量的・質的变化における転写抑制因子Bach1 の影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀨田理久、水島かつら、高木智久、武藤哲彦、五十嵐和彦、内藤裕二、東村泰希
2. 発表標題 IgAを介した腸管粘膜免疫における転写抑制因子Bach1の役割について
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 東村 泰希
2. 発表標題 マウスを用いたトランス脂肪酸の炎症性腸疾患への影響の解析
3. 学会等名 日本薬学会第142年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------