

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25750050

研究課題名(和文)大腸がん予防が期待される食品由来因子の新しい評価系と応用

研究課題名(英文)Evaluation a novel molecular mechanism of protecting colon cancer by the foo-derived components

研究代表者

東村 泰希(Higashimura, Yasuki)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70628924

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：短鎖脂肪酸による大腸がん予防が注目されている。申請者らは、大腸上皮細胞において、プロピオン酸がペルオキシゾーム増殖活性化受容体a(PPARa)の発現を亢進させることを見出し、その生理的意義を解析した。マウス腸管上皮細胞株であるYAMC細胞を用いた解析より、プロピオン酸はその時間と濃度依存的にPPARaの発現を亢進させることを見出した。さらにプロピオン酸存在下では、PPARaの標的遺伝子である脂肪酸b酸化関連酵素群の発現が亢進し、細胞内のtriglyceride蓄積が抑制されることが明らかとなった。また、プロピオン酸によるPPARa発現亢進にはMAPキナーゼのERK経路の活性化が必要であった。

研究成果の概要(英文)：Short chain fatty acids (SCFA) are produced in the colonic lumen mainly by bacterial fermentation of dietary fiber. Emerging evidence shows that SCFA has important physiological and pathophysiological effects on colonic and systemic events. Recently, SCFA is regarded as an effective tool for cancer prevention including colon cancer. However, the effect of SCFA on the physiological functions of colonic epithelial cell is unknown. Results show that propionate, known as a kind of SCFA, induced PPARa expression time-dependently and concentration-dependently in YAMC (a mouse intestinal epithelial cell line) cells. The expression levels of PPARa-responsive genes such as carnitine palmitoyl transferase II (CPTII) and trifunctional protein a (TFPa) were up-regulated in the presence of propionate, thereby suppressing triglyceride (TG) accumulation. Furthermore, propionate-mediated PPARa induction required phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase.

研究分野：生化学

キーワード：短鎖脂肪酸 プロピオン酸 大腸 PPARalpha MAPキナーゼ

1. 研究開始当初の背景

食品由来因子による大腸がん予防が期待されている。中でも、難消化性多糖に代表される食物繊維が大腸がん予防に有効である。食物繊維は摂取された後、腸内細菌による醗酵分解を受けて短鎖脂肪酸 (Short Chain Fatty Acid: SCFA) へと代謝分解される。生活習慣病の予防や免疫強化といった食物繊維が持つ多くの生理作用は、この SCFA を介した作用であると考えられている。実際、大腸がんの領域に関しては、SCFA による大腸がん抑制効果が知られているが、その分子機序は未だ明らかにされていない。さらに、大腸における発がん予防という観点から、正常な大腸上皮細胞と SCFA に関する研究は行われていない。一方で、近年 Harvard 大学の Park らによって行われた大規模な疫学研究の結果では、「食物繊維による大腸がん予防効果は認められない」と結論づけられている。これら矛盾する結果が得られる背景として、腸内細菌叢の個人差により、大腸内での SCFA の濃度や構成比率が異なることが原因であると推測されている。つまり食物繊維による大腸がん予防の現状としては、腸内細菌叢の個人差、SCFA の不明瞭な作用機序、という2つの問題点が存在する。

2. 研究の目的

大腸上皮細胞における慢性的な炎症反応が大腸がんの発症に重要である。申請者らは、腸管粘膜組織を用いたプロテオミクス解析を施行し、腸管炎症粘膜では転写因子であるペルオキシゾーム増殖活性化受容体 α (PPAR α) の発現上昇を見出した。

PPAR α は脂肪細胞の分化や糖代謝といった代謝システムに深く関与する転写因子の一つであり、脂肪細胞や肝臓において高発現している。消化管においてもその発現が確認されており、特に小腸においてはタイトジャンクション構成タンパク質の発現を制御することで腸管透過性を調節していることが近年明らかとなった。しかし、大腸における PPAR α の機能に関しては未だ明らかでない。

申請者は SCFA の大腸がん予防における分子機序を解明するため、SCFA が大腸上皮細胞に及ぼす効果を解析した。その結果、SCFA であるプロピオン酸が PPAR α の発現上昇をもたらすことを突き止めた。よって本申請課題では、SCFA が大腸上皮細胞の諸機能 (炎症応答、アポトーシス、増殖能、遊走能) に及ぼす影響について、その効果における PPAR α の関与を明らかにし、新たな大腸がん予防食品を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

大腸における PPAR α が大腸がん予防にお

ける主役となりうることを証明するために、大腸上皮細胞株の諸機能 (炎症応答、アポトーシス、増殖能、遊走能) に対する PPAR α の関与に関して、マウス正常大腸上皮細胞株である YAMC 細胞を用いて解析した。

大腸がんは慢性的な腸管炎症を背景とする疾患であるため、マウス実験大腸炎モデルを用いて、プロピオン酸による PPAR α 発現亢進作用が腸管炎症を抑制しうるかについても解析した。大腸炎モデルとしては、デキストラン硫酸ナトリウム誘発モデルならびにトリニトロベンゼン誘発モデルを用いた。

4. 研究成果

プロピオン酸による PPAR α 発現亢進における分子機序

マウス腸管上皮細胞株である YAMC 細胞を用いた解析より、propionate はその時間と濃度依存的に PPAR α の発現を亢進させることを見出した。また、その他の SCFA (酢酸、酪酸、乳酸) には PPAR α 発現亢進作用は認められず、当該作用はプロピオン酸に特徴的な機能であることが示唆された。さらに、種々の転写因子やシグナル経路の解析を行った結果、プロピオン酸による PPAR α 発現亢進には MAP キナーゼの ERK 経路の活性化が必要であることを見出した。

大腸上皮細胞の諸機能に及ぼす効果

プロピオン酸による PPAR α 発現亢進が大腸上皮細胞 (YAMC 細胞) の諸機能に及ぼす影響について解析を行った。その結果、TNF α 刺激に対する炎症応答能や、過酸化水素に対する細胞保護作用に関しては、プロピオン酸による有意な効果は認められなかった。また、wound healing 法を用いた遊走能の評価に関しては、プロピオン酸は僅かではあるが、大腸上皮細胞の遊走能を低下させることが判明した。

さらに、腸管における脂質代謝は全身性のエネルギー恒常性を保つ上で非常に重要であることから、プロピオン酸が腸管における脂質代謝に及ぼす影響についても解析を行った。その結果、プロピオン酸存在下では、PPAR α の標的遺伝子である脂肪酸 β 酸化関連酵素群 (CPTII、TFP α) の発現が亢進し、細胞内の triglyceride 蓄積が抑制されることが明らかとなった。つまり、プロピオン酸は PPAR α の発現亢進を介して、腸管上皮細胞における脂質代謝を制御することが明らかとなった。

腸管炎症に対する効果

プロピオン酸を経口投与した雄性 C57BL/6 マウスを用いて、デキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎モデルならびにトリニトロベンゼン誘発モデルを作製した。大腸組織を用いて、炎症レベルを組織学および生化学的

に評価した。その結果、プロピオン酸による大腸炎抑制効果は認められなかった。また、プロピオン酸を直腸内投与した雄性 C57BL/6 マウスを用いて、同様の試験を実施したが、有意な効果は認められなかった。

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7件)

Higashimura Y, Naito Y, Takagi T, Uchiyama K, Mizushima K, Ushiroda C, Ohnogi H, Kudo Y, Yasui M, Inui S, Hisada T, Honda A, Matsuzaki Y, Yoshikawa T: Protective effect of agaro-oligosaccharides on gut dysbiosis and colon tumorigenesis in high-fat diet-fed mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 査読あり, 310(6), 2016, pp. G367-G375. Doi: 10.1152/ajpgi.00324.2015.

Higashimura Y, Naito Y, Takagi T, Uchiyama K, Mizushima K, and Yoshikawa T: Propionate promotes fatty acid oxidation through the up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor α in intestinal epithelial cells. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 査読あり, 61(6), 2015, pp. 511-515. Doi: 10.3177/jnsv.61.511.

東村泰希, 内藤裕二, 高木智久, 谷村祐子, 水島かつら, 春里暁人, 福居顕文, 寄木浩行, 半田修, 大野木宏, 吉川敏一: 非ステロイド性抗炎症薬惹起性小腸潰瘍に対するアガロオリゴ糖の予防効果. *Vitamins (Japan)* 査読あり, 89(2), 2015, pp. 53-55. http://ci.nii.ac.jp/els/110009917750.pdf?id=ART0010456004&type=pdf&lang=jp&host=cinii&order_no=&ppv_type=0&lang_sw=&no=1465809382&cp=

Higashimura Y, Naito Y, Takagi T, Tanimura Y, Mizushima K, Harusato A, Fukui A, Yoriki H, Handa O, Ohnogi H, and Yoshikawa T: Agaro-oligosaccharides prevent non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal injury in mice. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 査読あり, 29 (2), 2014, pp. 310-317. Doi: 10.1111/jgh.12373.

Harusato A, Naito Y, Takagi T, Uchiyama K, Mizushima K, Hirai Y, Higashimura Y, Katada K, Handa O, Ishikawa T, Yagi N, Kokura S, Ichikawa H, Muto A, Igarashi K, and Yoshikawa T: BTB and CNC homolog 1 (Bach1) deficiency ameliorates TNBS colitis in mice: Role of M2 macrophages and heme oxygenase-1. *Inflamm. Bowel Dis.* 査読あり, 19 (4), 2013, pp. 740-753. Doi:10.1097/MIB.0b013e3182802968.

Yoriki H, Naito Y, Takagi T, Mizushima K, Hirai Y, Harusato A, Yamada S, Tsuji T, Kugai M, Fukui A, Higashimura Y, Katada K, Kamada K, Uchiyama K, Handa O, Yagi N, Ichikawa H, and Yoshikawa T: Hemin ameliorates indomethacin-induced small intestinal injury in mice through the induction of heme oxygenase-1. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 査読あり, 28 (4), 2013, pp. 632-638. Doi: 10.1111/jgh.12074.

Higashimura Y, Naito Y, Takagi T, Mizushima K, Hirai Y, Harusato A, Ohnogi H, Yamaji R, Inui H, Nakano Y, and Yoshikawa T: Oligosaccharides from agar inhibit murine intestinal inflammation through the induction of heme oxygenase-1 expression. *J. Gastroenterol.* 査読あり, 48 (8), 2013, pp. 897-909. Doi: 10.1007/s00535-012-0719-4.

[学会発表](計6件)

東村泰希ら: 非ステロイド性抗炎症薬惹起性の小腸潰瘍におけるアガロオリゴ糖の予防効果, 第66回日本酸化ストレス学会学術集会, 2013年6月14日, ウィンク愛知(名古屋市・愛知県).

東村泰希ら: 硫酸亜鉛は metallothionein-1 の発現誘導を介して腸管炎症を抑制する, 第67回日本酸化ストレス学会学術集会, 2014年9月4日, 同志社大学良心館(京都市・京都府).

Higashimura Y, et al.: Zinc deficiency aggravates intestinal inflammation through the regulation of macrophage polarization, 12th Asian Congress of Nutrition, May 16, 2015, PACIFICO YOKOHAMA (Yokohama, Kanagawa).

東村泰希ら: 亜鉛はマクロファージの形質分化制御を介して腸管炎症を抑制する, 日本ビタミン学会第67回大会, 2015年6月5日, 奈良春日野国際フォーラム(奈良市・奈良県).

東村泰希ら: 亜鉛シグナルを介した酸化型/還元型マクロファージの形質分化制御は腸管炎症の増悪に寄与する, 第68回日本酸化ストレス学会学術集会, 2015年6月11日, かごしま県民交流センター(鹿児島市・鹿児島県).

Higashimura Y, et al.: Agaro-oligosaccharides prevent high-fat diet-induced gut dysbiosis in mice with regard to the correlation between gut microbiota and bile acid profile, 6th International Conference on Food Factors (ICoFF2015), Nov 23, 2015, Seoul (Korea).

〔図書〕(計1件)

Naito Y, Takagi T, Harusato A, Higashimura Y, and Yoshikawa T.: Heme Oxygenase-1 Induction Inhibits Intestinal Inflammation. in "Clinical Aspects of Functional Foods and Nutraceuticals" (eds. Ghosh, D., Bagchi, D., Konishi, T.), CRC press, pp. 185-193 (2014).
(分担執筆)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東村 泰希 (HIGASHIMURA YASUKI)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：70628924

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：