

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：25406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461391

研究課題名(和文) 胃粘膜恒常性維持における胃レプチンシグナルの役割

研究課題名(英文) Significance of leptin receptor signaling in homeostasis of the gastric mucosa

研究代表者

稲垣 匡子 (Inagaki-Ohara, Kyoko)

県立広島大学・生命環境学部・教授

研究者番号：70363588

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：レプチンシグナルの制御破綻が胃癌や胃炎の発症につながる。我々は、胃粘膜のレプチンシグナルの亢進は、腸上皮化生や胃癌形成初期に重要であることを、遺伝子改変マウスおよび食餌性肥満モデルマウスを用い明らかにした。レプチンシグナルの活性化により、PI3K-Akt経路の活性化と共に  $\beta$ -cateninの細胞内蓄積、その標的遺伝子を発現するがん幹細胞や多能性維持因子が誘導された。レプチンシグナル欠損マウスでは、これらの病態が抑制されることから、胃粘膜のレプチンが胃細胞の恒常性維持に極めて重要な役割を果たすことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Dysregulation of leptin receptor (ObR) signaling have been reported to link to development of gastritis and gastric tumors. In this study, we demonstrated that ObR signaling activation is essential for the induction of gastric tumor and intestinal metaplasia, the precancerous lesions of the stomach using both model of gene-targeting and diet-induced obese mice. We found that PI3K-Akt pathway activation, intracellular accumulation of  $\beta$ -catenin, cancer stem cell-like cells and the essential regulators of pluripotency, following phosphorylation of ObR in the stomach. These observations were abrogated in the ObR signaling deficient mice, indicating that the homeostasis of gastric mucosal cells is responsible for cellular events downstream of ObR.

研究分野：消化管免疫

キーワード：胃 レプチン 腸上皮化生 胃癌

## 1. 研究開始当初の背景

レプチンは脂肪細胞から産生され、視床下部に発現するレプチン受容体 (ObR) に結合し摂食調節、脂肪蓄積制御ホルモンとして働くことは広く知られるが、同時に免疫系や造血系にも働き、細胞の分化・増殖および極性を制御する。レプチンは、脂肪細胞の他、胃からも産生される。胃は同時に ObR も発現しているが、胃におけるレプチンシグナルの意義および制御機構は不明である。近年、レプチンシグナルが胃がん病変部において亢進することが相次いで報告されている。我々は、レプチンシグナルの負の制御分子である SOCS3 を消化管上皮細胞特異的に欠損させたマウス (T3b-SOCS3 cKO) を作製したところ、胃粘膜レプチンの産生およびそのシグナルの亢進により、胃がんを発症することを明らかにした。そこで、本研究では、さらに胃レプチンシグナルが胃上皮細胞の分化・機能をどのように制御し、また逸脱させるのかについて明らかにすることを目的としている。

## 2. 研究の目的

レプチンは生理・免疫システムにおいてホルモン・サイトカインとして働き、その機能は多岐にわたる。中枢器官を介してのレプチンシグナル制御の破綻は、肥満患者において、血中レプチン濃度が上昇するにも関わらず摂食抑制が効かず余分な脂肪が蓄積するレプチン抵抗性がよく知られているが、レプチンを産生し同時に ObR も発現している胃においては、その意義も破綻による影響も解明されていなかった。しかし、近年ヒト胃がん病変部においてレプチン産生及びそのシグナルが亢進すること、がん幹細胞に ObR が高発現しレプチンシグナルを介して多能性幹細胞が誘導されるなど、レプチンシグナルとがん形成に関し相次いで報告がなされた。

また、*Helicobacter pylori* (ピロリ菌) は胃がんの原因の一つと考えられているが、ピロリ菌感染率が同程度であっても肥満により胃炎発症率が高いことも報告されている。我々は、消化管上皮細胞で SOCS3 と ObR を欠損したマウス及び食事性肥満マウスを用いて、胃レプチンシグナルを中心とした胃粘膜恒常性及びその破綻のメカニズムの解明を目指し解析を行った。

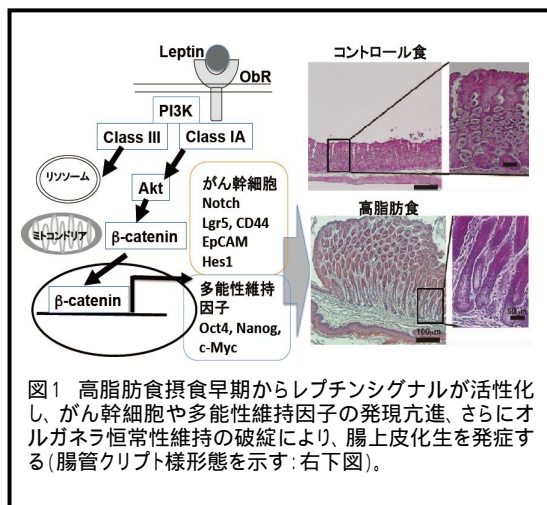
## 3. 研究の方法

(1) 我々はすでに、消化管上皮細胞特異的に SOCS3 を欠損させた T3b-SOCS3 cKO マウスが胃レプチンシグナルを過剰亢進させることを発表している。さらに、胃レプチンシグナルの活性化及びその抑制機構を解明するため、消化管上皮細胞特異的に SOCS3 と ObR を二重欠損させた T3b-(SOCS3xObR) cKO マウスを作製した。

(2) 60% kcal fat の食餌を C57BL/6 マウスに摂取させ、食事性肥満マウスを作製した。以上遺伝子改変及び食事性肥満マウスを用いて腸上皮化生および胃がん発症、抑制について調べた。

## 4. 研究成果

(1) T3b-(SOCS3xObR) cKO マウスを作製した。T3b-SOCS3 cKO マウスで生後早期から胃粘膜上皮の形態や性状に異常が認められ、腸上皮化生を経て胃がんを発症した。一方、T3b-(SOCS3xObR) cKO マウスではコントロールマウスと比較し IL-11 の産生があまり抑制されず胃炎は発症するが、胃がんは形成されなかった。これらの結果から、ObR シグナルが胃がんにも必須であることが分かった。



(2) 高脂肪食を C57BL/6J マウスに摂取させたところ、腸上皮化生を発症した。高脂肪食摂取後 1 週目から胃粘膜においてレプチン産生及びそのシグナルの亢進に伴い、胃の原基決定に重要な転写因子である Sox2 及び H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase が顕著に低下する一方、Cdx2 および Muc2 に加え、パネート細胞マーカーである PLA2 が異所性に発現した (Inagaki-Ohara, Nutr Metab, 2016)。さらに、高脂肪食摂取により異所性脂肪の蓄積、細胞内オルガネラマーカータンパクの強発現を示した。特に、高脂肪食摂取後早期から、リソソームで LAMP2A の過剰発現を見出した。次にリソソームが有する加水分解酵素であり胃から産生される Acidic lipase の発現は、高脂肪食摂取により顕著に低下し、逆に腸で産生される lipoprotein lipase が胃で異所性に発現していた。リソソームの LAMP2A に次いでミトコンドリアの COX IV の発現も増加していることから、高脂肪食摂取後早期から、細胞内オルガネラ恒常性の破綻が進行すると考えられる。胃粘膜レプチン産生と併せ、ObR PI3K class IA Akt 経路の活性化と共に β-catenin の細胞内蓄積が認められ、

その標的分子である Notch, Lgr5, EpCAM, CD44, Hes1 陽性の胃がん幹細胞様細胞の増加、さらに Oct4, Nanog, c-Myc など多能性維持因子の発現が増強した。また、LAMP2A や COX IV の発現が高まる時期から、PI3K class III の発現が増強した。上記の変化は、レプチン欠損 (ob/ob) および ObR 変異 (db/db) マウスの胃ではほとんど認められないことから、肥満に伴う腸上皮化生もまた、胃レプチンシグナルが関与することが示された(図 1、Arita, Arch Biochem Biophys, 2016)。

#### 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 3 件)

1. Arita S., Kinoshita Y., Ushida A., Enomoto A., Inagaki-Ohara K. High-fat diet-feeding promotes stemness and precancerous pathogenicity in the gastric mucosa mediated by leptin receptor signaling pathway in mice. **Arch Biochem Biophys.** (2016) 610:16-24.
2. Inagaki-Ohara K., Okamoto S., Takagi K., Saito K., Arita S., Tang L., Hori T., Kataoka H., Matsumoto S., Minokoshi Y. Leptin receptor signaling is required for high-fat diet-induced atrophic gastritis in mice. **Nutr. Metab.** (2016) 13:7.
3. Inagaki-Ohara K., Yoshimura A. SOCS, inflammation and metabolism. **J. Molecular Biochemistry** (2014). 3:85-96.

[学会発表](計 3 件)

1. 高脂肪食摂取による胃粘膜幹細胞発現におけるレプチンシグナルの重要性 有田晟哉、木下裕太、稲垣匡子

第 37 回日本肥満学会 (東京)

2016 年 10 月 8 日

2. High-fat diet-induced atrophic gastritis requires leptin receptor signaling pathways in Mice. Kyoko Inagaki-Ohara, Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi  
Keystone Symposia (Vancouver, Canada)  
2015 年 1 月 15 日

3. 食餌性肥満による萎縮性胃炎形成におけるレプチンシグナルの重要性  
稲垣匡子、岡本 士毅、箕越靖彦  
第 35 回日本肥満学会 (宮崎) 2014 年 10 月 25 日

〔図書〕(計 件)

〔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  
<http://www.pu-hiroshima.ac.jp/uploaded/attachment/9863.pdf>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲垣 匡子 (INAGAKI-OHARA KYOKO)  
県立広島大学・生命環境学部・教授  
研究者番号：70363588

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

箕越 靖彦 (MINOKOSHI YASUHIKO)  
生理学研究所・発達生理学研究系・教授  
研究者番号：10200099

(4) 研究協力者

( )