

機関番号：17201

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590728

研究課題名 (和文) 摂食行動に関連する中枢神経系の小腸粘膜アポトーシス・増殖に及ぼす影響

研究課題名 (英文) Effect of central nervous system on small intestinal cell growth And apoptosis

研究代表者

藤本 一真 (Kazuma Fujimoto)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：50181392

研究成果の概要 (和文)：今回は小腸粘膜の形態に及ぼす視床下部諸核を中心とする中枢神経系の関与を明らかにし、さらに小腸粘膜の増殖機構やアポトーシス実行機序に焦点をあてた。視床下部を中心とする中枢神経系が小腸の生理機能の恒常性維持への関与について詳しく検討した今回の結果は今後の研究の方向を示すものとなっている。小腸アポトーシスに関しては、今回の研究で、管腔内に遊離されたアポトーシス細胞が様々な細胞質内酵素をもっており摂取された食物の解毒に重要であること、アポトーシスの発現によりそれ以上の細胞障害を受けないようにするための自己防衛的に作用していること、が判明した。中枢神経系の小腸恒常性維持とアポトーシスの生理的作用への関与観点からの今回の実験系の確立は今後さかんになっていくと予想される。

研究成果の概要 (英文)：The aim of this study is to examine if the hypothalamus, central nervous system, regulates mucosal cell growth and apoptosis in the small intestine. Epithelial homeostasis is balanced by regulation of cell proliferation and cell death. Intestinal mucosal apoptosis decreased by the ventromedial hypothalamus lesions, which induced hyperphagia and obesity. In contrast, sustained anorexia induced by administration of anorectic agents increased intestinal apoptosis. These results indicate that the central nervous system, in addition to local factors, is related to regulation of mucosal homeostasis in the intestinal mucosa.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,000,000	300,000	1,300,000
21年度	900,000	270,000	1,170,000
22年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：消化器内科学

キーワード：視床下部、食欲、代謝調節、消化吸収

## 1. 研究開始当初の背景

小腸は他と比較してターンオーバーの速い臓器であり、増殖能は高くアポトーシスが容易に誘導される。今までの研究の多くが小腸の増殖機構のみに焦点をあてていたが、我々は前に示したように一連の研究で小腸粘膜の増殖機構に加えてアポトーシスの発現機序について解明してきた。その結果、管腔内に遊離されたアポトーシス細胞は様々な細胞質内酵素をもっており摂取された食物の解毒に重要である可能性、アポトーシスの発現によりそれ以上の細胞障害を受けないようにするための自己防衛的に作用している可能性、等を示してきた。小腸のアポトーシスの研究自体が独創的であるが、さらにアポトーシスの発現の機構と生理的意義に注目して研究をすすめているグループは少ないのが現状である。代謝調節において重要な臓器である小腸の増殖機構やアポトーシスの発現意義を解明することでは小腸の機能だけでなく生体全体の代謝調節の解明に重要な意義をもつと考えられる。

## 2. 研究の目的

摂食行動に関連する中枢神経系の小腸粘膜の増殖とアポトーシスの発現に及ぼす影響について現時点までに当研究グループで解明して事項について以下にまとめている。すべての項目において不明な点は多くありこれから解明していく予定である。本申請では特に中枢神経系の小腸粘膜増殖に及ぼす影響と小腸粘膜アポトーシスの発現実行機序についての検討を目的の中心とする。以下に研究課題に対しある程度成果のでた分野についてまとめている。

### 中枢神経系の小腸粘膜増殖・アポトーシスに及ぼす影響

### 局所・食事因子の関与

*Kakimoto T. Exp Biol Med, in press*  
*Fujise T. Am J Physiol 292 : G1150, 2007*  
*Amemori S. Am J Physiol 292 : G923, 2007*  
*Fujise Tl. Am J Physiol 291: G110, 2006*  
*Iwakiri R. Scand Gastroenterol 36:39, 2001*

### 視床下部の関与

*Sakata H. J Gastroenterol 40: 137, 2005*  
*Lin T. J Gastro Hepatol 20: 1285, 2005*  
*Utsumi H. Exp Biol Med 228 : 1239, 2003*

### 小腸粘膜増殖機構およびアポトーシス発現機構

ヒスタミン : *Yoshida T. Dig Dis 45: 1138, 2000*  
*Tsunada. Gastroenterology107 :1297, 1994*  
*Fujimoto K. J Clin Invest 89: 126, 1992*  
iNOS : *Wu, Free Rad Biol Med 33: 649, 2002*  
活性酸素 : *Kojima. APT 18: 139, 2003*  
PAF : *Wu B. FASEB J 17: 1156, 2003*  
脂質長期負荷 : *Wu B. EBM 229: 1017, 2004*  
T-cell の関与 : *Wu B. EBM 231 : 91, 2006*  
Fas FasL : *Wu B. FASEB J 17: 1156, 2003*

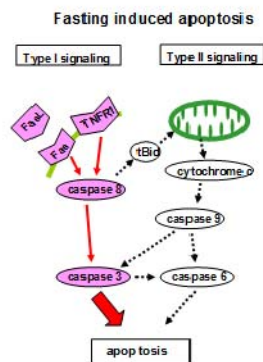
## 3. 研究の方法

- i) 小腸粘膜の増殖機構に関与すると推定される物質であるヒスタミン、活性酸素、platelet activating factor 等の作用機序について詳細に検討した。
- ii) アポトーシス関連蛋白の発現を調べることで小腸アポトーシス実行経路を検討した。
- iii) 生理的活性物質を第 III 脳室内に投与し、視床下部外側野と視床下部副内側核の小腸増殖とアポトーシスに及ぼす影響した。
- iv) 慢性投与の影響を検討した。
- v) 小腸粘膜のアポトーシスの分子機構を in vivo に実験系に加え、in vitro の実験系により確認した。
- vi) In vivo 実験は生理的条件下に近いコラーゲン三次元培養法初代培養細胞を用いた。

#### 4. 研究成果

最終的な研究成果は以下の2点にほぼ集約できる。

- 1) 摂食行動を誘発した場合、消化管粘膜の増殖は増加し、アポトーシスは減弱する。
- 2) 摂食行動を抑制した場合、消化管粘膜のアポトーシスは亢進し、増殖能は減弱する。
- 3) 摂食行動が関連する小腸粘膜のアポトーシスの発現機序は以下とおりである (Fasting (絶食時) を示す)



#### 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 17 件)

1. Takahashi H, Mizuta T, Eguchi Y, Kawaguchi Y, Kuwashiro T, Oeda S, Isoda H, Oza N, Iwane S, Izumi K, Anzai K, Ozaki I, Fujimoto K. Post- allenge hyperglycemia is a significant risk factor for the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol. 2011 Feb 18. [Epub ahead of print] (査読有)
2. Nomoto N, Aoki S, Uchihashi K, Matsunobu A, Koike E, Ootani A, Yonemitsu N, Fujimoto K, Toda S. The interaction between adipose tissue stromal cells and gastric cancer cells: roles of the stromal cells in the progression and HER2-targeted therapy of the cancer. Cancer Sci, in press (査読有)
3. Eguchi Y, Mizuta T, Sumida Y, Ishibashi E, Kitajima Y, Isoda H, Horie H, Tashiro T, Iwamoto E, Takahashi H, Kwashiorkor T, Soejima S, Kawaguchi Y, Oda Y, Emura S, Iwakiri R, Ozaki I, Euchar T, Ono N, Anza K, Fujimoto K, Koizumi S. The pathological role of visceral fat accumulation in steatosis, inflammation, and progression of nonalcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol. 46 (Suppl. 1):70-78, 2011. (査読有)
4. Kobayashi Y, Kawaguchi Y, Mizuta T, Kwashiorkor T, Ode S, Ooze N, Takahashi H, Inane S, Euchar Y, Anza K, Ozaki I, Fujimoto K. Metabolic factors are associated with serum alanine aminotransferase levels in patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol. 2010 Nov 3. [Epub ahead of print] (査読有)
5. Nakashima M, Hamajima H, Xia J, Iwane S, Kawaguchi Y, Eguchi Y, Mizuta T, Fujimoto K, Ozaki I, Matsuhashi S. Regulation of tumor suppressor PDCD4 by novel protein kinase C isoforms. Biochem. Biophys. Acta.1803: 1020-1027, 2010. (査読有)
6. Shiraishi R, Iwakiri R, Fujise T, Kuroki T, Kakimoto T, Takashima T, Sakata Y, Tsunada S, Nakashima Y, Yanagita T, Fujimoto K. Conjugated linoleic acid suppresses colon carcinogenesis in azoxymethane-pretreated rats with long-term feeding of diet containing beef tallow. J. Gastroenterol. 45: 625-635, 2010. (査読有)
7. Kitajima Y, Eguchi Y, Ishibashi E, Nakashita

- S, Aoki S, Toda S, Mizuta T, Ozaki I, Ono N, Eguchi T, Arai K, Iwakiri R, Fujimoto K. Age-related fat deposition in multifidus muscle could be a marker for nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 45:218-224, 2010. (査読有)
8. Hamajima H, Ozaki I, Zhang H, Iwane S, Kawaguchi Y, Eguchi Y, Matsuhashi S, Mizuta T, Matsuzaki K, Fujimoto K. Modulation of the transforming growth factor-beta1-induced Smad phosphorylation by the extracellular matrix receptor beta1-integrin. *Int J Oncol*. 35:1441-1447, 2009. (査読有)
  9. Wu B, Zeng L, Lin Y, Wen Z, Chen G, Iwakiri R, Fujimoto K. Down regulation of cyclooxygenase-1 is involved in gastric mucosal apoptosis via death signaling in portal hypertensive rats. *Cell Res*. 19: 1269-1278, 2009. (査読有)
  10. Ide Y, Zhang H, Hamajima H, Kawaguchi Y, Eguchi Y, Mizuta T, Yamamoto K, Fujimoto K, Ozaki I. Inhibition of matrix metalloproteinase expression by menatetrenone, a vitamin K2 analogue. *Oncol Rep*. 22: 599-604, 2009. (査読有)
  11. Shiraishi R, Fujise T, Kuroki T, Kakimoto T, Miao L, Sakata Y, Tsunada S, Noda T, Iwakiri R, Fujimoto K. Long-term ingestion of reduced glutathione suppressed an accelerating effect of beef tallow diet on colon carcinogenesis in rats. *J Gastroenterol*. 44: 1026-1035, 2009 (査読有)
  12. Suzuki E, Yoshimura T, Omura Y, Sakaguchi M, Nishio Y, Maegawa H, Hisatomi A, Fujimoto K, Takeda J, Kashiwaki A. Higher arterial stiffness, greater peripheral vascular resistance and lower blood flow in lower-leg arteries are associated with long-term hyperglycaemia in type 2 diabetic patients with normal ankle-brachial index. *Diabetes Metab Res Rev* 25: 363-369, 2009 (査読有)
  13. Ootani A, Li X, Sangiorgi E, Ho OT, Ueno H, Toda S, Sugihara H, Fujimoto K, Weissman IL, Capecchi MR, Kuo CJ. Sustained in vitro intestinal epithelial culture within a Wnt-dependent stem cell niche. *Nature Med* 15: 701-706, 2009 (査読有)
  14. Anzai K, Fukagawa K, Iwakiri R, Fujimoto K, Akashi K, Tso P. Increased lipid absorption and transport in the small intestine of Zucker obese rats. *J Clin Biochem Nutr* 45: 82-85, 2009 (査読有)
  15. Eguchi Y, Mizuta T, Ishibashi E, Kitajima Y, Oza N, Nakashita S, Hara M, Iwane S, Takahashi H, Akiyama T, Ario K, Kawaguchi Y, Yasutake T, Iwakiri R, Ozaki I, Hisatomi A, Eguchi T, Ono T, Fujimoto K. Hepatitis C virus infection enhances insulin resistance induced by visceral fat accumulation. *Liver Int* 29: 213-220, 2009 (査読有)
  16. Kakimoto T, Fujise T, Shiraishi R, Kuroki T, Park JM, Ootani A, Sakata Y, Tsunada S, Iwakiri R, Fujimoto K. Indigestible material attenuated changes in apoptosis in the fasted rat jejunal mucosa. *Exp Biol Med* 233: 310-316, 2008 (査読有)
  17. Park JM, Kakimoto T, Kuroki T, Shiraishi R, Fujise T, Iwakiri R, Fujimoto K. Suppression of intestinal mucosal apoptosis by ghrelin in fasted rats. *Exp Biol Med* 233: 48-56, 2008 (査読有)
- [学会発表] (計 10 件)
1. 野本菜実絵、戸田修二、藤本一眞. 肥満、代謝異常と消化管疾患、病態解明への新

- たなアプローチ：脂肪組織由来間質細胞は COX-2 非依存性に MARK(pERK-1/2) 活性化および HER2 発現抑制を介して、胃癌の進展に關与する。第7回日本消化管学会総会学術集会。2011.2.18-19 (京都) 抄録集 255 (ワークショップ)
2. 岩根紳治、尾崎岩太、藤本一眞。肝疾患での間質実質相互作用、形質転換から見た治療戦略：細胞接着因子  $\beta 1$ -インテグリンによる増殖因子のシグナル伝達への關与の解明。第52回日本消化器病学会大会。2010.10.13-16 (横浜) 日消誌 107(Suppl): A79 (ワークショップ)
  3. Eguchi Y, Mizuta T, Kawaguchi Y, Ozaki I, Ono N, Eguchi T, Fujimoto K. Visceral fat accumulation is the first and second hit pathogenesis for development of nonalcoholic fatty liver disease. The Second International Forum of Japanese Society of Gastroenterology. 2010.4.24 (Niigata) 日消誌 107:A61(Plenary Oral Presentation)
  4. 富永直之、白石良介、岩切龍一、藤本一眞。生活習慣病と消化管疾患：生活習慣病と大腸発癌について、ラット発癌モデルでの検討。第6回日本消化管学会総会学術集会。2010.2.19-20 (福岡) 抄録集 250 (トピックフォーラム)
  5. Fujimoto K. Long term treatment of dyspepsia and GERD with PPI. 13<sup>th</sup> International Conference on Gastrointestinal Research. 2009.9.14 (Split, Croatia) Abstract 33 (Invited Lecture)
  6. Fujimoto K. What regulates appetite, glucose or apo A-IV? “Second Karuizawa Seminar. 2009.8.1 (Karuizawa) Abstract 5 (Lecture)
  7. 白石良介、岩切龍一、藤本一眞。大腸癌の予防：脂肪長期摂取と大腸発癌、ラット発癌モデルでの検討。第95回日本消化器病学会総会。2009.5.7-9 (札幌) 日消誌 106:A105 (ワークショップ)
  8. 大谷顕史、藤本一眞、Kuo K. 消化器臓器における幹細胞研究の進歩：In vivo analysis of intestinal stem cells. 第95回日本消化器病学会総会。2009.5.7-9 (札幌) 日消誌 106:A68 (ハネルディスカッション)
  9. 藤瀬剛弘、野田隆博、藤本一眞。消化吸収機能における小腸粘膜の形態維持と中枢神経との関連について。第39回日本消化吸収学会総会。2008.10.1-4 (東京) 日消誌 105:A628 (ハネルディスカッション)
  10. 大谷顕史、藤本一眞、Calvin Kuo. Recapitulation of the Wnt-dependent intestinal stem cell niche in long-term culture. 第94回日本消化器病学会総会。2008.5.8-10 (福岡) 日消誌 105: A102 (ハネルディスカッション)
- 〔図書〕 (計1件)
1. Fujise T, Iwakiri R, Shiraishi R, Fujimoto K: Azoxymethane-induced colon carcinogenesis through Wnt/beta-catenin signaling and the effects of the olive oil. In: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, edited by Preedy VR and Watson RR. 997-1004, Academic Press. Oxford 2010
- 〔産業財産権〕  
 ○出願状況 (なし)  
 ○取得状況 (なし)
- 〔その他〕  
 ホームページ等  
 佐賀大学医学部消化器内科  
<http://www.intmed.med.saga-u.ac.jp/kenkyuugroup/group/gast/kennshuutaisei.htm>
6. 研究組織
    - (1) 研究代表者  
 藤本 一眞 (Kazuma Fujimoto)  
 佐賀大学・医学部・教授  
 研究者番号：50181392