

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 4 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791536

研究課題名（和文） 腸管傷害修復因子としてのソニックヘッジホッグシグナルの意義解明

研究課題名（英文） The role of sonic hedgehog signaling in intestinal injury

研究代表者

吉川 幸造 (YOSHIKAWA KOZO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：80448331

研究成果の概要（和文）：

腸管ストレスラットモデルにおいて腸管内のソニックヘッジホッグ pathway を検討し、障害を受けるとその活性が上昇している事を同定した。次にその障害時における Tight junction を測定すると、低下している事を示した。ソニックヘッジホッグ pathway と stem cell との関連に注目し、Cancer stem cell とソニックヘッジホッグ pathway が関連している事を同定していることから今後は腸管上皮幹細胞との関連を同定したいと考えている。

研究成果の概要（英文）：

In intestinal stress rat model, the component of the Sonic hedgehog pathway was up-regulated and tight junction (Occludin, Claudin, ZO-1) was down-regulated. In cancer stem cell (CSC), Sonic hedgehog pathway was correlated with CSC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

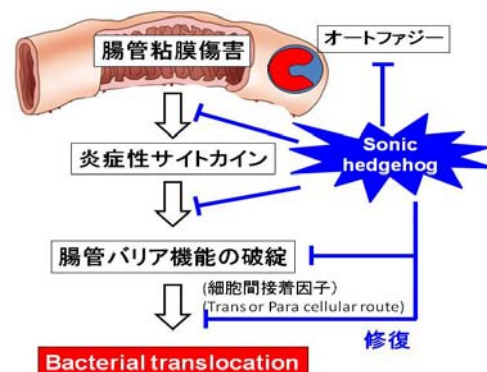
科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：ソニックヘッジホッグシグナル、腸管修復、サイトカイン

### 1. 研究開始当初の背景

Bacterial translocation (BT) は腸管内細菌などが腸管のバリア機能の破綻により全身の血中に移行する現象であり敗血症や多臓器不全へと進行する。外科手術時において術後に BT へ移行することがあり、その予防は術後合併症を減少させる上で重要である。

さらにソニック・ヘッジホッグ (Sonic hedgehog, SHH) は、ヘッジホッグ (HH) ファミリーに属する 5 種類のタンパク質の内の 1 つで発生において最も重要なモルフォゲ



ンとして、四肢や、脳脊髄正中線構造などの、多くの器官系のデザインの形成あるいは傷害臓器の修復に必須である。特に肝胆膵領域では膵細胞の発生に重要な役割を果たし、抑制的に働くことや、activin $\beta$  投与により SHH が過剰発現し、発生過程での細胞分化の調節の役割を担う可能性などが報告されている (Stem Cells. 2007)。しかし、現在のところ SHH pathway が腸管傷害修復に関する報告は未だない。

## 2. 研究の目的

BT 発生には様々なサイトカインが関与しており、我々はすでに漢方薬である大建中湯を投与することでサイトカイン産生を抑制し、結果として BT を予防すると報告している。(Dig Dis Sci 2008)

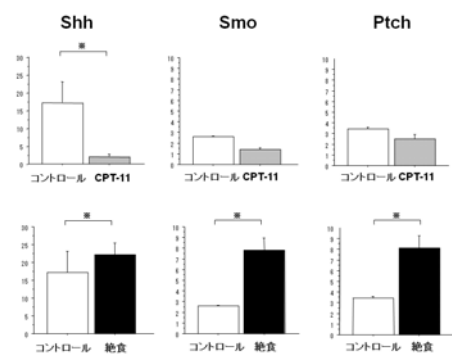
一方、大腸癌の発生において SHH シグナルは adenoma-carcinoma sequence において、癌へ進むにつれて SHH 発現が有意に減少する事を同定し、SHH が発癌と関与していることを報告した。(J Gastroenterol 2009)。さらに科研費若手 B (平成 21-22 年) で BT の新たなメカニズムの解明に向けて研究を行い、Tight junction である Claudin-1, Occludin-1 が BT で低下する事を証明した。現在、enterocyte におけるオートファジーの研究を行っている。脳の再生において IFN- $\gamma$  などのサイトカインが SHH-Gli1 signal pathway を regulate しており、脳の修復において SHH が修復の potential を有する事が示されている。(Ann Neurol 2008) これらの研究結果と SHH における最近の知見により、SHH が細胞接着因子等に作用し腸管傷害の修復に関わっているのではないかと仮説をたてた。

## 3. 研究の方法

腸管粘膜傷害の再生における Sonic hedgehog の役割を検討するために、まず絶食ラットモデルを用いて検討を行う。SHH pathway である Shh, Ptch, Smo, Gli など全て計測しその他のサイトカインとの関係を検討し細胞接着因子との関係を調べることで、腸管バリアとの関係を調べる。次に CPT-11 を用いた腸管傷害モデルでも同様の検討を行う。次に SHH をノックアウトしたマウスに対して腸管粘膜傷害を与え、SHH が発現しないことにおける腸管傷害修復を検討する。

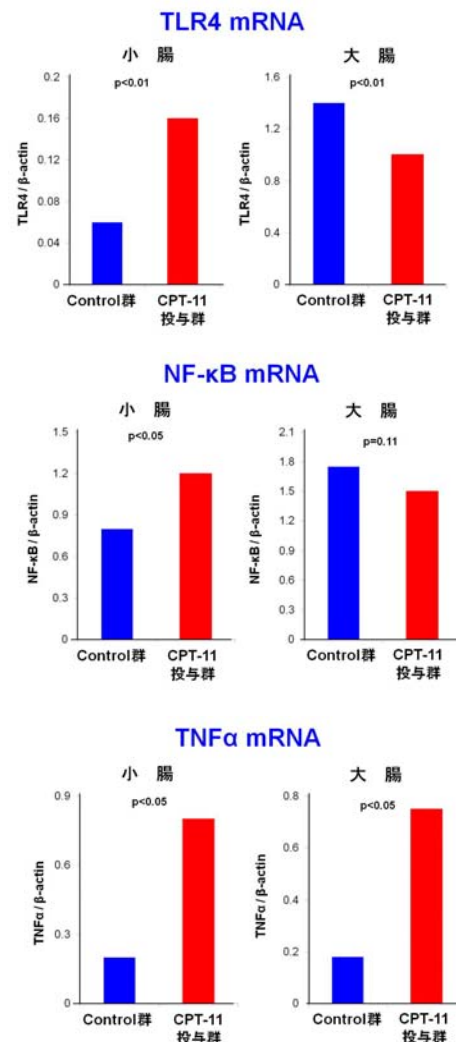
## 4. 研究成果

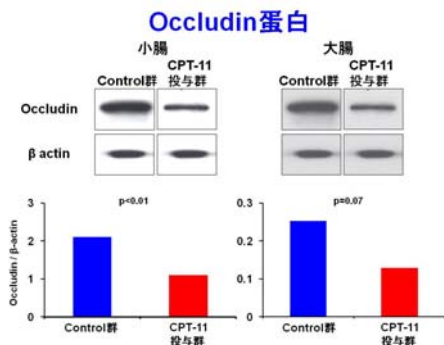
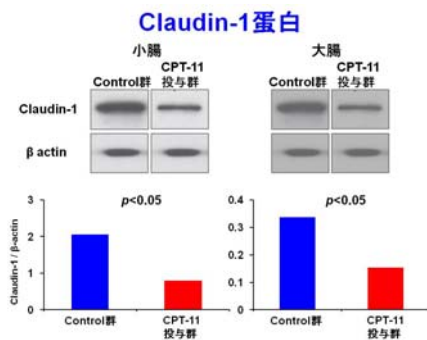
(1) 絶食ストレス、CPT-11 モデルにおけるニックヘッジホッグの検討。



絶食ストレスによる腸管傷害で Shh pathway が活性化される。

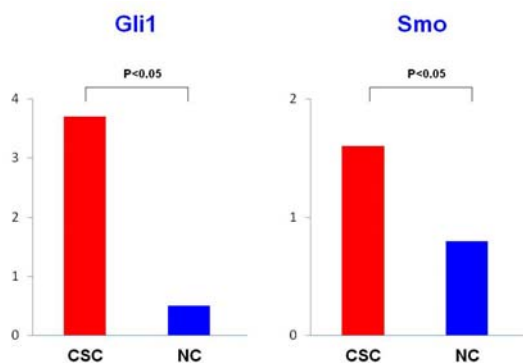
(2) Tight junction との関連の検討。





CPT-11 投与においてTLR4、NF- $\kappa$ B、サイトカインの上昇が認められ、Tight junctionの低下が認められた。

(3)Cancer stem cell とソニックヘッジホッグの関連



Cancer stem cell においてソニックヘッジホッグ因子である、Gli1, Smo が上昇しており癌におけるソニックヘッジホッグの役割を同定した。

(4)現在、SHH の阻害薬であるシクロパミン投与およびSHH ノックアウトマウスでの腸管傷害については現在確認中である。

## 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 4 件)

### 1. Yoshikawa K et al

The effects of the Kampo medicine "Daikenchuto" on the surgical inflammatory response following laparoscopic colorectal resection. Surg Today 2012 42:646-651(査読有)

### 2. Yoshikawa K et al

The efficacy of PET-CT for predicting the malignant potential of gastrointestinal stromal tumors. Surg Today 2012 [Epub ahead of print] (査読有)

### 3. Yoshikawa K et al

Personalized medicine for laparoscopic gastrectomy used to treat gastric cancer. Surg Endosc 2012 26:3073 (査読有)

### 4. Yoshikawa K et al

Visceral fat area is superior to body mass index as a predictive factor for risk with laparoscopy-assisted gastrectomy for gastric cancer. Surg Endosc 2011 25:3825-3830 (査読有)

[学会発表] (計 5 件)

1. 吉川幸造 腸管ストレスにおける大建中湯の抗炎症効果 第 67 回消化器外科学会 2012 年 7 月 20 日 富山国際会議場(富山県)

2. 吉川幸造 CPT-11 投与による腸間ストレスに対する大建中湯の効果に関する検討 第 49 回外科代謝栄養 2012 年 7 月 5 日 シェラトン・グランデ・トーキョーベイ・ホテル(千葉県)

3. 吉川幸造 The effect of Dai-kenchu-to in maintenance of microbial diversity on intestinal inflammation. 第 98 回消化器病学会 2012 年 4 月 19 日 京王プラザホテル(東京都)

4. 吉川幸造 CPT-11 は Tight Junction 障害と TNF $\alpha$ ・NF- $\kappa$ B 経路を介し Bacterial Translocation を発症させる 第 112 回外科学会 2012 年 4 月 12 日 幕張メッセ(千葉県)

5. 吉川幸造 大建中湯の新たな抗炎症効果

機序の解明 腸管マイクロバイオームの  
Diversity 維持に注目して 第 111 回外科学  
会 2011 年 5 月 26 日 東京国際フォーラム  
(東京都)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉川 幸造 (YOSHIKAWA KOZO)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオ  
サイエンス研究部・助教  
研究者番号：80448331

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

島田 光生 (SHIMADA MITSUO)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイ  
エンス研究部・教授  
研究者番号：10216070

栗田 信浩 (KURITA NOBUHIRO)  
徳島大学・病院・特任教授  
研究者番号：30335814

岩田 貴 (IWATA TAKASHI)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・准教授  
研究者番号：00380022