

令和 2 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：2017～2019

課題番号：17K08790

研究課題名(和文) 胃粘膜の腸型化における胃レプチンシグナルの役割

研究課題名(英文) Regulatory mechanism of intestinalization of gastric mucosa by leptin receptor signaling

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：胃粘膜でのレプチンシグナルの破綻は、胃がん発生に繋がる。我々は、遺伝子改変マウスと食事性肥満の2種類のマウスモデルを用い、胃レプチンシグナルが胃粘膜上皮の胃がんや前がん状態を誘導し、胃粘膜常在菌叢の構成異常を発生させることを明らかにした。レプチン受容体を欠損させるとこれらの胃粘膜の病態が顕著に改善され、常在菌叢の構成異常も抑制された。これらの結果から、胃レプチンシグナルは胃粘膜細胞分化や胃内環境を制御していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでレプチンの研究は、レプチンによるエネルギー代謝調節とその破綻機構に焦点が当てられ、胃で産生されるレプチンの胃局所における調節作用はほとんど明らかになっていない。本研究は、消化管特異的なレプチンシグナルに焦点をあて作製された遺伝子改変マウスを用いており、それ故、研究成果はヒト腸上皮化生、胃がん発症機構の解明においても重要な情報になりうる。

研究成果の概要(英文)：Dysregulation of leptin receptor (LepR) signaling links to development of gastric tumors. In this study, we demonstrated that LepR signaling activation is essential for the induction of gastric tumor, intestinal metaplasia and dysbiosis of microbiota using both models of gene-targeting and high-fat diet-induced obese mice. LepR-deletion suppresses the development of these pathogenesis and dysbiosis. These results indicate that the gastric leptin signaling can regulate cell differentiation of the stomach and environment of gastric mucosa.

研究分野：消化管免疫

キーワード：胃 レプチン 胃がん 腸上皮化生

## 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 (LepR) に結合し摂食抑制、脂肪蓄積制御ホルモンとして働くことは広く知られる。一方、レプチンは胃からも産生されているが、生理的意義の詳細は不明である。近年、ヒト胃癌病変部でレプチンシグナルが亢進することが相次いで報告されている。我々はこのマウスモデルとして、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、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、胃癌を発症することを明らかにした。さらに、我々は、高脂肪食摂取マウスの胃粘膜でもレプチンシグナルが亢進し、胃の前がん病変である腸上皮化生が発生することも報告した。そこで本研究では、胃レプチン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、さらに常在菌を含む胃内環境の恒常性へどのように貢献しているかを明らかにすることを目的とする。

## 2. 研究の目的

脂肪細胞由来のレプチンと比較し、胃レプチンの詳細な生理的意義は明らかでなかった。しかし、我々の研究から、胃レプチンシグナルの制御破綻は、胃粘膜の正常から前がん、そして胃癌発生への各過程を促進することがわかってきた。しかし、レプチンシグナルの欠損がどの段階で胃癌抑制に働くかはわかっていない。胃粘膜上皮細胞の化生・がん化には、上皮細胞の分化・機能異常、消化管細菌叢と粘膜上皮の相互作用が重要である。腸内細菌の構成異常 (dysbiosis) が様々な発がんに関与していることはよく知られている。一方、胃内細菌叢については細菌叢構成について詳細な報告はなく、さらに病態変化に伴う変動はほとんど報告がない。本研究では、胃レプチンシグナルの胃粘膜上皮細胞の分化や機能制御機構、さらに消化管内常在菌との相互作用への関与について検討を行う。

## 3. 研究の方法

(1) レプチンシグナルの存在が、胃癌発生の直接的要因であることを証明するために、消化管上皮特異的に SOCS3 と LepR の二重欠損である T3b-(SOCS3xLepR) double cKO マウスを作製した。

(2) 消化管上皮特異的に LepR を欠損させた T3b-LepR cKO を作製し、高脂肪食摂取による腸上皮化生抑制に関与するレプチンシグナルの制御機構について検討を行った。

(3) 高脂肪食摂取による腸上皮化生の発生過程における、胃と大腸の常在菌解析を行った。

## 4. 研究成果

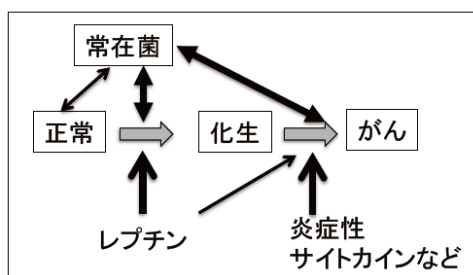
(1) 消化管上皮特異的 SOCS3 欠損 (T3b-SOCS3cKO) マウスによる胃癌は、SOCS3 と LepR との二重欠損 T3b-(SOCS3xLepR) dcKO により顕著に抑制された。T3b-SOCS3 cKO マウスは体重減少と共に生後半年以内にすべて死亡し、10 週齢までには胃癌を形成するが (Inagaki-Ohara, Oncogene, 2014) T3b-(SOCS3xLepR) dcKO は、コントロールマウスと比較し体重減少はなく、全てのマウスは生存した。さらにこれらのマウスでは、T3b-SOCS3cKO マウ

スが明確に胃がんを形成する時期に、明らかな病理像は認められなかった。SOCS3 はレプチン以外にも、IL-6 サイトカインファミリーはじめ、様々なサイトカインシグナルの負の制御分子である。そのため、他の炎症性サイトカインによる過剰なシグナルの遷延化が、発がんを惹起する可能性も考慮する必要があるが、これまでの研究により、他の炎症性サイトカインの産生に先立ちレプチンの産生が起こり、そのシグナルの制御逸脱は、胃がん発生初期に極めて重要であり、炎症性サイトカインは病態の増悪を促進すると考えられる。また、レプチンの増加と共にピモニダゾール陽性細胞が増加したことから、レプチン過剰産生による低酸素状態に胃粘膜が陥っていることがわかった。T3b-(SOCS3xLepR) dcKO マウスで胃がんが著減したのは、レプチンシグナルが胃発がんの直接の原因であることを証明するものである。

( 2 ) 野生型マウスに高脂肪食を摂取させると、胃粘膜でのレプチン産生が亢進し、腸上皮化生が発生する。消化管上皮特異的に LepR を欠損させた T3b-LepR cKO マウスは、全身で LepR 変異である db/db マウスのように自然発症の肥満を示さなかったが、野生型マウスと同様に高脂肪食摂取で体重は増加した。しかし、胃粘膜病理像は著しく異なり、野生型マウスで発生した腸上皮化生は、T3b-LepR cKO マウスでは顕著に抑制された(文献 1)。

( 3 ) 野生型マウスに高脂肪食を摂取させると、1 週目から胃粘膜の過形成、その後異型性など胃粘膜では前がん環境が形成されている。その病理像変化に伴い、消化管内常在菌の構成異常 (dysbiosis) が進行した。16S rRNA アンプリコン解析の結果、胃内細菌叢の構成は大腸細菌叢と非常に類似していた。また、従来、胃では細菌があまり存在しないと報告されていたが、スタンダード DNA を用いた qPCR 解析では、内容物 1g 当たり  $10^9$  オーダーレベルの胃内細菌が存在することがわかった。これは、腸内細菌数の 10% 程度に相当し、従来報告されているよりはるかに多くの細菌が胃内に存在することを示している。胃、大腸共に、高脂肪食摂取後 1 週目から *Lactobacillus* 属を優占菌種とし、*Bifidobacterium* 属がほとんど消失した。細菌数は高脂肪食摂取により著減した。T3b-LepR cKO マウスでは、高脂肪食摂取で体重は増加するにも関わらず、腸上皮化生は抑制され、消化管常在菌の dysbiosis はほとんど認められなかった(文献 1)。

「胃粘膜上皮細胞の腸型化」は胃粘膜の化生・発がんを発生させる。その病態初期にレプチンシグナルの過剰な活性化が鍵であり、それを抑制することが胃粘膜上皮細胞内及び常在菌を含む胃内環境の恒常性に極めて重要であることが明らかとなった(図 1)。



本研究で明らかになった胃レプチンの化生・がん化形成制御機構

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Arita S. and Inagaki-Ohara K	4. 巻 67-68
2. 論文標題 High-fat diet-induced modulations of leptin signaling and gastric microbiota drive precancerous lesions in the stomach.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrition	6. 最初と最後の頁 110556
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nut.2019.110556	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Arita S, Ogawa T, Murakami Y, Kinoshita Y, Okazaki M, Inagaki-Ohara K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Dietary Fat-Accelerating Leptin Signaling Promotes Protumorigenic Gastric Environment in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 E2127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu11092127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Inagaki-Ohara K	4. 巻 20
2. 論文標題 Gastric Leptin and Tumorigenesis: Beyond Obesity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 E2622
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20112622	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

〔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
---------------------------	-----------------------	----