

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09432

研究課題名(和文)高フルクトース食による腸内細菌叢構成異常が肝炎症や発癌、癌進展に及ぼす影響の解析

研究課題名(英文) Analysis of the effects of dysbiosis due to high fructose diet on liver inflammation, carcinogenesis, and cancer progression

研究代表者

田ノ上 史郎 (Tanoue, Shirou)

鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・助教

研究者番号：70611820

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌は慢性肝炎・肝硬変を背景にして発生する代表的な炎症性発癌である。本研究ではフルクトースや脂質過剰摂取による脂肪肝モデルマウスを用いて腸内細菌叢構成の異常(Dysbiosis)が脂肪肝、肝発癌に与える影響や腸管バリア機能に与える影響の検討を行った。フルクトース過剰摂取群で腸管透過性が亢進し、門脈血中のLipopolysaccharide(LPS)濃度は高い傾向を認め、さらに肝内前癌病変が増加していた。食餌内容の違いにより引き起こされた腸管バリア機能異常が肝発癌に影響を与えている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によってフルクトース過剰摂取など欧米型食事といった食事習慣により引き起こされる腸内細菌異常(Dysbiosis)によって脂肪肝を背景とした肝癌の発育・進展に及ぼす影響が明らかとなった。今後肝癌に代表される炎症性発癌機構の解明につながるのみならず、発癌抑制を目指した新たな治療法の分子基盤となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Hepatocellular carcinoma is a typical inflammatory carcinogenesis that occurs against the background of chronic hepatitis and cirrhosis. In this study, we investigated the effects of abnormal intestinal flora composition (Dysbiosis) on fatty liver and hepatocarcinogenesis, and on the intestinal barrier function using fatty liver model mice due to fructose and excess lipid intake. In the fructose overdose group, intestinal permeability was increased and concentration of Lipopolysaccharide (LPS) in the portal vein tended to be high, and intrahepatic precancerous lesions were increased. These results suggested that the intestinal barrier dysfunction caused by the difference of diet content might influence hepatocarcinogenesis.

研究分野：消化器 免疫

キーワード：Dysbiosis フルクトース 発癌 脂肪肝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌は慢性肝炎や肝硬変を背景に発生し、慢性炎症と密接に関連(炎症性発癌)している。研究代表者らはこれまでに菓子類や清涼飲料水の甘味料として使用されているフルクトースを用いた脂肪肝動物モデルを作成し、フルクトースによる脂肪肝で高脂肪食による脂肪肝よりも発癌促進作用(GST-P 陽性肝細胞巢の増加) 肝癌発生リスクが高いことを見出した(Kumamoto R, Uto H, Tanoue S, Ido A, Tsubouchi H. Eur J Med Res. 2013)。フルクトースの過剰摂取はインスリン抵抗性と密接に関連し(Curr Opin Lipidol 2008;19:16-24, ObesRev 2009;10:24-33)、また肝細胞における脂肪合成を活性化して肝脂肪化を誘導する(Am J PhysiolEndocrinol Metab 2002;282:E1180-90)。一方、フルクトースは腸内細菌の増殖を促進し、かつ腸管上皮の透過性を亢進させることで肝障害を誘導することも報告されている(J Nutr 2003;133:1903-8, J MedFood 2007;10:149-53)。我々も高フルクトース食餌摂取により腸内細菌叢の変化や腸管粘膜の透過性が亢進されていることを明らかにしている。腸管癌の進展にこの腸内細菌のバランス異常、すなわち dysbiosis が関与しているという報告はあるが(ManonD. et al. Nature 2014)、肝癌との関連の報告は少ない。以上の状況から、近年増加の一途にある脂肪肝を背景にした肝発癌の分子メカニズムを、過剰摂取が危惧されているフルクトースによる dysbiosis に着目して解明することに着想した。

Dysbiosis が慢性肝炎の線維化を促進(Samuele De. et al. Hepatology 2013)したり、NAFLD,NASH の進展を制御している(Henao-Mejia J. et al. Nature 2012)といわれており、dysbiosis が肝細胞癌への発生に関与していることが予想される。

このような背景から、高フルクトースによる腸内細菌叢構成の異常(Dysbiosis)が、最近増加傾向にある脂肪肝由来の肝発癌やその病態進展にどのように関わっているのか、肝癌に代表される炎症性発癌の分子機構の解明のみならず、発癌抑制を目指した新たな治療法の分子基盤となることが期待される。

## 2. 研究の目的

肝細胞癌は慢性肝炎・肝硬変を背景にして発生する代表的な炎症性発癌である。本研究では高フルクトース食など食餌内容の違いによる腸内細菌叢構成の異常(Dysbiosis)が炎症や発癌、癌進展に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

C57/BL6N マウスに 普通食(ND)、高フルクトース食(Hfru)、高脂肪食(Hfat)、コリン欠乏(CDAA)食を摂取させ脂肪肝を誘導する。作成した脂肪肝モデルマウスに、肝発癌誘導物質である diethylnitrosamine(DEN)(50 µg/L の濃度)を自由引水させ、肝発癌を誘導し GST-P 染色などを用いた病理組織学的評価を行う(Glutathione S-transferase placental type (GST-P) 陽性肝細胞は肝細胞癌の前癌病変)。また腸管透過性(消化管バリア機能)変化の検討として脂肪肝モデルマウスに FITC-Dextran を経口摂取させ、それを血液レベルで測定し腸管透過性の評価を行う。また腸管バリア機能の破綻からの経門脈的な細菌毒素 Lipopolysaccharide(LPS)の流入増加有無を評価し脂肪肝、発癌にあたえる影響を検討する。また経時的に血清や肝組織中サイトカインレベルを ELISA や real-time PCR 法で検討を行う。

#### 4. 研究成果

マウス体重は高脂肪食群(Hfat)が有意に増加を認め、高フルクトース食群は普通食群と有意差はなかった(図 1)。FITC-Dextran assay では3か月目で既にフルクトース群で腸管透過性は亢進し(図 2)、門脈血中の LPS 濃度は高い傾向を認めた(図 3)。また肝組織中 mRNA 発現では、炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  や IL-6 がフルクトース群で発現亢進していた。一方で肝臓組織線維化マーカーである  $\alpha$ SMA や COL1A1 はフルクトース群よりも高脂肪食群で発現が亢進していた(図 4)。肝腫瘍形成については GST-P 陽性肝細胞数は3ヶ月目、6ヶ月目においてフルクトース群で多い傾向を認めたが各群で有意差は認めなかった。以上よりフルクトース過剰摂取により腸管バリア機能の低下をきたし腸管透過性が亢進し腸管粘膜経由で門脈血中へ腸内細菌の LPS が流入し、肝組織の炎症や線維化を惹起、肝発癌を誘導している可能性が考えられた。

図 1 体重変化

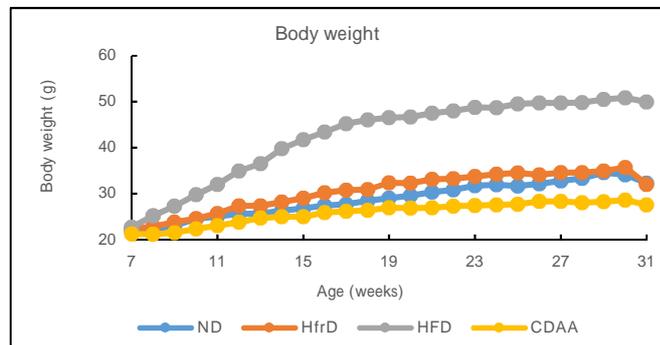


図 2 FITC-Dextran assay

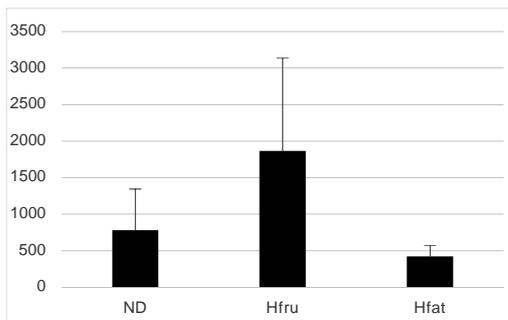


図 3 LPS assay

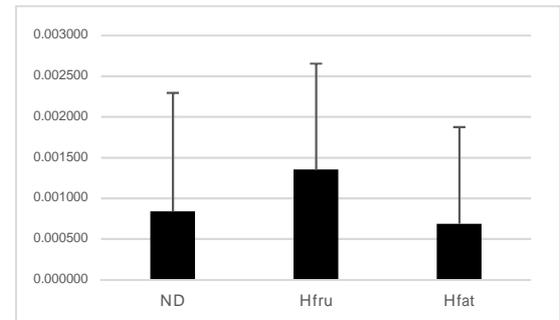
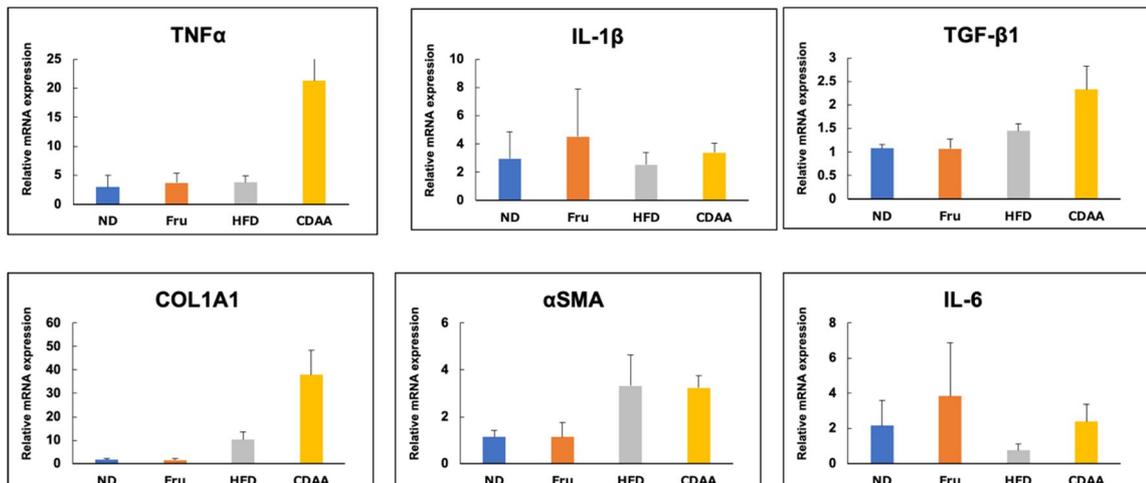


図 4 肝組織中遺伝子発現 (real-time PCR)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計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
--	---------------------------	-----------------------	----