

平成 22 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19590732

研究課題名 生活習慣病としての慢性萎縮性胃炎および胃癌発生におけるアディポネクチンの意義

研究課題名 The Significance of Adiponectin in Atrophic Gastritis and Gastric Carcinogenesis

研究代表者 樋口 和秀 (HIGUCHI KAZUHIDE)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：20218697

研究成果の概要：脂肪組織から分泌される生理活性物質（アディポサイトカイン）のひとつであるアディポネクチンは抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用の他に抗炎症作用や抗がん作用を有することが報告されている。本研究では、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染によって引き起こされる胃炎に対するアディポネクチンの意義を検討する目的で基礎的検討を行い以下に示すような知見を得た。

1. Globular-type アディポネクチンは *H. pylori* 菌体水分画可溶成分によるヒト単球系細胞株 (THP-1) の TNF- α の産生を低下させる。
2. レプチンは血管新生促進作用を介して潰瘍治癒を促進させる。
3. IL-17A は *H. pylori* 胃炎に対しては Th1 細胞の分化を抑えて抗炎症的に働く。
4. 胆汁酸は核内受容体である farnesoid X receptor (FXR) の活性を介して腸上皮化生を誘導する可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文) : Adiponectin, one of the adipocytokines which is produced by adipose tissue, has anti-diabetic, anti-atherosclerotic, anti-inflammatory and anti-carcinogenic effects. In this study, we studied the involvement of adiponectin on *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-induced gastritis.

1. Adiponectin suppress production of proinflammatory cytokines TNF- α produced by THP-1 cells stimulated by *H. pylori*-water soluble extract.
2. Leptin, one of the important adipocytokines as well as adiponectin, promotes the healing of gastric ulcer via upregulation of vascular endothelial growth factor.
3. IL-17A exerts anti-inflammatory effect on *H. pylori* -induced gastritis through suppression of Th1 differentiation.
4. Bile acids may induce gastric intestinal metaplasia and carcinogenesis through the farnesoid X receptor (FXR), a nuclear receptor for bile acids.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：(1) アディポサイトカイン(2) アディポネクチン(3) 炎症(4) *Helicobacter pylori*(5) 胃炎(6) tumor necrosis factor-

1. 研究開始当初の背景

脂肪組織から分泌される生理活性物質はアディポサイトカインと概念付けられており、いわゆるメタボリック・シンドロームの病態に深く関わる事が知られている。アディポサイトカインのうちのひとつであるアディポネクチンは抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用の他に抗炎症作用や抗がん作用を有することが報告されていることから、アディポネクチンが抗炎症作用や抗がん作用により、ヘリコバクター・ピロリ(*H. pylori*)による胃粘膜炎症を軽減し、胃がん発生を抑制している可能性、言い換えればアディポネクチンの分泌低下や機能不全が慢性萎縮性胃炎を進展させ胃がん発症を促進させている可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究ではアディポネクチンの抗炎症作用に着目し、アディポネクチンが *H. pylori* 胃炎の抑制因子である可能性や慢性萎縮性胃炎を発生母地とする胃癌の発生の抑制因子であるかどうかについて検討するために以下に示す基礎的検討を行った。

- (1) ヒト単球系細胞株 (THP-1) における *H. pylori* 菌体水分画可溶成分刺激による炎症性サイトカイン産生に及ぼすアディポネクチンの影響について検討した。
- (2) *H. pylori* 感染は胃潰瘍と密接な関連がある。一方、糖尿病は胃潰瘍の発症リスクであることが報告されている。本研究ではアディポネクチンと同様に脂肪組織から分泌され摂食やエネルギー代謝を調節するホルモンであるレプチンに注目し胃潰瘍治癒過程におけるレプチンの意義について検討した。
- (3) アディポネクチンは免疫機構に重要な意義を有している。*H. pylori* 感染胃粘膜炎症におけるアディポネクチンの免疫調節・制御機構を検討するための予備研究として *H. pylori* 感染胃炎における IL-17A の意義について検討した。
- (4) *H. pylori* 感染による腸上皮化生の発症機序の解明のため、胃上皮細胞に対する

胆汁酸による腸上皮化生誘導に関する検討を行った。

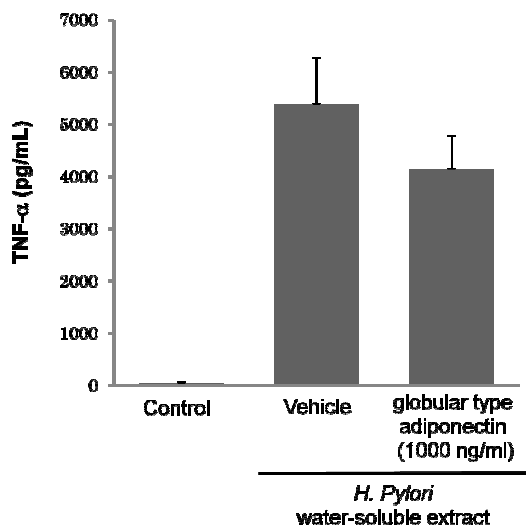
3. 研究の方法

- (1) ヒト単核球細胞株 (THP-1) における *H. pylori* の刺激により誘導される炎症性サイトカインである TNF- α の産生に対する globular type アディポネクチンの効果を検討した。globular type アディポネクチンを THP-1 細胞培養系に添加後 *H. pylori* 菌体水分画可溶成分を添加した後に経時的に培養上清を回収し、ELISA にて TNF- α 産生量を検討した。
- (2) レプチン欠損マウスあるいはその野生型マウスに実験胃潰瘍を作成し、潰瘍治癒速度、潰瘍組織における血管新生、vascular endothelial growth factor (VEGF) および basic fibroblast growth factor (bFGF) の発現について検討した。また、胃潰瘍を作成したレプチン欠損マウスに外因性にマウスリコンビナントレプチンを投与し、胃潰瘍治癒促進効果を検討した。
- (3) マウスに *H. pylori* (ss-1) を感染させ、IL-17A および各種炎症性サイトカインの発現を定量的リアルタイム RT-PCR により検討した。また *H. pylori* 感染マウスに抗 IL-17A 中和抗体を投与して IL-17A を中和し、胃粘膜における炎症性サイトカインにおける抗 IL-17A 中和抗体の効果を検討した。
- (4) ラット胃上皮細胞培養株 (RGM-1) における核内胆汁酸受容体 FXR の発現を蛍光免疫染色により検討した。RGM-1 細胞にデオキシコール酸 (DCA) とケノデオキシコール酸 (CDCA) を加え、腸上皮化生に重要な転写因子である Cdx2 と腸上皮粘液マーカである MUC2 の発現誘導を定量的リアルタイム RT-PCR 法およびウェスタンブロッティング法により検討した。又、FXR の選択的アゴニストである GW4064 による CDX2 と MUC2 の発現誘導を検討し、さらに FXR のアンタゴニストである guggulsterone が胆汁酸および

GW4064 による Cdx2 および MUC2 の発現誘導を抑制するかどうかについて検討した。

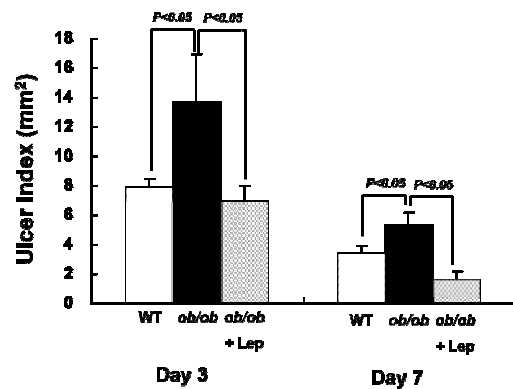
4. 研究成果

- (1) ヒト単球系細胞株 (THP-1) を globular type アディポネクチンの存在下あるいは非存在下で培養した後 *H. pylori* 菌体水分画可溶成分を添加したところ、アディポネクチンは *H. pylori* 菌体水分画可溶成分による TNF- α の産生を低下させた。

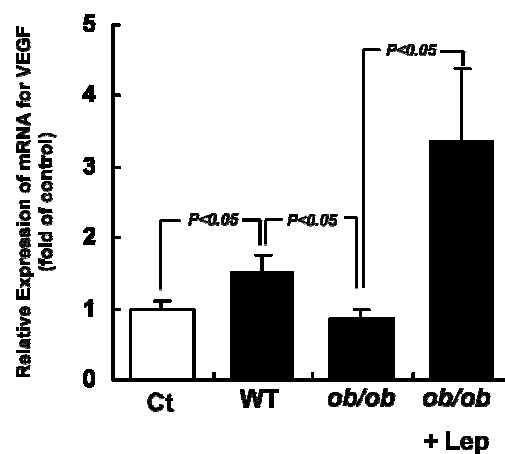


H. pylori 水分画可溶成分刺激によるヒト単核球細胞の TNF- α 産生におよぼす globular type adiponectin の影響

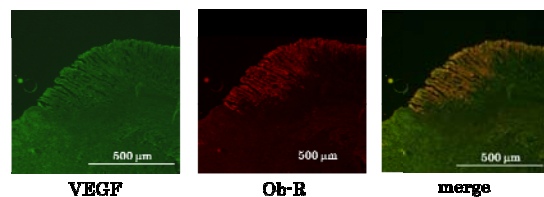
- (2) レプチン欠損マウスにおける潰瘍面積は野生型マウスに比して約2倍の大きさであり、明らかな潰瘍治癒の遅延が認められた。レプチン欠損マウスにおける胃潰瘍組織の bFGF や VEGF の遺伝子発現レベルは野生型マウスに比し約1/2のレベルに低下していた。レプチン受容体 mRNA の著明な発現増加が潰瘍組織において認められ、特に潰瘍辺縁の再生上皮にレプチン受容体が強く発現していた。胃潰瘍組織の微小血管数はレプチン欠損マウスでは野生型マウスに比し減少していた。潰瘍を作成したレプチン欠損マウスに外因性にレプチンを投与することにより、VEGF の遺伝子発現量は野生型マウスの潰瘍組織におけるレベルもしくはそれ以上に回復し、潰瘍組織における血管新生、潰瘍治癒速度共に回復した。



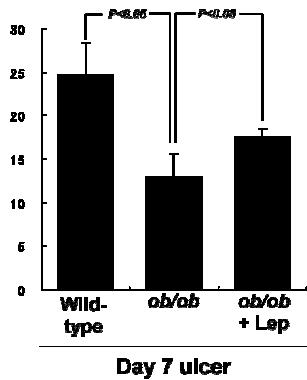
レプチン欠損マウスでは野生型マウスに比し胃潰瘍治癒は遅延する (WT: 野生型マウス、ob/ob: レプチン欠損マウス、Lep: マウスリコンビナントレプチン投与)



胃潰瘍組織における VEGF 遺伝子発現 (WT: 野生型マウス、ob/ob: レプチン欠損マウス、Lep: マウスリコンビナントレプチン投与)

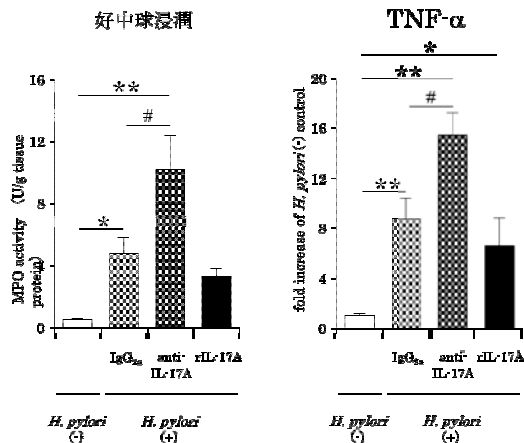


胃潰瘍辺縁上皮におけるレプチン受容体の発現誘導 (Ob-R: レプチン受容体)

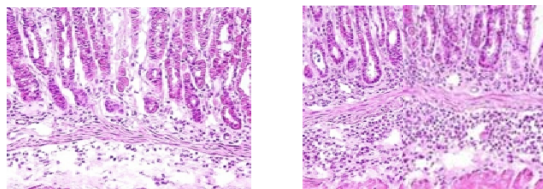


胃潰瘍組織における新生血管数

(3) *H. pylori* 感染胃粘膜においては IL-17 の発現増強がみられ、抗 IL-17 中和抗体投与群では *H. pylori* 感染対照群と比較して Th1 系サイトカインの発現は有意に増加し、組織学的にも炎症像が増悪した。このことから、IL-17 は *H. pylori* 胃炎に対しては Th1 細胞の分化を抑えて抗炎症的に働いている可能性が示唆された。



H. pylori 感染胃粘膜における好中球浸潤および TNF-α に対する抗 IL-17A 抗体の効果



irrelevant IgG_{2a} anti-IL-17A antibody
H. pylori 感染胃炎に対する抗 IL-17A 抗体の効果

(4) RGM-1 の核内において FXR の発現が認められた。DCA、CDCA および GW4064 は Cdx2 および MUC2 の発現を誘導し、guggulsterone はそれらの発現誘導を

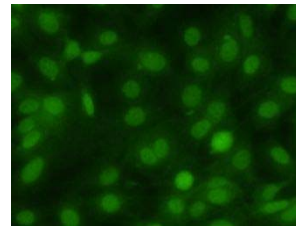
抑制した。以上から胃粘膜上皮の腸上皮化生への変化でみられる Cdx2 および MUC2 の発現誘導には胆汁酸による FXR の活性化が関与する可能性が示唆された。

CDCA (μM) 0 5 10 50

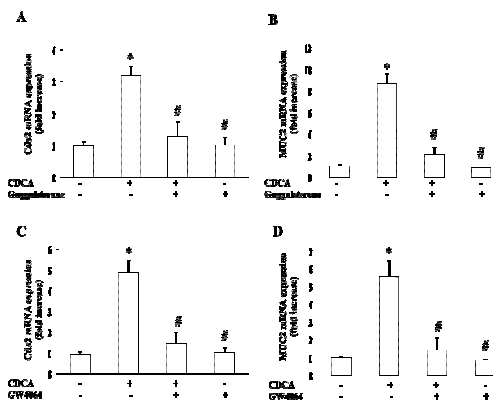
Cdx2

β-actin

ラット胃上皮細胞株におけるケノデオキシコール酸による Cdx2 発現誘導



ラット胃上皮細胞株における FXR の発現



CDCA による Cdx2 及び MUC2 遺伝子発現誘導に対する guggulsterone および GW1064 の影響

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 5 件)

① Xu Y, Watanabe T, Tanigawa T, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Watanabe K, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Arakawa T. Bile acids induce cdx2 expression through the farnesoid x receptor in gastric epithelial cells. J Clin Biochem Nutr. 査読有 2010 Jan;46(1):81-6.

② Tanigawa T, Watanabe T, Otani K, Nadatani Y, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Watanabe K, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Higuchi K, Arakawa T. Leptin promotes gastric ulcer healing via upregulation of vascular endothelial growth factor. Digestion. 査読有 2010;81(2):86-95.

③ Otani K, Watanabe T, Tanigawa T, Okazaki H, Yamagami H, Watanabe K, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Arakawa T. Anti-inflammatory effects of IL-17A on Helicobacter pylori-induced gastritis. Biochem Biophys Res Commun. 査読有 2009 May 1;382(2):252-8.

④ 谷川徹也, 渡辺俊雄, 町田浩久, 岡崎博俊, 山上博一, 渡辺憲治, 富永和作, 藤原靖弘, 押谷伸英, 樋口和秀, 荒川哲男胃潰瘍治癒過程におけるレプチンの意義 Progress in Medicine 査読無 29 巻 3 号 Page779-781 (2009. 03)

⑤ 大谷恒史, 渡辺俊雄, 谷川徹也, 岡崎博俊, 山上博一, 渡辺憲治, 富永和作, 藤原靖弘, 押谷伸英, 荒川哲男 *H. pylori* による胃炎に対する IL-17 の抗炎症作用 消化器と免疫 査読無 45 号 Page91-94(2009. 03)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 大谷恒史, 渡辺俊雄, 谷川徹也, 岡崎博俊, 山上博一, 渡辺憲治, 富永和作, 藤原靖弘, 押谷伸英, 荒川哲男 *H. pylori* 感染胃粘膜における IL-17 の働き 第 95 回日本消化器病学会総会 (2009 年 5 月 7 日、札幌)
- ② 大谷恒史, 渡辺俊雄, 谷川徹也, 亀田夏彦、町田 浩久、岡崎博俊, 山上博一, 渡辺憲治, 富永和作, 藤原靖弘, 押谷伸英, 荒川哲男 *Helicobacter pylori* 感染に対する免疫反応における IL-17 の役割について 第 5 回日本消化管学会総会学術集会 (2009 年 2 月 12 日、東京)
- ③ 許 英姫、谷川 徹也、岡崎 博俊、渡辺 俊雄、富永 和作、藤原 靖弘、押谷 伸英、荒川 哲男 胆汁酸は胃上皮細胞において farnesoid X 核内受容体を介して転写因子 CDX2 を誘導する 第 4 回 日本消化管学会総会学術総会 (2008 年 2 月 7 日、大阪)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋口 和秀 (HIGUCHI KAZUHIDE)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：20218697

(2) 研究分担者 (2008 年～2009 年連携研究者)

富永 和作 (TOMINAGA KAZUNARI)

大阪市立大学 大学院医学研究科・准教授

研究者番号：80336768

藤原 靖弘 (FUJIWARA YASUHIRO)

大阪市立大学 大学院医学研究科・准教授

研究者番号：40285292

渡辺 俊雄 (WATANABE TOSHIO)

大阪市立大学 大学院医学研究科・准教授

研究者番号：50336773

谷川 徹也 (TANIGAWA TETSUYA)

大阪市立大学 大学院医学研究科・講師

研究者番号：70423879