

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17007

研究課題名（和文）若年時の高脂肪食摂取が上皮バリア破綻をもたらす機構と疾患発症における意義の解明

研究課題名（英文）Effect of a high-fat diet-induced epithelial barrier dysfunction at a young age on disease development.

研究代表者

中田 一彰（Nakata, Kazuaki）

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・研究所・臨床連携研究室 研究員

研究者番号：20849244

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：食事の脂質の種類の違いが腸上皮と悪性疾患の発症に及ぼす影響について明らかにすることを目的とし、高脂肪食のラードを飽和脂肪酸、または不飽和脂肪酸に置き換えた餌を作製した。本研究により、不飽和脂肪酸食摂餌マウスと比べて、飽和脂肪酸食摂餌マウスで増殖細胞が増加すること、大腸癌マウスモデルにおいては不飽和脂肪酸食摂餌群と比較して、飽和脂肪酸食摂餌群で腫瘍形成が促進されることが明らかとなった。この飽和脂肪酸による細胞増殖亢進ならびに腫瘍形成促進作用は、飽和脂肪酸が結合する蛋白質の阻害剤処理により失われた。以上より、飽和脂肪酸による腸上皮恒常性の破綻と腫瘍形成促進作用は、本分子を介することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、飽和脂肪酸の過剰摂取を避けることにより腸管腫瘍形成を予防できるという可能性を示す、社会的意義の高いものである。また、飽和脂肪酸が腸上皮細胞回転ならびに腫瘍形成を促進するために必要な分子としてその結合たんぱく質を同定しており、本分子を介するシグナル伝達経路を阻害する分子の開発は、新規の腸管腫瘍予防・治療法に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We aimed to clarify the effects of different dietary fatty acids (FAs) on intestinal epithelial cell turnover and tumorigenesis. In this study, we compared the influences of high-fat diets (HFD) in which lard, a main source of FAs, was replaced with saturated or unsaturated FAs. We found that mice fed the saturated FA-containing HFD exhibited a higher number of Ki67+ proliferating cells than those fed the unsaturated FA-containing HFD. In the murine models, intestinal tumorigenesis was accelerated in mice fed the saturated FA-containing HFD compared to those fed the unsaturated FA-containing HFD. Furthermore, the inhibition of saturated FA-binding proteins canceled the impact of saturated FA on intestinal epithelial cell proliferation and tumorigenesis. These results collectively indicate that dietary saturated FA disrupts intestinal epithelial homeostasis and eventually promotes tumorigenesis via the saturated FA-binding protein.

研究分野：腸上皮細胞

キーワード：食事脂質 脂肪酸 腸上皮細胞 腫瘍形成 大腸癌

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活習慣の欧米化による高カロリー摂取や運動不足による代謝バランスの乱れから、幼児や若年成人の肥満人口は増加しており、生活習慣病有病者の若年化が進んでいる。肥満・代謝性疾患は消化器癌発症のリスクを高めることが報告されているが、若年時からの肥満や代謝異常が、疾患発症リスクをどの程度高めるのかについては明らかにされていない。これまでに、肥満・代謝性疾患の発症に先行して腸上皮バリア機能の破綻が起きることが報告されている。腸上皮バリアの破綻は更なる炎症や感染の原因となるが、近年、マウスモデルを用いた検討により、腸上皮バリア機能の破綻が肥満・代謝性疾患を引き起こし、発癌のリスクを上昇させることが示された。したがって、腸上皮バリア機能破綻のメカニズム解明とその制御はこれらの疾患の発症予防・遷延化防止のために重要である。また、近年、脂質の構造的多様性に基づくリポクオリティの生物学的意義が明らかとなり、疾患との関連にも注目が集まっているが、腸上皮細胞や腸管腫瘍形成に及ぼす影響についての詳細は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、エネルギー源としての脂肪酸含有量に加えて、脂肪酸の種類の違いに着目し、異なる食事由来脂質が腸上皮恒常性に及ぼす影響と、発癌リスクへの寄与を明らかにすることを目的とする。食事由来の脂肪酸が上皮バリア機能を含む腸上皮細胞機能にどのような影響を及ぼすかという点を、異なる種類の脂肪酸を含む高脂肪食を作製し、比較することで明らかにする。腸上皮バリアの破綻は肥満や様々な疾患のリスクファクターとなっているため、高脂肪食中の脂肪酸が上皮バリア機能や恒常性を修飾するメカニズムを明らかにすることで、分子基盤に基づく肥満や肥満が関連する疾患のための予防や治療方法の開発を目指す。

3. 研究の方法

高脂肪食を構成する脂質の種類の違いが腸上皮へ及ぼす影響の違いを解析するために、独自に不飽和脂肪酸含有高脂肪食(一般に使用されている高脂肪食に近い脂肪酸組成の食餌)ならびに飽和脂肪酸含有高脂肪食(前者中の不飽和脂肪酸を飽和脂肪酸に置き換えた食餌)を作製し、下記に示す実験を実施した。

(1) 異なる高脂肪食が腸上皮恒常性に及ぼす影響

若年時からの高脂肪食摂取が腸管バリア機能に及ぼす影響を解析するため、異なる高脂肪食を離乳直後の4週齢よりマウスに摂取させた。マウスに各高脂肪食を摂取させた後、FITC-dextran 経口投与による腸上皮透過性試験を行った。また、各高脂肪食が腸上皮細胞の構成に及ぼす影響について、組織染色ならびにレポーターマウスを用いた検討を行った。さらに、マウス小腸より単離したクリプトをゲル中で三次元培養するオルガノイド培養系を作製し、各脂肪酸が腸上皮細胞へ直接作用するか否かを検討した。

(2) 高脂肪食中の脂肪酸による上皮恒常性の破綻が疾患の発症・進展に及ぼす影響

大腸癌マウスモデルである *APC^{Min/+}* マウスを用いて、脂質の種類の違いが疾患発症に及ぼす影響を検討した。また、発癌物質アゾキシメタン(AOM)投与にデキストラン硫酸塩(DSS)飲水投与を組み合わせた炎症・発癌モデルを用いた検討を行った。

(3) 高脂肪食中の脂肪酸による腸上皮恒常性破綻のメカニズムの解析

脂肪酸の種類の違いが細胞増殖ならびに悪性疾患発症に異なる影響を及ぼす、そのメカニズムを解明するため、細胞増殖ならびに悪性疾患発症に対して促進作用を有する高脂肪食を摂取させたマウスより腸上皮細胞を分離し、シングルセル解析を実施した。また、脂肪酸が結合する蛋白質の阻害剤を用いて、高脂肪食摂取による細胞増殖や腫瘍形成促進効果がキャンセルされるか検証した。

4. 研究成果

(1) 血中への FITC 漏出を解析した結果、飽和脂肪酸含有高脂肪食摂取群において腸上皮透過性が有意に亢進していた。次に、腸上皮を構成する上皮細胞のうちどのような細胞が変化しているかについて組織染色により解析した結果、Chromogranin A 陽性の内分泌細胞、MUC2 陽性の粘液産生細胞、Dclk1 陽性のタフト細胞等の分化細胞に変化は認められなかった。また、腸上皮幹細胞マーカーのレポーターマウスを用いた検証の結果、腸上皮幹細胞に及ぼす高脂肪食の影響は確認できなかった。一方で、飽和脂肪酸含有高脂肪食摂取群において、増殖マーカーである Ki67 の陽性細胞数が不飽和脂肪酸含有高脂肪食摂取群と比較して飽和脂肪酸含有高脂肪食摂取マウスで増殖細胞が増加することを見出した。オルガノイド培養系に各種脂肪酸を添加培養し、オルガノイドあたりのクリプト形成頻度を解析した結果、飽和脂肪酸添加によりクリプト数が増加したことから、飽和脂肪酸は直接上皮細胞に作用して細胞増殖を促進することが明らかになっ

た。

(2) 大腸癌マウスモデルである $APC^{Min/+}$ マウスを用いて、脂質の種類の違いが疾患発症に及ぼす影響を検討した結果、不飽和脂肪酸含有高脂肪食摂餌群と比較して、飽和脂肪酸含有高脂肪食摂餌群で腫瘍形成が促進されることが明らかになった。さらに、 $APC^{Min/+}$ 大腸癌モデルと同様に、AOM/DSS を投与する炎症 - 発癌モデルにおいても、不飽和脂肪酸含有高脂肪食摂餌群と比較して、飽和脂肪酸含有高脂肪食摂餌群で腫瘍形成が促進されることが明らかになった。以上より、飽和脂肪酸は細胞増殖を促進することにより、腸管腫瘍形成リスクを高める可能性が示唆された。

(3) 飽和脂肪酸が上皮細胞の増殖を促進する分子メカニズムを明らかにするため、腸上皮細胞のシングルセル解析を実施した結果、コントロール食摂餌群と比較して、飽和脂肪酸含有高脂肪食摂餌群では drug metabolism、platinum drug resistance、glutathione metabolism、DNA replication に関する遺伝子発現が低下していることが明らかになった。さらに、組織染色により、飽和脂肪酸が結合する蛋白質を発現する細胞が、飽和脂肪酸食摂餌群において増加することを見出した。また、当該分子の阻害剤により、飽和脂肪酸による細胞増殖亢進ならびに腫瘍形成促進作用が失われたことから、飽和脂肪酸による腸上皮恒常性の破綻と腫瘍形成促進作用は、本文子を介することが明らかになった。

5. 主な発表論文等

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

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Sumiya Ryusuke, Terayama Masayoshi, Hagiwara Teruki, Nakata Kazuaki, Sekihara Keigo, Nagasaka Satoshi, Miyazaki Hideki, Igari Toru, Yamada Kazuhiko, Kawamura Yuki I. | 4. 巻 113 |
| 2. 論文標題 Loss of GSTO2 contributes to cell growth and mitochondria function via the p38 signaling in lung squamous cell carcinoma | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Science | 6. 最初と最後の頁 195 ~ 204 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15189 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Narabayashi Hikari, Koma Chiharu, Nakata Kazuaki, Ikegami Mion, Nakanishi Yusuke, Ogihara Jun, Tsuda Masato, Hosono Akira, Hanazawa Shigemasa, Takahashi Kyoko | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Gut microbiota-dependent adaptor molecule recruits DNA methyltransferase to the TLR4 gene in colonic epithelial cells to suppress inflammatory reactions | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2022.1005136 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Shiratori Hiroaki, Hattori Kisara M, Nakata Kazuaki, Okawa Takuma, Komiyama Seiga, Kinashi Yusuke, Kabumoto Yuma, Kaneko Yuria, Nagai Motoyoshi, Shindo Tomoko, Moritoki Nobuko, Kawamura Yuki I, Dohi Taeko, Takahashi Daisuke, Kimura Shunsuke, Hase Koji | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 A purified diet affects intestinal epithelial proliferation and barrier functions through gut microbial alterations | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 International Immunology | 6. 最初と最後の頁 223 ~ 240 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxae003 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 中田一彰 |
| 2. 発表標題 Dietary stearic acid promotes intestinal epithelial cell turnover and tumorigenesis |
| 3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中田一彰 |
| 2. 発表標題 飽和脂肪酸による腸上皮細胞への影響と疾患発症における意義 |
| 3. 学会等名 日本食品免疫学会 第18回学術大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名 中田一彰 |
| 2. 発表標題 腸管腫瘍形成に及ぼす食事性脂肪酸の影響 |
| 3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

〔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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
| | | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |