

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08759

研究課題名（和文）小腸上皮特異的味覚受容体欠損マウスを用いたNAFLDと肝再生不全の機序解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of NAFLD and liver regeneration failure using mice deficient in small intestinal epithelial specific taste receptors.

研究代表者

新川 寛二（Shinkawa, Hiroji）

大阪公立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：00554932

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：小腸上皮特異的Tas1r3欠損マウス(Tas1r3^{-IEC})と対照コントロールマウス(Tas1r3^{fl/fl})

をそれぞれ通常食飼育群とHFCD食飼育群に分類し、8週給餌後に解析した。WT群で脂肪の沈着が著明に認められたが、Tas1r3^{-IEC}群で脂肪の沈着が減少していた。また、肝臓のFSP27タンパク質は、WT control群と比較しWT HFC群で有意に上昇していたが、Tas1r3^{-IEC} HFC群ではその上昇が有意に抑制された。さらに、ATGLタンパク質は、WT control群と比較しWT HFC群で有意に低下していたが、Tas1r3^{-IEC} HFC群ではその低下が有意に抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、生活習慣病患者の増加とともにMASLDに対する重要な臨床課題となっているが、未だ有効な治療法はない。これまでは、肝細胞を標的とした治療薬が数多く検討されてきたが、小腸上皮を標的とした治療薬はほとんど検討されていない。本研究により小腸上皮における甘味受容体（Tas1r3）を介した脂肪肝進展機序が明らかとなれば、Tas1r3を標的としたMASLDに対する新規治療薬の創成に繋がる可能性があり非常に意義のある研究と考えられる。

研究成果の概要（英文）：Small intestinal epithelium-specific Tas1r3-deficient mice (Tas1r3^{-IEC}) and control mice (Tas1r3^{fl/fl}) were classified into normal diet-fed and HFCD diet-fed groups, respectively, and analyzed after 8 weeks of feeding. Fat deposition was clearly observed in the WT group, while fat deposition was reduced in the Tas1r3^{-IEC} group. Liver FSP27 protein was significantly elevated in the WT HFC group compared to the WT control group, but the elevation was significantly suppressed in the Tas1r3^{-IEC} HFC group. Furthermore, ATGL protein was significantly decreased in the WT HFC group compared to the WT control group, but the decrease was significantly suppressed in the Tas1r3^{-IEC} HFC group.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：味覚受容体 NAFLD 小腸

1. 研究開始当初の背景

(1) NAFLD の重症型である NASH は肝線維化が進行する慢性肝疾患で、肝硬変や肝癌発症だけでなく肝切除術後肝再生不全のリスクを上昇させ、術後長期成績も不良となることが知られている。NASH の病態進展には肝脂肪化以外に腸内細菌や細菌菌体成分、腸内細菌代謝産物などが門脈血中に流入することで引き起こされる、腸肝相関を介した肝細胞障害が重要な機序の1つとして考えられており、動物実験モデルを用いた検討では腸内細菌の異常増殖 (dysbiosis) や腸管透過性異常 (腸管バリア異常) が NASH 病態と関連しているとの報告も認められる

(2) 腸管粘膜におけるバリア機能維持には腸管上皮細胞間の tight junction による物理的バリア形成のみならず腸管上皮を覆う粘液層において腸内細菌との間で形成される微小環境と形質細胞から分泌される分泌型免疫グロブリン (s-IgA) などの腸管免疫によるバリア機構が中心的な役割を担っている。近年、腸管上皮に存在する腸管内分泌細胞が炎症性腸疾患などの dysbiosis 環境下で腸内細菌代謝産物を感知することでサイトカインやペプチドホルモンを分泌し、粘膜バリアなどの腸管粘膜における生体防御機能維持に働いていると報告されている。腸管内分泌細胞による腸管粘膜バリア機能維持の機序として消化管味覚受容体が注目されており、その受容体の1つでグルタミンなどを認識する taste receptor type 1 member 3 (TAS1R3) ノックアウトマウスでは小腸において tight junction タンパク質である Occludin の発現が低下し FITC-デキストランの腸管透過性が亢進することが確認されている。

(3) また、ラットを用いた実験モデルでイノシン 5'-リン酸 (IMP) の腸管内投与により TAS1R3 が活性化され粘液分泌の増加に伴い粘膜防御機能が增强されるとの報告や、ラット虚血再灌流モデルでグルタミン投与により肝障害が抑制されるとの報告、さらに高脂肪食下で飼育した脂肪肝モデルマウスにおいて十二指腸での *Tas1r3* mRNA の発現が低下すると報告もある。また、脂肪肝モデルマウスにおいて腸管透過性亢進を阻害することで肝障害が軽減され NASH 病態の進展も抑制されるとの報告があり、肝切除モデルにおいても脂肪肝モデルマウスで肝切除後肝再生不全の機序として肝実質における IL-6 などの炎症性サイトカインや肝細胞障害が関連しているとの報告がある。以上の研究結果から NASH 病態の進展には腸管内分泌細胞における TAS1R3 の発現低下に伴う腸管透過性亢進などの腸管粘膜バリア機能の低下が関与し、さらに NAFLD 病態における肝切除後肝再生不全に腸管透過性亢進に伴う肝障害が関連している可能性が考えられ、「腸管内分泌細胞の味覚受容体 (TAS1R3) の発現低下に伴う腸管透過性亢進と粘液減少に伴う微小環境変化による腸管免疫バリア機能の低下が NAFLD における NASH 発症・進展に関与し、さらに TAS1R3 の発現低下は NAFLD 病態下の肝再生不全に関連する」という仮説を立て下記の実験計画を作成した。

2. 研究の目的

糖尿病や肥満などの生活習慣病の進展には偏った食習慣による体内栄養素環境の調節不全が関与しており、NASH 発症・進展の原因となっている。また、消化管でアミノ酸などの栄養素を認識する味覚受容体は消化吸収や代謝調節だけでなく、消化管粘膜免疫機能を調節していることが明らかとなっている。腸管内分泌細胞に発現する味覚受容体の1つである TAS1R3 も腸管粘膜バリア機能と関連しているが、小腸における TAS1R3 発現低下と NASH 病態進展の関連は不明である。本研究では、小腸上皮特異的 *Tas1r3* ノックアウトマウスを用いて NASH モデルを作成し腸管内分泌細胞における TAS1R3 の発現・機能低下による腸肝相関を介した NASH の発症、進展の新たな機序を解明し、さらに NAFLD 病態における肝切除術後肝再生不全と TAS1R3 の関連を明確にすることを目的とする。また、NAFLD 患者における十二指腸粘膜での *TAS1R3* 発現と肝臓での病理組織学的 NASH 進行度との関連を検討し TAS1R3 機能低下の臨床的意義について明確にし、NAFLD 患者に対する新たな治療戦略を確立する。

3. 研究の方法

(1) 小腸上皮特異的 *Tas1r3* 欠損マウス：CRISPR/Cas9 システムにより作製した *Tas1r3^{fl/fl}* マウスと、腸上皮細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現する Villin-Cre マウス (*Villin-Cre^{Tg/-}* マウス；Jackson 研究所より購入) を交配し、小腸上皮特異的 *Tas1r3* 欠損マウス (*Tas1r3^{ΔIEC}*) を作製する。対照マウスとして、*Tas1r3^{fl/fl}*; *Villin-cre^{-/-}* を用いる

(2) 小腸上皮特異的 *Tas1r3* 欠損マウス (*Tas1r3^{fl/fl}*; *Villin-cre^{Tg/-}* (*Tas1r3^{ΔIEC}*)) と対照コントロールマウス (*Tas1r3^{fl/fl}*; *Villin-cre^{-/-}* (*Tas1r3^{fl/fl}*)) をそれぞれ通常食飼育群と High-fat+high cholesterol (HFCD) 食飼育群に分類し、8 週、12 週給餌後に下記項目について解析する。

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 0件）

1. 著者名 Shirai D, Shinkawa H, Takemura S, Tanaka S, Amano R, Kimura K, Kinoshita M, Kawada N, Kubo S.	4. 巻 68
2. 論文標題 Impact of alcohol abstinence on survival after hepatic resection for hepatocellular carcinoma in patients with alcohol-related liver disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Med Surg (Lond)	6. 最初と最後の頁 102644
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amsu.2021.102644	査読の有無 有
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 Tanaka S, Shinkawa H, Tamori A, Takemura S, Uchida-Kobayashi S, Amano R, Kimura K, Ohira G, Nishio K, Tauchi J, Kinoshita M, Kawada N, Kubo S.	4. 巻 51
2. 論文標題 Postoperative direct-acting antiviral treatment after liver resection in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hepatol Res.	6. 最初と最後の頁 1102-1114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13709	査読の有無 有
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 Tanaka S, Noda T, Komeda K, Kosaka H, Iida H, Ueno M, Hokuto D, Ikoma H, Nakai T, Kabata D, Shinkawa H, Kobayashi S, Hirokawa F, Mori H, Hayami S, Morimura R, Matsumoto M, Ishizawa T, Kubo S, Kaibori M.	4. 巻 27
2. 論文標題 Surgical Outcomes for Hepatocellular Carcinoma in Patients with Child-Pugh Class B: a Retrospective Multicenter Study.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Gastrointest Surg	6. 最初と最後の頁 283-295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11605-022-05549-w	査読の有無 有
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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 新川寛二、南山幸子、石沢武彰
2. 発表標題 小腸の味覚受容体は脂肪肝を制御する
3. 学会等名 第60回日本肝臓学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 河野 沙紀, 新川 寛二, 竹村 茂一, 中西 紘一, 市川 寛, 南山 幸子
2. 発表標題 小腸上皮特異的味覚受容体欠損マウスを用いた代謝性脂肪肝疾患 (MAFLD) の機序解明
3. 学会等名 フリーラジカルスクール2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中西 紘一, 新川 寛二, 河野 沙紀, 白井 大介, 細見 周平, 岩崎 有作, 南山 幸子, 竹村 茂一, 石沢 武
2. 発表標題 小腸上皮特異的味覚受容体の代謝異常関連脂肪性肝疾患における役割
3. 学会等名 第77回日本酸化ストレス学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 河野沙紀、新川寛二、中西紘一、白井大介、細見周平、竹村茂一、岩崎有作、南山幸子
2. 発表標題 小腸上皮に発現する味覚受容体は 代謝異常関連脂肪性肝疾患 (MASLD) の進展に関与するか
3. 学会等名 第78回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2024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
研究 分担 者	竹村 茂一 (Takemura Shigekazu) (00322363)	大阪公立大学・大学院医学研究科・特任教授 (24405)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	南山 幸子 (Minamiyama Yukiko) (00362989)	京都府立大学・生命環境科学研究科・教授 (24302)	
研究分担者	古株 彰一郎 (Kokabu Shoichiro) (30448899)	九州歯科大学・歯学部・教授 (27102)	
研究分担者	田中 肖吾 (Tanaka Shogo) (50382114)	大阪公立大学・大学院医学研究科・客員研究員 (24405)	
研究分担者	細見 周平 (Hosomi Shuhei) (60554938)	大阪公立大学・大学院医学研究科・講師 (24405)	
研究分担者	久保 正二 (Kubo Shoni) (80221224)	大阪公立大学・大学院医学研究科・客員教授 (24405)	

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