



金沢大学十全医学会 総会・学術集会

期日：2015年6月23日(火)
場所：金沢大学十全講堂

お問い合わせ 金沢大学十全医学会
TEL:076-265-2131 FAX:076-234-4208
E-mail:kenkyu@adm.kanazawa-u.ac.jp



12:40-13:00

- I. 会長挨拶
- II. 庶務報告
平成26-27年 事業計画および報告
- III. 会計報告
 - 1. 平成26年 決算報告
 - 2. 平成27年 予算計画
- IV. 編集報告

§ 第11回 十全医学賞受賞記念講演 【司会・進行：金沢大学十全医学会集会理事 河崎 洋志】

13:00-13:20

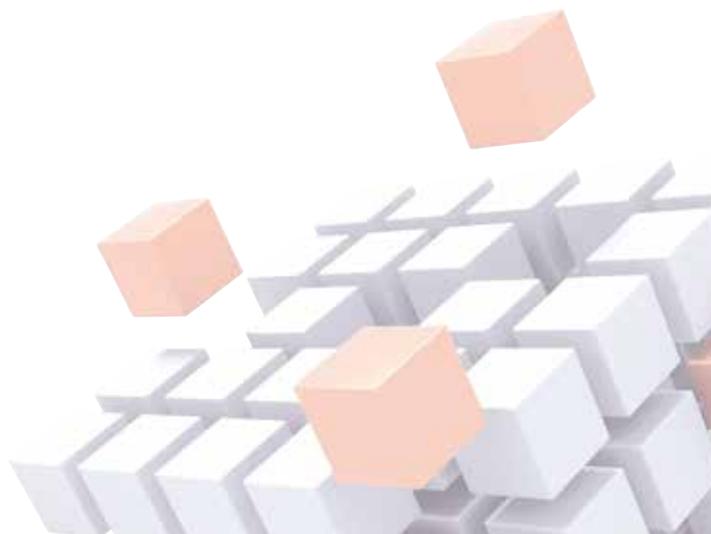
挨拶 金沢大学十全医学会 会長 太田 哲生
金沢大学十全医学賞授与式
記念写真

13:20-13:40

「オレキシンによる睡眠・覚醒調節の神経メカニズム」
金沢大学医薬保健研究域医学系分子神経科学・統合生理学 准教授 三枝 理博 先生

13:40-14:00

「臓器線維化機序の解明と治療法への展開」
金沢大学附属病院血液浄化療法部 助教 坂井 宣彦 先生



オレキシンによる睡眠・覚醒調節の神経メカニズム

Regulation of sleep/wakefulness by orexins

金沢大学医薬保健研究域医学系 分子神経科学・統合生理学
三 枝 理 博



私たちは人生の約3分の1を眠って過ごす。睡眠は必要不可欠であるが、起きているべき時に突然眠り込んでしまうと困る。脳には睡眠システムと覚醒システムが存在し、適切なタイミングで両者が切り替わる。この制御に重要なのが神経ペプチド・オレキシンで、オレキシン産生ニューロン(オレキシンニューロン)の変性により睡眠障害・ナルコレプシーが発症する¹⁾。これは、不適切なタイミングで睡眠と覚醒が切り替わってしまう病気である。特徴的な症状に、日中の強い眠気や睡眠発作、情動性脱力発作等があり、覚醒が長く維持できずノンレム睡眠が病的に出現したもの(睡眠発作)と、レム睡眠関連の機構が異常なタイミングで出現したもの(情動脱力発作、等)に大別される。

オレキシンニューロンは視床下部脳弓周囲野のみに限局して存在し、小脳を除く中枢神経系全域に投射する。特に、睡眠・覚醒制御に関わるモノアミン作動性ニューロンやコリン作動性ニューロンの起始核に密な投射が見られ、またオレキシン投与によりこれらのニューロンは興奮する。オレキシンニューロンはモノアミン作動性ニューロンやコリン作動性ニューロンの活動を高めることで覚醒を安定化しており、ナルコレプシーは覚醒を適切に維持できないことに起因すると考えられる¹⁾。我々は、オレキシンによる睡眠・覚醒調節機構の全貌を理解することを目的とし、研究を行っている。

I. オレキシンニューロンの活動度と睡眠・覚醒量との因果関係

In vivoでのオレキシンニューロンの発火頻度は覚醒時に高く、ノンレム、レム睡眠時には殆ど発火しない。我々はオレキシンニューロンの神経活動を人為的に操作するために、組換えAAVベクターと細胞特異的Cre発現マウスを用い、DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) をオレキシンニューロンで特異的に発現させた²⁾。興奮性DREADDによりオレキシンニューロンを活性化すると覚醒量が増加し、抑制性DREADDによりオレキシンニューロンを抑制すると覚醒量が減少した。以上の結果から、オ

レキシンニューロンの活動度と睡眠・覚醒量との間の因果関係が示された。

II. 睡眠・覚醒調節におけるオレキシン受容体 OX1R, OX2R の役割分担

二つのオレキシン受容体、OX1R, OX2Rが存在する。オレキシンA脳室内投与による覚醒亢進、ノンレム・レム睡眠抑制の効果を、野生型、OX1R欠損、OX2R欠損マウスで比較した³⁾。OX1R欠損マウスにおけるオレキシンAの覚醒亢進・ノンレム睡眠抑制作用は、野生型マウスと比較して若干ではあるが有意に減少した。OX2R欠損マウスに投与した場合は、野生型マウスに比べ約半分に減少したが、有意な効果が見られた。よって、オレキシンAによる覚醒亢進・ノンレム睡眠抑制の主要な経路はOX2Rを介するが、OX1Rを介した補足的な経路によっても調節されると示唆される。一方レム睡眠抑制に関しては、三者間でオレキシンAの作用に有意な差が見られなかった。二つの受容体が同程度に、重複して制御すると考えられる。

III. オレキシンニューロンの直接の下流でナルコレプシーを抑制するニューロンの探索・同定

オレキシン投与により活性化されるニューロンが、実際に生理的条件下での睡眠・覚醒調節に重要であるかは不明である。我々は、in vivoでオレキシンニューロンの直接の下流でナルコレプシーを抑制するニューロンの同定を試みた⁴⁾。オレキシン受容体欠損マウス(OX1R; OX2R二重欠損マウス)はオレキシンニューロンの投射には異常がないが、受容体を欠くためナルコレプシー症状を示す。AAVベクターを用い、オレキシン受容体欠損マウスの様々なモノアミン作動性、コリン作動性神経核で局所的にオレキシン受容体発現をレスキューし、ナルコレプシー症状が改善する神経核を探索した。背側縫線核・セロトニンニューロンでOX2R発現を回復させると情動性脱力発作が抑制された。一方、青斑核・ノルアドレナリンニューロンにOX1Rの発現を回復させると睡眠発作が抑制された。さらに、DREADDを用いて背側縫線核・セロトニンニューロン、青斑核・ノルアドレナリンニューロンを人為的に活性

化しても、それぞれ情動性脱力発作、睡眠発作が大幅に抑制された。したがって、ナルコレプシーに特徴的な二つの症状は、異なる神経メカニズムを介してオレキシンニューロンにより抑制されると考えられる(図)。

おわりに

これまでの研究により、オレキシンニューロンの直接の下流で覚醒を安定化させる神経経路が、初めて明らかになった。オレキシン受容体アゴニストが開発されればナルコレプシーの抜本的な治療薬となると期待

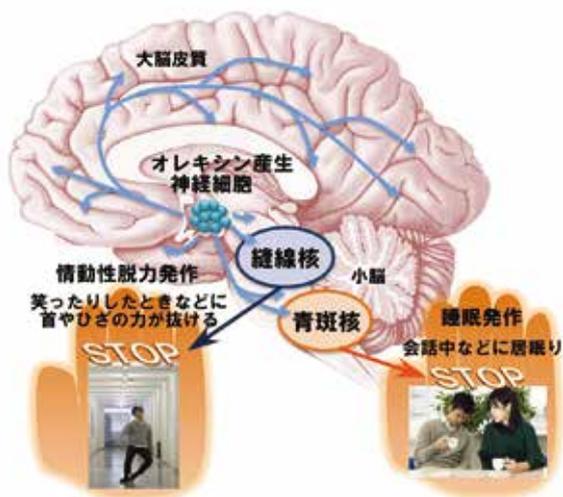


図. オレキシンニューロンは2つの異なる神経経路でナルコレプシーを抑制する

されている⁵⁾。またオレキシン受容体拮抗薬は不眠症の新たな治療薬として既に販売が開始され、注目されている。したがって、オレキシンによる睡眠・覚醒調節機構、二つの受容体サブタイプの役割分担の詳細な理解は、ナルコレプシーのみならずさまざまな睡眠障害の対処に応用できると考える。今後は、今回同定したセロトニン作動性ニューロンなどのさらに下流でナルコレプシーを抑制する標的ニューロンを特定し、ナルコレプシーの病態生理に関わる神経回路の全貌を理解していきたい。

文 献

- 1) Sakurai T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nat. Rev. Neurosci.*, 8, 171-181 (2007)
- 2) Sasaki K, Suzuki M, Mieda M et al.: Pharmacogenetic modulation of orexin neurons alters sleep/wakefulness states in mice. *PLoS One*, 6, e20360 (2011)
- 3) Mieda M, Hasegawa E, Kisanuki YY et al.: Differential roles of orexin receptor-1 and -2 in the regulation of non-REM and REM sleep. *J. Neurosci.*, 31, 6518-6526 (2011)
- 4) Hasegawa E, Yanagisawa M, Sakurai T, Mieda M: Orexin neurons suppress narcolepsy via 2 distinct efferent pathways. *J Clin Invest*, 124, 604-616 (2014)
- 5) Mieda M, Willie JT, Hara J et al.: Orexin peptides prevent cataplexy and improve wakefulness in an orexin neuron-ablated model of narcolepsy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 4649-4654 (2004)

Profile

三枝 理博 (みえだ みちひろ)
 略歴：平成 4 年 3 月 東京大学理学部卒業
 平成 9 年 3 月 東京大学大学院理学系研究科博士課程修了
 平成 9 年 4 月 慶應義塾大学医学部生理学講座助手
 平成 10 年 1 月 理化学研究所脳科学総合研究センター研究員
 平成 13 年 4 月 テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター博士研究員
 平成 16 年 5 月 東京医科歯科大学難治疾患研究所助教
 平成 20 年 1 月 金沢大学医薬保健研究域医学系分子神経科学・統合生理学 准教授

臓器線維化機序の解明と治療法への展開

Elucidation of mechanisms of progressive organ fibrosis and application to therapy

金沢大学附属病院血液浄化療法部
坂井 宣彦



はじめに

線維化は、臓器障害に対する過度の創傷治癒反応、すなわちコラーゲンをはじめとする細胞外基質産生能を有する細胞の集積と、過剰な細胞外基質沈着とを特徴とする。この線維化の進展に伴い、臓器の構造的および機能的恒常性は破壊され臓器不全にいたる。過度の創傷治癒反応をもたらす分子生物学的基盤の中核として、コラーゲン産生細胞および線維化関連メディエーターのはたす意義の解明は、各種線維性疾患の新たな治療法開発につながる事が期待される。これまで我々は、コラーゲン産生細胞として骨髄由来コラーゲン産生細胞である bone marrow-derived fibroblast progenitor-like cells (BMDFP)、および線維化関連メディエーターとして生理活性脂質、lysophosphatidic acid (LPA) に着目し、線維化進展機序における役割を検討してきた。

1. BMDFP と線維化

1-1. BMDFP の性状

線維化関連コラーゲン産生細胞として、臓器固有線維芽細胞や上皮細胞、血管内皮細胞あるいは周皮細胞由来の線維芽細胞などが知られている。近年、コラーゲン産生能を有する骨髄由来白血球系細胞であるBMDFPの存在が明らかとなり、新たなコラーゲン産生細胞の一つとして注目されている¹⁾。BMDFPの特徴として、骨髄由来白血球系細胞表面マーカー (CD45) が陽性であり、同時にI型コラーゲンなど細胞外基質産生能を有することが挙げられる。

1-2. BMDFP の腎線維化進展機序における役割

1-2-1. マウス腎線維化における、BMDFP の制御機構：ケモカイン・ケモカイン受容体系

腎障害が進展し腎不全に至る過程において、各種腎疾患はその病因を問わず、腎線維化という共通機序をとることを特徴とする。そこで、一側尿管結紮 (unilateral ureteral obstruction; UUO) によりマウス腎線維化モデルを作成し、線維化腎へのBMDFP (CD45/I型コラーゲン二重陽性細胞) 浸潤を検討した²⁾。結紮腎においてBMDFPの腎浸潤が認められ、浸潤BMDFP数は線維化進展に一致して増加した。

末梢血白血球の臓器浸潤には、ケモカイン・ケモカイン受容体系が関与することが知られている。BMDFPにおいても各種ケモカイン受容体が発現しており、その臓器浸潤機構を考えるうえで注目に値する。そこで腎線維化におけるケモカイン・ケモカイン受容体系、ことにCCR7とそのリガンド(CCL21)シグナルに着目し、腎線維化進展機序におけるBMDFPの制御機構としての意義を検討した²⁾。腎

内ハイドロキシプロリン量は抗CCL21中和抗体投与ならびにCCR7ノックアウトマウス(CCR7ko)で野生型マウス(WT)に比し低下した。これに一致して腎内BMDFP数も、CCL21/CCR7シグナル阻害により低下した。

さらにCCL21/CCR7シグナル依存性のBMDFPの腎浸潤経路についても検討した。High endothelial venules (HEVs)は末梢リンパ節のpostcapillary venulesに存在する特殊に分化したCCL21を発現する血管であり、CCR7陽性細胞のリンパ節へのホーミングに関与する。そこで、UUOによるマウス腎線維化モデルにおいてHEVs様血管(MECA79陽性血管)の局在を検討した。線維化進展に一致してCCL21陽性HEVs様血管(CCL21/MECA79二重陽性血管)の発現が増加し、CCL21陽性HEVs様血管はBMDFPの腎浸潤経路として重要であることが推測された。

以上の知見より、CCL21/CCR7シグナルはBMDFPの腎浸潤を制御することで、UUOによる腎線維化進展機序に関与することが示唆された(図1)。

1-2-2. マウス腎線維化における、BMDFP の制御機構：レニン・アンジオテンシン系

レニン・アンジオテンシン系は血圧調節系としてだけでなく、心血管リモデリングをはじめ各種病態に関与する。一方アンジオテンシンII (Ang II) 受容体には2つのサブタイプ、AT₁とAT₂が存在することが知られている。そこで腎線維化進展機序におけるBMDFPの制御機構として、AT₁/AT₂を介したレニン・アンジオテンシン系の意義について検討した³⁾。結紮腎において、AT₂koではWTに比しI型プロコラーゲン $\alpha 1$ 鎖(COL1A1)mRNA発現が増加した。一方AT₁阻害剤投与にて、WTおよびAT₂koともに腎線維化の改善を認めた。浸潤BMDFP数はAT₂koでWTに比し高値であったが、AT₁阻害にてAT₂ko, WTともに低下した。また、AngIIによるヒト

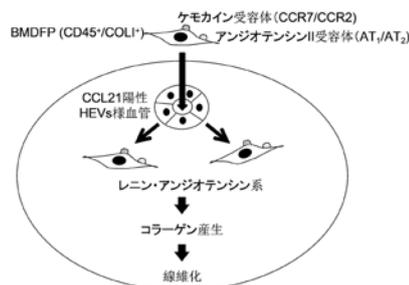


図1. 腎線維化進展機序におけるBMDFPの制御機構

BMDFP由来COL1A1mRNA発現はAT₁阻害で低下したが、AT₂阻害で亢進した。以上の知見より、レニン・アンジオテンシン系は、AT₁受容体/AT₂受容体を介してBMDFPの腎浸潤およびコラーゲン産生能を制御することで、腎線維化に関与することが推測された(図1)。

1-2-3. ヒト腎疾患のバイオマーカーとしてのBMDFPの可能性

腎生検を施行した各種腎疾患100例を対象に、腎内BMDFP数と臨床病理学的指標との相関を検討した⁴⁾。腎内BMDFP数は推算糸球体濾過量および24時間クレアチンクリアランスと負の相関を認めた。病理学的指標において、腎内BMDFP数は腎線維化面積率と正相関を認めた(表1)。またステロイド治療による疾患活動性の低下に一致して腎内BMDFP数は減少した。このことから、腎生検時の腎内BMDFP数をモニタリングすることは、腎機能ならびに治療効果を反映するバイオマーカーとなりうる事が示唆された。

2. LPAと線維化

2-1. LPAの生物学的背景

LPAは生理活性脂質のひとつであり、Gタンパク質共役型受容体である少なくとも6種類のLPA受容体(LPA₁₋₆)により情報伝達される。このうちLPA-LPA₁シグナルは、線維芽細胞遊走を増強することで線維化に寄与することが示されている。そこでLPA-LPA₁シグナルに着目し、腹膜透析や癌腹膜転移などで認められる腹膜線維化の進展機序における意義を検討した⁵⁾。

表1. 腎内BMDFP数と臨床病理学的指標の相関

	r	P
血清クレアチニン	0.331	<0.05
CRP	0.317	<0.05
HbA1c	-0.271	NS
推算糸球体濾過量	-0.352	<0.05
24hCcr	-0.451	<0.05
糸球体硬化	0.144	NS
間質線維化	0.374	<0.01
尿蛋白	0.12	NS

NS; not significant, 24hCcr; 24時間クレアチンクリアランス

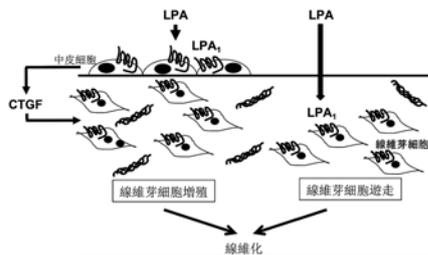


図2. 腹膜線維化進展機序におけるLPA-LPA₁の役割

2-2. 腹膜線維化進展機序におけるLPA-LPA₁シグナル

LPA₁ノックアウトマウス(LPA₁^{-/-})ならびにLPA₁阻害剤(AM095)を用いて、グルコン酸クロロヘキシジン(CG)誘発腹膜線維化にあたるLPA-LPA₁シグナルの意義を検討した。腹膜内ハイドロキシプロリン量はLPA₁^{-/-}でLPA₁^{+/+}に比し低下した。I型プロコラーゲンプロモーター下でgreen fluorescent protein(GFP)を発現するCol-GFPマウスを用いてコラーゲン産生細胞の動態を検討したところ、GFP陽性細胞数はAM095投与により低下した。また、GFPとproliferating cell nuclear antigen(PCNA)の二重染色において、GFP/PCNA二重陽性細胞数はAM095投与群で低下した。

続いて線維芽細胞増殖を制御する増殖因子として知られるconnective tissue growth factor(CTGF)の腹膜内発現を検討したところ、CTGF発現はLPA₁依存性に腹膜中皮細胞で亢進した。さらに、LPA刺激後CTGFを含有した腹膜中皮細胞培養上清は、NIH3T3細胞の増殖能を亢進させた。一方、CTGF siRNA前処置によりCTGF発現を抑制させた腹膜中皮細胞培養上清のNIH3T3細胞増殖誘導能は低値であった。以上より、LPA-LPA₁シグナルは腹膜中皮細胞由来CTGFを介したコラーゲン産生細胞増殖能を制御することで、腹膜線維化機序に関与することが示唆された(図2)。

おわりに

臓器線維化は、臓器固有細胞、浸潤細胞、液性因子が複雑なネットワークを形成しながら成立しており、臨床上いまだ有効な治療法は確立していない。また近年、多臓器をつなぐ臓器間ネットワークによる臓器障害進展も注目されている。今回述べたBMDFPやLPAは、この複雑なネットワークを制御する細胞・液性因子として機能し、治療標的細胞・因子となることが示唆される。

文献

- 1) Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, et al: Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med*, 1: 71-81, 1994
- 2) Sakai N, Wada T, Yokoyama H, et al: Secondary lymphoid tissue chemokine (SLC/CCL21)/CCR7 signaling regulates fibrocytes in renal fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103: 14098-103, 2006
- 3) Sakai N, Wada T, Matsushima K, et al: The renin-angiotensin system contributes to renal fibrosis through regulation of fibrocytes. *J Hypertens*, 26: 780-90, 2008
- 4) Sakai N, Furuichi K, Shinozaki Y, et al: Fibrocytes are involved in the pathogenesis of human chronic kidney disease. *Hum Pathol*, 41: 672-8, 2010
- 5) Sakai N, Chun J, Duffield JS, et al: LPA1-induced cytoskeleton reorganization drives fibrosis through CTGF-dependent fibroblast proliferation. *FASEB J*, 27: 1830-46, 2013

Profile

坂井 宣彦 (さかい のりひこ)

平成元年 3月 愛知県立旭丘高校卒業
 平成 8年 3月 大阪市立大学医学部卒業
 平成13年 3月 金沢大学大学院医学系研究科博士課程修了
 平成19年 11月 金沢大学附属病院血液浄化療法部特任助教
 平成20年 4月～現在 金沢大学附属病院血液浄化療法部助教
 平成22年 4月～平成25年 3月 米国ハーバード大学マサチューセッツ総合病院博士研究員

金沢大学十全医学会学術集会「臓器連関－異分野融合－」を 開催するにあたって

平成27年度金沢大学十全医学会学術集会が平成27年6月23日（火曜日）金沢大学十全講堂にて開催されます。本年度の学術集会テーマは「臓器連関－異分野融合－」です。加速する超高齢社会、過栄養、生活習慣など後天的因子の変化により疾病構造は大きく、かつ急速に変わってきています。この比類なき環境変化に生体は“個”として、各臓器が互いに連動して適応していると考えられています。そして、この生体の適応の破綻に伴い疾患が生じます。こういった疾病を包括的に理解し克服するためには、個体レベルの臓器横断的な調節機構の視点が不可欠と考えます。また、これらの理解により、新たな治療法の開発・応用に繋がることを期待されます。折しも、医療の分野における基礎から実用化までの研究開発が切れ目なく行われ、その成果が円滑に実用化されるよう、新たな組織である日本医療研究開発機構（AMED）が本年度に発足しました。実用化に至る過程では、医学上の多方面の異なる分野の融合だけではなく、薬学、保健学、農学、理工など多くの分野との接点と展開が重要であることは論を待ちません。このような思いを込めて、今回のテーマを決めさせて頂きました。

本年度の学術集会では、世界の最先端でleading physician scientistして八面六臂の活躍をされている大谷直子先生（東京理科大学）、片桐秀樹（東北大学）および中里雅光先生（宮崎大学）の3名の先生にご講演をお願い致しました。臓器連関、ことに生体を“個”として眺める先駆的かつダイナミックな魅力あふれるご研究の一端をご紹介いただけるものと期待しています。斬新なアイデアや先進的な研究、各臓器の接点とそのダイナミックな展開により、わくわくするお話をいただけるものと思います。また、本学からも飯田宗穂先生（革新予防医科学）ならびに井上啓先生（脳・肝インターフェースメディスン研究センター）から日頃の研究の一端をお話いただくことになっています。臓器・細胞のそれぞれの視点に加えて、臓器をつなぐ連関機構など新たな学問領域の研究に志を持ち、日頃取り組んでおられる方にはまさに至福の時間となると思います。また、この集会は本学の学生、研究者、医師にとり、思いがけない独創的な研究の着想やそこに至ったいきさつなど、発想の輝きや閃き、その後の臨床応用に至る見事な展開にふれる絶好の機会になると思います。

本学術集会は平日の午後に開催されています。是非、学生はじめ多くの方の参加をお待ちしております。そして、活発な討論を通じて、実り多い学術集会になることを期待しています。

学術集会担当理事
和田隆志

§ 十全医学会学術集会 『臓器連関 –異分野融合–』

【総合司会・進行：金沢大学十全医学会集会理事 和田 隆志】

14:00 – 14:05

開会挨拶

金沢大学十全医学会集会理事 河崎 洋志

【座長：河崎 洋志】

14:05 – 14:50

演題1 「細胞老化と炎症・がん

–腸内細菌代謝物による肝がん促進作用–

東京理科大学・理工学部・応用生物科学科 教授 大谷 直子 先生

14:50 – 14:55

感謝状贈呈，記念写真

14:55 – 15:20

演題2 「腸内細菌叢の癌と炎症における役割」

金沢大学医薬保健研究域医学系革新予防医科学 助教 飯田 宗穂 先生

15:20 – 15:40

コーヒーブレイク

15:40 – 16:25

演題3 「Metabolic Information Highways

～個体レベルでの糖・脂質・エネルギー代謝調節機構～

東北大学大学院医学系研究科糖尿病代謝内科学分野 教授 片桐 秀樹 先生

16:25 – 16:30

感謝状贈呈，記念写真

【座長：和田 隆志】

16:30 – 17:15

演題4 「自律神経・ペプチド連関を基軸とする

エネルギー代謝と免疫制御機構の研究」

宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野 教授 中里 雅光 先生

17:15 – 17:20

感謝状贈呈，記念写真

17:20 – 17:45

演題5 「視床下部インスリン作用による肝糖代謝調

金沢大学医薬保健研究域 脳・肝インターフェースメディスン研究センター 生体統御学部門 教授 井上 啓 先生

17:45 – 17:50

閉会挨拶

金沢大学十全医学会集会理事 和田 隆志

【共催】 金沢大学十全医学会
NPO法人 消化器病支援機構 DDSO

細胞老化と炎症・がん

—腸内細菌代謝物による肝がん促進作用—

Cellular senescence, inflammation and cancer
-Gut microbial metabolite promotes liver cancer-

東京理科大学・理工学部・応用生物科学科
独立行政法人科学技術振興機構 さきがけ
大 谷 直 子



がん抑制機構としての細胞老化とその副作用 SASP

細胞には様々な恒常性維持機構が備わっている。「細胞老化」もそのような恒常性維持機構のひとつで、発癌の危険性のある損傷が細胞に加わった際に誘導される不可逆的細胞増殖停止であり、もともと細胞に備わった重要な発癌防御機構である。しかし、自ら死滅するアポトーシスとは異なり、細胞老化を起こすと、生体内において長期間生き続ける可能性がある。最近、生き残った老化細胞から、様々な炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリクス分解酵素といった多くのタンパクが産生・分泌されることが明らかになり、この現象はSASP(細胞老化関連分泌現象, senescence-associated secretory phenotype)と呼ばれている(1)。もともとがん抑制機構として働いたはずの細胞老化であるが、時間とともに逆に生体に悪影響を及ぼすという、諸刃の剣のような現象を起こすのである。

肥満で増加した腸内細菌の代謝物による SASP 誘導が肝臓がんを促進する

生体において、SASPがどのような役割を担っているのかを証明していくことが重要である。我々は、肥満に伴い肝がんが発症するマウスモデルで、がん微小環境におけるSASPが、がん促進に重要な役割を担っていることを最近見出した(2)。多くのヒトのがんで高頻度に変異が見つかっているがん遺伝子の*Hras* 遺伝子に活性化型変異を起こすことが知られている化学発がん物質DMBA (7, 12-dimethylbenz(a)anthracene) を生後4~5日の乳児期のマウスの背中中の皮膚に一回塗布することで、全身性にoncogenicなシグナルを活性化させ、さらにこれらのマウスを高脂肪食摂取群と普通食摂取群に分け、どのようながんが肥満により促進されるのか30週後に調べた。すると、高脂肪食摂取群のすべてのマウスの肝臓には肝がん (hepatocellular carcinoma : HCC) が形成され、一方、DMBA塗布後普通食を与えた肥満していないマウスでは肝がんの発症が同じ時点では全く見られなかった。このことから、肥満により肝がん形成が促進されることが明らかになった。このとき、我々が以前開発していた細胞老化反応を発光シグナルによりインビボ・イメージングできるマウス(3)を用いて同様の実験をおこなったところ、肥満にともなう肝がん部に強いシグナルが検出され、がん部で細胞老化反応が起こっていることが明らかになった。

次に、肝臓のどの細胞で細胞老化が誘導されている

かを調べるため、免疫組織化学染色法を用いて検討を行ったところ、肥満したマウスの肝臓のがん部では、間質の細胞の一つである肝星細胞において、細胞老化の原因であるDNA損傷の蓄積や、 $p21^{Waf1/Cip1}$ や $p16^{Ink4a}$ の発現が認められ、細胞老化が誘導されていることが確認できた。さらに細胞老化を起こした肝星細胞はSASP因子として知られる様々な炎症性サイトカインやケモカインも産生していることが確認された。詳細を解析した結果、SASP因子の中で、様々なサイトカインカスケードの上流因子として働く炎症性サイトカイン、 $IL-1\beta$ が発がん促進に重要であることを明らかにした。肥満による2次胆汁酸産生菌の増加が肝星細胞の細胞老化の誘導と肝がんの発症を促進する

肥満によりどのようなメカニズムで肝星細胞が細胞老化を起こすのであろうか? 肥満により生体内で様々な代謝が変化するが、我々は肥満で大きくプロファイルが変わることが知られている腸内細菌叢の変化に注目した。そこで、4種類の抗生物質を混合した抗生剤を肥満マウスに投与してグラム陰性菌とグラム陽性菌の両方の腸内細菌を除去したところ、肥満による肝がんの発症率が著しく低下し、同時に細胞老化とSASPを起こした肝星細胞の割合も著しく低下していた。この実験結果は腸内細菌が肥満による肝がん形成に重要な役割を担っていることを強く示唆している。次に、肥満マウスの腸内細菌叢の変化を明らかにするため、次世代シーケンサーを用いて、マウスの糞便に含まれる細菌の16S rRNA 遺伝子の配列を解析した。その結果、普通食を摂取したマウスの腸内細菌では、グラム陽性菌とグラム陰性菌の割合はそれぞれ50%程度とほぼ等しかったのに対し、高脂肪食を摂取して肥満したマウスではグラム陽性菌が90%以上を占めるほど増加していることが明らかになった。特に、普通食摂取マウスではほとんど検出されなかったクロストリジウムクラスター XI や XIVa に分類される菌(グラム陽性菌) が高脂肪食摂取マウスで増加していることが明らかになった。そこで、グラム陽性菌のみを特異的に除去する抗生剤のバンコマイシンを肥満マウスに投与したところ、4剤の抗生剤投与の時と同等に、肥満による肝がんの形成や、肝星細胞の細胞老化及びSASPの誘導が著しく低下していた。これらの結果から、肥満により増加する腸内細菌のうちグラム陽性菌の代謝産物、または毒素が腸肝循環を介して肝臓に作用し、肝星細胞の細胞老化を誘導して肝がん形成を促進するのでは

ないかと考えた。

そこで、肥満による肝がん促進物質を同定するため、普通食マウスと高脂肪食マウスの血清を用いてメタボローム解析を行った結果、2次胆汁酸の一つであるデオキシコール酸 (Deoxycholic acid : DCA) が肥満マウスの血中で数倍増加していることを見出した。生体内でコレステロールから産生される1次胆汁酸は脂肪の消化に重要であるが、1次胆汁酸は一部の腸内細菌が有する7 α -dehydroxylation活性によって2次胆汁酸に代謝されることが知られている。さらに、培養細胞を用いた研究ではデオキシコール酸はROSを介して細胞にDNAダメージを誘導し(4)、発がんを促進する可能性があることが報告されている。これらのことから、肥満による肝がんの形成においてデオキシコール酸が重要な役割を担っている可能性が高いと考えた。また、腫瘍形成が抑制されたバンコマイシン投与マウスでは、興味深いことに、血中のデオキシコール酸濃度が著しく低下しており、やはり、肥満で増加したグラム陽性菌がデオキシコール酸を主に産生していると考えられた。そこで次にデオキシコール酸産生を阻害するDFAIH (difructose anhydride III)や、胆汁酸の体外への排出を促進するUDCA (ursodeoxycholic acid)を投与して体内のデオキシコール酸濃度を低下させた肥満マウスでは、肝がんの発症率及び肝星細胞の細胞老化が著しく低下していた。逆に、肥満マウスに抗生物質を投与し腸内細菌を除去すると同時に、デオキシコール酸を経口投与してみたところ、抗生剤投与により低下した肝がん発症率が、デオキシコール酸投与により著しく回復し、同時に腫瘍部では肝星細胞の細胞老化とSASPも誘導されていた。これらの結果から、肥満により増加した腸内細菌が産生する2次胆汁酸デオキシコール酸が、腸管循環を介して肝臓に運ばれ肝星細胞に細胞老化及びSASPを誘導することで肝がんの形成を促進していることが明らかになった。

ヒトの肝癌でも同様のメカニズムが働く可能性がある

前述してきた肝星細胞の細胞老化とSASPによる肝が

ん促進機構が、マウスだけでなくヒトにおいても起こりうるメカニズムかどうかを調べるため、肥満に伴うNASH(non-alcoholic steatohepatitis)を素地とする肝がん患者の組織を用いて検討した。NASH肝癌症例のうち、肝硬変による線維化があまり見られず、肝がん細胞内に著明な脂肪蓄積を伴うNASH肝癌 (NASH肝癌症例の約3割程度)組織において、我々のマウスモデルと同様、肝星細胞に細胞老化の誘導と、SASPを介した炎症性サイトカインの産生が生じていた。また、デオキシコール酸についても、ヒトでも高脂肪性の食事を摂取したり、動物性の食事をとると、数日後には糞便中のデオキシコール酸濃度が上昇することが報告されている(5)。これらのことから、ヒトにおいても脂肪肝を素地とする一部のNASH肝がんの形成に腸内細菌によるデオキシコール酸産生増加と肝星細胞のSASPの誘導が働いている可能性が強く示唆された。

おわりに

今回我々は、肥満にともなう肝臓がんモデルにおいて、間質に存在する肝星細胞が細胞老化とSASPを起こし、肝がんに促進的ながん微小環境を形成することを見出した。さらに肝星細胞の細胞老化は肥満により増加した腸内細菌が産生する2次胆汁酸のひとつ、デオキシコール酸により促進されることが明らかになった。これらの知見は、SASPという持続炎症の新しいメカニズムの可能性を示すとともに、腸内細菌の代謝産物を介した遠隔臓器への影響の重要性を強く示唆するものである。

文 献

- 1) Rodier, F. & Campisi J. J. Cell Biol 192: 547-556, 2011.
- 2) Yoshimoto S, et al. Nature. 499:97-101, 2013
- 3) Ohtani N, et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 104:15034-9, 2007s
- 4) Payne, C.M., et al. Carcinogenesis, 28, 215-222, 2007
- 5) David LA, et al. Nature 505, 559-63, 2014

Profile

大谷 直子(おおたに なおこ)

略歴

1988年 3月 京都府立医科大学 医学部医学科 卒業
1988年 6月 JR大阪鉄道病院 内科臨床研修(消化器内科医員)
1995年 3月 京都府立医科大学大学院 医学研究科 博士課程修了 医学博士
1995年 4月 京都府立医科大学 医学部医学科 公衆衛生学教室助手
1998年 12月 英国 University of Manchester, Paterson Institute for Cancer Research
Cell cycle group, Post-doctoral fellow
2003年 8月 徳島大学ゲノム機能研究センター 講師(2005年2月より助教授)
2008年 1月 公益財団法人がん研究会 がん研究所がん生物部 主任研究員
2011年 4月～ 独立行政法人 科学技術振興機構 さきかけ研究者 兼任
2014年 4月～ 東京理科大学 理工学部 応用生物科学科 教授
(現在に至る)

専門は分子腫瘍学。特にイギリスに留学以降、がん抑制機構としての「細胞老化」に着目した研究を行ってきた。最近では個体における細胞老化と細胞老化による炎症の分子メカニズムの解明に取り組み、肥満誘導性肝がんの発症を促進する癌微小環境に細胞老化と炎症が関与することを見出しNature誌に報告した。

Metabolic Information Highways

～個体レベルでの糖・脂質・エネルギー代謝調節機構～

Neuronal Information Highways for Systemic Regulation of Glucose, Lipid and Energy Metabolism

東北大学大学院医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野
片 桐 秀 樹



ヒトを初めとする多臓器生物においては、全身の各臓器・組織の糖・脂質・エネルギー代謝は、それぞれ個別・無関係に行われているのではなく、個体として効率よく一方向に導くべく、臓器間で密接に関連し協調して調節されているものと想定される。さらに、その破綻が、糖尿病や脂質異常症、さらには肥満症などの代謝疾患につながると考えられる。このような個体レベルでの代謝調節には臓器間での情報のやり取りが必須であると考えられるが、どのようにして各臓器が他臓器の代謝に関する情報を得、制御されているかについては、まだまだ不明なことが多い。

我々は、このような個体レベルでの代謝恒常性維持機構の解明を目指して研究を進め、臓器間の代謝情報のやり取りに、神経ネットワークが重要な役割を果たしていることを見出し、その例を複数発見している。具体的には

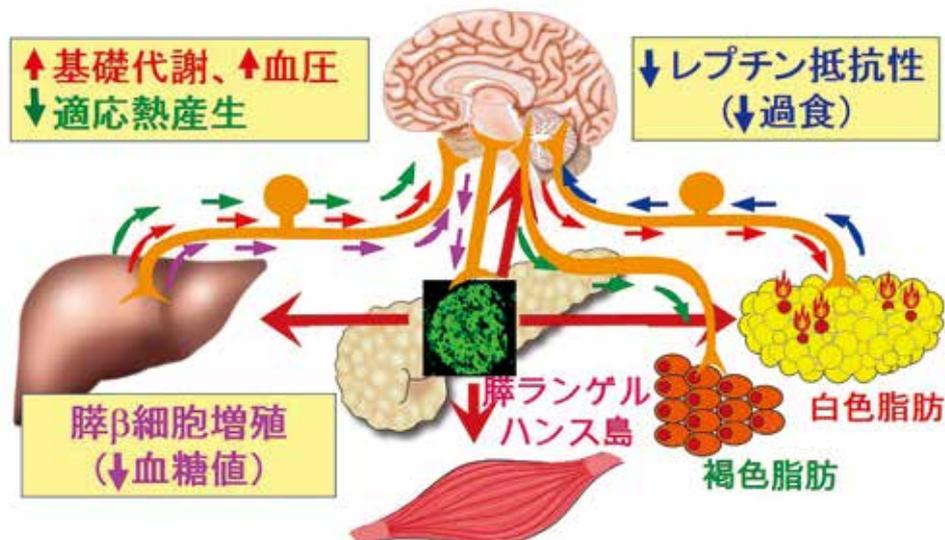
1) 脂肪組織から食欲を調節する求心性神経シグナル：脂肪組織にUCP1を発現させ、脂肪細胞でのエネルギー消費を亢進させると、視床下部におけるレプチン抵抗性が改善し、肥満時の過食が抑制された。この脂肪組織—視床下部連関には、脂肪組織からの求心性神経シグナルの関与が示された。

2) 脂肪蓄積状態に応じ、基礎代謝を調節する肝臓からの神経シグナル：肝でPPAR γ を発現させ、肝細胞内に脂肪を蓄積させると、基礎代謝が亢進し脂肪組織での脂肪分解が促進され、インスリン感受性や耐糖能が改善した。この臓器間の情報連絡には、迷走神経求心路および交感神経遠心路の神経ネットワークがかかわっていることが示された。さらに、この経路は、体重増加の際に認められる血圧上昇の機序となっていることが明らかとなった。

3) 肥満の際に膵 β 細胞の増殖を惹起する肝臓からの神経シグナル：肝において、ERK経路を活性化すると、膵 β 細胞が選択的に増殖を開始し、インスリン分泌の亢進が認められた。この臓器間の情報連絡には、内臓神経求心路および迷走神経遠心路の神経ネットワークが関わっていることが示された。さらに、この経路は、体重増加の際に認められる高インスリン血症の機序となっていることが明らかとなった。

4) 糖代謝亢進に応じ、基礎代謝を抑制する肝臓からの神経シグナル：肝でグルコキナーゼを発現させ、肝細胞内での糖代謝を促進すると、褐色脂肪組織における適応熱産生が抑制され、その結果、体重が増加することが認められた。この臓器間の情報連絡に

図. 個体レベルの代謝調節を司る臓器間神経ネットワーク機構



も、迷走神経求心路および交感神経遠心路の神経ネットワークが関わっていることが示された。この経路は、レプチンによる熱産生シグナルを遮断し、過栄養時に体重増加につながることを、さらに、このエネルギー備蓄経路は、マウス系統間の肥満になりやすさの違いに関与していることが明らかとなった。

5) アミノ酸代謝亢進に応じ、中性脂肪分解を抑制する肝臓からの神経シグナル：肝でアミノ酸輸送体を発現させ、肝細胞へのアミノ酸取り込みを促進すると、脂肪組織におけるリポタンパクリパーゼの発現が抑制され、その結果、食後の血中中性脂肪が上昇することが認められ、この臓器間の情報連絡にも、迷走神経求心路および交感神経遠心路の神経ネットワークが関わっていることが示された。この経路は、肥満の際の高中性脂肪血症発症に関与していることが明らかとなった。

このように、求心性神経シグナルを通じて、食欲・基礎代謝・ β 細胞量・エネルギー蓄積・脂質代謝など、末梢各臓器において状況に応じた代謝応答が誘導され、個体レベルでの恒常性維持につながっていることが明らかとなってきている(図)。

求心性神経シグナルの関与はとりもなおさず、中枢神経系の関与を意味する。つまり、脳は、神経経路という **Metabolic Information Highways** を通じて、随時、末梢組織での代謝状態を把握し、指揮者として、協調的な代謝調節を統御しているという図式が考えられ、今後ますます、代謝中枢としての脳の役割に注目が集まるものと考えられる。

さらに、これらの臓器間神経ネットワークシステムは、肥満の際の血圧上昇、高インスリン血症、脂質異常症、さらには肥満自体の促進といったメタボリック

シンドロームの諸病態にも関与していることが明らかとなりつつある。つまり、このような恒常性維持機構は、その破綻だけではなく、慢性的に持続する活性化が疾患発症につながることを、つまり、過栄養に対する防御反応の継続自体が代謝疾患発症の一因となっていることも明らかとなってきた。一方で、これらの臓器間神経ネットワークを制御することは、食欲・エネルギー消費・ β 細胞の再生などを調節することにつながる可能性を包含し、肥満や糖尿病、さらにはメタボリックシンドローム(高血圧・脂質異常症など)の治療にもつながる可能性が考えられる。

これらの知見を踏まえ、本講演では、神経による代謝情報の臓器連関機構を中心に、その生物学的意義や臨床応用の可能性について議論したい。

参 考 文 献

- 1) Yamada T et al. (2006) Signals from intra-abdominal fat modulate insulin and leptin sensitivity through different mechanisms: Neuronal involvement in food intake regulation. *Cell Metab* 3, 223-9.
- 2) Uno K et al. (2006) Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. *Science* 312, 1656-9.
- 3) Imai J et al. (2008) Regulation of pancreatic β cell mass by neuronal signals from the liver. *Science* 322: 1250-4.
- 4) Imai J et al. (2009) Eradication of insulin resistance. *The Lancet* 374: 264.
- 5) Tsukita S. et al. (2012) Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab* 16 (6): 825-32.

Profile

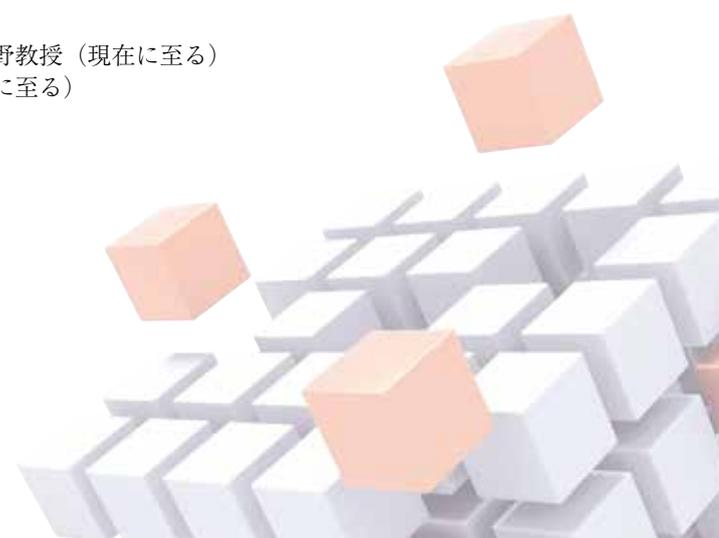
片桐 秀樹(かたぎり ひでき)

略歴

- 1987年 東京大学医学部医学科卒業
内科研修ののち1990年東京大学医学部第三内科医員
- 2001年 東北大学病院糖尿病代謝科医員・助手を経て、
- 2003年 東北大学大学院医学系研究科創生応用医学研究センター再生治療開発分野教授
- 2010年 東北大学大学院医学系研究科創生応用医学研究センター代謝疾患学分野教授、代謝疾患医学コアセンター長(現在に至る)
- 2012年 JST CREST研究代表(現在に至る)
- 2013年 東北大学大学院医学系研究科糖尿病代謝内科学分野教授(現在に至る)
- 2015年 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻長(現在に至る)

受賞歴

- 日本学術振興会賞
- 文部科学大臣表彰 科学技術賞
- 日本内科学会研究奨励賞
- 日本糖尿病学会賞(リリー賞)
- 日本内分泌学会研究奨励賞



自律神経・ペプチド連関を基軸とする エネルギー代謝と免疫制御機構の研究

Investigation of Energy Metabolism and Immune System based
on the Association with Autonomic Nerve and Peptides

宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野
中 里 雅 光



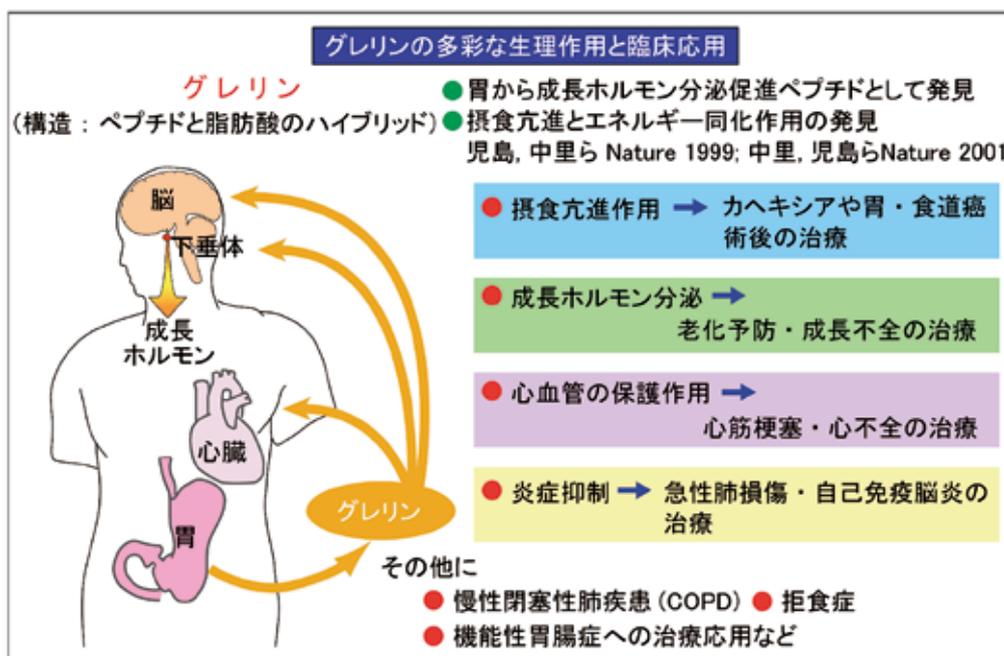
約110年前のセクレチンの発見により、ホルモン制御による臓器連関の概念が提唱されて以降、ペプチドは脳を含む全身の臓器間ネットワークの中心的制御物質であることが実証されてきた。

ペプチドは生体リズムのゆらぎや内部・外部環境の変化に対応して生体の動的恒常性を保ち、生命維持と種の保存に根源的な物質として作動している。演者らは、ペプチドがホルモンとして血中を介して遠隔臓器に作用するだけでなく、末梢臓器に分布する神経を介して脳へ情報を送り、再び脳から神経を介して末梢を制御すること、ならびに直接あるいは中枢を介して免疫系に作動することを見出し、ペプチドが内分泌、神経、免疫というホメオダイナミクスの中核を制御していることを明示している。細胞間、システム間、臓器間の連携による恒常性維持や負荷適応に作動する実質的な分子がペプチドである

新規のペプチドの発見は、未知の生体制御系の解明に加え、新たな診断法や治療薬の開発へと拡大発展する。ペプチドの受容体は種々の臓器の細胞膜表面や血

球細胞ならびに神経末端に発現し、多彩な作用を担っている。加えてペプチドは生合成や分泌、受容体との感受性を病態下で動的に変動させ、生命維持に機能している。さらにペプチドは血中を介して、神経を介して、あるいは隣接する細胞に直接に働くが、量や刺激条件などによりこれらの作用機序を多様に使い分けている。またペプチドは、日々の生活の中でも食事、運動、睡眠、ストレス、情動などの生活要因により変動するとともに、人為的と考えられていたこれらの生活習慣の選択にも重要な役割を果たしている。例えば、グレリンは摂食を増やすとともに、睡眠や脳内での正の報酬感を増やし、一方で運動やストレスを減らし、生体を静的状態に保つ。

ペプチドは生体内の動的変化を鋭敏に反映することから、病態診断マーカーとして有用である。また病態との関連解析は、治療薬としての適応疾患の決定に直接つながるといふ利点があり、しかも生体内物質であることから安定性が高く、薬剤としての実用化へのハードルが低い。実例として図にグレリンの多彩な作用を



応用した創薬開発を示している。

ペプチドは発生から加齢の時間軸の中で、動的恒常性を維持するためにその産生部位や量、作用部位が変容する。例えば、グレリンは28個のアミノ酸に中鎖脂肪酸が酵素により結合した（アシル化）ものだが、中鎖脂肪酸がない胎仔期にはペプチドのみのデスアシルグレリンが発現し、神経細胞や膵β細胞などの分化、増殖に作用している。出生後に中鎖脂肪酸が経口摂取されるとアシル化（脂肪酸結合）グレリンが産生され、摂食亢進や成長ホルモン分泌などの作用を発現する。一方、グレリンは加齢により胃での産生が低下し、高齢者のソマトポーズ（成長ホルモン分泌低下）の一因となっている。他のペプチドでもライフステージでの様々な変容が示されている。ペプチドの持つ多彩な作用は内分泌、神経、免疫の連関を介して、生体制御に機能している。

参 考 文 献

1) Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S.: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 409: 194-198 (2001)

2) Date Y, Shimbara T, Koda S, Toshinai K, Ida T, Murakami N, Miyazato M, Kokame K, Ishizuka Y, Ishida Y, Kageyama H, Shioda S, Kangawa K, Nakazato M.: Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the noradrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus. *Cell Metab*, 4: 323-331 (2006)

3) Yamaguchi H, Sasaki K, Satomi Y, Shimbara T, Kageyama H, Mondal MS, Toshinai K, Date Y, Gonzalez LJ, Shioda S, Takao T, Nakazato M, Minamino N.: Peptidomic identification and biological validation of neuroendocrine regulatory peptide-1 and -2. *J Biol Chem*, 282: 26354-26360 (2007)

4) Yanagi S, Kishimoto H, Kawahara K, Sasaki T, Sasaki M, Nishio M, Yajima N, Hamada K, Horie Y, Kubo H, Mak TW, Nakano T, Nakazato M, Suzuki A.: Pten controls lung morphogenesis, bronchioalveolar stem cells, and onset of lung adenocarcinomas. *J Clin Invest*, 117: 2929-2940 (2007)

5) Miyoshi K, Yanagi S, Kawahara K, Nishio M, Tsubouchi H, Imazu Y, Koshida R, Matsumoto N, Taguchi A, Yamashita S, Suzuki A, Nakazato M.: Epithelial Pten controls acute lung injury and fibrosis by regulating alveolar epithelial cell integrity. *Am J Respir Crit Care Med*, 187: 262-275 (2013)

Profile

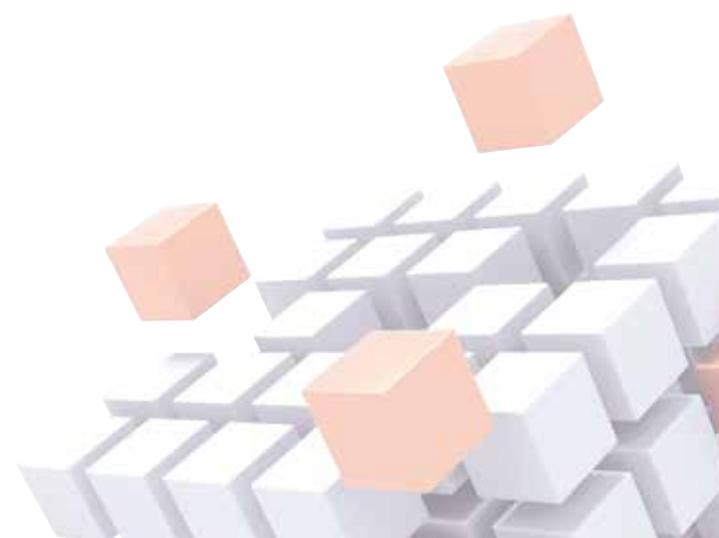
中里 雅光(なかざと まさみつ)

職歴

1980年 宮崎医科大学医学部卒業
1984年 宮崎医科大学医学部 大学院 医学研究科 修了
2003年 宮崎医科大学医学部 第三内科（現：宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野）教授。
2014年 JST-CREST代表（研究領域「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」）
宮崎大学医学部附属病院副院長，日本内分泌学会理事，日本肥満学会理事，日本神経内分泌学会理事，日本内分泌学会九州支部長。

受賞歴

1991年日本内科学会 奨励賞，1993年日本生化学会 奨励賞，2000年日本肥満学会 学会賞，2002年日本老年医学会最優秀論文賞，2004年 野口賞，2005年 宮崎日日新聞科学賞，2005年 宮崎県文化賞，2008年 日本医師会医学研究助成賞，2009年 武田科学振興財団 特定研究助成，2013年 杉田玄白賞



腸内細菌叢の癌と炎症における役割

The role of gut commensal bacteria in cancer and inflammation

金沢大学医薬保健研究域医学系 革新予防医科学

飯田 宗 穂

腸内細菌叢は細胞にして100兆個、遺伝子にして300万種類を含むと言われ、宿主であるヒトの細胞数、遺伝子数を凌駕することが分かっている。生活習慣や健康状態により腸内細菌叢が変化するのみならず、変化した細菌叢が疾患の原因となりうるという因果関係も証明されつつある。このような知見から、腸内細菌叢は宿主にとっての“第2のゲノム”を持つ“忘れられていた臓器”と表現されるようになった¹⁾。

腸内細菌叢は二つの側面から宿主に影響を与える。一つは代謝であり、腸内細菌叢の代謝活動の結果、肥満、糖代謝、動脈硬化、自閉症スペクトラム障害などの疾患はその発症、増悪において影響を受ける。もう一つの腸内細菌叢の能力は免疫・炎症を変化させることで宿主に影響を与えることである。腸内細菌叢による炎症・免疫の修飾の結果、アレルギー、炎症性腸疾患、多発性硬化症、関節リウマチ、そして癌が発症、増悪するという仮説が唱えられている。癌は、内部に炎症細胞を多数含む炎症組織である。発癌を促進する炎症細胞もあれば、癌を攻撃する抗癌免疫担当細胞も存在し、両者は癌の内部で拮抗を保っている（あるいは癌を促進する炎症細胞が優勢）と考えられている²⁾。腸内細菌叢が、癌内部の炎症環境をどのように修飾しているかはまだよく分かっておらず、その点を解明することを試みたので報告する。

(1) 抗腫瘍免疫を促進・抑制する腸内細菌の同定

抗菌薬飲用BL6マウスに皮下接種した大腸癌細胞株MC38腫瘍にオリゴヌクレオチドCpGを注入し人為的に抗腫瘍免疫を誘導した。腫瘍内発現サイトカインをreal-time PCRで解析しところ、抗菌薬飲用マウスでは腫瘍内の炎症性サイトカインTNFの発現が減少していた。TNF^{-/-}マウスはCpG注入後の腫瘍壊死が起こらずTNF

はこのモデルで抗腫瘍性に働いていた。次世代シーケンサにて便のメタゲノム解析を行い、抗腫瘍性サイトカインTNFと相関のある細菌を同定した。腫瘍内TNF発現と、便中細菌のメタゲノム解析の結果から、Alistipes属がTNF発現と正の、Lactobacillus属が負の相関を持つことが分かった。Alistipes shaiiを強制経口投与したマウスでは腫瘍内TNF発現が増加し、Lactobacillus fermentum投与ではTNF発現が減少した(図)³⁾。

大腸癌の発癌率が高い炎症性腸疾患患者において、これらの腸内細菌の存在を確認するため、クローン病4例と健常者7例の便中シーケンスデータをSRAから取得し抗腫瘍免疫促進性細菌の存在を探索した。2群のシーケンスデータから線形判別解析を行ったところ、24種類の細菌属・種に2群間の有意差が見られた(p<0.05)。そのうち、クローン病便でLactobacillus属の増加が確認された。このように抗腫瘍免疫反応をAlistipes属は増加させLactobacillus属は減少させた。クローン病患者便では抗腫瘍免疫を抑制し得るLactobacillus属の増加が見られた。

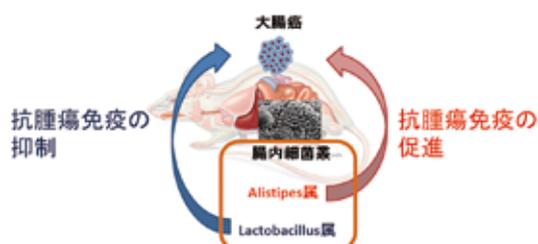
(2) 細胞障害性抗癌剤による化学療法の効果を腸内細菌叢が修飾する

無菌または抗菌薬飲用のC57BL6マウスにEL4リンパ腫腫瘍を皮下接種し、プラチナ系抗癌剤の抗腫瘍効果を通常飼育マウスと比較した。抗菌薬飲用または無菌マウスではプラチナ系抗癌剤の腫瘍縮小効果が弱く全生存期間が短縮した。プラチナ系薬剤は活性酸素発生を介して腫瘍細胞のアポトーシスを誘導すると言われている。抗菌薬飲用マウスではプラチナ系薬剤投与後の腫瘍内活性酸素発生が少なく(in vivo bioluminescence assay)、特に好中球やマクロファージからの活性酸素産生が減少していることが分かった(flow cytometry)(3)。

癌患者において抗菌薬が化学療法の効果に影響するかを確認するために、5FUとシスプラチン、IFNによる肝動注化学療法の臨床試験に参加した肝癌患者107例について、抗菌薬投与と無増悪生存の関連をKaplan-Meier法で後ろ向きに解析した。無増悪生存期間はカルバペネムなどの嫌気性菌を標的とする抗菌薬投与により短縮したが(中央値、抗嫌気性菌薬非投与群159日、投与群84日、P=0.018)、第3世代セフェムやニューキノロン系薬剤投与では影響を受けなかった。比例ハザードモデルにおける多変量解析においても抗嫌気性菌薬の投与が無増悪生存期間の短縮と有意に相関していた(P=0.031)。このようにマウスモデルと臨床試験の解析の結果から腸内細菌叢は抗癌剤の治療効果を修飾することが示された。

抗腫瘍免疫を修飾する腸内細菌

腸管内に存在するAlistipes属は抗腫瘍免疫を促進
Lactobacillus属は抗腫瘍免疫を抑制する



- 1) Clemente, J.C., Ursell, L.K., Parfrey, L.W., and Knight, R. 2012. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 148: 1258-1270.
- 2) Grivnenkov, S.I., Greten, F.R., and Karin, M. 2010. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 140: 883-899.
- 3) Iida, N., Dzutsev, A., Stewart, C.A., Smith, L., Bouladoux, N., Weingarten, R.A., Molina, D.A., Salcedo, R., Back, T., Cramer, S., et al. 2013. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 342: 967-970.

視床下部インスリン作用による 肝糖代謝調節

Regulation of hepatic glucose metabolism by hypothalamic-insulin action

金沢大学医薬保健研究域

脳・肝インターフェースメディシン研究センター 生体統御学部門

井 上 啓

中枢神経、特に視床下部は、液性因子・栄養素の血中レベル変化や他臓器からの求心性神経情報を感知し、個体のエネルギー代謝の恒常性を維持している。中枢神経によるエネルギー代謝制御は、摂食量の調節だけでなく、末梢臓器での熱産生や糖代謝の調節にも及ぶことが知られている¹⁾。中枢神経による末梢臓器のエネルギー代謝調節には、自律神経を介したメカニズムの重要性が指摘されているが、その分子メカニズムは必ずしも十分に明らかにされていない。また肥満など、インスリン抵抗性では、中枢神経による糖・エネルギー代謝制御が破綻することが明らかにされており、糖尿病などのエネルギー代謝異常の病理理解と新規治療法の探索に、中枢性エネルギー代謝制御の詳細なメカニズムの解明が必要であることを示している。

肝臓は、個体の糖代謝恒常性維持に、強烈な影響力を持つ臓器である。摂食時には、肝臓はグルコースを取り込み、また、空腹時にはグルコースを産生することにより、血糖の恒常性を維持している。2型糖尿病患者に見られる空腹時血糖の上昇は、肝糖産生の亢進と相関することが知られており、このことは、肝臓における糖産生の個体糖代謝恒常性維持における重要性を示唆している。肝糖代謝は、膵臓から分泌されるインスリン・グルカゴンによって制御されるが、視床下部を介したメカニズムによる調節を受けることも明らかにされている。食事摂取後に、インスリンやグルコース・アミノ酸の血中レベルの増加に伴い、視床下部は、迷走神経を介して、肝糖産生を抑制する。このような中枢神経性肝糖代謝調節のメカニズムは、特に、中枢神経インスリン作用による解明がなされてきた。ラット脳室内へのインスリン投

与により、肝糖産生は抑制され、視床下部弓状核インスリン受容体ノックダウンラットや中枢神経特異的インスリン受容体欠損マウスでは肝糖産生が増加する²⁾。一方で、迷走神経肝臓枝の切除により、脳室内インスリン投与による肝糖産生抑制が減弱する。視床下部において、インスリンはPI-3Kシグナル依存性にATP依存性Kチャネルを活性化することにより、肝糖産生調節作用を発揮することが明らかにされている。

肝糖産生はグリコーゲンの分解と糖新生から成るが、視床下部インスリン作用による肝糖産生抑制は、主に糖新生の減少に起因している。肝糖新生は、glucose-6-phosphatase (G6Pase) などの糖新生系酵素の遺伝子発現調節によって制御されるが、脳室や視床下部へのインスリン投与に伴い、糖新生系酵素の遺伝子発現は減少することが報告されている。視床下部インスリン作用は、肝臓において転写因子STAT3を活性化することにより、肝糖産生を抑制する³⁾。STAT3は、IL-6などに活性化される転写因子であり、G6Pase遺伝子では、プロモーター領域に結合することで遺伝子転写を抑制する。実際に、肝臓特異的なSTAT3欠損は、肝糖新生系酵素遺伝子発現の増加とともにインスリン抵抗性を呈し、高脂肪食負荷に伴い耐糖能異常を発症する⁴⁾。我々は、中枢神経インスリン作用が、迷走神経を介し、肝臓クッパー細胞でのIL-6発現を増強することによって、肝細胞STAT3活性化・肝糖新生系酵素遺伝子発現減少を誘導するというメカニズムを明らかにしている(図)。脳室内へのインスリン投与により、肝臓STAT3が活性化され、肝糖新生系酵素の遺伝子発現が減少するが、迷走神経肝臓枝切除・クッパー細胞除去・IL-6欠損・肝臓特異的STAT3欠損では、中枢神経インスリン作用による肝糖新生系酵素遺伝子発現抑制が障害される。

インスリン以外にも、レプチンなど様々なホルモンや代謝物が中枢神経に作用し、肝臓の糖代謝を制御することが明らかにされつつある。最近では、血中ヒスタジンレベルの増加が、視床下部ヒスタミン作用の亢進により、肝糖産生を減少させることも見出している⁵⁾。中枢神経インスリン受容体欠損マウスはインスリン抵抗性を呈することが示すように、中枢神経と末梢臓器のクロストークが、エネルギー代謝異常の発症と密接に関連している。中枢神経インスリン作用における肝糖産生調節に寄与するニューロンやその制御メカニズムなどが明らかにされつつあるが、自律神経や末梢臓器の制御メカニズムについては未だ解明がなされておらず、今後の検討が期待される。

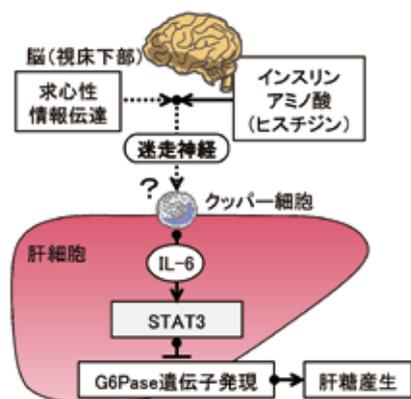


図. 中枢神経作用が、迷走神経・クッパー細胞を介し、IL-6/STAT3経路を活性化することで、肝糖産生を抑制する。中枢神経・肝臓クロストークにおける迷走神経・クッパー細胞制御の分子メカニズムについては未だ明らかにはされていない

- 1) Inoue, H. Molecular basis of brain-mediated regulation of hepatic glucose metabolism. *Diabetology International* 5, 158-164 (2014).
- 2) Obici, S., Zhang, B.B., Karkanias, G. & Rossetti, L. Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nat Med* 8, 1376-1382 (2002).
- 3) Inoue, H., et al. Role of hepatic STAT3 in brain-insulin action on hepatic glucose production. *Cell Metab* 3, 267-275 (2006).
- 4) Inoue, H., et al. Role of STAT-3 in regulation of hepatic gluconeogenic genes and carbohydrate metabolism in vivo. *Nat Med* 10, 168-174 (2004).
- 5) Kimura, K., et al. Histidine augments the suppression of hepatic glucose production by central insulin action. *Diabetes* 62, 2266-2277 (2013).



MEMO