

課題番号 : 29指2006

研究課題名 : インスリン作用低下による腸内細菌叢変化と糖尿病NASH肝癌発症メカニズムの解明

主任研究者名 : 植木浩二郎

分担研究者名 : 榎奥健一郎

キーワード : 糖尿病、NASH 肝癌、腸内細菌、インスリン作用

研究成果 :

糖尿病の治療の目標は、糖尿病症状を除くことはもとより、糖尿病に特徴的な合併症、糖尿病に併発しやすい合併症の発症、増悪を防ぎ、健康な人と同様な日常生活の質 (QOL) を保ち、健康な人と変わらない寿命を全うすることにある。

糖尿病患者の QOL や寿命を損なう慢性合併症として、糖尿病患者では細小血管障害 (網膜症、腎症、神経障害)、大血管障害 (冠動脈疾患、脳卒中、末梢動脈疾患) のリスクが高いことが広く知られていたが、最近の疫学研究により糖尿病患者では癌リスクも高くなっていることが明らかになり、中でも肝臓癌のリスクは比較的顕著に上昇していることが明らかになった¹⁾。

そもそも正常な肝臓は血糖調節を行う主要な臓器のひとつであり、いわゆるメタボリックシンドロームのような過栄養状態で脂肪蓄積をきたすと (脂肪肝)、糖尿病の発症リスクが高まる。また、脂肪肝の患者の一部では、肝臓に線維化をきたし (非アルコール性脂肪性肝炎: nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬変、肝発癌をきたすことが知られている。

このように糖尿病と NASH 肝癌は共通の基盤的病態のもとで発症している可能性があり、実際に多くの NASH 肝癌の患者は糖尿病を合併している。糖尿病は肝臓などの標的臓器におけるインスリン作用不足による高血糖を主徴とするが、糖尿病状態における血中インスリン濃度や血糖値の変化がどのように NASH 肝癌の発症に影響するか、その詳細は明らかにされていない。

我々はこれらを明らかにし、糖尿病合併脂肪肝や糖尿病合併 NASH の患者の治療法選択や、糖尿病合併 NASH 肝癌の新しい治療法や予防法の開発に役立てることを目標にしている。

今回、糖尿病合併 NASH 肝癌のモデルとして選択したのは出生直後に少量のストレプトゾトシン (STZ) を投与し、離乳時から高脂肪食を給餌して得られるマウスで、以下 S-HFD マウスと呼ぶ。S-HFD は糖尿病を発症し、肝臓では脂肪蓄積、線維化を経て 16 週齢ではほぼ全て肝発癌する。

S-HFD マウスに対してインスリンまたはフロリジンを投与し、同等に高血糖を改善すると、対照群が発癌する週齢において、発癌率を統計学的に有意に抑制したのはインスリン群のみであった。インスリンは一般には細胞増殖を促進する作用もあると考えられており、当初は血中インスリン濃度を上昇させずに高血糖を改善するフロリジンこそが発癌抑制には有利であると考えたが、この実験結果が示唆するのは、このマウスモデルにおいて多臓器にインスリン作用を補充することが結果的に肝発癌を抑制し得るということであった。

このモデルマウスにおいてインスリンがどのように肝発癌を抑制したのかを明らかにするため、肝臓非癌部において網羅的代謝物解析 (メタボローム解析、LC/MS) を行った。また、腸内細菌の組成について解析すると S-HFD マウスに対照マウスと異なる特徴を有しており、インスリン群でその変化が緩和されていた。実際、抗菌剤で S-HFD マウスを処置すると肝発癌が抑制されることから、腸内細菌叢の異常がこのモデルで病態メカニズムの少なくとも一部を担っていることが明らかになった。

以上のことから、インスリン作用の低下による腸内細菌叢の変化が糖尿病合併 NASH 肝癌の発症に関連している可能性が示唆され、ヒト検体も含めてさらに解析をすすめている。

1. Kasuga M, Ueki K, *et. al.* Report of the Japan Diabetes Society/Japanese Cancer Association Joint Committee on Diabetes and Cancer. *Cancer Sci.* 2013 Jul;104(7):965-76.

Subject No. : 29 指 2006

Title : Decreased Insulin Action Causes Gut Dysbiosis and NASH-HCC in Diabetes

Researchers : Kohjiro Ueki, Kenichiro Enooku

Key word : Diabetes, NASH-HCC, Gut microbiota, Insulin action

Abstract :

The goal of treatment of diabetes is not only to prevent hyperglycemic symptoms but to suppress diabetes-related diseases or diabetic complications, which contribute to maintaining quality of life (QOL) of patients with diabetes as healthy people, and to fulfill their lives. It has been widely known that the risk of microangiopathy (retinopathy, nephropathy, neuropathy) and macroangiopathy (coronary artery disease, cerebrovascular disease, peripheral artery disease) increases in patients with diabetes. Furthermore, recent epidemiological study revealed that the cancer risk is also elevated in those people, and liver cancer shows the highest risk ¹. However, little is known about the mechanism how diabetes increases the risk of liver cancer. The aim of this study is to reveal the mechanism of diabetes-related liver cancer and to develop an effective treatment strategy.

In this study, we used diabetic NASH-HCC model mice, known as STAM® mice. These mice are produced by chemical (small amount of streptozotocin) and dietary (high fat diet) interventions in C57BL/6 mice. STAM® mice develop manifest NASH at 8 weeks, which progresses to fibrosis at 12 weeks, and eventually develop HCC at a rate of nearly 100% in males.

To elucidate the role of plasma glucose and insulin levels in this model, STAM® mice were treated with insulin or phlorizin, reaching the almost same glycemic control. Treatment with phlorizin improves glycemic level without increasing insulin level by promoting urinary glucose excretion. At 16 weeks of age, the tumor related parameters (tumor free rate, maximum diameter) were ameliorated in insulin treated group. On the other hand, phlorizin treatment did not significantly improve these parameters. These data are somewhat contradictory to the fact that that insulin has not only glucose lowering effect but also cell proliferation effect theoretically. To elucidate the mechanism how insulin action prevented tumor development, studies are now underway. For instance, antibiotics treatment prevented tumor development in STAM® mice.

These data suggest decrease of insulin action causes gut dysbiosis which leads NASH-HCC in diabetes, and we continue to elucidate the detailed mechanism with mice and human samples.

1. Kasuga M, Ueki K, et. al. Report of the Japan Diabetes Society/Japanese Cancer Association Joint Committee on Diabetes and Cancer. *Cancer Sci.* 2013 Jul;104(7):965-76.

課題番号：29指2006

課題名：インスリン作用低下による腸内細菌叢変化と糖尿病NASH肝癌発症メカニズムの解明

主任研究者： 植木浩二郎

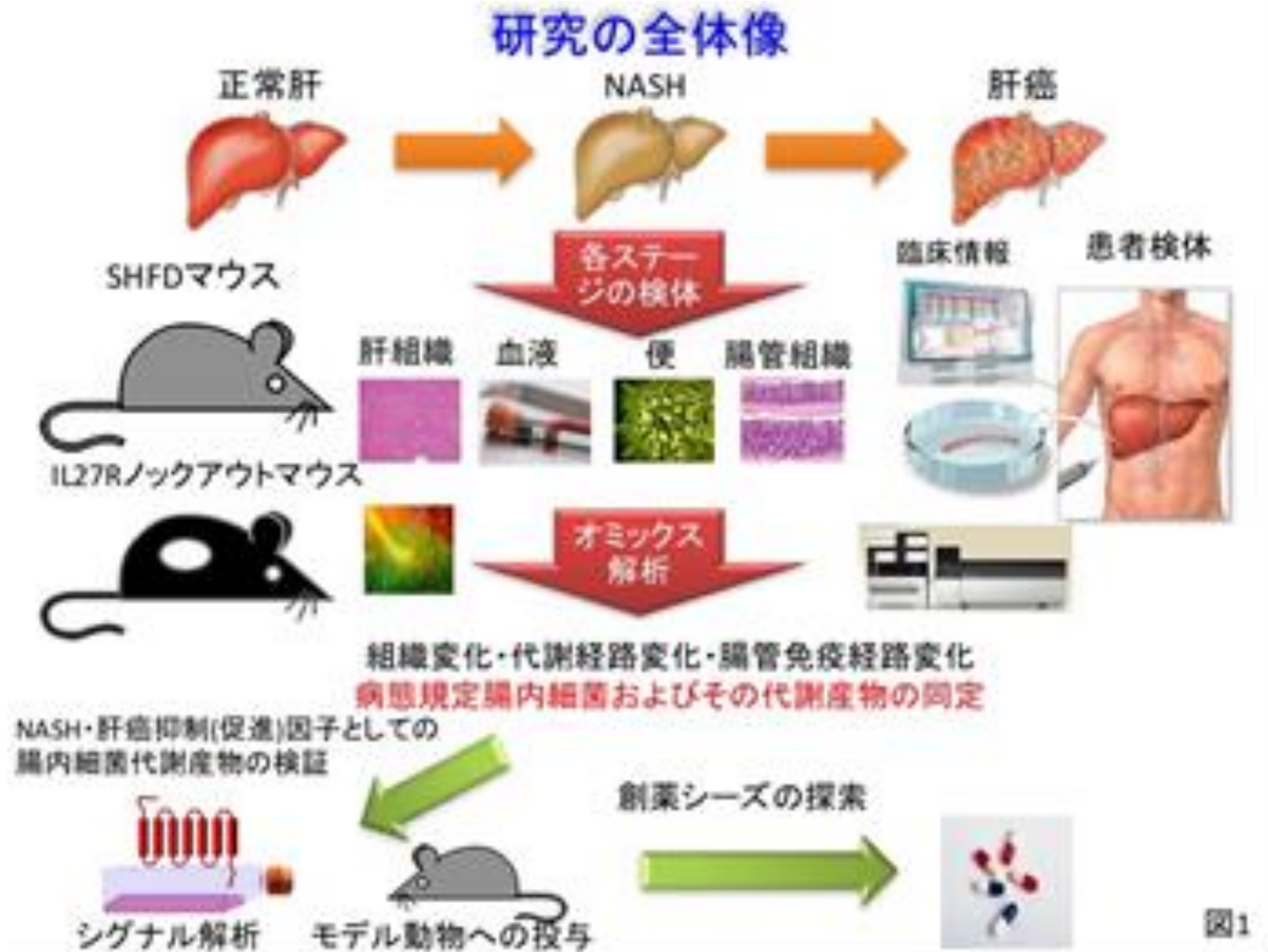
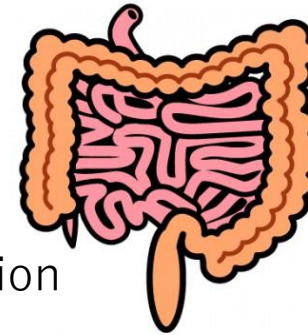


図1

Development of NASH associated liver cancer in the patients with diabetes

Decreased insulin action



Impaired barrier function



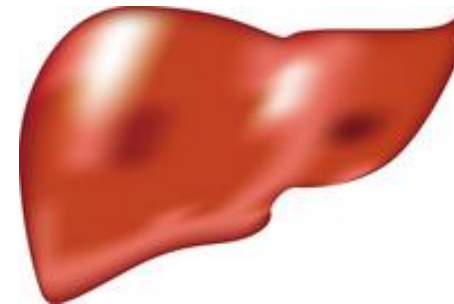
Dysbiosis



Changes in bile acids



Inflammation
Carcinogenic changes



課題番号 : 29指2006

研究課題名 : インスリン作用低下による腸内細菌叢変化と糖尿病NASH肝癌発症メカニズムの解明

分担研究者名 : 榎奥健一郎

(主任研究者名 : 植木浩二郎)

キーワード : 糖尿病、NASH 肝癌、腸内細菌、インスリン作用

研究成果 :

本研究は日本人の糖尿病合併 NASH において、特に腸内細菌に着目して発癌を抑止する治療開発を意図する。また、癌に関与する因子を見だし、効率的にハイリスク症例の囲い込む方法を開発する。

主任研究者が動物モデルにおいて示したように STAM マウスにおいてはインスリン作用が腸管免疫の維持にはたらき、肝発癌を抑制する可能性があるが、実際に日本人の糖尿病合併 NASH 患者において病態や治療に伴い、各種指標がどのように変化するかは不明である。我が国に特徴的な非肥満または軽度肥満の糖尿病患者における NASH および NASH 肝癌のメカニズムの解明と治療法開発、および糖尿病治療の最適化戦略の探索は、NAFLD/NASH を合併した糖尿病の診療において強く望まれている。

現在、東京大学医学部附属病院消化器内科に通院中の NAFLD および NASH が疑われる患者のうち、病勢が増悪傾向の患者に対して背景肝生検を行ない、病態の把握と肝炎の治療に役立てている。そして背景肝生検の際に得られる患者の肝生検検体の一部を冷凍保存し、各種タンパクの発現状況や脂質組成の解析を行なっている。同時に血液および糞便も採取し、解析している。これらの患者の多くは糖尿病ないしは耐糖能異常も合併しており、血液中の一次・二次胆汁酸の組成が血糖コントロール・インスリン分泌能および血糖降下薬使用状況とどのように関連しているかを解析する。また、これらのヒト検体に対してオミックス解析も行い、組織変化、代謝経路変化、腸管免疫経路変化、病態規定腸内細菌とその代謝産物に注目し、モデル動物との共通点を見出す。生検時に肝癌を発症している症例および外来経過観察中に肝癌を発症した症例について、発癌に関与する因子を見だし、効率的にハイリスク症例を囲い込む方法を開発する。糖尿病合併 NAFLD/NASH およびそれらの肝癌発癌に対して病態の全貌の解明と新規治療法開発および糖尿病治療の最適化戦略の策定を得られる可能性がある。また、NAFLD/NASH 患者のうち発癌リスクが高い症例を効率的に囲い込む新たな方法を開発できる可能性もある。

これまでに 450 名の NAFLD/NASH 患者に対して背景肝生検を行ない、肝生検検体・血液などを解析した。高インスリン血症の有無と発癌についての Cross sectional study では、肝癌発症症例で高インスリン血症が多かったが、肝臓のどのような所見(病理像、遺伝子発現など)が高インスリン血症と関連しているのか検討している。Cohort study として、肝生検後にどのような症例が肝癌を発症するのかを現在追跡調査中である。

腸内細菌叢については、生検時の血液中の胆汁酸分画組成と糞便の解析を行い、胆汁酸組成が肝臓における遺伝子発現にどのように影響しているのかを検討している。また、体重・体脂肪率や血糖降下薬使用状況の変化が胆汁酸分画の組成にどのように影響を与えるのかを明らかにするために、外来採血時の残余検体を確保保存している。

発癌解析については、肝生検を行なった NAFLD/NASH 患者に対して定期的な採血と画像検査(CT、腹部超音波検査)を行い、肝癌の発癌の有無を調べている。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：29指2006

研究課題名：インスリン作用低下による腸内細菌叢変化と糖尿病NASH肝癌発症メカニズムの解明

主任研究者名：植木浩二郎

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Hepatocellular carcinoma as a leading cause of cancer-related deaths in Japanese type 2 diabetes mellitus patients.	Shima T, Uto H, Ueki K, Tateishi R, Okanoue T, et. al.	J Gastroenterol.	doi: 10.1007/s00535-018-1494-7. [Epub ahead of print]	2018年
The RNA Methyltransferase Complex of WTAP, METTL3, and METTL14 Regulates Mitotic Clonal Expansion in Adipogenesis.	Kobayashi M, Awazawa M, Kadowaki T, Ueki K, et. al.	Mol Cell Biol.	30:38(16). pii: e00116-18.	2018年
J-DOIT3 Study Group. Effect of an intensified multifactorial intervention on cardiovascular outcomes and mortality in type 2 diabetes (J-DOIT3): an open-label, randomised controlled trial.	Ueki K, Sasako T, Okazaki Y, Noda M, Kadowaki T, et. al.	Lancet Diabetes Endocrinol.	5(12):951-964.	2017年
Downregulation of macrophage Irs2 by hyperinsulinemia impairs IL-4-induced M2a-subtype macrophage activation in obesity	Kubota, T. Inoue, M. Kubota, N. Takamoto, I. Mineyama, T. Iwayama, K. Tokuyama, K. Moroi, M. Ueki, K. Yamauchi, T. Kadowaki, T.	Nat Commun	9 (1) 4863	2018年
Hepatic IRS1 and β -catenin expression is associated with histological progression and overt diabetes emergence in NAFLD patients.	nooku K, Tateishi R, Kadowaki T, Ueki K, Moriya K, Fukayama M, Koike K, et. al.	J Gastroenterol.	doi: 10.1007/s00535-018-1472-0. [Epub ahead of print]	2018年

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
糖尿病合併非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) における血糖とインスリンによる肝細胞癌発症機序の解明	添田光太郎、植木浩二郎、ほか	第5回肝臓と糖尿病・代謝研究会	米子	2018年7月
NASH患者における肝内IRS1と β -cateninの発現低下と病態における意義	榎奥健一郎、ほか	第5回肝臓と糖尿病・代謝研究会	米子	2018年7月
Role of Insulin Action in Liver and Gut for the Development of NASH-Associated Cancer	植木浩二郎	SICEM 2018	ソウル	2018年4月
分子基盤に基づいた2型糖尿病治療法の開発と大規模臨床研究による検証	植木浩二郎	第33回日本糖尿病合併症学会	東京	2018年10月

研究発表及び特許取得報告について

マクロファージは摂食時の腸内細菌由来LPSシグナルに反応し、Akt-mTORを介したIL-10発現により肝糖新生を抑制する	戸田郷太郎、植木浩二郎、ほか	第5回肝臓と糖尿病・代謝研究会	米子	2018年7月
---	----------------	-----------------	----	---------

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。