

Oncoprotective effects of short chain fatty acids on uterine cervical neoplasia

著者	松家 まどか
発行年	2019-03-13
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003557

博士（医学） 松家 まどか

論文題目

Oncoprotective effects of short chain fatty acids on uterine cervical neoplasia

（子宮頸がんに対する短鎖脂肪酸の抗腫瘍効果）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

食物の経口摂取は、生命維持としてのエネルギー源のみならずヒトの健康と密接に結びついている。特に、健康増進に有益な効果を誘導する食品成分として、オリゴ糖や非消化性食物繊維に代表されるプレバイオティクスが注目されている。プレバイオティクスは上部消化管で消化・吸収されずに下部消化管（大腸）へ到達し、その多くが大腸内で発酵されることにより基質として働き、有益な腸内細菌を増殖させ、短鎖脂肪酸の産生を誘導する。また、腸内細菌叢のバランスを整え、抗酸化作用、インスリン抵抗性や脂質異常に対する抑制的に働くと言われている。短鎖脂肪酸とは、主に酢酸、酪酸、プロピオン酸を含む有機酸を示し、従来生体のエネルギー源として認識されていた。しかし、近年の研究で短鎖脂肪酸が細胞膜に存在する G タンパク質共役受容体の GPR43 と GPR41 (FFAR2 と FFAR3 と呼ばれる)ヘリガンドとして結合することにより、細胞内のエネルギーチェック機構として代謝経路の恒常性を維持する作用に寄与することが解明された。また、短鎖脂肪酸は、FFAR2 を介して大腸炎や代謝疾患に対する炎症反応を制御することが示されている。近年、一部の悪性腫瘍に対し抗腫瘍作用を持つ可能性が注目されているが、子宮頸がんに対しての作用は明らかとされていない。そこで、本研究は、短鎖脂肪酸およびその受容体 FFAR2 が、子宮頸がんに対して抗腫瘍作用を持つ可能性を想定し、子宮頸部組織より FFAR2 の発現と分布を評価し、子宮頸がん由来の細胞培養を用いて腫瘍細胞の増殖へ及ぼす影響を検討した。

〔材料ならびに方法〕

ヒト組織と情報を用いた研究については浜松医科大学臨床研究倫理委員会の承認を得た（承認番号 15-309）。2012 年 4 月から 2017 年 8 月までに当院で子宮頸部上皮内新生物、子宮頸がんを診断し、治療した患者の組織を用いた。パラフィンブロックとして保存され、ヘマトキシリン・エオジン染色されたスライドガラスを評価し、抗 FFAR2 抗体を用いて免疫組織染色を行った。染色された強度と分布は、Allred スコアを用いてスコア化した。また、遺伝子発現を逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR 法)により評価した。培養細胞実験として、短鎖脂肪酸を子宮頸がん由来の HeLa 細胞に添加し MTT アッセイを用いて増殖抑制効果を検証した。さらに、FFAR2 アンタゴニスト GLPG0974 を用いて増殖抑制作用における短鎖脂肪酸の特異性を検証し、セカンドメッセンジャーである

サイクリック AMP の発現量を測定して FFAR2 の生理活性を評価した。

[結果]

子宮頸部組織における FFAR2 のタンパク質発現は、正常組織上皮の傍基底細胞に、子宮頸部上皮内新生物では異型細胞に、子宮頸がん組織ではがん細胞に発現を認めた。さらに、正常組織と上皮内新生物とで染色された細胞では核に、がん細胞では細胞質に局在を認めた。非特異的染色を否定するために吸収試験を行い、それぞれの染色部位がすべて消失することを確認した。また、子宮頸がん細胞株の HeLa 細胞では細胞質に局在した。RT-PCR 法では、FFAR2 mRNA を正常組織、がん組織、HeLa 細胞のすべてで発現を確認した。短鎖脂肪酸の添加により、HeLa 細胞の増殖は、添加濃度依存性、添加時間依存性に抑制効果を認めた。また、FFAR2 アンタゴニスト GLPG0974 を作用させた HeLa 細胞に対し、GLPG0974 の濃度依存性に酢酸添加による細胞増殖抑制作用を阻害した。また、酢酸添加により FFAR2 のセカンドメッセンジャーであるサイクリック AMP の産生が有意に減少した。

[考察]

子宮頸がん短鎖脂肪酸受容体である FFAR2 が発現することが明らかとなった。FFAR2 は短鎖脂肪酸をリガンドとするエネルギーセンサーであり、 $G\alpha_{i0}$ 経路による抑制作用と、 $G\alpha_{q11}$ 経路による増強作用とのバランスをとることによりサイクリック AMP 産生を制御して、細胞の増殖などの恒常性の維持に寄与する。短鎖脂肪酸処理により HeLa 細胞の増殖は抑制され、FFAR2 の特異的アンタゴニストである GLPG0974 処理によりその増殖抑制作用を阻害したことから、短鎖脂肪酸が FFAR2 を介して抗腫瘍効果を示す可能性が証明された。また、酢酸添加は HeLa 細胞中のサイクリック AMP レベルを減少させ、 $G\alpha_{i0}$ 経路が優勢であることを示した。過去の文献は数少ないが、結腸がん細胞、MCF7 乳がん細胞、BaF3 白血病細胞で同様の腫瘍増殖の抑制効果が報告されている。興味深いことに、FFAR2 の細胞内局在部位は、正常上皮の傍基底細胞の核、子宮頸部異形成では異型細胞の核、子宮頸がんでは細胞質に認められた。すなわち、子宮頸がんの進行プロセスにおいて細胞内の局在が変化し、異なる役割を果たしている可能性が明らかとなった。

一方、食物繊維などとして摂取されたプレバイオティクスは 1 日 10g を摂取すると大腸がんの発生リスクを減少させると報告されている。今後、これらの結果及び示唆所見が確立すれば、病理学的な診断マーカーとしてだけでなく、プレバイオティクスを摂取することが上皮内がんに対する予防や子宮頸がんに対する補完的な低侵襲治療として貢献できる可能性が期待される。

[結論]

我々は、FFAR2 が子宮頸がん発現を認めることを証明した。また、短鎖脂肪酸は FFAR2 を介して、HeLa 細胞に対する細胞増殖抑制作用を有した。これらの

知見は、プレバイオティクスの摂取および短鎖脂肪酸の産生が、**FFAR2** を介した子宮頸がんに対して抗腫瘍効果を果たす可能性があることを示唆する。