

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07098

研究課題名（和文）漢方医薬学と数理情報科学の融合による未病の科学的予測に基づく新規炎症性疾患治療

研究課題名（英文）Novel Inflammatory Disease Treatment Based on Scientific Prediction of Mebyo by Integrating Kampo Medicine and Mathematical Informatics

研究代表者

門脇 真（Kadowaki, Makoto）

富山大学・学術研究部教育研究推進系・特別研究教授

研究者番号：20305709

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：炎症性腸疾患は寛解と再燃を繰り返す難治性の慢性炎症疾患であるが、その病態生理学的機序は不明である。そこで、状態遷移の臨界点での「生物学的ゆらぎ」を捉える動的ネットワークバイオマーカー（DNB）解析を用いて検討した。DSS大腸炎モデルで経日的に大腸を摘出し網羅的全遺伝子発現解析を行った、その結果、大腸炎の症状は5日目以降で顕著に現れたが、網羅的全遺伝子発現データのDNB解析により、3日目に多くの遺伝子が相関して大きくゆらぎ、未病状態を検出した。さらに、数理学的重要度ランキングを行い、マスト細胞マーカーが最上位に位置し、マスト細胞が大腸炎の未病状態を規定する因子である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、IBDモデルを用いてDNB解析により未病状態を検出して、さらにDNB遺伝子群の病態生理学的意義を解明し、適切なタイミングで適切な漢方薬を利活用して最適な薬剤介入を行う新たなIBD治療戦略の構築を目的としている。本研究の結果、これまで病態への関与があまり報告されてきていないマスト細胞が、IBDの未病状態で大きな役割を果たしている可能性を見出した。また、未病状態での薬剤介入に漢方薬が有用である可能性を見出した。この様に、未病状態での薬剤介入により健康状態へ戻す根本的治療薬の創製は、従来の病態を制御する創薬研究とは一線を画すものであり、創薬スキームのパラダイムシフトを提起するものである。

研究成果の概要（英文）：Inflammatory bowel disease (IBD) is an intractable chronic inflammatory disease with repeated remissions and relapses, but its pathophysiological mechanisms are unknown. In this study, we used dynamic network biomarker (DNB) analysis, which captures "biological fluctuations" at the critical point of state transition, to investigate the pathophysiology of inflammatory bowel disease (IBD). In the DSS colitis model, the colon was removed in time series and transcriptome analysis was performed. The results showed that the symptoms of colitis were remarkable after the 5th day, but DNB analysis of transcriptome profiling data revealed Mebyo, with many genes highly correlated and highly fluctuating on the 3rd day. Furthermore, a mathematical importance ranking was performed, and mast cell markers ranked highest, suggesting that mast cells may be a factor defining the unaffected state of colitis.

研究分野：消化管病態生理学

キーワード：炎症性腸疾患 DNB解析 未病 漢方薬 マスト細胞 神経新生 NO神経

1. 研究開始当初の背景

近年、予防医療、先制医療の重要性が認識されてきてはいるが、今日までの実臨床現場では、既に発症した疾病状態への薬剤介入により、病態や症状を制御する対症療法に主眼が置かれているのが現状である。その大きな理由として、予防医療、先制医療での薬剤介入の最適なタイミングを科学的に設定できない事、それに加え、その介入を目的にして創られた薬剤が殆どない事である。この様な対症療法に対し、健康状態への回帰という可逆性が残されている未病状態での薬剤介入は根本的治療となる可能性が高いと考えられる。

従って、未病状態を科学的に予測して、これまでの創薬標的ではない「未病状態から疾病状態への疾病誘発因子等」を創薬標的とする全く新しい創薬コンセプトを確立しなければ、健康状態に戻すという根本的な治療を目指す事は出来ない。

数理科学の第一人者であり研究協力者である東京大学の合原一幸特別教授らは、「人間の心身の状態は健康と病気の間を『ゆらぎ』ながら連続的に変化するため、新たな数理的解析手法 動的ネットワークバイオマーカー (Dynamical Network Biomarker: DNB) 解析によりその『ゆらぎ』を捉え、『ゆらぎ』が最大化するポイントが疾病前状態、すなわち未病状態である」とし、発症前状態、すなわち東洋医学の概念でしかなかった「未病」を、数理科学の手法を用いて科学的に客観的に予測し、そのタイミングで医療介入を行えば健康状態に戻す事も可能となるとの仮説を提示した (Aihara K et al., Sci Rep. 2012; Chen L et al., Nature Commun. 2018)。研究代表者は合原特別教授との共同研究により、メタボリックシンドローム (メタボ) モデルマウス等での DNB 理論の実証研究を試み、その結果、『ゆらぎ』が最大化するポイントが未病状態であり、健康状態に回帰させるための薬剤介入の最も適切なタイミングである事を明らかにした。

近年患者が急増している炎症性腸疾患 (IBD) は、その発症年齢のピークが 20 歳代である事、寛解と再燃を繰り返す事から、長期にわたる薬物治療が必要である。IBD の第一の治療目標は、急性炎症症状を抑制して速やかに寛解導入を図る事であり、その後なるべく長期間、寛解を維持する事を次の目標としている。これまでのほぼ全ての IBD 治療薬開発は過剰な炎症を抑制して寛解に導く事を目的に行われてきており、今日では、強力な生物学的製剤や免疫抑制剤等により一時的な寛解導入はほぼ可能となっている。従って、現在の治療的課題は「長期寛解維持」に移っているが、再燃の予防または寛解の維持を目的とした治療薬の選択肢は少なく、これまでは盲目的に急性炎症抑制薬の少量を継続的に服用させて長期寛解維持を図っているが、多くの症例で再燃の回避が困難となっている。疾病状態での介入を目的に創薬標的、治療標的を設定して創られてきた既存の薬剤を、治療目的、治療標的が全く異なる未病状態での予防医療、先制医療に用いても、当然ながらその効果は限定的であり、長期寛解維持を可能とする有用な新規治療薬の創出が強く求められている。

従って、未病状態から未病遺伝子群の病態生理学的意義を解明する事は、未病創薬標的を見出すことに繋がると考え、研究を行った。

2. 研究の目的

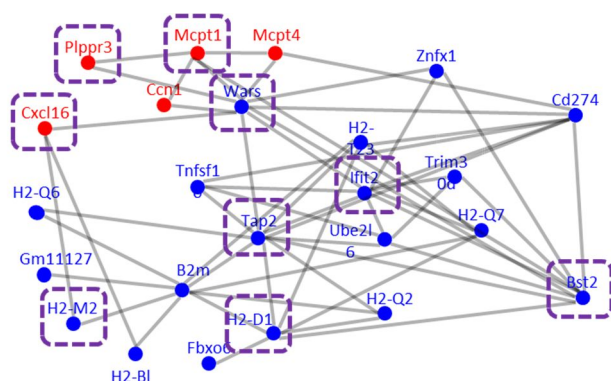
IBD モデルマウスを用いて、再燃の予測を目標とした DNB 解析により未病状態を検出して、さらに DNB 遺伝子群の病態生理学的意義を解明し、適切なタイミングで適切な漢方薬等を利活用して最適な薬剤介入を行う新たな IBD 治療戦略の構築を目的とする。発症を予測して健康状態へ戻す新規根本的治療薬の創製は、従来の病態を制御する創薬研究とは一線を画すものであり創薬スキームのパラダイムシフトを提起するものである。

3. 研究の方法

急性大腸炎モデルは、雄性 C 57BL/6 マウスに 3% デキストラン硫酸ナトリウム (DSS : 36-50 kDa) 溶液を 7 日間自由飲水させて作製した。体重及び大腸炎の症状の経日的な変化を観察した。DSS 飲水前、1 日後、3 日後、5 日後、最終日である 7 日後にマウスより結腸を摘出し網羅的に全遺伝子発現を測定し、発現データの DNB 解析を行った。その結果、DNB 解析により、発症前の 3 日目に 27 個の遺伝子 (DNB 遺伝子) 群が相関して大きくゆらぎ、発症前である未病のタイミングが 3 日目にある事が分かった。そこで、DNB 遺伝子群の病態生理学的意義を検討した。

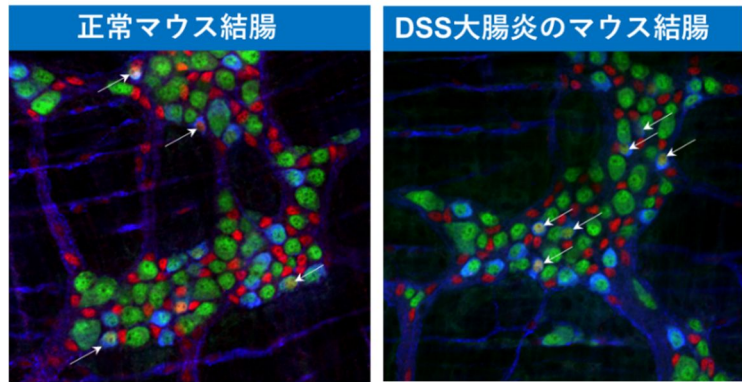
4. 研究成果

DNB 解析で得られた DNB 遺伝子群は、IBD で発現が亢進する事が知られている遺伝子群とは大きく異なっていた。そこで、DNB 遺伝子群の病態生理学的特徴や役割を解明するために Gene Ontology 解析や KEGG パスウェイ解析を行ったが、有意な作用を見出す事は出来なかった。そこで、同じムーンショット型研究開発事業目標 2 の合原プロジェクトのメンバーであり、制御理論の第一人者である東京工業大学の井村順一教授らとの共



Gene symbol	Imura score
<i>Mcpt1</i>	0.93201
<i>Mcpt4</i>	0.77775
<i>Ifit2</i>	0.7617
<i>Cd274</i>	0.72431
<i>Trim30d</i>	0.71869
<i>Tnfsf10</i>	0.56971
<i>Ccn1</i>	0.4812
<i>Wars</i>	0.44645
<i>Tap2</i>	0.38314
<i>Plppr3</i>	0.36139
<i>Ube2l6</i>	0.33918
<i>Bst2</i>	0.32781
<i>Cxcl16</i>	0.3248
<i>B2m</i>	0.28204
<i>4933412E12Rik</i>	0.2664
<i>H2-T23</i>	0.26297
<i>Znfx1</i>	0.26134
<i>H2-M2</i>	0.2575
<i>H2-BI</i>	0.24748
<i>H2-Q2</i>	0.24626
<i>Gm11127</i>	0.244458
<i>H2-K2</i>	0.23348
<i>H2-Q8</i>	0.22525
<i>H2-Q7</i>	0.22313
<i>H2-Q6</i>	0.21784
<i>H2-D1</i>	0.18805
<i>Fbxo6</i>	0.13853

同研究によるネットワーク解析により（上図）、DNB 遺伝子群のネットワーク形成への関与等による順位付けを行った（左表）。



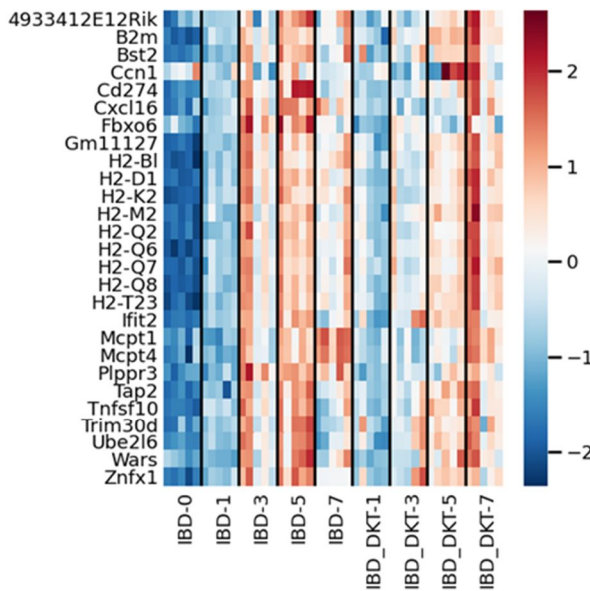
DNB 遺伝子群のうち順位付けで最上位に位置した *Mcp1* および *Mcp4* はマスト細胞関連遺伝子であり、「早期に IBD への引き金を引くドライバー遺伝子」の有力候補の 1 つであると推定されるが、IBD の病態におけるマスト細胞の病態生理学的役割は明らかにはなっていない。粘膜にあるマスト細胞は活性化されると TNF- をはじめ多くの炎症性メディエーターを放して、侵襲部位や炎症組織へ免疫細胞を動員し炎症状態をさらに増悪させる。その結果、神経をはじめ様々な細胞の細胞死の惹起を引き起こし、炎症性疾患に伴う機能性障害を引き起こすと考えられる。

そこで、DSS 大腸炎モデルを用い、腸管炎症による神経変性および神経新生と大腸炎に伴う腸管運動不全の関連について検討した。DSS 大腸炎マウスの遠位結腸では神経原性の腸管収縮は抑制されていたが、NOS 阻害剤で回復した。DSS 大腸炎マウスの筋層間神経叢では神経新生および神経変性が起きていたが、神経線維の密度および神経細胞数に変化はなかった。しかし、大腸炎

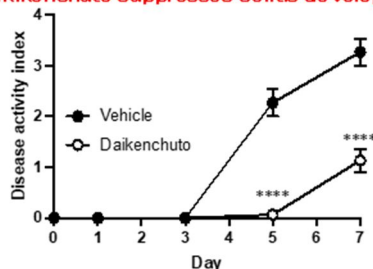
により Sox2 陽性新生神経の割合は変化しなかったが、nNOS 陽性神経の割合が有意に増加し（上図の矢印）Sox2 陽性新生神経に占める nNOS 陽性神経の割合も有意に増加した。以上の結果から、大腸の炎症により優先的、選択的に nNOS 陽性神経の神経新生が惹起され、抑制性運動神経が優位となる神経ネットワークが亢進した事により、腸管運動が抑制されたことが示唆された。

また、これまでに報告した KampoDB (Sawada R et al. Sci Rep. 2018) を用いた検索によりヒットした大建中湯 (Daikenchuto; DKT) の経口投与 (300 mg/kg) は DSS 誘起急性大腸炎 (IBD) の発症 (Disease activity index) を有意に抑制し、さらに DNB 遺伝子群のゆらぎも抑制した (左図)。その結果、炎症の指標であるミエロペルオキシダーゼ活性の上昇、ならびに炎症性サイトカインである TNF-、IL-6 および IFN- mRNA 発現の著明な増大も有意に抑制した。

Effect of Daikenchuto on DNB genes



Daikenchuto suppresses colitis development



今後、同定した未病遺伝子群の病態生理学的役割を解明する事により、未病創薬での標的遺伝子の同定を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kadowaki M, Yamamoto T, Hayashi S.	4. 巻 71
2. 論文標題 Neuro-immune crosstalk and food allergy: Focus on enteric neurons and mucosal mast cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 278-287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2022.03.004	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 Haruki T, Yonezawa S, Koizumi K, Yoshida Y, Watanabe TM, Fujita H, Oshima Y, Oku M, Taketani A, Yamazaki M, Ichimura T, Kadowaki M, Kitajima I, Saito S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Application of the Dynamical Network Biomarker Theory to Raman Spectra.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1730
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom12121730	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tomoe Yashiro, Hanako Ogata, Syed Faisal Zaidi, Jaemin Lee, Shusaku Hayashi, Takeshi Yamamoto, Makoto Kadowaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Pathophysiological Roles of Neuro-Immune Interactions between Enteric Neurons and Mucosal Mast Cells in the Gut of Food Allergy Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10071586.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yue Zhang, Takeshi Yamamoto, Shusaku Hayashi, Makoto Kadowaki	4. 巻 141
2. 論文標題 Suppression of plasmacytoid dendritic cell migration to colonic isolated lymphoid follicles abrogates the development of colitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomed Pharmacother	6. 最初と最後の頁 111881
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2021.111881	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuya Kanauchi, Takeshi Yamamoto, Minako Yoshida, Yue Zhang, Jaemin Lee, Shusaku Hayashi, Makoto Kadowaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Cholinergic anti-inflammatory pathway ameliorates murine experimental Th2-type colitis by suppressing the migration of plasmacytoid dendritic cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-04154-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koizumi K., Oku M., Hayashi S., Inujima A., Shibahara N., Chen L., Igarashi Y., Tobe K., Saito S., Kadowaki M., Aihara K.	4. 巻 2020
2. 論文標題 Suppression of Dynamical Network Biomarker Signals at the Predisease State (Mibyō) before Metabolic Syndrome in Mice by a Traditional Japanese Medicine (Kampo Formula) Bofutsushosan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Evid. Based Complement. Alternat. Med.	6. 最初と最後の頁 9129134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-019-01298-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto T., Nagata Y., Hayashi S., Kadowaki M.	4. 巻 43
2. 論文標題 Isoflavones Suppress Cyp26b1 Expression in the Murine Colonic Lamina Propria.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 1945-1949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00355.	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 Yamamoto T., Zhang Y., Kigasawa A., Hayashi S., Kadowaki M.	4. 巻 2020
2. 論文標題 Therapeutic Benefit in Allergic Dermatitis Derived from the Inhibitory Effect of Byakkokaninjinto on the Migration of Plasmacytoid Dendritic Cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Evid. Based Complement. Alternat Med.	6. 最初と最後の頁 9532475
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/9532475.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hertati A., Hayashi S., Ogata H., Miyata K., Kato R., Yamamoto T., Kadowaki M.	4. 巻 6
2. 論文標題 Morphological elucidation of short-chain fatty acid receptor GPR41-positive enteric sensory neurons in the colon of mice with dextran sulfate sodium-induced colitis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e05647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2020.e05647.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hertati A., Hayashi S., Ogawa Y., Yamamoto T., Kadowaki M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Interleukin-4 Receptor Subunit Deficiency Alleviates Murine Intestinal Inflammation In Vivo Through the Enhancement of Intestinal Mucosal Barrier Function.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front. Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 573470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2020.573470.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nagata Y., Yamamoto T., Kadowaki M.	4. 巻 66
2. 論文標題 Ginger Increases ALDH1A1 Expression and Enhances Retinoic Acid Signaling in a Human Colonic Epithelial Cell Line.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Nutr. Sci. Vitaminol.	6. 最初と最後の頁 462-467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.66.462.	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 Wang X., Yamamoto T., Kadowaki M., Yangi Y.	4. 巻 45
2. 論文標題 Identification of key pathways and gene expression in the activation of mast cells via calcium flux using bioinformatics analysis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIOCELL	6. 最初と最後の頁 395-415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.32604/biocell.2021.012280.	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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Makoto Kadowaki
2. 発表標題 Neurogenesis and neurodegeneration in enteric neurons of DSS colitis mouse colon
3. 学会等名 Cell Symposia: The Neuro-Immune Axis (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kato T., Ito Y., Yamamoto T., Shimizu M., Itazawa T., Adachi Y., Kadowaki M., Adachi Y.
2. 発表標題 An evaluation of the effects of Kakkonto in combination with dietary advice in children with food allergies through a non-randomized controlled trial.
3. 学会等名 JSA/WAO Joint Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 武, 宋 夢, 後藤 由佳, 門脇 真
2. 発表標題 葛根湯併用経口免疫療法による食物アレルギー疾患の寛解維持誘導について病態マウスを用いた検討
3. 学会等名 第37回和漢医薬学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 門脇 真
2. 発表標題 漢方薬リポジショニングを目指した薬理学的および情報科学的研究
3. 学会等名 第37回和漢医薬学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 門脇 真
2. 発表標題 数理科学・情報科学・生命科学の融合による未病創薬への展開
3. 学会等名 生命医薬情報学連合大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 武, 宋 夢, 後藤 由佳, 門脇 真
2. 発表標題 食物アレルギー病態マウスを用いた葛根湯と経口免疫療法の併用療法による寛解維持効果の検討
3. 学会等名 JSA/WAO Joint Congress
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 加藤 諒, 緒方 華子, 山本 武, 門脇 真
2. 発表標題 腸内細菌叢は成熟マウスの腸管神経回路の形成維持に恒常的に寄与する
3. 学会等名 富山薬学研究会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小川 雄大, 林 周作, 山本 武, 門脇 真
2. 発表標題 腸管マクロファージでのIL-10産生を亢進させるベルベリンは炎症性腸疾患モデルにおける再燃を抑制する
3. 学会等名 富山薬学研究会2020
4. 発表年 2020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
---------	---------