

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2017～2021

課題番号：17KT0050

研究課題名(和文) 漢方医薬学と複雑系数理科学の挑戦 ～未病の検出から始まる新たな医療戦略の構築へ～

研究課題名(英文) Development of novel medical strategies in pre-disease by Kampo science and the mathematical science of complex systems

研究代表者

小泉 桂一 (Koizumi, Keiichi)

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・教授

研究者番号：10334715

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：自然発症メタボリックシンドロームマウス(TSODマウス)は、3ヵ月齢から肥満を、4ヵ月齢で高脂血症や糖尿病を、6ヵ月齢で脂肪性肝炎を順次発症することが知られている。本研究では、TSODマウスの脂肪組織の遺伝子発現情報に対してDNB解析を行なった。その結果、5週齢で未病の状態が検出ができた。この5週齢目での未病状態において、DNB解析により選択された遺伝子群は、147個の遺伝子で構成されていた。また、この147個の未病遺伝子群は、情報解析により、精子形成や細胞分化、器官形成、タンパク質分解、配偶子形成、神経ペプチド、インターフェロン α の関連遺伝子に系統化されることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中国最古の医学書「黄帝内経」には、未病の時期を捉えて治すことが最高の医療であると記載されている。実際に、平成29年に閣議決定された「健康・医療戦略」には、「未病の考え方などが重要になると予想され(中略)新しいヘルスケア産業が創出されるなどの動きも期待される」と記載されている。しかしながら、この未病という考え方は概念であり、その存在の科学的な証明が必要である。本研究では、複雑系数理科学であるDNB理論を生体情報の変化(揺らぎ)に適応することで、メタボリックシンドロームマウスの未病の検出を可能とした。本研究成果は、今後の「健康・医療戦略」に対しての社会的な意義を有するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Spontaneous metabolic syndrome (TSOD) mice are known to develop obesity at 3 months of age, hyperlipidemia and diabetes at 4 months of age, and fatty hepatitis at 6 months of age. In this study, DNB analysis was conducted on gene expression information in adipose tissue of TSOD mice. The results revealed that we were able to detect pre-disease at the age of 5 weeks. Moreover, the gene cluster selected by DNB analysis in the 5-week age group consisted of 147 genes. The 147 unaffected genes could be systematized into genes related to spermatogenesis, cell differentiation, organogenesis, proteolysis, gametogenesis, neuropeptides, and interferon- α .

研究分野：和漢医薬学

キーワード：未病 DNB メタボリックシンドローム 揺らぎ

1. 研究開始当初の背景

中国最古の医学書「黄帝内経」には、未病の時期を捉えて治すことが最高の医療であると記載されている。実際に、平成29年2月に閣議決定された「健康・医療戦略」には、「健康・医療・介護に分散している情報を個人単位として統合する際には、健康か病気かという二分論ではなく健康と病気を連続的に捉える未病の考え方などが重要になると予想され(中略)新しいヘルスケア産業が創出されるなどの動きも期待される」と記載されている。しかしながら、この未病という考え方はこれまでは経験知に基づく複雑な概念であり、新たな医療やヘルスケアを創出するためには、この未病の存在の科学的な証明、それに基づく未病の生物学的な意味の解明は必要である。一方で、研究分担者の奥、および連携研究者の合原らは、健康状態から疾病への遷移を、非線形動力学理論の概念である「分岐」現象と捉えるアイデアに基づいた新たな複雑系数理的解析手法「動的ネットワークバイオマーカー (DNB理論)」(引用文献1)を開発した。この手法は、遺伝子発現などの大規模データから疾病前状態(生体のエネルギー状態が高まり不安定な揺らぎの状態)を検出し、疾病の早期診断や病態悪化の予兆検出に適用できる可能性がある。従って、このDNB理論による解析手法(以後、DNB解析)によって検出される生体情報が大きく揺らぐ状態をDNB理論によって定義される未病状態(以後、未病)と捉えることで、未病を経験知から科学知へ変換できることが期待される(図1)。

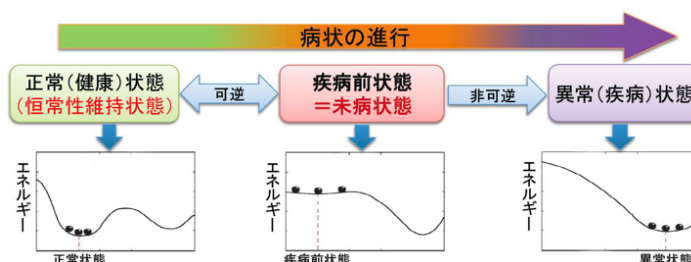


図1. DNB理論による揺らぎに基づく未病

2. 研究の目的

- (1) 自然発症メタボリックシンドローム発症マウス (TSOD マウス) の脂肪組織において、経日的かつ網羅的な生体情報 (遺伝子発現) を入手する。
- (2) 上記情報に対して DNB 解析により未病を検出する。
- (3) 数理・情報解析により、上記情報から未病の規定因子を選択し、その生物学的な意義を考察する。
- (4) 細胞実験および遺伝子改変マウスを用いて、上記未病規定因子のメタボリックシンドローム発症に対する生物学的な役割を解明する。

3. 研究の方法

- (1) 動物実験: 自然発症メタボリックシンドロームマウス (TSOD マウス、雄) を、3 週齢から 7 週齢まで飼育し、1 週間おきに 4~5 匹の TSOD マウスの体重および血糖値を測定した。その後、各週において、これらのマウスを安楽死させ脂肪組織を摘出した。なお、本実験は、富山大学動物実験委員会の規定の下に行われた。
- (2) RNA 抽出: 脂肪組織からの total RNA 抽出は、定法に従って行われた (the RNeasy Total RNA Extraction kit (Qiagen, Valencia, CA, USA))。
- (3) 遺伝子発現解析: 各マウスの脂肪組織の遺伝子発現プロファイルを調査するために、定法に従ってマイクロアレイ解析を行なった (the Agilent SurePrint G3 Mouse Gene Expression 8 X 60 K Microarray Kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA))。
- (4) 情報処理: 上記(3)で取得したデータに関して、以下の数理・情報解析を行なった。
 - ① Dimensionality reduction
 - ② Extraction of differentially expressed genes
 - ③ Clustering analysis
 - ④ Enrichment analysis
 - ⑤ DNB selection

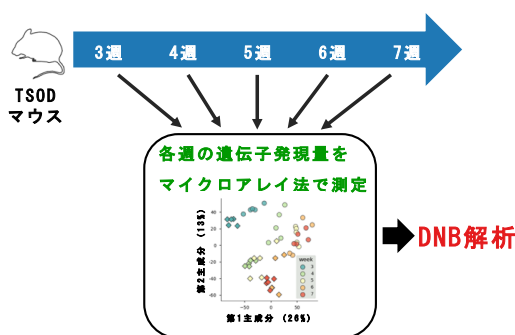


図2. DNB 解析までの研究方法の流れ

上記研究の方法に関しては、図2を参照

4. 研究成果

(1) 結果

① メタボリックシンドロームの未病の検出

ヒトのメタボリックシンドロームの病態進展に類似している TSOD マウスは、3 ヶ月齢から肥満を、4 ヶ月齢で高脂血症や糖尿病を、6 ヶ月齢で脂肪性肝炎を順次発症することが知られている。まず我々は、メタボリックシンドロームの未病は、メタボリックシンドロームの複合症状の肥満など発症する3ヶ月齢よりかなり以前の時期に検出できるのではないかと考えた。そこで、3週齢から7週齢までのTSODマウスの脂肪組織の遺伝子発現情報を取得し、DNB解析により測定期間内で揺らぎの増加した時点（未病）があるか否かを調べた。TSODマウスの脂肪組織の遺伝子制御ネットワークの時間変化を示す（図3）。一つの丸が遺伝子に該当し、DNB解析により大きな揺らぎの遺伝子群は右下に集めている。揺らぎが大きいほど赤く、小さければ緑色で表記した。4週齢目から5週齢目において、DNBの部分赤くなっており、このタイミングで遺伝子の揺らぎが急激に増えていることから、この5週齢時点で、未病が検出できたことが明らかになった。上述のように、TSODマウスのメタボリックシンドローム関連病態を検知できるのは、3ヶ月齢からであることを考えると、5週齢での未病状態の検出は、DNB解析により超早期の医療介入のタイミングを検出できる可能性を示唆していると考えられる。

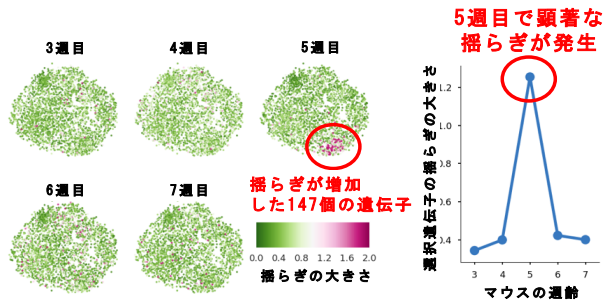


図3. DNB解析によるメタボリックシンドロームの未病の検出

② DNB理論で選択された未病の規定遺伝子の数理・情報学的な解析

表1. 147個のDNB遺伝子（抜粋）

<i>Actl10</i>	<i>Adam20</i>	<i>Adam4</i>	<i>Adam5</i>	<i>Adam6a</i>	<i>Als2cr11</i>
<i>Ankrd22</i>	<i>Bibd35f13</i>	<i>Capza3</i>	<i>Ccdc155</i>	<i>Ccdc54</i>	<i>Ccdc89</i>
<i>Cd55b</i>	<i>Cntm2a</i>	<i>Cntm2b</i>	<i>Cox7b2</i>	<i>Cox8c</i>	<i>Cst9</i>
<i>Dazl</i>	<i>Ddx4</i>	<i>Defa29</i>	<i>Dmrtb1</i>	<i>Dnajc5b</i>	<i>Egtn</i>
<i>Fam178b</i>	<i>Fam71f2</i>	<i>Fbxw10</i>	<i>Fcrla</i>	<i>Gata3</i>	<i>Gk2</i>
<i>Gm14725</i>	<i>Gm20877</i>	<i>Gm20878</i>	<i>Gm21637</i>	<i>Gm6309</i>	<i>Gm6370</i>
<i>Gm6583</i>	<i>Gm6588</i>	<i>Gm6890</i>	<i>Gm8702</i>	<i>Got1l1</i>	<i>Grxc2</i>
<i>Gisf11</i>	<i>Il31</i>	<i>Iqcf6</i>	<i>Kcnj3</i>	<i>Kcnmb4</i>	<i>Klk1b24</i>
<i>Lyzl6</i>	<i>March10</i>	<i>Mbd3l1</i>	<i>Morn2</i>	<i>Mroh8</i>	<i>Myc</i>

この5週齢での未病状態において、DNB解析により選択された遺伝子群は、147個の遺伝子で構成されていた（表1）。また、この147個の未病遺伝子群は、情報解析により、精子形成や細胞分化、器官形成、タンパク質分解、配偶子形成、神経ペプチド、インターフェロン α の関連遺伝子に系統化されることが明らかとなった（図4）。

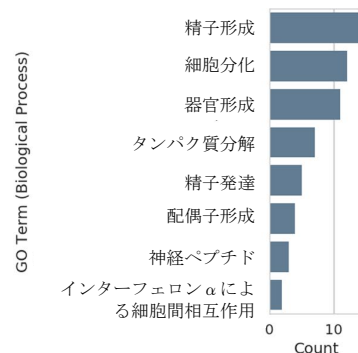


図4. DNB遺伝子の機能の予測

(2) 考察と今後の展望

本研究の結果がメタボリックシンドロームの進展を緩和するためにどのように貢献するかについて考察したい。メタボリックシンドロームの予防と治療には、食事療法と運動療法が一般に第一選択とされているが、その遵守率は個人差が大きい。肥満者では、特に、その遵守率が悪いことが多い。一方で、薬物療法は、食事療法や運動療法だけでは不十分な場合に行われる。しかしながら、ほとんどの薬はメタボリックシンドロームの各症状を対象としており、例えば、高血糖の場合は、その症状に合わせて薬物療法を行う。実際に、高血糖など、メタボリックシンドロームの各症状を対象としたものが多く、ポリファーマシーを引き起こす可能性がある。一方、我々は、メタボリックシンドロームが発症する前に、DNB遺伝子の特徴的な挙動によって定義される未病の存在を明らかにした。このことは、メタボリックシンドローム予防のための新規かつ効果的な治療法設計および医療介入の可能性を示唆する。一方で、本研究の問題点も浮かび上がっている。DNB遺伝子が未病の状態を直接的に制御しているのかは不明である。また、当初研究計画では、DNB遺伝子の改変マウスを用いて、その遺伝子機能を明らかにする予定であった。しかしながら、抽出されたDNB遺伝子が予想より遥に多い147個もあったため、当初研究計画では実行不可能であった。そのため、本研究を1年間延長し、かつ現在、遺伝子改変が容易なショウジョウバエを用いて、上記DNB遺伝子の機能解析を進めている。

<引用文献>

L. Chen, et al., Sci. Rep., 2012

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koizumi Keiichi, Oku Makito, Hayashi Shusaku, Inujima Akiko, Shibahara Naotoshi, Chen Luonan, Igarashi Yoshiko, Tobe Kazuyuki, Saito Shigeru, Kadowaki Makoto, Aihara Kazuyuki	4. 巻 2020
2. 論文標題 Suppression of Dynamical Network Biomarker Signals at the Predisease State (<i>Mibyoun</i>) before Metabolic Syndrome in Mice by a Traditional Japanese Medicine (Kampo Formula) Bofutsushosan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/9129134	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 Koizumi K, Oku M, Hayashi S, Inujima A, Shibahara N, Chen L, Igarashi Y, Tobe K, Saito S, Kadowaki M, Aihara K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Identifying pre-disease signals before metabolic syndrome in mice by dynamical network biomarkers.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 8767-8777
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-45119-w	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 Aihara Kazuyuki, Liu Rui, Koizumi Keiichi, Liu Xiaoping, Chen Luonan	4. 巻 808
2. 論文標題 Dynamical network biomarkers: Theory and applications	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gene	6. 最初と最後の頁 145997 ~ 145997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gene.2021.145997	査読の有無 無
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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹谷皓規, 山崎萌絵, 田原 旬, 小泉桂一, 山本 武, 大嶋佑介, 吉田泰彦, 春木孝之
2. 発表標題 ラマン分光法とDNB解析による細胞遷移状態における分岐点解明技術開発
3. 学会等名 レーザー学会第557回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹谷皓規, 佐藤勉, 和田暁法, 小泉桂一, 山崎萌絵, 田原 旬, 山本 武, 大嶋佑介, 春木孝弘, 吉田泰彦
2. 発表標題 ラマン分光法とDNB解析を用いた炎症の遷移点検出に関する研究
3. 学会等名 2021年度レーザー学会第42回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎萌絵, 田原旬, 竹谷皓規, 小泉桂一, 吉田泰彦, 春木孝之, 朝岡竜士, 大嶋佑介
2. 発表標題 マクロファージ細胞の炎症誘導過程におけるラマン光の測定とその揺らぎの検出
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2021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	奥 牧人 (Oku Makito) (30633565)	富山大学・学術研究部薬学・和漢系・特命准教授 (13201)	

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
---------	---------