

平成 30 年 6 月 28 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08977

研究課題名(和文)炎症性腸疾患のサロゲートマーカー、治療標的としてのTRPレセプターの臨床応用

研究課題名(英文)The clinical application of TRP receptor as a surrogate marker and/or therapeutic target for inflammatory bowel disease

研究代表者

山崎 博(Yamasaki, Hiroshi)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20529565

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：動物実験においては局所TNBS腸炎モデルラットを作成し、自己組織化ペプチド局所投与単独でのその効果を検討した。投与7日後の潰瘍面積、腸重量は有意に減少した。次にヒト検体においては、健常人、IBD患者での、TRPチャネルファミリーの発現について検討した。末梢血単球中において、UCでは健常人に比べTRPV2が低く、TRPM2が高かった。また疾患活動性とADM, IL-1 $\beta$ , TRPV2, ALBに有意な相関を認めた。臨床検査値については、UCではTRPV2と白血球数に有意な相関がみられた。血球成分除去療法において、TRPV2では、検体数が少なく有意差は認めなかったものの改善群で上昇傾向がみられた。

研究成果の概要(英文)：First, In animal study, Topical TNBS colitis model rats were prepared and their effects on the treatment of self-assembled peptide topically were examined. Ulcer area and intestinal weight decreased after seven days decreased significantly. Second, in the human study, the expression of the TRP channel family in healthy volunteers and IBD patients was examined. In peripheral blood mononuclear cells, TRPV2 was lower in UC and higher in TRPM2 than in healthy volunteers. And there was a significant correlation between disease activity and ADM, IL-1 $\beta$ , TRPV2, ALB. Regarding biochemical examination of blood, there was a significant correlation between TRPV2 and white blood cell count in UC. In the Leukocytapheresis therapy, TRPV2 showed a tendency to increase in the improvement group although there was no significant difference.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：神経ペプチド TRPチャネル 炎症性腸疾患

### 1. 研究開始当初の背景

現在、IBD に対する新規治療法が数多く開発されているが、問題点も多い。近年、腸管神経系が IBD の新たな治療標的となる可能性が示唆されている。

申請者は、これまでの検討から CGRP は IBD の新たな治療標的となることを報告した。しかし、CGRP 自体の静脈投与では、CGRP が不安定な物質であり血中半減期も短いことより直接の治療応用は困難で、投与法の工夫が必要である。このような背景により、TRP チャネル作動薬の局所投与の腸炎モデルでの有用性を検討する。さらに、TRP チャネルファミリーによる腸炎改善の機序について検討する。

### 2. 研究の目的

1. Transient receptor channel (TRP) チャネル作動薬 + 自己組織化ペプチドの大腸局所投与の炎症性腸疾患 (IBD) の治療応用への可能性の検討。2. TRP チャネルファミリーの解析による IBD の病態の解明。3. TRP チャネルファミリーのサロゲートマーカー (治療選択や疾患活動性の指標) としての可能性の検討。

上記の背景、およびこれまでの研究成果をもとに、TRP チャネル作動薬、自己組織化ペプチドによる局所薬の治療応用の可能性。TRP チャネルファミリー解析による IBD の病態の解明。サロゲートマーカーとしての TRP チャネルファミリーの可能性の検討を行う。

### 3. 研究の方法

以下の方法で、その作用機序や効果を検討する。

#### 動物実験

1. TRP チャネル作動薬 + 自己組織化ペプチド局所投与による腸炎モデルにおける効果、副作用の確認をする。
2. TRP チャネル作動薬 + 自己組織化ペプチド局所投与の炎症性サイトカインに対する影響を検討する。
3. 末梢血、骨髄に対する効果を検討する。TRP チャネル作動薬 + 自己組織化ペプチド局所投与、使用時の腸内細菌との関わりについて検討する。

#### ヒト検体

1. 腸管、末梢血での健常人、IBD 症例、感染性腸炎などの他の腸炎での TRP チャネルファミリーの発現量の確認。
2. 治療による TRP チャネルファミリーの発現量の確認。
3. 各種活動性指標、臨床検査値パラメータと TRP チャネルファミリーとの関連。

### 4. 研究成果

動物実験において本研究では局所 TNBS 腸炎モデルラットを作成し、自己組織化ペプチ

ド局所投与単体でのその効果を検討した (図 1)。

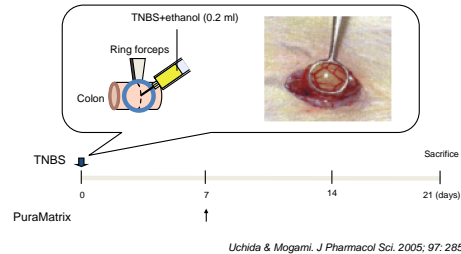
(図 1)

#### Experimental protocol of topical TNBS colitis

Animal: 7-wks male SD rat

Irritant: ethanol solution (35%; 0.2 ml) containing TNBS

PuraMatrix (2.5%) : administered on day 7

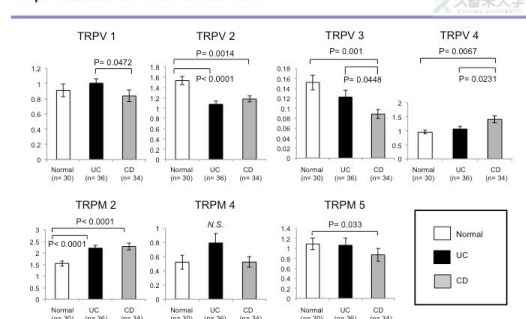


コントロールと比べ、投与 7 日後の潰瘍面積、腸重量は有意に減少した。現在炎症性サイトカイン等について検討中であり、今回の研究では、自己ペプチドのみで明らかな治療効果を認めた。今後自己免疫ペプチド単独での治療効果について詳細に報告する予定である。現在 QOL を著しく損なう直腸腔瘻やアジアを中心に多い孤立性潰瘍患者などは有効な治療法はないため、ヒトへの実用化の近いこの物質の効果が認められれば、実臨床でのインパクトは強いと考えられる。

次にヒト検体においての実験を行った。基礎的な検討としてまず、健常人、IBD 患者での TRP チャネルファミリーの発現について検討した。末梢血単核において、IBD 患者、健常人ともに TRP 発現を確認できた。次に各々について比較したところ、UC では健常人に比べ TRPV2 が低値で、TRPM2 が高値であった。CD では健常人に比べ TRPV2、TRPV3、TRPM5 が低値で、TRPM2、TRPV4 が高値であった (図 2)。

(図 2)

#### Expression of TRP channels

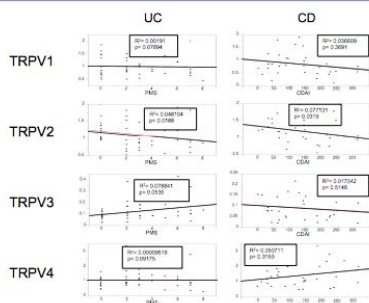


さらに活動期別では、UC では TRPV2 が活動期で低値、CD では TRPV1、TRPV2、TRPM5 が活動期で低値であった。活動性指数については UC、CD とともに TRPV2 で、UC において TRPM4 で有意な相関を認めた (図 3)。臨床検査値につい

では、UC では TRPV2 と白血球数、CD では TRPV4 と CRP に有意な相関がみられた(図 4)。

(図 3)

Correlation between TRP channels expression and clinical disease activity ①



最後に治療法と TRP レセプターとの関連について検討した。血球成分除去療法において、TRPV2 では、有意差は認めなかったものの改善群で 1 回目の LCAP 前と 5 回目の LCAP 前で上昇傾向がみられた。PBMC での TRP 発現は、UC 患者、CD 患者、健常人で異なることが明らかとなった。末梢血中の TRP レセプターの役割は十分解明されておらず TRP の IBD の病態への関与や治療応用の可能性については、今後さらなる検討が必要である。TRP レセプターは、漢方薬の作用機序の主要な機序と考えられ、現在用いられている欧米の用量依存的な単一成分による治療法では解決できなかった副作用の問題を克服できる可能性もある。そのため今後 TRP レセプターの研究を通じ薬物療法のパラダイムシフトを起こせるような画期的な治療薬の開発をできるように、詳細に基礎的事項から検討をおこない、必要があれば他の専門機関とも連携を図り臨床応用に 1 日でも早く繋がるように基礎臨床研究共に進めていく予定である。

(図 4)

Correlation coefficients between TRP channels expression and laboratory parameters

	Ulcerative colitis				Crohn's disease			
	CRP	Alb	WBC	Hb	CRP	Alb	WBC	Hb
TRPV1	0.011	0.009	-0.206	0.116	-0.174	0.224	-0.275	0.0461
TRPV2	-0.111	-0.010	-0.500***	-0.151	-0.275	0.039	-0.205	-0.199
TRPV3	0.089	0.079	-0.399*	0.129	-0.216	0.346	-0.146	0.1235
TRPV4	0.105	0.432*	-0.027	0.341	0.355*	-0.229	0.167	0.1165
TRPM2	-0.282	-0.095	0.285	-0.213	0.315	-0.064	0.032	0.0448
TRPM4	-0.011	-0.030	0.161	-0.196	-0.125	0.004	-0.193	0.0211
TRPM5	-0.070	0.240	-0.013	0.378*	-0.268	0.283	-0.344	-0.128

\*P<0.05, \*\*\*P<0.005

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Ken Kominato, Hiroshi Yamasaki, Keiichi Mitsuyama, Hidetoshi Takedatsu, Shinichiro Yoshioka, Kotaro Kuwaki, Teppei Kobayashi, Ryosuke Yamauchi, Shuhei Fukunaga, Osamu Tsuruta, Takuji Torimura, Increased circulating levels of adrenomedullin following treatment with Daikenchuto (TU-100) in Crohn's disease, *Molecular Medicine Reports*, 査読有、Sep;14(3)、2016、2264-2268. doi: 10.3892/mmr.2016.5488. Epub 2016 Jul 8.

[学会発表](計 5 件)

Yamasaki Hiroshi, Expression of Transient Receptor Potential Channels in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Inflammatory Bowel Disease Patients, DDW-2017(Meeting of the American Gastroenterological Association)(AGA)、2017 年

山崎 博, 炎症性腸疾患患者の末梢血単核球における Transient receptor potential (TRP)チャネルの発現, 第 103 回日本消化器病学会総会、2017 年

Hiroshi Yamasaki, Mechanisms underlying the effects of calcitonin gene-related peptide in a rat colitis model, The 4th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis (AOCC 2016)、2016 年

山崎 博, 大建中湯(TU-100)はクローン病患者の血中アドレノメデュリンを増加させる, 第 7 回日本炎症性腸 京都市 疾患学会学術集会、2016 年

Hiroshi Yamasaki, Leucocyte apheresis and the Japanese approach to the treatment of ulcerative colitis, the Oxford Summer Gut Club Meeting(招待講演)、2015 年

[図書](計 1 件)

山崎 博, 光山 慶一, ライフ・サイエンス、Medicament News:潰瘍性大腸炎、2016 年、15-16

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 博 (YAMASAKI, Hiroshi)  
久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20529565

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )