

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32644
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2015～2016
 課題番号：15K19353
 研究課題名(和文)腸管繊維化のコラーゲン産生細胞の解析とTGF- β シグナル制御による新規治療戦略

 研究課題名(英文) Analysis of collagen producing cell and new therapeutic target of TGF- β signal in colorectal fibrosis

 研究代表者
 今井 仁 (IMAI, Jin)

 東海大学・医学部・助教

 研究者番号：40725363
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：HSc025の投与により容量依存的に腸管線維化の重症度は改善を示した。これは、コラーゲン定量評価でも示された。また、本薬剤が直接効果を与えるCol1A2遺伝子発現も低下が確認された。次に分子学的評価を行うために腸管局所のサイトカインの解析を行った。するとTGF- β の腸管局所の産生量が薬剤投与により低下を認めた。一方、抗線維化効果が報告されているIFN- γ については、薬剤投与により上昇している傾向がみられた。この傾向をより詳細に示すために所属リンパ節よりリンパ球を取り出しTNBSによる抗原特異的なin vitro刺激を行ったところ、IFN- γ の産生量が薬剤投与により上昇していることが示された。

研究成果の概要(英文)：We have previously shown that the administration of a small compound, HSc025, which promotes the nuclear translocation of YB-1 as a downstream effector of IFN- γ and antagonizes TGF- β /Smad signaling, improves fibrosis in several murine tissues. In this study, we evaluated the anti-fibrotic effect of HSc025 on colorectal fibrosis in TNBS-induced murine chronic colitis. Daily oral administration of HSc025 suppressed collagen production and decreased the severity of colorectal fibrosis in a dose-dependent manner. In addition, the local production of TGF- β was decreased after HSc025 treatment. HSc025 administration maintained the level of IFN- γ production, even at a late stage when IFN- γ production was lost without the drug treatment. These results demonstrate that HSc025 could be a therapeutic candidate for intestinal fibrosis in inflammatory bowel disease that acts by altering the local production of cytokines, as well as by directly suppressing collagen production.

研究分野：消化器内科

キーワード：クローン病 炎症性腸疾患 腸管線維化

1. 研究開始当初の背景

クローン病は約 30%の症例で慢性炎症による腸管狭窄を併発するが、時間の経過した線維性狭窄となった病変に対しての分子学的治療は未だ存在しない。他臓器の研究において TGF- β が線維化において中心的な役割を担うサイトカインであること、また IFN- β が一定の抗線維化効果を示すことが報告されている。当大学では、IFN- β 受容体の下流であるの YB-1 の核内移行を促進させることで直接的に、また間接的に TGF- β /smad シグナルを阻害することで抗線維化を示す小化合物 HSc025 を研究して、すでに肝臓、皮膚、肺の線維化モデルにおいて治療効果を示している。

2. 研究の目的

そこで HSc025 を用いて腸管線維化モデルに対する抗線維化効果を検討した。

3. 研究の方法

TNBS の 8 週連続直腸投与による慢性線維化モデルを用いる。HSc025 の経口投与量別 (3mg/kg, 15mg/kg, 75mg/kg) に 3 群に分けた。抗線維化の評価は、病理学的評価と sircol collagen assay 法を用いて行った。また、腸管局所のサイトカインの変化および大腸所属リンパ節を用いた in vitro でのリンパ球の変化の検討も行った。

4. 研究成果

まず作成された腸管線維化モデルの経時の変化を示す (Fig.1)

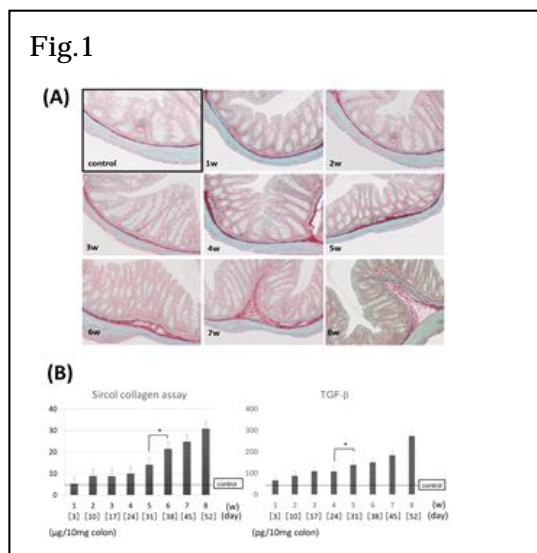


Fig.2

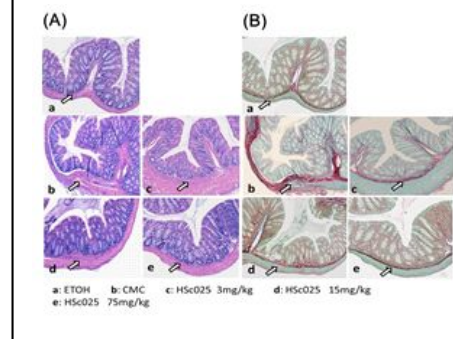
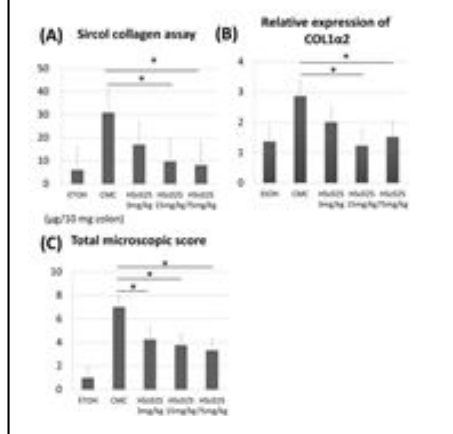


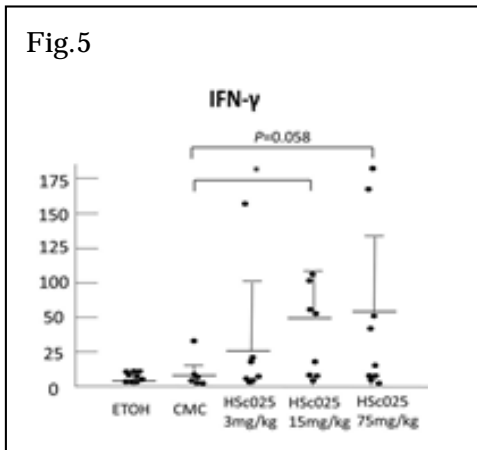
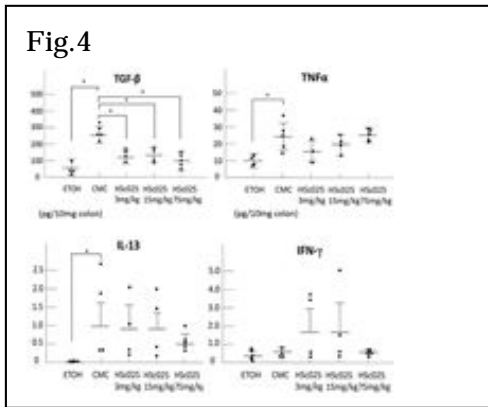
Fig.3



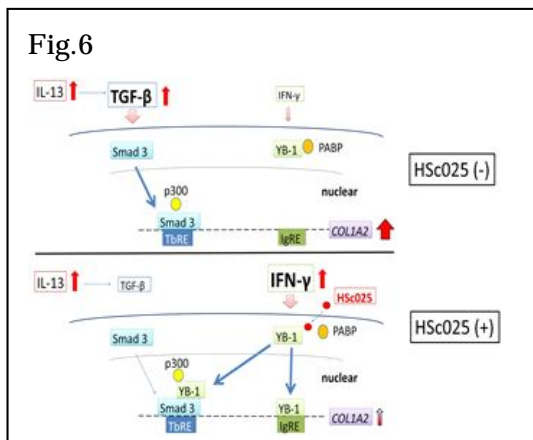
HSc025 の投与により容量依存的に腸管線維化の重症度は改善を示した (Fig.2)。これは、コラーゲン定量評価および病理学的スコアでも示された。また、本薬剤が直接効果を与える COL1A2 遺伝子発現も低下が確認された。(Fig.3)

次に抗線維化効果がみられた分子学的評価を行うために、腸管局所のサイトカインの解析を行った。すると、TGF- β の腸管局所の産生量が薬剤投与により低下を認めたが、TNF- α 、IL-13 には影響を与えなかった。一方、抗線維化効果が報告されている IFN- γ については、薬剤投与により上昇している傾向がみられた (Fig.4)。

この傾向をより詳細に示すために、所属リンパ節である腸骨リンパ節よりリンパ球を取り出し TNBS による抗原特異的な in vitro 刺激を行った。その結果、IFN- γ の産生量が薬剤投与により上昇していることが有意に示された (Fig.5)。



<結論>
細胞質内のアンカープロテインである PABP と YB-1 の結合を阻害する HSc025 により核内に移行する YB-1 は、直接 Col1A2 遺伝子発現を抑制し、間接的に TGF-β/Smad 3 signal を阻害することで、腸管局所の TGF-g の産生量を抑制させ、かつ Th1 型 (IFN-g) に T 細胞を変化させた。それによって、腸管線維化モデルに対する抗線維化効果が示された (Fig.6)。HSc025 は、今後のクローン病における抗線維化治療という新規治療法の可能性を示した。



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 2 件)
1. Rieder F, Bettenworth D, Imai J, Inagaki Y. Intestinal Fibrosis and Liver Fibrosis .Consequences of chronic inflammation or independent pathophysiology? Inflammatory Intestinal Disease. Karger, (DOI:10.1159/000445135), 2016)
 2. Imai J, Hozumi K, Sumiyoshi H, Yazawa M, Hirano K, Abe J, Higashi K, Inagaki Y, Mine T. Anti-fibrotic effects of a novel small compound on the regulation of cytokine production in a mouse model of colorectal fibrosis. Biochem Biophys Res Commun. Elsevier, 468(4):554-60, 2015.

- [学会発表](計 2 件)
1. Imai J, Hozumi K, Inagaki Y, Mine T. Anti-fibrotic effects of a novel small compound that promotes the nuclear translocation of YB-1 in a mouse model of colorectal fibrosis. European Crohn's and Colitis Organisation 2016 (オランダ・アムステルダム, 2016 年 3 月)
 2. 今井仁, 峯徹哉, 稲垣豊, 穂積勝人. YB-1 の核内移行を促進させる小化合物を用いたクローン病腸管線維化モデルに対する抗線維化治療の検討. 第 102 回消化器病学会総会. (東京都新宿区, 2016 年 4 月)

6. 研究組織
(1)研究代表者
今井 仁(IMAI Jin)
東海大学・医学部・助教
研究者番号：40725363

(2)連携研究者
穂積 勝人(HOZUMI Katsuto)
東海大学・医学部・教授
研究者番号：30246079

稲垣 豊 (INAGAKI Yutaka)
東海大学・医学部・教授
研究者番号：8019354

(3)研究協力者

峯 徹哉(MINE Tetsuya)
東海大学・医学部・教授
研究者番号：20157572