

令和元年6月5日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09310

研究課題名(和文) グライコミクスを用いた腸管炎症および腸炎関連癌における腸内環境解析

研究課題名(英文) Enteric environment analysis in intestinal inflammation and colitis-associated cancer based on glycomic approach

研究代表者

新崎 信一郎 (Shinzaki, Shinichiro)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：60546860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：糖鎖解析によって見出したGalectin-1に着目し、潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜での発現を検討したところ、炎症部粘膜でGalectin-1の発現が低下していた。また、Galectin-1で刺激したマクロファージを移入すると、マウス腸炎モデルの腸炎抑制効果が認められた。Galectin-1で刺激したマクロファージはインターロイキン(IL)-10産生が増加していた。これらより糖鎖認識レクチンであるGalectin-1がマクロファージを介した腸炎改善効果を認め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

本研究において、糖鎖を認識するレクチンの一種である、Galectin-1に腸炎抑制作用があることが示されるとともに、マクロファージを介した抗炎症性サイトカインであるインターロイキン(IL)-10が腸炎抑制に関わっていることが明らかとなった。また、炎症性腸疾患患者の腸管炎症部においてGalectin-1の発現が低下していた。これらの成果は、糖鎖を介した炎症性腸疾患の病態解明の一助となるとともに、Galectin-1が糖鎖を介して炎症性腸疾患治療の標的となる可能性を示すものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In patients with ulcerative colitis, the expression of Galectin-1, found by our previous oligosaccharide analyses, was significantly decreased in inflamed colonic mucosa than in non-inflamed mucosa. When murine macrophages were stimulated with Galectin-1, the expression of interleukin-10 was significantly upregulated compared with those unstimulated. Murine colitis model was significantly ameliorated in mice stimulated with Galectin-1-treated macrophages than mice stimulated with vehicle-treated ones. These results indicate that Galectin-1 has a pivotal role in ameliorating murine colitis by affecting macrophage function.

研究分野：消化器内科学

キーワード：糖鎖 ガレクチン マクロファージ 炎症性腸疾患 IL-10 ポリラクトサミン

## 1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患は大きくクローン病と潰瘍性大腸炎に大別される、腸管に慢性・再発性の炎症を引き起こす原因不明の難治性疾患である。患者数は世界的に増加の一途をたどり、本邦でも2013年現在で登録患者数が約19万人と、2000年現在で約10万人であった患者数がここ10数年で倍増している。若年・青年層に多い社会的損失の大きい疾患であるとともに、長期的には腸炎関連癌の発症リスクが増すと報告されており、その病態を解明し効果的な治療法を開発することは喫緊の課題である。

糖鎖は蛋白質・脂質の翻訳後修飾をなす重要な生体分子のひとつであり、近年の糖鎖解析技術の進歩により、自己免疫疾患や悪性腫瘍など多くの疾患に糖鎖が関与することが明らかになってきた。最近、申請者は、炎症性腸疾患患者の免疫グロブリン IgG に結合する糖鎖において、健常者に比してガラクトースが著明に減少すること (*Am J Gastroenterol.* 2008, *Inflamm Bowel Dis.* 2013) を明らかにした。また、糖鎖改変マウスモデルにおいて、beta-1,4-ガラクトース転移酵素-I (B4galTI) 欠損マウスではマクロファージの IL-10 産生を介して実験腸炎が改善すること (*Gastroenterology.* 2012)、また逆に N-アセチルグルコサミン転移酵素-V (GnT-V) 強制発現マウスではマクロファージの機能低下を伴い、実験腸炎および腸炎関連癌が増悪することを報告した (*J Gastroenterol.* 2016)。

IgG に結合する糖鎖に関するこれまでの検討によると、シアル酸やフコースなどの糖が結合する方が、炎症に対して保護的に作用することが、動物モデルでの検討で報告されており (*Science.* 2008, *J Biol Chem.* 2003)、申請者のこれまでの検討を裏付ける。しかし、どのような糖鎖・糖質がどのように炎症を制御するのか、その機構については未だ不明な点が多い。

一方、近年リンパ球の一種 type 3 innate lymphoid cells (ILC3) が腸管上皮細胞のフコシル化蛋白質産生を誘導し、腸炎防御に働くといった報告 (*Science.* 2014) や、腸管上皮細胞が産生するフコシル化蛋白質が腸内微生物叢によってフコースに分解されて利用され、細菌の病原性遺伝子の発現低下を介して腸炎制御に関与するとの報告 (*Nature.* 2014) がなされ、生体側の産生する糖鎖が腸内微生物叢のホメオスタシスに影響を及ぼすことが示唆されている。

また、腸炎関連癌は、腸管上皮細胞に持続的な炎症刺激が加わることで惹起されることが想定されているものの、腸内微生物叢との関与など、その機構についてはまだ明らかではない。

このような背景から、本研究ではこれまでの研究成果を発展させ、腸管から産生される糖鎖が、腸内微生物叢との相互作用を介して腸炎や炎症性発癌を制御しているとの仮説を立て、マウス実験腸炎モデルや患者検体を用いた基礎的検討を行う。また、患者検体の検討結果とその臨床背景や疾患予後との関連につき検討する。これらによって、糖鎖の制御による炎症性腸疾患および腸炎関連癌の病態解明を目指す。

## 2. 研究の目的

炎症性腸疾患に対する糖鎖を介した炎症制御を目指し、糖鎖変化による腸炎発症・増悪との関連、特に腸管の免疫担当細胞および上皮細胞の糖鎖変化が腸炎に及ぼす影響について、糖鎖改変モデルマウスや各種腸炎マウスモデル等を用いた検討を行うこと、また、これら成果の臨床応用を目指し、糖鎖変化と炎症性腸疾患患者の疾患活動性との関連について明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

マウスを用いた基礎的検討では、ポリラクトサミン糖鎖構造に親和性の高いレクチンである Galectin-1 に着目し、その先天免疫系、特に腸管関連マクロファージを介した腸炎改善作用につき、実験腸炎モデルや腸管関連マクロファージを含めたマウス由来免疫担当細胞を用いた解析を行った。患者検体を用いた検討では、炎症性腸疾患患者の血清および内視鏡時の生検検体や手術検体を用いて、血中及び腸管炎症局所における Galectin-1 の発現やその発現細胞を検討するとともに、疾患活動性との関連について検討した。

## 4. 研究成果

潰瘍性大腸炎 (UC) 患者の大腸粘膜組織における Galectin-1 発現を qRT-PCR および免疫組織化学染色法にて検討したところ、UC 患者の炎症部大腸粘膜組織では非炎症部に比べて Galectin-1 の発現が有意に低下していた。野生型マウスの骨髄由来マクロファージ (BMDM) を採取し、Recombinant Galectin-1 を投与すると、非刺激細胞より抗炎症性サイトカインである Interleukin (IL)-10 産生が有意に増加した。Rag2 (recombination activating gene2) <sup>-/-</sup> マウスに Galectin-1 を投与した BMDM を移入後に Dextran Sodium Sulfate (DSS) 腸炎モデルを作成し、Galectin-1 の抗炎症効果を検討したところ、Rag2 <sup>-/-</sup> マウスの DSS 腸炎ではコントロール

群より Galectin-1 投与群で体重減少や腸管長などで腸炎改善の傾向を認めた。以上より、Galectin-1 はマクロファージ上に発現した糖鎖構造を介して IL-10 を誘導するが、UC の腸管組織では Galectin-1 の発現が低下しており免疫制御機構の破綻に参与していることが示唆された。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

著者名 : Nakayama K, Wakamatsu K, Fujii H, Shinzaki S, Takamatsu S, Kitazume S, Kamada Y, Takehara T, Taniguchi N, Miyoshi E.  
論文標題 : Core fucose is essential glycosylation for CD14-dependent Toll-like receptor 4 and Toll-like receptor 2 signaling in macrophages  
雑誌名 : J Biochem.  
査読の有無 : 有  
発行年 : 2019  
巻・ページ : 65(3):227-237  
DOI : 10.1093/jb/mvy098.

著者名 : Yoshihara T, Shinzaki S, Kawai S, Fujii H, Iwatani S, Yamaguchi T, Araki M, Hiyama S, Inoue T, Hayashi Y, Watabe K, Iijima H, Takehara T.  
論文標題 : Tissue drug concentrations of anti-tumor necrosis factor agents are associated with the long-term outcome of patients with Crohn's disease  
雑誌名 : Inflamm Bowel Dis.  
査読の有無 : 有  
発行年 : 2017  
巻・ページ : 23(12):2172-2179  
DOI : 10.1097/MIB.0000000000001260.

著者名 : Shinzaki S, Iijima H, Fujii H, Kamada Y, Naka T, Takehara T, Miyoshi E.  
論文標題 : A novel pathogenesis of inflammatory bowel disease from the perspective of glyco-immunology  
雑誌名 : J Biochem.  
査読の有無 : 有  
発行年 : 2017  
巻・ページ : 161(5):409-415.  
DOI : 10.1093/jb/mvx010.

著者名 : Araki M, Shinzaki S, Yamada T, Arimitsu S, Komori M, Shibukawa N, Mukai A, Nakajima S, Kinoshita K, Kitamura S, Murayama Y, Ogawa H, Yasunaga Y, Oshita M, Fukui H, Masuda E, Tsujii M, Hiyama S, Inoue T, Iijima H, Takehara T.  
論文標題 : Age at onset is associated with the seasonal pattern of onset and exacerbation in inflammatory bowel disease  
雑誌名 : J Gastroenterol.  
査読の有無 : 有  
発行年 : 2017  
巻・ページ : 52(11):1149-1157.  
DOI : 10.1007/s00535-017-1313-6.

著者名 : Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Hiyama S, Yamaguchi T, Araki M, Iwatani S, Shiraishi E, Mukai A, Inoue T, Hayashi Y, Tsujii M, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Takehara T.  
論文標題 : Indigo Naturalis ameliorates murine dextran sodium sulfate-induced colitis via activation of aryl hydrocarbon receptor  
雑誌名 : J Gastroenterol.  
査読の有無 : 有  
発行年 : 2017  
巻・ページ : 52(8):904-919.  
DOI : 10.1007/s00535-016-1292-z.

著者名 : Kamada Y, Kida S, Hirano K, Yamaguchi S, Suzuki A, Hashimoto C, Kimura A, Sato M, Fujii H, Sobajima T, Yamamoto A, Ebisutani Y, Takamatsu S, Shinzaki S,

Yoshida Y, Yamada M, Nagasaka H, Takehara T, Miyoshi E.  
論文標題: Hepatic aberrant glycosylation by N-acetylglucosaminyltransferase V accelerates HDL assembly  
雑誌名: Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.  
査読の有無: 有  
発行年: 2016  
巻・ページ: 311(5):G859-G868  
DOI: 10.1152/ajpgi.00231.2016.

著者名: Fujii H, Shinzaki S, Iijima H, Wakamatsu K, Iwamoto C, Sobajima T, Kuwahara R, Hiyama S, Hayashi Y, Takamatsu S, Uozumi N, Kamada Y, Tsujii M, Taniguchi N, Takehara T, Miyoshi E.  
論文標題: Core Fucosylation on T cells, Required for Activation of T-cell Receptor Signaling and Induction of Colitis in Mice, is Increased in Patients with Inflammatory Bowel Disease  
雑誌名: 150(7):1620-32.  
査読の有無: 有  
発行年: 2016  
巻・ページ: 150(7):1620-32.  
DOI: 10.1053/j.gastro.2016.03.002.

[学会発表](計 9 件)

発表者名: Yuriko Otake, Shinichiro Shinzaki, Hideki Iijima, Takahiro Amano, Mizuki Tani, Takeo Yoshihara, Shuko Iwatani, Yoshiki Tsujii, Yoshito Hayashi, Takahiro Inoue, Akio Hayashi, Setsuko Fujita, Tetsuo Takehara  
発表標題: Lysophosphatidylserine deteriorates murine TNBS-induced colitis  
学会等名: Digestive Disease Week 2019 (国際学会)  
発表年: 2019

発表者名: Shuko Iwatani, Hideki Iijima, Takahiro Amano, Yuriko Otake, Mizuki Tani, Takeo Yoshihara, Yoshiki Tsujii, Yoshito Hayashi, Takahiro Inoue, Shinichiro Shinzaki, Akio Hayashi, Setsuko Fujita, Tetsuo Takehara  
発表標題: Targeted lipidomic analysis of the plasma of inflammatory bowel disease patients  
学会等名: Digestive Disease Week 2019 (国際学会)  
発表年: 2019

発表者名: Takahiro Amano, Shinichiro Shinzaki, Yuriko Otake, Mizuki Tani, Takeo Yoshihara, Shuko Iwatani, Yoshiki Tsujii, Yoshito Hayashi, Takahiro Inoue, Hideki Iijima, Tetsuo Takehara  
発表標題: Modified Glasgow Prognostic Score is useful for predicting long-term continuation of anti-TNF therapy in patients with Crohn's disease  
学会等名: Digestive Disease Week 2019 (国際学会)  
発表年: 2019

発表者名: Mizuki Tani, Shinichiro Shinzaki, Takahiro Amano, Yuriko Otake, Takeo Yoshihara, Shuko Iwatani, Yoshiki Tsujii, Yoshito Hayashi, Takahiro Inoue, Hideki Iijima, Tetsuo Takehara  
発表標題: Seasonal variation of fecal microbiota in IBD patients  
学会等名: Digestive Disease Week 2019 (国際学会)  
発表年: 2019

発表者名: Takeo Yoshihara, Shinichiro Shinzaki, Takahiro Amano, Yuriko Otake, Mizuki Tani, Shuko Iwatani, Yoshiki Tsujii, Yoshito Hayashi, Takahiro Inoue, Hideki Iijima, Tetsuo Takehara  
発表標題: Concentration of infliximab in the non-inflamed mucosa as a predictor for secondary loss of response to infliximab for Crohn's disease patients: a 4-year prospective study  
学会等名: Digestive Disease Week 2019 (国際学会)  
発表年: 2019

発表者名: Shuko Iwatani, Shinichiro Shinzaki, Hideki Iijima, Yuriko Otake, Mizuki Tani, Takeo Yoshihara, Toshio Yamaguchi, Shoichiro Kawai, Takahiro Inoue, Yoshito

Hayashi, and Tetsuo Takehara

発表標題：Oligosaccharide-dependent anti-inflammatory role of galectin-1 in inflammatory bowel disease

学会等名：Digestive Disease Week 2018 (国際学会)

発表年：2018

発表者名：岩谷修子、飯島英樹、天野孝広、大竹由利子、谷瑞季、良原丈夫、辻井芳樹、井上隆弘、林義人、新崎信一郎、林昭夫、藤田節子、竹原徹郎

発表標題：IBD 患者の Lipidomics 解析

学会等名：第 55 回日本消化器免疫学会総会

発表年：2018

発表者名：谷瑞季、新崎信一郎、天野孝広、大竹由利子、良原丈夫、岩谷修子、荒木学、辻井芳樹、林義人、井上隆弘、飯島英樹、竹原徹郎

発表標題：IBD 患者における増悪に関する腸内細菌叢の検討

学会等名：第 9 回日本炎症性腸疾患学会

発表年：2018

発表者名：Shinichiro Shinzaki, Hironobu Fujii, Hideki Iijima, Satoshi Hiyama, Yoshito Hayashi, Shinji Takamatsu, Yoshihiro Kamada, Masahiko Tsujii, Tetsuo Takehara, Eiji Miyoshi.

発表標題：Dynamic regulation of T cell receptors via core fucosylation is a novel mechanism involved in the onset of inflammatory bowel disease

学会等名：The 4th annual meeting of Asian Organization for Crohn's and Colitis(国際学会)

発表年：2016

〔図書〕(計 0 件)

〔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：

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：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：飯島 英樹

ローマ字氏名：Hideki Iijima

所属研究機関名：大阪大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：准教授

研究者番号（8桁）：90444520

研究分担者氏名：林 義人

ローマ字氏名：Yoshito Hayashi

所属研究機関名：大阪大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：助教

研究者番号（8桁）：80647123

研究分担者氏名：日山 智史

ローマ字氏名：Satoshi Hiyama

所属研究機関名：大阪大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：寄付講座助教

研究者番号（8桁）：10735335

## (2)研究協力者

研究協力者氏名：岩谷 修子

ローマ字氏名：Shuko Iwatani

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。