

令和 4 年 5 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08394

研究課題名(和文)糖鎖免疫に基づくエクスポソームを介した難治性腸管炎症発症制御の解明

研究課題名(英文) Regulation of intractable intestinal inflammation via the exposome based on glycoimmunology

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) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：原因不明の難治性疾患である炎症性腸疾患の発症や増悪に精神的ストレスや季節などの環境因子(エクスポソーム)が関わりと報告されているが、その詳細はいまだ不明である。今回、エクスポソームが糖鎖免疫を介して腸炎発症や増悪に関わる機序および制御機構の解明を目指して本研究を行った。ストレス負荷下や抑うつモデルマウスに実験腸炎を作成のうえ、腸炎増悪に精神的ストレスが関わる機序について基礎的な検討を行うとともに、腸炎増悪に関わる経路の検討につき検討を行った。また、炎症性腸疾患患者における疾患増悪の季節性に着目したところ、季節性増悪の改善に関わる腸内細菌が同定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原因不明の難治性疾患である炎症性腸疾患において、その発症や増悪に環境因子(エクスポソーム)が関わりとされている。今回の検討において、腸炎の増悪に関わるエクスポソームとして精神的ストレスおよび季節による腸内細菌変化が同定された。これらの成果により、エクスポソームを自己調節することで疾患の増悪を制御できることを示唆するとともに、エクスポソームに着目した薬剤等による疾患コントロールが可能となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Environmental factors (exposomes) such as mental stress and seasons are involved in the onset and exacerbation of inflammatory bowel disease, an intractable disease with an unknown cause, but the details are still unknown. In this study, we aimed to elucidate the mechanism by which exposomes are involved in the onset and exacerbation of intestinal inflammation via glycoimmunology.

We conducted a basic study to elucidate the mechanisms underlying mental stress-related exacerbation of intestinal inflammation by using stress-loaded and/or depressed mice with experimental colitis model, and examined the pathways involved in the intestinal inflammation. In addition, we focused on the seasonality of disease exacerbations in patients with inflammatory bowel disease, and identified intestinal bacteria involved in the improvement of seasonal exacerbations.

研究分野：消化器内科学

キーワード：炎症性腸疾患 エクスポソーム ストレス 糖鎖免疫 季節 腸内細菌

## 1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患は腸管に慢性・再発性の炎症を引き起こす原因不明の難治性疾患であり、クローン病と潰瘍性大腸炎に大別される。患者数は世界的に増加の一途をたどり、本邦でも2016年度の厚生労働科学研究報告における推計患者数が約29万人と、2000年現在で約10万人であった患者数がここ20年弱で約3倍に増加している。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、近年は高齢発症も増加している。その原因を究明して効果的な治療法を開発することは喫緊の課題である。

炎症性腸疾患の病態には遺伝的、免疫学的、そして環境的要因など様々な因子が関与していると考えられているが、これまで申請者は、免疫担当細胞が産生する分子の異常が炎症性腸疾患の発症、増悪に関わる可能性につき、主に糖鎖免疫の見地から検討を重ねてきた。そして、炎症性腸疾患患者の血清免疫グロブリン IgG に結合する N 型糖鎖において、健常者に比してガラクトースが著明に減少すること(Shinzaki S, et al. *Am J Gastroenterol.* 2008, 他)、また、1,4-ガラクトース転移酵素-I 欠損マウスにおいて、マクロファージのインターロイキン(IL)-10 産生を介して実験腸炎が改善すること(Shinzaki S, et al. *Gastroenterology.* 2012)を見出した。さらに最近、炎症性腸疾患患者やマウス腸炎モデルにおいて T 細胞における 1,6-フコース(コアフコース)が増加し、T 細胞受容体(TCR)に結合するコアフコースが、TCR の脂質ラフトへの移行を促進させることで、T 細胞のシグナル伝達を増強して腸炎発症に関与していることを見出した。(Fujii H, et al. *Gastroenterology.* 2016)

その他、免疫細胞の産生する IL-22 が腸管上皮細胞の -1,2-フコースを増加させて腸内細菌の侵入防御にかかわるとの報告(Pham TA, et al. *Cell Host Microbe.* 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、腸内細菌の病原性遺伝子の発現低下を介して腸炎を制御するとの報告(Goto Y, et al. *Nature.* 2014)もあり、生体は外的刺激に対して、その糖鎖構造を変化させて腸炎の制御に関わっていると考えられる。しかし、どのような糖鎖変化が炎症性腸疾患の制御に最も重要な役割を果たすかは未だ不明である。

一方、食事抗原、精神的ストレス、うつ状態や気候といった生体にとって外的刺激となりうる環境因子は近年エクスポソームと呼称され、炎症性腸疾患の発症・増悪に関わる可能性が考えられている(Ananthakrishnan AN. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015)。最近、申請者は、炎症性腸疾患患者がその疾患発症・増悪に季節性を自覚していること、また若年発症の患者ほど季節性が顕著に見られることを報告した(Araki M, et al. *J Gastroenterol.* 2017)。さらに、75%の患者において精神的ストレスにより炎症性腸疾患の増悪を自覚し、36%の患者で抑うつ状態をきたしていることを見出した(Araki M, et al. *PLoS One.* 2020)。このようにストレス因子の変化が炎症性腸疾患に及ぼす影響は大きいと考えられるが、生体がエクスポソームをどのように感受し、腸炎発症に関わるかは明らかではない。

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、特に精神状態に関わるエクスポソームが腸内環境との糖鎖免疫学的クロストークを介して腸炎を制御しているとの仮説を立て、患者検体やマウス実験腸炎モデルを用いた基礎的検討を行う。また、患者検体の検討結果と疾患経過、臨床背景との関連につき比較検討を行う。これらにより、エクスポソームの変化による炎症性腸疾患発症・増悪に関わる病態解明を目指す。

## 2. 研究の目的

エクスポソームが炎症性腸疾患の病態に重要な役割を果たす可能性があることは以前より示唆されていたものの、腸管における直接的な影響を定量することが困難であった。本研究では、ストレスや季節性などのエクスポソームに着目し、マウス腸炎モデルにうつ病モデルである DNA polymerase subunit gamma(POLG)欠損マウス(Kato et al. *Molecular Psychiatry*. 2015)や各種ストレスモデル等を併用することで、より客観的にエクスポソームの腸炎発症に及ぼす影響を検討する。また、炎症性腸疾患患者におけるエクスポソームによる疾患増悪への影響を検討する。

### 3．研究の方法

マウスを用いた検討では、野生型マウスや POLG 欠損マウスにストレス負荷下に実験腸炎モデルを作成し、腸炎の程度を検討するとともに、腸炎増悪に関わる機構について検討を行った。また、患者検体を用いた検討では、連続する季節において季節ごとに計 4 回便を回収して、腸内細菌叢の季節性の有無を網羅的に調査するとともに、疾患活動性との関連を検討した。

### 4．研究成果

野生型マウスにストレス負荷下に実験腸炎を作成したところ、ストレス非負荷下に比べて有意な腸炎の増悪を認め、中枢神経系ニューロンのミトコンドリア異常も増悪していた。また、POLG 欠損マウスに実験腸炎を作成したところ、野生型マウスに比して有意な腸炎の増悪を認めるとともに、中枢神経ニューロンのミトコンドリア異常も増悪していた。以上より、中枢神経系ニューロンのミトコンドリア異常がストレスに伴う腸炎の増悪に関わることが示唆された。また、患者検体を用いた検討において、健常者に腸内細菌叢の季節性変化は認められなかったが、炎症性腸疾患、特にクローン病において特徴的な腸内細菌叢の季節性変化が認められ、季節性増悪の改善に関わる腸内細菌が同定された。

今回の検討において、腸炎の増悪に関わるエクスポソームとして精神的ストレスおよび季節による腸内細菌変化が同定された。これらの成果により、エクスポソームを自己調節することで疾患の増悪を制御できることを示唆するとともに、エクスポソームに着目した薬剤等による疾患コントロールが可能となることが期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Iwatani Shuko, Shinzaki Shinichiro, Amano Takahiro, Otake Yuriko, Tani Mizuki, Yoshihara Takeo, Tsujii Yoshiki, Hayashi Yoshito, Inoue Takahiro, Okuzaki Daisuke, Mizushima Tsunekazu, Miyoshi Eiji, Iijima Hideki, Takehara Tetsuo	4. 巻 35
2. 論文標題 Oligosaccharide dependent anti inflammatory role of galectin 1 for macrophages in ulcerative colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 2158 ~ 2169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.15097	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 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, Kawai S, Hiyama S, Inoue T, Tanimukai H, Iijima H, Takehara T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Psychologic stress and disease activity in patients with inflammatory bowel disease: A multicenter cross-sectional study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0233365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0233365	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 Motooka Kei, Morishita Koichi, Ito Nami, Shinzaki Shinichiro, Tashiro Taku, Nojima Satoshi, Shimizu Kayoko, Date Mutsuhiro, Sakata Natsumi, Yamada Momoko, Takamatsu Shinji, Kamada Yoshihiro, Iijima Hideki, Mizushima Tsunekazu, Morii Eiichi, Takehara Tetsuo, Miyoshi Eiji	4. 巻 27
2. 論文標題 Detection of fucosylated haptoglobin using the 10-7G antibody as a biomarker for evaluating endoscopic remission in ulcerative colitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 162 ~ 175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v27.i2.162	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 Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Hiyama S, Yamaguchi T, Araki M, Iwatani S, Shiraishi E, Mukai A, Inoue T, Tsujii Y, Hayashi Y, Tsujii M, Takehara T.	4. 巻 34(10)
2. 論文標題 Usefulness of intestinal real-time virtual sonography in patients with inflammatory bowel disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Gastroenterol Hepatol.	6. 最初と最後の頁 1743
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.14670	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 Hiyama Satoshi, Iijima Hideki, Sakakibara Yuko, Yamada Takuya, Mukai Akira, Otake Yuriko, Yamaguchi Toshio, Araki Manabu, Kawai Shoichiro, Tsujii Yoshiki, Inoue Takahiro, Hayashi Yoshito, Shinzaki Shinichiro, Takehara Tetsuo	4. 巻 35
2. 論文標題 Endoscopic alterations in Peyer's patches in patients with ulcerative colitis: A prospective, multicenter study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 1143 ~ 1149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.14933	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 Iwatani S, Iijima H, Otake Y, Amano T, Tani M, Yoshihara T, Tashiro T, Tsujii Y, Inoue T, Hayashi Y, Takeda K, Hayashi A, Fujita S, Shinzaki S, Takehara T.	4. 巻 35
2. 論文標題 Novel mass spectrometry-based comprehensive lipidomic analysis of plasma from patients with inflammatory bowel disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol Hepatol.	6. 最初と最後の頁 1355-1364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.15067	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 Yoshihara T, Shinzaki S, Amano T, Iijima H, Takehara T, Inoue N, Uchino M, Esaki M, Kobayashi T, Saruta M, Sugimoto K, Nakamura S, Hata K, Hirai F, Hiraoka S, Fujii T, Matsuura M, Matsuoka K, Watanabe K, Nakase H, Watanabe M.	4. 巻 36
2. 論文標題 Concomitant use of an immunomodulator with ustekinumab as an induction therapy for Crohn's disease: A systematic review and meta analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 1744 ~ 1753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.15401	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 Shinzaki S, Matsuoka K, Tanaka H, Takeshima F, Kato S, Torisu T, Ohta Y, Watanabe K, Nakamura S, Yoshimura N, Kobayashi T, Shiotani A, Hirai F, Hiraoka S, Watanabe M, Matsuura M, Nishimoto S, Mizuno S, Iijima H, Takehara T, Naka T, Kanai T, Matsumoto T.	4. 巻 56
2. 論文標題 Leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a potential biomarker to monitor disease activity in inflammatory bowel disease receiving adalimumab: PLANET study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 560 ~ 569
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-021-01793-0	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 Yanai Shunichi, Shinzaki Shinichiro, Matsuoka Katsuyoshi, Mizuno Shinta, Iijima Hideki, Naka Tetsuji, Kanai Takanori, Matsumoto Takayuki	4. 巻 102
2. 論文標題 Leucine-Rich Alpha-2 Glycoprotein May Be Predictive of the Adalimumab Trough Level and Antidrug Antibody Development for Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Sub-Analysis of the PLANET Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 929 - 937
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000517339	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 Amano T, Shinzaki S, Asakura A, Tashiro T, Tani M, Otake Y, Yoshihara T, Yoshii S, Tsujii Y, Hayashi Y, Inoue T, Iijima H, Takehara T, et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 Elderly onset age is associated with low efficacy of first anti-tumor necrosis factor treatment in patients with inflammatory bowel disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-09455-8	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 Yamaguchi Toshio, Iijima Hideki, Yoshihara Takeo, Tani Mizuki, Otake Yuriko, Iwatani Shuko, Amano Takahiro, Tashiro Taku, Kurahashi Tomohide, Inoue Takanori, Tsujii Yoshiki, Hayashi Yoshito, Inoue Takahiro, Motooka Daisuke, Nakamura Shota, Shinzaki Shinichiro, Takehara Tetsuo	4. 巻 -
2. 論文標題 Exacerbation of non steroidal anti inflammatory drug induced enteropathy in C C chemokine receptor type 7 deficient mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.15868	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 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 田代拓、新崎信一郎、竹原徹郎
2. 発表標題 クローン病の内視鏡的重症度評価における血清LRGの有用性
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Taku Tashiro, Shinichiro Shinzaki, Akiko Asakura, Takahiro Amano, Mizuki Tani, Yuriko Otake, Takeo Yoshihara, Shunsuke Yoshii, Yoshiki Tsujii, Takahiro Inoue, Yoshito Hayashi, Hideki Iijima and Tetsuo Takehara.
2. 発表標題	Usefulness of serum LRG as a biomarker for evaluating endoscopic activity of ileal Crohn's disease in clinical remission.
3. 学会等名	Digestive Disease Week 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	天野孝広、新崎信一郎、朝倉亜希子、田代拓、大竹由利子、谷瑞季、良原丈夫、井上隆弘、中原征則、飯島英樹、竹原徹郎
2. 発表標題	高齢潰瘍性大腸炎患者に対する抗TNF製剤初回投与の安全性と有効性：多施設共同後ろ向き観察研究
3. 学会等名	第17回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Shinzaki S.
2. 発表標題	Importance of MDT activities in the Care of Patients with Inflammatory Bowel Disease.
3. 学会等名	9th annual meeting of Asian Organization for Crohn's and Colitis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	良原 丈夫、新崎 信一郎、田代 拓、天野 孝広、谷 瑞季、大竹 由利子、岩谷 修子、辻井 芳樹、井上 隆弘、林 義人、渡部 健二、飯島英樹、竹原 徹郎
2. 発表標題	抑うつモデルマウスを用いた脳腸相関を介する腸管炎症増悪機構の検討
3. 学会等名	第57回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 谷 瑞季、新崎信一郎、朝倉亜希子、田代 拓、天野孝広、大竹由利子、良原丈夫、吉井俊輔、辻井芳樹、林 義人、井上隆弘、飯島英樹、竹原徹郎
2. 発表標題 新型コロナウイルスPandemicが炎症性腸疾患患者に及ぼす精神的影響と臨床症状との関連についての検討
3. 学会等名 第11回日本炎症性腸疾患学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mizuki Tani, Shinichiro Shinzaki, Taku Tashiro, Takahiro Amano, Yuriko Otake, Takeo Yoshihara, Shuko Iwatani, Hideki Iijima and Tetsuo Takehara
2. 発表標題 FECAL MICROBIOTA RELATED TO THE SEASONAL AGGRAVATION OF IBD
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 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
2. 発表標題 IBD 患者の便検体における季節性変化と増悪との関連
3. 学会等名 第56回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷 瑞季、新崎 信一郎、田代 拓、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
2. 発表標題 炎症性腸疾患患者の腸内細菌叢で見られる季節性変化
3. 学会等名 第10回日本炎症性腸疾患学会学術集会
4. 発表年 2019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	井上 隆弘  (Inoue Takahiro)  (30648184)	大阪大学・医学部附属病院・准教授   (14401)	
研究分担者	林 義人  (Hayashi Yoshito)  (80647123)	大阪大学・医学系研究科・助教   (14401)	
研究分担者	飯島 英樹  (Iijima Hideki)  (90444520)	大阪大学・医学系研究科・特任准教授   (14401)	

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