

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16522

研究課題名（和文）腸肝軸に着目したNASHの新たな診断方法と創薬についての基礎的研究

研究課題名（英文）Basic research on new diagnostic methods and drug discovery for NASH focusing on the gut-liver axis

研究代表者

谷 丈二（TANI, JOJI）

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00596075

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）：NASHと腸内細菌による腸管透過性亢進が肝臓に影響を与える。腸管透過性の測定にはラクツロース・マンニトールテストが使われ、その結果が高いとNASHの治療に新たな可能性がある。コロナ禍の中断後、ヒトとマウスを対象に研究を進め、腸管透過性亢進NASHモデルマウスを作成した。血清/組織学的に変化するmicroRNAを同定することで、NASHの治療効果を評価する。モデルマウスを作成し、発現が増強・減弱したmicroRNAの網羅的解析により、投与前後における血清学的及び組織学的にみられる変化について検討を行うこととし、血清/組織学的に変化するmicroRNAを同定した。今後はヒトの検体で行う予定。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸管透過性の診断は、古典的にラクツロース・マンニトールテストが使われ、一般的な検査ではない。血清タンパクやターゲット遺伝子の同定は、患者の早期の拾い上げや治療方針の決定に役立ち、今後の臨床を変化させる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：NASH and increased intestinal permeability due to intestinal bacteria affect the liver. The lactulose-mannitol test is used to measure intestinal permeability, and high results offer new possibilities for the treatment of NASH. after the interruption of the COVID-19 period, studies have been conducted in humans and mice to create a mouse model of intestinal hyperpermeability NASH. Serum/histology will be used to identify microRNAs that are altered to evaluate their therapeutic potential in NASH. We created a model mouse and decided to study the changes seen in serology and histology before and after administration by comprehensive analysis of microRNAs whose expression was enhanced or attenuated, and identified microRNAs that are serologically/histologically altered. We plan to use human samples in the future.

研究分野：肝疾患

キーワード：脂肪肝 腸管透過性 マイクロRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトの消化管の長さは 10m、内面の表面積は 400m² にも及ぶ臓器で、巧みなバリアー機構が存在する一方、肝臓は消化器の下流に位置する重要な免疫臓器であり、消化管の影響を強く受けることから腸肝軸と呼ばれている。生活習慣の欧米化に伴い肥満・代謝異常と腸内細菌との関連性が注目され報告されているが、消化管ならびにこれと直結する肝臓における宿主免疫によるバリアーについては体系化されていない。本研究は腸と肝臓におけるバリアーシステムを腸管軸に着目して明らかにすることを目的とし、microRNA について網羅的解析を行い、NASH の新たな診断方法や創薬と成り得る可能性についての基礎的研究を行うことである。

2. 研究の目的

NASH を含めた生活習慣病では腸内環境の変化が疾患に大きな影響を及ぼす。NASH においては腸内細菌叢が増大し、腸管壁透過性亢進も加わることで、多量の腸内細菌産物が門脈に流入し、肝臓に達する。それらによりマクロファージが刺激を受け、炎症性サイトカインやケモカインを産生し続ける。これらの制御は NASH 治療における新たな可能性と考える。生活習慣の乱れを背景因子とする NASH/NAFLD では、Gut-Liver Axis が病態へ及ぼす影響が特に大きいものと想定される。

3. 研究の方法

腸管透過性測定はラクツロース・マンニトールテストがゴールドスタンダードであるため本試験を用いて評価し、尿中のラクツロース・マンニトール比が有意に亢進した症例は腸管透過性が高い症例である。NASH 患者の末梢血液に含まれるエクソソーム中の 2555 分子の microRNA について網羅的に解析し、クラスター解析を行うことによって、腸管透過性亢進の有無においてエクソソーム中の microRNA 発現プロファイルに差異があるかどうかを見出す。得られた差異と臨床学的特徴や病態との相互関係を検討することにより、診断や治療における標的分子、また、創薬についての鍵となるエクソソーム中の microRNA を同定する。今までの我々の microRNA での先行研究成果をもとに、研究を次の 4 段階で進めていく。

1. 採血で採取した血清 microRNA の保存、抽出：既に当院倫理委員会による承認済研究における同意文書が得られた腸管透過性亢進の NASH 患者に対して施行した採血で得られた血清を冷凍保存する。保存した血清より total RNA を抽出し、microRNA を精製する。
2. 2555 分子が搭載された microarray を用いて精製された microRNA の網羅的解析：当教室に既に 2555 分子の microRNA を搭載された oligo chip array を解析するシステムが完成している。1. で精製された microRNA をこのシステムを利用し、網羅的解析を行う。
3. 腸管透過性亢進 NASH 関連の microRNA の同定：同意の得られた NASH 患者の病理、血液検査所見、肝硬度、糖鎖マーカー診断から臨床的所見を確認し、2. で得られた網羅的解析からクラスター解析 (図 3) を行い、Gut-Liver Axis における宿主因子の腸管透過性亢進 NASH に関連する候補 microRNA を同定する (Katsura A, Tani J(4th) et al, Int J Mol Med. 2015 Apr;35(4):877-84)。
4. 候補 microRNA の NASH モデルマウスでの実際：標的分子となり得る microRNA を同定した後に、腸管透過性亢進による NASH 群において、NASH を改善させる効果が期待できるかどうかについても検討する。そのためには C57BL/6J マウスにマウスに腸粘膜バリアを破綻させる負荷をかけ、軽度、中等度、重度の腸管透過性亢進を引き起し、MCDHFD を投与して腸管透過性亢進 NASH モデルマウスを作成した上で、発現が増強した microRNA の機能を阻害するという手法、もしくは発現が減弱した microRNA を補充するという手法により、投与前後における血清学的及び組織学的にみられる変化について検討を行う。

4. 研究成果

今回コロナ禍にて中断していたヒトに対する研究をすすめ、また NASH モデルのマウスの実験を開始した。腸管透過性亢進による NASH 群において、NASH を改善させる効果が期待できるかどうか

かについても検討を行った。そのためには C57BL/6J マウスに腸粘膜バリアを破綻させる負荷をかけ、軽度、中等度、重度の 腸管透過性亢進を引き起し、MCDHFD を投与して腸管透過性亢進 NASH モデルマウスを作成した上で、発現が増強した microRNA の機能を阻害するという手法、もしくは発現が減弱した microRNA を補充するという手法により、投与前後における血清学的及び組織学的にみられる変化について検討を行うこととし、NASH モデルマウスを作成し現在、血清/組織学的に変化する microRNA を同定した

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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