

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06593

研究課題名（和文）粘膜バリアの再構築に基づく再燃予防を目指す炎症性腸疾患に対する治療戦略の創出

研究課題名（英文）Creation of New Therapeutic Strategy for Inflammatory Bowel Disease Aiming to Prevent Relapse Based on Rebuilding Mucosal Barrier

研究代表者

林 周作（Hayashi, Shusaku）

京都薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：10548217

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）：本研究は再燃を予測して予防的介入を行うことを目的に、遺伝子発現の揺らぎに着目して健康状態から疾病状態への遷移を科学的かつ客観的に捉える新たな数理解析手法であるDNB解析をIBDモデルマウスに適用した。その結果、大腸炎の発症前に27個のDNB遺伝子が同期して大きく揺らぐ遷移前状態すなわち未病状態を検出した。次にDNB遺伝子が病態生理学的に意味をもつ遺伝子であることを実証するため、制御理論解析およびGEO databaseを用いたヒトIBD患者でのDNB遺伝子の発現解析を行い、DNB遺伝子の中でWarsに介入したところ、WarsはIBD病態にて保護的に働くことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、IBDモデルでのDNB解析さらに制御理論解析を行うことで見出されたDNB遺伝子Warsが、IBD病態において病態生理学的意義がある分子であることを初めて示したものである。また、実際にWarsを含むいくつかのDNB遺伝子の発現は、ヒトIBDの病態と関連して変動しており、病態によっては揺らぐ可能性を見出した。よってWarsをはじめとするDNB遺伝子の揺らぎを抑制させることが、再燃予防や寛解維持を通じたIBD病態の改善に繋がる可能性が考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we applied DNB analysis, a new mathematical analysis method that focuses on fluctuations in gene expression and scientifically and objectively captures the transition from a healthy state to a disease state, to IBD model mice with the aim of predicting relapse and providing preventive intervention. As a result, we detected a tipping point, i.e., a pre-disease state (Me-byo), in which 27 DNB genes fluctuate substantially and synchronously before the onset of colitis. Next, to determine the pathophysiological significance of the 27 DNB genes, we calculated control theory-based DNB intervention scores and investigated the expression of the 27 DNB genes in human patients with IBD by reanalyzing datasets in the GEO database. We then intervened in Wars among the 27 DNB genes, suggesting that Wars plays a protective role in IBD.

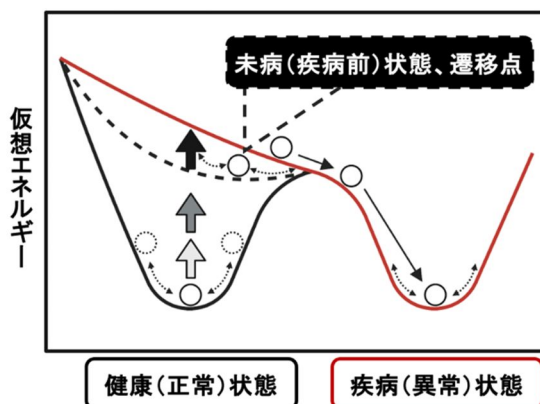
研究分野：薬理学

キーワード：動的ネットワークバイオマーカー ゆらぎ 未病 Wars ヒトIBD

1. 研究開始当初の背景

消化管の難病である炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease; IBD) は、寛解と再燃を繰り返す慢性炎症疾患であり、現在の最大の治療目標は、発症・再燃による活動期炎症を抑制することから、再燃を繰り返す悪循環を断ち切り、長期寛解維持を実現することに移行している。これまでは活動期炎症抑制薬の低用量を継続的に服用させ長期寛解維持を図っているが、再燃する症例も多い。疾患状態での介入を目的に創薬標的、治療目標を設定して創られてきた既存薬を治療目的、治療標的が異なる寛解状態での予防先制医療に用いても、その効果は限定的であり、長期寛解維持を可能とする有用な新規治療薬の創出が強く求められている。しかし現在のところ、再燃予防や寛解維持を目的に開発された IBD 治療薬は無く、また再燃を予測するバイオマーカーも確立されていない。

東京大学の合原一幸特別教授らは、これまで東洋医学の概念でしかなかった「未病」を数理工学的手法を用いて科学的かつ客観的に予測する動的ネットワークバイオマーカー (Dynamical Network Biomarker; DNB) 理論を提唱した。本理論は人間の心身の状態は健康と病気の間を“ゆらぎ”ながら連続的に変化するため、新たな数理解析手法である DNB 解析手法により“ゆらぎ”を捉え、“ゆらぎ”が最大化するポイントが疾病前状態、すなわち未病であるとする仮説に基づいている。様々な生体内要素が相互作用しながら複雑なネットワークを形成している生体において、生体システムが安定している健康状態では“ゆらぎ”は起こり難い。しかし、遺伝的背景 (内在性因子) に加え、生活習慣の悪化等の環境因子 (外因性因子) が複雑に絡み合うことにより仮想エネルギーが増大 (図、灰色太矢印) すると、臨界点に達し、さらに仮想エネルギーが増大 (図、黒太矢印) すると、疾病 (異常) 状態へ状態遷移し、その結果“ゆらぎ”は小さくなり、不可逆的安定状態に陥る。この状態遷移の臨界点である未病 (疾病前) 状態では、生体ネットワークの或る特定の部分ネットワークの生体内因子群が強い相関を持って大きく揺らぐ。この未病状態では容易に疾病状態へ遷移するが、生活習慣等の改善や薬剤介入等の適切な医療介入によって健康状態へと回帰する可逆的可能性がある。



そこで私たちは、DNB 解析を応用し、IBD 患者での寛解状態から再燃状態への遷移を数理モデル化することによって IBD 患者における再燃前状態の科学的な予測が可能となるのではないかと、さらにその時点で介入することが長期寛解維持、さらには健康状態への回帰を実現出来るのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では、上述の仮説を検証するため、IBD モデルマウスを用いて DNB 解析を実施し、DNB 理論が IBD モデルに応用できるのかを明らかにすること、DNB 解析によって検出される DNB 遺伝子の病態生理学的役割を明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

炎症惹起物質デキストラン硫酸ナトリウム (DSS; 36-50 kDa) の 3% 水溶液を BALB/c マウスに 7 日間自由飲水させ、大腸炎を誘発させた。DSS 飲水開始 0、1、3、5、7 日後 (各時点 n=5 ずつ) のマウス大腸組織の遺伝子発現をマイクロアレイ解析にて網羅的に測定し、これらのデータについて DNB 解析を行った。

4. 研究成果

IBD モデルマウスにおいて DNB 解析を行った結果、大腸炎症状が認められる 5 日目よりも前の 3 日目で 27 個の遺伝子の揺らぎ及び相関が急激に増加し、3 日目の時点が DNB 理論で定義される遷移点すなわち未病であることを見出した。

次に IBD モデルでの DNB 解析により検出された DNB 遺伝子が病態生理学的に意味をもつ遺伝子であることを実証するため、ヒト IBD 患者の大腸粘膜における DNB 遺伝子の発現を GEO database を用い再解析した。その結果、健康人の大腸粘膜と比較し、炎症が認められる IBD 患者の大腸粘膜では、6 個の DNB 遺伝子の発現が上昇していた。興味深いことに、炎症が認められる IBD 患者の大腸粘膜と比較し、炎症が認められない IBD 患者の大腸粘膜での 4 個の DNB 遺

伝子の発現は、有意に分散が大きく、寛解状態にある IBD 患者の大腸粘膜においては、これら DNB 遺伝子の発現が揺らぐ可能性が考えられた。さらに、IBD モデルでの DNB 遺伝子を順位付けするために制御理論解析を行った。ヒト IBD 患者での DNB 遺伝子の発現動態、制御理論解析および揺らぎに着目した結果、DNB 遺伝子の中で *Wars* を DNB 遺伝子の病態生理学的意義を検証する第一候補とした。

Wars (tryptophanyl-tRNA synthetase 1) は、tRNA にトリプトファンを結合させ、リボソームのタンパク質合成の材料である tryptophanyl-tRNA を合成する酵素であるが、近年、様々な生理機能を有する多機能酵素であることが報告されている。しかし、IBD における *Wars* の病態生理学的役割は不明である。そこで、IBD モデルにて *Wars* への介入を試みるため、*Wars* タンパク質であるリコンビナント WRS を IBD モデルマウスに投与したところ、リコンビナント WRS の投与は、大腸炎症状を抑制した。一方、抗 WRS 抗体の IBD モデルマウスへの投与は、大腸炎症状を増悪させた。以上のことから、*Wars*/WRS は IBD 病態において保護的に働くことが示唆された。さらに *Wars*/WRS への介入が DNB 遺伝子の揺らぎに及ぼす影響を検証するため、IBD モデルマウスでの未病のタイミングである 3 日目の大腸組織における DNB 遺伝子の発現を解析した。リコンビナント WRS を投与した IBD モデルの大腸組織では *Wars* を含む 3 個の DNB 遺伝子の揺らぎが有意に収束していた。一方、抗 WRS 抗体を投与した IBD モデルの大腸組織では DNB 遺伝子の揺らぎの収束は認められなかった。よって *Wars* を含む DNB 遺伝子の揺らぎを収束させることが、再燃予防や寛解維持を通じた IBD 病態の改善に繋がる可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hayashi Shusaku, Muraleedharan Chithra K., Oku Makito, Tomar Sunil, Hogan Simon P., Quiros Miguel, Parkos Charles A., Nusrat Asma	4. 巻 7
2. 論文標題 Intestinal epithelial BLT1 promotes mucosal repair	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e162392
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.162392	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 該当する

1. 著者名 YAMAMOTO Takeshi, KATSUKI Yosuke, KANAUCHI Yuya, HAYASHI Shusaku, KADOWAKI Makoto	4. 巻 44
2. 論文標題 Allergic inflammation disrupts epithelial electrogenic electrolyte transport through cholinergic regulation in the mouse colon	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 31～40
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2220/biomedres.44.31	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 Kanauchi Yuya, Yamamoto Takeshi, Yoshida Minako, Zhang Yue, Lee Jaemin, Hayashi Shusaku, Kadowaki Makoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Cholinergic anti-inflammatory pathway ameliorates murine experimental Th2-type colitis by suppressing the migration of plasmacytoid dendritic cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 54
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-04154-2	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 林 周作, 小川雄大, 山本 武, 門脇真.
2. 発表標題 炎症性腸疾患において再燃予防を実現する治療戦略の提案.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hayashi S, Hertati A, Yamamoto T, Kadowaki M.
2. 発表標題 GPR41-positive enteric sensory neurons are in close proximity to intestinal macrophages in the colonic mucosa of murine colitis model.
3. 学会等名 Cell Symposia: The Neuro-Immune Axis (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyata K, Ogata H, Yamamoto T, Hayashi S, Kadowaki M.
2. 発表標題 Neurogenesis and neurodegeneration in enteric neurons of DSS colitis mouse colon.
3. 学会等名 Cell Symposia: The Neuro-Immune Axis (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 周作, Quiros M, 奥 牧人, Parkos CA, Nusrat A.
2. 発表標題 腸管上皮BLT1は腸管粘膜の創傷治癒において重要な役割を担う.
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hayashi S, Ogawa Y, Yamamoto T, Kadowaki M.
2. 発表標題 Berberine, a fatty acid synthase activator, enhances IL-10 production in macrophages and suppresses relapse in murine colitis model.
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Miyata K, Yamamoto T, Hayashi S, Kadowaki M.
2. 発表標題 Preferential neurogenesis of nitreergic neurons in the myenteric plexus of DSS colitis mouse colon causes the colonic dysmotility in the colitis.
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hayashi S, Oku M, Akagi K, Taketani A, Oshima Y, Koizumi K, Kadowaki M, Saito S.
2. 発表標題 Comprehensive mathematical understanding of the complex control system between organs, and challenge for ultra-early precision medicine.
3. 学会等名 Japan-U.S. Research Collaboration Week: Tracking our health trajectories (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023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

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		
米国	University of Michigan		