



※プレスリリースは福岡大学公式ウェブサイト「マスコミ関係の皆さま」でも配信しています
送付枚数 5 枚 (本書含む)

報道関係者 各位

消化管線維化狭窄の治療に新たな展開を拓く

福岡大学医学部の研究成果が米国消化器学会誌に掲載

福岡大学医学部医学科(生理学講座)講師 倉原琳らは、様々な物理化学刺激に応答するTransient Receptor Potential (TRP) チャネルファミリー¹⁾の一員であるTRP Ankyrin1 (TRPA1) チャネルが消化管線維化を惹起する筋線維芽細胞に高発現し、抗線維化薬ステロイドやピルフェニドンおよび食品の一部がTRPA1 チャネルの活性化を介して抗線維化作用を示すことを発見しました。

本研究は、福岡大学医学部医学科生理学講座(主任教授 井上隆司)・病理学講座(主任教授 鍋島一樹)・消化器内科学講座(主任教授 向坂彰太郎)・消化器外科学講座(主任教授 長谷川傑)の共同研究グループによる成果です。

1. 消化管線維化狭窄とは

消化管線維化狭窄とは、消化管の炎症などによって線維化が過剰に生じ、肥厚・硬化して消化管腔の内径が小さくなることです。難病として指定されている炎症性腸疾患・クローン病²⁾の主な合併症で、しばしば腸閉塞³⁾の原因となります。狭窄部は、外科的に切除可能ですが、同じ部位に再発することが多く、患者は生涯にわたり繰り返し切除手術を受けることから、腸からの栄養吸収が困難になる場合があります。

2. 消化管線維化狭窄の治療薬はない

一旦生じた消化管線維化狭窄を改善する確立された治療薬は存在しません。消化管の手術後に線維化による狭窄の予防としてステロイドが使用されてきました。しかし、線維化抑制に関わるステロイドの作用点は依然不明でありました。

3. 消化管線維化狭窄にTRPA1チャネルが関与している

共同研究グループは、線維化を惹起する消化管筋線維芽細胞にTRPA1 チャネルが強く発現しており、その活性化が線維化を促進する細胞内情報伝達を抑制すること、またTRPA1 チャネルの活性化には種々のステロイドまたは肺の線維化の治療薬であるピルフェニドン、さらには食品の一部が効果的であることを発見しました。また、2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)という化学物質で惹起する実験的腸炎モデルマウスを用いて検討したところ、TRPA1 チャネルを遺伝子操作で欠損させたノックアウトマウス⁴⁾では、TRPA1 チャネルが欠損していない野生型マウスに比べて炎症・線維化が著しく亢進し、ステロイドによる抗線維化作用が消失することを報告しました。更にTRPA1 チャネルが、TNBS モデルマウスやクローン病患者から得られた線維化狭窄部位において代償的に増加していることを発見しました。これらの結果は、今まで全く考慮されていなかった線維芽細胞のTRPA1 チャネルが、ステロイドやピルフェニドンによって活性化され、線維化を促進するプロセスに対し強力な「ブレーキ」として働いていることを示唆しています。



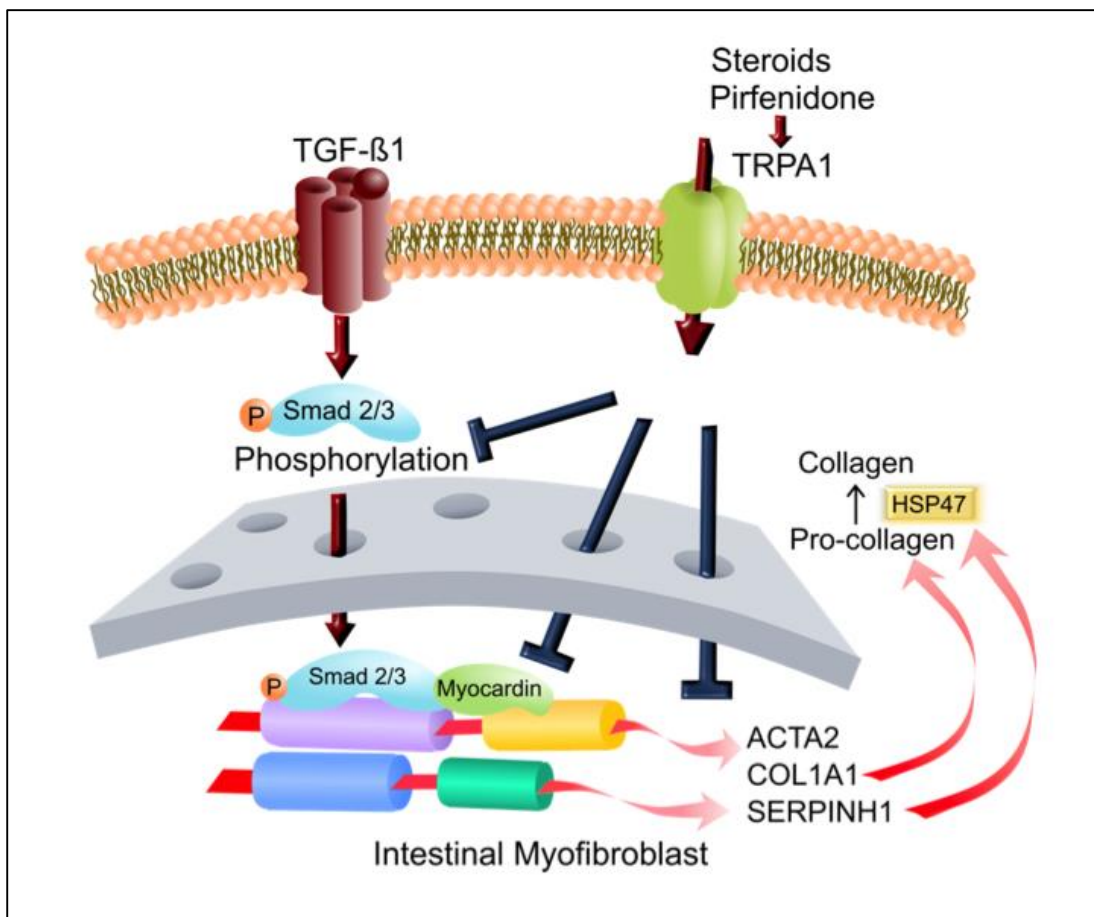
4. TRPA1チャンネルは消化管線維化狭窄に対する新規治療薬開発の標的となる

以上のように、TRPA1チャンネルが消化管の線維化に抑制的に作用することを明らかにすることができました。TRPA1チャンネルを標的とした創薬戦略が、消化管線維化狭窄の治療に新しい展開をもたらすことが期待できます。

本研究は独立行政法人日本学術振興会科研費（15K08978, 22790677, 25860571）；福岡大学女性研究者支援事業；福岡大学総合科学研究チーム(151045)・推奨研究プロジェクト（147104）によるサポートで遂行されました。

TRPA1チャンネル活性化作用を示す食品を探索するための103種類のスクリーニング用食品群（ライブラリー）は、福岡県工業技術センター生物食品研究所（久留米市）から提供されました。

本研究報告は、米国消化器学会（AGA）のCellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology 誌に、2017年12月21日オンライン公開されました。本誌は、米国消化器学会（AGA）が発刊するもので、消化器分野のトップジャーナルGastroenterologyの新しい姉妹誌です。本年6月にインパクトファクター⁵⁾が初めてリリースされる予定です。





< 論文概略 >

● 背景と目的

間葉系細胞（主に線維芽細胞や筋線維芽細胞）は、臓器線維化の過程で重要な役割を果たす。TRPA1

（Transient Receptor Potential Ankyrin 1）チャネルは、消化管粘膜固有層において高発現して、消化管生理機能/病態生理機能へのその寄与は不明である。本研究は、消化管リモデリング⁶⁾における筋線維芽細胞TRPA1チャネルの関与を評価した。

● 方法

線維化を誘導するin-vitro⁷⁾モデルとして、トランスフォーミング増殖因子-β1 (TGF-β1)⁸⁾を用いて消化管筋線維芽細胞株 (InMyoFibs) を刺激した。TRPA1を活性化する様々な化合物や生薬由来成分が線維化に及ぼす作用を検討した。CRISPR/Cas9システム⁹⁾を用いてTrpa1-CRISPRノックアウトマウスを作製した。週1回のトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) 投与を6週間行って、慢性炎症による消化管線維化モデルマウスを作製した。クローン病 (CD) 患者の消化管由来の組織 (非狭窄部位・狭窄部位) を用いて、mRNA定量・タンパク定量・病理組織染色を行った。

● 結果

InMyoFibs細胞では、TRPA1がTRPファミリーメンバーの中で最も高い発現を示した。この細胞において、食品ライブラリー中の甘草¹⁰⁾のエタノール抽出成分がTRPA1チャネルを活性化し、線維化サイトカインTGF-β1刺激下で抗線維化作用が見られることが分かった。甘草に含まれる既知の抗線維化有効成分グリチルリチンやその誘導体グリチルレチン酸、他にステロイドであるプレドニゾロンやメチルプレドニゾロン、抗線維化薬ピルフェニドンも筋線維芽細胞に発現するTRPA1チャネルを活性化することを発見した。ステロイドおよびピルフェニドンによる刺激はCa²⁺流入を惹起した、そのCa²⁺流入は選択的TRPA1チャネル遮断薬HC-030031によって抑制された。ステロイドおよびピルフェニドンは、TGF-β1誘発性HSP47¹¹⁾、I型コラーゲン¹²⁾、およびα-平滑筋アクチン¹³⁾の発現を抑制し、Smad-2リン酸化¹⁴⁾およびMyocardin¹⁵⁾発現を減少させた。

TNBS慢性大腸炎モデルマウスにおける炎症および線維化の程度を比較した結果、野生型マウスよりもTRPA1-/-ノックアウトマウス¹⁶⁾において顕著であった。プレドニゾロンの1週間の浣腸投与は、野生型マウスにおいて線維化病変を有意に抑制したが、TRPA1-/-ノックアウトマウスでは抑制効果が見られなかった。CD患者の線維化狭窄部位において、TRPA1mRNA/タンパク発現は有意に増加した。CD患者およびTNBS処置腸炎モデルマウスの両方の線維化狭窄部位にTRPA1/HSP47二重陽性細胞が増生した。

● 結論

我々の研究結果から様々な物理化学刺激によって活性化されるTRPA1チャネルは組織の線維化に深く関与することを見出した。TRPA1チャネルは消化管筋線維芽細胞に多く発現しており、TRPA1を活性化する刺激は、線維化促進因子の活性化を抑制して抗線維化作用を示した。このようにTRPA1は消化管炎症および線維化に対して保護的に働くため、難治性の消化管炎症/リモデリングの新規治療標的となる可能性がある。



企画部広報課

〒814-0180 福岡市城南区七隈八丁目 19 番 1 号

TEL:092-871-6631 FAX:092-864-9415

<http://www.fukuoka-u.ac.jp/>

福岡大学

FUKUOKA UNIVERSITY

PRESS RELEASE

● 今後の予定

TRPA1チャンネルを活性化する成分を持つ大建中湯¹⁷⁾は、消化器内科・外科分野で広く使われており、その抗線維化作用とTRPA1チャンネルの関連性について検討を行なっている。福岡県工業技術センター生物食品研究所から提供された食品から検出された他のTRPA1チャンネル活性化食品成分を用いた副作用のない消化管線維化狭窄治療薬の創薬（特許出願中）が期待される。生体内でTRPA1チャンネルの機能は温度による調節機構のみ知られているが、ステロイドホルモンによるTRPA1チャンネル活性化機構は重要な生理機能である可能性が高いので、今後検討を進めたい。

論文タイトル 「Activation of Myofibroblast TRPA1 by Steroids and Pirfenidone Ameliorates Fibrosis in Experimental Crohn's Disease」

著者 倉原琳、平石敬三、胡耀鵬、古賀佳織、鬼塚美樹、土居麻友美、青柳邦彦、竹田津英稔、小島大望、藤原祥高、菅昱雯、井上隆司

掲載誌 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology (米国消化器学会誌)

【お問い合わせ先】

福岡大学 医学部医学科 生理学講座

講師：倉原琳（くらはら りん）、教授：井上隆司（いのうえ りゅうじ）

E-mail: hailin@fukuoka-u.ac.jp Tel:092-801-1011(3225), Fax:092-865-6032



用語解説

- 1) TRP チャンネルファミリー：チャンネルは細胞の生体膜にある膜貫通タンパク質の一種で、受動的にイオンを透過させるタンパク質の総称です。チャンネルファミリーとはチャンネルの中でアミノ酸配列や分子構造の類似性から同類と分類したもので、TRP チャンネルはヒトではTRPA、TRPC、TRPM、TRPML、TRPP、TRPVの6つのファミリーに分類されています。
- 2) クローン病：若い人に好発し消化管の全てで起こりうる慢性の炎症で、潰瘍を発症し良くなったり悪くなったりを繰り返すので継続的な治療を必要とします。原因不明で根治療法は確立されていません。
- 3) 腸閉塞：小腸や大腸がふさがり内容物が通過できなくなる状態で、激しい腹痛を伴い急速に全身状態が悪化します。
- 4) ノックアウトマウス：遺伝子操作によって1個以上の遺伝子を無効化した遺伝子組み換えマウスのことです。配列は分かっているが機能が不明な遺伝子の研究に汎用されます。
- 5) インパクトファクター：学術雑誌の重要性や影響度を定量化した指標の一つです。掲載論文の被引用回数から求められます。
- 6) 消化管リモデリング：ここでは消化管の継続的な炎症によって組織の線維化が進むことによる消化管の構造が変化することを示します。
- 7) In vitro：医学・生物学の実験などにおいて試験管内などの人工的に構成された条件下で実験することを示します。
- 8) トランスフォーミング増殖因子-β1 (TGF-β1)：線維芽細胞の形質転換を促して線維化を促進する因子です。
- 9) CRISPR/Cas9 システム：ゲノム配列の任意の部位を削除・置換・挿入することができる遺伝子改変技術です。
- 10) 甘草：マメ科の植物で漢方薬として用いられることの多い生薬です。一方で、強い甘みがあり甘味料としても汎用されています。
- 11) HSP47：線維の主成分であるコラーゲンが正常なタンパク質として機能するのを助ける物質のことです。
- 12) I型コラーゲン：軟骨以外のコラーゲン線維の主成分です。
- 13) α-平滑筋アクチン：平滑筋などの筋細胞で発現しているタンパク質で細胞骨格構成や細胞運動に重要です。
- 14) Smad-2 リン酸化：TGF-β1 受容体のシグナルは転写因子 (DNA の遺伝情報を RNA へ転写するのを調節するもの) である Smad-2 のリン酸化を経て核内に伝達されます。
- 15) Myocardin：平滑筋および心筋に選択的に発現している転写因子です。
- 16) TRPA1-/-ノックアウト：遺伝子是对であるので両方ともノックアウトする(ダブルノックアウト) 場合を-/-と示します。
- 17) 大建中湯：漢方薬で効能・効果は腹部膨満感・腹痛です。術後の腸閉塞(イレウス)の予防効果を期待して用いられることが多い。