

# 最複雑系である腸管の免疫疾患に対する創薬戦略

富山大学・和漢医薬学総合研究所・消化管生理学分野 門脇 真

創薬研究は、主に 必ずしも臨床応用を念頭に置いていない純基礎科学的研究 臨床応用はかなり遠い将来と予想されるシード探索研究 近い将来、臨床応用の可能性が高いとされる研究 すでに臨床応用されている薬物の適応拡大研究の 4 段階に分けることができると考えています。我々の研究室では、キーワードとして「病気と創薬」を掲げ、腸管免疫性疾患をターゲットに、主にヒトの疾患に近い優れた病態モデルを用いて、疾患の病因・病態を解明することにより、和漢薬を含めた新薬の創出を目指しています。その創薬戦略として、1) システム病態生理学からのアプローチ(上記の あるいは に相当)、2) 複雑系である腸管の疾患に対する複合薬物からのアプローチ( に相当)により、研究を進めています。

## システム病態生理学からのアプローチ

### Target (Molecular or Mechanism)-Oriented Approach

#### ・腸管イントラネット

消化管には第三の自律神経系である内在性の腸管壁内神経系があり、脊髄にも匹敵する神経細胞が発達したネットワークを形成し、調和を保ちながら統合的に機能して、中枢からほぼ独立して基本的な諸機能を発現することができます。

生体の維持・存続のために外界から栄養を吸収する根幹となる器官である消化管は、生体と外界とのインターフェイスであり、必然的に多くの外来抗原に絶えず暴露されています。そのため、体にとって必要な栄養素だけを吸収し、病原微生物を排除し、さらに食物抗原などに対しては免疫寛容を引き起こすというような“非自己である異種抗原の排除と免疫寛容”を巧みに操る腸管粘膜免疫系が発達しています。しかしながら、未だ不明な点が多く残されている免疫系であり、免疫学のニューフロンティアとも言われています。

このように生体の三大制御システムである(腸管)神経系、(腸管粘膜)免疫系、(腸管)内分泌系の全てがお互いに精妙なクロストークをしながら(腸管イントラネット)、腸管の恒常性の維持に重要な役割を果たしていると考えられています。しかし、腸管免疫性疾患を「腸管イントラネット」の破綻という視点から研究する試みは、未だあまりありません。

#### ・コリン性抗炎症免疫機構と潰瘍性大腸炎

システム病態生理学の視点から、潰瘍性大腸炎(UC)の治療薬探索の研究を行っています。近年急増している厚生労働省特定疾患であり発症原因不明の UC は、若年で発症し緩解と再燃を繰り返す難治性疾患であり、UC に特異的な薬物治療法は確立されていません。従って、UC の病態を基盤とした特異的な治療薬の創出は急務であります。

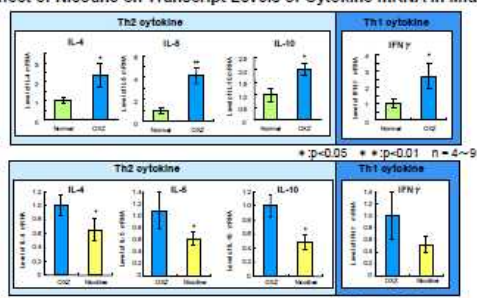
病因、病態形成機序の解析は、最近神経系と免疫系の接点として注目されている迷走神経 - ニコチン受容体(nAChR)を介するコリン性抗炎症免疫機構を中心に行いました。興味あることに、UC の発症頻度が喫煙者で有意に低いこと、ニコチンの経皮投与により UC 患者で症状の緩解が見られたことなどが報告されていますが、その機序等詳細は未だ不明であります。nAChR が「腸管イントラネット」を構成する神経系と免疫系の重要な接点に位置すると考え、UC の病態とコリン性抗炎症・免疫機構との関連を検討しました。

マウス UC モデルで迷走神経を薬物で刺激しますと、UC 治療薬であるステロイドと同等の薬理効果を示し、ニコチンも用量依存的に有意な治療効果を発揮しました。この治療効果は nAChR のサブタイプである  $\alpha 7$  nAChR 等を介していることが示唆されました。また、形態学的検討により、 $\alpha 7$  nAChR が腸管の粘膜層に発現していることを見出しました。

さらに分子免疫学的検討により、UC モデルの全身免疫系(脾臓)で Th1/Th2 バランス

が Th2 系にシフトしていること、腸管粘膜免疫系（結腸）で Th1・Th2 系が共に亢進していることから、全身と腸管粘膜の各免疫系で免疫学的状態が異なっていることが明らかとなりました。さらに、ニコチンは UC モデルの全身及び腸管粘膜の両免疫系の Th1・Th2 系を共に抑制することにより、治療効果を発揮することを明らかにしました。

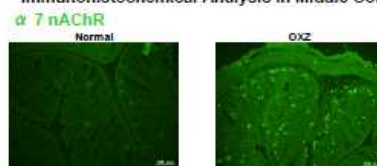
Effect of Nicotine on Transcript Levels of Cytokine mRNA in Middle Colon



In the middle colon (intestinal mucosal immune system), OXZ colitis up-regulated Th1 and Th2 cytokine mRNAs. Nicotine (3.2mg/kg s.c.) suppressed the increase of Th1 and Th2 cytokine mRNAs.

T

Immunohistochemical Analysis in Middle Colon



The colon was stained with FITC-labelled  $\alpha$ -bungarotoxin ( $\alpha$ -BTx) which binds to  $\alpha$ 7 nAChR. The number of  $\alpha$ -BTx-positive cells was up-regulated in the colon of OXZ colitis mouse.

以上、迷走神経を介するコリン性抗炎症・免疫機構を活性化することにより、難治性疾病である潰瘍性大腸炎を緩解に導く可能性があることを示唆することができました。

## 複雑系である腸管の疾患に対する複合薬物からのアプローチ Phenotype (Disease)-Oriented Approach

生体三大制御システムにより精妙に調節されている複雑系である腸管の疾患は、病因や病態が多岐にわたるため、薬理的メカニズムが限られる単剤を用いる治療法では治療効果に限界がある場合も多く、消化管領域は現代医学のなかでも和漢薬治療が多く取り入れられている領域であります。漢方薬は多成分系の複合薬物であり、安全性がある程度確保され、ヒトでの長い使用経験（経験知）に基づく経験的臨床研究がなされてきました。これらの経験知を人類がこれまであまり遭遇してこなかった「現代病」に適応するためには、漢方薬の詳細な作用メカニズムを科学的に解明する研究は必須でありますし、そこから東西医学の枠を越えたより良い治療薬の創出の可能と考えています。

### ・食物アレルギーについて

最近、日本を含め世界的にアレルギー性疾患は急増しており、我国では人口の3割以上が何らかのアレルギー性疾患を有していると推定されています。食物アレルギーの発症は腸管の未成熟な小児に頻度が高く、様々なアレルギー性疾患が連続して発症する、いわゆるアレルギーマーチの引き金となる疾患であります。ところが、その詳細な発症機序・病態形成機序の全貌は未だ明らかではなく、また有用な治療薬もありません。

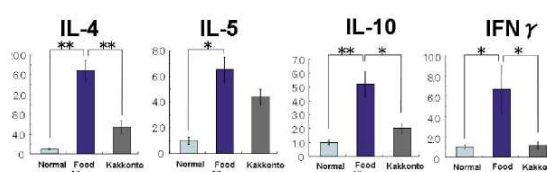
### ・食物アレルギー治療薬としての漢方薬の可能性

食物アレルギーは、粘膜免疫系及び全身免疫系の異常、腸管神経系が関与する消化管運動、消化管の水分・電解質バランスなどが複雑に絡む病態であるため、様々な作用を併せ持つ複合薬物のほうがより治療効果が期待できると考えられます。漢方薬は免疫系調節作用・体質改善を目的として使用されているアレルギーの治療に使用されている不定愁訴の多い消化管では多く使用されていることから、食物アレルギーに対しての漢方薬の治療効果を期待し検討を行いました。

食物アレルギーモデルマウスでは消化器症状が惹起され、粘膜型マスト細胞数及び抗原特異的 IgE 量が劇的に増加しました。サイトカイン・プロファイルは UC モデルマウスと同様に、全身免疫系では、Th1/Th2 バランスが Th2 系にシフトしているのに対し、腸管粘膜免疫系では Th1 及び Th2 系が共に亢進していることから、全身と腸管局所では免疫学的状態が大きく異なっていることが明らかとなりました。

この病態モデルでは、皮膚炎病態モデルや気管支喘息病態モデル等の他のアレルギーモデルで治療効果が報告されている補中益気湯、小青竜湯、十全大補湯は、いずれもアレルギー性消化器症状に対して治療効果を示しませんでした。葛根湯はアレルギー性消化器症状や腸管の炎症、粘膜型マスト細胞数を有意に抑制しました。葛根湯は全身免疫系でのTh1/Th2アンバランスを改善しませんでした。腸管粘膜免疫系においてはTh1・Th2系の免疫亢進状態を抑制しました。

Effect of Kakkonto  
on Expression of mRNA of Cytokines in Proximal Colon



- In the proximal colon, both Th1 and Th2 cytokines mRNA significantly increased in food allergy mice.
- The results indicate that in the colon of the food allergy mice the local immune system became hyperresponsive to allergens.
- In the proximal colon, Kakkonto reduced the enhanced expression of mRNA of these cytokines except for IL-5.

また、特異的に粘膜型マスト細胞に分化させた培養細胞を用いた研究では、葛根湯が高親和性 IgE 受容体の遺伝子発現には影響を与えず、細胞表面にある受容体数を減少させることを明らかにし、新しいメカニズムのアレルギー治療薬となる可能性を示しました。

原因遺伝子を含む複数の疾患感受性遺伝子により規定されている多因子性疾患であるアレルギー疾患の病態解析には、通常の候補遺伝子だけの発現解析だけでは限界があります。また、漢方薬は通常複数生薬から成る複合薬物であり、さらに一つ一つの生薬が多成分を含み、従って漢方薬には多数の作用機序が考えられます。そこで、「複雑系である腸管疾患に対する複合薬物」の作用を解明するため、マイクロアレイ技術を用いたトランスクリプトーム解析（網羅的全遺伝子発現解析）を応用して、病態や漢方薬による治療効果と全遺伝子機能の関連を検索し、システムとして疾患や治療薬の作用機序を理解することが非常に有効となると考えられます。その結果、サイトカイン・シグナル抑制因子 suppressor of cytokine signaling (SOCS)- 1 及び 3 が、食物アレルギーの発症及び葛根湯の作用に関与していることが明らかとなりました。

また、腸管での水分吸収・分泌機能には水チャネルであるアクアポリンが重要な役割を果たしていると考えられています。病態モデルの結腸においては、アクアポリン 8 の遺伝子及びタンパク質の発現が減少していましたが、葛根湯はアクアポリン 8 の発現を正常近くまで回復させることが明らかとなりました。すなわち、葛根湯は、「腸管イントラネット」の機能異常を正常に戻す働きがあることが示唆されました。

最複雑系である腸管の免疫疾患に対する創薬戦略には、Target-Oriented であれ Phenotype-Oriented であれ、あるいは西洋医学的であれ東洋医学的であれ、消化管は生体の三大制御システムが精妙に機能している器官であり、消化管全体を 1 つのシステムとして捉え、“消化管全体のシステムを調整する”という考え方が必要と考えています。

## 謝辞

これらの研究は、消化管生理学分野での研究に参画いただいた山本武助教、影山夏子助教、大学院生の宇都宮奈穂さん、兒玉利尚くん、藤原加苗さん、吉田益奈子さん、学部 4 年の末廣陽子さんによってなされたものであります。ここに深く感謝申し上げます。

門脇 真 (富山大学 和漢医薬学総合研究所 消化管生理学分野)

1987年 静岡県立静岡薬科大学大学院及び国立生理学研究所 博士課程修了  
1987年 藤沢薬品工業株式会社入社(薬理研究所)  
1992~1994年 米国コロンビア大学医学部解剖・細胞生物学科客員研究員  
1995年 藤沢薬品工業・薬理研究所 主任研究員・消化器薬理グループ・リーダー  
1998年 奈良県立医科大学生理学講座助手  
1999~2001年 米国ペンシルベニア大学医学部神経科学科博士研究員  
2004年 奈良県立医科大学生理学講座講師  
2004年 富山医科薬科大学和漢薬研究所教授  
2005年~現在 富山大学和漢医薬学総合研究所教授(大学統合により)