

# 数理モデルから紐解く漢方薬の複雑系動力学

～「未病」の検出からの新たな創薬に向けて～

統括者	小泉 桂一	漢方診断学分野	准教授
所内共同研究者	門脇 真	消化管生理学分野	教授
所内共同研究者	林 周作	消化管生理学分野	助教
申請代表者	合原 一幸	東京大学生産技術研究所	教授
所外共同研究者	奥 牧人	東京大学生産技術研究所	助教

## 【報告セミナー要旨】

### 【要旨】

「未病」という言葉は、西洋医学的な「健康か病気か」の二元論では対処できない中間の状態を指す用語として近年は広く用いられている。このような健康状態から疾病状態への遷移を「分岐」という数学概念として捉えることで、深刻な変化が起こる前に、その予兆をオミクスデータ解析などにより検出するための新たな手法「動的ネットワークバイオマーカー、DNB解析」[1]が提案され、様々な疾患の発症前・早期診断への応用が期待されている。そこで本研究では、このDNB解析を用い、大腸炎、およびメタボリックシンドロームモデルマウスにおける「未病」状態を制御する因子を同定することを目的とした。昨年度までの研究により、大腸炎モデルマウスで同定された238個のDNB遺伝子群に関して、KEGGのpathway解析を行ったところ、トップヒットに、NK細胞を含むMHC I pathwayが選抜された。本研究のDSS誘発性の大腸炎の発症機序は、マクロファージ依存性であることが報告されている。そこで、DNB解析より導き出されたNK細胞の関与を確認するために、定法に従って、NK細胞の除去効果を有する抗アシアロGM1抗体をマウスに投与後、DSSによる大腸炎を発症させた。その結果、NK細胞を除去することで、大腸炎に伴う体重低下の顕著な抑制や症状の顕著な軽減が観察された。さらに、自然発症メタボモデルで同定された157個のDNB遺伝子群中のある種のサイトカインに着目した。そこで、このサイトカインの受容体欠損マウスの脂肪組織を観察した結果、驚くべき事に、脂肪組織重量が30%も減少していることが確認できた。なお、今後、このサイトカインの欠損マウスでの脂肪組織重量の確認、および肥満発症実験を行う予定である。

従来医療の戦略は、疾病形質が獲得された後の状態に対して対処を行うことであった。しかしながら、世界的な医療および経済課題であるメタボリックシンドロームなどは、従来医療では、根本的には対応できないことが明らかになってきている。従って、本研究の最終目標である「未病」状態の検出法を開発し、臨床検査に利用する新たな医療の創生は、この課題を根本的に解決する可能性を秘めた挑戦である。この目的を達成するために、今後も鋭意努力を続けたい。

### 参考文献：

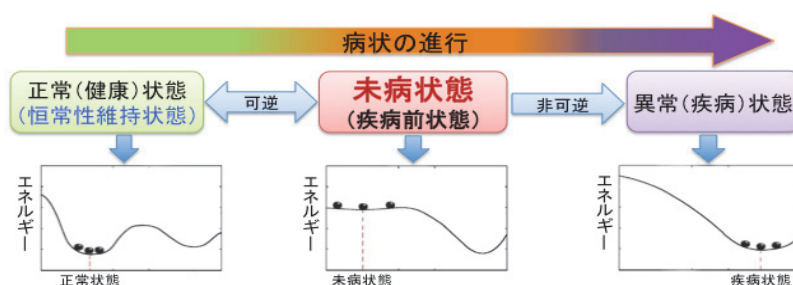
[1] L. Chen, R. Liu, Z.-P. Liu, M. Li, K. Aihara, "Detecting early-warning signals for sudden deterioration of complex diseases by dynamical network biomarkers," *Scientific Reports*, 2:342 (2012).

## ■背景および目的

### (1) 背景

漢方医学の基盤概念として、人は「病気になる前」に「未病」の臨界状態を遷移する。これは、中国最古の医学書「黄帝内経」に、「未病」とは「病気に向かう状態」を指し、この「未病」の時期を捉えて治すことが最高の医療であると記載されている。一方で、平均寿命が長くなり、生活習慣病などが問題になってきた現代において、日々を健康に生きるために、「病気になる前のセルフメディケーション」の実施が全世界的に推奨されてきている（本邦においては、平成25、26年公表の「日本再興戦略」）。興味深いことに、「黄帝内経」より二千数百年を経た現在、深刻な医療課題である生活習慣病などは、まさに「未病」と認識されてきている。しかしながら、この「未病」の存在は科学知へは変換されておらず、経験知に基づく概念論を脱していないのが現状である。

申請代表者の合原らのグループ（東大・生産技術研）は、これまでに、「複雑系数理モデル理論」を疾病や脳へと応用している。特に、疾病を健康状態からの分岐現象と捉えるアイディアは、非線形動力学理論と複雑ネットワーク理論によって、少数サンプル数から得られる遺伝子などの大規模発現データから疾病前状態と動的ネットワークバイオマーカーを同定し、疾病の早期診断や病態悪化の予兆検出に適用できる可能性がある（右図）。



分岐理論に基づく「未病」の概念

### (2) 目的

本研究では (1)メタボリックシンドローム、および(2)炎症・がんを題材として、漢方医薬学研究と複雑系数理モデル理論が融合することで、(1)各種疾患動物モデルを用いて、「未病」状態を記述し検出するための数理的手法を開発し、(2)漢方薬の「未病」状態に対する効果を解析する。将来的には、セルフメディケーションの推進に寄与することを目標としている。なお、漢方医薬学研究は所内グループ（富山大 和漢研）が、「未病」数理モデル理論構築は申請代表者ら（東京大・生産技術研）が遂行する。

## ■方 法

【第1期：平成26年4月～平成27年3月】

- (1) 漢方医薬学研究や漢方治療において、「未病」の存在が予見される広範囲における複数の疾患(1)メタボリックシンドローム、および(2)炎症・がんに関する合計8つの動物モデルにおいて、経日的に血清、および各種疾患組織を回収し、遺伝子の発現強度をDNAマイクロアレイにより検出する。
- (2) 遺伝子の網羅的な発現強度を解析ソースとして、「未病」状態を合原らが確立した疾病前状態として数理モデル化し、それを特徴づける動的ネットワークバイオマーカーを同定することで、上記動物モデルにおける「未病」状態の検出、およびその検出時期の可能性を探索する。

【第2期：平成27年4月～平成28年3月】

第1期の研究結果より得られた「未病」状態を漢方薬が改善するのか否かを解析する。なお、予想される結果としては、以下2点である。漢方薬は、(a)「未病」状態を正常アトラクタへ安定化させる、または(b)可逆可能期間を延長させる。また、使用する漢方薬は、上記疾患に対して、臨床上演用されている漢方薬を選択する。メタボリックシンドローム：防風通聖散、炎症・がん：大建中湯

## ■結果および考察

以下に、その代表的な成果を抜粋する。

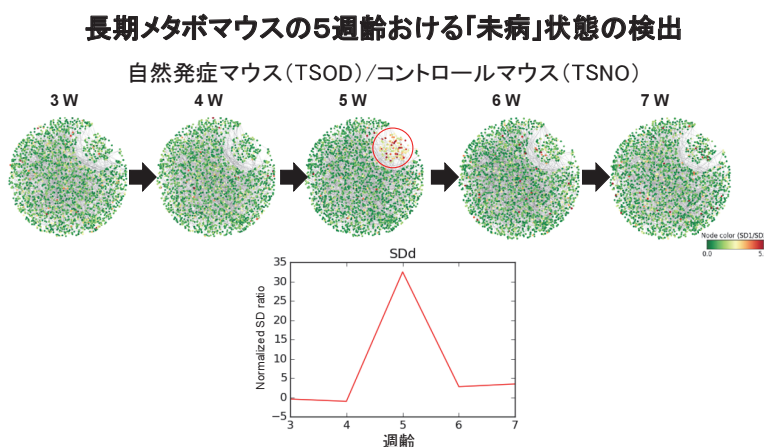
【第1期：平成26年4月～平成27年3月】

### (1) 大規模遺伝子情報の獲得

上記8つのモデルから総遺伝子数約710万の大規模な変化情報を獲得した。

### (2) DNB解析による自然発症メタボモデルでの「未病」状態の検出

自然発症メタボマウス（TSOD、3、4、5、6、7週齢）とその対照群であるTSNOマウスの脂肪組織における遺伝子変化に関して、複雑系数理モデル理論（動的ネットワークバイオマーカー（Dynamical Network Biomarkers, DNB）を用いて解析した。その結果、5週齢時に、我々が定義した「未病」状態が観察され、157個のDNB遺伝子群が同定された（右図）。



### (3) クラスター解析による短期メタボモデルでの漢方薬の効果解明

C57BL6マウスに高脂肪食を摂餌させ、漢方薬（防風通聖散）および対照群として水を1日1回経口投与後、0、1、3、5、7日目のマウス大腸組織における遺伝子変化に関してクラスター解析を行った結果、8つのグループに分類できた。特に、グループ10の遺伝子群は、では経日的に著しく低下するが、防風通聖散はその低下を食い止め普通餌と同様な発現挙動に制御していた。また、パスウェイ解析によりグループ10は、脂肪酸代謝関連遺伝子であった。この遺伝子の大規模解析の結果から、防風通聖散は、包括的に脂肪酸代謝関連遺伝子を制御することで、効果を発揮していることが明らかとなった。

【第2期：平成27年4月～平成28年3月】

### (1) クラスター解析による大腸炎モデルでの漢方薬の効果解明

C57BL6マウスに炎症惹起物質であるDSSを7日間自由飲水にて投与することで、マウスに大腸炎を発症させた。漢方薬（大建中湯）および対照群として水を1日1回経口投与後0、1、3、5、7日目の大腸組織における遺伝子変化に関して、クラスター解析を行った結果、8つのグループに分類でき

た。特に、グループ6の遺伝子群は、水では経日的に著しく上昇するが、大建中湯はその上昇を抑制していた。また、パスウェイ解析によりグループ6は、炎症性関連遺伝子であった。この遺伝子の大規模解析の結果から、大建中湯は、包括的に炎症性関連遺伝子を制御することで、効果を発揮していることが明らかとなった。

## (2) DNB解析による大腸炎モデルでの「未病」状態の検出

第1期では、自然発症メタボモデルの検討を行ったが、その他の疾病モデルにおいても、DNB解析により「未病」状態が検出できるのかを大腸炎モデルマウスを用いて検討した。炎症惹起物質であるDSSを7日間自由飲水にて投与することで、マウスに大腸炎を発症させた。投与後0、1、3、5、7日目のマウス大腸組織における遺伝子変化に関して、複雑系数理モデル理論（DNB）を用いて解析した。その結果、3日目に、我々が定義した「未病」状態が観察され、238個のDNB遺伝子群が同定された。

↓

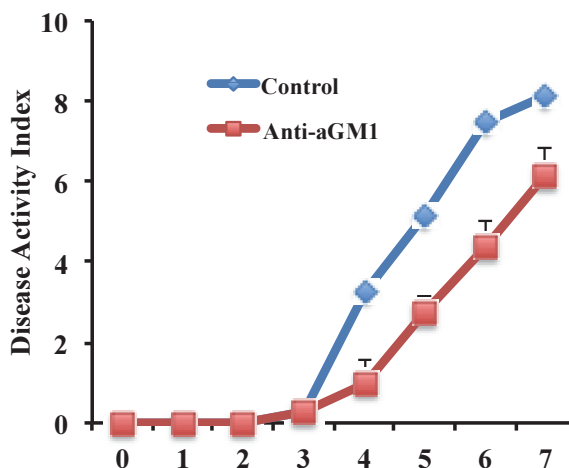
これまでに、DNB理論により「未病」状態を記述する遺伝子群が、メタボモデルにおいては157個、および大腸炎モデルでは238個が同定された。そこで、当初計画通り、この遺伝子群の生物学的な役割の解明を行った。

↓

## (3) NK細胞除去マウスにおける大腸炎の軽減

大腸炎モデルマウスで同定された238個のDNB遺伝子群に関して、KEGGのpathway解析を行ったところ、トップヒットに、NK細胞を含むMHC I pathwayが選抜された。本研究のDSS誘発性の大腸炎の発症機序は、マクロファージ依存性であることが報告されている。そこで、DNB解析より導き出されたNK細胞の関与を確認するために、定法に従って、NK細胞の除去効果を有する抗アシアロGM1抗体をマウスに投与後、DSSによる大腸炎を発症させた。その結果、NK細胞を除去することで、大腸炎に伴う体重低下の顕著な抑制や症状の顕著な軽減が観察された（右図）。

**NK細胞除去による大腸炎症状の軽減**



## (4) サイトカインX欠損マウスにおける脂肪組織重量の低下

自然発症メタボモデルで同定された157個のDNB遺伝子群に関して、KEGGのpathway解析を行ったところ、ヒットするpathwayはなく、これら157個の遺伝子の関連性は報告されていなかった。そこで、この157個の遺伝子を「肥満や糖尿病など」でPubMedにより検索（現在精査中）すると、約1/3の遺伝子は機能未知、1/3は、少数例であるが「肥満や糖尿病など」の報告が検索できた。しかしながら、残り1/3は機能既知であるが、「肥満や糖尿病など」との関連性は全く報告がない遺伝子であった。そこで、これら残り1/3の遺伝子群中のサイトカインXに着目した。なお、サイトカインXは、現在、アトピー性皮膚炎の免疫学的な主要因として着目されているサイトカインである。そ



ここで、サイトカインX受容体欠損マウスの脂肪組織を観察した結果、驚くべき事に、脂肪組織重量が減少していることが確認できた。なお、今後、サイトカインX欠損マウスでの脂肪組織重量の確認、およびサイトカインXおよびサイトカインX受容体欠損マウスでの肥満発症実験を行う予定である。

## ■結論

本研究において、「未病」を経験知から科学知へ変換する理論として、複雑系数理モデル理論（動的ネットワークバイオマーカー（Dynamical Network Biomarkers, DNB）を適用した。

その結果、大腸炎発症の機序としては、これまであまり着目されていなかったNK細胞の関与を明らかにすることができた。さらに、特筆すべき結果として、今後の検討が必要であるが、メタボリック症候群発症に関して、これまで全く報告のなかったサイトカインXの関与が示唆された。

## ■今後の展望

従来医療の戦略は、疾病形質が獲得された後の状態に対して対処を行うことであった。しかしながら、世界的な医療および経済課題であるメタボリックシンドロームなどは、従来医療では、根本的には対応できないことが明らかになってきている。従って、本研究の最終目標である「未病」状態の検出法を開発し、臨床検査に利用する新たな医療の創生は、この課題を根本的に解決する可能性を秘めた挑戦である。これらを達成するためには、1)その他の疾患モデルでの検討（医・薬・和漢研）、2)数理および情報解析方法の向上（理・工）、および3)臨床医（医・病院）の参画が必須である。本研究は、富山大学の第3期中期目標・中期計画に選抜されたことから、医・薬・和漢・理・工・病院からなる全学チームで最終目標に到達すべく努力する所存である。