

厚生労働科学研究費補助金
（政策科学総合研究事業（臨床研究等 ICT 基盤構築・人工知能実装研究事業））
分担研究報告書

課題名 : 層別化 AI による解析及び解釈の精度向上のための研究
 研究分担者名 : 熊ノ郷 淳
 国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器・免疫内科 教授

研究要旨

PRISM 課題である「新薬創出を加速する人工知能の開発」において、大阪大学間質性肺炎コホート臨床データ（診療データ及びエクソソームプロテオームデータ）を収集、構造化し、データ駆動的に IPF 患者の特徴を示すクラスターが有する特徴的な分子群の抽出を行った。抽出された分子群の生物学的意味の知識整理やさらなるパスウェイ解析を行い、線維化と関連するパスウェイやそのパスウェイにおいてハブ分子の特定に至った。見出したパスウェイや特定したハブ分子については、有効な治療法やバイオマーカーの早期開発が望まれている致死的疾患である IPF の新規創薬ターゲットとなる可能性がある。そこで、本グループにおいては、見出したパスウェイや特定したハブ分子について、IPF 患者における発現増強を確認するだけでなく、その経路の下流代謝産物の動態を解析し、ストラテジーの妥当性を科学的に検証した。

A. 研究目的

見出したパスウェイや特定したハブ分子が、IPF 患者において発現しているか、あるいは機能しているかを明らかにする。すなわち、①線維化肺組織における当該分子の発現、リン酸化パスウェイ経路の存在の証明、及び②特定したパスウェイが活性化した場合に産生される代謝物の測定を行う。そのことにより、当該分子の臨床的意義を明らかにするとともに、PRISM プロジェクトにおいて開発した新規創薬ターゲット及び層別化バイオマーカー探索のためのストラテジーの妥当性を科学的に証明する。

B. 研究方法

対象となる患者群は、文書同意を取得した下記の患者

- ①については、肺がん患者（線維症合併及び非合併）
- ②については、IPF 確定診断患者及び器質的呼吸器疾患を有さない受診者

- ① 手術肺の収集：手術時の摘出肺より線維化部分及び正常部分を採取し、ただちに凍結する。
- ② 血液及び尿の採取：受信時に採取する。可能な限り時間や食事後の時間、投薬前後の条件をそろえる。
血液 20 検体、尿 10 検体

（倫理面への配慮）

大阪大学医学部付属病院における倫理規定に基づき、研究計画を行った。

C. 研究結果

PRISM から見出された 9 つの分子について、IPF の組織上での発現増強を確認した。予備検討を行うとともに、半定量解析から発現増強を定量評価にて検証した。

さらに、プロテオミクスのデータに加えて、メタボロミクスを加えることで、多層オミクスの観点から解析結果の妥当性を検証できた。

D. 考察

診療情報とエクソソーム内プロテオームから AI により探索した分子は、肺線維化部位において発現が亢進しているだけでなく、抗線維化薬のターゲット分子と密にリンクしていることから、エクソソームに着目して網羅的分子情報を得たストラテジーの妥当性が証明された。エクソソームは、病変部位の変化を反映するタンパク質群を安定して内包することから、病態との関連の強いタンパクを絞り込めたと考えられ、あらためてリキッドバイオブシーとしての有用性が検証された。今回見いだした分子の中には、IPF との強い関連性が報告されている分子を同時に抽出したことは、本解析の妥当性を示唆する。本ストラテジーは、既報を用いる知識ベースの検索に基づくものと異なり、リアルワールドデータを用いる解析であり、創薬を導き出すための新規ストラテジーとして期待される。

E. 結論

見出したパスウェイや特定したハブ分子が、IPF 患者における発現増強を確認できただけでなく、同定された創薬ターゲットの抗線維化作用も確認され、本ストラテジーの妥当性も検証された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Characteristics of hospitalized patients with COVID-19 during the first to fifth waves of infection: a report from the Japan COVID-19 Task Force. Lee H, Chubachi S, Namkoong H, Asakura T, Tanaka H, Otake S, Nakagawara K, Morita A, Fukushima T, Watase M, Murakami K, Okada Y, Koike R, Takeda Y, Kumanogoh A, Imoto S, Miyano S, Ogawa S, Kanai T, Fukunaga K; Japan COVID-19 Task Force. BMC Infect Dis. 2022 Dec 12;22(1):935
- 2) Real-world impact of antifibrotics on prognosis in patients with progressive fibrosing interstitial lung disease. Niitsu T, Fukushima K, Komukai S, Takata S, Abe Y, Nii T, Kuge T, Iwakoshi S, Shiroyama T, Miyake K, Tujino K, Tanizaki S, Iwahori K, Hirata H, Miki K, Yanagawa M, Takeuchi N, Takeda Y, Kida H, Kumanogoh A. RMD Open. 2023 Jan;9(1):e002667. doi: 10.1136/rmdopen-2022-002667.
- 3) A sex-biased imbalance between Tfr, Tph, and atypical B cells determines antibody responses in COVID-19 patients. Søndergaard JN, Tulyeu J, Eda Hiro R, Shirai Y, Yamaguchi Y, Murakami T, Morita T, Kato Y, Hirata H, Takeda Y, Okuzaki D, Sakaguchi S, Kumanogoh A, Okada Y, Wing JB. Proc Natl Acad Sci U S A. 2023 Jan 24;120(4):e2217902120. Infect Dis. 2022 Dec 12;22(1):93
- 4) Next-generation proteomics of serum extracellular vesicles combined with single-cell RNA sequencing identifies MACROH2A1 associated with refractory COVID-19. Kawasaki T, Takeda Y, Eda Hiro R, Shirai Y, Nogami-Itoh M, Matsuki T, Kida H, Enomoto T, Morita T, Yoshimura H, Yamamoto M, Nakatsubo D, Miyake K, Shiroyama T, Hirata H, Adachi J, Okada Y, Kumanogoh A. Inflamm Regen. 2022 Nov 30;42(1):53.
- 5) Establishment and clinical application of SARS-CoV-2 catch column. Isaka Y, Yoshiya T, Ono C, Uchiyama A, Hirata H, Hamaguchi S, Kutsuna S, Takabatake Y, Saita R, Yamada T, Takahashi A, Yamato M, Nohara Y, Tsuda S, Anzai I, Kimura T, Takeda Y, Tomono K, Matsuura Y. Clin Exp Nephrol. 2023 Mar;27(3):279-287.
- 6) Consecutive BNT162b2 mRNA vaccination induces short-term epigenetic memory in innate immune cells. Yamaguchi Y, Kato Y, Eda Hiro R, Søndergaard JN, Murakami T, Amiya S, Nameki S, Yoshimine Y, Morita T, Takeshima Y, Sakakibara S, Naito Y, Motooka D, Liu YC, Shirai Y, Okita Y, Fujimoto J, Hirata H, Takeda Y, Wing JB, Okuzaki D, Okada Y, Kumanogoh A. JCI Insight. 2022 Oct 25:e163347.
- 7) The whole blood transcriptional regulation landscape in 465 COVID-19 infected samples from Japan COVID-19 Task Force. Wang QS, Eda Hiro R, Takeda Y, Kumanogoh A. Nat Commun. 2022 Aug 22;13(1):4830. doi: 10.1038/s41467-022-32276-2.
- 8) DOCK2 is involved in the host genetics and biology of severe COVID-19. Namkoong H, Eda Hiro R, Takeda Y, Takano T, Nishihara H, Takeda Y, Kumanogoh A, S Okada Y. Nature. 2022 Aug 8. doi: 10.1038/s41586-022-05163-5.

- 9) Multi-trait and cross-population genome-wide association studies across autoimmune and allergic diseases identify shared and distinct genetic component. Shirai Y, Nakanishi Y, Suzuki A, Konaka H, Nishikawa R, Sonehara K, Namba S, Tanaka H, Masuda T, Yaga M, Satoh S, Izumi M, Mizuno Y, Jo T, Maeda Y, Nii T, Oguro-Igashira E; Biobank Japan Project, Morisaki T, Kamatani Y, Nakayamada S, Nishigori C, Tanaka Y, Takeda Y, Yamamoto K, Kumanogoh A, Okada Y. Ann Rheum Dis. 2022 Jun 26:annrheumdis-2022-222460.
- 10) CD14 and lipopolysaccharide-binding protein as novel biomarkers for sarcoidosis by proteomics of serum extracellular vesicles. Futami Y, Takeda Y, Koba T, Narumi R, Nojima Y, Ito M, Nakayama M, Ishida M, Yoshimura H, Naito Y, Fukushima K, Shirai Y, Suga Y, Satoh S, Futami S, Miyake K, Shiroyama T, Inoue Y, Adachi J, Tomonaga T, Ueda K, Kumanogoh A. Int Immunol. 2022 Jun 4;34(6):327-340.

2. 学会発表

- 1) 次世代プロテオミクスによる気管支喘息 T2 炎症の新規 BM 開発
Identification of novel biomarkers for asthma reflecting type 2 inflammation by the next generation proteomics of serum exosomes 吉村 華子、武田 吉人、熊ノ郷 淳¹ 第 62 回呼吸器学会 学術講演会 2022/4/22～4/24 京都
- 2) エクソソームの次世代プロテオミクスによるサルコイドーシスの新規バイオマーカー開発
網屋沙織、武田吉人、伊藤眞里、熊ノ郷 淳 第 62 回呼吸器学会学術講演会 2022/4/22～4/24 京都
- 3) エクソソームの定量プロテオミクスによる悪性胸膜中皮腫の新規バイオマーカー同定
安部 祐子、武田吉人、伊藤眞理、熊ノ郷淳 第 62 回呼吸器学会学術講演会 2022/4/22～4/24 京都
- 4) 次世代プロテオミクスによる進行性線維化を伴う間質性肺疾患の新規バイオマーカー探索
白井雄也、武田吉人、足立雄一、榎本貴俊、網屋沙織、足立淳、夏目やよい、伊藤眞里、熊ノ郷淳 第 62 回呼吸器学会学術講演会 2022/4/22～4/24 京都
- 5) エクソソームの次世代プロテオミクスによる線維性過敏性肺炎の新規バイオマーカー開発
原 伶奈、武田 吉人、足立 淳、夏目 やよい、伊藤 眞里、井上 義一、広瀬 雅樹、熊ノ郷 淳 第 8 回日本細胞外小胞学会学術集会(2022/10/24-25 東京大学)
- 6) 次世代プロテオミクスによる気管支喘息 T2 炎症の新規 BM 開発 吉村 華子、武田 吉人、熊ノ郷 淳 第 71 回日本アレルギー学会学術大会 2022/10/7-10/9 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし