

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17430

研究課題名（和文）Epstein-Barr virus再活性化による潰瘍性大腸炎難治化の機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the contribution of Epstein-Barr virus reactivation to refractory ulcerative colitis

研究代表者

山田 聡 (Yamada, Satoshi)

京都大学・医学研究科・医員

研究者番号：90837692

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）：潰瘍性大腸炎の難治化において、増悪因子として既に知られているcytomegalovirusと同じヘルペスウイルスであるEpstein-Barr virus (EBV) の再活性化に着目し、検討を行った。活動期UC患者の大腸炎症粘膜において、EBV再活性化が50%に見られ、EBV再活性化率はUC疾患活動性および内視鏡的重症度に相関が見られ、UC増悪因子と考えられた。EBV再活性化の危険因子として抗TNF- α 抗体製剤およびカルシニューリン阻害剤治療があり、TNF- α がEBVの溶解感染を抑制的に調整している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

潰瘍性大腸炎（UC）患者数は増加の一途を辿り、20万人を越えている。患者数の増加に伴い、内科的治療に抵抗性を示す難治例も増加している。難治化は複合的な要因によると考えられているが、詳細は明らかになっていない。近年抗TNF- α 抗体製剤をはじめ、免疫抑制治療の研究・開発が進み、高い有効性が示されているが、難治例の原因の一つとしてこれら治療に起因するEBV再活性化の関与が示唆された。今後、再活性化の抑制や抗ウイルス治療といった新たな治療戦略に繋がる可能性も示唆された。

研究成果の概要（英文）：We focused on the reactivation of Epstein-Barr virus (EBV), which is same herpesvirus family as cytomegalovirus, already known as an exacerbating factor of ulcerative colitis (UC). EBV reactivation was detected in colonic inflamed mucosa of 50% of UC patients. EBV reactivation rate was correlated with UC disease activity and endoscopic severity, considered to be an UC exacerbation factor. Treatment with Anti-TNF- α antibody or calcineurin inhibitor was a risk factor for EBV reactivation, suggesting that TNF- α may suppress EBV lytic infection in refractory UC.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：炎症性腸疾患 潰瘍性大腸炎 Epstein-Barr virus

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎 (UC) は消化管に炎症と寛解を繰り返す原因不明の慢性炎症性腸疾患であり、その患者数は増加の一途を辿っている。内科的治療に抵抗性を示す難治例も増加しているが、難治化には複合的な病因が関与しており、ウイルス感染もその一因であると考えられている。臨床的・基礎的研究から、cytomegalovirus (CMV) 再活性化が UC 活動性に寄与することがこれまで報告されてきた。一方、UC 活動性において、CMV と同じヘルペスウイルスである Epstein-Barr virus (EBV) の関与が近年報告されてきた。

臨床的な検討として大腸全摘に至った難治性 UC の手術検体による検討において、EBV が潜伏感染した B リンパ球は活動性の高い炎症粘膜下に集簇していたと報告されている。また、EBV 感染合併 (EBER 陽性) UC では非感染例と比べ、疾患活動性や内視鏡重症度がより重症化することも報告されている。我々は、UC 患者の炎症粘膜において 50% が EBV を潜伏感染から再活性化し、溶解感染していることを同定してきた。この為、消化管における EBV 再活性化の機序を明らかにすることは、難治性 UC の治療において新たな治療戦略となる可能性がある。

2. 研究の目的

UC は消化管に炎症と寛解を繰り返す原因不明の炎症性腸疾患である。内科的治療への抵抗性には複合的な病因が関与しており、ウイルス感染もその一因と考えられている。これまで CMV 再活性化が UC 活動性に寄与すると報告されてきた。一方 UC 活動性において、CMV と同じヘルペスウイルスである EBV の関与が近年報告されてきた。

EBV 感染合併 UC では非感染例と比べ、疾患活動性や内視鏡重症度がより重症化すると報告されている。しかしながら、消化管において B リンパ球に潜伏感染した EBV が再活性化し溶解感染へ移行する機序や、EBV 再活性化が UC 活動性に寄与する機序については、未だ明らかでない。本研究において、大腸炎症粘膜における EBV 再活性化の機序の解明を目指す。

3. 研究の方法

当初マウスにおける感染実験を予定していたが、ヒト検体を用いた EBV-DNA の定量を恒常的に行う事が可能となり、大幅なヒト検体の解析が可能となったことから、ヒト検体を主体とした研究を行った。また、同検体を用いて同時に CMV-DNA の PCR も測定可能となっており、CMV との関連についても検討を行った。具体的には大腸内視鏡検査を施行した活動期 UC 患者より、内視鏡施行時に大腸炎症粘膜より生検検体を採取し、real time-PCR で EBV および CMV の再活性化を解析した。EBV-DNA の定量は BALF5 gene を、CMV-DNA の定量は Human CMV (HCMV) immediately early gene をそれぞれプライマーに設定し、ウイルス量が 10 copies/ μ gDNA 以上をそれぞれ再活性化と定義した。

解析対象の UC 患者 244 例は、臨床的活動度は中等度～重度、内視鏡的重症度も中等度～重度で、解析時の治療は重複を含め 5-アミノサリチル酸製剤 65%、ステロイド 23%、チオプリン製剤 36%、カルシニューリン阻害剤 24%、抗 TNF- α 抗体製剤 10%であった。EBV および CMV 再活性化と UC 患者背景、治療薬剤、内視鏡的特徴について比較した。

4. 研究成果

(1) 当院で従来解析されていた症例から約 200 症例ほどのヒト検体を追加して解析が可能となった(244 症例)。結果として難治性 UC 患者の大腸炎症粘膜において、50%の症例で EBV 再活性化を認めた。EBV 再活性化は疾患活動性および内視鏡的重症度に正の相関が見られたが、ウイルス量と重症度とに相関は見られなかった。EBV 再活性化を伴う UC 患者の内視鏡的特徴として、浮腫状粘膜や潰瘍形成が有意に多く見られ、UC 炎症粘膜内の病態として、EBV 再活性化が血流障害と関与する可能性が示唆された。このことから難治性 UC の重症化に EBV 再活性化が関与する可能性が示唆された。

(2) EBV 再活性化の危険因子として、タクロリムス治療 (Odds Ratio[OR] 3.5) および抗 TNF- α 抗体製剤治療 (OR 4.2) が同定された。このことから、特に TNF- α が EBV 再活性化を抑制的に調整している可能性が示唆された。

(3) 難治性 UC 患者の大腸炎症粘膜において、30%の症例で CMV 再活性化を認めた。CMV 再活性化と臨床的重症度とに相関は認めなかった。ただし、ステロイド抵抗例の危険因子として CMV 活性化を認め (OR 4.7) CMV 再活性化がステロイド抵抗性に関与することがわかった。

多くのヒト検体を用いた結果より UC 難治化の要因の一つに EBV 再活性化が示唆され、EBV の潜伏感染から溶解感染への移行を TNF- が抑制的に制御している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Wagatsuma Kohei, Yamada Satoshi, Ao Misora, Matsuura Minoru, Tsuji Hidemi, Iida Tomoya, Miyamoto Kentaro, Oka Kentaro, Takahashi Motomichi, Tanaka Kiyoshi, Nakase Hiroshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Diversity of Gut Microbiota Affecting Serum Level of Undercarboxylated Osteocalcin in Patients with Crohn's Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1541 ~ 1541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu11071541	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 Ando Katsuyoshi, Fujiya Mikihiro, Nomura Yoshiki, Inaba Yuhei, Sugiyama Yuya, Kobayashi Yu, Iwama Takuya, Ijiri Masami, Takahashi Keitaro, Ueno Nobuhiro, Kashima Shin, Moriichi Kentaro, Tanabe Hiroki, Mizukami Yusuke, Akasaka Kazumi, Fujii Satoshi, Yamada Satoshi, Nakase Hiroshi, Okumura Toshikatsu	4. 巻 100
2. 論文標題 The Incidence and Risk Factors of Venous Thromboembolism in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Prospective Multicenter Cohort Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 229 ~ 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000495289	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

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Satoshi Yamada, Shuji Yamamoto, Yusuke Honzaawa, Hiroki Kitamoto, Makoto Okabe, Minoru Matsuura, Hiroshi Seno
2. 発表標題 Risk factors of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus reactivation in colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis
3. 学会等名 The 7th Annual Meeting of AOCC (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoshi Yamada, Shuji Yamamoto, Hiroshi Seno
2. 発表標題 Reactivation of Epstein-Barr virus in the colonic mucosa of active ulcerative colitis
3. 学会等名 JDDW 2019 Kobe
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoshi Yamada, Shuji Yamamoto, Yusuke Honzawa, Yuki Hayashi, Hiroki Kitamoto, Makoto Okabe, Hiroshi Seno
2. 発表標題 Reactivation of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus behaves differently in pathophysiology of ulcerative colitis
3. 学会等名 15th congress of ECCO (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田聡、山本修司、本澤有介、妹尾浩
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎における上部消化管病変の検討
3. 学会等名 第102回 日本消化器内視鏡学会 近畿支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田聡、山本修司、本澤有介、北本博規、岡部誠、妹尾浩、松浦稔、仲瀬裕志
2. 発表標題 MEFV遺伝子のSNPがCrohn病臨床経過に及ぼす疾患修飾についての検討
3. 学会等名 第56回 日本消化器免疫学会 総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱田健輔、北本博規、岡部誠、山田聡、本澤有介、山本修司、妹尾浩
2. 発表標題 当院における高齢者潰瘍性大腸炎に対する生物学的製剤投与例の検討
3. 学会等名 第17回 日本消化管学会学術集会 総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田聡、林佑樹、山本修司、北本博規、岡部誠、本澤有介、妹尾浩
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎におけるチオプリン製剤最適化の指標に関する検討
3. 学会等名 第10回 日本炎症性腸疾患学会 学術集会
4. 発表年 2019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