

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：12501
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2021
課題番号：20K16979
研究課題名(和文)潰瘍性大腸炎と原発性硬化性胆管炎に共通する免疫機構解析による疾患形成機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of immune mechanisms common to ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis to elucidate the mechanisms of disease formation.

研究代表者
太田 佑樹(Ohta, Yuki)
千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80831510
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：潰瘍性大腸炎(UC)は腸管の炎症を主体とする原因不明の疾患である。UCは多彩な腸管外合併症により日常生活や予後の悪化を認めることがある。原発性硬化性胆管炎(PSC)はUCの腸管外合併症の一つで、慢性進行性に胆管を破壊する原因不明の難病である。本研究の目的はUC、PSCだけでなく、PSC合併UCに共通して免疫動態に関わるCD4+T細胞を用いて、その病態を明らかにすることである。UC、PSC、PSC合併UCおよび健康人の末梢血CD4+T細胞の遺伝子発現プロファイリングを行った。UCとPSCのCD4+T細胞では疾患特異的な免疫関連分子の発現変動が見られ、PSC合併UCではその両者の特徴が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義
潰瘍性大腸炎(UC)と原発性硬化性胆管炎(PSC)はいずれも原因不明の難病であり、両疾患の合併例はそれぞれの単独例よりも生命予後が悪い。本研究ではUC、PSCおよびPSC合併UCに共通して免疫動態に関わるCD4+T細胞に注目し、その遺伝子発現プロファイリングを行った。UCとPSCのCD4+T細胞では疾患特異的な免疫関連分子の発現変動が見られ、PSC合併UCではその両者の特徴が認められた。このことから疾患特異性の高い新規バイオマーカーを探索し、特にPSC合併UCを早期診断し生命予後の改善に寄与できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Ulcerative colitis (UC) is a disease of unknown cause in which inflammation occurs primarily in the intestinal tract. UC can lead to a variety of extraintestinal manifestations that worsen daily life and prognosis. Primary sclerosing cholangitis (PSC) is one of the extraintestinal manifestations of UC and is a chronic, progressive, bile duct-destroying disease of unknown cause. The purpose of this study is to elucidate the pathogenesis of this disease using CD4+ T cells, which are commonly involved in the immunokinetics of not only UC and PSC, but also PSC complicated UC. Gene expression profiling of peripheral blood CD4+ T cells from UC, PSC, PSC-merged UC and healthy subjects was performed. Variable expression of disease-specific immune-related molecules was observed in CD4+ T cells from UC and PSC, and both features were observed in PSC-associated UC.

研究分野：消化器内科

キーワード：潰瘍性大腸炎 原発性硬化性胆管炎 CD4+T細胞

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎 (UC) と原発性硬化性胆管炎 (PSC) は自己免疫機序により形成される難治性消化器疾患である。病態の異なる両疾患であるが、しばしば合併することがあり共通する病態形成機序が想定されているが、その詳細は明らかではない。

UCは腸管の炎症を主体とする原因不明の疾患である。若年者に好発し、近年、本邦を含むアジア諸国で急速な増加を示している。またUCは大腸を中心に粘膜障害を来す疾患であるが、腸管外にも合併症を来すことが知られており、これにより日常生活や予後の悪化を認めることがある。治療としては以前より使用されていた5-アミノサリチル酸製剤と副腎皮質ステロイドなどに加え、近年、分子標的薬 (生物学的製剤) が新規開発されている。しかし、多彩な治療オプションを用いても寛解を得られない症例や再燃をくり返し大腸全摘が必要となる症例もある。

一方、PSCは若年～高年男性に好発する。慢性進行性に胆管が破壊され、高率に胆汁うっ滞による肝硬変へと至る。免疫抑制剤は無効であり有効な治療法が存在しないため、肝移植の良い適応とされる。しかし肝移植後にも再発し、生涯にわたり複数回の移植が必要となる症例もある。慢性的な炎症により高率に胆管癌を発症するため定期的なスクリーニングも必要である。

PSC合併UCはUCの約0.8～8%に合併し、PSCの約40%に合併する。治療法はUCに準じるが、合併例はUCとPSCの単独症例よりも生命予後が悪いことが報告されている。したがって、合併例の早期発見・早期診断はその生命予後を改善する可能性がある。さらにはUC、PSCとPSC合併UCの病態解明により共通するメカニズムを見出すことは難病である両疾患の新規治療開発につながる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究ではPSCとUCのCD4⁺T細胞の免疫コモナリティを示し、その動態からPSC合併UCの病態像に迫る。PSCとUCの病態形成にはCD4⁺T細胞が関与することが報告されている。UCの病態形成においてCD4⁺T細胞分画内のTh1/Th2バランスの破綻によるTh2優位環境が関連するという、いわゆるTh1/Th2仮説が知られる。また、Th17や、制御性T細胞 (Treg) との関連も示されている。また、PSCではIL-17産生CD4⁺T細胞と病態の関連が知られる。また家族性PSCではCD100の変異がT細胞の自己免疫機序を誘導することが報告された。このように、UCとPSCの病態においてT細胞機能に注目が集まっている。しかし、PSC合併UCにおけるT細胞機能の解析はほとんど行われていない。そのため、本研究では遺伝子発現解析を基にPSCとUCのCD4⁺T細胞の比較を行い、その共通する病態像を明らかにする。そして、それらがPSC合併UCの病態形成にどのような役割を示すかを明らかにする (図1)。

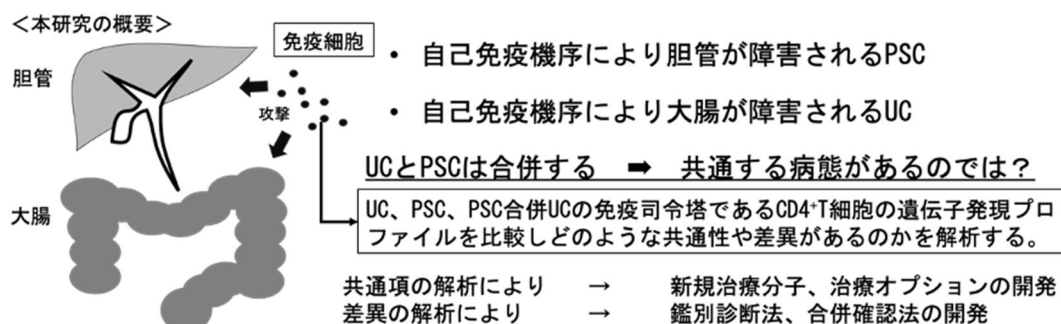


図1. 概要図

3. 研究の方法

UC、PSC、PSC 合併 UC および健常群の CD4+T 細胞の遺伝子発現プロファイルを明らかにし、パスウェイ解析を行う。各々の疾患感受性遺伝子を内包するパスウェイ群を抽出し 3 群間で比較する。これにより、3 群間での CD4+T 細胞の分子生物学的変動の共通性を見出し、それに関連する疾患感受性遺伝子を抽出する。さらに UC、PSC、PSC 合併 UC の CD4+T 細胞の遺伝変異と発現情報を含んだパスウェイ群を抽出し、その CD4+T 細胞がどのような免疫動態を示すかを解析する。これを用い UC、PSC、PSC 合併 UC の免疫動態の相同性と相違性を包括的に明らかにする。

4 . 研究成果

UC と PSC 患者と健常人から得られた末梢血 CD4+T 細胞の遺伝子発現プロファイルを、RNA シーケンスを用い網羅的に解析した。3 群間比較では 1,486 の遺伝子が発現変動を示していた (Wald 検定、 $p < 0.05$)。健常人と比して UC 群では 1200 の遺伝子が発現亢進し、286 の遺伝子が発現低下していた。PSC 群では 1250 の遺伝子が発現亢進し、236 の遺伝子が発現低下していた。UC と PSC の比較では 851 遺伝子が UC で亢進し、635 遺伝子が PSC で亢進していた。これらに対して階層的クラスタリングを行うと 3 群は明確に群別化された (図 2)。

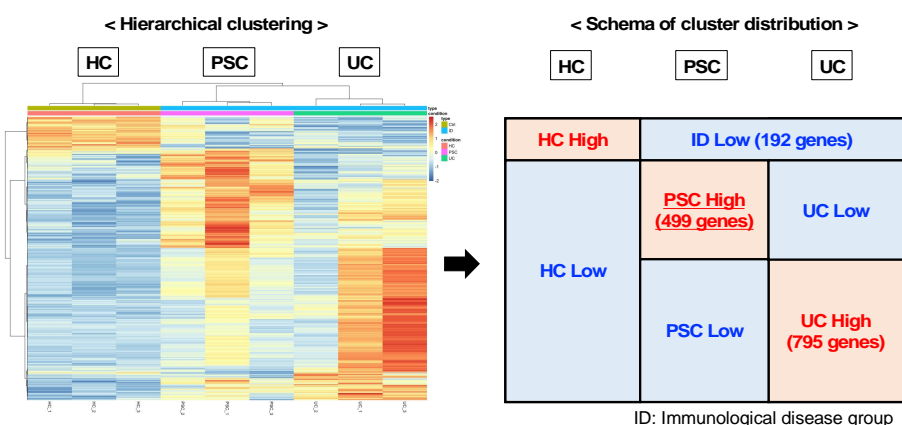


図 2 . 3 群間で発現変動を示した遺伝子群の階層的クラスタリングとクラスターの模式図

クラスタリングの結果から遺伝子発現のパターン解析を行うと、他の 2 群と比較して UC で特徴的に高発現を示すクラスターと、PSC で高発現を示すクラスターを得ることができた。それらの特徴的な高発現を示す遺伝子群の機能解析のため Gene Ontology 解析を行った。UC で高発現する遺伝子クラスターには 795 遺伝子が含まれ、GO 解析では 186 の機能遺伝子群が抽出された ($P < 0.05$)。PSC で高発現する遺伝子クラスターには 499 遺伝子が含まれ、GO 解析では 66 の機能遺伝子群が抽出された ($P < 0.05$)。そのうち 44 の機能遺伝子セットが UC と PSC 群で重複していた。UC と PSC 群で重複して亢進する遺伝子機能をその有意差検定の結果からランキング化すると「Regulation of immune response」、「Immune response」、「Innate immune response」が上位 3 位として抽出され、その他に多くの免疫に関連した遺伝子群が含まれていた。「Regulation of immune response」には CD300 ファミリー分子が含まれていた。これのうち CD300A、CD300LF は UC クラスターに含まれ、CD300C と CD300E は PSC クラスターに含まれていた。定量的 PCR を用い、PSC 合併 UC を 3 例加え 4 群での比較を行ったところ、有意差は認めなかったものの PSC と UC 群での発現パターンは概ね再現が得られた。興味深いことに PSC 合併 UC 症例では全ての CD300 ファミリーが健常人と比べ高発現を呈する傾向にあった。CD4+T 細胞の遺伝子発現プロファイリングにより、UC と PSC の免疫コモナリティを形成する遺伝子群が存在することが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 張家祺、太田佑樹ら。
2. 発表標題 INVESTIGATION OF AUTOIMMUNE MECHANISMS SHARED IN CD4+ T CELLS OF ULCERATIVE COLITIS AND PRIMARY SCLEROSING CHOLANGITIS
3. 学会等名 DDW(Digestive Disease Week) 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022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
---------	---------