

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 15 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590707

研究課題名（和文） 血清中マイクロRNAを用いた炎症性腸疾患に対する  
治療効果予測法の確立

研究課題名（英文） Serum miRNA Levels in Patients with Inflammatory Bowel Disease.

研究代表者

中道 郁夫（NAKAMICHI IKUO）

九州歯科大学・総合内科学・助教

研究者番号：60419570

研究成果の概要（和文）：

我々はクローン病の標準的な分子標的療法である抗 TNF $\alpha$  抗体投与の前後で血清中 miRNA を網羅的に測定した。結果として 12 個の miRNA で変化を認めた。また、緩解群と非緩解群の比較においては、緩解群で let-7d と let-7e が有為に増量していることを確認した。血清中 let-7 の分子生物学的意義は今後の検討課題であるが、T リンパ球のアポトーシスへの関与が報告されている。この結果より治療抵抗性のクローン病に対して let-7 が臨床マーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We measured serum miRNA before and after the antiTNF $\alpha$  antibody administration that was standard molecular target therapy of the Crohn's disease. As a result, showed a change in 12 miRNAs. Also, in the comparison between remission group and non-remission group, we confirmed that let-7d and let-7e were increased in a remission group. The molecular biologic significance of serum let-7 should be examined. It may be involved in apoptosis of T lymphocytes causing inflammation. As a result, let-7 may become a therapeutic marker of the refractory Crohn's disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：下部消化管学（小腸、大腸）

## 1. 研究開始当初の背景

（1）潰瘍性大腸炎とクローン病は炎症性腸疾患と呼ばれ難治性の疾患である。研究開始当初においても難治性であることに変わりは無かったが、クローン病においては新規の

分子標的療法として抗 TNF- $\alpha$  抗体が臨床的な有効性を示していた。しかしながら、治療当初から反応しない 1 次無効例や、免疫機構によると思われる 2 次無効例が問題となっており、対象患者や投与方法などが臨床上の問

題となっていた。また、潰瘍性大腸炎においては以前よりステロイドの内服が有効であったが、ステロイドの副作用は周知の通りであった。

(2) 今回の測定対象としたマイクロ RNA (miRNA) は長らく機能不明であったが、研究開始当初は多くの生物で翻訳制御にかかわる重要な調節分子であることが報告されていた。しかしながら、一部の miRNA が同定された段階で、種による違いや細胞・組織による違いも明らかではなかった。このような状況のなか、我々は世界に先駆けてヒト血清中でも miRNA が測定可能であることを確認していた。

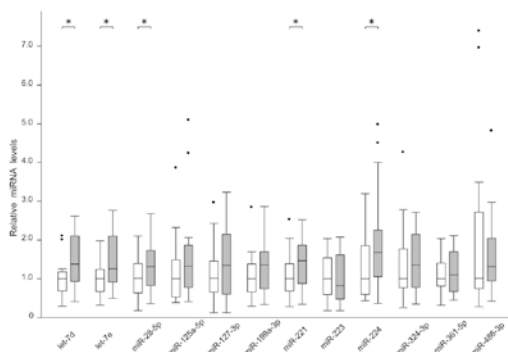
## 2. 研究の目的

難治性疾患として治療法の選択に難渋する炎症性腸疾患に対して、分子的重要性が明らかとなってきた miRNA に着目し、血清中の miRNA 量を診断や治療の指標として検討する。

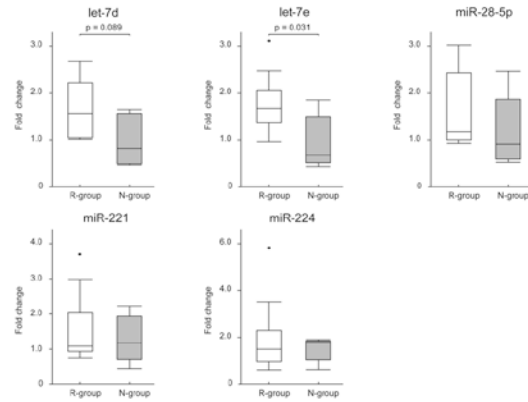
## 3. 研究の方法

確定診断を受けたクローン病と潰瘍性大腸炎で、保存的な外来治療で緩解が得られなかった症例を対象とした。評価対象の治療法としては、クローン病ではインフリキシマブ、潰瘍性大腸炎ではステロイドを候補とした。治療開始前に、活動性の評価、miRNA 定量用に血清の採取を行う。また、治療開始から6週間後にも活動性の評価、血清の採取を行った。血清から RNA 抽出試薬を用いて miRNA を濃縮した後、アレイを用いた網羅的測定を行った。臨床像との比較により治療効果と関連するマーカーとして有望な miRNA が選定された後は、リアルタイム RT-PCR による定量で追試を行った。

## 4. 研究成果



(1) クローン病における検討では 12 種類の miRNA で治療前後に変化が認められた。これらの配列を 16 例のクローン病血清を用いてリアルタイム PCR で追試したところ 5 つの配列で治療前後に有意な変化を認めた。



(2) さらに 16 例を治療反応群と非反応群にサブグループ化して比較した結果、治療反応群では Let-7d と let-7e が治療後に有意な増加を示した。

(3) 現在は、潰瘍性大腸炎におけるステロイド治療前後のデータと前述のクローン病のデータを比較検討している。この検討から微量な血清 miRNA でも効果的に診断できる内部標準とマーカーの組み合わせを選定した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 2 件)

- ① Shin Fujioka, Ikuo Nakamichi, Atsushi Hirano, Takayuki Matsumoto. Differential expression of circulating microRNAs in Crohn's disease. 5th Japan-Korea IBD symposium. 2010. 10. 2. Seoul, Korea
- ② 藤岡審, 中道郁夫, 江崎幹宏, 梅野淳嗣, 志方健太郎, 浅野光一, 森山智彦, 中村昌太郎, 松本主之, 北園孝成, Infliximab による寛解導入療法下 Crohn 病患者における血清マイクロ RNA の解析、第 98 回日本消化器病学会総会、平成 24 年 4 月 21 日、東京

〔図書〕 (計 1 件)

- ① 落谷孝広, 黒田雅彦, 尾崎充彦, 中道郁夫, 他、株式会社メディカルドゥ、臨床・創薬が見えてきた microRNA、2012 年 95-100 頁

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中道 郁夫 (NAKAMICHI IKUO)  
九州歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号：60419570

### (2) 研究分担者

松本 主之 (MATSUMOTO TAKAYUKI)  
九州大学大学院・医学研究院・准教授  
研究者番号：10278955  
高田 豊 (TAKATA YUTAKA)  
九州歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号：40163208  
安細 敏弘 (ANSAI TOSHIHIRO)  
九州歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号：80244789