

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15919

研究課題名（和文）小児期発症の潰瘍性大腸炎における特異的自己抗体・自己抗原の同定と病態解明

研究課題名（英文）Identification of Specific Autoantibodies and Autoantigens in Pediatric Patients with Ulcerative Colitis

研究代表者

日衛嶋 栄太郎 (Hiejima, Eitaro)

京都大学・医学研究科・特定病院助教

研究者番号：60773520

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：小児期潰瘍性大腸炎（UC）は、特異的な診断法が存在しないという医療上の問題があり、疾患特異的バイオマーカーの開発が課題であった。我々が多施設より収集した小児UC患者の血清中抗インテグリン v 6抗体の（以下抗V6抗体）発現を解析したところ、同抗体は高い感度（94.7%）・特異度（81.3%）で検出されることが明らかとなった。一方で、小児のクローン病（CD）患者の33%で抗V6抗体が陽性であった。抗V6抗体陽性CDはUC様の大腸病変を有するなど、小児CDの臨床像が抗V6抗体陽性と陰性で異なることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、抗V6抗体の測定が小児UCの診断における非侵襲的かつ疾患特異的な検査として有用であることを世界で初めて示し、論文に報告した。また、小児CD患者においては、抗V6抗体の測定が疾患の層別化に寄与する可能性が示唆された。今後の研究により、抗V6抗体の測定を用いた小児UCの病勢評価法が確立されれば、リスクの高い内視鏡検査の回数を減らすことが期待できる。また、小児CDにおいては、同測定による治療反応性の予測や治療の最適化が期待される。

研究成果の概要（英文）：A non-invasive and disease-specific marker for diagnosing pediatric ulcerative colitis (UC) is strongly required. Analysis of serum anti-integrin v 6 antibodies in pediatric UC patients revealed that these antibodies were detected with very high sensitivity (94.7%) and specificity (81.3%), indicating that this autoantibody can be a useful diagnostic marker for UC in pediatric patients. Notably, 33% of pediatric Crohn's disease (CD) patients in this study had anti-integrin v 6 antibodies in contrast to the low number in adult CD patients. Pediatric CD patients positive for anti-integrin v 6 antibodies exhibited UC-like colonic lesions, indicating that the clinical features of pediatric CD differ based on the presence or absence of these antibodies.

研究分野：小児消化器肝臓病

キーワード：小児潰瘍性大腸炎 抗インテグリン v 6自己抗体 クローン病 診断 バイオマーカー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎(UC)は、大腸粘膜に潰瘍やびらんを形成する、原因不明の慢性の炎症性腸疾患( IBD: inflammatory bowel disease)であり、我が国の難病に指定されている。若年者を中心に小児から高齢者まで発症し、患者数は世界的に増加傾向である。多くは若年期に発症し、血便、下痢、腹痛により長期にわたって QOL が損なわれることが大きな問題となっており、小児領域においても重要な疾患である。発症の原因として、遺伝的要因や環境要因によって何らかの免疫異常が関与することが推察されているが、メカニズムの詳細は不明である。従って、特異的な診断法や治療法、効果判定法が存在せず、内視鏡検査など侵襲のある検査を行っても診断・病勢把握に難渋することがある。このため UC の正確な診断あるいは治療効果判定のための疾患特異的バイオマーカーの開発が課題となっていた。

### 2. 研究の目的

申請者らが予備実験で、小児 UC 患者の血清中において、腸管上皮の接着因子 Integrin  $\alpha$  6 (V6) の細胞接着機能を阻害する抗 Integrin  $\alpha$  6 自己抗体(抗 V6 抗体)の解析を行ったところ、同抗体は高い感度で検出されることがわかった。また、一部の小児先天性免疫不全症に合併する IBD (PID-IBD)においても抗 V6 抗体が検出された。本研究では、小児 UC の正確な診断或いは病勢把握、治療効果判定に有用な疾患特異的バイオマーカー開発を目標とする。また、抗 V6 抗体が小児 UC 或いは一部の PID-IBD において病因的意義を持つことを検証し、疾患特異的な新規治療法開発の基盤とすることを目標とする。そのために以下を行うこととした。

小児 UC の診断及び病勢把握における、血清中抗 V6 抗体の有用性を検証する。抗 V6 抗体が小児 UC 患者において病因的意義を持つことを、V6-フィブロネクチン阻害結合実験で検証する。

血清中抗 V6 抗体が陽性となった PID-IBD、UC 以外の IBD であるクローン病 (CD)の臨床像を明らかにする。

### 3. 研究の方法

小児 UC の診断及び病勢把握における、血清中抗 V6 抗体の有用性を検証する。

多施設より臨床情報を含む患者血清を多く収集し、小児 UC の診断における抗 V6 抗体の有用性を検証する。また、臨床的活動性や内視鏡的活動性と抗体価の相関を評価する。更に、治療に反応良好であった患者群と治療に不応であった患者群における治療前の抗 V6 抗体価を比較することで、治療反応性を予測するバイオマーカーとしての可能性について検討する。

血清中抗 V6 抗体が陽性となった PID-IBD、UC 以外の IBD であるクローン病 (CD)の臨床像を明らかにする。

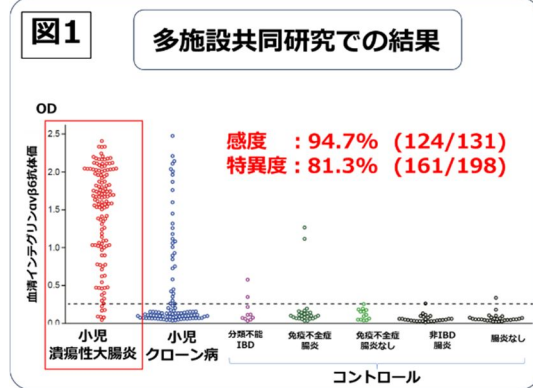
PID-IBD は UC に類似した内視鏡所見、病理像を呈することがある。しかし、それぞれの疾患に対する治療にしばしば不応であるなど、臨床像が典型的な UC とは異なり、その発症機序は未解明であるため、疾患特異的な治療法も開発されていない。申請者らは、抗 V6 抗体陽性の PID-IBD の病態を明らかにする目的で、以下を行う。PID-IBD のうち、血清中抗 V6 抗体が陽性と陰性の 2 群間で消化管内視鏡の所見、病変の分布(大腸病変の有無など)、病理像、治療に対する反応性、予後などを比較する。一方、小児期 IBD は UC と CD いずれにも明確に分類されない分類不能型 IBD (IBD-u)が多く、後に UC 或いは CD と診断されることがある。本研究で何人かの CD 患者の血清中抗 V6 抗体が陽性になったことから、こういった症例は CD の臨床像に類似しているものの、将来 UC と診断される IBD-u の可能性があると考えられた。そこで、抗 V6 抗体陽性の CD の臨床像を明らかにする目的で以下を行う。CD 患者において、血清中抗 V6 抗体が陽性と陰性の 2 群間で消化管内視鏡の所見、病変の分布、血液・便検査所見(CRP、血沈、便ヘモグロビン、便カルプロテクチンなど)、病理像、治療に対する反応性、予後などを比較する。

抗 V6 抗体が小児 UC 患者において病因的意義を持つことを、V6-フィブロネクチン阻害結合実験で検証する。

申請者の共同研究者は成人 UC 患者血清中に上皮の接着因子 Integrin  $\alpha$  6 (V6)に対する新たな抗 V6 抗体を発見した。更に、腸管上皮細胞に V6 が発現していることを確認し、抗 V6 抗体が、基底膜結合組織に発現するフィブロネクチンと V6 の結合を介した細胞接着機能を阻害することを見出した。V6 はフィブロネクチンなどのリガンド内の RGD 配列を認識することで結合する。成人では抗 V6 抗体が V6 の RGD 結合部位を認識し、V6 とフィブロネクチンとの結合を阻害することが示されている(引用文献)。以前より UC の病態には腸管上皮細胞のバリア機能の破綻が想定されており、抗 V6 抗体の阻害活性はこれを説明し得る可能性がある。一般に自己免疫疾患における阻害抗体は病因的意義を持つ例が多いため、抗 V6 抗体が成人 UC の病因抗体の可能性が高いと考えている。申請者らは小児 UC や PID-IBD 患者の血清も同様に、V6 とフィブロネクチンの結合を阻害するかどうかの機能評価を ELISA 法にて行う。

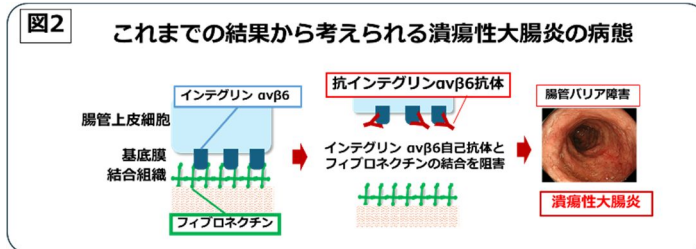
4. 研究成果

「小児 UC の診断及び病勢把握における、血清中抗 V6 抗体の有用性を検証する。」  
 UC、クローン病(CD)、免疫不全症に合併する炎症性腸疾患(PID-IBD)その他の腸炎の小児患者(n=261)を対象として、多施設より収集した患者血清の抗 V6 抗体発現を ELISA 法で解析したところ、小児 UC 患者の 94.7%で抗 V6 抗体の IgG が陽性となった(図 1)。IgG サブクラスを評価したところ、小児 UC 患者血清における抗 V6 抗体の IgG1 は 100%、IgG2 は 80.9%、IgG3 は 29.8%、IgG4 は 55%で陽性となり、IgG1 優位に上昇することが分かった。また、IgM は 19.1%、IgA は 59.6%、IgE は 25.5%と IgG 以外では IgA も上昇することが分かった。小児 UC 患者の血清では抗 V6 抗体が高い感度(94.7%)・特異度(81.3%)で検出されることが明らかになり、抗 V6 抗体の測定が同疾患の診断における非侵襲的且つ疾患特異的な検査として有用であることが分かった。一方で多くの対象患者の病勢が安定期にあったこともあり、病勢や治療への反応性との関連などについて評価ができていない。



「抗 V6 抗体が小児 UC 患者において病因的意義を持つことを、V6-フィブロネクチン阻害結合実験で検証する。」

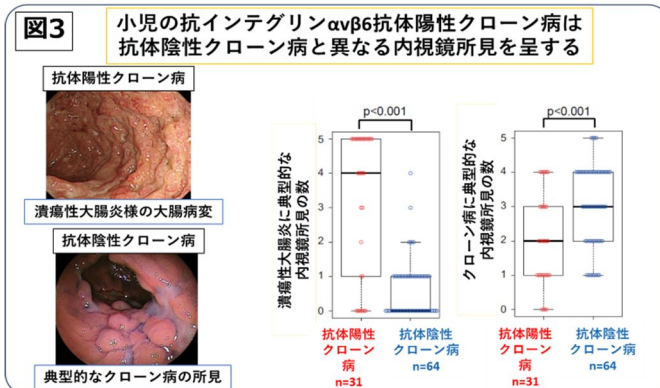
V6-フィブロネクチン阻害結合実験では V6 抗体陽性の小児 UC 患者血清の 95.7%で細胞接着の阻害効果が認められた。また、RGDS ペプチドにより UC 患者 IgG と V6 の結合は用量依存的に阻害されたが、RGES ペプチド(コントロール)では阻害作用は認めず、成人同様に RGDS ペプチドと抗 V6 抗体が V6 の RGD 結合部位に競合していると示唆された。一方、抗体陽性の非 IBD 腸炎或の血清では阻害効果はなかった。小児 UC 患者血清が、腸上皮細胞に発現する V6 と基底膜結合組織に発現するフィブロネクチンの結合を阻害する機能を有していることから、粘膜バリア障害の病態に關与する可能性が示唆された(図 2)。



「血清中抗 V6 抗体が陽性となった PID-IBD、UC 以外の IBD であるクローン病 (CD)の臨床像を明らかにする。」

成人クローン病 (CD) では 7%で抗 V6 抗体が陽性であったが、小児 CD においては 32.6%で抗 V6 抗体が陽性となった(図 1)。UC 或いは CD に典型的な内視鏡所見をスコア化し、抗 V6 抗体陽性 CD と抗 V6 抗体陰性 CD で比較したところ、抗 V6 抗体陽性 CD の内視鏡所見は、抗 V6 抗体陰性 CD と比べて、UC に類似した大腸病変が認められる症例が多いことが明らかとなった(3.23 vs 0.61, p<0.001)。一方で、CD に典型的な内視鏡所見は抗 V6 抗体陰性 CD で多く認められた(2.00 vs 3.02 p<0.001)。更に、小児 CD 患者のうち、「過去に UC から CD に診断が変更になったことのある患者」の抗 V6 抗体価は「診断変更のない CD 患者」と比較して高値であった(p=0.033)。以上の結果から、小児 CD の臨床像が抗 V6 抗体陽性と陰性で異なることが示された。(図 3)

免疫不全症に合併する炎症性腸疾患(PID-IBD)の 2 名(PID-IBD 患者の 8%)は抗 V6 抗体が陽性であった。1 名は活動期の IBD を伴う CTLA4 ハプロ不全症患者であり、内視鏡では UC 類似の大腸病変を呈するという興味深い結果であった。もう 1 名は活性化 PI3K 症候群で、大腸内視鏡で直腸から連続する紅斑を伴ったリンパ濾胞過形成を認め、この所見は UC の初期症状としての報告がある。これらの疾患は T 細胞の機能障害と様々な自己抗体の存在が特徴であり、T 細胞の機能異常が抗インテグリン v 6 抗体の産生とともに UC 様大腸炎の発症を誘導した可能性がある。



<引用文献>

Kuwada T, Shiokawa M, Kodama Y et al. Identification of an anti-Integrin  $\alpha$ 6 autoantibody in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2021 ; 160 : 2383-94

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Muramoto Y, Nihira H, Shiokawa M, Izawa K, Hiejima E, Seno H; Japan Pediatric Inflammatory Bowel Disease Working Group.	4. 巻 163
2. 論文標題 Anti-Integrin v 6 Antibody as a Diagnostic Marker for Pediatric Patients With Ulcerative Colitis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology.	6. 最初と最後の頁 1094-1097
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.gastro.2022.06.026.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishitani-Isa M, Mukai K, Honda Y, Nihira H, Tanaka T, Shibata H, Kodama K, Hiejima E, Izawa K, Kawasaki Y, Osawa M, Katata Y, Onodera S, Watanabe T, Uchida T, Kure S, Takita J, Ohara O, Saito MK, Nishikomori R, Taguchi T, Sasahara Y, Yasumi T.	4. 巻 219
2. 論文標題 Trapping of CDC42 C-terminal variants in the Golgi drives pyrin inflammasome hyperactivation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 e20211889
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1084/jem.20211889.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tomomasa D, Hiejima E, Miyamoto T, Tanita K, Matsuoka M, Niizato D, Mitsuiki N, Isoda T, Yasumi T, van Zelm MC, Morio T, Kanegane H.	4. 巻 242
2. 論文標題 Recurrent tandem duplication of UNC13D in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 109104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.clim.2022.109104.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Aoki M, Izawa K, Tanaka T, Honda Y, Shiba T, Maeda Y, Miyamoto T, Okamoto K, Nishitani-Isa M, Nihira H, Imai K, Takita J, Nishikomori R, Hiejima E, Yasumi T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Case Report: A Pediatric Case of Familial Mediterranean Fever Concurrent With Autoimmune Hepatitis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 917398
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2022.917398.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakajima K, Hiejima E, Nihira H, Kato K, Honda Y, Izawa K, Kawabata N, Kato I, Ogawa E, Sonoda M, Okamoto T, Okajima H, Yasumi T, Takita J.	4. 巻 13
2. 論文標題 Case Report: A Case of Epstein-Barr Virus-Associated Acute Liver Failure Requiring Hematopoietic Cell Transplantation After Emergent Liver Transplantation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 825806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.825806.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nambu R, Arai K, Kudo T, Murakoshi T, Kunisaki R, Mizuochi T, Kato S, Kumagai H, Inoue M, Ishige T, Saito T, Noguchi A, Yodoshi T, Hagiwara SI, Iwata N, Nishimata S, Kakuta F, Tajiri H, Hiejima E, Toita N, Mochizuki T, Shimizu H, Iwama I, Hirano Y, Shimizu T; JPIBD-R.	4. 巻 May;58(5)
2. 論文標題 Clinical outcome of ulcerative colitis with severe onset in children: a multicenter prospective cohort study.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 36884071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-023-01972-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobushi H, Umeda K, Hiejima E, Kato K, Sugimoto M, Kanegane H, Takita J.	4. 巻 Jan-Dec;65(1)
2. 論文標題 Alemtuzumab-based reduced-intensity conditioning for XIAP deficiency.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Pediatr Int.	6. 最初と最後の頁 e15576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.15576.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto T, Izawa K, Masui S, Yamazaki A, Yamasaki Y, et al.	4. 巻 Volume76, Issue6
2. 論文標題 Clinical Characteristics of Cryopyrin-Associated Periodic Syndrome and Long-Term Real-World Efficacy and Tolerability of Canakinumab in Japan: Results of a Nationwide Survey.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Arthritis Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 949-962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.42808.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 日衛嶋 栄太郎、仁平 寛士、新井 勝大、工藤 孝広、岩間 達、水落 建輝、十河 剛、梶 恵美里、清水 泰岳、竹内 一郎、伊藤 夏希、安田 亮輔、乾 あやの、恵谷ゆり、西小森 隆太、八角 高裕、井澤 和司、滝田 順子
2. 発表標題 小児潰瘍性大腸炎の診断におけるIntegrin $\alpha$ 6自己抗体の有用性に関する多施設共同研究
3. 学会等名 第126回日本小児科学会学術集会
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
---------	---------