

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 30 日現在

機関番号：13101  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23659498  
 研究課題名（和文）炎症性腸疾患における新規病勢マーカーの開発  
 研究課題名（英文）Development of a novel disease severity marker for the inflammatory bowel diseases.  
 研究代表者  
 中田 光 (NAKATA KOH)  
 新潟大学・医歯学総合病院・教授  
 研究者番号：80207802

研究成果の概要（和文）：クローン病及び潰瘍性大腸炎の新たな病勢マーカーの開発につながるために、44名のクローン病、45名の潰瘍性大腸炎、43例の健常コントロール血清中のIgG型抗GM-CSF自己抗体、IgM型抗GM-CSF自己抗体濃度を調べた。IgG型抗体は、3群ともほとんどが検出限界以下であったが、IgM型抗体は、クローン病で有意に高値をしめした。しかし、病勢との相関はみられなかった。

研究成果の概要（英文）：To develop a novel disease severity marker for Crohn's disease and ulcerative colitis, we investigated the concentration of IgG type and IgM type GM-CSF autoantibody concentrations in the sera from patients with Crohn's disease (n=44), ulcerative colitis (n=45), and normal subjects (n=43). The concentration of IgG antibody was under the detection limit in most subjects, but the concentration of IgM antibody was significantly higher in Crohn's disease than those in ulcerative disease and normal subjects. No significant correlation was found between the concentration and the disease severity.

### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 膠原病・アレルギー内科学

キーワード：炎症学

### 1. 研究開始当初の背景

我々は、抗GM-CSF自己抗体が肺胞蛋白症の病因である(*J. Exp. Med.* 1999, *New Engl. J. Med.* 2003, *BLOOD* 2004)ことを提唱し、血清診断法を開発した(*Am. J. Respir. Med. Crit. Care Med.*, 2000, 特許4372904号)。後に、米国のグループがカニクイザルに患者抗体を投与し、発症させることに成功し、自己抗体説を裏付けた。その後、抗サイトカイン自己抗体が病因に関係する疾患として、真性赤芽球癆(抗EPO抗体)、Felty症候群(抗G-CSF抗体)播種性非定型抗酸菌症(抗IFN- $\gamma$ 抗体)が報告された。抗

GM-CSF抗体が他の疾患の原因となっていないかどうか興味のあるところだが、最近、米国のグループがクローン病(CD)の血清に抗GM-CSF自己抗体が増加し、病勢や病変の広がり強く相関することを示した(Han X, *Gastroenterology*, 2009)。これらの患者には、肺胞蛋白症の合併はなく、抗体の量的質的相違が示唆されたが、申請者らが少数例のCD、少数例の潰瘍性大腸炎(UC)、同数の健常者の血清を用いて確認したところ、増加している抗体は、IgG型ではなく、IgM型であった。その後、米国のグループは、測定値の検出

抗体に抗軽鎖抗体を用いており、IgG型とIgM抗体を識別していなかったことがわかった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、CD及びUCの病勢と抗GM-CSF自己抗体価やavidityなどの相関を調べ、新たな病勢マーカーの開発につなげることである。これまで、IBDの病勢や病期は、QOLや病理などに基づいており、治療効果予測に寄与する信頼できるバイオマーカーが知られていない。IgM型抗GM-CSF自己抗体の測定により、より客観的な判断ができる可能性があり、診療への貢献が期待できる。

## 3. 研究の方法

① 本研究を開始するにあたり、以下の倫理申請・承認を得た。

★炎症性腸疾患の患者末梢血単核球を使用して研究することに対する倫理申請

すでに医学部倫理委員会に申請し、承認済みである。

新潟大学医学部倫理委員会 受付番号 1099 平成22年9月6日承認

★健常者末梢血単核球を使用して研究することに対する倫理申請

すでに医学部倫理委員会に申請し、承認済みである。

新潟大学医学部倫理委員会 受付番号 1099 平成22年9月6日承認

(本研究においては、患者名は、匿名番号化し、検体及び情報全て番号をもって取り扱うようにする。番号と患者名の照合は、主治医のみが知りうるようにした。)

② データベースの作成

総数132名の血清を採取し、そのデータベースを作成した。

潰瘍性大腸炎 (UC) 女性 16名 平均年齢 44歳 男性 29名 平均年齢 46.7歳

クローン病 (CD) 女性 11名 平均年齢 39.4歳 男性 33名 平均年齢 33.3歳

健常コントロール 女性 15名 平均年齢41.2歳 男性 28名 平均年齢42.6歳

以上について罹病範囲、病型、採血日、1週間の排便回数、血便のありなり、一

般状態、腹痛の有無、37.5度以上の発熱、腸管外合併症、CRP、ESR等のデータを入力した。

③ 自己抗体価の測定

抗GM-CSF自己抗体価の測定は、すでに American Journal of Physiology (Nei T20111)に準じて実施した。

④ 統計解析

3群間の比較は、一元配置分散分析により行った。2群間の比較には、Man Whitneyの検定を用いた。有意水準0.05を有意とした。

## 4. 研究成果

①クローン病CD群と潰瘍性大腸UC群ではIgM型GM-CSF自己抗体価は有意差ありで、CDとコントロールに有意差あるものの、UCとコントロールでは有意差がなかった。

②したがってIgM型抗GM-CSF自己抗体の値は少なくとも、UCとCDの鑑別マーカーにはなりそうである。ただし、UCでも抗体値の高い人がいるのが問題である。

③当院で集めたCD群の活動性を調べると、臨床活動度のCDAIでみると限り全員非活動性で、群内の患者の各種検査データなどで抗体値と差はなかった。

④アメリカのグループでは活動期の患者も含めて、有意差を活動性と比較して検討していたが、当院の患者では比較的安定している人ばかりであり、病勢と抗体価の相関が見れなかった。

⑤疾患活動性と抗体値との相関を検討するためには、活動期CDの患者を有する他の病院へ協力を依頼して検体を集める必要がある。

## 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9件)

(1) Satoh H, Tazawa R, Sakakibara T, Ohkouchi S, Ebina M, Miki M, Nakata K, Nukiwa T. Bilateral peripheral

infiltrates refractory to immunosuppressants were diagnosed as autoimmune pulmonary alveolar proteinosis and improved by inhalation of granulocyte/macrophage-colony stimulating factor. *Intern Med.* 査読有 51(13), 2012, 1737-42

(2) Wong WF, Kohu K, Nakamura A, Ebina M, Kikuchi T, Tazawa R, Tanaka K, Kon S, Funaki T, Sugahara-Tobinai A, Looi CY, Endo S, Funayama R, Kurokawa M, Habu S, Ishii N, Fukumoto M, Nakata K, Takai T, Satake M. Runx1 deficiency in CD4+ T cells causes fatal autoimmune inflammatory lung disease due to spontaneous hyperactivation of cells. *Intern Med.* 査読有 188(11), 2012, 5408-5420

(3) Nei T, Urano S, Motoi N, Takizawa J, Kaneko C, Kanazawa H, Tazawa R, Nakagaki K, Akagawa KS, Akasaka K, Ichiwata T, Azuma A, Nakata K. IgM-type GM-CSF Autoantibody is Etiologically a Bystander but Associated with IgG-type Autoantibody Production in Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis. *Am. J. Physiol.* 査読有 302(9), 2012, L959-964

(4) Ohashi K, Sato A, Takada T, Inoue Y, Nakata K, Tazawa R. Reduced GM-CSF autoantibody in improved lung of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *Eur. Respir. J.* 査読有 39(3), 2012, 777-780

(5) Ohashi K, Sato A, Takada T, Arai T, Nei T, Kasahara Y, Motoi N, Hojo M, Urano S, Ishii H, Yokoba M, Eda R, Nakayama H, Nasuhara Y, Tsuchihashi Y, Kaneko C, Kanazawa H, Ebina M, Yamaguchi E, Kirchner J, Inoue Y, Nakata K, Tazawa R. Direct evidence that GM-CSF inhalation improves

lung clearance in pulmonary alveolar proteinosis. *Respir Med.* 査読有 106(2), 2012, 284-293

(6) Saraya T, Nakata K, Nakagaki K, Motoi N, Iihara K, Fujioka Y, Oka T, Kurai D, Wada H, Ishii H, Taguchi H, Kamiya S, Goto H. Identification of a mechanism for lung inflammation caused by *Mycoplasma pneumoniae* using a novel mouse model. *Results in Immunology.* 査読有 1(1), 2011, 76-87

(7) Miyabayashi T, Kagamu H, Koshio J, Ichikawa K, Baba J, Watanabe S, Tanaka H, Tanaka J, Yoshizawa H, Nakata K, Narita I. Vaccination with CD133+ melanoma induces specific Th17 and Th1 cell-mediated antitumor reactivity against parental tumor. *Cancer Immunol Immunother.* 査読有 60(11), 2011, 1597-1608

(8) Masuko H, Hizawa N, Chonan T, Nakata K, Hebisawa A. Indium-Tin Oxide Does Not Induce GM-CSF Autoantibodies. *Am J Respir Crit Care Med.* 査読有 184, 2011, 741

(9) Ishii H, Tazawa R, Kaneko C, Saraya T, Inoue Y, Hamano E, Kogure Y, Tomii K, Terada M, Takada T, Hojo M, Nishida A, Ichiwata T, Trapnell BC, Goto H, Nakata K. Clinical features of secondary pulmonary alveolar proteinosis: pre-mortem cases in Japan. *European Respir. J.* 査読有 37(2), 2011, 465-468

[学会発表] (計 5 件)

(1) R. Tazawa, T. Arai, T. Takada, Y. Kasahara, Y. Tsuchihashi, T. Nei, M. Hojo, H. Nakayama, M. Yokoba, H. Ishii, R. Eda, Y. Nasuhara, M. Ebina, M. Akira, E. Yamaguchi, Y. Inoue, K. Nakata. Pulmonary Alveolar Proteinosis (PAP) And Inhaled Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) Therapy -

Clinical Features Predicting Recurrence.  
American Thoracic Society Annual Meeting.  
2012年5月23日 San Francisco , U.S.A.

(2) Nakata K, Nei T, Motoi N, Urano S,  
Tazawa R, Kanako C, Nakagaki K, Suzuki M,  
Takizawa J, Azuma A. IgM Type GM-CSF  
Autoantibody is Etiologically a Bystander  
but May be Involved in Development of IgG  
Type Autoantibody in Autoimmune Pulmonary  
Alveolar Proteinosis. American Thoracic  
Society Annual Meeting. 2012年5月23日  
San Francisco , U.S.A.

(3) Urano S, Akasaka K, Nei T, Motoi N,  
Tazawa R, Nakata K. Evidence for  
Permeation of IgG type GM-CSF Autoantibody  
from the Circulation to the Lung in  
Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis.  
American Thoracic Society Annual Meeting.  
2012年5月23日 San Francisco , U.S.A.

(4) Nakata K, Nei T, Motoi N, Urano S,  
Tazawa R, Nakagaki K, Suzuki M, Takizawa  
J, Azuma A. Repertoire Analysis of  
GM-CSF Autoantibody mRNA by Next  
Generation Sequencing In Autoimmune  
Pulmonary Alveolar Proteinosis.  
American Thoracic Society Annual Meeting.  
2012年5月23日 San Francisco , U.S.A.

(5) Nakata K. Pulmonary alveolar  
Proteinosis : historic perspective. PAP  
Update 2011, 2011年4月1日 Pavia, Italy.

[図書] (計3件)

(1) 井上典子, 梶昌美, 小神晴美, 渡辺真理,  
関根優, 白山早起, 藤本陽子, 瀧澤淳, 牧口智  
夫, 布施一郎, 中田光. 株式会社ウイネット,  
大学病院などの再生医療を支える細胞プロ  
セッシング室運営マニュアル. 2012, 142

(2) 中田光, 医学書院, 今日の治療指針  
私はこう治療している, 2012, 294-5

(3) 高田俊範, 中田光, 中外医薬社, EBM  
呼吸器疾患の治療, 2011, 229-233

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中田 光 (NAKATA KOH)

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号：80207802

### (2) 研究分担者

鈴木 健司 (SUZUKI KENJI)

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：00303123