

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21069

研究課題名(和文) 原発性胆汁性肝硬変の病態進展におけるIL-33/ST2 pathwayの役割

研究課題名(英文) IL33/ST2 pathway involvement in the pathogenesis and disease progression of primary biliary cholangitis

研究代表者

城下 智 (JOSHITA, SATORU)

信州大学・学術研究院医学系・助教

研究者番号：90597965

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)： 原発性胆汁性胆管炎(PBC)は、原因が不明な慢性進行性の自己免疫性肝疾患の一つである。本研究では、PBCの線維化進行と病態進展に関連する因子を検討し、次の2点のことを明らかにした。1) PBCの線維化進行と病態進展において、PBC患者の血清中IL-33/sST2は、病態進展と相関していること。2) PBCの線維化進行と病態進展に関して、血清中のAutotaxinが相関し、非侵襲マーカーとして有用であること。

研究成果の概要(英文)： Primary biliary cholangitis (PBC) is a slowly progressive liver-specific autoimmune disease. The pathogenesis and mechanism of PBC progression are incompletely understood. The key findings of this study were as follows; 1) the IL33/ST2 pathway was associated not only with pathogenesis, but also with disease progression, in patients with PBC. 2) Serum Autotaxin values appear to be useful for assessing disease stage and prognosis in PBC.

研究分野：肝臓病学

キーワード：原発性胆汁性胆管炎 IL-33 ST2 Autotaxin

### 1. 研究開始当初の背景

原発性胆汁性胆管炎 (PBC) は、中年以降の女性に好発する慢性の非化膿性破壊性胆管炎を特徴とする、胆管上皮細胞を主な標的とした臓器特異的の自己免疫疾患と考えられているが、その発症や進展機序は未だ明らかにされていない。これまでの疫学研究や遺伝子研究により、PBC 発症には遺伝因子と環境因子の関与が推定されている。

病態進展に関しては、ウルソデオキシコール酸治療が PBC の予後を改善したが、根本的治療は確立されておらず、肝硬変や肝不全、時には肝細胞癌合併へ病態進展する症例は少なからず存在する。

IL-33 は、IL-1 や IL-18 と相同性が高いアミノ酸配列を有する IL-1 ファミリーに属するサイトカインである。上皮細胞や血管の特殊な内皮細胞の核内に存在する。ネクロシスに伴って細胞外に放出された IL-33 は、IL-33 の受容体を介した IL-33/ST2 pathway を介し免疫細胞を活性化することから、免疫疾患や炎症性疾患と関連している。

PBC の線維化進行と病態進展に関して、この IL-33/ST2 pathway の関わりについては明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

PBC の線維化進行と病態進展に関連する因子として、IL-33/ST2 pathway が関与しているか否かを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

PBC 患者における IL-33/ST2 の発現解析として、以下の2点で検討を行った。

#### 1) 全身的な IL-33 および ST2 の検討

血清中の IL-33 および ST2 について、ELISA 法を用いて測定した。臨床検査値、肝組織学的所見等との関連を検討した。

#### 2) 肝における IL-33 および ST2 の検討

PBC 診断時の肝生検組織標本を用いて、IL-33 の発現について、mRNA の発現は RNA in situ ハイブリダイゼーション法の RNAscope で、また、タンパク発現は、IL-33 の免疫染色を行い、臨床検査値、肝組織所見等と比較検討した。

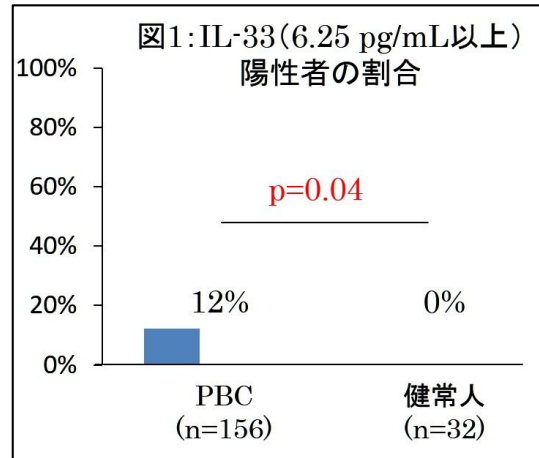
本 PBC コホートにおいて、線維化進行と病態進展に関連する因子を明らかにするため、臨床検査値マーカーとして、肝線維化との関連が示唆される Autotaxin (ATX) に着目し、PBC の病態進展における ATX の臨床的意義を検討した。

### 4. 研究成果

保存血清を用いて、IL-33 と sST2 を ELISA 法で一括測定し、肝組織所見や臨床検査値との関連を検討した。

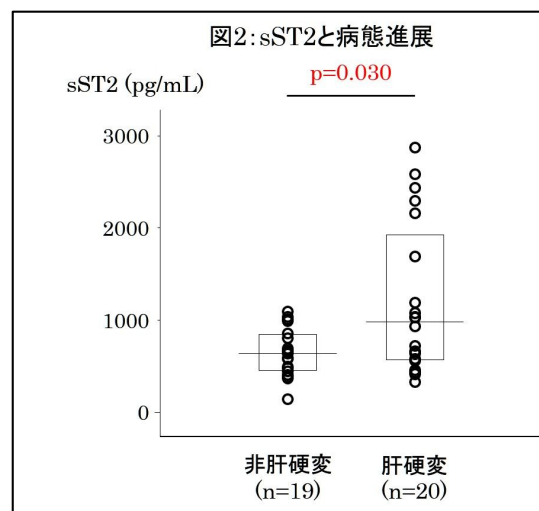
#### 1) 全身的な IL-33 および ST2 の検討

IL-33 は、その測定限界カットオフを 1.65 pg/mL とすると、156 例中 19 例 (12.1%) で上昇しており、健常人の 32 例中 0 例 (0%) と比較して、陽性者の割合が有意に高かった ( $p=0.04$ ) (図 1)。



また、IL-33 陽性に関する因子として、多重ロジスティック回帰分析では、性別、年齢、アルカリフォスファターゼ、総ビリルビン、Autotaxin の中では、アルカリフォスファターゼが独立因子として抽出された ( $p=0.019$ )。さらに、IL-33 は進行期で高い傾向 ( $p=0.05$ ) があつた。

一方で、血清中の sST2 は、非肝硬変期に比べ肝硬変期で有意に高かった ( $p=0.030$ ) (図 2)。さらに sST2 は新規の線維化マーカーの M2BPGi と正の相関をしていた ( $r=0.42$ ,  $p<0.001$ )。



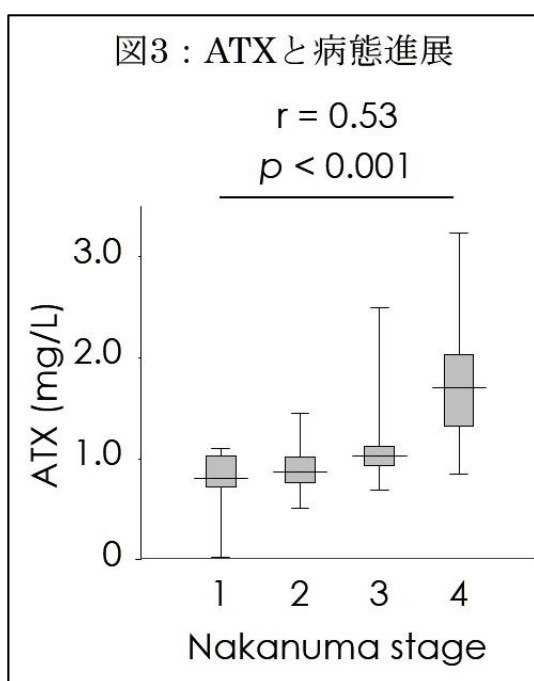
このことより、IL-33/ST2 pathway が PBC の線維化進行と病態進展に関連していることが明らかになった。

#### 2) 肝における IL-33 および ST2 の検討

これらの結果を踏まえ、次に、肝組織における IL-33 の発現の検討を行った。肝組織に

おける IL-33 の mRNA の発現について、RNAscope では、肝の門脈域と類洞で mRNA の発現が確認された。また、免疫染色所見では、IL-33 陽性細胞は、血管内皮細胞であり、門脈域と類洞の陽性細胞数との間に相関が認められたが( $r=0.70, P<0.01$ )、陽性細胞数と病態進展との相関はなかった。

また、PBC の病態進展に関して、肝線維化との関連が示唆される ATX に着目し、PBC の病態進展における ATX の臨床的意義を検討した。ATX は Nakanuma 分類の病期と有意な正の相関を示し( $r = 0.53, p<0.0001$ ) (図 3) 新規線維化マーカーである M2BPGi ( $r = 0.54, p<0.0001$ ) や APRI ( $r = 0.36, p = 0.006$ ) とも相関していた。



このことより、ATX は PBC の病期を予測し得る非侵襲的バイオマーカーであることを証明した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Joshita S, et al. (1 番、14 名) Serum Autotaxin Is a Useful Disease Progression Marker in Patients with Primary Biliary Cholangitis. *Sci Rep.* 査読有 8: 8159 (2018).

Joshita S, et al. (1 番、4 名) Genetics and epigenetics in the pathogenesis of primary biliary cholangitis. *Clin J Gastroenterol.* 査読有 11: 11-18 (2018).

doi: 10.1007/s12328-017-0799-z

Joshita S, et al. (1 番、4 名) Genetic Contribution to the Pathogenesis of Primary Biliary Cholangitis. *J*

*Immunol Res.* 査読有 2017: 3073504 (2017).

doi: 10.1155/2017/3073504

Kawashima M, Joshita S, et al. (33 番、78 名) Genome-wide association studies identify PRKCB as a novel genetic susceptibility locus for primary biliary cholangitis in the Japanese population. *Hum Mol Genet.* 査読有 26: 650-659 (2017).

doi: 10.1093/hmg/ddw406

Umemura T, Joshita S, et al. (3 番、13 名) Association between serum soluble CD14 and IL-8 levels and clinical outcome in primary biliary cholangitis. *Liver Int.* 査読有 37: 897-905 (2017).

doi: 10.1111/liv.13316

Umemura T, Joshita S, et al. (2 番、8 名) Genetic Association of PTPN22 Polymorphisms with Autoimmune Hepatitis and Primary Biliary Cholangitis in Japan. *Sci Rep.* 査読有 6: 29770 (2016).

doi: 10.1038/srep29770

〔学会発表〕(計 7 件)

城下 智 他. 原発性胆汁性胆管炎における血中 Autotaxin の臨床的意義の検討. 第 21 回日本肝臓学会大会 2017 年 Joshita S, et al. Association of Serum Autotaxin Levels with Disease Stages in Patients with Primary Biliary Cholangitis in Japanese patients. *Asian Pacific Digestive Week 2017.* 2017 年

Joshita S, et al. IL33/ST2 pathway involvement in the pathogenesis and disease progression of primary biliary cholangitis. *Digestive Disease Week 2017.* 2017 年

Joshita S, et al. Asymptomatic and symptomatic states are independent risk factors predicting PBC long-term outcome. *The Asian Pacific Association for the Study of the Liver Single Topic Conference 2017.* 2017 年

城下 智 他. 原発性胆汁性胆管炎の線維化進行と病態進展における IL-33/ST2 pathway の役割 第 41 回日本肝臓学会東部会. 2016 年

城下 智 他. 無症候性および症候性原発性胆汁性肝硬変の予後解析 第 113 回日本内科学会講演会. 2016 年

Joshita S, et al. Asymptomatic and symptomatic states are independent risk factors predicting PBC long-term outcome. *The Asian Pacific Association for the Study of the Liver*

2016. 2016 年

6 . 研究組織

(1)研究代表者

城下 智 (JOSHITA, Satoru)

信州大学・学術研究院医学系・助教

研究者番号 : 90597965