

令和 3 年 4 月 27 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09355

研究課題名(和文) in vitro発癌モデルの開発と臨床応用を目指した胃型化・腸型化メカニズム解明

研究課題名(英文) The development of in vitro carcinogenesis model, and the elucidation of mechanism of gastric and intestinal phenotypes aiming at the clinical application

研究代表者

溝下 勤 (MIZOSHITA, Tsutomu)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：40347414

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)：in vitro発癌モデルの樹立は、消化管粘膜腺管の動的・継時的なリアルタイムの解析を可能とし、特に「慢性炎症からの発癌」の機序の解明に重要であると考えられる。難治性の炎症性腸疾患(潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管ベーチェット病)での抗TNF-抗体製剤を含めた免疫抑制治療は、その症例の治療歴及び臨床経過を考慮して行うことが重要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

in vitro発癌モデルの確立により、in vivoの実験に用いる実験動物の数を最小限に留めることが可能となり、動物愛護の観点から社会的にも大変意義深い。また、抗TNF-抗体製剤を含めた免疫抑制治療は高額になることが多く、これらの治療を適切に行うことが医療経済学上も重要である。

研究成果の概要(英文)：The establishment of the in vitro carcinogenesis model enables the dynamic, chronological, and real-time analyses of the alimentary canal mucosa duct and is thought to be particularly important to the elucidation of the mechanism of "the cancerogenesis from chronic inflammation". It is important to perform the immunosuppressive treatment including anti-TNF-antibodies for the refractory inflammatory bowel diseases (ulcerative colitis, Crohn's disease, intestinal Behcet's disease) in consideration of the history of treatment of the case and clinical course.

研究分野：消化器内科

キーワード：in vitro 三次元培養系 炎症性腸疾患 潰瘍性大腸炎 クローン病 腸管ベーチェット病

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

私たちは、消化管粘膜腺管の長期 *in vitro* 三次元培養系の確立に成功した (Am J Pathol., 185, 798-807, 2015.; Biochem Biophys Res Commun., 432, 558-63, 2013.)。また、近年、炎症性腸疾患 (潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管ペーチェット病) 症例の増加に伴い、特に難治性潰瘍性大腸炎において、「慢性炎症からの発癌」である ulcerative colitis-associated colorectal cancer (いわゆる colitic cancer) の増加が臨床的に問題となっている。

2. 研究の目的

我々が確立した消化管粘膜腺管の長期 *in vitro* 三次元培養系を用いて、「*in vitro* 発癌モデル」の樹立を目指す。また、「慢性炎症からの発癌」を念頭に置いて、炎症性腸疾患 (潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管ペーチェット病) 症例を臨床的に解析する。

3. 研究の方法

消化管粘膜腺管の長期 *in vitro* 三次元培養系に、N-methyl-N-nitrosourea (MNU)、2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) などの発癌剤および炎症性腸疾患関連因子 (Tumor Necrosis Factor 以下 TNF、interleukin-6 以下 IL-6 など) を加えて共培養し、動的・経時的なリアルタイムの解析を行う。

炎症性腸疾患 (潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管ペーチェット病) 症例で、特に抗 TNF- α 抗体製剤などの生物学的製剤を投与している難治例に注目し、臨床的に解析する。

4. 研究成果

消化管粘膜腺管の長期 *in vitro* 三次元培養系に種々の発癌剤を投与したが、発癌剤の投与量の調節が難しく、安定した「*in vitro* 発癌モデル」の樹立に至っておらず、引き続き検討中である。また、消化管粘膜腺管の長期 *in vitro* 三次元培養系に炎症性腸疾患関連因子を加えただけでは、発癌は起こらず、発癌剤と炎症性腸疾患関連因子の共培養が重要と考えられた。

抗 TNF- α 抗体製剤を導入する中等症から重症の潰瘍性大腸炎症例 25 例について、2 つの抗 TNF- α 抗体製剤 (infliximab、adalimumab) の選択理由をアンケート形式で尋ね、その寛解導入・寛解維持効果を多施設前向き研究で検討した。25 例中、infliximab 選択は 10 例 (40%)、adalimumab 選択は 15 例 (60%)、であった。抗 TNF- α 抗体製剤の選択理由は、infliximab 選択者は「自己注射の不安」、adalimumab 選択者は「投与の簡便さ、投与にかかる時間」、を重要視する傾向にあった。寛解導入期 (14 週後) と寛解維持期 (54 週後) の治療反応率、寛解率、粘膜治癒率、ステロイド離脱率、ステロイドフリー寛解率、のいずれにおいても 2 つの抗 TNF- α 抗体製剤 (infliximab、adalimumab) の間で有意差は認められなかった (Medicine (Baltimore), 96, e7800, 2017.)。

稀少疾患である腸管ペーチェット病について、多施設後ろ向き研究を行った。53 例の腸管ペーチェット病のうち、抗 TNF- α 抗体製剤の投与を行っている症例は 22 例 (41.5%、内訳は adalimumab が 14 例、infliximab が 8 例) であった。腹部症状の完全消失は、抗 TNF- α 抗体製剤投与 3 か月後に 7 例、抗 TNF- α 抗体製剤投与 12 か月後に 11 例、で確認された。内視鏡的粘膜治癒は、抗 TNF- α 抗体製剤投与 3 か月後に 5 例、抗 TNF- α 抗体製剤投与 12 か月後に 9 例、で確認された。上記の 22 例中の 3 例 (13.6%) で、抗 TNF- α 抗体製剤のスイッチが行われていた (Dig Liver Dis., 51, 967-971, 2019.)。

クローン病で adalimumab の倍量投与を行った症例について多施設後ろ向き研究を行った。抗 TNF- α 抗体製剤を投与しているクローン病 203 症例中、adalimumab の倍量投与を行った症例は 14 例 (6.9%) であった。adalimumab の倍量投与により、12 週後と 52 週後の C-reactive protein (以下、CRP) 値が有意差を持って減少した。特に、infliximab 前投与の無い症例 (つまり、adalimumab が 1st-line バイオ) については、12 週後と 52 週後に CRP 値だけでなく Crohn's disease activity index (以下、CDAI) スコアも有意差を持って改善した。一方、infliximab 前投与のある症例 (つまり、adalimumab が 2nd-line バイオ) では、CRP 値陽性が継続し陰転化しなかった (Case Rep Gastroenterol., 13, 37-49, 2019.)。

Calcineurin inhibitor であるタクロリムスを導入した難治性潰瘍性大腸炎症例について、長期予後を含めて臨床的に解析した。抗 TNF- α 抗体製剤の前治療のある群と無い群の両方において、タクロリムス投与 12 週後に有意差を持って、disease activity index と endoscopic activity index が改善した。タクロリムス投与終了後の維持療法は、抗 TNF- α 抗体製剤の前治療の無い群では抗 TNF- α 抗体製剤または抗 TNF- α 抗体製剤+アザチオプリンで行われていることが多く、抗 TNF- α 抗体製剤の前治療のある群ではアザチオプリンで行われていることが多かった。Colectomy (大腸全摘) を行った症例は、抗 TNF- α 抗体製剤の前治療のある群で 45.5% (5/11)、無い群で 15.6% (7/45)、であった。タクロリムス治療後の長期経過において、抗 TNF- α 抗体製剤の前治療の無い

群の方が前治療のある群より有意差を持って大腸全摘を回避していた (JGH Open, 3, 217-223, 2019.)。

難治性潰瘍性大腸炎症例での抗 TNF- α 抗体製剤 (infliximab、adalimumab、golimumab) のスイッチについて多施設後ろ向き研究を行った。抗 TNF- α 抗体製剤投与を行った難治性潰瘍性大腸炎 123 症例中、21 例 (17.1%) で抗 TNF- α 抗体製剤のスイッチが行われていた。抗 TNF- α 抗体製剤の不耐の 3 例 (100%)、二次無効の 5 例 (41.7%)、一次無効の 1 例 (20%)、でスイッチ 8 週後に臨床的寛解となった。抗 TNF- α 抗体製剤のスイッチは、一次無効例より不耐及び二次無効例で有効と考えられた (Indian J Gastroenterol. **39**, 565-575, 2020.)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6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 3件）

1. 著者名 Marutani, Y., Mizoshita, T., Sugiyama, T., Togawa, S., Katano, T., Yamada, T., Hirata, Y., Kimura, Y., Miyaki, T., Inoue, Y., Suzuki, E., Sasaki, M., and Kataoka, H.	4. 巻 39
2. 論文標題 Efficacies of first and second tumor necrosis factor inhibitors in refractory ulcerative colitis patients in real-world practice,	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Indian J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 565-575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12664-020-01092-1.	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 Sugimura N, Mizoshita T, Sugiyama T, Togawa S, Miyaki T, Suzuki T, Tanida S, Kataoka H, Sasaki M.	4. 巻 51
2. 論文標題 Real-world efficacy of adalimumab and infliximab for refractory intestinal Behçet's disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dig Liver Dis.	6. 最初と最後の頁 967-971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dld.2018.10.024.	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 Suzuki T, Mizoshita T, Sugiyama T, Hirata Y, Kimura Y, Suzuki Y, Yamada T, Tsukamoto H, Mizushima T, Sugimura N, Katano T, Tanida S, Kataoka H, Sasaki M.	4. 巻 13
2. 論文標題 Adalimumab Dose-Escalation Therapy Is Effective in Refractory Crohn's Disease Patients with Loss of Response to Adalimumab, Especially in Cases without Previous Infliximab Treatment.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Case Rep Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 37-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000496453	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki T, Mizoshita T, Tanida S, Sugimura N, Katano T, Nishie H, Kataoka H.	4. 巻 3
2. 論文標題 The efficacy of maintenance therapy after remission induction with tacrolimus in ulcerative colitis with and without previous tumor necrosis factor inhibitor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JGH open	6. 最初と最後の頁 217-223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jgh3.12140	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mizoshita, T., Katano, T., Tanida, S., Hirano, A., Miyaki, T., Ozeki, K., Suzuki, Y., Sugimura, N., Kataoka, H. & Joh, T.	4. 巻 96
2. 論文標題 Prospective comparison of preference and efficacy of adalimumab and infliximab for treating ulcerative colitis naive to antitumor necrosis factor therapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e7800
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000007800.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mizoshita, T., Ando, M., Sagawa, H., Mori, Y., Katano, T., Ozeki, K., Tanida, S., Okamoto, Y., Shimura, T., Kubota, E., Kataoka, H., Kamiya, T. & Joh, T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Adalimumab therapy in a patient with Crohn's disease with a giant pelvic paraganglioma after chemotherapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 250-254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-017-0726-3	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 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 的屋 奨、溝下 勤、佐々木康成、稲垣勇輝、小林由花、成田幹誉人、柴田俊輔、岩井朋洋、安部快紀、宮木知克、佐野 仁
2. 発表標題 Real-worldでのベドリズマブの難治性潰瘍性大腸炎に対する寛解導入効果の検討
3. 学会等名 第62回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下 勤、片野敬仁、尾関啓司、谷田諭史、片岡洋望
2. 発表標題 高齢者の炎症性腸疾患に対する生物学的製剤を含めた免疫抑制治療の検討
3. 学会等名 第62回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木絵里奈、溝下 勤、松田大知、的屋 奨、齋藤彰敏、鈴木健人、片岡洋望、小笹貴士
2. 発表標題 Golimumabを用いた難治性潰瘍性大腸炎の治療 -多施設後ろ向き研究での検討 -
3. 学会等名 第62回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下 勤、谷田諭史、山田瑠里子、久野佳世子、市川 紘、奥田悠介、野尻優、杉村直美、尾関貴紀、北川美香、岩崎弘靖、西江裕忠、田中 守、尾関啓司、岡本泰幸、志村貴也、久保田英嗣、神谷 武、片岡洋望
2. 発表標題 難治性潰瘍性大腸炎での経口タクロリムス治療後の長期経過の検討 - 抗TNF- 抗体製剤治療歴の有無での比較解析を含めて -
3. 学会等名 第105回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 溝下 勤、杉村 直美、杉山 智哉、戸川 昭三、宮木 知克、鈴木 健人、尾関 啓司、谷田 諭史、佐々木 誠人、片岡 洋望
2. 発表標題 抗TNF- 抗体製剤による難治性腸管ペーチェット病の治療 -後ろ向き多施設共同研究-
3. 学会等名 第57回日本小腸学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下 勤、尾関啓司、谷田諭史、片岡洋望
2. 発表標題 クローン病での生物学的製剤治療の現状 -高齢者と非高齢者の比較及びUstekinumab使用状況を含めて-
3. 学会等名 第61回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下 勤、尾関啓司、谷田諭史、片岡洋望
2. 発表標題 抗TNF- 抗体製剤治療で粘膜治癒を達成した潰瘍性大腸炎症例での長期経過と大腸癌発生率についての検討 -内視鏡subscore 0と1の比較を含めて-
3. 学会等名 第98回 日本消化器内視鏡学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 溝下 勤、鈴木健人、尾関啓司、谷田諭史、片岡洋望
2. 発表標題 高齢者の難治性潰瘍性大腸炎に対する生物学的製剤及びバククロリムス治療の内視鏡的寛解率の検討 -安全性・大腸癌発生率も含めて-
3. 学会等名 第98回 日本消化器内視鏡学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 溝下 勤、志村貴也、片岡洋望
2. 発表標題 集中治療室での治療を要した免疫チェックポイント阻害剤関連の重症薬剤性大腸炎
3. 学会等名 第47回日本潰瘍学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下 勤、尾関啓司、谷田諭史、片岡洋望
2. 発表標題 当院での高齢者の炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病、腸管ペーチェット病）に対するbiologicsを含めた免疫抑制治療の現状
3. 学会等名 第16回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 溝下 勤、杉村 直美、杉山 智哉、戸川 昭三、宮木 知克、鈴木 健人、尾関 啓司、谷田 諭史、佐々木 誠人、片岡 洋望
2. 発表標題 Real-worldでの抗TNF- 抗体製剤による腸管ペーチェット病の治療 -多施設共同研究での検討-
3. 学会等名 第16回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下勤、谷田諭史、尾関啓司、片野敬仁、市川紘、野尻優、北川美香、稲垣佑祐、岩崎弘靖、田中守、西江裕忠、岡本泰幸、志村貴也、久保田英嗣、片岡洋望、杉山智哉、佐々木誠人、城卓志
2. 発表標題 Adalimumab倍量投与を行った難治性クローン病症例での寛解導入効果を含めた臨床的検討
3. 学会等名 第104回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下 勤、杉山智哉、平田慶和、木村吉秀、鈴木祐香、山田智則、塚本宏延、水島隆史、杉村直美、片野敬仁、尾関啓司、谷田諭史、片岡洋望、佐々木誠人
2. 発表標題 Adalimumabへの二次無効を呈したクローン病症例でのAdalimumab倍量投与の有効性の検討
3. 学会等名 第60回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木祐香、溝下 勤、杉山智哉、山田智則、平田慶和、木村吉秀、遠藤雅行、戸川 昭三、鈴木健人、杉村直美、尾関啓司、谷田諭史、片岡洋望、佐々木誠人
2. 発表標題 3つの抗TNF 抗体製剤 (Infiximab、Adalimumab、Golimumab) による難治性潰瘍性 大腸炎の治療 -スイッチ例を含めた検討
3. 学会等名 第60回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉村直美、溝下 勤、杉山智哉、戸川昭三、宮木知克、鈴木健人、尾関啓司、谷田諭史、岡本泰幸、志村貴也、久保田英嗣、片岡洋望、神谷 武、佐々木 誠人
2. 発表標題 腸管ペーチェット病に対する抗TNF- 抗体製剤治療の現状と有効性に関する検討
3. 学会等名 第60回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木健人、溝下 勤、杉山智哉、平田慶和、木村吉秀、塚本宏延、水島隆史、杉村直美、尾関啓司、谷田諭史、佐々木誠人、片岡洋望
2. 発表標題 難治性クローン病でのアダリムマブ倍量投与の寛解導入・維持に関する検討
3. 学会等名 第46回日本潰瘍学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 溝下 勤、谷田諭史、平野敦之、宮木知克、片野敬仁、尾関啓司、片岡洋望、城 卓志
2. 発表標題 抗TNF- 抗体製剤（インフリキシマブ/アダリムマブ）を導入した潰瘍性大腸炎症例での内視鏡的粘膜治癒率の解析を目的とした前向き研究 -薬剤選択理由のアンケート調査を含めて -
3. 学会等名 第59回 日本消化器病学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 溝下 勤、片野敬仁、尾関啓司、谷田諭史、鈴木健人、市川 紘、野尻 優、岩崎弘靖、稲垣佑祐、田中 守、西江裕忠、岡本泰幸、志村貴也、久保田英嗣、片岡洋望、神谷 武、城 卓志
2. 発表標題 当院での抗TNF- 抗体製剤（Adalimumab、Infliximab）による腸管ペーチェット病の治療
3. 学会等名 第14回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2018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
研究 分担者	片野 敬仁 (KATANO Takahito) (50768372)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教 (23903)	
研究 分担者	城 卓志 (JOH Takashi) (30231369)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・名誉教授 (23903)	

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
---------	---------