

令和 3 年 6 月 27 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17484

研究課題名（和文）潰瘍性大腸炎における「JAK分子ネットワーク・プロファイル」の解明と治療への応用

研究課題名（英文）Investigation of novel JAK-STAT pathway in ulcerative colitis.

研究代表者

清水 寛路 (Hiromichi, Shimizu)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：00733875

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）：潰瘍性大腸炎は原因不明の炎症と難治性の潰瘍を起こす難病である。治療には炎症を制御する薬剤が用いられ、そのうちJAK阻害薬は、炎症を引き起こす複雑なサイトカイン・ネットワークを構成するJAK経路を特異的に阻害する。本研究はJAK阻害薬が効果を発揮するために、腸管における多彩な粘膜構成細胞の如何なる細胞を標的とし、如何なる分子機序を介して効果を発揮するのか、そしてその効果の有無が規定される条件を、臨床情報の解析と、患者由来の組織検体を用いた最新のシングルセル解析を行なって解明を試みた。治療有効性を規定する因子の同定にはさらなる解析が必要であったが、臨床情報から治療効果予測に有用な因子が同定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

潰瘍性大腸炎の治療には、免疫制御効果を持つ副腎皮質ステロイドや免疫調節薬、分子標的薬などが用いられ、分子標的薬は炎症を引き起こす複雑なサイトカイン・ネットワークの、特異的な経路を阻害して効果を発揮する。分子標的薬は潰瘍性大腸炎治療の成績を大きく向上した一方、どのように障害された腸粘膜を治癒するのか、その作用メカニズムはよくわかっていない。本研究は、患者の臨床情報と患者由来の組織検体の解析を通じて、分子標的薬のひとつJAK阻害薬の作用メカニズムの解明と、治療有効性が規定される因子の同定を試みることで、JAK阻害薬が有効である患者の拾い上げと治療効果予測の解明を目標とした研究である。

研究成果の概要（英文）：Ulcerative colitis is an idiopathic disease which causes chronic inflammation in colon. For the treatment of ulcerative colitis, anti-inflammatory agents are used such as corticosteroid, immune-modulator and biologic agents. JAK inhibitor is one of biologic agent blocking strongly pro-inflammatory JAK pathway in colonic tissue. JAK pathway has a vast cytokine-network interacting numerous other pathways, and it needs to be studied deeply and broadly. This study, using colonic tissue derived from the patients with ulcerative colitis, was aiming to investigate what kind of cells JAK inhibitor has any effects, how JAK inhibitor reduces and blocks proinflammatory response in colonic tissue, and what is the key biomarkers and/or conditions that regulate its treatment efficacy of the patients. We performed single-cell PCR analysis on organoids generated from colonic tissue derived from the patients with ulcerative colitis.

研究分野：再生医療研究

キーワード：潰瘍性大腸炎 クロウン病 JAK阻害薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎は大腸に原因不明の炎症と難治性の潰瘍を起こす慢性疾患であり、治療には炎症制御を主たる効果とする副腎皮質ステロイド・免疫調節薬や抗 TNF 抗体等の生物学的製剤が用いられる。しかしながらこれら治療薬のいずれにも無効で、標準的な治療目標とされる「炎症の制御」と「潰瘍の治癒(上皮の再生)」の両者を達成した「粘膜治癒」を得ることが困難な症例が一定数存在しており、炎症の制御と「潰瘍の治癒」が両立可能な新治療の開発が望まれている。JAK 阻害薬は 2018 年 5 月より本邦で炎症性腸疾患の治療に臨床導入され、多彩な粘膜構成細胞を標的候補とする新規低分子化合物である。同薬剤は複数存在する JAK ファミリー分子(JAK1, JAK2, JAK3, TYK2)を機能的に阻害し、これにより抗 TNF 抗体製剤等の既存治療薬とは全く異なった経路で複数の炎症性サイトカインシグナルの抑制により抗炎症作用を発揮すると考えられ、複数の異なる分子特異性(JAK 分子阻害スペクトラム)を有する JAK 阻害薬が臨床治験の段階にある。しかしながら、JAK 阻害薬が如何なる細胞を標的として、如何なる効果を発揮し治療効果の有無が決定されるのか、その細胞・分子レベルにおける作用機序は明らかになっていない。

2. 研究の目的

JAK 阻害薬が潰瘍性大腸炎の患者粘膜を構成する主要細胞群、即ち免疫担当細胞・腸上皮細胞・間葉系細胞に対し各々如何なる作用を発揮し「炎症の制御」と「潰瘍の治癒(上皮の再生)」を導く効果を発揮し得るのか、細胞・分子レベルでその全貌の描出を試みるとともに、疾患特異的な「JAK 分子ネットワーク・プロファイル」の解明とこれに基づく治療最適化の基盤構築、を目指す。各「JAK 阻害薬」が如何なる細胞・分子を起点として潰瘍性大腸炎に対する「炎症の制御」効果ならびに「潰瘍の治癒(上皮の再生)」効果をそれぞれ発揮し得るのか、という疑問を解明することにより、同治療薬を既存の治療体系の中で適切に位置付けることが可能となり、難治性潰瘍性大腸炎に対するより効果的な「粘膜治癒」誘導戦略の構築が期待できる。また、潰瘍性大腸炎の病態を構成する多彩なサイトカイン・シグナルが収束・集結する JAK 分子を起点とした疾患像を「JAK 分子ネットワーク・プロファイル」として細胞・分子レベルで網羅的に描出することにより、新たな病態の理解と治療戦略の創出につながることも期待できる。

3. 研究の方法

本研究では JAK 阻害薬の大腸における効果を、研究代表者らが独自に確立したオルガノイド(共)培養システムやシングルセル遺伝子解析システムを用い、粘膜を構成する免疫担当細胞・間葉系細胞・腸上皮細胞について細胞種横断的に分子生化学的・機能的解析を行い、JAK 阻害剤投与を行った対象患者について、大腸内視鏡検査及び生検組織の採取を実施し、疾患活動性に関する臨床的評価(内視鏡スコア等)と病理学的評価の関連を解析した。さらに、これら対象患者の JAK 阻害剤投与前の背景因子と、治療開始後 4、8、12、24、52 週後の治療効果を解析し、治療効果の予測因子を探索した。

4. 研究成果

本研究は JAK 阻害薬が効果を発揮するために、腸管における多彩な粘膜構成細胞の如何なる細胞を標的とし、如何なる分子機序を介して効果を発揮するのか、そしてその効果の有無が規定される条件を、臨床情報の解析と、患者由来の組織検体を用いた最新のシングルセル解析を行なって解明を試みた。まず、大腸粘膜構成細胞群におけるシングルセル遺伝子解析系を構築するため、小腸オルガノイドを用いた既報に基づき、潰瘍性大腸炎患者由来オルガノイド(n=4)、およびクローン病患者由来大腸オルガノイド(n=1)を用いて解析条件検討を行ない、マイクロ流路系と MultiplexPCR 法によるシングルセル解析は概ね同条件で実施可能であること、単一細胞レベルの分離と RNA 抽出及び逆転写反応が実施可能であることを確認した。既知の幹細胞関連の 10 遺伝子について検討を行い、大腸オルガノイドにおいても、小腸オルガノイドと同様の遺伝子発現レベルの評価が遂行可能なことを確認し、得られたシングルセル遺伝子発現データについて主成分解析を行った結果、大腸由来オルガノイドの UC 及び CD 間では明らかな違いは認めなかったが、患者由来小腸オルガノイド(n=6)と大腸由来オルガノイド(n=5)の比較において異なる分布を示し、部位間の差異が検出可能な解析系として機能していることが確認できた。一方、JAK 阻害剤投与を行った対象患者について、大腸内視鏡検査(のべ 29 件)及び生検組織の採取(n=27)を実施し、疾患活動性に関する臨床的評価(内視鏡スコア等)と病理学的評価の関連を解析した。さらに、これら対象患者の JAK 阻害剤投与前の背景因子と、治療開始後 4、8、12、24、52 週後

の治療効果を解析し、治療効果の予測因子を探索したところ、治療開始 4 週後の効果が 52 週後の治療効果予測に有用な因子であることがわかった。以上より、大腸粘膜構成細胞群におけるシングルセル遺伝子解析系を構築することができ、対象となる患者の臨床的評価を内視鏡検査および生検組織の病理学的評価で行なって、臨床経過を含めた解析により治療効果予測因子を見出すことができた。治療有効性を規定する因子の同定にはさらなる解析が必要であったが、臨床情報から治療効果予測に有用な因子が同定された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 大塚和朗、竹中健人、藤井俊光、齊藤詠子、本林麻衣子、清水寛路、日比谷秀爾、長堀正和、土屋輝一郎、渡辺 守	4. 巻 32
2. 論文標題 重症度評価と粘膜治癒の意義	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 消化器内視鏡	6. 最初と最後の頁 256-261(
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Kento Takenaka, Toshimitsu Fujii, Kohei Suzuki, Hiromichi Shimizu, Maiko Motobayashi, Shuji Hibiya, Eiko Saito, Masakazu Nagahori, Mamoru Watanabe, Kazuo Ohtsuka	4. 巻 -
2. 論文標題 Small Bowel Healing Detected by Endoscopy in Patients With Crohn's Disease After Treatment With Antibodies Against Tumor Necrosis Factor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin. Gastroenterol. Hepatol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cgh.2019.08.024.	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 Hiromichi Shimizu, Kohei Suzuki, Mamoru Watanabe, Ryuichi Okamoto	4. 巻 17
2. 論文標題 Stem cell-based therapy for inflammatory bowel disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Intest Res	6. 最初と最後の頁 311-316
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5217/ir.2019.00043	査読の有無 無
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 清水寛路、鈴木康平、岡本隆一、渡辺 守	4. 巻 34
2. 論文標題 【炎症性腸疾患診療のupdate-診断・治療の最新知見】炎症性腸疾患の内科治療 粘膜再生治療法	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床消化器内科	6. 最初と最後の頁 894-898
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Toshimitsu Fujii, Shuji Hibiya, Chiaki Maeyashiki, Eiko Saito, Kento Takenaka, Maiko Motobayashi, Hiromichi Shimizu, Masakazu Nagahori, Kazuo Ohtsuka, Masayuki Kurosaki, Tsunehito Yauchi, Mamoru Watanabe
2. 発表標題 Intolerance to 5-aminosalicylate is a risk of poor prognosis in Ulcerative colitis patients.
3. 学会等名 ECCO2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水寛路、藤井俊光、日比谷秀爾、本林麻衣子、竹中健人、齊藤詠子、長堀正和、大塚和朗、渡辺 守
2. 発表標題 難治性潰瘍性大腸炎におけるトファシチニブの治療成績
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 藤井俊光、清水寛路、本林麻衣子、日比谷秀爾、竹中健人、齊藤詠子、長堀正和、大塚和朗、渡辺 守
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎に対するペドリズマブのreal world experience
3. 学会等名 第10回日本炎症性腸疾患学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日比谷秀爾、藤井俊光、齊藤詠子、本林麻衣子、竹中健人、清水寛路、長堀正和、大塚和朗、黒崎雅之、矢内常人、泉 並木、渡辺 守
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎治療における 5-ASA 不耐の予後への影響の検討
3. 学会等名 第10回日本炎症性腸疾患学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水寛路、藤井俊光、本林麻衣子、日比谷秀爾、竹中健人、齊藤詠子、長堀正和、大塚和朗、渡辺 守
2. 発表標題 【ワークショップ1：IBDに対する新規治療薬の位置付け】トファシチニブによる潰瘍性大腸炎治療における実臨床の成績
3. 学会等名 第10回日本炎症性腸疾患学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡本隆一、清水寛路、渡辺 守
2. 発表標題 【消化器疾患と再生医療】炎症性腸疾患に対する再生医療の開発
3. 学会等名 JDDW2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井俊光、日比谷秀爾、齊藤詠子、竹中健人、清水寛路、長堀正和、大塚和朗、黒崎雅之、矢内常人、泉 並木、渡辺 守
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎における5ASA不耐は予後不良因子となる
3. 学会等名 JDDW2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川井麻央、河本亜美、永田紗矢香、安齋 翔、高橋純一、久野玲子、平栗優衣、鈴木康平、清水寛路、油井史郎、岡本隆一、渡辺 守
2. 発表標題 患者由来腸上皮オルガノイドを用いたイソフラボン類による腸上皮機能調節機構の解析
3. 学会等名 第56回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eiko Saito, Kohei Suzuki, Shuuji Hibiya, Maiko Motobayashi, Kento Takenaka, Nobukatsu Horita, Hiromichi Shimizu, Michio Onizawa, Toshimitsu Fujii, Masakazu Nagahori, Kazuo Ohtsuka, Mamoru Watanabe
2. 発表標題 The clinical efficacy of ustekinumab (UST) in patients with Crohn's disease (CD)
3. 学会等名 AOCC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kento Takenaka, Kazuo Ohtsuka, Toshimitsu Fujii, Kohei Suzuki, Hiromichi Shimizu, Maiko Motobayashi, Shuji Hibiya, Eiko Saito, Masakazu Nagahori, Mamoru Watanabe
2. 発表標題 Small bowel endoscopic healing of Crohn's disease treated with anti-TNF antibodies
3. 学会等名 AOCC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawai M, Hama M, Nagata S, Kawamoto A, Suzuki K, Shimizu H, Anzai S, Takahashi J, Kuno R, Takeoka S, Hiraguri Y, Yui S, Okamoto R, Watanabe M
2. 発表標題 Functional analysis of isoflavones using patient-derived intestinal organoids
3. 学会等名 AOCC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水寛路、齊藤詠子、渡辺 守
2. 発表標題 【シンポジウム6：難治性潰瘍性大腸炎の治療戦略における外科と内科のコラボレーション】当院における難治性潰瘍性大腸炎における内科治療とその限界，手術症例を含めた検討
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 Ryuichi Okamoto, Mao Kawai, Minami Hama, Sayaka Nagata, Ami Kawamoto, Kohei Suzuki, Hironichi Shimizu, Sho Anzai, Junichi Takahashi, Reiko Kuno, Sayaka Takeoka, Yui Hiraguri, Shiro Yui, Mamoru Watanabe
2. 発表標題 【The 6th JSGE International Topic Conference Lifestyle-related Diseases in Gastroenterology】Gastrointestinal tract (role of gut microbiome and diet)
3. 学会等名 第105回 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019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
---------	---------