

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16992

研究課題名（和文）クローン病患者における抗IL-12/23p40抗体の治療効果予測因子の同定

研究課題名（英文）Exploration of predictive markers of therapeutic response to anti-IL-12/23p40 antibody in patients with Crohn's disease.

研究代表者

藤岡 審 (Fujioka, Shin)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：90814400

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、抗IL-12/23p40抗体療法を新規導入したクローン病患者の末梢血T細胞におけるTh分化の変化を解析した。また、腸管粘膜組織における遺伝子発現解析を行った。同様の解析を抗TNF抗体療法を新規導入した患者にも行い、両者の比較を行った。結果、抗IL-12/23p40抗体療法を行った患者群において、治療後に末梢血中のTh17細胞比率の有意な減少が確認された。また、腸管粘膜組織においてはTh17分化に関わる遺伝子発現が抑制されていた。この抑制された遺伝子は抗TNF抗体療法で変動したものと別種類のものであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クローン病をはじめとした炎症性腸疾患では現在、複数の生物学的製剤および免疫抑制薬が治療薬として承認されているが、治療効果の予測因子や治療薬導入の順序は明らかとなっておらず、治療戦略を立てる上での障害となっている。本研究により抗IL-12/23p40抗体療法と抗TNF抗体療法では異なる治療メカニズムを有していることが確認され、本研究で用いた分子生物学的手法が治療薬を選択する上での判断材料になる可能性が示された。さらに、それぞれの治療不応時や効果減弱時における薬剤の切り替えが有望な治療選択肢であることが裏付けられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed changes in Th differentiation in peripheral blood T cells from Crohn's disease patients newly inducted anti-IL-12/23p40 antibody therapy. Gene expression analysis in intestinal mucosal tissues was also performed. The same analysis was performed on patients newly inducted anti-TNF antibody therapy, and the two groups were compared. The results showed a significant decrease in the ratio of Th17 cells in peripheral blood in the group of patients treated with anti-IL-12/23p40 antibody. In addition, gene expression related to Th17 differentiation was suppressed in the intestinal mucosa tissue. The suppressed genes were different from those altered by anti-TNF antibody therapy.

研究分野：医歯薬学

キーワード：クローン病 抗IL-12/23p40抗体 Th分化 遺伝子発現解析

1. 研究開始当初の背景

クローン病は炎症性腸疾患の一病型であり、再燃寛解を繰り返すことで徐々に腸管へのダメージが蓄積される結果、狭窄や瘻孔を形成していく難治性の病態である。抗 Tumor necrosis factor 抗体療法(以下、TNF 療法)の臨床応用により、クローン病の治療目標は従来の症状改善から粘膜治癒の達成と再燃防止という高い水準に設定できるようになった。しかし、その一方で治療不応例や治療経過中の効果減弱例への対処が課題となっていた。2017年に適応承認となった抗 Interleukin-12/23p40 抗体である Ustekinumab 療法(以下、UST 療法)は、TNF 療法不応例や効果減弱例への治療効果が明らかとなり、難治性クローン病診療における新たな治療選択肢と位置づけられた。しかし、UST 療法の治療効果予測因子に関する知見は不足しており、UST 療法の適応症例を正確に選別することは困難であった。さらに、UST 療法不応例や効果減弱例への治療アプローチ確立の必要性も生じていた。これらの問題を解決するためには、UST 療法中の生体内における免疫プロファイルの把握を通じて治療効果に関わる因子を明らかにする事が必要と考え研究の立案に至った。

2. 研究の目的

UST 療法が末梢血 T 細胞分化および腸管内遺伝子発現に及ぼす影響を実診療における生体試料を用いて解析することにより、UST 療法の生体内における治療標的を明らかにする。同時に、先行して臨床導入されていた TNF 療法との作用機序の比較を通じて、両治療の診療上の立ち位置を検討する。

3. 研究の方法

フローサイトメトリーを用いたクローン病患者の末梢血中の T 細胞分化の解析

新規に UST 療法および TNF 療法を導入されたクローン病患者を対象に導入前後に末梢血を採取し単核球を分離した。その後、Th1 細胞、Th2 細胞、Th17 細胞、制御性 T 細胞(Treg)に分化した T 細胞の割合をフローサイトメトリーにて解析した。

デジタルカウント遺伝子発現解析を用いた腸管粘膜内の遺伝子発現レベルの網羅的解析

UST 療法および TNF 療法を導入されたクローン病患者各 3 名を対象として、治療導入前後で大腸内視鏡を行い、活動性炎症を伴う大腸粘膜より生検組織を採取した。メッセンジャー RNA を抽出した後、デジタルカウント遺伝子発現解析により治療前後での遺伝子発現レベルを網羅的に解析した。さらに、Metascape によるエンリッチメント解析により治療標的となる経路の探索を行った。

潰瘍性大腸炎患者の末梢血 T 細胞分化の解析および治療効果との相関の検証

クローン病患者に実施した検討と同様の手技を用いて、UST 療法を受けた潰瘍性大腸炎患者の治療前後の末梢血 T 細胞分化を解析した。さらに、治療前後の各 Th 細胞比率およびその変化量と潰瘍性大腸炎の臨床症状改善効果の相関を検証した。

4. 研究成果

各治療で治療効果が得られた症例(UST 療法 12 例、TNF 療法 9 例)を比較したところ UST 療法では 8 例(67%)で Th17 細胞が減少していた一方で、TNF 療法では Th17 細胞の減少は 1 例(11%)にとどまり、有意差を認めた。一方で Treg 細胞は TNF 療法では 8 例(89%)で増加していた一方、UST 療法では 8 例(67%)での増加にとどまった(図 1)。クローン病患者において末梢血 T 細胞の分化に及ぼす影響が両治療では異なる事が示された。

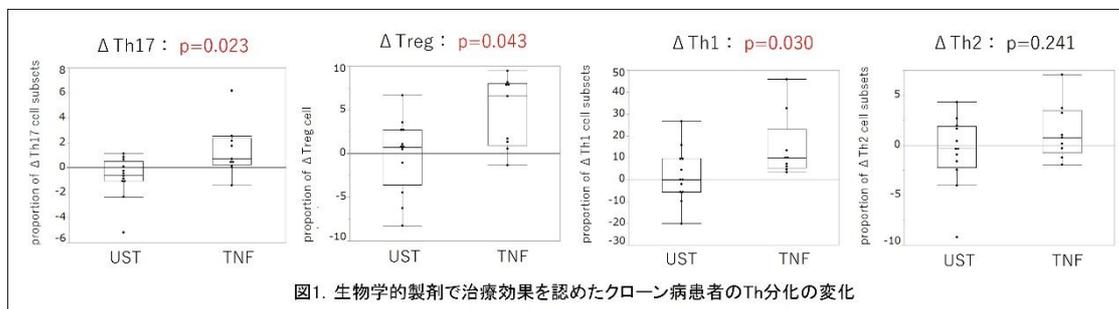


図1. 生物学的製剤で治療効果を認めたクローン病患者のTh分化の変化

クローン病患者の腸管粘膜組織を用いた遺伝子発現解析では UST 療法で 11 種の遺伝子発現が亢進し、19 種の遺伝子発現が抑制されていた。抑制された遺伝子の詳細を解析したところ Th17 分化経路と有意な関連が確認された(図 2a)。TNF 療法では 4 種の遺伝子発現が亢進し、30 種の遺伝子発現は抑制されていた(図 2b)。興味深いことに、変動した遺伝子は両治療の間で全く重複がみられなかった。

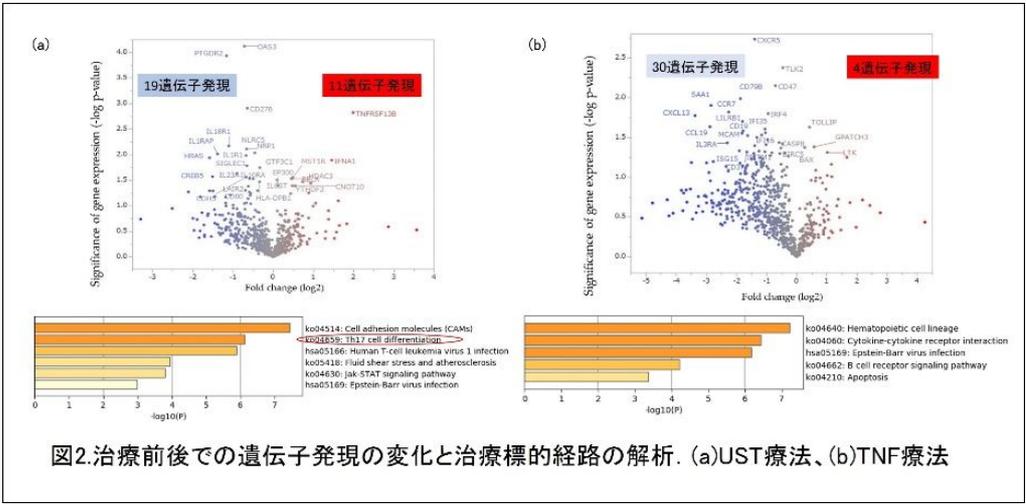


図2.治療前後での遺伝子発現の変化と治療標的経路の解析. (a)UST療法、(b)TNF療法

潰瘍性大腸炎患者 13 例の末梢血 T 細胞分化の解析においても、UST 療法後に Th17 細胞の有意な減少が確認された(図 3)。さらに、UST 療法前の Th17 細胞比率に応じた比較を行ったところ、同比率の高い症例において特に臨床症状が改善していた。

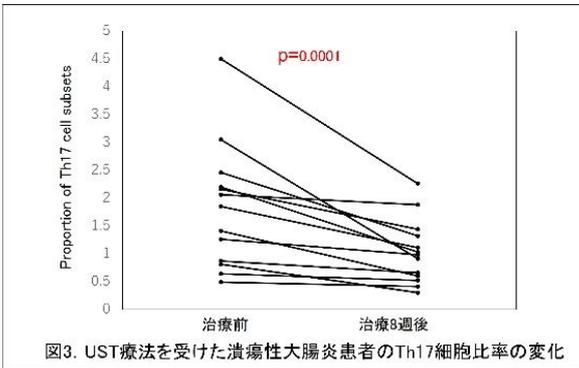


図3. UST療法を受けた潰瘍性大腸炎患者のTh17細胞比率の変化

本研究を通じて、クローン病における UST 療法による腸炎抑制が主に Th17 細胞の抑制を通じて行われている事が実診療の検体を用いた解析により示された。また、潰瘍性大腸炎における UST 療法に関しても同様の機序が作用していることが示唆された。TNF 療法とは異なるメカニズムであることが遺伝子発現解析を通じて確認されたことより、それぞれの治療不応時や効果減弱時における薬剤の切り替えが有望な治療選択肢であることを裏付ける結果と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ihara Yutaro, Torisu Takehiro, Miyawaki Kohta, Umeno Junji, Kawasaki Keisuke, Hirano Atsushi, Fujioka Shin, Fuyuno Yuta, Matsuno Yuichi, Sugio Takeshi, Sasaki Kensuke, Moriyama Tomohiko, Akashi Koichi, Kitazono Takanari	4. 巻 102
2. 論文標題 Ustekinumab Improves Active Crohn's Disease by Suppressing the T Helper 17 Pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 946 ~ 955
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000518103	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 Kakizoe Kozue, Fujioka Shin, Noda Mayaka, Torisu Takehiro	4. 巻 61
2. 論文標題 IBD-like Lesions in a Secukinumab-treated Patient	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2077 ~ 2078
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.8475-21	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 Noriyuki Imazu, Takehiro Torisu, Yutaro Ihara, Junji Umeno, Keisuke Kawasaki, Shin Fujioka, Yuta Fuyuno, Yuichi Matsuno, Tomohiko Moriyama, Takanari Kitazono	4. 巻 -
2. 論文標題 Ustekinumab Decreases Circulating Th17 Cells in Ulcerative Colitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Internal Medicine	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) 10.2169/internalmedicine.1724-23	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 今津 愛介, 鳥巢 剛弘, 長畑 誠修, 松野 雄一, 冬野 雄太, 藤岡 審, 川崎 啓祐, 梅野 淳嗣, 森山 智彦, 北園 孝成
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎に対するUstekinumab投与症例の短期的効果の検討
3. 学会等名 第117回日本消化器病学会九州支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井原勇太郎、梅野淳嗣、川崎啓祐、冬野雄太、松野雄一、藤岡審、森山智彦、鳥巢剛弘
2. 発表標題 活動期クローン病における治療方法がTh分化に与える影響
3. 学会等名 第17回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井原勇太郎、鳥巢剛弘、梅野淳嗣、藤岡審、森山智彦
2. 発表標題 難治性クローン病患者に対するウステキヌマブの臨床効果と粘膜治癒効果
3. 学会等名 第110回日本消化器内視鏡学会九州支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今津愛介、松野雄一、冬野雄太、藤岡審、川崎啓祐、梅野淳嗣、森山智彦、鳥巢剛弘
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎に対するUstekinumabによるヘルパーT細胞分化の検討
3. 学会等名 第120回日本消化器病学会九州支部例会
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
---------	---------