

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22937

研究課題名(和文)潰瘍性大腸炎における新規病因自己抗体の同定

研究課題名(英文)Identification of novel pathogenic autoantibodies in ulcerative colitis

研究代表者

桑田 威 (Kuwada, Takeshi)

京都大学・医学研究科・医員

研究者番号：10879084

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：潰瘍性大腸炎(Ulcerative colitis: UC)は原因不明の難病であり、疾患特異的診断法や客観的バイオマーカーが存在しない。

本研究ではUCにおける抗インテグリン V_β6自己抗体について検証した。集積した症例でUC診断における抗インテグリン V_β6自己抗体の有用性、疾患活動性との相関について解析した結果、診断については予備実験(感度92%、特異度95%)と同様非常に良好な結果であり、疾患活動性と自己抗体価には相関関係が認められた。以上より、抗インテグリン V_β6自己抗体はUC診断・疾患活動性評価において有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆され、論文投稿・学会発表などを行なった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

UCの病態形成には、遺伝的因子・環境因子に加え自己免疫機序の関与が示唆されているが、未だに確固たる病因同定には至っていない。そのため、疾患特異的診断法や客観的バイオマーカーがなく、症状や内視鏡所見を組み合わせた総合評価を用いて診療しているのが現状である。UC患者において、抗インテグリン V_β6自己抗体は非常に高い感度・特異度を示し、病因・病態との関連を示唆する機能を有しており、これまでにない世界初の発見である。本研究により汎用性のある自己抗体測定法が開発され、我が国よりUCの診断・病型分類・治療効果判定における新たな診療体系を発信できれば、極めて大きな国際的インパクトを与えるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Ulcerative colitis (UC) is an intractable disease of unknown cause, and there are no disease-specific diagnostic methods or objective biomarkers.

In this study, we examined anti-integrin V_β6 autoantibodies in UC. The results of analysis of the usefulness of anti-integrin V_β6 autoantibody in the diagnosis of UC and its correlation with disease activity in the collected cases showed that the results were very good for diagnosis as in the preliminary experiment (sensitivity 92%, specificity 95%), and a correlation was observed between disease activity and autoantibody titer.

These results suggest that anti-integrin V_β6 autoantibodies may be a useful biomarker for UC diagnosis and disease activity evaluation, and we have submitted a paper and presented it at a conference.

研究分野：消化器内科

キーワード：潰瘍性大腸炎 炎症性腸疾患 自己抗体 インテグリン

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis: UC)は大腸にびらんや潰瘍を形成する原因不明の炎症性腸疾患であり、その患者数は若年者を中心に世界的に増加傾向にある。また、繰り返す寛解と再燃により患者の Quality of life が長期にわたり損なわれるのみならず、大腸癌合併のリスクを有し生命予後にも影響することから我が国の指定難病に指定されている。これまでに全世界における精力的な研究により、UC では遺伝的因子に加え、腸内細菌などの環境因子や自己免疫機序による大腸粘膜上皮のバリア機構の破綻が関与している可能性が示唆されてきたが、その病態解明には至っていない(Neurath MF. *Nat Rev Immunol.* 2014)。そのため疾患特異的診断法、疾患活動性マーカーおよび根治的治療法が確立されておらず、症状や内視鏡所見などを組み合わせた総合診断や非特異的治療法に頼らざるを得ないのが現状である。

申請者らは、UC の患者血清中に細胞接着分子インテグリン $\alpha V\beta 6$ に対する自己抗体が存在することを発見した。

さらに申請者らは、

- 抗インテグリン $\alpha V\beta 6$ 抗体が UC の診断において高い感度・特異度を示す (図1)
- UC 患者の大腸粘膜では健常者よりインテグリン $\alpha V\beta 6$ の発現が高い
- 抗インテグリン $\alpha V\beta 6$ 抗体が、インテグリン $\alpha V\beta 6$ とそのリガンドであるフィブロネクチンとの結合を阻害することで細胞接着を阻害する(図2)

ことを示し、抗インテグリン $\alpha V\beta 6$ 抗体が、UC の病態に関与する可能性が高いと考えている。

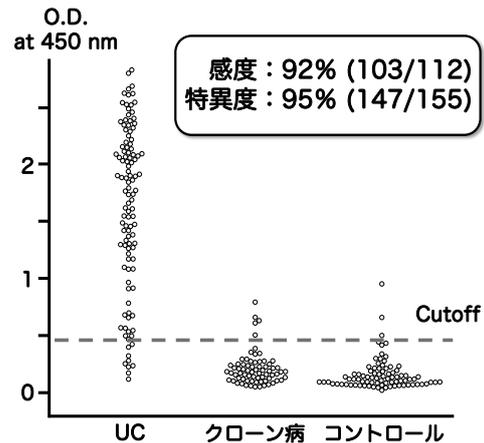


図1:感度・特異度の高い自己抗体の発見

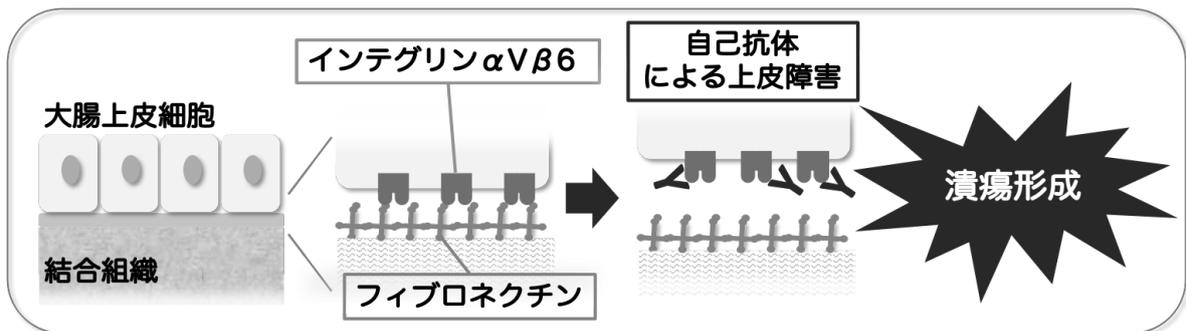


図2:抗インテグリン $\alpha V\beta 6$ 抗体による UC の病態仮説

抗インテグリン $\alpha V\beta 6$ 抗体が UC の病因性自己抗体であるかという「問い」に答えることができれば、UC の診療および研究において大きな変化をもたらすことが期待できるため、本研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的はこの自己抗原・自己抗体が病因であるか検証し、これに基づいた疾患特異的診断法の開発および病態解明のための UC モデルマウスを確立することである。具体的には、(1)UC 患者における自己抗体の検討、(2)UC 患者臨床像や疾患活動性と自己抗体の相関解析、(3)UC 患

者より抽出した自己抗体の病原性の証明、(4)自己抗原の免疫による UC モデルマウスの確立である。以上より、本研究では UC 患者検体を用いて**自己抗原と病因性自己抗体を同定し、疾患特異的診断法を確立する。さらに UC モデルマウスを作製し、UC 発症のメカニズムの解析を行う。**

3. 研究の方法

(1) UC診断における自己抗体の有用性の検討

インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ を用いた ELISA 法により、UC 患者における抗インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 抗体の解析を行う。予備実験では、感度 92%、特異度 95%と非常に良好な結果であった(図 1)。別のコホートで更なる症例の集積を行い、精度の高いものにしていく。コントロール群として、UC と同様に炎症性腸疾患の代表であるクローン病(CD)、感染性腸炎や虚血性腸炎などを検討する。

(2) UCの疾患活動性と自己抗体の相関解析

抗インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 抗体と、UC の病型、治療反応性などの臨床像や既存の重症度分類、疾患活動性評価法との相関を解析する。既存の指標との相関が示されれば、抗インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 抗体が簡便かつ汎用性の高い疾患活動性マーカーとなり得ることを示すことができる。症例に関しては、これまでの申請者らの研究や(1)で集積した症例において、経時的に集積していく。

(3) UC患者より抽出した自己抗体の病原性の証明

申請者らは、自己免疫性膵炎の患者血清より抽出した IgG をマウスに投与することで膵臓病変を誘導することを示し、その病原性を証明した(Shiokawa et al. *Gut*. 2016)。同様の手法を用いて UC 患者血清より IgG を精製してマウスへ投与し、大腸粘膜障害の誘導について解析することにより、その病原性を解析する。

(4) インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 免疫によるUCモデルマウスの確立

申請者らは自己免疫性膵炎モデルマウスを作製した経験から、抗インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 抗体がUCの病因である場合、インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ をアジュバントとともにマウスに投与して抗インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 抗体を誘導することにより、UCと同様の病変が形成される可能性があると考えた。本研究では、作製したマウスを解析することにより、UCと類似する病変が形成されるかどうか検討を行う。

4. 研究成果

(1)(2)では集積した症例について検討した結果、診断については予備実験(感度92%、特異度95%)と同様非常に良好な結果であり、抗インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 自己抗体と既存の疾患活動性評価の指標には、比較的強い相関関係が認められた。

(3)(4)ではUC患者より抽出したIgG投与・インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 免疫、いずれにおいても大腸に明らかな粘膜障害は認められなかった。

以上より、抗インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ 自己抗体はUCの診断・疾患活動性評価において有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆され、論文投稿(Kuwada et al. *Gastroenterology*. 2021)・学会発表などを行なった。病原性については、確証は得られていないものの、本自己抗体はUCの病態に関与する可能性のある機能(インテグリン $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ -フィブロネクチン阻害作用)を有する抗体であり、今後も病態解明・疾患モデル動物確立を目指して研究を継続する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kuwada Takeshi, Shiokawa Masahiro, Kodama Yuzo, et al.	4. 巻 160
2. 論文標題 Identification of an Anti-Integrin α 6 Autoantibody in Patients With Ulcerative Colitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 2383 ~ 2394
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.gastro.2021.02.019	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 Kuwada Takeshi, Shiokawa Masahiro, Seno Hiroshi	4. 巻 161
2. 論文標題 Two novel autoantibodies in patients with ulcerative colitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1725 ~ 1726
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.gastro.2021.08.008	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 桑田威, 塩川雅広, 妹尾浩
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎における特異的自己抗体の検討
3. 学会等名 第106回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑田威, 塩川雅広, 横出正隆, 他
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎における新規自己抗体の検討
3. 学会等名 第28回若手膵臓研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑田威, 塩川雅広, 横出正隆, 他
2. 発表標題 自己免疫疾患の病因抗体同定
3. 学会等名 第4回消化器臓器間ネットワーク研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takeshi Kuwada
2. 発表標題 New Autoantibody in Patients with Ulcerative Colitis
3. 学会等名 AOCC2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 桑田威, 塩川雅広, 妹尾浩
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎における新規自己抗体の検討
3. 学会等名 JDDW2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 桑田威, 塩川雅広, 大井充, 他
2. 発表標題 瘍性大腸炎における抗インテグリン $\alpha 6$ 自己抗体の検討
3. 学会等名 第12回日本炎症性腸疾患学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 栗田威, 塩川雅広, 妹尾浩	4. 発行年 2022年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 6
3. 書名 消化器病学サイエンス. 6巻1号	

1. 著者名 栗田威, 塩川雅広, 妹尾浩	4. 発行年 2022年
2. 出版社 日本臨牀社	5. 総ページ数 7
3. 書名 日本臨牀. 80巻3号	

〔産業財産権〕

〔その他〕

指定難病「潰瘍性大腸炎」の自己抗体発見 新たな診断や治療開発へ https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2021-03-09-1
--

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