

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590934

研究課題名(和文) S1P受容体を標的としたIBD新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of the novel IBD treatment targeted S1P receptor

研究代表者

藤井 俊光 (FUJII, TOSHIMITSU)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30547451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では炎症性腸疾患における特異的な免疫学的異常に着目し、リンパ球動態を制御する低分子化合物FTY720を用いた、これまでと全く異なる概念に基づく新規治療法に関して独自に検討を行った。FTY720を腸炎マウスの複数のモデルに投与した結果、その腸炎を著明に抑制することが可能であった。また我々は、この腸炎抑制機序はFTY720が腸炎惹起性リンパ球を二次リンパ節に隔離することで効果発現していることを明らかとした。

研究成果の概要(英文)：In inflammatory bowel diseases, it is thought that colitogenic memory CD4+ T cells are intermittently reactivated in regional lymphoid organs, and return to inflammatory tissues. Little is known about how FTY720 controls the migration property of memory T cells. We here demonstrated that FTY720 prevents the development of colitis induced by the adoptive transfer of naive CD4+ T cells into SCID mice. Also FTY720 prevents the colitis induced by the adoptive transfer of colitogenic effector-memory CD4+ T cells into SCID mice. In both model, cell number of CD4+ T cells was markedly decreased in peripheral blood of FTY720-treated mice, but conversely increased in lymph nodes. Notably, FTY720 treatment prevented the development of colitis in inflammatory bowel disease model by inhibition of T-cell egress from lymph nodes.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 消化器内科学

キーワード：炎症性腸疾患 慢性腸炎 リンパ球動態制御 FTY720

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患 (IBD) は若年者に好発し生涯にわたり治療の継続を余儀なくされる難病である。潰瘍性大腸炎では 10 万人、クローン病 3 万人と本邦においてもこれらの罹患数は、増加の一途をたどり社会問題となっている。中でも難治性 IBD 患者の多くはこれまでステロイドや免疫調節剤に伴う副作用や離脱困難に悩まされてきた。近年開発された抗 TNF- α 抗体製剤もクローン病治療の新たなスタンダードになりつつあるが、不応例や効果減弱例あるいは悪性リンパ腫といったさらに重篤な副作用などが臨床問題となっており、いまだ IBD に対する新規の治療法開発が急務となっている。

2. 研究の目的

本研究では我々が見いだした IBD における特異的な免疫学的異常に着目し、リンパ球動態制御に必須の分子 S1P 受容体を標的とした、これまでと全く異なる概念に基づいた新規治療法に関して独自に検討を行い IBD に対する新規治療法の開発基盤樹立を目的とした。

3. 研究の方法

IBD における特異的な免疫学的異常、特に病原性 T 細胞の S1P/S1P 受容体システムに関する知見をリンパ球動態制御による治療に応用するために、

- (1) マウス正常 T 細胞/病原性メモリー T 細胞に対する FTY720 の影響の検討
- (2) マウス慢性大腸炎モデルに対する FTY720 療法の確立
- (3) 二次リンパ節欠損腸炎モデルに対する FTY720 の有効性および骨髄病原性 T 細胞への影響の検討

を行った。

4. 研究成果

- (1) その結果、既報にあるナイーブ T 細胞のみならず病原性メモリー T 細胞にも S1P 受容体が発現していることがわかった。in vitro において FTY720 は単離したこれらの細胞に対しアポトーシスを誘導せず、各種細胞表面抗原の発現、ホーミング受容体の発現に影響をしなかった。次に、ナイーブ T 細胞移入腸炎モデルに対し FTY720 を投与した結果、移入後 8 週の臨床スコア、組織学的スコアともに著明に改善することがわかった。また、末梢血および大腸粘膜 CD4⁺T 細胞数は著明に減少していた。各臓器 CD4⁺T 細胞の細胞表面抗原、ホーミング受容体発現は FTY720 投与による影響は見られなかった。サイトカイン産生能について FTY720 投与群では Th1 および Th2 ともにサイトカイン産生を抑制した。以上より、炎症性腸疾患の慢性大腸炎モデルであるナイーブ T 細胞移入腸炎モデルに対し FTY720 は腸炎を著明に抑制することがわかった。

- (2) さらにメモリー T 細胞移入腸炎モデルに対し FTY720 を投与した結果、同様に腸炎スコアは著明に抑制され、末梢血および大腸粘膜 CD4⁺T 細胞数は著明に減少した。以上より、炎症性腸疾患の慢性大腸炎モデルであるナイーブ T 細胞移入腸炎モデルおよびメモリー T 細胞移入腸炎モデルに対し FTY720 は腸炎を著明に抑制することがわかった。
- (3) メモリー T 細胞移入腸炎モデルにおける腸炎抑制は、FTY720 が二次リンパ節にリンパ球を隔離し免疫抑制作用を発揮するという既存の機序では説明がつかなかった。これまで我々は慢性腸炎における骨髄潜在性病原性 T 細胞の重要性を見いだしてきており、同細胞に対する FTY720 の影響を検討するために、脾臓欠損腸炎モデルおよび二次リンパ節完全欠損腸炎モデルの作成を行った。
- (4) RAG2^{-/-}マウスを脾摘した脾臓欠損メモリー T 細胞移入腸炎モデル、Lymphotoxin- α ^{-/-} および RAG2^{-/-} の DNK マウスを更に脾摘した完全に二次リンパ組織を欠損させ、これに病原性メモリー T 細胞を移入した二次リンパ節完全欠損腸炎モデルいずれにおいても FTY720 はこれまでと同様に著明に腸炎を抑制することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 27 件)

Fujii T, Watanabe M (他 5 名、1 番目、7 番目): Advancing MR imaging in Crohn's disease. *Digestion*. 89(1):24-30. doi: 10.1159/000356210. 2014. 査読有

Suzuki M, Nagaishi T, Watanabe M (他 12 名、2 番目、14 番目): Myosin light chain kinase expression induced via tumor necrosis factor receptor 2 signaling in the epithelial cells regulates the development of colitis-associated carcinogenesis. *PLoS One*. 2014 Feb 10;9(2):e88369. doi: 10.1371/journal.pone.0088369. eCollection 2014.

藤井俊光 炎症性腸疾患の画像診断 modality IV. MRI -腸管評価の新たなモダリティは IBD 診療を変えるか - *INTESTINE* Vol. 18 No. 2 Page159-166 2014 査読無

Naganuma M, Fujii T, Watanabe M (他 3 名、3 番目、6 番目): Poor recall of prior exposure to varicella zoster,

rubella, measles, or mumps in patients with IBD. **Inflamm Bowel Dis.** 19:418-22. 2013. 査読有

Naganuma M, Fujii T, Watanabe M (他 9 名、2 番目、11 番目): Incidence and characteristics of the 2009 influenza (H1N1) infections in inflammatory bowel disease patients. **J Crohns Colitis.** 7: 308-313. 2013 査読有

Fordham RP, Watanabe M (他 7 名、8 番目): Establishment of Fetal Enteric Progenitors as a Source for Transplantation. **Cell Stem Cell** (in press), 2013. 査読有

Ito G, Watanabe M (他 15 名、16 番目): Lineage-specific expression of Bestrophin-2 and Bestrophin-4 in human intestinal epithelial cells. **PLoS One** (in press) 2013. 査読有

Nemoto Y, Watanabe M (他 6 名、8 番目): Th1/Th7-Mediated Interstitial Pneumonia in Chronic Colitis Mice Independent of Intestinal Microbiota. **J Immunol.** 190: 6616-6625, 2013. 査読有

Kano Y, Watanabe M (他 12 名、14 番目): The acquisition of malignant potential in colon cancer is regulated by the stabilization of Atonal homolog 1 protein. **Biochem Biophys Res Commun.** 432: 175-181, 2013 査読有

Nemoto Y, Watanabe M (他 6 名、8 番目): Bone marrow-mesenchymal stem cells are a major source of interleukin-7 and sustain colitis by forming the niche for colitogenic CD4+ memory T cells. **Gut** 62: 1142-1152, 2013. 査読有

長堀 正和, 藤井 俊光, 渡辺 守【潰瘍性大腸炎診療のトピックス】潰瘍性大腸炎に対する生物学的製剤による治療 日本消化器病学会雑誌 (0446-6586)110 巻11号 Page1909-1915 2013 査読有

藤井 俊光, 渡辺 守【抗体医薬による消化器治療のパラダイムシフト】【炎症性腸疾患 (IBD) に対する生物学的製剤治療】生物学的製剤による IBD 治療戦略の進歩 どう変わっていくか 消化器の臨床 (1344-3070)16 巻5号 Page454-459 2013 査読無

藤井 俊光, 渡辺 守 他【小腸疾患の臨床-最近の進歩】クローン病に対する MREC (MR enterocolonography) の有用性 臨床消化器内科 (0911-601X)28 巻 7 号 Page1069-1075 2013 査読無

Araki A, Fujii T, Watanabe M (他 6 名、7 番目、9 番目): Endoscopic ultrasound with double-balloon endoscopy for the diagnosis of

inverted Meckel's diverticulum: a case report. **J Med Case Rep.** 6:328, 2012. 査読有

Chen L, Nagaishi T (他 20 名、12 番目): The short isoform of the CEACAM1 receptor in intestinal T cells regulates mucosal immunity and homeostasis via Tfh cell induction. **Immunity.** 37:930-946, 2012. 査読有

Yui S, Nagaishi T, Watanabe M (他 9 名、8 番目、12 番目): Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. **Nat Med.** 18:618-623, 2012. 査読有

Nagaishi T, Watanabe M: (他 11 名、1 番目、13 番目) The development of colitogenic CD4+ T cells is regulated by IL-7 in collaboration with natural killer cell function in a murine model of colitis. **J Immunol.** 188:2524-2536, 2012. 査読有

Mizutani T, Nagaishi T, Watanabe M (他 11 名、10 番目、13 番目): Real-time analysis of P-glycoprotein-mediated drug transport across primary intestinal epithelium three-dimensionally cultured in vitro. **Biochem Biophys Res Commun.** 419:238-243, 2012. 査読有

Nitta S, Watanabe M (他 13 名、15 番目): Hepatitis C virus NS4B protein targets STING and abrogates RIG-I-mediated type-I interferon-dependent innate immunity. **Hepatology.** 57:46-58, 2012. 査読有

Ono Y, Watanabe M (他 12 名、13 番目): T-helper 17 and interleukin-17-producing lymphoid tissue inducer-like cells make different contributions to colitis in mice.

Gastroenterology. 143:1288-1297, 2012. 査読有

21 Naganuma M, Watanabe M (他 3 名、5 番目): A prospective analysis of the incidence of and risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. **J Gastroenterol.** 48:595-600, 2012 査読有

22 Naganuma M, Fujii T, Watanabe M (2 番目、3 番目): The use of traditional and newer calcineurin inhibitors in inflammatory bowel disease. **J Gastroenterol.** 46:129-37, 2011. 査読有

23 Nemoto Y, Watanabe M (他 8 名、10 番目): Luminal CD4+ T cells penetrate gut epithelial monolayers and egress

- from lamina propria to blood circulation. **Gastroenterology**. 2011, 141:2130-2139. 査読有
- 24 Zheng X, Watanabe M (他 6 名、8 番目) : Suppression of hath1 gene expression directly regulated by hes1 via notch signaling is associated with goblet cell depletion in ulcerative colitis. **Inflamm Bowel Dis**. 11:2251-2260, 2011. 査読有
- 25 Shinohara T, Watanabe M (他 8 名、10 番目) : Upregulated IL-7R expression on colitogenic memory CD4+ T cells may participate in the development and persistence of chronic colitis. **J Immunol** . 186:2623-2632, 2011. 査読有
- 26 Funaoka Y, Watanabe M (他 11 名、13 番目) : Analysis of interferon signaling by infectious hepatitis C virus clones with substitutions of core amino acids 70 and 91. **J Virol**. 85: 5986-5994, 2011. 査読有
- 27 長沼誠, 藤井俊光, 渡辺守. 【クローン病の長期予後改善をめざして】長期予後の面からみたクローン病に対する免疫調節薬の有用性. 日本消化器病学会雑誌 108 巻 3 号 Page 388-400 2011. 査読有

〔学会発表〕(計 21 件)

Watanabe M, et al. AJM300, an oral 4 integrin antagonist, for active ulcerative colitis: a multicenter, randomized, doubleblind, placebo-controlled phase 2a study. DDW/AGA 2014 Chicago ASGE/AGA Joint Presidential Plenary 2014 年 5 月 5 日

Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe, et al. The consecutive salvage therapy of tacrolimus and infliximab is effective in patients with refractory ulcerative colitis accompanied by acceptable adverse operative outcomes. DDW/AGA 2014 Chicago 2014 年 5 月 4 日

Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe, et al. MR enterocolonography is useful to predict clinical recurrence of Crohn's disease and identify patients who need more aggressive treatment. UEG Week 2013 Berlin 2013 年 10 月 14 日

Toshimitsu Fujii. Morning Seminar 2 Case Discussion - Crohn's Disease. AOCC(Asian Organization for Crohn's & Colitis) 2013 Tokyo 2013 年 6 月 14 日

Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe, et

al. MR enterocolonography can predict clinical recurrence of Crohn's disease. DDW/AGA 2013 Orlando 2013 年 5 月 20 日

藤井俊光, 長堀正和, 渡辺守. クローン病の再燃予測における MR enterocolonography (MREC) の有用性. 第 99 回日本消化器病学会総会 2013 年 3 月 23 日 鹿児島

Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe, et al. Intravenous tacrolimus therapy can rapidly induce remission in refractory ulcerative colitis. 8th Congress of ECCO Vienna 2013 年 2 月 14 日

藤井俊光, 齊藤詠子, 長堀正和, 長沼誠, 大塚和朗, 渡辺守. MR

enterocolonography (MREC) のクローン病小腸大腸病変の評価および再燃予測における有用性. 第 9 回消化管学会総会学術集会 2013 年 1 月 26 日 東京

Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe, et al. Intravenous tacrolimus therapy can rapidly induce remission in refractory ulcerative colitis. EUG Week 2012 Amsterdam 2012 年 10 月 22 日

藤井俊光, 長堀正和, 渡辺守. クローン病小腸大腸病変の評価および再燃予測における MR エンテロコロノグラフィー (MREC) の有用性. JDDW2012 第 54 回日本消化器病学会大会 2012 年 10 月 12 日 神戸

Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe, et al. Intravenous tacrolimus therapy can rapidly induce remission in refractory ulcerative colitis. DDW/AGA 2012 San Diego 2012 年 5 月 19 日

藤井俊光, 齊藤詠子, 森尾純子, 長堀正和, 長沼誠, 渡辺守. 難治性潰瘍性大腸炎に対する Tacrolimus 静注療法の有用性と安全性の検討. 第 98 回日本消化器病学会総会 2012 年 4 月 21 日 東京

藤井俊光, 長沼誠, 渡辺守. 抗体製剤使用炎症性腸疾患患者における血中濃度測定と中和抗体測定の意義. 第 98 回日本消化器病学会総会 2012 年 4 月 19 日 東京

Makoto Naganuma, Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe et al. Serological test and vaccinations for measles, mumps, rubella, and varicella zoster deserve considerations as early as possible after diagnosis of inflammatory bowel disease. UEGW 2011 Stockholm 2011 年 10 月 25 日

藤井俊光, 渡辺守. 重症潰瘍性大腸炎に対する Hybrid tacrolimus 療法の試み. JDDW2011 第 53 回日本消化器病学会大

会 2011年10月23日 福岡
Takashi Nagaishi, Mamoru Watanabe et al. Natural killer cells suppress a murine model of colitis by targeting the early stage of T cell development. International Congress of Mucosal Immunology 2011, July 7th 2011, Paris
藤井俊光, 渡辺守. 免疫調整剤/分子生物製剤を用いた難治性潰瘍性大腸炎の対する治療戦略. 第97回日本消化器病学会総会 2011年5月15日 東京
Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe et al. Prevalence of influenza infection and safety of human infection with influenza A (H1N1) vaccine in patients with IBD patients treated with immunomodulators and biologics. DDW/AGA 2011 Chicago 2011年5月10日
Osamu Yamaji, Takashi Nagaishi, Mamoru Watanabe et al. NK cells regulate CD62L-CD44- T cell subset in the development of pathogenic T cells in a murine model of colitis. DDW/AGA 2011 Chicago 2011年5月8日
Shiro Yui, Takashi Nagaishi, Mamoru Watanabe et al. Regeneration of damaged colonic tissue by transplantation of colonic epithelial stem cells maintained and expanded in vitro. DDW/AGA 2011 Chicago 2011年5月8日
21 Hyun Sea Bong, Toshimitsu Fujii, Mamoru Watanabe et al. MR enterocolonography demonstrates comparative ability to double-balloon endoscopy for the simultaneous assessment of small and large intestinal lesions in Crohn's disease. DDW/AGA 2011 Chicago 2011年5月8日

〔図書〕(計 6件)

渡辺守 これで納得! 画像で見ぬく消化器疾患 vol.3 小腸 医学出版 168頁、2014年
渡辺守 今日の治療指針2014 医学書院 2128頁 Page469-470 2014年、腸結核・腸管(型)パーチェット病
渡辺守, 藤井俊光 実践! IBD診療 医学出版 224頁 2014年
大島 茂, 藤井 俊光, 渡辺 守 病態と治療戦略がみえる 免疫・アレルギー疾患イラストレイテッド 羊土社 359頁 Page 200-205 2013年 臨床編II 臓器特異的自己免疫疾患 クローン病
渡辺守 IBD 炎症性腸疾患を究める メジカルレビュー社 304頁 2011年
渡辺守 これでわかるIBD診療のすべて 南江堂 140頁 2011年

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤井 俊光 (FUJII Toshimitsu)
東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 30547451

(2)研究分担者

渡辺 守 (WATANABE Mamoru)
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号: 10175127

(3)連携研究者

永石宇司 (NAGAISHI Takashi)
東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 60447464