

201231004A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

難治性炎症性腸疾患のゲノムおよびエピゲノム解析による
病因・病態・治療抵抗性機序の解明

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 笹月 健彦

平成25年(2013)4月

目 次

I. 総括研究報告		
難治性炎症性腸疾患のゲノムおよびエピゲノム解析による 病因・病態・治療抵抗性機序の解明	-----	1
笹月 健彦		
II. 分担研究報告		
1. 難治性炎症性腸疾患のゲノム解析による病因・病態・治療抵抗性 機序の解明	-----	13
日比 紀文		
2. 炎症性腸疾患における病期の進展および治療抵抗性の解明	-----	18
渡辺 守		
3. 炎症性腸疾患のゲノム疫学的研究	-----	23
松本 主之		
4. 炎症性腸疾患におけるエピゲノム変化の炎症と 発癌における意義に関する研究	-----	25
土肥 多恵子		
5. 炎症性腸疾患のゲノム解析に関する研究	-----	28
山本 健		
6. 難治性炎症性腸疾患のゲノムおよびエピゲノム解析による 病因・病態・治療抵抗性機序の解明	-----	30
石谷 太		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	31
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	38

難治性炎症性腸疾患のゲノムおよびエピゲノム解析による病因・病態・治療抵抗性機序の解明

研究代表者 笹月 健彦 九州大学高等研究院特別主幹教授

研究要旨

炎症性腸疾患 (IBD) の病因、病態および抗 TNF α 抗体療法抵抗性の遺伝的機序を、ゲノム情報およびエピゲノム情報により解明し、これらと臨床情報を加えた三大情報の統合的解析を進め、本疾病克服への道を拓く。患者の臨床・病理情報とゲノム情報のみならず、炎症現場のゲノム・エピゲノム情報を加えて、病因、激症化、抗 TNF α 抗体治療抵抗性、癌化に関して統合的に解明しようとする点が本研究の特色である。特にエピゲノム解析はこれまで行われておらず、極めて独創的な切り口である。本年度は、診断や治療過程が明確で質の高い臨床情報を備えた患者群収集の体制を整備し検体収集を開始した。研究分担者との連携によって、これまでに 240 検体を収集し、HLA クラス I 遺伝子を含む全ゲノム相関解析によって報告された 42 遺伝子の遺伝子多型データを取得した。健康人 384 名を対照とした相関解析により、クローン病感受性 HLA クラス I アレルとして HLA-A2 グループ (A*02:01 および A*02:07)、Cw*14:02 および B*51:01 を、抵抗性アレルとして HLA-A*24:02 および B*07:02 を同定した。SNP 解析においては、多重検定後も有意を示す SNP を、IL12B、STAT3、TNFSF15 遺伝子座に同定した。クローン病における抗 TNF α 抗体療法一次無効例において、上記遺伝子座の SNP のリスクアレル保有数が有意に増加していることを見出した。また、エピゲノム解析においては、次世代シーケンサーを用いて微量検体からゲノムワイドにデータを取得する技術を確認し、潰瘍性大腸炎例の大腸粘膜より得た CD33⁺細胞について、炎症・インフラマソーム関連遺伝子に遺伝子発現促進的ヒストン修飾 (ヒストン 3K4 トリメチル化修飾) を同定した。

研究分担者 氏名・所属・職名

日比 紀文

慶應義塾大学医学部内科学・教授

渡辺 守

東京医科歯科大学大学院

医歯学総合研究科・教授

松本 主之

九州大学病院・講師

土肥 多恵子

国立国際医療研究センター研究所肝炎免疫

疫研究センター・消化器疾患研究部長

石谷 太

九州大学生体防御医学研究所・准教授

山本 健

九州大学生体防御医学研究所・准教授

A. 研究目的

炎症性腸疾患 (IBD) の病因、病態および抗 TNF α 抗体療法抵抗性の遺伝的機序を、ゲノム情報およびエピゲノム解析により解明し、これらと臨床情報を加えた三大情報を統合的に解析することにより、難治性 IBD の病

因・病態・抗 TNF α 抗体治療抵抗性機序を解明し、本疾病克服への道を拓く。

IBDは、緩解再燃を繰り返し重症化すること、高発癌性であること、さらに治療抵抗性を示す頻度が高いことが問題である。その解決のためには、(1)発症および進展に寄与する遺伝子群の解明、(2) TNF α 抗体治療抵抗性に関与する遺伝子群の解明、(3)大腸発癌のリスクに関与する遺伝子変異の解明、および(4)これらのエピゲノム変化の解明を行うことが必須であり、それに基づいた、患者負担の軽減を図る治療法の開発は喫緊の課題である。

患者の臨床・病理情報とゲノム情報のみならず、炎症現場のゲノム・エピゲノム情報を加えて、病因、激症化、抗 TNF α 抗体治療抵抗性、癌化に関して統合的に解明しようとする点が本研究の特色である。特にエピゲノム解析はこれまで行われておらず、極めて独創的な切り口である。治療抵抗性の解明は、不要な治療をあらかじめ回避することに繋がり、患者負担の軽減とともに医療経済的な効

果が得られ重要である。

B. 研究方法

臨床検体の収集：抗TNF α 抗体治療反応性に関わる遺伝要因を解明するためは、バイアスがかからない前向き研究を実施するための抗TNF α 抗体新規投与群を収集する組織構築が必須である。このための倫理審査承認を得た後、共通のインフォームドコンセントのもと、慶應義塾大学、東京医科歯科大学、九州大学を中心に組織を整備して検体収集を行う。

ゲノム解析：これまでに全ゲノム相関解析によって報告された遺伝子多型を文献より抽出し、これらを本研究の解析対象遺伝子とする。一塩基多型遺伝子型の決定はTaqMan法を用いる。またHLAについては、強い相関が期待されることからHLA-A, C, B, DRB1, DQB1およびDPB1の6座について別途解析する。遺伝子型や対立遺伝子頻度の差異を治療抵抗性の有無において検討する。ゲノム統計遺伝学解析にはPLINK、SAS、Rなどのプログラムを用いる。

エピゲノム解析：

1. 研究開始時、抗TNF α 抗体治療の対象症例をエントリーし、治療応答性によってグループ分けした生検試料を解析する。
2. 生検試料から上皮細胞と粘膜固有層細胞を分取し、セルソーターを用いてマクロファージ分画を精製した後、次の解析を行う予定とした。

- (1) RNAを用いたマイクロアレイ解析またはSAGE解析による網羅的遺伝子発現解析。
- (2) メチル化CpG結合蛋白MBDを用いたMeDIPシーケンシング。L-1のメチル化解析を含む。
- (3) 抗ヒストン3K4抗体を用いたChIPシーケンシング（遺伝子発現促進的修飾）
- (4) 抗ヒストン3K9、抗ヒストン3K27抗体を用いたChIPシーケンシング（発現低下修飾）

消化管上皮細胞分化因子の解析：ヒト腸上皮由来細胞株とモデル脊椎動物ゼブラフィッシュを用い、腸上皮の再生分化を制御する分子群の分子・細胞・組織レベルの機能を解明する。また、ヒトゲノム解析により、腸上皮の再生分化を制御する分子群の腸疾患発症との関連性を解析する。

（倫理面への配慮）

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（文部科学省、厚生労働省、経済産業省、平成13年3月29日（平成20年12月1日一部改正））に則り、各検体採取機関、およびゲノム解析機関においては倫理委員会の承認のもと研究を遂行する。

C. 研究結果

検体収集機関においては、外来および入院患者の臨床情報から、ゲノム解析に供する詳細な臨床情報を備えた患者群を選択する体制が整った。これまでに、CD208検体、UC32検体が収集された。

これまでの日本人CDのHLA解析はクラスII遺伝子座を対象としており、本研究では、まずクラスI遺伝子座（HLA-A, C, B）解析を行った。健常人対照群384名とのHLA抗原頻度比較によって、A2グループ（A*02:01およびA*02:07）、Cw*14:02およびB*51:01をCD感受性HLA遺伝子座として同定した。

これまでに全ゲノム相関解析にて報告されたIBD感受性遺伝子より、HLAを除く40個の解析候補遺伝子を抽出した（ATG16L1, ATG5, C11orf30, CARD9, CCL2, CCR6, CDKAL1, CEP72, CUL2, DLD, FCGR2A, GCKR, ICOSLG, IFNG, IKZF1, IL10, IL12B, IL18RAP, IL23R, IRGM, ITLN1, JAK2, KIF21B, LRRK2, LYRM4, MST1, NKX2-3, ORMDL3, PSMG1, PTGER4, PTPN2, PTPN22, PUS10, REL, RNF186, SLC22A23, SLC26A3, STAT3, TNFSF15, ZNF365）。これらの遺伝子の中には、日本人を対象とした全ゲノム相関解析によって同定された遺伝子も含まれており、本研究における治療抵抗性に関わる遺伝子および治療感受性の個体差を解明する上での重要な標的遺伝子群である。これらについてCD201検体の遺伝子型を取得し、まず一般集団384名を対照とした相関解析を実施した。その結果、IL12B、TNFSF15およびSTAT3などの遺伝子領域に位置する6SNPにおいて、補正後も相関を示すSNPを認めた（アレルテストP = $7.4 \times 10^{-4} \sim 2.9 \times 10^{-10}$, OR = 1.53 ~ 2.50）。有意な相関が再現されたこれらの遺伝子は、日本人CD発症の極めて重要な遺伝素因であると考えられた。

抗TNF α 抗体治療には不応答例が知られる。その遺伝背景を解明するために、現時点で一次無効の有無が明らかな97 CD症例を対象として、SNP遺伝子型を解析した。一次無効を、初回投与が単回投与の場合その4週後、0, 2,

6週でのローディング投与の場合、最終投与から4週後の時点でCDAIが150以上の場合、または投与前より70以上低下していない場合、と定義した。一次無効症例は11症例（11%）であった。CD感受性3遺伝子座（IL12B、TNFSF15、STAT3）の代表3SNPを選択し、そのリスクアレル保有数（最小値0、最大値6）をリスクスコアとし、その分布を検討した。一次無効あり群では、リスクスコア=5が最頻値であり、一次無効無し群に比べて、分布はリスクスコアが高いほうに偏っていた。リスクスコア5を基準にし、以下の結果が得られた。(a)一次無効あり症例の約73%はリスクスコア5または6であるが、一次無効なし症例では約30%である（オッズ比6.2、 $P=0.0054$ ）。なお、健常人でも約15%はリスクスコア5以上である。(b)CD全体では約11%が一無効症例であったが、リスクスコア5以上を保有するCD患者では約24%に上昇する。リスクスコア5未満CD症例では約5%である。

このように、CDと関連するする遺伝要因が、抗TNF α 抗体治療に対する抵抗性を規定する要因のひとつであることが強く示唆された。本研究班で得られたすべての症例について同様の解析を実施し、また、今後の症例の集積により、精度の高い結果を得ることが出来れば、抗TNF α 抗体治療開始前にある程度効果を予見することが可能となり、臨床医学的インパクトは大きい。

エピゲノム解析については、難治例の潰瘍性大腸炎の手術摘出標本病変組織から粘膜固有層単核細胞を分離し、DNAメチル化修飾、ヒストン3K4トリメチル化修飾、ヒストン3K9トリメチル化修飾、ヒストン3K27トリメチル化修飾の網羅的解析を行った。昨年度に確立した、各群わずか 1×10^5 個の細胞を用いた小スケールライブラリー作製法を用いて、次世代シーケンサーSOLiD4解析のためのライブラリーを作製した。ChIP後にはGAPDH（遺伝子発現促進的修飾）およびSAT2（遺伝子発現抑制的修飾）のPCRにより目的領域が濃縮されていることを確認し、数十～数百Mの次世代シーケンサーを用いた解析に十分なサイズのライブラリーを得た。得られたライブラリーをSOLiD4でシーケンスし、ミスマッチ2許容、マルチプルアライメントなしの条件でゲノムマッピングした。新規にマッピングされるタグがほぼ出現しなくなることを目安にシーケンス深度を決定した結果、DNAメチル化修飾解析ではヒストン修飾解析

と比べて3倍以上のタグ数が必要であった。相関解析を行った結果、ゲノムワイドな変化としては細胞種間の違いよりもエピゲノム修飾種の違いの方が大きく、また遺伝子発現抑制的ヒストン修飾（ヒストン3K9トリメチル化修飾とヒストン3K27トリメチル化修飾）間の類似性は、DNAメチル化修飾や遺伝子発現促進的ヒストン修飾（ヒストン3K4トリメチル化修飾）とよりも高かった。しかしながら個々の遺伝子に着目すると、CD3e遺伝子座におけるヒストン3K4トリメチル化修飾（遺伝子発現促進的修飾）はCD3+細胞では認められるもののCD33+細胞には無く、逆にCD33+細胞ではみられるCD33遺伝子座におけるヒストン3K4トリメチル化修飾は、CD3+細胞では認められず、細胞特異的エピゲノム修飾の存在が見られた。そこで、バイオインフォマティクス解析を行った結果、潰瘍性大腸炎症例のCD33+細胞においては炎症・インフラマソーム関連遺伝子に遺伝子発現促進的ヒストン修飾（ヒストン3K4トリメチル化修飾）が認められた。同様な解析の結果、本年度に解析した潰瘍性大腸炎3症例中1例において、CD33+細胞におけるゲノムワイドな低メチル化が認められた。この症例におけるゲノムワイドな低メチル化は、レトロトランスポゾンL-1とは異なる特定のリピート配列における低メチル化に起因していた。一方で、遺伝子特異的DNAメチル化の亢進ならびに低下も認められ、オントロロジー解析の結果、Positive regulation of inflammatory response等が有意に関連する領域であった。

Notchシグナルは杯細胞の形成を抑制するなど、腸上皮の再生分化において必須の役割を果たす。これまでに、タンパク質リン酸化酵素NLKが腸上皮細胞株においてNotchシグナルを抑制することを見いだしていた。今年度、腸上皮組織におけるNLKの機能を解析するためにゼブラフィッシュにおいてNLKの機能阻害実験を行ったところ、NLK阻害個体の腸上皮においてNotchシグナル活性の亢進と、杯細胞マーカー遺伝子の発現低下、杯細胞などの粘液細胞の減少が観察された。また、昨年度に大腸癌において発現が低下する遺伝子として新たに見いだされたHIPK2の機能解析を行い、大腸癌細胞株Lov01においてHIPK2をRNAiにより機能阻害するとWntシグナル標的遺伝子であるAxin2と癌遺伝子c-Mycの発現が亢進することを見いだした。

D. 考察

治療低応答および抵抗性の問題こそが難治性疾患の本質的な問題である。本研究により、TNF α 抗体治療反応性および抵抗性に関連する因子が明らかとなれば、現在約30%が治療抵抗性を示す抗TNF α 抗体治療の際、応答する患者をあらかじめ選択することができ、患者の負担軽減とともに医療経済的な効果が期待される。

HLA解析については、A2グループのCD感受性は欧米において報告されているが、人種を越えてCD発症に寄与する重要なHLAアレルであることが本研究で明らかとなった。また、Cw*14:02およびB*51:01がCD発症に関与するHLAとして新たに同定された。さらにHLAクラスI領域に、CD発症に防御的に機能するHLAアレル(A*24:02およびB*07:02)が存在することが明らかとなり、CD発症機序を免疫学的に解明する上での重要な情報と考えられた。

SNPを用いたIBDの全ゲノム解析が日本人もふくめほぼ終了し、現段階では、そこで同定された遺伝子がIBDのどのような病態に特異的に関連するのかが問われている。診断や治療過程が明確で質の高い臨床情報を備えた患者群の収集と、それを対象としたIBD感受性遺伝子を網羅した中規模ゲノム解析により、IBD感受性遺伝子群の中から、本研究が目的とする治療応答性に関わる遺伝子の同定が期待される。

平成24年度までに検体収集グループによりIBD240検体が収集された。主としてCD症例が収集され、これまでのCD201検体についてHLA以外の候補遺伝子について40遺伝子座の多型情報を取得した。対照384検体を用いて、疾患感受性について相関解析を実施したところ、TNFSF15をはじめとして複数の遺伝子座において相関を確認した。これらは、確実に日本人CDの感受性遺伝子であると結論できた。上記遺伝子多型のリスクアレル保有数をスコア化し、抗TNF α 抗体治療抵抗性との関連を解析したところ、有意な相関を認め、感受性アレルの集積が治療抵抗性を規定する遺伝素因となる可能性が示唆された。全収集検体の治療抵抗性情報を取得し新たに解析を加え、最終的な結論を導く。

エピゲノム解析においては、本年度は潰瘍性大腸炎病変部より分離した細胞を解析対象とした。バイオインフォ解析の結果、細胞種特異的に疾患で変化するエピゲノム変化を見出した。本研究で見出したエピゲノム変化が、治療応答性や疾患の重症化に関連するか否かは今後多数検体を用いて評価する必

要があるが、そのためにも小数の細胞を用いたエピゲノム解析法を確立したことは大きな成果である。ゲノムワイドなDNAメチル化状態と病態との関連についても、今後更なる症例の蓄積が必要であるが、炎症性腸疾患で見られたエピゲノム変異が治療法選択の一助になるのではないかと期待している。

E. 結論

平成24年度までに、IBD240検体を収集し、HLAクラスI遺伝子を含む全ゲノム相関解析によって報告された42遺伝子の遺伝子多型データを取得した。健康人384名を対照とした相関解析により、CD病感受性HLAクラスIアレルとしてHLA-A2グループ(A*02:01およびA*02:07)、Cw*14:02およびB*51:01を、抵抗性アレルとしてHLA-A*24:02およびB*07:02を同定した。SNP解析においては、多重検定後も有意を示すSNPを、IL12B、STAT3、TNFSF15遺伝子座に同定した。CDにおける抗TNF α 抗体療法一次無効例において、上記遺伝子座のSNPのリスクアレル保有数が有意に増加していることを見出した。また、エピゲノム解析においては、次世代シーケンサーを用いて微量検体からゲノムワイドにデータを取得する技術を確立し、潰瘍性大腸炎病変粘膜を用いたエピゲノム解析を行い、疾患特異的なエピゲノム変化を見出した。

G. 研究発表

論文発表

1. Doi K, Fujimoto T, Okamura T, Ogawa M, Tanaka Y, Mototani Y, Goto M, Ota T, Matsuzaki H, Kuroki M, Tsunoda T, Sasazuki T, Shirasawa S. ZFAT plays critical roles in peripheral T cell homeostasis and its T cell receptor-mediated response. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Aug 17;425(1):107-112.
2. Yoneno K, Hisamatsu T*, Shimamura K, Kamada N, Ichikawa R, Kitazume MT, Mori M, Uo M, Namikawa Y, Matsuoka K, Sato T, Koganei K, Sugita A, Kanai T and Hibi T. TGR5 signaling inhibits the production of pro-inflammatory cytokines by in vitro differentiated inflammatory and intestinal macrophages in Crohn's disease. *Immunology* 2013 May;139(1):19-29.
3. Hosoe N, Matsuoka K, Naganuma M, Ida Y, Ishibashi Y, Kimura K, Yoneno K, Usui S, Kashiwagi K, Hisamatsu T, Inoue N, Kanai T, Imaeda H, Ogata H, Hibi T.

- Applicability of second generation colon capsule endoscope to ulcerative colitis: A clinical feasibility study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Mar 21.
4. Nakamura Y, Kanai T, Saeki K, Takabe M, Irie J, Miyoshi J, Mikami Y, Teratani T, Suzuki T, Miyata N, Hisamatsu T, Nakamoto N, Yamagishi Y, Higuchi H, Ebinuma H, Hozawa S, Saito H, Itoh H, Hibi T. CCR2 knockout exacerbates cerulein-induced chronic pancreatitis with hyperglycemia via decreased GLP-1 receptor expression and insulin secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013 Feb 28.
 5. Handa T, Kanai T, Sato T, Mikami Y, Sujino T, Hayashi A, Mizuno S, Matsumoto A, Hisamatsu T, Hibi T. Dendritic cells administered intrarectally penetrate the intestinal barrier to break intestinal tolerance via Th2-mediated colitis in mice. *Immunol Lett*. 2013 Jan 17. 2012
 6. Nishida A, Nagahama K, Imaeda H, Ogawa A, Lau CW, Kobayashi T, Hisamatsu T, Preffer FI, Mizoguchi E, Ikeuchi H, Hibi T, Fukuda M, Andoh A, Blumberg RS, Mizoguchi A. Inducible colitis-associated glycome capable of stimulating the proliferation of memory CD4⁺ T cells. *J Exp Med*. in press
 7. Mikami Y, Kanai T, Iwasaki E, Naganuma M, Yamagishi Y, Shimoda M, Matsuoka K, Hisamatsu T, Iwao Y, Ogata H, Nakatsuka S, Mukai M, Hibi T. Anticoagulation therapy dramatically improved severe sigmoiditis with findings resembling inflammatory bowel disease, which was caused by mesenteric venous thrombosis. *Clinical Journal of Gastroenterology*. in press
 8. Hisamatsu T, Kanai T, Yohei Mikami, Yoneno K, Matsuoka K, Hibi T. Immune aspects of the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Pharmacol Ther*. 2012 Oct 25. pii: S0163-7258(12)00233-1.
 9. Chang J, Hisamatsu T, Shimamura K, Yoneno K, Adachi M, Naruse H, Igarashi T, Higuchi H, Matsuoka K, Kitazume MT, Ando S, Kamada N, Kanai T, and Hibi T. Activated Hepatic Stellate Cells Mediate the Differentiation of Macrophages. *Hepatology Research*. in press
 10. Kimura K, Kanai T, Hayashi A, Mikami Y, Sujino T, Mizuno S, Handa T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Sato T, Hibi T. Dysregulated balance of retinoid-related orphan receptor γ -dependent innate lymphoid cells is involved in the pathogenesis of chronic DSS-induced colitis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Nov 2;427(4):694-700.
 11. Uo M, Hisamatsu T, Miyoshi J, Kaito D, Yoneno K, Kitazume MT, Mori M, Sugita A, Koganei K, Matsuoka K, Kanai T, Hibi T. Mucosal CXCR4⁺ IgG plasma cells contribute to the pathogenesis of human ulcerative colitis through Fc γ R-mediated CD14⁺ macrophage activation. *Gut*. 2012 Sep 26. [Epub ahead of print]
 12. Hisamatsu T, Hibi T. -Is the dendritic cell a missing piece in the pathogenesis model of post-infectious irritable bowel syndrome?- Editorial for "Characteristics of intestinal lamina propria dendritic cells in a mouse model of postinfectious irritable bowel syndrome." *J Gastroenterol Hepatol*. 2012 May;27(5):847-8.
 13. Maruyama Y, Hisamatsu T*, Matsuoka K, Naganuma M, Inoue N, Ogata H, Iwao Y, Kanai T, Hibi T. A Case of Intestinal Behçet's Disease Treated with Infliximab Monotherapy Who Successfully Maintained Clinical Remission and Complete Mucosal Healing for Six Years. *Intern Med*. 2012;51(16): 2125-9.
 14. Ono Y, Kanai T, Sujino T, Nemoto Y, Kanai Y, Mikami Y, Hayashi A, Matsumoto A, Takaishi H, Ogata H, Matsuoka K, Hisamatsu T, Watanabe M, Hibi T. T-helper 17 and Interleukin-17-Producing Lymphoid Tissue Inducer-Like T Cells Make Different Contributions to Colitis in Mice. *Gastroenterology*. 2012 Nov;143(5):1288-97.
 15. Takayama T, Kanai T, Matsuoka K, Okamoto S, Sujino T, Mikami Y, Hisamatsu T, Yajima T, Iwao Y, Ogata H, Hibi T. Long-term prognosis of patients with ulcerative colitis treated with cytaphe sis therapy. *J Crohns Colitis*. 2012 May 25.
 16. Mizuno S, Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Ono Y, Hayashi A, Handa T, Matsumoto A, Nakamoto N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Takaishi H, Hibi T. CCR9(+) plasmacytoid dendritic cells in the small intestine suppress development of intestinal inflammation in mice. *Immunol Lett*. 2012 May 21. 16)Ichikawa R, Takayama T, Yoneno K, Kamada N, Kitazume MT, Higuchi H, Matsuoka K, Watanabe M, Itoh H, Kanai T, Hisamatsu T, Hibi T. Bile acids induce monocyte differentiation toward IL-12 hypo-producing dendritic cells via a TGR5-dependent pathway. *Immunology*. 2012 Jun;136 (2):153-62.
 17. Hisamatsu T, Okamoto S, Hashimoto M,

- Muramatsu T, Andou A, Uo M, Kitazume MT, Matsuoka K, Yajima T, Inoue N, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Yamakado M, Sakai R, Ono N, Ando T, Suzuki M, Hibi T. Novel, Objective, Multivariate Biomarkers Composed of Plasma Amino Acid Profiles for the Diagnosis and Assessment of Inflammatory Bowel Disease. *PLoS ONE*. 2012;7(1):e311131. Epub 2012 Jan 31.
18. Watanabe M, Hibi T, Lomax KG, Paulson SK, Chao J, Alam MS, Camez A; Study Investigators. (Motoya S, Kinouchi Y, Suzuki Y, Katsuno T, Ohtsuka K, Okamura S, Hirata I, Ando T, Nakase H, Oshitani N, Watanabe K, Ito H, Matsumoto T, Tanaka S, Inoue H, Sakai Y, Matsumoto T, Mitsuyama K, Tomiyasu N, Kumemura H, Kinjo F, Hisamatsu T, Matsui T, Shiratori K, Miyata M, Mizuno M, Fujiyama Y, Andoh A, Kato J, Ashida T, Fujiya M, Ohkusa T, Osada T, Takazoe M, Hanai H, Ichimori T, Okawa K.) Adalimumab for the induction and maintenance of clinical remission in Japanese patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2012 Mar;6(2):160-73.
 19. Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Hisamatsu T, Hibi T. ROR γ t-dependent IL-17A-producing cells in the pathogenesis of intestinal inflammation. *Mucosal Immunol*. 2012 Feb 22
 20. 金井隆典, 松岡克善, 久松理一, 岩男 泰, 緒方晴彦, 日比紀文 総説『インフリキシマブ二次無効の機序と対策, 治療方針』日本消化器病学会雑誌 2012 109 巻 3 号 p364-369
 21. Kano Y, Tsuchiya K, Zheng X, Horita N, Fukushima K, Hibiya S, Yamauchi Y, Nishimura T, Hinohara K, Gotoh N, Suzuki S, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: The acquisition of malignant potential in colon cancer is regulated by the stabilization of Atonal homolog 1 protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 432(1):175-181, 2013.
 22. Naganuma M, Nagahori M, Fujii T, Morio J, Saito E, Watanabe M: Poor recall of prior exposure to varicella zoster, rubella, measles, or mumps in patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis*. 19:418-422, 2013.
 23. Ueno F, Matsui T, Matsumoto T, Matsuoka K, Watanabe M, Hibi T, on behalf of the guideline project group of intractable Inflammatory Bowel Disease granted by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan and the Guidelines Committee of the Japanese: Evidence-based clinical practice guidelines for Crohn's disease, integrated with formal consensus of experts in Japan. *J Gastroenterol*. 48(1):31-72, 2013
 24. Araki A, Suzuki S, Tsuchiya K, Oshima S, Okada E, Watanabe M: Modified single-operator method for double-balloon endoscopy. *Digestive Endoscopy*. 24(6):470-474, 2012
 25. Araki A, Tsuchiya K, Oshima S, Okada E, Suzuki S, Morio-Akiyama J, Fujii T, Okamoto R, Watanabe M: Endoscopic ultrasound with double-balloon endoscopy for the diagnosis of inverted Meckel's diverticulum: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 6(1):328, 2012
 26. Fujita K, Naganuma M, Saito E, Suzuki S, Araki A, Negi M, Kawachi H, Watanabe M: Histologically confirmed IgG4-related small intestinal lesions diagnosed via double balloon enteroscopy. *Dig Dis Sci*. 57(12):3303-3308, 2012
 27. Hibi T, Sakuraba A, Watanabe M, Motoya S, Ito H, Motegi K, Kinouchi Y, Takazoe M, Suzuki Y, Matsumoto T, Kawakami K, Matsumoto T, Hirata I, Tanaka S, Ashida T, Matsui T: Retrieval of serum infliximab level by shortening the maintenance infusion interval is correlated with clinical efficacy in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 18: 1480- 1487, 2012
 28. Kuwahara E, Asakura K, Nishiwaki Y, Inoue N, Watanabe M, Hibi T, Takebayashi T: Effects of family history on inflammatory bowel disease characteristics in Japanese patients. *J Gastroenterol*. 47:961-968, 2012.
 29. Mizutani T, Nakamura T, Morikawa R, Fukuda M, Mochizuki W, Yamauchi Y, Nozaki K, Yui S, Nemoto Y, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: 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.
 30. Naganuma M, Fujii T, Kunisaki R, Yoshimura N, Takazoe M, Takeuchi Y, Saito E, Nagahori M, Asakura K, Takebayashi T, Watanabe M: Incidence and characteristics of the 2009 influenza (H1N1) infections in inflammatory bowel disease patients. *Journal of Crohn's & colitis*. 7(4):308-313, 2012
 31. Naganuma M, Kunisaki R, Yoshimura N, Takeuchi Y, Watanabe M: A prospective analysis of the incidence and risk factors for opportunistic infections in patients with

- inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.*(Epub ahead of print) 2012
32. Nemoto Y, Kanai T, Takahara M, Oshima S, Nakamura T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: 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.* (Epub ahead of print) 2012
 33. Okada E, Araki A, Suzuki S, Watanabe H, Ikeda T, Watanabe T, Kurata M, Eishi M, Watanabe M: Histological diagnosis of follicular lymphoma by biopsy of small intestinal normal mucosa. *Digestive Endoscopy.* 39(7):533-539, 2012
 34. Ono Y, Kanai T, Sujino T, Nemoto Y, Kanai Y, Mikami Y, Hayashi A, Matsumoto A, Takaishi H, Ogata H, Matsuoka K, Hisamatsu T, Watanabe M, Hibi T: T-helper 17 and interleukin-17-producing lymphoid tissue inducer-like cells make different contributions to colitis in mice. *Gastroenterology.* 143(5):1288-1297, 2012
 35. Ohyagi M, Ohkubo T, Yagi Y, Ishibashi S, Akiyama J, Nagahori M, Watanabe M, Yokota T, Mizusawa H: Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy in a patient with crohn's disease. *Intern Med.* 52: 125-128, 2012
 36. Watanabe M, Hanai H, Nishino H, Yokoyama T, Terada T, Suzuki Y: Comparison of QD and TID oral mesalazine for maintainance of remission in quiescent ulcerative colitis: a double-blind, double-dummy, randomized multicenter study (in press) *Inflammatory Bowel Dis.* 2012
 37. Watanabe M, Hibi T, Lomax KG, Paulson SK, Chao J, Alam SS, Camez A: Adalimumab for the Induction and Maintenance of Clinical Remission in Japanese Patients With Crohn's Disease. *J Crohns Colitis.* 6:160-173, 2012.
 38. Watanabe T, Sasaki I, Sugita A, Fukushima K, Futami K, Hibi T, Watanabe M: Interval of less than 5 years between the first and second operation is a risk factor for a third operation for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 18: 17- 24, 2012
 39. Watanabe T, Sasaki I, Sugita A, Fukushima K, Futami K, Hibi T, Watanabe M: Time trend and risk factors for reoperation in Crohn's disease in Japan. *Hepatogastroenterology.* 59: 1081- 1086, 2012
 40. Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M: Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. *Nat Med.* 18:618-623, 2012.
 41. Yamaji O, Nagaishi T, Totsuka T, Onizawa M, Suzuki M, Tsuge N, Hasegawa A, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Arase H, Kanai T, Watanabe M: The development of colitogenic CD4+ T cells is regulated by IL-7 in collaboration with NK cell function in a murine model of colitis. *J Immunol.* 188(6):2524-2536, 2012
 42. Hirano A, Yamazaki K, Umeno J, Ashikawa K, Aoki M, Matsumoto T, Nakamura S, Ninomiya T, Matsui T, Hirai F, Kawaguchi T, Takazoe M, Tanaka H, Motoya S, Kiyohara Y, Kitazono T, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M: Association study of 71 European Crohn's disease susceptibility loci in a Japanese population. *Inflamm Bowel Dis* 19:526-533, 2013
 43. Son A, Oshio T, Kawamura YI, Hagiwara T, Yamazaki M, Inagaki-Ohara K, Okada T, Wu P, Iseki M, Takaki S, Burkly LC, Dohi T. TWEAK/Fn14 pathway promotes a T helper 2-type chronic colitis with fibrosis in mice. *Mucosal Immunol*, 2013
 44. Okada T, Fukuda S, Hase K, Nishiumi S, Izumi Y, Yoshida M, Hagiwara T, Kawashima R, Yamazaki M, Oshio T, Otsubo T, Inagaki-Ohara K, Kakimoto K, Higuchi K, Kawamura YI, Ohno H, Dohi T. Microbiota-derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice. *Nat Commun*;4:1654, 2013
 45. Inagaki-Ohara K, Mayuzumi H, Kato S, Minokoshi Y, Otsubo T, Kawamura YI, Dohi T, Matsuzaki G, Yoshimura A. Enhancement of leptin receptor signaling by SOCS3 deficiency induces development of gastric tumors in mice. *Oncogene*;In press, 2013
 46. Tsubokawa D, Goso Y, Kawashima R, Ota H, Nakamura T, Nakamura K, Sato N, Kurihara M, Dohi T, Kawamura YI, Ichikawa T, Ishihara K. The monoclonal antibody HCM31 specifically recognises the Sda tetrasaccharide in goblet cell mucin. *FEBS Open Bio*;2:223-233, 2012
 47. Miyazaki K, Sakuma K, Kawamura YI, Izawa M, Ohmori K, Mitsuki M, Yamaji T, Hashimoto Y, Suzuki A, Saito Y, Dohi T,

- Kannagi R. Colonic epithelial cells express specific ligands for mucosal macrophage immunosuppressive receptors siglec-7 and -9. *J Immunol*;188:4690-700, 2012
48. Kawashima R, Kawamura YI, Oshio T, Mizutani N, Okada T, Kawamura YJ, Konishi F, Dohi T. Comprehensive analysis of chemokines and cytokines secreted in the peritoneal cavity during laparotomy. *J Immunoassay Immunochem*;33:291-301, 2012
 49. Dohi T, Burkly LC. The TWEAK/Fn14 pathway as an aggravating and perpetuating factor in inflammatory diseases; focus on inflammatory bowel diseases. *J Leukoc Biol*;92:265-279, 2012
 50. Kitajima H, Sonoda M, Yamamoto K. HLA and SNP haplotype mapping in the Japanese population. *Genes Immun*. 2012 Oct;13(7):543-548.
 51. Yoshimura S, Isobe N, Yonekawa T, Matsushita T, Masaki K, Sato S, Yamamoto K, Kira J, the South Japan Multiple Sclerosis Genetics Consortium. Genetic and infectious profiles of Japanese multiple sclerosis patients. *PLoS One*. 2012;7(11):e48592.
 52. Ishitani T, Ishitani S. Nemo-like kinase, a multifaceted cell signaling regulator. *Cellular Signalling* 25: 190-197, 2013
- Spain, 2. 2012
 4. Hayashi A, Kanai T, Sujino T, Mikami Y, Mizuno S, Handa T, Matsumoto A, Matsuoka K, Yajima T, Sato T, Hisamatsu T, Ogata H, Hibi T. A Single Strain of *Clostridium Butyricum* Suppresses Intestinal Inflammation by Converting Activated Lamina Propria Cd11b+CD11cInt Macrophages to IL-10-Producing Regulatory Macrophages. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
 5. Maruyama Y, Matsuoka K, Iwao Y, Yajima T, Inoue N, Hisamatsu T, Sujino T, Takabayashi K, Yoneno K, Mikami Y, Miyoshi J, Mizuno S, Kimura K, Kanai T, Ogata H, Mukai M, Hibi T. Anti-viral therapy is not necessarily indicated in ulcerative colitis patients with cytomegalovirus infection detected by immunohistochemistry. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
 6. Inoue N, Takabayashi K, Matsuoka K, Hisamatsu T, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Complete mucosal healing is associated with long-term remission in ulcerative colitis. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
 7. Kimura K, Matsuoka K, Kanai T, Okamoto S, Hisamatsu T, Inoue N, Yajima T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Early normalization of C-reactive protein (CRP) by Infliximab is a predictive factor of sustained long-term clinical efficacy in Crohn's disease. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
 8. Mikami Y, Kanai T, Mizuno S, Sujino T, Handa T, Matsumoto A, Sato T, Kamada N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Sonoda A, Takazoe M, Sahara R, Koganei K, Sugita A, Hibi T. New immunosuppressive system by myeloid-derived suppressor cells in the lamina propria of ulcerative colitis patients. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
 9. Kimura K, Matsuoka K, Kanai T, Okamoto S, Hisamatsu T, Inoue N, Yajima T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Early normalization of C-reactive protein (CRP) by infliximab is a predictive factor of sustained long-term clinical efficacy in crohn's disease. *The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research*. Tokyo, Japan, 7. 2012
 10. Hosoe N, Matsuoka K, Yoneno K, Usui S, Ishibashi Y, Kimura K, Naganuma M, Hisamatsu T, Inoue N, Kanai T, Hibi T, Ogata H. Feasibility of evaluating the

学会発表

国外

1. Hisamatsu T, Uo M, Miyoshi J, Yoneno K, Matsuoka K, Kanai T, Ogata H, Hibi T. Intestinal CXCR4+IgG+ Immature Plasma Cells Contribute to the Pathogenesis of Ulcerative Colitis through IgG-Immune Complex-FcR Signaling. *The 6th Korea-Japan IBD Symposium*. Tokyo, Japan, 1. 2012
2. Yoneno K, Hisamatsu T, Matsuoka K, Okamoto S, Takayama T, Ichikawa R, Sujino T, Miyoshi J, Mikami Y, Yajima T, Inoue N, Iwao Y, Kanai T, Ogata H, Hibi T. Serum CRP level and loss of infliximab response in early phase can be markers for abdominal abscess for crohn's disease ;A report by multivariate study. *7th Congress of ECCO*. Barcelona, Spain, 2. 2012
3. Inoue N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Miyoshi J, Mikami Y, Sujino T, Okamoto S, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. The efficacy of Anti-TNF- α antibody infliximab in refractory ulcerative colitis : Its positioning among the variety of treatment options. *7th Congress of ECCO*. Barcelona,

- severity of mucosal inflammation in patients with ulcerative colitis by using a second generation colon capsule endoscope. The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012
11. Hisamatsu T, Uo M, Miyoshi J, Yoneno K, Matsuoka K, Kanai T, Hibi T. Intestinal CXCR4+IgG+ immature plasma cells contribute to the pathogenesis of ulcerative colitis through IgG-immune complex-FcR signaling. The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012
 12. Maruyama Y, Matsuoka K, Iwao Y, Yajima T, Inoue N, Hisamatsu T, Naganuma M, Takabayashi K, Yoneno K, Mikami Y, Mizuno S, Kimura K, Kanai T, Ogata H, Mukai M, Hibi T. Anti-viral therapy is not necessarily indicated in ulcerative colitis patients with cytomegalovirus infection detected by immunohistochemistry. The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012
 13. Tsukagoshi U, Saigusa K, Yajima T, Hisamatsu T, Matsuoka K, Naganuma M, Inoue N, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. A case report of infliximab use in pregnant UC patient exacerbating with a complication of CMV colitis. Asian IBD Symposium Seoul 2012. Seoul, Korea, 11.2012
 14. Saigusa K, Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Handa T, Hayashi A, Mizuno S, Kimura K, Matsumoto A, Sato T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Hibi T. Colitogenic ROR gamma t dependent Th1 cells may help the generation of colitogenic ROR gamma t independent Th1 cells. Asian IBD Symposium Seoul 2012. Seoul, Korea, 11.2012
 15. Mikami Y, Kanai T, Mizuno S, Hayashi A, Matsumoto A, Handa T, Nakamoto N, Sato T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Ebinuma H, Hibi T. Intestinal Inflammation Instructs Increasing Liver Macrophages and Dendritic Cells to Trigger Inflammation in the Liver. Asian IBD Symposium Seoul 2012. Seoul, Korea, 11.2012
 16. Watanabe M: Stem Cells. DDW. San Diego, 2012年5月22日
 17. Nemoto Y, Kanai T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Matsumoto S, Watanabe M: Colitogenic effector memory CD4+ T cells develop TH1/TH17 mediated interstitial pneumonia independent to intestinal bacterial antigens. AGA. San Diego, 2012年5月22日
 18. Tsuchiya K, Zheng X, Kano Y, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: Flagellin response via TLR5 on basolateral membrane of primary intestinal epithelial cells is regulated by Notch signaling. DDW2012. San Diego, 2012年5月22日
 19. Nemoto Y, Kanai T, Matsumoto T, Watanabe M: Colitogenic effector memory CD4+ T cells develop Th1/Th17 mediated interstitial pneumonia independent to intestinal bacterial antigens. DDW2012. San Diego, 2012年5月22日
 20. Mizutani T, Nakamura T, Morikawa R, Fukuda M, Mochizuki W, Yamauchi Y, Nozaki K, Yui S, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: Real-time analysis of p-glycoprotein-mediated drug transport across primary intestinal epithelial cells three-dimensionally cultured in vitro. DDW2012. San Diego, 2012年5月21日
 21. Okamoto R, Murano T, Shimizu H, Ito G, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Notch signaling regulates expression of Gelsolin superfamily genes, Gelsolin and Scinderin, and promotes re-assembly of actin cytoskeleton in human intestinal epithelial cells. DDW2012. San Diego, 2012年5月21日
 22. Kano Y, Tsuchiya K, Horita N, Zheng X, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: The acquisition of cancer stemness in colon cancer by the Atoh1 protein stabilization. DDW2012. San Diego, 2012年5月19日
 23. Fujii T, Naganuma M, Saito E, Nagahori M, Watanabe M: Intravenous tacrolimus therapy can rapidly induce remission in refractory ulcerative colitis. DDW2012. San Diego, 2012年5月19日
 24. Murano T, Okamoto R, Shimizu H, Ito G, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Hes1 promotes IL-22-Mediated epithelial regeneration through enhancement of STAT3-Dependent transcription in human intestinal epithelial cells. AGA. San Diego, 2012年5月19日
 25. T Dohi, R Kawashima, YI Kawamura, T Oshio, M Yamazaki, T Hagiwara, T Okada, P Wu, S Szak, YJ Kawamura, F Konishi, O Miyake, H Yano, Y Saito, L. C. Burkly, IL-13 induces TWEAK-dependent activation of TNF-a and intestinal epithelial cell damage—a pathway associated with ulcerative colitis. Digestive Disease Week, 2012, San Diego, U. S. A, May 19, 2012
 26. Otsubo, T., Kawamura, Y. I., Oshima, K.,

- Endo, T. A., Toyoda, T., Hagiwara, T., Kawamura, Y. J., Konishi, F., Yano, H., Saito, Y., Hattori, M., Dohi, T. Genome-wide Epigenomic Analysis of Lamina Propria Mononuclear Cells of Inflammatory Bowel Disease. Digestive Disease Week Annual Meeting (San Diego, USA) 2012 (poster) May 22, Selected as poster of distinction (top 10 %)
27. Sakurai, T., Kawamura, Y. I., Hagiwara, T., Otsubo, T., Hirano Maeyasiki, C., Kojima, Y., Gotoda, T., Yano, H., Saito, Y., Kawamura, Y. J., Konishi, F., Dohi, T. DNA Hypermethylation of the Sda Carbohydrate Synthase Gene as a Possible Biomarker for the Prognosis of Ulcerative Colitis. Digestive Disease Week Annual Meeting (San Diego, USA) 2012 (oral presentation) May 19.
 28. Yuki I. Kawamura, Takeshi Otsubo, Kenshiro Oshima, Takaho A. Endo, Tetsuro Toyoda, Teruki Hagiwara, Yutaka J. Kawamura, Fumio Konishi, Hideaki Yano, Yukio Saito, Masahira Hattori, Taeko Dohi. Genome-wide epigenomic analysis of lamina propria mononuclear cells isolated from patients with inflammatory bowel disease. The 6th Japan & US Collaboration Conference in Gastroenterology. Nov. 15, 2012, Tokyo.
 29. Watanabe M: Adult Stem Cell Therapy for Gastrointestinal Diseases. International Ulcer Week 2012. Tokyo, 2012年7月12日

国内学会

1. Kano Y, Tsuchiya K, Watanabe M: The acquirement of cancer stemness in colon cancer by the Atoh1 protein stabilization. 第71回日本癌学会学術総会. Sapporo, 2012年9月20日
2. Tsuchiya K, Kano Y, Watanabe M: The stabilization of Atoh1 protein in colitic cancer induces cancer stemness and chemoresistance. 第71回日本癌学会学術総会. Sapporo, 2012年9月19日
3. Kano Y, Tsuchiya K, Watanabe M: New classification based on Atoh1 expression in colon cancer might be useful as Biomarker. 第10回日本臨床腫瘍学会. Osaka, 2012年7月27日
4. Kano Y, Tsuchiya K, Horita N, Zheng X, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: The acquisition of cancer stemness in colon cancer by the Atoh1 protein stabilization. ISSCR2012. Yokohama, 2012年6月14日
5. Yui S, Nakamura T, Nemoto Y, Mizutani T, Fukuda M, Nozaki K, Yamauchi Y, Mochiduki W, Zheng X, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: Regeneration of damaged colon epithelium by transplanted colon Lgr5+ stem cells maintained and expanded in vitro. 第10回幹細胞シンポジウム. 淡路島, 2012年6月1日
6. Tsuchiya K, Kano Y, Mizutani T, Yui S, Nakamura T, Watanabe M: The stabilization of Atoh1 protein in colon cancer acquires cancer stemness and chemoresistance. 第10回幹細胞シンポジウム. 淡路島, 2012年6月1日
7. 渡辺 守: IBD診療の進歩と近未来像—治る時代へ— 第11回市民公開講座プログラム 炎症性腸疾患の治療をめぐる 名古屋, 2012年12月16日
8. 油井史郎、中村哲也、渡辺 守: マウスおよびヒトの正常な腸管上皮初代培養法の確立 第3回 Japan Gut Forum 東京, 2012年11月24日
9. 渡辺 守: 腸管幹細胞を用いた消化管上皮再生 第14回北関東・甲信越「GUTフォーラム」プログラム 東京, 2012年11月24日
10. 渡辺 守: 腸管幹細胞を用いた消化管上皮再生 第50回小腸研究会 京都, 2012年11月10日
11. 渡辺 守: ~はじめに~治療における医師と患者のギャップ調査 JDDW2012 神戸, 2012年10月13日
12. 渡辺 守: 「消化器疾患治療の最新のトピックス」大腸: 炎症性腸疾患—最近の進歩— JDDW2012 神戸, 2012年10月13日
13. 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—(MREC)の有用性 JDDW2012 神戸, 2012年10月12日
14. 渡辺 守: 消化器病学会特別企画1: 日本消化器病学会ガイドライン(大腸ポリープ、機能性消化管障害、NAFLD/NASH) 中間報告 JDDW2012 神戸, 2012年

- 10月12日
15. 加納嘉人、土屋輝一郎、渡辺 守：新たな「分化度」スケーリングを用いた大腸癌形質制御と個別化医療への可能性 JDDW2012 神戸, 2012年10月11日
 16. 渡辺 守：Go beyond usual standard care in Crohn's disease management JDDW2012 神戸, 2012年10月11日
 17. 渡辺 守：IBD治療において免疫調節薬を実際にどう使うか JDDW2012 神戸, 2012年10月11日
 18. 渡辺 守：新しい消化管再生医療—難病克服に向けて— 医科学術研究会 千葉, 2012年10月4日
 19. 土屋輝一郎、加納嘉人、中村哲也、渡辺 守：大腸における幹細胞維持とがん幹細胞発現機構 第44回日本臨床分子形態学会総会・学術集会 高知, 2012年9月28日
 20. 渡辺 守：腸管幹細胞を用いた消化管上皮再生 平成24年度第1回クリニカルサミット 東京, 2012年9月28日
 21. 渡辺 守：炎症性腸疾患における内視鏡を考え直す OMC Gastroenterology & Hepatology Research Groupカンファレンス 大阪, 2012年9月27日
 22. 渡辺 守：大腸上皮幹細胞—培養系の確立と移植への応用— がん若手研究者ワークショップ 蓼科, 2012年9月6日
 23. 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)の実際とクローン病小腸大腸病変の評価における有用性 第30回日本大腸検査学会総会 東京, 2012年9月1日
 24. 長堀正和、藤井俊光、齊藤詠子、渡辺 守、大塚和朗：クローン病診療における当院でのMREC(MR enterocolonography)の試み モニタリングとしての有用性 第30回日本大腸検査学会総会 東京, 2012年9月1日
 25. 加納嘉人、土屋輝一郎、渡辺 守：新たな分化度スケーリングを用いた大腸がん形質制御とバイオマーカーとしての可能性 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会 大阪, 2012年7月27日
 26. 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守：炎症性腸疾患難治性の要因としての腸炎惹起性メモリーCD4+T細胞維持機構の解析 第49回日本消化器免疫学会総会 鹿児島, 2012年7月6日
 27. 永石宇司、山地 統、戸塚輝治、鬼澤道夫、柘植直人、鈴木雅博、金井隆典、渡辺 守：慢性大腸炎モデルにおける腸炎惹起性T細胞の増殖はIL-7とNK細胞により制御される 第49回日本消化器免疫学会総会 鹿児島, 2012年7月6日
 28. 渡辺 守：新しい時代に入ったIBD～考えておくべきこと～ 名古屋IBDセミナー 名古屋, 2012年6月29日
 29. 長堀正和、藤井俊光、齊藤詠子、森尾純子、長沼 誠、渡辺 守：炎症性腸疾患患者における抗TNF α 受容体拮抗薬の選択に関する研究 第98回日本消化器病学会総会 東京, 2012年4月21日
 30. 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 東京, 2012年4月21日
 31. 水谷知裕、中村哲也、渡辺 守：正常小腸上皮培養細胞を用いたMDR1依存性薬剤排出機構の解析 第98回日本消化器病学会総会 東京, 2012年4月20日
 32. 渡辺 守：日本消化器病学会大腸ポリープ診療ガイドラインを目指して 第98回日本消化器病学会総会 東京, 2012年4月20日
 33. 本谷 聡、渡辺 守、日比紀文：日本人クローン病患者に対するアダリムマブ長期継続投与による3年間の寛解維持効果 第98回日本消化器病学会総会 東京, 2012年4月19日
 34. 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 東京, 2012年4月19日
 35. 中村哲也、渡辺 守：単一幹細胞からの大腸上皮大量培養と細胞移植による大腸上皮再生 第98回日本消化器病学会総会 東京, 2012年4月19日
 36. 大坪武史、遠藤高穂、豊田哲郎、大島健志郎、萩原輝記、稲垣匡子、河村裕、小西文雄、矢野秀朗、齊藤幸夫、服部正平、河村由紀、土肥多恵子：潰瘍性大腸炎粘膜固有層における少数のT細胞およびマクロファージ/樹状細胞を用いたエ

- ピゲノム解析. 第 85 回日本生化学会大会、2012 年 12 月 16 日, 福岡
37. 前屋敷-平野 千明、河村 由紀、萩原輝記、大坪 武史、櫻井 俊之、小島 康志、永田 尚義、秋山 純一、神奈木 玲児、土肥 多恵子. 末梢血白血球レクチン発現は炎症性腸疾患の病勢を反映するマーカーである。第 9 回日本消化器病学会総会 2013 年 3 月 22 日 鹿児島
38. Ishitani T, Ishitani SA dual and opposite role of NLK-mediated Lef1 phosphorylation on the

Wnt/beta-catenin signaling. 第 45 回日本発生生物学会・第 64 回日本細胞生物学会 合同年会 (口頭発表)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1) 特許出願

渡辺 守、中村哲也: 「大腸上皮幹細胞の単離・培養技術と、これを用いた大腸上皮移植技術」国際公開番号: W02013/061608

－難治性炎症性腸疾患のゲノム解析による病因・病態・治療抵抗性機序の解明－

研究分担者 日比 紀文 慶應義塾大学医学部内科学 教授

研究要旨：炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis; UC) やクローン病 (Crohn's disease; CD) はいまだ原因不明の慢性難治性炎症性腸疾患であるが、その疾患関連遺伝子が genome-wide association study (GWAS) や候補遺伝子解析によって同定されつつある。しかし、治療反応性に関する遺伝学的背景は解明されていない。抗 TNF α 抗体製剤が治療の中心となりつつあるが、同剤に対する治療抵抗性が大きな課題として残されている。そこで本研究においては、両疾患について、近年治療の中心となっている抗 TNF α 抗体製剤に対する治療応答性をゲノムレベルで解析する。

A. 研究目的

炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis; UC) やクローン病 (Crohn's disease; CD) はいまだ原因不明の慢性難治性炎症性腸疾患であるが、その疾患関連遺伝子が genome-wide association study (GWAS) や候補遺伝子解析によって同定されつつある。しかしながら、治療に直結する情報は未だ得られていない。

それらの疾患における病態には何らかの免疫学的機序が関与していると考えられ、臨床的にはアミノサリチル酸製剤、副腎皮質ステロイド、免疫抑制剤の投与を中心とした薬物療法や白血球除去療法、抗 TNF α 抗体製剤等を用いて治療されているが、治療抵抗性の問題こそが難治性疾患の本質的な問題であり、再燃と緩解を繰り返すことが多い。

そこで本研究においては、両疾患について、近年治療の中心となっている抗 TNF α 抗体製剤に対する治療応答性をゲノムレベルで解析する。抗 TNF α 抗体製剤に対する治療応答性を規定する因子は解明されておらず、実際には、TNF α 抗体治療抵抗を示す患者が存在し、その割合はクローン病においては約30%の一次無効例、および有効例の中の約30%におよぶ二次無効例が報告されている。潰瘍性大腸炎に関しては、本邦では2010年6月より抗 TNF α 抗体治療が承認されているが既に承認されている白血球除去療法や新たに承認された経口タクロリムス治療との使い分け、適応症例の選別が問題となっている。

本研究により遺伝子レベルで抗 TNF α 抗体製剤に対する応答性が規定されていることが明らかになれば対象患者の選別が可能にな

り、副作用の軽減や医療経済的側面で大きな有益性があると考えられる。

B. 研究方法

プロジェクト全体の多施設共同研究では、対象群数は UC 500名、CD 300名であるが、そのうち、慶應義塾大学では、UC 80名、CD 80名を対象とする。末梢血液3m l を採取、検体として使用し、遺伝子多型の解析を行う。
①末梢血液より DNA を抽出する。個別タイピングにおいては、PCR で多型領域を増幅し、TaqMan法によりその遺伝子型を決定する。
②患者群と対照群との間で、遺伝子型分布の差を統計学的に検討すると共に、様々な臨床マーカー(発症年齢、病理組織像、臨床病期分類、治療抵抗性)との相関を検討する。
*血液試料は EDTA採血後にただちに九州大学へ郵送される。九州大学でゲノム解析に供され、ゲノムの抽出ならびに解析が行われる(慶應義塾大学医学部倫理委員会承認済)。

(倫理面への配慮)

本研究にまつわる個人の情報は厳重な管理のもと守秘義務を遵守する。
まず検体提供施設である慶應義塾大学においては、提供者には符号をつけることで匿名化を行う。また、データシートなどには、名前、患者番号など個人の特定に通じる情報は記載せず、符号(データ番号)のみで対応させる(連結可能匿名化)。個人情報管理者は、符号化された ID と個人名の対応表のみを保持する。対応表は、個人情報管理者によって、施錠と入室・出室管理のできる研究室内において厳重に管理される。データの管理は、研

究実施責任者の責任のもとで、施錠と入室・
出室管理のできる研究室において厳重に
管理する。また、解析を行う研究者は、個人
を特定できる情報がわからない状態で、採取
機関で付けられているID番号・臨床情報と
ともに標本を受け取る。研究者はID番号から患
者情報にアクセスできない。

解析機関である九州大学では、採取機関別に
試料番号を新たに付け、以降の解析はこの試
料番号を用いて行う。研究成果を公表する際
には個人が特定される形では公表しない。
さらに個人に帰属する検討結果を個人に求
められた場合には、個人本人のみに伝達する。
この際、慶應大学病院医師から患者名を個人
情報管理者に伝達し、個人情報管理者を通じ
てIDを九州大学に伝達する。九州大学では、
伝えられたIDをもとに該当者の情報を慶應
大学に個人情報管理者を通じて伝達し、個人
情報管理者がIDから患者名に変換した後に
慶應大学病院医師に伝達され、医師は患者に
情報を提供する。

ゲノム解析は九州大学でのみ実施する。匿名
化された血液検体よりDNAが抽出され、DNA検
体は、施錠された研究室内の施錠された冷凍
庫において厳重に保管される。得られた遺伝
子型は、施錠された研究室内のネットとは接
続されていないコンピューターにおいて管
理される。当該コンピューターのパスワード
は、九州大学の研究担当者（笹月健彦、山本
健）のみに与えられる。

C. 研究結果

文書による同意を得たUC9名、CD53名の血
液を九州大学に送付した。他の検体収集機
関とも合わせ、平成24年度はIBDとして240検
体が収集され、HLA6座ならびにIBD感受性遺
伝子として報告されている40遺伝子のSNP多
型情報が取得された。疾患感受性、抵抗性HLA
アレルの同定、ならびに治療抵抗性の遺伝
素因に関する最終的な解析が実施される。

D. 考察

治療抵抗性の問題こそが難治性疾患の本
質的な問題である。本研究により、TNF α 抗体
治療抵抗性に関連する因子が明らかとなれ
ば、クローン病においては30%の一次無効例、
および有効例の中の1/3におよぶ二次無効例
についてあらかじめ選別することができ、患
者の負担軽減とともに医療経済的な効果が
期待される。また潰瘍性大腸炎においてはそ
の有効性はクローン病よりもやや低いと考

えられており、既存の治療法（タクロリムス
や白血球除去療法など）との使い分けが大き
な課題となっている。本研究により抗TNF α
抗体治療への応答性が遺伝子レベルで明ら
かになれば本剤に responders をあらかじめ
選択することができ、医療費の削減、副作
用の軽減などにつながる。

E. 結論

慶應義塾大学、東京医科歯科大学、九州大
学の3施設によって、平成24年度はIBD240
検体が収集され、それらのHLA6座および40
候補遺伝子多型が決定された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoneno K, Hisamatsu T*, Shimamura K,
Kamada N, Ichikawa R, Kitazume MT, Mo
ori M, Uo M, Namikawa Y, Matsuoka K,
Sato T, Koganei K, Sugita A, Kanai T a
nd Hibi T. TGR5 signaling inhibits th
e production of pro-inflammatory cyto
kines by in vitro differentiated infl
ammatory and intestinal macrophages i
n Crohn' s disease. *Immunology* 2013 M
ay;139(1):19-29.
- 2) Hosoe N, Matsuoka K, Naganuma M, Ida
Y, Ishibashi Y, Kimura K, Yoneno K,
Usui S, Kashiwagi K, Hisamatsu T, Ino
ue N, Kanai T, Imaeda H, Ogata H, Hib
i T. Applicability of second generat
ion colon capsule endoscope to ulcera
tive colitis: A clinical feasibility
study. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013
Mar 21.
- 3) Nakamura Y, Kanai T, Saeki K, Takabe
M, Irie J, Miyoshi J, Mikami Y, Tera
tani T, Suzuki T, Miyata N, Hisamatsu
T, Nakamoto N, Yamagishi Y, Higuchi
H, Ebinuma H, Hozawa S, Saito H, Itoh
H, Hibi T. CCR2 knockout exacerbates
cerulein-induced chronic pancreatiti
s with hyperglycemia via decreased GL
P-1 receptor expression and insulin s
ecretion. *Am J Physiol Gastrointest L
iver Physiol.* 2013 Feb 28.
- 4) Handa T, Kanai T, Sato T, Mikami Y, S
ujino T, Hayashi A, Mizuno S, Matsumot
o A, Hisamatsu T, Hibi T. Dendritic ce
lls administered intrarectally penetra
te the intestinal barrier to break int

- estinal tolerance via Th2-mediated colitis in mice. *Immunol Lett.* 2013 Jan 17. 2012
- 5) Nishida A, Nagahama K, Imaeda H, Ogawa A, Lau CW, Kobayashi T, Hisamatsu T, Preffer FI, Mizoguchi E, Ikeuchi H, Hibi T, Fukuda M, Andoh A, Blumberg RS, Mizoguchi A. Inducible colitis-associated glycome capable of stimulating the proliferation of memory CD4⁺ T cells. *J Exp Med.* in press
 - 6) Mikami Y, Kanai T, Iwasaki E, Naganuma M, Yamagishi Y, Shimoda M, Matsuoka K, Hisamatsu T, Iwao Y, Ogata H, Nakatsuka S, Mukai M, Hibi T. Anticoagulation therapy dramatically improved severe sigmoiditis with findings resembling inflammatory bowel disease, which was caused by mesenteric venous thrombosis. *Clinical Journal of Gastroenterology.* in press
 - 7) Hisamatsu T, Kanai T, Yohei Mikami, Yoneno K, Matsuoka K, Hibi T. Immune aspects of the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Pharmacol Ther.* 2012 Oct 25. pii: S0163-7258(12)00233-1.
 - 8) Chang J, Hisamatsu T, Shimamura K, Yoneno K, Adachi M, Naruse H, Igarashi T, Higuchi H, Matsuoka K, Kitazume MT, Ando S, Kamada N, Kanai T, and Hibi T. Activated Hepatic Stellate Cells Mediate the Differentiation of Macrophages. *Hepatology Research.* in press
 - 9) Kimura K, Kanai T, Hayashi A, Mikami Y, Sujino T, Mizuno S, Handa T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Sato T, Hibi T. Dysregulated balance of retinoid-related orphan receptor γ t-dependent innate lymphoid cells is involved in the pathogenesis of chronic DSS-induced colitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Nov 2;427(4):694-700.
 - 10) Uo M, Hisamatsu T, Miyoshi J, Kaito D, Yoneno K, Kitazume MT, Mori M, Sugita A, Koganei K, Matsuoka K, Kanai T, Hibi T. Mucosal CXCR4⁺ IgG plasma cells contribute to the pathogenesis of human ulcerative colitis through Fc γ R-mediated CD14⁺ macrophage activation. *Gut.* 2012 Sep 26. [Epub ahead of print]
 - 11) Hisamatsu T, Hibi T. -Is the dendritic cell a missing piece in the pathogenesis model of post-infectious irritable bowel syndrome?- Editorial for "Characteristics of intestinal lamina propria dendritic cells in a mouse model of postinfectious irritable bowel syndrome." *J Gastroenterol Hepatol.* 2012 May;27(5):847-8.
 - 12) Maruyama Y, Hisamatsu T*, Matsuoka K, Naganuma M, Inoue N, Ogata H, Iwao Y, Kanai T, Hibi T. A Case of Intestinal Behçet's Disease Treated with Infliximab Monotherapy Who Successfully Maintained Clinical Remission and Complete Mucosal Healing for Six Years. *Intern Med.* 2012;51(16): 2125-9.
 - 13) Ono Y, Kanai T, Sujino T, Nemoto Y, Kanai Y, Mikami Y, Hayashi A, Matsumoto A, Takaishi H, Ogata H, Matsuoka K, Hisamatsu T, Watanabe M, Hibi T. T-helper 17 and Interleukin-17-Producing Lymphoid Tissue Inducer-Like T Cells Make Different Contributions to Colitis in Mice. *Gastroenterology.* 2012 Nov;143(5):1288-97.
 - 14) Takayama T, Kanai T, Matsuoka K, Okamoto S, Sujino T, Mikami Y, Hisamatsu T, Yajima T, Iwao Y, Ogata H, Hibi T. Long-term prognosis of patients with ulcerative colitis treated with cytaphe resis therapy. *J Crohns Colitis.* 2012 May 25.
 - 15) Mizuno S, Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Ono Y, Hayashi A, Handa T, Matsumoto A, Nakamoto N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Takaishi H, Hibi T. CCR9(+) plasmacytoid dendritic cells in the small intestine suppress development of intestinal inflammation in mice. *Immunol Lett.* 2012 May 21.16) Ichikawa R, Takayama T, Yoneno K, Kamada N, Kitazume MT, Higuchi H, Matsuoka K, Watanabe M, Itoh H, Kanai T, Hisamatsu T, Hibi T. Bile acids induce monocyte differentiation toward IL-12 hypo-producing dendritic cells via a TGR5-dependent pathway. *Immunology.* 2012 Jun;136(2):153-62.
 - 17) Hisamatsu T, Okamoto S, Hashimoto M, Muramatsu T, Andou A, Uo M, Kitazume MT, Matsuoka K, Yajima T, Inoue N, Kan

- ai T, Ogata H, Iwao Y, Yamakado M, Sakai R, Ono N, Ando T, Suzuki M, Hibi T. Novel, Objective, Multivariate Biomarkers Composed of Plasma Amino Acid Profiles for the Diagnosis and Assessment of Inflammatory Bowel Disease. *PLoS ONE*. 2012;7(1):e31131. Epub 2012 Jan 31.
- 18) Watanabe M, Hibi T, Lomax KG, Paulson SK, Chao J, Alam MS, Camez A; Study Investigators. (Motoya S, Kinouchi Y, Suzuki Y, Katsuno T, Ohtsuka K, Okamura S, Hirata I, Ando T, Nakase H, Oshitani N, Watanabe K, Ito H, Matsumoto T, Tanaka S, Inoue H, Sakai Y, Matsumoto T, Mitsuyama K, Tomiyasu N, Kumemura H, Kinjo F, Hisamatsu T, Matsui T, Shiraori K, Miyata M, Mizuno M, Fujiyama Y, Andoh A, Kato J, Ashida T, Fujiya M, Ohkusa T, Osada T, Takazoe M, Hanai H, Ichimori T, Okawa K.) Adalimumab for the induction and maintenance of clinical remission in Japanese patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2012 Mar;6(2):160-73.
- 19) Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Hisamatsu T, Hibi T. ROR γ t-dependent IL-17A-producing cells in the pathogenesis of intestinal inflammation. *Mucosal Immunol*. 2012 Feb 22
- 20) 金井隆典, 松岡克善, 久松理一, 岩男 泰, 緒方晴彦, 日比紀文 総説『インフリキシマブ二次無効の機序と対策, 治療方針』日本消化器病学会雑誌 2012 109巻3号 p364-369
- ## 2. 学会発表
- 1) Hisamatsu T, Uo M, Miyoshi J, Yoneno K, Matsuoka K, Kanai T, Ogata H, Hibi T. Intestinal CXCR4+IgG+ Immature Plasma Cells Contribute to the Pathogenesis of Ulcerative Colitis through IgG-Immune Complex-Fc γ R Signaling. The 6th Korea-Japan IBD Symposium. Tokyo, Japan, 1. 2012
- 2) Yoneno K, Hisamatsu T, Matsuoka K, Okamoto S, Takayama T, Ichikawa R, Sujino T, Miyoshi J, Mikami Y, Yajima T, Inoue N, Iwao Y, Kanai T, Ogata H, Hibi T. Serum CRP level and loss of infliximab response in early phase can be markers for abdominal abscess for crohn's disease : A report by multivariate study. 7th Congress of ECCO. Barcelona, Spain, 2. 2012
- 3) Inoue N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Miyoshi J, Mikami Y, Sujino T, Okamoto S, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. The efficacy of Anti-TNF- α antibody infliximab in refractory ulcerative colitis : Its positioning among the variety of treatment options. 7th Congress of ECCO. Barcelona, Spain, 2. 2012
- 4) Hayashi A, Kanai T, Sujino T, Mikami Y, Mizuno S, Handa T, Matsumoto A, Matsuoka K, Yajima T, Sato T, Hisamatsu T, Ogata H, Hibi T. A Single Strain of *Clostridium Butyricum* Suppresses Intestinal Inflammation by Converting Activated Lamina Propria Cd11b+CD11cInt Macrophages to IL-10-Producing Regulatory Macrophages. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
- 5) Maruyama Y, Matsuoka K, Iwao Y, Yajima T, Inoue N, Hisamatsu T, Sujino T, Takabayashi K, Yoneno K, Mikami Y, Miyoshi J, Mizuno S, Kimura K, Kanai T, Ogata H, Mukai M, Hibi T. Anti-viral therapy is not necessarily indicated in ulcerative colitis patients with cytomegalovirus infection detected by immunohistochemistry. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
- 6) Inoue N, Takabayashi K, Matsuoka K, Hisamatsu T, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Complete mucosal healing is associated with long-term remission in ulcerative colitis. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
- 7) Kimura K, Matsuoka K, Kanai T, Okamoto S, Hisamatsu T, Inoue N, Yajima T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Early normalization of C-reactive protein (CRP) by Infliximab is a predictive factor of sustained long-term clinical efficacy in Crohn's disease. *Digestive Disease Week 2012*. San Diego, USA, 5. 2012
- 8) Mikami Y, Kanai T, Mizuno S, Sujino T, Handa T, Matsumoto A, Sato T, Kamada N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Sonoda A,

- Takazoe M, Sahara R, Koganei K, Sugita A, Hibi T. New immunosuppressive system by myeloid-derived suppressor cells in the lamina propria of ulcerative colitis patients. Digestive Disease Week 2012. San Diego, USA, 5. 2012
- 9) Kimura K, Matsuoka K, Kanai T, Okamoto S, Hisamatsu T, Inoue N, Yajima T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. Early normalization of C-reactive protein (CRP) by infliximab is a predictive factor of sustained long-term clinical efficacy in crohn's disease. The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012
- 10) Hosoe N, Matsuoka K, Yoneno K, Usui S, Ishibashi Y, Kimura K, Naganuma M, Hisamatsu T, Inoue N, Kanai T, Hibi T, Ogata H. Feasibility of evaluating the severity of mucosal inflammation in patients with ulcerative colitis by using a second generation colon capsule endoscope. The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012
- 11) Hisamatsu T, Uo M, Miyoshi J, Yoneno K, Matsuoka K, Kanai T, Hibi T. Intestinal CXCR4+IgG+ immature plasma cells contribute to the pathogenesis of ulcerative colitis through IgG-immune complex-FcγR signaling. The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012
- 12) Maruyama Y, Matsuoka K, Iwao Y, Yajima T, Inoue N, Hisamatsu T, Naganuma M, Takabayashi K, Yoneno K, Mikami Y, Mizuno S, Kimura K, Kanai T, Ogata H, Mukai M, Hibi T. Anti-viral therapy is not necessarily indicated in ulcerative colitis patients with cytomegalovirus infection detected by immunohistochemistry. The 14th Meeting of International Conference on Ulcer Research. Tokyo, Japan, 7. 2012
- 13) Tsukagoshi U, Saigusa K, Yajima T, Hisamatsu T, Matsuoka K, Naganuma M, Inoue N, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Hibi T. A case report of infliximab use in pregnant UC patient exacerbating with a complication of CMV colitis. Asian IBD Symposium Seoul 2012. Seoul, Korea, 11. 2012
- 14) Saigusa K, Kanai T, Mikami Y, Sujino T, Handa T, Hayashi A, Mizuno S, Kimura K, Matsumoto A, Sato T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Hibi T. Colitogenic ROR gamma t dependent Th1 cells may help the generation of colitogenic ROR gamma t independent Th1 cells. Asian IBD Symposium Seoul 2012. Seoul, Korea, 11. 2012
- 15) Mikami Y, Kanai T, Mizuno S, Hayashi A, Matsumoto A, Handa T, Nakamoto N, Sato T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Ebinuma H, Hibi T. Intestinal Inflammation Instructs Increasing Liver Macrophages and Dendritic Cells to Trigger Inflammation in the Liver. Asian IBD Symposium Seoul 2012. Seoul, Korea, 11. 2012

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

炎症性腸疾患における病期の進展および治療抵抗性の解明

研究代表者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎、クローン病に代表される炎症性腸疾患は比較的若年に発症し、難治性のため長期罹患による QOL の低下、出血・狭窄などにより手術を余儀なくされるなど病勢のコントロールが非常に難しい疾患である。その発症原因は未だ不明なことが多いが、全ゲノム関連解析において種々の遺伝子多型が明らかとなり病態と直結する機構を一部解明する事に成功している。一方治療に関しては近年抗 TNF α 抗体製剤の開発により、潰瘍性大腸炎、クローン病共に従来の難治例でも寛解に維持できる症例が増加し一定の効果を上げている。その反面抗 TNF α 抗体製剤が無効な症例ではさらに重篤な状態に陥る事が危惧されており、治療抵抗性に関する予測因子の確立が早急に望まれている現状である。これまで治療抵抗性に関する患者の遺伝子多型解析はされていないため本研究においては治療抵抗性特異的遺伝子多型を同定し、治療予測因子を確立するとともに治療抵抗性の原因解明を行うことで新規治療薬の開発への基盤とすることを目的とする。本年度は潰瘍性大腸炎、クローン病において抗 TNF α 抗体にて治療歴のある患者を検索し、同意のもと病歴・重症度・治療抵抗性の有無を調査し、血液採取を行った。

研究協力者

土屋輝一郎

東京医科歯科大学大学院 消化管先端治療学分野

1. 研究目的

炎症性腸疾患は難治性持続性の腸管炎症を主体とし、粘膜障害から下痢、出血、狭窄、感染等を引き起こす疾患である。近年本邦においても潰瘍性大腸炎罹患患者が 10 万人を超えるなど増加傾向にあり、特に若年者に発症が多く罹患期間が長期にわたるため治療のメンテナンスが非常に重要な位置を占める。炎症性サイトカインである TNF α を標的とした抗 TNF α 抗体はクローン病で効果があることが証明され、最近では潰瘍性大腸炎にも治療効果があることが示唆されている。一方で無効例、抗体製剤に対する抗体産生による中和作用から有効血中濃度を維持できないなどいまだ長期の寛解を保持できない症例が多い。治療抵抗例では手術適応になることが多く、特にクローン病では病変部を切除しても残存小腸から病変が再発する事が示唆されており、手術を繰り返した結果短腸症候群を引き起こすなど患者の QOL を著しく低下させる結果となっている。そこで本研究では抗 TNF α 抗体製剤に対する治療抵抗性の原因検索を行うことを目的とし、患者ゲノム、エピゲノムを解析することで治療抵抗性に関与する遺伝子変異を同定する。

2. 研究方法

1) 難治性炎症性腸疾患のゲノム解析による病因・病態・治療抵抗性機序の解明

当院に通院している炎症性腸疾患患者の内、抗 TNF α 抗体製剤を使用した経験のある患者および現在使用中の患者を対象としてインフォームドコンセントのもと血液採取を行い、ゲノムを抽出する。

ゲノムは九州大学において HLA ハプロタイプ解析、ゲノムワイド関連解析を行う。

研究班全体でクローン病患者 200 名、潰瘍性大腸炎 100 名の解析をおこない、当院ではそれぞれ 100 名の患者に対して解析を行う。

2) 難治性炎症性腸疾患のエピゲノム解析による病因・病態・治療抵抗性機序の解明

病変部である腸粘膜上皮細胞のエピゲノム解析を行う。抗 TNF α 抗体製剤使用前後に内視鏡を行い、生検検体から上皮細胞を単離しゲノムを抽出する。ゲノムの修飾（メチル化など）の変化を解析し治療抵抗性との関連を同定する。具体的には 1) RNA を用いてマイクロアレイ解析ないし SAGE 解析により遺伝子発現を網羅的に解析する。2) Bisulfate シークエンス法による DNA メチル化解析。3) 抗ヒストン 3K4 抗体を用いた ChIP シークエンス。4) 抗ヒストン 3K9 ないし抗ヒストン 3K27 抗体を用いた ChIP シークエンスを行い、この網羅的解析の他に内外の研究の進歩により、特定の遺伝