

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 難治性疾患実用化研究事業
(英語) Practical Research Project for Rare/Intractable Diseases

研究開発課題名：(日本語) 難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索
(英語) Diagnostic and therapeutic research for chronic enteropathy

研究開発担当者：(日本語) 岩手医科大学医学部内科学講座消化器内科消化管分野 教授 松本主之
所属 役職 氏名：(英語) Takayuki Matsumoto, Professor, Division of Gastroenterology,
Department of Internal Medicine, Iwate Medical University

実施期間：平成 26 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) SLC02A1 免疫組織化学法による診断法開発、SLC02A1 遺伝子機能解析
開発課題名：(英語) SLC02A1-specific immunohistochemical diagnosis, functional
analysis of SLC02A1

研究開発分担者 (日本語) 杏林大学第三内科 教授 久松理一
所属 役職 氏名：(英語) Tadakazu Hisamatsu, Professor, Third Department of Internal
Medicine, Kyorin University

分担研究 (日本語) 診断基準の改訂 (重症度基準の作成)
開発課題名：(英語) Revision for diagnostic criteria

研究開発分担者 (日本語) 福岡大学筑紫病院 教授 平井 郁仁
所属 役職 氏名：(英語) Fumihito Hirai, Professor, Fukuoka University Chikushi Hospital

分担研究 (日本語) *SLC02A1* 遺伝子解析
開発課題名：(英語) Analysis of *SLC02A1* gene

研究開発分担者 (日本語) 九州大学大学院病態機能内科学 講師 江崎幹宏
所属 役職 氏名: (英語) Motohiro Esaki, Lecturer, Department of Medicine and Clinical
Science, Graduate school of Medical Sciences, Kyushu University

分担研究 (日本語) 非特異性多発性小腸潰瘍症の内視鏡像とアトラス作成
開発課題名: (英語) Publication of atlas for diagnosis of small bowel disease

研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学内視鏡センター 教授 緒方晴彦
所属 役職 氏名: (英語) Haruhiko Ogata, Professor, Center for Diagnostic and Therapeutic
Endoscopy, School of Medicine, Keio University

分担研究 (日本語) 小腸潰瘍症の広報活動
開発課題名: (英語) Public announcement for small bowel disease

研究開発分担者 (日本語) 北里大学北里研究所病院炎症性腸疾患先進治療センター 教授 日比紀文
所属 役職 氏名: (英語) Toshifumi Hibi, Professor, Center for Advanced IBD Research and
Treatment, Kitasato University Kitasato Institute Hospital

分担研究 (日本語) 患者検体のプロスタグランジン濃度測定/画像化法の確立
開発課題名: (英語) Establishment of mass-spectrometric measurement for
prostaglandins CV

研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学医学部医化学教室 専任講師 杉浦 悠毅
所属 役職 氏名: (英語) Yuki Sugiura, Lecturer, Department of Biochemistry, Keio
University School of Medicine

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

難治性小腸潰瘍症は原因不明の難病で患者は慢性貧血、低蛋白血症に侵されるが輸血などの対症療法しか治療がなく重症例では小腸切除も行われる。本邦で疾患概念が提唱された非特異性多発性小腸潰瘍症も含まれるが数百名の稀少疾患であるため病態解明は遅れていた。このため厚労科研特定疾患対策研究『原因不明小腸潰瘍症の実態把握、疾患概念、疫学、治療体系の確立に関する研究』(日比班)が実態把握、病態解明を推進してきた。

慶應大久松(研究分担者)のグループは姉妹発症例を発見し責任遺伝子をプロスタグランジン(PG)輸送蛋白をコードするSLCO2A1遺伝子変異と同定した。本疾患のゲノム遺伝子を収集・解析していた岩手医大松本(研究代表者)、九州大江崎(研究分担者)らは患者ゲノムのエクソーム解析から

同遺伝子変異が存在することを突き止めた。両グループは非特異性多発性小腸潰瘍の原因は *SLCO2A1* 遺伝子変異である可能性が高いと共同発表した。我々は研究班を中心に情報を共有することで原因不明とされていた本疾患原因遺伝子の同定にわずか3年で成功した。

一方、国内数百名と見積もられている患者の実態把握、ゲノム解析を進め難治性小腸潰瘍症における *SLCO2A1* 遺伝子変異の全貌についてもレジストリーを確立した。さらにモデルマウスの作成を含めた機能解析を推進し病態解明・治療標的の発見を目指した基礎研究にも着手した。さらに、松本は岩手医科大学において非特異性多発性小腸潰瘍症と他の炎症性腸疾患の鑑別方法として、切除消化管組織や生検組織を用いた *SLCO2A1* 蛋白の免疫染色が有用であることを示した。

本研究が独創的であった点は、旧研究班の協力体制が良好に機能し稀少難病の責任遺伝子を同定したことを背景に、その体制をさらに強化し病態解明から診断法確立を確立し、治療法探索まで着手した点にある。また、プラスがグランジン定量化に関する本研究成果は、今後 PG が関与する NSAID 小腸潰瘍や他のプロスタグランジン関連腸症の病態解明に応用される可能性も高い。初年度は①全国の症例集積とゲノム解析の推進、②マウスモデルの作成を含めた機能解析に重点を置き、同時に診断・モニタリング法の確立を目指し血清・尿・組織中の PGs 濃度測定系の確立に着手した。2年目はこれらを継続し、さらに本症に関する啓蒙活動として内視鏡アトラスを作成し、全国に配布した。

Earlier, we proposed a rare autosomal recessive inherited enteropathy characterized by persistent blood and protein loss from the small intestine as chronic nonspecific multiple ulcers of the small intestine (CNSU). By whole-exome sequencing in five Japanese patients with CNSU and one unaffected individual, we found four candidate mutations in *SLCO2A1* gene, encoding a prostaglandin transporter. The pathogenicity of the mutations is supported by segregation analysis and genotyping data in controls. By Sanger sequencing of the coding regions, 11 of 12 other CNSU patients were found to have homozygous or compound heterozygous *SLCO2A1* mutations. In total, we identified recessive *SLCO2A1* mutations located at seven sites. Using RT-PCR, we demonstrated that the identified splice-site mutations altered the RNA splicing, and introduced a premature stop codon. Tracer prostaglandin E2 uptake analysis showed that mutant *SLCO2A1* protein for each mutation has an impaired prostaglandin transport. Immunohistochemistry and immunofluorescence analysis revealed that *SLCO2A1* protein was expressed on the cellular membrane of vascular endothelial cells in the small intestinal mucosa in control subjects, but was not detected in affected individuals. These findings indicate that loss-of-function mutations in *SLCO2A1* gene encoding prostaglandin transporter cause the hereditary enteropathy, CNSU.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 11 件、国際誌 3 件)

1. Umeno J, Hisamatsu T, Matsumoto T, et al. A Hereditary Enteropathy Caused by Mutations in the *SLCO2A1* Gene, Encoding a Prostaglandin Transporter. *PLoS Genet* Nov 5;11(11):e1005581
2. Esaki M, Umeno J, Kitazono Y, Matsumoto T. Clinicopathologic features of chronic nonspecific multiple ulcers of the small intestine. *Clinical Journal of Gastroenterology* 2015;8(2):57-62

3. Hosoe N, Ohmiya N, Hirai F, Umeno J, Esaki M, Yamagami H, Onodera K, Bamba S, Imaeda H, Yanai S, Hisamatsu T, Ogata H, Matsumoto T. Chronic enteropathy associated with SLC02A1 gene (CEAS) – Characterization of an enteric disorder to be considered in the differential diagnosis of Crohn’s disease. J Crohn Colitis (in press)
4. 松本主之. 非特異性多発性小腸潰瘍症の発症要因を特定できるか. 分子消化器病 19: 19-23, 201
5. 松本主之. 非特異性多発性小腸潰瘍症の病態と鑑別疾患. 消化と吸収 2016: 38(3)187-191
6. 松本主之. 非特異性多発性小腸潰瘍症の病態と診断. JIMA 2016:68 (3): 67-72
7. 松本主之. 非特異性多発性小腸潰瘍症 (CEAS). 消化器・肝臓内科 (in press)
8. 松本主之. プロスタグランジン腸症. BioClinica (in press)
9. 久松 理一. SLC02A1 の機能とプロスタグランジン関連腸症. GI Research 24(5):14-19
10. 小林 拓, 梅野淳嗣, 久松理一, 江崎幹宏, 松井敏幸, 松本主之, 日比紀文. 非特異性多発性小腸潰瘍症の難病指定と SLC02A1 関連小腸症. 日本消化器病学会雑誌 113(8): 1380 -1385 2016
11. 梅野淳嗣, 江_幹宏, 平井郁仁. ばち指と皮膚肥厚所見を呈した非特異性多発性小腸潰瘍症の 2 例. 胃と腸 51(8):1069-1076, 2016
12. 安川重義, 平井郁仁, 松井敏幸. 非特異性多発性小腸潰瘍症およびその他の原因不明慢性炎症性腸疾患. Intestine 19(2):142-148, 2015
13. 梅野淳嗣, 江崎幹宏, 平井郁仁. 非特異性多発性小腸潰瘍症(CEAS)の発症メカニズム. G. I. Reseach 24(5):20-27, 2016
14. 梅野淳嗣, 久松理一, 江崎幹宏, 松本主之. プロスタグランジン輸送体をコードする SLC02A1 遺伝子の変異を原因とする遺伝性腸症. 非特異性多発性小腸潰瘍症. Intestine 19(2):136-141, 2016

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 非特異性多発性小腸潰瘍症の原因遺伝子の同定 (口演. 梅野淳嗣, 江崎幹宏, 松本主之. 第 101 回日本消化器病学会総会. 2015. 4. 23. 国内)
2. 質量分析法を用いた NSAIDs 起因性小腸潰瘍の小腸粘膜 PG 代謝物の網羅的解析による病態解明と今後の展望 (口演). 久松理一, 島村克好, 金井隆典, 高橋信一, 杉浦悠毅. 第 53 回小腸研究会. 2015. 11. 7. 国内)
3. 非特異性多発性小腸潰瘍症の診断における内視鏡下生検の意味 (口演). 久松理一, 細江直樹, 金井隆典. 第 89 回日本消化器内視鏡病学会総会. 2015. 5 29. 国内)
4. SLOC02A1 変異による PG 輸送障害と非特異性多発性小腸潰瘍症 (口演. 久松理一, 細江直樹, 金井隆. 第 101 回日本消化器病学会総会. 2015. 4. 23. 国内)
5. 小腸潰瘍症の実態 (口演). 松本主之. 第 6 回日本消化管学会教育講演会. 2015. 9. 5. 国内)
6. 非特異性多発性小腸潰瘍症の原因遺伝子解明 (口演). 松本主之, 梅野淳嗣, 久松理一. 第 102 回日本消化器病学会. 2016, 4. 22. 国内)
7. Proposal of chronic enteropathy associated with SLC02A1 (CEAS). Matsuoto T, Umeno J, Esaki M, HIsamatsu T. The 4th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn’ s & Colitis . 2016. 7. 8. 国内)
8. 非特異性多発性小腸潰瘍症の原因遺伝子同定から学んだこと (口演). 久松 理一. 日本消化器病学会関東支部第 341 回例会. 2016. 9. 24. 国内)

9. SLC02A1 発現解析を用いた非特異性多発性小腸潰瘍症の診断と病態解明へアプローチ (口演). 久松理一、島村克好、細江直樹、杉浦悠毅、高橋信一、金井隆典. 第12回日本消化管学会総会学術集会. 2016.2.26. 国内
10. Chronic enteropathy associated with SLC02A1 gene, encoding prostaglandin transporter (CEAS) (ポスター). Umeno J, Hisamatsu T, Esaki M, Matsumoto T. 2015 Advances in Inflammatory Bowel Diseases. 2015.12.11. 国外
11. 非特異性多発性小腸潰瘍症の原因遺伝子の同定および新規名称の提案 (口頭) 梅野淳嗣、江崎幹宏、松本主之. 第102回日本消化器病学会総会. 2016.4.23. 国内
12. Chronic enteropathy associated with SLC02A1 gene, encoding prostaglandin transporter (CEAS): relationship with primary hypertrophic osteoarthropathy (ポスター). Umeno J, Esaki M, Hisamatsu T, Matsumoto T. 4th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis. 2016.7.9. 国外
13. Development of an imaging mass spectrometry technique for visualizing localized cellular signaling mediators in Tissues (口演). Yuki Sugiura. The 9th international conference on the biology, chemistry, and therapeutic applications of nitric oxide. 2016.5.22. 国外
14. Visualization of Localized Cellular Signaling Mediators in Tissues (口演). Yuki Sugiura. AMED-DFG Joint Workshop. 2016 3. 20. 国外
15. Genetic abnormality in non-specific multiple ulcers of the small intestine (口演). Takayuki Matsumoto. APDW 2016. 2016.11.3. 国外
16. Identification of the gene for chronic nonspecific multiple ulcers of small intestine (口演). Takayuki Matsumoto, Tadakazu Hisamatsu, Motohiro Esaki. 2017.3.23. 国外
17. プロスタグランジン腸症の病態と診断 (口演). 松本主之. 第93回日本消化器内視鏡学会. 2017.5.11. 国内 3ec

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし