

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) ゲノム病態解析を基軸としたハンナ型間質性膀胱炎の診断精度向上と新規治療法開発に関する研究  
(英語) High-throughput sequencing-based pathophysiological investigation for improving diagnostic accuracy and development of novel therapies for Hunner type interstitial cystitis

研究開発担当者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 泌尿器科 病院診療医 秋山佳之  
所属 役職 氏名： (英語) Medical doctor Yoshiyuki Akiyama, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 間質性膀胱炎の病理組織診断の精度向上  
開発課題名： (英語) Improvement of histopathological diagnostic accuracy of interstitial cystitis

研究開発分担者  
所属 役職 氏名：

(日本語)

- ・秋田大学大学院器官病態学 准教授 前田大地
- ・東京大学医学部附属病院 泌尿器科 病院診療医 秋山佳之

(英語)

- ・ Associate professor Daichi Maeda, Department of Cellular and organ pathology, Akita University
- ・ Medical doctor Yoshiyuki Akiyama, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo

分担研究 (日本語) 浸潤リンパ球のレパトリー解析  
開発課題名: (英語) High-throughput sequencing-based immune repertoire analysis for Hunner type interstitial cystitis

研究開発分担者 (日本語) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 ゲノム病理学 助教 加藤洋人  
所属 役職 氏名: (英語) Assistant professor Hiroto Katoh, Department of Genomic Pathology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University

分担研究 (日本語) 新規治療戦略の策定  
開発課題名: (英語) Development of novel therapies for Hunner type interstitial cystitis

研究開発分担者  
所属 役職 氏名:

(日本語)

- ・東京大学医学部附属病院 泌尿器科 教授 本間之夫
- ・東京大学医学部附属病院 泌尿器科 病院診療医 秋山佳之

(英語)

- ・ Professor Yukio Homma, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo
- ・ Medical doctor Yoshiyuki Akiyama, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo

分担研究 (日本語) B細胞異常に着目したハンナ型 IC の病理組織学的解析  
開発課題名: (英語) Histopathological analyses of Hunner type interstitial cystitis focused on infiltrating B-cell abnormality

研究開発分担者 (日本語) 秋田大学大学院器官病態学 准教授 前田大地  
所属 役職 氏名: (英語) Associate professor Daichi Maeda, Department of Cellular and organ pathology, Akita University

分担研究 (日本語) 間質性膀胱炎類似モデル動物の作成  
開発課題名: (英語) Development of a potential animal model for interstitial cystitis

研究開発分担者

所属 役職 氏名:

(日本語)

- ・ 東京大学大学院医学系研究科 特任教授 井川靖彦
- ・ 東京大学医学部附属病院 泌尿器科 病院診療医 秋山佳之

(英語)

- ・ Professor Yasuhiko Igawa, Department of continence medicine, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo
- ・ Medical doctor Yoshiyuki Akiyama, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo

分担研究 (日本語) 間質性膀胱炎組織における網羅的サイトカイン発現プロファイリング  
開発課題名: (英語) Comprehensive cytokine gene expression profiling in the interstitial cystitis bladder

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 泌尿器科 病院診療医 秋山佳之

所属 役職 氏名: (英語) Medical doctor Yoshiyuki Akiyama, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo

分担研究 (日本語) 間質性膀胱炎組織浸潤 B 細胞の網羅的遺伝子異常の探索  
開発課題名: (英語) Comprehensive gene analysis of the infiltrating B-cells in the Hunner type interstitial cystitis bladder

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医学部附属病院 泌尿器科 病院診療医 秋山佳之

所属 役職 氏名: (英語) Medical doctor Yoshiyuki Akiyama, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo

分担研究 (日本語) 研究総括  
開発課題名: (英語) General overview

研究開発分担者

所属 役職 氏名:

(日本語)

- ・ 東京大学医学部附属病院 泌尿器科 教授 本間之夫
- ・ 東京大学医学部附属病院 泌尿器科 病院診療医 秋山佳之

(英語)

- ・ Professor Yukio Homma, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo
- ・ Medical doctor Yoshiyuki Akiyama, Department of Urology, Graduate School of Medicine, The university of Tokyo

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

間質性膀胱炎 (Interstitial cystitis: IC) は膀胱痛や頻尿などの症状を来す原因不明の慢性疾患で、臨床的 (膀胱鏡所見的) にハンナ型と非ハンナ型に分類される。ハンナ型 IC は特に患者の QOL 障害が顕著で、指定難病に認定されている。これまで、ハンナ型 IC と非ハンナ型 IC の間には、膀胱鏡所見以外の差異は明らかではなかった。我々はまず、多数症例の IC 組織検体を用いて組織像の詳細かつ定量的な評価を行い、両病型が病理組織学的に対照的ともいふべき所見を呈することを明らかにした。具体的には、ハンナ型 IC が膀胱粘膜の著明な炎症細胞浸潤と上皮剥離に特徴づけられる確固たる炎症性疾患である一方で、非ハンナ型 IC の組織は炎症細胞浸潤に乏しく、非炎症性疾患であることを明らかにした。

本研究開発課題では IC 組織の炎症性変化や上皮剥離、浸潤炎症細胞の特性などを評価し、組織診断 scoring system の開発とその診断基準・病型分類への応用により IC の客観的診断体系の構築を目指している。平成 28 年度は、多数症例の IC 組織検体を用いて、1) 浸潤している炎症細胞の種類・数、2) 炎症細胞浸潤の程度、3) 上皮剥離の程度や様態、4) 間質の組織像変化 (線維化、浮腫、炎症の波及) の程度を定性的 (検鏡法により) 評価に基づいて scoring 化した暫定的な grading system を開発して定量解析結果を再現できるかどうかを検証した。その結果、開発した組織診断 grading system により 定量解析結果を高い精度で再現可能であることを確認した。平成 29 年度以降では、この grading system を洗練させ、診断基準・病型分類への応用を目指す。

本研究開発課題では、次世代シーケンサーを駆使した遺伝学的、免疫学的アプローチによるハンナ型 IC の病態解明にも取り組んでいる。

先述したように、ハンナ型 IC では膀胱上皮下にリンパ球主体の高度な炎症細胞浸潤を認めるが、中でも B 細胞 (B リンパ球及び形質細胞) の比率が高い。そして、我々は  $\kappa/\lambda$  軽鎖制限解析よって高頻度に B 細胞のクローン性増殖が認められることを突き止めた。続いて浸潤リンパ球抗原受容体遺伝子の網羅的解読によるレパートリー解析を行い、ハンナ型 IC の膀胱粘膜に存在する T、B 細胞が共にクローナル増殖を起こしていることを明らかにした。特に B 細胞のクローナリティが高く、一部

の症例では特定の B 細胞クローンが圧倒的にドミナントになっていることを突き止めた。この事実から、我々はハンナ型 IC では、特に顕著な B 細胞のクローン性増殖が病態に何らかの関与をしており、その背景に自己免疫的機序を含む特異な免疫応答や B 細胞性腫瘍との相同的病態（特に腫瘍原性遺伝子異常）が存在する可能性があると考えに至った。これらに対し、平成 28 年度末にハンナ型 IC 及び対照膀胱組織（非ハンナ型 IC 及び非 IC 膀胱組織（膀胱癌、慢性膀胱炎））に対して、網羅的遺伝子発現解析（トランスクリプトーム解析）を行い、現在各群間での遺伝子発現比較解析及び発現変化遺伝子の機能解析を施行中である。これにより、ハンナ型 IC におけるサイトカイン遺伝子発現プロファイリングや浸潤リンパ球の組成同定のみならず、特異的に発現変化を来している遺伝子群の機能同定が期待できる。さらに、予定 10 症例中、3 症例でエクソーム解析を平成 28 年度内に完了した。今年度以降症例数を蓄積し、ハンナ型 IC 組織浸潤 B 細胞の背景遺伝子異常（腫瘍原性遺伝子変異/融合遺伝子）の探索を完了させる。

## 英文

Interstitial cystitis (IC) is a chronic bladder disorder of unknown etiology, characterized by lower urinary tract symptoms such as urinary frequency, urgency, and bladder pain/discomfort. IC can be diagnosed and classified into subtypes (Hunner type, or non-Hunner type) based on clinical symptoms and cystoscopic findings, without histological assessment. By quantitative analysis-based histological assessment, we had found that Hunner type IC is a distinct inflammatory disorder characterized by epithelial denudation and lymphoplasmacytic infiltration. In this project, we developed and validated a grading system for IC histological diagnosis by scoring the degree of 1) subepithelial lymphoplasmacytic inflammation and components, 2) epithelial denudation, 3) stromal fibrosis and edema. The diagnostic accuracy of the grading system was similar to that of quantitative analysis-based histological assessment.

We had previously revealed B cell clonal expansion by kappa/Lambda light chain restriction analysis. In this project, we also performed high-throughput sequencing-based immune repertoire analysis. Consequently, we found clonal expansion of infiltrating T and B cells, with vast predominance of B cell expansion in the Hunner type IC bladder, suggesting that specific immune responses or B cell proliferating abnormality may underlie the pathophysiology.

## 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 4 件、国際誌 5 件）

1. Ichihara K, Aizawa N, Akiyama Y, Kamei J, Masumori N, Andersson KE, Homma Y, Igawa Y. Toll-like receptor 7 is overexpressed in the bladder of Hunner type interstitial cystitis and its activation in the mouse bladder can induce cystitis and bladder pain. Pain. 2017. In press.

2. 秋山佳之、本間之夫. 後期研修医がおさえておきたい泌尿器疾患 TOP30 2017: 間質性膀胱炎. 泌尿器外科. 2017; 30: 269-278.
3. 秋山佳之、本間之夫. 下部尿路機能障害の治療とケア: 間質性膀胱炎の病態と治療. 泌尿器ケア. 2017: 94-101.
4. Akiyama Y, Morikawa T, Maeda D, Shintani Y, Niimi A, Nomiya A, Nakayama A, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. Increased CXCR3 Expression of Infiltrating Plasma Cells in Hunner Type Interstitial Cystitis. Sci Rep. 2016; 6: 28652.
5. Maeda D, Akiyama Y, Morikawa T, Kunita A, Ota Y, Katoh H, Niimi A, Nomiya A, Ishikawa S, Goto A, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. Hunner-Type (Classic) Interstitial Cystitis: A Distinct Inflammatory Disorder Characterized by Pancystitis, with Frequent Expansion of Clonal B-Cells and Epithelial Denudation. PLoS One. 2015; 10: e0143316.
6. Akiyama Y, Nomiya A, Niimi A, Yamada Y, Fujimura T, Nakagawa T, Fukuhara H, Kume H, Igawa Y, Homma Y. Botulinum toxin type A injection for refractory interstitial cystitis: A randomized comparative study and predictors of treatment response. Int J Urol. 2015;22(9):835-41.
7. Kamei J, Furuta A, Akiyama Y, Niimi A, Ichihara K, Fujimura T, Fukuhara H, Kume H, Homma Y, Igawa Y. Video-urodynamic effects of mirabegron, a  $\beta$  (3)-adrenoceptor agonist, in patients with low-compliance bladder. Int J Urol. 2015; 22: 956-61.
8. 秋山佳之、井川靖彦. 高齢社会における下部尿路障害: 過活動膀胱の行動療法と薬物療法. 日本医師会雑誌. 2014; 142: 2424-2426.
9. 秋山佳之、井川靖彦. 過活動膀胱の診断・治療とケア: 過活動膀胱の薬物療法. 泌尿器ケア. 2014: 77-80.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Pathophysiology of Interstitial cystitis. 口頭. Akiyama Y. The 12<sup>th</sup> AUA/JUA International Affiliate Society Meeting 2017 in The 112<sup>th</sup> American Urological Association (AUA) annual meeting. 2017 May 12<sup>th</sup>. Boston, MA, United States. 国外
2. 免疫ゲノムプロファイリングによるハンナ型間質性膀胱炎の病態解明. 口頭. 秋山佳之、井川靖彦、本間之夫. 東京国際フォーラム, 2016/12/07. 国内.
3. 肥満細胞浸潤は真に間質性膀胱炎に特徴的な所見か? -組織定量解析法による検証-. 口頭. 秋山佳之、前田大地、新美文彩、野宮明、山田幸央、後藤明輝、井川靖彦、本間之夫. 東京国際フォーラム, 2016/12/08. 国内.
4. INFLAMMATORY INFILTRATES SPECIFIC TO HUNNER TYPE INTERSTITIAL CYSTITIS. 口頭. Akiyama Y, Maeda D, Niimi A, Nomiya A, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. 東京国際フォーラム, 2016/09. 国内.
5. INCREASED CXCR3 EXPRESSION OF INFILTRATING PLASMA CELLS IN HUNNER TYPE INTERSTITIAL CYSTITIS. Open discussion e poster. Akiyama Y, Morikawa T, Maeda D, Niimi A, Nomiya A, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. 東京国際フォーラム, 2016/09. 国内.

6. Quantitative analysis of mast cell infiltration in interstitial cystitis-Is it still specific to interstitial cystitis? 口頭. Akiyama Y, Maeda D, Morikawa T, Goto A, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. サンディエゴ, 2016/05/09. 国外.
7. Frequent expansion of clonal B-cells suggestive of specific immune responses in Hunner type interstitial cystitis. 口頭. Akiyama Y, Maeda D, Morikawa T, Niimi A, Nomiya A, Yamada Y, Kamei J, Aizawa N, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. サンディエゴ, 2016/05/09. 国外.
8. Is mast cell infiltration specific to interstitial cystitis? ポスター. Akiyama Y, Maeda D. シアトル, 2016/03. 国外.
9. ハンナ型間質性膀胱炎患者の膀胱組織における形質細胞浸潤と CXCR3 受容体発現との相関：免疫組織学的検討. 口頭. 秋山佳之, 森川鉄平, 前田大地, 新美文彩, 野宮明, 藤村哲也, 中川徹, 福原浩, 久米春喜, 井川靖彦, 深山正久, 本間之夫. 仙台国際センター. 2016/04/25. 国内.

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ゲノム解析を駆使したハンナ型間質性膀胱炎の病態探索と客観的診断体系の構築, 秋山佳之, 難治性疾患実用化研究事業 免疫アレルギー疾患等実用化研究事業(免疫アレルギー疾患実用化研究分野) 2016 年度合同成果報告会, 2017/02/10, 国内

### (4) 特許出願

(該当なし)