

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) 炎症性腸疾患における食関連リスク因子に関する研究  
(英語) Research on food-related risk factors of inflammatory bowel disease
- 研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京医科歯科大学・再生医療研究センター 教授 岡本隆一  
(英語) Ryuichi OKAMOTO  
Professor, Center for Stem Cell and Regenerative Medicine,  
Tokyo Medical and Dental University
- 実施期間： 平成 28年 11月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日
- 分担研究 開発課題名： (日本語) 日本人の炎症性腸疾患患者における食関連リスクによる腸管免疫制御機構の解明  
(英語) Regulation of intestinal mucosal immune system by food-related risk factors in Japanese inflammatory bowel disease patients
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名： (日本語) 北里大学大学院医療系研究科 炎症性腸疾患臨床研究寄附講座  
兼 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  
特任教授(センター長) 日比紀文・特任准教授(副センター長)  
小林 拓  
(英語) Toshifumi HIBI  
Professor, Center for Advanced IBD Research and Treatment,  
Kitasato University Kitasato Institute Hospital
- Taku KOBAYASHI  
Associate Professor, Center for Advanced IBD Research and Treatment,  
Kitasato University Kitasato Institute Hospital

## II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究課題は日本人の炎症性腸疾患患者において食に関連するリスク因子が腸上皮機能及び粘膜免疫機能を制御する機構の解明を目的としている。このため、「日本人の炎症性腸疾患患者における食関連リスク因子による腸上皮機能制御機構の解明」を課題とする腸上皮研究プロジェクト(代表機関・東京医科歯科大学)、および「日本人の炎症性腸疾患患者における食関連リスク因子による腸管免疫制御機構の解明」を課題とする腸管粘膜免疫プロジェクト(分担機関・北里大学北里研究所病院)を本研究の両輪とし、食関連リスク因子による炎症性腸疾患の発症誘導機序を「腸上皮」及び「免疫」の両面から解明する研究を推進している。

### 1) 日本人の炎症性腸疾患患者における食関連リスク因子による腸上皮機能制御機構の解明

(代表機関・国立大学法人東京医科歯科大学)

#### 1. 疾患由来腸上皮オルガノイドを用いた腸上皮機能解析系の確立

腸上皮細胞を対象とした幹細胞形質・増殖能・分化能を評価する解析系の構築を目的とし、研究開発を実施した。幹細胞形質・増殖能の新たな評価法として、幹細胞特異的遺伝子の発現を指標としたレポーター系構築・3D スキャナーを用いた評価系構築を実施し、レポーター遺伝子の構築や3D スキャナーを用いた解析条件の検討を終了している。また分化能評価については杯細胞に焦点を当てた解析を実施し、杯細胞分化の誘導系構築及び杯細胞特異的遺伝子のレポーター系構築を実施済みである。

#### 2. 分野1「生体試料のサンプリング法や解析法の標準化と臨床情報を含む統合的情報基盤の構築」との連携

本課題が対象とする炎症性腸疾患等の患者生体試料・食関連情報を統合した情報基盤整備のため、国立がん研究センターと連携し、体制構築を行った。国立がん研究センター内で運用済みの臨床研究に分担研究施設として参画するため本学倫理審査委員会の承認を得た。これに基づき患者糞便試料のメタゲノム・メタボローム解析を実施するため、国立がん研究センターに試料の提供・登録を開始している。

### 2) 日本人の炎症性腸疾患患者における食関連リスクによる腸管免疫制御機構の解明

(分担機関・北里大学北里研究所病院)

#### 1. 食関連リスク因子と腸管免疫担当細胞の免疫応答フェノタイプの解析

本研究はすでに該当研究機関の研究倫理委員会の承認を受け、当病院の消化器内科、外科および病理部からの協力体制の元、ヒト試料取得のためのロジスティクスの確保が完了した。予備検討においては、免疫応答フェノタイプ解析のための粘膜固有層免疫細胞の解析経路の選択が現時点で行われており、具体的には腸管免疫における初動細胞として知られるマクロファージおよび慢性炎症持続のカギを握るT細胞のプロファイリングを、表面抗原と生体機能の両面から実施している。

#### 2. 食関連リスク因子による腸管免疫担当細胞のエピゲノム変化の探索的研究

エピゲノム解析を行うにあたって最適な食関連因子の選択のため、高脂肪食、低糖食、さらに食物繊維等が免疫応答細胞に与える影響について比較検討を実施した。また、腸内細菌のプロファイリングのため、炎症性腸疾患患者より採取した便試料の確保と細菌DNAの抽出処理が行われている(分野1・国立がん研究センターと連携)。

The primary objective of the current project is to clarify the mechanism how food-related risk factors regulate intestinal epithelial functions or intestinal mucosal immune functions in Japanese inflammatory bowel disease patients. Therefore, research is consisted of two sub-theme projects: “Regulation of the intestinal epithelial function by food-related risk factors in Japanese inflammatory bowel disease patients” by Tokyo Medical and Dental University, and “Regulation of the intestinal mucosal immune system by food-related risk factors in Japanese inflammatory bowel disease patients” by Kitasato University Kitasato Institute Hospital. Through these research projects, we expect to elucidate the mechanism how food-related risk factors induce inflammatory bowel diseases in Japanese patients, from both “epithelial” and “immunological” aspect of the disease.

### **1) Regulation of the intestinal epithelial function by food-related risk factors in Japanese inflammatory bowel disease patients (Tokyo Medical and Dental University).**

1. Establishment of analysis methods regarding epithelial-cell specific functions using patient-derived intestinal organoids.

Experiments were performed to establish new methods to evaluate stem-cell phenotypes, proliferative activity, and differentiation potential of intestinal epithelial cells. For the evaluation of stem-cell phenotypes and proliferative activity, development of a stem cell-specific reporter system and a 3D-scanner mediated analysis system are under development. So far, stem cell-specific reporter gene construction has been completed, and also 3D-scanner based analysis has been optimized for intestinal organoids. For the analysis of differentiation potential, goblet cell-directed differentiation condition has been optimized, and also goblet cell-specific reporter gene construction has been completed.

2. Collaboration with Research Area1 project.

A multi-center system was established, in collaboration with National Cancer Center Japan (NCC), to build a patient-derived sample resource repository that is integrated with clinical and food consumption information. This year, joining the clinical research project of NCC was approved by our institutional ethics committee. Following the approved protocol, fecal sample collection has been started, and those samples have been sent to NCC for metagenomic or metabolomic analysis.

### **2) Regulation of the intestinal mucosal immune system by food-related risk factors in Japanese inflammatory bowel disease patients (Kitasato University Kitasato Institute Hospital)**

1. Analysis of food-related risk factors and response phenotype of intestinal immune cells.

This year, institutional logistics for collecting patient derived samples has been established in collaboration with departments such as gastroenterology, gastroenterological surgery, and pathology. Also, the clinical research project was approved by the institutional ethics committee. We are currently evaluating the key pathway which we should focus on for the upcoming analysis of immune response phenotype in patient’s lamina propria immune cells. In particular, we are profiling macrophages and T-cells, which are the key cell populations in initial intestinal immune responses and persistence of chronic inflammation, by their surface molecular antigen expression and in vivo functions.

2. Exploratory analysis of epi-genomic changes in intestinal immune cells by food-related risk factors.

Comparative review regarding the effect of high fat diet, low sugar diet, and dietary fiber on immune cells was conducted to identify the key food-related factor that may regulate epi-genomic status of those cells. Also, for the profiling of the patient microbiota, fecal samples were obtained and are currently under analysis (in collaboration with NCC).

### 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 5 件、国際誌 1 件）

1. Maeyashiki C, Oshima S, Otsubo K, Kobayashi M, Nibe Y, Matsuzawa Y, Onizawa M, Nemoto Y, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M. HADHA, the alpha subunit of the mitochondrial trifunctional protein, is involved in long-chain fatty acid-induced autophagy in intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017, 484, 636-641.
2. Nakata T, Shimizu H, Nagata S, Ito G, Fujii S, Suzuki K, Kawamoto A, Ishibashi F, Kuno R, Anzai S, Murano T, Mizutani T, Oshima S, Tsuchiya K, Nakamura T, Hozumi K, Watanabe M, Okamoto R. Data showing proliferation and differentiation of intestinal epithelial cells under targeted depletion of Notch ligands in mouse intestine. *Data Brief.* 2017, 10, 551-556.
3. Nakata T, Shimizu H, Nagata S, Ito G, Fujii S, Suzuki K, Kawamoto A, Ishibashi F, Kuno R, Anzai S, Murano T, Mizutani T, Oshima S, Tsuchiya K, Nakamura T, Hozumi K, Watanabe M, Okamoto R. Indispensable role of Notch ligand-dependent signaling in the proliferation and stem cell niche maintenance of APC-deficient intestinal tumors. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017, 482, 1296-1303.
4. Kobayashi M, Oshima S, Maeyashiki C, Nibe Y, Otsubo K, Matsuzawa Y, Nemoto Y, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M. The ubiquitin hybrid gene UBA52 regulates ubiquitination of ribosome and sustains embryonic development. *Sci Rep.* 2016, 6, 36780-36780.
5. Fujii S, Suzuki K, Kawamoto A, Ishibashi F, Nakata T, Murano T, Ito G, Shimizu H, Mizutani T, Oshima S, Tsuchiya K, Nakamura T, Araki A, Ohtsuka K, Okamoto R, Watanabe M. PGE2 is a direct and robust mediator of anion/fluid secretion by human intestinal epithelial cells. *Sci Rep.* 2016, 6, 36795-36795.
6. 岡本隆一, 渡辺 守. 腸上皮機能と炎症性腸疾患. *日本臨床免疫学会雑誌.* 2016, 39, 522-527.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 炎症性腸疾患における小腸上皮幹細胞・体外培養の試み, ポスター, 岡本隆一, 鈴木康平, 永田紗矢香, 河本亜美, 石橋史明, 安斎 翔, 久野玲子, 中田 徹, 藤井 悟, 村野竜朗, 平栗優衣, 土屋輝一郎, 中村哲也, 渡辺 守, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
2. Atoh1 protein stabilization in colon tumor acquires the morphological change to signet ring cell carcinoma with cancer stem cell enrichment, ポスター, Tsuchiya K, Hibiya S, Fukushima K, Shirasaki T, Oshima S, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M, APDW2016, 2016/11/3, 国内.

(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

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) 炎症性腸疾患における食関連リスク因子に関する研究  
(英語) Research for food-related risk factors of inflammatory bowel disease
- 研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京医科歯科大学・再生医療研究センター 教授 岡本隆一  
(英語) Ryuichi OKAMOTO  
Professor, Center for Stem Cell and Regenerative Medicine,  
Tokyo Medical and Dental University
- 実施期間： 平成 28 年 11 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究開発課題名： (日本語) 日本人の炎症性腸疾患患者における食関連リスク因子による腸管免疫制御機構の解明  
(英語) Regulation of the intestinal mucosal immune system by food-related risk factors in Japanese inflammatory bowel disease patient
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名： (日本語) 北里大学大学院医療系研究科 炎症性腸疾患臨床研究寄付講座  
兼 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  
特任教授(センター長) 日比 紀文・特任准教授(副センター長) 小林 拓  
(英語) Toshifumi HIBI  
Professor, Center for Advanced IBD Research and Treatment,  
Kitasato University Kitasato Institute Hospital
- Taku KOBAYASHI  
Associate Professor, Center for Advanced IBD Research and Treatment,  
Kitasato University Kitasato Institute Hospital

## II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：国立大学法人東京医科歯科大学・再生医療研究センター・岡本隆一  
総括研究報告を参照。

## 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 0 件、国際誌 0 件）  
該当なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当なし
- (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