

(別紙1)

## 総括研究報告書

課題番号：27-12

課題名：小児期発症炎症性腸疾患の病態把握、診断基準確立および将来的な治療研究基盤確立のための研究

主任研究者名 国立成育医療研究センター  
器官病態系内科部消化器科  
診療部長 新井勝大

(研究成果の要約) 世界中で患者数が増えている炎症性腸疾患 (IBD) の中でも、超早期発症型炎症性腸疾患 (VEO-IBD) は、その診断の多様性と難しさ、治療抵抗性もあり、世界中で注目されている疾患領域である。本邦においても年間 40 例程度の新規 VEO-IBD 患者がいることが、本研究における全国調査で明らかにされたが、VEO-IBD の中には、単一遺伝子異常に伴う Monogenic IBD の患者がいることが本邦でも確認されており、その実態とともに、診断基準・治療指針の作成が望まれる。本研究では、本邦における VEO-IBD 患者を含む小児 IBD 患者の実態と特徴をレジストリ研究により明らかにしてきた。また、VEO-IBD の診断基準・治療指針作成にむけての診断アルゴリズムを作成するとともに、新規候補遺伝子、新規候補バリエーションの抽出と評価のための診療体制が構築され、更なる研究推進への基盤が築かれた。また、VEO-IBD の管理で重要な栄養療法による栄養素欠乏の問題点が明らかとなり、対策についての研究が進み、免疫抑制療法によらない治療としての糞便移植についても腸内細菌叢の変化を含め評価し、嫌気性菌を保持するための前処置法の評価も進んだ。

(一行分あける)

### 1. 研究目的

本研究の目的は、以下の研究を実施することで、本邦における P-IBD、なかんずく VEO-IBD の診断、病型や治療実態、経過・予後等についての詳細な検討を行い、診断アルゴリズムを作成するとともに、そこで作られた疾患の基盤情報をもとに、栄養管理の標準化や、新たな治療法の開発の基盤とすることである。

- ① VEO-IBD のオンライン登録システム構築とレジストリ研究
- ② VEO-IBD の診断基準の作成
- ③ VEO-IBD に対して実施されている現行治療の検討と栄養管理の標準化のための研究
- ④ P-IBD 患者の腸内細菌叢の検討による病態解明のための研究

(一行分あける)

### 2. 研究組織

研究者 所属施設  
新井勝大：国立成育医療研究センター器官病態系内科部消化器科  
清水俊明：順天堂大学医学部小児科  
河合利尚：国立成育医療研究センター生体

防御系内科部免疫科

清水泰岳：国立成育医療研究センター器官病態系内科部消化器科

山城雄一郎：順天堂大学大学院プロバイオティクス研究講座

(一行分あける)

### 3. 研究成果

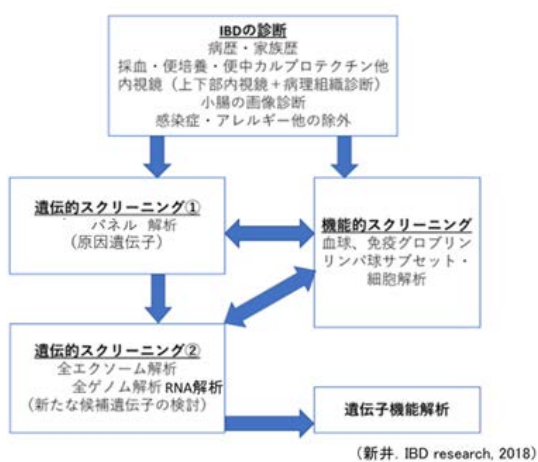
#### ① VEO-IBD のオンライン登録システム構築とレジストリ研究

- 1) 2018 年 3 月 31 日時点で全国 23 施設から 518 例の小児 IBD の新規症例が前向き研究のために登録されており、日本の小児 IBD の欧米との違いについて(クローン病においては、診断時より、肛門病変と上部消化管病変の合併率が高い)、論文投稿中である。
- 2) VEO-IBD の全国調査を行い、過去 5 年間で 190 例を超える VEO-IBD 患者が診断されていることが明らかになった。現在、レジストリシステムを用いて、前方視・後方視的に VEO-IBD 患者の調査を開始して 62 例が登録され、解析を進めている。全国調査の結果は論文作成中である。

- 3) 外科手術を必要とした小児 IBD 患者 65 例の解析、②診断後 3 年までの治療の推移の実態、③栄養療法の実態について、2019 年 2 月の小児 IBD 研究会で報告した。これらの情報は、2019 年度内に、入力情報の整理と強化を行い、論文化される。

## ②VEO-IBD の診断基準の作成

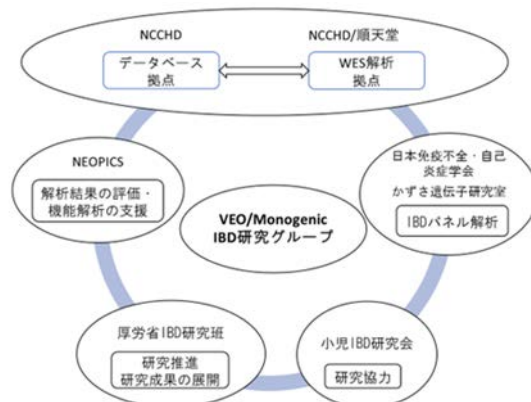
- 1) 本研究テーマは、厚労科学研究の IBD 研究班のプロジェクトとして進められ、ここでの成果が、本邦の IBD 診療に反映されることとなった。
- 2) VEO-IBD には多彩な単一遺伝子異常症に伴う IBD (Monogenic IBD) が含まれることから、現時点での診断基準作成は現実的ではないことが検討され、Monogenic IBD 診断のための本法の実情に沿ったアルゴリズムの共有が重要ということで、アルゴリズムを作成した (新井 勝大 : IBD Research 2018;12:104-111)。本アルゴリズムは厚労科学研究の班研究でも報告書に掲載した。



図：VEO-IBD 診断アルゴリズム

- 3) IRUD-P・バイオバンクと提携し、これまでに 38 例の小児 IBD を中心とした消化器疾患患者で全エクソーム解析を行い、6 例で遺伝子診断の確定に至っている。その内訳は、XIAP 欠損症 3 例、A20 ハプロ不全症 1 例、IL-10RA 欠損症 1 例、MIRAGE 症候群 1 例である。XIAP 欠損症の 3 例と、IL-10RA 欠損症の 1 例は、造血幹細胞移植が実施され、腸炎の治癒に至っている。これらの成果は、現在論文作成中・投稿中である。

- 4) いくつかの、新規候補遺伝子・バリエントが同定されており、2019 年度以降の研究継続のための研究費を獲得し、検討を進めている
- 5) 保険診療での原発免疫不全症の遺伝子パネル検査に IBD パネルが組み込まれ、本邦での報告が多いものを中心に 20 疾患の診断が可能となった。保険診療での IBD パネルで診断のつかない症例について、日本免疫不全自己炎症学会との提携のもとでの研究ベースでの 400 遺伝子までのパネル解析が可能となり、そこで診断がつかない患者については、順天堂大学・理化学研究所との共同研究での全ゲノム解析ならびに RMA シークエンスによる新規候補遺伝子や新規候補バリエントの抽出を進めるための体制が構築され、2019 年度より別研究として進むこととなった。また、Monogenic IBD のグローバルネットワークであるトロント小児病院を中心とした NEOPICS 研究グループとの連携が進み、NEOPICS の WES データベースとも照らし合わせながら、新規候補遺伝子・バリエントの検討や機能解析の共同研究を進めることになった。



図：VEO/Monogenic IBD 診断体制

- 6) VEO-IBD の内視鏡所見並びに病理所見についても当センターで診療中の 40 例で検討され、ほとんどの症例がクローン病や潰瘍性大腸炎とは違う所見を示すことが明らかとなった。特に、Basal plasmacytosis の欠如と Apoptosis は、Monogenic IBD を示唆する可能性が検討されている。この結果は 2019 年度に学会発表、論文作成される。

### ③VEO-IBD に対して実施されている現行治療の検討と栄養管理の標準化のための研究

- 1) IBD 患者の栄養管理、特に成分栄養剤の長期使用に伴う栄養素欠乏症の実態についての多施設共同研究が進み、成分栄養剤群 21 名、コントロール群 24 名を登録し、平成 30 年 12 月に患者登録を終了し、以下の結果を得た。
- 2) 成分栄養剤群で必須脂肪酸欠乏は 85% に認められた。必須脂肪酸欠乏の指標である TT 比は、コントロール群よりも成分栄養剤群で有意に高値を示すことが分かり（コントロール群 0.01 以下 vs 成分栄養剤群 0.08）、成分栄養剤の使用中に必須脂肪酸欠乏が頻出することが分かった。また、脂肪酸の中でもリノール酸が有意に低値であることも明らかになった。
- 3) 成分栄養剤群では十分量の脂溶性ビタミンを摂取しているにも関わらず、脂溶性ビタミン欠乏が 10~20% に認められた。これは、同時に摂取する脂質が少なく吸収障害が生じているために生じていると考察した。ただし、コントロール群の解析結果から、コントロール群にも脂溶性ビタミン欠乏例が存在し、2 群間に統計学的な有意差が得られなかったことから、成分栄養剤群で脂溶性ビタミンが欠乏する傾向にあるということは結論付けられなかった。
- 4) カルニチン・ビオチンについては、コントロール群、成分栄養剤群ともに欠乏例は認められなかった。
- 5) クロム・マンガン・モリブデン・鉄・亜鉛・銅について、成分栄養剤群とコントロール群の 2 群間の比較で、有意に欠乏傾向を示す栄養素は認められなかった。一方で、セレンは、成分栄養剤群で欠乏傾向にあることが統計学的な有意差をもって示された（コントロール群 9.3 vs 成分栄養剤群 2.2）。また、その傾向はセレン製剤が補充されていない場合により強くなることが示され、補充療法の意義が裏付けられた（補充あり群 3.6 vs 補充なし群 1.6）。
- 6) VEO-IBD に対するインフリキシマブの使用経験についての論文を現在登校中

である。

- 7) 小児 IBD 研究会主導で、小児クローン病治療指針ならびに小児潰瘍性大腸炎治療指針が改定され、現在投稿準備中である。その内容は厚労科学研究の成果としても報告された。

### ④P-IBD 患者の腸内細菌の検討による病態解明のための研究

#### 【潰瘍性大腸炎に対する糞便移植研究】

- 1) 2015 年から潰瘍性大腸炎の男児 4 例と女児 4 例に対して糞便移植を実施した。
- 2) 本研究の 8 例中 6 例は生物学的製剤やタクロリムスによる内科的治療に抵抗性の難治例であり、患者背景が異なる状況ではあったが、先行研究に比べて明らかな優位性は示せなかった。しかし、糞便移植により、8 例中 6 例ではドナー菌叢への近似が見られたことは、糞便移植が腸内細菌叢を正常化させるポテンシャルを有することを示していると考えられ、実際に臨床症状の改善が見られた症例もあった。
- 3) 結論としては、糞便移植単独での治療効果は限定的であるが、軽症例で、腸内細菌叢の乱れが認められる症例においては糞便移植が奏功する可能性があると考えられた。

#### 【糞便移植の前処理研究】

- 1) 健康成人 16 人の便を、排便後 6 時間以内に、大気を窒素で置換して酸素濃度を 1%未満としたグローブボックス内で、前検体(S0)を採取後、2つに分割し、そのままグローブボックス内でブレンディングした群（嫌氣的処理群：An 群）と、ボックスから取り出して大気下でブレンディングした群（好氣処理群：Ae 群）の 2 群に分け、1 時間後にそれぞれ検体（SAn, SAe）を採取した。続いて、腸内細菌の解析は、RT-PCR 法を用いることにより、各検体中の生菌数を定量的に算出し、ブレンディング前後の細菌数の比（BCR）を、嫌氣的処理群（SAn/S0）と好氣的処理群（SAe/S0）で、菌群ごとに比較した。
- 2) 偏性嫌気性菌である *Clostridium coccoides* グループ（*Clostridium cluster XIVa*）では、ブレンディング前

後の細菌数比(BCR)は、嫌氣的処理群[中央値(四分位範囲;IQR) 0.51(0.29-0.65)]が、好氣的処理群[0.29(0.15-0.37)]よりも有意に高かった( $p < 0.01$ )。

- 3) 同じく偏性嫌気性菌である *Bacteroides fragilis* 群においても、嫌氣的処理群[0.46(0.38-1.18)]よりも嫌氣的処理群[0.75(0.50-1.91)]の方が有意に高かった( $p < 0.01$ )。
- 4) 通性嫌気性細菌である *Enterobacteriaceae* と *Enterococcus* の2つにおいては、BCRは嫌氣的処理群で1.98(1.06-2.97)、好氣的処理群で1.21(0.69-3.02)で、2群間に有意差はなかった( $p=0.23$ )。
- 5) 結論として、偏性嫌気性菌を保持する上での我々の嫌氣的処理法の優位性が示された。これらの菌群は、腸管の恒常性を維持し、抗炎症効果を発揮すると考えられており、FMTの効果改善に貢献する可能性がある。

(一行分あける)

#### 4. 研究内容の倫理面への配慮

研究対象者(およびその保護者)は、研

究担当者より研究説明を受け、その自由意思で参加を決めることができる。研究対象者には、研究に関連する情報収集や便検体、血液検定の提供を依頼することとなるが、その情報収集にかかわる時間的拘束が生じること、採血や便検体の提供など患者負担が生じること、また得られた結果は、個人を特定できない状態にして学会発表や学術雑誌等で公に発表することがあることを分かりやすく説明し、その上で研究参加の同意取得を得ることとする。

また、研究に参加されない場合にも、患者およびその保護者は不利益を受けないことが確約され、一旦本研究への参加に同意した後でも、いつでも本研究への参加は撤回可能とする。ただし、解析および公表後の、撤回は、認めることができない。

得られた研究データは、連結匿名化を行い、個人情報特定されないよう十分に配慮した上で厳重に管理し、本研究に参加する上での不利益は最小限になるよう考慮する。

(一行分あける)