

厚生労働科学研究費補助金(長寿科学総合研究事業)
分担研究報告書高齢者の消化吸収、消化管自然免疫能と
ヘリコバクタ・ピロリ感染に関する研究

分担研究者 木下芳一(島根医科大学医学部内科学講座(内科学第二)教授)

ヘリコバクタ・ピロリ等の消化管内のグラム陰性菌の認識に関わっている TLR4、MD2、CD14 分子の消化管粘膜内での発現の差異をマウスおよびヒトで検討した。TLR4 はマウスにおいてもヒトにおいても胃、大腸の深部の粘膜上皮細胞に発現しており消化管内のヘリコバクタ・ピロリ等の認識に深く関わっていることが示唆された。

A. 研究目的

ヘリコバクタ・ピロリは小児期に感染が成立し、その後慢性の感染、炎症が持続する疾患である。本慢性感染症では感染者の一部は慢性的に持続する胃や十二指腸粘膜の炎症によって消化性潰瘍を発生するのみならず、正常な粘膜上皮細胞の機能が障害され胃酸分泌の低下や消化吸収障害が発生する。ところが一部の例では慢性的なヘリコバクタ・ピロリの感染があるにもかかわらず、消化管の機能障害、消化吸収障害は発生せず、この差が何に由来するかについては不明であった。

ヘリコバクタ・ピロリが主に生息する胃粘膜には正常では特異的な免疫防御機構は備わっていない。ところが最近、特異的な免疫防御機構に対して Toll like receptor 等の自然免疫機構の存在が明らかとなり、消化管での感染防御にこれらの自然免疫機構が重要な役割を有していることが明らかとされつつある。Toll like receptor のうち Toll like receptor 4 (TLR4) はグラム陰性桿菌の菌体成分である lipopolysaccharide (LPS) を認識して免疫、炎症反応を発動する分子でありヘリコバクタ・ピロリ感染の感染防御、慢性炎症の程度の決定には重要な役割を有していることが疑われる。この時 TLR4 は MD2、CD14 という分子と共同して LDS を認識しているが、消化管粘膜における TLR4、MD2、CD14 の発現分布については検討が十分なされていない。そこで今回の検討では消化管粘膜における TLR4、MD2、CD14 の分布、発現細胞について検討をし、ヘリコバクタ・ピロリ感染に伴う消化吸収障害に消化管の自然免疫系がどのように関わっているかを明らかとすることを目的に検討を行った。

B. 研究方法

研究対象は BALB/C マウスを用い食道、胃、十

二指腸、上部小腸、下部小腸、上部大腸、下部大腸の粘膜での TLR4、MD2、CD14 の発現をノーザンブロットにて RNA レベルで、ウエスタンブロットと免疫染色を用いてタンパクレベルで検討した。さらにデキストラン・ナトリウム硫酸(DSS)を用いて消化管粘膜上皮の透過性を亢進させた場合に粘膜各部位での炎症の程度と、TLR4、MD2、CD14 の発現変化について検討した。また抗生物質を用いて消化管内の細菌量を減少させた後に DSS を投与し同様の検討を行った。動物実験については動物愛護上十分な配慮を行った。

最後に健康診断の目的で上部および下部消化管の内視鏡検査を受信した健常者を対象に、倫理面へ十分な配慮をして、本研究の目的と方法を十分に説明してインフォームドコンセントを得た後に、診断目的で採取された粘膜の生検組織の組織診断後の残りの組織を用いて TLR4 の消化管各部での発現状態を免疫染色を用いて検討した。

C. 研究結果

BALB/C マウスにおいては、食道では TLR4、MD2、CD14 ともに明らかな発現は認められなかった。一方、胃、十二指腸、小腸、大腸においては MD2、CD14 はいずれの粘膜でもその発現を認め消化管の部位によって発現強度に差異は認められなかった。TLR4 は胃において弱い発現を認めたが、小腸においてはその発現量は少なく、大腸では強い発現を認めた。大腸では上部大腸と比べて下部大腸で強く発現していることが明らかとなった。免疫染色を用いて粘膜内での TLR4 の発現細胞を同定すると、そのほとんどは上皮細胞であり、villi の 頂部の上皮細胞では TLR4 の発現はないが、pit の深部の細胞で発現が強いことも明らかとなった。

DSS を用いて消化管粘膜上皮の透過性を亢進させた場合、TLR4 の発現が著しく増加するとともに粘膜での炎症性サイトカインの産生が著増することが明らかとなった。一方、抗生物質を用いて腸管内の細菌量を減らしておく、DSS を投与しても TLR4 の発現も増加せず、炎症性サイトカインの増加もおこらなかった。

最後にヒト消化管粘膜での TLR4 の分布について検討するとマウスでの成績と同様に胃粘膜で弱い発現、大腸の粘膜では強発現がみられることが明らかとなった。

D. 考察

マウスにおいてもヒトにおいてもグラム陰性桿菌の菌体成分を認識する TLR4 が胃および大腸粘膜の上皮細胞で発現しており、この TLR4 が消化管内の細菌を生体が認識するうえで重要な役割を有していることが明らかとなった。TLR4 にはそのゲノム内に SNPs が存在することが知られており SNPs のポリモルフィズムの差がヘリコバクター・ピロリ感染者の細菌に対する自然免疫反応の差となって現れ、消化吸収障害をおこす例とおこさない例の差となっている可能性が考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 木下芳一. むねやけ、げっぷ、もたれ感. In: 今日の治療指針 2002 (多賀須幸男, 尾形悦郎, 山口徹, 北原光夫編). 医学書院, 東京, 2002, pp324-325.

2) 門脇泰憲, 木下芳一. 胃分泌機序. In: Annual Review 消化器 (戸田剛太郎, 税所宏光, 寺野彰, 幕内雅敏編). 中外医学社, 東京, 2002, pp80-83.

3) 木下芳一, 石原俊治, 足立経一. EBM にもとづいたプロトンポンプ阻害剤の臨床的位置づけ. 8: Zollinger-Ellison 症候群におけるプロトンポンプ阻害薬の適応とその根拠. In: プロトンポンプ阻害薬のすべて (浅香正博, 千葉勉編). 先端医学社, 東京, 2002, pp134-140. 4) 川島耕作, 木下芳一. (虚)診断 (劣)特殊検査. In: 臨床医のための炎症性腸疾患のすべて, 潰瘍性大腸炎, クロウン病の最新治療戦術 (高添正和編). メディカルビュー社, 東京, 2002, pp63-67.

5) 足立経一, 木下芳一. 5. Q&A で読む上部消化管疾患の最近の話題 2) 逆流性食道炎と食道癌に関わる問題. In: 消化器診療ポケットブック 上部消化管 (管野健太郎編). ヴァンメディカル, 東京, 2002, pp180-184.

6) 足立経一, 有馬範行, 高島俊晴, 宮岡洋一, 木下芳一. Helicobacter pylori 感染と動脈硬化. In:

消化器疾患と動脈硬化 = 臨床的意義について (中澤三郎編). 杏林書院, 東京, 2002, pp111-117.

7) 木下芳一. 食道潰瘍. In: 今日の診断指針 第 5 版 (亀山正邦, 高久史磨編). 医学書院, 東京, 2002, pp690-692.

8) 木下芳一, 足立経一. Helicobacter pylori 感染の動脈硬化に及ぼす影響. In: 消化器病セミナー 89. 生活習慣病としての消化器疾患 - 最近の情勢とその予防 (荒川泰行, 中澤三郎編). へるす出版, 東京, 2002, pp83-89.

9) 木下芳一. 悪心, 嘔吐. In: 今日の治療指針 2003. 私はこう治療している (山口徹, 北原光夫編). 医学書院, 東京, 2003, pp344.

10) Hashimoto T, Adachi K, Ishimura N, Hirakawa K, Katsube T, Kurotani A, Hattori S, Kinoshita Y. Safety and efficacy of glucagon as a premedication for upper gastrointestinal endoscopy - a comparative study with butyl scopolamine bromide. Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 16:111-118, 2002

11) Kazumori H, Ishihara S, Fukuda R, Kinoshita Y. Localization of Reg receptor in rat fundic mucosa. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 139:101-108, 2002

12) Adachi K, Ono M, Kawamura A, Yuki M, Fujishiro H, Kinoshita Y. Nizatidine and cisapride enhance salivary secretion in humans. Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 16:297-301, 2002

13) Takashima T, Adachi K, Kawamura A, Yuki M, Fujishiro H, Rumi MAK, Ishihara S, Watanabe M, Kinoshita Y. Cardiovascular risk factors in subjects with Helicobacter pylori infection. Helicobacter. 7:86-90, 2002

14) Kawashima K, Ishihara S, Rumi MAK, Moriyama N, Kazumori H, Suetsugu H, Sato H, Fukuda R, Adachi K, Shibata M, Onodera S, Chiba T, Kinoshita Y. Localization of calcitonin gene-related peptide receptors in rat gastric mucosa. Peptides. 23:955-966, 2002

15) Kijima I, Nakagawa M, Shintani M, Nakano A, Kinoshita Y, Harada T, Watanabe M. The

- distribution of endocrine cells in surgically resected stomach . *Journal of Gastroenterology*. 37:396-397, 2002
- 16) Kazumori H, Ishihara S, Fukuda R, Kinoshita Y. Time course changes of ECL cell markers in acetic acid-induced gastric ulcers in rats . *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 16:10-19, 2002
- 17) Sato H, Abe K, Oshima N, Kawashima K, Hamamoto N, Moritani M, Rumi MAK, Ishihara S, Adachi K, Kawauchi H, Kinoshita Y. Primary hyperparathyroidism with duodenal ulcer and H. pylori infection . *Internal Medicine*, 41:377-380, 2002
- 18) Yuki M, Adachi K, Miyaoka Y, Yoshino N, Fujishiro H, Uchida Y, Ono M, Kinoshita Y. Is computerized bowel sound auscultation system useful for the detection of increased bowel motility? . *American Journal of Gastroenterology*. 97:1846-1848, 2002
- 19) Rumi MAK, Sato H, Ishihara S, Ortega C, Kadowaki Y, Kinoshita Y. Growth inhibition of esophageal squamous carcinoma cells by peroxisome proliferator-activated receptor γ ligands. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 140:17-26, 2002
- 20) Endo H, Ashizawa N, Niigaki M, Hamamoto N, Niigaki M, Kaji T, Katsube T, Watanabe M, Naora H, Otani H, Kinoshita Y. Fine reconstruction of the pancreatic ductular system at the onset of pancreatitis. *Histology and Histopathology*. 17:107-112, 2002
- 21) Adachi K, Kawamura A, Ono M, Masuzaki K, Takashima T, Yuki M, Fujishiro H, Ishihara S, Kinoshita Y. Comparative evaluation of urine-based and other minimally invasive methods for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Journal of Gastroenterology*. 37:703-708. 2002
- 22) Sato H, Fujishiro H, Rumi MAK, Kinoshita Y, Niigaki M, Kohge N, Imaoka T. Successful endoscopic injection sclerotherapy for duodenal varices. *Journal of Gastroenterology*. 37:143-144, 2002
- 23) Kawamura A, Adachi K, Takashima T, Fujishiro H, Yuki M, Ishihara S, Kinoshita Y. Helicobacter pylori-independent effect of hyperglycemia on gastric mucosal atrophy. *American Journal of Gastroenterology*. 97 : 2479-2480, 2002
- 24) Okuyama T, Yoshida M, Watanabe M, Kinoshita Y, Harada Y. Angiolipoma of the colon diagnosed after endoscopic resection. *Gastrointestinal Endoscopy* . 55 : 748-750 . 2002
- 25) Okuyama T, Ishihara S, Sato H, Rumi MAK, Miyaoka Y, Suetsugu H, Kazumori H, Ortega Cava CF, Kadowaki Y, Fukuda R, Kinoshita Y. Activation of prostaglandin E2-receptor EP2 and EP4 pathways induces growth inhibition in human gastric carcinoma cell lines. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 140:92-102, 2002
- 26) Yoshino N, Adachi K, Ishihara S, Miyaoka Y, Yuki T, Kinoshita Y. H.pylori infection does not affect the serum level of homocysteine . *American Journal of Gastroenterology*. 97:2927-2928, 2002
- 27) Tomoko Katsube, Kyoichi Adachi, Kazutoshi Amano, Mika Yuki, Masahiro Ono, Yoshinori Komazawa, Akira Kawamura, Hirofumi Fujishiro, Shunji Ishihara, Yuji Amano, Yoshikazu Kinoshita. Comparison of two kinds of special test meals for barium-enema study . *Shimane Journal of Medical Science*. 20:5-8, 2002
- 28) Kadowaki Y, Ishihara S, Miyaoka Y, Rumi MAK, Sato H, Kazumori H, Adachi K, Takasawa S, Okamoto H, Chiba T, Kinoshita Y. REG protein is overexpressed in gastric cancer cells, where it activates a signal transduction pathway which converges on ERK1/2, and stimulates growth . *FEBS LETTERS*. 530:59-64, 2002
- 29) Cesar F. Ortrga-Cava, Shunji Ishihara, Kousaku Kawashima, Mohammad A.k. Rumi, Hideaki Kazumori, Kyoichi Adachi, Yoshikazu Kinoshita . Hepatocyte growth factor expression in the regenerating colon after dextran sodium colitis in rats . *Digestive*

- Diseases and Science. 47:2275-2285, 2002
- 30) Adachi K, Katsube T, Kawamura A, Kinoshita Y. Nocturnal gastric acid breakthrough and Helicobacter pylori. Gastrointestinal Function Regulation and Disturbances. 19:47-56, 2002
- 31) Matsushima Y, Kinoshita Y, Fukui K, Maekawa T, Yazumi S, Okada A, Nakase H, Kawanami C, Iwano M, Hashimoto K, Takeda Z, Okazaki K, Chiba T. Immunological and molecular analysis of B lymphocytes in low-grade MALT lymphoma of the stomach. Are there any useful markers for predicting outcome after Helicobacter pylori eradication?. Journal of Gastroenterology. 37:428-433, 2002
- 32) Hamamoto N, Nakanishi Y, Morimoto N, Inoue H, Tatsukawa M, Nakata S, Kawai Y, Kurihara N, Ookuchi S, Shizuku T, Yamamoto S, Hamamoto S, Kazumori H, Kinoshita Y. A new water instillation method for painless total colonoscopy without sedation. Gastrointestinal Endoscopy. 56:825-828, 2002
- 33) Hamamoto N, Ashizawa N, Niigaki M, Kaji T, Katsube T, Endoh H, Watanabe M, Sumi S, Kinoshita Y. Morphological changes in the rat exocrine pancreas after pancreatic duct ligation. Histology and Histopathology. 17:1033-1041, 2002
- 34) Kinoshita Y, Hirayama M, Hamada S, Yoshida T, Ishii N, Nakata R, Chishima J, Handa Y, Saiyo K, Takayama T, Tatsumi S, Ishii H, Kohli Y, Fujita S, Tanaka H, Ookuchi S, Suzuki S, Koyama T, Yoshida T, Kabemura T, Matsumoto K. Efficacy of rabeprazole in patients with reflux esophagitis: a single-center, open-label, practice-based, post marketing surveillance investigation. Current Therapeutic Res. 63:810-820, 2002
- 35) Kaji T, Ishihara S, Ashizawa N, Hamamoto N, Endo H, Fukuda R, Adachi K, Watanabe M, Nakao M, Kinoshita Y. Adherence of Helicobacter pylori to gastric epithelial cells and mucosal inflammation. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 139:244-250, 2002
- 36) Hiroshi Sato, Kousaku Kawashima, Mika Yuki, Hideaki Kazumori, Rumi MAK, Ortega-Cava CF, Shunji Ishihara, Yoshikazu Kinoshita. Lafutidine, a novel histamine H2-receptor antagonist, increases serum calcitonin gene-related peptide in rats after water immersion-restraint stress. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 141:102-105, 2003
- 37) Kyoichi Adachi, Hirofumi Fujishiro, Takafumi Mihara, Yoshinori Komazawa, and Yoshikazu Kinoshita. Influence of lansoprazole, famotidine, roxatidine and rebamipide administration on the urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Journal of Gastroenterology and Hepatology: 18:168-171, 2003
- 38) Fujishiro H, Adachi K, Imaoka T, Kohge N, Kawamura A, Komazawa Y, Ono M, Yuki M, Sato H, Amano Y, Ishihara S, Kinoshita Y. Analysis of urgent colonoscopy for acute lower intestinal bleeding. Digestive Endoscopy. 15:117-120, 2003
- 39) Kinoshita Y, Adachi K, Fujishiro H. Review article: Therapeutic approaches to reflux disease, focusing on acid secretion. Journal of Gastroenterology, in press
- 40) Hamamoto S, Fukuda R, Ishimura N, Rumi MAK, Kazumori H, Uchida Y, Kadowaki Y, Ishihara S, Kinoshita Y. 9-cis retinoic acid enhances the anti-viral effect of interferon on hepatitis C virus replication through increased expression of type-I interferon receptor. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, in press
- 41) Yoshinori Komazawa, Kyoichi Adachi, Takafumi Mihara, Masahiro Ono, Akira Kawamura, Hirofumi Fujishiro and Yoshikazu Kinoshita. Tolerance to famotidine and ranitidine treatment after 14 days of administration in healthy subject without Helicobacter Pylori infection. Journal of Gastroenterology and Hepatology, in press

- 42) Adachi K, Hashimoto T, Hamamoto N, Hirakawa K, Niigaki M, Miyaoka T, Taniura N, Ono M, Kaji T, Suetsugu H, Yagi J, Komazawa Y, Mihara T, Katsube T, Fujishiro H, Shizuku T, Hattori S, Yamamoto S, Kinoshita Y. Symptom relief in patients with reflux esophagitis: comparative study of omeprazole, lansoprazole and rabeprazole. Journal of Gastroenterology and Hepatology. in press
- 43) Ortega CF, Ishihara S, Rumi MAK, Kawashima K, Ishimura N, Kazumori H, Udagawa J, Kadowaki Y, Kinoshita Y. Strategic compartmentalization of Tool-like receptor 4 in the mouse gut. Journal of Immunology, in press
- 44) Adachi K, Arima N, Takashima T, Miyaoka Y, Yuki M, Ono M, Komazawa Y, Kawamura A, Fujishiro H, Ishihara S, Kinoshita Y. Pulse wave velocity and cardiovascular risk factors in subjects with Helicobacter pylori infection. Journal of Gastroenterology and Hepatology, in press

厚生労働科学研究費補助金(長寿科学総合研究事業)
分担研究報告書

高齢者における腸管粘膜防御機構の解析
—腸管上皮細胞 IgGFc レセプターと腸内細菌叢の関与

分担研究者 日比紀文(慶応義塾大学医学部内科 教授)

研究要旨

高齢者における腸管粘膜の防御機構に重要な役割を担っていると予想される IgGFc 結合蛋白と腸内細菌叢の関与につき便培養法ならびに定量的 PCR 法により解析した。

A. 研究目的

生体内の粘膜表面から侵入しかけた抗原を効果的に排除する機能を有すると考えられる IgGFc 結合蛋白(FcBP, Fc binding protein)と腸内細菌叢の関与を、免疫能の低下傾向にある高齢の炎症性腸疾患患者において解析する。

B. 研究方法

1) 材料

文書により同意の得られた症例より、小腸、大腸の組織を経内視鏡的あるいは手術標本より得るとともに、便を採取し以下の実験に供した。

2) 免疫組織学的検討

上記組織より新鮮凍結切片を作製し、我々の研究室において樹立した FcBP に対するモノクローナル抗体(K9)ならびにコントロール抗体として標識された抗 IgG 抗体を用いて、免疫組織染色を行っ

た。

3) 便培養

嫌気条件下(7% H_2 , 5% CO_2 , 88% N_2)、37°Cに所定時間培養後、各種培地に出現したコロニー数を計測し、グラム染色して菌形を観察し、菌の同定を行った。

4) 定量的 PCR 法による腸内フローラの解析

炎症性腸疾患患者粘膜からは *Bacteroides* が効率よく分離される事実を元に、*Bacteroides* 属の分布・構成を *Bacteroides* 属菌種特異的プライマーを用いた定量的 PCR 法により菌種レベルで解析した。

C. 研究結果

1) 免疫組織学的検討

モノクローナル抗体を用いた組織学的解析の結果、FcBP は大腸、小腸の粘液産生細胞に発現しており、若年者と高

年齢間でその発現量には明らかな差を認めなかった。また、炎症性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎活動期患者の炎症粘膜においては、その発現は低下していた。

2) 便嫌気性培養法による腸内フローラの解析

健常人に比し、潰瘍性大腸炎患者の便では、総偏性嫌気性菌および偏性嫌気性菌の *Bacteroidaceae*、*Bifidobacterium*、*Veillonella*、通性嫌気性菌の *Enterobacteriaceae* が減少していた。また、総通性嫌気性菌および通性嫌気性菌の *Enterococcus* が多い傾向が認められた。

また、クローン病においては、上記に加え、*Candida* の菌数ならびに検出例数が有意に高値であった。

特に潰瘍性大腸炎患者における FcBP の発現量の低下と上記腸内細菌叢の変動には明らかな相関関係が認められた。

さらに、sulphasalazine 投与前後の腸内細菌叢の変化の解析では、投与前に比し、総偏性嫌気性菌、*Enterobacteriaceae*、ならびに *Bacteroidaceae* の菌数が減少した。

3) *Bacteroides* 属菌種特異的プライマーを用いた定量的 PCR 法による腸内フローラの解析

Bacteroides 7 菌種、および *B. fragilis* group と *Prevotella* の2菌群の定量的

PCR 検出が可能となり、潰瘍性大腸炎20名、クローン病患者9名の *Bacteroides* 属菌種の定量的 PCR 解析を行った。

解析を行った29例中、潰瘍性大腸炎4名ならびにクローン病1名からは *B. fragilis* group が検出されなかった。検出頻度が高かったのは、*B. vulgatus*、*B. uniformis*、*B. thetaiotaomicron*、および *B. fragilis* であった。

D. 考察

腸粘液は腸の杯細胞から分泌され腸粘膜を覆う粘液層を形成することで種々の有害な外来の刺激から腸上皮細胞を保護しているとされ、生体防御機構における最前線のバリアーとして重要な役割を演じているとされているが、この粘液が腸管免疫 (IgG) に関与しているという報告はなく、免疫能の低下しつつある高齢者においてはこのバリアー機能が十分に働いていない可能性が考えられる。我々はヒト腸管の杯細胞粘液中に IgG の Fc 部分に対する Binding Protein (FcBP) が存在することを発見した。この FcBP は杯細胞の粗面小胞体で生産され粘液とともに腸管腔中に放出され腸粘膜の表面を覆うことを明らかにした。これらのことから FcBP は、たとえば急性または慢性の腸炎などにより、腸粘膜から IgG が漏れでる様な状態での腸管免疫に関与している可能性が示唆されるがいまだ明らかではない。

今回の検討においては FcBP の局在

を免疫学的に検討した。まず、健常高齢者における FcBP は大腸、小腸において若年者と同等に発現するも、これまでの機能的解析によりこの結合能が加齢に伴い低下傾向を示した点は非常に興味深く、加齢による免疫能の低下が FcBP の機能低下に伴って惹起されている可能性も示唆される。

腸内フローラの解析では、まず培養法による検討で *Bacteroidaceae*、*Bifidobacterium*、*Veillonella*、ならびに *Enterobacteriaceae* が減少し、*Enterococcus* が多い傾向が認められた。そしてこの傾向が FcBP の発現量の低下を伴う活動期潰瘍性大腸炎患者に多く認められたことは興味深い。症例数が少なく、健常人における若年者と高齢者間には明らかな差が認められなかったが、今後は FcBP の機能低下が確認された健常高齢者における細菌叢の解析を行う予定である。

菌種特異的プライマーを用いた定量的 PCR 法による解析では、潰瘍性大腸炎患者の腸内細菌叢の検討で、大腸粘膜から *Bacteroides* が効率よく分離され、*B. vulgatus* に対する抗体価が高く細胞表面の蛋白成分に対する反応性が高くなっていることを背景として、今回は *Bacteroides* 属の分布・構成を菌種レベルで解析した。結果は *B. vulgatus*、*B. uniformis*、*B. thetaiotaomicron*、および *B. fragilis* で検出頻度が高かったものの、

現時点では健常人との比較でその分布に明らかな差は認められなかった。しかし、症例数の増加に伴い有意差が出る可能性は十分に考えられ、同時に FcBP の発現ならびに機能との関連性についても現在さらに解析を続行中である。

E. 結論

FcBP は全身のムチン産生細胞を有する諸臓器に広く発現し、その粘液中において結合能を保っており、消化管のみならず外界とのバリアー機能を持つ全身の粘膜組織において防御機能を発揮していることが考えられた。さらにその結合能が加齢に伴い徐々に低下傾向を示したことは、高齢者における免疫能の低下や易感染性の原因の一つと考えられ、腸内細菌叢の解析とともに本蛋白のさらなる機能解明は高齢者における健康維持にも極めて重要であると予想される。

F. 健康危険情報

今回の検討においては遺伝子解析は全く行っておらず、また検体採取にあたっては十分なインフォームドコンセントを得ており、倫理面での問題は特にないと考えられる。

G. 研究発表

a) 論文発表

1. Naganuma M, Iwao Y, Kashiwagi K, Funakoshi S, Ishii H and Hibi T: A case of Behcet's disease accompanied by colitis with longitudinal ulcers and granuloma. *J Gastroenterol Hepatol* 17:105-108, 2002

2. Naganuma M, and Hibi T :Do immunosuppressants really work as maintenance of therapy after the achievement of remission of severe ulcerative colitis? *J Gastroenterol* 37: 315-317, 2002
 3. Inoue N, Tamura K, Kinouchi Y, Fukuda Y, Takahashi S, Ogura Y, Inohara N, Nunez G, Kishi Y, Koike Y, Shimosegawa T, Shimoyama T and Hibi T: Lack of common NOD2 variants in Japanese patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 123:86-91, 2002
 4. Naganuma M, Watanabe M, Kanai T, Iwao Y, Mukai M, Ishii H and Hibi T: Characterization of structures with T-Lymphocyte aggregates in ileal villi of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 97:1741-1747, 2002
 5. Hibi T, Ogata H, and Sakuraba A : Animal models of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 37 : 409-417, 2002
 6. Kobayashi K, Ogata H, Iijima S, Morikawa M, Harada N, Yoshida T, Brown W R, Inoue N, Hamada Y, Ishii H, Watanabe M and Hibi T : Distribution and partial characterisation of IgG Fc binding protein in various mucin producing cells and body fluids. *Gut* 51:169-176, 2002
 7. Watanabe M, Hasegawa H, Yamamoto S, Hibi T and Kitajima M:Successful Application of Laparoscopic surgery to the treatment of Crohn's disease with fistulas. *Dis Colon Rectum*45:1057-1061, 2002
 8. Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J and Watanabe M:Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nature Med* 8:1011-1017, 2002
 9. Hibi T, Fujiyama Y: Biological therapies for inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 37:43, 2002
 10. Okazawa A, Kanai T, Watanabe M, Yamazaki M, Inoue N, Ikeda M, Kurimoto M, Ishii H, Hibi T : Th1-mediated intestinal inflammation in Crohn's disease may be induced by activation of lamina propria lymphocytes through synergistic stimulation of interleukin-12 and interleukin-18 without T cell receptor engagement. *Am J Gastroenterol* 97:3108-3117, 2002
- b) 学会発表
1. Hibi T: Genetic alterations in ulcerative colitis-associated colorectal cancer. 26th International Congress of Internal Medicine 2002.5.29
 2. Funakoshi S, Azuma T, Nakano M, et

- al: Active-Rac Controls Colon-Cancer Cell Motility. The 3rd International Symposium on Cancer Research and Therapy, Tokyo, 2002.11.22-23
3. Watanabe M, Yamazaki M, Ohshima S, et al: Mucosal IL-7/IL-7 Receptor Dependent Signals in The Development of Chronic Intestinal Inflammation; Therapeutic Approaches by Specific Targeting of Highly IL-7 Receptor Expressing Mucosal Lymphocytes. 11th International Congress of Mucosal Immunology, Orlando, June16-20.2002
 4. Inoue N, Nakano M, Hisamatsu T, et al: Aminosalicylates Inhibit Cyclooxygenase-2 Through Suppression of NF-kB Activity and Have A Potency to Suppress The Carcinogenesis in Ulcerative Colitis. 11th International Congress of Mucosal Immunology, Orlando, June16-20, 2002
 5. Kanai T, Totsuka T, Uraushihara K, et al: Ameliorating Effect of Anti-ICOSA MAb in A Murine Model of Chronic Colitis. 11th International Congress of Mucosal Immunology, Orlando, June16-20, 2002
 6. Sato T, Inoue N, Sakuraba A, et al: The Up-Regulation of Osteopontin and Its Pathogenetic Role in Crohn's Disease 11th International Congress of Mucosal Immunology, Orlando, June16-20, 2002
 7. Tamura N, Sato T, Sakuraba A, et al: The Effects of Atorvastatin For Epithelial Cells and Ulcerative Colitis. 11th International Congress of Mucosal Immunology, Orlando, June16-20, 2002
 8. Sakuraba A, Sato T, Inoue N, et al: Phenotypic and Functional Analysis of Dendritic Cells Isolated From The Mesenteric Lymph Nodes of Inflammatory Bowel Disease.11th International Congress of Mucosal Immunology, Orlando, June16-20, 2002
 9. Ogata H, Kishi Y, Watanabe M, et al: The Role of Epithelial Cells in Inflammatory Process of Ulcerative Colitis: Ubiquitin-Proteasome System and IκB Degeneration. DDW, San Francisco, May 19-22. 2002
 10. Matsuoka K, Inoue N, Sato T, et al: T-bet Is Indispensable for Intestinal Inflammation of Crohn's Disease. DDW, San Francisco, May 19-22.2002
 11. Sato T, Inoue N, Sato T, et al: Up-Regulation of Osteopontin and Its Pathogenetic Role in of Crohn's Disease. DDW, San Francisco, May 19-22.2002
 12. Inoue N, Nakano M, Kishi Y, et al: The Expression of Cyclooxygenase-2 was Upregulated in Epithelium of Ulcerative Colitis and Inhibited by Aminosalicylates through Suppression of NF-kB Activity. DDW, San Francisco, May 19-22. 2002
 13. Sakuraba A, Sato T, Tamura N, et al:

Effect of Atorvastaion on Colonic Epithelial Cells and Its Application to Therapy for Ulcerative Colitis. DDW, San Francisco, May 19-22.2002

14. Naganuma M, Iwao Y, Inoue N, et al: Treatment Options of Intravenous Cyclosporin A and Granulocytapheresis for Steroid-Resistant or Dependent Ulcerative Colitis. DDW, San Francisco, May 19-22.2002

細胞内鉄濃度非依存性鉄取り込み機構の検討

分担研究者 高後 裕(旭川医科大学医学部内科学第三講座 教授)

高齢者では、慢性疾患、慢性炎症の合併を背景とした、鉄代謝異常に起因する貧血を発症する。昨年度までの検討から、慢性肝炎などの肝における慢性炎症では、消化管からの鉄吸収の増加と肝組織への鉄蓄積が生じ、結果として、骨髄では鉄欠乏による赤血球産生障害をきたしているものと推測された。通常、細胞内鉄濃度上昇は、細胞内への鉄取り込みを抑制するが、慢性炎症時には、細胞内鉄濃度が増加しているにも関わらず細胞内へ鉄を取り込む機構が生じている。本研究では、肝における細胞内鉄濃度に依存しない鉄取り込み機構を、肝細胞における主要な鉄取り込み蛋白である Transferrin receptor (TfR)の発現の面から検討した。消化管における主要な鉄取り込み蛋白である DMT-1 も TfR と類似の構造を有しており、肝細胞を中心に検討され明らかにされた知見をもとに、今後、消化管上皮における DMT-1 の発現調節機構を明らかにする必要があるものと考えられた。

A. 研究目的

高齢者には、種々の慢性疾患、慢性炎症の合併を背景として、鉄欠乏性貧血と類似した小球性貧血を高頻度に認め、鉄の消化管からの吸収障害、肝臓や網内系への鉄の蓄積による利用障害、骨髄での赤血球産生障害などが原因として考えられているが、その機序は不明である。昨年度までの検討では、慢性肝炎などの肝における慢性炎症では、体内鉄量が増加しているにも関わらず、鉄吸収に主要な役割を果たしている DMT1 の十二指腸上皮における発現は減少せず、むしろ増加していた。また、鉄貯蔵の主要な臓器である肝組織では鉄過剰蓄積を生じており、慢性疾患を背景にした状態では、消化管からの鉄吸収の増加と肝組織への鉄蓄積が生じ、結果として、骨髄では鉄欠乏による赤血球産生障害をきたしているものと推測された。また、肝細胞内への鉄蓄積機序を明らかにするために、細胞内への重要な鉄

取り込み蛋白である DMT1 と Transferrin receptor

(TfR)の肝細胞における役割を検討したところ、DMT-1 は、トランスフェリン(Tf)非結合鉄の肝細胞内への取り込みに関与することは明らかになったが、慢性肝炎組織における発現は弱く、慢性炎症時における肝細胞への鉄取り込みへの関与は少ないものと考えられた。それに対して、TfR の発現は、細胞内鉄の増加にもかかわらず発現が増加しており、慢性炎症時の肝細胞内への鉄取り込みには TfR が重要な役割を果たしていることが推測された。そこで、今年度は、細胞内鉄濃度に依存しない TfR を介した肝細胞への鉄取り込み機序を明らかにするため、慢性肝疾患の中で、TfR の発現増強と肝内の鉄過剰蓄積を認めるアルコール性肝障害に注目し、TfR 発現におけるアルコールの関与を検討した。

B. 研究方法

1. 細胞表面 TfR 発現量を反映する血清マーカーで

ある可溶性トランスフェリン受容体(sTfR)濃度を ELISA 法を用いて、アルコール性肝障害患者血清で測定した。

2. ラット初代培養肝細胞を用いてエタノール負荷によるTfRの発現を蛋白レベルおよびRNAレベルで検討した。

3. エタノール添加培養ラット肝細胞における Tf 非結合鉄および Tf 結合鉄の取り込みを ^{59}Fe を用いて検討した。

4. エタノールによる TfR 発現調節機構を明らかにするために TfR mRNA の調節蛋白である iron regulatory protein (IRP)活性を測定した。

C. 研究成果

1. アルコール肝障害患者では、血清 sTfR 濃度は健常者より有意に増加していたが、その濃度は患者のヘモグロビン値や血清トランスアミナーゼ値とは相関しなかった。また、血清 sTfR 濃度は、禁酒によって減少し、飲酒再開によって増加した。

2. エタノール負荷24時間後のラット初代培養肝細胞では、細胞膜と細胞質の両方に TfR の発現が誘導された。Western blot を用いた検討では、エタノール負荷後24時間目から、TfR 蛋白の発現増加が認められ、それは負荷後96時間まで持続した。また、 ^{35}S -methionine を用いた検討から、エタノール負荷によって、新たな TfR 蛋白の合成が誘導されることが示された。

3. 次に、エタノール負荷による TfR の発現の増加が、鉄の取り込みを増加させるかどうかを検討した。Tf 結合 ^{59}Fe の肝細胞への取り込みは、エタノール負荷により増加した。しかし、Tf 非結合 ^{59}Fe の細胞内への取り込みは変化しなかった。

4. エタノールによるラット初代培養肝細胞における TfR 発現誘導の機序につき検討した。TfR の mRNA

上には iron responsive element (IRE)が存在し、細胞内鉄濃度の低下や低酸素、酸化ストレスなどで誘導される IRP との相互作用によって、その発現が調節されている。そこで、エタノールによる TfR の発現誘導が IRE/IRP を介した調節かどうかを ^{32}P 標識した IRE-RNA 断片を用いた band-shift assay により検討した。その結果、IRP 活性は、負荷後24時間で増加した。また、TfR の mRNA 量は、エタノール負荷の影響を受けなかった。

5. エタノール代謝阻害剤を用いた検討では、エタノール負荷による TfR 発現増強効果は、alcohol dehydrogenase inhibitor では阻害されるが、acetaldehyde dehydrogenase inhibitor では阻害されないことから、この発現増強作用には、acetaldehyde が主に関与しているものと考えられた。

D. 考察

本研究から、アルコール性肝障害患者に見られる肝内鉄蓄積には、肝細胞における細胞内鉄濃度非依存性の TfR の発現増強が関与していることが示され、さらに、ラット初代培養肝細胞を用いた検討から、アルコール、特にその代謝産物である acetaldehyde が IRP 活性の増強を介して、TfR の蛋白合成を誘導し、TfR を介した鉄の取り込みが増加したと推測された。我々は、肝細胞における TfR が、炎症性サイトカイン IL-1 β , Il-6, TNF α で発現増加することを既に明らかにしており、これらのサイトカインに加えて、アルコールも肝細胞への鉄蓄積に関与する可能性が考えられる。昨年度の検討で、十二指腸上皮における DMT-1 が、体内鉄量が増加しているにも関わらず、その発現が増加することを示したが、DMT-1 mRNA にも TfR mRNA と同様に IRE 領域がある上、鉄欠乏性貧血患者では十二指腸上皮における発現が増強し、少なくとも細胞内鉄濃度減少は、DMT-1 の発現

を増強する。DMT-1 mRNA 上の IRE がその発現調節にどのように関与するかは未だ確立していないが、TfR と同様の機序が存在する可能性がある。肝細胞を中心に検討され明らかにされた知見をもとに、今後、高齢者における慢性炎症を背景とした消化管上皮における DMT-1 の発現調節機構を明らかにする必要があるものと考えられた。

E. 結論

体内における主要な鉄貯蔵臓器である肝における、細胞内鉄濃度に依存しない鉄取り込み機構をアルコールを中心に検討した。アルコール摂取は、IRP 活性の上昇を誘導し、肝における TfR 蛋白合成を増強した。このことが、肝細胞における鉄の取り込みを促進し、ひいては肝内鉄貯蔵を来すものと推測された。

F. 研究発表

1 論文発表

1. Kohgo Y, Torimoto Y, Kato J. Transferrin receptor in tissue and serum: updated clinical significance of soluble receptor. *Int J Hematol.* 2002; 76: 213-218.
2. Fujiya M, Saitoh Y, Nomura M, Maemoto A, Fujiya K, Watari J, Ashida T, Ayabe T, Obara T, Kohgo Y. Minute findings by magnifying colonoscopy are useful for the evaluation of ulcerative colitis. *Gastrointest Endosc.* 2002; 56: 535-542.
3. Orii F, Ashida T, Nomura M, Maemoto A, Fujiki T, Ayabe T, Imai S, Saitoh Y, Kohgo Y. Quantitative analysis for human glucocorticoid receptor alpha/beta mRNA in IBD. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 296: 1286-1294.
4. Suzuki Y, Saito H, Suzuki M, Hosoki Y,

Sakurai S, Fujimoto Y, Kohgo Y. Up-regulation of transferrin receptor expression in hepatocytes by habitual alcohol drinking is implicated in hepatic iron overload in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 2002; 26: 26S-31S.

5. Watari J, Saitoh Y, Obara T, Fujiya M, Maemoto A, Ayabe T, Ashida T, Yokota K, Orii Y, Kohgo Y. Natural history of colorectal nonpolypoid adenomas: a prospective colonoscopic study and relation with cell kinetics and K-ras mutations. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97: 2109-2115.
6. Kohgo Y, Hibi H, Chiba T, Shimoyama T, Muto T, Yamamura K, Popovsky MA. Leukocyte apheresis using a centrifugal cell separator in refractory ulcerative colitis: a multicenter open label trial. *Ther Apher.* 2002; 6: 255-260.
7. Takeuchi S, Okumura T, Motomura W, Nagamine M, Takahashi N, Kohgo Y. Troglitazone Induces G1 Arrest by p27 (Kip1) Induction That Is Mediated by Inhibition of Proteasome in Human Gastric Cancer Cells. *Jpn J Cancer Res.* 2002; 93: 774-782.
8. Naraki T, Kohno N, Saito H, Fujimoto Y, Ohhira M, Morita T, Kohgo Y. gamma-Carboxyglutamic acid content of hepatocellular carcinoma-associated des-gamma-carboxy prothrombin. *Biochim Biophys Acta.* 2002; 158: 287-298.
9. Waxman I, Saitoh Y, Raju GS, Watari J, Yokota K, Reeves AL, Kohgo Y. High-frequency

- probe EUS-assisted endoscopic mucosal resection: a therapeutic strategy for submucosal tumors of the GI tract. *Gastrointest Endosc.* 2002; 55: 44-49.
10. Kato J, Kobune M, Kohgo Y, Fujikawa K, Takimoto R, Torimoto Y, Ito Y, Bessho M, Hotta T, Hikawa A, Fujii T, Punnonen K, Niitsu Y. Ratio of transferrin (Tf) to Tf-receptor complex in circulation differs depending on Tf iron saturation. *Clin Chem.* 2002; 48: 181-183.
 11. Shibata N, Watari J, Fujiya M, Tanno S, Saitoh Y, Kohgo Y. Cell kinetics and genetic instabilities in differentiated type early gastric cancers with different mucin phenotype. *Hum Pathol.* 2003; 34: 32-40.

2 学会発表

- 1 Kohgo Y, Torimoto Y, Saito H, Ikuta K, Fujimoto Y: Dysregulation of iron metabolism in chronic inflammation. 6th international porphyrin-hem symposium in association with 9th international SPACC symposium. 2002: July 6-7, Tokyo, Japan
- 2 Ohnishi K, Torimoto Y, Inamura J, Iuchi Y, Ikuta K, Shinzaki H, Tanaka S, Hamano A, Kohgo Y: Detection of soluble HFE protein associated with soluble transferrin receptor in human serum. 44th Annual Meeting and Exposition. 2002: December 6-10, Philadelphia, PE, USA.
- 3 生田克哉、Zak O、Aisen P、稲村純季、井内康之、新崎人士、大西浩平、鳥本悦宏、高後裕:トランスフェリン受容体 2 α を介するトランスフェリンおよび鉄の取り込み経路に関する検討。第64回日本血液学会総会、2002年9月12-15日、横浜
- 4 鈴木康秋、斉藤浩之、鈴木晶子、細木弥生、井上充貴、藤本佳範、高後裕:アルコール性肝障害における血清可溶性トランスフェリン受容体

- 濃度の検討。第22回アルコール医学生物研究会、2002年6月21-22日、旭川
- 5 生田克哉、稲村純季、井内康之、新崎人士、大西浩平、鳥本悦宏、高後裕、Zak D、Aisen P: 肝細胞におけるトランスフェリン受容体 1 非依存性のトランスフェリンおよびトランスフェリン結合鉄の取り込み経路に関する検討。第26回鉄代謝研究会、2002年9月7日、福井

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

高齢者の胆汁量及び減黄における薬物の影響

分担研究者 菅野健太郎（自治医科大学消化器内科 教授）
玉田喜一（自治医科大学消化器内科 助教授）

研究要旨

高齢者の閉塞性黄疸例の胆道ドレナージ後の減黄不良例にウルソデオキシコール酸の投与を行い、胆汁量及び減黄効果を調べた。胆汁量が 200ml 以下の患者では胆汁量の増加及び減黄効果が認められた。

A. 研究目的

閉塞性黄疸患者の原因疾患は胆道結石または膵胆道癌であり、その大部分は高齢者である。我々の報告でも胆管結石患者の平均年齢 65 歳、胆管癌の平均年齢は 66 歳である。閉塞性黄疸の患者に対しては内視鏡的胆道ドレナージ (ENBD) または経皮経肝的胆道ドレナージ (PTBD) が施行されるが、高齢者では自覚症状及び訴えが少なく、来院時に高度な黄疸を呈している事が多い。本研究では高齢者の閉塞性黄疸で、胆道ドレナージ後も黄疸の改善を認めない患者の、利胆剤の胆汁量及び減黄への影響を調べる。最終的に高齢者の閉塞性黄疸患者の安全な減黄手段を確立する事を目的とする。

B. 研究方法

対象

閉塞性黄疸に対し内視鏡的胆道ド

レナージ (ENBD) または経皮経肝的胆道ドレナージ (PTBD) を施行する。ドレナージ施行後 7 日経過しても血清総ビリルビン値がドレナージ施行前の値から改善しない症例を減黄不良例とした。本研究では閉塞性黄疸患者の平均年齢を考慮し、年齢 65 歳以上の症例を高齢者として検討した。

方法

血清ビリルビン値は週 2 回以上測定した。初期の症例を除き、ウルソデオキシコール酸（商品名ウルソ）を 300mg 内服投与した。ウルソデオキシコール酸投与前 3 日間の 1 日胆汁量の平均値を求め、投与後 1 週間後の 3 日間平均胆汁量及び血清総ビリルビン値を検討した。胆管結石の症例では内視鏡的乳頭括約筋切開術または内視鏡的バルーン乳頭拡張術による碎石を行い、退院を目指した。胆道癌

の患者では1週間後の胆汁量を検討後、胆道ドレナージの内ろう化を施行し、退院を目指した。

ウルソデオキシコール酸投与にても減黄しない場合、良性疾患はビリルビン吸着または血漿交換を行った。悪性疾患では胆道ドレナージの内ろう化後、保存的に観察した。

C. 研究結果

1, 減黄不良例の頻度と原因

減黄不良例は高齢者(65歳以上)の胆道ドレナージ施行例の4.5%、65歳未満の患者の胆道ドレナージ施行例の2.6%に認められた。

2, 減黄不良例の原因

65歳未満の減黄不良例の減黄不良の原因を検討した。40%は肝門部の高度分断による全肝ドレナージ不能例、他の40%は高度分断を伴わない肝硬変患者であった。残りの20%は来院時に血清総ビリルビン値が30mg/dl以上の高度黄疸例であった。

65歳以上の減黄不良例の減黄不良の原因を検討した。27%は肝門部の高度分断による全肝ドレナージ不能例、18%は高度分断を伴わない肝硬変患者、来院時に血清総ビリルビン値が30mg/dl以上の高度黄疸例が18%、来院時に血清総ビリルビン値が20mg/dl以上の中等度黄疸例が9%であった。残りの28%は明らかな減黄不良の原因は認められなかった。

3, 治療結果

a, 高齢者の減黄不良例のウルソデオキシコール酸非投与群

初期例の20%でウルソデオキシコール酸を投与しなかったがいずれの症例も1ヶ月後も黄疸の改善は認められなかった。

b, 高齢者の減黄不良例のウルソデオキシコール酸投与群

投与群では67%の患者において黄疸の改善が認められた。ウルソデオキシコール酸有効群の投与前胆汁量は平均130ml(90-160ml)で、投与後平均390ml(230-480ml)と胆汁量は3倍に増加した。有効例の半数は投与1週間後には減黄効果が認められたが、残りの半数では胆道ドレナージの内ろう化の後に減黄された。ウルソデオキシコール酸無効群の投与前胆汁量は平均370ml(90-820ml)で、投与後平均500ml(170-820ml)であった。

c, 転帰

減黄例は全員退院可能であった。ウルソデオキシコール酸無効群で、ビリルビン吸着を行った症例では黄疸の改善は認められなかったが、血漿交換を6-7回行った症例では黄疸が改善し退院する事が可能であった。

減黄不良の悪性疾患は「当院及び他院で」在院死した。

D. 考察

高齢者では、肝門部多発分断、肝硬変

といった明らかな減黄不良の原因が認められない症例が多かった。入院時高度黄疸を示す例が多く、訴えが少なく診断が遅れがちになる高齢者の実状が伺えた。胆道ドレナージを施行し1週間を経過しても黄疸の改善が認められない場合は、特に1日胆汁量が200ml以下の患者において、ウルソデオキシコール酸が有用であった。胆汁が400ml以上分泌しているにも関わらず減黄が不良であった症例ではウルソデオキシコール酸の内服によっても十分な減黄効果は得られなかった。

E. 結論

高齢者で胆道ドレナージ施行後の減黄不良例、特に1日胆汁量が200ml以下の場合は、ウルソデオキシコール酸の内服が胆汁量の増加及び減黄に有用であった。有効例の半数は引き続き内ろう術の後に減黄効果が得られた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tamada K, Tomiyama T, Wada S, Ohashi A, Ido K, Sugano K: Safe percutaneous canalization of the biliary tree using a sheath in patients with malignant biliary stenosis. *Abdom. Imaging* 27(5): 549-551, 2002

2. K. Tamada, T. Tomiyama, S. Wada, A. Ohashi, Y. Satoh, K. Ido, K. Sugano: Endoscopic transpapillary bile duct biopsy with the combination of intraductal ultrasonography in the diagnosis of biliary strictures. *GUT* 50(3):326-331, 2002
3. Utsunomiya K, Tamada K, Tomiyama T, Wada S, Ohashi A, Ido K, Sugano K: Calcified bile duct stone not crushable by endotripter or mechanical lithotripter: case report. *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* 12(3): 184-186, 2002
4. Higashizawa T, Tamada K, Tomiyama T, Wada S, Ohashi A, Satoh Y, Gotoh Y, Miyata T, Ido K, Sugano K: Biliary guidewire facilitates bile duct biopsy and endoscopic drainage. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 17(3): 332-336, 2002

2. 学会発表

1. 花塚和伸、富山剛、田野茂夫、菅野健太郎：経乳頭的に2本のmetallic stentを挿入し得た悪性肝門部胆管狭窄の2例—経乳

頭的 stent through stent 留置法の経験—。第 75 回日本消化器内視鏡学会関東地方会、横浜、2002 年 12 月 7 日

2. 本多さやか、武藤弘行、菅野健太郎：(パネルディスカッション (4)：消化器疾患と胆汁酸研究：今後の展開)胆汁酸刺激による胃培養細胞における IL-8 の発現誘導。第 88 回日本消化器病学会総会、旭川、2002 年 4 月 25 日 (日消誌 99 (臨増)：A58、2002)
3. 佐藤幸浩、武藤弘行、本多さやか、関根豊、大橋明、玉田喜一、菅野健太郎：binding epidermal growth factor like growyh factor (HB=EGF) の発現誘導。第 88 回日本消化器病学会総会、旭川、2002 年 4 月 24 日 (日消誌 99 (臨増)：A125、2002)
4. 富山剛、田野茂夫、相澤俊幸、和田伸一、菅野健太郎：胆道癌に対する造影超音波検査法。第 88 回日本消化器病学会総会、旭川、2002 年 4 月 25 日 (日消誌 99 (臨増)：A312、2002)
5. 富山剛、田野茂夫、菅野健太郎：膵胆道疾患における造影超音波検査法の有用性。第 44 回日本消化器病学会大会、横浜、2002 年 10 月 24 日 (日消誌 99 (臨増)：A478、2002)

3. 著書・総説

1. 本多さやか、武藤弘行、菅野健太郎：Bile ocids induce interleukin-8 expression through NF-KB activation in gastric epithelial cell lines. 第 6 回 US-Japan GI Meeting.
2. 斧淵泰裕、磯田憲夫、井戸健一、小野和則、佐藤義明、穂積正則、稲森英明、小林裕子、大竹俊哉、菅野健太郎：肝細胞癌に対する腹腔鏡的マイクロ波凝固療法に合併した胆管損傷に対し、内視鏡的経鼻胆管ドレナージ (ENBD) により保存的に治療し得た 1 例。第 21 回 Microwave Surgery 研究会、名古屋、2002 年 9 月 14 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

- | | |
|-----------|---|
| 1. 特許取得 | 無 |
| 2. 実用新案登録 | 無 |
| 3. その他 | 無 |

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

加齢におけるソマトポーズと摂食低下に対するグレリンの効果に関する研究

分担研究者 中里雅光（宮崎医科大学第三内科 講師）

研究要旨 グレリンは、消化管と視床下部で産生され、末梢と中枢投与で成長ホルモン（GH）分泌を促進するペプチドである。今回、老齢ラットのソマトポーズと摂食低下に対するグレリンの効果ならびに胃から脳へのグレリンの情報伝達システムについて解析し、加齢におけるグレリンの病態生理学的意義を研究した。グレリンは迷走神経求心路を介して、GH 分泌および摂食に関する情報を脳に伝達することも示した。

A. 研究目的

オーファン受容体であった成長ホルモン分泌促進因子受容体の内因性リガンドとしてヒトとラットの胃から発見されたグレリンは、強力な成長ホルモン分泌活性に加え、摂食亢進や体重増加、消化管機能調節などエネルギー代謝調節に重要な作用を持つ。グレリン細胞は、既知の消化管ホルモン産生細胞とは異なる新たな内分泌細胞で、胃で2番目に多い内分泌細胞で主として産生される。グレリン受容体は心臓、下垂体、消化管を初め、全身臓器で発現している。胃からのグレリン分泌はネガティブエネルギー・バランス下で促進され、ポジティブエネルギー・バランス下で抑制されることから、グレリンは末梢で産生される空腹シグナルとして、中枢に作用すると考えられる。グレリンはまた、脳視床下部でも産生される。

ヒトやラットを含めて哺乳類の成長ホルモン（GH）分泌は、思春期をピークとして以後減退し、高齢者ではGH分泌不全状態にあり、こ

れが生活の質（QOL）の悪化の原因の1つとなっている。成長ホルモン分泌低下はソマトポーズとも呼ばれ、筋肉と骨量の低下および内臓脂肪蓄積型肥満をもたらす。加齢に伴うソマトポーズは老化を促進する因子となっている。本研究では、主にグレリンのソマトポーズにおける病態生理学的意義に関する基礎・臨床的研究を行った。また胃から分泌され、GH 分泌と摂食亢進に作動するグレリン情報が、どのようなシステムにより脳へ伝達されるかについて研究した。

グレリンの摂食亢進作用は、高齢者における摂食低下の治療薬としての適応が期待されている。われわれはすでに、ヒトメラノーマ細胞（SEKI細胞株）をヌードマウスに移植して作成したカヘキシアモデルで、グレリンが摂食を亢進させ、カヘキシアを改善することを確認している。グレリンのエネルギー同化作用が、老齢ラットにおける摂食低下と体重減少に対しても有効であるかについても検討した。