

厚生労働科学研究費補助金特定疾患対策研究事業
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班
分担研究報告書

骨髄由来上皮細胞によるヒト腸管上皮の再生
—骨髄細胞を利用した炎症性腸疾患に対する新規治療法の開発を目指して—

分担研究者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院 消化・代謝内科 教授

研究要旨：腸管上皮細胞が骨髄由来未熟 T 細胞に発現する IL-7 受容体を表出することに注目し、腸管上皮細胞と腸管粘膜内 T 細胞が同じ pathway を通ることを推定し、ヒト骨髄由来細胞が内胚葉性の腸管上皮細胞に分化しうる可能性を見出した。ヒト骨髄由来細胞は急激な上皮傷害を起こした腸管上皮の再生過程をレスキューする役割を果たしていると考えられる結果を得た。本研究は腸上皮の病的状態、例えば難治性腸疾患における重篤な潰瘍性病変、炎症性病変に対して、骨髄由来細胞による粘膜上皮の再生を目指した治療法の開発につながるものとして注目される。

共同研究者

岡本隆一、松本智子、山崎元美、中村哲也、
金井隆典¹⁾、矢島知治、日比紀文²⁾
所属 東京医科歯科大学大学院消化・代謝内科学¹⁾
慶應義塾大学医学部内科²⁾

A. 研究目的

炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）や骨髄移植後移植片対宿主反応による難治性慢性腸疾患は、その発症と病態維持に腸管免疫機構の破綻および傷害粘膜上皮の再生不全が深く関わるが、詳細はいまだ明らかでなく、従って標的細胞・分子を明確に定めた特異的治療法はない。しかもこれまで腸管組織における「免疫応答」と「分化・再生」が、分離・独立した研究領域としてとらえられてきたこともあり、両機構の人為的制御を難治性慢性腸疾患治療戦略において表裏一体である「成因の抑止」と「修復の促進」という統合的視点で治療法開発へ応用する試みはきわめて少ない。本研究は両領域において研究代表者らが独自に見いだしてきた知見、すなわち腸組織における特殊な免疫調節機構および再生機構の追究を目的とし、また、正常腸管組織の恒常性維持には局所における免疫調節と上皮再生の連鎖・協調が必須であり、その不均衡が病態形成を担う本質であるという発想に基づき、最終的には両者を統合制御し、局所免疫調節および組織再生誘導を促す

新規治療法を目指す萌芽的研究である。今回の研究で我々は腸管免疫における粘膜 IL-7/IL-7 受容体シグナルの研究過程で骨髄由来未熟 T 細胞に発現する IL-7 受容体が腸管上皮にも発現している事に注目し、ヒト骨髄由来細胞が腸管上皮細胞に分化しうる可能性を追究した。更に上皮傷害を認めた症例の経時的検討から骨髄由来細胞による腸管上皮維持・再生機構を追究した。

B. 方法・結果

男性ドナーより同種骨髄移植を受けた女性レシピエントより経時的に採取した内視鏡下生検組織検体を用いた。Y 染色体 FISH 法および連続切片の免疫染色により、ドナー骨髄由来腸管上皮細胞を同定した。更に多様な自家蛍光の影響を排除する為、酵素抗体法による免疫染色と Y-FISH を同一切片上で行う方法を開発し、上皮再生時の骨髄由来上皮細胞の増加、分布を検討した。その結果、1) 連続切片および同一切片で検討した全部位（食道、胃、十二指腸、回腸、大腸）にドナー由来腸管上皮細胞を認めたが、部位による頻度の差を認めず、頻度は低率であった(0.6-4.6%)。2)骨髄移植長期経過例(8年)と、移植後2年未満の症例ではドナー由来腸管上皮細胞の頻度、分布に差を認めなかった。3)骨髄由来腸管上皮細胞はGVHDの回復期小腸において9-10倍の頻度の上昇を認めた。また、胃潰瘍辺縁の再生上皮において同一組織での正常腺管に比べ、40-50倍の頻度

の上昇を認めた。4)骨髄由来上皮細胞は頻度が上昇した腸管上皮中に於いても crypt に一致した cluster を作らず、patchy に分布していた。5) 上皮傷害により骨髄由来上皮細胞の頻度が上昇した症例では、正常な上皮構造の回復と共に傷害が加わる前の頻度に減少したものの、回復後も継続して認められた。

C. 考察

我々は外界に接する最大の組織である消化管粘膜が局所において最前線の生体防御を行う際に、その中心となる腸管免疫機構の解析を行ってきた。これまで胸腺や骨髄など中枢免疫器官においてのみ未熟な細胞の増殖・分化を司るとされてきた IL-7 が腸管上皮細胞にて産生され、IL-7 受容体を発現する腸管粘膜内 T 細胞の増殖を調節する機構の存在を明らかとし、腸管上皮細胞と腸管粘膜内 T 細胞のクロストークが一つの機能単位として腸管粘膜免疫の維持に最も重要な役割を果たしている事を証明してきた。その過程で、腸管上皮細胞が骨髄由来未熟 T 細胞に発現する IL-7 受容体および c-kit を表出することに注目し、腸管上皮細胞と腸管粘膜内 T 細胞が同じ pathway を通ることを推定し、ヒト骨髄由来細胞が中胚葉性の腸管上皮細胞に分化しうる可能性を見出した。即ち、男性ドナーより同種骨髄移植を受けた女性レシピエントの腸管生検組織を用いて、食道、胃、小腸、大腸においてドナー由来腸管上皮の存在を明らかとした。この結果はこれまで否定されてきた腸管外由来の上皮細胞の存在を示唆している。更に、正常部におけるドナー由来腸管上皮の頻度は低率であったが、上皮再生過程における検討で頻度の上昇を認めた。従って、ヒト骨髄由来細胞は急激な上皮傷害を起こした腸管上皮の再生過程をレスキューする役割を果たしていると考えられる。増加したドナー由来上皮細胞は腸管上皮中で crypt に一致した cluster を作らず、patchy に分布していた。更に骨髄移植から 8 年後においても低頻度であることより、腸陰窩底部に存在する幹細胞 (long-lived stem cell) のには置き換わらず、より分化した腸管上皮細胞または short-living stem cell として分布していく可能性が示され、今後の骨髄移植、幹細胞移植による腸管上皮の再生医療への応用を考える上で重要な知見と考えられる。近年、消化管上皮細胞に対して増殖作用を有する因子を用いた上皮の修復/再生に関する研究が注目を浴びているが、傷害をうけ上皮が脱落した粘膜に腸管外細胞を移入して上皮を

再生させるという試みはなされていない。上記の研究は腸上皮の病的状態、例えば慢性炎症性腸疾患(クローン病、潰瘍性大腸炎)における重篤な潰瘍性病変、炎症性病変に対して、骨髄由来細胞による粘膜上皮の再生を目指した治療法の開発につながるものとして注目される。欧米においては既に 2002 年より、病的 T 細胞を除去する目的でヒトクローン病に対する自家骨髄移植、末梢血幹細胞移植が始まっており、その有効性が報告されているが、上皮再生というこれまでとは異なる視点からの解析が必要である。

D. 結論

急激な上皮傷害の際、ヒト骨髄細胞由来腸管上皮細胞が腸管上皮に動員され、腸管上皮の再生に働く可能性が示された。これにより骨髄細胞を利用した難治性炎症性腸疾患に対する新しい細胞療法への展望が開かれたと考えられる。

E 研究発表

1. 論文発表

Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J, Watanabe M: Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nature Med* 8:1011-1017, 2002

2. 学会発表

岡本隆一、矢島知治、渡辺 守:ヒト骨髄由来細胞による腸管上皮の再生 第 88 回日本消化器病学会 2002.4.26
渡辺 守:粘膜免疫における IL-7 ー炎症から上皮再生・分化へー 第 18 回近畿消化管病態研究会 2002.7.19
Watanabe M : Mucosal IL-7/IL-7 receptor dependent signals in the development of chronic intestinal inflammation. The Awaji International Forum on Infection and Immunity. 2002.8.25

渡辺 守:腸管粘膜免疫における IL-7 の役割 ー炎症から上皮再生・分化へー 第 28 回免疫カンファレンス 2002.9.7

岡本隆一、矢島知治、渡辺 守:骨髄由来細胞による腸管上皮の再生機構 第 44 回日本消化器病学会 2002.10.25

渡辺 守:腸管粘膜免疫における IL-7 の役割 ー炎症から上皮再生・分化へー 第 2 回腸管機能と免疫研究会学術集会 2002.11.2

岡本隆一、松本智子、山崎元美、中村哲也、金井隆典、

矢島知治、日比紀文、岡本真一郎、池田康夫、向井万起男、稲澤譲治、渡辺 守:骨髄由来上皮細胞による腸管上皮の維持・再生機構 第 10 回浜名湖シンポジウム 2002.12.23

渡辺 守:消化管粘膜免疫の特殊性を応用した腸管免疫機構の統御療法 科学研究費補助金「特定領域研究」感染の成立と宿主応答の分子基盤 平成14年度第2回全体班会議 2003.1.10

Watanabe M : Epithelial regeneration by bone

marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. Colloquium for the Study of Gastrointestinal Defense System (日本消化器免疫学会サテライトシンポジウム) 2003.1.11

渡辺 守:腸管における IL-7 の役割 -炎症から上皮再生・分化へ- 第 69 回土曜会 2003.2.1

F. 知的所有権の取得状況

なし

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班
分担研究報告書

DSS 誘発大腸粘膜障害における上皮細胞アポトーシスの
制御メカニズムに関する研究

分担研究者 棟方 昭博 弘前大学医学部 第一内科 教授

研究要旨：TGF- β は cFLIP の発現増強及び IFN- γ を抑制することで DSS 腸炎における Fas を介した粘膜上皮障害に対し抑制している。外因系の apoptosis における経路において、IFN- γ のシグナル欠損時の caspase-8 活性には TNF- α が代償性に働くこと、TGF- β は IFN- γ のシグナル欠損時には感度以下に低下していることから、IFN- γ に対する negative feed back 系として TGF- β が存在していることが示唆された。

共同研究者

櫻庭裕丈、石黒 陽、山形和史¹⁾、中根明夫²⁾
所属 弘前大学医学部第一内科¹⁾
弘前大学医学部細菌学²⁾

A. 研究目的

我々は TGF- β が cFLIP の発現増強及び IFN- γ を抑制することで DSS 腸炎における Fas を介した粘膜上皮障害に対する抑制効果を持つことを明らかにした。上皮細胞アポトーシスの経路について網羅的検討を加えて粘膜障害発症における TGF- β の役割について報告する。

B. 研究方法と結果

C57BL/6 x Sv129, IFN- γ ^{-/-}(C57BL/6 x Sv129), TNF- α ^{-/-}(C57BL/6 x Sv129) マウスに4%DSSを自由飲水させ腸炎を誘発した。腸管局所においては正常の状態では TGF- β の発現を認め、DSS 投与 2, 3 日目といった早期での発現増強を認めた。また抗 TGF- β 抗体投与群、1 日目で腸管上皮細胞の IFN- γ のシグナル増強を認めた。分離した上皮の IFN- γ mRNA についての RT-PCR では抗 TGF- β 抗体投与群において DSS 投与 4, 12 時間後で発現が増強していた。一方、抗 IFN- γ 抗体投与下では、抗 TGF- β 抗体単独投与で認めた上皮アポトーシス細胞数増加とそれに続く早期の粘膜障害発症は認めなかった。IFN- γ ^{-/-}マウスにおいても同様の結果であったが、TNF- α ^{-/-}マウス及び細胞サブセット(CD4, CD8, NK1.1, TCR- $\alpha\beta$, $\gamma\delta$)をブロックしたマウスでは抗 TGF- β 抗体投与により早期に粘膜障害が誘導された。アポトーシスの経路について抗 TGF- β 抗体投与により Fas の発現が増強しかつ、cFLIP の発現抑制を

認めた。また上皮細胞における caspase-8 の活性は control 群に比し抗 TGF- β 抗体投与群で有意に高値であり、さらに抗 IFN- γ 抗体によりその活性は有意に低下したが control 群のレベルまでは抑制できなかった。一方 TNF- α ^{-/-}マウスにおいては抗 TGF- β 抗体投与により増加した caspase-8 活性は抗 IFN- γ 抗体によりほぼ完全に control 群のレベルまで抑制された

(倫理面への配慮)

弘前大学動物実験に関する指針に従って行われた。

C. 考察

以上より、DSS 腸炎における粘膜障害は、上皮に発現する IFN- γ のシグナルが Fas-caspase-8 を介した上皮アポトーシスに始まり、TGF- β はこれらのシグナルを抑制していることが示された。また、外因系の apoptosis における経路において、IFN- γ のシグナル欠損時の caspase-8 活性には TNF- α が代償性に働くことが示唆された。TGF- β は IFN- γ のシグナル欠損時には感度以下に低下していることから、IFN- γ に対する negative feed back 系として TGF- β が存在していることが示唆された。

D. 結論

上皮細胞の死に至る 1 つのモデルとして、IFN- γ に対する TGF- β による negative feed back の破綻が挙げられ、かつ IFN- γ の制御が粘膜障害治療の標的となり得ることが示された。

E. 研究発表

学会発表

1) Transforming growth factor- β attenuates mucosal destruction via intestinal epithelial apoptosis through downregulation of excessive gamma interferon production in dextran sulfate sodium-induced colitis.

2002 The Joint Meeting of the International Society for Interferon and Cytokine Research (Italy) 2002.10.9

Hirotake SAKURABA, Yoh ISHIGURO, Kazufumi YAMAGATA, Akihiro MUNAKATA, et al.

2) DSS腸炎は上皮内 Interferon- γ の過剰発現が apoptosis を誘導することにより発症する

第 1 回 Gut Inflammation Front Line Meeting (GIFM)(東京)

14.7.13

櫻庭裕丈、石黒 陽、山形和史、平賀寛人、蝦名佐都子、棟方昭博、他 1 名

3) DSS 誘発大腸炎における Transforming growth factor- β (TGF- β) の役割について

第 11 回潰瘍病態研究会(東京)14.8.24

櫻庭裕丈、石黒 陽、山形和史、平賀寛人、蝦名佐都子、棟方昭博、中根明夫

4) DSS 誘発大腸炎における Transforming Growth Factor- β (TGF- β) の役割について

第 44 回日本消化器病学会大会(横浜)14.10.25

櫻庭裕丈、石黒 陽、山形和史、平賀寛人、蝦名佐都子、棟方昭博

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班
分担研究報告書

抗 IP-10 抗体による粘膜再生療法開発の検討

分担研究者 鈴木 健司 新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科 助手

研究要旨：われわれはこれまでに、抗 IP-10 抗体が DSS 腸炎において、腸管への炎症細胞浸潤の抑制と、障害腸上皮の再生促進効果により腸炎発症を抑制することを示し、炎症性腸疾患におけるケモカイン IP-10 を標的とした粘膜再生療法開発の可能性が期待された。臨床応用の際により適切なドラッグ・デリバリー・システムを検討するため、急性腸炎モデル DSS 腸炎に対し抗 IP-10 抗体注腸治療効果を検討した。

共同研究者

渡辺史郎、河内裕介、青柳 豊¹⁾
米山博之、成見正作、松島綱治²⁾

所属

新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器内科学分野¹⁾
東京大学大学院医学研究科分子予防医学²⁾

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎患者大腸において Th1 細胞に遊走活性を示すケモカイン、CXCL10/IP-10 の発現が報告されているが、未だその生物学的意義は不明であった。われわれは急性腸炎モデルの DSS 腸炎マウスに対し抗 IP-10 抗体治療が有効であることを示し、炎症性腸疾患におけるケモカイン IP-10 を標的とした粘膜再生療法の可能性を明らかとした。今回は、臨床応用の際のより適切なドラッグ・デリバリー・システムを検討するため、急性腸炎モデル DSS 腸炎に対し抗 IP-10 抗体注腸治療効果を検討した。

B. 研究方法

8 週齢の C57BL/6 (B6) マウスに 3%DSS を 7 日間自由飲水させて腸炎を惹起した。抗 IP-10 抗体を実験開始後 0、2、4 日後注腸投与し、腸炎治療効果を検討した。経時的に症状、大腸長を観察し、定量的 RT-PCR による大腸組織のサイトカインおよびケモカイン mRNA 発現解析、HE 染色による組織学的解析、免疫蛍光染色による浸潤細胞、サイトカインおよびケモカインの発現解析、プロモデオキシウリジン (BrdU) 染色による上皮増殖の解析を検討

した。本研究は新潟大学大学院医歯学総合研究科の動物実験倫理規定マニュアルに沿って行われた。

C. 研究結果

DSS 投与により IP-10 およびそのレセプター CXCR3 は、大腸上皮増殖帯に発現が増強した。抗 IP-10 抗体注腸により、症状の改善、大腸長の短縮阻止効果、組織学的大腸炎の発症阻止効果、すなわち、粘膜固有層への炎症細胞浸潤阻止と糜爛形成阻止が見られた。さらに再生陰窩の出現増加も見られた。

D. 考察

DSS 腸炎においても抗 IP-10 抗体注腸は有効で、その作用機序は抗体の全身投与と同様に、炎症細胞の大腸粘膜固有層への浸潤阻止に加え、大腸上皮細胞の増殖効果による腸上皮修復再生機序の多大な関与が示唆された。IP-10 は腸管上皮細胞の増殖、分化に対し、抑制的に作用するというケモカインとしては全く新しい生物学的活性をもつ可能性が示唆された。抗 IP-10 抗体注腸は炎症性腸疾患に対する粘膜再生療法の一つとなる可能性が示唆された。

E. 結論

炎症性腸疾患の発症機序にケモカイン IP-10 の関与が示唆され、抗 IP-10 抗体注腸による新たな粘膜再生療法開発の可能性が考えられた。

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班
分担研究報告書

実験腸炎に対する HGF 遺伝子治療の検討

分担研究者 鈴木 健司 新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科 助手

研究要旨：炎症性腸疾患に対する粘膜再生療法の一つとして、肝細胞増殖因子（HGF）遺伝子治療の有効性を検討するため、HGF 遺伝子発現プラスミドをデキストラン硫酸大腸炎マウスモデルに用いて検討した。急速大量静注法により遺伝子導入したマウスでは、実験腸炎の改善が有意に認められた。HGF 遺伝子治療は炎症性腸疾患に対する粘膜再生療法となりうる可能性が考えられた。

共同研究者

渡辺史郎、河内裕介、青柳 豊¹⁾
丸山弘樹²⁾、宮崎純一³⁾

所属

新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器内科学分野¹⁾、同 腎・膠原病分野²⁾
大阪大学大学院医学系
分子治療学幹細胞制御分野³⁾

浸潤細胞、サイトカインおよびケモカインの発現解析、プロモデオキシウリジン (BrdU) 染色による上皮増殖の解析を検討した。本研究は新潟大学大学院医歯学総合研究科の動物実験倫理規定マニュアルに沿って行われた。

A. 研究目的

炎症性腸疾患に対する新規治療法としての粘膜再生療法の開発が、従来の治療法を補う重要な治療法として期待されている。肝細胞増殖因子（HGF）のデキストラン硫酸大腸炎（DSS）に対する治療効果が宮崎医科大学の坪内らにより報告されていることから、HGF 遺伝子治療の有効性を検討するため、HGF 遺伝子発現プラスミドをデキストラン硫酸大腸炎マウスモデルに用いて検討した。

B. 研究方法

8週齢の C57BL/6 (B6) マウスに 3%DSS を 7日間自由飲水させて腸炎を惹起した。ラット HGF 遺伝子発現プラスミドを実験開始後 0日に一回だけ、尾静脈より急速大量静注法により肝細胞に遺伝子導入し、腸炎治療効果を検討した。対象としてコントロールプラスミド導入マウスを用いた。

経時的に症状、大腸長を観察し、定量的 RT-PCR による大腸組織のサイトカインおよびケモカイン mRNA 発現解析、HE 染色による組織学的解析、免疫蛍光染色による

C. 研究結果

HGF 遺伝子導入マウスでは、コントロール遺伝子導入マウスに比べ、DSS 腸炎の改善が見られた。組織上、大腸粘膜固有層・粘膜下層への浸潤細胞数の有意な減少と、大腸陰窩構造の保持、大腸粘膜上皮の糜爛・潰瘍の減少、大腸上皮細胞の過形成による陰窩長の増加などが見られた。

D. 考察

DSS 腸炎において HGF 遺伝子治療は、大腸粘膜再生を促進し腸炎炎症阻止効果を持つことが明らかとなった。これに加え、炎症細胞の浸潤も抑制する効果を有する可能性が考えられた。これは大腸粘膜バリアー保持による二次的な腸炎炎症阻止効果なのか、今後の検討が必要と考えられた。本実験では、HGF 遺伝子を肝細胞に導入したが、肝細胞への HGF 直接導入は発癌の危険性も懸念されるため、今後は腸管炎症局所への選択的遺伝子導入方法などを検討していく必要性が考えられた。

E. 結論

HGF 遺伝子治療は炎症性腸疾患に対する新規治療法としての粘膜再生療法となりうる可能性が考えられた。今後は、適切な遺伝子導入標的細胞、遺伝子導入方法の更なる検討が必要と考えられた。

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班
分担研究報告書

炎症性腸管障害に対する HGF 治療法の確立

分担研究者 坪内 博仁 宮崎医科大学 第二内科 教授

研究要旨：肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF) は消化管粘膜上皮細胞に対する増殖および遊走促進作用を有しており、傷害消化管粘膜の最も重要な修復・再生因子のひとつと考えられている。今回、炎症性腸管障害患者に対する遺伝子組み換え型ヒト HGF 治療法の確立を目的として HGF の前臨床試験を行った。遺伝子組み換え型ヒト HGF 静注投与における半減期は約数分と短い、デキストラン硫酸を用いて大腸炎を誘発するとその最高血中濃度は約 2～3 倍上昇し、HGF の血中消失には影響を与えなかった。一般毒性試験では腎臓のメサンギウム細胞が増生し、蛋白尿が出現したが、蛋白尿は可逆性で BUN およびクレアチニン上昇はみられなかった。一方、潰瘍性大腸炎患者では高率に大腸癌を発生するため、増殖因子である HGF の発癌性に関しては慎重に検討する必要があるものと考えられた。

A. 研究目的

肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF) は種々の上皮細胞に対する増殖促進作用のみならず、抗アポトーシス作用、抗線維化作用など多くの生理活性を有している。HGF は消化管粘膜上皮細胞に対しても増殖促進、抗アポトーシスおよび遊走促進作用を有し、傷害粘膜の再生・修復に重要な役割を果たしていることが報告されている。

我々はこれまでに HGF の医薬品化に取り組み、2004 年には人体へ投与可能な遺伝子組み換え型ヒト HGF が供給される。今回、炎症性腸管障害に対する HGF 治療法の確立を目的として HGF の前臨床試験を行った。

B. 研究方法

- ①薬物動態：遺伝子組み換えヒト HGF の静脈内投与を行い、その血中濃度を測定した。
- ②一般毒性試験：ラットに遺伝子組み換え型ヒト HGF を 4 週または 13 週反復投与し、その一般状態、体重、食餌摂取量、血液学および血液生化学的検査、尿検査、器官重量、病理検査を行った。

C. 研究結果

- ①薬物動態：遺伝子組み換え型ヒト HGF を one shot 静注するとその半減期は約数分と短い。デキストラン硫酸を用いて大腸炎を誘発するとその最高血中

濃度は約 2～3 倍に上昇したが、血中消失率には影響を与えなかった。一方、肝切除を行うと最高血中濃度は約 10 倍に上昇し、消失も遅延したことから、HGF のクリアランスには肝臓における取り込みが最も関与していることが推測された。

- ②一般毒性：比較的長期 (4 週、13 週) の HGF 投与による最も顕著な変化は腎臓のメサンギウム細胞増生と蛋白尿であった。これらの変化は動物種間で差があり、蛋白尿は可逆性であった。最終的に Non-toxic dose (NTD) は 0.03～0.1 mg/kg と考えられた。

D. 考案

我々は昨年度までにデキストラン大腸炎モデルにおける HGF の粘膜修復促進効果を腹腔内投与で確認している。遺伝子組み換えヒト HGF の半減期は短いものの、種々の疾患モデルに対する HGF の有効性は静注投与で確認されている。今後、大腸炎モデルにおける HGF 静脈内投与の有効性を確認する必要があるが、投与方法に関してはドラッグデリバリーシステムや注腸投与などを工夫する必要がある。一般毒性試験では遺伝子組み換えヒト HGF の比較的長期投与で腎メサンギウム細胞増生と蛋白尿が認められた。しかし、BUN・クレアチニン上昇はみられず、蛋白尿は HGF 投与中止によって改善した。また、腎障害は尿中アルブミンにてモニター可能であっ

た。劇症肝炎における投与期間は1週間前後と考えられ、腎障害は軽減される可能性が考えられる。一方、潰瘍性大腸炎患者では大腸癌発生頻度が高いことから、増殖因子である HGF の発癌性は慎重に検討されねばならない。大腸腺腫および大腸癌モデルを用いた発癌性試験を行い、データを積み重ねていく必要があると考えられる。しかし、前臨床試験で HGF の発癌性を完全に否定することは困難と考えられるため、その臨床試験の計画（プロトコール作製）と実施には慎重かつ十分な議論が必要である。

E. 結論

遺伝子組み換えヒト HGF の前臨床試験を行った。NTD は 0.03~0.1 mg/kg で、一般毒性として腎臓のメサンギウム細胞増生と尿蛋白が認められた。また大腸癌モデルを用いた発癌性試験が必要であるが、HGF の発癌性を完全に否定することは困難と考えられ、今後慎重に検討

する必要がある。

F. 健康危機情報
なし

G. 研究発表
論文発表
なし
学会発表

田原良博、他：硫酸デキストラン実験腸炎に対する肝細胞増殖因子（HGF）の治療効果、第9回日本消化器関連学会週間（DDW-S S Japan 2002）、2002年10月

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金特定疾患対策研究事業
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班
分担研究報告書

TNBS 腸炎モデルに対する HGF の効果

分担研究者 福田 能啓 兵庫医科大学 消化器内科学 助教授

研究要旨：Trinitrobenzensulfonic acid (TNBS) 腸炎モデルに対する hepatocyte growth factor (HGF) 腹腔内持続投与による治療効果を検討した。潰瘍面積及び潰瘍の深さに関しては、control 群に比して HGF 投与群の方が改善傾向にあったが、統計学的有意差はみられなかった。組織学的炎症の程度、Ki-67 labeling index、粘膜の myeloperoxidase 活性は両群とも同様の数値で、統計学的有意差はみられなかった。本モデルに対する HGF の治療効果は明らかにはみられなかったが、HGF 投与時期、モデルの安定化など、更なる検討を要する。

共同研究者

堀 和敏、應田義雄、樋田信幸、澤田康史
所属 兵庫医科大学消化器内科

7 日目 (15 ng/ml) まで血中濃度の維持されているのが確認された (各 n=3)。潰瘍面積及び潰瘍の深さはそれぞれ 35 vs 21 mm²、1.5 vs 1.0 (control 群 vs HGF 投与群、n= 12 vs 13) と HGF 投与群の方が低値を示したが、統計学的有意差はみられなかった。組織学的な炎症の程度、Ki-67 LI、MPO 活性はそれぞれ、3.1 vs 2.8、51 vs 52%、3.8 vs 3.6 U/g tissue とほとんど変化なく、統計学的有意差はみられなかった。C-met の発現は表層の被蓋上皮に確認された。

A. 研究目的

Hepatocyte growth factor (HGF) は hepatotrophic factor として同定されたが、epithelial growth factor として機能することが近年明らかになっている。本研究は、Trinitrobenzensulfonic acid (TNBS) で惹起した炎症性腸疾患動物モデルに対する HGF の治療効果を検討することを目的とする。

D. 考察

治療効果が得られなかった理由として第一に、c-met の発現が粘膜の増殖帯にみられなかったため、上皮の細胞増殖効果を十分に発揮できなかったのかもしれない。潰瘍面積及び潰瘍の深さに関しては改善傾向にあるので、HGF の作用の一つである抗 apoptosis 作用により、表層の被蓋上皮で起こる apoptosis を抑制している可能性がある。第二に、腸炎を惹起した後の数日は c-met が down-regulated されていた可能性も否定できず、後期での HGF 投与が必要であるのかもしれない。第三に、TNBS 腸炎モデルは腸炎の程度にばらつきが大きく、そのために有意差を得られなかった可能性がある。本モデルの安定化が必須で、治療効果がないと結論づけるのは早計であり、更なる検討を要する。

B. 研究方法

10 週齢の male Wistar rat に 15 mg/ml TNBS in 20% ethanol を 0.5 ml 注腸した。同時に浸透圧ポンプを腹腔内に埋め込み、recombinant human HGF (三菱ウエルファーマより供与) を 0.2 mg/day 持続投与した。0、1、3、7 日目に採血し、血中 HGF 濃度を ELISA 法で測定した。7 日目に屠殺し、潰瘍面積を測定した。組織学的な潰瘍の深さと炎症の程度をスコア化し、上皮増殖能については Ki-67 免疫染色を施した後 labeling index (LI) を算出した。急性炎症の指標として粘膜の myeloperoxidase (MPO) 活性を o-dianisidine 法で測定した。HGF receptor である c-met の粘膜における発現を蛍光抗体法で調べた。

E. 結論

本炎症性腸疾患動物モデルに対する HGF 持続腹腔内投与の治療効果は、明らかにはみられなかったが、更な

C. 研究結果

血清 HGF 濃度は 1 日目 (25 ng/ml) をピークとして、

る検討を要する。

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑 誌

発行者	論文タイトル	発行誌	巻	ページ	出版年
Naganuma,M. Iwao,Y. Kashiwagi,K. Funakoshi,S. Ishii,H. Hibi,T.	A case of Behcet's disease accompanied by colitis with longitudinal ulcers and granuloma.	J Gastroenterol Hepatol .	17	105-108	2002
Naganuma,M. 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
Mori,T. Okamoto,S. Watanabe,R. Yajima,T. Iwao,Y. Yamazaki,R. Nakazato,T. Sato,N. Iguchi,T. Nagayama,H. Hibi,T. Ikeda,Y.	Does-adjusted preemptive therapy for cytomegalovirus disease based on real-time polymerase chain reaction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	Bone Marrow Transp	29	777-782	2002
Yuasa,S. Suwa,A. Hirakata,M. Hibi,T. Iwao,Y. Koizumi,K. Minori,T. Ikeda,Y.	A case of systemic lupus erythematosus presenting with rectal ulcers as the initial clinical manifestation of disease.	Clin Exp Rheumatol	20	407-10	2002
Hara,A. Arai,J. Matsukawa,H. Inoue,N. Ogata,H. Iwao,Y. Yoshioka,M. Hibi,T.	Combination therapy of nontinuous arterial infusion of nafamostat mesilate and arterial injection of human urinary trypsin inhibitor(Ulinastatin) for severe acute Pancreatitis.	Therapeutic Research	23	1265-1275	2002
Inoue,N. Tamura,K. Kinouchi,Y. Fukuda,Y. Takahashi,S. Ogura,Y. Inohara,N. Nunez,G. Kishi,Y. Koike,Y. Shimosegawa,T. Shimoyama,T. Hibi,T.	Lack of common NOD2 variants in Japanese patients with Crohn's disease.	Gastroenterology	123	86-91	2002

Naganuma,M. Watanabe,M. Kanai,T. Iwao,Y. Mukai,M. Ishii,H. Hibi,T.	Characterization of structures with T-Lymphocyte aggregates in ileal villi of Crohn's disease.	Am J Gastroenterol	97	1741-1747	2002
Hibi,T. Ogata,H. Sakuraba,A.	Animal models of inflammatory bowel disease.	J Gastroenterol	37	409-417	2002
Kobayashi,K. Ogata,H. Lijima,S. Morikawa,M. Harada,N. Yoshida,T. Brown,W R. Inoue,N. Hamada,Y. Ishii,H. Watanabe,M. Hibi,T.	Distribution and partial characterisation of IgG Fc binding protein in various mucin producing cells and body fluids.	Gut	51	169-176	2002
Watanabe,M. Hasegawa,H. Yamamoto,S. Hibi,T. Kitajima,M.	Successful Application of Laparoscopic surgery to the treatment of Crohn's disease with fistulas.	Dis Colon Rectum	45	1057-1061	2002
Okamoto,R. Yajima,T. Yamazaki,M. Kanai,T. Mukai,M. Okamoto,S. Ikeda,Y. Hibi,T. Inazawa,J. Watanabe,M.	Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract.	Nature Med	8	1011-1017	2002
Hibi,T. Fujiyama,Y.	Biological therapies for inflammatory bowel disease.	J Gastroenterol	37	43	2002
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
中澤 敦 日比紀文	クローン病における抗 TNF- α 療法.	Drug Delivery System	17(1)	42-49	2002
岡沢 啓 日比紀文	IL-18と炎症.	ホルモンと臨床	50(3)	259-264	2002
日比紀文 岡本真紀代	疾患別栄養評価とその対策 Crohn 病.	Medicina	39(2)	238-240	2002
日比紀文 長沼 誠	炎症性腸疾患に対する免疫抑制剤有効性・副作用のメカニズム.	BIO Clinica	17(1)	45-48	2002
日比紀文 井上 詠	炎症性腸疾患を分子メカニズムから考える.	BIO Clinica	17(1)	16-17	2002

一松 収 矢島知治 日比紀文	上皮細胞由来サイトカインを利用した慢性腸炎治療.	炎症と免疫	10(1)	57-64	2002
佐藤俊朗 日比紀文	炎症性腸疾患.	Annual Review	消化器 2002	239-243	2002
岡沢 啓 日比紀文	IL-18と炎症ホルモン.	ホルモンと臨床	50(3)	259-264	2002
日比紀文 緒方晴彦 芳沢茂雄	炎症性腸疾患における TNF- α を中心としたサイトカインの動態と治療戦略.	日本炎症・再生医学会雑誌	隔月号	22	2002
松川英彦 日比紀文	抗 TNF- α キメラ抗体による Crohn 病の治療.	最新医学	57(4)	896-901	2002
新井 潤 日比紀文	炎症性腸疾患の免疫抑制療法.	総合臨床	51(1)	220-223	2002
新井 潤 日比紀文	炎症性腸疾患を中心とした腸疾患の栄養管理—在宅療法を含めて—.	G.I.Research	10(1)	597-603	2002
岩男 泰 日比紀文	診断のための検査法 大腸内視鏡.	medicina	39(5)	775-778	2002
日比紀文	腸疾患の判断・病態・治療	medicina	39(5)	752-753	2002
金井隆典 渡辺 守 日比紀文	小腸の自己免疫機構 クロウン病の病態とサイトカイン.	日薬理誌	120	39-45	2002
芳沢茂雄 日比紀文	クロウン病と抗 TNF- α 抗体.	炎症と免疫	10(5)	546-553	2002
長沼 誠 日比紀文	臨床医により新薬の評価 インプリキシマズ(遺伝子組換え).	臨床と薬物治療	21(7)	708-709	2002
日比紀文 桜庭 篤 長沼 誠	クロウン病と抗 TNF- α 抗体.	小児内科	34(7)	1161-1166	2002
岩男 泰 長沼 誠 日比紀文	潰瘍性大腸炎.	medicina	39(9)	1595-1598	2002
小池祐司 日比紀文	炎症性腸疾患の遺伝的要因.	医学のあゆみ	202(10)	833-837	2002
日比紀文 一松 収	特集:EBM時代の消化器薬物治療 消化器薬と臨床エビデンス 炎症性腸疾患の治療薬と臨床エビデンス.	EBM ジャーナル	5(3)	606-613	2002
岡沢 啓 日比紀文	炎症性腸疾患の病態への IL-18 の役割.	炎症と免疫	10(6)	685-689	2002
田原利行 日比紀文	炎症性腸疾患と大腸癌.	医学のあゆみ	203	118-121	2002
新井 潤 緒方晴彦 日比紀文	データ解説1 MAPKsの阻害薬は中等症から重症のクロウン病の新しい治療法として期待される.	Frontiers in Gastroenterology	7	360-361	2002
小池祐司 緒方晴彦 日比紀文	データ解説2 インターフェロン(IFN- γ)が示す抗炎症性作用.	Frontiers in Gastroenterology	7	362-363	2002
一松 収 緒方晴彦 日比紀文	データ解説3 ステロイド依存性クロウン病に対するICAM-1アセチセンスオリゴ核酸の投与は、血中薬物動態を考慮すれば、有効な治療法となりうる.	Frontiers in Gastroenterology	7	364-365	2002
桜庭 篤 緒方晴彦 日比紀文	データ解説4 シクロスポリン持続静注療法は重症型潰瘍性大腸炎に対し、単独でもステロイドに匹敵した治療効果を有する.	Frontiers in Gastroenterology	7	366-367	2002

松岡克善 緒方晴彦 日比紀文	データ解説5 Infliximabの繰り返し投与はクローン病に対する維持療法として有効である :the ACCENT Trial.	Frontiers in Gastroenterology	7	366-367	2002
日比紀文 井上 詠 緒方晴彦	シンポジウム 1.消化器領域の分子病態 2.炎症性腸疾患(Crohn病、潰瘍性大腸炎)病態の分子生物学的検討.	日本内科学会雑誌	91	78-83	2002
日比紀文 高石官均	特集 アポトーシスと疾患-最近の展開-炎症性腸疾患とアポトーシス.	最新医学	57	2471-2475	2002
日比紀文 岡本真紀代	消化管の役割.	肝胆膵	45	623-628	2002
日比紀文 緒方晴彦	消化管粘膜障害-免疫と形態変化-.	病理と臨床	20	1231-1237	2002
新井 潤 日比紀文	増加する大腸疾患と食生活の変化.	臨床消化器内科	18(1)	55-64	2003
日比紀文 岡本真紀代	消化管の役割.	肝胆膵	45(5)	623-628	2002
佐藤俊朗 日比紀文	下部消化管疾患.	内科	90	1024-1027	2002
日比紀文 一松 収	粘膜局所防御機能の評価.	臨床検査	46(12)	1559-1566	2002
坪内 友 香山明一 川西輝明 西森博幸 後藤賢一郎 美馬聰昭 高杉英郎 今井希一 岩男 泰 日比紀文	繰り返す大量出血を内視鏡的に止血し得た Crohn病の1例.	Gastroenterological Endoscopy	44	2087-2094	2002
日比紀文	潰瘍性大腸炎.	外科エンサイクロペディア	64	1457	2002
Munakata,A. Asakura,H.	Positioning of treatment for IBD by repairing mucosa.	J Gastroenterology	37(Suppl XV)	7	2002
Kanazawa,H. Munakata,A.	Multiple accumulation of V δ 2 γ δ T cell colonocytes in the intestinal mucosa from patients with Crohn's disease.	PEDIATRICS-FOOD ALLERGY, GASTROENTEROLOGY, AND NUTRITION-	2	12-14	2002
棟方昭博	潰瘍性大腸炎、本邦臨床統計集3.	日本臨床	増刊号	167-173	2002
棟方昭博 坂本十一	若者を襲う腸の慢性・再発性炎症「クローン病」.	毎日ライフ	3	33-36	2002
佐々木賀広 棟方昭博	便通異常(下痢・便秘).	medicina	39	758-759	2002
棟方昭博 坂本十一	潰瘍性大腸炎-内科治療-.	カレントセラピー	20	674-678	2002
棟方昭博	虚血性腸炎最近の知見巻頭言-疫学を含めて-.	臨床消化器内科	17	1647-1651	2002
山形和史 棟方昭博	炎症性腸疾患における内視鏡下生検診断基準運用上の注意点.	J. Colon Exam	19(1)	108-110	2002
石黒陽 棟方昭博	薬剤性腸炎.	総合臨床	増刊号 51	346-349	2002

Shimada,M. Andoh,A. Hata,K. Tasaki,K. Araki,Y. <u>Fujiyama,Y.</u> Bamba, T.	IL-6 secretion by human pancreatic periacinar myofibroblasts in response to inflammatory mediators.	J Immunol	Jan15 1168(2)	861-868	2002
Araki,Y. Andoh,A. <u>Fujiyama,Y.</u> Takizawa,J. Takizawa,W. Bamba,T.	Short-term oral administration of a product derived from a probiotic, Clostridium butyricum induced no pathological effects in rats.	Int J Mol Med	Feb9(2)	173-177	2002
Takaya,H. Andoh,A. Makino,J. Shimada,M. Tasaki,K. Araki,Y. Bamba,S. Hata,K. <u>Fujiyama,Y.</u> Bamba,T.	Interleukin-17 stimulates chemokine (interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1) secretion in human pancreatic periacinar myofibroblasts.	Scand J Gastroenterol	Feb37(2)	239-245	2002
Andoh,A. Shimada,M. Araki,Y. <u>Fujiyama,Y.</u> Bamba,T.	Sodium butyrate enhances complement-mediated cell injury via down-regulation of decay-accelerating factor expression in colonic cancer cells.	Cancer Immunol Immunother	Feb50(12)	663-672	2002
Makino,J. Andoh,A. Hata,K. Yotsuya,S. Shikama,H. Araki,Y. <u>Fujiyama,Y.</u> Bamba,T.	Suppressive effects of a new anti-inflammatory agent, IS-741, on dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in rats.	Int J Mol Med	Apr9(4)	391-396	2002
Okuno,T. Andoh,A. Bamba,S. Araki,Y. <u>Fujiyama,Y.</u> Fujiimiya,M. Bamba,T.	Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha induce chemokine and matrix metalloproteinase gene expression in human colonic subepithelial myofibroblasts.	Scand J Gastroenterol	Mar37(3)	317-324	2002
Andoh,A. <u>Fujiyama,Y.</u> Yoshioka,U. Sasaki,M. Araki,Y. Tsujiikawa,T. Bamba,T.	Elevated serum anti-carbonic anhydrase II antibodies in patients with ulcerative colitis.	Int J Mol Med	May9(5)	499-502	2002
Hata,K. Andoh,A. Shimada,M. Fujino,S. Bamba,S. Araki,Y. Okuno,T. <u>Fujiyama,Y.</u> Bamba,T.	IL-17 stimulates inflammatory responses via NF-kappaB and MAP kinase pathways in human colonic myofibroblasts.	Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol	Jun282(6)	G1035-G1044	2002

Bamba, T. Kanauchi, O. Andoh, A. Fujiyama, Y.	A new prebiotic from germinated barley for nutraceutical treatment of ulcerative colitis.	J Gastroenterol Hepatol	Aug17(8)	818-824	2002
Makino, J. Andoh, A. Hata, K. Yotsuya, S. Shikama, H. Imamura, M. Fujiyama, Y. Bamba, T.	Inhibitory effects of the new anti-inflammatory agent, IS-741, on spontaneous colitis in HLA-B27/beta2-microglobulin transgenic rats.	J Gastroenterol Hepatol	Aug17(8)	854-860	2002
Andoh, A. Fujino, S. Bamba, S. Araki, Y. Okuno, T. Bamba, T. Fujiyama, Y.	IL-17 selectively down-regulates TNF-alpha-induced RANTES gene expression in human colonic subepithelial myofibroblasts.	J Immunol	Aug15 169(4)	1683-1687	2002
Andoh, A. Shimada, M. Bamba, S. Okuno, T. Araki, Y. Fujiyama, Y. Bamba, T.	Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 participate in interleukin-17 plus tumor necrosis factor-alpha-induced stabilization of interleukin-6 mRNA in human pancreatic myofibroblasts.	Biochim Biophys Acta	Aug 19 1591(1-3)	69-74	2002
Fujino, S. Andoh, A. Bamba, S. Ogawa, A. Hata, K. Araki, Y. Bamba, T. Fujiyama, Y.	Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease.	Gut	Jan52(1)	65-70	2003
Tsujikawa, T. Andoh, A. Fujiyama, Y.	Enteral and parenteral nutrition therapy for Crohn's disease.	Curr Pharm Des	9(4)	323-332	2003
Andoh, A. Tsujikawa, T. Fujiyama, Y.	Role of dietary fiber and short-chain Fatty acids in the colon.	Curr Pharm Des	9(4)	347-358	2003
Andoh, A. Fujino, S. Okuno, T. Fujiyama, Y. Bamba, T.	Intestinal subepithelial myofibroblasts in inflammatory bowel diseases.	J Gastroenterol	Nov37 Suppl 14	33-37	2002
Tsujikawa, T. Kanauchi, O. Andoh, A. Saotome, T. Sasaki, M. Fujiyama, Y. Bamba, T.	Supplement of a Chitosan and ascorbic acid mixture for Crohn's disease. A pilot study.	Nutrition	Feb19(2)	137-139	2003
味岡洋一 渡邊英伸 加納恒久 西倉健 向井 玄 馬場洋一郎	colitic cancer / dysplasia の病理組織学的特徴.	胃と腸	37	956-970	2002

八尾建史 古川尚志 松井敏幸 八尾恒良 櫻井俊弘 光安智子	新しいステレオ式電子内視鏡システムー三次元計測の精度と限界ー。	消化器内視鏡	14(3)	305-311	2002
松井敏幸 永江 隆 真武弘明 櫻井俊弘 津田純郎 八尾恒良 平井郁仁 古賀有希 古川敬一 竹山泰守 池田圭祐 宗 祐人	感染性大腸炎の鑑別診断ー感染性大腸炎間の鑑別と薬剤性腸炎との鑑別ー。	胃と腸	37	311-320	2002
橋立英樹 渡辺英伸 味岡洋一 西倉 健 渡辺研也 坂 充 小原勝敏 佐藤由紀夫 北篠 洋 鈴木 理 米倉研史 新国恵也 五十嵐俊彦 櫻井俊弘 中野 浩 赤松泰次 山野泰穂 工藤進英	cap polyposis と隆起型 MPS との病理組織学的差異。	胃と腸	37	661-670	2002
江崎幹宏 松本主之 飯田三雄 桧沢一興 小林広幸 中村昌太郎 古賀秀樹 清水香代子 八尾隆史 頼岡 誠 櫻井俊弘 八尾恒良	X線・内視鏡所見からみた cap polyposis と粘膜脱症候群の異同。	胃と腸	37	671-681	2002
植木敏晴 大谷圭介 櫻井俊弘 坂口正剛 松井敏幸	胆石症. 肝胆膵	アークメディア	45	85-90	2002
櫻井俊弘 高木靖寛	炎症性ポリープ(inflammatory polyp).	早期大腸癌	6	411-412	2002

頼岡 誠 櫻井俊弘 八尾建史 和田陽子 菊池陽介 竹下宗範 山本淳也 佐藤 茂 真武弘明 津田純郎 松井敏幸 八尾恒良 原岡誠司 岩下明德 石見賀正	陥凹性病変を伴い深部大腸まで病変が認められた cap polyposis の1例.	胃と腸	37	727-733	2002
松井敏幸 大田恭弘 小野広幸 山口明子 別府孝浩 村上右児 櫻井俊弘 八尾恒良	Crohn 病における virtual endoscopy の現状と展望.	胃と腸	37	1411-1420	2002
菊池陽介 津田純郎 頼岡 誠 和田陽子 山本淳也 八尾建史 櫻井俊弘 松井敏幸 八尾恒良 岩下明德	lsp・lp 型大腸 sm 癌の深達度診断.	胃と腸	37	1611-1622	2002
櫻井俊弘	消化管内視鏡検査—知っておきたい基礎知識. Crohn 病.	medicina	39(12)	1992-1996	2002
高木靖寛 八尾恒良 松井敏幸 櫻井俊弘 津田純郎 田辺 寛 平井郁仁 八尾建史 岩下明德 原岡誠司 有馬純孝	単純性潰瘍および腸型 Behcet 病のX線, 内視鏡所見の検討.	胃と腸	38	229-242	2003
Yao, K. Matsui, T. Furukawa, H. Yao, T. Sakurai, T. Mitsuyasu, T.	A new stereoscopic endoscopy system: accurate 3-dimensional measurement in vitro and in vivo with distortion-correction function.	Gastrointest Endosc	55	412-420	2002
Matsui, T. Nishimura, T. Matake, H. Ohta, Y. Sakurai, T. Yao, T.	Granulocytapheresis for Crohn's disease: A report on seven refractory patients.	Am Journal of Gastroenterol	98	511-512	2003