

## 粘膜再生治療－基礎面から－実験動物モデル オートクリン因子アクチビンによる TGF- $\beta$ 作用の修飾

協力研究者 小島 至 群馬大学生態調節研究所細胞調節 教授

研究要旨：アクチビンは肝臓星細胞の産生するオートクリン因子である。アクチビンは自身がコラーゲン産生を促進する作用をもつだけでなく、TGF- $\beta$  の作用によりその発現が亢進し、TGF- $\beta$  のコラーゲン産生促進作用を増強する。アクチビン作用を抑制することにより、アクチビンだけでなく、TGF- $\beta$  の作用も大きく抑制される。

### A. 研究目的

TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属する活性因子アクチビンは上皮細胞・間葉系細胞の機能を調節し、上皮細胞の増殖・分化を調節するだけでなく、間葉系細胞の活性化を通じて臓器の線維化に関与している。本研究では肝線維化の病態において重要な役割を果たしている、肝臓星細胞（伊東細胞）の活性化におけるアクチビンの意義を明らかにすることを目的として検討を行った。

### B. 研究方法

培養肝臓星細胞を用いて検討を行った。星細胞におけるコラーゲンの産生、1型コラーゲン遺伝子の発現に対するアクチビン、TGF- $\beta$  の作用を検討するとともに、星細胞で産生されるアクチビン、TGF- $\beta$  の意義を明らかにする目的でアクチビンアンタゴニストであるフォリスタチンを用いるとともに、アクチビン及び TGF- $\beta$  受容体のドミナント・ネガティブ型変異遺伝子をアデノウイルスベクターを用いて星細胞に導入した。

### (倫理面への配慮)

群馬大学生体調節研究所動物実験倫理規定に基づいて行われた。

### C. 研究結果

星細胞はアクチビンおよび TGF- $\beta$  を産生するとともにそれら因子の受容体を発現していた。またこれら因子の投与により、星細胞が活性化され、これら因子がオートクリン因子として機能していることが確認された。アクチビンおよび TGF- $\beta$  の投与によりコラーゲン産生、

1型コラーゲン遺伝子の発現は増加した。アクチビンアンタゴニストであるフォリスタチンを同時に投与すると、アクチビン作用が消失するだけでなく、TGF- $\beta$  の作用も大きく抑制された。変異アクチビン受容体遺伝子導入によりアクチビン作用をブロックした場合にも TGF- $\beta$  の作用は大きく抑制された。一方、変異 TGF- $\beta$  受容体遺伝子導入によって TGF- $\beta$  の作用は消失したが、アクチビン作用は影響を受けなかった。TGF- $\beta$  を投与することによって星細胞のアクチビン産生は大きく増加した。

### D. 考察

アクチビン、TGF- $\beta$  はともに星細胞で産生されコラーゲン産生を調節するオートクリン因子である。TGF- $\beta$  は重要な星細胞の活性化因子で肝線維化に中心的な役割を果たしているが、その作用にはオートクリン因子アクチビンが大きく関与している。TGF- $\beta$  がアクチビン産生を亢進させることから、産生されたアクチビンが TGF- $\beta$  作用を増強して強いコラーゲン産生能を発揮しているものと考えられる。

### E. 結論

アクチビンは肝臓星細胞で産生されるオートクリン因子で、単独で星細胞を活性化してコラーゲン産生を促進するだけでなく、TGF- $\beta$  の作用にも深く関わっており、肝線維化の病態においてもきわめて重要な役割を果たしていると推測される。そのアンタゴニストであるフォリスタチンは肝線維化の治療に有効である可能性がある。

F. 文献

Wada, W., Kuwano, H., Hasegawa, Y., Kojima, I. (2004)  
The dependence of TGF- $\beta$ -induced collagen  
production on an autocrine factor activin A in  
hepatic stellate cells. *Endocrinology* (in press)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 粘膜再生治療－基礎面から－実験動物モデル 炎症と大腸発癌モデル

協力研究者 中島 淳 横浜市立大学医学部第3内科 助教授

研究要旨：大腸発がんにおける腸管炎症の意義

潰瘍性大腸炎に見られるように、腸管における慢性的炎症の存在が大腸発がん重要な役割を果たすことが知られているが、分子機構については殆んど不明である。そこで、azoxymethane (AOM) 大腸発がんマウスモデルを用いて、軽度で持続的な炎症を誘発する 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) の投与による大腸発がんへの影響について検討した。潰瘍性大腸炎のモデルとして IFN $\gamma$  ノックアウトマウス、Crohn 病モデルとして IL-4 ノックアウトマウスを用いて、AOM 誘発大腸前がん病変 (ACF) と大腸腫瘍の発生率と、腫瘍の病理学的差異について検討した。UC モデルでは大きな ACF が散見され、さらに、有意に大腸腫瘍が頻発した。本研究により腸管局所での免疫学的環境の差異が腫瘍発生に影響を及ぼすことが示唆された。これらの研究を通じ、炎症による大腸発がんの発生或いは促進を予防する分子標的治療の実現が期待される。

### A. 研究目的

炎症性腸疾患の中でも潰瘍性大腸炎患者 (UC) では若年に大腸癌が高頻度に発生するが、平坦型で浸潤傾向の強い比較的低下分化型の癌が多いため、より早期での発見が必要と考えられる。また UC 合併大腸癌は遺伝子変異の時期、パターンが非 UC 大腸癌とは異なっており、発生母地が異なる可能性が示唆されている。予防・早期診断方法の確立のために IBD の病態をサイトカインの観点から反映した疾患モデルの作製を目的とした。

### B. 研究方法

炎症局所について UC では Th2 優位 [1]、Crohn 病では Th1 優位 [2] と異なることが報告されている。UC のモデルとして Th2-dominant マウス (IFN $\gamma$  gene deficient [KO] マウス)、Crohn 病のモデルとして Th1-dominant マウス (IL4KO マウス) 8週令を用い 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) 腸炎を誘導し発癌物質である azoxymethane (AOM) を投与し前癌病変 (ACF) の頻度形態を比較した検討した。さらに AOM 投与と TNBS 腸炎誘導を隔週に 6 回試行し 32 週後での大腸腫瘍発生率について検討した。

### (倫理面への配慮)

実験動物の取り扱いに際しては苦痛除去のため全身

麻酔とし、無痛下での処置を施行した。

### C. 研究結果

IL4KO、IFN $\gamma$  KO マウスに TNBS 投与のみでは ACF は作成されなかった。IFN $\gamma$  KO マウスでは AOM 投与群 25.0 ± 9.9 個に比し、AOM + TNBS 施行群では 9.66 ± 10.4 個 (p=0.035) と有意に ACF の発生頻度が低下した。IL4KO マウスでは AOM 施行群 15.0 ± 1.0 個に比し、AOM + TNBS 施行群では 28.1 ± 15.0 個 (p=0.188) と有意に ACF 発生頻度が上昇した。IFN $\gamma$  KO マウスでは AOM のみよりも TNBS を追加処置することで ACF の数は減少したが、中央にクレーターのような陥凹を有する粘膜面の厚い病変と巨大な ACF が散見された。一方 IL4KO マウス群では AOM 処置群に比し TNBS 追加試行により ACF の数は増加した。発癌実験の結果、WT では AOM のみでは 3.3 ± 2.9 個、AOM + TNBS 処置群では 2.6 ± 2.9 個と差が見られなかった。それに対し、KO では TNBS 腸炎併発により発生腫瘍数の増加を認めた。また AOM 誘導大腸腫瘍 + TNBS 腸炎併発群の中で、UC を反映すると考えられる IFN $\gamma$  KO において 8.4 ± 1.7 個、IL4KO で 3.7 ± 3.4 個と有意に IFN $\gamma$  KO での腫瘍発生が増大していた。(p=0.035)

### D. 考察

UC モデルでは大きな ACF が散見され、有意に大腸腫瘍が頻発した。これは腸管局所での免疫学的環境の差異が腫瘍発生に影響を及ぼすことを示唆している。今後、炎症の有無による大腸前がん病変での遺伝子変異や発現遺伝子のプロファイルの違いや、大腸上皮での遺伝子変異頻度・変異スペクトラムへの影響についても解析する必要があると考えられる。

#### E. 結論

本研究により、サイトカインバランス異常が、大腸の発癌機構に大きく影響することを示唆するはじめての結果が得られた。Th2 型に傾いた大腸では腸炎の発症によっても前癌病変の形成が変化することが明らかとなり、UC 発癌モデルとして有用であると考えられる。また、現在得られた腫瘍サンプルの病理学的解析、遺伝学的解析を行っている。患者の病態を反映したモデルとして、今後この疾患モデルを用いた炎症からの発癌メカニズムや有効な chemoprevention の開発が期待される。

#### F. 文献

- 1) Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* 1998; 115:182-205.
- 2) Kakazu T, Hara J, Matsumoto T *et al*. Type I T-helper cell predominance in granulomas of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:2149-55.

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
特許取得なし
2. 実用新案登録  
特記事項なし
3. その他  
特記事項なし

## 粘膜再生治療－基礎面から－実験動物モデル 腸管粘膜上皮再生における肝細胞増殖因子活性化因子の役割

協力研究者 片岡寛章 宮崎大学医学部第2病理 教授

研究要旨：消化管粘膜上皮の再生修復において、肝細胞増殖因子 (HGF) が上皮細胞の遊走と増殖、さらには分化に大きな役割を果たす可能性が近年明らかになった。HGF は非活性型蛋白として間葉系の細胞から分泌され、傷害組織において HGF activator (HGFA) によって非活性型から活性型へ効率良く変換される。この HGFA による HGF 活性化は細胞膜結合型インヒビターである HGFA inhibitor type 1 (HAI-1) と HAI-2 によって調節されており、HAI-1 と HAI-2 共に消化管上皮に強く発現している。HGFA ノックアウトマウスを作成したところ、実験腸炎における粘膜上皮の再生、特に再生初期における上皮細胞による潰瘍部被覆が遅延する傾向を示した。この結果は、組織障害直後の消化管粘膜上皮再生において HGFA による局所での HGF 活性化が重要な役割を果たしていることが示唆され、難治性消化管潰瘍性病変の治療に HGFA が活用できる可能性が考えられた。一方、HAI-1 ノックアウトマウスを作成したところ、ノックアウトマウスは胎生致死であった。

### A. 研究目的

消化管粘膜上皮の再生修復において、肝細胞増殖因子 (HGF) が上皮細胞の遊走、増殖、分化に大きな役割を果たしていることが明らかになってきた。しかし、HGF は非活性型蛋白として分泌されており、傷害粘膜局所で酵素によって活性化される必要がある。我々はこれまで、肝臓で主に発現していると考えられていた HGF activator (HGFA) が、消化管粘膜上皮細胞でも発現しており、傷害組織で活性化され、HGF を非活性型から活性型へ効率良く変換していることを報告してきた。また、この HGFA 活性が上皮細胞の細胞膜上に存在しているプロテアーゼインヒビターである HGFA inhibitor type 1 (HAI-1) によって調節されていることを明らかにしてきた。これらの HGF 活性化関連蛋白質の腸管粘膜再生における意義をさぐるために HGFA と HAI-1 のノックアウトマウスをそれぞれ作製し、その解析をおこなったので報告する。また HAI-1 類似のインヒビターである HAI-2 についても検討を行い、その遺伝子構造を解析し、その過程で新規の核移行ペプチドを見出した。

### B. 研究方法

HGFA 遺伝子のエクソン 2-4 の領域をネオマイシン耐性遺伝子におきかえたターゲットベクターを、常法どおり ES 細胞

に遺伝子導入し、生まれたキメラマウスを交配させることによって HGFA ノックアウトマウスを作製した。また、HAI-1 遺伝子のエクソン 3-10 の領域をネオマイシン耐性遺伝子におきかえたターゲットベクターを作成し、上記と同様の方法で HAI-1 ノックアウトマウスを作成した。

マウスの実験腸潰瘍モデルは、3%のデキストラン硫酸水を飲ませることで作成した。

### (倫理面への配慮)

動物実験にあたっては施設の規定に従い動物愛護に十分考慮して行なった。

### C. 研究結果

HGF ノックアウトマウスは肝臓及び胎盤の形成不全により胎生致死であることが報告されている。一方、HGFA ノックアウトマウスは正常に生まれ、正常の生殖能を有していた。従って、発生の段階で必要とされる HGF 活性化については他の酵素によって代償されることが明らかとなった。しかし、正常マウスの血清中にみられた HGF 活性化の活性はノックアウトマウス血清中には認められなかったため、血清中の HGF 活性化酵素は HGFA であると考えられた。実験的にデキストラン硫酸を経口投与して作製した大腸炎では、コントロールマ

ウスは投与中止後3日目には一部うっ血や浮腫が認められるもののほぼ粘膜上皮細胞による再被覆 (restitution) が完了しているのに対し、ノックアウトマウスでは、投与中止後の restitution が遅延し、粘膜上皮の再生が遅れることが判明した。

一方で、HAI-1 ノックアウトマウスは胎生約 10.5 日で致死であった。また、HAI-2 の遺伝子構造を解析する過程で、HAI-2 遺伝子の下流に存在する新規の核移行ペプチドを見出し、H2RSP と名づけた。H2RSP は消化管上皮に発現しており、上皮細胞の分化に伴い核に移行する可能性が示唆された。

#### D. 考察

正常な成長時の HGF の活性化には HGFA は関与していないか、あるいは他の酵素で代償されている可能性が考えられるが、炎症や組織障害後の消化管粘膜上皮再生には HGFA による局所での HGF の活性化が大きな役割を果たしていることが示唆され、難治性消化管潰瘍性病変の治療に、活性化型 HGF の投与と共に、内在性 HGF の活性化を促す HGFA が活用できる可能性が考えられる。

一方で、HAI-1 ノックアウトマウスは胎生約 10.5 日で致死であった。HAI-1 類似の蛋白である HAI-2 も胎生早期に致死であること、HGF ノックアウトマウスが胎生 14.5 日で致死であることから、HAI-1 と HAI-2 は互いに代償し得ない、極めて重要な機能が組織発生の段階にあり、それは HGF の活性化調節とは別のものである可能性が高い。HAI-1 が消化管上皮に強く発現していることから、この蛋白質の新たな機能を解明することは、消化管

粘膜再生の分子機構を理解するうえで、重要なことであると考えられる。

また、新たに見出した核移行ペプチドである H2RSP も消化管上皮に強く発現しており、細胞の分化と共に核に移行する。このペプチドの機能解明もやはり、消化管粘膜再生の分子機構を理解するうえで重要であると考えられる。

#### E. 結論

HGFA と HAI-1 のノックアウトマウスを作製した。正常な成長には、HGFA は大きな影響を及ぼさないが、炎症や組織障害後の消化管粘膜上皮再生には HGFA による局所での HGF の活性化が大変重要で大きな役割を果たしていることが示唆された。現在さらに実験数を増やしてこの結果を確認するとともに、マウスリコンビナント HGFA を作製し、治療に応用できるかどうか検討中である。一方で HAI-1 は正常の発生に必須であることが明らかとなり、その機能については今後の検討が必要である。また、消化管上皮の分化に関与する可能性のある核移行ペプチド (H2RSP) を見出した。

#### F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 粘膜再生における MMPs の役割と cDNA アレイ解析

分担研究者 今井浩三 札幌医科大学第1内科 教授

研究要旨：炎症性腸疾患における傷害腸管上皮修復・再生の分子機構を明らかにすることを目的とする。MMPs 制御による上皮・ECM の破壊・再生のインバランス是正が粘膜再生療法として新たな治療戦略となる可能性を示した。また、ヒト潰瘍性大腸炎における再生関連遺伝子の発現異常を新規に同定した。

### A. 研究目的

腸管炎症における Matrix Metalloproteinase (MMP) の役割を解明し腸炎の治療応用を検討する。また、潰瘍性大腸炎 (UC) における腸管上皮再生機構の異常を同定する。

### B. 研究方法

(1) マウス DSS 腸炎における各種 MMP の発現を検討した。(2) *in vitro* および *in vivo* において TNF- $\alpha$  下流のシグナル伝達阻害剤 (MEK1/2 阻害剤 PD98059, p38 阻害剤 SB 203580, proteasome 阻害剤 MG132) および特異的 siRNA による MMP-3, MMP-10 発現抑制実験を行った。(3) UC16 例の生検標本を用いて 1500 遺伝子の発現プロファイルを cDNA アレイにて解析した。遺伝子研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究における倫理指針を遵守した。

### C. 研究結果

(1) MMP-3 は 200 倍, MMP-10 は 100 倍 mRNA 発現が亢進し, これらは炎症と平行に増減した。一方 MMP-7 は回復期に上昇した。(2) MMP-7 は上皮に, MMP-3 および MMP-10 は間質に局限し発現した。(3) *in vitro* では MMP-3 発現はシグナル阻害剤により 36~57%, siRNA では 20% 以下に抑制された。(4) *in vivo* において, シグナル阻害剤および siRNA の腹腔内投与により, MMP-3, MMP-10 mRNA の発現抑制および腸炎の抑制効果を認めた。(5) UC 活動期に発現が亢進する遺伝子群において,

緩解期にも発現が亢進する REG1C, SOD2 と逆に低下する Elafin, TIMP1, PLA2 を同定した。

### D. 考察

腸炎モデルにおいて MMP-3 および 10 が腸管組織破壊へ関与し, 一方, MMP-7 は上皮修復に関与していることが示唆された。MMP-3 の発現は, MAP キナーゼ, NF- $\kappa$ B 阻害により抑制された。我々の設計した siRNA は高率にこれらの発現を抑制し, DSS 腸炎抑制効果が明らかであった。また, ヒト潰瘍性大腸炎において再生関連遺伝子の発現異常を新たに同定した。

### E. 結論

MMP 特異的阻害による腸炎抑制効果は明らかであり, MMPs は有望な炎症性腸疾患の治療標的であることが示唆された。新たに同定された再生関連遺伝子が UC における上皮再生機構の異常を直接反映するものと考えられた。

### F. 文献

Therapeutic implications of stromelysins in IBD.  
(submitted)

### G. 知的所有権の取得状況：なし

## 炎症性腸疾患の粘膜再生に基づく新規治療法としての HGF 遺伝子治療と抗 IP-10 抗体療法の検討

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。われわれは、ケモカインの一つである CXCL10/IP-10 の中和抗体による制御と、肝細胞増殖因子 (HGF) の遺伝子治療による二つの方法で粘膜再生に基づく新規治療法開発の可能性を検討した。デキストラン硫酸大腸炎 (DSS) モデルに対する両者の実験結果はともに腸炎治療効果がみられ、粘膜再生に基づいた炎症性腸疾患の新規治療法となりうる可能性が示唆された。今後、両治療法の更に詳細な効果発現機序の解明と安全な投薬経路の確立などの検討が必要と考えられた。

### 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。我々は腸上皮障害修復再生においても重要な因子として明らかとなった肝細胞増殖因子 (HGF) の遺伝子治療と、Th1 細胞に遊走活性を示すケモカインである CXCL10/IP-10 の制御による炎症性腸疾患の粘膜再生に基づく新規治療法開発の基礎的検討を、デキストラン硫酸大腸炎 (DSS) モデルを用いて行なった。

### B. 研究方法

#### 1) HGF 遺伝子治療

8 週齢 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。

#### 2) 抗 IP-10 療法

8 週齢 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。

(倫理面への配慮)

両実験ともに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

#### 1) HGF 遺伝子治療

HGF 遺伝子導入マウスでは、遺伝子導入翌日にピーク値をもつ血中 HGF の上昇がみられ、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、BrdU 陽性上皮細胞の増加、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。

#### 2) 抗 IP-10 抗体療法

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、組織学的な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

##### 1) HGF 遺伝子治療

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発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。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。

##### 2) 抗 IP-10 抗体療法

DSS 腸炎において抗 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。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。

#### E. 結論

HGF 遺伝子治療と抗 IP-10 抗体療法はともに粘膜再生に基づいた炎症性腸疾患の新規治療法となりうる可能性が示唆された。また、両者併用療法が腸炎治療効果に相乗的に作用するか検討する必要性がある。今後、両治療法の更に正確な効果発現機序の解明と安全な投薬経路の確立などの検討が必要と考えられた。

#### F. 文献

- 1) Sasaki S, Yoneyama H, Suzuki K, Suriki H, Aiba T, Watanabe S, Kawauchi Y, Kawachi H, Shimizu F, Matushima K, Asakura H, Narumi S. Blockade of CXCL10 protects mice from acute colitis and enhances crypt cell survival. *Eur J Immunol* 2002; 32: 3197-3205.
- 2) Han GD, Koike H, Nakatsue T, Suzuki K, Yoneyama H, Narumi S, Kobayashi N, Mundel P, Shimizu F,

Kawachi H. IFN-inducible protein-10 has a differential role in podocyte during Th1.1 glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3111-26.

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

## 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 宮崎医科大学内科学第2 教授

研究要旨：炎症性腸疾患に対する肝細胞増殖因子（HGF）治療法の確立を目指して、動物モデルを用いて、HGF の効果と作用機序を検討した。硫酸デキストラン（DSS）腸炎ラットに対して、遺伝子組み換えヒト HGF（rhHGF）を静脈投与すると、DAI score は HGF 投与群ではその上昇は軽度で、体重減少も軽度であった。また、HGF 投与群では大腸全長の短縮程度は抑制され、DSS 投与 3 日後の大腸病理組織所見は、コントロール群では広範な上皮剥離と高度な炎症細胞浸潤が見られたが、HGF 群では炎症細胞浸潤は軽度であった。さらに、HGF 投与群では DSS 投与 3 日後の血中 IL-1 $\beta$  は有意に低値で、大腸組織中のサイトカイン（IL-1 $\beta$ 、IL-6、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ）は低い傾向で、アポトーシスもコントロールより軽度であった。以上のことから、抗炎症、抗アポトーシス作用を介した、炎症性腸疾患に対する HGF の効果が期待できると考えられる。

### A. 研究目的

炎症性腸疾患に対する肝細胞増殖因子（HGF）治療法の確立を目指して、硫酸デキストラン（DSS）腸炎ラットに対して、遺伝子組み換えヒト HGF（rhHGF）を静脈投与し、その効果と作用機序を検討した。

### B. 研究方法

7 週齢の wistar ラット（雄）に 5% DSS 溶液を 6 日間自由飲水させて腸炎を誘発し、DSS 投与開始日から、rhHGF を 0.5mg/kg/日、尾静脈より投与した。体重、DAI（Disease Activity Index）score は連日、大腸全長と大腸病理所見は DSS 投与 3 および 6 日後に、血中サイトカインと大腸組織中のサイトカイン、アポトーシス関連分子は DSS 投与 3 日後に比較検討した。

#### （倫理面への配慮）

動物実験指針に従い、実験動物に対する動物愛護上の配慮を十分行っている。また、当施設の動物実験委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

①DAI score は HGF 投与群ではコントロール群と比べてその上昇は軽度で、体重減少も軽度であった。②コントロール群と比較して、HGF 投与群では大腸全長の短縮程度と大腸粘膜の炎症細胞浸潤は軽度であった。③

DSS 投与 3 日後の血中 IL-1 $\beta$  は HGF 投与群が有意に低値であった。④大腸組織中のサイトカイン（IL-1 $\beta$ 、IL-6、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ）と Caspase3 は HGF 投与群では低い傾向であった。

### D. 考察

今までに、急性肝不全モデルに対する HGF の抗アポトーシス作用は報告されている。また、我々は、DSS 腸炎ラットにおいて腸粘膜上皮細胞の増殖促進作用を介した HGF の有効性を報告している<sup>1)</sup>。今回は、DSS 腸炎ラットに対する HGF の効果には、抗炎症、抗アポトーシス作用を介する機序が存在する可能性を初めて示した。

### E. 結論

腸粘膜上皮細胞の増殖促進作用だけでなく、抗炎症、抗アポトーシス作用を介した炎症性腸疾患患者に対する HGF の効果が期待できる。

### F. 文献

1) Tahara Y. et al. Hepatocyte growth factor facilitates colonic mucosal repair in experimental ulcerative colitis in rats. J Pharmacol Exp Ther 307, 146-151, 2003.

- G. 知的所有権の取得状況  
なし。
- 3. その他  
なし。

## 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服対策研究事業  
「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

# 炎症性腸疾患モデルに対する肝細胞増殖因子の効果

分担研究者 福田能啓 兵庫医科大学消化器内科 助教授

研究要旨：炎症性腸疾患モデルに対する肝細胞増殖因子の治療効果を検討した。潰瘍面積、組織学的ダメージスコア、myeloperoxidase 活性において有意に、コントロール群と比較して肝細胞増殖因子投与群で治療効果がみられ、臨床応用の可能性が期待される。

### 共同研究者

堀 和敏、應田義雄 兵庫医科大学消化器内科

### A. 研究目的

肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor, 以下 HGF) は hepatotrophic factor として機能するのみならず、epithelial growth factor として機能する。本研究は炎症性腸疾患に対する HGF の治療効果を、動物モデルを用いて検討することを目的とする。

### B. 研究方法

10 週齢雄ラットに Trinitrobenzen-sulfonic acid (TNBS) 注腸または dextran sulfate sodium (DSS) 経口投与し、炎症性腸疾患モデルを作製した。Recombinant human HGF (三菱ウエルファーマ社より供与) をモデル作製後 5 日目より浸透圧ポンプを用いて持続腹腔内投与し (50  $\mu$ g/day)、投与開始後 7 日目で屠殺した。潰瘍面積、組織学的ダメージスコア、myeloperoxidase (MPO) 活性 (急性炎症の指標)、Ki-67 labeling index (LI) (上皮増殖能の指標) でその治療効果を評価した。なお、本実験は兵庫医科大学動物実験規準に基づいて、動物実験委員会の承認を経た後実施した。

### C. 研究結果

潰瘍面積、組織学的ダメージスコア、MPO 活性においては、TNBS モデル、DSS モデルとも有意に、コントロール群と比較して HGF 群で治療効果がみられた。しかし、Ki-67 LI は両モデルともコントロール群と HGF 群との間に有意な差はみられなかった。

### D. 考察

HGF はこれまで報告されている増殖因子としての作用に加えて、抗炎症的に作用する可能性が示唆されるが、今後の検討を要する。

### E. 結論

HGF は炎症性腸疾患モデルに対して粘膜修復効果があり、臨床応用に向けての開発が期待される。

## 腸上皮細胞創傷治癒における Toll like receptor を介した細菌、ウイルス抗原の関与

協力研究者 渡辺純夫 秋田大学医学部消化器内科 教授

研究要旨：小腸上皮細胞 (IEC) 創傷治癒過程における Toll-like receptor (TLR) を介した細菌やウイルス抗原の関与について検討を行った。ラット小腸上皮細胞 (IEC-6) は、TLR3, 4, 5, CD14, MD-2 mRNA を発現し、TLR3, TLR4 のリガンドであるウイルス二本鎖 RNA の合成アナログ (Poly IC) や TLR4 リガンド (LPS) 刺激によりサイトカイン産生が誘導されるとともに、これらのリガンド刺激は IEC の創傷治癒にも影響を与えることが明らかとなった。

### A. 研究目的

腸粘膜上皮細胞は常に細菌、ウイルスなどの抗原に暴露されており、これらの抗原に対するバリアーの役割を担っているものと考えられている。細菌やウイルス抗原の認識に Toll like receptor (TLR) が重要な役割を果たしていることが明らかにされつつあるが (1) - (6)、最近ヒトの腸上皮細胞も TLR を発現し、腸管の自然免疫に関与している可能性が報告されている (7) - (10)。われわれは、TLR のリガンドである細菌やウイルス抗原が、TLR を介し腸上皮細胞の創傷治癒にどのように関与しているのかをラット小腸上皮細胞 (IEC-6) を用いて検討を行った。

### B. 研究方法

(1) TLR の発現：IEC-6 細胞における各種 TLR (2, 3, 4, 5, 9), CD14, MD-2 mRNA の発現を RT-PCR にて判定した。  
(2) Wound Assay：コンフルエントに達した IEC-6 細胞に wound 形成後、培養液中に TLR2 リガンド；黄色ブドウ球菌菌体成分 Lipoteichoic acid (LTA)、TLR3 リガンド；ウイルス二本鎖 RNA の合成アナログ polyinosine-polycytidylic acid (Poly IC)、TLR4 リガンド；大腸菌またはサルモネラ菌細胞壁構成成分 lipopolysaccharide (LPS) を加え 24 時間培養後、wound area に集積した migration 細胞数を算定した。(3) サイトカインの誘導：IEC-6 細胞を LTA (10  $\mu$ g/ml)、Poly IC (100  $\mu$ g/ml)、LPS (10  $\mu$ g/ml) で刺激し、2 ジカンゴノ TNF- $\alpha$ 、IL-6 mRNA の発現を RT-PCR にて測定した。(4) TLR mRNA の誘導：IEC-6 細胞を Poly IC (100  $\mu$ g/ml)、

LPS (10  $\mu$ g/ml) で刺激し、1, 2, 8, 24 時間後の TLR3, TLR4 mRNA の発現を定量 RT-PCR にて測定した。(5) シグナル伝達経路の活性化：IEC-6 細胞を、(3) と同様に LTA, Poly IC, LPS で刺激し、刺激後 15 分、30 分、1 時間における I $\kappa$ B- $\alpha$ 、p44/42 MAPK タンパクのリン酸化を Western blot にて調べた。

### (倫理面への配慮)

細胞株を使用した研究であり、ヒトサンプルは使用していない。

### C. 研究結果

(1) IEC-6 細胞では、TLR3, 4, 5, CD14, MD-2 mRNA の発現を認めたが、TLR2, 9 mRNA の発現は認められなかった。(2) Wound area における migration 細胞数は、LTA 刺激後は無刺激と差がなかったが、Poly IC 刺激後 0.66 倍に減少、LPS 刺激後は逆に 1.24 倍に増加を示した。(3) TNF- $\alpha$ 、IL-6 mRNA の発現は Poly IC, LPS 刺激により誘導されたが、LTA では明らかな発現の誘導は認められなかった。(4) Poly IC, LPS による刺激により、TLR3 (最大 24 時間後)、TLR4 (最大 2 時間後) mRNA 発現量は増加を示した。(5) Poly IC, LPS 刺激により、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、MAPK 両者のリン酸化を認めたが、LTA 刺激後は MAPK のみ軽度のリン酸化を認めた。

### D. 考察

小腸上皮細胞株 IEC-6 は各種細菌菌体成分やウイルス RNA に反応を示し、細胞内シグナル伝達経路が活性化

されるとともにサイトカインの産生が誘導された。さらに、各種細菌菌体成分やウイルス RNA は、TLR を介して腸上皮細胞の創傷治癒にそれぞれ異なった作用を示すことが明らかになった。このことより、腸内細菌叢の変化など腸内環境の変化は腸上皮細胞の創傷治癒に影響を及ぼしうるものと考えられ、また腸内細菌叢をコントロールすることにより炎症性腸疾患の病態を改善しうる可能性があることが示唆された。

#### E. 結論

各種細菌菌体成分やウイルス RNA は、小腸上皮細胞の創傷治癒に影響を及ぼしうるものと考えられた。

#### F. 文献

- 1) 若林靖貴、三宅健介：自然免疫の分子基盤. 細胞工学 21: 1304-1307, 2002.
- 2) 竹田 潔、審良静男：Toll-like receptor の特異性とシグナル伝達. 細胞工学 21: 1309-1311, 2002.
- 3) Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 406: 782-787, 2000.
- 4) Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 86: 973-983, 1996.
- 5) Poltorak A, He X, Smirnova I, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science* 282: 2085-2088, 1998.
- 6) Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol*: 3749-3752, 1999.
- 7) Cario E, Rosenberg IM, Brandwein SL, et al. Lipopolysaccharide activates distinct signaling pathways in intestinal epithelial cell lines expressing toll-like receptors. *J Immunol* 164: 966-972, 2000.
- 8) Rueemmele FM, Beaulieu JF, Dionne S, et al. Lipopolysaccharide modulation of normal enterocyte turnover by toll-like receptors is mediated by endogenously produced tumour necrosis factor  $\alpha$ . *Gut* 51: 842-848, 2002.
- 9) Hornef MW, Frisan T, Vandewalle A, et al. Toll-like receptor 4 resides in the Golgi apparatus and colocalizes with internalized lipopolysaccharide in intestinal epithelial cells. *J Exp Med* 195: 559-570, 2002.
- 10) Suzuki M, Hisamatsu T, Podolsky DK. Gamma interferon augments the intracellular pathway for lipopolysaccharide (LPS) recognition in human intestinal epithelial cells through coordinated up-regulation of LPS uptake and expression of the intracellular Toll-like receptor 4-MD-2 complex. *Infect Immun* 71: 1-9, 2003.

## 腸管ベーチェット病・単純性潰瘍の診療に関する コンセンサス・ステートメントの開発

協力研究者 上野文昭 大船中央病院内科 部長

研究要旨：炎症性腸疾患の診療指針作成の先行モデル開発の可能性を評価する目的で、エキスパート・パネルとデルファイ法を用いた腸管ベーチェット病・単純性潰瘍の診療に関するコンセンサス形成を試みた。エビデンスが欠如する疾患に対しても客観的なコンセンサス形成が可能で、炎症性腸疾患の診療指針を開発する上で有用と考えられた。

### 共同研究者

飯塚文瑛（東京女子医科大学）、  
五十嵐正広（北里大学）、岩男泰（慶應義塾大学）、  
小林健二（東海大学）、杉田昭（横浜市立大学）、  
岳野光洋（横浜市立大学）、  
尾藤誠司（国立病院東京医療センター）、  
樋渡信夫（いわき市立総合磐城共立病院）、  
福島恒男（横浜市立市民病院）、  
松井敏幸（福岡大学筑紫病院）、  
松田隆秀（聖マリアンナ医科大学）、  
松本蒼之（大阪市立大学）

### A. 研究目的

炎症性腸疾患（以下 IBD と略す）の診療に影響をもたらす新しい研究成果が蓄積している中で、エビデンスに基づく診療ガイドラインの開発が望まれている。しかしながら、専門性が高い IBD 診療の特徴から、エビデンスと専門医の意見の双方に基づいた診療指針の作成が望ましい。

IBD 類縁疾患である腸管ベーチェット病・単純性潰瘍の診療に関する臨床エビデンスは希薄であり、診療指針を作成する上で専門医のコンセンサス形成が有用と考えられる。今回われわれは IBD の診療指針作成の先行モデル開発の可能性を評価することを目的として、腸管ベーチェット病・単純性潰瘍の診療に関する公式的コンセンサス形成を試みた。

### B. 研究方法

1. パネルの設立：4名で構成される評価パネルと、IBD 専門医、リウマチ専門医および病院管理者の計 10名で構成される専門家パネルを設立した。
2. 初期指標項目の抽出：評価パネルにより、文献的情報の収集・吟味、IBD 専門医に対する現行の診療内容調査、専門家パネル委員相互の意見交換からの情報収集を行い、腸管ベーチェット病・単純性潰瘍の診療指標を作成した。
3. 指標項目の適切性評価：これらの指標を専門家パネルに配布し、各委員がその適切性を 9段階に評価した。集計結果を基にそれぞれの指標に対する評価の中央値と最小値・最大値の幅を算出した。
4. エクスパート・パネル会議：専門家パネル委員を招集し、コンセンサス形成のための協議を行った。事前の評価で採択に不十分な中央値（6～6.5）の項目と最小値・最大値の幅が大きく（5以上）コンセンサスが得られていない項目を中心に適切性を討議した。
5. 再評価と指標項目の選定：エキスパート・パネル会議での討議内容に基づき、評価パネルにより診療指標が再構築され、専門家パネルによる再評価を受けた。
6. ステートメントの作成：適切性に関するコンセンサスが得られた診療指標項目を評価パネルが合成し、腸管ベーチェット病・単純性潰瘍の診療に関するステートメントを作成した。なお個々の専門家パネル委員の評価は公開されなかった。

## (倫理面への配慮)

本研究の方法論から考えて、研究者および研究対象者に対する倫理上の問題点は指摘できない。

## C. 研究結果

1. 初期指標項目の抽出：文献調査により腸管ペーチェット病の診療に関連性が高いと考えられる32文献が選択され35項目の診療指標が作成されたが、腸管ペーチェット病・単純性潰瘍の診療に関する質の高いエビデンスは見つからなかった。質問紙に対する回答と自由意見交換の結果を基に診療指標をプールし、計244項目の指標を作成した。
2. 指標項目の適切性評価：中央値7以上の項目は56.1%となったが、約半数の項目で最大値・最小値の幅が4以上であり、意見の解離を見た。
3. パネル会議後の再評価と指標項目の選定：パネル会議での討議結果から250項目の指標が再構築された。専門家パネル委員による再評価の結果、中央値7以上の項目の増加を見たのみならず、最大値・最小値の幅の減少が顕著となり意見の集約が可能となった。最終的に9段階評価の中央値8以上の項目を中心に中央値7の項目を一部加えてステートメントが作成された（付記文書）。

## D. 考察

腸管ペーチェット病・単純性潰瘍の診療に関する質の高いエビデンスはほとんど存在しない。コンセンサス形成にあたり文献調査を先行させたが、よくデザインされた介入研究を見出すことができなかった。したがってステートメントは専門家の意見調整に基づくものが大部分である。

今回のコンセンサス形成のために、海外において臨床の質評価指標を開発するために繁用されるエキスパート・パネルとデルファイ法を用いた。結果として得られたステートメントの内容は常識的であるが、一定の手法に則って作成されたことに意義を見出せる。個人の意見にとどまらず規則性を持って作成された意見の集成であるため、実際の運用にあたって信頼が置けることと思われる。

推奨される診療に関するステートメントは、あくまでもプロジェクト研究グループによる学術研究成果である。関連団体との調整や外部審査を経ていないため、運用に際しての利害の衝突は考慮されていない。また、多くの診療指標項目が保険適用範囲外と考えられることも運用上の注意点と考えられる。

エキスパート・パネルとデルファイ法を用いたプロセスは、腸管ペーチェット病・単純性潰瘍のようなエビデンスの少ない疾患対象においてもある程度論理的なコンセンサス形成を可能にした。エビデンスの蓄積がありながらも専門医の意見を十分考慮すべきIBDの診療指針を作成する上で応用可能と考えられる。

## E. 結論

エキスパート・パネルとデルファイ法を用いて腸管ペーチェット病・単純性潰瘍の診療に関するコンセンサス・ステートメントを作成した。IBDの診療指針を開発する上で、同様な方法論が有用と考えられる。

## 付記：腸管ペーチェット病・単純性潰瘍の診療に関する推奨指標（案）

### ○ 診断

#### A. 診断基準

1. 回盲部に卵円形の巨大潰瘍、その他の潰瘍があるか、または他の腸疾患と診断できないような小腸・大腸の潰瘍や炎症があり、ペーチェット病診断基準の完全型あるいは不全型の条件を満たせば腸管ペーチェット病と診断する。
2. 回盲部に卵円形の巨大潰瘍またはその他の潰瘍があり、ペーチェット病診断基準の完全型あるいは不全型の条件を満たさない場合、単純性潰瘍と診断する。
3. 単純性潰瘍の経過中に、ペーチェット病の診断基準を満たすような症状が出現した場合には、その時点で腸管ペーチェット病と診断する。

#### B. 診断法

1. 腸管ペーチェット病の臨床所見として、腹痛、血便、口腔内アフタ、皮膚所見、陰部潰瘍、関節痛などに注目するが、これらは一度に揃わなくてもよい。
2. 腸管ペーチェット病・単純性潰瘍を診断するためには、大腸内視鏡検査（含生検）、注腸X線造影、血液炎症反応検査を行う。また腸管ペーチェット病を疑う例では、上部消化管内視鏡検査や小腸造影などにより、診断と病変範囲を確定する必要がある。
3. 腸管ペーチェット病・単純性潰瘍の診断に際しては、結核、クローン病、分類不能大腸炎、薬剤性腸炎などの可能性を除外する必要がある。

4. 腸管ペーチェット病疑診例では、皮膚科，眼科，整形外科，神経内科などの診察を依頼すべきである。

#### C. 重症度の評価基準

1. 腸管ペーチェット病・単純性潰瘍の重症度に関しては明確な基準を設けることができない。全身症状の有無，腹部症状の程度，潰瘍の深さや出血の有無，炎症反応や貧血の程度などから総合的に判断する。

#### ○ 治療

##### A. 標準的治療

1. 腸管ペーチェット病と単純性潰瘍に対する各種治療法の適応は基本的に同一と考えてよいが，眼病変を有するペーチェット病症例では，眼科医の治療方針と調整すべきである。
2. 5-ASA 製剤を基本薬として使用し，有症状者をはじめとしてほとんどすべての例で適応となる。メサラジンの投与量は成人の場合 2.25～3.0g/day を基本とし，サラゾスルファピリジンは 3～4g/day を基本とする。
3. ステロイドは一般に腹部症状や全身症状の強い例や出血を繰り返す例などで適応となる。また，軽症例でも 5-ASA 製剤投与後，症状の改善が見られない例でも適応と考えられる。
4. ステロイドの初期投与量は PSL 0.5～1.0mg/kg/day を目安として開始し，初期治療の期間は 1～2 週程度として改善があれば週 5mg ぐらいずつ漸減し，可能なら中止する。維持療法はできるだけ避け，10mg/day を超えた長期投与は行わないようにする。
5. ステロイドを漸減・中止する指標として，臨床症状の消失，CRP 値，潰瘍の治癒を考慮する。
6. 免疫抑制薬はステロイド抵抗例や依存例で適応となり，アザチオプリン 50～100mg/day などを投与する。

7. 成分栄養剤を用いた経腸栄養療法は，薬物治療抵抗例や重症度の高い例などで適応となる。また，完全静脈栄養や絶食にて症状改善が得られた例では経腸栄養に移行する。

8. 経腸栄養剤は，症状や炎症反応が改善し潰瘍が縮小すれば減量し，患者の認容性を考慮した上で維持する。
9. 完全静脈栄養は，発熱などの全身症状が強く，狭窄，瘻孔，出血などを伴う例，穿孔の危険が高いと判断される場合などの急性期に短期間用いる。
10. 外科治療は，狭窄，穿孔，大量出血例の他，回盲部に限局した難治例で適応となる。腸管切除を行う場合には，切除範囲が最小限となるようにする。また術後の再発が多いので，5-ASA 製剤や経腸栄養などの治療を併用する。

##### B. オプション治療

1. 経腸栄養を受け付けず，ステロイド依存性で免疫抑制薬投与後も出血などの症状が続く場合にはインフリキシマブを考慮する。
2. 完全・不全型のペーチェット病で，特に眼病変を有する場合にはコルヒチンを投与する。
3. ステロイド無効例や依存例では白血球除去療法も考慮する。
4. その他のオプション治療（サリドマイド，抗菌薬，内視鏡的エタノール撒布など）に関しては推奨に値する一定のコンセンサスが形成されていない。

#### ○ 経過観察

1. 不全型腸管ペーチェット病の症例では，確定診断のための臨床症候を長期に観察する必要がある。腸管ペーチェット病と単純性潰瘍の鑑別診断には長期経過観察が有用である。
2. 治療効果の判定には，臨床症状，血液検査による炎症反応，画像検査による腸病変などの改善を指標とする。
3. 治療変更時や緩解確認には内視鏡検査を行う。

# 研究成果の刊行に関する一覧表

論文

発表者	論文タイトル	発表誌	巻号	ページ	出版年
棟方昭博 石黒 陽 山形和史	炎症性腸疾患の診断と重症度判定.	外科治療	89 (3)	255-262	2003
棟方昭博 坂本十一	潰瘍性大腸炎の内科治療.	臨床消化器内科	18 (7)	155-165	2003
山形和史 石黒 陽 棟方昭博	長期経過例からみた腸型 Behç et 病と単純性潰瘍の治療.	胃と腸	38 (2)	193-199	2003
石黒 陽 山形和史 棟方昭博	腸疾患の症状からみた診断の進めかた—診察・検査のポイント.	Medical Practice	20 (2)	206-213	2003
Munakata, A. Ishiguro, Y.	Interaction between luminal bacteria and innate immunity.	Journal of Gastroenterology	38 (2)	200-201	2003
石黒 陽 山形和史 棟方昭博	Crohn 病の病態からみた臨床症状発現機序.	医学のあゆみ	207 (12・13)	973-976	2003
Yasui, H. Andoh, A. Bamba, S. Inatomi, O. Fujiyama, Y.	Role of Fibroblast growth Factor-2 in the Expression of Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Human intestinal Myofibroblasts.	Digestion	69	34-44	2004
Ogawa, A. Andoh, A. Araki, Y. Bamba, T. Fujiyama, Y.	Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice.	Clin Immunol	110	55-62	2004
Andoh, A. Fujino, S. Hirai, Y. Fujiyama, Y.	Epimorphin expression in human colonic myofibroblasts.	Int J Mol Med	13	57-61	2004
Andoh, A. Tsujiyama, T. Ishizuka, I. Araki, Y. Sasaki, M. Koyama, S. Fujiyama, Y.	N-3 fatty acid-rich diet prevents early response of interleukin-6 elevation in trinitrobenzene sulfonic acid-induced enteritis.	Int J Mol Med	12	721-725	2003
Bamba, S. Andoh, A. Yasui, H. Araki, Y. Bamba, T. Fujiyama, Y.	Matrix metalloproteinase-3 secretion from human colonic subepithelial myofibroblasts: role of interleukin-17.	J Gastroenterol	38	548-554	2003
Araki, Y. Andoh, A. Fujiyama, Y.	The free radical scavenger edaravone suppresses experimental dextran sulfate sodium-induced colitis in rats.	Int J Mol Med	12	125-129	2003
Bamba, S. Andoh, A. Yasui, H. Makino, J. Kim, S. Fujiyama, Y.	Regulation of IL-11 expression in intestinal myofibroblasts: role of c-Jun AP-1- and MAPK-dependent pathways.	Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol	285	G529-538	2003

Matsumoto, T. Iida, M.	Multiple microcarcinoids in a patient with long standing ulcerative colitis.	J Clin Pathol	56	963-965	2003
Matsumoto, T. Iida, M.	Chromoscopy might improve diagnostic accuracy in cancer surveillance for ulcerative colitis.	Am J Gastroenterol	98	1827-1833	2003
Jo, Y. Matsumoto, T. Iida, M.	CCR4 is an up-regulated chemokine receptor of peripheral blood memory CD4+ T cells in Crohn's disease.	Clin Exp Immunol	132	332-338	2003
Jo, Y. Matsumoto, T. Iida, M.	Addition of leukocytapheresis to steroid therapy. Is it beneficial in recurrence of moderate-to-severe ulcerative colitis?.	Dis Colon Rectum	46	S3-S9	2003
松本主之 飯田三雄	長期経過例からみた腸型 Behcet 病と単純性潰瘍の病態.	胃と腸	38	159-172	2003
佐々木 巖 舟山裕士 福島浩平 柴田 近 高橋賢一 橋本明彦 長尾宗紀 渡辺和宏 羽根田 祥 内藤広郎	クローン病に対する腹腔鏡補助下手術.	臨床消化器内科	18 (7)	1051-1058	2003
橋本明彦 舟山裕士 内藤広郎 福島浩平 柴田 近 上野達也 北山 卓 長尾宗紀 木内喜孝 佐々木 巖	肛門管癌を合併した Crohn 病の 1 例.	日本大腸肛門病会誌	56 (7)	351-356	2003
Fukushima, K. Funayama, Y. Ogawa, H. Takahashi, K. Sasaki, I.	Decreased exprerssion of syncollin mRNA in colonic epithelial cells of bacteria-challenged germ-free mice and ulcerative colitis.	Gastroenterology	124 (Suppl 1)	A329	2003
Naito, H. Funayama, Y. Fukushima, K. Shibata, C. Hashimoto, A. Sasaki, I. Kikuchi, K.	Functional Changes of stratum corneum of the skin induced by long term steroid administration and creation of ileostomy in patients with ulcerative colitis.	Gastroenterology	124 (Suppl 1)	A217	2003
Fukushima, K. Ogawa, H. Takahashi, K. Naito, H. Funayama, Y. Kitayama, T. Yonezawa H. Sasaki, I.	Non-pathogenic bacteria modulates colonic epithelial gene expression in germ-free mice.	Scand J Gastroenterol	38 (6)	626-34	2003
Fukushima, K. Yonezawa, H. Fiocchi, C.	Inflammatory bowel disease-associated gene expression in intestinal epithelial cells by differential cDNA screening and mRNA display.	Inflammatory Bowel Diseases	9 (5)	290-301	2003