

Biochim Biophys Acta, 1780:467-471, 2008

3. 土肥多恵子、河村由紀：消化器癌の糖鎖不全現象とエピジェネティックな遺伝子発現制御 医学のあゆみ 225 : 660-664, 2008

2. 学会発表

国外

1. T Dohi. TNF superfamily molecules as next therapeutic targets for inflammatory bowel diseases. 10th Symposium of Korean Association for the Study of Intestinal Diseases, Invited lecture. Seoul, Dec 13, 2008
2. Dohi T, Borodovsky A, Kawashima R, Wu P, Kawamura YI, Burkly LC. Tweak/Fn14 Pathway: Role in the Intestinal Inflammation and Tissue Repair. Digestive Disease Week 2008, Selected as Poster of distinction, San Diego, U. S. A., May 18th, 2008
3. Kawashima R, Kawamura YI, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Dohi T. Interleukin-13 Induces Tissue Damage with Relocation of β -Catenin and Modification of Cell-Cell Adhesion in the Epithelial Cells. Digestive Disease Week 2008, Selected as Poster of distinction, San Diego, U. S. A., May 20th, 2008
4. Kawamura YI, Toyota M, Kawashima R, Hagiwara T, Kawamura Y, Dohi T. DNA Hypermethylation Causes Cancer-Associated Changes of Carbohydrate Determinants By Silencing 'Glyco-Genes' in Gastrointestinal Cancer. Digestive Disease Week 2008, San Diego, U. S. A., May 20th, 2008
5. Dohi T: Dose-dependent differential regulation of cytokine secretion from macrophages by fractalkine, 13th. US-Japan GI & Liver Meeting in 21st Century. Tokyo, June 13th, 2008

国内

6. Y I. Kawamura, M Toyota, R Kawashima, T Hagiwara, YJ. Kawamura, F Konishi, Y Saito, R Kannagi, K Imai, Dohi T. Inflammation-associated transcriptional silencing of Sda carbohydrate-synthase gene by DNA hypermethylation in ulcerative colitis. Biochemistry and Molecular Biology (BMB) 2008, 神戸、2008年12月11日
7. Kawashima R, Kawamura IK, Toyama-Sorimachi N, Dohi T. IL-13 disrupts tight junction in the intestinal epithelial cells by modulating expression of ZO-1, occludin and claudin-2. 第38回日本免疫学会学術集会、京都、2008年12月2日
8. Vongsavanh P, Y I. Kawamura, R Kawashima, and Dohi T: Comprehensive analysis of lectin-binding in the colitis and colitis-associated tumors in mice. 第67回日本癌学会学術総会、名古屋、2008年10月28日
9. Y I. Kawamura, M Toyota, R Kawashima, Y J. Kawamura, F Konishi, Y Saito, T Yajima, T Hibi, T Matsumoto, R Kannagi, K Imai, and Dohi T: Transcriptional silencing of Sda carbohydrate-synthase gene by hypermethylation in ulcerative colitis and colitic cancer 第67回日本癌学会学術総会、名古屋、2008年10月29日
10. 土肥多恵子、河村由紀、豊田 実：消化管癌における糖鎖関連遺伝子の DNA メチル化によるサイレンシング JDDW2008, 東京、2008年10月1日
11. 河村由紀、豊田 実、川島 麗、萩原輝記、鈴木 拓、篠村 恭久、時野 隆至、今井浩三、土肥多恵子：DNA メチル化異常により引き起こされる消化管の癌性糖鎖不全現象 日本分子臨床医学会 神戸、2008年7月23日
12. 土肥多恵子：消化管病変における糖鎖発現の意義とそのエピジェネティックな制御機構 第12回GI Cell Biology 研究会 東京、2008年6月19日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

潰瘍性大腸炎におけるDNAメチル化を介した糖鎖合成不全とサイトカイン応答異常の関連



国立国際医療センター研究所
消化器疾患研究部
河村 由紀

共同研究者

国立国際医療センター研究所 国立国際医療センター戸山病院
 ・河村 由紀 ・齊藤 幸夫
 ・川島 麗 慶應義塾大学
 ・萩原 輝記 ・矢島 知治
 ・土肥 多恵子 ・日比 紀文
 札幌医科大学 兵庫医科大学
 ・豊田 実 ・松本 豊之
 ・今井 浩三
 自治医科大学さいたま医療センター
 ・河村 裕
 ・小西 文雄



- 検討した潰瘍性大腸炎26症例の半数以上と、colitic cancer 6症例で、Sd^a糖鎖の発現低下がみられた
- 潰瘍性大腸炎症例およびcolitic cancer症例におけるSd^a合成酵素遺伝子のプロモーター領域のメチル化陽性率は、sporadic cancer症例よりも有意に高かった
- 潰瘍性大腸炎症例において、Sd^a合成酵素遺伝子のメチル化頻度はLPS刺激LPMCからのIL-6産生レベルと有意に相関した

ラット DSS 大腸炎モデルを用いた LCAP の作用機序の検討

研究協力者 光山 慶一 久留米大学医学部内科学講座消化器内科部門 准教授

研究要旨：ラット用 LCAP ミニカラムを作製し、デキストラン硫酸大腸炎モデルに対する効果と作用機序を検討した。LCAP の施行により腸炎の軽減がみられ、その機序の一部は骨髄細胞の動員に起因する炎症抑制作用と組織修復促進作用によることが示唆された。

共同研究者

山崎 博、増田 淳也、竹田津 英稔、桑木 光太郎 佐
田 通夫
久留米大学医学部内科学講座消化器内科部門

A. 研究目的

セルソーバを用いた白血球除去療法 (LCAP) は、活動期潰瘍性大腸炎の緩解導入療法に用いられ、ステロイド抵抗性の重症または中等症の潰瘍性大腸炎に対する高い有効性と安全性が実証されている。しかし、その作用機序についてはまだ不明な点が多い。今回、ラット用 LCAP ミニカラムを作製し、デキストラン硫酸 (DSS) 大腸炎モデルに対する効果と作用機序を検討した。

B. 研究方法

新たに開発したラット用ミニカラムの血球除去能を検討した。8 週齢 SD 雄性ラットを用いて 3%DSS を 10 日間自由飲水させて大腸炎を作製したのちに、ミニカラムまたは Sham カラムを用いて体外循環を施行し、DSS 大腸炎に対する有効性を検討した。つぎに末梢血単核球の増殖応答、サイトカイン産生能、末梢血顆粒球の活性酸素産生能、骨髄細胞の動員能、大腸組織修復能について検討した。

(倫理面への配慮)

実験動物の取り扱い等は、久留米大学医学部“動物実験に関する指針”に基づいた。

C. 研究結果

LCAP ミニカラムでの白血球除去率は 78-100% とヒト用カラムとはほぼ同等であった。ミニカラムを用いた体外循環により末梢血顆粒球数、単核球数が治療直後に一過性に上昇した。ミニカラム群における臨床スコア、腸粘膜顆粒球数、MPO 活性は Sham カラム群に比べ有意に改善した。ミニカラム群では末梢血単核球の増殖応答、IL-1 α および TNF- α 産生能は低下し、HGF 産生能は増加した。ミニカラム施行後の末梢血顆粒球の活性酸素産生能は低下した。一方、ミニカラム群においては骨髄での CD90⁺造血幹細胞数と末梢血での血管内皮前駆細胞数は有意に増加し、病変部の Ki-67⁺腸上皮細胞数の増加もみられた。

D. 考察

DSS 腸炎モデルにおいて LCAP の有効性が示された。さらに LCAP では炎症抑制作用と組織修復促進作用により腸炎が改善し、その機序の一部は骨髄細胞の動員に起因することが示唆された。今後さらに検討を進め、より有効性の高い治療法の開発に繋げていく予定である。

E. 結論

LCAP ミニカラムを用いたラット大腸炎モデルの検討は、LCAP の有効性や作用機序の解明に有用と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Mitsuyama K, Andoh A, Masuda J, Yamasaki H, Kuwaki K, Takedatsu H, Seki R, Nishida H, Tsuruta O, Sata M. Mobilization of bone marrow cells by leukocytapheresis in patients with ulcerative colitis. Ther Apher Dial. 12:271-7. 2008

2) Mitsuyama K, Sata M. Therapeutic Leukocytapheresis in Inflammatory Bowel Disease: Clinical Efficacy and Mechanisms of Action. Cytotherapy 2009, in press

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

腸炎惹起性免疫記憶 CD4⁺T 細胞の老化促進を応用した新規治療法の開発

研究代表者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 教授

研究要旨：炎症性腸疾患の病因となる病的 CD4⁺T 細胞は、長期生存することにより、その病的 CD4⁺T 細胞を抑制する制御性 CD4⁺T 細胞に変化し、その制御性 CD4⁺T 細胞は共移入することにより腸炎発症を抑制することを見いだした。

共同研究者

戸塚剛治、金井隆典、富田貴之、根本泰宏、鬼澤道夫、藤井俊光、篠原玉子、亀山佳織、鈴木雅博、山地 統、永石宇司
東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野

A. 研究目的

炎症性腸疾患の病因として炎症惹起性 CD4⁺T 細胞が広く知られているが、長期生存した腸炎惹起性 CD4⁺T 細胞がどのような形質を獲得するかは未だ不明である。そこで我々は、CD4⁺CD45RB^{hi} 移入大腸炎を作製し、大腸炎を発症したマウスの大腸より取り出した lamina propria (LP) CD4⁺T 細胞を再度免疫不全マウスの腹腔内に移入、LPCD4⁺T 細胞移入を繰り返す事により長期生存炎症惹起性 CD4⁺T 細胞を作製、この細胞の機能について検討した。

B. 研究方法

大腸炎を発症したマウスの大腸より取り出した LPCD4⁺T 細胞を再度免疫不全マウスの腹腔内に移入、LPCD4⁺T 細胞移入を繰り返して、大腸炎の発症を経時的に検討した。また、同時に IFN- γ 、TNF- α 、IL-17 などの Th1、Th17 サイトカインの産生能を検討した。次に LPCD4⁺T 細胞移入を繰り返して 7 世代で腸炎未発症マウス LPCD4⁺T 細胞、1 世代で腸炎を発症したマウス LPCD4⁺T 細胞を naïve CD4⁺CD45RB^{hi}T 細胞と共移入し、腸炎抑制能を検討した。

(倫理面への配慮)

実験モデルマウスを用いることに関しては東京医科歯科大学実験動物使用に関する規則に準じ承認を受けている。

C. 研究結果

LPCD4⁺T 細胞移入を繰り返すことで、腸炎発症までの期間が延長し、6 世代までは全例腸炎を発症したが 7 世代以降は腸炎未発症マウスが出現し大腸炎発症率も減少した。また、7 世代マウスは、Th1、Th17 サイトカイン産生が低下した。1 世代 LPCD4⁺T 細胞を共移入した群は腸炎を発症したが、腸炎未発症 7 世代 LPCD4⁺T 細胞を共移入した群は腸炎を発症しなかった。

D. 考察

炎症性腸疾患の病因となる病的 CD4⁺T 細胞が、その病的 CD4⁺T 細胞を抑制する制御性 CD4⁺T 細胞に変化し、その制御性 CD4⁺T 細胞が腸炎発症を抑制することを見いだした。

E. 結論

炎症性腸疾患の病因となる病的 CD4⁺T 細胞が、その病的 CD4⁺T 細胞を抑制する制御性 CD4⁺T 細胞に変化したことを示した世界初の研究成果であり、新規治療方法の開発の基礎研究として画期的な業績である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Onizawa M, Nagaishi T, Kanai T, Nagano K, Oshima S, Nemoto Y, Yoshioka A, Totsuka T, Okamoto R, Nakamura T, Sakamoto N, Tsuchiya K, Aoki A, Ohya K, Yagita H, Watanabe M: Signaling pathway via TNF α /NF κ B in intestinal epithelial cells may be directly involved in colitis-associated carcinogenesis. *Am J Physiol GI & Liver*. (in press), 2009.

2. Takazoe M, Matsui T, Motoya S, Matsumoto T, Hibi T, Watanabe M: Sargramostim in Patients With

- Crohn's Disease: Results of a Phase I-2 Study. *J Gastroenterol.* (in press), 2009.
3. Okamoto R, Tsuchiya K, Nemoto Y, Akiyama J, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Requirement of Notch activation during regeneration of the intestinal epithelia. *Am J Physiol GI & Liver.* 296:G23-G35, 2009.
4. Nemoto Y, Kanai T, Tohda S, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Sakamoto N, Fukuda T, Miura O, Yagita H, Watanabe M: Negative feedback regulation of colitogenic CD4+ T cells by increased granulopoiesis. *Inflamm Bowel Dis.* 14:1491-1503, 2008.
5. Fujii F, Kanai T, Tomita T, Nemoto Y, Totsuka T, Sakamoto N, Nakamura T, Tsuchiya K, Okamoto R, Watanabe M: FTY720 suppresses the development of colitis in lymphoid-null mice by modulating the trafficking of colitogenic CD4+ T cells in bone marrow. *Eur J Immunol.* 38:3290-3303, 2008.
6. Araki A, Tsuchiya K, Okada E, Suzuki S, Oshima S, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Single-operator method for double-balloon endoscopy: a pilot study. *Endoscopy.* 40:936-938, 2008.
7. Murayama M, Okamoto R, Tsuchiya K, Akiyama J, Nakamura T, Sakamoto N, Kanai T, Watanabe M: Musashi-1 suppresses expression of Paneth cell specific genes in human intestinal epithelial cells. *J Gastroenterol.* (in press), 2008.
8. Sawada T, Nishiyama C, Kishi T, Sasazuki T, Komazawa-Sakon S, Xue X, Piao JH, Ogata H, Nakayama J, Taki T, Hayashi Y, Watanabe M, Yagita H, Okumura K, Nakano H: Fusion of One twenty-two to BSAC (Basic, SAP, and coiled-coil domain) results in aberrant upregulation of transcriptional activity. *J Biol Chem.* 283:26820-26828, 2008.
9. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Fujii T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Sakamoto N, Totsuka T, Watanabe M: Colitogenic CD4+ effector-memory T cells actively recirculate in chronic colitic mice. *Inflamm Bowel Dis.* 14:1630-1640, 2008.
10. Yoshioka A, Okamoto R, Oshima S, Akiyama J, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Flagellin stimulation suppresses IL-7 secretion of intestinal epithelial cells. *Cytokine.* 44:57-64, 2008.
11. Tomita T, Kanai T, Fujii T, Nemoto Y, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Sakamoto N, Watanabe M: Continuous generation of colitogenic CD4+ T cells in persistent colitis. *Eur J Immunol.* 38:1264-1274, 2008.
12. Hino K, Tsuchiya K, Fukao T, Kiga K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Inducible expression of microRNA-194 is regulated by HNF-1 during intestinal epithelial cell differentiation. *RNA.* 14:1433-1442, 2008.
13. Tomita T, Kanai T, Fujii T, Nemoto Y, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Sakamoto N, Akira S, Watanabe M: MyD88-dependent pathway in T cells directly modulates the expansion and survival of colitogenic CD4+ T cells in chronic colitis. *J Immunol.* 180:5291-5299, 2008.
14. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Tomita T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M: Immunosenescent colitogenic CD4+ T cells convert to regulatory cells to suppress colitis. *Eur J Immunol.* 38:1275-1286, 2008.
15. Aragaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Yoshioka S, Nakamura T, Sakamoto N, Kanai T, Watanabe M: Proteasomal degradation of Atohl by aberrant Wnt signaling maintains the undifferentiated state of colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 368:923-929, 2008.
16. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M: Systemic, but not intestinal, IL-7 is essential for the persistence of chronic colitis. *J Immunol.* 180:383-390, 2008.
17. Ito Y, Kanai T, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nemoto Y, Yoshioka A, Tomita T, Nagaishi T, Sakamoto N, Sakanishi T, Okumura K, Yagita H,

- Watanabe M: Blockade of NKG2D signaling prevents the development of murine CD4+ T cell-mediated colitis. *Am J Physiol GI & Liver*. 394: G199-207, 2008.
2. 学会発表
1. 永石宇司、鬼澤道夫、鈴木雅博、渡辺 守: CEACAM1 による腸管粘膜免疫の調節機構. 第 16 回 浜名湖シンポジウム. 浜松, 2008 年 12 月 20 日
 2. 渡辺 守: 免疫調節剤. 第 31 回 IBD Club Jr. 研究会. 東京, 2008 年 12 月 13 日
 3. 後藤文男、程塚正則、太田裕子、望月菜穂子、酒井英樹、野坂俊壽、小林大輔、坂本直哉、渡辺 守: 胆嚢直接浸潤を来し手術により根治し得た Lymphoepitelioma-like hepatocellular Carcinoma (LELC) の 1 例. 第 302 回 日本消化器病学会関東支部例会. 東京, 2008 年 12 月 6 日
 4. 渡辺 守: クリニカルセミナー 6 生物製剤が炎症性腸疾患の臨床と基礎研究に与えたインパクト. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会. 京都, 2008 年 12 月 3 日
 5. 土屋輝一郎、荒木昭博、鈴木伸治、岩崎美智子、渡辺 守: シンポジウム I 全小腸生検マッピングによる部位別構造の分子機構解析. 第 46 回小腸研究会. 東京, 2008 年 11 月 29 日
 6. 渡辺 守: 生物学的製剤が IBD 治療に与えたインパクト. 徳島 IBD フォーラム. 徳島, 2008 年 11 月 28 日
 7. 土屋輝一郎、渡辺 守: GSK3 inhibitor restores the stability of Atoh1 protein, resulting in the differentiation of colon cancer cells. 第 67 回 日本癌学会学術総会. 名古屋, 2008 年 10 月 28 日
 8. 藤井俊光、金井隆典、富田貴之、亀山佳織、篠原玉子、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守: 免疫調整剤 FTY720 による腸炎惹起性リンパ球の骨髄封じ込め効果の検討. 第 36 回日本臨床免疫学会総会. 東京, 2008 年 10 月 18 日
 9. 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: IL-7 を標的とした腸炎惹起性メモリー T 細胞の制御. JDDW 2008. 東京, 2008 年 10 月 3 日
 10. 渡辺 守: 消化器病学会ガイドライン最終報告—炎症性腸疾患— 厚生労働省研究班の見解—日本の炎症性腸疾患専門医を代表して—. JDDW 2008. 東京, 2008 年 10 月 1 日
 11. 朝倉 均、渡辺 守: 治りにくい炎症性腸疾患を新しい視点で見直す—消化管での再生へのチャレンジ—. JDDW 2008. 東京, 2008 年 10 月 1 日
 12. 成田知大、吉村 築、池邊佐和子、伊藤 剛、加納嘉人、鎌田和明、水谷知裕、大木史郎、相馬友子、草野史彦、酒井義法、田沢潤一、永山和宜、黒岩俊彦、渡辺 守: S 状結腸癌に対する術後化学療法中に自己免疫性肝炎を急性発症した 1 例. 第 301 回 日本消化器病学会 関東支部例会. 東京, 2008 年 9 月 6 日
 13. 渡辺 守: 炎症性腸疾患治療に生物学的製剤が与えたインパクト. 第 2 回 GI フォーラム九州. 福岡, 2008 年 9 月 6 日
 14. 渡辺 守: 炎症性腸疾患治療に生物製剤が与えたインパクト. 第 20 回 IBD Club in Hamamatsu. 浜松, 2008 年 7 月 12 日
 15. 渡辺 守: 炎症性腸疾患における粘膜免疫異常と上皮分化・再生障害の接点. 第 29 回 日本炎症・再生医学会. 東京, 2008 年 7 月 9 日
 16. 河合富貴子、佐野智彦、倉田 仁、檀 直彰、渡辺 守: 集学的治療により長期生存が得られている直腸癌の 1 例. 第 300 回 日本消化器病学会関東支部例会. 東京, 2008 年 7 月 5 日
 17. 綾田 櫻、松本太一、浦牛原幸治、小野圭一、小島 茂、武田雄一、野内俊彦、渡辺 守: 初発 4 年後に気腹で再発した腸壁嚢状気腫の 1 例. 第 300 回 日本消化器病学会関東支部例会. 東京, 2008 年 7 月 5 日
 18. 戸塚輝治、金井隆典、根本泰宏、富田貴之、渡辺 守: 慢性大腸炎の発症と維持における IL-7 の役割. 第 45 回 日本消化器免疫学会総会. 京都, 2008 年 7 月 4 日
 19. 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: 骨髄における腸炎惹起性メモリー T 細胞と顆粒球造血系のクロストーク. 第 45 回 日本消化器免疫学会総会. 京都, 2008 年 7 月 3 日
 20. 金井隆典: 抗 TNF α 抗体療法がもたらした基礎

と臨床へのインパクト. 第45回 日本消化器免疫学会総会. 京都, 2008年7月3日

21. 長堀正和: 炎症性腸疾患: いつ疑うか? いつ専門医へ紹介するか? 第1回 消化器疾患勉強会. 東京, 2008年6月25日

22. 鬼澤道夫: 抗TNF抗体療法による炎症性腸疾患合併大腸癌に及ぼす影響. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京, 2008年6月23日

23. 秋山純子: 腸管上皮の分化と増殖を制御する分子機構. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京, 2008年6月23日

24. 大岡真也: クロウン病の腸管エコー、イタリアでの学び. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京, 2008年6月23日

25. 渡辺 守: これからも消化器病研究をリードする. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京, 2008年6月23日

26. 荒木昭博, 吉岡篤史, 鈴木伸治, 岡田英理子, 土屋輝一郎, 渡辺 守: IBDにおける内視鏡診断(クローン病). 第86回 日本消化器内視鏡学会関東地方会. 東京, 2008年6月23日

27. 鈴木伸治, 土屋輝一郎, 大島 茂, 吉岡篤史, 吉岡早苗, 金井隆典, 渡辺 守, 荒木昭博, 岡田英理子: 小腸静脈瘤治療のアプローチ. 第86回 日本消化器内視鏡学会関東地方. 東京, 2008年6月23日

28. 北村まり, 谷口未樹, 渡部尚子, 古本洋平, 鎮西亮子, 浅野 徹, 佐崎なほ子, 忠願寺義通, 藤木和彦, 堀内亮郎, 真榮城剛, 三田村圭太郎, 鈴木伸治, 渡辺 守: クリッピングで止血困難であり, 食道拡張用バルーンにて圧迫止血に成功したマロリーワイス症候群の一例. 第86回 日本消化器内視鏡学会関東地方会. 東京, 2008年6月23日

29. 渡辺 守: 生物学的製剤が炎症性腸疾患治療に与えたインパクト. 第10回 IBD治療研究会. 名古屋, 2008年6月13日

30. 戸塚輝治: 慢性大腸炎の発症と維持におけるIL-7の役割. 第32回 日本リンパ学会総会. 東京, 2008年6月6日

31. 鈴木雅博, 陳 正新, 鈴木伸治, 植山真由美, 玄 世録, 小野塚泉, 井津井康浩, 岡田英理子, 岡本隆一,

中川美奈, 戸塚輝治, 土屋輝一郎, 永石宇司, 中村哲也, 長堀正和, 荒木昭博, 坂本直哉, 金井隆典, 渡辺 守: 急性肝炎重症型を伴った drug-induced hypersensitivity syndrome の1例. 第299回 日本消化器病学会 関東支部例会. 前橋, 2008年5月17日

32. 三好理絵, 池邊佐和子, 加納嘉人, 鎌田和明, 伊藤祐子, 大木史郎, 相馬友子, 草野史彦, 酒井義法, 田沢潤一, 永山和宜, 新田沙由梨, 渡辺 守: 5-FU/ロイコボリン併用療法により長期SDが得られた stage I V進行胃癌の1例. 第299回 日本消化器病学会 関東支部例会. 前橋, 2008年5月17日

33. 渡辺 守: 炎症性腸疾患の病態を新しい側面から繙く. 第27回東京女子医科大学消化器病臨床フォーラム. 東京, 2008年5月14日

34. 土屋輝一郎, 岩崎美智子, 渡辺 守: 小腸構造理解を目指した小腸マッピングによる遺伝子発現解析. 第94回 日本消化器病学会. 福岡, 2008年5月10日

35. 山地 統, 浦牛原幸治, 大日向麻衣, 村川美也子, 高橋有香, 小野圭一, 小島 茂, 武田雄一, 野内俊彦, 土居逸平. 外科治療を回避しえた大量出血を反復したクローン病の1例. 第94回 日本消化器病学会. 福岡, 2008年5月10日

36. 金井隆典, 渡辺 守: 腸炎惹起性免疫記憶リンパ球の恒常的循環を遮断する炎症性腸疾患治療ストラテジー. 第94回 日本消化器病学会. 福岡, 2008年5月9日

37. 富田貴之, 金井隆典, 藤井俊光, 根本泰宏, 戸塚輝治, 渡辺 守: 腸炎惹起性T細胞のMyD88を介した直接的TLRシグナルの重要性. 第94回 日本消化器病学会. 福岡, 2008年5月9日

38. 藤井俊光, 金井隆典, 富田貴之, 亀山佳織, 篠原玉子, 根本泰宏, 戸塚輝治, 渡辺 守: 免疫調整剤FTY720による腸炎惹起性リンパ球の骨髄封じ込め効果の検討. 第94回 日本消化器病学会. 福岡, 2008年5月9日

39. 戸塚輝治, 金井隆典, 根本泰宏, 富田貴之, 渡辺 守: 腸炎惹起性メモリーCD4+ T細胞の加齢に伴う抑制性細胞へのコンバージョン. 第94回 日本消化器病学会. 福岡, 2008年5月9日

40. 富田貴之, 金井隆典, 藤井俊光, 篠原玉子, 亀山佳

織、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守：慢性腸炎発症・維持には腸管IL-7ではなく全身性IL-7が必須である。第94回日本消化器病学会。福岡，2008年5月9日

41. 岡本隆一、土屋輝一郎、渡辺 守：炎症性腸疾患におけるNotchシグナルを介した上皮再生機構。第94回日本消化器病学会。福岡，2008年5月8日

42. 根本泰宏、金井隆典、亀山佳織、篠原玉子、藤井俊光、富田貴之、岡本隆一、戸塚輝治、渡辺 守：腸炎骨髄に存在する腸炎惹起性CD4+メモリー細胞による自然免疫系へのフィードバック機構。第94回日本消化器病学会。福岡，2008年5月8日

2) 海外

1. Hibi T, Watanabe M, Camez A, Khan M: Efficacy and safety of adalimumab for the treatment of Japanese patients with moderately to severely active Crohn's disease: results from a randomized controlled trial. ACG 2008. Orlando., 2008年10月6日

2. Hibi T, Watanabe M, Camez A, Khan M: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of adalimumab for the induction of clinical remission in Japanese patients with Crohn's disease. ACG 2008. Orlando., 2008年10月3日-8日

3. Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Dysregulated differentiation of intestinal epithelia in UC. 3rd Japan-Korea IBD Symposium. Korea., 2008年9月20日

4. Watanabe T, Matsumoto T, Watanabe M, Hibi T: For the establishment of surveillance of colitic cancer.

3rd Japan-Korea IBD Symposium. Korea., 2008年9月20日

5. Kanai T, Totsuka T, Nemoto Y, Hibi T, Watanabe M: The destiny of colitogenic CD4+ T Cells - are they effector or memory? 13th US-Japan GI & Liver Meeting in 21st Century. Tokyo., 2008年6月13日

6. Onizawa M, Nagaishi T, Nemoto Y, Oshima S, Okamoto R, Totsuka T, Kanai T, Yagita H, Watanabe

M: Neutralization of tumor necrosis factor suppresses the development of colitis-associated tumor in mice. DDW 2008. San Diego., 2008年5月21日

7. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Fujii T, Totsuka T, Watanabe M: Intestinal IL-7 is not essential for the persistence of IL-7-dependent chronic colitis. DDW 2008. San Diego., 2008年5月21日

8. Fujii T, Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Watanabe M: FTY720 suppresses the development of colitis in lymphoid-null mice by trapping colitogenic CD4+ T cells in bone marrow. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

9. Tsuchiya K, Inoue K, Aragaki M, Okamoto R, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Notch signaling suppresses the transcriptional activity of HATH1 gene, resulting in the undifferentiated form of human intestinal epithelial cells. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

10. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Tomita T, Watanabe M: Colitogenic CD4+ T cells convert to regulatory cells to suppress colitis in the process of immunosenescence. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

11. Nemoto Y, Kanai T, Tohda S, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Fukuda T, Yagita H, Watanabe M: Negative feedback regulation of pathogenic CD4+ T cells by increased granulopoiesis. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

12. Watanabe M: New member presentation. IOIBD Annual Meeting 2008. Kyoto., 2008年4月3日-6日

13. Kanai T: Mucosal immunology in IBD. IOIBD Annual Meeting 2008. Kyoto., 2008年4月3日-6日

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

1 特許取得

なし

2 実用新案登録

なし

3 その他

特になし

ラット実験腸炎における骨髄間葉系幹細胞治療

研究分担者 今井 浩三 札幌医科大学 学長

研究要旨:骨髄不全に惹起したDSS腸炎に対するMSC治療は上皮細胞への移植効率に依存し、腸上皮細胞のアポトーシス抑制、細胞回転促進に加えてタイトジャンクション(TJs)再構成によるバリア機能の回復に寄与した。AOM(azoxymethan)/DSSモデルにおける腸炎関連発癌のinitiationおよびpromotionを抑制した。MSC治療はDSS腸炎急性期には無効であったが、回復期には有効であり、MSCは粘膜固有層間質で筋線維芽様細胞に分化して、腸上皮の増殖、分化を制御した。

A. 研究目的

レシビエント腸組織に認められるドナー由来骨髄細胞の起源、機能、および細胞運命に関する詳細は不明である。各種実験腸炎に対するMSCの抗炎症作用、粘膜修復・再生、組織内分化および発癌における役割を検討する。

B. 研究方法

骨髄不全下DSS腸炎、DSS腸炎の回復期、およびAOM/DSS発癌モデルに対してeGFP標識、lacZ標識あるいは異性間MSC移植を利用してレシビエント腸組織での動態を観察した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関する法律・基準・指針を遵守し、生物の多様性の確保に関する法律に抵触しない。

C. 研究結果

MSC治療は、骨髄不全下DSS腸炎では上皮細胞への移植効率に依存し、腸上皮細胞アポトーシス抑制、細胞回転促進、TJs再構成によるバリア機能を回復した。AOM/DSS腸炎関連発癌のinitiationおよびpromotionを抑制した。DSS腸炎急性期には無効。回復期には有効。筋線維芽様細胞に分化し、腸上皮増殖、分化を制御した。

D. 考察 MSC治療は各種腸炎および腸炎関連発癌に有効である。

E. 結論

腸管修復過程におけるMSCは、分化の可塑性(腸上皮あるいは筋線維芽細胞)を認め、腸管上皮の統合性維持における腸上皮幹細胞機能と密接な関係が示唆された。炎症と発癌における骨髄の役割、組織あるいは骨髄幹細胞の関係などを解明する手がかりを提供した

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yabana T, et al. Enhancing epithelial engraftment of rat mesenchymal stem cells restores epithelial barrier integrity. *J Pathol* 2009 (*in press*).

2. Tanaka H, et al. Enhancing Mucosal Reparative response in Rat Dextran Sulfate Sodium-induced colitis by Mesenchymal Stem Cells Therapy. (*submitted*)

2. 学会発表

1. Tanaka H, et al. Enhancing Epithelial Engraftment of Mesenchymal Stem Cells Ameliorates Rat Inflammatory Bowel Disease. The 3rd Japan-korea IBD Symposium, Seoul, September 20, 2008.

2. Hosokawa M, et al. Genetic Variants in Surfactant, Pulmonary-associated Protein D (*SFTPD*) and Japanese Susceptibility to Ulcerative colitis. The 3rd Japan-korea IBD Symposium, Seoul, September 20, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

間葉系幹細胞による難治性腸炎の治療
出願番号2007-194910

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Th-1 型反応と腸管上皮における RIG-I 発現調節

研究協力者 石黒 陽 弘前大学光学医療診療部 准教授

研究要旨: Th-1 型反応において、腸管上皮細胞と免疫担当細胞との間の CXCR3 を軸としたサイトカイン (IFN- γ , TNF- α)・ケモカイン (CXCL9, 10, 11) ネットワークに RIG-I が関与していることが示された。生理的にはレチノイン酸による発現誘導が必要である。

共同研究者 1)川口 章吾、櫻庭 裕丈、山形 和史、
佐藤 裕紀、島谷 孝司、福田 真作
2)今泉忠淳
所属 1)弘前大学医学部消化器血液内科
2) 同 脳血管病態部門

A. 研究目的

腸管上皮細胞はバリア機能を有し恒常性維持に寄与すると考えられている。上皮細胞の障害機序に関する検討により、上皮の炎症における役割、細胞死に関するメカニズムを明らかにし、炎症性腸疾患における病態を上皮細胞の機能異常の点から解析することを目的とする。これまでに TGF- β を Block することで DSS 腸炎において上皮細胞 apoptosis 早期誘導が生じることを報告した。その増悪因子は IFN- γ であるが、詳細な機序に関しては明らかでない。Retinoic acid-inducible gene-1 (RIG-I) は細胞内で二本鎖 RNA を認識し、CARD ドメインを介して下流分子ヘンゲナルを伝達する。大腸上皮系の細胞株とノックアウトマウスを用いて RIG-I の発現調節とその意義について検討し、さらにレチノイン酸による誘導発現について検討した。また細胞の traffic に関する検討を行った。

B. 研究方法

(倫理面への配慮)

動物実験に際しては弘前大学動物実験施設の承認を得かつ規則を遵守した。また、臨床検体については弘前大学倫理委員会の承認と患者の同意を得た上で解析した。

C. 研究結果

TNF- α 、IFN- γ で上皮細胞株である HT-29 を刺激すると、それぞれ時間依存性・濃度依存性に、蛋白レヴェル、遺伝子レヴェルで RIG-I の発現が増強した。Th1 型の腸炎モデルである IL-10KO マウスでは上皮、LP ともに RIG-I の発現が亢進していた。さらに TNF- α 、IFN- γ による相乗作用が確認された。また HT-29 において RIG-I に対する siRNA を transfect すると、IFN- γ で誘導される CXCL-9 (MIG) の産生が有意に低下した。

IL-10^{-/-} マウス、クローン病の大腸切除標本における RIG-I の免疫染色では、上皮細胞と LP の単核球に発現が認められた。

一方 Vitamin A deficient mouse では RIG-I の発現が低下していた。IL-10^{-/-} マウスから VAD SCID への Splenic cell 移入では発症が抑制された。

D. 考察

Th1 型の腸炎モデルである IL-10KO マウスの腸管粘膜では TNF- α や IFN- γ の mRNA が野生型マウスの 10~20 倍高い。腸管上皮細胞は IFN- γ の刺激により、MIG、IP-10、I-TAC といった T cell chemo-attractant を産生し、これらのケモカインは IFN- γ 産生 CD4⁺T 細胞を走化させることが報告されている。この positive feedback loop は腸管の Th1 型炎症に関与すると考えられる。今回の検討から、生理的条件下ではレチノイン酸による自然免疫系の誘導のためには RIG-I と上記のケモカインを介したバリアー機能の維持に役立つと考えられる。実際 VAD マウスでは bacterial translocation が有意に亢進している。さらに IL-10^{-/-} マウスからの VAD-SCID マウスへの移入においては発症自体が抑制されることから、細胞の traffic に重要

であることが示唆された。

E. 結論

Th-1 型反応において、腸管上皮細胞と免疫担当細胞との間の CXCR3 を軸としたサイトカイン・ケモカインネットワークに RIG-I が関与し、レチノイン酸が大腸上皮 RIG-I の誘導因子であることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shogo Kawaguchi, Yoh Ishiguro, Tadaatsu Imaizumi, Fumiaki Mori, Tomoh Matsumiya, Hidemi Yoshida, Ken Ota, Hirotake Sakuraba, Kazufumi Yamagata, Yuki Sato, Kunikazu Tanji, Toshihiro Haga, Koichi Wakabayashi, Shinsaku Fukuda, Kei Satoh. Retinoic acid-inducible gene-I is constitutively expressed and involved in IFN- γ -stimulated CXCL9-11 production in intestinal epithelial cells.

Immunol Letters 2009 (in press).

2. 学会発表

1. Shogo Kawaguchi, Yoh Ishiguro, Tadaatsu Imaizumi, Fumiaki Mori, Tomoh Matsumiya, Hidemi Yoshida, Ken Ota, Hirotake Sakuraba, Kazufumi Yamagata, Yuki Sato, Kunikazu Tanji, Toshihiro Haga, Koichi Wakabayashi, Shinsaku Fukuda, Kei Satoh. etinoic acid-inducible gene-I is constitutively expressed and involved in IFN- γ -stimulated CXCL9-11 production in intestinal epithelial cells.

The 3rd Korea-Japan IBD symposium. September 20 (Sat), 2008, Seoul

2. Hiroto Hiraga, Y. Ishiguro, H. Sakuraba, S. Kawaguchi, H. Fujita, H. Sakuraba, K. Shimaya, Y. Sato, K. Yamagata, S. Fukuda. Lack of vitamin a imparied mucosal barrier funtion and exacerbated DSS-incuced colitis. 2nd Japan & US Collaboration Conference in Gastroenterology (JUCC) Tokyo, November 21, 2008.

3. 川口章吾, 石黒 陽, 今泉忠篤 腸管上皮細胞における RIG-I の発現調節: PD12 腸管炎症に影響を与える栄養素の吸収代謝 第 50 回日本消化器病学会大会 (東京) グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール 2008 年 10 月 3 日

4. 川口章吾, 石黒 陽, 櫻庭 裕丈, 山形 和史, 佐藤 裕紀, 福田真作, 今泉忠篤 “腸管上皮細胞における RIG-I の発現調節: シンポジウム 2 消化器疾患における自然免疫・獲得免疫のクロストーク” 第 45 消化器免疫学会 メルパルク京都(京都) 2008 年 7 月 4 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

炎症性腸疾患における粘膜再生機構の解析

研究代表者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 教授

研究要旨：本研究では炎症性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎患者の炎症部に於ける上皮分化制御の分子機構と粘膜再生メカニズムに焦点をあて、粘膜再生促進につながる分子標的の探索を行った。我々が独自に樹立したヒト腸管上皮培養細胞株及び患者臨床検体を用いた分子生物学的解析の結果、炎症性腸疾患患者の粘膜上皮に於ける再生シグナルとして Notch シグナルを同定した。同シグナルは炎症性腸疾患に特徴的な上皮分化様式を決定するシグナル経路であるのみならず、細胞増殖を介した粘膜再生に積極的に関与し、同シグナル活性化の欠如が即ち粘膜再生不全につながることを明確に示した。これらの成果は炎症性腸疾患における難治化の主たる要因である粘膜再生不全の機序を分子レベルで解明した画期的知見であるのみならず、特定のシグナル活性化を誘導することにより粘膜再生を促進する新規治療法の開発に重要な分子基盤を確立したものである。

共同研究者

岡本隆一、土屋輝一郎、中村哲也
東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野

A. 研究目的

本研究は炎症性腸疾患に於ける上皮分化制御と粘膜再生の分子機構を研究代表者独自の解析手法により追求し、最終的には難治性炎症性腸疾患に対する粘膜再生療法の確立を目指すものである。我が国において炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎、クローン病）は患者数が急速に増加しつつあり、それに応じて従来の治療に不応である難治例も増加の一途である。同疾患に対する治療法の開発は、遷延する粘膜の炎症を標的とし、これを制御することこそ疾患根治につながるというコンセプトの下に進められてきた。しかしながら近年増加している難治例の多くは一時的な炎症の収束が得られても粘膜上皮の再生不全が遷延し、その結果短期間で疾病の再発に直結していることが明らかとされている。従って同疾患における粘膜再生不全の病態解明と粘膜再生促進を標的とする新規治療法の開発は、炎症性腸疾患の治療体系に於ける差し迫った課題であり、早期の確立が急務と言えらる。

研究代表者らは炎症粘膜に於ける上皮細胞の再生・修復機構に着目し、分子生物学的視点から解析を加える事により独自の研究成果を提供してきた。

研究代表者らは炎症粘膜に於ける上皮の再生・修復に、骨髄由来細胞による修復支援機構が存在することを明らかとし (Nat Med 2002)、再生医学研究に於ける画期的成果として世界的に高い評価を獲得してきた。研究代表者らによるその後の更なる解析から、粘膜修復における杯細胞の重要性 (Gastroenterology 2005)、杯細胞分化に於ける細胞内シグナルによる制御機構 (Gastroenterology 2007, BBRC 2008)、吸収上皮細胞分化に於けるマイクロ RNA の重要性 (RNA 2008) 等の細胞内分化制御機構を分子レベルで解明する画期的な成果を挙げて来た。即ち炎症性腸疾患に於ける再生・修復機構の解析を起点とし、上皮細胞内の分子シグナルに着目する独自の視点から研究を遂行する事により、腸管粘膜の恒常性と再生・修復における杯細胞機能の重要性を提唱してきた。本研究ではこれまでの研究成果を更に発展させ、1)炎症性腸疾患局所にみられる上皮細胞分化制御機構の異常を司る分子機構の解明 2) 上皮再生・修復を促進する分子シグナル系の同定を行なうことを目的とした。

B. 方法・結果

1) ヒト大腸上皮由来培養細胞株に於ける活性型 Notch 誘導発現系を樹立し、これを用いて Notch シグナル活性化が大腸上皮細胞内の遺伝子発現に与える影響について、マイクロアレイ法を用いて解析した。その結果、a) ヒト大腸上皮由来細胞において

Notch 活性化を誘導する事により、杯細胞特異的遺伝子 MUC2 の mRNA およびタンパク発現の著しい減少が誘導された。さらに杯細胞の主たる機能である粘液分泌能にも著しい低下が確認された。b) 一方、これと相反してヒト大腸上皮由来細胞株における Notch 活性化の誘導はパネート細胞特異的遺伝子 PLA2G2A の発現及び分泌を促進した。

2) 潰瘍性大腸炎病変部において特異的に出現する「杯細胞の減少」と「異所性パネート細胞」と大腸上皮細胞内 Notch シグナル活性化の関係について免疫組織学的に解析を行った。その結果、a) 正常ヒト大腸粘膜に於いて、活性型 Notch 及びその標的遺伝子 Hes1 の発現は陰窩内の上皮細胞に限局していた。b) 潰瘍性大腸炎病変部の再生上皮を構成する陰窩において、活性型 Notch の広範な発現が確認された。同部位では杯細胞の著しい減少、上皮細胞増殖の促進に加え、異所性 PLA2G2A の発現が示された。

3) 潰瘍性大腸炎病変部において見られた上皮細胞内 Notch 活性化が粘膜再生に果たす機能的意義を明らかにするため、大腸炎モデルマウス(デキストラン硫酸投与による大腸炎誘導モデル)に対し Notch シグナル阻害薬を投与し、その効果を臨床経過及び組織学的解析により検討した。その結果、a) デキストラン硫酸誘導腸炎に対する Notch シグナル阻害薬投与により、著しい体重減少の増悪に加え、腸炎に起因する死亡率の上昇が誘導された。b) Notch シグナル阻害薬投与は正常大腸粘膜に於ける杯細胞分化を促進した。一方、炎症部腸管に於いては細胞増殖を著しく抑制し、粘膜再生応答を著しく阻害した。c) 炎症部腸管に於いて、JAG1 を含む Notch リガンド分子の発現誘導が見られた。

以上の結果から、潰瘍性大腸炎病変部において特異的に出現する「杯細胞の減少」と「異所性パネート細胞」は上皮内 Notch シグナルの活性化に制御されており、いずれも粘膜再生に必須の応答である事が示された。

(倫理面への配慮)

以上の研究の施行に当たっては、厚生科学審議会の「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」などに準じて、1) 倫理審査委員会で

研究の適否などを議論・審査し承認を得る。2) 意義と必要性を説明しその自由意志に基づき同意を得られた場合にのみ検体提供を受ける。検体提供の有無により、治療など不利益を被ることはない。3) 個人のプライバシーの保護を厳密に行う。4) 希望に応じ検体提供者やその保護者への研究結果の説明を行う。5) 研究目的のみ検体を使用し、その他の目的では使用しない等、人権及び利益の確保を行うよう配慮した。

C. 考察

1) ヒト腸管に於ける Notch シグナルの存在及び意義の詳細についてはこれまで全く明らかとされていない。本研究の成果は、Notch シグナルがヒト腸管に於いて機能を有し、上皮細胞分化を制御し得ることを世界に先駆けて示した画期的なものである。具体的には a) ヒト腸管の陰窩上皮に於いて同シグナル経路が活性化しており、上皮細胞の分化制御を行う機能を有していること b) 潰瘍性大腸炎の病態形成に於いて Notch シグナルの活性化が重要な機能を担っており、同疾患からの回復・粘膜修復に必須であること、を明らかとした。さらに、これまで全く未知であった炎症性腸疾患における上皮分化異常が、粘膜修復と密接な関連を持って出現するという独自の画期的な概念を創出した。

2) 本研究ではヒト腸管上皮細胞における Notch シグナルの分子機能の網羅的解析を起点とし、潰瘍性大腸炎に於ける意義を個体レベルで明確に示すことに成功した。即ち、同シグナルの活性化が単に上皮分化制御を行うのみならず、同時に細胞増殖を制御する事により、腸管粘膜の再生・修復過程に必須のシグナルとして機能していることを明らかとした。これにより炎症粘膜において組織学的変化として捉えられる杯細胞の減少は、むしろ粘膜再生応答の一端を見ているに過ぎないことを初めて明確に示した。これらの成果は Notch シグナルが炎症性腸疾患における上皮再生応答に於いて中核を成す重要なシグナル経路である事を明確にただけでなく、同シグナルの活性化が粘膜再生促進の起点となっており、外的因子の負荷等により上皮細胞内 Notch 活性化を誘導し粘膜再生促進治療へと展開する重要な基盤とな

るものである。

D. 結論

炎症性腸疾患における粘膜再生・修復を制御する上皮細胞内分子シグナル系として Notch シグナルを同定した。同シグナルは正常腸管粘膜の恒常性維持のみならず、炎症性腸疾患の罹患粘膜に於ける上皮分化・増殖に重要な機能を有しており、杯細胞・パネート細胞特異的遺伝子の発現及び上皮細胞増殖の調節を介して炎症性腸疾患の病態形成に直接関与し得ることが示された。これらの成果から、炎症性腸疾患における粘膜再生・修復機構が分子レベルで明確に記述され、適切な細胞系列の整備と細胞増殖促進とを同時に達成し得る分子標的として Notch シグナルを同定したことにより、腸管上皮の再生と早期の機能回復を図る粘膜再生治療を確立するための重要な分子基盤が提供された。いずれの成果も上皮再生不全を伴う難治性炎症性腸疾患に全く新しい治療戦略を創出し、新規治療法の開発につながる画期的成果を示し得たものと考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Onizawa M, Nagaishi T, Kanai T, Nagano K, Oshima S, Nemoto Y, Yoshioka A, Totsuka T, Okamoto R, Nakamura T, Sakamoto N, Tsuchiya K, Aoki A, Ohya K, Yagita H, Watanabe M: Signaling pathway via TNF α /NF κ B in intestinal epithelial cells may be directly involved in colitis-associated carcinogenesis. *Am J Physiol GI & Liver*. (in press), 2009.
2. Takazoe M, Matsui T, Motoya S, Matsumoto T, Hibi T, Watanabe M: Sargramostim in Patients With Crohn's Disease: Results of a Phase 1-2 Study. *J Gastroenterol*. (in press), 2009.
3. Okamoto R, Tsuchiya K, Nemoto Y, Akiyama J, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Requirement of Notch activation during regeneration of the intestinal epithelia. *Am J Physiol GI & Liver*. 296:G23-G35, 2009.
4. Nemoto Y, Kanai T, Tohda S, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Sakamoto N, Fukuda T, Miura O, Yagita H, Watanabe M: Negative feedback regulation of colitogenic CD4⁺ T cells by increased granulopoiesis. *Inflamm Bowel Dis*. 14:1491-1503, 2008.
5. Fujii F, Kanai T, Tomita T, Nemoto Y, Totsuka T, Sakamoto N, Nakamura T, Tsuchiya K, Okamoto R, Watanabe M: FTY720 suppresses the development of colitis in lymphoid-null mice by modulating the trafficking of colitogenic CD4⁺ T cells in bone marrow. *Eur J Immunol*. 38:3290-3303, 2008.
6. Araki A, Tsuchiya K, Okada E, Suzuki S, Oshima S, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Single-operator method for double-balloon endoscopy: a pilot study. *Endoscopy*. 40:936-938, 2008.
7. Murayama M, Okamoto R, Tsuchiya K, Akiyama J, Nakamura T, Sakamoto N, Kanai T, Watanabe M: Musashi-1 suppresses expression of Paneth cell specific genes in human intestinal epithelial cells. *J Gastroenterol*. (in press), 2008.
8. Sawada T, Nishiyama C, Kishi T, Sasazuki T, Komazawa-Sakon S, Xue X, Piao JH, Ogata H, Nakayama J, Taki T, Hayashi Y, Watanabe M, Yagita H, Okumura K, Nakano H: Fusion of One twenty-two to BSAC(Basic, SAP, and coiled-coil domain) results in aberrant upregulation of transcriptional activity. *J Biol Chem*. 283:26820-26828, 2008.
9. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Fujii T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Sakamoto N, Totsuka T, Watanabe M: Colitogenic CD4⁺ effector-memory T cells actively recirculate in chronic colitic mice. *Inflamm Bowel Dis*. 14:1630-1640, 2008.
10. Yoshioka A, Okamoto R, Oshima S, Akiyama J, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Flagellin stimulation suppresses IL-7 secretion of intestinal epithelial cells. *Cytokine*.

44:57-64, 2008.

11. Tomita T, Kanai T, Fujii T, Nemoto Y, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Sakamoto N, Watanabe M: Continuous generation of colitogenic CD4+ T cells in persistent colitis. *Eur J Immunol.* 38:1264-1274, 2008.

12. Hino K, Tsuchiya K, Fukao T, Kiga K, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Inducible expression of microRNA-194 is regulated by HNF-1 during intestinal epithelial cell differentiation. *RNA.* 14:1433-1442, 2008.

13. Tomita T, Kanai T, Fujii T, Nemoto Y, Okamoto R, Tsuchiya K, Totsuka T, Sakamoto N, Akira S, Watanabe M: MyD88-dependent pathway in T cells directly modulates the expansion and survival of colitogenic CD4+ T cells in chronic colitis. *J Immunol.* 180: 5291-5299, 2008.

14. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Tomita T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M: Immunosenescent colitogenic CD4+ T cells convert to regulatory cells to suppress colitis. *Eur J Immunol.* 38:1275-1286, 2008.

15. Aragaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Yoshioka S, Nakamura T, Sakamoto N, Kanai T, Watanabe M: Proteasomal degradation of Atohl by aberrant Wnt signaling maintains the undifferentiated state of colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 368:923-929, 2008.

16. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M: Systemic, but not intestinal, IL-7 is essential for the persistence of chronic colitis. *J Immunol.* 180:383-390, 2008.

17. Ito Y, Kanai T, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nemoto Y, Yoshioka A, Tomita T, Nagaishi T, Sakamoto N, Sakanishi T, Okumura K, Yagita H, Watanabe M: Blockade of NKG2D signaling prevents the development of murine CD4+ T cell-mediated colitis. *Am J Physiol GI & Liver.* 394: G199-207, 2008.

2. 学会発表

1. 永石宇司、鬼澤道夫、鈴木雅博、渡辺 守: CEACAM1 による腸管粘膜免疫の調節機構. 第 16 回 浜名湖シンポジウム. 浜松., 2008 年 12 月 20 日

2. 渡辺 守: 免疫調節剤. 第 31 回 IBD Club Jr. 研究会. 東京., 2008 年 12 月 13 日

3. 後藤文男、程塚正則、太田裕子、望月菜穂子、酒井英樹、野坂俊壽、小林大輔、坂本直哉、渡辺 守: 胆嚢直接浸潤を来し手術により根治し得た Lymphoepitelioma-like hepatocellular Carcinoma (LELC) の 1 例. 第 302 回 日本消化器病学会関東支部例会. 東京., 2008 年 12 月 6 日

4. 渡辺 守: クリニカルセミナー 6 生物製剤が炎症性腸疾患の臨床と基礎研究に与えたインパクト. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会. 京都., 2008 年 12 月 3 日

5. 土屋輝一郎、荒木昭博、鈴木伸治、岩寄美智子、渡辺 守: シンポジウム I 全小腸生検マッピングによる部位別構造の分子機構解析. 第 46 回小腸研究会. 東京., 2008 年 11 月 29 日

6. 渡辺 守: 生物学的製剤が IBD 治療に与えたインパクト. 徳島 IBD フォーラム. 徳島., 2008 年 11 月 28 日

7. 土屋輝一郎、渡辺 守: GSK3 inhibitor restores the stability of Atohl protein, resulting in the differentiation of colon cancer cells. 第 67 回 日本癌学会学術総会. 名古屋., 2008 年 10 月 28 日

8. 藤井俊光、金井隆典、富田貴之、亀山佳織、篠原玉子、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守: 免疫調整剤 FTY720 による腸炎惹起性リンパ球の骨髄封じ込め効果の検討. 第 36 回日本臨床免疫学会総会. 東京., 2008 年 10 月 18 日

9. 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: IL-7 を標的とした腸炎惹起性メモリー T 細胞の制御. JDDW 2008. 東京., 2008 年 10 月 3 日

10. 渡辺 守: 消化器病学会ガイドライン最終報告-炎症性腸疾患- 厚生労働省研究班の見解-日本の炎症性腸疾患専門医を代表して-. JDDW 2008. 東京., 2008 年 10 月 1 日

11. 朝倉 均、渡辺 守: 治りにくい炎症性腸疾患を

新しい視点で見直す—消化管での再生へのチャレンジ. JDDW 2008. 東京., 2008年10月1日

12. 成田知大、吉村 築、池邊佐和子、伊藤 剛、加納嘉人、鎌田和明、水谷知裕、大木史郎、相馬友子、草野史彦、酒井義法、田沢潤一、永山和宜、黒岩俊彦、渡辺 守: S状結腸癌に対する術後化学療法中に自己免疫性肝炎を急性発症した1例. 第301回日本消化器病学会 関東支部例会. 東京., 2008年9月6日

13. 渡辺 守: 炎症性腸疾患治療に生物学的製剤が与えたインパクト. 第2回 GI フォーラム九州. 福岡., 2008年9月6日

14. 渡辺 守: 炎症性腸疾患治療に生物製剤が与えたインパクト. 第20回 IBD Club in Hamamatsu. 浜松., 2008年7月12日

15. 渡辺 守: 炎症性腸疾患における粘膜免疫異常と上皮分化・再生障害の接点. 第29回 日本炎症・再生医学会. 東京., 2008年7月9日

16. 河合富貴子、佐野智彦、倉田 仁、檀 直彰、渡辺 守: 集学的治療により長期生存が得られている直腸癌の1例. 第300回 日本消化器病学会関東支部例会. 東京., 2008年7月5日

17. 綾田 櫻、松本太一、浦牛原幸治、小野圭一、小島 茂、武田雄一、野内俊彦、渡辺 守: 初発4年後に気腹で再発した腸壁嚢状気腫の1例. 第300回日本消化器病学会関東支部例会. 東京., 2008年7月5日

18. 戸塚輝治、金井隆典、根本泰宏、富田貴之、渡辺 守: 慢性大腸炎の発症と維持における IL-7 の役割. 第45回 日本消化器免疫学会総会. 京都., 2008年7月4日

19. 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: 骨髄における腸炎惹起性メモリーT細胞と顆粒球造血系のクロストーク. 第45回 日本消化器免疫学会総会. 京都., 2008年7月3日

20. 金井隆典: 抗 TNF α 抗体療法がもたらした基礎と臨床へのインパクト. 第45回 日本消化器免疫学会総会. 京都., 2008年7月3日

21. 長堀正和: 炎症性腸疾患: いつ疑うか? いつ専門医へ紹介するか? 第1回 消化器疾患勉強会. 東京.,

2008年6月25日

22. 鬼澤道夫: 抗 TNF 抗体療法による炎症性腸疾患合併大腸癌に及ぼす影響. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京., 2008年6月23日

23. 秋山純子: 腸管上皮の分化と増殖を制御する分子機構. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京., 2008年6月23日

24. 大岡真也: クロウン病の腸管エコー、イタリアでの学び. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京., 2008年6月23日

25. 渡辺 守: これからも消化器病研究をリードする. 第14回 多摩消化器先端医療勉強会. 東京., 2008年6月23日

26. 荒木昭博、吉岡篤史、鈴木伸治、岡田英理子、土屋輝一郎、渡辺 守: IBDにおける内視鏡診断(クローン病). 第86回 日本消化器内視鏡学会関東地方会. 東京., 2008年6月23日

27. 鈴木伸治、土屋輝一郎、大島 茂、吉岡篤史、吉岡早苗、金井隆典、渡辺 守、荒木昭博、岡田英理子: 小腸静脈瘤治療のアプローチ. 第86回 日本消化器内視鏡学会関東地方. 東京., 2008年6月23日

28. 北村まり、谷口末樹、渡部尚子、古本洋平、鎮西亮子、浅野 徹、佐崎なほ子、忠願寺義通、藤木和彦、堀内亮郎、真榮城剛、三田村圭太郎、鈴木伸治、渡辺 守: クリッピングで止血困難であり、食道拡張用バルーンにて圧迫止血に成功したマロリーワイス症候群の一例. 第86回 日本消化器内視鏡学会関東地方会. 東京., 2008年6月23日

29. 渡辺 守: 生物学的製剤が炎症性腸疾患治療に与えたインパクト. 第10回 IBD 治療研究会. 名古屋., 2008年6月13日

30. 戸塚輝治: 慢性大腸炎の発症と維持における IL-7 の役割. 第32回 日本リンパ学会総会. 東京., 2008年6月6日

31. 鈴木雅博、陳 正新、鈴木伸治、植山真由美、玄世鋒、小野塚泉、井津井康浩、岡田英理子、岡本隆一、中川美奈、戸塚輝治、土屋輝一郎、永石宇司、中村哲也、長堀正和、荒木昭博、坂本直哉、金井隆典、渡辺 守: 急性肝炎重症型を伴った drug-induced hypersensitivity syndrome の1例.

第299回 日本消化器病学会 関東支部例会, 前橋., 2008年5月17日

32. 三好理絵、池邊佐和子、加納嘉人、鎌田和明、伊藤祐子、大木史郎、相馬友子、草野史彦、酒井義法、田沢潤一、永山和宜、新田沙由梨、渡辺 守: 5-FU/ロイコポリン併用療法により長期SDが得られたstage IV進行胃癌の1例. 第299回 日本消化器病学会 関東支部例会, 前橋., 2008年5月17日

33. 渡辺 守: 炎症性腸疾患の病態を新しい側面から繙く. 第27回東京女子医科大学消化器病臨床フォーラム, 東京., 2008年5月14日

34. 土屋輝一郎、岩崎美智子、渡辺 守: 小腸構造理解を目指した小腸マッピングによる遺伝子発現解析. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月10日

35. 山地 統、浦牛原幸治、大日向麻衣、村川美也子、高橋有香、小野圭一、小島 茂、武田雄一、野内俊彦、土居逸平、外科治療を回避しえた大量出血を反復したクローン病の1例. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月10日

36. 金井隆典、渡辺 守: 腸炎惹起性免疫記憶リンパ球の恒常的循環を遮断する炎症性腸疾患治療ストラテジー. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月9日

37. 富田貴之、金井隆典、藤井俊光、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守: 腸炎惹起性T細胞のMyD88を介した直接的TLRシグナルの重要性. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月9日

38. 藤井俊光、金井隆典、富田貴之、亀山佳織、篠原玉子、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守: 免疫調整剤FTY720による腸炎惹起性リンパ球の骨髄封じ込め効果の検討. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月9日

39. 戸塚輝治、金井隆典、根本泰宏、富田貴之、渡辺 守: 腸炎惹起性メモリーCD4+ T細胞の加齢に伴う抑制性細胞へのコンバージョン. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月9日

40. 富田貴之、金井隆典、藤井俊光、篠原玉子、亀山佳織、根本泰宏、戸塚輝治、渡辺 守: 慢性腸炎発症・維持には腸管IL-7ではなく全身性IL-7が必須

である. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月9日

41. 岡本隆一、土屋輝一郎、渡辺 守: 炎症性腸疾患におけるNotchシグナルを介した上皮再生機構. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月8日

42. 根本泰宏、金井隆典、亀山佳織、篠原玉子、藤井俊光、富田貴之、岡本隆一、戸塚輝治、渡辺 守: 腸炎骨髄に存在する腸炎惹起性CD4+メモリー細胞による自然免疫系へのフィードバック機構. 第94回 日本消化器病学会, 福岡., 2008年5月8日

2) 海外
1. Hibi T, Watanabe M, Camez A, Khan M: Efficacy and safety of adalimumab for the treatment of Japanese patients with moderately to severely active Crohn's disease: results from a randomized controlled trial. ACG 2008. Orlando., 2008年10月6日

2. Hibi T, Watanabe M, Camez A, Khan M: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of adalimumab for the induction of clinical remission in Japanese patients with Crohn's disease. ACG 2008. Orlando., 2008年10月3日-8日

3. Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Dysregulated differentiation of intestinal epithelia in UC. 3rd Japan-Korea IBD Symposium. Korea., 2008年9月20日.

4. Watanabe T, Matsumoto T, Watanabe M, Hibi T: For the establishment of surveillance of colitic cancer. 3rd Japan-Korea IBD Symposium. Korea., 2008年9月20日

5. Kanai T, Totsuka T, Nemoto Y, Hibi T, Watanabe M: The destiny of colitogenic CD4+ T cells - are they effector or memory? 13th US-Japan GI & Liver Meeting in 21st Century. Tokyo., 2008年6月13日

6. Onizawa M, Nagaishi T, Nemoto Y, Oshima S, Okamoto R, Totsuka T, Kanai T, Yagita H, Watanabe M: Neutralization of tumor necrosis factor suppresses the development of

特になし

colitis-associated tumor in mice. DDW 2008. San Diego., 2008年5月21日

7. Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Fujii T, Totsuka T, Watanabe M: Intestinal IL-7 is not Essential for the Persistence of IL-7-dependent chronic colitis. DDW 2008. San Diego., 2008年5月21日

8. Fujii T, Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Watanabe M: FTY720 suppresses the development of colitis in lymphoid-null mice by trapping colitogenic CD4+ T Cells in bone marrow. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

9. Tsuchiya K, Inoue K, Aragaki M, Okamoto R, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Notch signaling suppresses the transcriptional activity of Hath1 Gene, resulting in the undifferentiated form of human intestinal epithelial cells. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

10. Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Tomita T, Watanabe M: Colitogenic CD4+ T Cells convert to regulatory cells to suppress colitis in the process of the immunosenescence. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

11. Nemoto Y, Kanai T, Tohda S, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Fukuda T, Yagita H, Watanabe M: Negative feedback regulation of pathogenic CD4+ T Cells by increased granulopoiesis. DDW 2008. San Diego., 2008年5月20日

12. Watanabe M: New member presentation. IOIBD Annual Meeting 2008. Kyoto., 2008年4月3日-6日

13. Kanai T: Mucosal immunology in IBD. IOIBD Annual Meeting 2008. Kyoto., 2008年4月3日-6日

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1 特許取得

なし

2 実用新案登録

なし

3 その他

クローン病腸内細菌叢の T-RFLP 法による解析

研究分担者 藤山 佳秀 滋賀医科大学消化器内科 教授

研究要旨：クローン病の腸内細菌叢について T-RFLP 法を用いて解析した。34人のクローン病患者と30人の健康人を解析した。クローン病患者の腸内細菌叢と健康人の腸内細菌叢は異なるパターンを示し、これらはクローン病における *Clostridium* 属の減少によるものであった。また、成分栄養療法は腸内細菌叢に変化をもたらすことが明らかになった。

A. 研究目的

炎症性腸疾患の発症、再燃における腸内細菌叢の役割の重要性が指摘されているが、難培養菌を含めた腸内細菌叢全容の変化については解析されていない。今回、T-RFLP 法を用いて難培養菌を含めた腸内細菌叢の全容の変化についてクローン病患者について検討した。

B. 研究方法

健康人30人、クローン病34人（活動期17人、寛解期17人）の糞便より DNA を抽出し、細菌由来 16S rDNA を標的とした蛍光プライマーを用いて PCR を施行後、制限酵素 BslI 処理してキャピラリー電気泳動後、泳動パターンをコンピューター解析して比較した。

（倫理面への配慮）

糞便中 DNA の解析に当たり、滋賀医科大学倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

dendrogram を構築して解析した結果、健康人の腸内細菌叢はクローン病と明らかに異なるクラスターを形成した。ただ、活動期と寛解期、病型（大腸型、小大腸型、大腸型）を特徴づけるクラスターは認められなかった。クローン病の腸内細菌叢は *Clostridium* 属の減少に特徴付けられた。また、成分栄養 (ED) を 1200kcal 以上施行している患者の腸内細菌叢は、ED を施行していない患者と明らかに異なるクラスターを形成していた。

D. 考察

T-RFLP 法による解析の結果では、難培養菌を含めた腸内細菌叢はクローン病と健康人で異なることが明ら

かになった。その変化はクローン病における *Clostridium* 属の減少による。また、栄養療法は腸内細菌叢に変化をもたらす効果を発揮している可能性が示唆される。

E. 結論

腸内細菌叢はクローン病と健康人で異なる。その変化はクローン病における *Clostridium* 属の減少による。また、栄養療法は腸内細菌叢に変化をもたらす効果を発揮している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Andoh A, Tsujikawa T, Sasaki M, Mitsuyama K, Suzuki Y, Matsui T, Matsumoto T, Benno Y, Fujiyama Y. Fecal microbiota profile of Crohn's disease determined by terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 29:75-82.

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし