

ulcerative colitis The 2nd Korea-Japan IBD

Symposium Tokyo 2007年11月30日

④板橋道朗、番場嘉子、橋本拓造、廣澤知一郎、小川真平、荒武寿樹、瀬下明良、亀岡信悟：炎症性腸疾患に対する鏡視下手術の工夫と限界 第63回日本大腸肛門病学会学術集会 東京 2008年9月18日

⑤板橋道朗、番場嘉子、橋本拓造、廣澤知一郎、小川真平、荒武寿樹、瀬下明良、亀岡信悟：病態を考慮した潰瘍性大腸炎の手術適応と術式選択

第63回日本大腸肛門病学会学術集会 東京 2008年9月17日

⑥小川真平、板橋道朗、瀬下明良、荒武寿樹、廣澤知一郎、橋本拓造、番場嘉子、山本壮一郎、大塚 亮、亀岡信悟、飯塚文瑛、藤井茂彦、藤盛孝博：colitic cancer 症例の臨床病理学的検討 第63回日本大腸肛門病学会学術集会 東京 2008年9月17日

⑦青山佳正、板橋道朗、小川真平、廣澤知一郎、番場嘉子、山本壮一郎、亀岡信悟：術前にAMIを合併した潰瘍性大腸炎の1例 第45回日本腹部救急医学会総会 東京 2008年3月13日

⑧板橋道朗、番場嘉子、廣澤知一郎、小川真平、瀬下明良、亀岡信悟：炎症性腸疾患におけるHALSの有用性 第69回日本臨床外科学会総会 横浜 2007年11月29日

⑨番場嘉子、板橋道朗、廣澤知一郎、小川真平、荒武寿樹、瀬下明良、亀岡信悟：IBD術後長期経過例における骨粗鬆症の検討 第62回日本大腸肛門病学会学術集会 東京 2007年11月2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

## 潰瘍性大腸炎小児期（15歳以下）手術例における術後 catch up growth の検討

研究協力者 楠 正人 三重大学大学院医学系研究科生命医科学専攻病態修復医学講座  
消化管・小児外科 教授

**研究要旨：【目的】**当科における、小児潰瘍性大腸炎に対する、大腸全摘+J型回腸囊肛門吻合（以下本法）の手術成績の検討を行う。

**【対象と方法】**2000年9月～2007年12月に、本法を施行した209例の内、手術時年齢が15歳以下の16例を対象とした。術前ステロイド合併症、術後早期・晩期合併症、身長変化の検討を行った。

**【結果】**男児9例で、発症時年齢は平均10歳、病悩期間は平均2年、手術時年齢は平均11歳であった。全例全大腸炎型で、臨床経過は再燃緩解型が12例、初回発作型が2例、慢性持続型が1例、急性電撃型が1例であった。術前合併症では、横行結腸穿孔後1例、結腸重全摘・S状結腸粘液瘻手術後の回腸捻転部分切除後1例、直腸膿瘍1例、ステロイド合併症では、成長障害6例（身長 $\leq -2SD$ ）、骨粗鬆症・腰椎圧迫骨折1例、緑内障1例、満月様顔貌6例、アクネ6例、多毛5例が認められた。根治術分割は、一期1例、二期10例、三期5例であった。早期合併症では、創感染5例、縫合不全1例、腸閉塞1例、痔瘻1例、回腸囊膿瘍1例、人工肛門 out-let obstruction 2例、副腎不全1例が認められた。晩期合併症では、痔瘻1例、回腸囊膿瘍2例、回腸囊炎2例、骨粗鬆症圧迫骨折1例、大腿骨微細骨折1例、心室頻拍1例、腎結石1例、吻合部狭窄1例、自律神経失調症1例、不安神経症1例が認められた。現在、2例が肛門病変のために人工肛門状態で、別の3例が人工肛門閉鎖予定である。11例の排便回数は、人工肛門閉鎖後1年で平均5.8回、2年後で平均4.5回であった。昼間は全例で失禁を認めず、2例で軽度の夜間失禁を認めた。社会生活では、登校拒否児1例を除き通常の学校社会生活を送っている。術前総プレドニン投与量が10000mg以上の症例群では、未満の症例群に比して、術後早期合併症発生頻度が有意に高く、また、5年経過後も有意に身長は低く、成長障害が遷延していた。

**【結論】**プレドニン依存例に対して、早期の手術療法導入の啓蒙が必要と考えられた。

共同研究者 三木誓雄、内田恵一、荒木俊光、吉山繁幸、井上幹大、大北喜基、大竹耕平、藤川裕之、安田裕美、小池勇樹、松下航平

所属 三重大学大学院 医学系研究科 生命医科学専攻 病態修復医学講座 消化管・小児外科

### A. 研究目的

当科では、小児潰瘍性大腸炎に対しても、成人症例と同様に根治性を目指した、大腸全摘+J型回腸囊肛門吻合（以下本法）を施行している。そして、小児UC患者では、成人例に比して少ないプレドニン投与量でステロイド合併症が発症し、根治術後もQOLに悪影響を及ぼすことをこれまでに報告してきた。今回、手術症例において術後の

catch up growth について検討した。

### B. 研究方法

2000年9月～2007年12月に、本法を施行した209例の内、手術時年齢が15歳以下の16例を対象とした。術前ステロイド合併症、術後早期合併症、晩期合併症、術後の身長変化について検討を行った。（倫理面への配慮）

患者を対象とする研究については当施設での倫理審査委員会の承認、それに基づく説明と同意を得て研究を実施した。

### C. 研究結果

男児9例女児7例で、発症時年齢は、平均10歳（1～14歳）、病悩期間は平均2年（0～11年）、手術時年齢は平均11歳（8～15歳）であった。内科的

治療では、プレドニン 16/16 (100%)、サラゾピリン・ペンタサ 16/16 (100%)、Immunosuppressant 10/16 (62%)、GCAP, LCAP 7/16 (43%) であった。術前合併症症例では、横行結腸穿孔後 1 例、結腸垂全摘・S 状結腸粘液瘻手術後の回腸捻転部分切除後 1 例、直腸膿瘍 1 例、ステロイド術前合併症では、成長障害 6 例 (身長 < -2SD)、骨粗鬆症・腰椎圧迫骨折 1 例、緑内障 1 例、満月様顔貌 6 例、アクネ 6 例、多毛 5 例に認められた。罹患範囲は全例全大腸炎型で、臨床経過は再燃緩解型が 12 例、初回発作型が 2 例、慢性持続型が 1 例、急性電撃型が 1 例であった。重症度では、軽症が 7 例、中等症が 7 例、重症が 1 例、激症が 1 例であった。根治術分割は、一期 1 例、二期 10 例、三期 5 例であった。術直後合併症では、創感染が 5 例、縫合不全が 1 例、腸閉塞が 1 例、痔瘻が 1 例、回腸膿瘍が 1 例、人工肛門 out-let obstruction が 2 例、副腎不全が 1 例に認められた。長期合併症では、痔瘻 1 例、回腸膿瘍 2 例、回腸囊炎 2 例、骨粗鬆症・大腿骨微細骨折 1 例、心室頻拍 1 例、腎結石 1 例、吻合部狭窄 1 例、自律神経失調症が 1 例、不安神経症が 1 例認められた。現在、2 例が肛門病変のために人工肛門状態で、別の 3 例が人工肛門閉鎖予定である。Intestinal continuity が保たれている 11 例の排便回数は、人工肛門閉鎖後 1 年で平均 5.8 回、2 年後で平均 4.5 回であった。昼間は全例で失禁を認めず、2 例で軽度の夜間失禁を認めた。社会生活では、登校拒否児 1 例を除き通常の学校・社会生活を送っている。術前総プレドニン投与量が 10000mg 以上の症例群では、未満の症例群に比して、術後早期合併症発生頻度が有意に高く、また、術後 5 年を経過しても有意に身長は低く、成長障害が遷延していた。

#### D. 考察

小児 UC 外科治療後の QOL 向上のためには、以下の 4 点、適切な外科治療期の決定、ステロイド投与の徹底的制限、初回 IPAA の高い成功率、手術合併症への適切な対応が重要である。小児 UC に対する外科治療適期の決定、特に、相対的適応の場合は、内分泌、骨成長、ステロイド副作用、心理的問題などを考慮した上で、患児本人、ご家族、医師、

その他の医療スタッフと相談し決定しなければならない。成長と手術時期との関連では、Nicolls らは、思春期前が術後 growth catch up が得られるための、大腸全摘期の目安であると報告しており、小児潰瘍性大腸炎治療指針案にも記載されている。本研究が示したように、術前プレドニロン投与量が多いと、大腸全摘後にステロイド投与が無くなっても、成長の回復が得られない場合もあり、注意が必要である。

また、ステロイド投与とステロイド合併症や、術後合併症との有意な相関関係はこれまでに多くの研究で証明されており、投与量の徹底的制限を行うべく、小児 IBD を治療する医療関係者に漫然とした投与へさらなる警鐘を鳴らし、治療指針案内の初期投与量においても極力少なくするための、エビデンスの集積が必要と考える。

#### E. 結論

プレドニン依存例に対して、早期の手術療法導入の啓蒙が必要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

内田恵一、井上幹大、荒木俊光、大竹耕平、小池勇樹、松下航平、吉山繁幸、安田裕美、藤川裕之、三木誓雄、楠正人

小児潰瘍性大腸炎術後の長期成績：catch up growth についての検討

第 64 回日本大腸肛門病学会学術集会

福岡国際会議場 (福岡) 平成 21 年 11 月 6 日

内田恵一、井上幹大、大竹耕平、小池勇樹、松下航平、吉山繁幸、大北喜基、安田裕美、藤川裕之、荒木俊光、三木誓雄、楠正人

潰瘍性大腸炎小児期手術例の検討

第 46 回日本小児外科学会学術集会

大阪国際会議場 (大阪) 平成 21 年 6 月 3 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 表面微細構造観察による潰瘍性大腸炎関連腫瘍の診断

研究協力者 工藤 進英 昭和大学横浜市北部病院消化器センター 教授

研究要旨:潰瘍性大腸炎 (UC) 関連腫瘍の拡大内視鏡観察では、特徴的な表面微細構造として管状 pit の開大、elongation、絨毛の腫大といった所見が領域性を有して認められるが、その程度は不均一であるといったことがある。これを Neoplastic Pit Pattern of Ulcerative Colitis (NPUC) とし、病変の認識に有用であった。非腫瘍性 pit pattern からの生検では UC 関連腫瘍が検出される可能性は極めて低かった。しかし拡大観察でも認識し得ない病変があり、さらに病変の範囲診断においても、必ずしも有用ではないものがあるので注意を要すると考えられた。また、細胞レベルの観察が可能な Endocytoscopy による超拡大観察を用いてより精細な診断ができる可能性がある。

### 共同研究者

日比紀文、岩男泰、<sup>1)</sup>、松本譽之、樋田信幸<sup>2)</sup>、平田一郎、渡辺真<sup>3)</sup>、渡邊聡明<sup>4)</sup>、田中正則<sup>5)</sup>、味岡洋一<sup>6)</sup>、田中信治、岡志郎<sup>7)</sup>、鶴田修<sup>8)</sup>、渡辺憲治<sup>9)</sup>、高木承<sup>10)</sup>、小林清典、佐田美和<sup>11)</sup>、飯塚文瑛<sup>12)</sup>、黒河聖、今村哲理<sup>13)</sup>、五十嵐正広<sup>14)</sup>、水野研一<sup>15)</sup>、浜谷茂治、樫田博史、伊藤治、池田晴夫、児玉健太、大塚和朗、<sup>16)</sup>

### 所属

<sup>1)</sup> 慶應義塾大、<sup>2)</sup> 兵庫医大、<sup>3)</sup> 藤田保健衛生大、<sup>4)</sup> 帝京大、<sup>5)</sup> 弘前市立病院、<sup>6)</sup> 新潟大、<sup>7)</sup> 広島大、<sup>8)</sup> 久留米大、<sup>9)</sup> 大阪市大、<sup>10)</sup> 東北大、<sup>11)</sup> 北里大東病院、<sup>12)</sup> 東京女子医大、<sup>13)</sup> 札幌厚生病院、<sup>14)</sup> 癌研有明病院、<sup>15)</sup> 新潟大、<sup>16)</sup> 昭和大学横浜市北部病院

### A. 研究目的

孤発性大腸腫瘍の内視鏡診断は、拡大内視鏡を用いて表面微細構造を観察することにより正確に行うことができる。他方、潰瘍性大腸炎 (UC) 関連腫瘍の診断は特徴的な鑑別点が明らかになっていないため容易ではなかった。UC 患者の増大に伴い、UC 関連腫瘍の増加が懸念されており、その診断方法の確立は急務である。

### B. 研究方法

参加施設から、UC 関連腫瘍の拡大内視鏡像と組織像を集計し臨床病理学的に比較検討した。pit pattern 分類は工藤の分類を参考にした。

また、寛解期粘膜の拡大内視鏡所見と同部からの生検標本を比較検討し、拡大観察の有効性について検討した。一部の症例では、細胞レベルの観察が可能な Endocytoscopy も使用した。

### C. 研究結果

腫瘍性表面微細構造である Neoplastic Pit Pattern of Ulcerative Colitis (NPUC) には、大小不同、pit の極性の消失、領域性、疎な腺管密度、大型円形を含む腺口開大、pit の癒合、III型、IV型では管状 pit の開大、elongation、絨毛の腫大といった所見が領域性を有して認められることが多く、その程度は不均一であるといった点があり、内視鏡診断に有用であった。また、非腫瘍性 pit pattern である I型、II型を呈する部位からの生検では腫瘍性病変は検出されなかった。一方、UC 関連癌手術標本の検討では、主病変の範囲診断において、病理診断と乖離があり、内視鏡的に境界を指摘できないものがあつた。さらに副病変では、通常光観察、色素内視鏡に加え拡大観察を施行していても炎症性変化と鑑別しえない病変がみられた。

UC 関連腫瘍に対する Endocytoscopy 観察では、腺腔スリットの辺縁が不整になり、被覆細胞の核が目立つ傾向がみられ、高分化型の例では、腫瘍をよく認識できた。

#### D. 考察

UC 関連腫瘍の pit pattern である NPUC に着目することにより効率的に腫瘍を検出することができ、反対に非腫瘍性 pit pattern である I 型、II 型を呈する粘膜や、極性の乱れが少ない、IV 型絨毛様ものは大小不同が少ない、pit pattern の変化の程度が均一であるといった NonNPUC を呈する粘膜から腫瘍が検出される可能性は低く、過剰な生検を減らすことができる可能性がある。しかし、I 型 pit pattern 様を呈する構造異型の軽度な病変や免疫組織学的手法が鑑別に必要な病変では、拡大内視鏡観察による診断は容易ではなく、主病変周囲にある dysplasia の範囲診断においても同様に困難なことがある。

一方、Endocytoscopy による超拡大観察では、構造異型に加え細胞異型も観察できるため、腫瘍/非腫瘍の鑑別がより精細にできる可能性がある。

#### E. 結論

拡大内視鏡による表面微細構造の観察を行うことにより、UC 関連腫瘍の診断を効率的に行える可能性があり、これを検証していく必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kudo SE : New frontiers of endoscopy from the large intestine to the small intestine. *Gastrointestinal Endoscopy*, 66:S3-S6, 2007

大塚和朗, 水野研一, 池田晴夫, 若村邦彦, 伊藤治, 榎田博史, 和田祥城, 浜谷茂治, 工藤進英: 【colitic cancer 診療 update】 診断 拡大内視鏡 診断 潰瘍性大腸炎関連腫瘍の pit pattern 診断.

*Intestine*. 2009 : 13 : 259-266.

・亀田亮, 大塚和朗, 久津川誠, 松下達彦, 竹村織江, 久行友和, 池田晴夫, 若村邦彦, 細谷寿久, 和田祥城, 林武雅, 池原伸直, 山村冬彦, 池原貴志子, 遠藤俊吾, 榎田博史, 浜谷茂治, 工藤進英: 結核に併存した若年大腸癌の一例. *Progress of Digestive Endoscopy*. 2009:75:99.

・工藤進英, 若村邦彦, 榎田博史, 大塚和朗, 池原伸直, 浜谷茂治, 杉田昭: 【Intestine の時代到来 今、解決しなければならない IBD の諸問題】 IBD における超拡大内視鏡病理学の可能性. *Intestine*. 2009 : 13 : 43-52.

・工藤進英: 炎症性腸疾患における拡大内視鏡の役割. *Color Atlas 大腸拡大内視鏡* (工藤進英編著). 日本メディカルセンター、東京、2009 : 87-94.

・乾正幸, 水野研一, 大塚和朗, 児玉健太, 工藤由比, 榎田博史, 工藤進英: 潰瘍性大腸炎関連腫瘍のサーベイランスにおける拡大内視鏡観察の意義. *Progress of Digestive Endoscopy*, 73:74-6, 2008

・大塚和朗, 水野研一, 浜谷茂治, 工藤由比, 榎田博史, 児玉健太, 工藤進英: UC 関連癌の 1 例. *胃と腸*, 43:1371, 2008

・工藤進英, 池原伸直, 若村邦彦, 笹島圭太, 井上晴洋, 大塚和朗, 石田文生, 榎田博史, 浜谷茂治: 大腸腫瘍性病変に対する endocytoscopy. *胃と腸*, 43:969-77, 2008

工藤進英, 大塚和朗, 榎田博史, 伊藤治, 水野研一, 請川淳一, 浜谷茂治: 潰瘍性大腸炎関連癌の pit pattern 診断. *早期大腸癌*, 11:57-60, 2007

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

「潰瘍性大腸炎、Crohn 病に対する外科治療の予後についての検討」

研究分担者 杉田 昭 横浜市立市民病院 外科 診療担当部長

研究要旨

潰瘍性大腸炎、Crohn 病に対する外科治療の予後を検討するため、多施設共同による外科プロジェクト研究として、①Crohn 病術後経腸栄養療法の再発予防効果の検討-RCT-、②潰瘍性大腸炎、Crohn 病に合併した小腸、大腸癌の予後-全国アンケート調査-、③Crohn 病手術例の妊娠、出産例の検討-多施設共同研究-、④Crohn 病人工肛門造設例の経過と合併症の検討-多施設共同研究-を行った。

Crohn 病術後経腸栄養療法の再発予防効果については中間解析で経腸栄養療法の compliance の低下が明らかとなり、その再発予防効果については詳細な解析を施行中、小腸、大腸癌については潰瘍性大腸炎、Crohn 病ともに術後の予後規定因子は癌進行度で、潰瘍性大腸炎では癌サーベイランスプログラムの効果と予測される早期癌の発見で術後生存率は良好であるのに対し、Crohn 病では本邦に多くみられる直腸、肛門管癌の早期発見が困難で予後不良であることから、癌サーベイランスプログラムの確立のために本研究班参加施設で preliminary study を行うこととした。Crohn 病術後妊娠、出産に関しては、通常と変わらない潰瘍性大腸炎術後とは異なり、流産、低体重児出産が多く、帝王切開での出産が約半数を占めた。Crohn 病人工肛門造設例では術後合併症が併発することは稀ではなく、その経過と治療効果を集計して、人工肛門造設術の位置付けを明らかにするため、アンケート調査を開始、2010 年 7 月に集計を行う予定である。

そのほか、潰瘍性大腸炎、Crohn 病治療指針改訂プロジェクト（責任者：松本譽之先生）で潰瘍性大腸炎、Crohn 病外科治療指針改訂案を本研究班参加外科施設で作成し、本プロジェクトに提出した。

共同研究者

小金井一隆	横浜市立市民病院 外科
二見喜太郎	福岡大学筑紫病院 外科
池内浩基	兵庫医科大学 消化器外科
佐々木巖	東北大学 生体調節外科

1. 研究目的

潰瘍性大腸炎、Crohn 病に対する外科治療の効果と問題点を検討するためには、多施設共同研究によるプロジェクト研究が必要である。本研究班では外科治療例の重要課題である①Crohn 病術後経腸栄養療法の再発予防効果の検討-RCT-、②潰瘍性大腸炎、Crohn 病に合併した小腸、大腸癌の予後、③Crohn 病手術例の妊娠、出産例の検討-多施設共同研究-、④Crohn 病人工肛門造設例の

経過と合併症の検討-多施設共同研究-、を外科プロジェクト研究として選択した。

2. 対象、方法

これらの課題について本研究班参加施設、または「潰瘍性大腸炎、Crohn 病に合併した小腸、大腸癌の予後」検討プロジェクトでは全国の症例を報告した施設に参加を依頼し、多施設で共同研究を行って、本邦での実態、対策を検討した。

3. 結果

- 1) Crohn 病術後経腸栄養療法の再発予防効果：中間解析で経腸栄養療法の compliance の低下が明らかとなり、その再発予防効果については詳細な解析を施行中である (1)。
- 2) 潰瘍性大腸炎、Crohn 病に合併した小腸、大腸癌：両疾患ともに術後の予後規定因子は癌進

行度で、潰瘍性大腸炎では癌サーベイランスプログラムの効果と予測される早期癌の発見で術後生存率は良好であるのに対し (2)、Crohn 病では本邦に多くみられる直腸、肛門管癌の早期発見が困難で予後不良であることから (3)、癌サーベイランスプログラムの確立のために本研究班参加施設で preliminary study を行うこととした (4)。

### 3) Crohn 病術後妊娠、出産：

通常と変わらない潰瘍性大腸炎術後とは異なり、Crohn 病術後症例では流産、低体重児出産が多く、帝王切開での出産が約半数を占めた (5)。

### 4) Crohn 病人工肛門造設例の予後：

人工肛門造設例では術後合併症が併発することは稀ではなく、その経過と治療効果を集計して、人工肛門造設術の位置付けを明らかにするため、アンケート調査を開始、2010 年 7 月に集計を行う予定である (6)。

## 4. 考察

潰瘍性大腸炎、Crohn 病に対する外科治療の予後の検討には多施設共同のプロジェクト研究が必要であり、今後も本研究班外科施設で課題を分析して有効な治療法を検討する予定である。

5. 潰瘍性大腸炎、Crohn 病外科治療指針改訂案作成：潰瘍性大腸炎、Crohn 病治療指針改訂プロジェクト（責任者：松本譽之先生）で両疾患の外科治療指針改訂案を本研究班参加外科施設で作成し、本プロジェクトに提出した。

## 6. 文献

1) 杉田昭：Crohn 病術後経腸栄養療法の再発予防効果の検討－RCT project の中間解析－。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性炎症性腸管障害に関する調査研究。平成 21 年度総括、分担研究報告書に提出中。

2) 杉田昭：潰瘍性大腸炎、Crohn 病に合併した小腸、大腸癌の特徴と予後－第 2 報－。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性炎症性腸管障害に関する調査研究。平成 18 年度総括、分担研究報告書。P49-52

3) 杉田昭：潰瘍性大腸炎、Crohn 病に合併した小腸、大腸癌の特徴と予後－第 3 報－。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性炎症性腸管障害に関する調査研究。平成 19 年度総括、分担研究報告書。P87-89

4) 杉田昭：潰瘍性大腸炎、Crohn 病に合併した小腸、大腸癌の特徴と予後－第 5 報－。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性炎症性腸管障害に関する調査研究。平成 21 年度総括、分担研究報告書に提出中。

5) 杉田昭、小金井一隆、佐々木巖：クローン病手術例の妊娠、出産の検討－多施設共同研究－。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性炎症性腸管障害に関する調査研究。平成 20 年度総括、分担研究報告書。P76-80

6) 杉田昭、小金井一隆、二見喜太郎、池内浩基、佐々木巖：Crohn 病人工肛門造設例の経過と合併症の検討－多施設共同研究－。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 難治性炎症性腸管障害に関する調査研究。平成 21 年度総括、分担研究報告書に提出中。

## 重症難治性潰瘍性大腸炎におけるシクロスポリン持続静注療法

### ～Top-down Therapy と Step-up Therapy の比較検討～

研究協力者 高添 正和 社会保険中央総合病院 炎症性腸疾患センター長

研究要旨：重症難治性潰瘍性大腸炎 (UC) に対するシクロスポリン (CsA) 持続静注療法の有効性が報告されているが、今回、臨床的活動指数 (UCAI)、内視鏡所見よりステロイド (PSL) 抵抗性と判断し当初から CsA を投与した Top-down Therapy の有用性について検討した。本療法は PSL 投与の反応を見てから CsA を併用投与した治療 (Step-up Therapy) 群と比べ、緩解導入率、緩解維持率が有意に高かった。また、サイトメガロウイルス (CMV) 感染の合併も有意に低く、患者の QOL 向上に寄与する有用な治療戦略と考えられた

共同研究者：吉村直樹

所属：社会保険中央総合病院炎症性腸疾患センター

る症例に CsA を併用した群 (59 例) の 3 群ににけて緩解導入率、緩解維持率を比較検討した。

#### A. 研究目的

重症難治性 UC に対する CsA 持続静注療法の有効性が報告されているが、PSL 投与後の反応を見てから CsA を併用する従来の方法では、PSL 長期投与の影響もあり CsA による粘膜再生治療の遷延化、CMV 感染の合併などから緩解導入できずに手術になる症例も少なくない。今回、従来の CsA 療法 (Step-up Therapy) と Top-down Therapy を用いた症例の緩解導入率、緩解維持率を比較検討し、Top-down Therapy の有用性を明らかにすることを目的とした。

#### B. 研究方法

1997 年 1 月から 2006 年 12 月までに CsA 持続静注療法を導入した重症 UC 114 例を a)UCAI、内視鏡所見より PSL 抵抗性と判定し PSL を投与せずに当初から CsA を投与した Top-down Therapy 群 (21 例)、b) PSL (40mg 以上) 投与 2 週以内に抵抗性と判定し CsA を併用した群 (34 例)、c) 2 週間以上の長期にわたり PSL (40mg 以上) が投与されてい

#### C. 研究結果

114 例中 89 例 (78.1%) が緩解導入できた。各群の緩解導入率は a) 群 20 例 (95.2%)、b) 群 31 例 (91.2%)、c) 群 38 例 (64.4%) であった。緩解後、半年以上経過観察し得た (新たな免疫抑制剤の併用のない) 55 例の再燃率を検証すると a) 群は 16 例中 1 例 (6.3%) に再燃を認めただけであるが、b) 群は 21 例中 8 例 (33.1%)、c) 群は 18 例中 8 例 (44.4%) に再燃を認め、Top-down Therapy (T) 群と Step-up Therapy (S) 群との間で有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。検索できた 89 例の CMV 感染合併の有無を検証すると a) 群は 16 例中 1 例が陽性であったが、b) 群は 29 例中 8 例 (27.6%)、c) 群は 44 例中 23 例 (52.3%) が陽性であり、PSL 投与期間と相関を認めた。

#### D. 考察

T 群は他の 2 群 (S 群) に比べ、緩解導入率、緩解維持率が有意に高かった。緩解例 77 例の CsA 導入前と緩解後の内視鏡スコアの低下を比較すると T 群 20 例は  $11.4 \pm 1.1 \rightarrow 4.0 \pm 1.8$  であるが、S 群 69 例では  $11.6 \pm 1.1 \rightarrow 5.9 \pm 1.2$  であった ( $p < 0.05$ )。また、S 群では臨床的緩解後も内視鏡所見上は白



苔の残存を認めることが多いが、これは長期ステロイド投与により粘膜の線維化が進行しCsAによる粘膜治癒が遷延しているためであり、T群に比べて再燃率が高い一因になっていると考えられる。

#### E. 結論

臨床的、内視鏡的にPSL抵抗性と判断した重症UC症例では当初からCsAを導入するTop-down Therapyが患者のQOL向上に寄与する有用な治療戦略と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表なし

##### 2. 学会発表

###### 1) Naoki Yoshimura, Yasuo Suzuki, Masakazu Takazoe

Clinical Efficacy of "Top-down" Intravenous Cyclosporin Therapy in Patients with Severe Ulcerative Colitis

米国消化器病週間 (DDW2007)

Washington 2007年5月20日

###### 2) 吉村直樹 鈴木康夫 高添正和

シクロスポリン持続静注療法を導入した重症難治

性潰瘍性大腸炎の長期予後の検討

第95回日本消化器病学会総会シンポジウム

札幌2009年5月7日

###### 3) 吉村直樹 鈴木康夫 高添正和

重症難治性潰瘍性大腸炎に対するシクロスポリン持続静注療法の位置づけ

第51回日本消化器病学会大会 (JDDW2009)

ワークショップ

京都2009年10月14日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
難治性炎症性腸管障害に関する調査研究  
分担研究報告書

- (1) 分子クローニング法によるクローン病病因解明へのアプローチ  
(2) 上皮細胞分化形態形成蛋白エピモルフィンの腸上皮細胞保護作用に関する研究

研究協力者 飯塚 政弘 秋田赤十字病院附属あきた健康管理センター 所長

研究要旨：分子クローニング法により、クローン病 (CD) 患者血清と強い反応を示す陽性クローン (C117) が同定され、CD 患者の 48% が C117 に対する抗体を有していた。C117 は抗酸化酵素 peroxiredoxin 6 と高い相同性を有していることより、peroxiredoxin 6 は自己免疫のターゲットとなり CD の病因に関与している可能性が示唆された。

上皮細胞分化形態形成蛋白エピモルフィン (EPM) は、radical scavenger 機能を併せ持つことにより腸上皮細胞を酸化ストレスから保護しているものと考えられた。

共同研究者 相良 志穂

秋田赤十字病院附属あきた健康管理センター

#### A. 研究目的

- (1) 分子クローニング法により CD の病因 (特に自己抗体、感染因子の同定) を同定する。  
(2) 腸上皮細胞保護作用を有する EPM の radical scavenger 機能の有無を明らかにする。

#### B. 研究方法

(1) CD 患者腸組織より cDNA library を作成し、library に含まれる 150 万個の遺伝子を典型的な CD 患者血清でスクリーニング。陽性クローンが得られた場合、その由来を明らかにするとともに、CD 患者血清に特異的に反応する物質かを Western Blot, ELISA で検討。さらに、陽性クローンに対して抗体を有する CD 患者の特徴を解析。

(2) EPM の、ラジカル生成能、カタラーゼ活性、SOD 活性を測定。

(倫理面への配慮)

本研究は、秋田大学医学部倫理委員会に申請し、その許可のもとに行われた。

#### C. 研究結果

- (1) スクリーニングの結果 9 個の陽性クローンが得られたが、感染因子は含まれていなかった。このうち患者血清と最も強く反応した C117 は抗酸化酵素 peroxiredoxin 6 と高い相同性を示した。Western Blot の結果、CD 患者の 48% が C117 に対して抗体を有し、ELISA でも CD 患者で C117 に対する高い抗体価が認められた。抗体所有者は有手術歴者が多く、また小腸型患者は抗体陽性率が高い傾向を示した。  
(2) EPM の添加により培養液中のラジカル生成能は急速に消失し、カタラーゼ活性の有意な上昇を認めしたが SOD 活性の誘導は認められなかった。

#### D. 考察

同定された C117 は抗酸化酵素 peroxiredoxin 6 と高い相同性をもち、また約半数の CD 患者で C117 に対する抗体が認められた。CD の病因に酸化ストレスの関与が示唆されており、一部の CD 患者において peroxiredoxin 6 は自己免疫反応のターゲットなどの機序で疾患の発症に関与している可能性が示唆された。

EPM は、細胞生存シグナルの活性化とともに radical scavenger 機能を併せもつことが明らかになり、これらの 2 つの機能により、腸上皮細胞を酸

化ストレスから強力に保護しているものと考えられた。

#### E. 結論

(1) Peroxiredoxin 6 は自己免疫反応のターゲットなどの機序により一部の CD の発症に関与している可能性が示唆された。(2) EPM は、細胞生存シグナルの活性化、radical scavenger 機能により、腸上皮細胞を酸化ストレスから保護しているものと考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Iizuka M, Sasaki K, Hirai Y, Shindo K, Itou H, Konno S, Dhshima S, Horie Y, Watanabe S: Morphogenic protein epimorphin protects intestinal epithelial cells from oxidative stress by the activation of EGF receptor and MEK/ERK, PI3 kinase/Akt signals. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292: G39-G52, 2007.  
(1 編は現在投稿準備中)

##### 2. 学会発表

1. 飯塚政弘、堀江泰夫、渡辺純夫・ワークショップ 13. 消化管上皮細胞分化・増殖制御による疾患治療. 上皮細胞分化形態形成蛋白 epimorphin の腸上皮細胞保護作用に関する検討・第 49 回日本消化器病学会大会・神戸ポートピアホテル・平成 19 年 10 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、2. 実用新案登録、3. その他  
すべてなし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
難治性炎症性腸管障害に関する調査研究  
分担研究報告書

3年間の当科での取り組み

研究協力者 池内 浩基 兵庫医科大学下部消化管外科 教授

研究要旨：平成19年度は colitic cancer のサーベイランスに FDG-PET 検査が有効であるかどうかを UC 及び CD に合併した癌症例を対象に検討した。平成20年度は、クローン病における直腸切断術の適応基準、潰瘍性大腸炎手術における Surgical Site Infection、さらに潰瘍性大腸炎の手術症例が1000例に達したため、その結果を潰瘍性大腸炎手術症例1000例の検討として発表した。平成21年度は最近増加傾向が明らかな潰瘍性大腸炎に合併する大腸癌症例をまとめて、手術症例からみた潰瘍性大腸炎に合併する大腸癌症例の現状として発表した。また、潰瘍性大腸炎の術式が確立された2000年以降の症例をもとに、潰瘍性大腸炎における pouch 機能率からみた術式選択の妥当性について検討した。

共同研究者：内野 基<sup>1)</sup>、松岡宏樹<sup>1)</sup>、坂東俊宏<sup>1)</sup>、  
福田能啓<sup>2)</sup>、松本誉之<sup>3)</sup>

- 1) 兵庫医科大学下部消化管外科
- 2) 兵庫医科大学地域総合医療学講座
- 3) 兵庫医科大学下部消化管科

研究結果

1. 潰瘍性大腸炎に合併した Colitic Cancer に対する PET 検査所見の検討

1) UC 症例に対する癌のサーベイランスを目的とした PET 検査は、CRP が陰性の症例に限るべきである。

2) 内視鏡検査時の病理検査が dysplasia であっても PET 検査所見が陽性の病変に関しては進行癌の可能性があり、手術を急ぐべきである。

2. クローン病に対する PET 検査の有用性の検討

サーベイランスに新しい検査法を導入するには、診断の精度とコストに見合った情報量が得られるかどうかを検討しなければならない。今回の検討で、肛門周囲の瘻孔の走行と一次口の同定に FDG-PET 検査が有用であることは分かったが、診断精度、他の検査法の精度および、コストを考慮すると、現時点ではクローン病のサーベイランスに FDG-PET 検査を導入することは有用ではないものと思われた。

3. クローン病直腸切断術の適応基準—人工肛門造設症例からみた検討

1) クローン病患者の累積永久人工肛門造設率は発症20年で33%と極めて不良であった。

2) 直腸肛門病変の悪化が原因で人工肛門造設術

を行った症例の経過を見ると、ほぼ100%永久人工肛門であるため、同意が得られる場合は直腸切断術を考慮すべきであると思われた。

4. 炎症性腸疾患手術における Surgical Site Infection (SSI) の検討

汚染手術を除いた大腸癌、潰瘍性大腸炎、クローン病手術での SSI 発症率には有意差がなかった。手術部位、SSI 発生部位別に検討したところ、IBD 手術では体腔/臓器 SSI には有意差を認めなかったが、皮切部 SSI は有意に高率であった。

5. 手術症例からみた潰瘍性大腸炎に合併する大腸癌症例の現状

1. 潰瘍性大腸炎手術症例の6.4%に癌の合併を認めた。

2. 82%の症例が大腸癌取扱い規約による stage II 以下、Dukes 分類の B 以下で、比較的早期の症例が多かった。

3. 全症例の予後は良好で、累積5年生存率は87%であった。

6. 潰瘍性大腸炎における pouch 機能率からみた術式選択の妥当性についての検討

1. 3期分割手術となった症例は、緊急手術と重症・激症型の頻度が有意に高く、術前のステロイド投与量も有意多かった。

2. 3期分割手術症例の周術期死亡率と早期 pouch 機能率は1期的手術、2期分割手術よりも不良であった。

3. 長期 pouch 機能率は分割手術との関連性はなかった。

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
難治性炎症性腸管障害に関する調査研究  
分担研究報告書

Allelic expression imbalance を用いた感受性遺伝子機能解析

研究協力者 木内 喜孝 東北大学高等教育開発推進センター 准教授

研究要旨：Genome wide association study で同定されたハプロタイプ ブロックより、疾患感受性遺伝子の同定およびその機能解析を行うために、ヒトサンプルを用いて Allelic expression imbalance 測定を *TNFSF15* 遺伝子、*IL12B* 遺伝子で行った。その結果、*TNFSF15* 遺伝子、*IL12B* 遺伝子のリスクアリル（ハプロタイプ）は、特定の細胞種で m-RNA レベルで発現を亢進させ、その疾患感受性に影響を与えていることを示した。

共同研究者：

角田洋一、高橋成一、根来賢一、植木紳夫、遠藤克哉、志賀永嗣、下瀬川徹

所属：東北大学消化器病態学分野

A. 研究目的

最近の2年間で、数十万箇所以上もの一塩基多型 (SNP) をマーカーとしたゲノムワイド相関解析が行われ、炎症性腸疾患で多数の感受性遺伝子候補が報告されている。しかし、これらは相関する Tag-SNP が規定するハプロタイプブロック内に感受性を示す変異がある可能性を示すだけで、その近傍にある遺伝子が感受性遺伝子候補として示されているものの、それが病因に関与する遺伝子であるかは機能的な解析が必要となる。相関を示す SNP の多くはアミノ酸をコードしない部位にあり、感受性を示す要因のひとつとして、その SNP が近傍の遺伝子発現量に変化をもたらす (cis-)regulatory SNP として働いていることが予想される。しかし解析手法にいくつかの問題があるため、regulatory SNP の機能解析によって感受性遺伝子が機能的に病因への関与が証明されたものは少ない。

そこで私達は、in vivo でリスクアリルと非リスクアリル由来の m-RNA 発現量に差の生じる細胞種を特定し、その細胞種で発現量の変化するメカニズムを in vitro で解析するという順で解析を行った。今回対象とした感受性遺伝子は日本人クローン病の感受性遺伝子とされる *TNFSF15* 遺伝子、*IL12B* 遺伝子である。

B. 研究方法

Allelic expression imbalance は、SNaPshot 法で行った。サンプルは健常者末梢血リンパ球、単球、各種培養細胞を用いて行った。

プロモーターアッセイ、ゲルシフトアッセイ等は、既法に従って行った。

(倫理面への配慮)

臨床検体を用いた遺伝子解析については、国の指針を厳守し、また本研究は東北大学倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

*TNFSF15* 遺伝子のリスクハプロタイプ由来の m-RNA は、有意に非リスクハプロタイプ由来の m-RNA より末梢リンパ球 (刺激時) において発現量が多く、また *IL12B* 遺伝子では、末梢血単球 (刺激時) にて同様にリスクハプロタイプ由来の m-RNA 発現量が増加することが確認された。*TNFSF15* 遺伝子については、プロモーターアッセイにより、その発現量の差は -358 T/C SNP にあることを示した。

D. 考察

Genome wide association study により、感受性に影響を与える変異がある特定のハプロタイプブロック内に存在することが示されているが、その後の機能解析のストラテジーがあまり明確になっていない。本研究にて示したとおり、ハプロタイプブロック内のリスクハプロタイプ由来の m-RNA と非リスクハプロタイプ由

来のm-RNAを比較し、regulatory SNPとして働いている細胞種を同定してから、従来の解析手法を用いて機能解析することが、有効な方法と考えられた。

#### E. 結論

TNFSF15遺伝子、IL12B遺伝子のリスクアリル（ハプロタイプ）は、特定の細胞種でm-RNAレベルで発現を亢進させ、その疾患感受性に影響を与えていることを示した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Endo K, Kinouchi Y, Kakuta Y, Ueki N, Takahashi S, Shimosegawa T: Involvement of NF-kappa B pathway in TL1A gene expression induced by lipopolysaccharide. *Cytokine*. 2010, 49:215-220.
2. Kakuta Y, Ueki N, Kinouchi Y, Negoro K, Endo K, Nomura E, Takagi S, Takahashi S, Shimosegawa T: TNFSF15 transcripts from risk haplotype for Crohn's disease are overexpressed in stimulated T cells. *Hum molecular Genetics* 2009, 18(6):1089-98.
3. Aizawa H, Kinouchi Y, Negoro K, Nomura E, Imai G, Takahashi S, Takagi S, Kakuta Y, Tosa M, Mochida A, Matsumura Y, Endo K, Shimosegawa T: HLA-B is the best candidate of susceptibility genes in HLA for Japanese ulcerative colitis. *Tissue Antigens* 2009 73(6):569-74.
4. Matsumura Y, Kinouchi Y, Nomura E, Negoro K, Kakuta Y, Endo K, Aizawa H, Takagi S, Takahashi S, Shimosegawa T: HLA-DRB1 alleles influence clinical phenotypes in Japanese patients with ulcerative colitis. *Tissue Antigens*. 2008, 71(5):447-52.
5. Mochida A, Kinouchi Y, Negoro K, Takahashi S, Takagi S, Nomura E, Kakuta Y, Tosa M, Shimosegawa T: Butyrophilin-like 2 gene is associated with ulcerative colitis in the Japanese under strong linkage disequilibrium with *HLA-DRB1\*1502*, *Tissue*

*Antigens* 2007, 70: 128-135.

##### 2. 学会発表

1. Kimura T, Kakuta Y, Kinouchi Y, Takahashi S, Negoro K, Endo K, Umemura K, Aizawa H, Ueki N, Shiga H, Matsuura M, Arai T, Shimosegawa T: Genotype-Phenotype Analysis of the SNP (Rs6887695) Located Telomeric to I112b Reveals Association with Colonic Disease of Japanese Crohn's Disease. 110<sup>th</sup>AGA. (31, May, June, Chicago)
2. Aizawa H, Kinouchi Y, Negoro K, Kakuta Y, Takahashi S, Endo K, Ueki N, Shiga H, Matsuura M, Kimura T, Arai T, Shimosegawa T: Candidate Gene Analysis of KIR3DL1 in Japanese Ulcerative Colitis. 110<sup>th</sup>AGA. (31, May, June, Chicago)
3. Aizawa H, Kinouchi Y, Negoro K, Kakuta Y, Nomura E, Takagi S, Takahashi S, Shimosegawa T: Lack of association between IRGM and Crohn's disease in Japanese patients demonstrates population-specific differences in inflammatory bowel disease. 109<sup>th</sup> AGA (17-22/May, 2008, San Diego)
4. Ueki N, Kinouchi Y, Kakuta Y, Endo K, Nomura E, Negoro K, Takahashi S, Shimosegawa T: The -360t/C Polymorphism in the Tnfsf15 Gene Influences the Transcriptional Activity in Activated T Lymphocytes. 109<sup>th</sup> AGA. (17-22/May, 2008, San Diego)

#### 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  
該当なし

炎症性腸疾患の憎悪因子としての CMV 感染の意義と IBD からの Colitic cancer 発症機序についての研究

研究分担者 千葉 勉 京都大学大学院医学研究科消化器内科学講座 教授

研究要旨：1) 潰瘍性大腸炎の憎悪因子としての CMV 感染の意義と診断法、2) IBD からの Colitic cancer 発症機序、について検討をおこなった。その結果、1) では Mucosal PCR 法を応用した腸管粘膜内の CMV-DNA 検索が、ステロイドを含む免疫調整剤に治療抵抗性を示す UC 患者における CMV 感染の診断に有用であり、CMV 治療が多くの UC 患者に有用であることが示された。また 2) については、炎症によって腸粘膜に発現した AID が遺伝子変異を導入することによって Colitic cancer の発症に深く関与していることが明らかとなった。

共同研究者

仲瀬裕志 京都大学医学部附属病院内視鏡部 講師  
丸澤宏之 京都大学医学研究科消化器内科学講座  
講師

A. 研究目的

1) サイトメガロウイルス(cytomegalovirus; CMV)は日本人の大多数が周産期に初感染し、大多数は不顕性感染の経過をたどり、主に免疫不全患者において再活性化され重篤な合併症を来す。近年、難治性潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis, 以下 UC) における憎悪因子として CMV 感染が注目されている。その理由として、難治例においてはステロイドを含めた免疫抑制剤を使用することが多く、このような状況下でしばしば CMV が再活性化し、UC の病態を悪化させ、中毒巨大結腸症や穿孔などの合併症を生じるからである。UC 患者における CMV 感染の診断は、主として血中 CMV 抗原測定、および生検材料を用いた病理学的診断 (核内封入体の有無) により行われてきた。しかし、大腸内視鏡検査にて CMV 感染の合併が疑われるにも関わらず、上記検査結果が陰性のため治療方針の決定に難渋する症例がしばしば存在する。近年、血中の CMV 抗原 (CMV antigenemia) を用いた診断法が CMV 感染の診断に有用とされている。CMV antigenemia 陽性の意味するところは、CMV に感染した血管内皮細胞や組織の感染細胞などで産生さ

れた CMV 抗原を核内に取り込んだものと考えられており、すなわち CMV 抗原血症は、体内のどこかに活動的な CMV 感染巣が存在することを示している。また、CMV 核酸診断法としての Polymerase chain reaction (PCR) の有用性も報告されている。しかしながら、組織に潜伏感染している CMV ゲノムの存在により、症状に関係なく PCR の結果が陽性になり、結果の解釈が困難な場合がある。

CMV が増殖する際には、前初期遺伝子 (immediate early: IE), 初期 (early: E), 後期 (late: L) の順序で段階的に、また相互依存的に転写、翻訳される。我々は、CMV 感染をできるだけ早期に診断することを目的として、IE 遺伝子の特異的に検出する PCR プライマーを設定し、大腸粘膜から生検を行い、炎症部位および非炎症部位の CMV-DNA の存在を比較検討した。その結果、我々の開発した PCR 法が単なる存在診断ではなく、CMV 感染の早期診断治療に有用であることを報告してきた。そこで、今回我々は、クローン病 (以下: CD) および腸管ベーチェット病 (以下: BD) を含めた難治性炎症性腸疾患における CMV 感染の関与について、mucosal PCR 法を用いて検討した。

2) 炎症性腸疾患、特に難治性潰瘍性大腸炎 (UC) の長期罹患に伴う合併症として、最も問題となるのは大腸発癌 (Colitis-associated colorectal cancer: CAC) である。CAC の発生は UC 症例でも全大腸炎型、

長期罹患者に多く認められ、罹患期間に比例して発癌のリスクが増すことが良く知られている。CACからの発癌機序は、Adenoma-carcinoma sequenceの発現形式をとる散発性大腸癌とはその性質を異にし、早期から *p53* 遺伝子変異を来たすことが知られているが、その生成の分子機序については不明のままであった。

そこで、我々が着目しているのが、遺伝子編集酵素 Activation-induced cytidine deaminase (AID) である。AIDはCytidine deaminase 活性を持ち、DNAに遺伝子変異を導入する作用を有することが知られている。AIDは生理的条件下では、活性化されたB細胞においてのみ発現し、免疫グロブリン遺伝子の可変領域に高頻度に体細胞突然変異を導入することにより、抗体の多様性獲得に寄与している。しかし、AIDの異常発現とリンパ系悪性腫瘍との関連が報告されるようになり、また、AIDを全身に恒常的に発現するマウス(AIDトランスジェニックマウス)では全例にリンパ腫が発生するなど、AIDによる遺伝子変異生成がヒトのリンパ系悪性腫瘍の発生から進展に関与していると考えられるようになってきた。さらにAIDトランスジェニックマウスの解析を進めると、リンパ腫以外に、上皮系悪性腫瘍の発生を認めたことから、AIDがその遺伝子変異活性を介して、リンパ系悪性腫瘍のみならず、上皮系悪性腫瘍の発生に関与していることが示唆されたのである。

リンパ球と異なり、上皮系組織では通常はAIDの発現を認めない。しかし、我々は、AIDが様々な消化器系臓器の炎症性発癌における遺伝子変異生成分子であることを報告している。AIDが炎症下では異所性に発現誘導されることが、C型肝炎ウイルス感染を伴う慢性肝炎からの肝発癌過程において、ヘリコバクター・ピロリー菌感染を伴う慢性胃炎からの胃発癌過程において、明らかとなった。すなわち、正常な肝細胞、胃上皮細胞ではAIDの発現を認めないにも関わらず、炎症性サイトカイン刺激や、ウイルス感染によりAIDが異所性に発現誘導されたのである。以上のことから、CAC発症においてもAIDの関与が疑われ、ヒト大腸上皮におけるAIDの発現制御機構を中心に研究を行った。

## B. 研究方法

### 1) CMV 感染診断法

対象全例に対し、(1) ペルオキシダーゼ標識抗CMVヒトモノクローナル抗体 (C7-HRP, C10, C11) を用いた免疫染色でCMV antigenemiaの検索を測定した。

(2) 同時期に無前処置下で大腸内視鏡を施行した。観察可能であった部位までに存在する炎症部位(潰瘍辺縁や潰瘍底を含む)から組織生検を行い、HE染色で核内封入体(Cytomegalic inclusion body; CIB)を検索するとともに抗CMVモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学で陽性細胞を検索した。(3) real-time PCR法による腸管粘膜内のCMV-DNAによりCMV感染の有無を検索した。具体的には、色素散布および拡大内視鏡を使用し、大腸粘膜炎症部位および非炎症部位を判別し生検を行った。生検組織よりDNAを抽出し、両部位のCMV-DNAの存在を比較検討した。CMV-DNAの検出にはIE遺伝子に特異的であるプライマーを設定しreal-time PCR法を行い、10copy以上を陽性と判定した。

上記の3つの検索方法うちいずれか1つでCMVの存在が確認された場合を陽性例として取り扱った。

### 2) Colitic cancer 発症機序の検討

(1) ヒトAIDに対する特異的抗体を用いて、臨床検体の免疫染色を行い、大腸上皮組織におけるAIDの発現の有無の確認を行った。正常大腸組織5症例、UC組織22症例、UC関連腫瘍15症例を用いた。

(2) 炎症細胞におけるAID発現の分子機序を解析する目的で、UCの大腸上皮組織で発現が上昇している炎症性サイトカイン Tumor-necrosis factor (TNF)- $\alpha$  に着目をした。ヒト大腸癌細胞株に対して、TNF- $\alpha$  刺激を行い、AIDの発現制御機構の解析をReal time PCR法、Western blot法で行った。

(3) UCの病態形成に重要な役割を果たしているTh2サイトカインであるinterleukin (IL)-4、13に着目し、ヒト大腸癌細胞株にIL-4、IL-13刺激を行い、AIDの発現制御の解析をReal time PCR法、Western blot法で行った。

(4) ヒト大腸上皮細胞におけるAIDの遺伝子変異活性の有無の解析を行った。大腸上皮細胞にAIDを



8週間過剰発現させたのち、細胞からDNAを回収し、各種癌関連遺伝子の塩基配列を解析し、遺伝子変異の有無の確認を行った。

#### (倫理面への配慮)

末梢血および生検組織の解析を行う場合には、各患者に対して informed consent を行った。

### C. 研究結果

#### 1) CMV 感染診断

1. 各種CMV感染合併率と臨床像の比較。(1) UC患者43名中20名(46.5%)で、mucosal PCR法にてCMV-DNAが陽性であった。CMV-DNAが陽性20名のうち、血中CMV抗原または核内封入体が陽性を示した患者は5名(25%)のみであった。(2) CD患者9名中、CMV-DNA、血中CMV抗原、または核内封入体が陽性を示した患者は0名であった。(3) BD患者8名中、2名(25%)でCMV-DNAが陽性であった。CMV-DNA陽性患者のうち、血中CMV抗原または核内封入体が陽性を示した患者は1名(50%)であった。
2. UC、BD患者において、CMV-DNAは炎症粘膜部位のみで検出された。
3. UCにおいて、CMV-DNA陽性群と陰性群間で、各種内視鏡スコア(DAI, Matt's, CAI score)における有意差は認められなかった。
4. UC患者CMV-DNA陽性患者20名のうち14名(70%)は抗ウイルス剤投与による治療を行い、全例CMV-DNAが陰性化した。抗ウイルス剤投与単独で臨床的緩解に到った患者は6名、投与後G-CAPの併用が必要となった患者6名、タクロリムスを必要とした患者1名、手術にいたった患者1名であった。

#### 2) Colitic cancer 発症機序の検討

1. 臨床検体を用いたAIDの免疫染色では、5例の正常大腸粘膜上皮では内在性AIDの発現を認めないにも関わらず、潰瘍性大腸炎組織、潰瘍性大腸炎を背景に発生した癌組織の上皮細胞ではAIDが高発現していることが明らかとなった。潰瘍性大腸炎症例22例のうち12例(54%)でAIDが高発現しており、潰瘍性大腸炎関連腫瘍15例では12例(80%)で

AIDが強陽性であった。

2. まず、ヒト大腸癌細胞株に対して、TNF- $\alpha$ 刺激を行ったところ、AIDが発現誘導されることが確認された。次に、TNF- $\alpha$ シグナルの下流の転写因子であるNF- $\kappa$ B特異的阻害作用を有するI $\kappa$ B $\alpha$ を強発現させたところ、TNF- $\alpha$ 刺激により誘導されるAID発現が抑制されることが明らかとなった。以上のことから、ヒト大腸上皮細胞においてAIDは炎症性サイトカインTNF- $\alpha$ により発現誘導され、この炎症刺激によるAID発現はNF- $\kappa$ B依存性であることが明らかとなった。
3. ヒト大腸癌細胞株にTh2サイトカインであるIL-4、IL-13刺激を行ったところ、AIDが発現誘導されることが確認された。IL-4、IL-13の下流の転写因子であるSTAT6を抑制すると、IL-4、IL-13によるAID発現が抑制された。以上のことから、大腸上皮細胞におけるIL-4、IL-13刺激によるAID発現は、STAT6依存性であることが明らかとなった。
4. 大腸上皮細胞におけるAIDの遺伝子変異の有無を解析する目的で、まず、大腸上皮細胞に、AIDを過剰発現させ、各種癌関連遺伝子への遺伝子変異の有無の解析を行ったところ、p53遺伝子には遺伝子変異を生じたが、APC、K-ras遺伝子には変異は認められなかった。これは、ヒト大腸上皮細胞に発現したAIDが、p53遺伝子により特異的に変異を導入している可能性を示唆するものである。

### D. 考察

#### 1) CMV 感染診断

今回、我々が開発した大腸粘膜生検を用いたPCR法により、UCをはじめとして、難治性CDおよびBD患者においてもCMV感染の診断に有用であることが示唆された。

今回我々の検討で対象となったCD患者には、CMV-DNA陽性例はみとめられなかった。一方、BD患者では25%で認められた。難治性CD患者に粘膜内のCMV-DNAが検出されなかった理由は現時点では明らかではない。しかしながら、(1)CDの免疫反応自体が強いTh1の方向に向いているためにCMV感染が成立しにくい状況にある。(2)CDの病態に強く関

連する IFN- $\gamma$  の発現は、CMV の再活性化を抑制するため検出しにくい可能性がある。(3) ステロイドを内服している CD 患者が、ほとんどいなかった点などが推測される。この点については、今後症例を増やすことで、難治性 CD における CMV 感染の頻度および臨床学的特徴を検討していく必要があると考えられる。

BD 患者においては、CMV-DNA 陽性患者では主訴として下血が認められた。下血は抗ウイルス剤の投与にてすみやかに改善していることから、BD の悪化に CMV が関与している可能性は強く示唆される。しかしながら、現在まで、BD の病態における CMV の関与はほとんど報告されていない。临床上、我々は BD 患者での消化管穿孔などの合併症に遭遇することがまれではない。CMV 感染自体は、一般的に回盲部に生じやすい特徴をもっていること、また BD の消化管病変が回盲部に多いこと、さらに BD はその疾患コントロールのため、ステロイドが維持投与されている点などからも CMV 感染が生じやすい状況下にあると推測される。従って、BD の治療方針を決める上でも、今後は CMV 感染の有無を除外していく必要があると考えられる。

## 2) Colitic cancer 発症機序について

本研究により、生理的条件下では上皮系細胞においてその発現を認めない AID が、UC で活性化している炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  や Th2 サイトカインにより異所性に大腸上皮細胞に発現誘導され、その結果 *p53* 遺伝子変異を導入しているという、新しい発癌の分子機序が想定された。AID が炎症性発癌における遺伝子変異生成に関わる分子であることは、慢性炎症を背景とした胃発癌、肝発癌でもすでに報告しているが、今回は潰瘍性大腸炎発生において重要な Th2 サイトカインにより AID が誘導されることが初めて証明された。今後は、UC のみならず、従来考えられていた以上の高頻度で発癌をみる、クローン病での AID 発現の有無の検討を行う必要もあろう。

CAC からの発癌は、早期から *p53* 遺伝子変異が高頻度に認められるのが特徴である。ヒト大腸上皮細胞において、AID 過剰発現下で、なぜ *p53* 遺伝子に

より特異的に変異が導入されるのかは、今のところ不明である。ただ、AID は転写依存性に遺伝子変異を導入することが知られており、転写レベルの高い遺伝子ほど変異を入れやすい傾向にあることが報告されている。事実、今回実験に用いた大腸癌細胞株では、*p53* 遺伝子の転写レベルは、*APC*、*K-ras* などの他の癌関連遺伝子と比較して、高いことが明らかになっている。

近年、日本でも UC 患者数の増加、サーベイランスの徹底により、CAC 患者数が増加することが予想され、今後はこの発癌機構からの臨床応用への可能性について検討を行う必要がある。

## E. 結論

- 1) Mucosal PCR 法を応用した腸管粘膜内の CMV-DNA 診断は、ステロイドを含む免疫調節剤に治療抵抗性を示す CD および BD 患者における CMV 感染の診断において有用であると考えられた。
- 2) AID が炎症を契機として大腸上皮細胞内に発現誘導されること、その結果 AID の DNA 編集活性により *p53* 遺伝子に変異が生成・蓄積することが明らかとなり、AID が CAC 発症に深く関与している可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1. 論文発表
  1. Nakase H, Chiba T: TNF $\alpha$  is an important pathogenic factor contributing to reactivation of cytomegalovirus in inflamed mucosa of colon in patients with ulcerative colitis: Lesson from clinical experience. *Inflamm Bowel Dis* 2010 (in press).
  2. Sekikawa A, Fukui H, Suzuki K, Karibe T, Fujii S, Ichikawa K, Tomita S, Imura J, Shiratori K, Chiba T, Fujimori T: Involvement of IL-22/REG1 $\alpha$  axis in ulcerative colitis. *Lab Invest* 2010 (in press).

3. Yamamoto S, Nakase H, Yamashita K, Matsuura M, Takada M, Kawanami C, Chiba T: Gastrointestinal follicular lymphoma: Review of the literature. *J Gastroenterol* 2010 (in press)
4. Yamamoto S, Nakase H, Matsuura M, Honzawa Y, Masuda S, Inui K, Chiba T: Efficacy and safety of infliximab as rescue therapy for ulcerative colitis refractory to tacrolimus. *J Gastroenterol Hepatol* 2010 (in press).
5. Nakase H, Fujiyama Y, Oshitani N, Oga T, Nonomura K, Matsuoka T, Murayama T, Teramukai S, Chiba T, Narumiya S: Effect of EP4 agonist (ONO-4819CD) for patients with mild to moderate ulcerative colitis refractory to 5-aminosalicylates: A randomized phase 2, placebo-controlled trial. *Inflammatory Bowel Disease* 2010 (in press).
6. Honzawa Y, Nakase H, Takeda Y, Nagata K, Chiba T: Heat shock protein 47 can be a new target molecule for intestinal fibrosis related to inflammatory bowel disease. *Inflam Bowel Dis* 2010 (in press).
7. Tanaka J, Watanabe N, Kido M, Saga K, Akamatsu T, Nishio A, Chiba T: Human TSLP and TLR3 ligand promote differentiation of Th17 cells with central memory phenotype under Th2-polarizing conditions. *Clin Exp Allergy* 39:89-100:2009.
8. Yamamoto S, Nakase H, Takada M: Clinical challenges and images in GI: Relapsing polychondritis in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 136(7):2064, 2415:2009.
9. Takeda Y, Nakase H, Chiba T: Up-regulation of T-bet and tight junction molecules by *Bifidobacterium longum* improves colonic inflammation of ulcerative colitis: *Inflam Bowel Dis* 15(11):1617-1618:2009.
10. Inoue S, Nakase H, Matsuura M, Mikami S, Ueno S, Uza N, Chiba T: The effect of proteasome inhibitor MG-132 on experimental inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 156(1):172-82:2009.
11. Nakase H, Mikami S, Chiba T: Alteration of CXCR4 expression and Th1/Th2 balance of peripheral CD4 positive T cells can be a biomarker for leukocytapheresis therapy for patients with refractory ulcerative colitis. *Inflam Bowel Dis* 15(7):963-4: 2009.
12. Matsumura K, Nakase H, Chiba T: Efficacy of Oral Tacrolimus on Intestinal Behcet's Disease. *Inflammatory Bowel Disease* 16(2):188-9:2009.
13. Matsumura K, Nakase H, Chiba T: The Combination of endoscopic resection and heat ablation therapy is a promising endoscopic therapy for adenoma-like dysplastic lesion in chronic Ulcerative Colitis. *Case Reports in Gastroenterology* 3:121-124:2009.
14. Matsumura K, Nakase H, Yamamoto S, Yoshino T, Takeda Y, Kasahara K, Ueno S, Uza N, Chiba T: Modulation of the Th1/Th2 balance by infliximab improves hyperthyroidism associated with flare-up of ulcerative colitis. *Inflam Bowel Dis* 15(7):967-8:2009.
15. Kuwabara A, Tanaka K, Tsugawa N, Nakase H, Tsuji H, Shide K, Kamao M, Chiba T, Inagaki N, Okano T, Kido S. High prevalence of vitamin K and D deficiency and decreased BMD in inflammatory bowel disease. *Osteoporos Int.* 20:935-942:2009.
16. Matsumoto T, Iida M, Motoya S, Haruma K, Suzuki Y, Kobayashi K, Ito H, Miyata M, Kusunoki M, Chiba T, Yamamoto S, Hibi T: Therapeutic efficacy of infliximab on patients with short duration of Crohn's disease: A Japanese multicenter survey. *Dis Colon Rectum* 51:916-923:2008.
17. Uza N, Nakase H, Ueno S, Inoue S, Mikami S, Tamaki H, Matsuura M, Chiba T: The effect of medical treatment on patients with fistulizing Crohn's disease: our experience with a retrospective study. *Intern Med*

- 47:193-199:2008.
18. Endo Y, Marusawa H, Kou T, Nakase H, Fujii S, Fujimori T, Kinoshita K, Honjo T, Chiba T: Activation-induced cytidine deaminase links between inflammation to colitis-associated colorectal cancers. *Gastroenterology* 135:889-898:2008.
  19. Yoshino T, Nakase H, Mikami S, Nio M, Ueno S, Uza N, Ohmori K, Manabe T, Chiba T: Importance of diagnosis of concomitant cytomegalovirus infection in patients with intestinal Behcet's disease. *Inflamm Bowel Dis* 14:877-878:2008.
  20. Yamamoto S, Nakase H, Mikami S, Inoue S, Yoshino T, Takeda Y, Kasahara K, Ueno S, Uza N, Kitamura H, Tamaki H, Matsuura M, Inui K, Chiba T: Title: Long-term effect of tacrolimus therapy in patients with refractory ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Therapeutics* 28: 589-597, 2008.
  21. Mikami S, Nakase H, Yamamoto S, Takeda Y, Yoshino T, Kasahara K, Ueno S, Uza N, Oishi S, Fujii N, Nagasawa T, Chiba T: Blockade of CXCR12/CXCR4 axis ameliorates murine experimental colitis. *J Pharmaceut Exp Therapeut* 327:383-392:2008.
  22. Tamaki H, Nakase H, Matsuura M, Inoue S, Mikami S, Ueno S, Uza N, Kitamura H, Kasahara K, Chiba T: The effect of tacrolimus (FK-506) on Japanese patients with refractory Crohn's disease. *J Gastroenterol* 43:774-779:2008.
  23. Nakase H, Matsumura K, Yoshino T, Chiba T: Systematic review: cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 43:735-740:2008.
  24. Takeda Y, Nakase H, Mikami S, Inoue T, Satou S, Sakai Y, Chiba T: Possible link Between Ulcerative Colitis and In situ Adenocarcinoma of an Appendiceal Mucocoele: Importance of Inflammation in the Appendiceal Orifice Related to UC. *Inflamm Bowel Dis* 14:873-874:2008.
  25. Nanakin A, Fukui H, Fujii S, Sekikawa A, Kanda N, Hisatsune H, Seno H, Konda Y, Fujimori T, Chiba T. Expression of the REG IV gene in ulcerative colitis. *Lab Invest* 87: 304-314:2007.
  26. Nakase H, Yoshino T, Ueno S, Uza N, Mikami S, Matsuura M, Chiba T. Importance of early detection of cytomegalovirus infection in refractory inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 13:364: 2007.
  27. Nakase H, Mikami S, Matsuura M, Ueno S, Uza N, Inoue S, Kitamura H, Kasahara K, Yoshino T, Takeda Y, Chiba T. Rescue therapy with Tacrolimus for a patient with severe ulcerative colitis refractory to combination leukocytapheresis and high-dose of corticosteroid therapy. *Int Med* 46:717-720:2007.
  28. Inoue S, Nakase H, Matsuura M, Ueno S, Uza N, Kitamura H, Mikami S, Tamaki H, Kasahara K, Chiba T. Open label trial of Clarithromycin therapy in Japanese patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 22:984-988:2007.
  29. Matsumoto Y, Marusawa H, Kinoshita K, Endo Y, Kou T, Morisawa T, Azuma T, Okazaki IM, Honjo T, Chiba T. Helicobacter pylori infection triggers aberrant expression of activation-induced cytidine deaminase in gastric epithelium. *Nat Med* 13:470-476:2007.
  30. Saga K, Fukui T, Kato Y, Komeda T, Nakase H, Watanabe N, Nishio A, Chiba T. Localized cytomegalovirus reactivation after radiotherapy for high-grade gastric lymphoma. *Gastrointest Endosc* 65:545-547: 2007.
  31. Mikami S, Nakase H, Ueno S, Matsuura M, Sakurai T, Chiba T. Involvement of cytomegalovirus infection in the ileal lesions of the patient with Behcet's disease. *Inflamm Bowel Dis* 13: