

- 3) Yoshikiyo Okada, Yoshikazu Tsuzuki, Ryota Hokari, Shunsuke Komoto, Chie Kurihara, Atsushi Kawaguchi, Shigeaki Nagao, Soichiro Miura: Anti-inflammatory effects of the genus *Bifidobacterium* on macrophages by modification of phospho-I kappaB and SOCS gene expression. *Int J Exp Pathol.* 90 p.131-140 2009
- 4) Kishikawa Hiroshi, Nishida Jiro, Ichikawa Hitoshi, Kaida Shogo, Morishita Tetsuo, Miura Soichiro, Hibi Toshifumi : Lipopolysaccharides stimulate adrenomedullin synthesis in intestinal epithelial cells: release kinetics and secretion polarity. *Peptides.* 30 p.906-912 2009
- 5) Takebayashi Koichi, Hokari Ryota, Kurihara Chie, Okada Yoshikiyo, Okudaira Keisuke, Matsunaga Hisayuki, Komoto Shunsuke, Watanabe Chikako, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Tsuzuki Yoshikazu, Miura Soichiro: Oral tolerance induced by enterobacteria altered the process of lymphocyte recruitment to intestinal microvessels: roles of endothelial cell adhesion molecules, TGF-beta and negative regulators of TLR signaling. *Microcirculation.* 16 p.251-264 2009
- 6) Matsunaga Hisayuki, Hokari Ryota, Kurihara Chie, Okada Yoshikiyo, Takebayashi Koichi, Okudaira Keisuke, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Nakamura Mitsuyasu, Tsuzuki Yoshikazu, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Itoh Kazuro, Miura Soichiro: Omega-3 fatty acids exacerbate DSS-induced colitis through decreased adiponectin in colonic subepithelial myofibroblasts. *Inflamm Bowel Dis.* 14 p.1348-1357 2008
- 7) Higashiyama Masaaki, Hokari Ryota, Matsunaga Hisayuki, Takebayashi Koichi, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Okada Yoshikiyo, Kurihara Chie, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Itoh Kazuro, Miura Soichiro: P-selectin-dependent monocyte recruitment through platelet interaction in intestinal microvessels of LPS-treated mice. *Microcirculation.* 15 p.441-450 2008
- 8) Jing-Yan Han, Jing-Yu Fan, Yoshinori Horie, Soichiro Miura, De-Hua Cui, Hiromasa Ishii, Toshifumi Hibi, Hiroshi Tsuneki, Ikuko Kimura: Ameliorating effects of compounds derived from *Salvia miltiorrhiza* root extract on microcirculatory disturbance and target organ injury by ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther.* 117 p.280-295 2008
- 9) Fujiyama Yoichi, Hokari Ryota, Miura Soichiro, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Oyama Tokushige, Kurihara Chie, Nagata Hiroshi, Hibi Toshifumi: Butter feeding enhances TNF-alpha production from macrophages and lymphocyte adherence in murine small intestinal microvessels. *J Gastroenterol Hepatol.* 22 p.1838-1845 2007
- 10) Oyama Tokushige, Miura Soichiro, Watanabe Chikako, Hokari Ryota, Fujiyama Yoichi, Komoto Shunsuke, Tsuzuki Yoshikazu, Hosoe Naoki, Nagata Hiroshi, Hibi Toshifumi: CXCL12 and CCL20 Play a Significant Role in Mucosal T-Lymphocyte Adherence to Intestinal Microvessels in Mice. *Microcirculation.* 14 p.753-766 2007

2. 学会発表

- 1) Higashiyama Masaaki, Hokari Ryota, Matsunaga Hisayuki, Ueda Toshihide, Watanabe Chikako, Nakamura Mitsuyasu, Komoto Shunsuke, Okada Yoshikiyo, Kurihara Chie, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Miura Soichiro: Cilostazol, a specific PDE-3 inhibitor, ameliorates chronic ileitis via suppression of monocytes recruitment to small intestine. 2009 Digestive Disease Week Program. Chicago, USA 2009年6月3日
- 2) Hokari Ryota, Kurihara Chie, Okada Yoshikiyo, Komoto Shunsuke, Nakamura Mitsuyasu, Higashiyama Masaaki, Ueda Toshihide, Nagao Shigeaki, Kawaguchi Atsushi, Miura Soichiro: Proinflammatory roles of lipocalin-type-prostaglandin D synthase in colonic mucosal inflammation. 2009 Digestive Disease Week Program. Chicago, USA 2009年6月3日

- 3) Higashiyama Masaaki, Hokari Ryota, Ueda Toshihide, Nakamura Mitsuyasu, Komoto Shunsuke, Okada Yoshikiyo, Kurihara Chie, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Miura Soichiro: IFN- α increases rolling of monocytes via platelet-monocyte interaction in murine intestinal microvessels. 2009 Digestive Disease Week Program. Chicago, USA 2009年6月3日
- 4) Ueda Toshihide, Hokari Ryota, Matsunaga Hisayuki, Higashiyama Masaaki, Kurihara Chie, Takebayashi Koichi, Okudaira Keisuke, Watanabe Chikako, Okada Yoshikiyo, Komoto Shunsuke, Nakamura Mitsuyasu, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Miura Soichiro: Interleukin-18 is involved in the process of exacerbation of murine colitis by psychological stress. 2009 Digestive Disease Week Program. Chicago, USA 2009年6月3日
- 5) Matsunaga Hisayuki, Bao Xiuliang, Werther Lawrence, Miura Soichiro, Itzkowitz Steven H: The effect of altering trefoil factor-3 (TFF3) expression on gene expression and function in human gastrointestinal cancer cells. 2009 Digestive Disease Week Program. Chicago, USA 2009年6月3日
- 6) 三浦総一郎: 腸管炎症における脂肪摂取の功罪. 第47回小腸研究会. 福岡, 2009年11月14日
- 7) 栗原千枝, 穂苺量太, 東山正明, 上田俊秀, 渡辺知佳子, 高本俊介, 岡田義清, 川口 淳, 永尾重昭, 三浦総一郎: 小腸炎モデルマウスのマクロファージにおけるサイトカイン産生への脂肪酸の影響. 第51回日本消化器病学会大会. 京都, 2009年10月14日
- 8) 松永久幸, 穂苺量太, 東山正明, 上田俊秀, 三浦総一郎: 単球マイグレーションの制御をターゲットとしたマウス慢性小腸炎の治療. 第46回日本消化器免疫学会総会. 松山, 2009年7月24日
- 9) 岡田義清, 都築義和, 東山正明, 上田俊秀, 栗原千枝, 穂苺量太, 中村光康, 川口 淳, 永尾重昭, 三浦総一郎: Bifidobacterium 属菌体による LPS 刺激下マクロファージ系細胞への抗炎症効果とその作用機序. 日本食品免疫学会 2009 年度大会. 東京, 2009年5月27日
- 10) 上田俊秀, 穂苺量太, 松永久幸, 東山正明, 渡辺知佳子, 高本俊介, 中村光康, 栗原千枝, 岡田義清, 川口 淳, 永尾重昭, 三浦総一郎: マウス DSS 大腸炎における精神的ストレスの影響. 第95回日本消化器病学会総会. 札幌, 2009年5月9日
- 11) 三浦総一郎, 松永久幸, 上田俊秀, 穂苺量太: 消化管炎症への精神的ストレスの影響. 第19回病態生理学会細見記念シンポジウム. 埼玉, 2009年1月25日
- 12) Kurihara Chie, Hokari Ryota, Matsunaga Hisayuki, Takebayashi Koichi, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Okada Yoshikiyo, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Miura Soichiro: Exposure to fatty acids differentially affect on cytokine mRNA expression between small intestinal-macrophages and colonic-macrophages. 3rd Japan-Korea IBD Symposium. Korea, 2008年9月20日
- 13) Yoshikiyo Okada, Ryota Hokari, Yoshikazu Tsuzuki, Koichi Takebayashi, Hisayuki Matsunaga, Shunsuke Komoto, Chie Kurihara, Mitsuyasu Nakamura, Atsushi Kawaguchi, Shigeaki Nagao, Soichiro Miura: Anti-inflammatory effects of bifidobacteria on macrophages by modification of proinflammatory cytokines and SOCS signals. Digestive Disease Week 2008 San Diego, USA 2008年5月17日
- 14) Hokari Ryota, Hisayuki Matsunaga, Chikako Watanabe, Shunsuke Komoto, Masaaki Higashiyama, Mitsuyasu Nakamura, Chie Kurihara, Yoshikiyo Okada, Shigeaki Nagao, Atsushi Kawaguchi, Yoshikazu Tsuzuki, Miura Soichiro: Increased expression of L-PGDS may possibly relate to proinflammatory roles in colonic mucosa of ulcerative colitis patients. Digestive Disease Week 2008 San Diego, USA 2008年5月17日
- 15) Chikako Watanabe, Hokari Ryota, Mitsuyasu Nakamura, Shunsuke Komoto, Yoshikiyo Okada, Chie Kurihara, Michiko Miyagi, Hirokazu Yokoyama, Toshifumi Hibi, Miura Soichiro: Lemon grass (*Cymbopogon Citratus*) ameliorates murine spontaneous ileitis by decreasing T lymphocytes

migration to inflamed intestinal microvessels. Digestive Disease Week 2008. San Diego, USA 2008年5月17日

16)岡田義清, 穂苺量太, 三浦総一郎: 鮎鮎(ふなずし)由来 Lactobacillus 属菌を用いた腸管炎症に対する抑制効果. 第39回日本消化吸収学会総会プログラム. 東京, 2008年10月1日

17)栗原千枝, 穂苺量太, 松永久幸, 竹林晃一, 渡辺知佳子, 高本俊介, 岡田義清, 川口 淳, 永尾重昭, 三浦総一郎: 小腸および大腸マクロファージにおけるサイトカイン産生への脂肪酸の影響. 第39回日本消化吸収学会総会プログラム. 東京, 2008年10月1日

18)渡辺知佳子, 穂苺量太, 高本俊介, 中村光康, 栗原千枝, 岡田義清, 宮城みち子, 横山裕一, 日比紀文, 三浦総一郎: ビタミンA代謝による慢性小腸炎粘膜へのリンパ球マイグレーションの調節と治療応用. 第39回日本消化吸収学会総会プログラム. 東京, 2008年10月1日

19)穂苺量太, 松永久幸, 奥平圭輔, 栗原千枝, 岡田義清, 渡辺知佳子, 高本俊介, 中村光康, 川口 淳, 永尾重昭, 三浦総一郎: 単球 recruitment を標的としたマウス慢性回腸炎の治療, ワークショップ: 下部消化管疾患の新しい治療. 第36回日本潰瘍学会総会. 札幌, 2008年9月5日

20)穂苺量太, 松永久幸, 渡辺知佳子, 高本俊介, 中村光康, 上田俊秀, 栗原千枝, 岡田義清, 川口 淳, 永尾重昭, 三浦総一郎: 腸管炎症における精神的ストレスの影響. 第45回日本消化器免疫学会総会. 京都, 2008年7月3日

21)三浦総一郎, 岡田義清, 都築義和, 穂苺量太: 腸管のリンパ系細胞マイグレーションに対する prebiotics の効果, シンポジウム: 腸管上皮を介した食品と腸管免疫系の相互作用. 日本食品免疫学会 2008 年度大会. 東京, 2008年5月13日

22)岡田義清, 穂苺量太, 都築義和, 竹林晃一, 松永久幸, 栗原千枝, 高本俊介, 渡辺知佳子, 中村光康, 川口 淳, 永尾重昭, 三浦総一郎: LPS 刺激下 RAW264.7 細胞に対する Bifidobacterium 属菌体の抗炎症効果. 日本食品免疫学会 2008 年度大会. 東京, 2008年5月13日

23)栗原千枝, 穂苺量太, 松永久幸, 竹林晃一, 岡田義清, 渡辺知佳子, 高本俊介, 川口 淳, 永尾重昭, 伊藤和郎, 三浦総一郎: 腸間膜リンパ節マクロファージにおけるサイトカイン産生への脂肪酸の影響.

第94回日本消化器病学会総会. 福岡, 2008年5月8日

24)穂苺量太, 松永久幸, 三浦総一郎: 単球 recruitment の制御をターゲットとしたマウス慢性小腸炎の治療, パネルディスカッション: 小腸疾患の病態解明: 基礎と臨床の接点. 第94回日本消化器病学会総会. 福岡, 2008年5月8日

25)三浦総一郎: 特別講演: 腸管へのリンパ系細胞ホーミングを標的とした治療開発 第5回北部九州消化管リサーチカンファレンス. 福岡, 2008年1月12日

26)Chikako Watanabe, Ryota Hokari, Shunsuke Komoto, Hisayuki Matsunaga, Koichi Takebayashi, Chie Kurihara, Yoshikiyo Okada, Soichiro Miura: Lemon grass(cymbopagn citrates) attenuates the expression of gut-homing receptor on lymphocytes. The 1st Japan&US Collaboration Conference in Gastroenterology 東京, 2007年11月15日

27)Kurihara Chie, Hokari Ryota, Matsunaga Hisayuki, Takebayashi Koichi, Okudaira Keisuke, Tsuzuki Yoshikazu, Okada Yoshikiyo, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Itoh Kazuro, Miura Soichiro: Effects of exposure to fatty acid on cytokine mRNA expression in macrophages from mesenteric lymph nodes. 13th International Congress of Mucosal Immunology (ICMI 2007) 東京, 2007年7月12日

28)Matsunaga Hisayuki, Hokari Ryota, Kurihara Chie, Okada Yoshikiyo, Takebayashi Koichi, Okudaira Keisuke, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Tsuzuki Yoshikazu, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Itoh Kazuro, Miura Soichiro: Protective role of adiponectin for fat induced exacerbation of intestinal inflammation. 13th International Congress of Mucosal Immunology (ICMI 2007) 東京, 2007年7月12日

29)Yoshikiyo Okada, Ryota Hokari, Shingo Kato,

Yoshikazu Tsuzuki, Keisuke Okudaira, Koichi Takebayashi, Hisayuki Matsunaga, Shunsuke Komoto, Chikako Watanabe, Atsushi Kawaguchi, Shigeaki Nagao, Kazuro Itoh, Soichiro Miura: BIFIDOGENIC GROWTH STIMULATOR, DHNA SHOWS ATTENUATING EFFECT ON NSAID-INDUCED COLITIS AND LPS INDUCED MACROPHAGE ACTIVATION. 13th International Congress of Mucosal Immunology (ICMI 2007) 東京 2007年7月12日

30)Yoshikiyo Okada, Ryota Hokari, Yoshikazu Tsuzuki, Keisuke Okudaira, Koichi Takebayashi, Hisayuki Matsunaga, Shunsuke Komoto, Chikako Watanabe, Chie Kurihara, Atsushi Kawaguchi, Shigeaki Nagao, Kazuro Itoh, Soichiro Miura: Anti-inflammatory effects of bifidobacteria on macrophages by modification of phospho-I κ B and proinflammatory cytokines. Digestive Disease Week 2007 Washington D.C., 2007年5月19日

31)Kato Shingo, Ito Masataka, Takeuchi Kyoko, Imaki Junko, Itoh Kazuro, Miura Soichiro Expression of nociceptin/orphanin Fq and nociceptin receptor in patients with inflammatory bowel diseases. Digestive Disease Week 2007 Washington D.C., 2007年5月19日

32)Chikako Watanabe, Ryota Hokari, Shunsuke Komoto, Hisayuki Matsunaga, Koichi Takebayashi, Yoshikiyo Okada, Chie Kurihara, Ryuichi Yamamoto, Masaaki Higashiyama, Yoshikazu Tsuzuki, Atsushi Kawaguchi, Shigeaki Nagao, Kazuro Ito, Soichiro Miura: Lemon grass (*Cymbopogon Citratus*) decreases T lymphocytes migration to inflamed intestinal mucosa. Digestive Disease Week 2007 Washington D.C., 2007年5月19日

33)Kurihara Chie, Hokari Ryota, Matsunaga Hisayuki, Takebayashi Koichi, Ueda Toshihide, Yamamoto Ryuichi, Okada Yoshikiyo, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Tsuzuki Yoshikazu, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Itoh Kazuro, Miura Soichiro: Modulation of cytokine mRNA expression after exposure to fatty acids in macrophages from mesenteric lymph nodes. Digestive Disease Week 2007

Washington D.C., 2007年5月19日

34)Matsunaga Hisayuki, Hokari Ryota, Kurihara Chie, Okada Yoshikiyo, Takebayashi Koichi, Watanabe Chikako, Komoto Shunsuke, Tsuzuki Yoshikazu, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Itoh Kazuro, Miura Soichiro: Omega-3 fatty acids exacerbate inflammation in DSS-induced murine colitis through decrease in colonic adiponectin. Digestive Disease Week 2007 Washington D.C., 2007年5月19日

35)Takebayashi Koichi, Hokari Ryota, Okada Yoshikiyo, Kurihara Chie, Matsunaga Hisayuki, Komoto Shunsuke, Watanabe Chikako, Kawaguchi Atsushi, Nagao Shigeaki, Itoh Kazuro, Tsuzuki Yoshikazu, Miura Soichiro: Presence of enterobacteria modulates lipopolysaccharide induced T lymphocyte migration in intestinal mucosa. Digestive Disease Week 2007 Washington D.C., 2007年5月19日

36)三浦総一郎, 松永久幸, 穂苺量太: アディポネクチンシグナルを介した脂肪摂取による腸管炎症への影響. シンポジウム: 生活習慣病と消化器. 第29回日本臨床栄養学会総会. 京都, 2007年11月16日

37)渡辺知佳子, 穂苺量太, 高本俊介, 中村光康, 栗原千枝, 岡田義清, 松永久幸, 竹林晃一, 横山裕一, 日比紀文, 三浦総一郎: ビタミンA代謝による腸管リンパ球マイグレーションの調節と治療応用. 第45回小腸研究会. 東京, 2007年11月10日

38)穂苺量太, 都築義和, 三浦総一郎: 腸管のリンパ系細胞マイグレーションと臨床的意義. シンポジウム: リンパ学の新しい展開. 第48回日本脈管学会総会. 松本, 2007年10月27日

39)松永久幸, 穂苺量太, 三浦総一郎: 脂肪吸収を介したアディポネクチンシグナル調節の腸炎への関与. シンポジウム: 消化吸収にかかわる生体の調節メカニズムとその病態・治療への関与. 第49回日本消化器病学会大会. 神戸, 2007年10月18日

40)岡田義清, 穂苺量太, 三浦総一郎: Bifidobacterium属菌の増殖因子DHNAおよび同族菌体の腸管免疫への作用機序と大腸炎に対する抑制効果. 第49回日本消化器病学会大会. 神戸, 2007年10月18日

日

41) 山本龍一, 穂苺量太, 小林大晋, 佐藤伸悟, 八月朔日秀明, 上田俊秀, 松永久幸, 竹林晃一, 奥平圭輔, 栗原千枝, 岡田義清, 渡辺知佳子, 高本俊介, 中村光康, 川口 淳, 永尾重昭, 伊藤和郎, 三浦総一郎: マウスの小腸粘膜における IFN- α の血小板、単球のマイグレーションに与える影響. 第 49 回日本消化器病学会大会. 神戸, 2007 年 10 月 18 日

42) 上田俊秀, 穂苺量太, 山本龍一, 松永久幸, 竹林晃一, 奥平圭輔, 渡辺知佳子, 高本俊介, 永尾重昭, 伊藤和郎, 三浦総一郎: 漢方薬丹参はマウス腸管微小循環において単球マイグレーションを抑制する. 第 49 回日本消化器病学会大会. 神戸, 2007 年 10 月 18 日

43) 岡田義清, 都築義和, 穂苺量太, 加藤真吾, 竹林晃一, 松永久幸, 高本俊介, 渡辺知佳子, 栗原千枝, 川口 淳, 永尾重昭, 伊藤和郎, 三浦総一郎: NC/Nga マウスにおける NSAID 誘発回腸炎についての報告. 第 35 回日本潰瘍学会. 鳥取, 2007 年 9 月 22 日

44) 渡辺知佳子, 穂苺量太, 三浦総一郎: レチノイン酸代謝を介した腸管リンパ球マイグレーションの調節. 第 44 回日本消化器免疫学会総会. 東京, 2007 年 7 月 8 日

45) 穂苺量太, 三浦総一郎: リンパ系細胞のマイグレーションからみた腸管炎症、シンポジウム: 消化管のリンパ組織・リンパ管. 第 31 回日本リンパ学会総会. 仙台, 2007 年 6 月 8 日

46) 竹林晃一, 穂苺量太, 三浦総一郎: 腸内細菌の有無によるエンドトキシンレスポンスの相違が白血球マイグレーションに影響する、シンポジウム: Innate immunity の control と IBD の治療戦略. 第 93 回日本消化器病学会総会. 青森, 2007 年 4 月 19 日

47) 穂苺量太, 三浦総一郎, 東山正明, 渡辺知佳子, 竹林晃一, 高本俊介, 松永久幸, 岡田義清, 栗原千枝, 永尾重昭, 伊藤和郎, 川口 淳: Changes of intestinal platelets and leukocyte migration after exposure to fatty acids. シンポジウム: 微小循環とフリーラジカル. 第 32 回日本微小循環学会総会. 京都, 2007 年 2 月 24 日

48) 竹林晃一, 穂苺量太, 岡田義清, 奥平圭輔, 栗原千枝, 松永久幸, 高本俊介, 渡辺知佳子, 川口 淳,

永尾重昭, 伊藤和郎, 都築義和, 三浦総一郎: Lipopolysaccharide differentially affects on T lymphocyte migration in intestinal mucosa between oral and intraperitoneal administration. 第 32 回日本微小循環学会総会. 京都, 2007 年 2 月 24 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

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

プロテオーム解析を用いた炎症性腸疾患のバイオマーカー探索

研究分担者 坪内 博仁 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨：患者血清・血漿を用いたプロテオーム解析は、網羅的かつ迅速な蛋白濃度の測定が可能であり、疾患の病態解明や診断マーカーに有用な蛋白質を同定できる。本研究ではプロテオーム解析装置を用いて、好中球ペプチド (human neutrophil peptide 1-3 ; HNP1-3) が活動性潰瘍性大腸炎患者で高濃度となり、疾患活動性マーカーや治療効果予測マーカーとなる可能性を明らかにした。HNP1-3 をマウス実験腸炎モデルに投与したところ、腸管からの炎症性サイトカイン分泌が亢進し、腸管炎症を悪化させた。また、大腸上皮細胞株に HNP1-3 を添加すると、IL-8 の産生亢進が認められた。以上の結果から、好中球から分泌される HNP1-3 が潰瘍性大腸炎の病態形成に密接に関連している可能性が考えられた。

共同研究者：上村修司、嵯山敏男、橋元慎一、指宿和成、岩下祐司、宇都浩文
所属：鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 消化器疾患・生活習慣病学

A. 研究目的

炎症性腸疾患は多遺伝子疾患であるが、その発症や病態進展は十分明らかとなっていない。プロテオーム解析機器の進歩により、疾患の病態解明に有用な蛋白質や疾患バイオマーカー蛋白質の同定が可能となってきた。本研究では炎症性腸疾患患者の血清・血漿を用いて網羅的蛋白質発現の解析を行い、有用なバイオマーカーの同定を目的とした。さらに、同定した好中球ペプチド (human neutrophil peptide 1-3 ; HNP1-3) の臨床的意義や病態への影響を検討した。

B. 研究方法

1) 血清・血漿プロテオーム解析

潰瘍性大腸炎 (UC)、クローン病 (CD) と健常人の血清・血漿中の蛋白質発現を Surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI) プロテインチップシステムとクリンプロットシステムを用いて網羅的に解析した。

2) HNP1-3 血中濃度の測定

HNP1-3 の血中濃度を ELISA 法により測定し、UC、CD と健常人の血液中の HNP1-3 濃度を比較した。

3) HNP1-3 の腸管炎症への影響の検討

Dextran sodium sulfate (DSS) 腸炎モデルマウスを作製し、DSS 自由飲水 4 日目から HNP1-3 を 3 日間、腹腔内投与した。DSS 自由飲水 7 日目に屠殺し、体重、腸管長、DAI スコアと大腸の組織学的スコア (cooper score) を評価した。また、腸組織を採取し、24 時間無血清培地で培養した後、培養上清中のサイトカイン濃度を ELISA で測定した。

4) HNP の腸管上皮細胞への影響の検討

大腸上皮細胞株である HT-29 の培養液に HNP1-3 を添加し、サイトカイン関連遺伝子発現をマイクロアレイ法及び定量的 RT-PCR で検討した。さらに培養上清中のサイトカイン濃度を ELISA 法で測定した。

(倫理面への配慮)

a. 個人の人権の擁護: 1) 研究内容について十分な説明を行い、研究への参加は任意であること、研究に参加しない場合でも、従来通り診療を受けることができることを示す。2) 参加者のデータは、厳重な秘密保持のもとに管理され、本研究のデータが参加者に不利益を及ぼすことはないと考えられる。

b. 個人情報の管理: 1) ID 番号、氏名、住所、電話番号などの個人を特定できる情報を除いたものを作製し、新たな番号を付与し、本研究にはこの番号のみ

を用い、個人が特定できる名前などを用いない。2) 対象者由来の血液サンプルは個人が同定できる情報を消去して、番号を付与する。

c. 対象者に理解を求め同意を得る方法: 担当医より、研究内容について説明を行ない、書面による同意を得る。

d. 研究等によって生じる個人への不利益: 静脈穿刺は侵襲性はほとんどなく、被験者に不当な危険が生じることはほとんどない。個人のプライバシーに関わる点については上記のように十分な配慮を行い、対象者の不利益が生じないようにする。

C. 研究結果

1) 血清・血漿プロテオーム解析

SELDI プロテインチップシステムによる UC 群と健常者群との比較検討では、低分子領域に有意差 ($p < 0.05$) のあるタンパク質 27 個が検出された。このうち UC 群で高値であった約 3400m/z 付近の 3 個のピークを分子量から HNP1-3 と推定し、抗 HNP1-3 抗体を用いた免疫沈降反応から目的ピークを HNP1-3 と確定した。クリンプロットシステムを用いた検討では、約 1400m/z 付近に UC 群、健常者群より CD 群で有意差をもって高値を示すピーク蛋白を検出した。これらのピーク蛋白は同定作業中である。

2) HNP1-3 血中濃度の測定

平均 HNP1-3 血中濃度は UC 群で、CD 群、健常人群よりも有意に高値であった。また、HNP1-3 は、緩解期 UC より活動性 UC で高濃度を示し、UC の活動性マーカーとなる可能性が示唆された。さらに、UC 群における治療前の HNP1-3 濃度は、治療抵抗群より奏功群で有意に高値を示し、治療奏功群の HNP1-3 濃度は、治療により低下する傾向であった。

3) HNP1-3 の腸管炎症への影響の検討

HNP1-3 を投与した DSS 実験腸炎マウスでは、HNP 非投与マウスより、有意に体重は減少し、腸管長の短縮、DAI スコアと組織学的炎症スコアの悪化を認めた。また、腸管組織からの TNF α 、IFN γ の分泌も HNP1-3 投与群で有意に高値であった。

4) HNP1-3 の腸管上皮細胞への影響の検討

HNP1-3 を添加した HT-29 ではサイトカイン関連遺伝

子のうち、IL-8 遺伝子の発現亢進が顕著であった。HT-29 培養上清中の IL-8 濃度は HNP1-3 添加により濃度依存的に上昇した。

D. 考察

血液中 HNP1-3 は UC の診断、活動性および治療効果予測に有用なマーカーである可能性が示唆された。UC の腸管には高度の好中球浸潤がみられるが、DSS 腸炎マウスへの HNP 投与実験の結果は好中球から分泌される過剰な HNP1-3 が腸管からの炎症性サイトカインの分泌を亢進させ、腸管炎症を悪化させる可能性を示した。また、細胞株を用いた研究結果では、HNP1-3 が上皮細胞からの IL-8 産生を亢進させ、好中球の更なる局所浸潤および活性化を誘導する可能性が考えられた。本研究の結果から、プロテオーム解析による炎症性腸疾患の患者血液の網羅的タンパク質発現解析は炎症性腸疾患の診断バイオマーカー探索に有用であるだけでなく、病態進展に関わる分子を同定できることで、病態解明・治療薬開発につながる可能性があると思われた。

E. 結論

HNP1-3 は UC の診断、活動性評価や治療効果予測に有用なバイオマーカーと考えられた。また、UC の病態形成に関与していると考えられ、治療対象となりう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. Kanmura S, Uto H, Numata M, Hashimoto S, Moriuchi A, Fujita H, Oketani M, Ido A, Kodama M, Ohi H, Tsubouchi H. Human neutrophil peptides 1-3 are useful biomarkers in patients with active ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 15, 909-917, 2009
2. Sakiyama T, Musch MW, Ropeleski MJ,

- Tsubouchi H, Chang EB. Glutamine increases autophagy under basal and stressed conditions in intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*, 136, 924-932, 2009
3. Sakiyama T, Fujita H, Tsubouchi H. Autoantibodies against ubiquitination factor E4A (UBE4A) are associated with severity of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 14, 310-317, 2008
 4. Kanmura S, Uto H, Kusumoto K, Ishida Y, Hasuike S, Nagata K, Hayashi K, Ido A, Stuver SO, Tsubouchi H. Early diagnostic potential for hepatocellular carcinoma using the SELDI ProteinChip system. *Hepatology*, 45, 948-956, 2007
 5. 上村修司、宇都浩文、坪内博仁 プロテオーム解析からの治療戦略とは? 分子消化器病、6、123-127、2009
 6. 上村修司、宇都浩文、佐藤悠子、桶谷真、井戸章雄、坪内博仁 肝細胞癌の腫瘍マーカーとしての血清中 Complement Component 3a(C3a)測定の有用性 消化器と免疫、44、102-104、2008
2. 学会発表
1. Hashimoto S, Uto H, Kanmura S, Oku M, Tanoue S, Nasu Y, Sasaki F, Moriuchi A, Fujita H, Hasegawa S, Yamamoto T, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Human neutrophil peptide-1 has cytotoxic effects on colon cancer cells and aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis. *Digestive Disease Week 2009 Chicago (USA)* 2009/5/30
 2. Sakiyama T, Musch MW, Tsubouchi H, Chang EB. Polyamines mediate glutamine-dependent induction of the intestinal epithelial heat shock response. *Digestive Disease Week 2009 Chicago (USA)* 2009/5/30
 3. Sakiyama T, Musch MW, Ropeleski MJ, Tsubouchi H, Chang EB. Glutamine regulates autophagy in IEC-18 cells. *Digestive Disease Week 2008 San Diego (USA)* 2008/5/19
 4. Kanmura S, Uto H, Numata M, Kodama M, Nakanishi C, Abe H, Miike T, Kusumoto K, Hasuike S, Nagata K, Hayashi K, Ido A, Tsubouchi H. Identification of a candidate biomarker for inflammatory bowel disease using a SELDI ProteinChip system. *Digestive Disease Week 2007 Washington, DC (USA)* 2007/5/19
 5. Sakiyama T, Fujita H, Tsubouchi H. Novel autoantibodies against ubiquitination factor E4A (UBE4A) are potential biomarkers for detection and prediction of clinical activity and outcome in patients with Crohn's disease. *Digestive Disease Week 2007 Washington, DC (USA)* 2007/5/19
 6. Kanmura S, Sakiyama T, Morinaga Y, Sasaki F, Ibusuki K, Setoyama H, Funakawa K, Uto H, Ido A, Tsubouchi H. Human neutrophil peptides 1-3 induce IL-8 and VEGF in intestinal epithelial cells. *The 4th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium 東京* 2010/1/23
 7. 上村修司、宇都浩文、佐々木文郷、橋元慎一、瀬戸山仁、船川慶太、寄山敏男、井戸章雄、坪内博仁 腸管上皮細胞のサイトカイン発現における Human Neutrophil Peptide 1-3 の作用 第 46 回 日本消化器免疫学会総会 松山 2009/7/3
 8. 橋元慎一、宇都浩文、上村修司、佐々木文郷、屋万栄、田ノ上史郎、森内昭博、藤田浩、長谷川将、山元隆文、桶谷真、井戸章雄、坪内博仁 潰瘍性大腸炎患者血清中に上昇する Human Neutrophil Peptide(HNP)-1 の病態への関与 第 95 回日本消化器病学会総会 札幌 2009/5/7
 9. 上村修司、宇都浩文、坪内博仁 プロテオーム

ム解析から同定した血中 Human Neutrophil Peptide (HNP) 1-3 の消化管粘膜に及ぼす影響 第 94 回日本消化器病学会総会 福岡 2008/5/8

10. 橋元慎一、上村修司、宇都浩文、沼田政嗣、森内昭博、藤田浩、長谷川将、山元隆文、桶谷真、井戸章雄、坪内博仁 Human Neutrophil Peptide (HNP) 1-3 の潰瘍性大腸炎に対する臨床的意義 第 45 回 日本消化器免疫学会総会 京都 2008/7/3

11. 上村修司、宇都浩文、佐々木文郷、橋元慎一、沼田政嗣、安倍弘生、森内昭博、藤田浩、山元隆文、桶谷真、井戸章雄、坪内博仁 プロテオーム解析から同定した Human Neutrophil Peptide (HNP) 1-3 の潰瘍性大腸炎における臨床的意義 第 15 回浜名湖シンポジウム 浜松 2007/12/22

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

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

糖鎖解析に基づいた炎症性腸疾患新規バイオマーカーの開発

研究協力者 飯島 英樹 大阪大学消化器内科学 助教

研究要旨：炎症性腸疾患患者の血清 I g G の糖鎖構造を解析したところ、IgG 糖鎖のガラクトース欠損は診断および治療経過を反映する新たなバイオマーカーであることが明らかとなった。また、ガラクトシルトランスフェラーゼ欠損マウスなどの検討により、IgG 糖鎖のガラクトース欠損は腸炎に対し保護的に作用することが示唆された。

共同研究者：新崎信一郎*[§]、黒木絵莉[§]、向井章*、井上隆弘*、中島佐知子*、柄川悟志*、考藤達哉*、三善英知[§]、和田芳直[#]、辻井正彦*、林紀夫*

大阪大学大学院医学系研究科 消化器内科学*、大阪大学保健学科機能診断科学[§]、大阪府立母子保健センター[#]

A. 研究目的

炎症性腸疾患患者における I g G 糖鎖異常を解析し、糖鎖異常 IgG の機能、病態における意義、バイオマーカーとしての有用性を明らかにすること。

B. 研究方法

- ① 炎症性腸疾患患者において、血清 I g G のフコシル化糖鎖のガラクトース欠損糖鎖とガラクトース非欠損糖鎖の割合 (G0F/G2F) を算出し、炎症性腸疾患の診断マーカーとしての意義を解析した。
- ② ガラクトース欠損 IgG のレクチン補体経路および抗体特異的食能について *in vitro* で検討した。
- ③ ガラクトシルトランスフェラーゼ (GalT) 欠損マウスに対し、DSS 腸炎を発症させ腸炎の重症度を組織学的、免疫学的に解析した。

(倫理面への配慮)

検体提供にあたってはインフォームドコンセ

ントを得た上で、研究を施行した。

C. 研究結果

- ① G0F/G2F は、クローン病患者において、健常者より有意に高値であり、潰瘍性大腸炎は健常者とクローン病のほぼ中間の値を呈した。また、疾患の重症度や罹病範囲とも関連した。Infliximab を維持投与されたクローン病患者のうち G0F/G2F が著明に低下した患者群において長期に寛解を維持できる傾向を認めた。
- ② ガラクトース欠損 IgG における MBL 依存性レクチン補体経路の活性化は通常型 IgG と差を認めなかったが、抗体依存性マクロファージ抗原食能に有意な増加を認めた。
- ③ GalT 欠損マウスでは、野生型マウスに比して、体重減少、大腸の肉眼的、組織学的変化が軽度であり、腸炎の抑制効果が明らかとなった。

D. 考察

血清 IgG のガラクトース欠損は、ASCA よりも感度、特異性に優れたクローン病の診断マーカーとなりうることが示唆された。当初、ガラクトース欠損 IgG が炎症性腸疾患の発症、増悪に関わる因子であることを想定したが、*in vitro* およびマウスの実験からは炎症の増悪を示唆する所見に乏しく、自然免疫系の防御機構を高め炎症を抑える役割が示唆された。G0F/G2F は

クローン病の治療効果とよく相関しており、治療予測マーカーとなりうることが示唆されたが、症例を増やして検討する必要がある。

E. 結論

炎症性腸疾患における糖鎖異常は、診断マーカーとして有用であるばかりでなく、免疫病態の飾にも関わるバイオマーカーであることが明らかとなった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Serada S, Fujimoto M, Ogata A, Terabe F, Hirano T, Iijima H, Shinzaki S, Nishikawa T, Ohkawara T, Iwahori K, Ohguro N, Kishimoto T, Naka T: iTRAQ-based proteomic identification of leucine rich alpha 2 glycoprotein (LRG) as a novel inflammatory biomarker in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis*. In press.
2. T. Mizushima, K. Nakajima, Y. Kai, H. Iijima, H. Yamamoto, M. Ikeda, I. Takemasa, N. Haraguchi, M. Sekimoto, T. Nishida, R. Nezu, T. Ito, Y. Doki, Mori M.: Malignancy in Crohn's disease: Incidence and Clinical Characteristics in Japan. *Digestion*. In press.
3. 林 義人 西田勉, 近藤 純平, 山本 克己, 飯島 英樹, 筒井 秀作, 平松 直樹, 辻井 正彦, 辻 晋吾, 伊藤 裕章, 竹原 徹郎, 林 紀夫. : Crohn病に合併した原発不明腺癌に対して mFOLFOX6 療法が奏功した 1 例. *日本消化器病学会雑誌* 106 (1) 69-76. 2009
4. Egawa S, Iijima H, Shinzaki S, Nakajima S, Wang J, Kondo J, Ishii S, Yoshio T, Irie T, Nishida T, Kakiuchi Y, Yasumaru M, Yoshihara H, Kanto T, Tsujii M, Tsuji S, Hayashi N: Upregulation of GRAIL is Associated with Remission of Ulcerative

Colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 295(1) G163-9, 2008

5. Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S: Topical Implantation of Mesenchymal Stem Cells has Beneficial Effects on Healing of Experimental Colitis in Rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 326(2) 523-31, 2008.
 6. Shinzaki S, Iijima H, Nakagawa T, Egawa S, Nakajima S, Ishii S, Irie T, Kakiuchi Y, Nishida T, Yasumaru M, Kanto T, Tsujii M, Tsuji S, Mizushima T, Yoshihara H, Kondo A, Miyoshi E, Hayashi N: IgG oligosaccharide alterations are a novel diagnostic marker for disease activity and the clinical course of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 103(5) 1173-81, 2008
- ##### 2. 学会発表
1. S. Shinzaki, H. Iijima, S. Egawa, S. Nakajima, T. Inoue, Y. Jin, Y. Hayashi, J. Kondo, S. Ishii, T. Nishida, T. Kanto, E. Miyoshi, M. Tsujii, N. Hayashi. : Deficiency of Galactosyltransferase, Indispensable Enzyme for IgG Galactosylation, Ameliorates Murine Dextran Induced Colitis. 米国 DDW Chicago, USA 2009/5/31-6/4
 2. S. Nakajima, H. Iijima, T. Inoue, S. Shinzaki, S. Egawa, Y. Hayashi, J. Kondo, S. Ishii, T. Yoshio, K. Watabe, T. Nishida, M. Tsujii, S. Tsutsui, N. Hayashi. : Correlation Between Vitamin K Deficiency and Clinical Activity Index in Patients with Inflammatory Bowel Disease. 米国 DDW Chicago, USA 2009/5/31-6/4
 3. H. Iijima, S. Nakajima, S. Shinzaki, S.

- Egawa, T. Inoue, Y. Hayashi, J. Kondo, S. Ishii, T. Yoshio, T. Nishida, T. Kanto, E. Miyoshi, M. Tsujii, N. Hayashi. : Oligosaccharide Alterations in IgG in Inflammatory Bowel Disease Is Not Associated with MBL Lectin. 米国 DDW Chicago, USA 2009/5/31-6/4
4. 中島佐知子、飯島英樹、井上隆弘、新崎信一郎、柄川悟志、林義人、近藤純平、石井修二、西田勉、筒井秀作、辻井正彦、林紀夫：炎症性腸疾患患者における低カルボキシ化オステオカルシン(ucOC)の骨密度および疾患活動性との相関。第95回日本消化器病学会 札幌 2009/5/8
 5. 新崎信一郎、飯島英樹、井上隆弘、中島佐知子、柄川悟志、石井修二、考藤達哉、三善英知、辻井正彦、林紀夫：炎症性腸疾患におけるIgG糖鎖異常ーガラクトース転移酵素欠損マウスを用いた解析第95回日本消化器病学会 札幌 2009/5/8
 6. 飯島英樹、新崎信一郎、黒木絵莉、柄川悟志、中島佐知子、井上隆弘、向井章、考藤達哉、三善英知、辻井正彦、林紀夫：炎症性腸疾患患者の診断および治療に対するIgG糖鎖構造解析の有用性第46回消化器免疫学会。松山。2009/7/25
 7. 新崎信一郎 黒木絵莉、竜中法佳、飯島英樹、三善英知：炎症性腸疾患におけるIgG糖鎖異常 血清学的マーカーとしての有用性に関する検討。日本臨床検査医学会 札幌 2009/8/30
 8. 中島佐知子、飯島英樹、林紀夫：クローン病における成分栄養療法とビタミンK充足状態が骨密度および疾患活動性に及ぼす影響について JDDW 2009 (消化吸収学会) 京都 2009/10/15
 9. 新崎信一郎、飯島英樹、柄川悟志、中島佐知子、井上隆弘、考藤達哉、三善英知、辻井正彦、林紀夫：グライコミクスを用いた炎症性腸疾患診断・治療の可能性。JDDW 2009 (消化器病学会) 京都 2009/10/15
 10. S. Shinzaki, H. Iijima, T. Nakagawa, S. Egawa, S. Nakajima, J. Kondo, S. Ishii, Y. Kakiuchi, T. Nishida, T. Kanto, M. Tsujii, S. Tsuji, A. Kondo, E. Miyoshi, N. Hayashi : IgG oligosaccharide alterations are a novel diagnostic marker for disease activity and the clinical course of inflammatory bowel disease. 米国 DDW San Diego 2008/5/20
 11. S. Nakajima, H. Iijima, S. Shinzaki, S. Egawa, J. Kondo, S. Ishii, Y. Kakiuchi, T. Nishida, M. Tsujii, S. Tsuji, N. Hayashi : Bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in patients with inflammatory bowel disease. 米国 DDW San Diego 2008/5/20
 12. H. Iijima, S. Shinzaki, S. Egawa, S. Nakajima, J. Kondo, S. Ishii, Y. Kakiuchi, T. Nishida, T. Kanto, M. Tsujii, T. Nakagawa, A. Kondo, E. Miyoshi, S. Tsuji, N. Hayashi : Agalactosyl IgG observed in inflammatory bowel disease is associated with enhancement of antibody-dependent phagocytosis in human monocytic cell line. 米国 DDW San Diego 2008/5/20
 13. 上ノ山直人、山本克己、西田 勉、井上隆弘、東谷光庸、小玉尚宏、山北剛史、新崎信一郎、井倉技、飯島英樹、筒井秀作、平松直樹、林紀夫 : レミケード投与後に小腸内視鏡下バルーン拡張術を施行しえた小腸型クローン病の一例 第80回日本消化器内視鏡学会近畿地方会 大阪 2008/3/2
 14. 林義人、上ノ山直人、小玉尚宏、東谷光庸、山本幸子、山本政司、糸瀬一陽、薬師神崇行、山本克己、西田勉、飯島英樹、井倉技、望月圭、筒井秀作、平松直樹、竹原徹朗、林紀夫 : クローン病に対する

- Infliximab 加療中に発症し、mFOLFOX6 治療が奏功した原発不明線癌の一例 大阪 2008/2/17
15. 新崎信一郎、飯島英樹、林紀夫：炎症性腸疾患における IgG 糖鎖構造の変化—血清マーカーとしての可能性第 96 回日本消化器病学会総会 福岡 2008/5/8-10
 16. 井上隆弘、飯島英樹、中島佐知子、新崎信一郎、柄川悟志、山本克己、西田勉、筒井秀作、辻井正彦、辻晋吾、林紀夫：クローン病における悪性腫瘍合併症例の検討 第 95 回日本消化器病学会総会 福岡 2008/5/8-10
 17. 柄川悟志、飯島英樹、新崎信一郎、中島佐知子、井上隆弘、近藤純平、石井修二、由雄敏之、西田勉、垣内佳美、考藤達哉、辻井正彦、辻晋吾、林紀夫：マウス炎症性腸疾患における T 細胞の免疫寛容の関与についての検討 第 96 回日本消化器病学会総会 福岡 2008/5/8-10
 18. 飯島英樹、新崎信一郎、中島佐知子、柄川悟志、近藤純平、石井修二、由雄敏之、西田勉、垣内佳美、考藤達哉、辻井正彦、辻晋吾、三善英知、林紀夫：炎症性腸疾患に見られるガラクトース欠損 IgG によるマクロファージ機能への影響の解析 第 97 回日本消化器病学会総会 福岡 2008/5/8-10
 19. 中島佐知子、飯島英樹、新崎信一郎、柄川悟志、近藤純平、石井修二、垣内佳美、西田勉、辻井正彦、辻晋吾、林紀夫：炎症性腸疾患患者における骨密度および骨代謝マーカーの検討 第 98 回日本消化器病学会総会 福岡 2008/5/8-10
 20. 柄川悟志、飯島英樹、新崎信一郎、中島佐知子、井上隆弘、林義人、石井修二、由雄敏之、西田勉、考藤達哉、辻井正彦、吉原治正、林紀夫：潰瘍性大腸炎患者における T 細胞アナジの検討 第 45 回日本消化器免疫学会総会 京都 2008/7/4
 21. 柄川悟志、飯島英樹、新崎信一郎、中島佐知子、井上隆弘、近藤純平、石井修二、由雄敏之、西田勉、垣内佳美、考藤達哉、辻井正彦、辻晋吾、林紀夫：マウス炎症性腸疾患における T 細胞の免疫寛容の関与についての検討 第 36 回日本潰瘍学会総会 札幌 2008/9/6
 22. 井上隆弘、飯島英樹、中島佐知子、新崎信一郎、柄川悟志、山本克己、西田勉、筒井秀作、辻井正彦、辻晋吾、林紀夫：クローン病術後に対する小腸内視鏡検査の有用性と問題点 JDDW2008(第 76 回消化器内視鏡学会総会)東京 2008/10/2
 23. 中島佐知子、飯島英樹、林紀夫：ビタミン K 欠乏と炎症性腸疾患活動性との関連について JDDW2008 東京 2008/10/2
 24. 近藤純平、飯島英樹、辻晋吾：Crohn 病の診断と治療におけるダブルバルーン小腸内視鏡の有用性 第 79 回日本消化器内視鏡学会近畿地方会 大阪 2007/9/30
 25. S. Egawa, H. Iijima, S. Shinzaki, S. Nakajima, J. Kondou, S. Ishii, T. Yoshio, T. Irie, Y. Kakiuchi, T. Nishida, M. Yasumaru, M. Tsujii, S. Tsuji, N. Hayashi: Expression of Grail, An E3 Ubiquitin Ligase for Induction of T Cell Anergy, in CD4+ T Cells of Patients with Ulcerative Colitis. 米国 DDW Washington DC 2007/5/21
 26. S. Shinzaki, H. Iijima, S. Egawa, S. Nakajima, S. Ishii, T. Yoshio, T. Irie, Y. Kakiuchi, T. Nishida, M. Yasumaru, T. Kanto, M. Tsujii, S. Tsuji, N. Hayashi: Cyclooxygenase-2 Regulates Toll-Like Receptor (TLR) 2 Expression and TLR2-Mediated Chemokine Production in Intestinal Epithelial Cells. 米国 DDW Washington DC 2007/5/21
 27. Y. Hayashi, S. Tsuji, M. Tsujii, T.

- Nishida, S. Ishii, M. Komori, T. Irie, H. Iijima, H. Eguchi, N. Hayashi, S. Kawano: Transplantation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorated 2,4,6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid (TNBS)-Induced Colitis in Rats. 米国 DDW Washington DC 2007/5/21
28. 新崎信一郎、飯島英樹、中島佐知子、柄川悟志、考藤達哉、三善英知、辻井正彦、辻晋吾、吉原治正、林紀夫：糖鎖解析に基づく炎症性腸疾患の新たな血清マーカー 第93回日本消化器病学会総会 青森 2007/4/20
29. H. Iijima, M. Tsujii, S. Egawa, S. Shinzaki, S. Nakajima, T. Kanto, S. Tsuji, N. Hayashi : Lipoarabinomannan suppresses DSS colitis by modulating mucosal innate immunity in mice. 13th ICMI 東京 2007/7/11
30. S. Egawa, H. Iijima, M. Tsujii, S. Shinzaki, S. Nakajima, T. Kanto, S. Tsuji, N. Hayashi : Upregulation of GRAIL, an E3 ubiquitin ligase for induction of T cell anergy, in CD4+ T cells of patients with ulcerative colitis in remission state. 13th ICMI 東京 2007/7/11
31. S. Shinzaki, H. Iijima, T. Nakagawa, S. Egawa, S. Nakajima, T. Kanto, M. Tsujii, S. Tsuji, A. Kondo, E. Miyoshi, N. Hayashi : New serologic marker for IBD based on the oligosaccharide analysis. 13th ICMI 東京 2007/7/11
32. 井上隆弘、飯島英樹、林紀夫：クローン病に対する Azathioprine の治療成績 第87回日本消化器病学会近畿支部例会 大阪 2007/9/9
33. 近藤純平、飯島英樹、辻晋吾：Crohn 病の診断と治療におけるダブルバルーン小腸内視鏡の有用性 第79回日本消化器内視鏡学会近畿地方会 大阪 2007/9/30
34. T. NAGAISHI, H. IIJIMA, A. NAKAJIMA, M. WATANABE, R. S. BLUMBERG : T cell inhibition by carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1 in a colitis model. APDW2007 神戸 2007/10/16
35. J. KONDO, H. IIJIMA, M. TSUJII, S. TSUTSUI, A. NAKAMA, K. ISHIBASHI, M. KUBO, T. ABE, M. KOMORI, T. ITO, A. TAKEDA, Y. IWANAGA, S. TSUJII, N. HAYASHI : Indications and diagnostic yield in a series of 848 cases with suspected small bowel disease by double-balloon enteroscopy. APDW2007 神戸 2007/10/16
36. 新崎信一郎、飯島英樹、中島佐知子、柄川悟志、考藤達哉、三善英知、辻井正彦、辻晋吾、吉原治正、林紀夫. IgG 糖鎖解析に基づく新たなクローン病診断法 DDW-Japan 2007 神戸 2007/10/19
37. 中島佐知子、飯島英樹、新崎信一郎、柄川悟志、近藤純平、石井修二、入江孝延、垣内佳美、西田勉、安丸正一、辻井正彦、辻晋吾、林紀夫：炎症性腸疾患患者における骨密度および骨代謝マーカーの検討 DDW-Japan 2007 神戸 2007/10/19
38. 近藤純平、山田拓哉、山本克己、西田勉、渡部健二、飯島英樹、平松直樹、筒井秀作、辻井正彦、辻晋吾、林紀夫：小腸ダブルバルーン内視鏡により診断しえた EBV 感染を伴う GVHD 腸炎の一例 DDW-Japan 2007 神戸 2007/10/19.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
特願 2009-281519 : I g A ヒンジ部 O 結合型糖鎖構造に基づく疾患の判定方法
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

網羅的蛋白解析を用いた炎症性腸疾患の病態解明ならびに新規バイオマーカーの探索

研究協力者 内藤 裕二 京都府立医科大学医学部消化器内科 准教授

研究要旨：我々は本研究を通じて、炎症性腸疾患病態機序の解明、新規疾患マーカー・新規治療標的分子の探索を目的としてプロテオーム解析を行ってきた。①酸化ストレスにより翻訳後修飾された酸化修飾蛋白質の同定、②炎症粘膜における網羅的蛋白発現解析による疾患感受性候補蛋白質の同定、に取り組んできた。その結果、平成19年度には腸管炎症粘膜において新規にジブロモチロシン(DiY)修飾アルブミンが同定され、平成20-21年度に同定された抗酸化蛋白質 Peroxiredoxin-6(Prx6)は腸管炎症粘膜において発現減弱し、腸管粘膜恒常性維持に重要な役割を担うとともに、新規病態マーカーとして新規性の高い蛋白質であることが示された。

共同研究者

高木智久(京都府立医科大学医学部消化器内科 講師)
内山和彦(京都府立医科大学医学部消化器内科 助教)

A. 研究目的

我々は原因が未だ明らかではない炎症性腸疾患に対して、病態機序の解明、新規疾患マーカー・新規治療標的分子の探索を目的としてプロテオーム解析を行っている。マウス Dextran Sodium Sulfate (DSS) 腸炎モデルの炎症大腸粘膜で発現変動する蛋白質の網羅的探索を行い、いくつかの疾患感受性候補蛋白質を同定するに至った。本研究では、同定された蛋白質の一つである抗酸化蛋白質 Peroxiredoxin-6(Prx6)に着目し、腸管炎症病態における役割について解析を行った。

また、炎症大腸粘膜においては酸化ストレスが亢進しており、その病態に関与していることが明らかになっている。酸化ストレス生成源として活性化好中球は重要であり、好中球由来の酸化ストレスは粘膜傷害因子として作用すると考えられている。一方、この好中球が様々な蛋白質に対して酸化修飾を惹起し、蛋白質の機能変化をもたらしている可能性も示唆されている。本研究では、上述の網羅的蛋白発現解析に加えて、翻訳後酸化修飾と炎症性腸疾患の病態における関わりについて検討を行った。

B. 研究方法

動物モデルとして7週齢雄性 C57BL/6 マウスを用い、既報に従いマウス DSS 腸炎モデル、TNBS 腸炎モデルを作成し、大腸粘膜を採取し解析に供した。本実験に関しては本学内実験動物取り扱い規約を遵守して施行された。さらに、文書にて同意の得られた潰瘍性大腸炎患者を対象に大腸内視鏡検査下で大腸粘膜生検検体を採取し、解析に供した。

網羅的蛋白発現解析では Ettan DIGE を用いて行い、発現に変動を認めたスポットの蛋白質を質量分析計で同定した。この同定された蛋白質のなかで炎症大腸粘膜で著明に発現低下する Prx6 に着目し解析を行った。Prx6 の大腸粘膜における発

現・局在を組織免疫染色にて確認し、腸管粘膜における Prx6 の機能解析を、マウス正常大腸上皮細胞株(YAMC cell)を用いて行った。また、ヒト潰瘍性大腸炎・クローン病の炎症腸粘膜生検検体を用いて Prx6 の発現動態の評価を行った。好中球由来の翻訳後酸化修飾蛋白質の解析では 3,5-dibromotyrosine (DiBrY) モノクローナル抗体を用いてハロゲン化修飾蛋白質の解析を1次元、2次元電気泳動を用いて行い、蛋白質の同定を質量分析計にて行った。

C. 研究結果

DSS 腸炎の大腸粘膜を用いた網羅的蛋白発現解析の結果、炎症大腸粘膜にて発現の低下している蛋白質の一つとして抗酸化酵素 Prx6 が同定された。組織免疫染色では、Prx6 は腺管上皮に非常に強い発現を認めたが、炎症大腸粘膜では Prx6 発現は低下していた。そこで、マウス正常大腸上皮細胞株(YAMC cell)を用いて Prx6 の機能解析を行った。siRNA にて Prx6 発現制御した YAMC cell を用いて検討を行い、Prx6 低発現細胞では H₂O₂ による傷害性の著しい増加を認めた。また、wound assay を用いた損傷治癒における検討においても Prx6 低発現細胞では損傷治癒が遅延していることが明らかとなった。

ヒト大腸粘膜生検検体を用いた検討では、活動期潰瘍性大腸炎粘膜では Prx-6 遺伝子・蛋白質発現の有意な低下を認めた。この発現低下はクローン病粘膜においても認められた。一方、緩解期粘膜や潰瘍性大腸炎非炎症部粘膜では Prx6 発現は正常粘膜と同等に維持されていた。

さらに、酸化修飾蛋白質の解析ではマウス TNBS 腸炎大腸粘膜中 MPO 活性の亢進を認め、組織学的にも著しい好中球・好酸球の浸潤を認めた。炎症大腸粘膜においてはアルブミンの DiBrY 修飾が同定された。また、活動期潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜においても DiBrY 修飾蛋白アルブミンの存在が検出された。

D. 考察

Prx は H₂O₂ を消去する抗酸化酵素であり、ヒトでは6種類の superfamily が知られており、Cys 残基を持つこ

とにより活性酸素種(ROS)と非常に高い反応性を有し、抗酸化能を発揮する。近年の研究により、クローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患の病態形成に ROS や活性酸素種をはじめとした酸化ストレスの重要性が明らかとなっており、これらの疾患で Prx6 の発現が低下していることは、大腸粘膜の抗酸化力が低下していると推察される。特に、Prx6 は大腸粘膜の腺管上皮細胞に発現しており、マウス正常大腸上皮細胞株を用いた *in vitro* の検討では、Prx6 が酸化ストレスによる細胞傷害抵抗性に寄与していることが示され、さらに興味深いことに粘膜損傷治癒においても治癒促進に関与していることが明らかとなった。したがって、腸管粘膜上皮細胞に Prx6 が高発現していることは、粘膜恒常性維持に重要な現象であることが推察される。

実際に、ヒト潰瘍性大腸炎活動期粘膜では Prx6 発現が著しく低下しており、正常粘膜と比較して組織の脆弱性がもたらされている可能性が考えられた。一方、様々な治療により緩解した粘膜においては Prx6 発現が正常大腸粘膜と同等にまで回復していた。これらの現象は、Prx6 発現挙動が腸管炎症病態に深く関与していることを示唆するとともに、病態を反映する新規バイオマーカーとして臨床現場に応用できる可能性が示された。また、腸管炎症病態における活性酸素種生成源として好中球・好酸球の役割は重要であり、これらの炎症細胞が持つ MPO は過酸化水素を生成し、臭素の存在下で次亜臭素酸(HOBr)を形成することが知られている。この活性型ハロゲン種は核酸、蛋白質、脂質に結合してハロゲン化修飾物を形成することが知られている。DiBrY は蛋白質チロシン残基に Br が結合して出来る酸化修飾蛋白質であり、一般には新規組織障害マーカーとして捉えられている。本研究では活動期潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜やマウス腸炎モデル大腸粘膜において DiBrY 修飾アルブミンの存在が検出され、新規炎症マーカーとして期待されるものであった。

E. 結論

活動期潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜やマウス腸炎モデル大腸粘膜において Prx6 の発現低下が確認された。この Prx6 は大腸粘膜の恒常性維持に寄与することが明らかとなった。また、炎症粘膜での発現挙動解析から Prx6 は新規病態バイオマーカーとなると考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takagi T, Naito Y, Mizushima K, Akagiri S, Suzuki T, Hirata I, Omatsu T, Handa O, Kokura S, Ichikawa H, Yoshikawa T. Inhalation of Carbon Monoxide Ameliorates TNBS-Induced Colitis in Mice Through the Inhibition of TNF α Expression. *Dig Dis Sci*. 2010 Jan 22
2. Takagi T, Naito Y, Yoshikawa T. The expression

of heme oxygenase-1 induced by lansoprazole. *J Clin Biochem Nutr*. 2009 Jul;45(1):93.

3. Takagi T, Naito Y, Mizushima K et al. Increased intestinal expression of heme oxygenase-1 and its localization in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Dec;23 Suppl 2:S229-33.

4. Naito Y, Takagi T, Yoshikawa T. Neutrophil-dependent oxidative stress in ulcerative colitis. *J Clin Biochem Nutr*. 41. 126. 2007

5. Naito Y, Takagi T, Yoshikawa T. Molecular fingerprints of neutrophil-dependent oxidative stress in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*. Oct;42(10) 787-98. 2007

6. 高木智久、内藤裕二、吉川敏一、武藤徹一郎監修：大腸疾患NOW. 炎症性腸疾患患者における酸化ストレス修飾蛋白の同定. 162-166. 2009 (日本メディカルセンター)

7. 内藤裕二、高木智久：炎症性腸疾患治療の最前線 京都府立医科大学雑誌 116(3)127-143. 2007

8. 内藤裕二著. プロテオミクスでみえてくる消化器疾患の新展開. 診断と治療社 2009. 10.

2. 学会発表 特記事項なし

1. Omatsu T, Naito Y, Takagi T, et al. Decreased Expression of Peroxiredoxin-6 in Murine Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Identified by 2-Dimensional Fluorescence Difference in Gel Electrophoresis. DDW2009 May 31, 2009 Chicago, IL

2. Omatsu T, Naito Y, Takagi T, et al. The exhaustive proteomics revealed the down-regulation of peroxiredoxin-6 in murine dextran sodium sulfate-induced colitis. ICM2009 July 7, 2009 Boston, MA

3. Omatsu T, Naito Y, Takagi T, et al. Proteomic discovery of the down-regulation of peroxiredoxin-6 in murine dextran sodium sulfate-induced colitis. UEGW2009 Nov 24, 2009. London, UK

4. 尾松達司、内藤裕二、高木智久等. マウス腸炎モデルに対する網羅的蛋白解析によるアプローチ～ペルオキシレドキシシン6の役割～第95回日本消化器病学会総会. 2009. 5. 8. 北海道.

5. 尾松達司、内藤裕二、高木智久等. マウス腸炎モデルに対するプロテオミクスの手法を用いたアプローチ～ペルオキシレドキシシン6発現低下の発見～. 第46回日本消化器免疫学会総会. 2009. 7. 23. 松山

H. 知的所有権の取得状況

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

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

クローン病の新規バイオマーカーについての検討

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：ファージディスプレイ法を用いて日本人クローン病(CD)患者血清と特異的かつ高率に反応する抗原の探索を行なった。その結果、TCP353 に対する抗体(ACP353)が有用なバイオマーカーとなることが示唆された。さらに、TCP353 は CD の病態にも深く関与し、病因の追求、新規治療法の開発の面からも重要な因子と考えられた。

共同研究者：丹羽幹夫

所属：東亜合成つくば研究所

A. 研究目的

ファージディスプレイ法を用いてクローン病(CD)患者血清と特異的かつ高率に反応する抗原の探索を行なった。

B. 研究方法

(1)大腸癌 cDNA を用いて作製した T7 ファージディスプレイライブラリーを、多数の CD 患者血清中の IgG を用いてスクリーニングした。CD 患者血清と特異的に結合するファージを選別し、発現ペプチド(TCP353)のアミノ酸配列を決定した。(2)CD、潰瘍性大腸炎(UC)、健常人より末梢血単核球(PBMC)を分離し、合成した抗原ペプチド(TCP353)の刺激下で 24 時間培養し、上清中の各種サイトカイン濃度を測定した。(3)TCP353 を用いて ELISA を構築し、CD 60 例、UC 109 例、感染性腸炎 11 例、大腸癌 35 例、健常人 71 例での血清抗体価を測定した。さらに ASCA の血清抗体価との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究に当たっては当大倫理委員会の承認を得、患者の同意を得て行った。データ処理に当たっては症例リストを作成した後、氏名、住所等の個人情報を特定される可能性のあるデータを消去した上で解析を行った。

C. 研究結果

(1)本新規抗原ペプチドのホモロジー検索では、既存

のバイオマーカーを含む如何なる蛋白抗原とも相同性を認めなかった。(2)TCP353 で PBMC を刺激すると、CD の PBMC では UC や健常人の PBMC と異なり、炎症性サイトカインの産生亢進がみられた。(3)TCP353 に対する抗体(ACP353)の血清抗体価は、CD 61.7%、UC 7.3%、感染性腸炎 0%、大腸癌 11.4%、健常人 2.8%で陽性であった。ROC カーブでは、ACP353 の方が ASCA よりも有用であった。

D. 考察

CD のバイオマーカーとして、欧米では抗 Flagellin 抗体、抗 OmpC 抗体、抗 I2 抗体、ASCA などが報告されている。しかし、これらのマーカーの日本人 CD での陽性率や特異性は満足できるものではない。今回の研究で、TCP353 に対する抗体(ACP353)は CD に特異的で、日本人 CD の有用なバイオマーカーとなることが示唆された。さらに、TCP353 は CD の病態にも深く関与し、病因の追求、新規治療法の開発の面からも重要な因子と考えられた。今後、多施設研究により本マーカーの臨床的意義をさらに追求していく予定である。

E. 結論

TCP353 に対する抗体(ACP353)は CD に特異的で、日本人 CD の有用なバイオマーカーとなることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

光山慶一. クロウン病の新規バイオマーカーの検討,
第96回日本消化器病学会総会, 新潟, 2010年4月22
日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

ドイツでは特許権取得済み(PCT/JP2005/007857)。米
国、欧州、中国、韓国で出願中。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

EPA 由来生理活性物質を用いた炎症性腸疾患に対する新規治療法の検索

研究協力者 吉田 優 神戸大学大学院医学研究科内科学講座消化器内科学分野 特命准教授

研究要旨：エイコサペンタエン酸(EPA)は、様々な慢性炎症に対して抗炎症効果が報告されているが、その詳細な機序は不明である。今回、EPA 由来生理活性物質であるリゾルビンE 1 (RvE1) の抗炎症効果を検討した。RvE1 は、マクロファージの TNF- α や Toll-like 受容体刺激による NF- κ B 経路の活性化を抑制することにより、マウス炎症性腸疾患モデルに有用であることが明らかになった。

共同研究者

石田 司、増田充弘、久禮 泉、大井 充、
吉江智朗、東 健

A. 研究目的

EPA、ドコサヘキサエン酸(DHA)などの不飽和脂肪酸は、様々な慢性炎症性疾患に対して抗炎症効果が報告されている。近年、炎症の収束期に生成されるこれら不飽和脂肪酸由来生理活性物質が、特異的受容体を介して炎症を抑制することが報告された。そこで、EPA 由来生理活性物質(リゾルビンE 1: RvE1)のマウス炎症性腸疾患モデルに対する効果を検討した。

B. 研究方法

マウスより腹腔内マクロファージを採取し、RvE1 の受容体である ChemR23 の発現を解析した。さらに、RvE1 が LPS 刺激による TNF- α および IL-12p40 mRNA 発現を抑制するかどうかをリアルタイム PCR 法により検討した。次に ChemR23 の発現遺伝子を HEK (human embryonic kidney) 293 細胞に移入した細胞株を用いて、RvE1 (100ng/ml) が TNF- α (4ng/ml) 刺激による NF- κ B p65 の核内移行を抑制するかどうかを免疫染色ならびにウェスタンブロット法で検討した。次に、RvE1 が、DSS 腸炎を制御するかどうかを検討した。

(倫理面への配慮)

神戸大学動物実験委員会の規約に沿い、動物への倫理的配慮を行った。

C. 研究結果

(1) マウス腹腔内マクロファージにおける RvE1 の抗炎症効果の検討

マウス腹腔内マクロファージが ChemR23 を発現していることをフローサイトメトリーで確認した。また、LPS にてマウス腹腔内マクロファージに誘導される TNF- α および IL-12p40 mRNA 発現を RvE1 は有意に抑制した。

(2) RvE1 の ChemR23 発現細胞における NF- κ B 活動性の抑制効果の検討

ChemR23 移入細胞(HEK293-ChemR23 細胞)ならびにコントロール細胞において、TNF- α 刺激による NF- κ B の核内移行が RvE1 添加により抑制できるかどうかを免疫染色ならびにウェスタンブロットにて検討したところ、RvE1 は受容体依存的に有意に抑制することを明らかにした。

(3) DSS 誘発腸炎に対する RvE1 の効果の検討

マウス DSS 腸炎を用いて、RvE1 の効果を検討した。コントロール群では、DSS 投与後 5 日目より下痢、体重減少など著明な腸炎が認められ、8 日目には体重減少率は 78.1 \pm 2.6% となったが、RvE1 投与群において 8 日目の体重減少率は 90.7 \pm 2.4% となり、有意に体重の減少を抑制した。また、RvE1 投与群においては、大腸長においても有意に改善が認められた。さらに、大腸組織の病理学検討においても、RvE1 は有意な改善をもたらした。大腸組織において NF- κ B の活動性を検討す

るために NF- κ Bp65 のリン酸化に対する抗体を用いて、免疫染色を行い検討した。大腸遠位側で、RvE1 投与群は有意に NF- κ B のリン酸化陽性細胞数が低下しており、大腸組織の局所においても NF- κ B の活動を抑制していることが示唆された。また、RvE1 投与群において NF- κ B 関連性の炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA の有意な低下が DSS 誘発腸炎の大腸組織において認められた。

(4) 炎症による RvE1 受容体である ChemR23 の発現の変化の検討

マウス腹腔内マクロファージを、LPS (100ng/ml) で刺激した際、ChemR23 mRNA が増加すること、さらに、DSS 誘発腸炎の大腸組織でも、DSS 投与群がコントロール群と比較して ChemR23 mRNA の発現が増強していることを明らかにした。

D. 考察

炎症性腸疾患の病態の一つとして、食事や腸内細菌に対する免疫反応が過剰に反応していると考えられている。実際、炎症性腸疾患患者において、主にマクロファージの産生する TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などのサイトカインが高値であることが知られている。本研究により、EPA 由来生理活性物質である RvE1 がマクロファージに発現する ChemR23 を介して、LPS などの Toll-like 受容体刺激による NF- κ B のシグナルを制御することにより、その下流の炎症性モノカインの発現を制御する可能性が示唆された。

E. 結論

EPA 由来生理活性物質である RvE1 は、in vitro ならびに in vivo において、すぐれた炎症効果を発揮した。RvE1 は、ヒト慢性炎症疾患の治療薬への応用が期待される。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kure I, Nishiumi S, Nishitani Y, Tanoue T, Ishida T, Mizuno M, Fujita T, Kutsumi H, Arita M, Azuma T, Yoshida M :Lipoxin A4 reduces

lipopolysaccharide-induced inflammation in macrophages and intestinal epithelial cells through inhibition of NF- κ B activation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009 Oct 21. [Epub ahead of print] (*correspondence)

2. Ishida T, Yoshida M*, Arita M, Nishitani Y, Masuda A, Muzuno S, Morita Y, Kutsumi H, Inokuchi H, Serhan CN, Blumberg RS, Azuma T Resolvin E1 :an endogenous lipid mediator derived from eicosapentaenoic acid, prevents dextran sulfate sodium induced colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2010 Jan;16(1):87-95. (*correspondence)

3. Kobayashi K, Qiao SW, Yoshida M, Baker K, Lencer WI, Blumberg RS :An FcRn-Dependent Role for Anti-flagellin Immunoglobulin G in Pathogenesis of Colitis in Mice. *Gastroenterology.* 2009 Nov; 137(5): 1746-1756.

4. Nishitani Y, Tanoue T, Yoshida M, Azuma T, Mizuno M :Lactococcus lactis subsp. cremoris FC alleviates symptoms of colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. *Int Immunopharmacol.* 2009 9(12):1444-51

2. 学会発表

1. 石田 司、吉田 優、有田 誠、東 健 :Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from eicosapentaenoic acid, prevents dextran sulfate sodium induced colitis. 第 39 回日本免疫学会総会 (2009 年 12 月、大阪)

2. Ishida T, Yoshida M, Arita M, Takagawa T, Serhan CN, Azuma T : Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from eicosapentaenoic acid, prevents dextran sulfate sodium induced colitis. ICMI2009 (2009 年 7 月、ボストン)

3. 石田 司、吉田 優、久禮 泉、塩見優紀、有田 誠、東 健 : 不飽和脂肪酸由来生理活性物質による炎症性腸疾患の治療応用 JDDW2008 (2008 年 10