

炎症性腸疾患患者の妊娠出産における現状とその対策アンケート

1. 直腸 2. 結腸 (S状 下行 横行 上行) 3 盲腸 4 回腸 5 不明

A-6 生物学的製剤 (レミケード・ヒュミラ) の使用歴

開始 (年 月 日) ~ (年 月 日) 中止・現在継続中)

計 mg/kg

A-7 免疫調節薬 (AZA, 6MP) の使用歴

開始 (年 月 日) ~ (年 月 日) 中止・現在継続中)

計 mg

A-8 外科的治療

1. 未実施
2. 実施

A-9 妊娠時検査所見 (年 月 日)

CRP () mg/dl

Hgb () g/dl

A-10 妊娠時の生物学的製剤・免疫調整剤以外の加療内容と開始時期

- | | | | |
|--------------------------|------------------|-------------------------------|------------|
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | サラゾピリン | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ペンタサ | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | アサコール | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | サラゾピリン座薬 | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ペンタサ注腸 | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ステロイド (内服・点滴) | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | リンデロン座薬 | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ステロイド注腸 (ステロネマ・ブレドネマ) | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | エレンタール | _____ 包/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | エンシュアリキッド、ラコール | _____ 包/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | 抗生剤 (フラジール・シプロキサンほか) | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | シクロスポリン (シクロスポリン (点滴)・ネオーラル錠) | _____ mg/日 |

炎症性腸疾患患者の妊娠出産における現状とその対策アンケート

クローン病

B-1 年齢 (満 才)

B-2 発病年月 (年 月 日) (満 才)

B-3 罹患範囲 (年 月 日)

1 食道 2 胃 3 十二指腸 4 空腸 5 回腸 6 盲腸 7 結腸 8 直腸 9 肛門 10 その他

B-4 病型

1. 炎症型 (Vienna 分類の B1)
2. 主に狭窄性もしくは閉塞性 (Vienna 分類の B2)
3. 主に穿孔性もしくは瘻孔性 (Vienna 分類の B3)

B-4 重症度

	妊娠時	3ヶ月	6ヶ月	9ヶ月
一般状態	良好 やや不良 不良 かなり不良 きわめて不良	良好 やや不良 不良 かなり不良 きわめて不良	良好 やや不良 不良 かなり不良 きわめて不良	良好 やや不良 不良 かなり不良 きわめて不良
排便回数	_____回	_____回	_____回	_____回
腹痛	なし 軽度 中等度 高度	なし 軽度 中等度 高度	なし 軽度 中等度 高度	なし 軽度 中等度 高度
腹部腫瘍	なし 疑いあり あり あり、圧痛伴う	なし 疑いあり あり あり、圧痛伴う	なし 疑いあり あり あり、圧痛伴う	なし 疑いあり あり あり、圧痛伴う
合併症	<input type="checkbox"/> 関節痛 <input type="checkbox"/> ブドウ膜炎 <input type="checkbox"/> 結節性紅斑 <input type="checkbox"/> アフタ性潰瘍 <input type="checkbox"/> 壊疽性膿皮症 <input type="checkbox"/> 裂肛 <input type="checkbox"/> 新たな瘻孔、膿瘍	<input type="checkbox"/> 関節痛 <input type="checkbox"/> ブドウ膜炎 <input type="checkbox"/> 結節性紅斑 <input type="checkbox"/> アフタ性潰瘍 <input type="checkbox"/> 壊疽性膿皮症 <input type="checkbox"/> 裂肛 <input type="checkbox"/> 新たな瘻孔、膿瘍	<input type="checkbox"/> 関節痛 <input type="checkbox"/> ブドウ膜炎 <input type="checkbox"/> 結節性紅斑 <input type="checkbox"/> アフタ性潰瘍 <input type="checkbox"/> 壊疽性膿皮症 <input type="checkbox"/> 裂肛 <input type="checkbox"/> 新たな瘻孔、膿瘍	<input type="checkbox"/> 関節痛 <input type="checkbox"/> ブドウ膜炎 <input type="checkbox"/> 結節性紅斑 <input type="checkbox"/> アフタ性潰瘍 <input type="checkbox"/> 壊疽性膿皮症 <input type="checkbox"/> 裂肛 <input type="checkbox"/> 新たな瘻孔、膿瘍

炎症性腸疾患患者の妊娠出産における現状とその対策アンケート

B-8 生物学的製剤（レミケード・ヒュミラ）の使用歴

開始（ 年 月 日）～（ 年 月 日中止・現在継続中）

計 mg/kg

B-9 免疫調節薬（AZA, 6MP）の使用歴

開始（ 年 月 日）～（ 年 月 日中止・現在継続中）

維持量 mg/日、計 mg/

B-5 外科的治療

1. 未実施 2. 実施

B-6 妊娠時検査所見（ 年 月 日）

CRP （ ） m g /dl

Hgb （ ） g/dl

B-7 妊娠時の生物学的製剤・免疫調整剤以外の加療内容と開始時期

- | | | | |
|--------------------------|------------------|-----------------------------------|-----------------|
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | サラゾピリン | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ペンタサ | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | アサコール | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | サラゾピリン座薬 | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ペンタサ注腸 | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ステロイド（内服・点滴） | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | リンデロン座薬 | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | ステロイド注腸（ステロネマ・プレドネマ） | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | エレンタール | _____ 包/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | エンシュアリキッド、ラコール | _____ 包/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | 抗生剤（フラジール・シプロキサソ ^ン ほか） | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | シクロスポリン（シクロスポリン（点滴）・ネオーラル錠） | _____ mg/日 |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | 白血球除去療法・顆粒球除去療法（LCAP/GCAP） | |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | プログラフ | _____ mg/日（維持量） |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | 止痢剤 | |
| <input type="checkbox"/> | 1年以上前・1年以内・1ヶ月以内 | 乳酸菌製剤（ラックビー、ビオフィェルミンなど） | |

患者さんへ

このアンケートについて内容にわからないことや聞きたいこと、また何か心配なことがありましたら、担当の先生におたずねください。

質問票

記入日	西暦	年	月	日
-----	----	---	---	---

登録番号

この質問票は、あなたの病気が妊娠、出産にどのような影響をあたえるのか、また妊娠、出産が病気にどのような影響を与えるのかについての情報を得るために作成されたものです。できる限りすべての質問にお答えください。

この情報は、暗号化され解析センターへ送られます。主治医を含めて個人情報が行われることはありません。これまで妊娠、出産をされたことのない方は答えるところと、答えなくてよい部分があります。質問にどう答えてよいかわからない場合は、わかる範囲で回答をお願いします。

1 現在の身長・体重を教えてください。

身長 (c m) 体重 (k g)

2 年齢、生年月日を教えてください。(日は不要です。)

() 歳、西暦 (年 月) 生まれ

3 病気を発病した時期を教えてください。

西暦 (年 月頃) (才頃)

4 あなたの病名は

- 潰瘍性大腸炎
- クロウン病
- その他 ()

5 現在結婚していますか？

- はい
- いいえ

6 現在お子さんはいますか？

- はい (人、 男子 人、女子 人)
- いいえ

7 これまでに潰瘍性大腸炎、クロウン病で腸管切除などの手術したことがありますか？

- はい
- いいえ

8 これまで婦人科的疾患(子宮筋腫、子宮内膜症、卵巣嚢腫など)を指摘されたことがありますか？
ある場合には下記に記載してください。

- はい
- いいえ

9 これまで不妊治療を受けられたことがありますか？

- はい
 いいえ

10 妊娠した年齢を記載してください。またその妊娠時には腸炎が発症前であったか、妊娠時に腸炎が発症したのか、発症後で活動期であったか、寛解期であったかどうかについてわかる範囲で丸をつけてください。

さらにその妊娠の経過（出産したか、流産したかなど）についてあてはまるものに丸をつけてください。母子手帳が保存してある場合には母子手帳を参考にして記載してください。

	第1妊娠	第2妊娠	第3妊娠	第4妊娠
妊娠年	年 才	年 才	年 才	年 才
妊娠時の腸炎の状態	発症していなかった 妊娠中に腸炎発症 寛解期 寛解期から悪化 活動期で不変 活動期から改善	発症していなかった 妊娠中に腸炎発症 寛解期 寛解期から悪化 活動期で不変 活動期から改善	発症していなかった 妊娠中に腸炎発症 寛解期 寛解期から悪化 活動期で不変 活動期から改善	発症していなかった 妊娠中に腸炎発症 寛解期 寛解期から悪化 活動期で不変 活動期から改善
妊娠時内服薬				
妊娠経過	自然分娩 自然流産 人工流産	自然分娩 自然流産 人工流産	自然分娩 自然流産 人工流産	自然分娩 自然流産 人工流産
出産した場合の形式	自然分娩・帝王切開	自然分娩・帝王切開	自然分娩・帝王切開	自然分娩・帝王切開
出生週数	週	週	週	週
出生児体重	g	g	g	g
先天奇形	なし あり	なし あり	なし あり	なし あり
妊娠中の喫煙	していた。 していなかった。	していた。 していなかった。	していた。 していなかった。	していた。 していなかった。

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

高齢者炎症性腸疾患診療の現状把握

—過去の入院患者に関する多施設へのアンケート調査結果と前向き多施設共同研究の提案—

研究分担者 三浦 総一郎 防衛医科大学校内科学 教授

研究要旨：高齢者（65歳以上）炎症性腸疾患患者治療の現状を把握し、予後に直結するリスク因子の発見、制御のためのデータ収集を目的とし、症例数を確保するために多施設共同研究とした。過去3年間の高齢者（65歳以上）およびそれと同数の非高齢者（64歳以下）の入院患者につき、UC・CDそれぞれ個別調査票に記入してもらうことにより行った。UCでは、最重症時の重症度、罹患範囲、入院期間に差はなく、手術施行率が高齢者でやや高い傾向があるものの、手術合併症の発生率に差は見られなかった。高齢のステロイド投与例ではCMV再活性化率が高かった。CDでも罹患範囲に差は見られず、開腹手術の既往にも差は見られなかったが、50歳以上の高齢発症に限ると、手術を受けている例は少ない。手術例に限ると、高齢者では非高齢者に較べて生物学的製剤の使用率が低い。

共同研究者：高本俊介、穂苅量太、渡辺知佳子¹、田中浩紀、本谷聡²、鈴木健司³、松田圭二、渡邊聡明⁴、猿田雅之⁵、吉村直樹⁶、長堀正和、渡辺守⁷、松岡克善、日比紀文⁸、横山薫、小林清典⁹、谷田諭史¹⁰、馬場重樹、藤山佳秀¹¹、内藤裕二¹²、松浦稔、仲瀬裕志¹³、山上博一、渡辺憲治¹⁴、飯島英樹¹⁵、樋田信幸、松本誉之¹⁶、永井健太、上野義隆、田中信治¹⁷、石原俊治¹⁸、池上幸治、松本主之¹⁹、高橋晴彦、松井敏幸²⁰、二見善太郎²¹、瀬戸山仁、藤田浩、坪内博仁²²、松本史弘²³、福田勝之²⁴、石黒陽²⁵ 1 防衛医科大学 校内科 2 札幌厚生病院 IBDセンター 3 新潟大学医学部 第3内科 4 帝京大学医学部 外科 5 慈恵会医科大学付属病院 消化器・肝臓内科 6 社会保険中央総合病院 内科 7 東京医科歯科大学 消化器内科 8 慶應義塾大学医学部 消化器内科 9 北里大学東病院 消化器内科 10 名古屋市立大学病院 消化器内科 11 滋賀医科大学 消化器内科 12 京都府立医科大学 消化器内科 13 京都大学医学部付属病院 消化器内科 14 大阪市立大学病院 消化器内科 15 大阪大学医学部付属病院 消化器内科 16 兵庫医科大学 内科学下部消化管科 17 広島大学病院 内視鏡診療科 18 島根医科大学 消化器内科 19 九州大学病院 消化器内科 20 福岡大学筑紫病院 消化器内科 21 福岡大学筑紫病院 外科 22 鹿児島大学医学部付属病院 消化器内科 23 自治医科大学付属さいたま医療セン

ター 消化器科 24 聖路加国際病院 消化器内科
25 弘前大学医学部 消化器内科（順不同）

A. 研究目的

高齢者炎症性腸疾患患者治療の現状を把握し、予後に直結するリスク因子を発見、制御することを目的とする。

特に、臨床個人調査票のデータからは得られない基礎疾患や内服薬、最重症時の状況、手術理由と合併症の詳細なども含めて検討する。症例数を確保するために多施設共同研究とした。

B. 研究方法

参加協力施設に潰瘍性大腸炎（UC）、クローン病（CD）それぞれの個別調査票を送付し、過去3年間に入院治療した65歳以上の高齢者全例、およびその期間中に入院した64歳以下の非高齢者（対照高齢者の入院時期に最も近い非高齢者をランダムに高齢者と同数選び、できるだけ40歳以下とする）について記入してもらった。

C. 研究結果

(1) UC

計25施設から的高齢者125例(男女比77:48)、非高齢者125例(男女比74:51)につき解析した。

①最重症時の重症度 ($p = 0.118$)

	軽症	中等症	重症	劇症	計
高齢者	16	62	46	1	125
非高齢者	2	70	51	2	125

(Mann-Whitney' s U-test)

②罹患範囲 ($p = 0.165$)

	直腸炎	遠位	左側	全結腸
高齢者	2	11	30	82
非高齢者	0	5	27	93

③入院時データ (* : $p < 0.01$)

	高齢者	非高齢者
入院時体温*	36.85±0.06℃	37.15±0.07℃
WBC(/mm ³)*	8032±331	9264±311
Hb (g/dl)*	11.14±0.18	11.85±0.20
ALB (g/dl)*	3.09±0.06	3.38±0.06
CRP (mg/dl)	4.17±0.47	5.22±0.57

(Student' s t-test)

④手術施行率および合併症

	高齢者	非高齢者	p 値
手術施行率	25.6 %	16.0 %	0.061
合併症	31.3 %	25.0 %	0.628

術後合併症のあった高齢者 10 名のうち、2 名が不整脈や誤嚥性肺炎などの呼吸器・循環器系合併症であったが、若齢者 5 名ではこういった合併症を認めていない。

⑤手術タイミング・手術理由

開腹手術を受けている高齢者 32 名のうち、緊急手術が 10 名、待機手術が 22 名であった。緊急手術例はいずれも劇症あるいは大量出血を理由としたもので、待機手術では難治が 16 名、dysplasia・癌が 6 名であった。一方非高齢者で手術を受けている 20 名のうち、緊急手術は 11 名、待機手術は 9 名であった。緊急手術例のうち、6 名が中毒性巨大結腸症を理由としており、待機手術例の全例が難治で、dysplasia・癌を理由とした手術は見られなかった。

⑥ステロイドの使用と Cytomegalovirus (CMV) 再

活性化

	高齢者	非高齢者	
ステロイド使用	75%	79%	n. s.
うち CMV 再活性化	29.8%	16.2%	$p=0.037$

(2) CD

計 12 施設から的高齢者 29 例 (男女比 13:16)、非高齢者 29 例 (男女比 12:17) につき解析を行った。

①病型 ($p = 0.225$)

	小腸型	小腸大腸型	大腸型
高齢者	17	7	5
非高齢者	9	18	2

②入院時データ (IOIBD スコアは最重症時のもの)

	高齢者	非高齢者
IOIBD スコア*	3.00±0.33	4.07±0.33
WBC(/mm ³)	7032±526	7336±497
Hb (g/dl)	10.98±0.43	11.30±0.42
ALB (g/dl)	3.36±1.14	3.32±0.15

* : $p < 0.05$

③手術施行率、手術理由

高齢者では 15/29 (51.7%)、非高齢者では 21/29 (72.4%) と有意差を認めなかった ($p = 0.104$)。しかし、高齢者のうち 50 歳以上で発症した例に限ると 2/15 (13.3%) であった。

手術理由はいずれの群でも狭窄・閉塞が最も多く、高齢者で 11/15、非高齢者で 14/21 であったが、癌・dysplasia を理由とした手術は今回の調査では見られなかった。

④抗 TNF- α 製剤の使用率

高齢者では 8/29 (27.6%)、非高齢者では 15/29 (51.7%) で、有意差を認めなかった ($p = 0.060$)。しかし、手術を受けた患者に限ると、高齢者では 2/15 (13.3%)、非高齢者では 11/21 (52.4%) となり、有意差が見られた ($p = 0.016$)。

D. 考察

UC においては、重症度や罹患範囲に有意差を認

めなかったが、高齢者ではやや軽症入院例の多い傾向が見られた。入院時の体温・白血球数・ヘモグロビン・アルブミン値はいずれも高齢者で低く、軽い症状ではあっても貧血や栄養状態の低下を来しやすいことが示唆される。

手術施行率は高齢者で高く、癌・dysplasiaを理由とした手術が6例含まれる。今回の調査では術後合併症の発生率に有意差を認めなかったが、合併症の内容から、高齢者では循環器・呼吸器系の合併症に注意が必要である。また、ステロイド投与例では高齢者のCMV再活性化率が高いことが示された。

CDにおいては、IOIBDスコアで見ると高齢者に軽症が多く、病型では有意差を認めなかった。従来高齢者のCDでは大腸限局型が多いとの報告が見られたが、今回のように入院例に限ると小腸病変をもった高齢患者も多いことが明らかとなった。手術施行率は両群に有意差を認めず、高齢発症者では13.3%であったことから、この点でも高齢者CDは軽症が多いことを裏付けている。抗TNF- α 製剤の使用率は両群で有意差はないものの、手術例に限ると高齢者で有意に低い。高齢者への生物学的製剤使用については、副作用の出現あるいは死亡率が高いといった報告が見られることから、投与に慎重となっている可能性が示唆される。

前回の臨床個人調査票での解析、および今回の調査から、高齢者での経過および治療の傾向が少しずつ明らかとなった。また高齢者IBDに関する報告も内外で増加してきているが、予後に直結する因子についてはいまだ不明な点が多く、多施設共同の前向き研究が不可欠であると考え、今回提案する。参加協力施設での新規発症患者につき、発症時または診断時の年齢が40歳未満の「非高齢者群」と60歳以上の「高齢者群」に分類し、同意が得られた高齢患者全員と、対照となる同数の非高齢患者を登録、1年後・2年後に追跡調査を行うこととした。調査項目については、合併症の有無や内容、併存疾患、発症から診断までの期間や鑑別に苦慮した疾患、投薬の有無（特にNSAID、抗凝固薬など）、治療内容と治療による副作用などに重点を置く。なお、この前向き研究は2011年12月に防衛医科大学校倫理委員会で承認された。

E. 結論

高齢者炎症性腸疾患の特性につき、多施設共同研究の結果を報告した。また、予後に直結する因子を解析するため、前向き多施設共同研究を提案した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 高本俊介、三浦総一郎：炎症性腸疾患患者の管理の実際 高齢者、炎症性腸疾患を究める、渡辺 守編、メディカルビュー社、277-279, 2011. 11
- 2) 三浦総一郎、高本俊介、渡辺知佳子、穂苅量太：高齢者潰瘍性大腸炎の内科治療 潰瘍性大腸炎診療の進展 II 内科治療、日本大腸肛門会誌 64: 825-828, 2011. 10
- 3) 三浦総一郎、高本俊介、渡辺知佳子、穂苅量太、川口 淳：下部消化管疾患の治療ガイドラインと高齢者への適応、日本高齢消化器病学会誌 13: 7-12, 2011. 03

2. 学会発表

- 1) 高本俊介、渡辺知加子、佐藤伸悟、八月朔日秀明、上田俊秀、東山正明、富田謙吾、中村光康、穂苅量太、川口淳、永尾重昭、三浦総一郎：当院における高齢者炎症性腸疾患の臨床的特徴、第45回日本成人病（生活習慣病）学会学術集会、東京、2011. 01. 15-16
- 2) 三浦総一郎：教育セミナー「治療ガイドラインと高齢者医療の現状と今後」、教育講演：下部消化管疾患の治療ガイドラインと高齢者への適応、第13回日本高齢消化器病学会、東京、2010. 07. 08-09

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

自然免疫系による慢性炎症性腸疾患の制御機構に関する研究

研究分担者 竹田 潔 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨：プロバイオティクス細菌 *Bifidobacterium breve* の作用機構を解析した。B. breve を経口投与すると、大腸粘膜固有層で IL-10 産生性 Foxp3 陰性の制御性 T 細胞 Tr1 細胞が選択的に誘導された。腸管から単離した樹状細胞を用いたナイーブ T 細胞の分化誘導の実験により、B. breve は、腸管 CD103 陽性樹状細胞に TLR2 依存性に作用し、IL-10, IL-27 産生を誘導することにより、c-Maf, IL-21, Ahr を高発現する Tr1 細胞の分化を誘導することを明らかにした。免疫不全マウスにナイーブ T 細胞を移入すると大腸炎が発症するが、B. breve を連日経口投与すると、腸管炎症を抑制した。しかし、移入するナイーブ T 細胞を IL-10 ノックアウトマウス由来にすると、B. breve による炎症抑制効果は認められなかった。これらの結果から、プロバイオティクス細菌 B. breve は、大腸で特異的に IL-10 産生性 Tr1 細胞を誘導することにより、腸管炎症を制御していることが明らかになった。

A. 研究目的

クローン病や潰瘍性大腸炎に代表される慢性炎症性腸疾患は、現在その病因・病態が明らかにされておらず、有効な治療法も確立されていない難治性の疾患であり、その病因・病態の解明、さらにその治療法の確立が待ち望まれている。

申請者は、自然免疫担当細胞において IL-10 のシグナル伝達に Stat3 が必須であることを見出し、Stat3 を自然免疫担当細胞特異的に欠損させると、自然免疫担当細胞が異常に活性化され、IL-10 欠損マウスと同様に Th1 細胞依存性の慢性腸炎を発症することを見出した。

そこで、炎症性腸疾患の発症機序を、自然免疫系を標的にして解析し、さらにその活性制御機構を解析し、その病態の解明、さらに自然免疫系を標的とした新たな治療法の開発の基礎的基盤を提供することを目的とする。

B. 研究方法

昨年度までに、腸管炎症の誘導に深く関与する Th17 細胞の分化誘導を、腸管に特有の CD70^{high} 樹状細胞が腸内細菌由来のアデノシン 3 リン酸依存性に制御していることをあきらかにし、T 細胞増殖を抑制することにより腸管炎症をブロックする制御性ミエロイド

細胞を同定した。近年特定の腸内細菌が T 細胞の分化を誘導することが明らかになってきた。従来ヒトの健康維持や種々の疾患に効果を示すことが知られているプロバイオティクス細菌が、腸管 T 細胞分化に及ぼす影響およびその分子機構を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は実験動物を用いたものであるが、実験動物の飼育は、空調設備、照明の時間制御の整った SPF 環境化で週に 1 回の床敷交換、餌水補給を専門職員に委託し、行っている。また、毎年秋に動物慰霊祭を行っている。また実験に当たっては、麻酔操作を行い、極力苦痛の軽減を行うよう配慮している。

C. 研究結果

C57BL/6 マウスに *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium breve* をそれぞれ毎日朝夕 3 カ月経口投与した。その後、大腸、小腸粘膜固有層の CD4 陽性 T 細胞の IFN- γ , IL-17, IL-10 産生を細胞内染色法を用いて FACS で解析した。その結果、B. breve を投与したマウスの大腸で IL-10 産生性 CD4 陽性 T 細胞の数が増加していることを見出した。次に BALB/c マウスに B. breve を毎日朝夕経口投与し、1, 2, 3, 4 週間後の大腸の IL-10 産生性 CD4 陽性 T 細胞の数を解析した。その

結果、B. breve 投与により3週間後よりIL-10産生性CD4陽性T細胞の数が有意に増加することが明らかになった。腸管におけるIL-10産生性CD4陽性T細胞は、Foxp3陽性制御性T細胞(Treg)とFoxp3陰性の制御性T細胞(Tr1)細胞に分類される。そこでどちらの集団が増加しているかを解析した。B. breve を投与したBALB/cマウスの大腸では、Foxp3陰性のIL-10産生細胞集団が有意に増加していた。Tr1細胞は、c-Maf, IL-21, Ahrを高発現している。そこで、大腸の樹状細胞をB. breve で刺激し、その後脾臓のナイーブT細胞と共培養した。5日の共培養によりT細胞はIL-10を高産生するようになった。このIL-10産生T細胞では、c-Maf, IL-21, Ahrを高発現していた。このことからB. breve は大腸のTr1細胞を選択的に増加させることが明らかになった。

次に、B. breve がどのようなメカニズムでTr1細胞分化を誘導するかを解析した。腸管の樹状細胞は大きくCX3CR1陽性樹状細胞とCD103陽性樹状細胞に分類される。この中でCD103陽性樹状細胞をB. breve で刺激すると、ナイーブT細胞のIL-10産生を極めて強く誘導した。Tr1細胞は、IL-10やIL-27刺激により分化が誘導されることが知られている。CD103陽性樹状細胞をB. breve で刺激すると、IL-10, IL-27のサブユニットEbi3, IL-27p28の発現が上昇した。そこで、IL-10ノックアウトマウス由来のCD103陽性樹状細胞をB. breve で刺激し、野生型マウスのナイーブT細胞と共培養したところ、T細胞からのIL-10産生は誘導されなかった。また、野生型マウスのCD103陽性樹状細胞をB. breve で刺激し、IL-27 receptor ノックアウトマウスのナイーブT細胞と共培養するとT細胞からのIL-10産生は誘導されなかった。この結果から、腸管のCD103陽性樹状細胞がB. breve 刺激によりIL-10, IL-27を産生し、Tr1細胞の分化を誘導することが明らかになった。次に、CD103陽性樹状細胞がB. breve により活性化される機構について解析した。TLR2欠損マウス由来のCD103陽性樹状細胞をB. breve で刺激し、野生型マウスのナイーブT細胞と共培養したところ、T細胞からのIL-10産生は誘導されなかった。このことから、CD103陽性樹状細胞は、TLR2依存性にB. breve を認識しTr1細胞分化を誘導することが明らかになった。

次に、B. breve によるTr1細胞分化誘導の腸管炎症制御における意義を解析した。SCIDマウスにナイーブT細胞を移入すると大腸炎が発症する。しかし、ナイーブT細胞移入後、B. breve を連日投与すると腸管炎症は優位に抑制された。しかし、移入するナイーブT細胞をIL-10ノックアウトマウス由来にすると、B. breve 投与による腸管炎症の改善は認められなかった。

D. 考察

プロバイオティクス細菌B. breve が、腸管CD103陽性樹状細胞に作用し、TLR2依存的なIL-10, IL-27の産生誘導を介して、IL-10産生性Tr1細胞の分化を大腸で誘導することが明らかになった。さらに、このIL-10産生性T細胞の誘導は腸管炎症の抑制において重要な役割を担っていることも明らかになった。種々のプロバイオティクス細菌が存在するが、その中でB. breve の作用機構を明らかにした。

E. 結論

B. breve が、大腸でIL-10産生性Tr1細胞の分化を誘導することにより腸管炎症を制御することを見出した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takata, K., Kinoshita, M., Okuno, T., Moriya, M., Kohda, T. Honorat. J.A., Sugimoto, T., Kumanogoh, A., Kayama, H., Takeda, K., Sakoda, S. and Nakatsuji, Y.: The lactic acid bacterium *Pediococcus acidilactici* suppresses autoimmune encephalomyelitis by inducing IL-10-producing regulatory T Cells. PLoS One 6, e27644, (2011).
- 2) Matsuda, A., Ogawa, M., Yanai, H., Naka, D., Goto, A., Ao, T., Tanno, Y., Takeda, K., Watanabe, Y., Honda, K., and Taniguchi, T.: Generation of mice deficient in RNA-binding motif protein 3 and characterization of its role in innate immune

- responses and cell growth. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 411, 7-13 (2011)
- 3) Yamamoto, M., Ma, J. S., Mueller, C., Kamiyama, N., Saiga, H., Kubo, E., Kimura, T., Okamoto, T., Okuyama, M., Kayama, H., Nagamune, K., Takashima, S., Matsuura, Y., Soldati-Farve, D. and Takeda, K.: ATF6b is a host cellular target of the *Toxoplasma gondii* virulence factor ROP18. *J. Exp. Med.* 208, 1533-1546 (2011).
- 4) Saiga, H., Shimada, Y. and Takeda, K.: Innate immune effectors in mycobacterial infection. *Clin. Dev. Immunol.* 2011, 347594 (2011).
- 5) Iwata-Kajihara, T., Sumimoto, H., Kawamura, N., Ueda, R., Takahashi, T., Mizuguchi, H., Miyagishi, M., Takeda, K. and Kawakami, Y.: Enhanced cancer immunotherapy using STAT3-depleted dendritic cells with high Th1-inducing ability and resistance to cancer cell-derived inhibitory factors. *J. Immunol.* 187, 27-36 (2011).
2. 学会発表
- 1) Kiyoshi Takeda, Hisako Kayama. Regulatory Mechanisms of Immune Responses to Intestinal Bacteria. Keystone Symposium 2012 年 3 月 4-8 日, Key Stone, USA
- 2) Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. The 4th Symposium of Immunological Self. 2012 年 1 月 27-28 日、京都
- 3) Kiyoshi Takeda, Hisako Kayama, A unique subset of intestinal myeloid cells suppress T cell-dependent intestinal inflammation. 第 40 回日本免疫学会学術集会 (国際シンポジウム) 2011 年 11 月 27-29 日、千葉
- 4) Kiyoshi Takeda, Hisako Kayama. Regulation of intestinal homeostasis by innate immunity. 日本食品免疫学会第 7 回学術大会、2011 年 10 月 18-19 日、東京
- 5) Kiyoshi Takeda. Regulation of intestinal homeostasis by innate immunity. The New Zealand Australian Society for Immunology Branch Meeting 2011, June 30-July 1, 2011. Wellington, New Zealand
- 6) 竹田 潔, 自然免疫と炎症性疾患. 第 48 回日本眼感染症学会、2011 年 7 月 8-10 日、京都
- 7) 竹田 潔, 自然免疫による腸管免疫の制御. 第 28 回日本医科学総会、2011 年 4 月 8-10 日、東京
- 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

腸管の慢性炎症における aberrant lymphocyte migration に対する
Autotaxin/Lisophospholipase D の関与と阻害効果

研究分担者 三浦 総一郎 防衛医科大学校内科学講座 教授

研究要旨： Crohn 病および潰瘍性大腸炎 (UC) にて当科受診中の患者で病変部粘膜のオートタキシン (ATX) の発現を内視鏡的活動性に分類して評価した。ATX の発現量は、内視鏡所見の活動性に相関して増加し、Crohn 病および UC との関連が示唆された。cell line を用い、オートタキシン (ATX) 阻害剤の有無による transmigration の変化につき解析を行った。ATX 阻害剤の投与により、transmigration は有意に抑制された。以上より、ATX が UC・Crohn 病の aberrant lymphocyte migration に関与する可能性が示唆された。

共同研究者：八月朔日秀明、穂苅量太

A. 研究目的

脂質メディエーターのひとつであるリゾフォスファチジン酸、およびその産生酵素であるオートタキシン (ATX) は、リンパ球の 2 次リンパ組織への migration への関与が報告されている。

一方、aberrant lymphocyte migration は炎症性腸疾患の主要な病態のひとつであり、その病変粘膜では静脈が HEV-like vessel に変化し、MAdCAM-1 などの接着分子が異所性に発現することが明らかになっている。以前我々は、UC・Crohn 病患者の病変粘膜において HEV-like vessel が形成され、ATX の発現が見られること、を当班会議にて報告しているが、今回はこれらに続き、cell line を用い、ATX の HEV-like vessel における migration への作用につき検討を行った。

B. 研究方法

Crohn 病もしくは UC にて当科受診中の患者さんで、通常内視鏡検査の際に活動性および非活動性の部位から生検採取し、ATX の組織中 mRNA 発現を Real Time PCR を用いて定量解析し内視鏡

所見と比較した。In vitro の実験として bEnd3 cell line を TNF- α で処置をし、HEV-like cell

化させた。これを Transwell assay の cell layer として用い、ATX 阻害剤の有無によるリンパ球の transmigration の変化につき解析を行った。

(倫理面への配慮)

十分なインフォームドコンセントを得た上で本研究に参加してもらうこととし、患者のプライバシー擁護には万全を期する。

C. 研究結果

ATX の発現量は、内視鏡所見の活動性に相関して増加した。TNF- α の処置により cell line の HEV-like cell 化に伴い ATX の発現が増加し、リンパ球の transmigration 数が増加した。ATX 阻害剤の投与により、transmigration は有意に抑制された。この上昇は、pertussis toxin により処理したリンパ球では低下した。

D. 考察

慢性炎症の環境下にある粘膜では、静脈が HEV-like vessel に変化し、MAdCAM-1 などの接着分子が異所性に発現するが、ここに ATX が発現しリンパ球 migration に関与するものと考えられる。

E. 結論

Crohn 病および UC における異常なリンパ球 migration に ATX 発現が関連しており、新たな

治療ターゲットとなる可能性があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsunaga H, Hokari R, Ueda T, Kurihara C, Hozumi H, Higashiyama M, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Nakamura M, Kawaguchi A, Nagao S, Sekiyama A, Miura S. Physiological stress exacerbates murine colitis by enhancing proinflammatory cytokine expression that is dependent on IL-18. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 301(3): G555-G564, 2011.09
- 2) Hokari R, Kurihara C, Nagata N, Aritake K, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Nakamura M, Kawaguchi A, Nagao S, Urade Y, Miura S. Increased expression of lipocalin-type-prostaglandin D synthase in ulcerative colitis and exacerbating role in murine colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 300(3): G401-G408, 2011.03
- 3) 高本俊介、三浦総一郎：炎症性腸疾患患者の管理の実際 高齢者、炎症性腸疾患を究める、渡辺 守編、メディカルビュー社、277-279, 2011.11
- 4) 三浦総一郎、高本俊介、渡辺知佳子、穂苺量太：高齢者潰瘍性大腸炎の内科治療 潰瘍性大腸炎診療の進展 II 内科治療、日本大腸肛門会誌 64:825-828, 2011.10
- 5) 安武優一、三浦総一郎：便秘、症状からアプローチするプライマリケア、日本医師会雑誌 140・特別号 2 号、日本医師会編、106-110, 2011.10
- 6) 安武優一、三浦総一郎：大腸、特集 消化器癌のサーベイランス、*The GI Forefront* 7:23-26, 2011.06
- 7) 東山正明、三浦総一郎：IL-17 を介したシグナル伝達、*分子消化器病学* 8:178-182, 2011.06
- 8) 安武優一、三浦総一郎：便秘-その診療アプローチ、日常診療でよくみる症状・病態-診断の指針・治療の指針-、*日本臨床増刊* 60:1180-1184, 2011.05
- 9) 東山正明、三浦総一郎：ランブル鞭毛虫、特集 消化管感染症の現況-最新の知見、診断のポイント、*臨床消化器内科臨時増刊号* 26:1011-1017, 2011.05
- 10) 八月朔田秀明、穂苺量太、三浦総一郎：蛋白漏出性胃腸症、リンパ浮腫のすべて、*光嶋勲編、永井書店*、69-74, 2011.04
- 11) 高本俊介、三浦総一郎：IBS の病態、*GI Research* 19:114-118, 2011.04
- 12) 佐藤伸悟、三浦総一郎：Glucagon-like peptide 2 (GLP-2) と小腸の消化・吸収、*日本消化器病学会雑誌* 108:564-574, 2011.04
- 13) 佐藤伸悟、穂苺量太、三浦総一郎：小腸のプログルカゴン由来ホルモン分泌における各種脂肪酸摂取の影響、*消化と吸収* 33:246-250, 2011.03
- 14) 東山正明、穂苺量太、八月朔日秀明、上田俊秀、栗原千枝、富田謙吾、中村光康、岡田義清、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎、合田亘人：T細胞特異的HIF-1欠損による消化管免疫の変化 *消化器と免疫* 47: 58-61, 2011. 03
- 15) 安武優一、三浦総一郎：ローマ基準の意義とその概要、*Modern Physician (モダンフィジシャン)* 31:289-291, 2011.03
- 16) 三浦総一郎、高本俊介、渡辺知佳子、穂苺量太、川口 淳：下部消化管疾患の治療ガイドラインと高齢者への適応、*日本高齢消化器病学会誌* 13:7-12, 2011.03
- 17) 小野寺大吾、三浦総一郎：慢性下痢、新臨床栄養学、岡田正、馬場忠雄、山城雄一郎編、*医学書院*、464-470, 2011.03
- 18) 穂苺量太、三浦総一郎：III 最近の話題 消化管の恒常性維持と病態解明、1。消化・吸収機能からのアプローチ、特集：小腸疾患：診断と治療の進歩、*日本内科学会雑誌* 100:126-132, 2011.01
- 19) 穂苺量太、三浦総一郎：どこまで必要？炎症性腸疾患の生活・食事指導、*消化器 Book2 炎*

症性腸疾患を日常診療で診る、日比紀文、久松理一企画、羊土社、159-162, 2011.01

- 20) 渡辺知佳子、三浦総一郎：腸疾患を有する患者の栄養管理、NSTガイドブック 2011、日本病態栄養学会編、メディカルレビュー社、173-179, 2011.01
- 21) 富田謙吾、三浦総一郎：胃・腸管切除後の栄養管理、NSTガイドブック 2011、日本病態栄養学会編、メディカルレビュー社、180-185, 2011.01
- 22) 三浦総一郎：腸管機能と栄養、病態栄養ガイドブック、メディカルレビュー社、24-28, 2011.01

2. 学会発表

- 1) Okada Y, Yoshikazu T, Hokari R, Kurihara C, Komoto S, Watanabe C, Nakamura M, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. A novel vegetable-derived Lactobacillus strain attenuates DSS induced colitis. In: Asian Pacific Digestive Disease Week 2011. Singapore, 2011.10.01-04
- 2) Sato S, Hokari R, Hozumi H, Ueda T, Higashiyama M, Okada Y, Kurihara C, Komoto S, Watanabe C, Nakamura M, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. The combination of dietary lipids and a sweetener creates a synergy on the intestinal glucagon-like peptide (GLP-2) secretion. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011.5.07-10
- 3) Hozumi H, Hokari R, Sato S, Ueda T, Higashiyama M, Okada Y, Kurihara C, Watanabe C, Komoto S, Nakamura M, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Increased expression of autotaxin/lysophospholipase D on intestinal vessels involves in aggravation of intestinal damage through lymphocytes migration. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011.5.07-10
- 4) Ueda T, Hokari R, Higashiyama M, Kurihara C, Okada Y, Hozumi H, Sato S, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Nakamura M, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Dietary fat aggravates NSAID-induced small intestinal damage via modulation of leukocyte migration in mice. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011.5.07-10
- 5) Higashiyama M, Hokari R, Hozumi H, Kurihara C, Ueda T, Watanabe C, Tomita K, Nakamura M, Komoto S, Okada Y, Kawaguchi A, Nagao S, Suematsu M, Goda N, Miura S. HIF-1 in T cells ameliorates intestinal inflammation by controlling regulatory T cell homeostasis. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011.5.07-10
- 6) Okada Y, Yoshikazu T, Higashiyama M, Ueda T, Hozumi H, Sato S, Hokari R, Kurihara C, Komoto S, Nakamura M, Watanabe C, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. A novel vegetable-derived prebiotics (VDP) modulates proinflammatory cytokines and substance P expression on colonic tissue and attenuated DSS-induced colitis. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011.5.07-10
- 7) Kurihara C, Hokari R, Higashiyama M, Ueda T, Hozumi H, Sato S, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Cytokine mRNA expression after exposure to fatty acids is differently modulated in macrophages from small intestine and colon. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011.5.07-10
- 8) Sato S, Hokari R, Hozumi H, Ueda T, Higashiyama M, Okada Y, Kurihara C, Watanabe C, Nakamura M, Wakabayashi K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Effect of different kind of dietary lipid on glucagon-like peptide-2 (GLP-2) concentration in intestinal lymph of rats. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011.5.07-10
- 9) 上田俊秀、穂苅量太、三浦総一郎：リコンビナント・リコモデュリンはマウス DSS 腸炎を改善する、第39回日本潰瘍学会、2011.11.18、つくば市。

- 10) 佐藤伸悟、穂苺量太、八月朔日秀明、上田俊秀、岡田義清、栗原千枝、渡辺知佳子、中村光康、富田謙吾、高本俊介、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : Glucagon-like peptide-2 分泌に与える甘味成分の影響について、第49回小腸研究会、東京、2011. 11. 12
- 11) 穂苺量太、渡辺知佳子、高本俊介、上田俊秀、八月朔日秀明、佐藤伸悟、栗原千枝、岡田義清、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : 精神的ストレスの大腸粘膜障害に与える影響、第13回日本神経消化器病学会、宇都宮、2011. 11. 04-06
- 12) 八月朔日秀明、穂苺量太、三浦総一郎 : 潰瘍性大腸炎および Crohn 病の aberrant lymphocyte migration に対する autotaxin の役割、第53回日本消化器病学会大会、第19回日本消化器病週間内合同企画 JDDW 2011 Fukuoka、ワークショップ: GALT 研究の最前線、福岡、2011. 10. 20-23
- 13) 上田俊秀、穂苺量太、三浦総一郎 : 自然発症小腸炎マウスモデルにおける ω 3 系多価不飽和脂肪酸の効果、第8回日本在宅静脈経腸栄養研究会学術集会、東京、2011. 10. 08
- 14) 佐藤伸悟、穂苺量太、八月朔日秀明、上田俊秀、岡田義清、栗原千枝、渡辺知佳子、中村光康、富田謙吾、高本俊介、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : 管腔内栄養素が glucagon-like peptide-2 分泌に与える影響について、第8回日本在宅静脈経腸栄養研究会学術集会、東京、2011. 10. 08
- 15) 穂苺量太、八月朔日秀明、渡辺知佳子、栗原千枝、上田俊秀、高本俊介、富田謙吾、中村光康、岡田義清、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : 炎症性腸疾患腸粘膜における白血球マイグレーション関連分子発現と内視鏡像、シンポジウム: IBD における内視鏡検査の有用性、第29回日本大腸検査学会総会、東京 2011. 09. 17-18
- 16) 八月朔日秀明、穂苺量太、佐藤伸悟、上田俊秀、東山正明、栗原千枝、岡田義清、渡辺知佳子、高本俊介、中村光康、富田謙吾、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : Autotaxin/lysophospholipase D の Crohn 病・潰瘍性大腸炎における aberrant lymphocyte migration への関与、第48回日本消化器免疫学会総会、金沢、2011. 07. 21-22
- 17) 八月朔日秀明、穂苺量太、三浦総一郎 : 炎症性腸疾患での異常リンパ球マイグレーションにおける autotaxin の役割、シンポジウム: 免疫細胞動態を制御する新たな機構、第35回日本リンパ学会総会、東京、2011. 06. 03-04
- 18) 栗原千枝、穂苺量太、東山正明、上田俊秀、八月朔日秀明、佐藤伸悟、岡田義清、渡辺知佳子、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : 腸管マクロファージにおける LPS 誘導サイトカイン mRNA 発現に関する liver X receptor の関与、ミニシンポジウム: 大腸 IBD 病態 1, 第97回日本消化器病学会総会、東京、2011. 05. 13-15
- 19) 上田俊秀、穂苺量太、東山正明、栗原千枝、岡田義清、八月朔日秀明、佐藤伸悟、渡辺知佳子、高本俊介、富田謙吾、中村光康、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : 脂肪摂取の小腸 NSAID 潰瘍における白血球マイグレーションへの影響について、ミニシンポジウム: 小腸粘膜障害、第97回日本消化器病学会総会、東京、2011. 05. 13-15
- 20) 岡田義清、都築義和、上田俊秀、東山正明、八月朔日秀明、佐藤伸悟、穂苺量太、栗原千枝、渡辺知佳子、中村光康、富田謙吾、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎 : 伝統的発酵食品中に存在するプロバイオティクスの大腸炎抑制作用、ミニシンポジウム: 大腸 IBD 病態 4, 第97回日本消化器病学会総会、東京、2011. 05. 13-15
- 21) 八月朔日秀明、穂苺量太、三浦総一郎 : 炎症性腸疾患における Autotaxin の関与、シンポジウム: 消化器疾患と微小循環・酸化ストレス、第97回日本消化器病学会総会、東京、2011. 05. 13-15
- 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

胆汁酸によるマクロファージ分化制御機構の解明

研究分担者 日比 紀文 慶應義塾大学医学部消化器内科 教授

研究要旨

細胞内シグナル伝達分子としての胆汁酸の機能に着目し、胆汁酸による免疫制御機構という新しい概念を打ち立てることを目的とする。ヒト単球は胆汁酸受容体 TGR5 を発現しているが樹状細胞やマクロファージ(M ϕ)に分化するに伴い発現が低下する。しかし M-CSF+IFN γ によって分化誘導させた炎症惹起性マクロファージ(M-IFN γ -M ϕ)において、胆汁酸受容体である TGR5 の発現は著明に保持されていた。この M-IFN γ -M ϕ はクローン病腸管粘膜固有層の CD14 陽性と M ϕ との類似性が判明している。同細胞におけるサイトカイン産生の検討では、Enterococcus faecalis 刺激下にて、TGR5 agonist を添加すると TNF- α の発現が抑制された。クローン病腸管粘膜固有層細胞での検討でも同様の結果が示された。胆汁酸が TGR5-cAMP を介した免疫抑制に作用することが想起され、今後、炎症性腸疾患における治療への応用が期待できる。

共同研究者

久松理一¹、市川理子¹、松岡克善¹、佐藤俊朗¹、矢島知治¹、井上 詠²、金井隆典¹、緒方晴彦²、岩男 泰³、日比紀文¹

慶應義塾大学消化器内科¹

同 内視鏡センター²

同 予防医療センター (仮称) 開設準備室³

A. 研究目的

胆汁酸は単なる脂質の代謝産物ではなく、細胞内シグナル伝達に働くことが近年判明している。シグナル伝達は細胞の機能や分化の制御に重要だが、胆汁酸の免疫担当細胞への作用はあまり明らかではない。胆汁酸は腸肝循環で95%は生体内に保存されるが、消化管や肝臓で何らかの免疫応答を惹起するものと想起される。

胆汁酸の受容体では FXR や TGR5 が同定されているが、特に TGR5 はシグナル伝達物質として多様な作用があり、褐色脂肪組織にて cAMP を介して type 2 iodothyronine deiodonase を活性化させ、エネルギー消費を誘導する (Watanabe M, et al. 2006 Nature) ことや、ヒトやウサギの単球/マクロファージに TGR5 は高発現しており、LPS 刺激下のウサギ肺胞マクロファージにおいて、胆汁

酸による TNF- α 産生抑制作用があることが報告されている (Kawamata Y, et al. 2003. JBC)。

本研究は胆汁酸の腸管免疫に与える影響を検討し、胆汁酸による炎症性腸疾患への治療応用を検討する。

B. 研究方法

1. ヒト末梢血単核球細胞での TGR5 定量の検討

健康人末梢血より CD14 陽性単球を単離し、M-CSF、GM-CSF、IL-4、IFN γ 等の各サイトカイン刺激下で樹状細胞、あるいはマクロファージに分化誘導させる。その後、rt-PCR 法にて TGR5 の発現を評価する。

2. TGR5-cAMP 系を介したサイトカイン制御の検討

分化誘導させた細胞に対し、Enterococcus faecalis 刺激下で TGR5 agonist、あるいは cAMP を添加する。24 時間後に上清を回収し、サイトカインアッセイを行う。同様に、クローン病の手術検体を用いて、腸管粘膜固有層における単核球細胞でも検討する。

(倫理面への配慮)

健康人および炎症性腸疾患患者由来検体の使用に関

し、慶應義塾大学医学部倫理委員会の指針に従い、インフォームドコンセントに基づき同意を得て行う。患者個人情報の取扱いには十分に注意する。検体は番号等で匿名化し、第3者に個人情報が伝わらないように取り扱う。

C. 研究結果

1. 単球系細胞では分化誘導に伴い TGR5 の発現は速やかに低下するが、IFN γ 存在下では維持される。

CD14 陽性単球に比し、M-CSF 群、GM-CSF 群、GM-CSF+IL-4 群は day 1 の段階で TGR5 の発現が有意に減少したが、M-CSF+IFN γ 群 (M-IFN γ -M ϕ) では発現が保持されていた。Day 6 においても同様の結果であった。またこの細胞群において、TGR5 の発現は IFN γ 濃度依存性に維持されていた。

2. TGR5-cAMP 系により M-IFN γ -M ϕ の TNF- α 発現は抑制される。

ヒト末梢血より day 6 まで分化誘導させた M-IFN γ -M ϕ において、Enterococcus faecalis 刺激下で TGR5 agonist、あるいは cAMP を添加して、24 時間後の TNF- α の発現量を上清から定量したところ、TGR5 agonist/cAMP 添加群において有意に減少していた。

3. クロウン病における腸管粘膜固有層単核球の TNF- α 発現は TGR5-cAMP 系を介し抑制される。

クロウン病患者の手術検体より腸管粘膜固有層単核球を単離し、2. と同様に Enterococcus faecalis 刺激下で TGR5 agonist を添加したところ、24 時間刺激後の上清において TNF- α の発現は低下した。

D. 考察

我々は以前、ヒト末梢血より単離した CD14 陽性単球を分化誘導させる際、M-CSF で誘導した炎症抑制性 M ϕ と比し、M-CSF と IFN γ で誘導した M-IFN γ -M ϕ は IL23 や IL12p40 といった炎症性サイトカインの産生能が高く、かつクロウン病腸管粘膜に浸潤している CD14 陽性 M ϕ と類似した細胞表面マーカーの発現を示すことを報

告している (Kamada N, Hisamatsu T, Hibi T et al. 2008. JCI)。本研究ではクロウン病腸管粘膜固有層単球と類似した M-IFN γ -M ϕ において TGR5 の発現が未分化な単球と同様に維持されており、その agonist の投与によって TNF- α の発現が抑制されたことから、クロウン病での胆汁酸投与による治療への応用が予想される。生体内における胆汁酸は多様にあり、今後、どの胆汁酸が M-IFN γ -M ϕ において炎症抑制作用をもたらすのかを詳細に解析、また、in vivo として TGR5KO 等のモデルマウスによる検討をする必要があろう。

ヒト樹状細胞の検討では、胆汁酸 (Taurochenodeoxy cholic acid) によって IL-12 低産生性樹状細胞が分化誘導されることを当研究室で見出しており (Ichikawa R, et al. 2012. Immunology, in press)、今後 M ϕ を含めた自然免疫系における胆汁酸による腸管免疫制御機構という新しい概念をうち立てることが期待できよう。

E. 結語

TGR5-cAMP 系は M-IFN γ -M ϕ において炎症抑制作用があることを見出した。胆汁酸による腸管免疫制御機構の解明は、炎症性腸疾患において、新たな治療戦略となり得る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

未発表

2. 学会発表

未発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし