

D. 考察

小児 IBD 患者の腸内細菌叢の変化は成人患者と同様の傾向であった。IBD 患者の腸内細菌叢は小児期にすでに変化しており、免疫学的背景の違い等から発症時期や臨床像が異なると推察された。*Clostridium cluster IV* には抗炎症作用を有する菌種が含まれ、その減少は腸炎の増悪に関与している可能性がある。

E. 結論

小児 IBD 患者でも成人と同様の腸内細菌叢の変化が認められる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Andoh A, Imaeda H, Aomatsu T, Inatomi O, Bamba S, Sasaki M, Saito Y, Tsujikawa T, Fujiyama Y: Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. J. Gastroenterol.

46(4): 479-486, 2011

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

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

抗インフリキシマブ抗体測定法の問題点と新たな測定法の開発

研究分担者 藤山 佳秀 滋賀医科大学消化器内科 教授

研究要旨： 血清中抗インフリキシマブ抗体の測定法を新規開発し、従来法と比較してその有用性について検討を行った。また、血清中抗インフリキシマブ抗体濃度が疾患活動性と相関していることを明らかとし、インフリキシマブによるクローン病治療において有用であることを明らかとした。

共同研究者

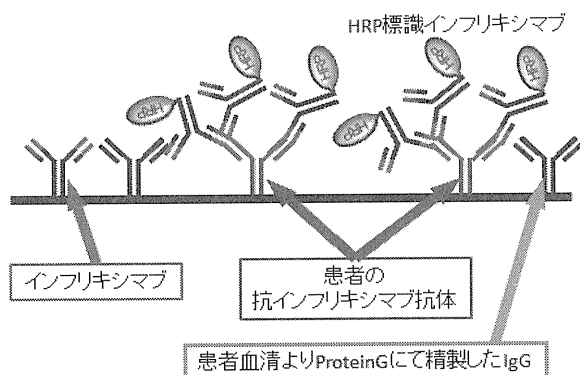
安藤朗（滋賀医大大学院消化器免疫分野）
今枝広丞（滋賀医科大学消化器内科）

A. 研究目的

インフリキシマブ投与中のクローン病患者において、新規開発した方法と従来法にて抗インフリキシマブ抗体の出現頻度調査し、疾患活動性との相関について検討するとともに疾患活動性マーカーとしての有用性について明らかとすることを目的とした。

B. 研究方法

インフリキシマブの投与を行った炎症性腸疾患 68 症例における抗インフリキシマブ抗体の出現率を新規開発した方法（下図）と従来法にて測定した。

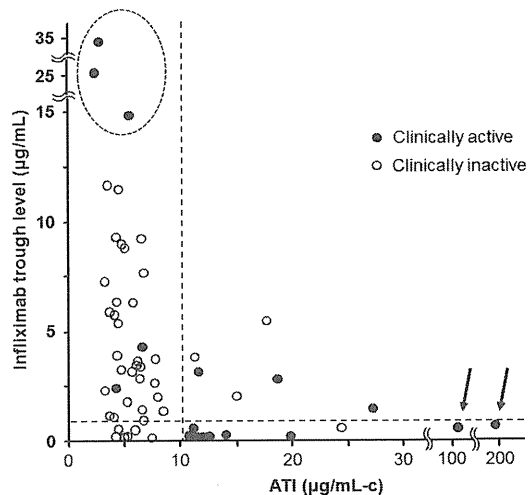


（倫理面への配慮）

本研究は滋賀医科大学倫理委員会にて審査を受け、承認を得ている。

C. 研究結果

従来法では抗インフリキシマブ抗体陽性者は 2 人であったのに対し新規開発した方法では 10 人であった。これら抗体陽性患者は陰性患者と比較して有意にインフリキシマブ・トラフ値は低値であり、CDAI、CRP、赤沈値は高値であった。



D. 考察

抗インフリキシマブ抗体新規測定法は従来法と比較して感度が高く、疾患活動をよく反映していると考えられる。

E. 結論

抗インフリキシマブ抗体濃度はクローン病の疾患活動性を反映し、インフリキシマブの効果判定に有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hirotsugu Imaeda, Akira Andoh, Yoshihide Fujiyama. Development of a new immunoassay for the accurate determination of anti-infliximab antibodies in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.* in press

2. 学会発表

今枝広丞, 安藤朗, 馬場重樹, 大崎理英, 青松友槻, 塩谷淳, 稲富理, 佐々木雅也, 齋藤康晴, 辻川知之, 藤山佳秀. 炎症性腸疾患患者における抗インフリキシマブ抗体の出現と治療効果・アダリムマブへの変更について. JDDW 2011. 福岡国際会議場. 平成 23 年 10 月 21 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

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

新規乳酸菌由来の活性物質の同定と腸炎モデル動物による前臨床試験

研究分担者 高後 裕 旭川医科大学内科学講座 消化器・血液腫瘍制御内科学分野 教授

研究要旨:プロバイオティクス由来の活性物質を新規治療法として用いることを目的として、本年度は(1)新規乳酸菌由来の腸管保護活性物質の同定, (2)マウス慢性炎症モデルを用いた前臨床試験によるこの活性物質の治療効果の解明, に関する研究を行った。その結果、①新規乳酸菌SB88の培養上清から腸管保護活性物質であるポリリン酸を同定に成功し、②マウス腸炎モデルにより、このポリリン酸が炎症関連サイトカインおよび炎症関連シグナルを制御し、強力な抗炎症作用を持つことが証明された。今後ヒト臨床試験を経て、この新規乳酸菌SB88および菌由来活性物質ポリリン酸を用いた新規炎症性腸疾患治療法の臨床応用を目指していく。

共同研究者

○藤谷幹浩¹、上野伸展¹、稲場勇平¹、岡本耕太郎¹、盛一健太郎¹、田邊裕貴¹、前本篤男^{2,3}、蘆田知史^{2,3} (旭川医科大学内科学講座消化器・血液腫瘍制御内科学分野¹、旭川医科大学消化管再生修復医学講座²、札幌東徳州会病院 IBD センター³)

A. 研究目的

プロバイオティクスは、感染性腸炎、抗生剤起因性腸炎、小児壊死性腸炎、炎症性腸疾患などへの治療応用が試みられているが、その効果は報告によって異なり一定の見解は得られていない。これは、プロバイオティクスによる腸管保護作用や抗炎症作用の機序については不明な点が多いため、各疾患の病態や個々の腸内環境に適した治療を、科学的根拠にもとづいて選択することが困難であったことに起因と考えられる。

我々は、プロバイオティクスであるバシラス菌の培養上清から腸管保護活性物質である、competence and sporulation factor (CSF)の同定に成功し、炎症性腸疾患に対する新規治療開発への応用を試みてきた。その成果として、急性腸管炎症モデルにおけるCSFの治療効果について明らかにしてきた¹⁾⁻³⁾。さらに、新規乳酸菌SB88にも強い腸管保護作用、抗炎症作用があることを明らかにし、その作用を仲介する何らかの菌由来活性物質の存在が示唆された⁴⁾。本年度の研究目的は、麦芽乳酸菌の腸管保護作用を仲介する活性物質を

同定し、その作用を解析するとともに、炎症性腸疾患治療への応用を目指した前臨床試験として、マウス腸炎モデルに対する治療効果を明らかにすることとした。

B. 研究方法

1. 新規乳酸菌 SB88 由来の腸管保護活性物質の同定

新規乳酸菌 SB88 培養上清を硫酸分画および各種カラムを用いて分離し、各分画を用いて Caco2/bbe 細胞における細胞防御蛋白 Heat shock protein (Hsp) 27 の誘導能を調べる。誘導能を持つ分画を反復して絞り込み、質量分析器、糖鎖分析、成分解析により活性物質の構造を決定する。

2. 新規乳酸菌の活性物質による腸管保護作用の検討

マウス摘出腸管に新規乳酸菌の活性物質を2時間反応させた後、腸管内腔に³H標識マンニトールおよびモノアミンを封入して酸化ストレス下に置く。15分、30分後に腸管外に漏出したアイソトープの量からマンニトール漏出量を算出した。

3. マウス慢性腸炎モデル

6週齢のC57Bl/6マウス(Sankyo Labo service Co, Japan)に3% DSSをday 1から5まで自由飲水させた後、day 6以降は蒸留水を自由飲水させ、慢性腸炎モデルマウスを作成した。

4. ポリリン酸の投与方法および検討項目

慢性腸炎モデルマウスを、①day 1より蒸留水のみを飲水させたcontrol群、②何も治療を行わ

ないDSS群, ③day 25 から 34 までの 10 日間連日 PBS を注腸投与する PBS 注腸群, ④day25 から 34 までの 10 日間連日 100mg/ml のポリリン酸を注腸投与するポリリン酸注腸群の 4 群(各群 n=5)に分け, day 35 にマウス大腸を摘出後, 腸管粘膜を回収し, 一部をホルマリン固定後, 残りのサンプルからタンパク・RNA を抽出した. 検討項目は腸管長, 組織学的所見(Berg's histological Score⁵⁾), heat shock protein 発現(HSP 25, HSP 70; Western blotting)およびNF- κ B のリン酸化(Western blotting), 炎症関連サイトカイン発現(TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, IL-1 β , IL-4, IL-10; real time PCR 法)とした.

C. 研究結果

(1) 新規乳酸菌SB88由来の腸管保護活性物質の同定

新規乳酸菌の培養上清を硫酸にて分離し, Hsp誘導能を持つ分画を得た(図1). この分画をDEAE陰イオンカラムにて繰り返し分離し, さらにゲル濾過カラムを用いて分離した結果, 活性物質を含むと考えられるペレットが得られた(図2). このペレットはHPLCにて3つのピークを示し, それぞれの分画にHsp誘導能があった(図3). そのうち最も誘導能強く鋭いピークを示した分画について質量分析, 糖鎖解析の結果, ペプチドおよび糖鎖を主成分とする物質は存在しなかった. 成分解析を行った結果, この分画はリンおよび酸素が大半を占め, 活性物質はポリリン酸であることが判明した.

図1 硫酸分画

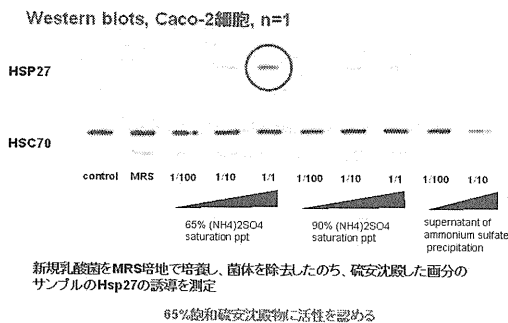


図2 Hsp誘導能を持つ分画の絞り込み

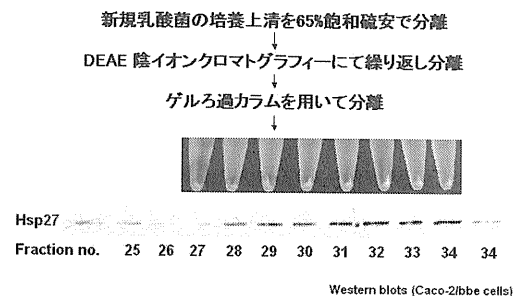
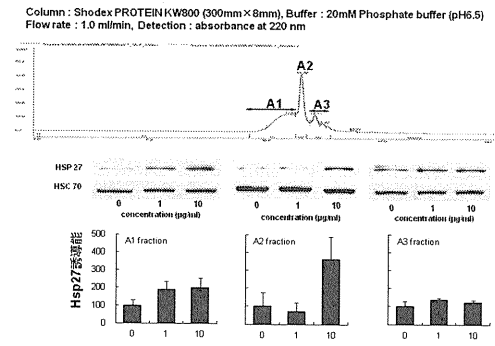


図3 活性成分を含む成分のHPLC解析



乳酸菌にはアデノシン三リン酸からポリリン酸を合成するpolyphosphate kinase (PPK)が発現している. そこで, この酵素を用いて化学的にポリリン酸を合成し, その生理活性を検討した結果, この合成ポリリン酸は腸管上皮にHsp27を誘導し(図4), 腸管上皮のバリア機能を著しく増強した(図5).

図4 ポリリン酸によるHsp27の誘導(western blotting)

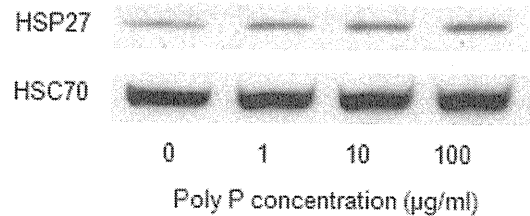
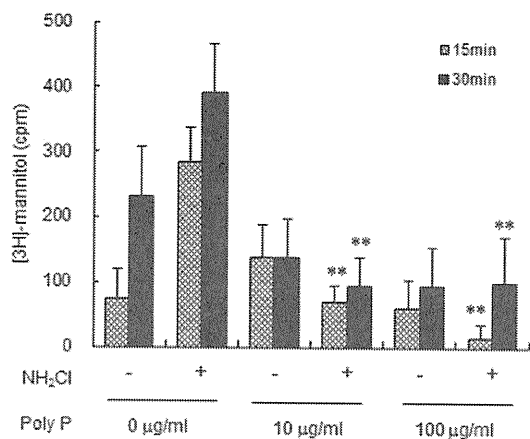


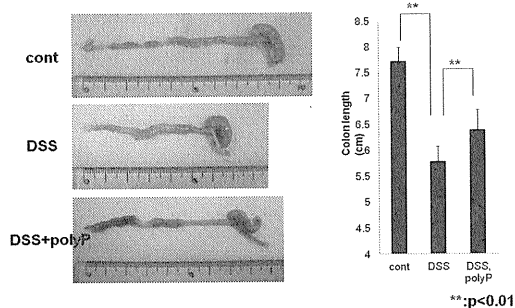
図5 ポリリン酸による細胞バリア機能の増強(Mannitol flux)



(2) ポリリン酸による肉眼的, 組織学的炎症所見の改善効果

慢性腸炎モデルにおいて, 腸管長は短縮していた. この腸管長の短縮は, ポリリン酸の投与によって有意に改善した. 組織学的炎症の重症度についても同様にポリリン酸投与群で有意に改善していた(図6).

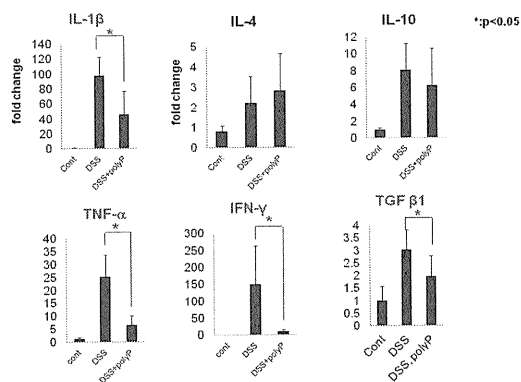
図6 慢性腸炎モデルにおけるポリリン酸の肉眼的、組織学的炎症所見の改善効果



(3) ポリリン酸による炎症関連サイトカインの制御

Real-time PCRにて慢性炎症マウスモデルの腸管における炎症関連サイトカインの発現を検討した。ポリリン酸は、炎症腸管で過剰に発現している、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ およびTGF- β を抑制した(図7)。

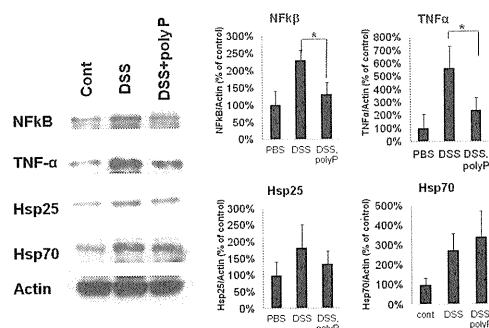
図7 ポリリン酸による炎症関連サイトカインの制御



(4) ポリリン酸によるNF- κ Bシグナルの制御

Western blottingにて、慢性炎症マウスモデルの腸管におけるNF- κ Bのリン酸化について検討した。ポリリン酸は、炎症腸管で過剰にリン酸化されているNF- κ Bの活性を抑制した。一方、heat shock protein 25および72の発現に影響は与えなかった(図8)。

図8 ポリリン酸によるNF- κ Bシグナルの制御



D. 考察

今回の検討の結果から、新規乳酸菌 SB88 の腸管保護作用を仲介する菌由来活性物質がポリリン酸であることを明らかにした。このポリリン酸は、腸管上皮に細胞防御蛋白である Hsp を誘導し、細胞間バリア機能を著しく増強した。また、慢性腸炎モデルを用いた前臨床試験の結果、ポリリン酸は組織学的炎症の程度を有意に改善し、炎症関連サイトカインやNF- κ Bの過剰な活性化を制御することが明らかになった。さらに、線維化を促進する細胞シグナル伝達因子TGF- β 1の過剰発現をも制御することから、炎症性腸疾患に起因する腸管の線維化・狭窄に対する治療効果も示唆された。これらの研究成果は、乳酸菌の腸管保護作用、抗炎症作用のメカニズムを明らかにしたものであり、科学的根拠にもとづいた新しいプロバイオティクス治療の開発を強く後押しするものである。

また、乳酸菌由来の活性物質を同定した事により、いまでの生菌の治療では難しかった、菌活性のクオリティーコントロールや投与量の微調整が可能となる。これによって、経験的に菌種や投与量の選択が行われていた、従来の治療方法とは異なり、各疾患の病態や個々の症例の腸内環境に合わせた、きめ細やかなプロバイオティクス治療の開発が期待される。

本研究成果をもとに、ヒト臨床試験を計画しており、新規乳酸菌 SB88 およびその活性物質を用いた、新規炎症性腸疾患法の臨床応用を目指していく。

E. 結論

新規乳酸菌 SB88 の培養上清から腸管保護活性物質であるポリリン酸を同定した。マウス腸炎モデルにより、このポリリン酸が強力な腸管保護作用、抗炎症作用を持つことが証明された。今後ヒト臨床試験を経て、この新規乳酸菌 SB88 および菌由来活性物質ポリリン酸を用いた新規炎症性腸疾患治療法の臨床応用を目指していく。

引用文献

1. Fujiya, Kohgo, *Cell H&M*, 2007
2. Fujiya, Kohgo, *IBD*, 2011
3. Okamoto, Fujiya, Kohgo, *Int J Colorectal Dis*, (in press)
4. Ueno, Fujiya, Kohgo, *IBD*, 2011
5. Berg DJ, et al. *J Clin Invest*, 1996

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okamoto K, Fujiya M, Nata T, Ueno N, Inaba Y, Ishikawa C, Ito T, Moriichi K, Tanabe H, Mizukami Y, Chang EB, Kohgo Y. Competence and sporulation factor derived from *Bacillus subtilis* improves epithelial cell injury in intestinal inflammation via immunomodulation and cytoprotection. *Int J Colorectal Diseases* (in press)
2. Tanaka H, Li Z, Ikuta K, Addo L, Akutsu H, Nakamura M, Sasaki K, Ohtake T, Fujiya M, Torimoto Y, Glass J, Kohgo Y. Iron Uptake Facilitator LS081 Induces The Degradation of Hypoxia Inducible Factor-1 and Functions as Anti-Cancer Agent in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Science* (in press)
3. Ando K, Fujiya M, Ito T, Sugiyama R, Nata T, Nomura Y, Ueno N, Kashima S, Ishikawa C, Inaba Y, Moriichi K, Okamoto K, Ikuta K, Tanabe H, Tokusashi Y, Miyokawa N, Watari J, Mizukami Y, Kohgo Y. A pseudosarcomatous lesion resembling a malignant tumor of the esophagocardiac junction diagnosed by a total biopsy with endoscopic surgery. *Endoscopy* (in press)
4. Moriichi K, Fujiya M, Sato R, Nata T, Nomura Y, Ueno N, Ishikawa C, Inaba Y, Ito T, Okamoto K, Tanabe H, Mizukami Y, Watari J, Saitoh Y, Kohgo Y. Autofluorescence imaging and the quantitative intensity of fluorescence for evaluating the dysplastic grade of colonic neoplasms. *Int J Colorectal Diseases* (in press)
5. Watari J, Moriichi K, Tanabe H, Kashima S, Nomura Y, Fujiya M, Tomita T, Oshima T, Fukui H, Miwa H, Das KM, Kohgo Y. Biomarkers predicting development of metachronous after endoscopic resection: an analysis of molecular pathology of *Helicobacter pylori* eradication. *Int J Cancer* (in press)
6. Muto M, Sato R, Fujiya M, Tanaka K, Serikawa S, Hayashi A, Konno Y, Sakamoto J, Nishikawa T, Oikawa K, Ueno N, Ikuta K, Mizukami Y, Tanno S, Watari J, Kohgo Y. Pseudo-diverticular formation due to a cytomegalovirus infection in the colorectum. *Digestive Endoscopy* (in press)
7. Tanabe H, Fujiya M, Kohgo Y. Trypsin acts as an activating enzyme in gut innate immunity, *Trypsin: Structure, Biosynthesis and Functions*. (in press)
8. Takahashi N, Yoshizaki T, Hiranaka N, Suzuki T, Yui T, Akanuma M, Oka K, Kanazawa K, Yoshida M, Naito S, Fujiya M, Kohgo Y, Ieko M. Suppression of lipin-1 expression increases monocyte chemoattractant protein-1 expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 11;415(1):200-5, 2011.
9. Ikuta K, Fujiya M, Hatayama M, Ueno N, Moriichi K, Torimoto Y, Kohgo Y. Recurrent lesion of mantle cell lymphoma in the sigmoid colon detected by endoscopic autofluorescence imaging. *Endoscopy* 43: S2:E330-1, 2011.
10. Ikuta K, Ito S, Tanaka H, Sasaki K, Torimoto Y, Fujiya M, Kohgo Y. Interference of deferasirox with assays for serum iron and serum unsaturated iron binding capacity during iron chelating therapy. *Clin Chim Acta* 20;412(23-24):2261-6, 2011.
11. Ueno N, Fujiya M, Segawa S, Nata T, Moriichi K, Tanabe H, Mizukami Y, Kobayashi N, Ito K, Kohgo Y. Heat-killed body of *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function. *Inflammatory Bowel Diseases* 17(11):2235-50, 2011.
12. Sato R, Fujiya M, Watari J, Ueno N, Moriichi K, Kashima S, Maeda S, Ando K, Kawabata H, Sugiyama R, Nomura Y, Nata T, Itabashi K, Inaba Y, Okamoto K, Mizukami Y, Saitoh Y, Kohgo Y. The diagnostic accuracy of high-resolution endoscopy,

- autofluorescence imaging and narrow-band imaging for differentially diagnosing colon adenoma. *Endoscopy* 43(10):862-8, 2011.
13. Watari J, Morita T, Sakurai J, Yamasaki T, Okugawa T, Toyoshima F, Kondo T, Tanaka J, Tomita T, Kim Y, Oshima T, Fukui H, Hori K, Moriichi K, Tanabe H, Fujiya M, Kohgo Y, Oku J, Matsumoto T, Miwa H. Endoscopically treated Cronkhite-Canada syndrome associated with minute intramucosal gastric cancer: an analysis of molecular pathology. *Digestive Endoscopy* 23(4):319-23, 2011.
 14. Kashima S, Nata T, Fujiya M, Moriichi K, Nomura Y, Ueno N, Itabashi K, Ishikawa C, Inaba Y, Ito T, Okamoto K, Mizukami Y, Ebisawa Y, Chisato N, Kono T, Tokusashi Y, Miyokawa N, Yamada M, and Kohgo Y. Obscure gastrointestinal bleeding from vascular lesions formed by venous and lymphatic congestion due to post-operative adhesion and subsequent mesenteric torsion 50 years after appendectomy. *Gut* 60 (10):1344, 2011.
 15. Sasaki K, Ikuta K, Tanaka H, Ohtake T, Torimoto Y, Fujiya M, Kohgo Y. Improved quantification for non-transferrin-bound iron measurement using high-performance liquid chromatography by reducing iron contamination. *Mol Med Reports* 4(5):913-8, 2011.
 16. Segawa S, Fujiya M, Konishi H, Ueno N, Kobayashi N, Shigyo T, Kohgo Y. Probiotic-derived polyphosphate enhances the epithelial barrier function and maintains intestinal homeostasis through integrin-p38 MAPK pathway. *PLoS One* 6 (8): e23278, 2011.
 17. Takahashi N, Nagamine M, Fukuda M, Motomura W, Abiko A, Haneda M, Fujiya M, Ieko M, Kohgo Y. Octreotide-treated diabetes accompanied by endogenous hyperinsulinemic hypoglycemia and protein-losing gastroenteropathy. *Case Reports in Medicine* vol. 2011, Article ID 381203, 8 pages, 2011.
 18. Ueno N, Fujiya M, Moriichi K, Ikuta K, Nata R, Okamoto K, Tanabe H, Maemoto A, Sato K, Watari J, Ashida T, Saitoh Y, Kohgo Y. Endoscopic auto-fluorescence imaging is useful for the differential diagnosis of intestinal lymphomas resembling lymphoid hyperplasia. *J Clin Gastroenterol* 45(6):507-13, 2011.
 19. Ando K, Fujiya M, Sugiyama R, Nata T, Nomura Y, Ueno N, Kashima S, Ishikawa C, Ito T, Inaba Y, Moriichi K, Okamoto K, Ikuta K, Watari J, Mizukami Y, Kohgo Y. Atypical tumour-like involvement of the colon in Henoch-Schönlein purpura successfully treated with the administration of factor XIII. *BMJ Case Reports* 2011; doi:10.1136/bcr.08.2010.3251 (online publication)
 20. Kono T, Ashida T, Ebisawa Y, Chisato N, Okamoto K, Katsuno H, Maeda K, Fujiya M, Kohgo Y, Furukawa H. A New Antimesenteric Functional End-to-End Handsewn Anastomosis: Surgical Prevention of Anastomotic Recurrence in Crohn's Disease. *Dis Colon Rectum* 54(5):586-92, 2011.
 21. Fujiya M, Inaba Y, Musch MW, Hu S, Kohgo Y, Chang EB. Cytokine Regulation of OCTN2 Expression and Activity in Small and Large Intestine. *Inflammatory Bowel Diseases* 17(4):907-16, 2011.
 22. Sawada K, Ikuta K, Itabashi K, Suzuki Y, Mizukami Y, Fujiya M, Kubo K, Tamura Y, Torimoto Y, Kohgo Y. An unusual elevated lesion of the esophagus. *Gut* 60(4):441, 2011.
 23. Ando K, Fujiya M, Ito T, Sugiyama R, Nata T, Nomura Y, Ueno N, Kashima S, Ishikawa C, Inaba Y, Moriichi K, Okamoto K, Ikuta K, Tokusashi Y, Miyokawa N, Watari J, Mizukami Y, Kohgo Y. Atypical tumor-like involvement of the colon in secondary systemic amyloidosis which vanished after one month of observation. *BMJ Case Reports* 2011; doi:10.1136/bcr.01.2011.3775 (online publication)
 24. Ohnishi K, Torimoto Y, Ikuta K, Tanaka H, Hosoki T, Tanaka S, Hamano A, Sato K, Fujiya

- M, Sasaki K, Kohgo Y. Detection of soluble HFE associated with soluble transferrin receptor in human serum. *Int J Mol Med* 27(3):435-9, 2011.
25. Sato K, Torimoto Y, Hosoki T, Ikuta K, Takahashi H, Yamamoto M, Ito S, Okamura N, Ichiki K, Tanaka H, Shindo M, Hirai K, Mizukami Y, Otake T, Fujiya M, Sasaki K, Kohgo Y. Loss of ABCB7 gene: pathogenesis of mitochondrial iron accumulation in erythroblasts in refractory anemia with ringed sideroblast with isodicentric (X)(q13). *Int J Hematol* 93(3):311-8, 2011.
 26. Satoh T, Sawada K, Satoh M, Yohko K, Yamada M, Zaitsumi M, Osada T, Sawaya R, Nata T, Ueno N, Moriichi K, Ikuta K, Mizukami Y, Watari J, Fujiya M, Kohgo Y. Small intestinal intussusceptions due to the placement of a percutaneous endoscopic jejunostomy tube. *BMJ Case Reports* 2011; doi:10.1136/bcr.07.2010.3169 (online publication)
 27. Sawada K, Ohtake T, Ueno N, Ishikawa C, Abe M, Miyoshi S, Suzuki Y, Tokusashi Y, Fujiya M, Kohgo Y. Multiple portal hypertensive polyps of the jejunum accompanied by anemia of unknown origin. *Gastrointest Endosc* 73(1):179-82, 2011.
2. 学会発表
 1. Inaba Y, Fujiya M, Musch MW, Boone DL, Kohgo Y, Chang EB. Activation of Intestinal Epithelial Autophagy as a Potential and Novel Mechanism of Probiotic Action in the Gut. DDW 2011 (AGA), Chicago, 2011.05.10.
 2. Sugiyama Y, Mizukami Y, Kawamoto T, Sasajima J, Koizumi K, Nomura Y, Moriichi K, Fujiya M, Karasaki H, Kono T, Bardeesy N, Chung DC, and Kohgo Y. The paracrine effect of hedgehog on bone marrow-derived stromal cells occurs at later stages of pancreatic tumorigenesis. DDW 2011 (AGA), Chicago, 2011.05.10.
 3. Nata T, Fujiya M, Ueno N, Inaba Y, Moriichi K, Mizukami Y, Sato K, Kohgo Y. microRNA-146b activates the NF- κ B pathway and improves intestinal injury in a mouse enteritis model. DDW 2011 (AGA), Chicago, 2011.05.08.
 4. Segawa S, Fujiya M, Konishi H, Ueno N, Kobayashi N, Shigyo T, Kohgo Y. Lactobacillus brevis Culture Supernatant Induces Cytoprotective Small Heat Shock Protein HSP27 and Increase Intestinal Barrier Function by Activating the p38 MAPK Pathway. 15th International Congress of Mucosal Immunology (ICMI 2011), Paris, 2011.07.05.
 5. Inaba Y, Fujiya M, Ueno N, Chang EB, Kohgo Y. The novel host-probiotics interaction through activation of intestinal epithelial autophagy. The 5th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium. Tokyo, 2012.01.28.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
 - W02009/093447 「消化器癌に対する抗腫瘍剤」
 - 特開 2010-083881、PCT/JP2009/000207 「腸管保護剤」
 - 特願 2010-089469、PCT/JP2011/057689 「腸管保護剤」(出願中)
 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

う蝕病原性口腔細菌（虫歯菌）*S. mutans* による炎症性腸疾患増悪の可能性とそのメカニズム・症例対照研究

研究協力者 中島 淳 横浜市立大学 教授

研究要旨：近年、う蝕病原性口腔細菌と全身疾患の関連が指摘されている。我々は、動物モデルを用いてう蝕病原性口腔内細菌が腸炎の増悪に関与していることを示し、また潰瘍性大腸炎患者の症例対照研究により潰瘍性大腸炎患者は有意に高病原性の口腔内細菌を有していることを示した。

A. 研究目的

近年、口腔細菌と様々な全身疾患との関連が指摘されている。う蝕の主要な病原性細菌である *Streptococcus mutans* (以下 *S. mutans*) も時として菌血症、および感染性心内膜炎を引き起こす場合があることが知られている。しかしながらその他の全身疾患に及ぼす影響についてまだ不明な点が多い。

一方、我々は *S. mutans* 菌株の中に、標準株とは異なる高病原性株が存在することを見出している。

腸炎モデルマウスにおける基礎研究では高病原性株を経口投与しても腸炎を増悪させることはなかったが、経静脈投与すると増悪したため、高病原性株の *S. mutans* が血中へ侵入することにより炎症の増悪が起きるメカニズムが考えられている。

本研究では、高病原性の *S. mutans* 菌株が、潰瘍性大腸炎の発症・悪化に関与する可能性について、ヒト唾液サンプルを用いて検討した。

B. 研究方法

健常ボランティア 829 例を対照群とし、潰瘍性大腸炎 (UC) 患者 115 例からそれぞれ唾液サンプル (約 0.1-0.3 ml) を採取し、*S. mutans* の菌株の単離と同定を行った。

S. mutans の菌株は日本人小児口腔から分離された株 (標準株) である MT8148 株 (血清型 *c*) と抜歯後菌血症患者の血液から分離された株 (高病原性株) TW295 株 (血清型 *k*) に分類し評価を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、横浜市立大学附属病院および協力病院で倫理委員会の承認後に実施している。

C. 研究結果

健常人は 829 例中 58% (480 例)、UC 患者は 115 例中 67 例 (59%) で *S. mutans* 陽性であり、*S. mutans* 感染割合は有意差を認めなかった。高病原性株で検討すると健常人は 481 例中 28 例 (5.8%) に高病原性株が検出されたのに対して、UC 患者では 67 例中 14 例 (20.8%) と有意に検出率が高かった ($p < 0.001$)。

D. 考察

本研究で用いたマウス腸炎モデルにおいて、*S. mutans* 菌株のうち TW295 株が腸炎を増悪することが明らかになった。また、それは経口感染によってではなく、口腔内から血液中への侵入によって生じる可能性が示された。現在、*S. mutans* の関連する腸炎悪化について、その病原性に関する詳細なメカニズムについて検討しているところである。

E. 結論

ヒトにおいても口腔内の高病原性 *S. mutans* の血管内への侵入が炎症性腸疾患の発症や増悪に関与している可能性が示唆された。

本邦において増加を続ける潰瘍性大腸炎の病態解明や治療戦略のひとつになることが期待される。

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

日暮琢磨、高橋宏和、中島 淳

う蝕病原性口腔細菌（虫歯菌）*S. mutans* による
潰瘍性大腸炎増悪の検討 JDDW2011 福岡 2011年
10月 ポスター優秀演題賞

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

炎症性発癌における DNA 損傷応答の意義

研究分担者 味岡 洋一 新潟大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨：炎症性発癌における DNA 損傷応答の意義を明らかにするため、ホルマリン固定材料を用いて、UC の慢性持続性炎症粘膜における「DNA 二重鎖切断 (DSB)」の状態を検討した。非 IBD 合併大腸に比べ UC 粘膜では高頻度に DSB のマーカーである γ -H2AX 発現がみられ、DSB は炎症性発癌の背景因子の一つと考えられた。また、担癌 UC の中には平均値から突出して γ -H2AX 発現頻度が高いものがあり、 γ -H2AX 発現は UC の炎症性発癌高リスク群を選別するためのバイオマーカーとして期待される。

共同研究者

渡邊聡明 (帝京大学外科)

若井俊文 (新潟大学大学院小児外科)

(倫理面への配慮)

該当しない。

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎の慢性持続性炎症粘膜には高頻度で大腸癌が発生 (炎症性発癌) することが知られているが、慢性持続性炎症と発癌とを結びつける分子メカニズムは解明されていない。本研究では、慢性持続性炎症による大腸上皮細胞の「DNA 二重鎖切断 (double strand breaks: DSB)」とそれに対する「DNA 損傷応答 (DNA damage response DDR)」と発癌との関連を明らかにすることを目的とした。前年度研究では、大腸腫瘍を用いて、DSB の指標である γ -H2AX 免疫染色がホルマリン固定材料でも可能かどうかについての予備的検討を行った。本年度は、通常大腸粘膜と UC 粘膜における γ -H2AX 発現について検討した。

B. 研究方法

ホルマリン固定外科切除非 IBD 合併大腸 21 症例、非担癌 UC 大腸 16 症例、担癌 UC 大腸 11 症例の代表切片を用い、DSB 部位に動員されるリン酸化 H2AX (γ -H2AX) の発現を、免疫組織学的に比較・解析した。UC 大腸については、UC 罹患期間と γ -H2AX 発現との関連も検討した。

C. 研究結果

γ -H2AX 陽性陰窩の頻度は、非 IBD 合併大腸 ($0.4 \pm 0.7\%$) (平均算定陰窩数 326 ± 136)、非担癌 UC ($9.3 \pm 6.9\%$) (同 443 ± 294)、担癌 UC ($12.1 \pm 15.8\%$) (同 156 ± 159) であった。UC は非 IBD 合併大腸に比べ、 γ -H2AX 発現頻度が有意に高かった ($p < 0.001$) が、非担癌例と担癌例との間には有意差はなく、UC 罹患期間と γ -H2AX 発現頻度との間にも有意の相関はみられなかった。しかし、担癌 UC の中には、UC 罹患期間が 10 年未満のものでも、 γ -H2AX 発現頻度が平均値に比べ突出して高い (50%前後) ものが散見された。

D. 考察

非 IBD 合併大腸に比べ UC では γ -H2AX 陽性頻度が有意に高かったことから、通常の状態に比べ UC の慢性持続性炎症では DSB (DNA 二重鎖切断) が高頻度に生じており、それが UC の炎症性発癌の背景因子になっている可能性が示唆される。しかし、UC 罹患期間と γ -H2AX 発現との間には相関がなかったこと、担癌 UC 症例の中には UC 罹患期間が比較的短期のものでも高い γ -H2AX 発現を示す症例が存在したことから、罹患期間以外に DSB が生じ

やすい因子が存在することが示唆され、今後の検討課題と考えられた。また、 γ -H2AX 高発現症例は担癌 UC 例にみられたことから、 γ -H2AX は UC の炎症性発癌高リスク群を選別するためのバイオマーカーになりうる可能性がある。

E. 結論

UC の慢性持続性炎症粘膜では高頻度に DSB が起きており、そのことが炎症性発癌の背景因子の一つになっている可能性がある。DSB を同定する γ -H2AX は、炎症性発癌高リスク群選別のためのバイオマーカーとして期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wakai T, Shirai Y, Sakata J, Korita PV, Matsuda Y, Takamura M, Ohashi R, Nagahashi M, Ajioka Y, Hatakeyama K. Alteration of p53-binding protein 1 expression as a risk factor for local recurrence in patients undergoing resection for extrahepatic cholangiocarcinoma. Int J Oncol 38: 1227-1236, 2011
- 2) 味岡洋一、横山純二. 潰瘍性大腸炎の病理形態学. Progress in Medicine 31: 13-16, 2011

2. 学会発表

- 1) 味岡洋一. コアシンポジウム 2 炎症性腸患: colitic cancer の診断と治療の進歩. 第 8 回消化管学会総会. 仙台, 2012. 2. 11
- 2) 味岡洋一. 特別企画内視鏡医のための病理セッション. 炎症性発癌の病理診断. 第 82 回日本消化器内視鏡学会. 福岡, 2011. 10. 22
- 3) 高林広明、味岡洋一、若井俊文. 大腸腫瘍の発育進展における、53BP1 を介した DNA 損傷修復応答の変化. 第 70 回日本癌学会. 名古屋, 2011. 10. 5

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
難治製炎症性腸管障害に関する調査研究
分担研究報告書

MSC 依存性血管新生と Activation-induced Cytidine Deaminase (AID)

研究分担者 今井 浩三 東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 癌制御分野 教授

研究要旨：炎症性腸疾患に対する骨髄間葉系幹細胞(MSC)治療が有望視されるなか、炎症関連発癌における MSC の影響は現時点で明らかではない。本研究では、VEGF 低発現の大腸癌細胞株における MSC 依存性血管新生と AID およびその関連分子の役割を検討した。この系において AID は、CXCL12 プロモーターの脱メチル化酵素として作用せず、TET1-3 が新規脱メチル化酵素として CXCL12 発現調節に関与する有力な候補と考えられた。

共同研究者：那須野正尚¹、有村佳昭¹、渡邊秀平¹、永石歓和²、苗代康可³、篠村恭久¹

所属：札幌医科大学第一内科¹、札幌医科大学第二解剖²、札幌医科大学医療人育成センター³

次に、AID 高発現株 COL0320 を用いて、細胞株、移植腫瘍(xenograft)における癌関連遺伝子の点突然変異をシーケンスにて解析する。対象遺伝子は、TP53, BIRC2, XIAP, CCND1, CCNE1, CTNBN1, MYC, CDKN2A, KRAS, APC であり、これらの C to T 変異の頻度を明らかにし、AID の mutator としての働きおよびその標的遺伝子を探索する。

A. 研究目的

骨髄間葉系幹細胞(MSC)は再生医療や遺伝子治療のソースとして期待される一方で、腫瘍に対する影響は明らかではない。我々は大腸癌に対する MSC の影響を検討することで、炎症性腸疾患における MSC 治療の臨床応用に備えることを目的とした。

B. 研究方法

AID を高発現する大腸癌細胞株 COL0320 に siRNA を導入し、AID ノックアウト細胞株を樹立する。また、内因性 AID を発現しない大腸癌細胞株 DLD-1 にヒト AID を組み込んだ発現ベクターを導入し、強制発現株を樹立する。これらを用いて、AID ノックアウトや強制発現による CXCL12 の発現変化をリアルタイム PCR 法にて評価する。

さらにパイロシーケンス法により、CXCL12 プロモーター領域のメチル化の変化を定量的に評価する。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

AID ノックアウト細胞安定株を 18 株樹立した。AID の発現レベルと CXCL12 発現レベルに相関は認められなかった。

CXCL12 プロモーター領域のメチル化の変化を定量的に評価したところ、18 株中 1 株の 1 か所の CpG アイランドのメチル化が 50%へ上昇していた。

一方、AID 強制発現安定株を 8 株樹立した。そのうち 2 株の 1 か所の CpG アイランドのメチル化が 56~57%へ低下していた。

COL0320 細胞株 (AID 高発現細胞株) における癌関連遺伝子 C to T 変異の頻度は、10,000 塩基対あたり、TP53 12.6, BIRC2 7.8, CCNE1 5.3 の順であり、これらは同時に複数のローカスに変異を

認めた。

DNA 脱メチル化酵素 TET1-3 mRNA は、COLO320 細胞株に選択的に高発現した。

D. 考察

前年度の研究成果で、VEGF 低発現の大腸癌細胞株(COLO320)は、CXCL12 (リガンド) を発現することで CXCR4(レセプター)を発現する MSC を腫瘍内に保持し、一方 MSC は血管周皮細胞に分化し、マウス由来細胞を動員して血管新生を補助することで腫瘍の生着を促進することを明らかにした。今年度は、大腸癌において CXCL12 はプロモーターのメチル化により不活化されるにもかかわらず、COLO320 は、何らかの機構でエピジェネティックな不活化から逃れ CXCL12 を高発現していた。そこで、AID が①メチル化シトシンを基質としてチミンへ転換するいわば DNA 脱メチル化酵素である、②AID は xenograft に対する mutator である、との2つの仮説を立て検証した。その結果①は否定され、②の可能性が想定された。

E. 結論

MSC は、VEGF 低発現の大腸癌に対して血管新生を介して腫瘍の生着を促進し、CXCL12/CXCR4 axis を介して増殖を促した。但し、AID はこの系において脱メチル化酵素として作用せず、CXCL12 発現調節に関して TET1-3 が新規脱メチル化酵素として有力な候補と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka H, Arimura Y, Yabana T, Goto A, Hosokawa M, Nagaishi K, Yamashita K, Yamamoto H, Sasaki Y, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Myogenic lineage differentiated mesenchymal stem cells enhance recovery from dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat. J

Gastroenterol. 2011; 46: 143-52.

2. 学会発表

Nagaishi K, Arimura Y, Nasuno M, Imai K, Shinomura Y. Reciprocal relation between MSC-dependent angiogenesis and VEGF expression in colorectal cancer. DDW2011, Chicago May 10, 2011.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

- 1) 『特許第 4284490 号』(erbB-2 関連ペプチド) 2009年4月3日
- 2) 『特願 2008-121671』(癌の検出方法及び検出用キット、並びに癌治療剤) 2008年5月7日出願

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

Colitic cancer における Atoh1 発現の意義

研究代表者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 教授

研究要旨：炎症性腸疾患特に潰瘍性大腸炎に付随する大腸がん(Colitic cancer)は早期発見が困難であり、難治性であることが問題となっている。そのため、慢性の炎症持続による発がん機構、がん進展機構、治療抵抗性機構について理解が必要な状況である。本研究では炎症発がんによく認められる粘液産生形質に着目し腸管上皮細胞分化制御における必須遺伝子である Atoh1 の大腸がんにおける機能を解析した。その結果、大腸がんにおける Atoh1 発現は粘液形質発現のみならず、がん幹細胞形質を発現し抗がん剤耐性を獲得することを明らかとした。粘液形質と幹細胞形質の共存が新たな悪性形質獲得機構である可能性を示唆し、Colitic cancer の難治性の改善を期待できる成果と思われる。

共同研究者

土屋輝一郎、加納嘉人、鄭 秀、堀田伸勝、大島 茂、
岡本隆一、永石宇司、中村哲也
東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野

1. 研究目的

Colitic cancer は散発性大腸がんとならぬ発がん形式が異なり、内視鏡で発見が困難であるため進行がんで発見されることが多いこと、抗がん剤耐性を示し予後不良であることが問題となっている。特に Colitic cancer では粘液産生形質を有することが知られているが、その形質発現の意義は未だ解明されていない。以前より我々は腸管上皮細胞の分化度に着目し、その機能解析として大腸上皮細胞の分化制御に必須な蛋白に着目した。転写因子である Atoh1 は腸管上皮細胞の分泌系細胞への分化に必須であることが報告されており、Atoh1 は非粘液大腸癌では発現していないことを以前我々は報告している。さらに Atoh1 は APC 変異による Wnt シグナル亢進が Atoh1 の積極的な蛋白分解を誘導し Atoh1 の発現を抑制することで非粘液形質を維持することを証明している。近年粘液産生大腸がんでは Atoh1 が発現していることが報告され大腸がんにおける Atoh1 発現の意義を解析することを目的とした。

2. 研究方法

1) 大腸がん細胞への Atoh1 蛋白発現。

種々の Atoh1 変異体の解析により蛋白分解認識部位を同定し、さらに分解認識部位の変異体を用いて大腸がん細胞に Atoh1 を安定して発現する系を構築する。

2) Atoh1 発現における形質発現解析。

Atoh1 安定発現大腸がん作成ののち、そのがん細胞の粘液産生性、がん幹細胞マーカー発現を解析する。

3) Atoh1 発現大腸がんの悪性度解析。

Atoh1 発現大腸がんの細胞増殖、抗がん剤耐性、migration 活性を解析し、Atoh1 における大腸がん悪性度への影響を評価する。

(倫理面への配慮)

以上の研究の施行に当たっては、厚生科学審議会の「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」などに準じて、1) 倫理審査委員会で研究の適否などを議論・審査し承認を得る。2) 意義と必要性を説明しその自由意志に基づき同意を得られた場合にのみ検体提供を受ける。検体提供の有無により、治療など不利益を被ることはない。3) 個人のプライバシーの保護を厳密に行う。4) 希望に応じ検体提供者やその保護者への研究結果の説明を行う。5) 研究目的でのみ検体を使用し、その他の目的では使用しない等、人権及び利益の確保を行うよう配慮した。動物実験に関しては、当施設の動物実験ガイドラインに準拠して、動物実験委員会の承認を受けて実施した。

3. 研究結果及び考察

1) 大腸がん細胞への Atoh1 蛋白発現。

Atoh1 蛋白は GSK3 依存性に分解されることを証明し、さらに GSK3 によってリン酸化される部位を検索したところ、5 個のセリン残基を同定した。このセリンをすべてアラニン残基に変換した変異体を作成し大腸がん細胞に導入したところ安定した蛋白発現を認めた。

2) Atoh1 発現における形質発現解析。

大腸がんへの Atoh1 安定発現による形質を解析したところ、ムチン産生、修復因子の産生、抗菌物質の産生など粘液産生性を獲得した。さらにがん幹細胞マーカーを解析したところ Lgr5 の有意な上昇を認めた。またがん細胞の生存に関わる因子として MMP9 の発現上昇も認められた。

3) Atoh1 発現大腸がんの悪性度解析。

以上より Atoh1 発現による粘液産生は本来の細胞形質を獲得した分化誘導だけでなく、幹細胞形質も獲得したことから悪性度について解析を行った。

細胞増殖については、MTS アッセイと FUCCI システムを用いて解析を行ったところ、細胞増殖は Atoh1 発現により抑制されていたが、G0/G1 期が延長しており、幹細胞形質である G0 アレストを起こすことが明らかとなった。

また migration アッセイにて増殖はしないまま遊走能は亢進していた。さらに大腸がん治療に用いられる種々の抗がん剤にて処理したところ、Atoh1 発現は有意にアポトーシスを抑制し抗がん剤耐性を示した。大腸がんをヌードマウスに皮下接種した in vivo の系においても同様の結果がえられた。以上より Atoh1 は粘液産生を獲得する一方、がん幹細胞形質を有し抗がん剤耐性を獲得することが示唆された。

4. 評価

1) 達成度について

本研究の目的に沿って研究計画をほぼ遂行することができた。臨床情報に基づいた思考過程によって得られた基礎的データから新たな治療法への可能性を示すことができ、画期的治療法が確立できるものと考えられる。よって本研究の達成度は高いと思われる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究結果に関しては Colitic cancer における難治性のメカニズムに貢献でき、がん幹細胞形質獲得の新たなシステムの解明はがん医療への可能性も示し学術的にも高く評価され、実際インパクトの高い海外学術雑誌に多数掲載されたことより国際的評価も高いと考

えられる。

3) 今後の展望について

Atoh1 が、がん幹細胞形質を獲得する機構をさらに詳細に検討することで、がん幹細胞を標的とした新規治療法の開発を試みる。動物モデルの構築も既に確立しているためヒトへの応用も実現可能と思われる。また Colitic cancer において Atoh1 蛋白が安定発現する機構を解明し炎症発がんを抑制させる機構を明らかとしていく。

4) 研究内容の効率性について

当初たてた目標を着実に遂行できており一定の効率性は挙げられた。

5. 結論

Colitic cancer に認められる Atoh1 発現は、粘液産生のみならず、がん幹細胞形質を獲得することで抗がん剤耐性を示すことから、難治性のメカニズムを解明知ることができた。今後、Atoh1 発現機構解析、抗がん剤耐性機構解析を行うことで、Colitic cancer の発がん予防、有効ながん治療法の開発が期待できる。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M: Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+stem cell. Nat Med. in press 2012
- 2) Yamaji O, Nagaishi T, Totsuka T, Onizawa M, Suzuki M, Tsuge N, Hasegawa A, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Arase H, Kanai T, Watanabe M: The development of colitogenic CD4+ T cells is regulated by IL-7 in collaboration with natural killer cell function in a murine model of colitis. J Immunol. in press 2012
- 3) Mizutani T, Nakamura T, Morikawa R, Fukuda M, Mochizuki W, Yamauchi Y, Nozaki K, Nemoto Y, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: Real-time analysis of P-glycoprotein drug transport across primary intestinal epithelium three-dimensionally cultured in vitro. Biochem Biophys Res Commun. in press 2012

- 4) Hibi T, Sakuraba A, Watanabe M, Motoya S, Ito H, Motegi K, Kinouchi Y, Takazoe M, Suzuki Y, Matsumoto T, Kawakami K, Matsumoto T, Hirata I, Tanaka S, Ashida T, Matsui T: Retrieval of serum infliximab level by shortening the maintenance infusion interval is correlated with clinical efficacy in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. [Epub ahead of print] 2011
- 5) Watanabe M, Hibi T, Lomax KG, Paulson SK, Chao J, Alam M.S, Camez AC: Adalimumab for the Induction and Maintenance of Clinical Remission in Japanese Patients With Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 6: 160-173, 2012
- 6) D'Haens GR, Panaccione R, Higgins PD, Vermeire S, Gassull M, Chowers Y, Hanauer SB, Herfarth H, Hommes DW, Kamm M, Löfberg R, Quary A, Sands B, Sood A, Watermayer G, Lashner B, Lémann M, Plevy S, Reinisch W, Schreiber S, Siegel C, Targan S, Watanabe M, Feagan B, Sandborn WJ, Colombel JF, Travis S: The London Position Statement of the World Congress of Gastroenterology on Biological Therapy for IBD With the European Crohn's and Colitis Organization: When to Start, When to Stop, Which Drug to Choose, and How to Predict Response? *Am J Gastroenterol*. 106(2): 199-212, 2011
- 7) Hyun SB, Kitazume Y, Nagahori M, Toriihara A, Fujii T, Tsuchiya K, Suzuki S, Okada E, Araki A, Naganuma M, Watanabe M: MR enterocolonography is useful for simultaneous evaluation of small and large intestinal lesions in Crohn's disease. *Inflam Bowel Dis*. 17: 1063-1072, 2011
- 8) Iwasaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Zheng X, Kano Y, Okamoto E, Okada E, Araki A, Suzuki S, Sakamoto N, Kitagaki K, Akashi T, Eishi Y, Nakamura T, Watanabe M: Longitudinal cell formation in the entire human small intestine is correlated with the localization of Hsth1 and Klh4. *J Gastroenterol*. 46(2): 191-202, 2011
- 9) Naganuma M, Watanabe M, Hibi T: Safety and usefulness of balloon endoscopy in Crohn's disease patients with postoperative ileal lesions. *J Crohns Colitis*. 5(1): 73-74, 2011
- 10) Naganuma M, Watanabe M, Hibi T: The use of traditional and newer calcineurin inhibitors in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*. 46: 129-137, 2011
- 11) Naganuma M, Kunisaki R, Yoshimura N, Nagahori M, Yamamoto H, Kimura H, Sako M, Kawaguchi T, Takazoe M, Yamamoto S, Matsui T, Hibi T, Watanabe M: Conception and pregnancy outcome in women with inflammatory bowel disease: A multicentre study from Japan. *Journal of Crohn's and Colitis*. 5: 317-323, 2011
- 12) Nemoto Y, Kanai T, Shinohara T, Ito T, Nakamura T, Okamoto R, Tsuchiya K, Lipp M, Eishi Y, Watanabe M: Luminal CD4+ T cells penetrate gut epithelial monolayers and egress from lamina propria to blood circulation. *Gastroenterology*. 141(6): 2130-2139, 2011
- 13) Shinohara T, Nemoto Y, Kanai T, Kameyama K, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Totsuka T, Ikuta K, Watanabe M: Upregulated IL-7R α expression on colitogenic memory CD4+T cells may participate in the development and persistence of chronic colitis. *J Immunol*. 186(4): 2623-2632, 2011
- 14) Watanabe T, Ajioka Y, Matsumoto T, Tomotsugu N, Takebayashi T, Inoue E, Iizuka B, Igarashi M, Iwao Y, Ohtsuka K, Kudo SE, Kobayashi K, Sada M, Matsumoto T, Hirata I, Murakami K, Nagahori M, Watanabe K, Hida N, Ueno F, Tanaka S, Watanabe M, Hibi T: Target biopsy or step biopsy? Optimal surveillance for ulcerative colitis: a Japanese nationwide randomized controlled trial. *J Gastroenterol*. 46: 11-16, 2011
- 15) Watanabe T, Kobunai T, Yamamoto Y, Ikeuchi H, Matsuda K, Ishihara S, Nozawa K, Iinuma H, Kanazawa T, Tanaka T, Yokoyama T, Konishi T, Eshima K, Ajioka Y, Hibi T, Watanabe M, Muto T, Nagawa H: Predicting ulcerative colitis-associated colorectal cancer using reverse-transcription polymerase chain reaction analysis. *Clin Colorectal Cancer*. 10: 134-141, 2011

- 16) Watanabe T, Kobunai T, Ikeuchi H, Yamamoto Y, Matsuda K, Ishihara S, Nozawa K, Iinuma H, Kanazawa T, Tanaka T, Yokoyama T, Konishi T, Eshima K, Ajioka Y, Hibi T, Watanabe M, Muto T, Nagawa H: RUNX3 copy number predicts the development of UC-associated colorectal cancer. International Journal of Oncology. 38: 201-207, 2011
- 17) Watanabe T, Sasaki I, Sugita A, Fukushima K, Futami K, Hibi T, Watanabe M: Interval of less than 5 years between the first and second operation is a risk factor for a third operation for Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis. 18(1): 17-24, 2011
- 18) Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, Iwasaki M, Kano Y, Sakamoto N, Nakamura T, Watanabe M: Suppression of *hath1* gene expression directly regulated by *hes1* via notch signaling is associated with goblet cell depletion in ulcerative colitis. Inflamm Bowel Dis. 11: 2251-2260, 2011
- 学会発表
- 1) Tsuchiya K, Zheng X, Kano Y, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: Flagellin via TLR5 on basolateral membrane of primary intestinal epithelial cells (IEC) shows the role of IEC in the response to bacteria. UEGW2011. Stockholm. 2011年10月26日
- 2) Naganuma M, Nagahori M, Fujii T, Akiyama J, Saito E, Watanabe M: Serological test and vaccinations for Measles, Mumps, Rubella, and Varicella Zoster deserve considerations as early as possible after diagnosis of Inflammatory Bowel Disease. UEGW2011. Stockholm. 2011年10月25日
- 3) Tsuchiya K, Kano Y, Watanabe M: The stabilization of Atoh1 protein in colorectal cancer mimics mucinous adenocarcinoma. 第70回日本癌学会学術総会. Nagoya. 2011年10月4日
- 4) Yui S, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Nagaishi T, Tsuchiya K, Watanabe M, Nakamura T, Okamoto R, Ichinose S, Sato T, Clevers H: Regeneration of damaged colonic tissue by transplanted colonic epithelial stem cells maintained and expanded in vitro. GI Research Academy 2011. Kyoto. 2011年6月17日
- 5) Yui S, Nakamura T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sato T, Clevers H, Watanabe M: Regeneration of Damaged Colonic Tissue by Transplantation of Colonic Epithelial Stem Cells Maintained and Expanded In Vitro. DDW2011. Chicago. 2011年5月7日
- 6) 渡辺 守: 生物製剤が炎症性腸疾患研究に与えたインパクト. 第6回 Tokyo Circulation Seminar. 東京. 2012年2月2日
- 7) 加納嘉人、土屋輝一郎、鄭 秀、堀田伸勝、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: 新たな「分化度」スクリーニングを用いた大腸がん形質抑制と個別化医療への可能性. 第19回 浜名湖シンポジウム. 浜松. 2011年12月23日
- 8) 渡辺 守: 大腸上皮幹細胞一培養系の確立と移植への応用一. 第8回 定例基礎棟セミナー. 東京. 2011年12月14日
- 9) 渡辺 守: 生物製剤が炎症性腸疾患に与えたインパクト. 第54回 日本消化器内視鏡学会東海地方会. 浜松. 2011年12月10日
- 10) 渡辺 守: 新しい時代に入ったクローン病治療を考える. 第2回 神奈川 Influximab IBD Strategy Seminar. 横浜. 2011年12月8日
- 11) 渡辺 守: 新しい時代に入ったクローン病治療を考え直す. 第29回 北海道クローン病検討会. 札幌. 2011年12月2日
- 12) 渡辺 守: 炎症性腸疾患治療の新展開. 第39回 内科学の展望/第108回 日本内科学会講演会. 横浜. 2011年11月13日
- 13) 渡辺 守: 新しい時代に入った IBD 治療を考え直す. 第19回 日本消化器病学会関東支部教育講演. 東京. 2011年11月13日
- 14) 土屋輝一郎、鄭 秀、加納嘉人、水谷知裕、油井史郎、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: 小腸上皮細胞初代培養による生理的フラジェリン応答解析. 第49回 小腸研究会. 東京. 2011年11月12日

- 15) 渡辺 守: 新しい時代に入った炎症性腸疾患を考える. 第105回 みなとセミナー. 横浜. 2011年10月27日
- 16) 藤井俊光、長沼 誠、渡辺 守: 重症潰瘍性大腸炎に対するHybrid Tacrolimus療法の試み. JDDW2011. 福岡. 2011年10月23日
- 17) 加納嘉人、土屋輝一郎、渡辺 守: Atoh1 発現大腸癌における悪性形質獲得機構解析. JDDW2011. 福岡. 2011年10月23日
- 18) 鈴木伸治、荒木昭博、渡辺 守: 原因不明消化管出血 (OGIB) 症例におけるカプセル内視鏡に対するダブルバルーン内視鏡の有用性の検討. JDDW2011. 福岡. 2011年10月22日
- 19) 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: 炎症性腸疾患病原性メモリーCD4+T 細胞は腸管粘膜から全身血流に再循環する. JDDW2011. 福岡. 2011年10月21日
- 20) 鄭 秀、土屋輝一郎、岩寄美智子、加納嘉人、水谷知裕、油井史郎、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: 初代培養小腸上皮細胞による生理的フラジェリン応答解析. JDDW2011. 福岡. 2011年10月20日
- 21) 山地 統、戸塚輝治、鬼澤道夫、柘植直人、鈴木雅博、永石宇司、金井隆典、渡辺 守: マウス腸炎モデルにおける腸炎惹起性 CD4+T 細胞の増殖は IL-7 とNK細胞により制御される. JDDW2011. 福岡. 2011年10月20日
- 22) 長沼 誠、長堀正和、藤井俊光、秋山純子、齋藤詠子、渡辺 守: IBD患者における風疹・麻疹・水痘・ムンプスに対する抗体価測定の意義. JDDW2011. 福岡. 2011年10月20日
- 23) 土屋輝一郎、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: IBDにおける消化管上皮の分化制御と免疫応答. 第39回 日本臨床免疫学会総会. 東京. 2011年9月17日
- 24) 渡辺 守: 炎症性腸疾患における内視鏡を考え直す. 山梨 IBD 講演会 2011. 甲府市. 2011年9月8日
- 25) 鈴木康平、秋山純子、藤井俊光、櫻井 幸、福田将義、吉野耕平、竹中健人、東 正新、鈴木伸治、長堀正和、長沼 誠、坂本直哉、渡辺 守、小林宏寿、杉原健一、伊藤栄作、三浦圭子: 術後に判明した空腸異所性膀胱炎の一例. 第16回 お茶の水消化器セミナー. 東京. 2011年8月27日
- 26) 渡辺 守: 治りにくい炎症性腸疾患 新しい視点で縮く. 第9回 三重 IBD 研究会. 津. 2011年8月4日
- 27) 渡辺 守: 新しい時代に入ったクローン病治療を考える. 第5回 多摩 GI-Endoscopy 研究会. 東京. 2011年6月30日
- 28) 渡辺 守: 抗 TNF 製剤が炎症性腸疾患治療に与えたインパクト. 第15回 日本適応医学会学術集会. 浜松. 2011年6月25日
- 29) 渡辺 守: 炎症性腸疾患における腸上皮自然炎症調節機構の破綻. 新学術領域: 平成23年度第2回領域班会議. 東京. 2011年6月24日
- 30) 渡辺 守: 炎症性腸疾患の病態を新しい側面から縮く. 第2回 炎症性腸疾患と免疫を語る会. 横浜. 2011年6月22日
- 31) 渡辺 守: 新しい時代に入った炎症性腸疾患を考える. 第7回 静岡県 IBD 研究会. 静岡. 2011年6月17日
- 32) 渡辺 守: クローン病. 第140回 日本医学会シンポジウム. 東京. 2011年6月9日
- 33) 渡辺 守: 生物製剤がクローン病治療に与えたインパクト. 第32回 日本炎症・再生医学会. 京都. 2011年6月2日
- 34) 渡辺 守: 炎症性腸疾患の分子標的治療. フォーラム富山「創薬」第33回 研究会. 富山. 2011年5月20日
- 35) 藤井俊光、長沼 誠、渡辺 守: 免疫調整剤/分子生物製剤を用いた難治性潰瘍性大腸炎に対する治療戦略. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京. 2011年5月15日
- 36) 渡辺 守: クローン病に生物学的製剤をどのように使っていくのかーいつ? 誰に? 何を? どのように?ー. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京. 2011年5月15日
- 37) 秋山純子、長沼 誠、藤井俊光、玄 世鋒、長堀正和、渡辺 守: チオプリン、タクロリムス不応例潰瘍性大腸炎に対するインフリキシマブ (IFX) の検討. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京. 2011年5月15日
- 38) 渡辺 守: 生物学的製剤がもたらした新しい時代の炎症性腸疾患治療. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京. 2011年5月14日