

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
難治性腸管吸収障害 Microscopic Colitis に関する調査研究  
分担研究報告書

Prospective study of Collagenous colitis associated with PPI

研究分担者 平田 一郎 藤田保健衛生大学消化管内科 教授

研究要旨：早期胃癌 ESD 症例を lansoprazole 投与群(L 群) 30 例と rabeprazole 投与群(R 群) 30 例に分けて、PPI 投与 21 週後の collagenous colitis(CC)発症率を見たところ、L 群では 5 例(17%)、R 群には 0 例(0%)であった(P=0.02)。PPI のうち lansoprazole は rabeprazole に比して有意に CC 発症に関連していると考えられた。

A. 研究目的

高齢化社会に伴い NSAIDs や低用量アスピリンの使用が増えているが、これら薬剤から胃粘膜を保護するため同時に PPIs の投与も増加している。PPIs は collagenous colitis(CC)発症の関連薬剤として注目されているがその関連性を prospective に検討した報告は無い。本研究は、PPIs と MC の関連性を prospective に検討するために行った。

B. 研究方法

対象は早期胃癌にて ESD を行った 60 例で、ESD による人工潰瘍治療のため、これらが無作為に lansoprazole 投与群(L 群) 30 例と rabeprazole 投与群(R 群) 30 例に分けた。PPI 投与 21 週後にこれら症例に対し全大腸内視鏡を施行し step biopsies を 10 点行い、CC 発症の有無を検討した。(倫理面への配慮)

本研究は、本学の疫学・臨床研究等倫理委員会の審査(審査番号 10-098)を受けその承認の下、IC が得られた症例に対して施行した。

C. 研究結果

CC 発症は、L 群の 5 例(17%)に認められたが R 群では全く(0%)認められなかった(P=0.02)。L 群における CC の発症は年齢、性との相関は認められなかった。

D. 考察

PPI のうち lansoprazole は rabeprazole に比して有意に CC 発症に関連していると考えられた。

E. 結論

Lansoprazole と CC 発症との間に強い関連性がある事が照明された

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

平田一郎: Microscopic Colitis のすべて—新しい疾患概念と定義の策定に向けて・大腸疾患 Now 2012・13-24・2012

2. 学会発表

Masataka N, Hirata I, et al・Prospective study of Collagenous colitis onset associated with long-term administration of proton pump inhibitors・DDW2011・McCormic Place, Chicago, 2011 年 5 月 8 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
難治性腸管吸収障害 Microscopic Colitis に関する調査研究  
分担研究報告書

Collagenous colitis の臨床像と内視鏡像

研究分担者 松井 敏幸 福岡大学筑紫病院消化器内科 教授

研究要旨：Microscopic colitis のうち collagenous colitis(CC)症例の自施設ならびに本邦報告を解析して代表的な臨床像と内視鏡像を集約することを目的とした。多施設報告例での臨床像は、高齢発症の女性に多く、薬物起因性水曜下痢を主症状としていた。原因薬物の大半が lansoprazole で、次に多い原因薬物は NSAID であった。服薬中止によりほぼ全例で症状消失した。内視鏡像では、血管透見異常所見は高頻度にみられ、粗糙・顆粒状粘膜も高頻度であった。さらに頻度は高くないが周囲に反応がない縦走潰瘍が特徴的であった。最終診断は生検により組織学的に collagen band 沈着により診断される。以上、診断に際し、薬剤服用歴、臨床症状、内視鏡像と病理組織像を総合的に判断することが重要であり、予後は極めて良好であった。

共同研究者

石原裕士 福岡大学筑紫病院消化器内科

A. 研究目的

近年増加傾向が指摘される Microscopic colitis のうち collagenous colitis(CC)の自施設並びに他施設の報告例を対象に、臨床像と内視鏡像を解析することを目的とした。

B. 研究方法

①自施設の対象症例の分析

CC の臨床像、内視鏡像と組織像を対比して、相関を見た。内視鏡異常所見（血管網増生・走行異常、色素散布後の粗糙・顆粒状粘膜、線状縦走潰瘍・癒痕、発赤）の大腸分節毎の出現頻度、分布を検討した。また背景因子（便回数、関連薬剤）や内視鏡所見、病理組織学的検査所見（collagen band(以下 CB)の厚さ、好中球浸潤、被蓋上皮の脱落）についても相互に対比した。

②多施設の報告例の分析

主として内視鏡像に注目して頻度を解析した。（倫理面への配慮）

個人情報が出ないように匿名化して解析した。

C. 研究結果

①自施設の解析

1) 臨床像：自験例 CC 16 症例に関して、臨床像は、高齢発症の女性に多く、ほとんどが lansoprazole（原因薬物の 81%）による薬物起因性下痢を主症状としていた（18%は NSAID 起因性）。服薬中止により全例で症状消失していた。2) 内視鏡像：大腸の左右側で内視鏡所見出現度を比較した；血管網増生・走行異常所見は高頻度（100%—88%）であるが左右差はなかった。粗糙・顆粒状粘膜は右側結腸で 63%、左側結腸で 25%、であり左右差があった（ $P=0.03$ ）。線状縦走潰瘍は左側結腸に高い傾向があった。便回数的高低別、関連薬剤別に背景因子や内視鏡異常所見を比較したが、臨床像により内視鏡所見などに差異はなかった。

3) 組織像：最終診断は組織学的に collagen band (CB) 沈着により診断された。病理組織学的所見（CB 厚や上皮内・固有粘膜層内への好中球細胞浸潤、被蓋上皮の脱落）の程度と内視鏡異常所見の両者に関連はなかった。④粗糙・顆粒状粘膜所見と血管網増生・走行異常所見は相関した（ $p<0.05$ ）。

②多施設の解析

解析対象となった CC 報告例は自施設を含む 5

施設よりの 87 例であった。ほとんどが薬剤起因性で、薬剤中止で速やかに治癒した。内視鏡像では、血管透見異常は、52 例 60% (施設ごとに頻度が 13-100%とばらつきあり) にみられた。色素散布後の粗糙・顆粒状粘膜は 42 例 48%(0%-80%とばらつきあり)、縦走潰瘍・癒痕は 28 例 32% (13-46%とばらつきあり) であった。そのほかに cat scratch sign(ひび割れした易出血性粘膜)、発赤粘膜も記載があるが統一的な基準がなく頻度を出すには至らなかった。鑑別診断は、過敏性大腸症候群、セリアック病、炎症性腸疾患、感染性腸炎、虚血性腸炎などが挙げられるとの意見が。したがって、CC の診断上、右側結腸で粗糙・顆粒状粘膜を認めれば CC に伴う内視鏡異常所見の可能性が高く、適切な生検を施行して診断を確定する。原因が分かれば治療は容易である。

#### D. 考察

従来 CC の診断は容易でなく、内視鏡診断が難しいといわれてきた。むしろ、内視鏡像は正常ではないかと言われてきた。しかし、本邦の CC の臨床像は、薬剤起因性が大半で、予後の良いものが多い。その点で欧米の報告とは異なる点が多い。組織学的には粘膜上皮直下の CB 肥厚が特徴的である点は、欧米と同様である。このように日本人と欧米人で CC の臨床像が異なる理由は分かっていない。そもそも欧米人で CC の原因に関して研究がほとんど進行していない。

#### E. 結論

多施設の解析より CC は、本邦報告例のほとんどが薬剤起因性で、薬剤中止で速やかに治癒した。内視鏡像では、血管透見異常は、60%にみられ、色素散布後の粗糙・顆粒状粘膜は 48%、縦走潰瘍・癒痕は 32%であった。そのほかに cat scratch sign(ひび割れした易出血性粘膜)、発赤粘膜も記載があった。したがって、CC の診断上、右側結腸で粗糙・顆粒状粘膜を認めれば CC に伴う内視鏡異常所見の可能性が高く、適切な生検を施行して診断を確定する。原因が分かれば治療は容易である。

#### F. 健康危険情報

Proton pump inhibitor には CC を惹起するもの

がある。診断確定が難しいこともある。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 石原裕士、松井敏幸、原岡誠司、他：collagenous colitis の 16 例. 内視鏡像と組織像との関連. 胃と腸 44; 1983-1994, 2009
2. 石原裕士、松井敏幸：Microscopic colitis のすべて、診断基準・重症度評価の策定に向けて—臨床像・内視鏡像。大腸疾患 NOW 2012 (渡辺守編集)日本メディカルセンター, 2012 : 38-42
3. 石原裕士、松井敏幸：Collagenous colitis 。大腸疾患診療の Strategy (斉藤裕輔、田中信治、渡邊聡明編集)日本メディカルセンター, 2011 : 185-189

##### 2. 学会発表 なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

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  
難治性腸管吸収障害 Microscopic Colitis に関する調査研究  
分担研究報告書

Collagenous colitis の診断の契機となる要因について

研究分担者 清水 誠治 大阪鉄道病院 医務部長

研究要旨：Collagenous colitis をより効率的に診断するために、本症を疑って生検を行う契機となる要因について検討を行った。多施設よりの 90 例を対象に、「下痢」、「lansoprazole または NSAID 服用」、「内視鏡的有所見」の 3 項目に着目し、これらがみられる頻度を調べたところ、83 例 (92.2%) で 2 項目以上がみられた。一方で内視鏡所見については評価者によるばらつきが大きく、自験例 24 例に限定して同様の検討を行うと、全例で 2 項目以上を満たしていた。対象を 3 項目中 2 項目以上を満たす症例に絞ると診断の効率化を図ることができる可能性がある。今後、この基準の妥当について前向きな検討を行うとともに、内視鏡所見を評価するための一定の基準を示すことが望まれる。

共同研究者

JA 岐阜厚生連中濃厚生病院消化器科 山崎健路  
大阪市立総合医療センター消化器内科 大川清孝  
札幌厚生病院第一消化器科 黒河聖, 今村哲理  
大阪赤十字病院消化器科 齊藤澄夫  
大阪鉄道病院消化器内科 南 竜城  
新潟県立吉田病院内科 八木一芳  
名古屋市立大学消化器代謝内科学 水島隆史

A. 研究目的

Collagenous colitis (CC) の報告が増加している。CC の疾患概念には慢性下痢が含まれているが、中には慢性下痢がみられず無症状で経過中、急性腹症を発症する症例の報告もみられる。CC の診断は内視鏡下生検で collagen band を証明することによってなされているのが現状である。本症は一定の割合で発生していると考えられるが、施設による症例数のばらつきが大きい。これは疾患が十分に認識されているか否かによると思われるが、どのような場合に生検を行うべきかについての明確な指針はない。今回、CC の診断における指針を作成することを目的とした。

B. 研究方法

対象：CC 自験例 24 例および第 6 回日本消化管学会（福岡，2010.2.19-20）で開催されたワークショップ「Collagenous colitis の病態・診断・治療」の発表施設の内、同意を得られた 7 施設の症例を併せた CC 症例 90 例である。

方法：CC を疑って生検を行う契機となると考えられる因子（症状，服薬歴，内視鏡所見）の有無を評価した。症状では「下痢」の有無（軟便は除外），服薬歴では「lansoprazole または NSAID 服用」の有無，内視鏡所見では縦走潰瘍（癒痕を含む），顆粒状粘膜，びらん，縦走線条，血管増生のいずれかがみられる場合を「内視鏡的有所見」とし，血管透見低下は客観性に乏しいため今回は項目から除外した。

（倫理面への配慮）アンケートに際しては個人が特定できないよう配慮した。

C. 研究結果

対象とした 90 例の内，下痢は 83 例 (92.2%)，「lansoprazole または NSAID 服用」は 76 例 (84.4%)，「内視鏡的有所見」は 57 例 (63.3%) にみられた。次にそれぞれの症例での陽性項目数についてみると，3 項目全てを満たす症例が 45 例

(50%), 2項目は38例(42%), 1項目のみは7例(7.2%)であり、いずれの項目も満たさなかった症例はなかった。上記の3項目の内、2項目以上がみられた症例は83例(92.2%)であった。

自験例24例でも同様の検討を行った。下痢は19例(79.2%), 服薬歴は23例(95.8%), 内視鏡的有所見は18例(75.0%)にみられた。項目数は、3項が10例(41.7%), 2項が14例(54.8%), 1項目以下の症例はなく、全例で2項目以上を満たしていた。

#### D. 考察

CCを診断する上では、生検を行うことが必須であるが、やみくもに行うのではきわめて効率が悪い。今回、多施設からの90例を対象に、生検を行う契機となる要因がどの程度みられていたかを遡及的に検討した。「下痢」、「lansoprazoleまたはNSAID服用」、「内視鏡的有所見」の3項目に着目し、これらがみられる頻度を調べたところ、83例(92.2%)で2項目以上を満たしていた。しかし「内視鏡的有所見」に関しては施設による判断の違いがみられ、内視鏡で異常所見が全くみられないと回答した施設もみられた。自験例に限定して、同様の検討を行うと全例で2項目以上を満たしていた。

以上より、CCを疑って生検を行う契機として上記3項目中2項目以上を満たすという条件を設定すれば、診断における効率化がある程度図ることができる可能性がある。なお、内視鏡所見の評価者によるばらつきを減らすためには、軽微な所見、客観的評価が難しい所見についてアトラス等で一定の基準を示すことが望まれる。

#### E. 結論

CCを疑って生検を行う契機として、「下痢」、「lansoprazoleまたはNSAID服用」、「内視鏡的有所見」の3項目中2項目以上を満たす症例に絞ると診断の効率化を図ることができる可能性がある。今後、この基準の妥当について前向きな検討を行うとともに、内視鏡所見を評価するための一定の基準を示すことが望まれる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 清水誠治: Microscopic colitis のすべて 3. わが国における実態 - Collagenous colitis を対象とした実態調査の結果から。大腸疾患NOW 2012。武藤徹一郎・杉原健一・藤盛孝博・五十嵐正広・渡邊 聡明・渡辺 守編, 日本メディカルセンター, 東京, 2012 ; 32-37.

##### 2. 学会発表

1. Yamazaki K, Hotta K, Shimizu S, Araki H, Fukutomi Y, Hanai Y, Katsumura N, Moriwaki H: Causal involvement of proton pump inhibitors and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Japanese patients with collagenous colitis. UEGW2011, Stockholm, 2011年10月25日
2. 山崎健路, 堀田欣一, 清水誠治: Collagenous colitis 症例における NSAID の関与についての検討。パネルディスカッション 8 「NSAIDs 腸病変の新たな展開」。第53回日本消化器病学会大会, 福岡, 2011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

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

Microscopic colitis の生検診断基準

研究分担者 田中 正則 弘前市立病院 医療局長

研究要旨：Collagenous colitis (CC) と lymphocytic colitis (LC) の本邦での生検診断基準案を作成し、平成 22 年度の研究成果として報告した。この時の研究は 2009～2010 年の英文論文を検討したものであるが、正確で再現性の高い生検診断が要求されていることを勘案し、平成 23 年度の研究では対象論文を 2002～2011 年に広げ、さらに歴史的に重要な論文も併せて詳細に検討した。最終的に推奨される CC の診断基準は、「①表層上皮直下のコラーゲン層 (SECB)  $\geq 10 \mu\text{m}$ 、②粘膜固有層のリンパ球・形質細胞浸潤、③陰窩の配列異常なし (軽微な変化は可) の 3 項目を同時に満たす」である。SECB が  $7\sim 10 \mu\text{m}$  の場合は、「CC 疑い」として経過を追う。CC 診断の注意点は、大腸全域から生検を採取することと、オリエンテーション不良の標本で SECB を計測しないことである。LC の診断基準は変更なく、「①上皮内リンパ球 (IEL)  $\geq 20$  個/表層上皮細胞 100 個、②SBCB  $< 7 \mu\text{m}$ 、③粘膜固有層のリンパ球・形質細胞浸潤、④陰窩の配列異常なし (軽微な変化は可) の 4 項目を同時に満たす」である。

A. 研究目的

平成 22 年度に引き続き、collagenous colitis (CC) と lymphocytic colitis (LC) の本邦での生検診断基準案を作成することが目的である。

B. 研究方法

正確で再現性の高い生検診断が要求されていることを勘案し、対象論文を 2002～2011 年に広げ、さらに歴史的に重要な論文も併せて詳細に検討した。

(倫理面への配慮)

研究の性格上、倫理面で問題となる可能性はない。

C. 研究結果

CC の組織学的特徴は、a) 表層上皮直下のコラーゲン層 (subepithelial collagen band ; SECB) の肥厚、b) 粘膜固有層のリンパ球・形質細胞浸潤、c) 表層上皮の傷害、d) 上皮内リンパ球

(intraepithelial lymphocytes ; IEL) の増加、e) 陰窩の正常配列、に要約された。

上記所見のうち、a) の SECB 肥厚は CC を診断す

る上で最も重要な組織所見であり、「SECB  $\geq 10 \mu\text{m}$ 」が診断基準項目の 1 つとして定着していた。

c) と d) については取扱いに一貫性がなく、診断基準に採用していない論文が多かった。

LC の組織学的特徴は、a) IEL の増加、b) SECB の肥厚なし、c) 粘膜固有層のリンパ球・形質細胞浸潤、d) 表層上皮の傷害、e) 陰窩の正常配列、に要約された。具体的な数値として、「IEL  $\geq 20$  個/表層上皮細胞 100 個」と「SECB  $< 7 \mu\text{m}$ 」がほとんどの研究者に支持されていた。d) については取扱いに一貫性がなかった。

D. 考察

CC の診断基準については、H22 年度の研究では採用しなかった「粘膜固有層のリンパ球・形質細胞浸潤」が重要であることが認識された。また、SECB が  $7\sim 10 \mu\text{m}$  の場合は、「CC 疑い」として経過を追うこと、大腸全域から生検を採取すること、およびオリエンテーション不良の標本で SECB を計測しないことを診断基準運用上の注意点として挙げた。

LC の診断基準については、検討の結果、変更点がないことを確認した。

#### E. 結論

最近 10 年間の英文論文と歴史的に重要な論文の検討から導き出された CC の診断基準は、SECB  $\geq 10 \mu\text{m}$ , 粘膜固有層のリンパ球・形質細胞浸潤, 陰窩の配列異常なし (軽微な変化は可) の 3 項目, LC の診断基準は, IEL  $\geq 20$  個/表層上皮細胞 100 個, SBCB  $< 7 \mu\text{m}$ , 粘膜固有層のリンパ球・形質細胞の 4 項目である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Awano N, Ryu T, Yoshimura N, Takazoe M, Kitamura s, Tanaka M: Successful treatment of ulcerative colitis associated with hypereosinophilic syndrome/chronic eosinophilic leukemia. Intern Med 50: 1741-1745, 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

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  
難治性腸管吸収障害 Microscopic Colitis に関する調査研究  
分担研究報告書

Microscopic colitis の治療指針策定にむけて

研究分担者 松本 主之 九州大学病院消化管内科 診療准教授

研究要旨： microscopic colitis (MC) は 1970 年代に初めて報告され、その後北欧・北米で症例が蓄積されている。本邦では MC のなかでも collagenous colitis が存在することが最近明らかとなった。本研究で、本邦の治療指針にむけた現状を分析した。その結果、MC の一部は薬剤が関与し、内服歴の確認と薬剤の休薬が第一の治療戦略であること、欧米では止痢薬、ビスマス、コレスチラミン、ステロイド、チオプリンないしメトトレキセートのステップアップ療法が推奨され、ステロイドのプロドラッグであるブデゾニドの寛解導入・維持効果が前向き臨床試験で証明されていることなどが明らかとなった。本邦では薬剤に関連した MC が大部分であり、治療指針策定のためには症例の集積が必要である。

#### A. 研究目的

Microscopic colitis (以下 MC) は長期間持続する水様性下痢を特徴とし、大腸上皮直下の粘膜固有層にリンパ球を主体とした炎症細胞浸潤がみられ、さらに collagenous colitis (CC) では肥厚した膠原線維束を伴う疾患である。本研究班において、平成 22 年度は自験例を解析し、平成 23 年度は本邦における MC の治療指針策定にむけて、欧米と本邦の文献的検索を行った。

#### B. 研究方法

2011 年 8 月までに MC、CC、lymphocytic colitis (LC) のいずれかの用語に治療の検索用語を加えた論文を検索した。

(倫理面への配慮)

文献の記述的解析であり、個人情報には検討対象ではないため、倫理面に問題はないと考えた。

#### C. 研究結果

##### 1) 薬剤と MC の関係

1990 年代以後、文献的には 20 種類以上の薬剤と MC の関係が報告されており、アカルボース、アスピリン、ランソプラゾール、NSAIDs、およびビラニチジンと MC の強い関係が示唆されてい

る。また、症例・対照研究によれば、CC では NSAIDs の使用が有意に高かったが、LC では NSAIDs よりも選択的セロトニン再吸収阻害薬の内服率が有意に高値を示している。最近では、プロトンポンプ阻害薬 (PPI) と MC の関係が目ざされている。本邦でも lansoprazole と CC との関係を示唆する症例が集積されている。欧州の地域一般住民における症例・対照研究では、lansoprazole 以外の PPI もオッズ比が高い。MC の一部は薬剤関連疾患である可能性が極めて高い。

##### 2) 欧米における MC の治療の現状と経過

MC に対する有効性が報告されているのは、止痢薬 (ロペラミド)、アミノサリチル酸製剤 (サルファサラジン、5-アミノサリチル酸 2-4g/日)、コレシスチラミン (4g/日)、ステロイド (プレドニン 10-60mg/日)、免疫調整薬 (アザチオプリン 2.0-2.5mg/kg/日、メソトレキセート 5-10mg/週) などである。

多数例の遡及的解析結果では、CC と MC のいずれにおいても止痢薬の有効率が高く、次いでコレスチラミンの有効例も多い。従って、軽症例ではこれらの薬剤で十分な治療効果が期待

できる。一方、メサラジンの有効率は50%前後であるが、ステロイドは80%以上の症例で奏功している。すなわち、慢性炎症性腸疾患と同様にMCでも難治例が存在し、全身ステロイド投与が有効と考えられる。

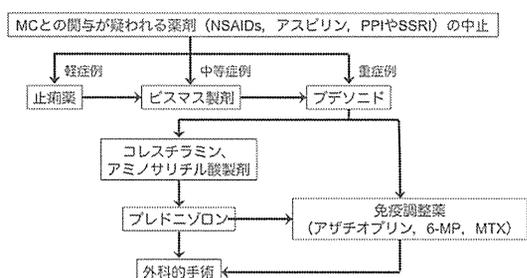
### 3) MCの治療に関する前向き研究

前向き比較試験で寛解導入効果が検討された薬剤は、ビスマス製剤、プレドニゾロン、ブデゾニド、インド草木 *Boswellia serrata* 抽出物、コレシスチラミン、プロバイオティクスなどである。寛解導入試験はいずれも9mg/日による6週ないし8週の試験であり、臨床症状と組織学的炎症細胞浸潤の程度は実薬群で有意に改善している。ただし、CCを対象とした試験では、膠原線維帯に改善はみられていない。一方、現時点でブデゾニドの緩解維持効果が検討されているのはCCを対象とした2つの試験のみであり、いずれも同薬の緩解維持効果が証明されている。さらに、メタ解析でもブデゾニドが緩解導入・維持効果を有し、プレドニゾロンのそれよりも高いことが確認されている。

### D. 考察

従来、欧米では止痢薬、ビスマス製剤、コレシチラミン、5-アミノサリチル酸、ステロイド、免疫調整薬の”step-up”療法が推奨されてきた。しかし、ブデゾニドの有効性が証明されたことから、図1に示すような治療方針が提唱されている。その基本は基礎疾患の治療、および発症や症状増悪に関与する薬剤や食餌要因を中止、あるいは除外することである。

(図1)



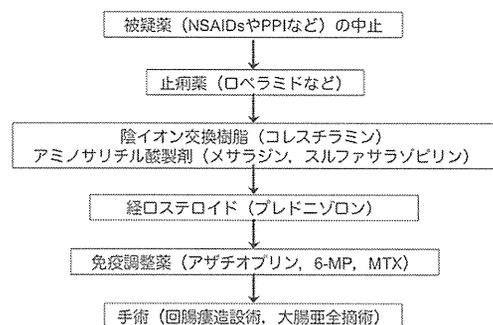
NSAIDs: 非ステロイド性消炎鎮痛薬。  
PPI: プロトンポンプ阻害薬。  
SSRI: 選択的セロトニン再吸収阻害薬。  
6-MP: 6-メルカプトプリン。  
MTX: メソトレキセート。

薬物療法として、軽症・中等症ではロペラミ

ドなどの止痢薬やビスマス製剤が推奨されているのに対し、重症例は早期よりブデゾニドの適応とされている。ブデゾニド不応例や再発例に対してはコレシチラミン、メサラジン、プレドニゾロンを試み、ステロイド依存例に対して免疫調整薬も選択可能としている。ただし、少量のブデゾニドは他の薬剤よりも寛解維持効果が高いので、再発例にはステロイドの副作用に留意の上、長期投与が推奨されている。なお、稀ながら上記治療に反応せず外科的治療が施行される症例も存在する。術式は回腸人工肛門造設術、あるいは全大腸切除回腸囊肛門吻合術が選択される。

近年、本邦においてもCCが増加したが、大部分は薬剤に関連した症例である。ところが、治療反応性の点から薬剤関連性MCは別個に取り扱われるべきとされる。一方、本邦ではLCの報告が皆無に等しく、その病態は未だ不明である。従って、現時点では欧米の治療方針を踏襲すべきである。しかし、ビスマス製剤とブデゾニドは本邦で使用できないので、暫定的な治療方針は図2に示すものが妥当であろう。本邦の治療方針を確立するためには、LCや薬剤に関連しないCCの集積と病態の解明が急務と思われる。

(図2)



### E. 結論

本邦MCの治療指針は、欧米のそれに準じることが妥当と思われる。まず、薬剤起因性のMCを疑い、可能性のある薬剤の中止が治療の第一歩と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

松本主之 : microscopic colitis のすべて.  
治療指針の策定にむけて. 武藤徹一郎、杉原健一、藤盛孝博、五十嵐正広、渡辺聡明、編. 大腸疾患 Now. 日本メディカルセンター、東京、pp52-57, 2012.

梅野淳嗣、松本主之 : Microscopic colitis の新知見. 林紀夫、日比紀文、上西紀夫、下瀬川徹、編. Annual Review 2012. 中外医学社、東京、pp58-64, 2012

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
難治性腸管吸収障害 Microscopic Colitis に関する調査研究  
分担研究報告書

Microscopic colitis の病態の解明に向けて  
-Microscopic Colitis マウスモデル確立にむけて-

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: Th2 型免疫反応を起こしやすい BALB/c マウスに OVA (卵白アルブミン) で感作することにより、microscopic colitis に類似したアレルギー大腸炎の実験モデルが作成できるかどうか検討した。アレルギー性の下痢は惹起できたものの特徴的所見であるコラーゲン線維の増生やリンパ球浸潤の亢進は認められず、microscopic colitis は管腔からの抗原に対する単純なアレルギー反応ではないと考えられた。

#### A. 研究目的

Microscopic colitis はその特徴的な病理所見から、コラーゲン様大腸炎 (collagenous colitis) およびリンパ球性大腸炎 (lymphocytic colitis) の両者を包含する独立した炎症性大腸疾患概念として報告されており、他の潰瘍性大腸炎やクローン病などの非特異性大腸炎とは異なるとされているが、その発症機序については不明であり、その病因、病態に関する解明が待たれる。潰瘍性大腸炎やクローン病では腸管免疫の制御機構の破綻が病態と密接にかかわることが想定されているが、Microscopic colitis においても腸管免疫の何らかの変化が疾病の発症に関与していることが考えられる。

昨年度において、我々は長期にわたるアスピリン服用をベースとして感染症の罹患およびプロトンポンプ阻害薬の服用を契機に Microscopic colitis を発症した症例を経験し、この病態を実験動物レベルで再現できないかをみる目的でアレルギーを発症しやすいマウスモデルを用いて、Microscopic colitis 様の病理組織学的変化を腸管に惹起できないかについて検討した。すなわち、Vbeta8+NKT 細胞を欠損し、Conventional 環境下 (SPF 環境) において、アトピー性皮膚炎発症する NC/Nga マウスを実験に用い、NC/Nga マウスに対し NSAID を連続して投与することにより、回腸末端に Th2 系サイトカイン増加を特徴とする肥厚性の

回腸炎を形成した。肥厚性回腸炎を示したマウスの一部では、絨毛でのコラーゲン増生が粘膜固有層に強く観察された。これらの成績は NC/Nga マウスにおける本実験が Microscopic colitis に類似した病理組織学的変化を腸管に惹起したとも言えなくはないが、一方、大腸に肉眼的に変化がみられなかったことより、また主に粘膜下層の肥厚を特徴としており、直接的な Microscopic colitis のモデルとは言えない。

しかし、もともと感受性のあるホストに、長期の NSAID s 服用を基盤として粘膜透過性亢進が生じて、アレルギー性の薬物障害を生じたのではないか? その危険因子や病像は有る意味で Microscopic colitis に類似していると考えられたので、本年度は、Th2 系の別のアレルギー大腸炎モデルにおいて、Microscopic colitis により類似した実験モデルが作成できるのではないかと考え、更に検討をおこなった。

#### B. 研究方法

Th2 型免疫反応を起こしやすいマウス種である BALB/c マウスを実験に用いた。本マウスを ovalbumin (OVA) で感作した後、OVA を経口投与すると下痢を起こすことが知られている。大腸に好酸球や肥満細胞の浸潤がみられ、IL-4 や IL-13 等の Th2 系を介したアレルギー性腸炎のモデルとして用いられている。(Kweon MN et al. Systemically derived large intestinal CD4+Th2 cells play a central role in STAT6-mediated allergic diarrhea. J Clin

Invest 106:199-2006, 2000)

そこで今回我々は、雄性 10 週齢の BALB/c マウスを用いた。マウスに OVA 1mg を皮下投与 (1 回/週×2 週間) して感作し、3 週目より OVA50mg を 3 回/週×5 週間にわたり胃管を用いて経口投与し下痢を惹起させた。コントロールマウスにおいては、感作後 OVA を投与させないものを用いた。

検討項目として体重の変化や便通について観察した。また回腸、近位大腸、遠位大腸の組織を採取し、Hematoxylin and Eosin(HE) 染色により炎症細胞浸潤の程度、絨毛高、陰窩の長さ、粘膜下層の肥厚について計測した。さらに Masson-Trichrome 染色により組織切片の染色を行い、下部消化管各所における粘膜固有層、粘膜下層におけるコラーゲン線維の増生の程度について検討を行った。

(倫理面への配慮)

マウスを用いての実験に関しては、防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認を得て施行し、実験操作は麻酔処置を行い、極力苦痛の軽減を行うよう配慮している。実験動物の飼育は当校実験動物飼育施設内で、空調設備、証明の時間制御の整った SPF 環境下で行い、清掃、餌水分補給を定期的に行った。また、毎年秋に実験動物慰霊祭を施行している

### C. 研究結果

OVA 群では OVA 感作後の OVA 経口投与により便回数の増加と下痢が惹起されたが、control 群と比較し、有意な体重減少は認められなかった。HE 染色により回腸、近位大腸、遠位大腸における浸潤細胞数、絨毛高、陰窩の長さ、粘膜下層の肥厚の程度を検討したが、control 群と比較して特に有意な差は認められなかった。

図 1-3 に小腸および大腸の組織切片の Masson-Trichrome 染色による染色結果を示す。図 1 に遠位大腸での比較を示す。興味深いことに BALB/c マウスにおいては上皮にはっきりとしたおよび粘膜下層に青染するコラーゲン線維を認めたものの、それは control 群においても認められ、OVA 群での顕著な増強は認められなかった。近位大腸(図 2)においても上皮下やとくに粘膜下層において青染するコラーゲン線維を認めたもののそれは control 群においても同様に認められ、OVA 群でとくに強い変化

を認めたわけではなかった。回腸(図 3)においては上皮にはっきりしたコラーゲン線維層はみられなかった。

### D. 考察

BALB/C マウスでは Th2 系が活性化されやすく、本モデルでも OVA 感作によりアレルギー性の下痢が惹起されたが、microscopic colitis の所見であるコラーゲン線維の増生やリンパ球浸潤の明らかな亢進は認められなかった。

本モデルでは、上皮の増生や潰瘍所見はみられないが、大腸の上皮層内での肥満細胞と好酸球浸潤をともない下痢を発症するモデルとして報告されている。本モデルでは著明な Th2 サイトカイン反応を惹起することが知られており、Microscopic colitis の臨床像と合致すると考えられたことより、コラーゲン線維の増生の有無を検討した。また、Kweon らの報告が比較的急性のアレルギーモデルであり、8-10 日後に検討しているのに対して、我々の今回の検討ではプロトコルを変え亜急性ないし慢性のモデルを想定して比較的長期(5 週間)での検討を行った点が異なっている。しかし、上皮層でのリンパ球を中心とする顕著な細胞浸潤は HE 染色でははっきりとみられなかった。同種のマウスにおいて施設間で OVA チャレンジへの感受性に差がある可能性もあると考えられた。

また、今回下痢は誘導できたが、残念ながら microscopic colitis の所見であるコラーゲン線維の増生やリンパ球浸潤の明らかな亢進は認められなかった。BALB/C マウスはもともと C57/BL に比べて、コラーゲン線維が大腸組織で目立つ特徴があり、その病的な差が出にくい可能性はある。またコラーゲン線維層の厚みが大きいストレインがあることもわかり、ヒトでもともと目立ちやすいサブグループが存在する可能性もあり、臨床的に気を付けなければいけない点であると考えられた。

今回の実験から、microscopic colitis は大腸における管腔からの(食事)抗原に対する単純なアレルギーではないといえる。この結果を踏まえて、更に条件を色々組み合わせる必要があると考えられた。来年度は、前年度に検討した NC/Nga マウス(自然発症皮膚炎モデルマウス)に NSAIDs を投与するモデルにたちか

えり、さらにランソプラゾール 50mg/kg を長期投与し、microscopic colitis のモデルとなりえるかどうかにつき検討予定である。

#### E. 結論

Microscopic colitis に類似したコラーゲンの増生を認める実験的大腸炎モデルをマウスで作成することを目的に、臨床的に大腸性の下痢を惹起する OVA 感作後の OVA 経口投与によりアレルギー性大腸炎のモデルでの組織学的な相同性を検討した。その結果下痢は誘導できたが、残念ながら microscopic colitis の所見であるコラーゲン線維の増生やリンパ球浸潤は認められなかった。このことから、microscopic colitis は大腸における管腔からの（食事）抗原に対する単純なアレルギーではないと結論できる。

#### 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
2. Miura S, Sugano K, Kinoshita Y, Fock KM, Goh KL, Gibson P: Asian-Pacific Topic Conference organized by Japanese Society of Gastroenterology and Asian Pacific Association of Gastroenterology.
3. Diagnosis and treatment of functional gastrointestinal disorders in the Asia-Pacific region: a survey of current practices. *J Gastroenterol Hepatol.* 26 (Suppl 3): 2-11, 2011
4. 3. 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

5. 三浦総一郎、岡田義清、上田俊秀、八月朔田秀明、穂苅量太：Microscopic colitis の病態の解明に向けて一疾患モデル確立の試み、大腸疾患 NOW2012 日本メディカルセンター 58-62, 2012
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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-、日本臨牀増刊 60：1180-1184, 2011
12. 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
13. 八月朔田秀明、穂苅量太、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
14. 高本俊介、三浦総一郎：IBS の病態、GI Research 19：114-118, 2011
15. 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
16. 佐藤伸悟、穂苅量太、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
17. 東山正明、穂苅量太、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 巻、58-61, 2011
  18. 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
  19. 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
  20. 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
  21. 渡辺知佳子、三浦総一郎：吸収不良症候群、消化器疾患最新の治療 2011-2012、菅野健太郎、上西紀夫、井廻道夫編、南江堂、187-190, 2011
  22. 穂苅量太、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
  23. 穂苅量太、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
  24. 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
  25. 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
  26. 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
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: Asain Pacific Digestive Disease Week 2011. Singapore, , 2011年10月1日-4日
    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 sweetner creates a synergy on the intestinal glucagon-like peptide (GLP-2) secretion. In: Digestive Disease Week. Chicago, USA, 2011年5月7日-10日
    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年5月7日-10日
    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年5月7日-10日
    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年5月7日-10日

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年5月7日-10日
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年5月7日-10日
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年5月7日-10日
9. 上田俊秀、穂苺量太、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年11月18日-19日、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年11月12日
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年11月4日-6日
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年10月20日-23日
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  $\omega$ 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年10月8日
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年10月8日
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年9月17日-18日
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年7月21日-22日
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年6月3日-4日
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年5月13日-15日

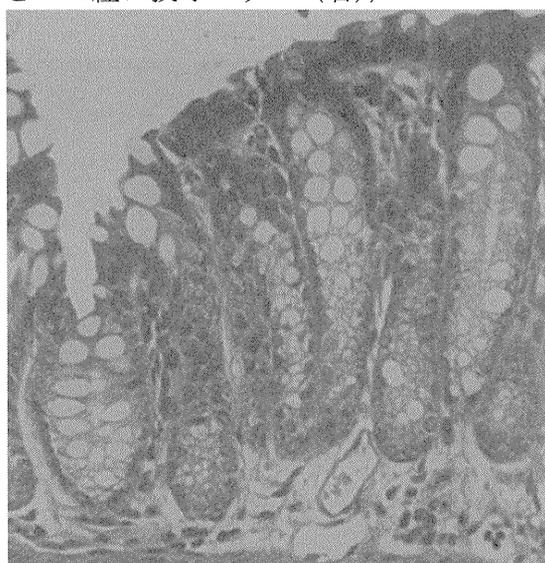
19. 上田俊秀、穂苺量太、東山正明、栗原千枝、岡田義清、八月朔日秀明、佐藤伸悟、渡辺知佳子、高本俊介、富田謙吾、中村光康、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎：脂肪摂取の小腸NSAID潰瘍における白血球マイグレーションへの影響について、ミニシンポジウム：小腸粘膜障害，第97回日本消化器病学会総会、東京、2011年5月13日-15日
20. 岡田義清、都築義和、上田俊秀、東山正明、八月朔日秀明、佐藤伸悟、穂苺量太、栗原千枝、渡辺知佳子、中村光康、富田謙吾、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎：伝統的発酵食品中に存在するプロバイオティクスの大腸炎抑制作用、ミニシンポジウム：大腸IBD病態4，第97回日本消化器病学会総会、東京、2011年5月13日-15日
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年5月13日-15日
22. 三浦総一郎：教育講演：小腸の病態における脂肪吸収の影響、第14回日本病態栄養学会年次学術集会、横浜、2011年1月15日-16日
23. 高本俊介、渡辺知佳子、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、穂苺量太、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年1月15日-16日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

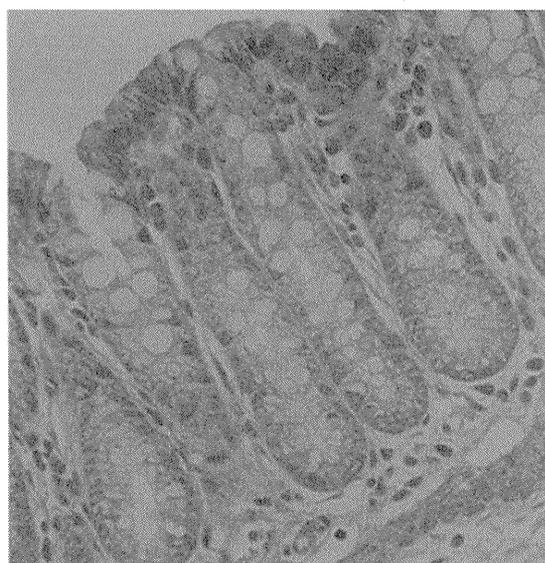
(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録なし
3. その他 なし

図1. Masson- Trichrome 染色による遠位大腸粘膜の組織像比較 (コントロール (左) と OVA 経口投与マウス (右))

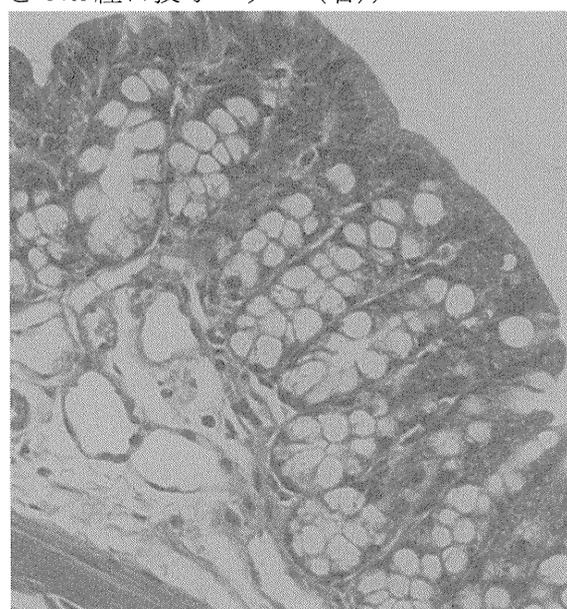


コントロール(遠位大腸)

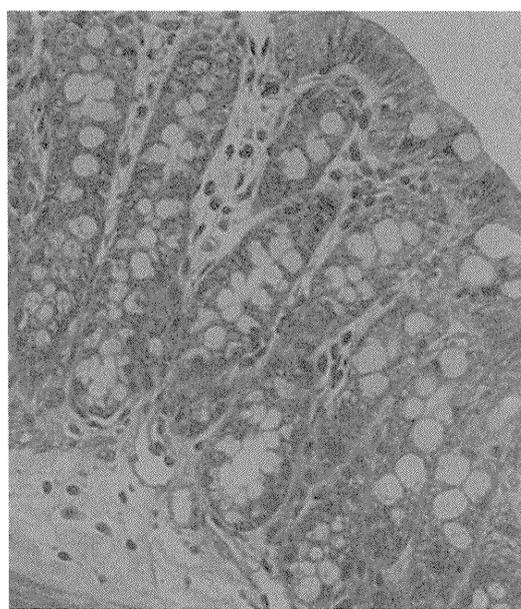


OVA投与群(遠位大腸)

図2. Masson- Trichrome 染色による近位大腸粘膜の組織像比較 (コントロール (左) と OVA 経口投与マウス (右))



コントロール(近位大腸)

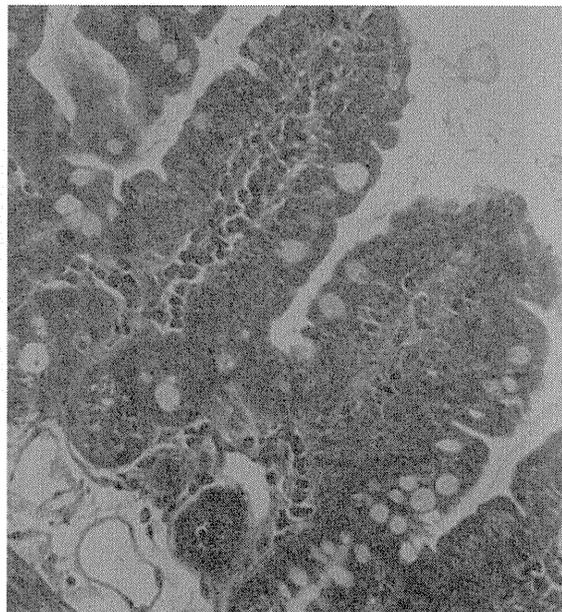


OVA投与群(近位大腸)

図3. Masson-Trichrome 染色による回腸粘膜の組織像比較 (コントロール (左) と OVA 経口投与マウス (右))



コントロール(回腸)



OVA投与群(回腸)

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
難治性腸管吸収障害 Microscopic Colitis に関する調査研究  
分担研究報告書

小腸生検検体を用いた Microscopic Colitis 病態解明

研究分担者 土屋 輝一郎 東京医科歯科大学医学部附属病院 消化器内科 講師

研究要旨： Microscopic Colitis (以下 MC) は原因不明の難治性腸疾患であり、症状が重篤な場合でも所見が微細であることから、病因だけでなく疾患概念、診断基準さえも確立されていない。そのため従来と異なり、臨床症状、内視鏡所見などの検査所見から疾患概念を確立することが非常に困難な状況にある。そこで本研究班では、分子生物学的アプローチにより MC の病因、特徴的な病態を解明することで、疾患概念、診断基準、治療法の開発を試みることを目的としている。これまで我々は腸管上皮細胞の分化・機能制御を詳細に解析することで炎症性腸疾患の病態を明らかにしてきたことから同様の手法を用いて MC の病態を解析している。特に小腸病変に関しては MC でも存在することが指摘され、これまで全く明らかにされていないヒト小腸上皮細胞の機能制御を中心に解析を行った。本年度はダブルバルーン内視鏡にて全小腸のマッピング生検を行い、RNA と DNA を採取し上皮細胞の発現遺伝子と粘膜付着大腸菌の網羅的検索を行った。

A. 研究目的

小腸は全長 6m、表面積はテニスコートと同じ大きさとなり体内で最大の器官であること、器官内の組織は均一でなく部位により細胞構成、機能が異なること、常に異なる食餌抗原、腸内細菌により暴露されていること、パイエル板などの免疫器官も有し体内で最大の免疫装置で有するという非常に複雑な多機能器官である。さらに小腸は「暗黒大陸」と表現されるほど検査法がないため基本的な小腸構造・機能・病態の理解が全くされず、小腸の経時的かつ空間的な機能制御を理解することはこれまで不可能であった。

しかし本邦で開発されたダブルバルーン小腸内視鏡により全小腸の観察、生検、内視鏡的治療等で小腸病変の経時的、空間的評価が可能となりクローン病などの小腸を主座にする疾患に関して診断、治療などに有用されている。その一方で、内視鏡観察にて予想以上に小腸に病変が多く、その背景疾患に関してクローン病以外にもベーチェット病、アミロイドーシス、高安病、SLE、GVHD などの特定難治性疾患に小腸病変が付随し腹痛、下血、吸収不良など患者の QOL に直結する症状を

呈する場合が多いことが指摘されている。さらに MC においても小腸に病変を指摘されて始めている。以上の現況から小腸の構造・機能制御の理解が必要であり病変における制御破綻機構を解明することが急務である。

そこで申請者は小腸疾患患者の全小腸粘膜をマッピングすることで小腸機能を空間的、経時的に解析することが可能であると考え、本研究計画では 1) 小腸上皮細胞構成成分解析、2) 粘膜内リンパ球解析、3) 遺伝子発現解析を大規模に網羅的に施行することで小腸疾患の病態理解、新規診断法・治療法開発の基盤を創成することを目的とする。具体的には小腸内視鏡にて小腸粘膜を病変部だけでなく全腸のマッピング生検を施行し、採取した検体は部位別に病理学解析、免疫組織学的解析、小腸発現遺伝子発現解析を行うことで、小腸上皮細胞分化、機能制御機構、免疫制御機構を空間的に理解する。

B. 研究方法

研究環境として本研究は東京医科歯科大学施設内の消化器病態学研究室、医学部附属病院、疾患モデルセンターで施行され、研究計画を遂行す

るための設備は全て整っている。

本研究は研究協力者を組織し遂行する。

#### 1) 生検検体採取および内視鏡所見の集約

当施設光学医療診療部およびMC班員の病院

- 2) 病理学的解析 当大学 人体病理学講座
- 3) 遺伝子発現解析 当大学 消化器病態学講座
- 4) 免疫制御解析 当大学 消化管先端治療学
- 5) 免疫組織学的解析 当大学消化管先端治療学の分担により各スタッフおよび大学院生が実行する。

具体的な施行方法として内視鏡所見上小腸を5区域(空腸2区域、回腸3区域)に分けて、それぞれダブルバルーン内視鏡にて生検を施行する。病理組織用、免疫染色用、遺伝子発現用に一カ所ごとに3個生検し、それぞれパラフィン固定、ホルマリン固定後OCT包埋、RNA精製試薬処理を行い、室温または冷凍庫に保存する。

目標症例として正常人50例、250検体、MC患者20例、100検体とする。

当該年度は正常小腸検体の網羅的解析による正常小腸構造、機能制御を理解する。

解析方法としては以下に記載のごとく行う。

#### 1) ヒト小腸粘膜分化・機能機構解析

##### i) 正常小腸粘膜生検検体による細胞種、機能タンパク発現解析

各部位において下記のごとく発現解析を行う。

- 粘膜形態(HE染色)細胞増殖解析(Ki-67染色)
- 分化マスター遺伝子(Hath1染色)
- 細胞種類解析

杯細胞、内分泌細胞、パネート細胞、吸収上皮

- 細胞の特異蛋白の染色

Wntシグナル解析(Wnt染色、 $\beta$ -catenin染色、c-myc染色)、Notchシグナル解析(Notch細胞内ドメイン染色、HES1染色、Musashi-1染色)

として評価し、部位別特徴の有無を検討し分化機構、発現タンパクの差異から機能制御機構を理解する。

さらに各検体のRNAを用い、上記遺伝子の発現変化をRT-PCRにより確認すると共に、マイクロアレイ解析を施行し網羅的に遺伝子発現を解析し

部位別特徴を把握する。

##### ii) MC患者における腸管機能評価

MCの症状、病変部位、重症度などの臨床情報を検討し、内視鏡所見と併せ生検検体を採取し上記項目に置いて同様に解析を行い、正常との差異を解明する。またマイクロアレイ解析を用いて、正常人と同部位における網羅的に遺伝子の差異を明らかとする。さらに治療後内視鏡にて再検査し、生検検体を同様に解析し、治療法、治療抵抗性と併せて考慮することで予後予測因子を探索する。

#### 2) 小腸間質及び上皮内リンパ球組成解析

##### A) 正常小腸組織におけるリンパ球性状解析

上記小腸検体の固定標本を用い、粘膜下及び上皮内リンパ球の組成を下記の染色にて解析する。

T細胞(CD4, CD8, FoxP3)、B細胞(IgG, IgM, IgA, IgE)マクロファージ(CD11c)、サイトカイン(IL-7, IL-6, IL-8)についてそれぞれ解析し評価する。

さらにパイエル板を生検しリンパ球性状解析を行う。

また小腸生検検体をコラゲナーゼ処理にてリンパ球を分離し、FACSにて表面マーカー解析を行う。Foxp3陽性の抑制性リンパ球を分離し抑制効果をin vitroで確認し、抑制リンパ球の機能制御を解析する。

##### B) MC患者における腸管機能評価

小腸疾患患者において同様の解析を行い、正常と比較してリンパ球の組成の差異、機能異常を抽出する。また潰瘍の病変部位の違いにおける性状の差異を明らかとする。

(倫理面への配慮)

申請者らがヒトの細胞および組織を用いた研究にあたっては、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、人権及び利益の確保を下記のように行うよう配慮する。検体の提供に関しては「小腸びらん・潰瘍病変に関する研究」として申請し、当学の倫理審査委員会で、研究の適否などを議