

肝炎再活性化に関する調査研究

「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」の研究分担者および研究協力者の施設に研究協力を依頼し、同意の得られた施設に埼玉医科大学倫理委員会にて承認された臨床研究「消化器疾患に対する免疫抑制療法によるB型肝炎ウイルス再活性化の検討」の研究計画書を送付し、各施設の倫理委員会に研究計画を申請した。

C. 研究結果

1. 炎症性腸疾患患者におけるHBV持続感染およびHBV既往感染の実態

(1) 患者背景

潰瘍性大腸炎 33 例、クローン病 41 例であった。潰瘍性大腸炎症例は年齢(平均±SD) 48.0±19.7 歳、男：女 23：10、全大腸/左側大腸/直腸 25/6/2 であり、治療内容はステロイド 12 例 (36.3%)、AZA・6-MP 13 例 (39.3%)、タクロリムス 7 例 (21.1%)、生物学的製剤 3 例 (9.0%) であった。クローン病例では年齢(平均±SD) 37.8±13.5 歳、男：女 21：20、小腸/大腸/小腸大腸 9/4/28 であり、治療内容はステロイド 4 例 (9.8%)、AZA・6-MP 19 例 (46.3%)、生物学的製剤 33 例 (80.5%) であった。

(2) HBVキャリアおよび既往感染の実態

HBVキャリアは潰瘍性大腸炎およびクローン病において各 1 例(計 2 例)にみられた。いずれの症例においても核酸アナログ製剤(エンテカビル)が投与され、血中 HBV-DNA は検出感度未満となり、肝機能異常はみられずに経過していた。HBV 既往感染は潰瘍性大腸炎 6 例(18.2%)、クローン病 3 例(7.3%)の計 9 例(12.2%)にみられた。これら 9 例は HBs 抗原陰性・HBs 抗体陽性 HBV キャリア例(既往感染)と考えられる 38 歳の潰瘍性大腸炎例を除いた 8 例全てが 50 歳超であった。9 例中 5 例で免疫調節薬あるいは生物学的製剤が投与されていたが、HBV-DNA は全例で検出感度未満であった。

2. 炎症性腸疾患患者における免疫抑制療法中の B 型肝炎再活性化に関する調査研究

(1) 研究計画

副腎ステロイド(プレドニン換算 0.5 mg/kg 以上)、

免疫調節薬または生物学的製剤を投与されている炎症性腸疾患およびベーチェット病患者のうち、HBV 既往感染者を対象とした。治療開始前のみならず治療開始後に HBs 抗原、HBc 抗体ないし HBs 抗体が測定された HBV 既往感染者も登録可能とした。目標症例数は 150 例とし、治療中治療後に血中 HBV-DNA 量を月 1 回測定し、HBV-DNA 量>2.1 LC/mL で核酸アナログ製剤(エンテカビル)を投与する計画とした。

(2) 研究組織の構築

「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」の研究分担者および研究協力者の施設に研究協力を依頼し、34 施設からの研究参加が得られた。うち 7 施設では 2012 年 12 月時点で倫理委員会の承認が得られ、1 例が登録された。

D. 考察

本邦における 40~50 歳超の HBc 抗体陽性者は約 25%と報告されている。本研究では HBc 抗体陽性率(HBV キャリア+HBV 既往感染)は潰瘍性大腸炎 21.2%、クローン病 9.7%と潰瘍性大腸炎でより高率であった。潰瘍性大腸炎ではクローン病よりも平均年齢が約 10 歳より高齢であり、これは 40 歳超で高率に HBc 抗体陽性率が上昇する本邦の現状を反映していることが考えられた。一方、HBs 抗原陽性のキャリア 2 例では既に核酸アナログ製剤が投与され、HBV-DNA が検出感度未満となっており、免疫調節薬または生物学的製剤による HBV 再活性化はみられていない。また、HBV 既往感染者 9 例全例で血中 HBV-DNA は検出されておらず、免疫調節薬または生物学的製剤が投与されている 5 例においても HBV 再活性化はみられていない。

炎症性腸疾患は関節リウマチに比してより若年者に多く発症し、HBV 既往感染者の頻度が低いものと考えられ、HBV 再活性化の頻度もより低くなることが推測される。しかし、HBV の母子感染予防対策が施行された 1984 年以前の出生者では HBV キャリアとなっている可能性、また高齢発症の潰瘍性大腸炎が増加している現状から、免疫調節薬および生物学的製剤による HBV 再活性化の現状を明らかとして、HBV 再活性化への対策の啓蒙が必要と考えられた。

E. 結論

炎症性腸疾患患者における HBc 抗体陽性率 (HBV キヤリア+HBV 既往感染) は15%であった。炎症性腸疾患患者における免疫抑制療法中の B 型肝炎再活性化に関する調査研究を通して HBV 再活性化の現状を明らかにして、その対策を確立する必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Oketani M, Ido A, Uto H, Tsubouchi H. Prevention of hepatitis B virus reactivation in patients receiving immunosuppressive therapy or chemotherapy. Hepatol Res 2012; 42: 627-636.

2. 学会発表

(1) 井戸章雄, 桶谷 眞, 坪内博仁. パネルディスカッション 14 急性肝不全: 新たな定義とこれに準拠した診療の展望 「B 型肝炎ウイルス再活性化による劇症肝炎の現状」. 第 16 回日本肝臓学会大会 (JDDW 2012), 2012 年 10 月 (神戸)

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

多施設共同観察研究 炎症性腸疾患に合併する自己免疫性膵炎の実態調査
—難治性膵疾患に関する調査研究班との共同研究—

研究分担者 岡崎 和一 関西医科大学内科学第三講座 教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎（ulcerative colitis;UC）やクローン病（Crohn's disease;CD）は原因不明の慢性腸炎であるが、時に種々の腸管外病変を合併する。その中で、合併頻度は低いものの、膵炎は生命予後に関連することが多いため、的確な診断・治療が求められる。1次調査に参加協力した58施設から自己免疫性膵炎の疾患概念が提唱された1995年以降の炎症性腸疾患に合併した膵病変症例249例中急性膵炎は150例（60%）、慢性膵炎は56例（22.5%）、自己免疫性膵炎は42例（17%）であり、自己免疫性膵炎の合併は少なからず認められた。

共同研究者

渡辺 守²、川 茂幸³、下瀬川 徹⁴

（東京医科歯科大学消化器病態学²、信州大学医学部内科学第二講座³、東北大学消化器内科⁴）

A. 研究目的

炎症性腸疾患における腸管外病変のひとつに膵炎の合併がある。その中で好中球病変を呈するtype2 AIPの臨床的特徴として炎症性腸疾患を高率に合併することが指摘されている。炎症性腸疾患は症例数が多く、従ってこれらに合併する自己免疫性膵炎の検索により、好中球病変を呈するtype2 AIPの詳細な実態調査が施行可能になると予想される。本研究では「炎症性腸疾患に合併する自己免疫性膵炎の実態調査」を施行することにより、好中球病変を呈するtype2 AIPに合併する炎症性腸疾患の実態を明らかにすることを目的とする。本研究では炎症性腸疾患あるいは自己免疫性膵炎を多く診療している施設を対象とし、厚生労働省難治性疾患克服研究事業難治性膵疾患に関する調査研究班（研究代表者 下瀬川徹）との共同調査を計画する。

B. 研究方法

1) 対象

共同研究施設において、潰瘍性大腸炎、クローン病確診例に合併する膵病変のうち、画像検査US、CT、MRI

で急性膵炎、慢性膵炎、自己免疫性膵炎の所見を呈する症例。対象の期間は自己免疫性膵炎の疾患概念が明らかとなった1995年から2011年。さらに上記の症例のなかから組織所見が検討可能な症例を別に集積し、好中球病変（idiopathic duct-centric chronic pancreatitis (IDCP)あるいはgranulocyte epithelial lesion (GEL)）を含めた組織所見について検討する。

2) 方法

① 一次調査

封書により、上記の条件に該当する症例数、さらに手術症例と生検症例の内訳を調査する。

② 二次調査

炎症性腸疾患に合併する膵病変については、該当症例を有する共同研究施設に臨床調査票を送付する。膵組織所見も検討可能な症例については、該当症例を有する共同研究施設に臨床調査票と病理組織スライド切片送付用のフォルダーを送付する。

（倫理面への配慮）

プロジェクトの遂行に当たっては、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」などに準じて臨床調査票は個人情報管理者の管理のもと各共同研究施設において連結可能匿名化を行なった後、各施設の共同研究者が調査票に臨床情報を記入し、臨床情報解析施設に返送する。病理組織スライド切片は個人情報管理者の管理のもと各共同研

究施設において連結可能匿名化を行なった後、各施設の共同研究者が組織検体解析施設へ送付する。

C. 研究結果

① 一次調査

表1の58施設が1次調査に参加協力した。

表1(1) 1次調査協力施設

旭川医科大学病院	東京医科歯科大学病院
札幌医科大学病院	慶應義塾大学病院
札幌厚生病院	東邦大学医療センター 佐倉病院
弘前大学病院	東京大学医科学研究所病院
秋田赤十字病院	大船中央病院
東北大学病院	防衛医科大学校病院
東北労災病院	帝京大学病院
新潟市民病院	兵庫医科大学 病院
新潟大学病院	横浜市立市民病院
金沢大学附属病院	横浜市立大学病院
日本鋼管病院	横浜市立大学附属市民総合医療センター
こうかんクリニック	東京慈恵会医科大学病院
癌研有明病院	東京女子医科大学病院
群馬大学医学部	北里大学病院
千葉大学医学部附属病院	聖路加国際病院

表1(2) 1次調査協力施設

愛知医科大学病院	関西医科大学病院
名古屋市立大学病院	大阪医科大学附属病院
藤田保健衛生大学病院	大阪市立大学医学部
名古屋大学病院	大阪府立急性期総合医療センター
滋賀医科大学病院	大阪市立住吉市民病院
福岡大学筑紫病院	川崎医科大学病院
京都大学病院	広島大学病院
京都府立医科大学病院	岡山大学病院
奈良県立医科大学病院	島根大学病院
大阪大学大学院	九州大学病院
大阪鉄道病院	福岡大学筑紫病院
錦秀会 インフュージョンクリニック	久留米大学病院
慈愛会 今村病院	鹿児島大学病院
若草第一病院	琉球大学病院

② 炎症性腸疾患に合併する自己免疫性膵炎の実態調査 (一次調査結果)

炎症性腸疾患に合併した膵病変症例 249 例中急性膵炎は150例(60%)、慢性膵炎は56例(22.5%)、自己免疫性膵炎は42例(17%)であった(表2)。

表2. 炎症性腸疾患に合併する自己免疫性膵炎の実態調査 一次調査結果

症 例	症例数
炎症性腸疾患に合併した膵病変症例	249
急性膵炎	150
慢性膵炎	56
自己免疫性膵炎	42
膵組織所見を検討可能な症例	29
手術	2
生検	27

D. 考察

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis;UC) やクローン病 (Crohn's disease;CD) は原因不明の慢性腸炎であるが、時に種々の腸管外病変を合併する。その中で、合併頻度は低いものの、膵炎は生命予後に関連することが多いため、的確な診断・治療が求められる。IBD 患者における膵炎の合併については、潰瘍性大腸炎患者の剖検膵の14%に肉眼的異常を、53%に病理組織学的に異常を認めたことが Ball ら (1950 年) により最初に報告された。臨床的には急性膵炎に比して慢性膵炎の合併症例はまれであるとされている。時に、治療薬剤が原因のこともあるが、多くの症例で原因は不明であり、その発症には複数の因子が関わっていると考えられる。また、最近、新規疾患概念として確立された自己免疫性膵炎の中で、わが国では極めてまれであるが、欧米に多く認められる 2 型自己免疫性膵炎 (type 2 AIP) は、好中球上皮病変 (granulocytic epithelial lesion;GEL) を特徴とし病理学的には idiopathic duct-centric chronic pancreatitis (IDCP) と称され、しばしば潰瘍性大腸炎の合併し、その関連性に注目されている。今回の一次調査では、炎症性腸疾患に合併した膵病変症例 249 例中急性膵炎は150例(60%)、慢性膵炎は56例(22.5%)、自己免疫性膵炎は42例(17%)であったことから、自己免疫性膵炎の合併が少なからず占めることが明らかとなった。今後、二次調査により、詳細な解析が待たれる。

E. 結論

炎症性腸疾患に合併した膵病変症例 249 例中急性膵炎は 150 例 (60%)、慢性膵炎は 56 例 (22.5%)、自己免疫性膵炎は 42 例 (17%) であり、自己免疫性膵炎の合併は少なからず認められた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

- 論文発表
 - Matsushita M, Fukata N, Omiya M, Okazaki K. Absence of Large Ulcers Indicate That Viral Therapy is Not Necessary in Cytomegalovirus Infection in Ulcerative Colitis. J Clin Gastroenterol. 2013 Jan;47(1):90-1.
 - Ando Y, Yang GX, Tsuda M, Kawata K, Zhang W, Nakajima T, Tsuneyama K, Leung P, Lian ZX, Okazaki K, Ridgway WM, Norman GL, Ansari AA, He XS, Coppel RL, Gershwin ME. The immunobiology of colitis and cholangitis in interleukin-23p19 and interleukin-17A deleted dominant negative form of transforming growth factor beta receptor type II mice. Hepatology. 2012 ;56(4):1418-26.
 - Nakajima A, Fukui T, Takahashi Y, Kishimoto M, Yamashina M, Nakayama S, Sakaguchi Y, Yoshida K, Uchida K, Nishio A, Yodoi J, Okazaki K. Attenuation of indomethacin-induced gastric mucosal injury by prophylactic administration of sake yeast-derived thioredoxin. J Gastroenterol. 2012 ;47(9):978-87
 - 岡崎和一、深田憲将、大宮美香、岡崎 敬、栗島 亜希子、松下光伸 IBDとリンパ増殖性疾患 IBD Research 2012 : 6212-219
 - Yamashina M, Nishio A, Nakayama S, Okazaki T, Uchida K, Fukui T, Okazaki K. Comparative Study on Experimental Autoimmune Pancreatitis and Its Extrapancreatic Involvement in Mice. Pancreas. 2012;41:1255-62.

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。)

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他

炎症性腸疾患患者の妊娠出産における現状とその対策

研究分担者 三浦 総一郎 防衛医科大学校 学校長

研究要旨：炎症性腸疾患患者の妊娠転帰における免疫調整剤や生物学的製剤の与える影響を retrospective に調査し、9施設52名の患者から返信を受信した。同薬剤の使用群と非使用群で現在のところ明らかな差異を認めていない。同様に prospective に調査する目的でプロジェクトチームをつくり研究計画を策定しその検討を開始した。

共同研究者：

穂苅量太、高本俊介¹、長堀正和、渡辺守²、松岡克善、長沼誠、日比紀文³、本谷聡⁴、樋田信幸、松本誉之⁵、国崎玲子⁶、吉村直樹⁷、飯塚文瑛⁸、藤盛健二⁹、猿田雅之¹⁰、谷田諭史¹¹、藤山佳秀¹²、内藤裕二¹³、渡辺憲治¹⁴、飯島英樹¹⁵、上野義隆、田中信治¹⁶、石原俊治¹⁷、杉田昭¹⁸、池上幸治、松本主之¹⁹、仲瀬裕志²⁰、岡崎和一²¹、石黒陽²²、松本吏弘²³、嵩山敏男²⁴、小林清典²⁵、横山薫²⁵、松井敏幸²⁶、加賀谷尚史²⁷（順不同）（1 防衛医科大学校内科、2 東京医科歯科大学 消化器内科、3 慶應義塾大学医学部 消化器内科、4 札幌厚生病院 IBD センター、5 兵庫医科大学 内科学下部消化管科、6 横浜市立大学消化器内科、7 社会保険中央総合病院 内科、8 東京女子医科大学 IBD センター（消化器内科）9 埼玉医大消化器肝臓内科、10 慈恵会医科大学付属病院 消化器・肝臓内科、11 名古屋市立大学病院 消化器内科、12 滋賀医科大学 消化器内科、13 京都府立医科大学 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 広島大学病院 内視鏡診療科、17 島根医科大学 消化器内科、18 横浜市民病院外科、19 九州大学病院 消化器内科、20 京都大学消化器内科、21 関西医大消化器肝臓内科、22 弘前大学光学医療科、23 さいたま医療センター消化器科、24 鹿児島大学医学部付属病院 消化器内科、25 北里大学東病院消化器内科、26 福岡大学筑紫病院 消化器内科、27 金沢大学附属病院 消化器内科）

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎・クローン病の多くは若年で発症し、女性は経過中に妊娠・出産を経験する年齢となる。したがって、病気の影響と治療薬の影響を懸念し、妊娠への希望に少なからず影響を与えている可能性が考えられる。また、妊娠した際、治療の選択に影響を与える可能性もある。欧米のデータでは炎症性腸疾患と妊娠経過について影響を与える最大因子は疾患活動性であり、ほとんどの治療薬に関しては妊娠経過に影響しないとする報告がある。炎症性腸疾患で用いられる生物学的製剤や免疫調整剤の副作用は人種差を考慮すべきであるが、本邦での実態調査は殆どおこなわれておらず、患者から妊娠に関する質問を受けた場合は欧米のデータをもとに説明が行われているのが現状である。女性の炎症性腸疾患患者を調査し、生物学的製剤や免疫調整剤の使用者と非使用者において妊娠転機に差異があるか本邦で検証することを目的とした。

B. 研究方法

Retrospective 研究は、症例は妊娠期間中、生物学的製剤や免疫調整剤のいずれか、または併用された患者とし、対照は、炎症性腸疾患患者で妊娠推定日6ヶ月前～妊娠期間中に生物学的製剤や免疫調整剤のいずれも使用されなかった患者とした。症例・対照比は1：1とし後ろ向きに調査することとした。妊娠期間中の疾患活動性を医師記入用調査票（1）にて調査し、妊娠転帰につき自記式質問票（2）にて患者さんに記入を依頼した。

(倫理面への配慮)

多施設共同研究に関しては各施設でインフォームドコンセントを得て行う。個人情報の扱いには充分配慮し、本研究への参加が自由意志で行われ、参加しなくても不利益を得ない点を明確にする。患者アンケートは第三者への郵送を行い、主治医へ情報が伝わらないよう配慮する。

C. 研究結果

Retrospective研究は、9施設52名の患者から返信を受理した。同薬剤の使用群と非使用群で現在のところ明らかな差異を認めていない。同様にprospectiveに調査する目的でプロジェクトチームをつくり研究計画を策定しその検討を開始した。

D. 考察

妊娠期間中の疾患活動性を厳密に検討した報告は少なく、新たな知見が期待できる。妊娠転帰は自記式質問票に患者さんに記入いただき解析施設に郵送するためプライバシーが守られる。

E. 結論

妊娠患者の生物学的製剤や免疫調整剤で加療された患者の妊娠転帰を明らかにする本邦初の臨床試験を立案し、開始した。さらに症例を蓄積中である。またprospective研究計画を策定した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miura S, Hokari R, Tsuzuki Y. Mucosal Immunity in gut and lymphoid cell trafficking. *Annals of vascular Diseases*. 2012 Sep; 5: 275 - 281.
2. 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 ameliorated dextran sodium sulfate-induced murine colitis. *J Leukoc Biol*. 2012 Jun; 91 (6): 901 - 909.
3. Higashiyama M, Hokari R, Kurihara C, Ueda T, Watanabe C, Tomita K, Komoto S, Okada Y, Kawaguchi

A, Nagao S, Miura S. Indomethacin-induced small intestinal injury is ameliorated by cilostazol, a specific PDE-3 inhibitor. *Scand J Gastroenterol*. 2012 Sep; 8-9 (47): 993-1002.

4. 穂苅量太、渡辺知佳子、高本俊介、三浦総一郎: 妊娠・出産と炎症性腸疾患、*Pharma Medica* 30:47-50, 2012. 09

2. 学会発表

1. Kurihara C, Hokari R, Ueda T, Sato S, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Watanabe C, Tomita K, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Macrophages pre-exposed to heat-killed feces show hyporesponsiveness to mRNA expression of inflammatory cytokines induced by fatty acids exposure. In: The 6th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium 2012. 01. 28, Tokyo
2. Kurihara C, Hokari R, Ueda T, Sato S, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Modulation of cytokine mRNA expression in intestinal macrophages through liver X receptor-alpha. *Digestive DiseaseWeek 2012 San Diego*, 2012. 05. 19-22.
3. Narimatsu K, Hokari R, Ueda T, Sato S, Hozumi H, Sato H, Kurihara C, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Amelioration of NSAID-induced small intestinal lesions by Toll-like receptor 2 agonist through decreasing leukocytes migration to intestinal mucosa. *Digestive DiseaseWeek 2012 San Diego*, 2012. 05. 19-22.
4. Sato H, Narimatsu K, Hokari R, Ueda T, Sato S, Hozumi H, Kurihara C, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Increased expression of lymphangiogenesis-related molecules in intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel diseases *Digestive Disease Week 2012 San Diego*, 2012. 05. 19-22.

5. Hozumi H, Hokari R, Kurihara C, Ueda T, Sato S, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Spontaneous hemorrhage observed in endoscopic findings suggests increased expression of tumor necrosis factor- α in colonic mucosa of ulcerative colitis. Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
6. Hozumi H, Hokari R, Kurihara C, Ueda T, Sato S, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Inhibition of autotaxin-lysophosphatidic acid axis significantly ameliorates chronic intestinal damage by modulating lymphocytes migration to intestinal mucosa. Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
7. Ueda T, Hokari R, Kurihara C, Sato S, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Recombinant thrombomodulin modulates murine colitis via inhibition of HMGB1. Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
8. Sato S, Hokari R, Kurihara C, Ueda T, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Dietary lipid and sweetener regulate secretion of glucagon-like peptide-2 (GLP-2) from intestine in a different manner. Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
9. Watanabe C, Hokari R, Kurihara C, Ueda T, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Sato S, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Prevalence of celiac disease in patients with inflammatory bowel disease: A study from Japan Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
10. Okada Y, Tsuzuki Y, Hokari R, Watanabe C, Kurihara C, Ueda T, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Sato S, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. A novel vegetable-derived probiotics (VDP) exerts a therapeutic effect on DSS induced colitis possibly mediated by IL-27 producing CD11c+ dendritic cells. Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
11. Okada Y, Tsuzuki Y, Hokari R, Watanabe C, Kurihara C, Ueda T, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Sato S, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Trans fatty acids exposure induced expression of proinflammatory cytokines and NK-1R in colonic epithelial cells by phosphorylation of p38. Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
12. Hokari R, Miura S. Effect of dietary fat on intestinal disorders. In: Symposium: Nutritional Factors (Nutritional aspect) in GI disorders. JSDE-APAGE Joint Conference. The 3rd Asian-Pacific Topic Conference, Nutritional Related Disorders and Digestive System. Tokyo, 2012. 11. 2-3.
13. Ueda T, Hokari R, Miura S. Dietary fat exacerbates NSAID-induced mucosal damage in murine small intestine. JSDE-APAGE Joint Conference. The 3rd Asian-Pacific Topic Conference, Nutritional Related Disorders and Digestive System. Tokyo, 2012. 11. 2-3.
14. Okada Y, Tsuzuki Yoshikazu, Ueda Toshihide, Hozumi Hideaki, Sato Shingo, Hokari Ryota, Kurihara Chie, Watanabe C, Tomita K, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Trans fatty acids in diet act as precipitating factor of DSS-induced colitis by the up-regulation of macrophage-derived proinflammatory cytokines. JSDE-APAGE Joint Conference. The 3rd Asian-Pacific Topic Conference, Nutritional Related Disorders and Digestive System. Tokyo, 2012. 11. 2-3.
15. Kurihara C, Hokari R, Matsunaga H, Higashiyama M, Ueda T, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Watanabe C, Tomita K, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Exposure to fatty acid modifies IL-6 mRNA expression in macrophages from small intestine of IBD-mice model. Asian IBD Symposium Seoul 2012, Seoul, 2012, 11, 2-3.

16. 渡辺知佳子、穂苺量太、高本俊介、富田謙吾、三浦総一郎：本邦におけるセリアック病の実態の臨床調査～炎症性腸疾患患者における合併の可能性について～、第98回日本消化器病学会総会、2012. 04. 19-21、東京
17. 三浦総一郎：教育講演：炎症性腸疾患診療の進歩、第20回日本消化器病学会関東支部教育講演会、2012. 06. 17、大宮
23. 鈴木博久、東山正明、緒方 衝、穂苺量太、上田俊秀、佐藤宏和、成松和幸、渡辺知佳子、高本俊介、富田謙吾、川口淳、永尾重昭、三浦総一郎：内視鏡検査時の捺印細胞診で治療経過が追えたヒト腸管スピロヘータ症の1例、第30回日本大腸検査学会総会、2012. 09. 1. 東京
18. 渡辺知佳子、穂苺量太、三浦総一郎：我が国における炎症性腸疾患とセリアック病の関連について、ワークショップ：アレルギー消化器疾患の実態、第54回日本消化器病学会大会、第20回日本消化器病週間内合同企画 JDDW 2012 Kobe、2012. 10. 10-13、神戸
19. 渡辺知佳子、穂苺量太、高本俊介、三浦総一郎：当科におけるセリアック病の実態調査：疾患特異的血清抗体と炎症性腸疾患の関連について、シンポジウム：小腸生理・再生・病態の新たなエビデンス、第50回小腸研究会、2012. 11. 7、京都

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

高齢者炎症性腸疾患診療の現状把握—前向き多施設共同研究の計画—

研究分担者 三浦 総一郎 防衛医科大学校 学校長

研究要旨：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の発見、制御のためのデータ収集を目的とする。臨床個人調査票を用いた記述疫学研究、入院患者を対象とした多施設共同の後ろ向き研究では得られない、より詳細なリスク因子につき検討するため、多施設共同前向き研究を計画した。

共同研究者

高本俊介¹、穂苺量太¹、渡辺知佳子¹、田中浩紀²、本谷 聡²、石黒 陽³、加賀谷尚史⁴、松本史弘⁵、松岡克善⁶、日比紀文⁶、長堀正和⁷、渡辺 守⁷、吉村直樹⁸、日吉雅也⁹、渡邊聡明⁹、小林清典¹⁰、池谷賢太郎¹¹、花井洋行¹¹、加藤真吾¹²、谷田諭史¹³、馬場重樹¹⁴、藤山佳秀¹⁴、松浦 稔¹⁵、仲瀬裕志¹⁵、内藤裕二¹⁶、渡辺憲治¹⁷、樋田信幸¹⁸、上野義隆¹⁹、石原俊治²⁰、高橋晴彦²¹、松井敏幸²¹、二見喜太郎²²、藤田 浩²³、坪内博仁²³（防衛医科大学校内科¹、札幌厚生病院 IBD センター²、国立病院機構弘前病院消化器内科³、金沢大学医学部消化器内科⁴、自治医科大学附属さいたま医療センター消化器科⁵、慶應義塾大学病院消化器内科⁶、東京医科歯科大学消化器内科⁷、社会保険中央総合病院内科⁸、東京大学医学部大腸肛門外科⁹、北里大学東病院消化器内科¹⁰、浜松南病院消化器・IBD センター¹¹、埼玉医科大学総合医療センター消化器内科¹²、名古屋市立大学消化器内科¹³、滋賀医科大学消化器内科¹⁴、京都大学医学部消化器内科¹⁵、京都府立医科大学消化器内科¹⁶、大阪市立大学医学部消化器内科¹⁷、兵庫医科大学内下部消化管科¹⁸、広島大学病院消化器・代謝内科¹⁹、島根大学医学部消化器内科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、鹿児島大学病院消化器内科²³（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。

これまでに、臨床個人調査票を用いた記述疫学研究、過去3年間の入院患者を対象とした後ろ向き多施設共

同研究を行ってきたが、より詳細なリスク因子につき検討する目的で、前向き多施設共同研究を計画した。

B. 研究方法

(1) 患者登録方法

最近1年以内に発症あるいは診断された潰瘍性大腸炎 (UC)・クローン病 (CD) の患者を、60歳以上の「高齢者群」と16歳以上40歳未満の「非高齢者群」に分類する（いずれも発症時あるいは診断時の年齢）。高齢者1人に対応して、同時期に発症し、なるべく重症度や病型の近い非高齢者1人を対照者として登録、参加医療機関より研究事務局へ登録票をFAXする。その際、登録票にあらかじめ決められたルールに従って連結可能にコード化された「コード番号」、年齢、性別が記載され、事務局ではこのコード番号により臨床情報を管理する。患者の個人情報各医療機関でコード番号と連結して管理する。

登録された患者は1年後、2年後に追跡調査を行う。なお、治療内容には介入しない。

(2) 調査項目 (UC・CDとも)

- ①年齢・性別
- ②臨床症状、重症度、病型、罹患範囲
- ③発症から診断までの期間、鑑別に苦慮した疾患
- ④合併症の有無（腸管・腸管外）
- ⑤併存疾患、投薬の有無（特にNSAID、抗凝固薬、抗血小板薬）
- ⑥治療方法、薬剤投与による副作用の有無（特に免疫調節薬や生物学的製剤）
- ⑦手術の有無、あれば手術理由、術式
- ⑧入院の有無、あれば入院理由、期間、転帰

⑨血液データ（白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、CRP）

D. 考察

臨床個人調査票および多施設共同の後ろ向き研究をまとめると、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が高く、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、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ことが示唆された。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、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%と低く、高齢者CDは軽症が多いことが示唆される。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。

これまでの調査から、高齢者IBD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えているが、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、今回計画した。特に併存疾患やそれに対する投薬の有無（特にNSAID、抗凝固薬など）、治療内容と治療による副作用、術後合併症の有無に重点を置く。なお、この前向き研究は2011年12月に防衛医科大学学校倫理委員会で承認されており、現在各参加施設の倫理委員会で承認され次第、順次患者登録を開始する。

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計画した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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. Diagnosis and treatment of functional gastrointestinal disorders in the Asia-Pacific region: a survey of current practices. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Apr; 26 Suppl 3: 2-11.
- 2) 高本俊介、三浦総一郎：高齢者の便通異常-憩室症や虚血性大腸炎との関連も含め、medicina (メディチーナ)：49：286-289、2012. 02
- 3) 三浦総一郎：慢性下痢、成人、馬場忠雄、山城雄一郎編、新臨牀栄養学第2版、2012.
- 4) 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、2011. 01、東京、p159-162
- 5) 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、2011. 01、大阪、p173-179
- 6) 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
- 7) 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、メディカルレビュー社、277-279、2011. 11
- 8) 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
- 9) 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

- 10) 高本俊介、三浦総一郎：大腸の構造とはたらき、特集大腸の病気のすべて、からだの科学 日本評論社、267：7-10、2010.08

2. 学会発表

- 1) Watanabe C, Hokari R, Kurihara C, Ueda T, Hozumi H, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Sato S, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Prevalence of celiac disease in patients with inflammatory bowel disease: A study from Japan Digestive Disease Week 2012 San Diego, 2012. 05. 19-22.
- 2) Hokari R, Miura S. Effect of dietary fat on intestinal disorders. In: Symposium: Nutritional Factors (Nutritional aspect) in GI disorders. JSDE-APAGE Joint Conference. The 3rd Asian-Pacific Topic Conference, Nutritional Related Disorders and Digestive System. Tokyo, 2012. 11. 2-3.
- 3) 渡辺知佳子、穂苺量太、高本俊介、富田謙吾、三浦総一郎：本邦におけるセリアック病の実態の臨床調査～炎症性腸疾患患者における合併の可能性について～、第98回日本消化器病学会総会、2012.04.19-21、東京
- 4) 三浦総一郎：教育講演：炎症性腸疾患診療の進歩、第20回日本消化器病学会関東支部教育講演会、2012.06.17、大宮
- 5) 渡辺知佳子、穂苺量太、三浦総一郎：我が国における炎症性腸疾患とセリアック病の関連について、ワークショップ：アレルギー消化器疾患の実態、第54回日本消化器病学会大会、第20回日本消化器病週間内合同企画 JDDW 2012 Kobe、2012.10.10-13、神戸
- 6) 穂苺量太、上田俊秀、東山正明、富田謙吾、岡田義清、栗原千枝、成松和幸、佐藤宏和、渡辺知佳子、高本俊介、川口 淳、永尾重昭、三浦総一郎：腸管炎症における脂肪摂取の影響- ω 3系多価不飽和脂肪酸の2面性、第9回日本在宅静脈経腸栄養研究会学術集会、2012.10.20、名古屋、
- 7) 渡辺知佳子、穂苺量太、高本俊介、三浦総一郎：当科におけるセリアック病の実態調査：疾患特異的血清抗体と炎症性腸疾患の関連について、シンポジウ

ム：小腸生理・再生・病態の新たなエビデンス、第50回小腸研究会、2012.11.7、京都

- 8) Watanabe C, Komoto S, Hokari R, Miura S. Clinical features of elderly inflammatory bowel disease patients in Japan. In: The 2011 Advances in Inflammatory Bowel Diseases Crohn's & Colitis Foundation's National Clinical & Research Conference. 2011.12.01-03, Hollywood, Florida, USA
- 9) 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、2011.01.15-16、横浜
- 10) 三浦総一郎：教育講演：機能性消化管障害への今日的アプローチ、第42回日本消化吸収学会、第19回日本消化器病週間内合同企画 JDDW 2011 Fukuoka ランチョンセミナー講演、2011.10.20-23、福岡
- 11) 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、2011.01.15-16
- 12) 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

小児 IBD 最新治療の実施状況に関する全国調査

研究協力者 清水 俊明 順天堂大学医学部小児科 教授

研究要旨：17歳未満の小児期発症のクローン病、潰瘍性大腸炎、腸管バッチェット、および分類不能型腸炎を対象とし、近年その使用が急増している生物学的製剤や免疫調節薬の使用状況や有効性につき検討を行うことを目的に全国 682 の小児科、小児外科、内科、外科施設にアンケート調査を行った。現時点で 1 次調査の回収率は 48.1%であり、クローン病 527 名、潰瘍性大腸炎 948 名の報告があった。クローン病では 30%近くの症例でインフリキシマブが使用されており、その適応や効果などにつき 2 次調査にてさらに検討していくことが必要と思われた。

A. 研究目的

小児期発症の IBD は、成人発症例と比較し、より罹患部位が広く、ステロイドの使用量が必然的に増えるような重症例が多いことが報告されている。他方、免疫調整薬のひとつであるチオプリン製剤と生物学的製剤には、リンパ増殖性疾患や重症感染症の発生リスクが上昇することが知られており、タクロリムスやシクロスポリンに関しては、特に小児期発症 IBD における使用効果や副作用などに関する実態調査は行われていない。そこで、小児期発症 IBD で行われている最新治療の実施状況を踏まえた実態調査を行い、投与方法、合併症の有無、手術後の経過などを評価することで、それらの治療法が安全かつ十分な効果が得られているかを検証し、小児期発症 IBD の適切な治療法の普及に努めることを目的に本研究を行っていく。

B. 研究方法

小児期発症のクローン病、潰瘍性大腸炎、腸管バッチェットおよび分類不能型腸炎などの炎症性腸疾患を対象とし、近年、その使用が急増している生物学的製剤（インフリキシマブ、アダリムマブ）や免疫調節薬（タクロリムス、シクロスポリン）の効果および副作用、膵炎合併例、手術症例の経過などについてアンケート調査を行っていく。

対象者は、2000 年以降に全国の研修指定病院で主科として治療された 17 歳未満の IBD 患者とし、全国の小

児科専門医研修指定病院（512 施設）、全国の小児外科研修指定病院（91 施設）、「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究班」関連施設（79 施設）を対象施設とする。

研究機関は、倫理委員会承認後から 2014 年 3 月 31 日までとし、アンケート調査を 1 次と 2 次調査に分けて行う。

（倫理面への配慮）

順天堂大学医学部倫理委員会の承認を得たうえで、倫理的問題に十分配慮しながら研究を行っていく。

C. 研究結果

2000 年以降に治療を行った 17 歳未満の CD 患者は、1 次調査（現在調査中）では 527 名おり、163 名がインフリキシマブで、23 名がアダリムマブ、9 例がタクロリムス、3 名がシクロスポリンで治療が行われていた。また手術は 39 名で施行され、膵炎合併は 14 名で認められた。同様に UC 患者は、948 名の報告があり、40 名がインフリキシマブで、1 名がアダリムマブ、51 名がタクロリムス、63 名がシクロスポリンで治療が行われていた。また手術は 104 名で施行され、膵炎合併は 44 名で認められた。同様に腸管バッチェットでは 8 名でインフリキシマブ、8 名でタクロリムス、1 名でシクロスポリンが使用されており、分類不能型腸炎では、4 名がインフリキシマブ、2 名がシクロスポリンで治療されていた。

D. 考察

未だ集計の中間段階であるが、CD 527 例、UC 948 例と多数の症例が 1 次調査で報告された。予想以上に多くの症で新しい治療が行われており、特に CD では 163 例と 30%近くがインプリキシマブで治療が行われていた。

今後 1 次調査の集計から、小児 IBD 患者の治療の実態を把握し、2 次調査によって小児の IBD がどこで治療が行われているか、場所によって治療方法がどのように異なるのか、治療方法の差によって成績にどのような差があるのか、小児の IBD はどこでどのように治療されるべきか、膵炎合併小児 IBD の頻度、原因、治療、予後などを明らかにし、それぞれの治療の適応や効果などを評価することにより今後、最善の小児 IBD に対する治療方法を検討していく。

E. 結論

小児 IBD 患者の治療についての全国調査を行い、現在 1 次調査にて多くの UC、CD 患者の報告が行われている。今後 2 次調査の結果から、小児 IBD に対する最も効果的な治療方法が検討できるものと思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohtsuka Y, Ikegami T, Izumi H, Namura M, Ikeda T, Ikuse T, Baba Y, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T. Effects of Bifidobacterium breve on inflammatory gene expression in neonatal and weaning rat intestine. *Pediatr Res* 71:46-83, 2012
- 2) Ohtsuka Y, Jimbo K, Inage E, Mori M, Yamakawa Y, Aoyagi Y, Suzuki M, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T. Microarray analysis of mucosal biopsy specimens in neonates with rectal bleeding: Is it really an allergic disease? *J Allergy Clin Immunol* 129:1676-1678, 2012
- 3) 清水俊明. 小児炎症性腸疾患の疫学と現状・課題.

日本臨床 70 (増) :475-481, 2012

2. 学会発表

- 1) Shimizu T, Shono T, Aoyagi Y, Fujii T, Kudo T, Ohtsuka Y. Growth Disturbance in Japanese Children with IBD. The 6th Korea-Japan IBD Symposium, Tokyo. 2012/1/28
- 2) 工藤孝広, 細井賢二, 大林奈穂, 幾瀬圭, 神保圭佑, 青柳陽, 藤井徹, 大塚宜一, 永田智, 清水俊明. 小児炎症性腸疾患の病態における Galectin の役割. 第 39 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 大阪. 2012/7/14
- 3) 神保圭佑, 大塚宜一, 細井賢二, 大林奈穂子, 稲毛英介, 幾瀬圭, 青柳陽, 藤井徹, 工藤孝広, 清水俊明. 初発炎症性腸疾患における CXCL9 および CXCR3 の検討. 第 39 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 大阪. 2012/7/14
- 4) 青柳陽, 細井賢二, 大林奈穂, 幾瀬圭, 神保圭佑, 藤井徹, 東海林宏道, 工藤孝広, 大塚宜一, 永田智, 清水俊明, 八尾隆史. 小児潰瘍性大腸炎症例における上部消化管病変の検討. 第 39 回日本小児内視鏡研究会, 東京. 2012/7/7

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

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：腸管恒常性の維持における食餌成分、特にビタミンB9（葉酸）の役割を解析した。葉酸欠乏食を摂取したマウスでは、大腸粘膜固有層の制御性T細胞の数が著明に減少した。制御性T細胞は葉酸受容体FR4を発現しているが、FR4中和抗体（Fab）の投与によっても、大腸粘膜固有層の制御性T細胞が減少した。大腸粘膜固有層の制御性T細胞は脾臓の細胞と異なり、強く活性化されていて、アポトーシスに対する感受性が高かった。葉酸欠乏食を摂取したマウスは、TNBS誘導性の腸管炎症に対する感受性が極めて高くなった。葉酸欠乏食を摂取しているマウスに制御性T細胞を投与すると、腸管炎症感受性が改善した。これらの結果から、食餌由来の葉酸は、常時抗原に曝されて活性化されている大腸粘膜固有層の制御性T細胞に作用し、アポトーシスを抑制することにより細胞数を維持し、腸管炎症の抑制に貢献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。

これまでの解析から、自然免疫系をはじめとした免疫細胞が遺伝的に恒常的活性化状況に陥ると、腸内細菌などの腸内環境因子に過剰応答し腸管炎症が発症することが明らかになっている。腸内環境因子には、腸内細菌だけでなく我々が日々摂取する食餌成分も含まれる。腸内細菌および食餌成分は、どちらも免疫系が認識すべき外来異物であるが、腸管においてはこれら外来異物に対する免疫応答は正常では惹起されず、逆に腸管粘膜免疫系の発達や維持に関わっていることが示唆されている。そこで、これら腸内環境因子による腸管粘膜免疫系の維持機構について解析し、これらを利用した腸管炎症制御に向けた基礎的基盤を提供する。

B. 研究方法

昨年度までに、腸内細菌由来のアデノシン3リン酸が、腸管粘膜固有層においてTh17細胞の分化を誘導していることを見出している。今年度は、腸内環境因子のなかでも、食餌成分に注目し解析した。特に、緑黄色野菜に多く含まれるビタミンB9（葉酸）の腸管免疫系に及ぼす影響を解析した。BALB/cマウスにコントロール食、葉酸欠乏食を経口摂取させ、脾臓、腸管膜

リンパ節、小腸、大腸粘膜固有層における、CD4陽性T細胞からのサイトカイン(IFN-g, IL-17, IL-10)産生やFoxp3の発現を解析した。

(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、餌水分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

BALB/c妊娠雌マウスにコントロール食、葉酸欠損食を投与し、6週令になった産仔では、大腸における葉酸の濃度が著明に減少していた。これらのマウスから、脾臓、腸管膜リンパ節、小腸、大腸粘膜固有層を単離し、CD4陽性T細胞におけるIFN-g, IL-17, IL-10の産生およびFoxp3の発現を細胞内染色法でflowcytometryにより解析した。その結果、大腸粘膜固有層においてCD4陽性Foxp3陽性細胞の数が有意に減少した。大腸粘膜固有層以外の臓器、そして他のサイトカイン産生には優位な変化はないことから、葉酸欠乏により大腸粘膜固有層のFoxp3陽性制御性T細胞(Treg)の数が特異的に減少することが明らかになった。脾臓などの組織でのFoxp3陽性Tregは、葉酸受容体であるfolate receptor 4 (FR4)を発現している。大腸粘膜固有層のFoxp3陽性TregもFR4を同じように発現し

ており、葉酸欠乏食によりFR4陽性Foxp3陽性CD4 T細胞の数が減少した。そこで、FR4を介したシグナルの関与を、FR4中和抗体(Fab fragment)のマウスへの投与により解析した。その結果、FR4中和抗体Fabの投与により、葉酸欠乏食と同じように、大腸粘膜固有層においてのみ、Foxp3陽性Tregの数が有意に減少した。以上の結果から、大腸粘膜固有層においてのみ、葉酸受容体を介してFoxp3陽性Tregの数が維持されることが示唆された。これまで、Foxp3陽性Tregの維持にはIL-2が重要であることが示されている。実際、IL-2中和抗体をマウスに投与すると脾臓でのFoxp3陽性Tregが減少する。大腸粘膜固有層では、IL-2中和抗体の投与によりFoxp3陽性Tregの数がやや減少し、さらに葉酸欠乏食にするとその数が著明に減少した。このことから、大腸粘膜固有層ではIL-2により維持される末梢のFoxp3陽性Tregと異なり、IL-2および葉酸によりその数が維持されていることが明らかになった。脾臓と大腸粘膜固有層ではFoxp3陽性Tregのどのような相違点があるのかをさらに解析した。その結果、大腸粘膜固有層のFoxp3陽性Tregでは、脾臓のFoxp3陽性Tregと比べて、CD62Lの発現が低く、Foxp3陽性Tregの活性化マーカーであるCTLA-4, GITRのは発現が亢進していた。さらに、Ki67抗体で強く染まる増殖活性の高い細胞数の割合が多くなっていった。また、大腸粘膜固有層のFoxp3陽性Tregは脾臓の細胞に比べて試験管内で培養するとアポトーシスに対する感受性が高く、さらに葉酸欠乏培養液にするとアポトーシスの割合が著明に増加することが明らかになった。これらの結果から、大腸粘膜固有層のFoxp3陽性Tregは、脾臓のFoxp3陽性Tregに比べて活性化状態にあり、その結果、細胞死に対する感受性が高いことが明らかになった。

次に、葉酸欠乏によるFoxp3陽性Tregの数の減少の腸管炎症におよぼす影響を解析した。コントロール食および葉酸欠損食を投与しているマウスに、2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)を注腸投与すると、コントロール食マウスに比べて、葉酸欠乏食マウスでは腸管炎症が顕著に悪化した。葉酸欠乏食マウスにおけるTNBS腸管高感受性がTreg減少によるものかを解析するため、葉酸欠乏食マウスにあらかじめTregを投与し、TNBS腸管を誘導した。すると、Treg投与に

よりTNBS腸管が改善した。これらの結果から、葉酸欠乏によるTreg減少が腸管炎症の感受性を高めることが明らかになった。

D. 考察

緑黄色野菜に含まれるビタミンB9(葉酸)が、大腸粘膜固有層の制御性T細胞の数の維持に関わっていることが明らかになった。大腸粘膜固有層のFoxp3陽性Tregは、常に腸内細菌や食餌成分などのさまざまな腸内環境因子に曝されているため、脾臓のFoxp3陽性Tregに比べて活性化状態にあり、その結果、細胞死に対する感受性が高い。一方、大腸では高濃度の緑黄色野菜由来の葉酸が存在し、この葉酸がFR4を介してFoxp3陽性Tregに作用し、アポトーシスを抑制し、細胞数を維持していることが示唆される。

E. 結論

緑黄色野菜に含まれるビタミンB9(葉酸)が、大腸粘膜固有層の制御性T細胞の数の維持に関わっていることを明らかにした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shigekawa, M., Hikita, H., Kodama, T., Shimizu, S., Li, W., Uemura, A., Miyagi, T., Hosui, A., Kanto, T., Hiramatsu, N., Tatsumi, T., Takeda, K., Akira, S., and Takehara, T.: Pancreatic STAT3 protects mice against caerulein-induced pancreatitis via PAPI induction. *Am. J. Pathol.* 181, 2105-2113 (2012).
- 2) Saiga, H., Kitada, S., Shimada, Y., Kamiyama, N., Okuyama, M., Makino, M., Yamamoto, M. and Takeda, K.: Critical role of AIM2 in Mycobacterium tuberculosis infection. *Int. Immunol.* 24, 637-644 (2012).
- 3) Kinoshita, M., Kayama, H., Kusu, T., Yamaguchi, T., Kunisawa, J., Kiyono, H., Sakaguchi, S. and Takeda, K.: Dietary folic acid promotes survival of Foxp3⁺ regulatory T cells in the

colon. *J. Immunol.* 189, 2869–2878 (2012).

- 4) Kayama, H., and Takeda, K.: Regulation of gut homeostasis by innate immunity. *Int. Immunol.* 24, 673–680 (2012).
 - 5) Yamamoto, M., Okuyama, M., Ma, J. S., Kimura, T., Kamiyama, N., Saiga, H., Ohshima, J., Kayama, H., Okamoto, T., Huang, D. C. S., Soldati-Farve, D., Horie, K., Takeda, J. and Takeda, K.: A cluster of IFN- γ -inducible p65 GTPases plays a critical role in host defense against *Toxoplasma gondii*. *Immunity* 37, 302–313 (2012).
 - 6) Vandenberg, A., Teraguchi, S., Akira, S., Takeda, K. and Standley, D.: Toll-like receptor signaling. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 4, 497–507 (2012).
 - 7) Jeon, S. G., Kayama, H., Ueda, Y., Takahashi, T., Asahara, T., Tsuji, H., Tsuji, N. M., Kiyono, H., Ma, J. S., Kusu, T., Okumura, R., Hara, H., Yoshida, H., Yamamoto, M., Nomoto, K. and Takeda, K.: Probiotic *Bifidobacterium breve* induces IL-10-producing Tr1 cells in the colon. *PLoS Pathogens* 8, e1002714 (2012).
 - 8) Kayama, H., Ueda, Y., Sawa, Y., Jeon, S. G., Ma, J. S., Okumura, R., Kubo, A., Ishii, M., Okazaki, T., Murakami, M., Yamamoto, M., Yagita, H. and Takeda, K.: Intestinal CX₃C chemokine receptor 1^{high} (CX₃CR1^{high}) myeloid cells prevent T cell-dependent colitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 5010–5015 (2012).
2. 学会発表
- 1) Kiyoshi Takeda: Regulation of intestinal homeostasis by innate immunity The 4th AsiaHORCs Joint Symposium, Buyeo, Korea, November 11–14, 2012
 - 2) Kiyoshi Takeda: Hisako Kayama, Seong Gyu Jeon Probiotics and innate immunity: Implication for chronic disease prevention 5th India Probiotics Symposium, December 15–16, 2012, Bangalore, India
 - 3) Kiyoshi Takeda: Regulation of intestinal inflammation by innate immunity The 6th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases, The 11th Nagasaki–Singapore Medical Symposium, December 10–12, 2012, Nagasaki
 - 4) Kiyoshi Takeda: Regulation of gut homeostasis by innate immunity International Endotoxin & Innate Immunity Society Meeting 2012, October 23–26, 2012, Tokyo
 - 5) Kiyoshi Takeda: Regulation of gut homeostasis by innate immunity The 34th Naito Conference, October 16–18, 2012, Sapporo, Japan
 - 6) 竹田 潔: 腸管免疫と炎症制御 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会、2012年7月20日、福岡
 - 7) 竹田 潔: プロバイオティクス細菌による腸管免疫制御機構 第12回日本抗加齢医学会総会、2012年6月24日、横浜
 - 8) Kiyoshi Takeda: Regulation of gut homeostasis by innate immunity The 7th RCAI International Summer Program, June 22–27, 2012, Yokohama
 - 9) Kiyoshi Takeda: Regulation of gut homeostasis by innate immunity Macrophage Molecular and Cellular Biology 2012, June 15–16, 2012, Tokyo
 - 10) 竹田 潔: 自然免疫と消化管疾患 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会、2012年5月12日、大阪
 - 11) Kiyoshi Takeda: Regulation of gut homeostasis by innate immunity ICAD Forum, April 18–19, 2012, Tokyo
 - 12) 竹田 潔: 自然免疫系による慢性炎症性腸疾患の制御 第49回日本臨床分子医学会学術総会、2012年4月13–14日、京都
- 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

IL-10^{-/-} 移入腸炎を用いた CXCR3 阻害剤の役割

研究協力者 石黒 陽 国立病院機構弘前病院消化器血液内科 部長

研究要旨：難治性潰瘍性大腸炎患者における Th1 型反応を司る候補遺伝子 CXCL-9 と、その ligand である CXCR3 発現細胞に対する CXCR3 阻害剤は遊走抑制、活性化抑制の二つの機序を介して効果を発現しており、新たな治療標的となり得る。

共同研究者

蓮井 桂介、櫻庭 裕丈、平賀 寛人、福田眞作
(弘前大学消化器血液内科)

検討では、AMG487 投与群で大腸組織で陽性細胞の減少が見られ、また、Vehicle 群に比し AMG487 で腸管組織における TNF- α は有意に抑制されたが、IL-17 では有意差が認められなかった。

A. 研究目的

難治性潰瘍性大腸炎における粘膜障害機序解明と新規治療開発を目的とした。ステロイド抵抗性難治性潰瘍性大腸炎組織における網羅的解析から明らかとなった Th-1 型反応を司る候補遺伝子 CXCL-9 と、その ligand である CXCR3 発現細胞を標的とした AMG487 の効果を検証した。

B. 研究方法

Th1・Th17 型の腸炎モデルである IL-10^{-/-} 移入腸炎を用いた。既報の如く、IL-10^{-/-} C57BL/6 マウスの脾臓・腸管膜リンパ節細胞を分離、1.0x10⁷ 個 / body を 8-12 週齢 雌 SCID マウスへ腹腔投与し腸炎を誘発した。移入 14 日目より CXCR3 拮抗薬である AMG487 10mg/kg/日または vehicle を投与し、体重変化、cytokine profile (腸管組織、ELISA)、病理組織学的な評価を行った。(倫理面への配慮) 弘前大学動物実験施設指針に準拠した。

C. 研究結果

IL-10^{-/-} 移入腸炎モデルにおいて、AMG487 投与群では Vehicle 群に比し、体重減少は有意に抑制され (P=0.0159)、組織学的にも炎症性変化は有意に抑制された (P=0.0043)。さらに CXCR3 に対する免疫組織学的

D. 考察

TNF- α 、IFN- γ で上皮細胞株である HT-29 を刺激すると、RIG-I の発現が増強する。また HT-29 において RIG-I に対する siRNA を transfect すると、IFN- γ で誘導される CXCL-9, 10, 11 の産生が有意に低下する (1)。これらのケモカインは CXCR3 陽性 T 細胞を走化させることが報告されている。前回までにヒト潰瘍性大腸炎患者において CD8b 細胞は、ステロイド抵抗例において CXCR3、CD38、P 糖蛋白を発現しており、また granzyme B を発現していることを報告した。これを踏まえて、CXCR3 阻害剤の効果と機序について検討した。

AMG487 (Amgen) は CXCR3 に対する小分子 antagonist で 0.008 M で CXCR3 のリガンドである CXCL10 の活性を 50% 抑制する。また、RA 滑膜細胞における Ca の流入を抑制することが報告されている (Chem Med Chem 2008, 3, 861-872)。今回の検討で、IL-10^{-/-} 移入腸炎に対して AMG487 は体重、肉眼所見、組織学的所見、TNF- α 量において有意な改善を認めた。

移入脾細胞 (IL-10^{-/-}) における intra cellular staining による検討では、CXCR3+CD8 細胞は TNF- α 、IFN- γ 、Granzyme B を発現していたが、IL-17 の発現は明らかでなかった。AMG487 投与 72 時間後では CXCR3+CD8 細胞における TNF- α 、IFN- γ 、Granzyme B の

発現が消失しており、機序として活性化抑制の関与が考えられた。

また、免疫組織学的検討では AMG487 投与で CXCR3 陽性細胞の減少を認め、遊走低下と考えられた。

さらに Vehicle 投与群では時間依存的に TNF- α 量が増加したが、AMG487 投与群では day28 で TNF- α の有意な産生低下が認められ、TNF- α が最終的な標的 mediator と考えられた。

E. 結論

CXCR3 阻害剤は遊走抑制、活性化抑制の二つの機序を介して効果を発現しており、治療応用の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawaguchi S, Ishiguro Y, Imaizumi T, Mori F, Matsumiya T, Yoshida H, Ota K, Sakuraba H, Yamagata K, Sato Y, Tanji K, Haga T, Wakabayashi K, Fukuda S, Satoh K. Retinoic acid-inducible gene-I is constitutively expressed and involved in IFN-gamma-stimulated CXCL9-11 production in intestinal epithelial cells. *Immunol Lett.* 2009 24:123(1). :9-13.

2. 学会発表

蓮井桂介、石黒 陽、櫻庭裕丈、平賀寛人、福田眞作.
IL-10-deficient (IL-10^{-/-}) cell transfer model of colitis における CXCR3 の役割について
第 54 回 日本消化器病学会大会 2012 年 10 月 11 日
(神戸)

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

アポトーシス細胞の移入による腸炎抑制の試み

研究協力者 石原 俊治 島根大学医学部内科学講座第二 准教授

研究要旨：生体内で不要と認識された細胞にはアポトーシスが誘導され、食細胞がこれらの細胞を速やかに貪食することによって免疫寛容が維持されている。アポトーシス細胞を迅速に処理することは生体の恒常性維持にきわめて重要だが、体外からアポトーシス細胞を移入した場合の免疫制御については不明である。私共は今回の研究で、体外で調整したアポトーシス細胞の移入によって腸炎の抑制が可能か否かを実験的に検証した。マウス胸腺細胞にデキサメサゾンでアポトーシスを誘導し、マウス DSS 腸炎時にそれらの調整アポトーシス細胞を静脈内投与すると、腸管炎症が有意に抑制されることが明らかとなった。また、顆粒球除去療法 (GMA) に用いるアダカラム内では、血液循環中に G1 ビーズに接触した顆粒球にアポトーシスが誘導されること、これらのアポトーシスが生体に再移入されることで腸炎が抑制されることを実験的に示した。今回の検討で、アポトーシス細胞移入が腸管炎症を抑制すること、この機序が既存の治療法である GMA の有効機序の一つである可能性が示唆された。

共同研究者 多田育賢、岡 明彦、楠 龍策、福庭暢彦、川島 耕作、森山一郎、結城崇史、木下芳一
所属 島根大学医学部内科学講座第二

A. 研究目的

生体内で不要あるいは有害と認識された細胞にはアポトーシスが誘導され、マクロファージなどの食細胞が、これらのアポトーシス細胞を速やかに貪食することによって免疫寛容を維持している。このプロセスには様々な分子機構が関与しているが、私共は milk fat globule-EGF factor 8 (MFG-E8) に着目し、MFG-E8 が生理的環境のみならず、腸管炎症時にも過剰免疫反応を抑制し腸炎を抑制することを報告していた。生理的あるいは炎症時にアポトーシス細胞処理することは生体の恒常性維持にきわめて重要だが、体外からアポトーシス細胞を移入した場合の腸管免疫制御については不明である。私共は今回の研究で、体外で誘導したアポトーシス細胞を腸炎モデルに移入することで炎症の抑制が可能か否かを検証した。また、アポトーシス細胞の処理機構が顆粒球除去療法 (GMA) の有効機序に関連していると想定し、この点についても実験的に確認した。

B. C. 研究方法と結果

①アポトーシス細胞の移入によるマウス DSS 腸炎の抑制

C57BL/6N マウスの胸腺細胞を分離・培養し、デキサメサゾンによってアポトーシスを誘導した。アポトーシスの誘導効率を Annexin-V と propidium iodide (PI) で判定し、90%以上の細胞にアポトーシスが誘導されていることを確認した。1×10⁷個のアポトーシス細胞を、DSS 腸炎誘発前のマウスに尾静脈から2度注入し (8日前、5日前)、その後2.0%DSSの自由飲水によって急性腸炎を誘発した。コントロールとしてアポトーシスを誘導していない生細胞を同様の時期に移入した。9日目に腸炎マウスから大腸を摘出し、腸炎の程度を腸管長、病理組織、サイトカイン産生 (IL-1b) で評価した。さらに、同様の実験内容を、アポトーシス細胞の貪食能が低下した MFG-E8 マウス KO マウスを用いておこなった。

DSS 腸炎を用いた上記の実験系において、アポトーシス細胞を移入することで、腸管短縮、組織学的な炎症スコア、IL-1b 産生のいずれも有意に抑制された。また、MFG-E8KO マウスを用いた系では、アポトーシス細胞移入による腸炎抑制効果が消失した。

② GMA の有効性に関する検討

GMA 開発の主なコンセプトは、体外循環した血液を