

- features in patients with ulcerative colitis concomitant cytomegalovirus infection. The 1st annual meeting of Asian organization for Crohn's & Colitis • Panel Discussion. Tokyo. 2013. 6. 13-6. 14. 2013. 6. 13
2. Nakase H, Matsuura M, Chiba T. The critical role of heparan sulfate in intestinal crypt regeneration of small intestine via Wnt/ β catenin signaling after radiation injury. DDW2013 • Lecture session. Orlando, USA. 2013. 5. 18-5. 21. 2013. 5. 19.
 3. Yoshino T, Nakase H, Matsuura M, Chiba T. Effect of early induction with thiopurine immunomodulator treatment on long-term clinical remission on patients with Crohn's disease. DDW2013 • Poster session. Orlando, USA. 2013. 5. 18-5. 21. 2013. 5. 19.
 4. Yoshino T. The role of ral in colitis-associated cancer in mice. The 8th JSGE AGA Joint Meeting • The 2nd JSGE International Topic Conference. Kagoshima. 2013. 3. 22.
 5. Honzawa Y, Nakase H, Matsuura K, Uza N, Matsuura M, Chiba T. The involvement of IL-17-induced heat shock protein 47 in intestinal fibrosis of Crohn's disease. The 6th Japan and US Collaboration Conference in Gastroenterology Program. Tokyo. 2012. 11. 15
 6. Honzawa Y, Nakase H, Matsumura K, Yoshino T, Matsuura M, Chiba T. The involvement of IL-17A in intestinal fibrosis of Crohn's disease via up-regulation of HSP47. The 20th United European gastroenterology week (UEGW). Amsterdam, Netherlands. 2012. 10. 24
 7. Nakase H, Matsuura M, Chiba T. Osteopontin prevents onset of immune-mediated colitis by inducing tolerogenic dendritic cells. DDW2012 • Poster sessions. San Diego, USA. 2012. 5. 22
 8. Yoshino T, Nakase H, Matsuura M, Chiba T. Mucosal healing with tacrolimus improved long-term clinical outcome in refractory UC. DDW2012 • Poster sessions. San Diego, USA. 2012. 5. 19
 9. Honzawa Y, Nakase H, Matsuura M, Chiba T. Concomitant use of immunosuppressive drugs improves clinical outcome of endoscopic balloon dilation therapy for intestinal stricture of Crohn's disease. DDW2012 • Poster sessions. San Diego, USA. 2012. 5. 19
 10. Matsuura M, Nakase H, Honzawa Y, Yamamoto S, Matsumura K, Uza N, Chiba T. Characteristics of colonoscopic features in patients with ulcerative colitis concomitant with cytomegalovirus reactivation 2011 DDW • poster sessions Chicago, USA 2011. 5. 9
 11. Honzawa Y, Nakase H, Matsumura K, Yamamoto S, Uza N, Matsuura M, Chiba T. IL-17 promotes HSP47 expression and intestinal fibrosis in Crohn's disease. 2011 DDW • poster sessions Chicago, USA 2011. 5. 8
- H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）
- 1 特許取得
特になし
 - 2 実用新案登録
特になし
 - 3 その他
特になし

DSS 誘発性モデルマウスにおける病態制御性樹状細胞の検討

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：潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患は難病特定疾患であり、病態解明が望まれている。当科では既に、クローン病モデルマウスである TNBS 小腸炎の腸炎回復に関わる制御性樹状細胞（PIR-A/B^{med} conventional DCs）を同定しており、潰瘍性大腸炎に代表される大腸炎の粘膜固有層においても、同樹状細胞サブセットが免疫制御に関わっている可能性があると考えられた。本研究の目的は大腸炎モデルマウスを用いて大腸粘膜固有層で免疫を制御する PIR-A/B 発現樹状細胞を同定することであり、それによって炎症性腸疾患の病態の更なる解析や臨床への応用が期待できると考えられる。

共同研究者

栗島亜希子¹⁾、星野勝一¹⁾、稲葉宗夫²⁾

関西医科大学内科学第三講座¹⁾

関西医科大学病理学第一講座²⁾

A. 研究目的

DSS 誘発性大腸炎モデルマウスを作成し、大腸粘膜から樹状細胞（以下 DC）に富んだ細胞群を採取。Paired immunoglobulin-like receptors（以下 PIR）の発現と病態制御機能との相関について解析する。

B. 研究方法

1. DSS 誘発性大腸炎モデルマウスを作成し、経時的に病理学的検討（光学顕微鏡観察や共焦点顕微鏡を用いた蛍光免疫染色）を行う。

2. 大腸炎マウスを屠殺して、大腸粘膜上皮および粘膜固有層から樹状細胞に富んだ細胞群を採取する。

3. フローサイトメトリーにて、炎症の経過に伴う樹状細胞の動態を解析する。また PIRs（paired immunoglobulin-like receptors）発現 DC サブセットを同定し、同サブセットの発現割合を経時的に解析する。また共刺激分子やその他の表面マーカーの発現についても解析し、既知の小腸由来 DC と比較する。

4. 同細胞を単離し、T 細胞に対する抗原提示能を調べるために Mixed leukocyte reaction (MLR) を行う。

5. サイトカイン産生能を評価するために、単離した細胞から RNA を抽出し、Real-time RT-PCR を行う。また同細胞の培養上清のサイトカイン濃度を測定する。

（倫理面への配慮）

プロジェクトの遂行に当たっては、動物実験に関しては、動物実験倫理委員会の承認を得て、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

1. 大腸粘膜固有層由来 conventional DC を 2 つのサブセットに区分することができた（PIR-A/B^{high}、PIR-A/B^{low}）。PIR-A/B^{high} cDCs は大腸炎の治癒過程で増加するサブセットであった。

2. MLR において、PIR-A/B^{high} cDCs は脾臓や PIR-A/B^{low} cDC と比較し抗原提示活性が低かった。また、PIR-A/B^{high} cDC を添加するとコントロールとして用いた脾臓の cDC の抗原提示活性が低下

した。

3. PIR-A/B^{high} cDCs は PIR-A/B^{low} と比較し、TGF- β や IL-10 が高く、IFN γ は低値であった。

D. 考察

炎症性腸疾患の発症機構はこれまで T 細胞をはじめとしたリンパ球を中心に解析が行われてきた。その結果 Th1/Th2 細胞の応答性のバランスの重要性、制御性 T 細胞の関与などが明らかになっている。しかし、自然免疫系がこれら T 細胞の機能をも制御していることが明らかになった。昨今炎症性腸疾患の発症においても自然免疫系の機構の解明が待たれている。今回 DC サブセットを検討する上で指標にした分子 PIR は細胞外に Ig 様ドメインをもつ膜貫通蛋白で、活性型の PIR-A と抑制型の PIR-B がおりその発現の imbalance が host defense 制御機構に関わっており、恐らく PIR を介した T cells と DCs の interaction が免疫反応を制御しうると考えられている。本研究で、DSS 誘発性大腸炎における腸管由来の DC を PIR-A/B の発現に基づいて 2 つのサブセットに区分することができた。そのうち、PIR-A/B^{high} cDC は大腸炎の治癒過程で増加するサブセットであり、MLR において抗原提示活性がコントロールに比較し低いことが示された。また、PIR-A/B^{high} cDC を添加するとコントロールとして用いた脾臓の cDC の抗原提示活性は低下したため免疫抑制的な機能を有すると考えられた。その機序としては RT-PCR において TGF- β や IL-10 の産生が目立つ一方で、IFN γ の産生は減少している点に関与していると考えられた。

E. 結論

PIR-A/B^{high} cDCs は DSS 誘発性大腸炎において病態制御性の機能を有すると考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukata N, Okazaki K, Omiya M, Matsushita M, Watanabe M; The Members of the Ministry

of Health and Welfare of Japan's Inflammatory Bowel Diseases Study Group. Hematologic malignancies in the Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2013 Aug 19. [Epub ahead of print]

2. Kurishima A, Inaba M, Sakaguchi Y, Fukui T, Uchida K, Nishio A, Nomura S, Okazaki K. Immunoregulatory function of PIR-A/B₊ DCs in the inflammatory responses of dextran sodium sulfate-induced colitis. J Gastroenterol. 2013 Sep 29. [Epub ahead of print]
3. Toyonaga T, Nakase H, Matsuura M, Minami N, Yamada S, Honzawa Y, Hukata N, Yoshino T, Chiba T, Okazaki K. Refractoriness of Intestinal Behçet's Disease with Myelodysplastic Syndrome Involving Trisomy 8 to Medical Therapies - Our Case Experience and Review of the Literature. Digestion. 2013 Nov 16;88(4):217-221.
4. 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.
5. 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 Sep;47(9):978-87

和文

1. 1. 岡崎 和一, 深田 憲将, 安藤 祐吾, 大宮 美香, 岡崎 敬, 栗島 亜希子, 松下 光伸 炎症性腸疾患におけるリンパ増殖性疾患 胃と腸 2013 ; 48:763-769
2. 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
3. 田中 篤, 田妻 進, 岡崎 和一, 坪内 博仁, 乾 和郎, 滝川 一 硬化性胆管炎の全国調査 胆道 2013 ; 27 : 176-187
4. 岡崎 和一, 福井 由里, 住本 貴美, 岡崎 敬, 栗島 亜希子 【難治性 Crohn 病の特徴と治療戦略】 全身性合併症の特徴 脾炎 胃と腸 2012 ; 47:1559-1565

5. 若松 隆宏, 島谷 昌明, 諏訪 兼彦, 堀 雄一, 谷村 雄志, 津久田 諭, 松本 泰司, 吉井 將哲, 宮本 早知, 福井 由理, 三好 秀明, 深田 憲将, 松下 光伸, 岡崎 和一
【小腸潰瘍性病變の的確な診断と概念の確立】 小腸潰瘍性病變における内視鏡と放射線学的検査の比較を通じた診断アルゴリズム 消化器内科 2012 ; 54:534-539
6. 岡崎 和一, 栗島 亜希子, 岡崎 敬, 安藤 祐吾【クローン病のTherapeutic Strategy-mucosal healingは治療のゴールか】 クローン病治療戦略 どのような患者に用いるか 今後の新規治療 Intestine 2012 ; 16:275-281
7. 岡崎 和一, 深田 憲将, 大宮 美香, 松下 光伸 スペシャルシチュエーションにおけるIBD診療】 IBD患者における血液増殖性疾患の現状 2012 ; 6:28-33

2. 学会発表

1. Takashi Okazaki, Akiyoshi Nishio, Yutaku Sakaguchi, Toshiro Fukui, Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki. Endoplasmic Reticulum Stress Inhibitor Salubrinal protects against Murine Experimental Colitis via the PERK-eIF2 α signaling pathway. DDW2013 Orland County Convention Center (Orland/Florida) 2013年5月18-21日
2. Yu Takahashi, Toshiro Fukui, Ryo Suzuki, Masanobu Kishimoto, Kazushige Uchida, Koichi Matsuzaki, Akiyoshi Nishio, Kazuichi Okazaki Phosphorylation of Smad2/3 in Stem Cells of Small Intestine. 21th United European Gastroenterology Week Internationales Congress Centrum Berlin, Berlin, Germany 2013/10/12-16
3. Okazaki K. Lymphoproliferative disorders in the Japanese patients with inflammatory bowel disease. 6th Korea-Japan IBD symposium, Tokyo, 2012/1/28
4. Takashi Okazaki, Akiyoshi Nishio, Yutaku Sakaguchi, Toshiro Fukui, Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki. Amelioration of endoplasmic reticulum stress through enhanced PERK signaling attenuates murine experimental colitis. UEGW2012 (United European Gastroenterology Week) Amsterdam RAI Exhibition & Convention Centre [Amsterdam, The Netherland) 2012年10月24日

国内学会

1. Okazaki T, Nishio A, MTakeo M, Inoue T, Sakaguchi Y, Fukui T, Uchida K, Okazaki K. Endoplasmic Reticulum Stress Inhibitor Salubrinal protects against Murine Experimental Colitis via the PERK-eIF2 α signaling pathway. The 1st Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis (AOCC) ホテルラフォーレ東京 (品川) 2013年6月13日
2. 岸本真房 鈴木亮 高橋悠 福井寿朗 坂口雄沢 内田一茂 西尾彰功 岡崎 和一 リンカー部スレオニンリン酸化smad2/3蛋白発現による腸管幹細胞マーカーの探索 第50回日本臨床分子医学会学術集会 東京 2013/4/12-13
3. 高橋 悠 福井寿朗 岡崎和一 pSmad2/3L-Thrの消化管幹細胞マーカーとしての検討とその応用 第99回日本消化器病学会総会 東京 2013/3/21-23

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

我が国における IBD 患者のリンパ増殖性疾患の現状に関する実態調査

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：炎症性腸疾患患者でのリンパ増殖症を発症した患者の背景、治療内容を調査した。IBD 患者 36939 中 30 例（潰瘍性大腸炎 14 例、クローン病 16 例）でリンパ増殖性疾患の合併が確認された。内訳は悪性リンパ腫 14 例、白血病 9 例、多発性骨髄腫 5 例、その他 2 例であった。免疫調節薬使用により、潰瘍性大腸炎、クローン病ともリンパ増殖症発症の危険性の上昇は認められなかった。また、抗 TNF α 抗体使用によるリンパ増殖症発症の危険性の上昇も認められなかった。

共同研究者：深田憲将、松下光伸、大宮美香、（関西医科大学内科学第三講座（消化器肝臓内科））
渡辺守（東京医科歯科大学消化器病態学）

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎（ulcerative colitis: UC）やクローン病（Crohn's disease: CD）といった炎症性腸疾患（inflammatory bowel disease: IBD）は原因不明の慢性腸管疾患である。多くの患者は若年で発症するために、長期の臨床経過、免疫調節薬や抗 TNF α 抗体製剤などの影響により、血液増殖性疾患のリスクが増加する可能性の有無について過去 20 年以上にわたり注目されている。

臓器移植患者において長期の免疫調節薬の使用や EB ウイルス感染症が LPD の発症の危険因子として関連付けられている。しかし、炎症性腸疾患における LPD 発症のリスクを増加させるという報告と関連はないという報告と混在しておりいまだに関連について明らかにされていない。

近年 IBD 患者、特に CD における免疫調節薬の使用が LPD 発症と関連する可能性が指摘されている。CESAME study はフランスで行われた前向き研究であるが、チオプリン製剤が投与された IBD 患者では優位に LPD 発症リスクが高いとの報告がされている。またオランダからの最近の報告では慢性関節リウマチと同様に EB ウイルス感染との関連性

が強く示唆されている。

日本における炎症性腸疾患患者での血液増殖性疾患の現状については不明である。本研究において、我々は厚生労働省腸管障害調査研究班において全国アンケート調査を行い、日本における IBD 患者におけるリンパ増殖性疾患（lymphoproliferative disorders: LPD）の現状を把握するために調査を行った。

B. 研究方法

「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」に参加している全国 88 施設に対してアンケート調査を行った。1 次アンケートとして「貴施設で診療している炎症性腸疾患患者数、潰瘍性大腸炎患者数、クローン病患者数」「貴施設で悪性リンパ腫、白血病などリンパ増殖性疾患を発症した患者数」について調査を行った。1 次調査でリンパ増殖性疾患を発症した患者ありと回答のあった施設に対して、チオプリン製剤を使用したことのある症例数とリンパ増殖性疾患を発症した患者の年齢、性別、基礎疾患、病型、発症時の炎症性腸疾患の重症度、ステロイド使用量、免疫調節薬の使用量、使用期間、抗 TNF α 抗体の使用量について調査を行った。

データ解析

潰瘍性大腸炎、クローン病それぞれの疾患での血

液がんの発症について免疫調整薬の発症リスクについて χ^2 乗検定、odds比を求めた。

(倫理面への配慮)

本研究のために新たな検査はせず、通常の診療で得られる所見を用いて解析する。また、画像、病理組織を含めた検査所見の本研究への利用については患者本人の承諾を得ると共に解析にあたっては年齢と性別のみの人情報が対象となるため個人が特定されることはない。

C. 研究結果

1) 1次アンケートについて88施設中70施設(79.5%)から回答を得た。70施設で診療を行っている炎症性腸疾患患者は36939名であった(Figure1)。うち潰瘍性大腸炎患者22947(62.1%)、クローン病患者13992(37.9%)であった。70施設中27施設で46症例がリンパ増殖性疾患を発症していた。

2) 27施設に2次アンケートを送付し、23施設から回答が得られた。これら23施設での潰瘍性大腸炎とクローン病の診療患者数はそれぞれ10500、6310例であった。1次アンケートで回答があった46例のうち重複症例4例、炎症性腸疾患発症前からリンパ増殖性疾患を発症していた6例、回答が得られなかった施設の6症例、胃MALTリンパ腫1例、十二指腸濾胞リンパ腫1例を除いた28症例について検討を行った。

3) 23施設での検討では潰瘍性大腸炎でリンパ増殖症を発症した患者は0.11%(12/10500)、クローン病で血液がんを発症した患者は0.25%(16/6310)であった。全施設を対象にするとそれぞれ0.05%(12/22947)、0.11%(16/13992)であった。

4) 潰瘍性大腸炎、クローン病それぞれの疾患で発症したリンパ増殖性疾患の内訳を示す(Table1)。潰瘍性大腸炎で発症したリンパ増殖性疾患12例(0.11%)の内訳は悪性リンパ腫9例(非ホジキンリンパ腫6例、大腸MALTリンパ腫1例)、急性白血病(M1)1例、多発性骨髄腫(multiple myeloma)

3例、原発性マクログロブリン血症(primary macroglobulinemia)1例であった。クローン病で発症したリンパ増殖性疾患16例(0.24%)の内訳は悪性リンパ腫5例(非ホジキンリンパ腫3例、大腸MALTリンパ腫1例、不明1例)、白血病8例(急性白血病M1:3例、M2:1例、M3:1例、M4:1例、不明1例、慢性骨髄性白血病2例)、多発性骨髄腫2例、骨髄異形成症候群(MDS)1例であった。個々の症例についての詳細を示す(table2)

5) リンパ増殖性疾患を発症した症例の患者背景を示す(Table3)。潰瘍性大腸炎症例、クローン病症例の平均年齢はそれぞれ 40.33 ± 16.83 歳、 26.94 ± 12.60 歳であった。男性の割合は潰瘍性大腸炎では4例(33.3%)、クローン病では13例(81.3%)であった。IBD発症からリンパ増殖症発症までの期間は潰瘍性大腸炎で 12.44 ± 10.34 年、クローン病 13.71 ± 8.31 年であった。チオプリン製剤を使用されていたのは潰瘍性大腸炎で2例(16.7%)、クローン病で4例(25%)であった。インフリキシマブ(Infliximab: IFX)を使用されていたのは潰瘍性大腸炎で0例、クローン病で6例(37.5%)であった。

6) 2次調査を行った23施設では潰瘍性大腸炎患者の1341例(12.8%)、クローン病患者では1036例(16.4%)でチオプリン製剤が使用されていた(Table4)。潰瘍性大腸炎ではチオプリン製剤を使用されていた群から2例(0.15%)、使用されていなかった群から10例(0.13%)でリンパ増殖性疾患の発症がみられ、両群間に差は見られなかった。クローン病患者ではチオプリン製剤を使用されていた群から4例(0.39%)、使用されていなかった群から12例(0.21%)でリンパ増殖性疾患の発症がみられ、両群間に差は見られなかった。チオプリン製剤の使用により血液がんのOdds比は潰瘍性大腸炎で1.37、95%CI 0.30-6.24、クローン病では1.86、95%CI 0.60-5.78であり、血液がんの発症に寄与するという結果は得られなかった。

D. 考察

炎症性腸疾患患者ではLPD発症リスクが増加する

という報告と関連はないという報告と混在しておりいまだに関連について明らかにされていない。実際、これらのリスクを完全に明らかにすることは非常に困難であると考えられる。

フランスで行われた CESAME study の結果では潰瘍性大腸炎 7727 例、クローン病患者 11759 例、合わせて IBD 患者 19486 例を対象に解析が行われた。このうち 5867 例はチオプリン製剤が継続使用されており、2809 例は過去に使用尾経験があり、10810 例は使用経験がなかった。これらの患者のうち観察期間中に 23 例 (0.11%) で悪性リンパ腫 (非ホジキンリンパ腫 22 例、ホジキンリンパ腫 1 例) の発症を認めた。継続投与群では使用経験がない群と比較して 5.28 倍 (95%CI 2.01~13.9) LPD 発症リスクが高かった。今回の我々の検討では IBD 全体 (36939 例) でのリンパ腫の発生頻度は 0.03% (であった。また、リンパ腫についての thiopurine 製剤の関与については使用あり 0.04% (1/2377)、使用なし 0.07% (11/14933) であり、発生頻度に差は見られなかった。

Pedersen らは Meta-Analysis の結果から潰瘍性大腸炎においては白血病のリスクが増加すると報告しているが (SIR 2.00, 95% CI 1.31-3.06)、クローン病においては白血病の発症リスクは増加しないと報告されている (SIR 0.99, 95% CI 0.50-1.99)。今回の我々の調査では、潰瘍性大腸炎で 1 症例、クローン病で 8 症例の白血病の発症を認めた。9 例のうち 7 例が急性骨髄性白血病、2 例が慢性骨髄性白血病であり、リンパ性白血病の発症は見られなかった。白血病とクローン病の関連は以前から指摘されており、近年においてもクローン病患者での骨髄系悪性腫瘍の報告が散見される。臓器移植後あるいは自己免疫性疾患に対してアザチオプリンを内服した患者では急性白血病の発症リスクが上がると報告されているが、我々の調査では AZA の使用されていた患者はクローン病患者で 5 症例であり、AZA の使用により白血病のリスクが増加するという結果は得られなかった Odds Ratio 3.35, 95% CI 0.8-14.0)。

抗 TNF α 抗体使用によりクローン病患者において

予後不良の肝脾 T 細胞性リンパ腫 (Hepatosplenic T-cell lymphoma: HSTCL) を発症する患者がまれながら報告され問題となっている。Ochenrider らはクローン病患者において発症した HSTCL 28 例の報告を解析したところ、28 例全てにおいてチオプリン製剤が継続使用されており、そのうち 22 例においてインフリキシマブが併用されていた。このことから米国食品衛生局 (FDA) は若年患者では抗 TNF α 抗体の使用によりリンパ腫やほかの悪性リンパ腫のリスクが増加すると結論付けられ注意喚起している Tumor necrosis Factor (TNF) Blockers (marketed as Remicade, Embrel, Humira, Cimzia, and Simponi) August 2009 (<http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm175843.htm>)。今回の我々の検討において HSTCL の発症は認めなかったため、IBD 患者で HSTCL の発症リスクが増加するかどうかについては言及することができない。

我々の調査からは炎症性腸疾患患者での thiopurine 製剤の使用はリンパ増殖性疾患の発生頻度を増加させないという結果が得られた。ただし、後ろ向きのアンケート調査であるためエビデンスレベルは高くないが、アンケートを来なった施設は日本の IBD 診療の中心的な施設であり、日本の現状を反映したものであると考えられる。さらに症例を蓄積して今後も検討していく必要がある。

E. 結論

IBD 症例に合併するリンパ増殖症は悪性リンパ腫と白血病の頻度が高かった。免疫調節薬使用による LPD 発症の危険性が上昇することは確認されなかった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukata N, Okazaki K, Omiya M, Matsushita M, Watanabe M; The Members of the Ministry of Health and Welfare of Japan's

- Inflammatory Bowel Diseases Study Group. Hematologic malignancies in the Japanese patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.* 2013 Aug 19. [Epub ahead of print]
2. Kurishima A, Inaba M, Sakaguchi Y, Fukui T, Uchida K, Nishio A, Nomura S, Okazaki K. Immunoregulatory function of PIR-A/B₊ DCs in the inflammatory responses of dextran sodium sulfate-induced colitis. *J Gastroenterol.* 2013 Sep 29. [Epub ahead of print]
 3. Toyonaga T, Nakase H, Matsuura M, Minami N, Yamada S, Honzawa Y, Hukata N, Yoshino T, Chiba T, Okazaki K. Refractoriness of Intestinal Behçet's Disease with Myelodysplastic Syndrome Involving Trisomy 8 to Medical Therapies - Our Case Experience and Review of the Literature. *Digestion.* 2013 Nov 16;88(4):217-221.
 4. 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.
 5. 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 Sep;47(9):978-87
- 和文
1. 岡崎 和一, 深田 憲将, 安藤 祐吾, 大宮 美香, 岡崎 敬, 栗島 亜希子, 松下 光伸 炎症性腸疾患におけるリンパ増殖性疾患 胃と腸 2013 ; 48:763-769
 2. 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
 3. 田中 篤, 田妻 進, 岡崎 和一, 坪内 博仁, 乾 和郎, 滝川 一 硬化性胆管炎の全国調査 胆道 2013 ; 27 : 176-187
 4. 岡崎 和一, 福井 由里, 住本 貴美, 岡崎 敬, 栗島 亜希子 【難治性 Crohn 病の特徴と治療戦略】 全身性合併症の特徴 膝炎 胃と腸 2012 ; 47:1559-1565
5. 若松 隆宏, 島谷 昌明, 諏訪 兼彦, 堀 雄一, 谷村 雄志, 津久田 諭, 松本 泰司, 吉井 將哲, 宮本 早知, 福井 由理, 三好 秀明, 深田 憲将, 松下 光伸, 岡崎 和一 【小腸潰瘍性病変の的確な診断と概念の確立】 小腸潰瘍性病変における内視鏡と放射線学的検査の比較を通じた診断アルゴリズム 消化器内科 2012 ; 54:534-539
 6. 岡崎 和一, 栗島 亜希子, 岡崎 敬, 安藤 祐吾 【クローン病の Therapeutic Strategy-mucosal healing は治療のゴールか】 クローン病治療戦略 どのような患者に用いるか 今後の新規治療 Intestine 2012 ; 16:275-281
 7. 岡崎 和一, 深田 憲将, 大宮 美香, 松下 光伸 スペシャルシチュエーションにおける IBD 診療】 IBD 患者における血液増殖性疾患の現状 2012 ; 6:28-33
2. 学会発表
 1. Takashi Okazaki, Akiyoshi Nishio, Yutaku Sakaguchi, Toshiro Fukui, Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki. Endoplasmic Reticulum Stress Inhibitor Salubrinal protects against Murine Experimental Colitis via the PERK-eIF2 α signaling pathway. DDW 2013 Orland County Convention Center (Orland/Florida) 2013年5月18-21日
 2. Yu Takahashi, Toshiro Fukui, Ryo Suzuki, Masanobu Kishimoto, Kazushige Uchida, Koichi Matsuzaki, Akiyoshi Nishio, Kazuichi Okazaki Phosphorylation of Smad2/3 in Stem Cells of Small Intestine. 21th United European Gastroenterology Week Internationales Congress Centrum Berlin, Berlin, Germany 2013/10/12-16
 3. Okazaki K. Lymphoproliferative disorders in the Japanese patients with inflammatory bowel disease. 6th Korea-Japan IBD symposium, Tokyo, 2012/1/28
 4. Takashi Okazaki, Akiyoshi Nishio, Yutaku Sakaguchi, Toshiro Fukui, Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki. Amelioration of endoplasmic reticulum stress through enhanced PERK signaling attenuates murine experimental colitis. UEGW2012 (United European Gastroenterology Week) Amsterdam RAI Exhibition & Convention Centre [Amsterdam, The Netherland) 2012年10月24日

1. Okazaki T, Nishio A, MTakeo M, Inoue T, Sakaguchi Y, Fukui T, Uchida K, Okazaki K. Endoplasmic Reticulum Stress Inhibitor Salubrinal protects against Murine Experimental Colitis via the PERK-eIF2 α signaling pathway. The 1st Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis (AOCC) ホテルラフォーレ東京 (品川) 2013年6月13日
2. 岸本真房 鈴木亮 高橋悠 福井寿朗 坂口雄沢 内田一茂 西尾彰功 岡崎 和一 リンカー部スレオニンリン酸化smad2/3蛋白発現による腸管幹細胞マーカーの探索 第50回日本臨床分子医学会学術集会 東京 2013/4/12-13
3. 高橋 悠 福井寿朗 岡崎和一 pSmad2/3L-T_{hr}の消化管幹細胞マーカーとしての検討とその応用 第99回日本消化器病学会総会 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Schizophyllan を利用した新規 Drug delivery system による炎症性腸疾患の治療法

研究協力者 光山 慶一 久留米大学内科学講座消化器内科部門 教授
久留米大学炎症性腸疾患センター

研究要旨：中和抗体による治療戦略は、炎症性腸疾患において有効であることが証明されている。しかし、抗体治療には、潜在的な免疫原性、in vivo における短い半減期、副作用の可能性、およびコストが高いなどの欠点が上げられる。遺伝子発現の標的阻害する antisense 技術は、炎症や癌遺伝子を効果的に、細胞特異的に抑制することができる。私たちは、MIF をターゲットとし antisense 治療の開発を行った。antisense ODN の治療効果にはいくつかの問題がある。1つ目は、antisense ODN は、細胞への取り込みが不十分であり、標的部位に到達しない、2つ目は、デオキシリボヌクレアーゼによる加水分解のため、antisense が不安定になることである。したがって、標的 RNA または DNA に対する antisense の特異性を維持しながら、安定性を高める antisense のデリバリーシステムを開発する必要がある。本研究において、私たちの開発した SPG によるデリバリーシステムが、デオキシリボヌクレアーゼの存在下で溶解せず、生体内で安定し、この SPG 複合体が貪食作用によりマクロファージや樹状細胞に特異的に取り込まれることにより、antisense による効果を発揮できることを証明した。実際に antisense MIF/SPG 複合体は in vitro および in vivo ともにマクロファージからの MIF 産生を抑制し、治療に有効であると考えられる。

A. 研究目的

近年、炎症性腸疾患 (IBD) に対する内科的な治療法にも限界が認められている。より効果的に、少ない副作用で治療を行うためにドラッグデリバリーシステムの開発が必要と考えられる。私たちは、主にマクロファージ (MΦ) より分泌され、炎症反応を惹起する液性因子である Macrophage migration inhibitory factor (MIF) をターゲットとし、β-1,3-glucan の一種であり、分離と再構成の過程で一本鎖核酸と複合体を形成する Schizophyllan (SPG) を使用し、複合体を作製した。その複合体投与による治療効果について検討した。

B. 研究方法

C57BL/6 マウスに 2% Dextran sodium

sulfate (DSS) を飲水させ腸炎を誘導し、MIF 発現を解析した。マウス腸管由来 CD11b 陽性 MΦ の MIF 発現を経時的に確認し、SPG/antisense MIF 複合体による MIF 発現抑制効果の検討を行った。また、複合体の細胞への取り込みについて蛍光免疫染色にて評価した。DSS 腸炎モデルに複合体の腹腔内投与を行い治療効果について検討した。

C. 研究結果

DSS 腸炎モデルの血清、腸管、腸間膜リンパ節に MIF の発現が増加していた。興味深いことに、SPG のレセプターである dectin-1 の発現も、腸炎部位の MΦ に著明に増加していた。その MIF 産生は複合体投与により有意に抑制された。また、蛍

光免疫染色にて antisense 単独と比較し、複合体は有意に細胞内に取り込まれていることが明らかとなった。複合体の投与は、MIF の発現を抑制することで内視鏡的、組織学的に腸炎を有意に改善した。

D. 考察

SPG を利用した antisense MIF の投与は安全で効果的に MIF を抑制した。この効果は dectin-1 を介したマクロファージの貪食によるものと考えられた。Dectin-1 の発現の多い炎症部位にて効果を発揮できると考えられ、腸炎への治療効果が期待される。

E. 結論

SPG によるデリバリーシステムは MΦ、樹状細胞に特異的に取り込まれ、IBD に対し効果的な新しい治療法となりうると考えられる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hidetoshi Takedatsu, Keiichi Mitsuyama, Shinichi Mochizuki, Teppei Kobayashi, Kazuo Sakurai, Hiroshi Takeda, Yoshihide Fujiyama, Yoshikazu Koyama, Jun Nishihira and Michio Sata. A New Therapeutic Approach Using a Schizophyllan-based Drug Delivery System for

Inflammatory Bowel Disease. Mol Ther
20(6):1234-41, 2012

2. 学会発表

Hidetoshi Takedatsu, The new therapeutic approach for inflammatory bowel disease using antisense macrophage-migration inhibitory factor (MIF) / schizophyllan (SPG) complex, DDW-USA, San Diego, 2011年5月

竹田津英稔、新規 Drug delivery system による炎症性腸疾患の治療 - Schizophyllan を利用した antisense による治療法の開発、第 19 回浜名湖シンポジウム、浜名湖、2011年12月

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特願 2009-54249

名称：炎症性腸疾患の治療剤およびそれに用いられるポリヌクレオチド

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

リンカー部スレオニンリン酸化 smad2/3 蛋白発現による腸管幹細胞マーカーの探索

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：正常マウスの小腸と大腸にて anti-pSmad2/3L-Thr 抗体にて認識される細胞を同定し、この細胞が上皮由来の組織幹細胞であることを確認する。DSS 腸炎マウスモデルを用いて、びらん部と再生部においてこの抗体にて認識される細胞を同定し、細胞周期の観点から幹細胞マーカーの可能性を検討する。

共同研究者

岸本真房、鈴木 亮、高橋 悠、福井寿朗、坂口雄沢、内田一茂、西尾彰功（関西医科大学第三内科学講座）

A. 研究目的

幹細胞は、通常の状態ではその細胞分裂は強く抑制され、細胞周期上の G0 期にあり免疫組織学的に Ki67 陰性となる。細胞周期は CDK(cyclin-dependent kinase)-cyclin 複合体、CDK に結合してその活性を抑制する CDKI(CDK inhibitor)の組み合わせやバランスによって各位相への移行が正確に制御されている。CDK4・cyclinD 複合体は Rb 蛋白以外に Smad(2, 3)蛋白などもリン酸化し、G1(G0)期から S 期への進行に関与していることも分かっている。anti-pSmad2/3L-Thr 抗体は、Smad(2, 3)蛋白の linker 部の Thr がリン酸化された Smad(2, 3)蛋白のみに特異的に結合する。anti-pSmad2/3L-Thr 抗体にて認識されるリン酸化 Smad(2, 3)蛋白のリン酸化部位(Thr²²⁰, Thr¹⁷⁹)は CDK4 にてリン酸化される部位と一致する。この細胞周期の観点から anti-pSmad2/3L-Thr 抗体にて認識される細胞を同定し、幹細胞マーカーの可能性を検討する。

B. 研究方法

1) 正常マウスの小腸切片と大腸切片において、

二重染色を行い、Ki67 陰性かつ Smad 陽性細胞を検出する。2) 正常マウスの小腸切片と大腸切片において、anti-pSmad2/3L-Thr 抗体と腸管粘膜構成細胞マーカー(Cytokeratin8, Chromogranin A), 細胞周期マーカー(CDK4), これまでに提唱されている消化管上皮幹細胞マーカー(MSI-1)で二重染色を施行する。3) 消化管上皮幹細胞のマーカーとされる Lgr5 遺伝子を発現した細胞が GFP にて発色するよう改変されたマウス(Lgr5 GFP Knock in mouse)の小腸切片と大腸切片を免疫染色し、Smad 陽性細胞との相違を確認する。4) 正常マウスに BrdU 腹腔内投与を施行し、Label retaining assay を行い、Smad 陽性細胞における BrdU の残存を確認する。5) DSS 腸炎モデルマウスにおいても同様の細胞を検索し、びらん部と再生部の Smad 陽性細胞を検討する。

(倫理面への配慮)

この研究は、関西医科大学遺伝子組換え実験安全委員会、動物実験委員会において承認されている。承認番号：12-036(01)

C. 研究結果

正常マウスの小腸では+4 position 付近と一部の CBC 細胞に Ki67 陰性の smad 陽性細胞を認め、大腸では crypt base に Ki67 陰性の smad 陽性細胞を認めた。小腸と大腸で smad 陽性細胞は、cytokeratine 8 陽性、Chromogranin A 陰性であり、CDK4 が強く発現していた。小腸で smad 陽性細胞は、MSI-1 陽性細胞領域に発現していた。Lgr5

GFP Knock in mouse では、小腸で+ 4 position 付近の smad 陽性細胞は Lgr5 陰性、CBC 細胞領域の smad 陽性細胞は Lgr5 陽性であり、大腸で smad 陽性細胞は Lgr5 陽性であった。BrdU 腹腔内投与を行ったマウスの小腸と大腸で、BrdU 投与後 15 日目まで smad 陽性細胞に BrdU の残存を認めた。DSS 腸炎モデルマウスの大腸では、びらん部は Ki67 と smad 陽性細胞は認めず、再生部は Ki67 陽性細胞と smad 陽性細胞の有意な増加を認めた。

D. 考察

smad 陽性細胞が上皮由来の組織幹細胞である可能性を確認した。大腸粘膜の恒常性は上皮細胞の脱落(アポトーシス)と再生のバランスにより保たれているが、腸炎により上皮細胞の増殖は亢進し、Ki67 により標識される増殖細胞出現率が有意に高くなる。この増殖亢進状態においては、上皮幹細胞は細胞分裂を起こす頻度が高くなると考えられる。

E. 結論

今回、我々が観察したリン酸化 smad 蛋白陽性細胞は、CDK4 によりリン酸化され、Ki67 陰性の休止期から G1 期に入る時期に発現していると考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukata N, Okazaki K, Omiya M, Matsushita M, Watanabe M; The Members of the Ministry of Health and Welfare of Japan's Inflammatory Bowel Diseases Study Group. Hematologic malignancies in the Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2013 Aug 19. [Epub ahead of print]
2. Kurishima A, Inaba M, Sakaguchi Y, Fukui T, Uchida K, Nishio A, Nomura S, Okazaki K. Immunoregulatory function of PIR-A/B₂ DCs in the inflammatory responses of dextran sodium sulfate-induced colitis. J Gastroenterol. 2013 Sep 29. [Epub ahead of print]

3. Toyonaga T, Nakase H, Matsuura M, Minami N, Yamada S, Honzawa Y, Hukata N, Yoshino T, Chiba T, Okazaki K. Refractoriness of Intestinal Behçet's Disease with Myelodysplastic Syndrome Involving Trisomy 8 to Medical Therapies - Our Case Experience and Review of the Literature. Digestion. 2013 Nov 16;88(4):217-221.
4. 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.
5. 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 Sep;47(9):978-87

和文

1. 1. 岡崎 和一, 深田 憲将, 安藤 祐吾, 大宮 美香, 岡崎 敬, 栗島 亜希子, 松下 光伸 炎症性腸疾患におけるリンパ増殖性疾患 胃と腸 2013 ; 48:763-769
2. 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
3. 田中 篤, 田妻 進, 岡崎 和一, 坪内 博仁, 乾 和郎, 滝川 一 硬化性胆管炎の全国調査 胆道 2013 ; 27 : 176-187
4. 岡崎 和一, 福井 由里, 住本 貴美, 岡崎 敬, 栗島 亜希子 【難治性 Crohn 病の特徴と治療戦略】 全身性合併症の特徴 膵炎 胃と腸 2012 ; 47:1559-1565
5. 若松 隆宏, 島谷 昌明, 諏訪 兼彦, 堀 雄一, 谷村 雄志, 津久田 諭, 松本 泰司, 吉井 将哲, 宮本 早知, 福井 由理, 三好 秀明, 深田 憲将, 松下 光伸, 岡崎 和一 【小腸潰瘍性病変の的確な診断と概念の確立】 小腸潰瘍性病変における内視鏡と放射線学的検査の比較を通した診断アルゴリズム 消化器内科 2012 ; 54:534-539
6. 岡崎 和一, 栗島 亜希子, 岡崎 敬, 安藤 祐吾 【クローン病の Therapeutic Strategy-mucosal healing は治療のゴールか】 クローン病治療戦略 どのような患者

に用いるか 今後の新規治療 Intestine
2012 ; 16:275-281

7. 岡崎 和一, 深田 憲将, 大宮 美香, 松下
光伸 スペシャルシチュエーションにおけ
る IBD 診療】 IBD 患者における血液増殖性疾
患の現状 2012 ; 6:28-33

2. 学会発表

1. Takashi Okazaki, Akiyoshi Nishio, Yutaku
Sakaguchi, Toshiro Fukui, Kazushige U
chida, Kazuichi Okazaki. Endoplasmic Re
ticulum Stress Inhibitor Salubrinal pro
tects against Murine Experimental Colit
is via the PERK-eIF2 α signaling pathwa
y. DDW2013 Orland County Convention Cen
ter (Orland/Florida) 2013年5月18-21日
2. Yu Takahashi, Toshiro Fukui, Ryo Suzuki,
Masanobu Kishimoto, Kazushige Uchida,
Koichi Matsuzaki, Akiyoshi Nishio, Kazu
ichi Okazaki Phosphorylation of Smad2/3
in Stem Cells of Small Intestine. 21th
United European Gastroenterology Week
Internationales Congress Centrum Be
rlin, Berlin, Germany 2013/10/12-16
3. Okazaki K. Lymphoproliferative disorder
s in the Japanese patients with inflamm
atory bowel disease. 6th Korea-Japan I
BD symposium, Tokyo, 2012/1/28
4. Takashi Okazaki, Akiyoshi Nishio, Yutaku
Sakaguchi, Toshiro Fukui, Kazushige
Uchida, Kazuichi Okazaki. Amelioration of
endoplasmic reticulum stress through
enhanced PERK signaling attenuates murine
experimental colitis. UEGW2012 (United
European Gastroenterology Week) Amsterdam
RAI Exhibition & Convention Centre
[Amsterdam, The Netherland) 2012年10月24
日

国内学会

1. Okazaki T, Nishio A, MTakeo M, Inou
e T, Sakaguchi Y, Fukui T, Uchida K,
Okazaki K. Endoplasmic Reticulum Stres
s Inhibitor Salubrinal protects against
Murine Experimental Colitis via the PE
RK-eIF2 α signaling pathway. The 1st An
nual Meeting of Asian Organization for
Crohn's & Colitis (AOCC) ホテルラフォー
レ東京 (品川) 2013年6月13日
2. 岸本真房 鈴木亮 高橋悠 福井寿朗 坂
口雄沢 内田一茂 西尾彰功 岡崎 和一

リンカー部スレオニンリン酸化smad2/3蛋
白発現による腸管幹細胞マーカーの探索
第50回日本臨床分子医学会学術集会 東京
2013/4/12-13

3. 高橋 悠 福井寿朗 岡崎和一 pSmad2/3L-
Thrの消化管幹細胞マーカーとしての検討と
その応用 第99回日本消化器病学会総会 東
京 2013/3/21-23

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

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

研究協力者 三浦 総一郎 防衛医科大学校 学校長

研究要旨：Crohn 病および潰瘍性大腸炎(UC)にて当科受診中の患者で病変部粘膜のオートタキシン (ATX) の発現を非病変部と比較した。ATX の発現量は、病変部で増加し、Crohn 病および UC との関連が示唆された。ATX は炎症粘膜に発現する高内皮円柱様静脈に発現し、その血管から炎症細胞の浸潤像が観察された。血管内非細胞を高内皮円柱様静脈に *in vitro* で分化させると ATX が発現しリンパ球 transmigration が亢進したが、リゾフォスファチジン酸の阻害でその効果はキャンセルされた。ATX の阻害でも同様の阻害効果を認めたが接着分子の発現に変化は無かった。

A. 研究目的

脂質メディエーターのひとつであるリゾフォスファチジン酸、およびその産生酵素であるオートタキシン (ATX) は、リンパ球の 2 次リンパ組織への migration への関与が報告されている。一方、aberrant lymphocyte migration は炎症性腸疾患の主要な病態のひとつであり、その病変粘膜では静脈が HEV-like vessel に変化し、MAdCAM-1 などの接着分子が異所性に発現することが明らかになっている。以前我々は、UC・Crohn 病患者の病変粘膜において HEV-like vessel が形成され、ATX の発現が見られ、動物モデルで ATX の抑制が腸炎改善することを報告した。今回、血管内皮細胞を HEV-like vessel 化させ、ATX を発現するモデルを作成し、リンパ球 migration のメカニズムを追求した。

B. 研究方法

b. End 3 細胞に TNF-alpha を投与し、high endothelial cell を誘導した。Transwell assay に b. End 3 細胞を confluent に培養し、リンパ球を上層に添加し、transmigration を計測した。リゾフォスファチジン酸の競合阻害剤として Br-LFA、ATX の阻害剤としてピチオノールを使用

した。

(倫理面への配慮)

当院倫理委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

b. End 3 細胞に TNF-alpha を投与し、high endothelial cell になることを形態的に確認した。その際、MAdCAM-1 の発現が増加した。Transwell assay で high endothelial cell はリンパ球 migration が亢進することを確認した。この細胞は ATX 発現が亢進していた。リゾフォスファチジン酸の競合阻害剤でリンパ球 migration の亢進は抑制された。ATX の阻害剤でリンパ球 migration の亢進は抑制された。この際、MAdCAM-1 の発現やケモカイン CCR7 の発現には変化が無かった。また ATX 阻害剤処理は血管内皮の形態に変化を与えなかった。

D. 考察

慢性炎症の環境下にある粘膜では、静脈が HEV-like vessel に変化し、MAdCAM-1 などの接着分子が異所性に発現するが、ここに ATX が発現しリンパ球 migration に関与するものと考えられる。ATX はリゾフォスファチジン酸産生を介して効果を発現すると考えられるが、その機序は接着分子やケモカインなどとは独立したものと考えられる。

E. 結論

Crohn 病および UC における異常なリンパ球 migration に ATX 発現が関連しており、新たな炎症細胞マイグレーション阻害治療のターゲットとなる可能性があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hozumi, H., Hokari, R., Kurihara, C., Narimatsu, K., Sato, H., Sato, S., Ueda, T., Higashiyama, M., Okada, Y., Watanabe, C., Komoto, S., Tomita, K., Kawaguchi, A., Nagao, S., Miura, S. Endoscopic finding of spontaneous hemorrhage correlates with tumor necrosis factor alpha expression in colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Int. J. Colorectal. Dis.* 1049-1055, 2013

2. Sato, S., Hokari, R., Kurihara, C., Sato, H., Narimatsu, K., Hozumi, H., Ueda, T., Higashiyama, M., Okada, Y., Watanabe, C., Komoto, S., Tomita, K., Kawaguchi, A., Nagao, S., Miura, S. Dietary lipids and sweeteners regulate glucagon-like peptide-2 secretion. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* G708-G714, 2013

3. Hozumi, H., Hokari, R., Kurihara, C., Narimatsu, K., Sato, H., Sato, S., Ueda, T., Higashiyama, M., Okada, Y., Watanabe, C., Komoto, S., Tomita, K., Kawaguchi, A., Nagao, S., Miura, S. Involvement of autotaxin/lysophospholipase D expression in intestinal vessels in aggravation of intestinal damage through lymphocyte migration. *Lab. Invest.* 508-519, 2013

4. Okada Y, Tsuzuki Y, Ueda T, Hozumi H, Sato S, Hokari R, Kurihara C, Watanabe C, Tomita K, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Miura S. Trans fatty acids in diets act as a precipitating factor for gut inflammation? *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Dec;28 Suppl 4:29-3

2. 学会発表

1. Watanabe, C., Komoto, S., Kurihara, C., Okada, Y., Narimatsu, K., Sato, H., Hozumi, H., Hokari, R., Miura, S. Increased prevalence of celiac specific antibody in Japanese IBD patients and the effect of gluten intake. *Digestive Disease Week 2013 Orlando*, 2013.5.

2. Okada, Y., Tsuzuki, Y., Sato, H., Narimatsu, K., Hokari, R., Tomita, K., Kurihara, C., Kawaguchi, A., Nagao, S., Miura, S. Bone marrow dendritic cells exposed to trans-fatty acids exacerbate DSS-induced colitis through promotion of TH17 differentiation and up-regulation of proinflammatory cytokines. *Digestive Disease Week 2013 Orlando*, 2013

3. Narimatsu, K., Hokari, R., Yasutake, Y., Sato, H., Hozumi, H., Sato, S., Kurihara, C., Okada, Y., Watanabe, C., Komoto, S., Tomita, K., Kawaguchi, A., Nagao, S., Miura, S. Lipoarabinomannan, toll-like receptor 2 agonist, attenuates indomethacin-induced intestinal lesions through modulating leukocyte migration and TNFalpha production. *Digestive Disease Week 2013 Orlando*, 2013

4. Sato, S., Yang, Q., Kohan, A.B., Wang, F., Miura, S., Tso, P. Lipid absorption stimulates both GLP-1 and GLP-2 secretion into lymph. *Digestive Disease Week 2013 Orlando*, 2013

5. Kurihara, C., Hokari, R., Sato, S., Hozumi, H., Sato, H., Narimatsu, K., Yasutake, Y., Okada, Y., Watanabe, C., Komoto, S., Tomita, K., Kawaguchi, A., Nagao, S., Miura, S. Fatty acids exposure modifies mRNA expression of inflammatory cytokines in macrophages induced by enterobacteria. *Digestive Disease Week 2013 Orlando*, 2013

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

炎症性腸疾患患者腸内で低下する *Fusicatenibacter saccharivorans* による
腸炎抑制効果についての検討

研究分担者 日比 紀文 北里大学北里研究所病院炎症性腸疾患先進治療センター 教授

研究分担者 金井 隆典 慶應義塾大学医学部消化器内科 教授

研究要旨：腸内細菌が炎症性腸疾患の発症や病態への関与を示唆する研究が近年相次いで報告されている。IBD 患者では *Clostridium coccooides* group が減少しているなど、特定の細菌について疫学的挙動は明らかになってきているが、各菌種が IBD の病態に与える影響については未だ不明な点が多い。今回我々は、活動期 IBD 患者腸内細菌叢で偏性嫌気性グラム陽性桿菌である *Fusicatenibacter saccharivorans* が減少していることを見いだした。また、この *F. saccharivorans* は DSS 腸炎の抑制効果をもち、今後、治療薬の開発にもつながることが期待される。

A. 研究目的

炎症性腸疾患 (IBD) 患者の腸内細菌叢解析により、IBD 発症や病態に関与する細菌を探索し、病態メカニズムを明らかにし、新規治療薬開発を目指す。

B. 研究方法

当院 IBD 患者と健常者の便検体を用いて 16S rRNA 系統解析法で腸内細菌叢を解析した。また、ヒト患者大腸検体とマウスを用いて *Fusicatenibacter saccharivorans* (*FS*) の菌刺激による免疫応答を検証した。

(倫理面への配慮)

患者検体を使用するにあたっては、慶應義塾大学倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

当院 IBD 患者と健常者の便検体を用いて 16S rRNA 系統解析法で腸内細菌叢を解析したところ、*FS* の減少を認めた。また、潰瘍性大腸炎 (UC) 患者において、活動期患者では治療介入後に *FS* の増加を認めた。そこで、UC 患者大腸手術検体の腸粘

膜固有層単核球 (LPMC) を各種細菌と共培養し、上清中のサイトカインを測定したところ、*FS* では *Enterococcus faecalis* と比較して有意に IL-10 産生亢進を認め、*FS* の抗炎症効果が示唆された。*FS* の腸炎抑制効果を検討するため、Dextran sulfate sodium 腸炎マウスに *FS* を投与したところ、腸炎の抑制効果を認めた。

D. 考察

今回、IBD 患者の活動期で減少している *FS* は、マウスの腸炎を抑制することが認められ、マウスとヒト双方の腸炎大腸 LPMC からの IL-10 産生の誘導能が確認されたが、*FS* による腸炎抑制効果が果たして IL-10 産生誘導によるものだけなのか、他の経路が絡んでいるのかを今後検証し、その分子メカニズムを明らかにすることが必要である。その解明が、IBD の病態解明につながり、ひいては治療につながると考える。

E. 結論

IBD 患者の活動期で減少している *F. saccharivorans* は、マウスにおいて腸炎抑制効果を示し、今後 IBD 患者に対する新規治療薬開発につながることが期待される。

産生誘導能についての検討. 日本臨床免疫学会
総会. 2013年11月27日

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし

2. 学会発表

竹下 梢, 炎症性腸疾患患者腸内で低下する
Fusicatenibacter saccharivorans による IL-10

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

潰瘍性大腸炎における血球成分除去療法前後のケモカインプロファイリング

分担研究者 坪内 博仁 鹿児島市立病院 病院長

研究要旨：血球成分除去療法は副作用の少ない有効な治療法として認識されているが、効果発現に時間がかかるため治療期間が長期に及びやすい。また、効果予測マーカーがないため他の治療法にスイッチする機会が遅れてしまう可能性がある。

本研究では血球成分除去療法を受けた炎症性腸疾患患者の血液サンプル中のケモカイン濃度を測定し、新たな血球成分除去療法のバイオマーカーを探索した。ケモカインチップやELISA法による測定で潰瘍性大腸炎の血漿 CCL5 濃度は、クローン病や健常者と比較し有意に高濃度であった。寛解導入可能群の治療前の血漿 CCL5 濃度は非寛解群と比較し有意に高値を示しており、加療後に有意に低下していた。血漿 CCL5 濃度は血球成分除去療法の治療効果を予測でき、治療法の選択や治療期間の短縮を目指すことができる可能性がある。本研究により、CCL5 は炎症性腸疾患における血球成分除去療法のバイオマーカー候補ケモカインのひとつであることが示された。

共同研究者

上村修司 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学 助教

小野陽平 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学

沼田政嗣 鹿児島大学医学部・歯学部附属病院
光学医療診療部 講師

藤田 浩 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学 助教

井戸章雄 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
消化器疾患・生活習慣病学 教授

の作用機序として顆粒球や単球の除去、末梢血中の炎症性サイトカインの減少やその産生能の抑制、制御性サイトカインの増加などが報告されているが、未だ明らかになっていない点も多い。炎症性腸疾患の病態には fractalkine、RANTES など様々なケモカインの関与が報告されているが、CAP におけるケモカインの変化を解析した報告はほとんどない。そのため、CAP 前後のケモカインの発現量を測定し、CAP のバイオマーカー探索ならびに CAP の作用機序の解明を目的に検討を行った。

A. 研究目的

本邦で開発された血球成分除去療法（CAP: cytapheresis）は、潰瘍性大腸炎やクローン病の難治例などに対し用いられている。CAP

B. 研究方法

本研究は鹿児島大学関連施設の共同研究である”血球成分除去療法が疾患関連因子に与え

る影響 “のサンプルを使用して行われた。当科ならびに関連 10 施設で CAP を施行した潰瘍性大腸炎 33 例を対象とし、下記の検討を行った。

1. 潰瘍性大腸炎とコントロールとして用いたクローン病、健常者の血漿ケモカインをケモカインチップで測定した。
2. 上記 3 群間で有意差のあったケモカイン濃度を、ELISA 法により測定し、寛解導入の可否による治療前濃度の比較、治療前後の濃度比較、治療前の濃度と疾患活動性の相関を検討した。なお、CAP 後に CAI が 3 以下となった群を寛解群 (n=23)、4 以上であった群を非寛解群 (n=10) とした。

本研究は鹿児島大学ならびに各関連施設の倫理委員会にて承諾を得て開始された。研究への参加に関しては、自由意思による同意を対象者本人より取得した。各協力施設で採取した血液検体および付帯情報は守秘されている。

C. 研究結果

1. ケモカインチップ (Q-plex Human Chemokine, Quansys Bioscience 社) を用いて、9 種類のケモカイン濃度を網羅的に測定した。CXCL1, CCL5 と CCL11 がコントロール群に比し、有意に潰瘍性大腸炎群で上昇していた。
2. 治療前の平均血漿 CCL5 濃度 (\pm SD) は寛解群/非寛解群で、それぞれ $20.7 \pm 13.6 / 13.1 \pm 6.7$ ng/ml であり、寛解群で有意に高かった ($p=0.038$)。また、治療後の血漿 CCL5 濃度は寛解群 / 非寛解群で、それぞれ $12.8 \pm 5.9 / 10.9 \pm 4.9$ ng/ml

であり、寛解群において治療前と比較し有意に低下していた ($p=0.001$)。治療前の血漿 CCL5 濃度と CAI やステロイド使用量には相関を認めなかった。

CXCL1 や CCL11 は潰瘍性大腸炎、クローン病、健常者群で有意差は無かった。

D. 考 察

CAP 療法は副作用がステロイドや免疫調整薬に比して少なく、炎症性腸疾患に対する安全な治療法として認識されている。この治療法は顆粒球や単球などを吸着・除去することで炎症性腸疾患の病勢を抑えると言われているが、その機序には不明な点が多い。また、一般的に治療効果発現が緩徐であるため、治療期間が長期に及ぶ可能性があり、病勢の判断を誤ると他の治療法へのスイッチや手術のタイミングを逃がしてしまう可能性がある。そのため CAP の作用機序の解明や CAP 療法の効果判定バイオマーカーの開発は急務である。今回の研究でケモカインのひとつである CCL5 が、CAP の治療効果予測マーカーの可能性が示された。CCL5 は T 細胞や単球の遊走を誘導し、炎症を促進するため、CAP が CCL5 依存性の遊走能を低下させることにより炎症を制御している可能性が示された。

E. 結 論

炎症性腸疾患（特に潰瘍性大腸炎）における血球成分除去療法前後のケモカインプロファイリングを行い、治療効果判定バイオマーカーとなりうるケモカインを示した。

F. 健康危険情報 なし