

マクロファージに発現し、抗炎症および抗繊維化作用を有していることが示唆された。

D. 考察

- (1) 活性化 WNT を用いたオルガノイド・スフェロイド培養系を準備できたことよって、平成 27 年度には、腸管上皮幹細胞をより活性化させた条件下で幹細胞の動態を観察できると思われた。
- (2) 細胞系譜解析が可能な複合変異マウスから作製したオルガノイドは、腸管上皮幹細胞の増殖・分化をコントロールする因子のスクリーニングに適した実験系と思われた。平成 27 年度には、さらに多数の炎症性因子刺激による条件検討を進めるほか、プロスタグランジンに関わる実験系については、プロスタグランジン刺激の阻害による粘膜傷害モデルを併行して検討するべきと思われた。
- (3) HSP47 はヒト炎症性腸疾患の病勢に一致して炎症局所に発現が上昇し、そのノックダウンによって I 型コラーゲンの産生が抑制されたことから、抗繊維化作用を併せ持った炎症性腸疾患の治療標的となる可能性が考えられた。また EPRAP については、間質細胞のはたらきを介して、HSP47 と同様に抗繊維化作用を併せ持った炎症性腸疾患の治療標的となる可能性が考えられた。

E. 結論

活性化 WNT を用いたオルガノイド培養系構築の準備を進め、腸管上皮幹細胞レポーターマウスから作製した正常腸管オルガノイドを併用した薬剤スクリーニング系を作成した。これらの体外腸内環境モデルは、炎症性腸疾患における腸管幹細胞の動態を解析するための有用なツールと思われた。また、腸炎および腸管繊維

化を抑制する因子として HSP47、EPRAP が炎症性腸疾患の治療標的になる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

1. Honzawa Y, Nakase H, Shiokawa M, Yoshino T, Imaeda H, Matsuura M, Kodama Y, Ikeuchi H, Andoh A, Sakai Y, Nagata K, Chiba T: Involvement of interleukin-17A-induced expression of heat shock protein 47 in intestinal fibrosis in Crohn's disease. *Gut* 63:1902-1912:2014.
2. Watanabe T, Asano N, Meng G, Yamashita K, Arai Y, Sakurai T, Kudo M, Fuss IJ, Kitani A, Shimosegawa T, Chiba T, Strober W: NOD2 downregulates colonic inflammation by IRF4-mediated inhibition of K63-linked polyubiquitination of RICK and TRAF6. *Mucosal Immunol* 7: 1312-1325:2014.
3. Sugano K, Choi MG, Lin JT, Goto S, Okada Y, Kinoshita Y, Miwa H, Chiang CE, Chiba T, Hori M, Fukushima Y, Kim HS, Chang CY, Date M; LAVENDER Study Group: Multinational, double-blind, randomised, placebo-controlled, prospective study of esomeprazole in the prevention of recurrent peptic ulcer in low-dose acetylsalicylic acid users: the LAVENDER study. *Gut* 63:1061-1068 : 2014.

2. 学会発表

1. 千葉 勉、中西裕貴、妹尾 浩: マウスモデルを用いた大腸がん幹細胞マーカー候補 Dclk1 の同定. 第 100 回日本消化器病学会総会・シンポジウム, 2014/4/25, 東京国際

フォーラム.

2. Hiroshi Seno: Dclkl, a specific marker for tumor stem cells in digestive organs. 第 52 回日本癌治療学会学術集会・International symposium, 2014/8/28, パシフィコ横浜.
3. 妹尾 浩、丸野貴久、山賀雄一、吉岡拓人、中西 祐 貴、千葉 勉: Role of Dclkl-expressing cells in digestive organ tumors 消化器腫瘍における Dclkl 陽性細胞の役割. 第 73 回日本癌学会学術総会・コアシンポジウム, 2014/9/26, パシフィコ横浜.
4. 千葉 勉: 消化器がんの cancer stem cell, cancer initiating cell. JDDW2014・第 56 回日本消化器病学会大会・パネルディスカッション (基調講演), 2014/10/23, 神戸国際展示場.
5. 木村昌倫、辻 喜久、岩井真紗子、吉野琢哉、松浦 稔、仲瀬裕志、千葉 勉: Trisomy8 MDS を合併した腸管型 Behcet 病

に adalimumab が奏功した 1 例. JDDW2014・第 56 回日本消化器病学会大会・ポスター, 2014/10/24, 神戸国際展示場.

6. 横出正隆、辻 喜久、本澤有介、吉野琢哉、松浦 稔、仲瀬裕志、千葉 勉: MDS Trisomy 8 合併ベーチェット病の生存期間についての検討 第 6 回日本炎症性腸疾患研究会学術集会・ポスター, 2014/12/14, TKP ガーデンシティ品川.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

厚生労働科学研究委託費
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))
独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究
委託業務成果報告 (業務項目)

特殊な腸管上皮 M 細胞分化の分子メカニズム

研究協力者 大野 博司 理化学研究所統合生命医科学研究センター グループディレクター

研究要旨:腸管免疫を誘導する特殊な腸管上皮 M 細胞の分化は Spi-B によって制御されている。本研究では、Spi-B の M 細胞における標的遺伝子として *Cc19* を同定し、また Spi-B の発現が NF- κ B の非古典的経路によって誘導されることを明らかにした。

A. 研究目的

パイエル板を覆う腸管上皮細胞 (follicle-associated epithelium: FAE) に分布する特殊な上皮細胞、M 細胞は、腸管内の抗原を取り込み、パイエル板の抗原提示細胞へ受け渡す役割を担っている。この結果、抗原特異的 IgA 抗体の産生が誘導されることから、M 細胞は腸管免疫において重要であることが知られる。これまで我々は、M 細胞の分化および機能の分子メカニズムの解明に取り組んできた。その結果、M 細胞の分化に *ets* ファミリー転写因子の 1 つである Spi-B が必須であることを明らかにしている。しかしながら、Spi-B を中心とした M 細胞分化の分子メカニズムは不明である。本研究では Spi-B の標的遺伝子の特定、および Spi-B の発現誘導機構の解明に取り組んだ。

B. 研究方法

1. Spi-B の標的遺伝子の探索

Spi-B の M 細胞における標的遺伝子を決定するため、Spi-B 欠損マウスにおいて発現が欠失もしくは著しく減少する M 細胞マーカー遺伝子に着目した。その中から発現量の高い、*GP2*、*Tnfaip2*、*Cc19* および *Scg5* のプロモーター配列のサブクローニングを行い、レポーターアッセイを行った。

2. 小腸エンテロイドへの Spi-B の導入

Spi-B による遺伝子発現制御を解析するため、小腸上皮幹細胞の初代培養系 (小腸エンテロイド) へのレンチウイルスによる Spi-B の強制発現を行い、M 細胞マーカー遺伝子の発現を解析した。

3. Spi-B の発現を誘導するシグナル伝達経路の解析

M 細胞分化は RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) によって誘導されることが知られる。また、マウスへの RANKL の投与は通常 M 細胞の存在しない絨毛上皮へ異所性の M 細胞を誘導する。この現象を活用し、RANKL 投与後の遺伝子発現を経時的に解析することによって Spi-B の上流で活性化されるシグナル伝達経路の解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究において一部ヒト腸管組織の内視鏡バイオプシーサンプルにおける遺伝子発現解析ならびに組織染色による解析を行った。これに関しては所属機関の「人を対象とする研究に関する倫理規程に基づいて承認を受けている (受付番号: 横浜 H19-8(4)「新規粘膜ワクチンの開発を目指した咽頭ならびに腸管リンパ濾胞の遺伝子発現解析および形態学的解析研究」)。

C. 研究結果

1. Spi-B の標的遺伝子の決定

M 細胞マーカー遺伝子、*GP2*、*Tnfaip2*、*Cc19* および *Scg5* のプロモーター配列を用い、レポ-

ターアッセイを行った。その結果、Spi-Bが*Cc19*のプロモーター配列に結合することが見出された。しかしながら、このレポーターアッセイにおいて*GP2*、*Tnfaip2*および*Scg5*のプロモーター配列にSpi-Bが結合することを示唆する結果は得られなかった。さらに*Cc19*プロモーター配列においてSpi-Bが結合すると予測される配列を検索し、これらの配列に変異を挿入したレポーターベクターを作製し、レポーターアッセイを行った。その結果、これらの結合配列にSpi-Bが特異的に結合することを示す結果が得られた。

2. Spi-Bは*Cc19*の発現を誘導する

小腸上皮幹細胞から樹立したエンテロイドにレンチウイルスを用いてSpi-Bを強制発現させたところ、*Cc19*の発現上昇が確認された。このことはSpi-B単独で*Cc19*の発現を誘導することを示唆する。

3. ヒトSpi-Bは*CCL23*の発現を誘導する

我々はヒトパイエル板においてSpi-Bが発現すること、またCCL9のヒトにおけるカウンターパートであるCCL23がヒトM細胞において発現することを見出している。そこでヒトM細胞においてSpi-Bが*CCL23*の発現を制御する可能性を検証するため、前述の項目と同様なレポーターアッセイを行った。その結果、ヒトSpi-Bがヒト*CCL23*のプロモーター配列に結合することを示す結果が得られた。

4. NF- κ BはSpi-Bの発現を制御する

マウスにRANKLを投与することでM細胞分化誘導を行い、その際の遺伝子発現変動を経時的に解析した。その結果、NF- κ Bの非古典的経路において転写因子として機能する*Relb*、*Nfkb2*の発現が*Spib*に先行して誘導されることが観察された。また、GP2陽性のM細胞において*RelB*の核内移行が高頻度で観察されたことから、NF- κ Bの非古典的経路がM細胞分化において何らかの役割を担うことが推測された。そこで*RelB*欠損マウスからエンテロイドを作製し

(*RelB*欠損マウスはパイエル板を欠損しており個体での解析はできないため)、RANKL刺激によるM細胞分化誘導を行ったところ、M細胞への分化は確認されなかった。このことはNF- κ Bの非古典的経路がM細胞分化に必須であることを示唆する。野生型マウスより作製したエンテロイドへp52 (NF- κ B2)と*RelB*の強制発現を行ったところ、*Spib*の発現が誘導されたことから、RANKによって活性化されたNF- κ Bの非古典的経路がSpi-Bの発現を誘導することが明らかとなった。

D. 考察

Spi-Bは単独で*Cc19*の発現を誘導するが、*Gp2*をはじめとする他の多くのM細胞マーカー遺伝子の発現を誘導できない可能性が示された。これらの遺伝子の発現には、Spi-Bと他の転写因子との協調的な作用やSpi-Bを介した間接的な遺伝子制御機構が必要とされることを意味する。また、Spi-Bによる*Cc19* (*CCL23*)の発現制御機構がマウスとヒトの間で保存されている可能性が示された。このことは、CCL9がM細胞の分化もしくは機能において重要な役割を担うことを示唆する。

E. 結論

本研究においてM細胞におけるSpi-Bの標的遺伝子が同定され、またRANKによって活性化されるNF- κ Bの非古典的経路がSpi-Bの発現を誘導することが明らかとなった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Obata, Y., Kimura, S., Nakato, G., Iizuka, K., Miyagawa, Y., Nakamura, Y., Furusawa, Y., Sugiyama, S., Suzuki, K., Ebisawa, M., Fujimura, Y., Yoshida, H., Iwanaga, T., Hase, K., Ohno, H. Epithelial-stromal interaction via Notch signaling is essential for the full maturation of gut-associated lymphoid tissues in mice.

2. 学会発表

大野博司・粘膜微生物抗原取り込みに特化した上皮細胞、M細胞の機能と分化・第18回 GI Cell Biology 研究会・ホテルメトロポリタン エドモンド・東京・平成26年6月5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

厚生労働科学研究委託費
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))
独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究
委託業務成果報告 (業務項目)

潰瘍性大腸炎における胃型粘液形質発現

研究協力者 味岡 洋一 新潟大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨：炎症性発癌における背景粘膜の胃型粘液発現を明らかにするため、ホルマリン固定材料を用いて、大腸癌を合併する担癌 UC、合併しない非担癌 UC および正常大腸を対象に、胃腺窩上皮型および幽門腺型粘液形質マーカー発現を免疫組織学的に検討した。UC の大腸粘膜では、正常大腸と比較して胃腺窩上皮型、幽門腺型いずれの胃型粘液も高頻度に発現していた。UC 罹患年数 10 年未満の症例では、担癌例が非担癌例に比べ胃型粘液の発現頻度が有意に高かった。罹患年数 10 年以上では両者間に有意差はなかったが、担癌 UC では陰窩全層性・びまん性に胃型粘液を発現する頻度が有意に高かった。以上のことから、炎症性発癌の背景 UC 大腸粘膜では、胃への細胞形質転換（胃化生）が起きており、胃粘液形質の発現パターンは、炎症性発癌高リスク群の選別に有用なマーカーになりうる可能性があることが示唆された。

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎（以下 UC: ulcerative colitis）の慢性持続性炎症粘膜には高頻度で大腸癌が発生する（炎症性発癌）。UC に発生する大腸癌は、胃型粘液形質を発現する頻度が高いことが知られており、炎症性発癌の背景には、大腸粘膜の胃への形質転換（胃化生）が存在する可能性がある。本研究では UC の非腫瘍性大腸粘膜における胃への形質転換の有無、頻度、発現パターンについて検討した。

B. 研究方法

ホルマリン固定外科切除を用いた。大腸癌を合併しない非担癌 UC104 例（全例、全大腸炎型）、大腸癌を合併する担癌 UC14 例（全大腸炎型 12 例、左側大腸炎型 2 例）を対象とした。コントロールは炎症性腸疾患を合併しない大腸 38 例とした。各症例の S 状結腸または直腸の代表切片に対して、胃腺窩上皮型粘液マーカーである MUC5AC と HGM、胃幽門腺型粘液マーカーである MUC6 と

HIK1083 の免疫染色を施行し、各種マーカーの発現頻度と発現パターンを検討した。

（倫理面への配慮）
該当しない。

C. 研究結果

- ①胃腺窩上皮型、幽門腺型いずれの胃型粘液も、発現陽性陰窩の頻度は、UC がコントロールに比べ有意に高かった ($p < 0.05$)。
- ②担癌例と非担癌例の比較では、
 - 1) UC 罹患年数 10 年未満の症例では、担癌例が非担癌例に比べ胃型粘液の発現頻度が有意に高頻度であった ($p < 0.05$) が、10 年以上経過例では両者間に有意差はなかった。
 - 2) 胃型粘液の発現パターンは、UC 罹患年数に関わらず、担癌例は非担癌例に比べ、陰窩全層性・びまん性に発現する頻度が有意に高かった ($p < 0.05$)。

D. 考察

UCでは正常大腸粘膜に比べ胃型粘液を発現している頻度が有意に高いことから、UCの慢性持続性炎症により大腸粘膜には胃への細胞形質転換（胃化生）が起きていると考えられる。担癌例と非担癌例との比較では、発癌リスクの高いUC罹患年数10年以上では胃型粘液発現頻度に差はなかったが、発現パターンはUC罹患年数に関わらず担癌例と非担癌例では異なり、前者は後者に比べ陰窩全層性・びまん性発現の頻度が高いという特徴があった。こうした胃粘液形質発現のパターンは、炎症性発癌高リスク群の選別に有用なマーカーになりうる可能性が示唆された。

E. 結論

炎症性発癌の背景UC大腸粘膜では、胃への細胞形質転換（胃化生）が起きている。胃粘液形質の発現パターンは、炎症性発癌高リスク群の選別に有用なマーカーになりうる可能性がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Domori K, Nishikura K, Ajioka Y, Aogayi Y. Mucin phenotype expression of gastric neuroendocrine neoplasms: analysis of histology and carcinogenesis. Gastric cancer, 17: 263-272, 2014

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

厚生労働科学研究委託費
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))
独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究
委託業務成果報告 (業務項目)

IBD 患者病勢特異的マーカー探索プロジェクト

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 センター長

研究要旨: 本プロジェクトでは、ヒト患者検体を用いての病態理解と診断・治療の進歩に寄与できるような探索研究を多角的に行っていくことを目標としている。具体的には、①IBD 患者腸管免疫担当細胞のエピゲノム解析②IBD 患者末梢血並びに腸管免疫担当細胞内のチオプリン代謝産物解析③便中バイオマーカーの探索、を執行中で、それぞれに予備検討から患者もしくは健常コントロールからのサンプルの回収を行い、解析を進めている。

A. 研究目的

炎症性腸疾患の基礎免疫学的病態研究の多くがマウスモデルを用いて行われてきた。これらは実際にヒト炎症性腸疾患の病態理解に飛躍的な進歩をもたらしてきた反面、やはり種による違いや、患者個々の差異、そして病勢・病態の違いまでも超越した病態理解や治療法の進歩につながったとは言い難いのも現実である。このため本プロジェクトでは、ヒト患者検体を用いての病態理解と診断・治療の進歩に寄与できるような探索研究を多角的に行っていくことを目標としている。

B. 研究方法

IBD 患者から末梢血単核細胞 (PBMC) もしくは粘膜固有層単核細胞 (LPMC) を分離する技術を応用して、①IBD 患者 LPMC のエピゲノム解析を FLAIRE 法で、また遺伝子発現を RNA シークエンスで網羅的に解析②IBD 患者 PBMC 並びに LPMC 内のチオプリン代謝産物をマススペクトロメトリーで解析している。また、③より有用な便中バイオマーカーの探索も開始している。

(倫理面への配慮)

すべて北里大学北里研究所病院研究倫理委員会にて審査、承認済みであり、各種研究ガイドラインに準拠した形で行っている。

C. 研究結果

①まず基礎データとして、健常人 LPMC 中の CD33+マクロファージ、CD3+T 細胞、上皮細胞は異なるエピゲノム制御状態にあることが FLAIRE 法にて明らかになった。RNA シークエンスによって、細胞分画ごとに異なる遺伝子発現プロファイルを示すことが明らかになった②従来の赤血球中代謝産物を測定する方法では不可能であった、ターゲット細胞 (PBMC) 中のチオプリン代謝産物の測定が可能になった。③便中 S100A12 が潰瘍性大腸炎の粘膜治癒の予測に有用であることが示された。

D. 考察

それぞれのプロジェクトについて条件検討ならびに健常コントロール (非 IBD サンプル) からの基礎的なデータが得られ、IBD 患者サンプルの解析に移行する段階に来ている。現在は

各分野で網羅的解析の手法による研究が進んでいるが、異なる機能を持つそれぞれの細胞分画を分離する技術と組み合わせることで、より本質的な結果を得られることが期待される。具体的には、細胞特異的エピゲノム解析により感受性遺伝子の変異だけで説明できなかった genetics の知見と immunology の知見の癒合が可能になり、チオプリン代謝産物の PBMC 内測定によって、より臨床上の有用性の高いチオプリン製剤の薬理学的モニタリングが可能になると思われる。

E. 結論

実際の患者検体を利用して行う当プロジェクトにより、IBD 患者病態並びに病勢に特異的な免疫・エピゲノム制御が明らかになってきた。さらに治療や診断に有用となるように推進・発展させる必要がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mikami Y, Mizuno S, Nakamoto N, Hayashi A, Sujino T, Sato T, Kamada N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Ebinuma H, Hibi T, Yoshimura A, Kanai T. Macrophages and Dendritic Cells Emerge in the Liver during Intestinal Inflammation and Predispose the Liver to Inflammation. PLoS One. 2014; 9(1): e84619.
2. 日比紀文、小林拓、中野雅: 特集 生物学的製剤の適応があるリウマチ類縁疾患～炎症性腸疾患～、Rheumatology Clinical Research. 3(2): 78-82、2014

origin. Cancer Biol Ther. 2014; 15(1): 81-88.

3. Hosoe N, Ogata H, Hibi T. Endoscopic imaging of parasites in the human digestive tract. Parasitol Int. 2014; 63(1): 216-220.
4. Hisamatsu T, Ueno F, Matsumoto T, Kobayashi K, Koganei K, Kunisaki R, Hirai F, Nagahori M, Matsushita M, Kobayashi K, Kishimoto M, Takeno M, Tanaka M, Inoue N, Hibi T. The 2nd edition of consensus statements for the diagnosis and management of intestinal Behcet's disease: indication of anti-TNF α monoclonal antibodies. J Gastroenterol. 2014; 49(1): 156-162.
5. 日比紀文、小林拓、中野雅: 潰瘍性大腸炎、内科 113(6): 1059-1061、2014

2. 学会発表

1. Mamoru Watanabe, Naoki Yoshimura, Satoshi Motoya, Keiichi Tominaga, Ryuichi Iwakiri, Kenji Watanabe, Toshifumi Hibi. (AJM300, an Oral α 4 Integrin Antagonist, for Active Ulcerative Colitis: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 2A Study. Digestive Disease Week 2014, Chicago, 5. 4
2. 日比紀文: 下痢のみられる腸の病気～潰瘍性大腸炎を中心に～: 経済同友会同友クラブ健康ライフを考える会 9 月例会 東京 2014. 9. 25
3. 小林拓、松岡克善、竹内修、日比紀文、Scott Plevy: 炎症性腸疾患感受性遺伝子 NFIL3 欠損マウスは自然免疫異常を介し腸炎を自然発症する: 第 51 回日本消化器免疫学会総会 京都 2014. 7. 11

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

厚生労働科学研究委託費
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))
独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究
委託業務成果報告 (業務項目)

クローン病患者における酸化ストレスに対する抗 TNF α 抗体の効果

研究協力者 松本 主之 岩手医科大学消化器内科消化管分野 教授

研究要旨:

クローン病患者における酸化ストレスの役割は明らかにされていない。本研究の目的は、クローン病患者における抗 TNF α 抗体治療投与前後での酸化ストレスの変化を調査することである。酸化ストレスは自動分析装置 Free Radical Analytical System 4 (FRAS4) を用いて抗 TNF α 抗体 (インフリキシマブ・アダリムマブ) による寛解導入療法施行前と 8 週間後で測定した。また、血液生化学検査や臨床的重症度 (Crohn's disease activity index; CDAI) も同時に測定し酸化ストレスと比較検討した。本研究結果から酸化ストレスと抗酸化力から算出される修正比が活動期 CD 患者における有用なバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。また、抗 TNF α 抗体投与により酸化ストレスの低下は認められたが、抗酸化力には影響を与えなかった。酸化ストレスに対する抗酸化力の低下がクローン病の病態の一つである可能性が示唆された。

共同研究者 山本一成、千葉俊美、中村昌太郎
所属 岩手医科大学消化器内科消化管分野

A. 研究目的

クローン病 (Crohn's disease; CD) は消化管のあらゆる部位が罹患し、寛解と増悪を繰り返す慢性炎症性疾患である。本症の病因として、遺伝的素因や腸内細菌異常などによる腸管粘膜の過剰な免疫反応に加え、酸化ストレスの関与も示唆されている。しかし、CD 患者における酸化ストレスの役割は明らかにされていない。一方、CD では抗 TNF α 抗体療法が強力な寛解導入、寛解維持を有するものの、維持治療中の効果減弱 (二次無効例) が問題となっている。そこで、本研究では CD 患者における抗 TNF α 抗体投与前後での酸化ストレスマーカーを測定し、疾患活動度や抗 TNF α 抗体の治療効果との関係について検討した。

B. 研究方法

岩手医科大学消化器内科消化管分野において抗 TNF α 抗体療法が施行された活動期 CD 患者 42 例を対象とした。治療直前、および寛解導入療法 2 週間後に血清を採取し、自動分析装置 FRAS4 測定器を用いて酸化ストレスマーカーを測定した。酸化ストレスの程度として diacron-reactive oxygen metabolites (d-ROM)、抗酸化力の指標として biological antioxidant potential (BAP) を測定し、酸化ストレス修正比として modified ratio of oxidative stress and antioxidant capacity (m-OA) を算出した。なお、m-OA は $7.541 \times BAP/d-ROM$ で算出した。さらに、d-ROM, BAP, m-OA と CD の臨床的重症度 (CDAI) および他の臨床的パラメーター (血清 CRP, ALB, WBC) との関係についても比較検討した。

(倫理面への配慮)

本研究に当たっては当大倫理委員会の承認を得、患者の同意を得ておこなった。データ処理に当たっては症例リストを作成した後、氏名、住所等の個人情報特定される可能性のあるデータを消去した上で解析を行った。

C. 研究結果

抗 TNF α 抗体療法による寛解導入療法後に d-ROM は有意に低下したが、BAP、m-OA に有意な変化はみられなかった。抗 TNF α 抗体投与前および寛解導入療法後のいずれにおいても、d-ROM は C 反応性蛋白 (CRP) と有意な正の相関を示し、m-OA は CRP と有意な負の相関を示した。さらに、m-OA と CDAI に有意な負の相関を認めた。また、治療開始 54 週後における抗 TNF α 抗体療法有効例と無効例 (二次無効例) で寛解導入療法前後の d-ROM、BAP、m-OA を比較したところ、いずれも有意差は認めなかった。

D. 考察

本研究結果より、抗 TNF α 抗体は CD 患者の酸化ストレスの生成を抑制することで臨床効果をもたらすと考えられた。抗 TNF α 抗体の生物学的効果により、好中球の活性化を抑制することが酸化ストレスの減少に重要な役割を果たしていると考えられる。一方、抗酸化力を示す BAP は、d-ROM とは異なり抗 TNF α 抗体投与前後において有意な変化を認めず、正常値以下の症例が半数以上を占めたことから、抗酸化力の低下が CD 患者に特徴的であると考えられた。一般に、細胞は抗酸化物質を生成することによって酸化ストレスに対応しているが、CD 患者にお

いてはこの自己調節能の異常により抗酸化力の低下が引き起こされている可能性が考えられる。

E. 結論

抗 TNF α 抗体投与により酸化ストレスは低下したが、抗酸化力は不変であった。このことから、酸化ストレスに対する抗酸化力の低下が CD の病態の一つである可能性が示唆された。また、酸化ストレスと抗酸化力のバランスである m-OA は CD におけるバイオマーカーの一つとなり得ると思われた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 学会発表

1. 山本一成、千葉俊美、佐藤尚子、松本主之・Correlation between severity of Crohn's disease and oxidative stress・Crohn's & Colitis Foundation's Clinical & Research Conference 2014 年 12 月 5 日
2. 山本一成、千葉俊美、佐藤尚子、大泉智史、朝倉謙輔、鳥谷洋右、佐藤邦彦、梁井俊一、川崎啓祐、柴田 将、小穴修平、久多良徳彦、廣田 茂、松本主之・Crohn 病患者のインフリキシマブ投与における d-ROM および BAP の検討・第 56 回日本消化器病学会大会 2014 年 10 月 23 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (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

厚生労働科学研究委託費
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))
独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究
委託業務成果報告 (業務項目)

IBD の新規バイオマーカーLRG の実用化に向けた免疫学的解析

研究協力者 飯島 英樹 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学 講師

研究要旨：炎症性腸疾患の診断および治療効果予測のため、バイオマーカーの開発が急務である。Leucin-rich a2 glycoprotein (LRG) は免疫難病患者血清の網羅的解析により同定した糖蛋白質である。LRG は、炎症性腸疾患 (IBD) の重症度・疾患活動性を反映する血清バイオマーカーとして有望である。さらに LRG の発現は炎症細胞の浸潤と関係し、炎症性サイトカインにより誘導されることを明らかにした。

共同研究者

新崎信一郎、辻井正彦、竹原徹郎 (大阪大学大学院医学系研究科・消化器内科学)

松岡克善、武下達矢、金井隆典 (慶應義塾大学医学部消化器内科)

世良田 聡、仲哲治 (医薬基盤研究所・免疫シグナルプロジェクト)

A. 研究目的

LRG の炎症性腸疾患 (IBD) の診断・治療効果予測のバイオマーカーとしての有用性を明らかにする。

B. 研究方法

IBD 患者、健常者および IBD 以外の腸炎患者の血清を収集し、血清 LRG 値および大腸粘膜での LRG 発現を解析するとともに、その発現調節にかかわるサイトカインを解析した。

(倫理面への配慮)

大阪大学倫理委員会での審査の上、個人情報 の匿名化の上、試料の収集を行った。

C. 研究結果

血清 LRG 濃度は IBD 患者や関節リウマチ患者で高値であった。LRG 値は疾患活動性と相関するとともに、生物学的製剤による治療効果と

相関していた。腸管粘膜組織における LRG の免疫染色により、炎症粘膜の腸粘膜細胞から LRG 産生が亢進していることが確認された。さらに、LRG は IL-6 に非依存性の発現誘導が行われることが確認された。

D. 考察

LRG は腸管局所の炎症により誘導され、IBD の活動性を反映する新たなバイオマーカーとなることが確認された。また、LRG は CRP とは異なる機序で誘導されることが確認された。

E. 結論

本研究により、IBD の活動性を反映するバイオマーカーとして活用可能と考えられ、汎用的臨床検査法としての収載を目指し、検討を進めている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mukai A, Iijima H, Hiyama S, Fujii H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Hayashi Y, Kondo J, Mizushima T, Kanto T, Egawa S, Nishida T, Tsujii M,

- Takehara T. Regulation of anergy-related ubiquitin E3 ligase, GRAIL, in murine models of colitis and patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2014;49:1524-35.
2. Hiyama S, Iijima H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Kato M, Hayashi Y, Nishida T, Fujii H, Mukai A, Shibata N, Sato S, Kiyono H, Gotoh K, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Tsujii M, Takehara T. Peyer's patches play a protective role in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy in mice. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:790-9.
 3. Inoue T, Iijima H, Arimitsu J, Hagihara K, Kawai S, Shiraishi E, Hiyama S, Mukai A, Shinzaki S, Nishida T, Ogata A, Tsujii M, Takehara T. Amelioration of small bowel injury by switching from nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs to celecoxib in rheumatoid arthritis patients: a pilot study. *Digestion* 2014;89:124-32.
 4. Sakurai T, Kashida H, Watanabe T, Hagiwara S, Mizushima T, Iijima H, Nishida N, Higashitsuji H, Fujita J, Kudo M. Stress response protein Cirp links inflammation and tumorigenesis in colitis-associated cancer. *Cancer Res in press*.
2. 学会発表
1. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Araki M, Shiraishi E, Hiyama S, Inoue T, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. The usefulness of intestinal real time virtual sonography in patients with inflammatory bowel disease, In ECCO, Copenhagen, Denmark, 2/20-22, 2014.
 2. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Araki M, Shiraishi E, Hiyama S, Inoue T, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. The Effectiveness of Intestinal Real Time Virtual Sonography in Patients With Inflammatory Bowel Disease, In DDW, Chicago, 2014/5/3-5, 2014.
 3. Hiyama S, Iijima H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. Observation of Peyer's Patches Using Narrow Band Imaging With Magnifying Endoscopy Is Useful in Predicting the Recurrence of Ulcerative Colitis, In DDW, Chicago, USA, 2014/5/3-5, 2014.
 4. Iijima H, Shiraishi E, Shinzaki S, Inoue T, Hiyama S, Kawai S, Araki M, Nakajima S, Hayashi Y, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. Vitamin K-deficiency deteriorates murine dextran sodium salt-induced colitis. In The 2nd Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis, Seoul, Korea, 2014/6/19-21, 2014.
 5. Shinzaki S, Iijima H, Fujii H, Kawai S, Araki M, Hiyama S, Hayashi Y, Watabe K, Tsujii M, Miyoshi E, Takehara T. N-acetylglucosaminyltransferase V (GNT-V) exacerbates murine experimental colitis with macrophage dysfunction and enhances colitis-associated tumorigenesis. In The 2nd Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis, Seoul, Korea, 2014/6/19-21.
 6. 日山智史, 飯島英樹, 荒木学, 川井翔一朗, 白石衣里, 新崎信一郎, 辻井正彦, 竹原徹郎. 腸管狭窄合併クローン病患者に対する生物学的製剤治療の検討, In JDDW (内視鏡学会), 神戸, 2014/10/26, 2014.

7. 荒木学、澁川 成弘、飯島 英樹、川井 翔一朗、白石 衣里、日山 智史、井上 隆弘、新崎 信一郎、西田勉、井上 敦雄、辻井 正彦、竹原 徹郎 炎症性腸疾患患者に対する抗 TNF- α 抗体製剤投与中の肝機能障害の特徴について. 第100回消化器病学会総会, 2014/4/25.
8. 新崎信一郎, 飯島英樹, 松岡克善, 武下達矢, 世良田聡, 辻井正彦, 金井隆典, 竹原徹郎, 仲哲治. 炎症性腸疾患バイオマーカーとしての Leucin-rich alpha-2 glycoprotein (LRG)の可能性, In 第51回消化器免疫学会, 京都, 2014/7/10-11.
9. Shinzaki S, Iijima H, Hiyama S, Nishimura J, Mizushima T, Tsujii M,

Takehara T. Importance of early endoscopic surveillance for postoperative Crohn's disease patients, JDDW(88回日本消化器内視鏡学会総会)神戸, 2014/10/24.

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

厚生労働科学研究委託費

(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))

独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究

委託業務成果報告 (業務項目)

炎症性腸疾患における LR11 の検討

研究協力者 鈴木康夫 東邦大学医療センター佐倉病院内科 教授

研究要旨：炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎とクローン病、は未だ病因・病態不明の難治性慢性炎症性腸疾患で再燃・寛解を繰り返しながら慢性に経過する難治性疾患である。炎症性疾患では個々の症例により病態・病勢が様々であり正確な病態・病勢を把握することが容易でなく、症例ごとの病態を的確に把握可能にする新たなバイオマーカーの開発が急務である。動脈硬化巢の内膜平滑筋細胞に特異的に発現する LDL 受容体と遺伝子構造を共有する受容体として同定され、各種病態のバイオマーカーとして有用性が報告されていることから、炎症性腸疾患においても病勢・病態の有用なバイオマーカーになりえるか否かを検討した。

共同研究者

勝俣雅夫 (東邦大学医療センター佐倉病院内科)
武城英明 (東邦大学医療センター佐倉病院臨床検査部)

目されている。その LR11 が炎症性腸疾患患者においても発現し、病勢・病態反映のバイオマーカーになりえる可能性を推測し検討することとした。

B. 研究方法

IBD 患者 97 例 (UC58 例、CD38 例) の血清中 LR11 値を測定し、臨床所見 (CRP 値、CDAI Score など)、内視鏡所見 (Mayo Endoscopic Score: MES) との相関性について解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東邦大学医療センター佐倉病院における倫理審査委員会において審議され、承認を得た後に開始した。

C. 研究結果

1) 健常人の平均 LR11 値に比べ UC 症例の平均 LR11 値、CD の平均 LR11 値は共にやや低値であった。

2) UC 症例の LR11 値と CD 症例の LR11 値の間には両群間の平均値に有意差はなかった。しかし、CD 症例群においては各症例の LR11 値に広範囲なばらつきを認めた。

3) UC における LR11 値と、CRP 値、内視鏡的活動指数 MES スコア値との相関性を検討すると、CRP

A. 研究目的

炎症性腸疾患 (IBD)、潰瘍性大腸炎 (UC) とクローン病 (CD)、は未だ病因・病態不明の難治性慢性炎症性腸疾患であり、再燃・寛解を繰り返しながら慢性に経過する難治性疾患である。各種存在する内科治療や外科治療によっても治療に難渋する症例が少なくなく、今もって完治は望めず患者 QOL は大いに損なわれている。しかしながら、近年本邦における患者数の増加は著しく、治療法の確立に向けた新規薬剤の開発と適切な治療法を選択可能にするために必要な個々の病態を的確に把握可能にするバイオマーカーの開発への取り組みは急務である。本来、動脈硬化巢の内膜平滑筋細胞に特異的に発現し、LDL 受容体と遺伝子構造を共有する受容体として同定された LR11 が、未分化細胞マーカーとして正常な状態の細胞から逸脱した状態をみる指標としても用いられ、網膜症・肝再生の病態進展との関連性が解析され注

値とは弱い相関がみられたが、MES スコア値との間には相関を認めなかった。重症症例では LR11 値が高値を認める傾向にあった。

4) CD においては、血中 CRP 値と緩い相関がみられた。さらに、狭窄・穿孔型症例と非狭窄・穿孔型症における LR11 値を比較すると、狭窄・穿孔型の平均値は非狭窄・穿孔型症例に比べ有意に高かった。

D. 考察

LR11 高値を示す UC 症例で Alb 低値、便回数の多い重症症例が含まれていたことや、狭窄・穿孔を生じ手術を行なった CD 症例では非狭窄・穿孔症例と比較して平均値が高いことから、血清中 LR11 値変動が IBD における難治症例の病態を反映する可能性が示された。

E. 結語

今後は、腸管病変部位における LR11 の発現状態を検討し、血清中 LR11 値との相関性、腸管病変部位における炎症的重症度との相関性、CD 腸管病変における穿孔病変形成や線維性変化との相関性などを検討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

なし

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

厚生労働科学研究委託費
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))
独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究
委託業務成果報告 (業務項目)

炎症性腸疾患モデルを用いた免疫制御技術の開発

研究分担者 竹田 潔 大阪大学大学院医学系研究科免疫制御学 教授

研究要旨：虫垂の切除が潰瘍性大腸炎の発症数に変化をもたらすことが報告されている。虫垂にはリンパ組織が存在しているが、その免疫学的意義は不明である。虫垂欠損マウスを作製し、解析したところ、虫垂リンパ組織は、大腸に動員される IgA 産生細胞を産生する重要な組織であることが明らかになった。虫垂欠損マウスでは、大腸腸内細菌叢に変化が認められることから、虫垂リンパ組織が大腸の恒常性維持に重要な組織であることが明らかになった。

A. 研究目的

炎症性腸疾患の病態を解明するため、マウスのモデルを用いて、腸管炎症における免疫細胞、上皮細胞の機能を解析する。また、腸管に局在する免疫細胞や上皮細胞の腸管恒常性維持における役割を解析する。そしてマウスモデルを用いて明らかにしたメカニズムがヒト炎症性腸疾患の病態に応用できるかを、明らかにしていく。

本年度は、潰瘍性大腸炎の発症に影響を及ぼすことが報告されている虫垂の免疫機能を解析した。

B. 研究方法

我々の体で無用の組織とも考えられている虫垂には、複数のリンパ球集簇（虫垂リンパ組織、Cecal patch）が存在している。そして、虫垂切除群では、その後の潰瘍性大腸炎の発症数に変化をもたらすことが報告されている。そこで、Cecal patch の機能を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、遺伝子組換え生物を用いた研究であるため、「動物の愛護及び管理に関する法律」「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による

生物の多様性の確保に関する法律」を遵守するために、大阪大学で設置されている遺伝子組換え実験安全委員会および大阪大学医学系研究科で設置されている実験動物委員会の審査で承認を受けたうえで、研究を施行する。

大阪大学におけるヒトを対象とした研究は、「臨床研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って倫理審査委員会での審査が行われている。一部の実験では、炎症性腸疾患患者およびコントロール（大腸がん患者）の大腸サンプルを用いた実験を行うが、上記倫理審査委員会に指針に基づいた申請を行い、審査のうえ承認されたのちに研究を行う。既に、倫理審査委員会での承認を得ており、倫理面での十分な配慮のもと研究を行う体制は整っている。

C. 研究結果

Cecal patch は、典型的な腸管関連リンパ組織であるパイエル板と同様、B220 陽性のリンパ濾胞、CD4 陽性の傍リンパ濾胞領域、CD11c 陽性の subepithelial dome 領域が存在していた。また、パイエル板の発達が障害されている germ free マウス、Ror γ t 欠損マウス、aly/aly マウスで cecal patch の発達障害が認められた。こ

これらのことから、cecal patchは免疫学的組織、発達過程がパイエル板と類似していた。

次に、Cecal patchの免疫系における機能をCecal patch欠損マウスを作成し解析した。Germ freeマウスは、IgA産生細胞、エフェクターT細胞の発達が障害されており、そこに腸内細菌を定着させることによりこれらリンパ球の発達が誘導される。そこで、Germ freeマウスの虫垂を切除し、1週間無菌化で飼育した後、SPF環境下に移動し（腸内細菌を定着させ）4週間後に、大腸、小腸のIL-17、IFN-g、IL-10産生CD4陽性T細胞の数、およびIgA陽性細胞の数を測定した。その結果、虫垂切除マウスの大腸でIgA陽性細胞の数が半分程度に減少していることが明らかになった。

免疫組織学的解析でも、虫垂切除マウスの大腸粘膜固有層でIgA陽性細胞の数が減少していた。IgAは腸内細菌叢の制御に関わっていることが知られている。そこで、虫垂切除マウスの糞便中の細菌叢をパイロシーケンス法で解析した。その結果、コントロールマウスに比べて、虫垂切除マウスでは、腸内細菌叢のパターンが優位に変化していた。次に通常環境下に移動後、2、4、8週でのIgA陽性細胞の数を測定したところ、2、4週ではIgA陽性細胞が虫垂切除マウスで減少していた。しかし、8週になるとその数は回復した。この結果から、虫垂切除マウスでは、大腸へのIgA陽性細胞の集積が遅れることが明らかになった。

そこで、Cecal patchが大腸へ動員されるIgA産生細胞の誘導組織であるかどうかを解析した。Kaedeタンパク質は紫色光照射により、緑色蛍光が赤色蛍光に変化する。Kaede Tgマウスの骨髄を移植したマウスの虫垂に紫色光を5分照射するとCecal patchのほとんどの細胞が赤色蛍光を発するようになる。このマウスで、7日後の大腸、小腸の粘膜固有層のIgA陽性、赤色蛍光細胞の数を測定すると、小腸および大腸でほぼ同じ割合の数のIgA陽性、赤色蛍光細胞

が認められた。パイエル板にも同様に紫色光を照射し、7日後に解析すると、小腸のIgA陽性、赤色蛍光細胞の数に比して大腸の細胞数が著明に少なかった。

以上のことから、Cecal patchのIgA陽性細胞は大腸および小腸に動員されること、一方パイエル板のIgA陽性細胞は主に小腸に動員されることが示唆された。この結果は、CD45.2⁺マウスのパイエル板、Cecal patch細胞をCD45.1⁺マウスに移入する実験でも確かめられた。

次に、Cecal patchのIgA陽性細胞が大腸および小腸に動員される分子機構を解析した。以前の報告から、IgA産生細胞の小腸への動員にCCR9が必須であること、他の種々の粘膜組織への動員にCCR10が関与していることが明らかになっている。そこで、パイエル板およびCecal patchのIgA陽性細胞のCCR9、CCR10の発現を解析した。その結果、CCR9はCecal patchおよびパイエル板のIgA陽性細胞にほぼ同様に発現していた。一方、CCR10の発現は、Cecal patchのIgA陽性細胞で優位に高かった。

D. 考察

以上の結果から、虫垂に存在するCecal patchは、大腸に動員されるIgA陽性細胞の産生に極めて重要なリンパ組織であり、大腸の恒常性維持に重要な組織であることが明らかになった。

E. 結論

虫垂切除マウスを用いた解析から、虫垂リンパ組織が欠如することにより、大腸の腸内細菌叢が変化することが明らかになった。腸内細菌叢の変化が炎症性腸疾患の発症と深く関わっていることから、虫垂リンパ組織が炎症性腸疾患の病態に関わっていることが示唆される。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 1. 論文発表

1. Tsai, S. H., Kinoshita, M., Kusu, T., Kayama, H., Okumura, R., Ikeda, K., Shimada, Y., Takeda, A., Yoshikawa, S., Kurashima, Y., Sato, S., Umemoto, E., Kiyono, H., Karasuyama, H. and Takeda, K.: Ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) negatively regulates ATP-dependent chronic allergic responses by basophils and mast cells. *Immunity* in press
 2. Mastumoto, M., Baba, A., Yokota, T., Nishikawa, H., Ohkawa, Y., Kayama, H., Kallies, A., Nut, S. L., Sakaguchi, S., Takeda, K., Kurosaki, T., and Baba, Y.: Interleukin-10-producing plasmablasts exert regulatory function in autoimmune inflammation. *Immunity* in press
 3. Kobayashi, S., Hara, A., Isagawa, T., Manabe, I., Takeda, K. and Maruyama, T.: The nuclear I κ B family protein I κ BNS influences the susceptibility to experimental autoimmune encephalomyelitis in a murine model. *PLoS One* 9, e110838 (2014)
 4. Ma, J. S., Sasai, M., Ohshima, J., Lee, Y., Bando, H., Takeda, K. and Yamamoto, M.: Selective and strain-specific NFAT4 activation by the *Toxoplasma gondii* polymorphic dense granule protein GRA6. *J. Exp. Med.* 211, 2013-2032 (2014)
 5. Masahata, K., Umemoto, E., Kayama, H., Kotani, M., Nakamura, S., Kurakawa, T., Kikuta, J., Gotoh, K., Motooka, D., Sato, S., Higuchi, T., Baba, Y., Kurosaki, T., Kinoshita, M., Shimada, Y., Kimura, T., Okumura, R., Takeda, A., Tajima, M., Yoshie, O., Fukuzawa, M., Kiyono, H., Fagarasan, S., Iida, T., Ishii, M. and Takeda, K.: Generation of colonic IgA-secreting cells in the cecal patch. *Nat. Commun.* 5, 3704 (2014)
 6. Kayama, H. and Takeda, K.: Polysaccharide A of *Bacteroides fragilis*: Actions on dendritic cells and T cells. *Mol. Cell* 54, 206-207 (2014).
 7. Meunier, E., Dick, M. S., Dreier, R. F., Schürmann, N., Kenzelmann Broz, D., Warming, S., Roose-Girma, M., Bumann, D., Kayagaki, N., Takeda, K., Yamamoto, M. and Broz, P.: Caspase-11 activation requires lysis of pathogen-containing vacuoles by IFN-induced GTPases. *Nature* 509, 366-370 (2014)
 8. Kinoshita, M. and Takeda, K.: Microbial and dietary factors modulating intestinal regulatory T cell homeostasis. *FEBS Lett.* (2014).
 9. 藤本康介、竹田潔、腸管免疫機構—虫垂リンパ組織の新たな免疫学的意義— 内分泌・糖尿病・代謝内科、39、429-434、2014
 10. 香山尚子、竹田潔、消化器領域における免疫異常に関する研究の進歩 *Medical Science Digest*、40 (9)、435-438、2014
 11. 正嶋和則、梅本英司、竹田潔、虫垂リンパ組織による大腸指向性 IgA 産生細胞誘導と大腸の恒常性維持 *医学のあゆみ*、251、29-34、2014
 12. 香山尚子、竹田潔、ビフィドバクテリウムによる Tr1 細胞の誘導 *臨床免疫・アレルギー科*、62 (2)、134-139、2014
2. 学会発表
 1. Kiyoshi Takeda, Regulation of gut homeostasis: implication of the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. The 4th NIF Winter School on Advanced Immunology, Singapore, Jan 18-23, 2015
 2. Kiyoshi Takeda, Regulation of antibody responses in the appendix. 2nd Hengstbergewr Symposium on Microbial sensors in the B lymphocyte response, Heidelberg, Germany,

- Jan 7-8, 2015
3. Kiyoshi Takeda, Identification of a molecule that segregates microbiota and the host in the colon. France-Japan Immunology Meeting, Cassis, France, Oct 22-23, 2014
 4. Kiyoshi Takeda, Regulatory mechanisms of gut homeostasis. IIMVF symposium, San Diego, USA, Aug. 25, 2014
 5. Kiyoshi Takeda, Regulation of gut homeostasis by a lymphoid tissue in the appendix. The 1st KI-OU Joint Symposium, Stockholm, Sweden, June 10, 2014
 6. 竹田潔、腸内細菌の免疫系や疾患との関わり 42nd JSI Annual Meeting, 京都 Dec. 10-12, 2014
 7. 竹田潔、腸内フローラと炎症性腸疾患、第23回腸内フローラシンポジウム、東京、2014. 10. 31
 8. Kiyoshi Takeda, A mechanism for the host-bacterial segregation in the colon. The 1st International Symposium on Mucosal Immunity and Vaccine Development 2014, Tokyo, Oct 20-21, 2014
 9. 竹田潔、自然免疫、腸管上皮による腸管恒常性の維持機構、CREST「免疫機構」領域第三回シンポジウム、東京、2014. 10. 08
 10. Kiyoshi Takeda, Regulation of gut homeostasis by colonic epithelial cells. 2nd Innovation Summit in Immunology, Tokyo, Oct 1-2, 2014
 11. 竹田潔、消化管粘膜の免疫応答機構とその異常、第56回歯科基礎医学会学術大会、福岡、2014. 9. 26
 12. Kiyoshi Takeda, Regulation of gut homeostasis through segregation of microbiota and colonic epithelia. The 13th Awaji Forum on Infection and Immunity, Nara, Sep. 23-25, 2014
 13. 竹田潔、腸管炎症の制御機構の解析、第29回日本乾癬学会、高知、2014. 9. 19-20
 14. 竹田潔、炎症性腸疾患の発症機構：腸内細菌と免疫の共生の観点からの解析、第38回阿蘇シンポジウム、熊本、2014. 7. 25-26
 15. 竹田潔、上皮・免疫・腸内環境による腸管恒常性の維持と炎症性腸疾患、第35回日本炎症再生医学会、沖縄、2014. 7. 2-4
 16. 竹田潔、感染症とサイトカインシグナル、第79回日本インターフェロン・サイトカイン学会、札幌、2014. 6. 19-20
 17. 竹田潔、腸管免疫と炎症制御、第56回日本老年医学会学術集会、福岡、2014. 6. 13-14.
- 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