

厚生労働科学研究費委託事業  
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）  
「難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索」  
分担研究報告書

## 腸間膜静脈硬化症に関する全国調査結果の解析

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：平成25年度まで行ってきた「腸管希少難病群の疫学、病態、診断、治療の相同性と相違性から見た包括的研究」研究班での成果をもとに、非特異性多発性小腸潰瘍症に代表される難治性小腸潰瘍症もしくはその類縁疾患の病態解明に関する知見を整理し、社会へ還元する努力を継続している。中でも腸間膜静脈硬化症については全国調査でほぼ根本原因に肉迫する成果を得ることができたため、今後の本研究班の成果をまとめ、発表していくに当たっての良い道標になると考えている。

### A. 研究目的

「腸管希少難病群の疫学、病態、診断、治療の相同性と相違性から見た包括的研究」研究班での成果をもとに、非特異性多発性小腸潰瘍症に代表される難治性小腸潰瘍症もしくはその類縁疾患の病態解明に関する知見を整理し、社会へ還元することを目的とする。

### B. 研究方法

今回非特異性多発性小腸潰瘍症の病態解明が本研究班主任研究者ならびに分担研究者によって進められているが、現在論文作成・投稿中であり、受理を待って本格的な広報活動を通じた社会還元へと結びつけていく予定である。本疾患は一般消化器医間での認知度が必ずしも高くないため、実際の罹患患者数は数倍存在している可能性がある。一方で、病態調査が最も先行しているのは腸間膜静脈硬化症である。「腸管希少難病群の疫学、病態、診断、治療の相同性と相違性から見た包括的研究」研究班にて行った全国調査によって、多くの症例が漢方薬、中でもサンシシ成分の服用歴があることが判明したため、このことについて論文発表を行うとともに、広報活動を開始している。

各種学会・研究会などで、本研究結果は公表され、多くの医師に認知されるに至っている。

（倫理面への配慮）

全国調査は個人情報に抵触しない形で行われた。

### C. 研究結果

腸間膜静脈硬化症の全国調査（222例のデータを取得）の結果、病歴聴取が行われていた169例（76.1%）の内147例（87.0%）で漢方薬服用が確認された。サンシシ成分を含む漢方薬の服用が確認されたのは、147例中119例（81.0%）であったが、詳細不明例を含めるとさらに高率になる可能性があると考えられた。

### D. 考察

腸間膜静脈硬化症に関しては、これまで散発的な症例報告や文献検索がなされてきた。その中で、本症と漢方薬の長期服用との関連性が示唆されていたが、今回の全国調査によってサンシシ成分が原因物質である可能性が高いことが注目された。今後の課題としては、診断基準を確立すること、発症要因としての漢方薬についてより正確な状況を把握すること、対処法別の長期経過を明らかに

すること、漢方薬との関連性が見いだせない症例における発生要因を明らかにし対処法を確立すること、漢方薬が関与しない症例に対する治療法を探ること、などが挙げられるが、同時に本疾患への認知を高めることで、今後服用者に対する注意喚起を行うとともに早期診断に役立てていくべきである。このように根本的な病因論に肉薄できたことは大きな成果であり、社会還元而努力を行っている。本症に関する成果は、今後非特異性多発性小腸潰瘍症に代表される難治性小腸潰瘍症もしくはその類縁疾患の病態解明に関する知見を整理し、社会へ還元していくモデルケースとなったと考えられる。

#### E. 結論

難治性、希少性小腸潰瘍症について、全国症例調査を礎に、病態解明研究を進めていくことと同時に、広報活動を行っていくことで、研究成果をより適切に社会に還元し患者の健康に寄与していく道標を得ることができた。今後も、研究成果の蓄積と一体となった社会貢献を目指していく。

#### 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) Hosoe N, Ogata H, Hibi T. Endoscopic imaging of parasites in the human digestive tract. *Parasitol Int*.2014; 63(1): 216-220.
- 3) 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  $\alpha$  monoclonal antibodies. *J Gastroenterol*.2014; 49(1): 156-162.
- 4) Nakamura S, Yaguchi T, Kawamura N, Kobayashi A, Sakurai T, Higuchi H, Takaishi H, Hibi T, Kawakami Y. TGF- $\beta$  1 in Tumor Microenvironments Induces Immunosuppression in the Tumors and Sentinel Lymph Nodes and Promotes Tumor Progression. *J Immunother*.2014;37(2): 63-72.
- 5) Esaki M, Matsumoto T, Watanabe K, Arakawa T, Naito Y, Matsuura M, Nakase H, Hibi T, Matsumoto T, Nouda S, Higuchi K, Ohmiya N, Goto H, Kurokawa S, Motoya S, Watanabe M. Use of capsule endoscopy in patients with Crohn's disease in Japan: a multicenter survey. *J Gastroenterol Hepatol*.2014;29(1): 96-101.
- 6) Takabayashi K, Kashiwagi K, Kawata T, Sato T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Takaishi H, Hibi T, Ogata H, Yahagi N, Kitagawa Y, Shigematsu N, Kanai T. Continuous low-dose irradiation by I-125 seeds induces apoptosis of gastric cancer cells regardless of histological Cancer Biol Ther. 2014 Jan;15(1):81-8.
- 7) Tomita K, Teratani T, Suzuki T, Shimizu M, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Kurihara C, Irie R, Yokoyama H, Shimamura K, Usui S, Ebinuma H, Saito H, Watanabe C, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Sugiyama K, Hokari R, Kanai T, Miura S, Hibi T. Free cholesterol

accumulation in hepatic stellate cells: mechanism of liver fibrosis aggravation in nonalcoholic steatohepatitis in mice. Hepatology.2014; 59(1): 154-169.

- 8) Sandborn WJ, Feagan BG, Marano C, Zhang H, Strauss R, Johanss J, Adedokun OJ, Guzzo C, Colombel JF, Reinisch W, Gibson PR, Collins J, Jarnerot G, Hibi T, Rutgeerts P. Subcutaneous Golimumab Induces Clinical Response and Remission in Patients With Moderate-to-Severe Ulcerative Colitis. Gastroenterology 2014; 146(1): 85-95.
- 9) 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.
- 10) 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) Watanabe M, Yoshimura N, Motoya S, Tominaga K, Iwakiri R, Watanabe K, Hibi T. AJM300, an Oral  $\alpha 4$  Integrin Antagonist, for Active Ulcerative Colitis: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 2A Study. Digestive Disease Week 2014 (AGA), Chicago, 2014.5.4
- 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
- 4) 日比紀文 炎症性腸疾患診療のパラダイム

シフト～カプセル内視鏡の臨床応用と生物学的製剤について～ 目黒区医師会内科部会 東京 2014.3.14

- 5) 日比紀文 炎症性腸疾患の先進治療とその工夫 第44回釧路消化器病研究会 釧路 2014.2.28
- 6) 日比紀文 日本における炎症性腸疾患薬物療法の現状と新たな治療薬への期待 PMDA医薬品医療機器総合機構 ワークショップ 東京 2014.2.25

## 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事業  
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）  
「難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索」  
分担研究報告書

炎症性腸疾患における生物学的製剤治療の医療経済学的効果に関する研究の結果解析と今後の展望

研究協力者 高後 裕 旭川医科大学消化器血液腫瘍制御内科学 教授

研究要旨：難治性小腸潰瘍の病態については不明な点が多く、また、本疾患を再現する実験モデルは確立されていないため、病態の解析や治療法に関する研究はほとんど行われていない。本研究では、小腸上皮のアポトーシスを主体とした腸炎モデルである抗CD3抗体誘発小腸炎マウスを用いて、乳酸菌由来の腸管保護活性物質ポリリン酸の効果を検討した。その結果、長鎖ポリリン酸の予防投与により、組織学的な障害の軽減、アポトーシス細胞の減少、炎症性サイトカインの発現抑制が認められた。また、腸上皮細胞と免疫担当細胞の共培養による実験から、長鎖ポリリン酸は腸上皮細胞に作用し、免疫担当細胞からの炎症性サイトカインの発現を抑制することが明らかとなった。今後は、非特異性多発性小腸潰瘍の病態に即した腸炎モデルを用いて、長鎖ポリリン酸の作用およびそのメカニズムを明らかにし、新規小腸潰瘍薬の開発へと発展させていきたい。

共同研究者

藤谷幹浩、上野伸展、嘉島 伸、堂腰達矢、  
坂谷 慧、田中一之、野村好紀、笹島順平、  
盛一健太郎

(旭川医科大学内科学講座消化器・血液腫瘍  
制御内科学分野)

安藤勝祥、田邊裕貴

(国際医療福祉大学病院消化器内科)

蘆田知史

(旭川医科大学消化管再生修復医学講座)

(札幌徳州会病院IBDセンター)

異常が見つかり、その病態解明が進みつつある。

一方、小腸の発達や恒常性維持に腸内細菌叢が大きな役割を担っていることが明らかにされてきた (Belkaid Y, et al. *Cell* 2014)。また、小腸の粘膜障害に腸内細菌叢の異常が関与することや、乳酸菌などのプロバイティクス投与により小腸粘膜の炎症性サイトカインの発現が制御されることが明らかにされ、小腸の炎症性疾患に腸内細菌の異常が深く関与しているものと考えられている。我々は、プロバイオティクスであるバシラス菌の培養上清から腸管保護活性物質である、competence and sporulation factor (CSF) の同定に成功し、炎症性腸疾患に対する新規治療開発への応用を試みてきた。その成果として、急性腸炎モデルにおけるCSFの治療効果について明らかにしてきた (Fujiya, Kohgo, *Cell H&M*, 2007) (Fujiya, Kohgo, *IBD*, 2011) (Okamoto, Fujiya, Kohgo, *Int J Colorectal Dis*, 2012)。さらに、新規乳酸菌SB88にも強い腸管障害改善作用があることを明らかにし (Ueno, Fujiya, Kohgo, *IBD*,

A. 研究目的

難治性小腸潰瘍の病態については不明な点が多く、根治治療法は明らかにされていない。また、本疾患を再現する実験モデルは確立されていないため、病態の解析や治療法に関する研究はほとんど行われていないのが現状である。最近になって、非特異的多発性小腸潰瘍患者から共通する遺伝子

2011)、その作用は本菌が分泌する長鎖ポリリン酸 (poly P) によって仲介されること (Segawa, Fujiya, Kohgo, *PloS One*, 2011)、マウス慢性大腸炎モデルにおいて、抗炎症作用、線維化改善作用を発揮することを明らかにした。

本研究の目的は、小腸上皮のアポトーシスを主体とした腸炎モデルである抗CD3抗体誘発小腸炎モデルを用いて、細菌由来の腸管保護活性物質による新規難治性小腸潰瘍治療薬を開発することである。

## B. 研究方法

### 1. 抗CD3抗体誘発小腸障害マウスの作成

6週齢C57Bl6/Jマウスにハムスター抗CD3e抗体12.5  $\mu$ g/マウスをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 200  $\mu$ lに希釈後、マウス腹腔内へ注入した。

### 2. 腸管浮腫の検討方法

抗CD3抗体を注入した3時間後および24時間後に、近位空腸を切除し、切除した腸管の重量 (mg) と長さ (cm) を計測し、腸管1 cmあたりの腸管重量 (mg/cm) を算出した。これを腸管浮腫の程度の指標として用いた。

### 3. RT-time PCR

マウス慢性腸管モデルの腸管上皮および細胞株からRNeasy mini kit (Qiagen, Tokyo, Japan) を用いてRNAを抽出し、high-capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) を用いてcDNAを作製し、特異的プライマーを用いて、real-time PCRにて検出した。18S rRNAの発現量を内部コントロールとして標準化した。

### 4. TUNEL (TdT-mediated dUTP Nick-end Labeling) 染色

抗CD3抗体腹腔内注入後のC57Bl/6Jマウスより切除した空腸組織を10%緩衝ホルマリンで固定後、パラフィンで包埋し、4  $\mu$ mの切片を作成した。脱パラフィン処理後、プロテイナーゼKで37°C 30分インキュベート

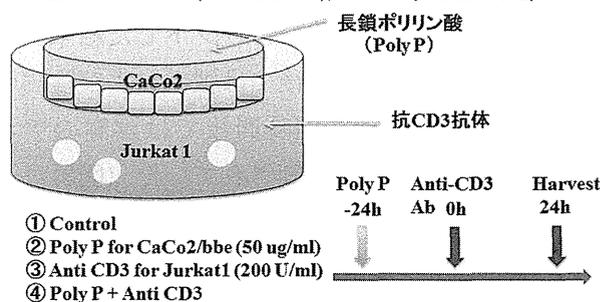
した。PBSで2回洗浄後、In Situ Cell Death Detection Kit, TMR red (Roche Diagnostic, Indianapolis, IN, USA) を用い、37°C 60分間反応を行い、PBSで3回洗浄後、DAPIを5分間加え、核染を行い、anti-fade mounting mediumを加えた後、蛍光顕微鏡で観察した。200倍の視野でランダムに5視野を観察し、絨毛・陰窩のTUNEL陽性細胞数をカウントした。絨毛・陰窩それぞれ1視野あたりのTUNEL陽性細胞数 (平均  $\pm$  標準偏差) を検討した。

## 5. in vitro共培養モデル

細胞株として上皮細胞由来のCaco2/bbe、免疫細胞由来のJurkat 1をトランスウェルで共培養し、腸管粘膜に類似した環境を作成した (図1)。

図1 腸上皮細胞とT細胞の共培養モデル

### 1. 細胞株 Caco2/bbe(上皮細胞由来), Jurkat 1 (T細胞へ分化)



### 2. 検討内容

- Jurkat1培養液中のTNF $\alpha$ 蛋白の発現 (ELISA)
- Jurkat1、Caco2/bbe細胞中の各種サイトカインmRNA発現 (RT-PCR)

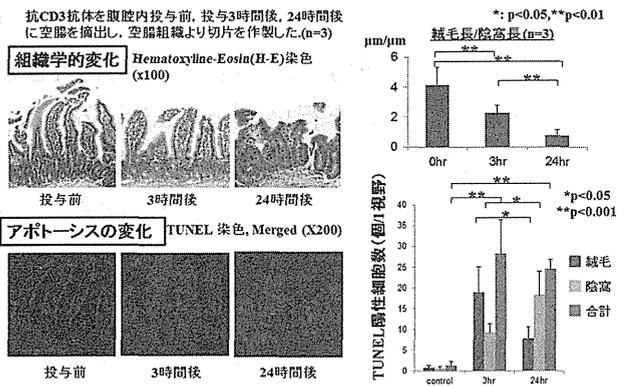
上層のウェルにPBSあるいは長鎖ポリリン酸を、下層のウェルに抗CD3抗体を投与し両細胞中のサイトカインmRNA発現をRT-PCRで検討した。また、Jurkat 1細胞から分泌されるTNF- $\alpha$ 発現をEALISAにて検討した。

## C. 研究結果

### 1. 抗CD3抗体誘発小腸障害マウスにおける長鎖ポリリン酸の作用

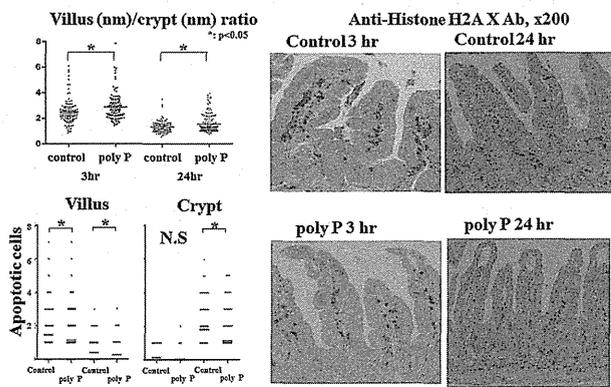
抗CD3抗体投与3時間後には絨毛の短縮とアポトーシスが著明となり、24時間後には24時間後には絨毛は平坦化し陰窩のアポトーシスと粘膜固有層の肥厚が認められた (図2)。

図2 抗CD3抗体誘発小腸障害マウスにおける腸管障害・アポトーシスの経時的変化



抗CD3抗体投与前に3日間、PBSあるいは長鎖ポリリン酸を経口投与し、組織学的な腸管障害およびアポトーシス細胞の数の変化を検討した。その結果、長鎖ポリリン酸投与により、抗CD3抗体投与3時間後および24時間後の絨毛腺管比の低下は有意に改善された。また、抗ヒストンH2AX抗体による免疫染色でアポトーシス細胞をカウントした結果、抗CD3抗体投与3時間後では絨毛および陰窩のアポトーシスが、24時間後では陰窩のアポトーシスが有意に抑制されていた(図3)。

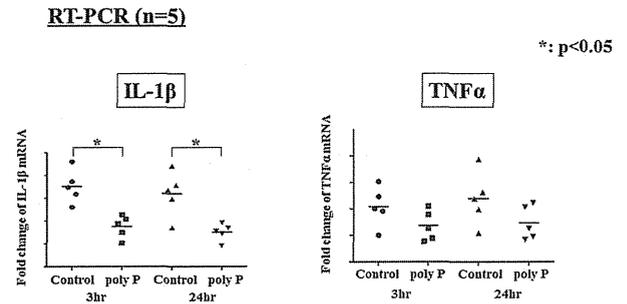
図3 長鎖ポリリン酸投与による抗CD3抗体誘発小腸炎の陰窩絨毛比および小腸上皮アポトーシスの変化



したがって、長鎖ポリリン酸は本モデルにおける小腸障害を改善する効果があると考えられた。また、腸管組織中のIL-1βとTNFαの発現変化をRT-PCRで検討した結果、いずれも長鎖ポリリン酸投与により発現が低下し

ていた(図4)。

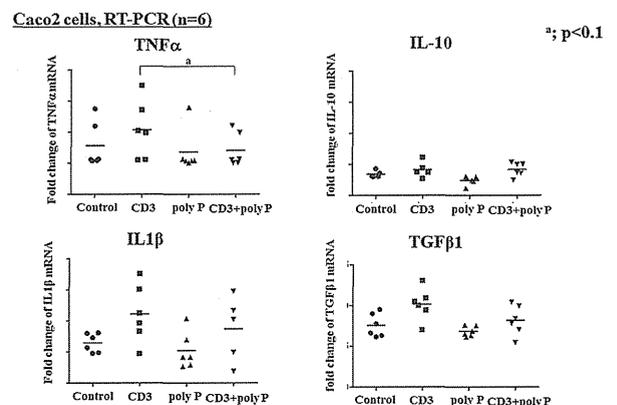
図4 長鎖ポリリン酸投与による抗CD3抗体誘発小腸炎の腸管組織中IL-1βとTNFαの発現変化



2. 腸上皮細胞とT細胞の共培養モデルによる長鎖ポリリン酸の作用解析

上皮細胞由来のCaco2/bbe細胞、免疫細胞由来のJurkat 1細胞をトランスウェルで共培養し、腸管粘膜に類似した環境を作成した。下層ウェルへの抗CD3抗体投与によって、Caco2/bbe細胞におけるIL-1βとTNFα、TGFβ1の発現は上昇したが、長鎖ポリリン酸投与によりTNFアルファのみに低下傾向を認め、他のサイトカインには影響しなかった(図5)。

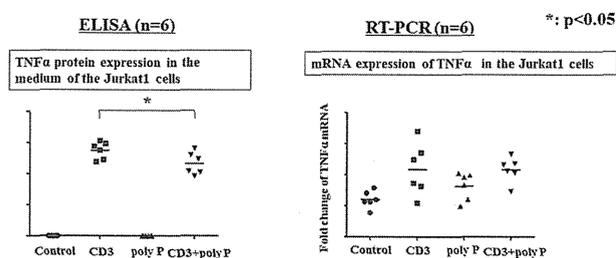
図5 長鎖ポリリン酸投与による炎症関連サイトカインmRNA発現変化(上皮細胞由来Caco2/bbe細胞)



一方、抗CD3抗体投与によって誘導されたJurkat 1細胞からのTNFα分泌は長鎖ポリリン酸投与により有意に抑制されていた(図6)。

すなわち、上皮細胞への長鎖ポリリン酸投与することにより、何らかのプロセスを経てT細胞からの炎症性サイトカイン分泌を抑制するメカニズムが存在することが示唆された。

図6 長鎖ポリリン酸投与によるTNF $\alpha$ の発現変化（免疫細胞由来Jurkat 1細胞）



#### D. 考察

小腸上皮のアポトーシスを主体とした腸炎モデルである抗CD3抗体誘発小腸炎モデルを用いて、乳酸菌由来の腸管保護活性物質ポリリン酸の効果を検討した。その結果、長鎖ポリリン酸の予防投与により、組織学的な障害が軽減し、アポトーシス細胞が減少した。また、腸管組織における炎症性サイトカインの発現が抑制されていた。また、腸上皮細胞と免疫担当細胞の共培養による実験から、長鎖ポリリン酸を上皮細胞に投与することで、免疫担当細胞からの炎症性サイトカインの発現が抑えられることが明らかとなった。これらの成果は、長鎖ポリリン酸を用いた新規小腸障害改善薬開発の可能性を示唆するものと考えられる。

#### E. 結論

抗CD3抗体誘発小腸炎モデルを用いて、菌由来長鎖ポリリン酸の腸管障害改善作用を明らかにした。今後は、非特異性多発性小腸潰瘍の病態に即した腸炎モデルを用いて検討を行うとともに、長鎖ポリリン酸の作用機序についても明らかにしていきたい。新規小腸潰瘍薬の開発へと発展させていきたい。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ando K, Fujiya M, Konishi H, Ueno N, Inaba Y, Moriichi K, Ikuta K, Tanabe H, Ohtake T, Kohgo Y. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 improves the intestinal injury by regulating apoptosis via trefoil factor 2 in mice with anti-CD3-induced enteritis. Inflammatory Bowel Diseases (in press)
- 2) Takahashi N, Yoshizaki T, Hiranaka N, Kumano O, Suzuki T, Akanuma M, Yui T, Kanazawa K, Yoshida M, Naito S, Fujiya M, Kohgo Y, Ieko M. The production of coagulation factor VII by adipocytes is enhanced by tumor necrosis factor- $\alpha$  or isoproterenol. International Journal of Obesity (in press)
- 3) Addo L, Tanaka H, Yamamoto M, Toki Y, Ito S, Ikuta K, Sasaki K, Ohtake T, Torimoto Y, Fujiya M, Kohgo Y. Hepatic nerve growth factor induced by iron overload triggers defenestration in liver sinusoidal endothelial cells. BBA - Molecular Basis of Disease (in press)
- 4) Konishi H, Fujiya M, Kohgo Y. Host-Microbe Interactions via Membrane Transport Systems. Environ Microbiol (in press)
- 5) Fujiya M, Tanaka K, Dokoshi T, Tominaga M, Ueno N, Inaba Y, Ito T, Moriichi K, Kohgo Y. Efficacy and adverse events of endoscopic mucosal resection (EMR) and submucosal dissection (ESD) for the treatment of colon neoplasms: A meta-analysis of studies comparing EMR and ESD. Gastrointestinal Endoscopy (in press)
- 6) Ito S, Ikuta K, Kato D, Shibusa K, Niizeki N, Tanaka H, Addo L, Toki Y, Hatayama

- M, Inamura J, Shindo M, Sasaki K, Iizuka N, Fujiya M, Torimoto Y, Kohgo Y. Non-transferrin-bound iron assay system utilizing a conventional automated analyzer. Clin Chim Acta 437:129-35, 2014.
- 7) Fujiya M, Kashima S, Ikuta K, Dokoshi T, Sakatani A, Tanaka K, Ando K, Ueno N, Tominaga M, Inaba Y, Ito T, Moriichi K, Tanabe H, Saitoh Y, Kohgo Y. Decreased vessel networks and irregular vessel on narrow band imaging are useful findings to distinguish intestinal lymphoma from lymphoid hyperplasia. Gastrointest Endosc 80 (6) :1064-71, 2014.
- 8) Fujiya M, Konishi H, Kamel M.K.M, Ueno N, Inaba Y, Moriichi K, Tanabe H, Ikuta K, Ohtake T, Kohgo Y. microRNA-18a induces apoptosis in colon cancer cells via the autophagolysosomal degradation of oncogenic heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1. Oncogene 33(40):4847-56, 2014.
- 9) Sawada K, Ohtake T, Hasebe T, Abe M, Tanaka H, Ikuta K, Suzuki Y, Fujiya M, Hasebe C, Kohgo Y. Augmented hepatic Toll-like receptors by fatty acids trigger the pro-inflammatory state of nonalcoholic fatty liver disease in mice. Hepatology Research 44: 920-934, 2014.
- 10) Ueno N, Hasebe T, Kaneko A, Yamamoto M, Wang Y, Fujiya M, Kohgo Y, Kono T, Musch MW, Chang EB. TU-100 (Daikenchuto) and Ginger Ameliorate Anti-CD3 Antibody Induced T Cell-Mediated Murine Enteritis: Microbe-Independent Effects Involving Akt and NF- $\kappa$ B Suppression. PloS One 23;9 (5) :e97456, 2014.
2. 学会発表
- 1) Ueno N, Fujiya M, Segawa S, Konishi H, Sakatani A, Tanaka K, Dokoshi T, Ando K, Kashima S, Inaba Y, Ito T, Moriichi K, Shigyo T, Kohgo Y. Long-term oral dietary administration of a new probiotic, Lactobacillus brevis SBC8803, alters gut the microbiota and ameliorates DSS-induced colitis in mice. DDW 2014 (AGA), Chicago, 2014.5.6
- 2) Konishi H, Fujiya M, Ando K, Tanaka K, Sakatani A, Dokoshi T, Inaba Y, Fujibayashi S, Goto T, Kashima S, Ueno N, Sasajima J, Ito T, Tanaka H, Ikuta K, Kohgo Y. MicroRNA-18a induces apoptosis in colon cancer cells through the autophagosomal degradation of hnRNP A1. DDW 2014 (AGA), Chicago, 2014.5.6
- 3) Fujiya M, Konishi H, Ueno N, Inaba Y, Moriichi K, Kohgo Y. A probiotic-derived polyphosphate improves the fibrosis in a murine model of chronic colitis via the regulation of inflammation- and fibrosis-associated mediators. GI Research Academy 2014, Tokyo, 2014.6.6
- 4) Fujiya M, Ueno N, Kohgo Y. 「Host-microbial interaction in BD」 A novel host-microbial interaction via the uptake of probiotic-derived molecules by intestinal epithelia. International session JDDW 2014 (第56回日本消化器病学会、第88回日本消化器内視鏡学会、第12回日本消化器外科学会), Kobe, 2014.10.24
- 5) 藤谷幹浩、盛一健太郎、高後 裕 microRNA-18aは癌関連蛋白hnRNP A1を分解し大腸癌細胞に細胞死を誘導する 第100回日本消化器病学会総会、東京、2014.4.23
- 6) 上野伸展、坂谷 慧、田中一之、堂腰達矢、安藤勝祥、嘉島 伸、後藤拓磨、笹島順平、

稲場勇平、伊藤貴博、盛一健太郎、藤谷幹浩、  
高後 裕 新規麦芽乳酸菌 (Lactobacillus  
brevis SBC8803) 死菌による腸内細菌叢の  
変化と抗炎症作用に関する検討 第100回  
日本消化器病学会総会 東京 2014.4.24

- 7) 藤谷 幹浩、盛一 健太郎、高後 裕 がん  
転移・浸潤 microRNA-18aによるhnRNP  
A1分解を介した新しい大腸癌細胞死誘導  
メカニズム 第25回日本消化器癌発生学会  
総会 福岡 2014.11.13

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

- ・特許第5526320号「腸管保護剤」
- ・特許第5660508号「腸管保護剤」

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費委託事業  
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）  
「難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索」  
分担研究報告書

小腸炎症性疾患の消化管粘膜における栄養吸収構造の解析

研究協力者 中村 正直 名古屋大学大学院医学系研究科・消化器内科学 助教

研究要旨：小腸内視鏡を用いた消化管各所での粘膜生検により小腸炎症を持つ患者の粘膜における栄養マーカーmRNA発現量を他の患者とリアルタイムPCR法を用いて比較したところ差は認めなかった。

A. 研究目的

小腸粘膜は栄養の吸収において重要な役割を果たすが、小腸潰瘍を認めた場合はその機構に影響が及んでいると思われる。本研究の目的は腸管粘膜において糖、アミノ酸、脂質吸収に関係する生物学的マーカーmRNA発現量を調べ、小腸炎症性疾患と栄養との関連につき検討することである。

B. 研究方法

小腸もしくは大腸内視鏡を行う患者にインフォームドコンセントを得たうえで、十二指腸、上部空腸、深部空腸、深部回腸、回腸末端、上行結腸のうち観察範囲において可能な限り正常粘膜と思われる部位から各所生検を行った。各種生物学的マーカーの粘膜内mRNA発現量につきリアルタイムPCR法を用いて炎症性疾患（I）群、腫瘍性疾患（T）群と検査上異常なしのコントロール（C）群を比較解析した。

（倫理面への配慮）

データは連結可能匿名化し厳重に管理した。

C. 研究結果

2014年6月までに50名が参加した。男性:女性性は36:14、平均年齢は59.0歳であった。C:I:Tは13:18:19名であった。総検査数は60回（大腸内視鏡29、経口小腸内視鏡16、経肛門小腸内視鏡

15）であった。小腸内視鏡は10名で両ルートが施行されていた。両ルートを行ったC群3名ではSGLT-1、GIP、Niemann-Pick C1-Like 1は空腸側で、GLP-2は回腸側で発現量が多い傾向を認めた。LAT1、LAT2は全部位で同等の発現を認めた。この傾向はI、T群でも同様であった。

D. 考察

小腸疾患患者の正常にみえる粘膜で栄養吸収構造が保持され得る可能性が示唆された。

E. 結論

ヒト小腸粘膜の生物学的マーカーmRNA発現の分布が明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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

厚生労働科学研究費委託事業  
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）  
「難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索」  
分担研究報告書

非特異性多発性小腸潰瘍症 8 例における腸管外合併症 ～皮膚・骨病変を中心に～

研究分担者 松井 敏幸 福岡大学筑紫病院消化器内科 教授

研究要旨：近年、非特異性多発性小腸潰瘍症（CNSU）において肥厚性皮膚骨膜炎（PDP）と共通の遺伝子変異が同定され、CNSUの腸管外合併症として皮膚骨病変が知られるようになったが、その他の腸管外合併症については知られていない。そこで、今回CNSUにおける腸管外合併症とその頻度、CNSUにおける遺伝子変異と皮膚骨病変の関連性について検討した。  
骨・骨格筋疾患として、PDPのX線変化を認める症例が62.5%（5/8例）、肝胆道系疾患62.5%、皮膚粘膜疾患としてPDPを25.0%（2/8例）、呼吸疾患を12.5%で認めた。また、遺伝子検索し得たCNSU6例全例で遺伝子変異を認め、その中で男性において皮膚所見、X線所見の変化を強く認めた。

共同研究者  
安川重義、平井郁仁  
（福岡大学筑紫病院消化器内科）  
梅野淳嗣  
（九州大学大学院病態機能内科学）

中で遺伝子検索し得た6例における皮膚骨病変を検索した。

（倫理面への配慮）

特になし

### C. 研究結果

腸管外合併症として、骨・骨格筋疾患としてはX線所見でPDPを62.5%（5/8例）、肝胆道系疾患を62.5%（5/8例）、皮膚粘膜疾患としてPDPの所見を25.0%（2/8例）、呼吸器疾患を12.5%（1/8例）に認めた。その他の、血管・血液疾患、泌尿器疾患、膠原病、悪性腫瘍は認めなかった。ただし、PDPのX線所見に関して、明確な診断基準は存在しないのが現状であり、明らかに長管骨の皮質骨が肥厚し、寸胴様を呈した症例を強陽性とし2例、そして軽度の骨膜反応のみの症例を弱陽性とし3例認めた。

次に、CNSUにおいて遺伝子検索し得た6例（男性3名、女性3名）は、全例既知の遺伝子変異を認めた。その中で、女性では全例皮膚病変は認めなかったが、1例X線上弱陽性所見を認める症例もあった。男性では、皮膚病変を認めた症例が2

### A. 研究目的

近年、CNSUにおいてPDPと共通の遺伝子変異が指摘され、CNSUにおける腸管外合併症、特に皮膚骨病変について知られるようになってきた。しかし、CNSUにおけるその他の腸管外合併症、また骨皮膚病変の頻度については知られていない。

今回の研究ではCNSUにおける腸管外合併症とその頻度、またCNSUにおける遺伝子変異と骨皮膚病変との関連性について明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

当科、または当科関連施設において、治療・経過観察している8例（男性4例、女性4例）を対象に、各々の腸管外合併症を調査し、その8例の

例あり、同症例においてはX線上も著明に長管骨が肥厚し、強い骨膜反応を認めた。したがって、遺伝子変異を有するCNSU患者においても男性で、皮膚骨病変は強い変化がみられる傾向にあった。

#### D. 考察

CNSUと同じ遺伝子変異を有する疾患として、PDPが知られているが、同疾患は15:1で男性に多いと言われている。今回、CNSUにおいて遺伝子変異を有する症例で検討しても、同様に男性で強い徴候がみられた。しかし、遺伝子変異を有する症例で、特に男性においても全例で皮膚骨病変を認めるわけではなく、今後全国的に症例を蓄積して検討していく必要がある。

#### E. 結論

CNSUにおいて、皮膚骨病変は男性に多く、また高度の変化をきたしていることが多いが、少数例での検討であり、今後全国的に症例を蓄積して検討していく必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tsurumi K, Matsui T, Hirai F, Takatsu N, Yano Y, Hisabe T, Sato Y, Beppu T, Fujiwara S, Ishikawa S, Matsushima Y, Okado Y, Ono Y, Yoshizawa N, Nagahama T, Takaki Y, Yao K, Iwashita A. Incidence, clinical characteristics, long-term course, and comparison of progressive and non-progressive cases of aphthous-type Crohn's disease: a single-center cohort study. *Digestion*. 2013; 87: 262-8
- 2) Takahashi H, Matsui T, Hisabe T, Hirai F, Takatsu N, Tsurumi K, Kanemitsu T, Sato Y, Kinjyo K, Yano Y, Takaki Y, Nagahama T, Yao K, Washio M. Second peak in the distribution of age at onset of ulcerative colitis in relation to smoking cessation. *J Gastroenterol Hepatol*.29(8): 1603-1608, 2014.
- 3) Hirai F, Beppu T, Takatsu N, Yano Y, Ninomiya K, Ono Y, Hisabe T, Matsui T. Long-term outcome of endoscopic balloon dilation for small bowel strictures in patients with Crohn's disease. *Dig Endosc* 26(4): 545-551, 2014.
- 4) Matsui T, Matsumoto T, Aoyagi K. Endoscopy in the diagnosis of small intestine diseases. *Springer*,1-283, 2014.
- 5) Hisabe T, Hirai F, Matsui T, Watanabe M. Evaluation of diagnostic criteria for Crohn's disease in Japan. *J Gastroenterol*. 49: 93-99, 2014.
- 6) Ueno F, Matsui T, Matsumoto T, Matsuoka K, Watanabe M, Hibi T. Evidence-based clinical practice guidelines for Crohn's disease, integrated with formal consensus of experts in Japan. *J Gastroenterol*. 48: 31-72, 2013
- 7) Hirai F, Takatsu N, Yano Y, Satou Y, Takahashi H, Ishikawa S, Tsurumi K, Hisabe T, Matsui T. Impact of CYP3A5 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics and short-term remission in patients with ulcerative colitis treated with tacrolimus. *J Gastroenterol Hepatol*. 29: 60-6, 2014
- 8) Beppu T, Ono Y, Matsui T, Hirai F, Yano Y, Takatsu N, Ninomiya K, Tsurumi K, Sato Y, Takahashi H, Okado Y, Koga A, Kinjo K, Nagahama T, Hisabe T, Takaki Y, Yao K. Mucosal healing of ileal lesions is associated with long-term clinical remission after infliximab maintenance

treatment in patients with Crohn's  
disease. Dig Endosc.27(1):73-81,2015

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費委託事業  
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）  
「難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索」  
分担研究報告書

## 本邦小児消化器専門施設調査による非特異性多発性小腸潰瘍症 4 例

研究協力者 内田 恵一 三重大学消化管・小児外科 准教授

研究要旨：非特異性多発性小腸潰瘍症は、回腸中下部に浅い多発性の潰瘍と潰瘍瘢痕の混在した病変を認め、潜在性あるいは顕性出血による高度な貧血を特徴とする小腸潰瘍症である。成人領域・小児領域いずれにおいても非常に稀少かつ難治性の疾患である。病因は未解明な点が多く、今回は小児科・小児外科領域の専門施設を中心にアンケートをFAXにて送付し、本邦における臨床像や治療の実態調査を行った。4症例と少数ではあるが、発症年齢が1歳時の症例も認められ、小児科・小児外科医は、乳幼児早期からの鉄欠乏性貧血・低蛋白血症・便鮮血陽性症例では、本疾患を念頭に置く必要がある。また、2例で遺伝子異常が明らかとなった。

### A. 研究目的

非特異性多発性小腸潰瘍症は、回腸中下部に浅い多発性の潰瘍と潰瘍瘢痕の混在した病変を認め、潜在性あるいは顕性出血による高度な貧血を特徴とする小腸潰瘍症である。成人領域・小児領域いずれにおいても非常に稀少かつ難治性の疾患である。病因は未解明な点が多く、今回は小児科・小児外科領域の専門施設を中心にアンケートをFAXにて送付し、本邦における臨床像や治療の実態調査を行った。

### B. 研究方法

本邦における小児栄養消化器肝臓学会運営委員施設30施設と小児外科学会認定・教育関連施設138施設（重複2施設）に1次アンケートをFAXし、返信があった施設にはさらに2次アンケートにて患者背景や臨床像、治療に関して調査をおこなった。

また、非特異性小腸潰瘍症に関しては3次調査を行った。

（倫理面への配慮）

各施設の倫理委員会の審査ののち、集積患者の

DNAエクソーム解析を行った。

### C. 研究結果

登録された12症例の内訳は以下の通りであった。10施設から12症例が集計された。初期検討において非該当症例を除外すると、単純性潰瘍症例は2症例、非特異性多発性小腸潰瘍症例は4症例、その他の原因不明の小腸潰瘍症例は1症例、顕微鏡的大腸炎は無かった。

非特異的小腸潰瘍症4例の検討において、平成21年度の日比班による「原因不明の小腸潰瘍症の実態把握、疾患概念、疫学、治療体系の確立に関する研究」班の、「非特異性多発性小腸潰瘍症コンセンサスステートメント」の診断基準の項目に関して、合致するかを再確認し、家族歴・血族結婚の有無を質問した。結果を以下に示す。

4例の性別は、女児3例男児1例、発症年齢が1歳、1歳8か月、4歳8か月、7歳で、初発症状は、貧血、低蛋白血症、腹痛であった。臨床経過中に、貧血、低蛋白血症、便鮮血は全例陽性の既往があった。他には、成長障害、糖尿病、メッケル憩室切除の既往があった。聞き取り調査

では、家族歴、血族結婚は認めなかった。2例に十二指腸潰瘍の既往があった。

小腸の潰瘍の特徴は、3～30個の浅い円形地図状潰瘍が、おもに回腸に存在し、輪走・斜走していた。生検で肉芽種は認めず、結核、ベーチェット、アレルギー腸炎などの所見は無かった。

治療は鉄剤投与などの対症療法が主体であるが、栄養療法、中心静脈栄養、そして、5-ASA、アザチオプリン、インフリキシマブなどの投与がされていた。初発時からの経過が10年を超えている2例では、回腸切除や回腸狭窄解除術がされていた。

現在の症状は、2例では貧血や低蛋白血症も改善し、2例で貧血が認められている。鉄剤や胃酸分泌抑制剤などの対症療法が継続されている。

いずれも先のコンセンサスステートメントに合致する症例であった。

4症例においてエクソーム解析を行い、1例ではSLCO2A1遺伝子のc.940+1G>Aとc.664G>Aのコンパウンドヘテロ変異を、もう1例でSLCO2A1遺伝子のc.940+1G>Aのホモ変異が認められた。

#### D. 考察

非特異性多発性小腸潰瘍症は原因不明の難治性疾患であり対処療法が主体とされる。本邦小児症例は、クローン病や潰瘍性大腸炎に準じた治療法（サリチル酸製剤、ステロイド剤、免疫調整剤、栄養療法）が試みられていることが本研究より明らかとなった。本邦における推定患者160人程度と極めて稀少である。成人症例の検討では、若年者で発症し、SLCO2A1遺伝子変異を認める症例があり、この遺伝子変異は原発性肥厚性皮膚骨膜炎と同一であることが最近の発表で認められる。本調査は少数ではあるが4例集積し、1歳からの発症例も認められ、4例中2例で上記の遺伝子変異を認めた。小児内科医や小児外科医は、乳幼児初期からの低蛋白血症、鉄欠乏性貧血、頻回の便鮮血陽性を示す症例では、本症を念頭に置く必要がある。

#### E. 結論

難治性稀少疾患である本疾患の病態解明には症例集積および実態調査は必要不可欠であり、今後さらなる症例集積が望まれる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

英文論文を予定している。

##### 2. 学会発表

内田恵一、中島 淳、牛島高介、位田 忍、田口智章 本邦小児専門施設による原因不明の小腸潰瘍症調査 第51回日本小児外科学会 大阪 2014.5.10

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費委託業務  
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）  
「難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索」  
分担研究報告書

非特異性多発性小腸潰瘍症 9 例の臨床的検討

研究協力者 大宮 直木 藤田保健衛生大学消化管内科 准教授

研究要旨：名古屋大学および藤田保健衛生大学に入院、精査した 9 例の非特異性多発性小腸潰瘍症の臨床的特徴では 1 例以外はすべて女性で、小腸切除歴は 4 例、消化管外病変として、カテーテル血栓症 3 例、蜂窩織炎 2 例、Fanconi 症候群 1 例、骨髄線維症 1 例、肥厚性皮膚骨膜炎 1 例認めた。カテーテル血栓症で開心術が必要な症例は 1 例認めた。IVH は極めて有用な治療法であるが、カテーテル血栓症に対する対策が必要である。

A. 研究目的

名古屋大学および藤田保健衛生大学に入院、精査した 9 例の非特異性多発性小腸潰瘍症の臨床的特徴を検討する。

B. 研究方法

上記 9 例に対し、ダブルバルーン小腸内視鏡を施行した。

（倫理面への配慮）

名古屋大学医学部附属病院、藤田保健衛生大学の倫理委員会にこの研究は承認されている。

C. 研究結果

患者の内訳は男性 1 例、女性 8 例。発症年齢は 7 歳～58 歳、家族内発症はなく、血族結婚は 2 例。いずれも鉄欠乏性貧血、低蛋白血症を認め、全例鉄剤投与がされている。アルブミン輸注は 3 例に行われていた。病変範囲は、8 例は回腸のみであったが、1 例は空腸・回腸であった。小腸切除歴は 4 例で、2 例は 2 回・4 回と複数回であった。また、同疾患に合併する胃十二指腸潰瘍は 3 例に認めた。消化管外病変として、カテーテル血栓症 3 例、蜂窩織炎 2 例、Fanconi 症候群 1 例、骨髄線維症 1 例、肥厚性皮膚骨膜炎 1 例。共焦点

レーザー内視鏡による観察では、血管の拡張、Cell gap 等の所見が得られた。

D. 考察

消化管外合併症はしばしば重篤であり、IVH は同疾患に極めて効果的であるが、カテーテル血栓症を引き起こし、開心術が必要なこともあり、カテーテル血栓症に対する対策が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

大宮直木、堀口徳之、大森崇史、城代康貴、生野浩和、小村成臣、宮田雅弘、中野尚子、鎌野俊彰、田原智満、長坂光夫、中川義仁、柴田知行、平田一郎 「小腸病変の診断・治療の現状と未来」～診断の確立に向けて～共焦点レーザー内視鏡を用いた小腸粘膜の超微形態観察の有用性 第11回日本消化管学会総

会 東京 2015.2.14

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

厚生労働科学研究費委託事業  
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）  
「難治性小腸潰瘍の診断法確立と病態解明に基づいた治療法探索」  
分担研究報告書

## 非特異性多発性小腸潰瘍症における小腸粘膜 *SLCO2A1* 免疫染色の診断上の有用性

研究分担者 久松 理一 慶應義塾大学医学部消化器内科 准教授

研究要旨：非特異性多発性小腸潰瘍症の診断は臨床像と特徴的な内視鏡もしくはX線透視像によってなされてきたが、*SLCO2A1* 遺伝子変異による常染色体劣性遺伝病である可能性が明らかとなりつつある。小腸生検組織の*SLCO2A1*免疫染色により変異型を鑑別することが可能であることが明らかとなり、ゲノム検査前のスクリーニングとして極めて有用であることが示唆された。

### A. 研究目的

非特異性多発性小腸潰瘍症の診断における小腸生検検体を用いた*SLCO2A1*免疫染色の有用性を明らかにする。

### B. 研究方法

小腸生検検体を抗*SLCO2A1*抗体（ポリクローナル抗体）で免疫染色を行い、発現部位の同定、遺伝子変異との関係性を明らかにする。

（倫理面への配慮）

小腸内視鏡の施行、生検組織の採取については文書による同意を得て行う。特に免疫染色を行うプレパラートは通常病理診断に用いたブロックから作成するため通常診療に伴うリスクを上回ることはない。

### C. 研究結果

非特異性多発性小腸潰瘍症で同定された*SLCO2A1*の各変異型の発現ベクターをHEK細胞に強制発現させ抗*SLCO2A1*抗体で免疫染色を行った。その結果、最も頻度の高いエクソン7以下が欠落する変異型では抗体による染色性は陰性であった。次にヒト組織を用いた検討では、正常*SLCO2A1*は小腸粘膜内の血管内皮細胞に発現していたが、変異が確認された患者小腸組織では免

疫染色において正常*SLCO2A1*蛋白の発現は認めなかった。

### D. 考察

これまで非特異性多発性小腸潰瘍症の診断は臨床像と特徴的な内視鏡所見あるいはX線所見によってなされてきた。このためクローン病、腸管ベーチェット病、NSAID小腸潰瘍症との鑑別が時に困難であった。我々の研究で本疾患がプロスタグランジン輸送蛋白である*SLCO2A1*の変異による常染色体劣性遺伝病であることが示唆され、小腸生検検体を用いた*SLCO2A1*免疫染色により同疾患を鑑別することが可能であることが明らかとなった。これにより症候や形態診断のみでなく、分子レベルで確定診断することが可能となった。特にゲノム診断前の簡易スクリーニングとして臨床極めて有用であると考えられた。

### E. 結論

小腸生検検体を用いた*SLCO2A1*免疫染色により同疾患を鑑別することが可能であると考えられた。

### 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

- 1) 久松理一、島村克好、細江直樹、緒方晴彦、小崎健次郎、梅野淳嗣、松本主之、金井隆典 難治性小腸疾患に対する治療の工夫 非特異性多発性小腸潰瘍症の病態からみた小腸粘膜prostaglandin 代謝の重要性 第52回小腸研究会 東京 2014.11.15
- 2) 久松理一、細江直樹、金井隆典 希少消化管疾患の臨床像と問題点 *SLCO2A1*遺伝子変異による家系内発症非特異性多発性小腸潰瘍症 第22回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2014) 神戸 2014.10.23

## 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