

## 新生児期から高齢期まで対応した、好酸球性消化管疾患および希少消化管持続炎症症候群の 診断治療指針、検査治療法開発に関する研究

研究分担者 木下芳一 島根大学医学部内科学講座（内科学第二）教授

### 研究要旨

本研究では好酸球性食道炎と好酸球性胃腸炎の診断の指針と検査治療法を開発することを目的としている。本年度も昨年度に引き続いて診断の指針の作成に必要な臨床情報を収集するとともに新たな診断法と治療法を開発を好酸球性食道炎を主な対象疾患として行った。まず、好酸球性食道炎の内視鏡診断に有用な所見の特徴を明らかとした。続いて、確定診断を行うための生検を行うべき部位の検討を行い、生検を食道縦走襞の谷の部分で下部食道から行う必要があることを明らかとした。さらに、生検を行わずに消化管粘膜に浸潤している好酸球を同定するために好酸球の顆粒蛋白の1つである好酸球ペルオキシダーゼをターゲットとしたラマン分光分析による好酸球の同定法を開発した。治療に関してはプロトンポンプ阻害薬(PPI)が一部の好酸球性食道炎患者に有効であるが、PPIが有効な例と有効ではない例をPPI投薬を行う前に予測することができるか否かの検討を行った。その結果予測は困難であること、PPIが有効でなくてもより胃酸分泌抑制が強いボノプラザンを用いると効果が得られる例が増加することが明らかとなった。これらの研究成果は診療指針や診療ガイドラインの作成において重要な情報となると考えられる。

### A・研究目的

好酸球性消化管疾患はその患者数が増加している疾患で、最近では好酸球性食道炎は数百例の内視鏡検査において1例は発見される炎症性食道疾患の中では逆流性食道炎に次いで多い疾患となっている。好酸球性消化管疾患のうち好酸球性食道炎は治療せずに放置すると食道の狭窄などの合併症を発症し難治となる疾患である。実際、最近私たちは好酸球性食道炎の早期確定診断と治療が行われなかったために食道の穿孔を発症した例を経験している。一方、好酸球性胃腸炎は難治であり、現在一般的に治療に用いられているステロイドではわずかに3分の1程度の例にしか治癒を得ることができず、残りの

例においては再燃や再発が大きな問題となっている。このため診療の指針を明記した好酸球性消化管疾患の診療ガイドラインの作成は非常に重要であると考えられる。ただし、診療ガイドラインの中でエビデンスに基づいた推奨をするためには好酸球性消化管疾患に関する臨床エビデンスのさらなる構築が必要である。そこで、本研究ではガイドライン作成のための十分な臨床エビデンスを得ることを目的として研究を行う。

### B. 研究方法

#### 1.好酸球性食道炎の診断に特異性の高い内視鏡検査所見の検討

昨年度までの検討で好酸球性食道炎の診断には自覚症状や血液検査では診断感度と特異度が十分には高くなく確定診断のために内視鏡検査と内視鏡検査時の生検が重要であることが明らかとなった。内視鏡検査所見では各種の異常所見の中で食道縦走溝が感度と特異性が高いことが明らかとなっていた。ただし、縦走溝は逆流性食道炎の縦走する粘膜傷害との鑑別が問題となるため、好酸球性食道炎例と逆流性食道炎の食道内視鏡写真を比較し縦走溝と逆流性食道炎の粘膜傷害の差異を明らかとする。

## 2. 好酸球性食道炎の診断感度を高めることができる内視鏡下の生検部位を明らかとするための検討

好酸球性消化管疾患の粘膜における好酸球の分布は不均一で1部位に集積しているため感度を高く診断を行おうとすると最低5個の生検組織を採取することが必要であると報告されてきた。生検個数を少なくすることができれば、抗血栓療法治療下の患者でも安全に診断を行うことができるとともに、病理診断部門への負荷を減らすことも可能となる。この目的のために2つの研究を行った。まず、第一点は好酸球の浸潤が多い部位の同定が内視鏡検査で可能かどうかの検討であり、内視鏡検査で観察される縦走溝部分に他部位と比較して好酸球の浸潤密度が高いかどうかの検討を行った。第二点は好酸球の浸潤部位を内視鏡下でリアルタイムに診断できる特殊光内視鏡の開発を目指した研究でありラマン分光分析を応用した検討を行った。

## 3. プロトンポンプ阻害薬(PPI)が治療法として有効な好酸球性食道炎と有効ではない好酸球性食道炎を治療開始前に鑑別する方法の検討

好酸球性食道炎のうち約半数の例はPPIを用いた治療に反応し、自覚症状、内視鏡所見、組織学的な異常の改善を認めることが知られている。ところが、どのような特徴を有する例がPPI治療に反応し、どのような例が反応しないかは明確にはなっていない。この点を明確にするこ

とができれば、ガイドラインの中での治療法の推奨を明確に示すことができると考えられる。そこで、多数のPPI治療を受けた好酸球性食道炎例を後ろ向きに解析し、患者の臨床像、自覚症状、末梢血血液所見、内視鏡所見、生検組織所見の比較検討、食道粘膜のマイクロアレイ解析をおこなってmRNA発現パターンの検討を行って、これらのいずれがPPI治療効果予測因子となりうるかを検討した。

## 4. PPI治療困難例に対するカリウムイオン拮抗型胃酸分泌阻害薬であるボノプラザンの有効性に関する検討

PPI治療が有効でなかった好酸球性食道炎例に対しては従来はステロイドを用いた治療が行われていた。ところがステロイドを用いた治療は副作用も多く、治療法の改善が求められている。そこでPPI治療抵抗性の好酸球性食道炎例に対して、より胃酸分泌抑制力が強力であるボノプラザンを投薬して自覚症状、内視鏡所見、病理組織学的な異常が改善するか否かを検討した。

上記1-4の研究の実施に当たっては研究協力者保護と個人情報保護の観点から島根大学医学部の医の倫理委員会においてプロトコールの評価を受けた後に行った。

## C. 研究結果

### 1. 好酸球性食道炎の診断に特異性の高い内視鏡検査所見の検討

好酸球性食道炎多数例での検討を行い、縦走溝は食道の下部から中部にかけて多く観察されること。また、特有の周在存在部位はなく全周に同じように観察されること。さらに、縦走溝は食道の縦走する粘膜襞と襞の間の谷の部分に形成されやすいことも明らかとなった。これらの好酸球性食道炎の縦走溝の特徴は、逆流性食道炎の粘膜傷害の特徴とは大きく異なっていた。

逆流性食道炎の粘膜傷害は食道下端部に多く、周在性を検討すると食度の右前の壁に多かった。さらに、逆流性食道炎の粘膜傷害は縦走食道粘膜襞の頂上部に一致して形成されるものが大部分であり、好酸球性食道炎の縦走溝の特徴とは大きく異なっていた。これらの特徴に注目すれば好酸球性食道炎の経験数の少ない医師でも好酸球性食道炎の内視鏡診断で困難を感じるものが少なくなると考えられた。この研究結果は論文として報告した ( Okimoto E et al. Dig Endoscopy 2017 )。

## 2. 好酸球性食道炎の診断感度を高めることができる内視鏡下の生検部位を明らかとするための検討

好酸球性食道炎患者に観察される縦走溝の部分の生検組織と異常がないと判断される食道粘膜生検組織の比較を行うと縦走溝部分から採取した組織により多くの好酸球浸潤がみられることが明らかとなった。また食道の上部と下部の生検を行って比較すると食道下部粘膜は上部の粘膜と比較して好酸球の浸潤数が多いことも明らかとなった。このため、従来から報告されてきた、食道粘膜上の白斑部分の生検の有用性を合わせて、生検を行うときには下部食道を中心として縦走溝の部分を中心として生検を行うと異常好酸球浸潤を検出することができる可能性が高くなり、診断の感度を高めることができることが明らかとなった。この成績は論文として報告した ( Adachi K et al. Dig Endoscopy 2016; Okimoto E et al. Dig Endoscopy 2017 )。

また、ラマン分光分析の技術を応用すると細胞内の分子を特異性高く検出することができることが分かっている。本研究では好酸球の顆粒内蛋白の一つで好酸球に特異性の高いマーカーである好酸球ペルオキシダーゼをターゲットとしてこの蛋白をラマン分光分析で検出する方法を開発した。さらに、この方法を用いて顕微鏡下で好酸球を含む様々な血液細胞、食道粘膜上皮細胞を観察し、好酸球が特異的に検出できる

ことを示すことができた。さらに、ラットで好酸球性食道炎のモデルを作成し、ラットの食道粘膜に浸潤する好酸球を顕微鏡下に同定することもできた。この研究成果も論文として報告した ( Noothalapati H et al. Vibrational Spectroscopy 2016 )。

## 3. プロトンポンプ阻害薬(PPI)が治療法として有効な好酸球性食道炎と有効ではない好酸球性食道炎を治療開始前に鑑別する方法の検討

PPI が有効である好酸球性食道炎と有効ではない好酸球性食道炎の比較を行うと、年齢、性別、体重などの患者背景、アトピー性素因の有無、自覚症状、末梢血血液中の好酸球数、IgE値、サイトカイン・ケモカイン、内視鏡所見、病理組織像、マイクロアレイ解析による食道粘膜でのmRNAの発現パターンのいずれにも差異は認められなかった。このため好酸球性食道炎に対するPPIの有効性は治療を行う前に判定することは現時点では困難であると考えられた。このことは、治療のフローチャート作成時に好酸球性食道炎と診断された全例が原則として、まずはPPI治療を受けることが望ましいことを示しており、ガイドライン作成においてはきわめて重要な研究成績であると考えられる。本研究の結果は論文として報告した ( Jiao DJ et al. J Gastroenterol 2017, Shoda T et al. J Allergy Clin Immun in press )。

## 4. PPI治療困難例に対するカリウムイオン拮抗型胃酸分泌阻害薬であるボノプラザンの有効性に関する検討

PPI治療に抵抗する例に対してより酸分泌抑制力の強いボノプラザンの標準用量の投薬を行うと半数以上の例において緩解が得られることが明らかとなった。この成績はPPIの効果が胃酸分泌抑制を介したものであり、PPIの分子そのものが持つ可能性が指摘されている免疫抑制力が食道炎に対して治療効果を示している可能性は高いものではないことを示唆している。また、

PPI 治療抵抗例がボノプラザンを用いて治療できる可能性を示しており、ステロイドの使用をできるだけ避けた副作用の少ない治療ストラテジーをガイドラインで推奨するときに重要な成績になると考えられる。本研究成績もすでに論文として発表した (Ishimura N et al. Am J Gastroenterol 2016)。

これらの検討結果以外に腸管粘膜における B 細胞の機能に関係する研究、食道粘膜における粘膜の透過性に関係する epidermal differentiation complex の発現に関する検討を行った (Mishima Y et al. PLOS ONE 2016, Oshima N et al. Esophagus in press)。

#### D. 考察

本研究は好酸球性消化管疾患のガイドラインを作成することを目的に行われている。本年度の研究より、好酸球性食道炎の診断のために食道粘膜縦走溝を診断するための内視鏡所見の特徴を明らかとすることができた。また、この内視鏡所見に基づいて生検診断のための組織を採取すれば病理診断の感度を高めることができることも明らかとすることができた。これらの情報はガイドラインの作成に直ちに利用できる情報であると考えられる。一方、現在も研究を続けているラマン分光分析を利用した特殊光内視鏡の開発は有望な診療方法となる可能性があるため、今後も検討を重ねるとともに、実際の内視鏡装置に組み込み、臨床実証研究へ進めたいと考えている。

診断が確定した好酸球性食道炎例のうち PPI が有効な例が半数あるため、PPI が有効な例に対しては PPI 治療を行うことが推奨される。そこで、治療を行う前から PPI 治療の効果を予測することができないか、様々な検討を行ったが有用な治療結果の予測因子は得られなかった。そこで診療ガイドラインのフローチャートとして

は確定診断された好酸球性食道炎は 1 度は PPI を用いた治療を受けることが望ましく、そのように推奨されるべきであろうと考えられる。

さらに、PPI が有効でない場合にも半数程度の例はさらに胃酸分泌抑制力が強いボノプラザン治療に反応することが本研究から明らかとなっており、ステロイド治療を選択する前に行うべき治療として推奨されるべきであろうと考えている。

本年度の研究成績より診断指針の作成、治療フローチャートの作成に必要な多くの情報が創出されたと考えている。

#### E. 結論

本年度の研究から好酸球性消化管疾患のガイドライン作成に必要な多くの情報が明らかとなった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Adachi K, Mishiro T, Tanaka S, Kinoshita Y. Suitable biopsy site for detection of esophageal eosinophilia in eosinophilic esophagitis suspected cases. Digestive Endoscopy 28: 139-144, 2016.
- 2) Kinoshita Y, Ishimura N, Oshima N, Mikami H, Okimoto E, Jiao DJ, Ishihara S. Recent progress in research of eosinophilic esophagitis and gastroenteritis: review. Digestion 93: 7-12, 2016.
- 3) Mishima Y, Ishihara S, Oka A, Fukuba N, Oshima N, Sonoyama H, Yamashita N, Tada Y, Kusunoki R, Moriyama I, Yuki T, Kawashima K, Kinoshita Y. Decreased Frequency of Intestinal Regulatory CD5+ B Cells in Colonic Inflammation. PLoS One 11(1): e0146191, 2016.
- 4) Noothalapati H, Uemura S, Oshima N,

- Kinoshita Y, Ando M, Hamaguchi H, Yamamoto T. Towards the development of non-biopic diagnostic technique for eosinophilic esophagitis using Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy* 85: 7-10, 2016.
- 5) Ishimura N, Ishihara S, Kinoshita Y. Sustained acid suppression by potassium-competitive acid blocker(P-CAB) may be an attractive treatment candidate for patients with eosinophilic esophagitis. *Am J gastroenterol* 111: 1203-1204, 2016.
  - 6) Jiao D, Ishimura N, Maruyama R, Ishikawa N, Nagase M, Oshima N, Aimi M, Okimoto E, Mikami H, Izumi D, Okada M, Ishihara S, Kinoshita Y. Similarities and differences among eosinophilic esophagitis, proton-pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia, and reflux esophagitis: comparisons of clinical, endoscopic, and histopathological findings in Japanese patients. *J. Gastroenterol.* 52: 203-210, 2017.
  - 7) Kinoshita Y, Ishimura N, Mishiro T, Ishihara S, Adachi K. Diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis in Japan. *Esophagus* 14: 66-75, 2017.
  - 8) Okimoto E, Ishimura N, Okada M, Izumi D, Mikami H, Aimi M, Tanimura T, Mishiro T, Oshima N, Ishikawa N, Ishihara S, Adachi K, Maruyama R, Kinoshita Y. Specific locations of linear furrows in patients with esophageal eosinophilia. *Dig Endoscopy* 29: 49-56, 2017.
  - 9) Shoda T, Matsuda A, Nomura I, Okada N, Orihara K, Mikami H, Ishimura N, Ishihara S, Matsumoto K, Kinoshita Y. Genome-wide transcriptome analysis of mucosal biopsy specimens showed no major differences between eosinophilic esophagitis and proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia. *J. Allergy Clin Immunol* in press
  - 10) Oshima N, Ishihara S, Fukuba N, Mishima Y, Kawashima K, Ishimura N, Ishikawa N, Maruyama R, Kinoshita Y. Epidermal differentiation complex protein involucrin is downregulated in eosinophilic esophagitis. *Esophagus* in press
  - 11) 木下芳一, 沖本英子, 石村典久. 好酸球増加症候群, 好酸球性食道炎 - 小児と成人を含めて - . 別冊日本臨牀 免疫症候群(第2版). 35: 203-207, 2016.
  - 12) 木下芳一. 好酸球と消化管障害 - その分子機構にせまる: 序. *GI Research* 24: 145-146, 2016.
  - 13) 石原俊治, 木下芳一. *Helicobacter pylori* 感染陰性時代の消化管疾患: 好酸球性消化管疾患. *日本内科学会雑誌* 106: 58 - 63, 2017.
  - 14) 木下芳一. 好酸球性消化管疾患. In: *消化器疾患最新の治療* (小池和彦, 山本博徳, 瀬戸泰之編), 南江堂, 東京, 2017, pp285-288.
- ## 2. 学会発表
- 1) 沖本英子, 石村典久, 岡田真由美, 泉 大輔, 三上博信, 谷村隆志, 大嶋直樹, 石原俊治, 足立経一, 木下芳一. ワークショップ5: 日本における消化管希少疾患の実態; PPI 反応性食道好酸球浸潤(PPI-REE)に対するPPIの長期効果に関する検討. 第13回日本消化管学会総会学術集会, 名古屋, 2017.02.17.
  - 2) 岡田真由美, 石村典久, 三上博信, 沖本英子, 大嶋直樹, 宮岡洋一, 藤代浩史, 石原俊治, 木下芳一. ワークショップ8: 食道胃接合部癌の診断と治療の最先端; 下部食道に発生する食道癌の周在性と臨床的特徴に関する検討. 第13回日本消化管学会総会学術集会, 名古屋, 2017.02.17.
  - 3) 三代 剛, 石村典久, 石原俊治, 木下芳一. シンポジウム: 消化器疾患のUp-to-date: 発癌メカ

ニズムから最新の治療戦略まで；好酸球性消化  
管障害の診断と治療 第90回日本薬理学会年会，  
長崎，2017.03.16.

## G. 知的所有権の取得状況

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