

NewsLetter Vol.14 No.1

実験動物モデルを用いた腸炎に対する病態・治療研究

井上 詠 (慶應義塾大学病院 予防医療センター)



第49回日本消化器免疫学会総会 (2012年7月 於：鹿児島 会長：坪内 博仁)
〈消化管1〉座長

「消化管1」のセッションでは、実験動物腸炎モデルを用いて各種腸炎に対する病態や治療を追究する研究発表が4題なされた。その中で、いわゆる炎症性腸疾患モデルだけではなく、collagenous colitisやNSAIDs起因性小腸潰瘍に対する研究も発表されたことが興味深かった。

溝下ら(名古屋市立大学)の発表は、最近臨床現場で注目されているlansoprazoleに関連したcollagenous colitisの動物モデルを、スナネズミにlansoprazoleを服用させることで確立した。病理学的な検討でもcollagen bandの存在が示され、ヒトlansoprazole-associated collagenous colitis類似のモデルを初めて確立した意義は大きい。今後の病態解明に道筋を拓くものと思われる。

井上ら(大阪医科大学)の発表は、最近糖尿病の治療薬として使用されているDPP-IV選択阻害剤に着目し、腸管粘膜での

DPPファミリーの発現、活性を解析し、さらにラットインドメタシン傷害モデルに対してDPP-IV選択阻害剤投与の有効性を検討した。DPP-IV選択阻害剤投与により小腸粘膜内のDPP-IVの活性が優位に抑制され、成分栄養剤との併用により粘膜治癒を促進して粘膜内GLP-2濃度を上昇させることが示され、回腸粘膜傷害の治療薬としてDPP-IV選択阻害剤が有用である可能性が示唆された。

成松ら(防衛医科大学)の発表では同じくラットインドメタシン傷害モデルに対してToll-like receptor (TLR) 2 antagonistであるlipoarabinomannan (LAM)を投与し、治療効果と白血球動態の検討を行った。LAMの前投与によりインドメタシン惹起性の潰瘍面積は減少し、炎症性サイトカインの発現と白血球マイグレーションを抑制した。このことによりTLR2リガンドがNSAIDs起因性小腸潰瘍の治療標的となる可能性が

示唆された点で有意義な研究であった。

木村ら(慶應義塾大学)の発表は、最近注目されているROR γ t依存性かつIL17A産生性の新規細胞集団 (innate lymphoid cells (ILC)) の病態への関与について検討を行った。ROR γ t/RAG-2ダブルノックアウトマウスを用いてDSS慢性腸炎モデルを解析し、ROR γ t + ILC22細胞が腸炎の防御因子としての機能を担っていることが示された。ただし、ILC familyが病態へどのように関与しているかは今後の検討課題である。

以上、本セッションの4題では腸炎モデルを用いた病態や治療の探索が報告された。ヒト腸炎に対してのアプローチなどはいずれも今後の検討課題であるが、いずれも高いレベルの研究発表であり、また活発な討論が行われた。

[原稿受付; 2012年11月2日]

炎症性腸疾患に対する新薬・新規治療法開発を視野に入れた実験腸炎による探索的研究

鈴木 健司 (新潟大学医歯学総合病院 第三内科)



第49回日本消化器免疫学会総会 (2012年7月 於：鹿児島 会長：坪内 博仁)
〈消化管2〉座長

第49回日本消化器免疫学会総会の一般演題・消化管2のセッションでは、炎症性腸疾患IBDに対する新薬・新規治療法開発を視野に入れた前臨床段階の探索的研究に位置づけられる6演題が発表されました。最初の2題がTNBS腸炎、残り4題がDSS腸炎を用いた研究でした。当日の活発な討論の内容も含め、概略を紹介いたします。

炎症性腸疾患に対する新薬の有効性を確認するための探索的研究段階で用いられる実験腸炎の代表として、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 腸炎とトリニトロベンゼンナトリウム (TNBS) 腸炎の2つの腸炎モデルがよく用いられている。その理由として、これらの実験腸炎は、腸炎惹起の実験手順が簡便で、再現性が高く、しかも腸炎発症率が高いという新薬開発のための腸炎モデルの必須条件を満たしているからであ

る。近年ヒトIBDの病態により類似した優れた腸炎モデルが多数開発されてきたが、こと研究目的が探索的研究の薬効検定となるとやはりDSS腸炎とTNBS腸炎が基本ツールとなっている。

DSS腸炎は1990年Okayasuらにより報告されたMade in Japanの実験腸炎である。3~5%程度のDSSの経口投与により、ほぼ100%のマウス遠位大腸に粘膜固有層と粘膜下層を中心とした連続性のびまん性

炎症が生じ、粘膜固有層のT細胞はTh2反応がやや優勢とされることから、潰瘍性大腸炎の腸炎モデルとされることが多い。ただし、DSS腸炎はリンパ球欠損マウスでも発症し、炎症惹起にはマクロファージを主体とした自然免疫が重要な役割を果たしている。一方、TNBS腸炎はハプテン誘導性の腸炎であり、大腸に散在性に全層性の炎症が生じる。浸潤細胞はTh1細胞が主体であり、クローン病のモデルと考えられている。発症にはT細胞を主体とした獲得免疫が重要とされる。

ところで、これら実験腸炎が示すのは人IBDの病態とは異なるモデル動物の病態であるため、薬剤の効果を判定するには複数のモデルで検証することが望ましい。また腸管線維化などの特殊な病態を治療標的とする場合には、より適した腸炎モデルを選ばなければならない。さらに、ヒト炎症性腸疾患の病態と比較しながら実験結果を検討し、最終的にはヒトに対する臨床治験において候補薬剤の安全性と有効性を検証することが新薬開発研究の究極の目標である。

まず大阪府立大学の東泰孝氏らはIL-19欠損マウスにおいてTNBS腸炎が悪化することから、腸管炎症におけるIL-19の腸管保護効果を明らかにした。東氏らはこれまで急性および慢性DSS腸炎を用いた実験でIL-19欠損マウスでは炎症が悪化することを報告しており、その機序としてマクロファージの産生するIL-19がレセプター/STATsを介して炎症抑制に働くことを示している。今回の報告でのTNBS腸炎におけるIL-19のT細胞（獲得免疫系）へ及ぼす効果の解析が興味深い。一方、間接リウマチのラットモデルでは抗IL-19抗体治療が炎症を改善すると報告されており、IL-19の炎症における役割は臓器によって異なる可能性がある。人の炎症性腸疾患ではIL-19は炎症促進に働くのか、抑制に働くのか更なる研究成果を期待したい。

京都府立医科大学の福田亘氏らはTNBS腸炎マウスに水溶性CO放出剤CO-releasing molecule(CORM)-3を腹腔内投与することでTNBS腸炎抑制効果が得られることを示した。福田氏らのグループはHO-1、COが炎症性腸疾患治療の新規標的分子となりうることをこれまで多くの実験データで示してきた。今回の報告ではCOガス吸入による毒性を克服するためにCORM-3を用いたことと、マウスの実験系を用いることでCOの腸炎抑制作用機序を免疫学的に詳細に解析しえたことが興味深い。今後

はCORMなどを用いたCOあるいはHO-1発現増強剤などによる炎症性腸疾患治療の研究がさらに進展して、臨床応用に向けて動き出すことを期待したい。

名古屋大学の三村俊哉氏はDSS腸炎マウスに2型糖尿病治療薬のDPP(Dipeptidyl peptidase)-4阻害薬の一つであるアナグリプチンを投与したところ、マウスDSS腸炎の発症を抑制することはなかったが、DSS投与中止後の回復期において病態の改善効果がみられ、これは大腸上皮の増殖の促進と回復によるものと考えられた。遠位回腸と大腸の内分泌L細胞より分泌されるGLP-1とGIPはインクレチンと総称されるホルモンであり、膵臓β細胞からインスリン分泌を刺激する。このインクレチンはDPPにより分解されるので、インスリン分泌刺激を長引かせるためDPP阻害薬が開発された。一方glucagon superfamilyに属するGLP-2は同じくL細胞より分泌され、腸管上皮細胞の細胞増殖因子として注目されており、クローン病に対する臨床治験も行われている。HGF同様、増殖因子を炎症性腸疾患の治療に使う場合、慢性炎症発癌の危険をもたらしさいか十分な検討が必要となる。三村氏にはDPP4の大腸上皮細胞修復機序解明とともに、発癌リスクに対する解析をぜひともお願いしたい。

新潟大学の米沢正貴氏は降圧薬ARB(Angiotensin II receptor blocker)の一つのテルミサルタンをDSS腸炎マウスに投与したところ、腸炎の改善がみられ、その機序としてARBによる炎症性サイトカインの発現抑制、アポトーシス抑制、酸化ストレス抑制が関与していることを示した。腸管においても局所renin-angiotensin-system(RAS)が存在し、IBDの発症進展に重要な役割を果たしていることが明らかになっている。angiotensin II type 1(AT1)、およびAT2レセプターは腸管局所のT細胞、マクロファージ、腸上皮、血管内皮、筋線維芽細胞など種々の細胞膜上に発現していることが示されている。最近、腸管血管内皮のMAdCAM-1の発現をARBが抑制することでDSS腸炎を改善するという非常に興味深い報告がなされた。米沢氏らには今後ARBが腸炎治療効果を発揮する最も重要な標的細胞を同定し、その作用機序を明らかにすることを期待したい。

新潟大学の西澤雄貴氏は胃潰瘍治療薬マレイン酸イルソグラジン(IM)がDSS腸炎治療効果を有することを示した。IM投与により腸管陰窩長の伸長と粘液分泌の亢

進、炎症性サイトカイン発現抑制がみられたことと、腸炎で減少したIL-13の発現がIM投与により発現が回復したことに着目し、IMの腸炎改善機序を検討した。IMはgap junctional communication activatorとして知られ、粘膜保護作用を発揮することで胃潰瘍治療に有効であることが知られている。今回の実験結果でみられたDSS腸炎の治療効果で、大腸粘液分泌の亢進と大腸陰窩の伸長は寄生虫感染においてもみられる病理学的特徴である。寄生虫感染ではIL-13が重要な働きを示していることから、IMにも寄生虫感染時にみられる腸管局所の免疫反応誘導効果が、DSS腸炎治療効果に関係しているのではないかというのが西沢氏の発想である。潰瘍性大腸炎においてはNKT細胞の産生するIL-13が腸炎悪化因子として考えられているが、今回の実験結果はIMにより誘導されたIL-13が腸炎改善に働くことを想定している。IMの作用機序に関する更なる研究を期待したい。

富山大学の林周作氏はPI3K(phosphoinositide 3-kinase) p85αヘテロ欠損マウスにおいてDSS腸炎が改善し、TNF-α、IL-6の低下とマクロファージの食食能低下がみられることを示した。PI3K p85α欠損マウスでは消化管肥満細胞が欠損することから、消化管肥満細胞の分化・機能発現にPI3K p85αが重要であることが報告されている。また、肥満細胞が炎症性腸疾患で重要な役割を果たすことは、臨床例や肥満細胞欠損マウスを用いた実験腸炎において腸炎が改善することで示されてきた。PI3K p85α欠損マウスで示されたDSS腸炎改善にはマクロファージの食食能低下が関与しているとの報告であったが、肥満細胞の関与はどうか興味を持った。一方、PI3Kの別のサブユニットであるPI3Kγ欠損マウスでは実験腸炎が改善することが示され、さらにPI3Kγ inhibitorの経口投与によっても実験腸炎が改善することから、近年PI3Kγは炎症性腸疾患や自己免疫性疾患の新しい治療標的として注目されている。PI3Kの調節ユニットであるp85αは新たな治療標的となるのであろうか、林氏らにはp85α inhibitorを用いた実験などを今後検討していただき、更なる研究の進展を期待している。

以上の6名の先生方の研究が今後さらに発展し、炎症性腸疾患の新薬・新規治療法開発の臨床応用にまで進んでいくことを期待しています。

本学会の特筆すべき伝統に、熱気に満ちた討論を通じて若手研究者を高みに導いてくれる独特の雰囲気があります。本学会に

参加される若手研究者は無論のこと、研究志向を持った学部学生にとっても、本学会参加の経験が大きな刺激となり、消化器免

疫学の発展に繋がっていくことを願っています。

〔原稿受付；2012年12月28日〕

基礎研究と臨床の接点

有村 佳昭（札幌医科大学 内科学第一講座）

第49回日本消化器免疫学会総会（2012年7月 於：鹿児島 会長：坪内 博仁）
〈消化管3〉座長



第49回日本消化器免疫学会は鹿児島大学 坪内博仁教授会長のもと鹿児島にて成功裏に開催された。私は7月5日一般演題「消化管3」のセクションを担当させていただいた。このセクションは病態のみならず治療に関わる3演題であり、興味深く聞かせていただいた。

旭川医科大学の小西先生からは、すでに美容の分野で応用されているポリリン酸の腸炎に対する治療応用に関する報告があった。慢性腸炎モデルにおける腸管障害や線維化に有効とのことであるが、慢性腸炎に対する治療効果の評価法やポリリン酸投与による炎症性サイトカインおよび線維化促

進分子の発現抑制をきたす機序など、今後の検討課題も多い。

慶応義塾大学の米野先生からは、胆汁酸アナログであるTGR5アゴニストがクロウンの病腸管マクロファージの炎症性サイトカインに抑制的に作用することが報告された。慶応グループは、以前にCD14陽性炎症惹起性のマクロファージを見出し、今回は、その病原マクロファージを胆汁酸が生理的に抑制する可能性を見出した。胆汁酸の腸肝循環、クロウンの病の好発部位を考慮すると、この防御機構の破綻が回腸末端で起きている可能性もあり、今後の発展に期待したい。

滋賀医科大学の青松先生からは、タクロリムスの新たな作用点として大腸線維芽細胞からのサイトカイン抑制を報告した。日本で発見、開発されたタクロリムスの新たな可能性や適性使用に繋がることに期待したい。

最後に、今回のセクションの研究は、「基礎研究と臨床の接点」を意識した興味深い3演題であり、私自身楽しく司会させていただいた。演者および関係者のご努力に感謝し、今後の発展に期待することで、一般演題「消化管3」のセクションに対する私の総括とさせていただきます。

〔原稿受付；2012年8月13日〕

腫瘍・慢性炎症における、免疫、ワクチン、サイトカインの役割

古倉 聡（京都府立医科大学 消化器内科）

第49回日本消化器免疫学会総会（2012年7月 於：鹿児島 会長：坪内 博仁）
〈腫瘍・免疫一般1〉座長



「消化器と免疫」の分野にも、養子免疫の演題が見られるようになった。札幌医科大学の那須野先生らは、化学発癌モデルに、骨髄間葉系幹細胞を移入すると大腸腫瘍の発がんがおさえられると発表された。骨髄間葉系幹細胞は、本来生体に存在するので、この発がん抑制効果は、本来生体が有していて、実験モデルにおいては発がんの刺激が強いため、多量の幹細胞を要すると考えられる。すなわち、発がん抑制は、骨髄間葉系幹細胞の数に依存するのである。メカニズムについても検討されているが、その詳細についてはこれから、ますます明らかにされると考えられる。と同時に、IBDのような比較的強い発がん刺激の抑制のためには、骨髄間葉系幹細胞の細胞移入や、骨髄間葉系幹細胞の中の有効成分が同定されれば、バイオ発がん抑制剤につながるものと考えられる。

明海大学の宮崎先生の御発表は、AIDに関するものであった。AIDは、抗体産生の多様性に関わる遺伝子編集酵素であるが、近年、慢性萎縮性胃炎からの胃癌、慢

性肝炎・肝硬変からの肝細胞癌、潰瘍性大腸炎からの大腸癌といった慢性炎症を背景とした癌化過程において、上皮細胞にもAIDの発現が報告されている。宮崎先生らは、数種類の口腔癌由来細胞株に炎症性サイトカインや歯周病細菌が産生する酪酸で刺激した際のAIDの発現を調べている。AIDの発現量が亢進したと述べているが、可能であれば正常細胞での検討を期待する。また、各種サイトカインの暴露でEMTを起こす傾向があったとのことであるが、この反応にAIDが関与しているのかどうかも興味深く、ぜひ検討していただきたいと思う。

第3演題目は、興味をひく演題であった。大阪市立大学の萩原先生の御発表でIBDの患者さんで免疫抑制剤を使っている患者とそうでない患者に対するインフルエンザワクチンの有効性と副作用を調べたものである。副作用に有意なものはなかったが、各ワクチン株の抗体保有率は、49歳以上の患者と抗TNFα抗体・免疫併用治療群において抗体保有率が有意に低かつ

たとのことである。残念に思ったのは、健康人との比較がなされていない点であった。

第4演題の滋賀医大今枝先生の演題は大腸粘膜、粘膜下層そこに存在する筋線維芽細胞またその場に複雑に作用するIP-10、IL-18 binding protein インターフェロンγ、TNF-αが複雑に相互作用をしあって、大腸粘膜の恒常性を維持しているものと考えられる。一度講演を聞かせていただいただけでは、十分に理解できなかったところもあったが、今後のさらなる詳細の検討を待ちしている。

免疫、サイトカインは、腫瘍局所反応、炎症性疾患において、共通の反応をしたり逆の働きをしたり、かなり複雑である。それは制御性T細胞ひとつ例にあげても複雑であり、最近注目されている刺激性副シグナル、抑制性副シグナルなどにおいてはさらに複雑になるが、これらの役割をひとつひとつ解明することが腫瘍と炎症の解明につながると思われる。

〔原稿受付；2012年10月1日〕

腸管炎症に対する新たな制御戦略

嵯山 敏男 (出水総合医療センター 消化器疾患センター)



第49回日本消化器免疫学会総会 (2012年7月 於: 鹿児島 会長: 坪内 博仁)
〈腫瘍・免疫一般2〉座長

一般演題「腫瘍・免疫一般2」のセッションで消化管免疫に関する4題を担当させていただきました。

前半2題は腸管炎症を抑制する薬理作用についての発表であった。

広島大学の永井健太氏らは、霊芝菌糸体培養基熱水抽出物 (MAK) の実験腸炎モデルへの作用について報告した。MAKはマウス腹腔内マクロファージからのGM-CSF産生を誘導し、TNBS腸炎を改善させた。この腸炎改善効果は抗GM-CSF中和抗体の投与により減弱した。また、インドメタシン小腸潰瘍モデルもMAKにより潰瘍数が減少した。MAKは健康食品としてすでに販売されているが、MAKが炎症性腸疾患の治療に応用できる可能性を示した、大変興味深い発表であった。

浜松医科大学のZhang Jiong氏らは、スタチンによる腸管上皮間リンパ球 (IEL) のサイトカイン産生への影響を検討した。スタチンによる免疫調節作用については過去多くの報告がなされており、炎症性腸疾患に対しては炎症抑制作用や発癌抑制作用を有していることが報告され、国内でも臨床試験が行われている。意外なことに、スタチンの消化管粘膜免疫担当細胞に対する直接作用はほとんど検討されていなかった。彼らはsimvastatinおよびlovastatinがIELのviabilityに影響することなく、IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-4の産生を抑制するこ

と、この効果は部分的にメバロン酸経路を介していることを報告した。スタチンの腸管炎症抑制機構について、さらなる詳細な検討を期待したい。

後半2題は宿主-腸内細菌相互作用に関する発表であった。

名古屋大学の石黒和博氏らは、腸内細菌が産生する酢酸のT細胞活性化制御機構について検討した。酢酸は転写因子NFATの核内移行を妨げ、T細胞のサイトカイン産生を抑制する。サイクロスポリンやタクロリムスもNFATの核内移行を妨げるが、これらの作用がNFATを脱リン酸化するカルシニューリンの阻害であるのに対し、酢酸はNFATと核内輸送体importin β との結合を阻害する。彼らはNFATとimportin β との結合に必要なアダプター分子がtubulin α であることを同定し、酢酸がtubulin α をアセチル化することでアダプター機能を阻害し、NFATの核内移行を妨げることを明らかにした。サイクロスポリンやタクロリムスは現在潰瘍性大腸炎の治療薬として大変効果を上げているが、その副作用も問題となっている。彼らは安全性の高い酢酸ナトリウム注腸の潰瘍性大腸炎に対する有効性を確認しており、その作用機序について基礎的な裏付けが得られた意義は大きい。また今回の発表ではtubulin α のアセチル化が、酢酸によるT細胞活性化制御のバイオマーカーとして有用である

ことも示した。潰瘍性大腸炎粘膜内tubulin α のアセチル化を測定することで、酢酸ナトリウム注腸の効果を予測することができるとも示した。

株式会社ヤクルト本社の内藤智昭氏、松本敏氏らは腸管粘膜に局在する粘膜付随細菌叢 (Mucosa-Associated Commensal Bacteria; MACB) について検討し、本学会で報告を行ってきた。今回はマウスのMACBを構成する菌種 *M. colimuris* を新たに分離し、*M. colimuris* の大腸粘膜への生着には腸管で産生される分泌型IgAが重要な役割を担っていることを報告した。宿主粘膜免疫系と腸内細菌との相互作用が炎症性腸疾患のみならず、多くの疾患の発症に関与していると考えられるようになってきた。彼らの報告で重要な点は、マウスのMACBと腸管内容物の菌叢構成が大きく異なることを明らかにしたことである。病態発症への腸内細菌の関与を検討するためには、ヒトにおいてもMACBと便中細菌叢の相違を明確にし、それぞれの構成菌とその役割を解明することが重要であると思われる。腸管炎症制御の鍵を握る腸内細菌が明らかになる可能性を秘めている。

本セッションの4題の発表には、いずれも炎症性腸疾患の新たな治療戦略を示唆する内容が含まれていた。今後のさらなる発展が楽しみである。

〔原稿受付; 2012年9月30日〕

第50回 日本消化器免疫学会総会

会期: 2013年8月1日(木)・2日(金)

会場: ホテルグランドヒル市ヶ谷 (〒162-0845 東京都新宿区市谷本村町4-1 / TEL: 03-3268-0111)

会長: 三浦 総一郎 (防衛医科大学校)

URL: <http://square.umin.ac.jp/jsmi50/>

主催事務局

防衛医科大学校 内科学第2部門
〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2
TEL: 04-2995-1609
FAX: 04-2996-5201
Email: meneki50@ndmc.ac.jp