

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16339

研究課題名(和文)クローン病の病態に腸管の流体力学がどう関わるか

研究課題名(英文)The relation between Crohn's disease and fluid mechanics of the intestine

研究代表者

鈴木 秀幸 (Suzuki, Hideyuki)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号：30526439

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：消化管の精密な流体モデルの作成には至らず、クローン病に関係する流体力学的要素を見出すこともできなかったが、統合型3DCGソフトBlenderを用い、手術で吻合を行った腸管内の流体の変化を三次元で再現することに成功した。また、クローン病の小腸切除症例をさらに細かく集計し、「小腸部位別切除率曲線」を作成した。

さらに、腸炎モデルマウスを用いて検討を重ねる中で、線維化関連因子であるTIMP-1が生物学的製剤による線維化の抑制効果を示す臨床的マーカーに応用できる可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

流体モデル作成に、従来の高価で専門性の高いソフトウェアに頼らず、フリーソフトBlenderを用いたことは、より安価で汎用性があり、かつ質の高い三次元モデルの作成に寄与し、様々な分野への応用が可能と考えられる。また、小腸部位別切除率曲線により、クローン病の病態解明に役立つ新知見を見出し、英文原著論文として掲載された。

さらに、クローン病の腸管線維化抑制効果を表す臨床的マーカーはまだ存在せず、TIMP-1がそのマーカーに利用できれば、「線維化・狭窄予防」という観点からクローン病の治療方針決定の戦略を変えられる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Although we were unable to create a precise fluid mechanics model of the intestine or find any elements of fluid mechanics related to Crohn's disease, we succeeded in reproducing the fluid changes in the intestine after surgical anastomosis in three dimensions using the integrated 3DCG software Blender. We also compiled more detailed data on small bowel resection cases of Crohn's disease and created a "resection rate curve by location".

In addition, we used mouse models of inflammatory bowel diseases and found that TIMP-1, a fibrosis-associated factor, could be applied as a clinical marker to indicate the inhibitory effect of biological agents on intestinal fibrosis.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：クローン病 腸管流体モデル Blender 小腸部位別切除率曲線 TIMP-1

### 1. 研究開始当初の背景

クローン病は、消化管のあらゆる所で起こりうる慢性の炎症性疾患である。発症には、遺伝要因と環境要因が複雑に関与していると言われていたが、原因はいまだに不明である。腸の狭窄はクローン病に典型的な病変であるが、狭窄が何度も再燃し、手術を繰り返す場合も多い。クローン病の好発部位は遠位回腸であり、その理由は不明であるが、申請者は、次のような仮説を立てた。

遠位回腸(回腸末端に近い小腸)は、多くの場合、骨盤腔内(身体の低い位置)から右頭側・腹側(身体の高い位置)に向かって走行している。そのため腸内容は、仰臥位の場合も立位・座位の場合も、重力に逆らって輸送されることになる(位置エネルギーの問題)。また、小腸と大腸の境には弁(回盲弁)があり、流れる際に抵抗が生じる。これらにより腸内容の輸送に必要なエネルギーが大きくなるのが、病変の発生に関わっているのではないかと考えた。

この仮説をもとに「腸管の流体力学がクローン病の病態に関与しているか」という問いを検証すべく、研究を開始した。

### 2. 研究の目的

クローン病の病変の発生・進展に、腸管の流体力学が関与しているのか、関与しているならばどんな要素が関与しているのかを検証すること。

### 3. 研究の方法

(1) 腸管(小腸・大腸)の流体モデルをコンピュータ上でシミュレートする: 腸内容物の流れをシミュレートし、腸の部位によって必要なエネルギー・作用する力などがどう違うのかを明らかにする。

(2) 腸管の流体力学とクローン病との関係を結びつける: A)で明らかになったエネルギーや力などの違いのうち、どの要素が、クローン病の病変発生部位の違いと一致するかを明らかにする。

(3) 動物モデルを用いて検証する: クローン病の病変発生への関与が推察された流体力学的要素を、動物モデルを用いて再現することで、病変が発生しやすくなるかを明らかにする。

### 4. 研究成果

(1) 消化管の流体モデルをコンピュータ上でシミュレートする

消化管は、血管や気道と比較して、現象の複雑性があり、流体モデルの作成は非常に難しかった。まずは単純なモデルから始めようと考え、はじめに二次元流体演算エンジンであるLiquidFunを用いて単純なシミュレーションを行ってみた。文献<sup>1)</sup>をもとに、クローン病の腸管狭窄に対して行われる手術である狭窄形成術(Heineke-Mikulicz法)後の腸管内径(狭窄形成部位の前後8cm)を求め、パソコン上にその長軸断面を表示。そこにLiquidFunで腸内容に見立てた流体を流した。文献では、ゴム管(内径2cm、厚さ0.15cm)を用いて狭窄形成術を行い、CTスキャンで腸管断面積を計測しているが、腸壁切開長別(4cm、3cm、

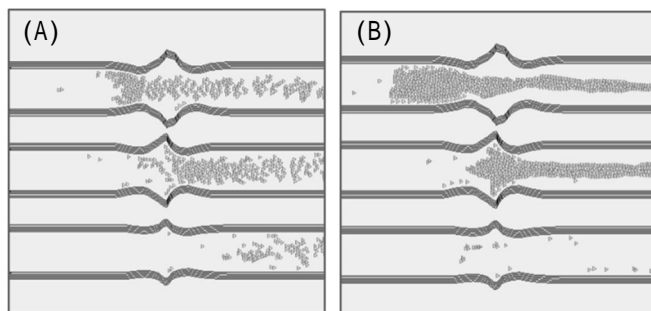


図1 LiquidFunを用いた狭窄形成術後の腸管における流体通過のシミュレーション。上が腸壁切開長4cmの場合、真ん中が腸壁切開長3cmの場合、下が腸壁切開長2cmの場合(文献<sup>1)</sup>に基づいて断面積を計算)。 (A)粘性の小さい流体の場合。(B)粘性の大きい流体の場合。

2cm)に断面積を解析しており、これに基づいて腸壁切開長別に長軸断面を描き、流体の通過をシミュレートした(図1)。このソフトウェアは、流体を小さな粒子の集合としてとらえる粒子法の手法が用いられているが、これは内容物の粘性・弾性などが複雑に変化する腸管の流体を、視覚的に分かりやすくシミュレーションする手法として向いていると考えられた。

次に統合型3DCGソフトBlender(2021年5月現在、最新バージョンは2.92)を用いた。フリーソフトでありながら高機能で、物理演算エンジンも組み込まれている。これを用い、腸管吻合を施した場合の管腔内の流体の変化を三次元で再現した。クローン病に対し、東北大学で開発された新たな腸管吻合法(Sasaki-W吻合)をBlenderで再現し、吻合部における内容物の流れをシミュレートすることで、Sasaki-W吻合の妥当性や課題を検証することができた(図2)。

今回の手法は、オープンソースのフリーソフトウエアを用いたことから、極めて安価で汎用性があり、視覚的理解の助けになる三次元モデルの作成に寄与した。一方、再現精度という点では実用性に乏しかった。消化管は流体の組成が複雑で、蠕動運動があり、通過中に流体の化学変化や吸収も起こる。粒子法自体も、正確性が要求される解析にはあまり向いていない。今回の手法により、病態に関与している流体力学的パラメーターを拾い上げる（条件を変えて多くの試行をする中で、重要なパラメーターを推察する）ことは可能だと思われるが、実際の腸管で起こっていることを再現し、力学的パラメーターの重要性を証明することは不可能である。CGシミュレーションの精度を上げるには、ソフトウェアの問題とは別に、実際の腸管（生体）から得られたデータ（CT画像のような位置情報のみならず、蠕動運動などの動的な情報を含む）を組み合わせる必要があり、本研究で精密な流体モデルを作成するところまでには至れなかった。

### Blenderで再現したSasaki-W吻合

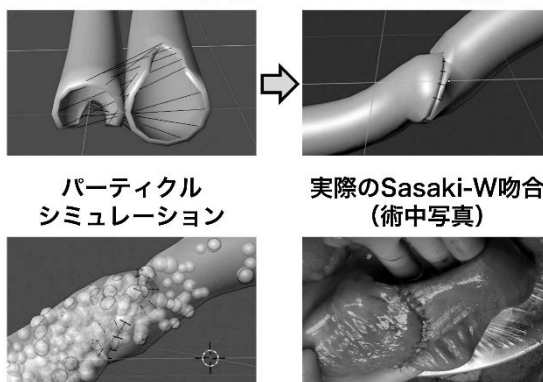


図 2 Blender を用いた新たな腸管吻合法 (Sasaki-W 吻合) のシミュレーション。左下は腸管内容に見立てた粒子を通過させた場合。右下は実際に行われた吻合の写真。

### (2) 消化管の流体力学とクローン病との関係を探る

前項で述べたように、精密な流体モデルの作成に難渋したため、最終的にクローン病に関連する流体力学的要素を見出すことはできなかった。

一方、本研究の背景にある「クローン病の部位による病変の起こりやすさ」をさらに詳しく解析するため、クローン病の小腸切除症例を集計し、小腸の始まりを 0、終わりを 1 としたスケールを x 軸、各部位の切除率を y 軸として切除率曲線を作成した。すると曲線は、患者によって、回腸末端に向かって指数関数的に切除率が増加する「指数関数型」と、回腸末端のほか近位回腸にも切除率のピークがある「二峰性型」の 2 種類に分けることができることが分かった (図 3)。前者は初回手術で回盲部切除術 (ICR) が行われた集団、後者は初回手術で小腸部分切除術 (PSBR) が行われた集団である。「二峰性型」の患者では、何らかの疾患の特徴を示唆しているのではないかと考察された。この成果は英文原著論文として執筆し、Colorectal Disease に掲載された。

### (3) 動物モデルを用いて検証する

(1)(2)において、精密な流体モデルの作成や、クローン病に関連する流体力学的要素を見出すことができなかったため、動物モデルを用いた流体力学的要素の検証もできなかった。

ただ今回、DSS 誘発腸炎マウスを用いて腸管線維化を起こすモデルを作成する中で、抗 TNF- 抗体をこのマウスに投与すると腸管線維化が著明に抑制されることが分かった。この検討をする中で、線維化の指標として用いた線維化関連因子である TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1) が、生物学的製剤による線維化の抑制効果を示す臨床的マーカーに応用できるのではないかと着想した。実際に抗 TNF- 抗体を DSS マウスに投与した際の線維化改善効果と、大腸組織中の TIMP-1 遺伝子発現量の変化、血漿中の TIMP-1 蛋白量の変化は一致するものであった (図 4)。クローン病の腸管線維化抑制効果を表す臨床的マーカーはまだ存在せず、TIMP-1 がそのマーカーに利用できれば、「線維化・狭窄予防」という観点からクローン病の治療方針決定のストラテジーを変えられる可能性がある。

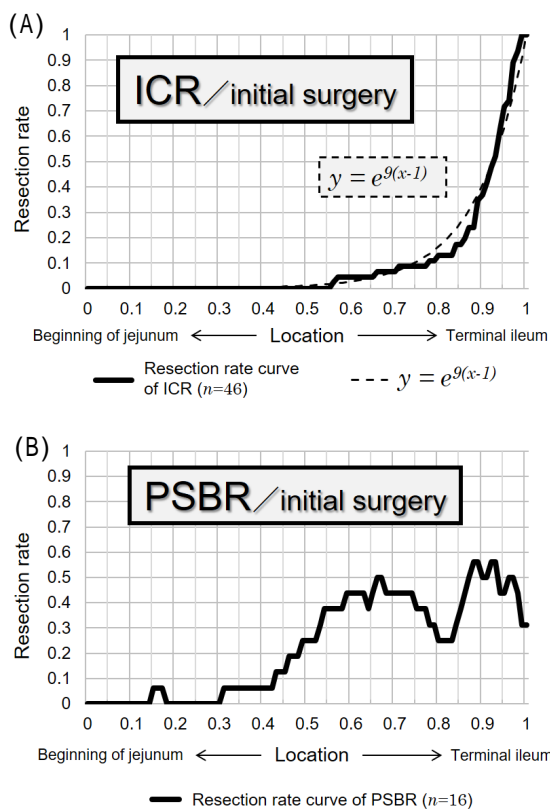


図 3 クローン病の小腸切除症例における小腸部位別切除率曲線。(A)初回手術で回盲部切除術が行われた症例の集計。切除率は回腸末端に向かって指数関数的に増加している。(B)初回手術で小腸部分切除術が行われた症例の集計。回腸末端のほか近位回腸にも切除率のピークがある「二峰性型」を示す。

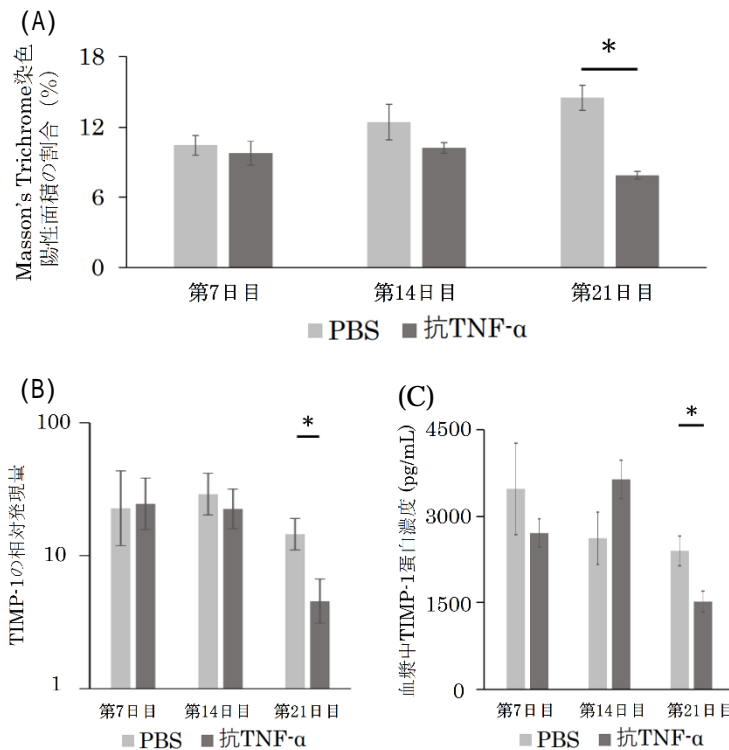


図4 デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)を7日間自由飲水で投与することにより腸炎モデルマウスを作成した。第7日目からは100 $\mu$ LのPBS(PBS群、n=15)または100 $\mu$ LのPBSに溶解したマウス抗TNF- $\alpha$ 抗体(抗TNF- $\alpha$ 群、n=15)20 $\mu$ gを1週間に2回の頻度で腹腔内投与した。第7日目、第14日目、第21日目に各群5匹ずつ安楽死させ検体を採取した。(A)マウスの結腸全層に占める粘膜下層のMasson's Trichrome染色陽性面積。抗TNF- $\alpha$ 群では第21日目の腸管線維化の程度が有意に改善していた。(B)マウスの遠位結腸におけるTIMP-1の発現(正常マウスの発現量1としたときの相対発現量)を定量リアルタイムPCRで評価した。(C)マウス血漿中のIL-6およびTIMP-1の濃度をELISAで評価した。いずれも \*  $p < 0.05$ 。

<引用文献>

- 1) Pocivavsek L, Efrati E, Lee KY, Hurst RD. Three-dimensional geometry of the Heineke-Mikulicz strictureplasty. *Inflamm Bowel Dis.* 2013;19(4):704-11.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Suzuki Hideyuki, Watanabe Kazuhiro, Kohyama Atsushi, Ohnuma Shinobu, Karasawa Hideaki, Kajiwara Taiki, Kobayashi Minoru, Hatsuzawa Yuuri, Kamei Takashi, Unno Michiaki | 4. 巻<br>23                |
| 2. 論文標題<br>Resection rate curves by location along the small intestine provide perspectives on characteristics of Crohn's disease  | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>Colorectal Disease   | 6. 最初と最後の頁<br>1167 ~ 1174 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1111/codi.15487  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鈴木 秀幸、渡辺 和宏、神山 篤史、唐澤 秀明、大沼 忍、田中 直樹、青木 豪、山村 明寛、井本 博文、武者 宏昭、元井 冬彦、石田 孝宣、亀井 尚、内藤 剛、海野 倫明 |
| 2. 発表標題<br>一般向け物理エンジンを用いた流体シミュレーションの消化器外科分野への応用  |
| 3. 学会等名<br>第119回日本外科学会定期学術集会   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>鈴木 秀幸、渡辺 和宏、神山 篤史、唐澤 秀明、梶原 大輝、大沼 忍、武者 宏昭、亀井 尚、内藤 剛、海野 倫明 |
| 2. 発表標題<br>クローン病における小腸の部位による切除率の違い                                  |
| 3. 学会等名<br>第10回日本炎症性腸疾患学会学術集会                                       |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鈴木 秀幸、渡辺 和宏、神山 篤史、唐澤 秀明、梶原 大輝、大沼 忍、田中 直樹、青木 豪、山村 明寛、井本 博文、武者 宏昭、元井 冬彦、石田 孝宣、亀井 尚、内藤 剛、海野 倫明 |
| 2. 発表標題<br>3DCGソフトBlenderを用いた腸管の縫合・吻合のシミュレーション   |
| 3. 学会等名<br>第120回日本外科学会定期学術集会   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>鈴木 秀幸、渡辺 和宏、神山 篤史、唐澤 秀明、大沼 忍、武者 宏昭、元井 冬彦、亀井 尚、内藤 剛、海野 倫明 |
| 2. 発表標題<br>クローン病の手術症例における患者背景別の好発部位比較 マップ作成により分かったこと                |
| 3. 学会等名<br>第73回 日本大腸肛門病学会学術集会                                       |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鈴木 秀幸、渡辺 和宏、神山 篤史、唐澤 秀明、大沼 忍、田中 直樹、青木 豪、山村 明寛、井本 博文、武者 宏昭、元井 冬彦、石田 孝宣、亀井 尚、内藤 剛、海野 倫明 |
| 2. 発表標題<br>一般向け物理エンジンをを用いた流体シミュレーションの消化器外科分野への応用   |
| 3. 学会等名<br>第119回 日本外科学会定期学術集会  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>佐藤 圭佑、鈴木 秀幸、唐澤 秀明、初沢 悠人、小林 実、梶原 大輝、山村 明寛、神山 篤史、渡辺 和宏、森川 孝則、石田 孝宣、亀井 尚、大沼 忍、海野 倫明 |
| 2. 発表標題<br>線維化マーカー-tissue inhibitor of metalloproteinase-1の新たな指標としての有用性                     |
| 3. 学会等名<br>第121回日本外科学会定期学術集会  |
| 4. 発表年<br>2021年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|