

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591476

研究課題名（和文）：潰瘍性大腸炎術後の回腸囊炎の発症経過と機序の解明
一回腸囊炎は術後再発か？

研究課題名（英文）：Investigation of the mechanisms of pouchitis after IPAA for patients with ulcerative colitis.

研究代表者

小川 仁 (OGAWA HITOSHI)

東北大学・病院・講師

研究者番号：00312570

研究成果の概要（和文）：

臨床研究においては当科での回腸囊炎の発症頻度を明らかにするとともに、従来明らかではなかった発症後の長期経過とくに抗菌薬治療に対する感受性の変化を明らかにした。基礎研究において IL-23 が腸管上皮細胞に対して細胞内シグナル伝達機構を活性化させるとともにサイトカインの放出を促すことを明らかにし、また大腸癌の一部においても IL-23R の発現を認め IL-23 が増殖・浸潤を刺激する事を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In the clinical study, we evaluated the long-term outcome of pouchitis following total proctocolectomy and IPAA for patients with ulcerative colitis. In the basic study, we revealed the effect of IL-23 in the intestinal neuroendocrine and cancer cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯学分野

科研費の分科・細目：消化器外科学

キーワード：潰瘍性大腸炎、回腸囊炎

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎は本邦で 10 万人以上が罹患する疾患であり、近年の内科的治療の進歩にも関わらず患者の約 2～3 割が手術を必要とする原因不明の難治性疾患である。現在潰瘍性大腸炎に対しては大腸全摘・回腸囊肛門吻合手術（以下 IPAA）が標準術式として確立しているが、術後に最も多く認められる合併症として回腸囊炎が挙げられる。回腸囊炎は欧米での報告では IPAA 術後の潰瘍性大腸炎患者の 20～50% に発症するとされるが、潰瘍

性大腸炎同様その病因は不明である。潰瘍性大腸炎そのものは欧米に比べ本邦では発症頻度が低い事が知られているが、IPAA 術後の回腸囊炎の発症頻度に関する報告は本邦では少なく、欧米と比して違いがあるかどうか明らかでない。さらに、回腸囊炎に対しては抗菌薬内服が症状の改善に有効である事が知られているが、発症／治療開始後の長期経過は明らかにされていない、また潰瘍性大腸炎に比べて家族性大腸腺腫症に対する IPAA 術後には回腸囊炎は稀であることから、

「回腸囊粘膜の大腸化」が回腸囊炎の病因とする仮説もあるが、そもそも回腸囊粘膜の大腸化が起こるのか否かといった点において意見の相違がある。この点を明らかにする事が、回腸囊炎さらには潰瘍性大腸炎の原因究明に必要と考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、

- (1) 潰瘍性大腸炎に対する大腸全摘・回腸囊肛門吻合術後患者に発症する回腸囊炎の発症経過と機序を、臨床検体および動物モデルを用いて明らかにすること、および
- (2) 「回腸囊炎は、術後の回腸囊に起こる潰瘍性大腸炎の再燃である」とする仮説に基づき、潰瘍性大腸炎の病因解明につなげることである。

3. 研究の方法

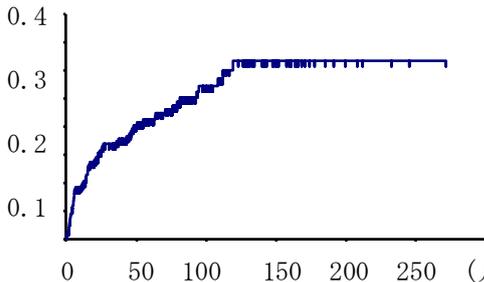
- (1) 当院において潰瘍性大腸炎に対して IPAA 術後の回腸囊炎発症患者の頻度、および発症後の長期経過を retrospective に検討する。
- (2) ラットを用いた空腸間置モデル（回腸の一部を結腸間に挿入することで、回腸内に結腸内容物を通過せしめる動物モデル）を作成し、腸内細菌叢の大腸化によって回腸粘膜の大腸化が起こるのか否かを形態学的・分子生物学的に検討し明らかにする。
- (3) 本研究の途中で、我々は IL-23 レセプター (IL-23R) が腸管上皮細胞の一部に発現している事を発見した。これは新発見であったため、IL-23 の腸管上皮細胞に対する作用を培養細胞株等を用いて検討した。

4. 研究成果

(1) IPAA 術後回腸囊炎の臨床的検討：

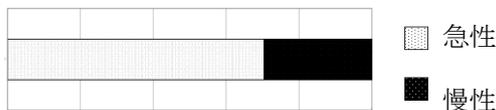
① 発症頻度：

IPAA 術後の回腸囊炎累積発症率を図に示す。

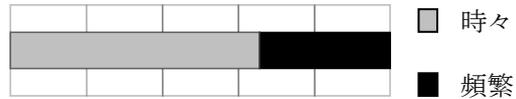


IPAA (ストマ閉鎖術後) の回腸囊炎発症率は 1 年で 10.7%, 2 年で 17.2%, 5 年で 24.0% であり、これまでの本邦における発症率よりも高いものの、欧米との比較ではやや低頻度であった。

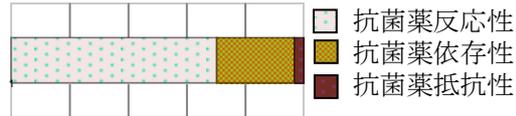
② 回腸囊炎発症時の病型



発症時の症状持続期間により急性（4 週間以内に改善）と慢性（4 週間以上症状持続）に分類すると、上図のごとく 70.3%が急性型であった。



また発症後の症状反復を時々（年 3 回未満）と頻繁（症状持続、あるいは年 3 回以上の再燃）に分類すると 34.4%が頻繁型となった。



発症後の抗菌薬治療（シプロフロキサシン、メトロニダゾール）の有効性を反応性、依存性、抵抗性に分類すると、70.3%が抗菌薬反応性、26.6%が依存性、3.1%が抵抗性であった。さらに長期経過後の抗菌薬に対する反応性の変化を検討すると、時間経過とともに反応性の割合が減少し、依存性/抵抗性の症例が増加することが明らかになった（下図）。



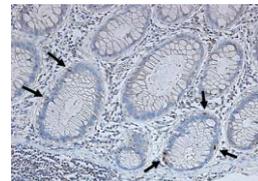
（これらの結果は、Disease of the Colon and Rectum 2012 年 3 月号に掲載された。）

(2) ラット空腸間置モデルを用いた検討：

研究初年度より、外科的処置による空腸間置モデル作成に着手した。しかしながら手術を行ったラットのほとんどが術直後に死亡するため、その後の検討を行い得なかった。その後の手技改善により 3 年目には術後の長期生存を得たが、本モデルを用いたその後の検討に必要な期間が得られないまま研究期間が終了した。

(3) 腸管粘膜上皮細胞および大腸癌における IL-23 の機能解明：

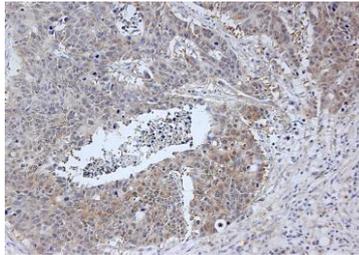
本研究期間中、腸管粘膜における各種サイトカインの作用を検討するべく種々のレセプターに対する抗体で腸管上皮の免疫染色を行ったところ、小腸と大腸の腸管上皮細胞の一部に IL-23R が発現していることを発見した。（下図）



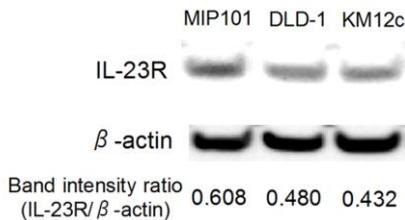
その後の検討により、これら IL-23R 陽性細胞は neuroendocrine cells であることが判明した。

次に大腸癌における IL-23R の発現を検討し、大腸癌の約 6 割が IL-23 を発現していること (図 1)、大腸癌由来の細胞株でも IL-23R 発現を認めること (図 2)、さらにこれらの細胞株の一部において IL-23 が細胞増殖や浸潤 (図 3) を促すことを発見し報告した (Oncology Letters, 2012 年 8 月号)。

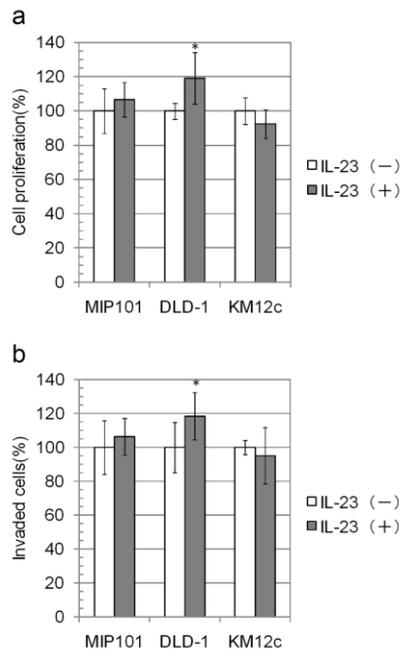
<図 1 : 大腸癌における IL-23 発現 (免疫染色法) >



<図 2 : 大腸癌細胞株 (MIP101, DLD-1, KM12c)における IL-23R 発現 (western blot 法)>

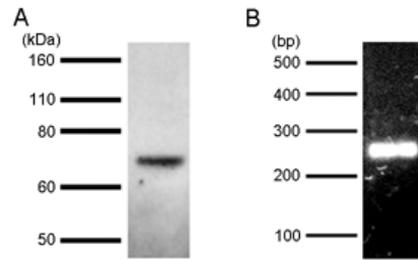


<図 3 : 大腸癌細胞株に対する IL-23 (recombinant protein) の作用。a: 増殖能テスト、b: 浸潤能テスト>

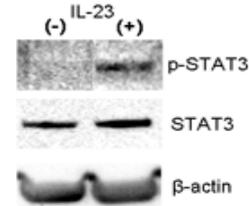


さらに小腸粘膜上皮細胞の neuroendocrine cells 由来の細胞株 KRJ-I を用いて、これらの細胞が IL-23R を発現する事 (図 4)、IL-23 刺激によりこれらの細胞の細胞内シグナル伝達物質である STAT3 を活性化すること (図 5)、IL-23 刺激が SOCS3, IL-13, IL-23R 発現を増強し、IL-23R 発現増強効果は STAT3 阻害剤である S3I-201 で阻害される事 (図 6) を明らかにした。これらの結果は現在論文投稿中である。

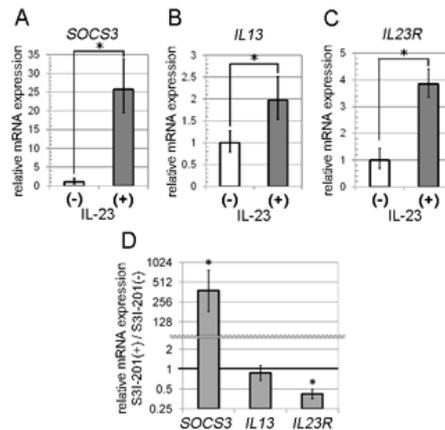
<図 4 : KRJ-I における IL-23R 発現。A: western blot 法, B: RT-PCR 法>



<図 5 : IL-23 による STAT 活性化 (western blot 法)>



<図 6 : IL-23 による SOCS3, IL-13, IL-23R 発現増強 (A, B, C) および S3I-201 による阻害作用 (D) (いずれも real-time PCR 法)>



以上まとめると、空腸間置モデルを用いた研究計画は予定通りには行かなかったが、回腸囊炎の臨床経過を明らかにする研究、および当初の研究計画にはなかった IL-23 の腸管粘膜免疫機構における働きに関する研究で大きな成果を挙げる事ができたといえる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

① Ogawa H, Haneda S, Shibata C, Miura K, Nagao M, Ohnuma S, Kohyama A, Unno M.
"Adenocarcinoma associated with perianal fistulas in Crohn's disease."
Anticancer Res. 2013 Feb;33(2):685-9.

② Hinata M, Kohyama A, Ogawa H, Haneda S, Watanabe K, Suzuki H, Shibata C, Funayama Y, Takahashi K, Sasaki I, Fukushima K.
"A shift from colon- to ileum-predominant bacteria in ileal-pouch feces following total proctocolectomy."
Dig Dis Sci. 2012 Nov;57(11):2965-74. doi: 10.1007/s10620-012-2165-9.

③ Ogawa H, Haneda S, Watanabe K, Suzuki H, Miura K, Ohnuma S, Sasaki H, Shibata C, Unno M.
"A unique variant of afferent limb syndrome after ileal pouch-anal anastomosis: a case series and review of the literature."
J Gastrointest Surg. 2012 Aug;16(8):1581-4. doi: 10.1007/s11605-012-1872-z.

④ Suzuki H, Ogawa H, Miura K, Haneda S, Watanabe K, Ohnuma S, Sasaki H, Sase T, Kimura S, Kajiwara T, Komura T, Toshima M, Matsuda Y, Shibata C, Sasaki I.
"IL-23 directly enhances the proliferative and invasive activities of colorectal carcinoma."
Oncol Lett. 2012 Aug;4(2):199-204.

⑤ Suzuki H, Ogawa H, Shibata C, Haneda S, Watanabe K, Takahashi K, Funayama Y, Sasaki I.
"The long-term clinical course of pouchitis after total proctocolectomy and IPAA for ulcerative colitis."
Dis Colon Rectum. 2012 Mar;55(3):330-6. doi: 10.1097/DCR.0b013e3182417358.

[学会発表] (計 4 件)

① 小川 仁、柴田 近、三浦 康、佐々木宏之、羽根田祥、渡辺和宏、鈴木秀幸、海野倫明、大腸全摘・回腸囊肛門吻合術後 Afferent Loop Syndrome の検討、第 67 回日本消化器外科学会総会、2012 年 07 月 19 日、富山

② Suzuki H, Ogawa H, Miura K, Naitoh T, Shibata C、IL-23 Regulates Gene Expressions via STAT3 Activation in the Human Intestinal Neuroendocrine Cell

Line、DDW2012、2012 年 05 月 22 日、アメリカ合衆国 (San Diego)

③ 鈴木 秀幸、小川 仁、三浦 康、内藤剛、羽根田祥、渡辺和宏、大沼 忍、佐々木宏之、鹿郷昌之、田中直樹、工藤克昌、佐瀬友彦、木村俊一、梶原大輝、小村俊博、戸嶋政秀、松田泰史、柴田 近、佐々木巖、IL-23 は STAT3 を介して腸管の神経内分泌細胞に作用する、第 98 回日本消化器病学会総会、2012 年 04 月 21 日、東京

④ 鈴木秀幸、小川 仁、三浦 康、羽根田祥、渡辺和宏、大沼 忍、佐々木宏之、佐瀬友彦、木村俊一、梶原大輝、小村俊博、戸嶋政秀、松田泰史、柴田 近、佐々木巖、IL-23 は直接的に大腸癌の増殖能・浸潤能を亢進させる、第 112 回日本外科学会定期学術集会、2012 年 04 月 14 日、千葉

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 仁 (OGAWA HITOSHI)
東北大学・病院・講師
研究者番号：00312570

(2) 研究分担者

柴田 近 (SHIBATA CHIKASHI)
東北大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：30270804

佐々木 巖 (SASAKI IWAO)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：60125557

(3) 連携研究者

該当なし