

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591019

研究課題名(和文)クローン病線維性狭窄の危険因子解明

研究課題名(英文)The risk factor of fibrous stricture in Crohn's disease

研究代表者

辻川 知之(Tsujikawa, Tomoyuki)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：80273407

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：クローン病による小腸狭窄は、一旦腸閉塞を来すと手術が必要となるため狭窄予防が重要である。しかし、症状無く徐々に進行することも多いため発症予測が困難であった。我々は、血液検査から狭窄を来しやすい患者を同定できないか、また薬物治療で狭窄進行を遅れさせないか検討した。まず、基礎的検討では線維化に關与するTGF- β が6-MPで抑制される可能性が示唆された。血液サンプル測定において、一部の狭窄を有する患者では、血中のTGF- β が上昇していたが、ばらつきが多く予測因子とは断定できなかった。また、6-MPの代謝産物6-TGN濃度とTGF- β 値、狭窄の有無で明らかな相関は見られなかった。

研究成果の概要(英文)：Because a surgical intestinal resection is usually necessary when small intestinal stenosis in Crohn disease results in ileus once, the stenosis prevention is important. However, a prediction of stenosis occurring has been difficult due to gradual progression without a symptom. We have studied whether some materials in blood sample could be the predictive factor of patients with stenosis, and whether a certain drug could prevent the intestinal stenosis. In basic experiment, it was found that 6-MP attenuated TGF-beta production of fibroblast, which is one of important cytokines related with fibrosis. In patients having some stenosis, TGF-beta indicated high, but data fluctuation among patients was not able to conclude with the prediction factor. Unfortunately, there were no relationship between the concentration of 6-TGN, which is metabolite of 6-MP, and TGF-beta.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 消化器内科学

キーワード：クローン病 腸管狭窄 線維化マーカー

1. 研究開始当初の背景

我が国の炎症性腸疾患の一つであるクローン病は急増し、ついに3万人を超えている。クローン病が他の腸炎と大きく異なる病態の一つとして、いわゆる腸管合併症として狭窄、瘻孔を来しやすいことである。特に狭窄は手術の約6割を占めており、さらに初回手術後の再狭窄も多いため、頻回手術症例では短腸症候群の発生が懸念される。また、病態別に炎症型、狭窄型、瘻孔型に分類されているが、臨床における便宜上分類にすぎず、炎症の何が異なるのかについてもまったく不明である。我々は2006年よりクローン病患者さんに対して、バルーン小腸内視鏡が特に小腸粘膜活動性の把握に重要であり、症状が安定している患者さんにおいても77%に回腸に活動性病変がみられること、また症状がなくとも35%に何らかの狭窄を有することを明らかにし、さらに腸管狭窄に対して内視鏡的バルーン拡張術を積極的に行うことで、外科手術を減少させることを明らかにしてきた(辻川知之 他、胃と腸 45: 1595, 2010)。しかし、バルーン拡張の効果は永続的でなく、6か月~12か月ごとに繰り返す必要があり、患者さんは定期的な入院を余儀なくされていた。このため、クローン病病変部の線維化による狭窄をなんとか予測、さらに予防できる方略を模索する必要がある。

2. 研究の目的

クローン病の病態は徐々に解明が進んでいるが、ほとんどが腸管局所の免疫異常による炎症惹起や増悪に関する研究であり、治療への応用も抗炎症への期待がほとんどである。線維化に対する研究は狭窄切除部位におけるTGF- β を初めとするサイトカインやコラーゲン産生亢進などが報告(Burke JP et al. Inflamm Bowel Dis 9: 1197, 2008)され、また血清マーカーでは潰瘍性大腸炎とクローン病におけるラミニンやtypeコラーゲンの上昇が報告(Koutroubakis IE, et al. J Clin Pathol 56: 817, 2003)されているが、臨床的に問題となる狭窄を来しやすい病態を明らかにする研究はほとんど進んでいない。一方、肝疾患や膵疾患では線維化の研究が盛んに行われ、インターフェロンによる線維化の抑制や改善など臨床応用も進んでいる。腸管では線維化や狭窄に問題が現在クローン病に特化しているためか、研究の立ち遅れ感が否めない。

本研究では患者血清を用いた線維化マーカーと小腸内視鏡による狭窄の程度との関連を明らかにし、狭窄を来しやすい症例、あるいは狭窄を来しやすい病期を明確にすることを目的とする。さらにこのようなマーカーを用い、各種薬物治療が抗炎症だけでなく、抗線維化にもどの程度貢献するかを明らかにして、狭窄予防へ向けた方略への基礎データを作成する。

3. 研究の方法

3-1

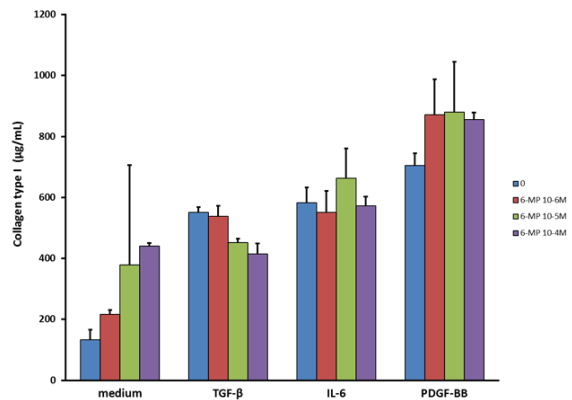
基礎的な検討としてヒト大腸筋繊維芽細胞(MF)を用い、TGF- β 、IL-6、PDGF-BBによるコラーゲン産生を測定した。また、それぞれのコラーゲン産生刺激に対する6-MPの抑制効果を3H-チミジン取り込みとコラーゲン産生で比較した。

3-2

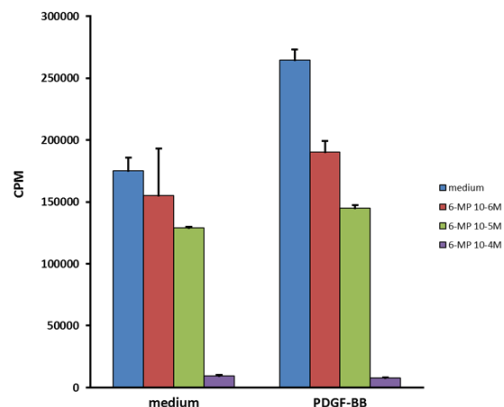
クローン病患者さんから採血を行い、分離凍結保存した血清よりTGF- β 、typeコラーゲン、6-MP濃度を測定した。また、それぞれの患者さんには年1回の小腸内視鏡検査を施行(定期的フォロー目的)し、狭窄の有無と程度を記録した。狭窄の程度と血清線維化マーカーについて統計解析ソフトによる単・多変量解析を行い、線維性狭窄予測を試みた。

4. 研究成果

4-1 ヒトMFに対する6-MPの効果



・ヒトMFへの6-MP刺激は通常コラーゲン産生を増強させたが、TGF- β 刺激下でのコラーゲン産生は高濃度で抑制した。しかしIL-6やPDGF-BB刺激下での影響は見られなかった。



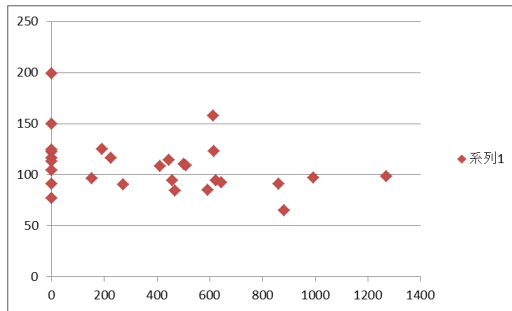
・ヒトMFに対しPDGF-BBは増殖を刺激するが、6-MPは濃度依存的に増殖を抑制した。

4-2 クロウン病患者血清における 6-TGN 濃度と 4 型コラーゲン、ヒアルロン酸、TGF- β 濃度との相関

クローン病患者 28 例において小腸内視鏡を行い、うち 10 例が狭窄ありで 18 例が狭窄は見られなかった。

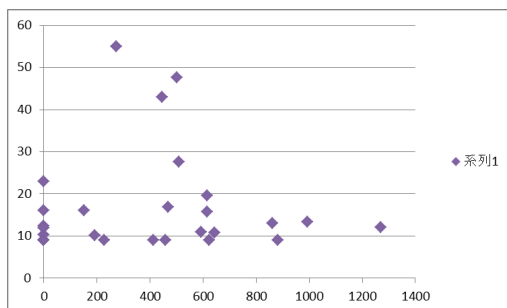
患者血清より線維化マーカーを測定した。また、17 例が 6-MP (アザチオプリンまたはロイケリン酸) が投与されており、6-TGN 濃度を測定した。

6 TGN 濃度と 4 型コラーゲン



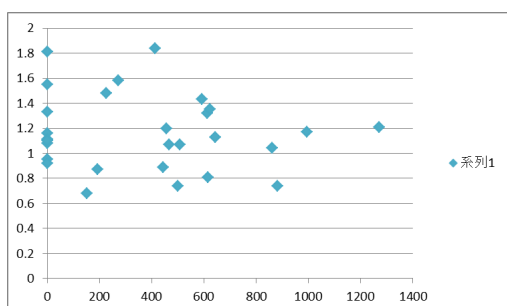
6 TGN が 800pmol/8x10⁸RBC 以上の 4 例では 100ng/ml に低下していたが、明らかな相関は見られなかった。

6 TGN 濃度とヒアルロン酸



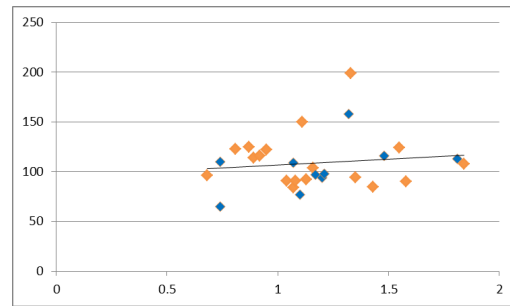
6 TGN 濃度が 800pmol/8x10⁸RBC 以上の 4 例ではすべてヒアルロン酸は 15ng/ml 以下を示したが、症例のばらつきが大きく一定の傾向は得られなかった。

6 TGN 濃度と TGF- β



やはり 6 TGN 濃度が 800pmol/8x10⁸RBC 以上の 4 例では 1.2ng/ml 以下を示したが、同様にばらつきが大きく相関は見られなかった。

TGF- β 濃度と 4 型コラーゲン



TGF- β 濃度と 4 型コラーゲンには弱いながら相関が見られた。ただし、青字に示す狭窄症例では必ずしも TGF- β 濃度や 4 型コラーゲン濃度高くなく、一定の傾向は見られなかった。

結論

基礎的検討ではヒト筋繊維芽細胞は 6-MP 濃度が高いほど増殖抑制やコラーゲン産生抑制が見られたが、血液中の 6-TGN (6-MP 代謝産物) 濃度と血清中の線維化マーカーとの相関が見られなかった。また、狭窄症例での血清線維化マーカーに一定の傾向は見られなかった。

以上より、クローン病症例での狭窄を来し易いか否かは、血液中の線維化マーカー測定ではでは予想が困難と考えられた。また、6-MP 投与による線維化抑制は高濃度で、見られる可能性は示されたが、症例が少なく結論づけることは困難であった。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1) 研究代表者

辻川 知之(TSUJIKAWA, Tomoyuki)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号：80273407

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：