

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460948

研究課題名(和文) IL-22産生を介した小腸粘膜防御機構の制御：IELとIECのクロストーク

研究課題名(英文) Control of intestinal mucosal defense system through IL-22 production: Crosstalk between IEL and IEC

研究代表者

杉本 健 (Sugimoto, Ken)

浜松医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20529507

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：IL-22は腸管粘膜のバリア機構を増強し、炎症反応制御に深く関与していることは知られているが小腸における難治性潰瘍性病変の粘膜防御機構に関与しているかどうかは不明であった。我々はマウスより単離したIELがIL-22を産生し、小腸上皮細胞に作用しSTAT3が活性化されることを確認した。また、小腸でのIL-22産生調節機構と小腸上皮細胞に対する粘膜防御機構への関与を検討するため、インドメタシン誘発性マウス小腸傷害モデルに用いて、IELの産生するIL-22がインドメタシンによる小腸の粘膜障害を改善させられるかどうかを検討した。

研究成果の概要(英文)：It is well known that IL-22 enhances the barrier mechanism of intestinal mucosa and is deeply involved in inflammatory response control, but it is not known whether it is involved in the mucosal defense mechanism of intractable ulcerative lesions in the small intestine. We confirmed that IEL isolated from mouse produces IL-22 and activates STAT 3 of small intestinal epithelial cells. In addition, in order to investigate the regulatory mechanism of IL-22 production in the small intestine and involvement in the mucosal defense mechanism against small intestinal epithelial cells, it was investigated whether IL-22 produced by IEL could improve mucosal damage of the small intestine induced by indomethacin by using the indomethacin-induced small intestine injury mouse model.

研究分野：消化器内科学

キーワード：IL-22 IEL

1. 研究開始当初の背景

申請者は IL-22 が大腸の粘膜防御機能を増強することにより腸炎を改善させることを報告した (Sugimoto K, *J Clin Invest*, 2008) が、小腸粘膜に対する IL-22 の粘膜防御機構についてはまだ知られていない。また小腸粘膜に存在する腸管上皮間リンパ球 (Intraepithelial lymphocyte: IEL) の IL-22 産生能や制御機構についても未解明のままである。これら小腸での IL-22 産生調節機構と小腸上皮細胞 (Intestinal epithelial cell: IEC) に対する粘膜防御機構への関与を明らかにすることで、クローン病や NSAIDs/アスピリン起因性小腸潰瘍等の難治性小腸潰瘍性病変の治療法の確立に大きく寄与するものと考えられた。

2. 研究の目的

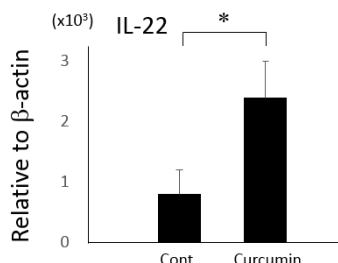
本研究では、小腸粘膜に対する IL-22 の防御的効果を明らかにする。すなわち *ex vivo* において IL-22 刺激による IEC が粘膜防御機構に関わるような分子生物学的反応 (STAT3 活性化等) を誘導できるかどうか。IEL に IL-22 の産生を誘導できるかどうか。IEL より産生される IL-22 と IEC との相互反応により innate immunity の増強がみられるか。さらに *in vivo* にいて マウス小腸での IL-22 産生あるいは刺激により、小腸の粘膜傷害が改善させられるかどうかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

IL-22 によるマウス小腸 IEC の分子生物学的反応の解析
 IEL の IL-22 産生能および制御機構の解析
 小腸粘膜局所での IL-22 強制発現、IEL の IL-22 発現誘導がマウス実験小腸潰瘍へ及ぼす変化の解析

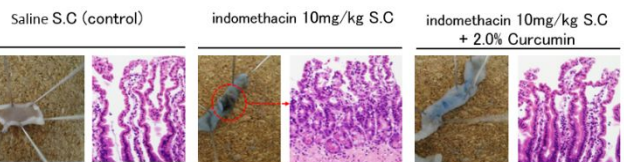
4. 研究成果

マウスより小腸粘膜を単離し、*ex vivo* において IL-22 の刺激で小腸粘膜の STAT3 が活性化されることを Western blot 法を用いて確認した。マウスより IEL を単離し、RNA レベルでの IL-22 の産生を確認した。さらに、IL-22 の発現に重要であるとされる芳香族炭化水素受容体 (Aryl Hydrocarbon Receptor: AhR) の activator として知られている curcumin で *ex vivo* で刺激



したところ IEL による IL-22 産生のさらなる増強がみられた。

小腸での IL-22 産生調節機構と小腸上皮細胞に対する粘膜防御機構への *in vivo* における関与を検討するため、インドメタシン誘発性マウス小腸傷害モデルの系を確立した。当初はこのモデルを用い遺伝子発現ベクターを用いて小腸粘膜局所に IL-22 を強制発現させることにより、小腸の粘膜障害が改善させられるかどうかを明らかにしていく予定であった。以前我々はマウス大腸粘膜へのベクターの transfection には成功しているが (Sugimoto K, *J Clin Invest*, 2008)、マウス小腸粘膜へ microinjection は大腸に比べて手技的に非常に困難であり、小腸粘膜においては mock ベクターに比較して有意な IL-22 の発現増加は得られなかった。このため、インドメタシン腸炎への IL-22 ベクター投与は断念し、その代わりに *ex vivo* にて IL-22 産生増強を確認できた Curcumin をこれらのマウスに経口投与した。まだ数匹ずつの検討しかできていないため統計的な検討はできていないが、数回の検討では Curcumin 投与マウスでは Control に比較してインドメタシン腸炎の改善がみられた。今後はさらに n 数を増やして、Curcumin の *in vivo* における IEL に対する IL-22 産生増強作用、および IEC の STAT3 活性化作用についてもさらに検討をしていく予定である。



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 16 件)

Oishi S, Osawa S, Sugimoto K, et al. (計 14 人, 11 番目, 14 番目) 査読有: M2 polarization of murine peritoneal macrophages induces regulatory cytokine production and suppresses T-cell proliferation. *Immunology*, 149: 320-328, 2016.

DOI: 10.1111/imm.12647.

Kagami T, Sugimoto K, et al. (計 8 人, 7 番目) 査読有: Potent acid inhibition by vonoprazan in comparison with

esomeprazole, with reference to CYP2C19 genotype. *Aliment Pharmacol Ther*, 43: 1048-59, 2016.

DOI: 10.1111/apt.13588.

Ichikawa H, Sugimoto K, et al. (計 5 人, 3 番目) 査読有: Rapid metabolizer genotype of CYP2C19 is a risk factor of being refractory to proton pump inhibitor therapy for reflux esophagitis. *J Gastroenterol Hepatol*, 31: 716-26, 2016.

DOI: 10.1111/jgh.13233.

Sugimoto K, Osawa S, et al. (計 12 人, 1 番目, 12 番目) 査読有: An Increased Serum N-Terminal Telopeptide of Type I Collagen, a Biochemical Marker of Increased Bone Resorption, Is Associated with Infliximab Therapy in Patients with Crohn's Disease. *Dig Dis Sci*, 61: 99-106, 2016.

DOI: 10.1007/s10620-015-3838-y.

Ikeya K, Sugimoto K, Osawa S, et al. (計 8 人, 3 番目, 4 番目) 査読有: The Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity More Accurately Reflects Clinical Outcomes and Long-term Prognosis than the Mayo Endoscopic Score. *J Crohns Colitis*, 10: 286-95, 2016.

DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv210.

Kagami T, Osawa S, Sugimoto K, et al. (計 12 人, 9 番目, 10 番目) 査読有: One-day front-loading with four doses of rabeprazole followed by a standard twice-daily regimen provides sufficient acid inhibition in extensive metabolizers of CYP2C19. *Eur J Clin Pharmacol*, 71: 1467-75, 2015.

DOI: 10.1007/s00228-015-1941-9.

Sahara S, Osawa S, Sugimoto K, et al.

(計 12 人, 9 番目, 10 番目) 査読有: Potent Gastric Acid Inhibition Over 24 Hours by 4-Times Daily Dosing of Esomeprazole 20 mg. *Digestion*, 91: 277-85, 2015.

DOI: 10.1159/000381419.

Ikeya K, Sugimoto K, et al. (計 7 人, 2 番目) Tacrolimus for remission induction in ulcerative colitis: Mayo endoscopic subscore 0 and 1 predict long-term prognosis. *Dig Liver Dis*, 47: 365-71, 2015.

DOI: 10.1007/s10620-015-3838-y.

Ichikawa H, Osawa S, Sugimoto K, et al. (計 12 人, 8 番目, 9 番目) 査読有: Influence of Prostate Stem Cell Antigen Gene Polymorphisms on Susceptibility to Helicobacter pylori-associated Diseases: A Case-control Study. *Helicobacter*, 2:106-103, 2015.

DOI: 10.1111/hel.12183.

Yamada T, Osawa S, Sugimoto K, et al. (計 8 人, 2 番目, 2 番目) 査読有: Guggulsterone, a plant-derived inhibitor of NF-TB, suppresses CDX2 and COX-2 expression and reduces the viability of esophageal adenocarcinoma cells. *Digestion*, 90: 208-217, 2014.

DOI: 10.1159/000365750.

Terai T, Osawa S, Sugimoto K, et al. (計 11 人, 2 番目, 11 番目) 査読有: Induction of murine TNBS colitis is strictly controlled by a modified method using continuous inhalation anesthesia with sevoflurane. *Dig Dis Sci*, 59: 1415-1427, 2014.

DOI: 10.1007/s10620-013-3023-0

Furuta T, Osawa S, Sugimoto K, et al.

(計 13 人, 10 番目, 11 番目) 査読有 :
Sifaxacin-based third-line rescue regimens for Helicobacter pylori infection in Japan. J Gastroenterol Hepatol, 29: 487-493, 2014.

DOI: 10.1111/jgh.12442

Furuta T, Osawa S, Sugimoto K, et al. (計 11 人, 8 番目, 9 番目) 査読有 : Effect of dosing schemes of amoxicillin on eradication rates of Helicobacter pylori with amoxicillin-based triple therapy. J Clin Pharmacol, 54: 258-266, 2014.

DOI: 10.1002/jcph.195

Sahara S, Osawa S, Sugimoto K, et al. (計 12 人, 8 番目, 9 番目) 査読有 : Twice-daily dosing of esomeprazole effectively inhibits acid secretion in CYP2C19 rapid metabolisers compared with twice-daily omeprazole, rabeprazole or lansoprazole. Aliment Pharmacol Ther, 38: 1129-1137, 2013.

DOI: 10.1111/apt.12492.

Iida T, Sugimoto K, et al. (計 9 人, 8 番目) 査読有 : Looking for endoscopic features of cytomegalovirus colitis: a study of 187 patients with active ulcerative colitis, positive and negative for cytomegalovirus. Inflamm Bowel Dis, 19: 1156-1163, 2013.

DOI: 10.1097/MIB.0b013e31828075ce

Hanai H, Sugimoto K, et al. (計 8 人, 7 番目) 査読有 : A new paradigm in ulcerative colitis: regulatory T cells are key factor which induces/exacerbates UC through an immune imbalance. Mol Immunol, 54: 173-180, 2013.

DOI: 10.1016/j.molimm.2012.11.015.

[学会発表](計 6 件)

IBD 治療戦略における HUMIRA の位置

付け - 長期有効性と安全性から見えてきたもの - .

JDDW2015 ブレックファストセミナー
- 杉本健 2015 年 10 月 7 日東京
IBD 治療戦略における内視鏡の役割 潰瘍性大腸炎における UCEIS を用いた中長期予後予測と治療効果評価法の検討
池谷賢太郎、杉本健、他 第 89 回日本消化器内視鏡学会総会 2015 年 5 月 29 日名古屋

UCEIS は治療効果予測、手術予測、再燃予測因子となりうるか? ~ 潰瘍性大腸炎に対する Tacrolimus 治療症例からの検討
池谷賢太郎、杉本健、他 2014 年 10 月 25 日神戸

人工肛門を有するクローン病患者に対する疾患活動性の評価を内科的にどう行うか? ~ Modified CDAI の有用性に関する検討 ~ 杉本健、他 第 56 回日本消化器病学会大会 2014 年 10 月 23 日神戸

左手の空間的位置を意識させた上部消化管内視鏡操作習得法の試み - シミュレーターを用いた内視鏡トレーニング - 杉本健、他 第 87 回日本消化器内視鏡学会総会 2014 年 5 月 17 日博多

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 健 (KEN SUGIMOTO)

浜松医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 20529507

(2) 研究分担者

大澤 恵 (SATOSHI OSAWA)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10397391

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
()