

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790959

研究課題名 (和文) 小腸移植におけるバクテリアルトランスロケーションの防止と  
小腸免疫システムの研究研究課題名 (英文) Prevention of bacterial translocation in small bowel transplantation  
and study for immune system of small intestine.

研究代表者：東島 潤 (HIGASHIJIMA JUN)

徳島大学・医学部・歯学部附属病院・医員

研究者番号：30467815

研究成果の概要 (和文)：

【目的】小腸虚血再灌流モデルによる小腸粘膜障害に対する Geranylgeranylacetone (GGA) の予防効果の検討。【方法】Wistar 系雄性ラットを使用。非投与群(n=4)：vehicle を虚血 4 時間前に 1 回経口投与。投与群(n=4)：GGA を虚血 4 時間前に 1 回経口投与(100mg/kg)。小腸虚血再灌流は上腸間膜動脈根部を 40 分間クランプ。再灌流後 60 分後で血中サイトカインを RT-PCR で測定。粘膜障害を HSP70 免疫染色で比較検討。【結果】投与群で血中炎症性サイトカイン IL-1 (GGA vs cont :  $1.78 \pm 0.90$  vs  $0.92 \pm 0.21$ ,  $p < 0.05$ )、IL-6 (GGA vs cont :  $78.5 \pm 40.0$  vs  $8.6 \pm 5.1$ ,  $p < 0.05$ ) が有意に低下。Inf- $\gamma$ , Caspase 3, TNF- $\alpha$  は有意な変化は認めなかった。投与群で転写因子 egr-1 が有意に低下(GGA vs cont :  $2.02 \pm 1.20$  vs  $0.44 \pm 0.28$ ,  $p < 0.05$ )。投与群は小腸粘膜 HSP70 を過剰発現させ、粘膜障害を軽減。【結語】GGA 誘導 HSP はラット小腸虚血再灌流モデルにおいて Egr-1 の発現を抑制、炎症性サイトカインの上昇を抑制し、粘膜障害を軽減した。

研究成果の概要 (英文)：

【Background】The purpose of this study was to clarify the effect of GGA to prevent the ischemia-reperfusion injury in the small intestine. 【Methods】1, Male Wistar rats were divided into two groups. Control group(n=4), was administered a vehicle 4 hour before ischemic condition. GGA group(n=4) was administered GGA (100mg/kg) 4 hour before ischemic condition. Ischemia-reperfusion injury in the small intestine was induced by 40 minute clamping of the root of superior mesenteric artery. After 60 minute reperfusion, cytokines in the blood were measured by RT-PCR. And the extent of damage of the mucosa was evaluated by immunohistochemical stain of HSP70.

【Results】IL-1 was significantly lower in GGA group than control group (GGA vs cont :  $1.78 \pm 0.90$  vs  $0.92 \pm 0.21$ ,  $p < 0.05$ ). IL-6 was significantly lower in GGA group than control group (GGA vs cont :  $78.5 \pm 40.0$  vs  $8.6 \pm 5.1$ ,  $p < 0.05$ ). INF- $\gamma$ , Caspase 3 and TNF- $\alpha$  showed no significant changes. Egr-1 was significantly lower in GGA group than control group (GGA vs cont :  $2.02 \pm 1.20$  vs  $0.44 \pm 0.28$ ,  $p < 0.05$ ). HSP70 was overexpressed in the GGA group. 【Conclusion】HSP induced by GGA suppressed expressions of Egr-1 and inflammatory cytokines, produced by ischemia-reperfusion injury of small intestine.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：小腸虚血再灌流傷害，バクテリアルトランスロケーション  
小腸粘膜損傷、炎症性サイトカイン、egr-1



## 1. 研究開始当初の背景

短腸症候群 (short bowel syndrome: SBS) は小腸の広範な切除によって引き起こされる症候群で、下痢、脂肪便、体重減少、肝機能障害など様々な重篤な臨床症状を引き起こす。近年、このような腸管不全症に対して静脈栄養により長期生存が可能になったが、通常の食生活を享受し得ないばかりか、長期の静脈栄養によるカテーテル敗血症や、胆汁鬱滞性肝硬変などの重篤な肝障害を惹起し、TPN の継続が困難なことがある。また、SBS 患者においては腸内細菌叢におけるグラム陰性菌の増殖と、バクテリアルトランスロケーション (BT) の亢進が報告されている。さらに SBS 患者の門脈血中においてはバクテリアのみならず、エンドトキシンであるリポ多糖が増加するエンドトキシントランスロケーションが惹起され、SBS 起因性肝障害の一因になっているばかりでなく予後を左右する重要な因子の一つである。このような可能な限りの内科的及び外科的治療にも拘らず静脈栄養から離脱出来ない不可逆性小腸不全患者で、1) 大血管系の血栓症などのために静脈栄養カテーテルの維持が困難、2) 重篤なカテーテル留置で頻回に繰返す敗血症、3) 血清ビリルビン値高値持続と進行する肝臓障害で、原則として 60 歳以下の症例に対して小腸移植は有効な治療である。

小腸は外界と直接接触する臓器で、リンパ組織が豊富なため、拒絶反応が起こりやすい。このため、大量の免疫抑制剤を必要とする。しかし、このような非特異的免疫抑制剤の使用は重症感染症、PTLD、二次的悪性腫瘍の発症の危険性が增大する。また腸内細菌が存在するために、感染症が容易に引き起こされる点だが、小腸移植の最も克服すべき重要事項である。

## 2. 研究の目的

【背景・目的】小腸移植における虚血再灌流傷害では、腸管粘膜傷害やそれに引き続くバクテリアルトランスロケーション (BT) の亢進は重要な予後因子である。Geranylgeranylacetone (GGA) は肝虚血再灌流傷害を軽減することが知られている。本研究では小腸虚血再灌流モデルを用いて小腸粘膜障害に対する GGA の小腸粘膜障害に対する予防効果を実験検討した。

【方法】実験 1. Wistar 系雄性ラット (n=8) を 2 群に分けた。非投与群 (n=4) : vehicle を小腸虚血 4 時間前に 1 回経口投与。GGA 投与群 (n=4) : GGA を小腸虚血 4 時間前に 1 回経口投与。小腸虚血再灌流は上腸間膜動脈根部を血管クリップで 40 分間クランプし、クランプを解除した。検討項目 : 再灌流後 60 分後で血中サイトカイン

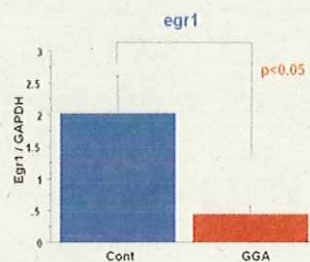
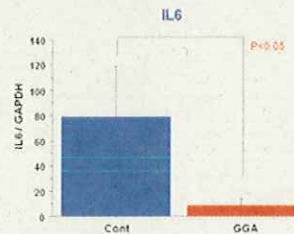
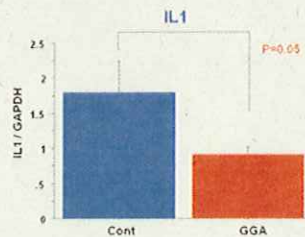
(IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, INF- $\gamma$ , Caspase 3, TNF- $\alpha$ , Egr-1) を RT-PCR で測定した。また粘膜障害程度を HSP70 免疫染色で比較検討した。

## 3. 研究の方法

6 週齢の Wistar Male Rat を使用。小腸虚血再灌流モデルは開腹し、SMA 根部でクランプ (40 分)、再灌流 60 分施行し、Control 群 (n=4)、GGA 投与群 (100 mg/kg) (n=4) の 2 群に分け、採血施行。また粘膜障害程度を HSP70 免疫染色で比較検討した。

## 4. 研究成果

GGA 投与群で血中炎症性サイトカイン IL-1、IL-6 が有意に低下した。Inf- $\gamma$ 、Caspase3、TNF- $\alpha$  は有意な変化は認めなかった。GGA 投与群で転写因子 Egr-1 が有意に低下していた。GGA 投与群は HSP70 を過剰発現させ、虚血、再灌流での粘膜障害を軽減していた。







## 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7件)

1, Yoshikawa K, Shimada M, Miyamoto H, Higashijima J, Miyatani T, Nishioka M, Kurita N, Iwata T, Uehara H.

Sonic hedgehog relates to colorectal carcinogenesis.

*J Gastroenterol.* 2009;44(11):1113-7.

(査読有り)

2, Higashijima J, Shimada M, Chikakiyo M, Miyatani T, Yoshikawa K, Nishioka M, Iwata T, Kurita N.

Effect of splenectomy on antitumor immune system in mice.

*Anticancer Res.* 2009 Jan;29(1):385-93.

(査読有り)

3, Yoshikawa K, Hiki N, Fukunaga T, Tokunaga M, Yamamoto Y, Miki A, Ogawa K, Higashijima J, Ohyama S, Seto Y, Shimada M, Yamaguchi T.

Increased risk of lymph node metastasis in mucosal gastric cancer with extra indication for endoscopic mucosal resection.

*J Am Coll Surg.* 2009 Jun;208(6):1045-50.

(査読有り)

4, Yoshikawa K, Kurita N, Higashijima J, Miyatani T, Miyamoto H, Nishioka M, Shimada M

Kampo medicine "Dai-kenchu-to" prevents bacterial translocation in rats.

*Dig Dis Sci.* 2008 Jul;53(7):1824-31

(査読有り)

5, Ogasawara T, Morine Y, Ikemoto T, Imura S, Shimada M

Beneficial effects of Kampo medicine Inchin-ko-to on liver function and regeneration after hepatectomy in rats.

*Hepatol Res.* 2008 Aug;38(8):818-24

(査読有り)

6, Ogasawara T, Morine Y, Ikemoto T, Imura S, Fujii M, Soejima Y, Shimada M

Influence of Dai-kenchu-to (DKT) on human portal blood flow.

*Hepatogastroenterology.*

2008 Mar-Apr;55(82-83):574-7.

7, Kurita N, Shimada M, Chikakiyo M, Higashijima J, Yoshikawa K, Miyamoto H, Nishioka M, Iwata T.

Does Roux-en-Y reconstruction with jejunal pouch after total gastrectomy prevent complications of postgastrectomy?

*Hepatogastroenterology.* 2008 55:1851-4

(査読有り)

[学会発表] (計2件)

1. 第46回日本癌治療学会総会

平成20年10月31日-11月1日、ワークショップ

近清素也、島田光生、小松正人、中尾寿宏、宮谷知彦、東島潤、吉川幸造、西岡将規、岩田貴、栗田信浩

「CPT-11による腸管粘膜障害と大建中湯の予防効果」

2. 第108回日本外科学会定期学術集会

平成20年5月15日、一般講演

小松正人、岩田貴、近清素也、吉川幸造、東島潤、西岡将規、栗田信浩、島田光生

「ラット小腸虚血再灌流傷害に対する Geranylgeranylacetone (GGA) 誘導 heat shock protein (HSP) の軽減効果の検討」

[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

東島潤 (HIGASHIJIMA JUN)

徳島大学・医学部・歯学部附属病院・医員

研究者番号: 30467815

(2)研究分担者

(3)連携研究者

島田 光生 (SHIMADA MITSUO)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・教授  
研究者番号：10216070