

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：34519

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659805

研究課題名(和文) 高度侵襲時における腸管機能不全の免疫学的機序解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Analysis of Functional Bowel Disorder and Development of New Treatments

研究代表者

前山 義博 (MAEYAMA, YOSHIHIRO)

兵庫医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：80614031

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：手術・外傷時などで、患者に発生することがある腸管機能不全に対し、自然免疫細胞(新しく発見された T細胞のアクセサリー細胞であるCD56brightCD11cpositive細胞を中心に)の血液細胞の解析を行うことによる、機序解明・新規治療法の開発を目指して研究を行った。健康成人男性をコントロールとして担癌患者の血液検体を用い、IL-18、ゾレドロネート刺激によるCD56brightCD11cpositive細胞および T細胞の細胞数を解析した。担癌患者においては、刺激前より細胞数が増加している場合もあり、侵襲による血中細胞数の増加が考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have analyzed CD56brightCD11c positive cells and gamma delta T cells on normal healthy donors and cancer patients. The number of CD56brightCD11c positive cells and gamma delta T cells from some cancer patients had already increased and did not have responses to ZOL and IL-18.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：腸管機能不全 CD56brightCD11c positive T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

高度な侵襲が加わった生体では強い免疫防御システムが機能し、生体内で動員された細胞やサイトカインなど液性因子により自己組織破壊を起こし、急性肺障害、急性腎障害などの他、消化管機能不全や消化管出血を引き起こす事があり、その死亡率は高い (Reintam et al. Crit Care. 435, 90-97, 2008)。

(ガンマデルタ) T 細胞は腸管に多く分布し、MHC 非拘束性に外来抗原やストレス蛋白を発現した自己細胞を認識し、細胞障害性に働くことが知られている。常に外来抗原に曝されている腸管粘膜において、T 細胞は生体防御や腸粘膜細胞の更新の観点から極めて重要な働きをしている。我々は、インターロイキン(IL)-18依存的に T 細胞の増殖を促進・活性化させる新しい免疫細胞 CD56brightCD11c+細胞を最近発見し報告した (J Immunol. 186, 2003-12, 2011)。

以上の学術的背景ならびに予備実験の結果を踏まえて、我々は腸管における

“CD56brightCD11c+ - T 制御機構” が、高度侵襲時の高サイトカイン血症に伴う自己破壊機序に関与することで、T 細胞を通じて腸管に機能不全や出血などを引き起こす一因になっていると推測するに至った。

## 2. 研究の目的

高度侵襲時の腸管機能不全や腸管出血は重篤で、その機序も未だ解明されていないため、有効な治療法が存在しない。血中や腸管には多くの強力な免疫細胞が存在し、生体防御と恒常性維持に関わっている。自然免疫系の

T細胞はその一つで、自己細胞障害性に機能することで腸管粘膜の更新にも関わっている。最近我々は、T細胞を活性化する新しい免疫細胞 (CD56<sup>bright</sup>CD11c<sup>+</sup>細胞) を発見・同定した。本研究では、腸管における “細胞X - CD56<sup>bright</sup>CD11c<sup>+</sup> - T制御機構” を解析し、その破綻が高度侵襲時の消化管機能不全や組

織破壊による消化管出血の発生に関与するという新説提唱を目指した。

## 3. 研究の方法

高侵襲マウスモデル、ヒト臨床検体を用いて腸管組織および末梢血の解析を行い、侵襲時の腸管組織破壊における “CD56brightCD11c+ - T 制御系” 破綻の関与を解析する。

まず、“CD56brightCD11c+ - T 制御系” の解析のため

(1) 高度侵襲マウスモデルの作製および血中、組織内の T細胞と腸管組織破壊の解析 (フローサイトメトリー法、組織染色による方法)、

(2) 高度侵襲マウス腸管における “CD56brightCD11c+ - T 制御系” の解析を行う。

(3) ヒト患者検体の解析を行う。

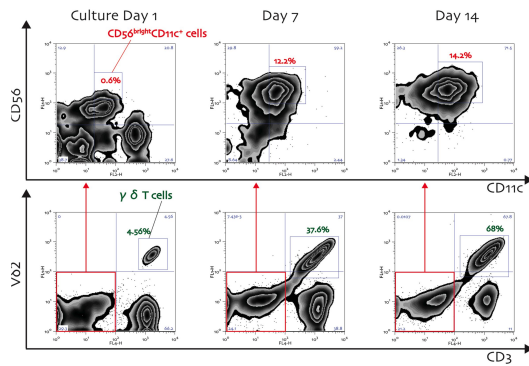
## 4. 研究成果

(1)(2) 高侵襲マウスモデルは、研究分担者の共同研究者より、腹腔内 LPS 投与後のマウス腸管の提供を受けることが出来たため、組織解析を行った。

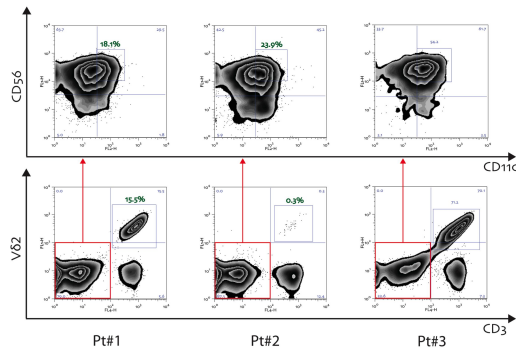
コントロールと比較して腸管壁の菲薄化が認められたが、輝度の違いを示すことが出来る適切な抗マウス抗体がなかったため、腸管壁に存在する免疫細胞の染色は行っていない。

(3) ヒト血液検体を用いて、フローサイトメトリー法で解析を行った。

健常ヒト検体では、刺激前に CD56<sup>bright</sup>CD11c<sup>+</sup>細胞は、ほぼ認めなかったが、IL-18, ZOL 刺激にて T 細胞とともに増加が認められた。



がんによる侵襲が加わっている患者検体では、ZOL, IL-18 刺激前より CD56<sup>bright</sup>CD11c<sup>+</sup>細胞、および T 細胞の増殖を認められる検体もあり、それらでは ZOL, IL-18 刺激による増殖は認められなかった。



今後は血液検体を増やすと共に、切除腸管の組織検体における免疫細胞の局在を解析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)

1. Inhibition of CCL20 increases mortality in models of mouse sepsis with intestinal apoptosis.  
Kitagawa Y1, Kikuchi S, Arita Y, Nishimura M, Mizuno K, Ogasawara H, Kawano T, Ochiai T, Otsuji E, Imai T. Surgery. 154(1) 2013 78-88, DOI: 10.1016/j.surg.2013.02.012. (査読あり)

[学会発表](計 3件)

1. Analysis of gamma delta T cell and its accessory cells in cancer patients.  
 日本分子生物学会 2013.12.3, 神戸  
 前山義博
2. がん関連線維芽細胞が胃がん細胞の移動に与える影響の解析  
 日本癌学会 2013.10.5, 札幌  
 前山義博

3. Cancer-Associated Fibroblasts Promote Migration of Gastric Cancer Cells  
 International Gastric Cancer Congress 2013.6.22, Verona  
 Y.Maeyama

[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

前山 義博 (MAEYAMA, Yoshihiro)  
兵庫医科大学・医学部・非常勤講師  
研究者番号：80614031

(2) 研究分担者

菊池 正二郎 (KIKUCHI, Shojiro)  
兵庫医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：70381960

(3) 研究分担者

石川 岳彦 (ISHIKAWA, Takehiko)  
北海道大学・医学部・講師  
研究者番号：70280849

(4) 研究分担者

岡村春樹 (OKAMURA, Haruki)  
兵庫医科大学・医学部・特任教授  
研究者番号：60111043

(5) 研究分担者

久保秀司 (KUBO, Shuji)  
兵庫医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：10441320