

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08480

研究課題名(和文) 粘膜バリア機能制御による好酸球性消化管疾患に対する新たな治療法開発

研究課題名(英文) Development of new therapy for eosinophilic gastrointestinal diseases targeting the regulation of mucosal barrier

研究代表者

大島 忠之(Oshima, Tadayuki)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00381814

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：好酸球性食道炎の食道粘膜生検組織を用いて粘膜上皮のバリア機能を検討し、食道粘膜で有意にヒオチンの透過性が亢進し、治療後において好酸球浸潤が改善後に透過性の亢進が残存する群と透過性が改善する群があることが明らかとなった。また、透過性亢進が残存する群では肥満細胞の浸潤がみられ、粘膜内にIgG4がみられることが明らかとなった。一方、CAPN14, filaggrin, eotaxin-3などの発現は、好酸球浸潤が改善すると共に改善することが明らかとなった。好酸球浸潤が改善後も粘膜透過性の亢進が残存する群で肥満細胞浸潤とIgG4がみられ、完全に粘膜治癒が得られていない状況を反映していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性食道炎は希少疾患であるが、最近日本においても増加傾向にあり、その病態は不明な点が多い。完全に食道の炎症が改善していない状況で治療を中断すると再度炎症が発生して症状に悩まされることになる。これまで食道粘膜内の好酸球浸潤が改善することで治癒判定がなされているが、好酸球浸潤が改善したあとも食道粘膜の透過性が上昇し、肥満細胞浸潤が見られることが明らかとなり、今後治療の判定方法を再考する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Esophageal epithelial barrier function, and mast cell infiltration, as well as chemokine levels in eosinophilic esophagitis (EoE) patients before and after treatment were evaluate. Esophageal Epithelial infiltration of mast cells, and permeability were increased in EoE patients. Levels of IL-13, calpain-14, and eotaxin-3 mRNAs were upregulated, while filaggrin, SPINK7, and involucrin mRNAs were downregulated in EoE patients. In patients achieving histologic remission diagnosed by eosinophil counts, a subset of EoE patients with unchanged permeability after treatment showed increased mast cell infiltration, IL-13, calpain-14, filaggrin and SPINK7 with decreased eotaxin-3 and involucrin. Other EoE patients with decreased permeability displayed decreased eotaxin-3, and mast cell infiltration, and increased, filaggrin, and SPINK7. Increased permeability of the esophagus in EoE patients without eosinophil infiltration after treatment was associated with mast cell infiltration.

研究分野：消化器内科

キーワード：好酸球性消化管疾患 細胞間接着装置 タイト結合 クローディン

1. 研究開始当初の背景

消化管粘膜は強固なバリア機能を有し消化管の内腔は内なる外の環境であり、ひとたび消化管粘膜のバリアが破綻すれば、炎症性疾患など多くの疾患が引き起こされる。この消化管のバリア機能を担う分子の発現パターンと機能については依然として不明な点が多い。さらに好酸球性食道炎の病態および治療は、未だに確立されておらず、副腎皮質ステロイドによる炎症および症状の制御が行われているのが現状で、長期使用による副作用が問題となる。一方、粘膜上皮のバリア機能を制御することで外来抗原の曝露および炎症の持続を制御することができれば好酸球性消化管疾患を含む慢性炎症性疾患を制御することが可能になると考えられる。

申請者らはこれまでに消化管各臓器粘膜および粘膜層でクローディンを含むタイト結合蛋白の発現パターンが異なり(図1)、それぞれの発現と機能を別に考える必要があり、タイト結合に相当する部位でのバリア機能を評価することが必要であることを提唱している(Oshima, Miwa. J Gastroenterol 2018)。

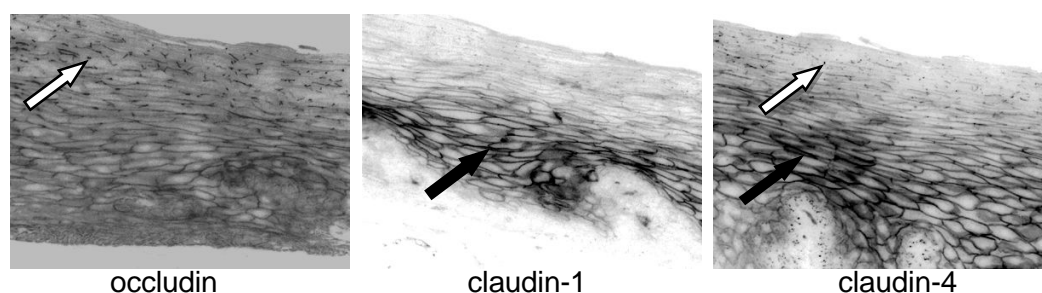


図1. ヒト食道粘膜上皮層におけるタイト結合蛋白の発現パターン
白矢印：トッド状発現，黒矢印：線状発現

in vitro では食道扁平上皮細胞層を独自に開発し、胸やけ症状発現に關与する酸や胆汁酸の逆流によって食道粘膜上皮のバリア機能が変化し、タイト結合蛋白の局在が変化し、慢性炎症および症状発現にかかわる可能性を報告している(Oshima et al. Lab Invest 2012, Oshima et al. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2012)。さらに申請者らは基礎的な検討で有棘層や基底層ではタイト結合蛋白が細胞表面に線状に発現しているにもかかわらず、これらの層にバリア機能がないことを明らかとした(Chen, Oshima et al. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2012)。しかし、これまでバリア機能にかかわると考えられる顆粒層におけるタイト結合蛋白の発現様式(図1. ドット状発現)やバリア機能にかかわらない有棘層と基底層でのタイト結合蛋白の発現(図1. 線状発現)の意義は、全く明らかとなっていない。さらに種々の病態でこの各層がどのように変化しているかも明らかでない。

2. 研究の目的

これまで食道粘膜上皮層内で顆粒層、有棘層、基底層の各層のバリア機能が異なる可能性を申請者は指摘しているが、全くこの着想による研究は行われて

いなかった．さらにこの各層が好酸球性食道炎の病態にどのようにかかわっているかも全く明らかとなっていない．食道上皮粘膜層のバリア機能と上皮由来の免疫応答を解析し，好酸球性食道炎の粘膜バリア機能の破綻と治療による変化を明らかにし，好酸球性消化管疾患における粘膜バリア機構の破綻とその制御を明らかとすることを目的とした．

3. 研究の方法

(1) 好酸球性食道炎患者の食道粘膜生検

食道粘膜の異常を認めない健常者と好酸球性食道炎患者の食道粘膜（中部食道，下部食道）から生検組織を採取する．

(2) 粘膜生検により採取した粘膜組織の染色

採取標本を用いてパラフィンブロックを作製し，好酸球（eosinophil major basic protein），肥満細胞上皮由来因子に対する特異抗体を用いて免疫組織染色を行う．それぞれの発現パターンを確認し，その好酸球性消化管疾患の罹患粘膜と非罹患粘膜における発現の相関を統計学的に解析する．

(3) real time RT-PCR による粘膜内 mRNA レベルの測定

mRNA の発現は，real-time PCR で定量的に解析する．

4. 研究成果

ヒト正常食道粘膜では，ビオチンが，基底膜側から基底層と有棘層に透過し，粘膜表層側からは顆粒層の数層まで透過し，好酸球性食道炎の食道粘膜では，このビオチンが全層にわたり透過することを明らかとした．これは正常食道粘膜では顆粒層に物質の透過を制御する層が存在することを示している（図2）（Wu, Oshima, et al. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2018）．

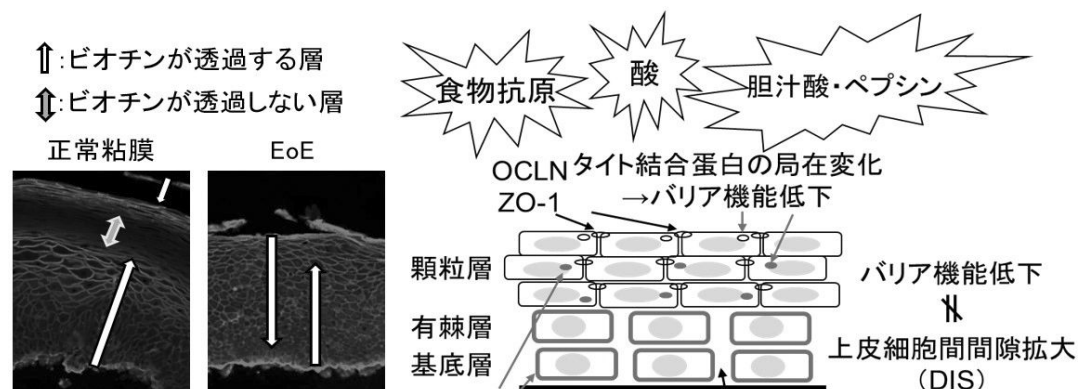


図2．食道粘膜バリア機能

さらに好酸球性食道炎の治療後には，好酸球浸潤が改善後に透過性の亢進が残存する群と透過性が改善する群があることが明らかとなった（図3）．また，透過性亢進が残存する群では肥満細胞の浸潤がみられることが明らかとなった．一方，CAPN14, filaggrin, eotaxin-3 などの mRNA 発現は，好酸球浸潤が改善すると共に改善することが明らかとなった．好酸球浸潤が改善後も粘膜透過性の亢進が残存する群で肥満細胞浸潤がみられ，完全に粘膜治癒が得られていない状況を反映しており，今後これら分子を前向き研究で評価し，不完全治

癒および再発予測のマーカを探索する必要がある。

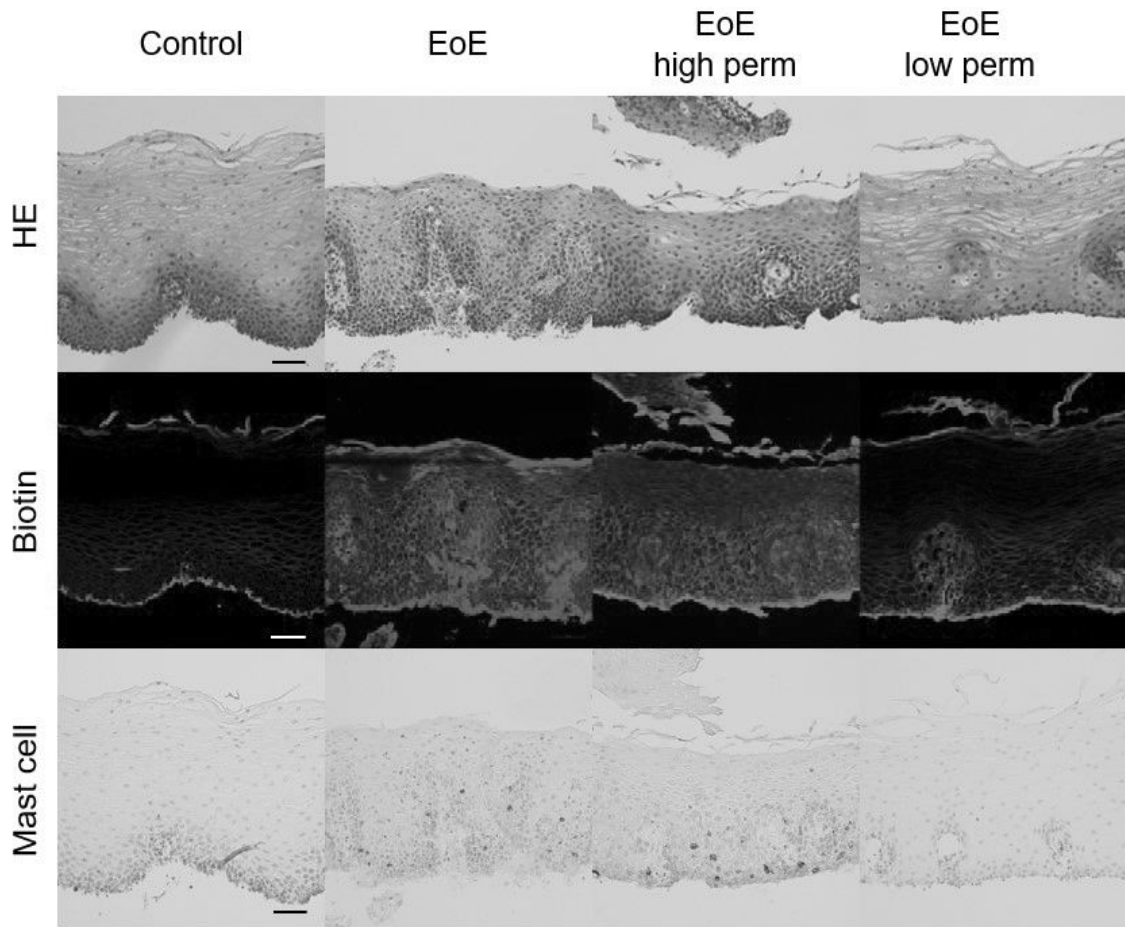


図3．好酸球性食道炎（EoE）と健常者（Control）の粘膜透過性（Biotin）と肥満細胞（Mast cell）浸潤
治療後透過性亢進群（EoE high perm），治療後透過性改善群（EoE low perm）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Min Li, Tadayuki Oshima, Hiroto Miwa
2. 発表標題 DISRUPTION OF ESOPHAGEAL EPITHELIAL BARRIER FUNCTION AND ITS CORRELATION WITH EOSINOPHIL INFILTRATION IN EOSINOPHILIC ESOPHAGITIS
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田村彰朗, 大島忠之, 李敏, 三輪洋人
2. 発表標題 好酸球性食道炎における食道粘膜透過性と好酸球浸潤の検討
3. 学会等名 日本消化器病学会近畿支部 第111回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大島忠之, 李敏, 三輪洋人
2. 発表標題 好酸球性食道炎における好酸球浸潤と食道粘膜透過性の関係
3. 学会等名 第16回日本消化管学会総会学術集会 ワークショップ1
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Junji Chen, Tadayuki Oshima, et al.
2. 発表標題 Effect of treatment on esophageal epithelial barrier function and inflammation in eosinophilic esophagitis
3. 学会等名 Asian Pacific Digestive Week (APDW) 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tadayuki Oshima
2. 発表標題 The spectrum of GERD: a new perspective
3. 学会等名 Seoul International Digestive Disease Symposium 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	福井 広一 (Fukui Hiromasa) (60378742)	兵庫医科大学・医学部・准教授 (34519)	
研究分担者	三輪 洋人 (Miwa Hiroyuki) (80190833)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------