

機関番号：14202

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590739

研究課題名 (和文) 小腸粘膜上皮の脂肪酸直接刺激によるクローン病免疫応答異常の解明

研究課題名 (英文) Elucidation of the immunoresponse by direct stimulation of fatty acid in Crohn 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

研究成果の概要 (和文)：高脂肪食摂取がクローン病悪化に直接関与していることを明らかにするため、小腸内視鏡検査時に脂肪を回腸末端に散布し、撒布前と撒布 30 分後の粘膜内サイトカイン (TNF- $\alpha$ ) を測定した。予想に反し脂肪乳剤散布後では TNF- $\alpha$  mRNA 量は低下を示す症例が多かったため、粘膜局所での免疫応答はむしろ炎症を抑制する方向に働いている可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：To make clear that a high-fat food intake involves Crohn disease aggravation directly, I scattered fat into the ileum end during small intestinal endoscopy and compared mucosal cytokine (TNF- $\alpha$ ) levels in between pre and post fat stimulation. The levels of TNF- $\alpha$  mRNA in many cases decreased after the fat stimulation, contrary to my expectation. Therefore, it was suggested that the immunoresponse in the mucosa control possibility the local inflammation in Crohn disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

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：脂肪乳剤、クローン病、TNF- $\alpha$ 、RT-PCR

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 日本人の疫学的検討において、食事中の動物脂肪摂取量とクローン病新規発症数との相関が見られること (Shoda R et al. Am J Clin Nutr 63: 741, 1996)、またクローン病患者を対象としたケースコントロールスタディーにおいても高脂肪食摂取がクローン病発症に関与していることが明らかにされている。

(2) また、日本のクローン病治療では脂肪の

少ない成分栄養剤が用いられる、効果発現機序については不明な点が多い。

(3) 我々は栄養剤の脂肪含有量が増えるほど治療効果が低下することを明らかにしてきた (Bamba et al. Eur J Gastroenterol Hepatol 15: 151, 2003)。しかし、実際のクローン病患者が脂肪を摂取した場合に腸管炎症が増悪することに関する直接的な証明はほとんどなされていない

## 2. 研究の目的

クローン病において直接的に脂肪投与と腸管炎症増悪の関与を明らかにするため、回腸内に脂肪を直接投与し、投与前後の粘膜内サイトカイン濃度を測定する。

脂肪の直接刺激によるサイトカイン上昇が証明されれば、クローン病患者での高脂肪摂取制限による食事療法の重要性や食事指導の目指す方向についてより明確な理由を得ることが可能となる。

## 3. 研究の方法

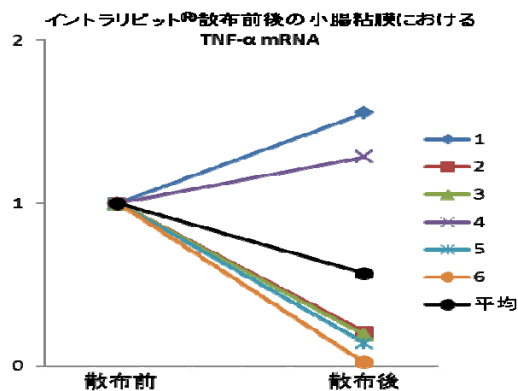
(1) 小腸内視鏡検査時に回腸末端において生検かん子にて組織を2個採取する。脂肪乳剤5mlを散布チューブにて散布する。内視鏡にて深部小腸を観察した後、散布より30分後に最初に生検した部位の近接部よりさらに2個の組織を採取する。小腸内視鏡ではコントロール（出血の精査目的など回腸に炎症を認めない症例）20例、クローン病患者10例より検体を採取する

(2) 採取した検体中3個はトリゾールにて処理し、RNAを抽出する。定量的RT-PCRにて組織中のTNF- $\alpha$  mRNA発現を脂肪酸刺激前と30分後で比較する。残り1個は10%ホルマリン固定し、パラフィン包埋を行う。HE染色を行って、炎症細胞浸潤の程度を客観的（1クリプトあたりの細胞数換算）に計測する。

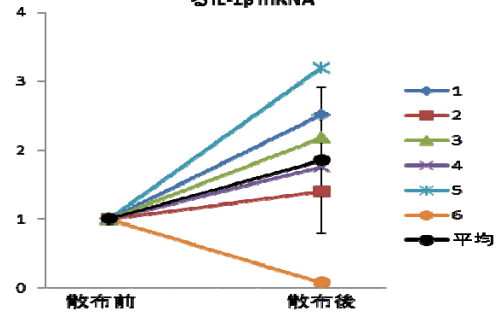
## 4. 研究成果

(1) 小腸内視鏡施行前の説明では同意を得られにくく、現時点で6名から検体採取可能であった。この6名において脂肪乳剤散布前と後において生検を2個ずつ採取、ただちにトリゾール処理にてRNAを抽出した。

(2) RTの後、TNF- $\alpha$  mRNAを半定量的PCRで検討したところ、予想に反し脂肪乳剤散布後のほうがTNF- $\alpha$  mRNA量は低下を示す症例が4例と多く、平均値でも低下していた。一方IL-1 $\beta$ は6例中5例で上昇していた。



イントラリピッド散布前後の小腸粘膜におけるIL-1 $\beta$  mRNA



(3) クローン病治療に抗TNF $\alpha$ 抗体は有効であり、脂肪摂取は病勢を悪化させることが疫学研究や脂肪負荷経腸栄養剤の臨床研究からは明らかとなっている。しかし、本研究にて短時間の脂肪刺激による局所での反応はむしろTNF- $\alpha$ 産生抑制に働いていた。一方、IL-1 $\beta$ は増加していることから、脂肪刺激直後の反応と時間経過後(数時間から1日)での反応は異なる可能性があること、あるいは、単回刺激と繰り返し刺激や連続刺激では局所の反応に違いが生じている可能性も否定できない。

(4) 今後は、脂肪による粘膜局所での反応を継続的に観察する必要がある、まず動物モデルでの検証が必要である。ただし、脂肪刺激直後はTNF- $\alpha$ ではなく、IL-1 $\beta$ が上昇することは新たな治療のターゲットになりうる可能性がある。

## 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6件)

- ① Andoh A, Imaeda H, Aomatsu T, Inatomi O, Bamba S, Sasaki M, Saito Y, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. J Gastroenterol. 46(4):479-86, 2011, 査読有
- ② Sasaki M, Johtatsu T, Kurihara M, Iwakawa H, Tanaka T, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Andoh A. Energy metabolism in Japanese patients with Crohn's disease. J Clin Biochem Nutr. 46(1):68-72, 2010, 査読有
- ③ Tsujikawa T, Andoh A, Inatomi O, Bamba S, Nakahara T, Sasaki M, Saito H, Fujiyama Y. Alendronate improves low bone mineral density induced by

steroid therapy in Crohn's disease. Intern Med. 48(12):933-7, 2009, 査読有

- ④ Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, Imaeda H, Hata K, Minematsu H, Senoh K, Hayafuji K, Ogawa A, Nakahara T, Sasaki M, Fujiyama Y. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. Endoscopy. 40:11-5, 2008, 査読有
- ⑤ Tsujikawa T, Imaeda H, Kobayashi Y, Oosaki R, Sonoda A, Senou K, Hayafuji K, Minematsu H, Ogawa A, Nakahara T, Hata K, Andoh A, Sasaki M, Saito Y, Fujiyama Y. [Case report: periodical infliximab administration enabled closure of colostomy in fistulating perianal Crohn's disease]. Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. 105(6):825-9, 2008, 査読有
- ⑥ Tsujikawa T, Fujiyama Y. [Small intestine: development, structure, function]. Nippon Rinsho. 66(7):1240-2, 2008, 査読無

[学会発表] (計6件)

- ① 辻川知之 クロウン病腸管狭窄に対するバルーン拡張術と再狭窄予防のための治療戦略・第96回日本消化器病学会総会・シンポジウム「Crohn病の長期予後改善を目指して」、2010.4.23、新潟
- ② 辻川知之 狭窄を有するクロウン病に対するIFX維持投与とバルーン拡張術のコンビネーション治療・第6回日本消化管学会総会学術集会・コアシンポジウム「炎症性腸疾患：クロウン病の病態と治療の新たな展開」、2010.2.20、福岡
- ③ 辻川知之 小腸粘膜治癒を考慮した免疫調節剤併用の栄養療法による寛解維持の意義・第40回日本消化吸収学会総会(京都)・シンポジウム「炎症性腸疾患における栄養療法の新たな展開—基礎と臨床—」、2009.10.16、京都
- ④ 辻川知之 クロウン病活動性と治療方針に及ぼす小腸内視鏡所見の意義・第77回日本消化器内視鏡学会総会・シンポジウム「小腸微細病変の診断と治療」、2009.5.22、名古屋

- ⑤ 辻川知之 経肛門的バルーン小腸内視鏡による小腸潰瘍形状に基づいたクロウン病治療・第95回日本消化器病学会総会・パネルディスカッション「クロウン病小腸病変の評価とその治療」、2009.5.8、札幌

- ⑥ 辻川知之 クロウン病狭窄症例に対する内視鏡治療の限界と手術療法・第5回日本消化管学会総会・ワークショップ「クロウン病、内科外科治療のストラテジー—現状と課題—」、2009.2.12、東京

## 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

藤山 佳秀 (FUJIYAMA YOSHIHIDE)  
滋賀医科大学・医学部・教授  
研究者番号：70111896

安藤 朗 (ANDOH AKIRA)

滋賀医科大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：90252395