

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590941

研究課題名(和文) 粘膜免疫誘導組織および共生細菌のNSAIDs 消化管粘膜傷害への関与の解明

研究課題名(英文) Investigation of the role of mucosal inductive site and indigenous bacteria on the NSAID-induced enteropathy

研究代表者

飯島 英樹 (Iijima, Hideki)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：90444520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：粘膜誘導組織である小腸パイエル板の役割について非ステロイド性消炎鎮痛剤(NSAID)による小腸粘膜傷害モデルを用いて解析したところ、パイエル板欠損マウスでは野生型マウスより小腸粘膜傷害が増悪し、パイエル板は小腸粘膜傷害に保護的に働くことを明らかとした。さらに、粘膜誘導組織においてCD103陽性樹状細胞が抑制性サイトカインであるIL-10を誘導することが粘膜傷害抑制のメカニズムであることを明らかにした。この粘膜傷害は腸内細菌非依存性であった。これらのことから、パイエル板はNSAID小腸粘膜傷害に抑制的な働きを持つことが明らかになり、新たな治療ターゲットとして有望であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of Peyer's patches (PPs) in mouse model of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced enteropathy. We found PP-null mice showed greater indomethacin-induced enteropathy than the wild type mice. The proportion of CD103+ DCs and IL-10 expressing CD4+ T cells of PPs increased after indomethacin treatment. Protective effect was not associated with commensal bacteria. These results indicate that PPs play a protective role in NSAID-induced enteropathy, and this protection is associated with an increase in CD103+ DCs and IL-10 producing CD4+ T cells in the intestine. PPs are considered to be a target for digestive inflammatory diseases.

研究分野：医歯薬

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：小腸粘膜傷害 NSAID 粘膜免疫 パイエル板 樹状細胞

### 1. 研究開始当初の背景

非ステロイド性消炎鎮痛剤 (NSAIDs) により小腸粘膜傷害をおこすことが明らかとなっているが、無菌動物では NSAIDs による粘膜傷害がおこらないことや、自然免疫系の重要な分子である Toll-like receptor 4 の欠損マウスにおいて NSAIDs 小腸炎が改善することから、免疫学的な要因も関与していることが明らかとなってきた。腸管粘膜は絶えず食事や微生物などの外来抗原に暴露されているが、小腸パイエル板は腸管免疫応答の制御に必須のリンパ組織である。しかしながら、NSAIDs による消化管粘膜傷害とパイエル板との関わりについては十分に明らかにされていなかった。

### 2. 研究の目的

NSAIDs 投与時の免疫寛容を含めた免疫状態の評価を行うとともに腸内細菌の関与についても検討を行う。

### 3. 研究の方法

胎生期に抗 IL-7R 抗体を投与することによりパイエル板欠損マウスを作成した。代表的な NSAID であるインドメタシンをパイエル板欠損マウスおよび野生型マウスに皮下投与することにより小腸炎を作成した。小腸粘膜の傷害程度を肉眼的および病理学的に解析した。さらに小腸粘膜固有層の免疫担当細胞のプロファイルをフローサイトメトリーにて解析すると共に、産生するサイトカインを RT-PCR, フローサイトメトリーおよび ELISA で解析した。さらにマウスに対し、各免疫担当細胞分画を移入し、小腸粘膜傷害に対する影響を調べた。マウスに抗生剤を投与することにより腸内細菌を除去し、小腸粘膜傷害に対する影響を調べた。

### 4. 研究成果

パイエル板欠損マウスでは野生型マウスより NSAID による小腸粘膜傷害が増悪し、パイエル板は小腸粘膜傷害に保護的に働くことを明らかとした。さらに、粘膜誘導組織において CD103 陽性樹状細胞が抑制性サイトカインである IL-10 を誘導することが粘膜傷害抑制のメカニズムであることを明らかにした。この粘膜傷害は腸内細菌非依存性であった。さらに CD103 陽性樹状細胞の存在下でナイーブ T 細胞は IL-10 産生性 Tr1 (制御性 T 細胞) に分化誘導された。これらのことから、パイエル板は CD103 陽性細胞を介した IL-10 産生制御性 T 細胞の誘導により NSAID 小腸粘膜傷害に抑制的な働きを持つことが明らかになり、新たな治療ターゲットとして有望であると考えられた。

### 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 11 件)

1. Hiyama S, Iijima H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Kato M, Hayashi Y, Nishida T, Fujii H, Mukai A, Shibata N, Sato S, Kiyono H, Gotoh K, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Tsujii M, Takehara T. Peyer's patches play a protective role in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy in mice. *Inflamm Bowel Dis*. In press.
2. Mukai A, Iijima H, Hiyama S, Fujii H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Hayashi Y, Kondo J, Mizushima T, Kanto T, Egawa S, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. Regulation of energy-related ubiquitin E3 ligase, GRAIL, in murine models of colitis and patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol*. In press.
3. Hiyama S, Iijima H, Shinzaki S, Mukai A, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Yamada T, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. Narrow Band Imaging with Magnifying Endoscopy for Peyer's Patches in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Digestion*. 2013;87(4):269-80.
4. Shinzaki S, Kuroki E, Iijima H, Tatsunaka N, Ishii M, Fujii H, Kamada Y, Kobayashi T, Shibukawa N, Inoue T, Tsujii M, Takeishi S, Mizushima T, Ogata A, Naka T, Plevy SE, Takehara T, Miyoshi E. Lectin-based Immunoassay for Aberrant IgG Glycosylation as the Biomarker for Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(2):321-31.
5. Hayashi Y, Tsujii M, Wang J, Kondo J, Akasaka T, Jin Y, Li W, Nakamura T, Nishida T, Iijima H, Tsuji S, Kawano S, Hayashi N, Takehara T. CagA mediates epigenetic regulation to attenuate let-7 expression in Helicobacter pylori-related carcinogenesis. *Gut*. 2013;62(11):1536-46.
6. Serada S, Fujimoto M, Terabe F, Iijima H, Shinzaki S, Matsuzaki S, Ohkawara T, Nezu R, Nakajima S, Kobayashi T, Plevy SE, Takehara T, Naka T. Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(11):2169-79.
7. Kurashima Y, Amiya T, Nochi T, Fujisawa K, Haraguchi T, Iba H, Tsutsui H, Sato S, Nakajima S, Iijima H, Kubo M, Kunisawa J, Kiyono H. Extracellular ATP mediates mast

cell-dependent intestinal inflammation through P2X7 purinoceptors. Nat Commun. 2012;3:1034.

8. Iwatani H, Inoue T, Wada Y, Nagasawa Y, Yamamoto R, Iijima H, Takehara T, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. Quantitative change of IgA hinge O-glycan composition is a novel marker of therapeutic responses of IgA nephropathy. Biochem Biophys Res Commun. 2012;428(3):339-42.
9. Inoue T, Iijima H, Tajiri M, Shinzaki S, Shiraishi E, Hiyama S, Mukai A, Nakajima S, Iwatani H, Nishida T, Mizushima T, Yasui T, Isaka Y, Kanto T, Tsujii M, Miyoshi E, Wada Y, Takehara T. Deficiency of N-acetylgalactosamine in O-linked oligosaccharides of IgA is a novel biologic marker for Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis. 2012;18(9):1723-34.
10. Nakajima, S., H. Iijima, S. Shinzaki, S. Egawa, T. Inoue, A. Mukai, Y. Hayashi, J. Kondo, T. Akasaka, T. Nishida, T. Kanto, E. Morii, T. Mizushima, E. Miyoshi, M. Tsujii, N. Hayashi. Functional analysis of agalactosyl IgG in inflammatory bowel disease patients. Inflamm Bowel Dis. 2011;17:927-936.
11. Terabe, F., M. Fujimoto, S. Serada, S. Shinzaki, H. Iijima, M. Tsujii, N. Hayashi, S. Nomura, H. Kawahata, M.H. Jang, M. Miyasaka, M. Mihara, Y. Ohsugi, T. Kishimoto, and T. Naka. Comparative analysis of the effects of anti-IL-6 receptor mAb and anti-TNF mAb treatment on CD4(+) T-cell responses in murine colitis. Inflamm Bowel Dis 2011;17:491-502.

〔学会発表〕(計 9件)

1. Hiyama, S., H. Iijima, S. Shinzaki, T. Inoue, E. Shiraishi, S. Kawai, M. Araki, T. Nishida, M. Tsujii, and T. Takehara. 2013. Observation of Peyer's patch using narrow band imaging with magnifying endoscopy is useful in predicting the recurrence in ulcerative colitis patients In UEGW. Berlin, Germany.
2. Hiyama, S., H. Iijima, S. Kawai, E. Shiraishi, A. Mukai, T. Inoue, S. Shinzaki, M. Tsujii, and T. Takehara. 2013. Peyer's Patches Play a Protective Role in NSAIDs-Induced Enteropathy. In DDW. Orland.
3. Hiyama, S., H. Iijima, S. Shinzaki, A.

Mukai, T. Inoue, S. Kawai, E. Shiraishi, T. Yamada, T. Nishida, M. Tsujii, and T. Takehara. 2012. Alteration of Peyer's patch in patients with inflammatory bowel disease observed in using narrow band imaging with magnifying endoscopy. In UEGW. Amsterdam, Netherland.

4. Inoue, T., H. Iijima, and T. Takehara. 2012. Efficacy of balloon dilation using double-balloon enteroscopy for small-bowel strictures in patients with symptomatic Crohn's disease. ASIBD 2012, Seoul, Korea.
5. Hiyama, S., H. Iijima, S. Shinzaki, A. Mukai, S. Nakajima, T. Inoue, E. Shiraishi, T. Yamada, T. Nishida, M. Tsujii, and T. Takehara. 2012. Narrow Band Imaging With Magnifying Endoscopy for Peyer's Patches in Patients With Inflammatory Bowel Disease. In DDW 2012. San Diego.
6. Inoue, T., H. Iijima, S. Yamaguchi, S. Egawa, Y. Arimoto, K. Tominaga, A. Maekawa, S. Hiyama, S. Shinzaki, M. Komori, T. Nishida, H. Hagiwara, M. Oshita, M. Tsujii, M. Kubo, and T. Takehara. 2012. Efficacy of balloon dilation using double-balloon enteroscopy for small-bowel strictures in patients with symptomatic Crohn's disease. In UEGW. Amsterdam, Netherland.
7. Hiyama, S., Iijima, H., Shinzaki, S., Shibata, N., Sato S., Tsujii, M., Kiyono, H., Takehara, T. 2013. Peyer's patches play a protective role in NSAIDs-induced small bowel injury. 第42回日本免疫学会. 幕張メッセ.
8. 日山智史, 飯島英樹, 白石衣里, 向井章, 井上隆弘, 中島佐知子, 新崎信二郎, 辻井正彦, 竹原徹郎. 2012. パイエル板は NSAIDs 起因性小腸粘膜傷害に保護的に働く. JDDW2012(消化器病学会). 神戸.
9. 日山智史, 飯島英樹, 竹原徹郎. 2011. NSAID 起因性小腸粘膜障害に対するパイエル板の関与. 第53回日本消化器病学会大会. 福岡.

〔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

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gh/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

飯島英樹 (HIDEKI IIJIMA)  
大阪大学医学系研究科 講師  
研究者番号：90444520

### (2) 研究分担者

辻井正彦 (MASAHIKO TSUJII)  
大阪大学医学系研究科 准教授  
研究者番号：40303937

西田勉 (TSUTOMU NISHIDA)  
大阪大学医学系研究科 助教  
研究者番号：20467575

新崎信一郎 (SHINICHIRO SHINZAKI)  
大阪大学医学系研究科 助教  
研究者番号：60546860

### (3) 連携研究者

清野宏 (HIROSHI KIYONO)  
東京大学 医科学研究所 教授  
研究者番号：10271032