

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861181

研究課題名(和文) 回腸粘膜上皮細胞の遺伝子発現情報を用いた潰瘍性大腸炎術後回腸嚢炎予測法の開発

研究課題名(英文) Prediction method for developing pouchitis in patients with ulcerative colitis by using genetic information on ileal mucosal epithelial cells

研究代表者

大北 喜基 (Yoshiki, Okita)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20378342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：大腸全摘・J型回腸嚢肛門吻合術を施行した潰瘍性大腸炎患者において手術時回腸粘膜におけるFKBP5高発現は、回腸嚢炎発症のリスクが高いことが明らかにされた。また手術時回腸粘膜におけるIL-1^β発現量高値群は回腸嚢炎の累積発症率が高く、大腸の罹患範囲、重症度とも相関し、予測因子として有用であることが示唆された。回腸嚢炎患者および非回腸嚢炎患者の術後回腸嚢粘膜よりmiRNA arrayを施行し、網羅的に回腸嚢炎関連miRNAを検索した。この解析により11種類のmiRNAが同定され、Real-time PCR法により少数サンプルでの発現が確認された。

研究成果の概要(英文)：FKBP5 mRNA levels in ileal mucosa at the time of colectomy are significantly associated with pouchitis and may be a predictive factor for developing pouchitis. IL-1^β mRNA levels are also significantly associated with pouchitis and it is correlated to extent of disease and disease severity. IL-1^β may be a predictive factor for developing pouchitis. Comprehensive miRNA expression patterns related to pouchitis was analyzed by using ileal mucosa of postoperative ulcerative colitis patients. Eleven miRNA was detected and confirmed in other samples.

研究分野：消化器外科

キーワード：回腸嚢炎 潰瘍性大腸炎

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎の外科治療において大腸全摘・J型回腸囊肛門吻合術は標準術式として確固たる地位を確立した。しかし、骨盤内膿瘍、回腸囊炎などの回腸囊関連合併症により回腸囊機能不全へと至り、未だ潰瘍性大腸炎の術後合併症発症率は高く、著しく患者のQOLを低下させることが外科治療における大きな問題点である。回腸囊炎の累積発生率は約50%と報告されている。回腸囊炎は、原因や病態機序が不明であるため回腸囊発生および重症化のリスク因子、個々の病態に応じた予防法および治療法について一定の見解がないのが現状である。術後合併症の中でも特に難治性の回腸囊炎は、発生率が高く、著しく患者のQOLを低下させるため、予防法および治療法が早期に望まれる。

2. 研究の目的

本研究では、潰瘍性大腸炎術後回腸囊炎発症の病態機序および危険因子を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

(1)回腸粘膜における潰瘍性大腸炎ステロイド抵抗性因子および腸管粘膜修復関連因子の発現
大腸全摘時手術標本より採取した回腸末端の粘膜を用い、total RNAを抽出し、Real time PCR法でFK506 binding protein (FKBP5)、forkhead box protein (FOX)のmRNA発現を定量化し、回腸囊炎発症との関連について検討した。

(2)回腸および回腸囊粘膜におけるinflammatory cytokinesの発現
大腸全摘時手術標本より採取した回腸末端の粘膜および、大腸全摘後回腸囊粘膜を用い、IL-1b, IL-6, IL-8, TNF-aの4種のinflammatory cytokinesのmRNA発現を定量化し、回腸囊炎発症との関連について検討した。

(3)回腸囊炎関連miRNAの同定
回腸囊炎患者および非回腸囊炎患者の術後回腸囊粘のmiRNAの発現を網羅的に比較検討した(miRNA array)。

4. 研究成果

(1)当科で大腸全摘、J型回腸囊肛門吻合術を施行した潰瘍性大腸炎患者のうち、初回手術の際に回腸末端の粘膜が採取できた71例を対象としてtotal RNAを抽出後、cDNAを作成し、real-time PCR法でFKBP4、FKBP5の発現を定量化した。FKBP5高発現は、回腸囊炎発症のリスクが高いことが明らかにされた。

上記の検討と同様に回腸粘膜におけるFOXA2の発現を定量化したところFOXA2高発現は回腸囊炎発生に関連していることが示された。回腸粘膜修復機構の異常に対するnegative feed backによりFOXA2の発現が惹起された可能性が考えられた。

(2)当科で大腸全摘、J型回腸囊肛門吻合を施行した潰瘍性大腸炎患者のうち、回腸末端の粘膜が採取できた82例を対象とした。total RNAを抽出し、Real time PCR法でIL-1b, IL-6, IL-8, TNF-aの4種のinflammatory cytokineのmRNA発現を定量化した。回腸囊炎発症群では、有意にIL-1が高発現でIL-1高値群では回腸囊炎発症率が高い傾向がみられた。また、術後回腸囊内視鏡により回腸囊粘膜を採取できた22例を対象とし、total RNAを抽出後、cDNAを作成し、Real time PCR法でIL-1b, IL-6, IL-8, TNF-aの4種のinflammatory cytokinesのmRNA発現を定量化した。回腸囊粘膜のIL-1は回腸囊炎発症群で高発現の傾向がみられ、CRP値、回腸囊炎活動指数値と有意な正の相関を示した。また回腸囊粘膜のIL-6は回腸囊炎発症群で有意に高発現でありCRP値、回腸囊炎活動指数値と有意な正の相関を示した。IL-1は回腸囊炎の発症の予測因子、病勢評価に有用であり、IL-6は回腸囊炎の病勢評価に有効である可能性が明らかにされた。

(3)回腸囊炎患者(n=3)および非回腸囊炎患者(n=3)の術後回腸囊粘膜よりmiRNA arrayを施行し、網羅的に回腸囊炎関連miRNAを検索した。発現量が2倍かつ有意差のある11種類のmiRNA(miR-222-3p, let-7i-5p, miR-125b-5p, miR-361-5p, miR-557, miR-140-3p, miR-4665-3p, miR-4792, miR-128-1-5p, miR-6812-5p, miR-8080)が同定され、Real-time PCRにより少数サンプルでの再現性が確認された。

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4件)

Araki T, Hashimoto K, Okita Y, Fujikawa H, Kondo D, Kawamura M, Kobayashi M, Ohi M, Tanaka K, Toiyama Y, Inoue Y, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Colonic histological criteria predict development of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for patients with ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology* 2015 (in press) (査読有)

Araki T, Kawamura M, Tanaka K, Okita Y, Fujikawa H, Uchida K, Toiyama Y, Inoue Y, Mohri Y, Kusunoki M. FK506-Binding Protein

5 mRNA Levels in Ileal Mucosa Are Associated with Pouchitis in Patients with Ulcerative Colitis. Dig Dis Sci. 2015 Jan 18. [Epub ahead of print] (査読有)

Okita Y, Araki T, Tanaka K, Hashimoto K, Kondo S, Kawamura M, Koike Y, Otake K, Fujikawa H, Inoue M, Ohi M, Inoue Y, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Predictive factors for development of chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis in ulcerative colitis. Digestion. 2013;88(2):101-109. (査読有)

Okita Y, Araki T, Tanaka K, Shimura T, Kawamura M, Fujikawa H, Inoue M, Inoue Y, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Characteristics of extremely early-onset pouchitis after proctocolectomy with ileal pouch-anal anastomosis. J Gastrointest Surg. 2013 Mar;17(3):533-539. (査読有)

〔学会発表〕(計 6 件)

大北喜基, 荒木俊光, 川村幹雄, 長野由佳, 近藤哲, 三枝晋, 問山裕二, 田中光司, 井上靖浩, 内田恵一, 毛利靖彦, 楠正人. 潰瘍性大腸炎術後回腸嚢炎と回腸嚢粘膜における inflammatory cytokines 発現との関連性. 第 115 回 日本外科学会定期学術集会. 2015 年 4 月 16 日 ~ 4 月 18 日. 名古屋国際会議場.

川村幹雄, 荒木俊光, 大北喜基, 長野由佳, 近藤哲, 三枝晋, 問山裕二, 田中光司, 井上靖浩, 内田恵一, 毛利靖彦, 楠正人. 潰瘍性大腸炎術後回腸嚢炎発症と大腸全摘時回腸粘膜中 inflammatory cytokines の発現との関連性. 第 115 回 日本外科学会定期学術集会. 2015 年 4 月 16 日 ~ 4 月 18 日. 名古屋国際会議場

Yoshiki Okita, Toshimitsu Araki, Yuka Nagano, Satoru Kondo, Mikio Kawamura, Mikihiro Inoue, Yuji Toiyama, Masaki Ohi, Koji Tanaka, Yasuhiro Inoue, Keiichi Uchida, Yasuhiko Mohri, Masato Kusunoki. The relationship between onset days and clinical characteristics of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis in ulcerative colitis. 10th Congress of ECCO. 2015 年 2 月 18 日 ~ 2 月 21 日. Barcelona, Spain.

大北喜基, 荒木俊光, 楠正人. 潰瘍性大腸炎術後慢性回腸嚢炎の危険因子の検討. JDDW 2014. 2014 年 10 月 23 日 ~ 10 月 26 日. 神戸国際会議場.

大北喜基, 荒木俊光, 藤川裕之, 川村幹雄,

北嶋貴仁, 近藤哲, 志村匡信, 井上幹大, 問山裕二, 小林美奈子, 大井正貴, 田中光司, 井上靖浩, 内田恵一, 毛利靖彦, 楠正人. 潰瘍性大腸炎手術症例における回腸粘膜内 forkhead box protein 遺伝子発現の意義. 第 100 回日本消化器病学会総会. 2014 年 4 月 23 日 ~ 4 月 26 日. 東京国際フォーラム

Yoshiki Okita, Toshimitsu Araki, Koji Tanaka, Hiroyuki Fujikawa, Mikihiro Inoue, Masaki Ohi, Yasuhiro Inoue, Keiichi Uchida, Yasuhiko Mohri, Masato Kusunoki. Predictive factors for development of chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis in ulcerative colitis. American College of Surgeons' 99th Clinical Congress 2013. 2013 年 10 月 6 日 ~ 2013 年 10 月 10 日. Washington DC, America.

〔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:
出願年月日:
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
大北喜基 (OKITA, Yoshiki)
三重大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 20378342

(2) 研究分担者 ()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号：