慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	超拡大内視鏡観察、走査電顕によるナノレベル観察を用いたヒト腸管上皮機能解明
Sub Title	Elucidation of human intestinal epithelial function using ultra-magnification endoscopy and nano-level observation by scanning electron microscopy
Author	細江, 直樹(Hosoe, Naoki) 筋野, 智久(Sujino, Tomohisa)
Publisher	
Publication year	2022
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	走査電子顕微鏡は、近年小型化、低価格化がすすんでおり、簡便に電子顕微鏡観察が可能となっている。走査電子顕微鏡を用いて炎症性腸疾患における細菌、腸管上皮、免疫細胞の局在の異常、さらに通常～超拡大内視鏡を用いて、絨毛、腺管構造の異常を観察し、炎症性腸疾患の病態解明を行うことを目的とした。8例の健常者と潰瘍性大腸炎患者20例に対して、通常内視鏡観察を行い、生検を採取、走査電子顕微鏡による観察を行った。健常者と比較し、潰瘍性患者の走査電顕観察から、腺管の構造のみだれ、腺管の構造の違い（unit構造の大小不同（unit不整）、陰窩数のunitあたりの不一致（陰窩不整））を見出した。 Scanning electron microscopes have become smaller and less expensive in recent years, making electron microscopy easier and more convenient. The aim of this study was to elucidate the pathogenesis of inflammatory bowel disease by observing abnormalities in the localization of bacteria, intestinal epithelium, and immune cells in inflammatory bowel disease using scanning electron microscopy, and abnormalities in villi and glandular duct structure using conventional and ultra-magnifying endoscopy. Biopsies were collected and observed by scanning electron microscopy. Compared to healthy subjects, scanning electron microscopic observations of the ulcerative patients revealed structural blurring of the glandular ducts, differences in glandular duct structure (unit structure size discrepancy (unit irregularity), and discrepancy in the per unit number of crypts (crypt irregularity)).
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2019～2021 課題番号：19K08402 研究分野：消化器病
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_19K08402seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　 ５ 月 ２７ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2019～2021
課題番号：１９Ｋ０８４０２

研究課題名（和文）超拡大内視鏡観察、走査電顕によるナノレベル観察を用いたヒト腸管上皮機能解明

研究課題名（英文）Elucidation of human intestinal epithelial function using ultra-magnification endoscopy and nano-level observation by scanning electron microscopy

研究代表者

細江　直樹（HOSOE, Naoki）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授

研究者番号：９０３１７１３１

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）：走査電子顕微鏡は、近年小型化、低価格化がすすんでおり、簡便に電子顕微鏡観察が可能となっている。走査電子顕微鏡を用いて炎症性腸疾患における細菌、腸管上皮、免疫細胞の局在の異常、さらに通常～超拡大内視鏡を用いて、絨毛、腺管構造の異常を観察し、炎症性腸疾患の病態解明を行うことを目的とした。8例の健常者と潰瘍性大腸炎患者20例に対して、通常内視鏡観察を行い、生検を採取、走査電子顕微鏡による観察を行った。健常者と比較し、潰瘍性患者の走査電顕観察から、腺管の構造のみだれ、腺管の構造の違い（unit構造の大小不同（unit不整）、陰窩数のunitあたりの不一致（陰窩不整））を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
走査電子顕微鏡という従来では大掛かりな観察法が、近年では小型化され簡便な観察となりつつある。今回、炎症性腸疾患患者の腸管上皮を電子顕微鏡と通常内視鏡、拡大内視鏡を用いて観察し、健常者と比較し、潰瘍性患者の走査電顕観察から、腺管の構造のみだれ、腺管の構造の違いを見出した。本研究により、炎症性腸疾患の病態解明の糸口を見出すことができた。

研究成果の概要（英文）：Scanning electron microscopes have become smaller and less expensive in recent years, making electron microscopy easier and more convenient. The aim of this study was to elucidate the pathogenesis of inflammatory bowel disease by observing abnormalities in the localization of bacteria, intestinal epithelium, and immune cells in inflammatory bowel disease using scanning electron microscopy, and abnormalities in villi and glandular duct structure using conventional and ultra-magnifying endoscopy. Biopsies were collected and observed by scanning electron microscopy. Compared to healthy subjects, scanning electron microscopic observations of the ulcerative patients revealed structural blurring of the glandular ducts, differences in glandular duct structure (unit structure size discrepancy (unit irregularity), and discrepancy in the per unit number of crypts (crypt irregularity)).

研究分野：消化器病

キーワード：走査電子顕微鏡　腸管上皮　超拡大内視鏡

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎やクローン病を含む炎症性腸疾患は生活習慣病、癌などと同様に急速に増加している。原因として、食生活などの環境素因、遺伝的素因などが複雑に絡み合った多因子疾患であることが知られている。また炎症性腸疾患患者では腸内細菌叢の多様性や細菌数が減少していること、特定の腸内細菌が免疫細胞の成熟に関与していることを報告している(Sujino T IBD 2016, CMGH 2018)。また腸内細菌及びその代謝産物が腸管恒常性維持や抗炎症作用を示すということも明らかになった(Kashiwagi T. Immunity 2014.)。これまでは菌叢が上皮及び宿主の免疫に影響を及ぼしていることが明らかになり数多くの研究がなされてきた。しかし、近年 LYPD8 を始め宿主の免疫も上皮を介して腸内細菌叢に影響を及ぼしていることが明らかになりつつある(Okumura R, Takeda K. Nature 2014)。また、腸管上皮からは Lipoxin, prostaglandin, cytokine, miRNA を含む数多くの Extracellular vesicle、exosome が放出されていることが明らかになりつつある（Leoni G. JCI 2015)。しかしながら、内視鏡的なアプローチを利用した上記の解析は行われていないのが実状である。炎症性腸疾患の治療は血便などが消失する臨床的寛解から内視鏡的に発赤が見られない内視鏡的寛解へと治療ゴールが変遷している。これまでに申請者は、80-400 倍の拡大観察機能を持った拡大内視鏡、超拡大内視鏡の開発に携わり、感染症の早期確定診断技術の開発（Hosoe N. Gastrointest Endosc 2010）および、炎症性腸疾患における病型分類開発（Hosoe N. J Gastroenterol. 2011）を手がけ、内視鏡的寛解からさらに超拡大内視鏡下での寛解を治療ゴールとすることが有用と考えている。一方で超拡大内視鏡下でも寛解となった症例の中にも再燃する群は存在し、超拡大内視鏡の限界もある。電子顕微鏡は処理の手間、コストの問題で導入しにくかったが、比較的簡便な 4000 倍程度のパワーを有する走査電子顕微鏡が開発された。

２．研究の目的

本研究の目的は、炎症性腸疾患において電子顕微鏡レベルで観察できる細菌、細胞レベルの異常、超拡大内視鏡を用いた生体内における顕微鏡レベルで観察できる腸管上皮、免疫細胞の局在、さらに拡大内視鏡レベルで観察できる絨毛、腺管構造の異常、最終的に通常内視鏡で観察できる粘膜欠損などの形態異常をシームレスに観察し、それらの特徴、相関を検討することにより炎症性腸疾患の病態を解析することである。

３．研究の方法

クローン病患者の回腸終末部を通常内視鏡観察し潰瘍の有無を確認、引き続き拡大内視鏡観察を行い潰瘍周囲の絨毛の形態、パイエル板の形態を観察、引き続き生体内で超拡大（顕微）観察を行い、潰瘍近傍の絨毛の上皮の欠損、顆粒球の集簇の有無を観察する。この観察が終了した後、観察した部位から生検検体を採取、採取した検体は即座に固定する。固定後の検体を電子顕微鏡にて観察し、上皮形態を観察する。これまでの研究において健常人サンプルにおいても部位により extracellular vesicle 部位形態が異なっていることが判明している。さらに腸管上皮付着菌解析、extracellular vesicle の解析をもとに電子顕微鏡による形態学から免疫学、再生学を統合し病態解明を行う。

４．研究成果

論文

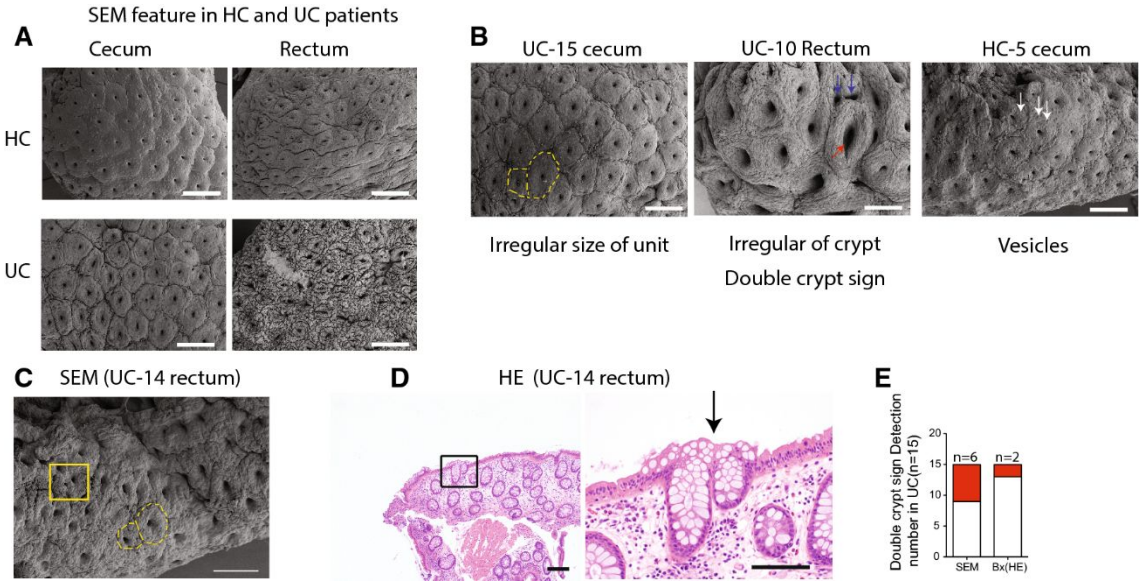
１．Characteristics of the Mucosal Surface on Scanning Electron Microscopy in Patients with Remitting Ulcerative Colitis.

Nomura E, Sujino T, Hosoe N, Yoshimatsu Y, Tanemoto S, Takabayashi K, Mutaguchi M, Shimoda M, Naganuma M, Ogata H, Kanai T.

Dig Dis Sci. 2021 Sep;66(9):3141-3148. doi: 10.1007/s10620-020-06609-4. Epub 2020 Sep 21.

本論文では、潰瘍性大腸炎（UC）患者に対し、走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて腸管上皮の構造を評価し、寛解期にある UC 患者の特徴を明らかにすることを目的とし研究を行った。健常対照者 8 名と UC 患者 20 名の合計 8 名を登録し、盲腸と直腸の大腸組織標本を採取し、臨床的に寛解期 UC 患者と健常対照者の SEM 上の上皮表面構造を比較検討した。健常者では、大腸表面は小さな小葉（ユニットと呼ぶ）からなり、各ユニットの中央には１つの陰窩が位置していた。UC 患者では、不規則なユニットとクリプト口の大きさ、ダブルクリプトサイン（1 ユニットあたり 1 クリプト以上）、腸管上皮細胞における小胞の数の減少が見られた（図１B)。健常対照者と比較して、UC 患者は直腸で不規則なユニットサイズ、double crypt sign（図１C)、不規則なクリプト口サイズをしばしば認めた。また、UC 患者では健常対照者と比較して、小胞の観察頻度が少なかった。SEM により、寛解期にある UC 患者では、ユニークな上皮の構造が明らかになった。

図１（論文１より転載）



2. Video capsule endoscopy in inflammatory bowel disease.
Limpias Kamiya KJL, Hosoe N, Hayashi Y, Kawaguchi T, Takabayashi K, Ogata H, Kanai T.
DEN open. 2021 Aug 16;2(1):e26. doi: 10.1002/deo2.26. eCollection 2022 Apr.

学会発表
・野村 絵奈, 筋野 智久, 細江 直樹, 岩男 泰, 緒方 晴彦, 長沼 誠, 下田 将之, 水野 慎大, 牟田口 真, 福田 知広, 亀山 香織, 金井 隆典
走査型電子顕微鏡を用いた潰瘍性大腸炎の粘膜評価
第 36 回日本大腸検査学会総会、2019 年
論文 1 の内容を大腸検査学会で報告した。

・林由紀恵、細江直樹、下嵜啓太郎
免疫チェックポイント阻害薬による消化管障害の臨床的・内視鏡的・病理学的特徴
第 99 回日本消化器内視鏡学会総会、2020 年

薬剤（免疫チェックポイント阻害薬）による大腸の炎症を内視鏡で観察し、その病理学的な特徴を報告した。まずは通常顕微鏡観察と、内視鏡観察の特徴を観察することで、その後の電子顕微鏡観察の方法を検討した。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計10件（うち査読付論文　6件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　3件）

１．著者名 Hosoe N, Limpias Kamiya KJL, Hayashi Y, Sujino T, Ogata H, Kanai T.	４．巻 33(4)
２．論文標題 Current status of colon capsule endoscopy.	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Dig Endosc	６．最初と最後の頁 529-537
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/den.13769.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Hayashi Y, Hosoe N, Takabayashi K, Limpias Kamiya KJL, Tsugaru K, Shimozaki K, Hirata K, Fukuhara K, Fukuhara S, Mutaguchi M, Sujino T, Sukawa Y, Hamamoto Y, Naganuma M, Takaishi H, Shimoda M, Ogata H, Kanai T.	４．巻 -
２．論文標題 Clinical, Endoscopic, and Pathological Characteristics of Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Gastroenterocolitis	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Dig Dis Sci.	６．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10620-020-06441-w.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Takabayashi K, Hosoe N, Kato M, Hayashi Y, Nanki K, Fukuhara K, Mikami Y, Mizuno S, Sujino T, Mutaguchi M, Naganuma M, Yahagi N, Ogata H, Kanai T.	４．巻 56(1)
２．論文標題 Significance of endoscopic deep small bowel evaluation using balloon-assisted enteroscopy for Crohn's disease in clinical remission	５．発行年 2021年
３．雑誌名 J Gastroenterol.	６．最初と最後の頁 25-33
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12328-020-01261-x.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Nomura E, Sujino T, Hosoe N, Yoshimatsu Y, Tanemoto S, Takabayashi K, Mutaguchi M, Shimoda M, Naganuma M, Ogata H, Kanai T.	４．巻 -
２．論文標題 Characteristics of the Mucosal Surface on Scanning Electron Microscopy in Patients with Remitting Ulcerative Colitis	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Dig Dis Sci.	６．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10620-020-06609-4.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Hosoe Naoki、Hayashi Yukie、Ogata Haruhiko	4．巻 -
2．論文標題 Colon Capsule Endoscopy for Inflammatory Bowel Disease	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Clinical Endoscopy	6．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5946/ce.2019.156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1．著者名 Kamiya Kenji JL Limpias、Hosoe Naoki、Takabayashi Kaoru、Hayashi Yukie、Sun Xi、Miyanaga Ryoichi、Fukuhara Kayoko、Fukuhara Seiichiro、Naganuma Makoto、Nakayama Atsushi、Kato Motohiko、Maehata Tadateru、Nakamura Rieko、Ueno Koichi、Sasaki Junichi、Kitagawa Yuko、Yahagi Naohisa、Ogata Haruhiko、Kanai Takanori	4．巻 12
2．論文標題 Endoscopic removal of foreign bodies: A retrospective study in Japan	5．発行年 2020年
3．雑誌名 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy	6．最初と最後の頁 33～41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4253/wjge.v12.i1.33	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1．著者名 Takabayashi Kaoru、Hosoe Naoki、Kato Motohiko、Hayashi Yukie、Miyanaga Ryoichi、Nanki Kosaku、Fukuhara Kayoko、Mikami Yohei、Mizuno Shinta、Sujino Tomohisa、Mutaguchi Makoto、Naganuma Makoto、Yahagi Naohisa、Ogata Haruhiko、Kanai Takanori	4．巻 -
2．論文標題 Efficacy of Novel Ultrathin Single-Balloon Enteroscopy for Crohn's Disease: A Propensity Score-Matched Study	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Gut and Liver	6．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5009/gnl19228	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1．著者名 Hosoe Naoki、Takabayashi Kaoru、Ogata Haruhiko、Kanai Takanori	4．巻 31
2．論文標題 Capsule endoscopy for small‐intestinal disorders: Current status	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Digestive Endoscopy	6．最初と最後の頁 498～507
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/den.13346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1．著者名 Mutaguchi Makoto、Naganuma Makoto、Sugimoto Shinya、Fukuda Tomohiro、Nanki Kosaku、Mizuno Shinta、Hosoe Naoki、Shimoda Masayuki、Ogata Haruhiko、Iwao Yasushi、Kanai Takanori	4．巻 51
2．論文標題 Difference in the clinical characteristic and prognosis of colitis-associated cancer and sporadic neoplasia in ulcerative colitis patients	5．発行年 2019年
3．雑誌名 Digestive and Liver Disease	6．最初と最後の頁 1257～1264
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dld.2019.05.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Horie Tomofumi、Hosoe Naoki、Takabayashi Kaoru、Hayashi Yukie、Kamiya Kenji JL Limpias、Miyanaga Ryoichi、Mizuno Shinta、Fukuhara Kayoko、Fukuhara Seiichiro、Naganuma Makoto、Shimoda Masayuki、Ogata Haruhiko、Kanai Takanori	4．巻 11
2．論文標題 Endoscopic characteristics of small intestinal malignant tumors observed by balloon-assisted enteroscopy	5．発行年 2019年
3．雑誌名 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy	6．最初と最後の頁 373～382
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4253/wjge.v11.i5.373	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

〔学会発表〕　計5件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

1．発表者名 細江直樹、林由紀恵、リンピアス神谷研次、牟田口真、髙林馨、緒方晴彦、金井隆典
2．発表標題 小腸カプセル内視鏡による病変検出のためのAI（artificial intelligence）開発
3．学会等名 第58回日本小腸学会学術集会
4．発表年 2020年

1．発表者名 林由紀恵、細江直樹、下嵜啓太郎
2．発表標題 免疫チェックポイント阻害薬による消化管障害の臨床的・内視鏡的・病理学的特徴
3．学会等名 第99回日本消化器内視鏡学会総会
4．発表年 2020年

１．発表者名
高林 馨，細江 直樹，金井 隆典

２．発表標題
クローン病におけるバルーン内視鏡を用いた深部小腸評価の有用性の検討

３．学会等名
JDDW 2019

４．発表年
2019年

１．発表者名
宮永　亮一，細江 直樹，緒方 晴彦

２．発表標題
大腸カプセル内視鏡による同種造血幹細胞移植後の全消化管サーベイランス

３．学会等名
第97回日本消化器内視鏡学会総会

４．発表年
2019年

１．発表者名
256.野村 絵奈，筋野 智久，細江 直樹，岩男 泰，緒方 晴彦，長沼 誠，下田 将之，水野 慎大，牟田口 真，福田 知広，亀山 香織，金井 隆典

２．発表標題
走査型電子顕微鏡を用いた潰瘍性大腸炎の粘膜評価

３．学会等名
第36回日本大腸検査学会総会

４．発表年
2019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	筋野　智久 (SUJINO Tomohisa) (40464862)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師 (32612)	

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