

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

**平成 26 年度～平成 30 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」  
研究成果報告書概要**

1 学校法人名 兵庫医科大学                      2 大学名 兵庫医科大学

3 研究組織名 術後癒着制御プロジェクトチーム

4 プロジェクト所在地 兵庫県西宮市武庫川町1-1 兵庫医科大学

5 研究プロジェクト名 外科手術後癒着形成:分子機構の解明と診断・治療技術の開発

6 研究観点 研究拠点を形成する研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
藤元治朗	医学部	教授

8 プロジェクト参加研究者数 10 名

9 該当審査区分 理工・情報      生物・医歯      人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
藤元治朗	外科・教授	癒着機構解明・診断と治療の開発	動物実験、臨床研究、立案と総括
西口修平	内科・教授	癒着線維形成分子機構解明	癒着線維形成の基礎研究
飯島尋子	内科・教授	癒着診断法開発(超音波)	超音波による癒着スコアリング
長谷川誠紀	外科・教授	胸部手術癒着診断・治療開発	胸部・肺外科の癒着検証
池内基浩	外科・教授	IBD 患者 2 次手術における癒着検証	癒着制御法検証
山門享一郎	放射線科・教授	癒着診断法開発(CT/MRI)	CT/MRI による癒着スコアリング
安田好文	免疫学・講師	癒着機構解明・免疫解析・治療の開発	動物実験・分子と薬剤開発
廣田誠一	病理学・教授	外科手術後癒着に関する病理学的検討	病理学的研究
(共同研究機関等) 石亦宏	CedarSinai 研究所・教授	癒着線維形成メカニズム解析	癒着線維形成の基礎研究
河畑茂樹	アステラス 製薬・部長	免疫抑制剤有効性・副作用の助言	動物での FK506 有効性・副作用検証の助言

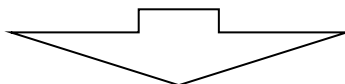
<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
—	—	—	—

(変更の時期:平成 26年 7月 10日)



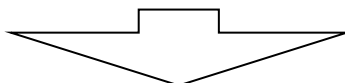
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
病理学 病院病理部門・教授	病理学 病理診断部門・教授	廣田誠一	病理学的研究

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
癒着診断法開発	放射線科・教授	廣田省三	CT/MRI による癒着スコアリング

(変更の時期:平成 29年 6月 1日)



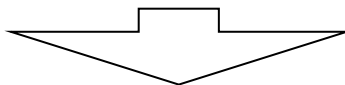
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
放射線科・准教授	放射線科・教授	山門享一郎	CT/MRI による癒着スコアリング

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
癒着機構解明・免疫解析	免疫学・教授	善本知広	動物実験・分子と薬剤開発

(変更の時期:平成 30年 2月 20日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
免疫学・講師	免疫学・講師	安田好文	動物実験・分子と薬剤開発

## 11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

## (1)研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

## [研究プロジェクトの目的・意義]

外科手術は急速な発展を遂げ、臓器移植・拡大手術から低侵襲の内視鏡下手術にいたるまで種々の術式選択が可能となった。しかし手術後の癒着形成は腹部手術で67～93%の高発症率が報告され、癒着合併症は患者にとり大きな苦しみであり、また医療経済面でも大きな負担となっている。申請者らは、この近代外科から取り残されている術後癒着障害に取り組み、(1)動物モデル癒着形成分子機構解析(Interferon  $\gamma$  is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. Kosaka H, Yoshimoto T, Fujimoto J, Nakanishi K, et al. Nat Med, 14:437-441, 2008)、

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

(2) ヒト肝切除術における同分子機構成立の確認 (Interferon  $\gamma$  and plasminogen activator inhibitor 1 regulate adhesion formation after partial hepatectomy. Ohashi K, Yoshimoto T, Fujimoto J, et al. Brit J Surg, 101; 398-4-7, 2014)、をおこなってきた。今回はこれらを礎として、①癒着成立の基礎的分子機構の解明、②すでに臨床現場において他の目的で使用されている薬剤の癒着制御能の検証、③臨床では未使用の新規の分子・抗体・分子阻害剤の開発、④臨床において癒着形成有無を判定する非侵襲的検査法の開発、⑤有効であると検証された分子・薬剤の探索医療の検討、を目的とする。

### [研究計画の概要]

本研究プロジェクトは2つのプロジェクトを有する。(1)外科手術後癒着形成における分子機構解明と新規癒着制御技術開発、(2)臨床における術後癒着の非侵襲的癒着診断技術開発と癒着制御探索医療展望、である。

#### (1) 外科手術後癒着形成における分子機構解明と新規癒着制御技術開発

##### I. 癒着形成における分子機構解明

これまでの研究では主として NKT 細胞が手術侵襲を受けて産生する IFN- $\gamma$ 、それにより発現が亢進する PAI-1 の2分子が癒着形成に大きな役割を有することが判明していた。しかし、癒着の線維形成メカニズムに関しては未解決の課題であった。特にどの細胞が線維に置換または産生するのか(肝線維化における星細胞に相当する細胞)、どの細胞がその指令をおこなっているのか(肝線維化における Kupffer 細胞に相当する細胞)、明らかにすることは大変重要であり、本研究の基礎的研究の根幹を成している。

##### II. 新規癒着制御技術開発

これまでの研究を基盤とすると術後癒着制御には抗 IFN- $\gamma$ ・抗 PAI-1 作用を有する分子が候補に挙げられる。しかし将来的な臨床研究を考慮するとそれぞれの抗体の使用は困難であることが予想される。PAI-1 抗体の新規開発は作成・安全性試験など考慮するとこれから約20~30年の期間と同時に莫大な費用の必要性が予測される。現時点での分子機構を考慮すると、①リコンビナント HGF、②サイトカイン受容体に対する抗体、③抗炎症薬剤または免疫抑制剤、④血液凝固に対する抑制剤⑤PAI-1 に対する抑制効果を有する低分子化合物、などが repositioning drug として有用である可能性がある。これらの効果を動物モデルにて検証する。

#### (2) 臨床における術後癒着の非侵襲的癒着診断技術開発と癒着制御探索医療展望

##### I. 術後癒着の非侵襲的癒着診断技術開発

現時点では非侵襲的に術後癒着を診断する有用な方法は開発されていない。そのために癒着予防剤(膜様またはフィルム様貼布剤・スプレー式噴霧剤)など市販剤があるが、直接的な癒着有無判定はされておらず、術後の患者の腹部症状・入院所要日数など間接的・主観的な観察が主であり、それらの有効性に関しては確固とした evidence に基づいていとはいいがたい。本研究では新たな癒着診断超音波技術の開発、また腹部CT技術を用い、直接的かつ客観的な癒着有無の検証法確立を目指す。

##### II. 癒着制御探索医療展望

現時点では癒着制御剤として上記の①・②・③・④で有用かつ臨床使用が可能な製剤の候補を挙げており、②・④は特許申請も含め検討中である。また診断技術も超音波

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

に関して有用な技術開発がありこれも特許申請につき調整中である。まずは診断技術に関して臨床研究開始予定である。

## (2) 研究組織

研究代表者の藤元が研究全体を統括し、以下の研究体制が構築されている。

- ・ 研究代表者（研究統括）：藤元治朗（外科学）
- ・ 研究分担者：①安田好文（免疫学）、②廣田誠一（病理学）、③西口修平（内科学）、④飯島尋子（内科学）、⑤廣田省三（放射線科学）：平成 29 年 3 月 31 日定年退職により山門享一郎（放射線学）に変更、⑥長谷川誠紀（外科学）、⑦池内浩基（外科学）、⑧石亦祐（米国 Cedars Sinai 研究所：免疫・消化器病学）、⑨河畑茂樹（アステラス製薬：薬学）

研究分担・チーム構成概略は以下である。

### [I] 癒着形成分子機構解明と新規癒着制御技術開発

- (1) 癒着形成分子機構解析：安田・廣田（誠）・藤元治朗・石
- (2) 癒着制御技術開発：石・西口・安田・藤元
- (3) 癒着制御創薬およびリポジショニング：河畑・藤元

### [II] 臨床における癒着の非侵襲的診断技術開発と探索医療

- (1) 臨床術後癒着の診断：飯島・山門・長谷川・藤元
- (2) 癒着制御の探索医療の検討：池内・長谷川・藤元

本研究プロジェクトに参加する人員数は以下に示されるとおりであり、それぞれの研究チームにおいて分担の役割を実施している。また、各研究分担者から研究進捗状況は統括者の藤元に知らされ、その都度に得られたデータにつき討議している。原則として月に 2 回、金曜日 14 時から 16 時半、得られたデータ解析・それに基づいた実験計画を検討している（癒着リサーチカンファレンス）。海外共同研究機関（米国・Cedars Sinai 研究所）とは渡米または訪日機会を利用して石と藤元は定期的に直接にデータ交換・討議を実施してきた。

（研究参加人員数：かっこ内は大学院生）

肝胆膵外科：9 名（2 名）、実験補助 1 名、②免疫：5 名（1 名）、③病理：2 名（1 名）、④肝胆膵内科：3 名、⑤内科・超音波センター：3 名、⑥放射線：3 名、⑦呼吸器外科：4 名、⑧ I B D 外科：5 人（3 人）⑨ Cedars-Sinai：3 名

## (3) 研究施設・設備等

肝胆膵外科：細胞・分子・形態学研究室

放射線・CT/MR 室・PET センター：1800 m<sup>2</sup>

島津 LC システム一式、島津 GC システム一式/ 週 1 回・2 時間

## (4) 研究成果の概要 ※下記、13 及び 14 に対応する成果には下線及び \* を付すこと。

### [I] 癒着形成分子機構解明と新規癒着制御技術開発

① マウス腸管癒着モデルを用い、現時点で以下の点が明らかになりつつある。腹腔内においていかなる細胞が癒着の根本である線維形成に関与しているか不明であったが、X1 細胞である可能性が高い。X1 は腸管癒着手術（腸管部分焼却術：以下癒着手術）の刺

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

激にて増殖・分裂、また X1 細胞自身が線維産生（線維化）している可能性が示された。培養 X1 細胞系を用いて遺伝子解析すると線維化に重要な因子である TGF- $\beta$ , PDGF などに対する受容体を高発現していることが判明した。またこの X1 細胞は腸管において筋線維芽細胞に裏打ちされていた。肝臓の線維化には肝星細胞が深く関与し、星細胞自身が線維組織になることが明らかとなっているが、術後癒着において X1 細胞が線維形成にかかわることが明らかになりつつある。（論文投稿中であり X1 細胞と表現しました）

主に線維形成細胞の同定に関しては免疫染色・蛍光 2 重または 3 重免疫染色により研究を実施してきた。現時点で X1 細胞の可能性が高くなったので、X1 細胞に特異的に発現する遺伝子の下流に cre-loxP/ GFP トランスジェニックマウス（以下 Tx-mouse）を用い癒着実験を実施、線維形成細胞は X1 細胞由来であることをつきとめた。

さらにリガンド側の細胞の候補も同定しつつあり（X2 細胞）、X2-X1 細胞の相互作用が線維形成分子機構の一つと考えられる。X2 細胞に対する抗体を使用すると X2 細胞の浸潤が著明に抑制され、かつ癒着が制御されていた。この実験系においてサイトカイン・ケモカイン・IFN- $\gamma$ ・PAI-1・TGF- $\beta$  など重要分子の動態を検証した結果、IL-2 が線維形成の起点となることをつきとめた。

#### ②リポジショニング薬剤について

(1) dexamethasone: 通常は抗炎症作用はじめ多彩な作用を示す薬剤であるが、マウス癒着モデルにおいて癒着抑制効果を示すことが判明し、有用な候補である。

(2) FK 506: 免疫抑制剤、単独では効果は示さずステロイドとの組み合わせでは癒着抑制作用は示したが、マウス死亡例（腸管穿孔）もあり、臨床には不可と判断した。

(3) 大建中湯: 腸管運動を改善する漢方薬として知られており、術後に使用されているが、本癒着モデルにおいては癒着抑制効果は示さなかった（論文掲載）。

(4) IL-6 に対する抗受容体抗体であるが、抗体供給量の関係から実施マウス数は少ないが良好な効果を認めており、特許出願済みである

(5) X3: 血液凝固系制御薬剤であるが癒着抑制効果を認め、近日特許出願予定である。

#### [II] 臨床における癒着の非侵襲的診断技術開発と探索医療

① 超音波検査: 臓器追跡移動距離定量化装置を東芝（現キャノン）と開発、マウス・ラット癒着モデルにて有用性が認められ、特許申請済み。現在ヒトでの有用性の検証を実施している。

② 腹部 CT など放射線検査: 腹部 CT では腹部創部直下の脂肪組織減弱に注目、手術創有無の患者腹部 CT 解析において有意差を認めている。また、矢状断解析にて癒着例では腹壁創部との癒着を捉えうる可能性があり。この点に関してさらに検討を進めている。

#### [分担研究者の成果]

##### (1) 外科チーム

\* 1. UC に対する大腸全摘・J 型回腸囊肛門吻合術後の長期経過 -多施設共同研究-

2005 年 1 月から 2014 年 12 月までに全国 13 施設で行った 2376 例を対象に検討を行った。経過観察期間は平均 6.7 年で、27 例が術後の pouch 機能不全となり、永久人工肛門となっており、累積 10 年の pouch 機能率は 95.8% であった。Pouch 機能不全となる要因を多変量解析で解析すると術後合併症よりも術後にクローン病に病名変更となった症例が独立した危険因

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

子であることが明らかとなった。優れた成果が上がった点:2376 例という多数例での検討で、pouch 機能不全となる要因を明らかにできたこと。課題となった点:多数例での検討ではあるが、本研究が retrospective な検討であること。

悪性胸膜中皮腫の PDX 作製法の確立に着手。細胞株を免疫不全マウスへ移植し、生着した腫瘍を用いる実験系を確立。癒着因子を測定し、癒着接着傾向が強い細胞(株)を確認した。細胞周期、阻害因子の作用等の解析が今後必要である。

並行して、呼吸器外科領域の臨床における手術後癒着の状況を集積した。前回手術の創の位置、大きさを記録し、再開胸手術時に癒着の有無、癒着範囲(面積または創の長さ(縦・横 cm)、癒着剥離時間、出血量を測定。

診療録から、術後エアリーク有無とドレーン抜去日などの因子を記録。また、切除標本より組織と血液を採取し、保存。これらは対照となる初回手術例も含む。現時点で対照症例は未だ少なく、十分な解析に至っていない。

## (2)内科チーム

当科では肝線維化についての機序の研究を行った。またプロジェクトの関連事項として線維化の臨床的意義についても検討した。直接的な癒着の機序解明には至らなかったが、本研究に加わることで、肝線維化の臨床研究が活性化し、複数の論文発表につながった。優れた成果が上がった点:上記のように間接的な成果のため「その他の研究成果」ということにはなるが、本研究への参加によって、多くの肝線維化関連の研究成果を得ることができた。課題となった点:癒着研究への直接的な貢献を目指した線維化の機序解明については、現時点で十分な結果は得られていない。

## (3)免疫チーム

子宮内膜症は生殖年齢女性の約 10%に発生する疾患であり、子宮外での子宮内膜組織による嚢胞形成と癒着に伴う腹痛を特徴とし、不妊症や卵巣癌の原因疾患として治療対象となっている。近年、本症の病因の一つとして免疫学的機構の破綻が推測されてきたが、その詳細は依然不明のままである。そこで本研究では、IL-1/IL-33 およびそのシグナル伝達の阻害剤が子宮内膜症の発症予防と治療的抑制に有効であることを示すことで、子宮内膜症の治療標的としての IL-1/IL-33 の有用性を明らかにする。マウス子宮内膜症モデルを作製し、種々の遺伝子組換えマウスを用いて子宮内膜症発症における MyD88 関連分子の役割を解析した。MyD88 欠損マウスでは子宮内膜症病変形成が著しく抑制された。シグナル伝達に MyD88 を用いる上流の分子を検討したところ、IL-1R、IL-33 が病変形成に重要であり、IL-18 や TLR4 は関与が認められなかった。優れた成果が上がった点:IL-1R に対する抗体あるいは MyD88 の下流のシグナル伝達分子である IRAK4 に対する抑制剤を用いることで病変形成を抑制できた(\*1)。特に、IRAK4 抑制剤は病変形成後の病変増大も抑制できることから、将来的な臨床応用に期待できる。課題となった点:IL-1 や IL-33 によって病変組織の子宮内膜上皮細胞の増殖が促進されることがわかったが、そのメカニズムが不明である。

## (4)放射線科チーム

術後癒着の画像評価を MRI を用いて行うことを試みた。MRI を用いた理由の一つは MRI は放射線被曝がないため検査を低侵襲で繰り返し行うことができることがあげられる。先行研究で、術後癒着の画像評価法にはシネ MRI(数秒ごとに撮影した MRI 像を連続でムービー様に表示したもの)を用いた定性的評価がなされてきた。しかし、癒着の定量評価が出来る画像評価法は確立されていない。術後癒着部位、癒着の程度を客観的に定量的に評価できれば、症状との対比や経過観察、癒着治療の効果評価に非常に有用である。そこで、本研究では、MRI を用いて術後癒着の画像評価法を開発することを目的とした。

画像評価法として以下の 2 方法を試みた。

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

(1) 拡散強調画像による腸管の早期の炎症評価の可否の評価。

以下のシーケンスを用いて腹部 MRI 画像を撮像する。炎症が存在すれば更新号病変として病変部位が描出されるはずである。

FOV = 380×80 mm, matrix = 112 × 112, slice thickness = 8mm, slice gap = 1 mm, repetition time/echo time = 5000/66 ms, diffusion encoding direction = 3, b-values = 0 s/mm<sup>2</sup> (average, 3) and 1000 s/mm<sup>2</sup> (average, 9), Imaging mode=EPI

FOV = 380×80 mm, matrix = 112 × 112, slice thickness = 8mm, slice gap = 1 mm, repetition time/echo time = 4534/76 ms, diffusion encoding direction = 3, b-values = 0 s/mm<sup>2</sup> (average, 3) and 1000 s/mm<sup>2</sup> (average, 9), Imaging mode=multi-Shot EPI,EPI factor=2

FOV = 380×80 mm, matrix = 112 × 112, slice thickness = 8mm, slice gap = 1 mm, repetition time/echo time = 5000/57 ms, diffusion encoding direction = 3, b-values = 0 s/mm<sup>2</sup> (average, 3) and 1000 s/mm<sup>2</sup> (average, 9), Imaging mode=TSE single shot

(2)シネ MRI を用いた腸管移動距離の定量評価。

息止め下にて CINE MRI で腸管の動態を撮影する。

矢状断(Balanced-FFE または T2WI)で、計 3 カ所を撮影(臍レベルの正中、上行結腸及び下行結腸を端としてそれぞれ左右 1 カ所)。次に冠状断(Balanced-FFE または T2WI)を腸管全体含めて撮影。撮影技師及び医師が、これらの画像を評価し、肉眼的に動きの少ない腸管を特定する。同部の ROI を測定し、信号変化の波を評価する。

この動きが少ないと特定した腸管に対して、dynamic 撮影(Balanced-FFE または T2WI)を行う。また、コントロールとして腸管の動きがよく見られた部位も撮影する。

dynamic 撮影で得られた画像をワークステーション(Ray station)で解析、腸管の動きをベクトルで表示する。腸管の移動距離を評価する。

(1) 拡散強調 MR 画像による癒着の評価

5 人の健常者で、スピンエコー法、マルチショット法を用いた拡散強調画像を撮像した。しかし、腸管の蠕動と空気のアーチファクトのため、評価に値する画像を得ることができなかった。このため、本法を断念した。

(2) シネ MRI を用いた癒着の評価

シネ MRI を用いて腸管の動きをモニターし、移動距離を定量的に評価が可能かを評価した。現在まで健常者5人で評価を行った。20秒での腸管の動きを評価した。腸管運動の定性的な評価は可能であった。Ray station を用いて腸管運動をベクトル表示し、腸管の移動距離の測定を試みた。現在、ベクトルの定量評価について検討中である。優れた成果が上がった点:シネ MRI を用いて腸管の動きを定量的に評価することで癒着の程度を定量的に評価できる可能性が示された。課題となった点:(1) 拡散強調画像に変わる腸管の早期の炎症を評価できる画像の開拓。(2)今後、健常者と腸管癒着患者との腸管移動距離の差を評価し、定量評価を行う基準を設定する必要がある。

<優れた成果が上がった点>

特に優れた研究成果>

- (1) 癒着形成の根幹をなす線維形成細胞(X1細胞)をほぼ同定、トランスジェニックマウスでも検証され、X1細胞が線維形成細胞であることをつきとめた(論文投稿中)。
- (2) 線維形成指令細胞(X2細胞)を同定した。
- (3) X1細胞とX2細胞の分子応答メカニズムがあきらかになった(論文投稿中)。
- (4) 超音波診断につき特許申請済みであり、現在ヒトでの検証中である。
- (5) IL-6 受容体抗体に関し特許申請済みである。

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

#### <課題となった点>

##### 問題点とその克服方法>

- (1) 線維形成細胞X1が真にその役割を示すか否かが問題であったが、トランスジェニックマウス導入により解決した。
- (2) 超音波診断: マウス・ラットでは有用であったが、ヒトでは可能性は高いが不明である。臨床研究計画を組みヒトで検証中であるがプレリミナリーなデータでは癒着判定可能なデータがでている。

本研究で副次的ではあるが見逃せない点がある。それは「創傷治癒」との関係で、癒着とは表裏一体をなす大きな事項である。マウス皮膚欠損モデルにおいて創傷治癒との関連については検証、創傷治癒に IL-6 受容体抗体は影響を及ぼさないことが判明した。

#### <自己評価の実施結果と対応状況>

この5年間の研究において(1)術後癒着の細胞分子機構について全容をほぼ解明した。(2)治療標的分子として IL-6 受容体抗体に加え2種の分子を発見した(特許出願予定)。(3)超音波癒着診断ソフトを開発、臨床応用段階まで発展した。今後は臨床への橋渡し研究が課題となる。

#### <外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

平成29年2月20日に兵庫医科大学において中間評価会が開催された。参加者は野口光一学長はじめ内部審査委員4名(外科学・篠原尚教授、病理学・辻村亨教授、解剖学・八木秀司教授、内科学・三輪洋人教授)に加え外部委員として和歌山県立医大先端医学研究所・改正恒康が参加した。研究成果発表・質疑応答がありその後中間審査委員会が開催され、以下の回答を平成29年3月6日に得た。

[審査結果] 研究費補助を継続する

[評価委員会の意見] プロジェクト全体としての研究成果は高く評価できるものであり、研究費補助の継続に問題はないと判断する。審査当日プレゼンテーションの中では、各研究分担者の役割についての言及が少なかったため、研究継続にあたっては、プロジェクト内における各研究者の明確な役割分担とともに、適切な研究費配分となるようご配慮願いたい。

平成29年2月20日に学外有識者を含む評価委員5名により学長司会のもとで中間審査が開催された。審査委員会による留意事項と対応については項目15に記載。

対応状況: 上記の評価委員会の意見を受けて以下の具体的な対応を考慮する。

癒着における線維形成の基礎的研究に関しては免疫学・病理学・内科学と共同で実施、データ開示を実施しており、さらに深めたい。また米国の石教授とは研究代表者の藤元の渡米の際にデータプレゼン、評価・意見を受けており、また石教授が訪日に際に最新のデータ開示・意見交換を実施しており、さらに継続する。癒着超音波診断は円滑に共同研究が進んでいる。放射線診断はPETの新たな開発も考慮してきたが、今後はCTなど一般的に普段使用される放射線技術に焦点をあて、山門教授と癒着診断技術開発を実施する。免疫・病理の研究分担者とは日常的にデータ照会・討論を実施している。腸管癒着機構に関しては明らかになりつつあるのでこの分子機構を胸部術後癒着においても検討予定としたい。

#### <研究期間終了後の展望>

術後癒着形成の細胞分子機構がほぼ解明され、治療標的分子3種を同定した(IL-6 受容体抗体およびあと2分子)。非侵襲的癒着判定技術(超音波診断ソフト)も実用化しており、今後は臨床への橋渡し研究が必要とされる。

#### <研究成果の副次的効果>

(癒着の本態をなす X1 細胞は他の線維化(肝臓・膵臓)にも関与する可能性がある。



法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 術後癒着 (2) IL-6 受容体 (3) サイトカイン  
 (4) 創傷治癒 (5) 超音波 (6) TGF-β  
 (7) \_\_\_\_\_ (8) \_\_\_\_\_

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには\*を付すこと。

<雑誌論文>

- 1\*. Iijima H, Tada T, Kumada T, Kobayashi N, Yoshida M, Aoki T, Nishimura T, Nakano C, Ishii A, Takashima T, Sakai Y, Aizawa N, Nishikawa H, Ikeda N, Iwata Y, Enomoto H, Ide YH, Hirota S, Fujimoto J, Nishiguchi S. Comparison of liver stiffness assessment by transient elastography and shear wave elastography using six ultrasound devices. *Hepatol Res.* in press
2. Atono-Itou R, Uyama N, Hirota S, Kawada N, Wu S, Miyashita S, Nakamura I, Suzumura K, Sueoka H, Okada T, Hatano E, Tsutsui H, Fujimoto J. Immunohistochemical characterization of cancer-associated fibroblasts at the primary sites and in the metastatic lymph nodes of human intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hum Pathol.* 83:77-89, 2019.
- 3\* Kobayashi N, Iijima H, Tada T, Kumada T, Yoshida M, Aoki T, Nishimura T, Nakano C, Takata R, Yoh K, Ishii A, Takashima T, Sakai Y, Aizawa N, Nishikawa H, Ikeda N, Iwata Y, Enomoto H, Hirota S, Fujimoto J, Nishiguchi S. Changes in liver stiffness and steatosis among patients with hepatitis C virus infection who received direct-acting antiviral therapy and achieved sustained virological response. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 30:546-551, 2018.
4. Nishida T, Cho H, Hirota S, Masuzawa T, Chiguchi G, Tsujinaka T, Kinki GIST Study Group. Clinicopathological features and prognosis of primary GISTs with tumor rupture in the real world. *Ann Surg Oncol.* 25:1961-1969, 2018.
- \*5. Uchino M, Ikeuchi H, Sugita A, Futami K, Watanabe T, Fukushima K, Tatsumi K, Koganei K, Kimura H, Hata K, Takahashi K, Watanabe K, Mizushima T, Funayama Y, Higashi D, Araki T, Kusunoki M, Ueda T, Koyama F, Itabashi M, Nezu R, Suzuki Y. Pouch functional outcome after restorative proctocolectomy with ileal-pouch reconstruction in patients with ulcerative colitis: Japanese multi-center nationwide cohort study. *J Gastroenterol.* 2018;53:642-651.
- \*6. Ikeuchi H, Uchino M, Sugita A, Futami K, Fukushima K, Hata K, Koganei K, Kusunoki M, Uchida K, Nezu R, Kimura H, Takahashi K, Itabashi M, Kameyama H, Higashi D, Koyama F, Ueda T, Mizushima T, Suzuki Y. Long-term outcome following restorative proctocolectomy ileal pouch-anal anastomosis in pediatric ulcerative colitis patients: Multicenter national study in Japan. *Ann Gastroenterol Surg.* 2018;2:428-433.
7. Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H. Interleukin-18 in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 20(3). pii: E649. 2019
8. Yoshimoto T. The Hunt for the Source of Primary Interleukin-4: How We Discovered That Natural Killer T Cells and Basophils Determine T Helper Type 2 Cell Differentiation In Vivo. *Front Immunol.* 9:716. 2018
9. Hasegawa K, Nishikawa H, Enomoto H, Iwata Y, Sakai Y, Ikeda N, Takashima T, Aizawa N, Takata R, Yoh K, Ishii N, Yuri Y, Nishimura T, Iijima H, Hatano E, Fujimoto J, Nishiguchi S. Proposed model for the prediction of intrahepatic covalently closed circular DNA level in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2018 Oct 25.
10. Imai Y, Hosotani Y, Ishikawa H, Yasuda K, Nagai M, Jitsukawa O, Gomi F, Nakanishi K, Yoshimoto T, Nakamura T, Yamanishi K. Expression of IL-33 in ocular surface epithelium induces atopic keratoconjunctivitis with activation of group 2 innate lymphoid cells in mice. *Sci Rep.* 7(1):10053. 2017
11. Hasegawa K, Takata R, Nishikawa H, Enomoto H, Ishii A, Iwata Y, Miyamoto Y, Ishii N, Yuri Y, Nakano C, Nishimura T, Yoh K, Aizawa N, Sakai Y, Ikeda N, Takashima T, Iijima H, Nishiguchi S. Impact of Wisteria floribunda Agglutinin-Positive Mac-2-Binding Protein in Patients with Hepatitis C Virus-Related Compensated Liver Cirrhosis. *Int J Mol Sci.* 2016 Sep 12;17(9). pii: E1500.
12. Enomoto H, Aizawa N, Nakamura H, Takata R, Sakai Y, Iwata Y, Tanaka H, Ikeda N, Aoki T, Hasegawa K, Yoh K, Hashimoto K, Ishii A, Takashima T, Saito M, Imanishi H, Iijima H, Nishiguchi S. A new metabolism-related index correlates with the degree of liver fibrosis in hepatitis C virus-positive patients. *Gastroenterol Res Pract.* 2015;2015:926169.

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

13. Veeraveedu PT, Sanada S, Okuda K, Fu HY, Matsuzaki T, Araki R, Yamato M, Yasuda K, Sakata Y, Yoshimoto T, Minamino T. Ablation of IL-33 gene exacerbate myocardial remodeling in mice with heart failure induced by mechanical stress. *Biochem Pharmacol.* 138:73-80. 2017
14. Shimokawa C, Kanaya T, Hachisuka M, Ishiwata K, Hisaeda H, Kurashima Y, Kiyono H, Yoshimoto T, Kaisho T, Ohno H. Mast Cells Are Crucial for Induction of Group 2 Innate Lymphoid Cells and Clearance of Helminth Infections. *Immunity.* 46(5):863-874.e4. 2017
15. Aoki T, Fujimoto J, Nishiguchi S et al. Prediction of development of hepatocellular carcinoma using a new scoring system involving virtual touch quantification in patients with chronic liver diseases. *J Gastroenterol* 2017;52:104-12
16. Kurimoto A, Hai S, Fujimoto J et al. Parenchyma-preserving hepatectomy based on portal ramification and perfusion of the right anterior section: Preserving the ventral or dorsal area. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2016;23:158-66
17. Fujimoto J, Hai S, Hirano T, Iimuro Y, Yamanaka J. Anatomic liver resection of right paramedian sector: ventral and dorsal resection. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015;22:538-45
- 18\*. Yada A, Iimuro Y, Uyama N, Uda Y, Okada T, Fujimoto J. Splenectomy attenuates murine liver fibrosis with hypersplenism stimulating hepatic accumulation of Ly-6C<sup>lo</sup> macrophages. *J Hepatol* 2015;63:905-16
- 19\*. Ohashi K, Fujimoto J et al. Interferon $\gamma$  and plasminogen activator inhibitor 1 regulate adhesion formation after partial hepatectomy. *Brit J Surg* 2014;101:398-407
- 20\*. Sueoka H, Hirano T, Uda Y, Iimuro Y, Yamanaka J, Fujimoto J. Blockage of CXCR2 suppresses tumor growth of intrahepatic cholangiocellular carcinoma. *Surgery* 2014;155:640-9
- 21\*. Wu S, Uyama N, Itoh RA, Hatano E, Tsutsui H, Fujimoto J. The effect of Daikenchuto, Japanese herbal medicine, on adhesion formation induced by cecum cauterization and cecum abrasion in mice. *Biol Pharm Bull* 2019; 42: 179-186

<図書>

該当なし

<学会発表>

- 1\*. Fujimoto J. Liver producing plasminogen activator-1 (PAI-1) regulates adhesion formation after hepatectomy in patients underwent hepatectomy. The 24<sup>th</sup> World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists. December, Vienne, 2014
- 2\*. 宇山直樹、藤元治朗、他：大建中湯の盲腸焼却および擦過による癒着モデルを用いた癒着形成抑制効果の検討、第117回日本外科学会ワークショップ、2017
- 3\*. Fujimoto J. Kupffer cell dysfunction in patients with chronic liver disease: Investigating the phagocytic function using ultrasound contrast microbubbles. 19<sup>th</sup> International Symposium on Cells of the hepatic sinusoid. Galway, Ireland, 2017
- 4\*. Fujimoto J, Uyama N, et al.: Anti-IL-6 receptor monoclonal antibody robustly ameliorated postoperative adhesion formation in mice. The 14<sup>th</sup> Annual Academic Surgical Congress. Huston, 2019
- 5\*. Uyama N, Fujimoto J, et al: IL-6 may regulate adhesion formation induced by cecum cauterization in mice. The 14<sup>th</sup> Annual Academic Surgical Congress. Huston, 2019

<研究成果の公開状況>(上記以外)

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

<既に実施しているもの>

特許出願(2件出願済み、および2件出願予定)・論文投稿中(2編)であり、未だインターネット上では未公開

<これから実施する予定のもの>

第119回日本外科学会・特別企画「外科医の研究のあり方」で公開予定

#### 14 その他の研究成果等

特許出願

(1) (2017.10.20出願) 出願番号2017-203271 「抗IL-6受容体抗体を含有する術後の癒着を抑制するための医薬組成物」 発明者：藤元治朗、善本知広、宇山直樹

(2) (2017.11.15出願) 出願番号2017-220280 「解析装置及び解析プログラム」 発明者：五十嵐悠、渡辺正毅、本庄泰徳、川岸哲也、飯島尋子、藤元治朗

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

## 15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

該当なし

<「選定時」に付された留意事項への対応>

該当なし

<「中間評価時」に付された留意事項>

プロジェクト全体としての研究成果は高く評価できるものであり、研究費補助の継続に問題はないものと判断する。審査当日(H29年2月20日)プレゼンテーションの中では各研究分担者の役割についての言及が少なかったため、研究継続にあたっては、プロジェクト内における各研究者の明確な役割分担と共に、適切な研究費配分となるようにご配慮願いたい。

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

中間評価時にいただいた上記留意事項をもとに各分担研究者の研究進捗状況の報告を求め、全体の研究推進に役立てた。

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

## 16 施設・装置・設備・研究費の支出状況(実績概要)

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備考
		法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他( )	
平成26年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	39,000	14,938	24,062				
	研究費	59,959	28,959	25,000		6,000		
平成27年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	39,999	21,999	15,000		3,000		
平成28年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	35,520	18,120	15,400		2,000		
平成29年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	35,261	14,000	16,900		4,361		
平成30年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	35,264	10,000	16,900		8,364		
総額	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	39,000	14,938	24,062	0	0	0	0
	研究費	206,003	93,078	89,200	0	0	23,725	0
総計	245,003	108,016	113,262	0	0	23,725	0	

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

- 17 施設・装置・設備の整備状況（私学助成を受けたものはすべて記載してください。）  
《施設》（私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。）（千円）

施設の名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

\_\_\_\_\_ m<sup>2</sup>

《装置・設備》（私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。）（千円）

装置・設備の名称	整備年度	型 番	台 数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)				h h h h			
(研究設備) スペクトル型セルアナライザー	平成26年	SP6800ZE	1	850	39,000	24,062	私学助成
(情報処理関係設備)				h h h h h h h			

- 18 研究費の支出状況（千円）

年 度	平成 26 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	18,686	実験、研究	18,686
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	4	連絡費用	4
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費	2,019	研究旅費	2,019
報 酬 ・ 委 託 料	1,597	研究	1,597
(修繕費・その他)	46		
計	22,352		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 (兼務職員)	3,932	実験補助	3,932
教育研究経費支出			
計	3,932		
設 備 関 係 支 出 (1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	33,675	研究機器	33,675
図 書			
計	33,675		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント			
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	0		

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

## 18 研究費の支出状況

(千円)

年 度	平成 27 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	26,889	実験、研究	26,889
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費			
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費	1,305	研究旅費	1,305
報 酬 ・ 委 託 料	1,007	機器点検	1,007
( 修 繕 費 ・ そ の 他 )	93	機器修理	93
計	29,294		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 ( 兼 務 職 員 )	7,456	実験補助	7,456
教育研究経費支出			
計	7,456		
設 備 関 係 支 出 ( 1 個 又 は 1 組 の 価 格 が 5 0 0 万 円 未 満 の も の )			
教育研究用機器備品	2,046	研究機器	2,046
図 書			
計	2,046		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント	1,203		1,203
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	1,203		

## 18 研究費の支出状況

(千円)

年 度	平成 28 年度		
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳	
		主 な 使 途	金 額
教 育 研 究 経 費 支 出			
消 耗 品 費	20,717	実験、研究	20,717
光 熱 水 費			
通 信 運 搬 費	0	連絡費用	0
印 刷 製 本 費			
旅 費 交 通 費	492	研究旅費	492
報 酬 ・ 委 託 料	58	研究	58
( 修 繕 費 )	196	機器修理	196
計	21,463		
ア ル バ イ ト 関 係 支 出			
人 件 費 支 出 ( 兼 務 職 員 )	10,389	実験補助	10,389
教育研究経費支出			
計	10,389		
設 備 関 係 支 出 ( 1 個 又 は 1 組 の 価 格 が 5 0 0 万 円 未 満 の も の )			
教育研究用機器備品	2,566	研究機器	2,566
図 書			
計	2,566		
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出			
リサーチ・アシスタント	1,102		1,102
ポスト・ドクター			
研究支援推進経費			
計	1,102		

法人番号	281018
プロジェクト番号	S1411040

## 18 研究費の支出状況 (千円)

年 度	平成 29 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	19,839	実験、研究	19,839	マウス、抗体、試薬等
光 熱 水 費				
通 信 運 搬 費				
印 刷 製 本 費				
旅 費 交 通 費	1,302	研究旅費	1,302	成果発表、情報収集等
報 酬・委 託 料 (諸会費・修繕費)	227	学会参加費、機器修理	227	学会参加費、機器修理等
計	21,368			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	7,078	実験補助	7,078	時給 1,100~1,500円, 年間時間数 4,586時間 実人数 5人
教育研究経費支出				
計	7,078			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	1,654	研究機器	1,654	顕微鏡用デジカメ用パソコン、ディスプレイ1式等
図 書	0	雑誌	0	雑誌
計	1,654			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	1,202		1,202	学内1人
ポスト・ドクター	3,959		3,959	学内1人
研究支援推進経費				
計	5,161			学内2人

## 18 研究費の支出状況 (千円)

年 度	平成 30 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	16,154	実験、研究	16,154	マウス、抗体、試薬等
光 熱 水 費				
通 信 運 搬 費	1	連絡費用	1	宅急便
印 刷 製 本 費				
旅 費 交 通 費	1,033	研究旅費	1,033	成果発表、情報収集等
報 酬・委 託 料	79	研究	79	検査料等
諸会費・支払手数料	324	諸会費、手数料	324	学会参加費、英文校正料
計	17,591			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	3,044	実験補助	3,044	時給 1,100~1,500円, 年間時間数 2,221時間 実人数 4人
教育研究経費支出				
計	3,044			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	9,387	研究機器	9,387	リアルタイムPCRシステム一式 等
図 書	52	論文掲載	52	論文掲載
計	9,439			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	1,357		1,357	学内1人
ポスト・ドクター	3,833		3,833	学内1人
研究支援推進経費				
計	5,190			学内1人