

を強く誘導し、炎症に関係すると考えられている interleukin 18をコードする 遺伝子(11q22.2-q22.3)^{10) 11)}を候補遺伝子とし解析した。UC患者群、CD患者群、非罹患コントロール(DFC)群の3群に分け、対立遺伝子の頻度を基に統計的解析を行った。IL-1RA遺伝子はイントロン2のvariable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism を用い多型解析を行った。対象はUC患者群55例、CD患者群112例、DFC群66例であった。IL-2遺伝子多型はコドン38のCTG/CTT多型を用いた。対象はUC患者群45例、CD患者群45例、DFC群41例であった。TNFR1遺伝子、TNFR2遺伝子、IL-18遺伝子においてそれぞれコドン82のCCA/CCG多型、3'非翻訳領域の2箇所が存在するnt1466;G/A、nt1493C/T多型、コドン35TCC/TCA多型を用い、UC群62例、CD群116例、DFC群73例の解析を行った。統計的解析は χ^2 検定を用いた。IL-2遺伝子、TNFR1遺伝子、IL-18遺伝子については全翻訳領域のDNAシーケンス解析を行い、遺伝子変異検出の同定を行った。

[結 果]

1) Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1RA) 遺伝子のイントロン2のvariable number of tandem repeat(VNTR) polymorphism を用いた多型解析ではUC患者群、CD患者群、DFC群の各群間に有意差は認められなかった。2) interleukin 2(IL-2)遺伝子コドン38のCTG/CTT多型ではUC患者およびCD患者においてCTTアレル頻度が非罹患コントロール群より高い傾向があるが、統計的に有意な差はみられなかった。3) tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1) 遺伝子のコドン82のCCA/CCG多型においてCD患者群でCCAアレル頻度がUC患者群、DFC群より高く、統計的にUC群との間に有意の差を認めた(表1)。4) tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2) 遺伝子の3'非翻訳領域に存在する2つの遺伝子多型、nt1466;G/, nt1493C/T多型有意のを用いた解析で各群間に有意な差は認めなかった。5) interleukin-18遺伝子のコドン35のTCC/TCA多型ではCD患者群でTCCアレルが有意に他の2群より高かったことが明らかとなった(表2)。6) IL-2遺伝子、TNFR1遺伝子、IL-18遺伝子の全翻訳領域のDNAシーケンス解析でアミノ酸配列に変化をきたす遺伝子変異は認めなかった(表3)。

[考案・結論]

Interleukin 1 receptor antagonist 遺伝子、interleukin 2 遺伝子、tumor necrosis factor recep-

tor 1 遺伝子、tumor necrosis factor receptor 2 遺伝子、interleukin 18 遺伝子が炎症性腸疾患発症の遺伝的背景になりうるかを検討した。Interleukin 1 receptor antagonist 遺伝子、interleukin 2 遺伝子、tumor necrosis factor receptor 2 遺伝子においては疾患と遺伝子多型の解析結果の間に有意な相関は見いだせなかった。tumor necrosis factor receptor 1 遺伝子ではCD患者群とUC患者群の間に有意差を認めた。interleukin 18 遺伝子の多型解析で、CD患者群とUC患者群間、あるいはCD患者群とDFC群間で遺伝子頻度・遺伝子型に有意差が認められ、特に女性の解析で顕著な差を認めた。この結果は炎症性腸疾患の遺伝的背景の一端を示している可能性がある。しかし、tumor necrosis factor receptor 2 遺伝子、interleukin 18 遺伝子の全翻訳領域のDNAシーケンス解析結果でアミノ酸配列に変化をきたす遺伝子変異は検出されておらず、これらの遺伝子の上流

表1 TNFR1 gene polymorphism in inflammatory bowel disease: Allele frequency (%)

Group	Codon 82		
	Allele 1 (CCA)	Allele 2 (CCG)	
Ulcerative colitis (124 alleles)	79.8	20.2	$p = 0.03$ NS $p = 0.729$
Crohn's disease (232 alleles)	88.4	11.6	
Disease-free-control (146 alleles)	81.5	18.5	

表2 IL-18 gene polymorphism in inflammatory bowel disease: Allele frequency (%)

Group	Codon 35		
	Allele 1 (TCC)	Allele 2 (TCA)	
Ulcerative colitis (124 alleles)	11.6	88.3	$p = 0.0257$ NS $p = 0.0212$ $p = 0.8155$
Crohn's disease (232 alleles)	23.4	76.6	
Disease-free-control (146 alleles)	12.7	87.3	

表3 Results of detection of gene mutations and association analysis

GENE	LOCUS	MUTATION	ASSOCIATION	
			ALLELE FREQUENCY	GENOTYPE
TNFR2	1p36.3-p36.2	(-)	(-)	(-)
IL-1RA	2q14.2	(-)	(-)	(-)
IL-2	4q26-q27	(-)	(-)	(-)
IL-18	11q	(-)	(+)	(+) CD:DFC, CD:UC
TNFR1	12p13.2	(-)	(+)	(+) CD:UC

すなわち調節領域の検討や近傍に存在する遺伝子、さらにはこれらの産物と会合するであろう蛋白の解析が必要であると考え。

[参考文献]

- 1) Hugot J-P, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, et al: Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996;379: 821-823.
- 2) Satsangi J, Parkers M, Louis E, et al: Two stage genome-wide search in inflammatory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosome 3, 7, 12. *Nature Genet* 1996;14: 199-202.
- 3) Ohmen JD, Yang H-Y, Yamamoto KK, et al: Susceptibility locus for inflammatory bowel disease on chromosome 16 has a role in Crohn's disease, but not in ulcerative colitis. *Hum Mol Genet* 1996;5:1679-1683.
- 4) Cho JH, Nicolae DL, Gold LH, et al: Identification of novel susceptibility loci for inflammatory bowel disease on chromosomes 1p, 3q, and 4q: Evidence for epistasis between 1p and IBD1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:7502-7507.
- 5) Mansfield JC, Holden H, Tarlow JK, et al: Novel genetic association between ulcerative colitis and the anti-inflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist. *Gastroenterol* 1994;106: 637-642.
- 6) Satsangi J, Welsh KI, Bunce M, et al: Contribution of genes of the major histocompatibility complex to susceptibility and disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Lancet* 1996; 347:1212-1217.
- 7) Plevy SE, Targan SR, Yang H, et al: Tumor necrosis factor microsatellites define a Crohn's disease-associated haplotype on chromosome 6. *Gastroenterol* 1996;110:1053-1060.
- 8) Satsangi J, Roussomoustakaki M, Parkers M, et al: Cytokine gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Gut* 1996;39:705-710.
- 9) Sadlack B, Merz H, Schorle H, et al: Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell* 1993;75:253-261.
- 10) Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, et al: Cloning of a new cytokine that induces interferon- γ . *Nature* 1995;378:88-91.
- 11) Dinarello C, Novick D, Puren AJ, et al: Overview of interleukin-18: more than an interferon- γ inducing factor. *J Leukoc Biol* 1998;63:658-664.

Study of the genetic background of inflammatory bowel disease to approach its responsible genes.

Tamura Kazuo (Hyogo College of Medicine, Department of Genetics)

Sasio Hiroko (Hyogo College of Medicine, Department of Genetics)

Furuyama Jun-ici (Hyogo College of Medicine, Department of Genetics)

[Purpose] We have considered that etiology of inflammatory bowel diseases (ulcerative colitis and Crohn's disease) are associated with genetic background of some cytokine coding genes, e.g., interleukin 1 receptor antagonist (IL-1RA), interleukin 2(IL-2), tumor necrosis factor receptor 1(TNFR1), tumor necrosis factor receptor 2(TNFR2) and interleukin 18 gene. [Materials and Method] We studied differences of allele frequency and genotype of above mentioned genes among patients with ulcerative colitis(UC), those of Crohn's disease(CD), and disease-free- controls(DFC). IL-1RA gene was examined variable number of tandem repeat polymorphism among 55, 112, and 66 individuals respectively. IL-2 gene was examined polymorphism of codon 38 among 45, 45, and 41 individuals respectively. TNFR1, TNFR2 and IL-18 was examined polymorphism among 62, 116, and 73 individuals respectively. Moreover, we analyzed DNA sequencing of entire coding region of IL-2 gene, TNFR1 gene and IL-18 gene. [Results]

There are not any significant differences of allele frequency and genotype in IL-1RA gene, IL-2 gene and TNFR2 gene among three groups. We identified a significant difference of allele frequency and genotype between UC group and CD group on association study of TNFR1 gene, in especially male subjects. We found out a significant difference of allele frequency and genotype between CD group and DFC group in IL-18 gene, in especially female subjects. We did not detect any alterations of DNA sequence resulted in change amino acid sequence. [Discussion & Conclusion] According to association study of TNFR1 gene and IL-18 gene, we obtained suggestive information which might lead to elucidate etiology of inflammatory boewel diseses. But, we have not found any genetic alterations resulted in change of amino acid sequence of those genes. Hereafter, it is necessary that we study the regulatory sequence and the vicinal genes. Moreover, we have to examine genes whose products associate with those cytokines and receptors.

腸管特異的なプロモーターを用いた IL-12p40トランスジェニックマウスの作製

樋 渡 信 夫* 相 原 裕 之* 豊 田 隆 謙*

要 旨: [目的] 近年、ヘルパーT細胞をそのサイトカイン分泌パターンから、主として細胞性免疫に関与するTh1と液性免疫に関与するTh2とに分類し、このバランスにおいて炎症性腸疾患の病態が論じられることが多くなってきている。IL-12はTh1とTh2のバランスを考える上で重要なサイトカインの1つと考えられている。腸管粘膜におけるIL-12の役割を詳細に検討するため、腸管特異的なプロモーターを用いて、IL-12p40を大腸、小腸で過剰発現するトランスジェニックマウスを作製し検討した。[方法] thymic leukemic antigenの1つであるT3b遺伝子のプロモーター下にマウスIL-12p40のcDNAを発現するようなDNAを構築する。これをBDF1マウスの受精卵にマイクロインジェクションしてトランスジェニックマウスを作製し、腸管でのトランスジェニックの発現パターンを調べる。[成績] tail DNAを用いたスクリーニングの結果7系統のトランスジェニックマウスが得られ、うち4系統で次世代が得られた。主要臓器でのノーザンブロットおよびRT-PCRでは、いずれの系でも腸管、特に大腸でトランスジェニック由来のIL-12p40のmRNAが強く発現していた。IL-12p40に対するモノクローナル抗体を用いた大腸での免疫染色では、主に上皮細胞が染色された。また血清中のIL-12をELISAで測定したが、トランスジェニックマウスでは有意に高い値を示した。[結論] 腸管特異的に発現するようなプロモーターは、主に小腸で発現するfatty acid binding proteinプロモーターが知られている。今回我々が用いたT3bプロモーターは、特に大腸上皮で発現が高く、ある遺伝子を大腸で発現させて解析を行いたい時に非常に有用と考えられる。今後、このマウスを用いて慢性腸炎におけるIL-12の役割の検討が可能となった。

KEYWORD: 炎症性腸疾患, トランスジェニックマウス, 組織特異的プロモーター, IL-12

【背 景】

潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患は、現在のところ病因不明であるが、免疫学の進歩により病態の解明が進んできた。この病態、慢性化因子、癌化因子などの検討のために、化学物質投与や、IL-2やIL-10ノックアウトマウス、各種トランスジェニック動物などさまざまな動物モデルが利用されている。なかでも硫酸多糖体である硫酸デキストランは、マウスやラットに経口投与することによって大腸に限局した炎症を起こし、直腸を中心とした左側結腸中心の炎症、長期投与により癌化がみられるなどヒトの潰瘍性大腸炎に類似した腸炎を誘導でき、潰瘍性大腸炎の病態解明に有効であると考えられている。硫酸デキストラン腸炎については免疫担当細胞やサイトカインを中心とした研究がなされており、SCIDマウスや肥満細胞欠損マウスに硫酸デキストランを

投与した研究などの報告がなされており、腸管粘膜でのTh1細胞の活性化が腸炎を惹起すると推察されている。また、TNBS(2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸)をエタノールとともに経肛門的に投与することにより、クローン病類似の慢性腸炎が誘導されることが知られている。この実験性腸炎はもともとラットで行われていたが、近年ではマウスにも導入されてきている。この炎症はTh1優位の炎症であると考えられており、これまでの実験から、IL-12抗体やIL-10を投与することによってTh0からTh1への反応を阻害することによってこの炎症を抑制することができることなどが報告されている¹⁾。IL-12は主としてマクロファージから産生されるサイトカインで通常p35とp40のheterodimerを形成しており、Th0細胞に作用して細胞性免疫に関与するTh1細胞への分化誘導を行うと考えられている。最近IL-12のノックアウトマウスが作製され、このマウスではTh1への反応が低下していることが確認されている。またin

* 東北大学医学部, 第三内科

vitroの実験であるが、IL-12p40のhomodimerはIL-12レセプターにアンタゴニストとして作用しTh1への分化誘導反応を阻害するという、heterodimerとは逆の作用があることがヒトやマウスの系で報告されている²⁾。

【目 的】

本研究では、IL-12p40を腸管で過剰発現するトランスジェニックマウスを作製し、デキストラン硫酸やTNBSによる腸炎に關与する免疫担当細胞やサイトカインの変化を、粘膜固有層のリンパ球を中心に解析することを目的とした。これによりin vivo、特に腸管粘膜でのIL-12p40の働きを検討することはもとより、炎症性腸疾患の病態について免疫学的にアプローチすることが可能と思われる³⁾。

【方法・成績】

トランスジェニックマウスはDNAのマイクロインジェクション法によって作製した。腸管特異的発現のために、thymic leukemic antigenの1つであるT3bプロモーターを使用した。このthymic leukemic antigenは非古典的なMHC class IIに属し、正常マウスでは腸管上皮と胸腺で発現がみられることが知られている⁴⁾。約2.8kbのプロモーター下にラビットのベータグロブリンのイントロンをはさみ、その下流にIL-12p40のcDNAを発現するような全長約5.0kbのDNAを作製した。このDNAを5ng/ μ lに精製し、BDF1マウスの受精卵224個にマイクロインジェクションし、うち生き残った174個を偽妊娠マウスに卵管移植した。20日後に計26匹のマウスが産まれた。注入した遺伝子が染色体に組み込まれているかどうかをみるために、4週齢のマウスの尾より抽出したDNAを用いてPCRによるスクリーニングを行った。その結果、6系統のトランスジェニックマウスが得られ、これをC57BL/6マウスと交配し、つぎの世代が得られた4系統(No.9, 13, 20, 24)についてプロモーター活性を中心に解析を行った。

F1マウスのDNAを抽出しサザンプロットを行い、トランスジーンの色体あたりのコピー数を検討したが、いずれのラインも数コピーであった。

得られたトランスジェニックマウス4系統間の大腸でのmRNAの発現を比較するために、ノーザンプロットを施行した。いずれも大腸でトランスジーン由来のp40のmRNAが強く発現していたが、中でもNo.13とNo.20の系で発現が強くみられた。このうちNo.20の系のマウスで主要臓器(胃、小腸、大腸、肝、脾、胸腺、肺、腎)間の比較を行ったが、大腸でもっとも発現が強く、小腸

でも弱く発現がみられた。

No.20の系のマウスでさらに臓器数を増やしてRT-PCRを半定量的に行った(脳、心、肺、胸腺、肝、脾、膵、腎、胃、小腸、大腸、精巣、筋、皮膚)。プライマーはmRNAのみがバンドとして検出されるようにイントロンをはさむように設計した。大腸、小腸で強く胃でも弱く発現が確認されたが、胸腺では発現がみられなかった。No.13の系のマウスでも行ったが、ほぼ同様の結果であった。

大腸を用いてIL-12p40に対するモノクローナル抗体を用いて免疫染色を行った。トランスジェニックマウスでは主に上皮細胞が染色され、その部分でトランスジーン由来のIL-12p40が発現していることが確認された。

total IL-12p40、すなわちIL-12p40のmonomer、IL-12p40とp35とのheterodimer、IL-12p40のhomodimerの全てを検出するようなIL-12のELISA kitでトランスジェニックマウスの血清中のIL-12を測定したところ、No.20でやや低いものの、トランスジェニックマウスではいずれも高い値を示した。

【考 察】

小腸特異的なプロモーターはfatty acid binding protein promoterが知られてるが、T3bプロモーターは大腸を含めた腸管で発現が高く、トランスジェニックマウスである遺伝子を大腸で発現させて解析を行いたい時に有用と考えられる。現在、解析のため、No.13と20の2系統でマウスを繁殖させている。また、1.5%デキストラン硫酸ナトリウムによる腸炎はトランスジェニックマウスとコントロールとの間に統計学的に有意な差がみられておらず、さらにサンプル数を増やしているところである。便の性状、肉眼的組織の炎症については明らかな違いがみられていない。今後は、顕微鏡的な組織の観察、ミエロペルオキシダーゼ活性測定による炎症の客観的評価、大腸の粘膜固有層のリンパ球のサイトカイン分泌パターンを調べていく予定である。TNBSによる腸炎については、TNBS腸炎の誘導自体がまだうまくいっていない状況である。また同じプロモーター下にIL-12のもう一つのサブユニットであるIL12p35を発現するトランスジェニックマウスの作製を試みたが、原因は不明であるが、こちらはトランスジェニックマウスが得られなかった。

【参考文献】

- 1) Heinzl FP, Hujer AM, Ahmed FN and Rerko RM: In vivo production and function of IL-12 p40 homodimers. J Immunol 1997;158:4381-4388.

- 2) Hershberg R, Eghtesady P, Sydora B, Brorson K, Cheroutre H, Modlin R and Kronenberg M: Expression of the thymus leukemia antigen in mouse intestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9727-9731.
- 3) Monteleone G, Biancone L, Marasco R, Morrone G, Marasco O, Luzzza F and Pallone F: Interleukin 12 is expressed and actively released by Crohn's disease intestinal lamina propria mononuclear cells. *Gastroenterology* 1997;112:1169-1178.
- 4) Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Stuber E and Strober W: Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *J Exp Med* 1995;182:1281-1290.

T3b promoter directs specific expression on intestinal epithelial cells in transgenic mice.

Hiwatashi Nobuo (Tohoku University School of Medicine, Third Department of Medicine)

Aihara Hiroyuki (Tohoku University School of Medicine, Third Department of Medicine)

Toyota Takayoshi (Tohoku University School of Medicine, Third Department of Medicine)

[Aims] To investigate the roles of IL-12p40 in chronic intestinal inflammation, we generated IL-12p40 transgenic mice using T3b promoter and determined the restricted expression of IL-12p40 to intestinal epithelial cells. [Methods & Results] T3b-IL-12p40 transgenic mice were produced by DNA microinjection into the pronuclei of BDF1 fertilized eggs. Transgene contains T3b promoter, rabbit β globin exon and intron, mouse IL-12p40 cDNA and rabbit β globin polyA. For screenings of founders, mouse tail DNA was isolated and typed by PCR using specific primer for the transgene. In consequence, six founders carrying this transgene were produced. Their phenotypes were almost normal. These mice were backcrossed with C57BL/6 mice, and next generations were obtained in four founders, line #9, #13, #20 and #24. The copy number of the transgene in mouse genome was determined by Southern blot analysis. As judged from hybridizing intensity of bands, the four transgenic mice carry less than 10 copys of the T3b-IL-12p40 construct. Northern blot analysis and RT-PCR were performed to examine mRNA expression derived from transgene. IL-12p40 mRNA was detected in large and small intestine of the transgenic mice. Except for gastrointestinal tract, mRNA derived from transgene was not detected in major organs including thymus. And immunohistochemical analysis of the large intestine derived from transgenic mouse and negtive littermate were conducted using IL-12 (p40/p70) monoclonal antibody, C15.6. The epithelial cells of the large intestine in transgenic mice was mainly stained by C15.6. [Conclusions] T3b promoter is very useful promoter for expressing transgene specifically in the intestinal epithelial cells.

炎症性腸疾患モデルとしてのインターロイキン1・レセプター・アンタゴニスト遺伝子欠損マウスの作成

向田直史* 飯笹久** 西堀宗樹*

要旨:炎症性腸疾患では、IL-1の活性阻害因子である、IL-1raが産生され、発症の抑制に働いている可能性が報告されている。炎症性腸疾患好発マウスを得ることを目的として、発生工学的的方法にてIL-1ra遺伝子を欠損させたマウスの作成を試みた。クローニングして得られた、マウスIL-1ra染色体遺伝子は、4つのエクソンからなっており、第2～4エクソンをネオマイシン耐性遺伝子にて置換するターゲット・ベクターを作成し、相同組み替えを利用して、IL-1ra遺伝子をヘテロで欠損しているマウスを得、これを掛け合わせて、ホモ接合マウスを得ることに成功した。得られたIL-1ra遺伝子欠損マウスは、出生時には大きな変化を認めず、その後の体重増加の速度が遅い傾向が認められた。硫酸デキストランを飲料水に混入して、摂取させると、野生型マウスに比較して、大腸粘膜への炎症性細胞浸潤が高度で、大腸での組織傷害も強いことから、IL-1ra遺伝子欠損マウスは、炎症性腸疾患の好発モデルとなりうる可能性が示唆された。

KEYWORD:インターロイキン1, インターロイキン1レセプター・アンタゴニスト, 相同組み替え, ES細胞, 遺伝子欠損マウス

【はじめに】

炎症性腸疾患の腸局所においては、IL-1・腫瘍壊死因子(TNF)などのいわゆる炎症性サイトカインの異常発現が認められることが報告されている。これらの炎症性サイトカインの産生・活性は種々の因子によってネガティブ・フィードバックされている。なかでもIL-1の内因性の阻害物質である、インターロイキン1・レセプター・アンタゴニスト(IL-1ra)発現異常と炎症性腸疾患発症と関係を示唆する以下のような報告がある。1)IL-1ra遺伝子は遺伝的多型を示すが、特定の遺伝的多型を示すヒトで、炎症性腸疾患の発症頻度が高い。2)内因性のIL-1raの活性を抗体で中和すると、フォルマリン-免疫複合体で誘導される、ウサギの実験的腸炎の症状が重篤になる。これらの結果は、局所で産生されるIL-1raの量が炎症性腸疾患の発症と関与していることを示唆している。

産生されるIL-1raの量はIL-1・TNFに比べ多量のため、抗体投与で活性を完全に抑制することは困難である上に、慢性炎症モデルでは抗体を頻回投与することは投与した異種抗体に対する抗体が生成されるなどの問題が

あるため、抗体投与実験によって内因性のIL-1raの病態生理作用を解明することは困難であると考えられる。このようなことから、今回われわれは、生体工学的的方法にてIL-1ra遺伝子を欠損させたマウスの作成を試みた。

【方 法】

1)マウスIL-1ra染色体遺伝子を、cDNAをプローブとして、マウスのgenomic DNAライブラリーよりクローニングし、その塩基配列を決定した。得られた染色体遺伝子は、ヒト染色体遺伝子と同様に4つのエクソンからなっており、コーディング領域のほとんどを含む第2～4エクソンをネオマイシン耐性遺伝子にて置換するターゲット・ベクターを作成した。

2)このターゲット・ベクターを用いて得られたヘテロ接合マウスを、交配し、得られたマウスについて、サザン法にて遺伝子型をスクリーニングした。

3)ホモ接合マウスと同腹のヘテロ接合マウスにデキストラン硫酸を混入した飲料水を自由摂取させ、5日後の大腸病変を肉眼的ならびにヘマトキシリン-エオシン染色した組織標本にて観察した。

* 金沢大学がん研、分子薬理

** 共立薬科大学

[結 果]

1) ヘテロ接合マウスを交配すると、ほぼ1:2:1の比率で、+/+, +/-, -/-のマウスが生まれた。このことから、IL-1ra遺伝子欠損は胎生致死の異常を引き起こさないと考えられた。

2) ホモ接合でIL-1ra遺伝子を欠損しているマウスは、野生型のlittermatesに比べると、体重増加の速度が生後4週目ころより遅い傾向が認められた。

3) ホモ接合でIL-1ra遺伝子を欠損してマウスと、野生型のlittermatesについて、末梢血・胸腺・脾臓でのリンパ球の分布を、フローサイトメーターにて検討したが、両者間では明らかな差は認めなかった。しかし、IL-1ra遺伝子欠損マウスでは、野生型のlittermateに比べて、末梢血での顆粒球の増加が認められた。

4) 未処置のままでは、IL-1ra遺伝子欠損マウスは、生後6ヵ月までは明らかな炎症性腸疾患の発症は認めなかった。

5) デキストラン硫酸を混入した飲料水を自由摂取させ、5日後の大腸病変を肉眼的ならびに組織学的に検討したところ、IL-1ra遺伝子欠損マウスでは、大腸粘膜下への炎症性細胞浸潤が、野生型のlittermateに比較して高度である上に、粘膜病変も高度であった。

[考案・結論]

今回の結果から、IL-1ra遺伝子欠損マウスでは、野性型マウスと比較して、デキストラン硫酸摂取時に、大腸粘膜への炎症性細胞の高度の浸潤が起き、その結果大腸粘膜での組織傷害も強いことがあきらかとなった。このような結果は、IL-1ra遺伝子欠損マウスが、炎症性腸疾患好発モデル動物として有用である可能性を示唆している。また、これらの結果は、ウサギの炎症性腸疾患モデルにおいて抗IL-1ra抗体投与によって、病像の悪化が認められるという報告と考え合わせると、内因性に産生されるIL-1raが炎症性腸疾患の発症に防御的に働いている可能性も示唆している。

炎症性腸疾患では好中球などの炎症性細胞の局所への強い浸潤が起きることが報告されている。今回の検討では、IL-1ra遺伝子欠損マウスの大腸粘膜に浸潤している細胞については、同定するには至っていないが、末梢血において顆粒球の増加が認められることを考えると、大腸粘膜へ浸潤している細胞は顆粒球が主体である可能性が考えられる。最近、Fasリガンドを介して、顆粒球浸潤を伴う強い炎症反応が生じ、しかもこのような反応の成立にはFasリガンドによるcaspaseの活性化を介したIL-1放出が関与していることが報告されている。このよう

な報告を考慮すると、IL-1の内因性阻害因子であるIL-1raが欠如することによって、IL-1の作用が抑制されないために、デキストラン硫酸摂取によって、過剰の炎症反応が生じる可能性も考えられる。

IL-8・MCAF/MCP-1という、それぞれ好中球、単球の遊走・活性化に強く働く、ケモカインを恒常的に発現しているトランスジェニック・マウスを、我々はすでに作成している。これらのマウスとIL-1ra遺伝子欠損マウスとを交配することによって、炎症性腸疾患様の病態が起きるかについても検討することによって、これらの白血球の炎症性腸疾患において果たす役割が一層解明されることが期待される。

[参考文献]

- 1) Fujioka N, Mukaida N, Harada A, et al: Preparation of specific antibodies against murine IL-1ra and the establishment as an endogenous regulator of bacteria-induced fulminant hepatitis in mice. *J Leukocyte Biol* 1995; 58: 90-98.
- 2) Mansfield JC, Holde H, Tarlow JK, et al: Novel genetic association between ulcerative colitis and the anti-inflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist. *Gastroenterology* 1994; 106: 637-642.
- 3) Heresbach D, Alizadeh M, Dabadie A, et al: Significance of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist genetic polymorphism in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1164-1169.
- 4) Ferretti M, Casini-Raggi V, Pizarro TT, et al: Neutralization of endogenous IL-1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis. *J Clin Invest* 1994; 94: 449-453.
- 5) Zahedi KA, Uhlar Cm, Rits M, et al: The mouse interleukin 1 receptor antagonist protein: gene structure and regulation in vitro. *Cytokine* 1994; 6: 1-9.
- 6) Miwa K, Asano M, Horai R, et al: Caspase 1-dependent IL-1b release and inflammation induced by the apoptosis inducer Fas ligand. *Nature Med* 1998; 4: 1287-1292.

Generation of mice deficient in interleukin-1 receptor antagonist gene as an animal model of inflammatory bowel diseases.

Mukaida Naofumi (Kanazawa University, Cancer Research Institute,
Department of Molecular Pharmacology)
Iizasa Hisashi (Kyoritsu College of Pharmacy)
Nishihori Hiroki (Kanazawa University, Cancer Research Institute,
Department of Molecular Pharmacology)

Several lines of evidence suggest that interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) has a protective role in the establishment of inflammatory bowel diseases by counteracting the actions of IL-1. In order to obtain mice prone to develop inflammatory bowel diseases, we generated mice deficient in IL-1ra gene by homologous recombination. We constructed targeting vector where the region spanning from the second to fourth exons was replaced with a neomycin resistant gene. By using the targeting vector, we obtained mice homozygously deficient in IL-1ra gene. Preliminary observations showed that homozygously-deficient mice exhibited growth retardation compared with wild-type littermates. Moreover, ingestion of dextran sulfate induced more marked inflammatory cell infiltration and tissue destruction in the intestinal mucosa in IL-1ra-deficient mice, compared with wild-type mice. These results suggest that IL-1ra-deficient mice may be prone to develop inflammatory bowel diseases.

クローン病の患者対照研究

古野純典*

要旨: [目的] 生活環境要因とクローン病の関連性を検討する。 [方法] 全国11施設において13~39歳のクローン病患者と10~39歳の病院対照173例について調査を実施した。自己式調査票を用いて、26食品項目の5年前の摂取頻度、幼少時の生活環境要因および喫煙習慣を調査した。 [結果] ファースト・フードおよび高砂糖食品の摂取はクローン病のリスクの高まりと関連しており、野菜・果物は予防的であった。幼少時の水洗トイレ設備はクローン病のリスク低下と関連していた。 [総括] 本研究は継続中であり、これらの結果は予備的なものである。しかし、クローン病の原因として重要な環境要因が本研究により明らかにされるものと期待される。

KEYWORD: クローン病, 患者対照研究, 食事, 生活環境

【はじめに】

クローン病の発症要因については、いくつかの仮説が提示されているが、その原因は不明である。欧米諸国においてもクローン病の疫学研究は少ないが(1)、わが国では砂糖消費との関連性を報告しているMatsuiらの研究(2)を除いて発症要因に関する疫学研究は報告がない。現在疑われている発症要因としては、砂糖消費、野菜・果物の低摂取、ファースト・フードなどの食事要因(3,4)、妊娠末期の麻疹感染(5)、乳幼児期の住環境の衛生状態(6)、およびアレルギー疾患の既往(7)が挙げられる。本研究の目的は、これらの生活環境要因とクローン病発生との関連性を検討することである。

【対象と方法】

全国11の施設で患者対照研究を実施した。症例群は発症後3年未満の15~34歳(受診時)のクローン病患者、対照群はクローン病患者1名に対して性、年齢(±3歳)および施設を合わせて発症後3年未満の病院患者2名を選ぶことにしたが、実際には年齢条件等を満たさない者についても調査された。なお、対照患者はがん、消化性潰瘍、慢性腸疾患、虫垂炎、アレルギー性疾患が受診の理由でないこととした。解析には13~39歳のクローン病患者82例と10~39歳の病院対照173例を用いた。

自己式質問調査票を用いて、26食品項目の5年前の摂取頻度(5段階の多肢選択回答)を本人から回答しても

らった。26食品項目は、ごはん、トースト・ロールパン、バターマーガリン、サンドイッチ、ハンバーガー・ホットドッグ、フライドチキン、フライドポテト、インスタントめん、魚、野菜サラダ、煮野菜、つけもの、果物、チョコレート、キャラメル・あめ、スナック菓子、ケーキ・洋菓子、菓子パン、まんじゅう・和菓子、コーヒー、緑茶、甘いジュース・コーラ、牛乳、ヨーグルトおよびアイスクリームである。個別の食品ごとの検討をさけるために、ファースト・フード(ハンバーガー、ホットドッグ、フライドチキン、フライドポテトおよびインスタントめん)、野菜(野菜サラダ、煮野菜およびつけもの)、高砂糖食品群(チョコレート、キャラメル・あめ、スナック菓子、ケーキ・洋菓子、菓子パン、まんじゅう・和菓子および甘いジュース・コーラならびにパン類(トースト・ロールパンおよびサンドイッチ)の食品群スコアをもとめた。食品群および食品の摂取は各レベルの人数ができるだけ等しくなるように3分類した。

既往症や幼少児の住環境などについては母親からの回答を求めた。質問項目としては、気管支ぜんそく、アトピー性皮膚炎、はしかおよび虫垂炎の既往の有無、妊娠中の母親の発熱とはしかのり患、母乳栄養の有無、幼少児の住環境の状況として上水道、下水道、風呂および水洗トイレの有無などを含めた。喫煙習慣についても尋ねた。

統計解析では、性・年齢階級(10歳階級)を補正したオッズ比と95%信頼区間(以下95% CI)を多重ロジスティック回帰分析により求めた。

*九州大学医学部, 公衆衛生学

【結 果】

表1に性別・年齢階級別の患者対照数を示すクローン病患者の有病数を反映して、男性の患者が多く、20歳代の患者が最も多かった。

表2には、主な食事要因とクローン病との関連性を示すが、ファースト・フードおよび高砂糖食品群の摂取が多い者ほどオッズ比は大きくなっていった。野菜および果物の摂取は予防的な関連を示した。緑茶をほとんど飲まない者に比べて、週に1~5回飲む者およびほぼ毎日飲む者の補正オッズ比はそれぞれ0.3 (95% CI 0.2-0.7) および0.5 (95% CI 0.3-1.0) であった。その他の食品あるいは食品群との間には明確な関連性は認められなかった。ぜんそく、アトピー性皮膚炎、麻疹などの既往、虫垂切除歴および喫煙歴との間にも明らかな関連性を認めなかった。

衛生設備の有無については、乳幼児、幼児期および学童期の3時期に分けて調査したが、水洗トイレの設置は3時期をとおして予防的な関連性を示した。乳幼児期に水洗トイレがあった者の補正オッズ比は0.5 (95% CI 0.3-0.9) であった。

【考案・結論】

高砂糖食品の摂取がクローン病リスクの高まりと関連していたことは、これまでの患者対照研究の結果と一致するものであり、砂糖の高摂取が重要な危険因子であることを強く支持するものである。ファースト・フードとの関連性を検討した研究はこれまでに1つ報告されているだけであり、本研究の結果はきわめて興味深い知見である。野菜・果物がクローン病に対して予防的であることはこれまでも指摘されているが、本研究の結果は野

菜・果物がクローン病に予防的であることの疫学的証拠を一層強めるものである。

調査もれなどの若干の不備が見られたので、これらの点について補充調査をおこなうとともに、クローン病患者の調査例を増す必要がある。95% CIの片方が1に近いことを考えれば本研究の結果の解決はまだ予備的なものであると言わざるをえない。

【参考文献】

- 1) Levine J: Exogenous factors in Crohn's disease. A critical review. J Clin Gastroenterol 1992; 14:216-226.
- 2) Matsui T, Iida M, Fujishima M, et al: Increased sugar consumption in Japanese patients with Crohn's disease. Gastroenterol Jpn 1990;25: 271.
- 3) 古野純典 炎症性腸炎と食習慣 Modern Physician 1992;12:1621-1623.
- 4) Persson PG, Ahlbohm A, Hellers G: Diet and inflammatory bowel disease: a case-control study. Epidemiology 1992;3:47-52.
- 5) Ekblom A, Wakefield AJ, Zach M, et al: Perinatal measles infection and subsequent Crohn's disease. Lancet 1994;344:508-510.
- 6) Gent AE, Hellier MD, Grace RH, et al: Inflammatory bowel disease and domestic hygiene in infancy. Lancet 1994;343:766-767.
- 7) Gilat T, Hacoheh D, Lilos P, et al: Childhood factors in ulcerative colitis and Crohn's disease. Scand J Gastroenterol 1987;22:1009-1024.

表1 性・年齢別の症状・対照数

年齢	男		女	
	症例	対照	症例	対照
10-19	6	8	9	11
20-29	33	78	10	48
30-38	19	22	5	6
合計	58	108	24	65

表2 食物要因とクローン病のリスク

食品	摂取頻度		
	低	中	高
ファースト・フード*	1.0	2.0 (0.9-4.5)	3.1 (1.4-6.9)
高砂糖食品	1.0	1.5 (0.8-3.1)	3.5 (1.8-7.1)
野菜	1.0	0.4 (0.2-0.8)	0.5 (0.3-1.0)
果物	1.0	0.6 (0.3-1.1)	0.7 (0.4-1.5)

数値は性・年齢補正オッズ比 (95% 信頼区間)

A case-control study of Crohn's disease.

Kono Suminori (Kyushu University, Department of Public Health)

[Purpose] A case-control study was carried out to examine the relation between environmental factors and Crohn's disease. [Method] A total of 82 cases aged 13-39 years and 173 hospital controls aged 10-39 years were surveyed at 11 hospitals across the nation. A self-administered questionnaire inquired about the frequency of habitual consumption of 26 food items 5 years prior to the onset, environment factors in childhood, and smoking habit. [Result] High consumptions of fast foods and sugar-rich foods were associated with an increased risk of Crohn's disease while vegetables and fruit showed a protective association with the disease. Living in houses equipped with flush toilet during infancy and childhood was consistently associated with a decreased risk. [Conclusion] The above findings remain preliminary because the study is still under way. Nonetheless it is expected that the study will reveal important environmental factors in the etiology of Crohn's disease.

Crohn病患者の発症前の食生活調査

高添正和* 齋藤恵子* 川島由起子**

要 旨：[始めに] Crohn病患者の発症前の食生活の実態を明らかにすべく食物摂取状況を調査し、その結果を報告する。[対象と方法] Crohn病患者を対象にアンケート調査を行った。[結果] #1 対象患者は502人(男364人, 女138人), 発症平均年齢は男22.2歳, 女22.6歳であった。#2 各食品の平均摂量：肉類は男106.8g/日, 女70.9g/日, 魚類は男20.9g/日, 女23.9g/日, 豆類は男49.1g/日, 女46.4g/日, 野菜と海草類は, 男136.2g/日, 女280g/日, 乳製品は牛乳量に換算して男226.9g/日, 女196.1g/日であった。[結語] 摂取量が国民栄養調査結果よりも多い食品は肉類及び乳製品であった。一方, 少ないのは魚介類, 野菜, 海草類であった。魚介類は対象患者では国民栄養調査結果の1/4にも満たず, 野菜, 海草類は国民栄養調査結果の約1/2であった。

KEYWORD : Crohn's disease, food habits

[始めに]

Crohn病の発症要因については遺伝, 微生物による感染, 食事因子などが考えられており, 就中, 食事性因子の病態に及ぼす影響については未だ不明な部分多い。臨床の場では若年者層の多いこともあり, 必ず質問されるのは食事のことであり, 緩解期に於ける食事基準の確立が要求されている。過去40年間の食構造の変化は著明であり, 今後のCrohn病患者の食事を考える上で今のうちに患者の食生活の実態を把握しておく必要がある。手始めとしてCrohn病患者の発症前の食物摂取状況を把握するため, アンケート調査を実施し, その結果を報告する。

[対象と方法]

平成10年4月から同10月までに当院Crohn病外来に通院中, 及び入院中のCrohn病患者502人を対象に, 図Aのアンケート用紙を元に, 対面調査を行った。対面調査に際して, 当院の栄養士, 医師, 看護婦ではなく, 普段から面識の無い栄養学の専門家が行った。

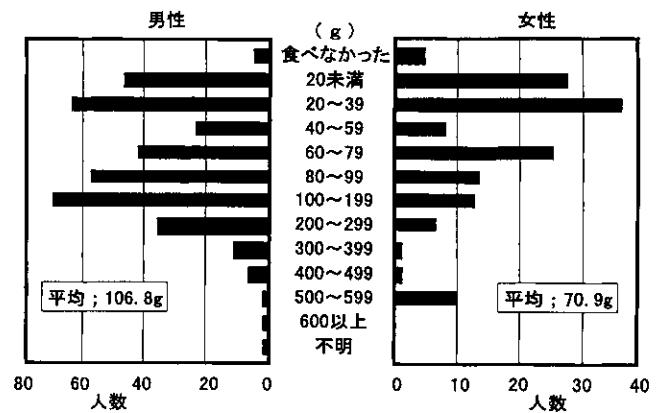
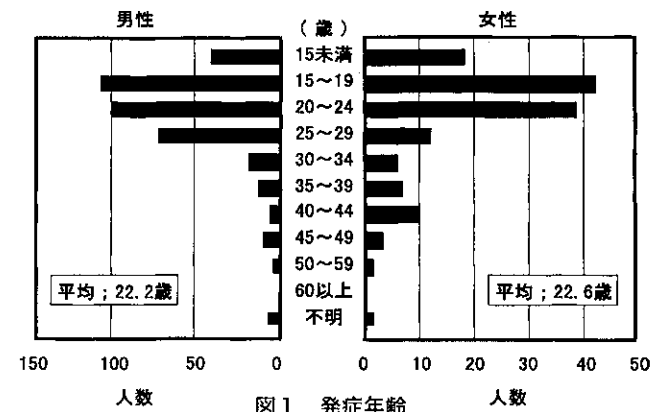
[結 果]

#1 : 対象患者の内訳

総数502人, 性別: 男性364人, 女性138人, 年齢: 20歳代から30歳代が患者全体の78%を占め, 特に25

歳から29歳に集中していた。平均年齢は男性31.3歳, 女性32.9歳であった。

#2 : 発症年齢 (図1)



* 社会保険中央総合病院, 内科

** 女子栄養大学, 臨床栄養

図A 発症前の食生活アンケート

Crohn病に罹患前の食生活についてアンケートさせていただきます。その目的は、Crohn病の発症に食事などのように関わっているのかを明らかにし、今後のCrohn病患者さんの食事相談や、食事の組み立てに役立てるためであります。記載するに際して、疑問や分からないところがあれば、アンケート用紙をお配りする調査の方がフードモデルを使って具体的に説明いたします。

- 1氏名: _____, ID: _____
 2性別: 男 / 女
 3生年月日: S 年 月 日 (歳)
 4身長: _____ cm, 発症前の最高体重: _____ kg, 現在の体重 _____ kg
 5現在の職業: 学生, 会社員, 公務員, 自営業, 主婦, その他 ()
 6症状が出始めた年: S/H 年, 病歴: _____ 年 (書かなくても良い)
 7次の病気のうち、発症前に医師にかかったもの、又は自覚症状のあったものがあれば、その記号に○印を付けて下さい(複数回答可)。
 A糖尿病 B心臓の病気 C肺炎 D気管支炎 E喘息 Fアレルギー
 Gアレルギー性皮膚炎 H風疹 Iはしか J腎臓病 K胃十二指腸潰瘍 L貧血
 M慢性関節リウマチ Nパセドウ病, 甲状腺機能低下症 O痔瘻 Pその他 ()
 8発症前の覚醒状況: 十分眠っていた, 余りよく眠れなかった, 不眠がちだった
 9発症前の生活リズム: 規則正しかった, 時々乱れていた, いつも不規則だった
 10発症前の運動状況: していた, していなかった
 していた方 aどのような運動をしていましたか ()
 b頻度: 月1~2回, 週1回, 週2~3回, 週4~5回, 毎日
 11発症前の休みの割合: 毎週2回, 週1回, ほとんどなかった

発症前の食事についてお聞きします。
 あてはまる所に○を付けて下さい。

- 1食事は毎日規則正しく食べていましたか。
 a規則正しく食べていた b時々乱れていた cいつも不規則だった
 2食事は毎日三食、食べていましたか。
 a三食食べていた b三食は食べていなかった c三食以上食べていた(間食は除く)
 bと回答した方は、どのくらいの頻度で、主に三食のうち、いつ欠食しましたか。
 頻度: 週に1~2回/週に3~4回/ほとんど毎日
 いつ: 朝食/昼食/夕食
 cと回答した方は、どのくらいの頻度で何食を食べていましたか。
 頻度: 週に1~2回/週に3~4回/ほとんど毎日
 (食)
 食べていたのはいつですか: 午前/午後/夜中
 3調理は主に誰が担当していましたか ()
 4外食はしていましたか
 aほとんどしなかった b週に1~2回 c週に3~4回 dほとんど毎日
 b~dと回答した方は、どんな所で、主にどんな物を、いつ食べていましたか。
 例: ファミリーレストラン 例: 和定食, ハンバーガー
 場所 ()
 食べていた物 ()
 いつ: 朝食/昼食/夕食
 5清涼飲料水(缶ジュース等)は飲んでいましたか。
 aはい bいいえ
 aと回答した方は、その頻度と、よく飲んでた種類を書いて下さい。
 頻度: 毎日/週に2~3回/週に1回
 種類: (缶/日)
 6間食はしていましたか
 aはい bいいえ
 aと回答した方は、その頻度とよく食べていた物に○印(複数可)を付けて下さい。
 頻度: 毎日/週に2~3回/週に1回
 食べた物: 1チョコレート菓子 2アイスクリーム 3クッキービスケット
 4スナック菓子 5プリン 6ゼリー 7せんべい
 8和菓子 9洋菓子 10菓子パン 11カップラーメン
 12その他 ()
 7間食や食事で好んで食べていた物
 aあった b特になかった
 aと回答した方: よく食べていた物 ()
 また、発症前に食べると下痢してしまう食品はありましたか
 aあった b特になかった
 aと回答した方: 食品名 ()

- 食事内容について
 1主食を1食どのくらい食べていましたか
 「目安量; 女性用茶碗1杯(直径10cm)を基準として、御飯一普通盛り1杯、パン一食パン6枚切り1枚、 麺一どんぶり1杯」
 朝食: 御飯(枚), パン(枚), 麺(人前), 食べていなかった
 昼食: 御飯(枚), パン(枚), 麺(人前), 食べていなかった
 夕食: 御飯(枚), パン(枚), 麺(人前), 食べていなかった
 2主食とおかずの割合はどのくらいでしたか
 主食1に対して、おかず(品: お味噌汁も含む)
 3肉類(ハムなどの加工品も含む)をどのくらい食べていましたか
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日にどのくらいでしたか。 a 毎食, b 1日2食, c 1日1食
 1回にどのくらいの量を食べていましたか(1回量とはファミリーレストラン等の1人前とする)
 ()
 主に何肉を食べていましたか。()
 4魚はどのくらい食べていましたか。(目安量; 刺身は1皿、煮魚は1切れ、焼魚は1尾として)
 1ほとんど毎日, 2週に2~3日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日にどのくらいでしたか。 a 毎食, b 1日2食, c 1日1食
 よく食べていた物に○を付けて下さい。 1. 刺身, 2. 煮物, 3. 焼魚, 4. その他 ()
 5卵(1個として)をどのくらいの頻度で食べていましたか。
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日に何個でしたか(個/日)
 6乳製品(牛乳1杯, ヨーグルト1個, チーズ1個等)の飲んだり、又は食べていましたか。
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日にどのくらいでしたか。(例: 牛乳2杯, ヨーグルト1個 等)
 ()
 7大豆製品(豆腐1/2丁, 厚揚げ1/2丁として)をどのくらい食べていましたか。
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日にどのくらいでしたか。(丁/日)
 8繊維質の食品(野菜, 芋, きのこと、海藻等の料理として)は、どのくらい食べていましたか。
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日にどのくらいでしたか。(品/日)
 よく食べていたものに○を付けて下さい(複数可)
 1生野菜, 2煮物, 3炒め物, 4ポトサラダ, 5おひたし, 6付け合わせ程度
 9果物(りんご, バナナ1個として)をどのくらい食べていましたか。
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日に何個でしたか。(個/日)
 10簡単に食べられる食品(インスタント麺類, レトルト食品等)はどのくらい食べていましたか。
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日に何回くらいですか。(回/日)
 また1回に食べる量はどのくらいでしたか。(食分/日)
 あてはまるものに○を付けてください。
 1. インスタントラーメン, 2. カップラーメン, 3. カレー, 4. 焼そば
 5. その他 ()

油脂について
 1炒め物、揚げ物などの油料理は、どのくらい食べていましたか。
 1ほとんど毎日, 2週に3~4日, 3週に1~2日, 4月に1~2日, 5ほとんど食べない
 それは1日にどのくらいでしたか。
 a. 1品, b. 2品, c. 3品, d. それ以上 (品)
 2炒め物、焼物料理には、次のどの油をよく使用していましたか。
 a. 植物油, b. バター, c. マーガリン, d. 豚脂, e. 牛脂, f. その他 ()
 3サラダには、次のどれを好んでかけていましたか。
 a. 何もかけない, b. マヨネーズ, c. ドレッシング, d. ノンオイルドレッシング,
 e. その他 ()
 4パンには、次のどれを好んで付けていましたか。
 a. 何もつけない, b. バター, c. マーガリン, d. ジャム, e. その他 ()

御協力有難うございました。
 社会保険中央総合病院 Crohn病外来担当: 高添正和

男女共に10歳代から20歳代に集中し、発症平均年齢は男性22.2歳、女性22.6歳であった。この発症年齢については、患者自身がCrohn病の症状を自覚したものであり、実際にCrohn病の診断を行った医師による判断ではない。

#3: 発症前の各食品の摂取状況

1) 肉類;

肉類の一日平均摂取量(図2)は男性106.8g/日、女性70.9g/日であった。

男性の摂取量は40g/日未満と100~199g/日の大きく二つの群に分かれ、また300g/日以上摂取も5%あり、ばらつきがみられた。一方、女性では40g/日未満がほぼ過半数を占めており、男性患者に比べ摂取量が少ないことが明らかになった。

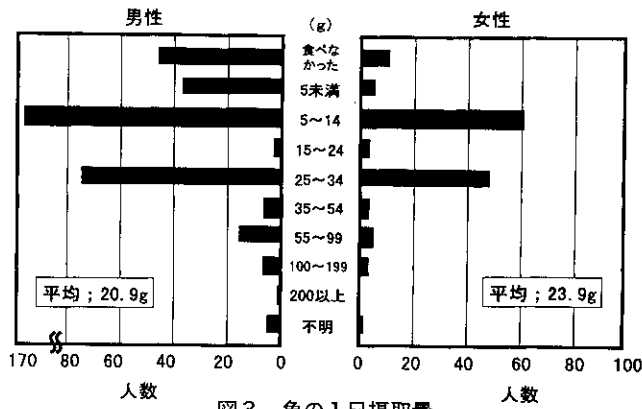


図3 魚の1日摂取量

2) 魚類；

魚類の一日平均摂取量(図3)は男女共に摂取量がかなり少なく、男性で平均20.9g/日、女性で23.9g/日で、5~14g/日と25~34g/日の範囲に多くみられた。また、ほとんど食べなかったのは男性46人で13%、女性11人で8%と約一割を占めており、摂取量が全体的に少ないことがわかった。

3) 豆、豆類；

豆、豆類の一日平均摂取量(図4)は、男女共に摂取量が少なく、男性で平均49.1g/日、女性で平均46.4g/日であった。男性で100g/日未満が275人と全体の82%を占めており、その中でも20~29g/日の摂取が最も多くみられた。女性では150g/日以上摂取している患者もみられたが、男性同様ほとんどが100g/日未満の摂取であった。

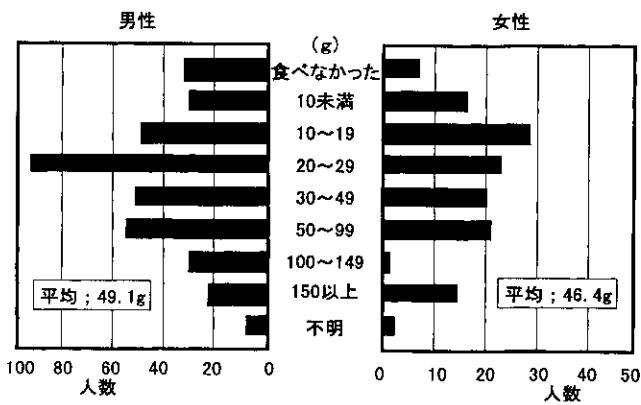


図4 豆・豆製品の1日摂取量

4) 野菜、海草類；

野菜、海草類は芋類、茸類を含め、その一日平均摂取量(図5)は、男性で136.2g/日と一日目標摂取量300gの半分にも満たない量であった。また摂取量が300g/日未満は246人、82%にも達していた。一方、女性では平均280g/日と男性に比べて多く摂取しており、300g/日以上の摂取も40%を占めていた。このことは女性の方が食事に関心があり、野菜不足に留意していることや、ダイエット志向が影響しているとも考えられる。

5) 乳製品；

牛乳以外の乳製品は全て牛乳量として換算した。

牛乳の一日平均摂取量(図6)は、男性226.9g/日、女性196.1g/日であった。牛乳を飲んでいなかった患者は男性54人18%、女性9人7%に過ぎなかった。摂取量が50g/日未満が男女共に多く見られるが、チーズやヨーグルトを牛乳に換算しているためと考えられた。一方、500g/日以上と多量の摂取は男性49人16%、女性11人9%で、最も多いのは男性で1200g/日、女性で1100g/日であった。

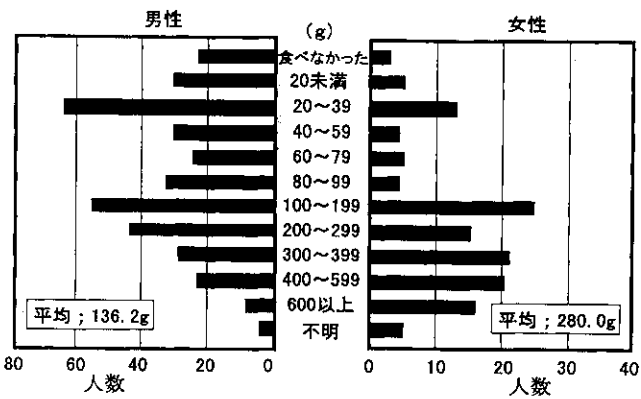


図5 野菜・海草類の1日摂取量

6) 各食品摂取量の男女併せた平均値と平成7年国民栄養調査結果との比較；

摂取量が国民栄養調査結果よりも多かった食品は肉類及び乳製品であった。肉類では国民栄養調査結果に対して、対象患者では稍多いにとどまり、乳製品は223.2g/日と多いものの適量範囲内であった。一方、少なかったのは魚介類、野菜、海草類であった。その内訳は魚介類は96.9g/日に対し21.7g/日と対象患者では国民栄養調査結果の1/4にも満たない摂取量であった。野菜、海草類は364.4g/日に対し178g/日と国民栄養調査結果の約1/2であった。

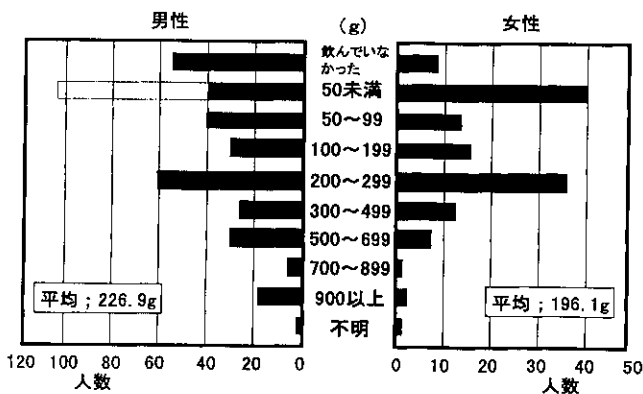


図6 牛乳の1日摂取量

7) 嗜好食品；

男女差が認められなかったため男女併せて示した(図8)。嗜好食品では肉類、ラーメン、菓子スナック類の順で多く、肉類では75人21%であった。このことは嗜好食品で見ても、多脂性食品を好んで摂取していることが分かった。

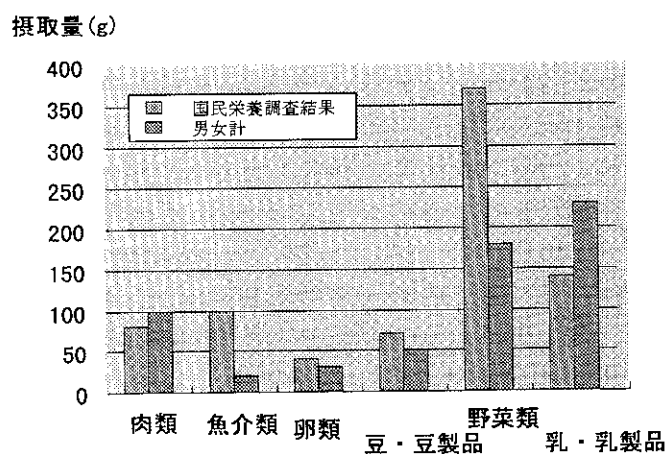


図7 平成7年度国民栄養調査結果との比較

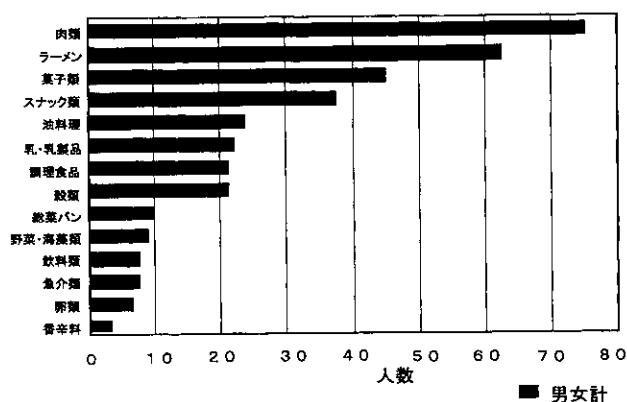


図8 好んで摂取していた食品

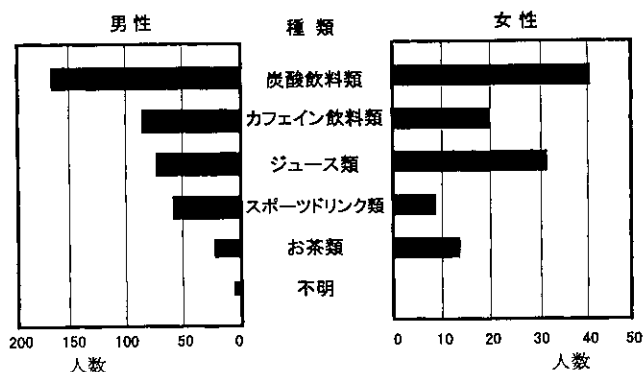


図9 好んで摂取していた飲料 (複数回答)

8) 好んで摂取していた飲料について；

好んで摂取していた飲料(図9)については複数解答である。男性では炭酸飲料類、カフェイン飲料類、スポーツドリンク類の順に、女性では炭酸飲料類、ジュース類、カフェイン飲料類の順に多く摂取しており、男女共に炭酸飲料類が好まれていることが明らかになった。

【考 察】

Crohn病患者の発症前の食物摂取状況では個人差、男女差が見られたが、特徴として多脂性食品、動物性食品の摂取量は第5次国民栄養所要量を越えるが、魚介類や植物性食品の不足がみられた。これは近年、問題とされている食生活の欧米化が反映し、肉類に多く含まれるn-6系脂肪酸が増加し、逆にn-3系脂肪酸が含まれる魚介類の摂取不足もCrohn病発症に影響しているとも言われている事を今回のアンケート調査は示唆している。

今回の調査では食品を中心にしたものであり、蛋白質、脂質、糖質別の量の算定は出来なかった。あくまでもそれら3大栄養素の素材別の数量把握はしていない。今後、この結果を基に各栄養素毎の秤量調査を行う予定である。

今回の調査はあくまでも発症前の食事に関してであり、患者の多くが生活強度が高く、必要エネルギー量が多い若年者であるため今後は発症後、ひいては治療開始後の食事を如何にすべきかの課題への取り組みが必要であろう。

【結 語】

- 1) 肉類、乳製品は摂取量にばらつきがあり、一方、魚介類、野菜、海藻類では男女共に摂取量が少ないことが明らかになった。
- 2) 肉類、乳製品に比べ、魚介類や野菜海藻類の摂取量が少ないことが明らかになった。

Investigation of food habits in premobid period of Crohn's disease patients.

Takazoe Masakazu (The Social Health Insurance Medical Center, Department of Internal Medicine)

Saito Keiko (The Social Health Insurance Medical Center, Department of Internal Medicine)

Kawashima Yukiko (The Women's College of Nutrition, Department of Clinical Nutrition)

[Purpose] This is to report of our investigation of food intake nature of Crohn's disease patients in order to clarify the food habits in their premobid period. [Materials & Results] #1 Number of objects: 502 patients in total (male: 364, female: 138). Average ages at pathopoiesis are; 22.2year-old for male, 22.6year-old for female. #2 Average intake volume of each food category is male 49.1g/day and female 46.4g/day for animal meats, male 20.9g/day and female 23.9g/day for marine products, male 136.2g/day and female 289g/day for vegetables and seaweeds, and for diary products converted into cow's milk volume male 226.9g/day and female 196.1g/day. [Conclusion] Foods that indicated larger intake volume compared to the results of the National Nutrition Investigation are animal meats and diary products. Besides the foods showing smaller volume are marine products, vegetable and seaweeds. The average daily intake volume of marine products investigated among Crohn's disease patients is far lower than 1/4 volume the National Nutrition Investigation and the vegetable and seaweeds volume of objecting patients is approximately 1/2 of the results of the National Nutrition Investigation.

クローン病の栄養療法における食事脂肪の影響を検討する：活動期クローン病に対するエレンタール®単独と脂肪製剤併用エレンタール群の比較検討

馬場 忠雄* 樋渡 信夫** 高添 正和***
松本 譽之**** 福田 能啓***** 櫻井 俊弘*****

要 旨: [目的] クローン病の成分栄養療法は、確実に、また速やかに臨床的緩解に導入できる基本的治療である。しかし、この治療効果が、抗原性のないアミノ酸を窒素源とすることによるものか、超低脂肪によるものかは明らかでない。本研究では、栄養療法における脂肪量の影響について検討する。 [方法] 活動期クローン病症例に、エレンタール® とこれに1日脂肪量が13.5g, 27.0g添加した3群 (各群10例, 無作為に割り付け) で、1日2400kcalの栄養療法をおこない、IOIBDアセスメントスコア、炎症指標、各種栄養指標を用いて、4週間後の治療効果を検討する。脂肪製剤には大豆油成分のC-1デキストリンを用いた。 [結果] 平成9年10月から臨床試験を16施設に依頼し、平成10年12月までに25症例の登録を得た。25例の登録症例のうち、早期脱落例などを除く21例が解析可能であった。4週間の治療により、緩解導入となった症例は、脂肪13.5g, 27.0g添加群に比べ、エレンタール群が多い傾向にあった (χ^2 検定 $P=0.065$)。さらに、脂肪投与ありの群となしの群の比較では、脂肪投与なしの群で有意に緩解導入率が高かった (脂肪投与なし:87.5%, 脂肪投与なし:38.5%)。 [結論] 活動期クローン病の成分栄養療法において、脂肪の経口投与は、緩解導入効果を低下させることが明らかとなった。

KEYWORD：クローン病, 成分栄養療法, 大豆油, elemental diet, fat

【はじめに】

活動期クローン病に対する成分栄養療法は、確実に、また速やかに緩解導入できるprimary therapyとして位置づけられている。しかし、成分栄養療法の治療効果が、抗原性のないアミノ酸を窒素源とすることによるものか、超低脂肪によるものかは明らかでない。また、クローン病の栄養療法における脂肪投与量についても一定の基準はない。本プロジェクトでは、クローン病の栄養療法における脂肪投与量の影響を明らかにする目的で、エレンタール® 単独と脂肪を添加したエレンタールの治療効果の比較検討をおこなう。

【方 法】

活動期クローン病患者を、浜松医科大学薬理学中島光

好教授により作成された割り付け表に従い、エレンタール® 単独, 1日脂肪摂取量をそれぞれ13.5g, 27.0g添加したエレンタールの3群に無作為に割り付けし、栄養療法をおこなう。4週間後、IOIBDアセスメントスコア、各種栄養指標、血液生化学検査などから治療効果を検討する。

各群の投与窒素量、投与熱量を等量とするために、各群は下記の治療内容となる。

第1群：エレンタール単独群

製剤：エレンタール1800kcal+デキストリン6包600kcal

第2群：エレンタール+大豆油13.5g

製剤：エレンタール1800kcal+デキストリン3包300kcal+C-1デキストリン3包300kcal

第3群：エレンタール+大豆油27.0g

製剤：エレンタール1800kcal+C-1デキストリン6包600kcal

本試験の対象患者、同意取得方法、栄養剤の投与方法、

* 滋賀医科大学、第二内科
** 東北大学医学部、第三内科
*** 社会保険中央総合病院、内科
**** 大阪市立大学医学部、第三内科
***** 兵庫医科大学、第四内科
***** 福岡大学筑紫病院、消化器科

表1

背景一覧

	性別		年齢	病型		
	男	女		小腸	小腸・大腸	大腸
1群	2	6	29.8±12.2	1	5	2
2群	4	3	32.9±11.0	3	4	0
3群	4	2	27.2±4.7	2	1	3

	病歴		手術歴		併用薬剤		IOIBDスコア	赤沈値	CRP
	初回	再燃	有	無	なし	あり			
1群	2	6	2	6	5	3	3.4±1.7	51.5±21.6	2.3±1.2
2群	2	5	4	3	3	4	4.0±1.8	40.2±18.3	4.6±2.9
3群	2	4	3	3	4	2	3.2±0.9	43.0±22.4	4.1±3.5

効果判定基準など、プロトコルの詳細、C-1デキストリンの脂肪酸組成については、厚生省難治性炎症性腸管障害調査研究班平成8年度業績集を参照されたい。

参加施設

兵庫医科大学第4内科，滋賀医科大学第2内科，慶應義塾大学内科，弘前大学第1内科，東北大学第3内科，福岡大学筑紫病院消化器科，琉球大学第1内科，大阪市立大学第3内科，社会保険中央総合病院内科，浜松医科大学第2外科，秋田大学第1内科，国立国際医療センター消化器科，横浜市立市民病院外科，国立大蔵病院臨床研究部，杏林大学第1外科

【結果】

平成9年10月から，臨床試験を上記16施設に依頼し，平成10年12月末日までに25例の登録がおこなわれた。25例の登録症例のうち，早期中止例などを除く21例が解析可能であった。

各群の症例数は，1群8例，2群7例，3群6例であり，

図1-1

結果:CRP

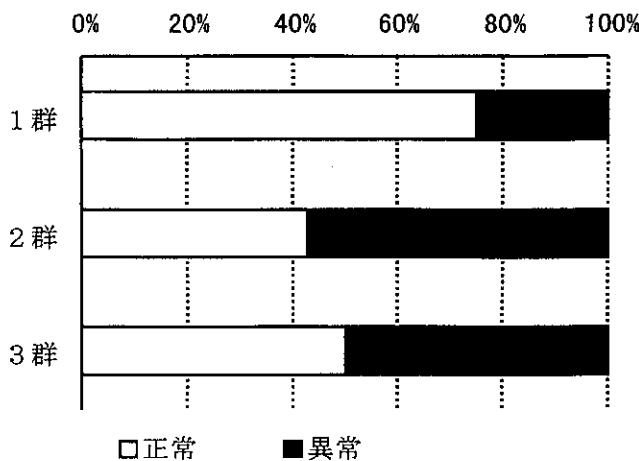


図1-3

結果:IOIBDスコア

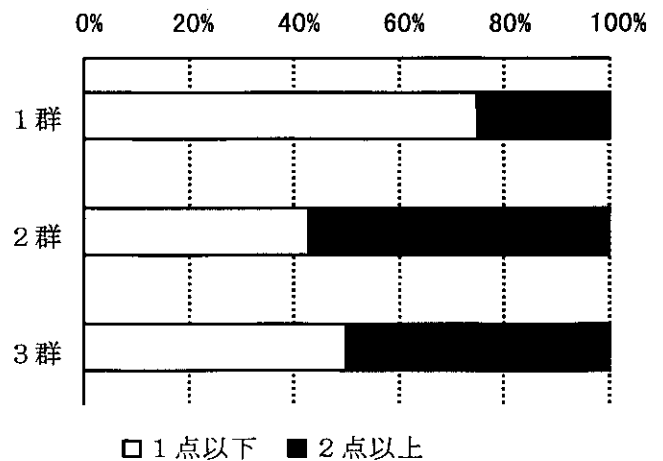


図1-2

結果:ESR

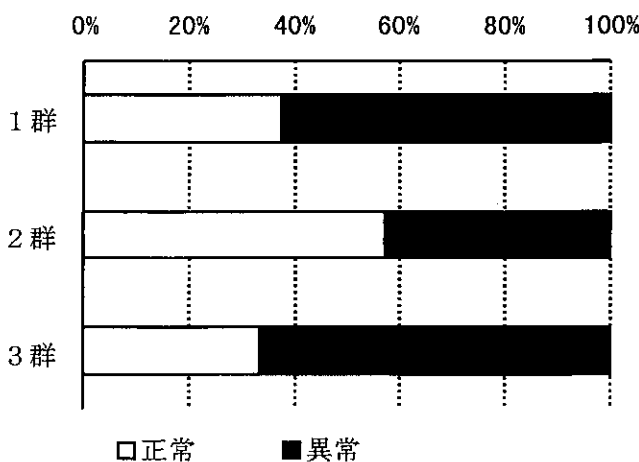
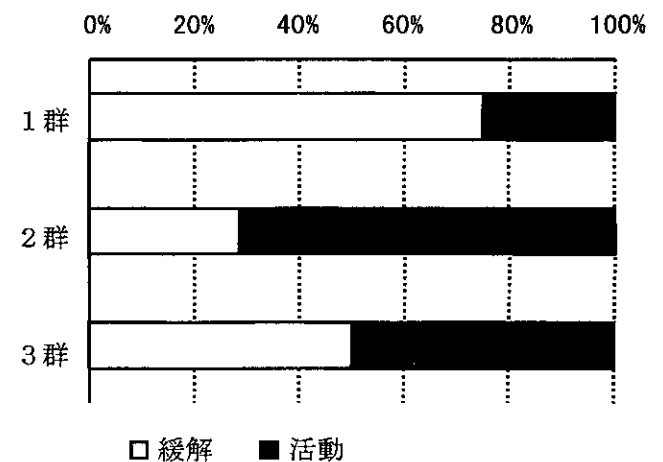


図1-4

結果:緩解導入率



それぞれの男女比，年齢，初発・再燃の比率，病型，手術歴，治療前のIOIBDアセスメントスコア，CRP，血沈は，各群の間に有意な差は認めなかった（表1）。

4週間後，IOIBDアセスメントスコアが0ないし1となった症例，CRP，血沈が正常となった症例は，2群，3群に比べ，1群で多い結果であったが，有意差は認めなかった。その結果緩解導入率は，1群で87.5%，2群で28.6%，3群で50%と，2群，3群に比べ1群で高い傾向（ χ^2 検定 $p=0.065$ ）であった（図1-1,2,3,4）。

さらに2群，3群をまとめて，脂肪投与なし群と脂肪投与あり群とで緩解導入率を比較したところ，脂肪投与のない群（87.5%）が，脂肪投与あり群（38.5%）に比べて，有意に緩解導入率が高いとの結果であった（図2-1,2,3,4）。

【考 察】

本試験の結果，活動期クローン病の成分栄養療法において，13.5 g/日ないし27.0 g/日の脂肪添加により成分栄養療法の緩解導入率は有意に低下することが明らかとなった。

これまで，脂肪投与量の異なった経腸栄養剤による治療成績の比較がおこなわれてきた。ほとんどの報告例では，成分栄養剤のほうが，半消化態栄養剤やペプチド経腸栄養剤に比べて，緩解導入が速やかにおこなわれるとの結果であった。今回の成績もこれらと成績とほぼ同様の結果であったが，本試験の特徴は，投与エネルギー，投与窒素量のほか，窒素源もすべて同じアミノ酸を用いておこなった割り付け試験であり，成分栄養療法における脂肪の影響がより明確になったものである。難治性のク

図2-1

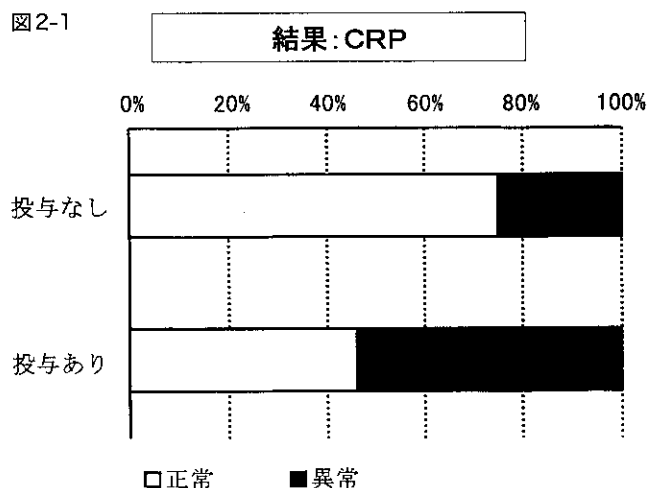


図2-3

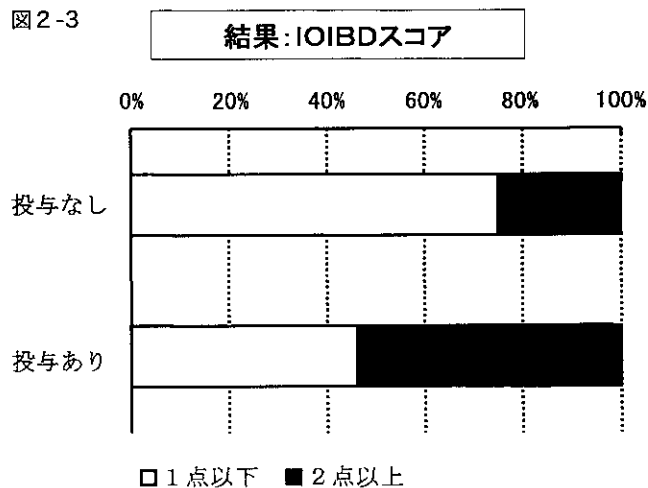


図2-2

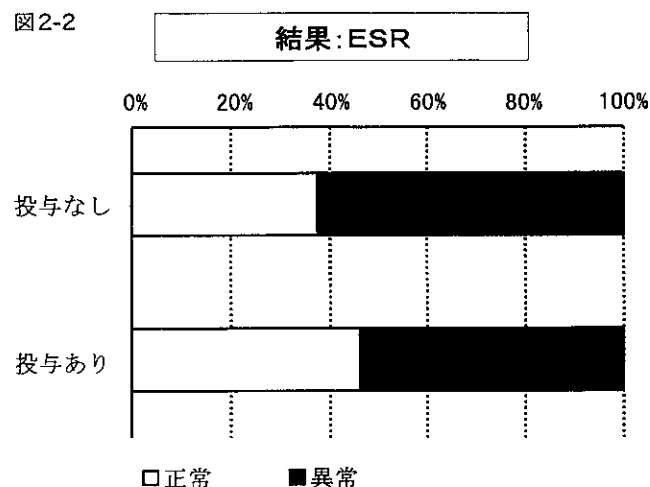


図2-4

