

クローン病患者の栄養管理をおこなう上での1つの指標となるものと考えられる。

#### 【結 論】

活動期クローン病の成分栄養療法においては、経口的な脂肪負荷は、クローン病の緩解導入効果を低下させることが示された。

### Significance of dietary fat content in the nutritional therapy for Crohn's disease.

Bamba Tadao (Shiga University of Medical Science, Second Department of Internal Medicine)

Hiwatashi Nobuo (Tohoku University of Medical Science,

The Third Department of Internal Medicine)

Takazoe Masakazu (The Social Health Insurance General Hospital, Department of Internal Medicine)

Matsumoto Takayuki (Osaka City University Medical School,

The Third Department of Internal Medicine)

Fukuda Yoshihiro (Hyogo College of Medicine, Department of Internal Medicine IV)

Sakurai Toshihiro (Fukuoka University Chikushi Hospital, Department of Gastroenterology)

Elemental diet therapy has been widely used as a primary therapy in the patients with Crohn's disease. The effectiveness of nutritional therapy for the patients with active Crohn's disease by using Elental<sup>®</sup> alone (group1), elemental diet containing 13.5g (group2) or 27.0g soybean oil (group3) were studied in a randomized multicenter trial. Twenty-five patients with Crohn's disease were enrolled to this study, and the effectiveness was evaluated in 21 patients. At the end of the nutritional therapy for 4 weeks, patients with remission were 6 of 8 (75.0%) in group1, 2 of 7 (28.6%) in group 2, and 3 of 6 (50%) in group 3. The effectiveness ratio in group1 was higher than in group2 or group3. From the findings of this study, Elental<sup>®</sup> containing soybean oil could reduce the effectiveness for active Crohn's disease.

## クローン病の維持療法時の脂肪摂取と累積再燃率

福田 能 啓\* 馬 場 裕 子\* 奥 井 雅 憲\*  
山 本 憲 康\* 田 村 和 民\* 里 見 匡 迪\*  
下 山 孝\*

**要 旨：**[目的] クローン病の在宅栄養療法時における摂取脂肪の再燃に及ぼす影響を検討した。[対象・方法] 小腸・大腸型のクローン病患者90例を、脂肪摂取量20g/day (A群), 30g/day (B群), 40g/day (C群)の3群に分けて、1年後の再燃率を検討した。[結果] 90例すべてで1年間の経過観察が可能であり、A群, B群, C群の再燃率はそれぞれ3例(10%), 17例(57%), 19例(63%)であった。A群の再燃率はB群およびC群の再燃率と比べて、有意に低値であった( $p < 0.001$ )。[考案] 摂取された食物中の脂肪量が多くなれば多くなるほどクローン病の再燃のリスクが高まる可能性が示唆され、経験的に知られていた食事指導の方針の正当性が明らかにされた。

**KEYWORD：**クローン病, 維持療法, 再燃, 脂肪摂取

### 【目 的】

クローン病は成分栄養剤を用いた栄養療法により、緩解導入が可能である。しかし、一旦緩解導入されても通常の食事摂取が開始されると再燃するリスクが高い。成分栄養剤を一日に理想体重1kgあたり30kcal投与された場合には、長期間の緩解維持が可能であることが知られており、食事量の制限が有効であったことも役だっていると考えられる。一方、脂肪含量の多い栄養剤投与を活動期に投与しても緩解導入が可能であることも報告されている。脂肪摂取量がクローン病の緩解維持に関連するか否かのプロスペクティブな検討はなく、結論は得られていない。そこで、クローン病の在宅栄養療法時における摂取脂肪の再燃に及ぼす影響を検討した。

### 【対象・方法】

小腸・大腸型のクローン90例を、経口的な脂肪摂取量20g/day (A群:成分栄養剤1800kcal+食事600kcal), 30g/day (B群:成分栄養剤1500kcal+食事900kcal), 40g/day (C群:成分栄養剤1200kcal+食事1200kcal)の3群に分けて、1年後の再燃率を検討した。成分栄養剤を基本とし、食事脂肪の摂取量は栄養士により毎月指導・調査され、記録された。CRP 0.5mg/dL以

上、赤沈10mm(1時間値)以上、IOIBDスコア-2以上が続いて4週以上みられた時を再燃と判定した。

### 【結 果】

90例すべてで1年間の経過観察が可能であった。A群, B群, C群の再燃率はそれぞれ3例(10%), 17例(57%), 19例(63%)であり、A群の再燃率はB群およびC群の再燃率と比べて、有意に低値であった( $p < 0.001$ )。

### 【考 案】

クローン病の緩解維持における食事脂肪の制限の有用性は経験的に示されているが、脂肪摂取は緩解維持に関与する重要な因子ではないとする報告もあり、在宅維持療法中の食事指導をどのようにすればよいのか多少の混乱を招いていた。今回の検討では、摂取された食物中の脂肪量が多くなれば多くなるほどクローン病の再燃のリスクが高まる可能性が示唆され、経験的に知られていた食事指導の方針の正当性が明らかにされたと考えられる。食事脂肪の増加は食事蛋白、とくに動物性蛋白の摂取量の増加を意味しており、脂肪摂取制限は蛋白抗原の暴露量の制限にもつながっている可能性があり、今後、蛋白抗原としての食事蛋白の摂取とクローン病の再燃との関連性を明らかにする必要がある。

\* 兵庫医科大学, 第四内科

## Relapse rate of Crohn's disease patients during maintenance therapy with elemental diet and food containing fat.

Fukuda Yoshihiro (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Bamba Yuko (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Okui Masanori (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Yamamoto Noriyasu (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Tamura Kazutami (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Satomi Masamichi (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Shimoyama Takashi (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Digestion and absorption are impaired in Crohn's disease because the small bowel is affected. Enteral feeding of elementary diet improves the nutritional status of the patients, and in consequence, may contribute to remission and prevention of relapse. However, the fat content of elemental diet is minimal, and essential fatty acid may become deficient. The dose and composition of fats in enteral feeding were investigated, relation to the status of Crohn's disease. Ninety patients were divided into 3 groups, each receiving food containing fat of 40g/day orally, 30g/day and 20g/day. Dietary advice was given, and the rate of relapse was compared between the three groups. The rate of relapse was raised in patients on home maintenance therapy for Crohn's disease, who received oral fat at 30g/day or more. Fat intake restriction during maintenance therapy of Crohn's disease was valuable in preventing relapse.

## クローン病の維持療法時の魚油投与の意義

福田 能 啓\* 馬 場 裕 子\* 奥 井 雅 憲\*  
 山 本 憲 康\* 田 村 和 民\* 里 見 匡 迪\*  
 下 山 孝\*

**要 旨：**[目的] クローン病の緩解維持療法におけるn-3系脂肪酸の投与の影響を検討した。[対象・方法] 小腸・大腸型のクローン病患者40例を魚油投与群と対照群の2群に分け、3カ月後の炎症性指標と栄養指標を比較検討した。[結果] 魚油投与群では血清アルブミンが投与後には増加し、CRP値は低下した。エイコサペンタエン酸とドコサヘキサエン酸分画も増加した。[考案] クローン病の成分栄養剤を用いた維持療法中に魚油カプセルの投与を行ったところ、エイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸分画の増加とともに炎症反応の改善がみられた。

**KEYWORD：**クローン病, 維持療法, 再燃, 魚油

### 【目 的】

クローン病は成分栄養剤を用いた栄養療法により、緩解導入が可能である。しかし、一旦緩解導入されても通常の食事摂取が開始されると再燃するリスクが高い。成分栄養剤を一日に理想体重1kgあたり30kcal投与された場合には、長期間の緩解維持が可能であるが、必須脂肪酸欠乏症の発生が危惧される。食事内の脂肪量の増加は再燃因子となるが、潰瘍性大腸炎では抗炎症作用があるn-3系脂肪酸の投与が有効であるとも報告されている。今回、クローン病の緩解維持療法におけるn-3系脂肪酸の投与の影響を検討した。

### 【対象・方法】

小腸・大腸型のクローン40例を魚油投与群と対照群の2群に分け、3カ月後の炎症性指標(CRP, CDAI)と栄養指標(血清アルブミン, 血清脂肪酸分画)を比較検討した。成分栄養剤を用いた在宅経腸栄養中のクローン病に対して魚油投与群には、魚油250mg含有のカプセルを1日12個経口投与した。対照群は栄養療法を継続した。

### 【結 果】

40例すべてで3カ月間の経過観察が可能であった。魚油投与群では血清アルブミンが投与前の4.1g/dlから4.2g/dlに増加し、CRP値は同様に0.64mg/dlから

0.38mg/dlに低下した。一方、対照群の血清アルブミンとCRP値は有為な変動をみなかった。血清脂肪酸分画では、魚油投与群では3カ月後にエイコサペンタエン酸とドコサヘキサエン酸分画が増加し、対照群より高値であった( $p < 0.05$ )。

### 【考 案】

クローン病の成分栄養剤を用いた維持療法中に魚油カプセルの投与を行ったところ、エイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸分画の増加とともに炎症反応の改善がみられた。この結果は、クローン病の緩解維持における食事療法の治療指針確立のための根拠となると考えられた。今後は、n-3系脂肪酸の適正な投与量についても検討する必要がある。

\* 兵庫医科大学, 第四内科

## Serum fatty acid and disease activity in Crohn's disease patients during maintenance therapy with elemental diet and fish oil.

Fukuda Yoshihiro (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Bamba Yuko (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Okui Masanori (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Yamamoto Noriyasu (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Tamura Kazutami (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Satomi Masamichi (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Shimoyama Takashi (Hyogo college of Medicine, Department of internal medicine IV)

Digestion and absorption are impaired in Crohn's disease because the small bowel is affected. Enteral feeding of elementary diet improves the nutritional status of the patients, and in consequence, may contribute to remission and prevention of relapse. However, the fat content of elemental diet is minimal, and essential fatty acid may become deficient. The dose and composition of fats in enteral feeding were investigated in relation to the status of Crohn's disease. Forty patients with Crohn's disease were divided into two groups. One received fish oil and the other was used as the control. Activity scores and nutritional status were followed. In the fish oil group, fish oil in capsules (250mg) was added to the elementary diet therapy which had been given, at 12 capsules/day. After 3 months, activity scores were compared. In fish oil group, the n-3 polyunsaturated fatty acid fraction was increased, and serum CRP fell.

## TNBS小腸炎における中鎖脂肪(MCT)の影響

馬場 忠雄\* 辻川 知之\* 藤山 佳秀\*

**要旨:** [目的]新しいクローン病モデルとしてTNBS誘発小腸炎ラットを用い、脂肪酸鎖長の異なる脂肪を含有した成分栄養剤を投与して、小腸炎に及ぼす影響について検討した。 [方法]小腸炎はSDラットの回腸管腔内に29Gシリンジを用いてTNBS (160mg/ml) を1ml投与し作成した。その後、留置胃内カテーテルを介して、長鎖脂肪 (LCT) あるいは中鎖脂肪 (MCT) を含有した経腸栄養剤を6日間投与し、小腸を取り出して測定した。 [結果] MCT群では炎症部位の小腸粘膜の厚さ、湿重量、炎症スコアはLCT群に比較して、有意に低値であった。MPOに差は見られなかったが、LTB4はMCT群で低下傾向を示した。 [結果] TNBS小腸炎において、MCTはLCTに比べて炎症が軽減しており、負荷脂肪として有利と考えられた。

KEYWORD: TNBS腸炎, クローン病, 中鎖脂肪, 炎症スコア

### 【はじめに】

クローン病患者の脂肪摂取は、病状を悪化させる可能性があるため好ましくないと考えられてきた。しかし、栄養療法に用いられる成分栄養剤の脂肪含有量は寛解導入に影響しないという報告<sup>1)</sup>もあり、評価は定まっていない。脂肪負荷の適否を評価するためには脂肪量のみならず、投与する脂肪の種類も重要と考えられる。今回我々は、新しいクローン病モデルとしてTNBS誘発小腸炎ラットを用い、脂肪酸鎖長の異なる脂肪(中鎖脂肪:MCTあるいは長鎖脂肪:LCT)を含有した成分栄養剤を投与して、小腸炎に及ぼす影響について検討した。

### 【方 法】

10週齢のSD系雄性ラットを7日間予備飼育した後、麻酔下に開腹し胃内カテーテルを留置した。7日後に再び開腹し、回腸管腔内に29Gシリンジを用いてTNBS (160mg/ml 50%エタノール) を1ml/kg投与して小腸炎を作成した。その後留置カテーテルより、10.2%のLCTあるいは9.1%のMCTを含んだ経腸栄養剤を6日間投与した。コントロールは通常固形食を投与した。一晚絶食後小腸を取り出し、炎症部位の癒着、拡張、潰瘍、肥厚を数値化、加算した炎症スコア、湿重量、炎症部の小腸壁の厚さを計測した。また、炎症部位の粘膜をはぎ取り、漿膜中のmyeloperoxidase(MPO)活性、粘膜中の

TNF- $\alpha$ 活性、LTB4活性、PGE2活性を測定した。さらに血中シアル酸を測定した。数値はmean  $\pm$  SEMで表し、有意差検定はStudent's t-testで $p < 0.05$ を有意差ありとした。

### 【結 果】

MCT群では、LCT群に比較して炎症スコア、湿重量、小腸壁の厚さは有意に低値であった(図1)。漿膜中のMPO活性はコントロール群で高値を示したが、MCT、LCT群で差を認めなかった。TNF- $\alpha$ 活性は、LCT;  $17.6 \pm 2.9$ , MCT;  $17.4 \pm 2.5$  (pg/cm)と差を認めなかった。粘膜中のLTB4とPGE2活性はMCT群でそれぞれ $4.21 \pm 1.18$ ,  $76.0 \pm 13.2$  (ng/cm)、一方LCT群では $2.87 \pm 0.43$ ,  $69.2 \pm 14.0$  (ng/cm)とMCT群で低い傾向を示した。

### 【考 察】

これまで脂肪下痢をきたすクローン病にMCTを投与し、栄養状態が改善することが報告されている<sup>2)</sup>。これは、MCTは腸リパーゼで分解された後ミセルを形成せず吸収されるため、クローン病など回腸が侵され胆汁吸収が不十分な状態でも、十分に吸収されるためと考えられる。今回の検討では、脂肪含有量は10%と低めで投与期間も6日間と短かく、また炎症が回腸の一部であったため栄養効果までは認められなかった。MCTの抗炎症作用について今まで明らかな報告は見あたらないが、

\* 滋賀医科大学, 第二内科

MiuraらはLCTによって小腸リンパでのリンパ球増殖が見られたが、MCTでは見られなかったと報告し<sup>3)</sup>、またHirokawaらはLCT吸収に伴い腸上皮細胞での炎症メディエーター産生と放出が亢進することを明らかにした<sup>4)</sup>。従って、我々の結果はTNBSによる小腸炎に対してLCTは炎症を増悪させる方向に働いたが、MCTは特に悪影響を及ぼさなかったために炎症の程度に差が生じたと考えられる。

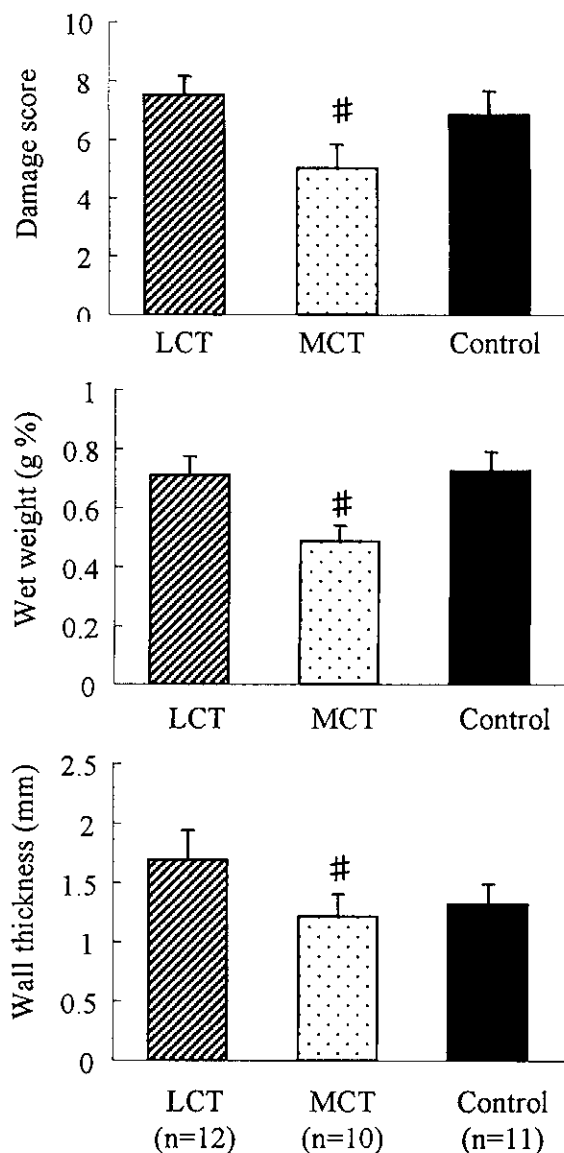
### 【総括】

TNBS惹起小腸炎モデルにおいて、脂肪投与する場合にはLCTよりもMCTがより有利であることが示された。

### 【参考文献】

- 1) 樋渡信夫, 萱場佳郎, 伊藤 薫, 他: 活動期クローン病に対する経腸栄養—構成成分の違いからみた効果発現機序—消化と吸収 1990;13:145-148.
- 2) Tasman-Jones C: Medium chain triglycerides in the therapy of small bowel Crohn's disease. NZ Med J 1971;73:214-215.
- 3) Miura S, Imaeda H, Shiozaki H, et al: Increased proliferative response of lymphocytes from intestinal lymph during long chain fatty acid absorption. Immunology 1993;7:142-146.
- 4) Hirokawa M, Miura S, Yoshida H, et al: Enhanced synthesis and release of vasoactive substance during absorption of fatty acid micelles in intestinal epithelial cells. Gastroenterology 1997;112:A879.

図1 TNBS小腸炎における炎症スコア, 湿重量, 小腸壁の厚さ  
# P<0.05, compared to LCT



### The effect of medium chain triglyceride on trinitrobenzene sulfonic acid enteritis.

Bamba Tadao (Shiga University of Medical Science, Department of Internal Medicine)

Tsujikawa Tomoyuki (Shiga University of Medical Science, Department of Internal Medicine)

Fujiyama Yoshihide (Shiga University of Medical Science, Department of Internal Medicine)

[Purpose] The aim of this study was to investigate the effect of medium chain triglyceride (MCT) and long chain triglyceride (LCT) on trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) enteritis resembling human Crohn's disease. [Method] Enteritis was induced by intraleal administration of 1 ml TNBS (160mg/ml) with a 29G syringe. After induction of enteritis, elemental diet containing MCT or LCT was given for 6 days via intragastric catheter. [Results] In the MCT group, mucosal damage score, wet weight and wall thickness were significantly lower than those in the LCT group. Although the myeloperoxidase levels are no differences between MCT and LCT group, LTB<sub>4</sub> was tended to be lower in the MCT group. [Conclusion] These results indicate that MCT reduced the inflammation on the TNBS enteritis compared to LCT. MCT may be advantageous to fatty load in the intestinal inflammation.

## Crohn病に於けるセレン欠乏の現況

高 添 正 和\* 村 田 博\* 舛 尾 正 俊\*  
三 浦 恭 定\* 桜 山 千 恵 子\*\*

**要 旨:**我々は、Crohn病患者のセレン欠乏の実態を調べた。対象は小腸型ないし小腸大腸型で、薬物療法(SASP/5-ASA)が8人、5年間以上の成分栄養療法中で成分栄養900kcal/日が7人、成分栄養1800kcal/日が10人である。方法は血中セレン濃度と左心機能(拡張終期左室径(Dd), 駆出分画(EF), 左室内径短縮率(FS))と治療との関係を見た。結果:#1 血中セレン濃度と、左心機能の指標である駆出分画との間には有意の相関関係を認め、セレン濃度の低下は左心機能の低下をもたらす可能性が示唆された。#2 Crohn病患者への長期大量の成分栄養1200kcal/日投与では著明なセレン欠乏をみた。

KEYWORD : Crohn's disease, selenium deficit, left ventricular function

### 【はじめに】

Crohn病は低栄養に陥りやすく、微量元素では亜鉛欠乏を来すことはつとに知られているが、近年、中心静脈栄養施行中に不足するため治療上の取り扱いが困難なものにセレン欠乏症がある。今回、我々は、Crohn病患者のセレン欠乏の実態を調べたので報告する。

### 【対象・方法・結果】

#1 対象はCrohn病患者25人である。

病変部は小腸型ないし小腸大腸型である。治療は薬物療法(SASP/5-ASA)が8人、5年間以上の成分栄養療法中で成分栄養900kcal/日が7人、成分栄養1800kcal/日が10人である。

#2 方法は血中セレン濃度を測定し、日時を置かず左心機能評価を行い得た患者のみを対象にした。左心機能評価は<sup>1)</sup>拡張終期左室径(Dd),<sup>2)</sup>駆出分画(EF),<sup>3)</sup>左室内径短縮率(FS)で行い、血中セレン濃度と左心機能の関係、治療との関係を見た。

#3 血中セレン濃度はDdやFSとの間に相関は認めなかった。

しかし、左心機能で最も一般的指標とされている駆出分画(EF)との間には $P=0.0152, R=0.48$ と相関を認めた。

#4 治療内容と血中セレン濃度との関係では、薬物療法群や成分栄養900kcal/日群ではいずれもセレン濃度は正常範囲よりも低下しているものがあるが $5\mu\text{g/dl}$ 以下には低下しておらず、また両群間に有意差は認めなかった。一方、成分栄養剤1200kcal/日群ではセレン濃度の低下は著しく $0.5\mu\text{g/dl}$ 以下に低下しており、薬物治療群に比してセレン濃度は有意( $P=0.0004$ )に低下していた。また成分栄養剤では1200kcal/日群は900kcal/日群に比してセレン濃度は有意( $P=0.0229$ )に低下していた。

### 【考 察】

Crohn病の緩解期治療に於いて臨床問題になるのは、緩解維持療法自体がなんら副作用を呈すること無く長期に投与できるか否かにかかっている。

薬物の長期投与による遠隔時の副作用と、短期間に出現する副作用がある。遠隔時出現の副作用として発癌の問題があり、Crohn病長期医療管理に於ける薬物療法の大きな課題として考慮しておくべきであろう。一方、栄養療法では治療法そのものの作用ではないが、施行することにより他の栄養摂取に影響する可能性がある。今回の調査結果では長期にわたる成分栄養経腸栄養法では成分栄養剤が1200kcal/日と摂取量が多いため必然的に食事摂取量の減少が生じ、そのため血中セレン濃度の著明低下を招来したと考えられる。中心静脈栄養施行中にもセレン濃度が低下することは一般に知られているが、緩解期治療に際していつから、如何なる内容の食事を開始

\* 社会保険中央総合病院、内科

\*\* 同 検査科



するかが問題となる。

**【結 語】**

#1 血中セレン濃度と、左心機能の指標である駆出分画

との間には有意の相関関係を認め、セレン濃度の低下は左心機能の低下をもたらす可能性が示唆された。

#2 Crohn病患者への長期大量の成分栄養1200kcal/日投与では著明なセレン欠乏をみた。

**Report of selenium deficiency in Crohn's disease.**

Takazoe Masakazu (The Social Health Insurance Medical Center, Department of Internal Medicine)  
Murata Hiroshi (The Social Health Insurance Medical Center, Department of Internal Medicine)  
Masuo Masatoshi (The Social Health Insurance Medical Center, Department of Internal Medicine)  
Miura Yasusada (The Social Health Insurance Medical Center, Department of Internal Medicine)  
Sakurayama Chieko (The Social Health Insurance Medical Center, Department of Clinical Laboratories)

[Purpose] We examined present status of selenium deficit occurred to Crohn's disease patients. [Method] The objects are the 25 patients with ileitis type and ileo-colitis type. 8 patients among them are treated by pharmacotherapy (SASP/5-ASA). Out of those patients treated with elemental enteral nutrition over 5 years. 7 patients with 900kcal/day and 10 patients with 1800kcal/day. Method are to examine relations between the selenium blood level and left ventricular functions indicated by data such as Diastolic Dimension (Dd), Ejection Fraction (EF), Fractional Shortening (FS), and relation between type of treatments. [Results & Conclusion] #1 The blood selenium density rates meaningfully corresponded EF rates which should indicate condition of left ventricular function thus deficit of blood selenium level may occur deficiency of left ventricular function. #2 The treatment with long term and huge volume of elemental diet like 1200kcal/day for the disease patients should bring them deficit of selenium.

## Crohn病発症の引き金としての麻疹ウイルス

中 込 治\* 飯 塚 政 弘\*\*

**要 旨：** [目的] 免疫組織染色にてCrohn病腸組織中に認められる麻疹抗原の本態を明らかにし，麻疹ウイルスがCrohn病の発症にどう関与しているのかを究明する。 [方法] Crohn病患者腸組織を材料にcDNAライブラリーを作製，ライブラリーを抗麻疹モノクローナル抗体でイムノスクリーニング。得られた陽性クローンの遺伝子解析を行うとともに，陽性クローンに対するモノクローナル抗体を作製，同抗体にて各種炎症性腸疾患患者の腸組織および正常ヒト臓器の免疫染色を行った。 [結果] 遺伝子解析の結果，陽性クローンはヒト由来物質と類似していた。麻疹抗体陽性物質はCrohn病に特異的でなく，その他の炎症性腸疾患腸組織でも増加しており，また正常消化管にも少数存在していた。 [総括] 麻疹ウイルス感染がCrohn病の病因に直接関与している明らかな証拠は得られなかった。

KEYWORD : Crohn病, 麻疹ウイルス, molecular mimicry

### 【はじめに】

Crohn病 (CD) の病因として麻疹ウイルスの持続感染が提唱されている<sup>1,2)</sup>。その主要な根拠は，免疫組織化学染色にてCD患者腸組織に麻疹抗原 (正確には麻疹抗体陽性物質) が存在することにある<sup>1)</sup>。本研究は，この腸組織中の麻疹抗原の本態を明らかにし，麻疹ウイルスがCDの発症にどう関与しているのかを究明することを目的とした。

### 【対象と方法】

1) CD患者病変部腸組織より作製されたcDNAライブラリーを抗麻疹 monoclonal 抗体 (MAS 182r) でスクリーニングし，得られた陽性クローンの遺伝子解析を行った。2) 陽性クローンに対するモノクローナル抗体を作製し (4F12)，同抗体と抗麻疹モノクローナル抗体によりCrohn病腸組織を二重染色した。3) 4F12によりCD20例，潰瘍性大腸炎 (UC) 20例，その他の腸炎 (non-IBD colitis) 11例，正常コントロール9例の大腸組織の免疫染色を行い，陽性細胞数，陽性細胞数/有核細胞数比，陽性細胞の染色度を比較した。このうちのCD1例において，4F12とCD68による二重染色を行った。4) 4F12によりヒトの各臓器 (食道，胃，十二指腸，回腸，肝臓，肺，腎臓，脾臓，心臓) の免疫染色を行った。

### 【結 果】

1) スクリーニングにより1個の陽性クローンが得られた。遺伝子解析の結果，陽性クローンは麻疹ウイルスとはホモロジーを認めず，ヒト由来物質と類似していた。2) 陽性クローンに対するモノクローナル抗体 (4F12) は抗麻疹モノクローナル抗体 (MAS 182r) と同一の細胞を認識していた。3) 大腸組織中の4F12抗体陽性細胞および4F12陽性細胞数/有核細胞数比は，CD，UC，non-IBD colitisの3群ではコントロールに比し増加していたが ( $p < 0.05$ )，3群間には差はみられなかった。陽性細胞の染色度はCDで最も強く，コントロールと差を認めたが ( $p < 0.05$ )，CD，UC，non-IBD colitisの間に差はみられなかった。また4F12抗体陽性細胞の一部は，CD68抗体陽性を示した。4) 4F12陽性細胞は食道，胃，十二指腸，回腸，肺にも少数みられた。

### 【考察・結論】

われわれの一連の研究により，CD腸組織中に存在する麻疹抗原 (CDX) の正体はヒト由来タンパクであり，かつこの物質はCDに特異的に存在するものではないことが明かとなった。CDの病因としての麻疹ウイルス持続感染説を支える免疫組織学的証拠は，①抗麻疹抗体は麻疹ウイルスそのものを認識し，②麻疹抗体陽性物質はCD腸組織にのみ特異的に存在することを前提に成立している。われわれの結果は，2つの前提条件がいずれも不確かであることを明確に示しており，麻疹ウイルス説を否定

\* 秋田大学医学部，微生物

\*\* 同 ， 第一内科

するものであった。

CDXの機能は現段階では不明であるが、炎症部で増加し、その一部はCD68抗体陽性であることより、サイトカインの一種やマクロファージのsubpopulationに関係している可能性が示唆される。しかしながら、CDXは麻疹ウイルスと共通抗原性を有するタンパクであるため、ある特定の宿主においては、麻疹ウイルスとのmolecular mimicryの機序を介した自己免疫反応のターゲットとなりうるものと考えられる。このような意味において、麻疹ウイルスがCDの発症の引き金になっている可能性は残されているものと考えられる<sup>3)</sup>。

#### [参考文献]

- 1) Wakefield AJ, Pittilo RM, Sim R, Cosby SL, Stephenson JR, Dhillon AP, Pounder RE: Evidence of persistent measles virus infection in Crohn's disease. *J Med Virol* 1993;39:345-353.
- 2) Ekblom A, Daszak P, Kraaz W, Wakefield AJ: Crohn's disease after in-utero measles virus exposure. *Lancet* 1996;348:515-517.
- 3) Iizuka M, Masamune O: Measles vaccination and inflammatory bowel disease. *Lancet* 1997;350: 1774-1775.

### Measles virus as a trigger of the onset of Crohn's disease.

Nakagomi Osamu (Akita University School of Medicine, Department of Microbiology)

Iizuka Masahiro (Akita University School of Medicine, First Department of Internal Medicine)

[Purpose] The purpose of our study is to identify the origin of the material that was immunohistochemically stained with measles antibody in the intestine of Crohn's disease and to disclose the mechanism by which measles virus is involved in Crohn's disease. [Methods] The cDNA library from the intestinal tissue of Crohn's disease was screened with the anti-measles monoclonal antibody (MAS182r). The positive clone was genetically analyzed and the monoclonal antibody against the positive clone was constructed(4F12). The colonic tissues from 20 Crohn's disease, 20 ulcerative colitis, 11 non-IBD colitis, and 9 controls were immunohistochemically stained with 4F12 and the numbers of positive cells were compared. Furthermore, other human organs (the esophagus, stomach, duodenum, ileum, liver, lung, spleen, kidney, and heart) were immunohistochemically stained with 4F12. [Results] Genetic analysis revealed that the positive clone shared a high homology with human gene. The numbers of 4F12-positive cells were increased in the intestine of the Crohn's disease, ulcerative colitis, non-IBD colitis compared with controls, but were similar among three groups: Crohn's disease, ulcerative colitis, and non-IBD colitis. Staining intensity of the positive cells was also similar among the three groups. Small numbers of 4F12-positive cells were observed in the esophagus, stomach, ileum, and lung. [Conclusion] These results did not support the hypothesis that the persistent measles virus infection is implicated in Crohn's disease.

## クローン病におけるスーパー抗原性細菌毒素の役割

阿部 淳\* 高添 正和\*\* 松本 譽之\*\*\*  
 帯刀 誠\*\*\*\* 星野 恵津夫\*\*\*\*

**要旨:** [目的] クローン病の発症における *Staphylococcus aureus*, *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. pdt.*) などが産生するスーパー抗原性毒素の役割について検討することを目的とする。 [方法] クローン病患者169例の血清中の抗 *Y. pdt.* 菌由来スーパー抗原 (YPM) 抗体価をELISA法で測定した。また、YPMのリンパ球増殖刺激作用に対する患者血清中の中和活性を測定した。クローン病患者32例の直腸拭い液からの *S. aureus* および *Y. pdt.* 由来スーパー抗原遺伝子の検出をPCR法で試みた。 [結果] クローン病患者の23.1%に抗YPM抗体陽性者がみられたが、YPMに対する中和活性は、抗YPM抗体陽性患者19例中4例のみで陽性だった。 *Y. pdt.* は患者の直腸拭い液からは分離されなかった。また、患者の直腸拭い液からの *S. aureus* 検出率は、直接菌分離16.7%、PCR法 (coagulase遺伝子, proteinA遺伝子) による検出62.5%だった。陽性例からの *S. aureus* 由来スーパー抗原遺伝子の検出率では、検索した8種類のスーパー抗原の間で特定の偏りは見られなかった。 [結論] クローン病患者の一部は過去に *Y. pdt.* 感染を経験している。しかし、その割合は少なく、むしろ複数の細菌性スーパー抗原毒素がクローン病の病態の修飾に関与する可能性が示唆された。

**KEYWORD:** クローン病, スーパー抗原, T細胞, エルシニア感染症, ELISA, 黄色ブドウ球菌

### 【はじめに】

潰瘍性大腸炎とクローン病は、慢性炎症性腸疾患の代表的な疾患である。クローン病は消化管粘膜に生じる肉芽腫性病変を特徴とし、その発症機序として粘膜内T細胞の免疫制御機能異常が近年注目されている<sup>1,2)</sup>。本研究は、*Staphylococcus aureus*, *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. pdt.*) などのスーパー抗原産生菌による腸管感染が、宿主の腸管免疫系の制御機構を破綻させることによりクローン病の発症に関与する可能性について検討することを目的とする<sup>3)</sup>。

昨年度は、クローン病患者150例について血清中の *Y. pdt.* 由来スーパー抗原 (YPM, *Y. pseudotuberculosis*-derived mitogen) に対するIgG抗体価をELISA法で測定した。その結果、クローン病患者群でのELISA値は健常小児対照群に比べて有意に上昇していた。本年度は、健常成人での基準値が未確定だったので、消化性潰瘍患

者を含む93例の成人対照群について抗YPM抗体価を測定しクローン病患者群と比較した。また抗YPM抗体価の高かった患者の血清について、YPMのリンパ球増殖刺激作用に対する中和活性を測定した。さらに、患者の直腸拭い液からの *S. aureus* および *Y. pdt.* の検出を試みた。

### 【対象と方法】

クローン病患者169例および成人対照93例を対象として、血清中の抗エルシニア菌由来スーパー抗原 (YPM) 抗体価を2つの精製rYPM分画 (微量の大腸菌菌体成分を含む分画1, 微量のマルトース結合蛋白を含む分画2) を固相としたELISA法で測定した<sup>4)</sup>。YPMに対する血清中の中和活性は、健常成人の末梢血単核球をYPMおよび患者血清とともに培養し、3H-thymidineの摂取率を測定して算出した。さらに、クローン病患者32例から直腸拭い液を綿棒に採取して、増菌培養後に寒天培地上での菌の分離を行った。また、増菌培養した菌のDNAを抽出して、*S. aureus* および *Y. pdt.* 由来スーパー抗原遺伝子をPCR法により検出した<sup>5)</sup>。

\* 国立小児医療研究センター、小児生態研究部

\*\* 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

\*\*\*\* 帝京大学医学部、内科

## 【結 果】

1. IgG抗体については、第1分画を用いたELISAでは、クローン病患者の吸光度 (mean  $\pm$  SE) は0.508  $\pm$  0.027, 成人対照では0.175  $\pm$  0.015であり、クローン病患者で有意 ( $p=0.0001$ ) に高かった。また第2分画を用いたELISAでは、クローン病患者で0.236  $\pm$  0.031, 成人対照では0.028  $\pm$  0.007であり、クローン病患者で有意 ( $p=0.0001$ ) に高かった。

2. クローン病患者の中でIgG抗体陽性者 (健常成人平均値+2SD以上) は第1分画で74名, 第2分画で54名おり、第1, 第2分画ともに陽性者 (抗YPM抗体陽性者) は39名 (23.1%) だった。

3. YPMに対する血清中の中和活性は、*Y. pdt.* 感染症患者では7例中6例で陽性だったが、クローン病患者では19例中4例のみ陽性だった。

4. *Y. pdt.* は患者の直腸拭い液からは分離されなかった。また、増菌培養後の遠心沈渣からもYPM遺伝子は検出されなかった。

5. クローン病患者の直腸拭い液からの*S. aureus*検出率は、直接菌が分離されたもの16.7%, PCR法 (coagulase遺伝子, proteinA遺伝子) で遺伝子が検出されたもの62.5%だった。菌あるいは遺伝子が検出されたクローン病患者からの、*S. aureus*由来スーパー抗原遺伝子の検出率は、sea 6.7%, seb/c 26.7%, sed 0%, see 0%, seg 80.0%, seh 0%, sei 66.7%, tsst-1 20.0%だった。どのスーパー抗原遺伝子も検出されないものが20.0%みられた。

## 【考 察】

健常対照成人群と比較して、クローン病患者の23.1%で抗YPM-IgG抗体が陽性だった。これらの患者は過去に*Y. pdt.* に感染した可能性があると考えられる。しかし、クローン病患者の血清では各種の腸内細菌の菌体成分に対する抗体価が上昇していることがこれまでに報告されているので、ELISAでみられた抗YPM抗体の抗原特異性をさらに確認する目的で、YPMのリンパ球増殖刺激作用に対する患者血清中の中和活性を測定した。その結果、中和活性は抗体陽性者の一部にしかみられなかった。したがって、特異性の高い抗YPM抗体を有するクローン病患者は全体の数%に過ぎず、残りの抗YPM抗体陽性者は他の腸内細菌との交差反応による偽陽性であるか、あるいは*Y. pdt.* 感染からの時間経過とともに中和活性が測定限界以下に低下してしまった可能性が示唆された。抗YPM抗体を測定した患者とは別に、新たにクローン病患者32例の直腸拭い液を採取して、*Y. pdt.* 菌ある

いは菌由来遺伝子を直接検出しようと試みたが、陰性だった。*Y. pdt.* がクローン病患者の多くに持続感染している可能性は少ないと考えられた。

交差抗体の存在からも明らかのように、クローン病患者では自己の腸内細菌叢に対する免疫反応が異常亢進していると考えられる<sup>6)</sup>。この理由として、従来、腸炎局所での感染防御機構の破綻により菌が腸管粘膜を通過しやすくなること、あるいはクローン病活動期にはポリクローナルなB細胞活性化が生じていることが挙げられてきた。近年、クローン病患者では腸管粘膜での免疫抑制性のT細胞の機能異常があり、経口トレランスが破綻してTh1型T細胞の異常活性化が起きているのではないかと疑われている<sup>7,8)</sup>。今回我々は、このような病態を惹起する因子の一つとして、細菌性スーパー抗原毒素の役割に注目して研究を行った。クローン病患者の数%に*Y. pdt.* 感染の既往が証明されたこと、また患者の直腸拭い液から高頻度に*S. aureus*が検出され、陽性例の80%からいずれかのスーパー抗原遺伝子が検出されたことは、これらの菌が産生するスーパー抗原毒素が、腸管粘膜の炎症の増悪、慢性化に関わる可能性があることを示唆する。細菌性スーパー抗原毒素がクローン病患者の腸管粘膜での免疫抑制性のT細胞の機能異常を惹起するかどうか、今後検討したい。

## 【参考文献】

- 1) Morrissey PJ, Charrier K, Braddy S, et al: CD4+ T cells that express high levels of CD45RB induce wasting disease when transferred into congenic severe combined immunodeficient mice. Disease development is prevented by cotransfer of purified CD4+ T cells. *J Exp Med* 1993;178:237-244.
- 2) Powrie F, Leach MW, Mauze S, et al: Inhibition of Th1 response prevents inflammatory bowel disease in scid mice reconstituted with CD45RBhi CD4+ T cells. *Immunity* 1994;1:553-562.
- 3) Ibbotson JP, Lowes JR: Potential role of superantigen induced activation of cell mediated immune mechanisms in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 1995;36:1-4.
- 4) Abe J, Onimaru M, Matsumoto S, et al: Clinical role for a superantigen in *Yersinia pseudotuberculosis* infection. *J Clin Invest* 1997;99:1823-1830.

- 5) Konishi N, Baba K, Abe J, et al: A case of Kawasaki disease with coronary artery aneurysms documenting *Yersinia pseudotuberculosis* infection. *Acta Paediatr* 1997;86:661-664.
- 6) Blaser MJ, Miller RA, Lacher J, et al: Patients with active Crohn's disease have elevated serum antibodies to antigens of seven enteric bacterial pathogens. *Gastroenterol* 1984;87:888-894.
- 7) Duchmann R, Kaiser I, Hermann E, et al: Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 1995;102:448-455.
- 8) Parronchi P, Romagnani P, Annunziato F, et al: Type 1 T-helper cell predominance and interleukin-12 expression in the gut of patients with Crohn's disease. *Am J Pathol* 1997;150:823-832.

### Possible role of bacterial superantigens in the pathogenesis of Crohn's disease.

Abe Jun (National Children's Medical Research Center, Department of Child Ecology)

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

Matsumoto Takayuki (Osaka City University Medical School, Third Department of Internal Medicine)

Tatewaki Makoto (Teikyo University, Department of Internal Medicine)

Hoshino Etsuo (Teikyo University, Department of Internal Medicine)

[Purpose] The aim of this study was to clarify the potential pathogenic role of the bacterial superantigens, such as staphylococcal enterotoxins and YPM (*Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen), in Crohn's disease. [Method] The sera were obtained from 169 patients with Crohn's disease and 93 adult controls. IgG anti-YPM antibodies were measured by ELISA using rYPM-coated microtiter plates. Anti-mitogenic activity was measured using patients' sera which were positive in the anti-YPM ELISA. The staphylococcal superantigen genes (*sea*, *seb/c*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, and *tsst-1*) and the *ypm* gene were detected by PCR using the specific primer pairs from the rectal swab cultures obtained from 32 patients with Crohn's disease. [Results] Thirty-nine out of 169 patients (23.1%) had an elevated anti-YPM antibody titer compared with adult controls. However, anti-mitogenic activity was observed in only 4 out of 19 patients' sera which were anti-YPM antibody positive by ELISA. The *ypm* gene was not detected by PCR from the rectal swab cultures of patients. *S. aureus* was isolated from the rectal swabs from 16.7% of patients. By PCR, 62.5% of the patients' rectal swabs contained either the coagulase gene or the protein A gene of *S. aureus*. Among those patients, 5 types of superantigen genes were detected by PCR, i.e., *sea* 6.7%, *seb/c* 26.7%, *seg* 80.0%, *sei* 66.7%, and *tsst-1* 20.0%. [Conclusion] In the minor population of the patients with Crohn's disease, the evidence of the past *Y. pseudotuberculosis* infection was detected. YPM, as well as the other bacterial superantigens such as the staphylococcal enterotoxins, might be an important factor that triggers off the chronic bowel inflammation in the affected patients.

## *Yersinia enterocolitica* Hsp60大腸炎マウスモデルにおける自己反応性の特異性 —大腸菌Hsp colitisとの比較において—

八木田 旭 邦\* 助 川 寧\*\* 丸 山 正 二\*

**要 旨:** [目的] 精製 *Yersinia enterocolitica* (*Y.e.*) Hsp60接種によるマウス大腸炎における自己反応性を検討した。[方法] 精製 *Y.e.* Hsp60蛋白質をアジュバンドと共にマウスに週2回計17回腹腔接種し、マウス血清と自己大腸局所の間の反応性をELISAで調べた。さらに、*Escherichia coli* Hsp60のGroELをマウスに接種した場合と比較した。[結果] *Y.e.* Hsp60接種により大腸炎が発症したが、GroEL接種での大腸の変化は弱かった。*Y.e.* Hsp60接種群の自己反応性は高値を示したが、GroEL接種群の自己反応性は無処置マウスと同レベルであった。[結論] 精製 *Y.e.* Hsp60接種によりマウス大腸炎が生じたが、GroEL接種での大腸の変化は弱かった。この大腸炎の発症には、大腸に対する自己反応性亢進の関与が示唆された。

**KEYWORD:** inflammatory bowel disease, experimental colitis, heat-shock protein 60, *Yersinia enterocolitica*, GroEL, *Escherichia coli*, auto immune, ELISA

### 【はじめに】

*Yersinia enterocolitica* 60 kilodalton heat shock protein (*Y.e.*Hsp60) はヒトHsp60と50%のホモロジーをもつ分子である<sup>1)</sup>が、我々はIBD患者血清中に*Y.e.* Hsp60と反応する抗体価を見だし、IBD患者腸管中にも*Y.e.* Hsp60と反応する抗体価を見出した<sup>2)</sup>。そこで、我々はHsp60が疾患で自己抗原的に働く可能性があると考え、大腸菌に*Y.e.* Hsp60を産生せしめ、この加熱死菌をHsp抗原としてマウスに投与したところ、大腸に潰瘍性大腸炎類似の変化が生じていた<sup>3)</sup>。今回は、細菌性Hsp60として*Y.e.*Hsp60の精製蛋白質、もしくは大腸菌のHsp60であるGroELをマウスに接種して、大腸を調べた。

### 【方 法】

マウスは、4週齢B10A雄マウスを用いた。抗原は、精製した*Y.e.*Hsp60<sup>4)</sup>および、GroEL (メルク社)を用いた。マウスへの抗原投与は、1匹のマウスに対して200ngをアジュバンドと共に週2回計17回腹腔接種し、最終接種2日後に大腸を採取し、大腸の病理学的スコア<sup>5)</sup>

を調べた。大腸の一部をソニケートして10,000g上清を蛋白量2  $\mu$ g/mlとし、ELISA固層化抗原とした。このELISAプレートに自己血清を50倍希釈してアプライし、2次抗原として抗マウスIgGMにて検出した。1群は9匹である。

### 【結 果】

*Y.e.*Hsp60接種群大腸に、ゴブレットセルデプレッション、陰窩膿瘍類似所見が見られた。大腸の病理学的スコアは、無処置群 (left side 0.3-0.2, transverse 0.9-0.1, right side 0.8-0.1) (mean-SE, 以下同順)、*Y.e.*Hsp60接種群 (1.4-0.2, 1.9-0.3, 2.3-0.4)、GroEL接種群 (1.0-0.0, 1.4-0.2, 1.4-0.2)であった。大腸に対する自己血清の反応性は、無処置群 (0.0716-0.0270) (O.D.values, mean-SE, 以下同)、*Y.e.*Hsp60接種群 (0.2244-0.1059)、GroEL接種群 (0.0792-0.0984)であった。

### 【結論・考察】

細菌性Hsp60接種によるマウス大腸の反応は、*Y.e.* Hsp60接種で大きく、GroEL接種で小さかった。ヒトHsp60とGroELのアミノ酸相同性は50%、*Y.e.* Hsp60とGroELの相同性は90%である<sup>1)</sup>が、マウスに

\* 近畿大学、腫瘍免疫等研究所

\*\* 杏林大学医学部、第一外科

自己反応性を誘導する性質は *Y.e.* Hsp60 と GroEL で異なっていた。この大腸炎の発症には、大腸に対する自己反応性亢進の関与が示唆された。

#### 【参考文献】

- 1) Yamamoto T, Miura H, Ohsumi K, et al: Cloning and nucleotide sequence analysis of immunodominant heat-shock protein of *Yersinia enterocolitica*. Res. Micro. 1993;144:691-701.
- 2) 八木田旭邦, 他: 炎症性腸疾患, 特にクローン病と Hsp60 の関与 消化器と免疫 1993;28:124-127.
- 3) 八木田旭邦, 助川 寧, 山口博之, 他: 細菌熱ショック蛋白 Hsp60 投与によるマウス大腸炎モデルの検討 厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班, 平成6年度研究報告書 1995;252-253.
- 4) Yamaguchi H, Miura H, Ohsumi K, et al: Detection and characterization of antibodies to bacterial heat-shock protein 60 in sera of patients with primary biliary cirrhosis. Microbiol Immunol. 1994;38:483-487.
- 5) Okayasu I, Ohkusa T, Kajiura K, et al: Promotion of colorectal neoplasia in experimental murine ulcerative colitis. Gut 1996;39:87-92.

A colitis and autoreactive facilitation happen when *Yersinia enterocolitica* Hsp60 was inoculated to the mouse. But, autoreaction isn't facilitated even if GroEL was inoculated to the mouse.

Yagita Akikuni (Kinki University, Institute of immunotherapy for cancer)

Sukegawa Yasushi (Kyorin University, School of Medicine, Department of 1st Surgery)

Maruyama Shoji (Kinki University, Institute of immunotherapy for cancer)

[Purpose] We examined self reaction on the mice colitis which occurred by inoculating purified *Yersinia enterocolitica* (*Y.e.*) Hsp60. [Method] A purified *Y.e.* Hsp60 or GroEL protein and adjuvant were peritoneal inoculated two times per week for 17 times to mice. End of that time, expression of sera autoreactivity to the large intestine were examined by ELISA. [Result] A colitis affected it when *Y.e.* Hsp60 was inoculated to the mouse. When GroEL was inoculated, the change of the mouse large intestine was weak. Self reactivity of the *Y.e.* Hsp60 inoculation group showed a high values. Self reactivity in the GroEL inoculation group was on the same level as the untreated mouse. [Conclusion] A mouse colitis occurred due to the purified *Y.e.* Hsp60 inoculation. When GroEL was inoculated, the change of the mouse large intestine was weak. It was suggested that the facilitation of the self reaction toward large intestine was involved in the episode of this colitis.



## Sodium Butyrateによる腸管上皮細胞内転写因子発現制御について

馬場 忠雄\* 安藤 朗\* 荒木 克夫\*  
 辻川 知之\* 佐々木 雅也\* 藤山 佳秀\*

**要旨:** [目的] ヒト大腸内には、腸内細菌による食物繊維の発酵によって生ずる大量の短鎖脂肪酸が存在する。これらの短鎖脂肪酸の一つ酪酸 (butyrate) にはさまざまな生理活性が報告され、酪酸の注腸療法は潰瘍性大腸炎の治療法の一つとしてその有効性が認められている。酪酸の抗炎症作用の機序を明らかにすることを目的とした。 [方法] ヒト大腸癌細胞HT-29を用いて、TNF- $\alpha$ により誘導される転写因子の発現に対するSodium Butyrateの効果についてゲルシフト法を用いて検討した。 [結果] TNF- $\alpha$  (100 ng/ml) の添加により3時間でHT-29細胞の核内にNF- $\kappa$ B, NF-IL6, AP-1の活性化が誘導された。Sodium Butyrate(10 mM) の添加はNF- $\kappa$ BおよびAP-1の活性化を強力に抑制した。一方、NF-IL6や基本転写に関与するSp1の活性化に対しては影響しなかった。 [結論] 酪酸は、炎症性サイトカインにより誘導される転写因子発現を抑制することにより抗炎症作用を発揮しているものと考えられた。

KEYWORD: 短鎖脂肪酸, 酪酸, 転写因子

### 【はじめに】

食物繊維は、上部消化管における消化を受けず下部消化管(大腸)に達し、腸内細菌による発酵を受け大量の短鎖脂肪酸を生ずる。これらの短鎖脂肪酸の一つである酪酸(butyrate)は、腸管上皮細胞の主なエネルギー源となる一方、さまざまな抗炎症作用を持つことが知られている<sup>1,2)</sup>。欧米では、潰瘍性大腸炎の治療法の一つとして酪酸の注腸療法が試みられている<sup>3)</sup>。一方、細胞レベルのさまざまな炎症性サイトカイン(IL-1 $\beta$ やTNF- $\alpha$ )により誘導される遺伝子発現において、NF- $\kappa$ B, AP-1, NF-IL6などの転写因子の活性化が重要な役割を果たしていることが明らかにされている<sup>4)</sup>。今回の検討では、酪酸の抗炎症作用のメカニズムを明らかにする目的で、炎症刺激により腸管上皮細胞に誘導される転写因子活性化に対する酪酸の影響について検討した。

### 【方 法】

1.大腸癌由来のヒト腸管上皮細胞株HT-29をTNF- $\alpha$  (100ng/ml), Sodium butyrate (10mM) およびこれらの併用下に3時間培養後、細胞核を分離した。2.これらの核より、Dignamらの方法により核蛋白抽出液を得た<sup>5)</sup>。3.既報に従って、NF- $\kappa$ B, AP-1, NF-IL6, SP1

の結合配列DNAを合成し[ $\alpha$ -32P]ATPで標識した。4. NF- $\kappa$ B, AP-1, NF-IL6, SP1の活性化をゲルシフト法により解析した。

### 【結 果】

1.TNF- $\alpha$ は著明なNF- $\kappa$ Bの活性化を誘導した(図1A; lane1, mediumのみ; lane2, sodium butyrate; lane3, TNF- $\alpha$ ; lane4, TNF- $\alpha$  + sodiumbutyrate)。TNF- $\alpha$ により誘導されたNF- $\kappa$ Bは、抗p50, 抗p65抗体により移動度が変化する事により、p50/p65のheterodimerであることが示された。Sodium butyrateの添加は、TNF- $\alpha$ により誘導されるNF- $\kappa$ Bの活性化を著明に抑制した。2.TNF- $\alpha$ は、AP-1の活性化を誘導したが、Sodium butyrateはこの活性化を著明に抑制した(図1B; lane1, mediumのみ; lane2, sodium butyrate; lane3, TNF- $\alpha$ ; lane4, TNF- $\alpha$  + sodium butyrate)。3.TNF- $\alpha$ の添加はNF-IL6の活性化を誘導した(図2A; lane1, mediumのみ; lane2, sodium butyrate; lane3, TNF- $\alpha$ ; lane4, TNF- $\alpha$  + sodium butyrate)。Sodium butyrateは、TNF- $\alpha$ により誘導されたNF-IL6の活性化を若干増強した。4. TNF- $\alpha$ およびsodium butyrateの添加は、Sp1の活性化には影響しなかった(図2B; lane1, mediumのみ; lane2, sodium butyrate; lane3, TNF- $\alpha$ ; lane4, TNF- $\alpha$  + sodium butyrate)。

\*滋賀医科大学, 第二内科

## 【結 論】

TNF- $\alpha$ が腸管上皮細胞からIL-8の産生分泌を誘導するなど、腸管局所における炎症反応において炎症性サイトカインが誘導する上皮細胞機能の修飾は重要な意味を持つことが知られている。これら一連の反応の細胞内における刺激伝達は、さまざまな転写因子の活性化により担われている。例えば、TNF- $\alpha$ の添加は、腸管上皮細胞HT-29にNF- $\kappa$ B, AP-1, NF-IL6の活性化を誘導した。NF- $\kappa$ B, AP-1, NF-IL6活性化の炎症、免疫反応における意義については、すでにさまざまな免疫担当細胞において明らかにされているが、今回の知見は、上皮細胞においても同様の転写因子活性化が誘導されることを示している。一方、酪酸の添加は、TNF- $\alpha$ により誘導されるNF- $\kappa$ BおよびAP-1の活性化を著明に抑制した。おそらく、酪酸の抗炎症作用の一部は、これらのNF- $\kappa$ BやAP-1活性化の抑制により発揮されているものと考えられる。ただ、興味あることに、NF-IL6の動態に見られるように、酪酸の抑制効果はすべての炎症をつかさどる転写因子に見られるものではない。また、Sp1のようなgeneral transcription factorの活性化にも影響しない。今後、酪酸による選択的な転写因子活性化の抑制が、どの様なメカニズムにより発揮されているのか明らかにしていく必要がある。

## 【参考文献】

- 1) Sheppach W, Bortram P, Richter F, et al: The effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro. *J Parent Enter Nutr* 1992;16:43-48.
- 2) Cummings JH: Short chain fatty acids in the human colon. *Gut* 1981;22:763-779.
- 3) Steihart AH, Brzezinski A, Baker JP: Treatment of refractory ulcerative proctosigmoiditis with butyrate enemas. *Am J Gastroenterol* 1994;89:179-183.
- 4) Yasumoto K, Okamoto S, Mukaida N, et al: Tumor necrosis factor  $\alpha$  and interferon  $\gamma$  synergistically induce interleukin 8 production in a human gastric cancer cell line through acting concurrently on AP-1 and NF- $\kappa$ B-like binding sites of the interleukin 8 gene. *J Biol Chem* 1992; 267:22506-22511.
- 5) Dignam JP, Lebovitz RM, Roeder RG: Accurate transcription initiation by RNA polymerase II in a soluble extract from isolated mammalian nuclei. *Nucleic Acids Res* 1983;11:1475-1489.

図1

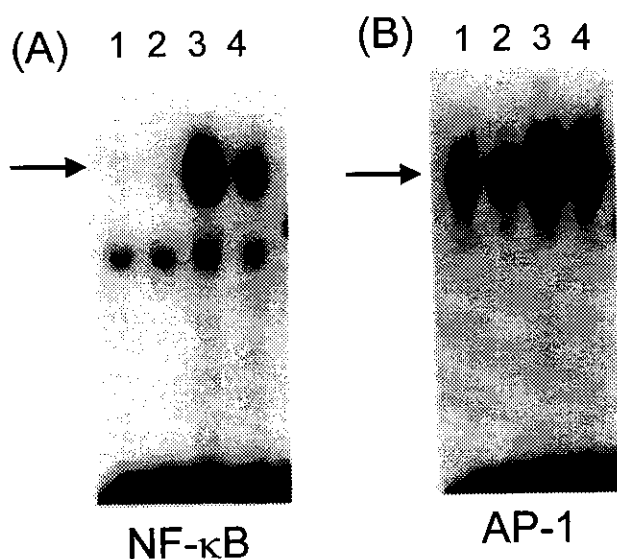
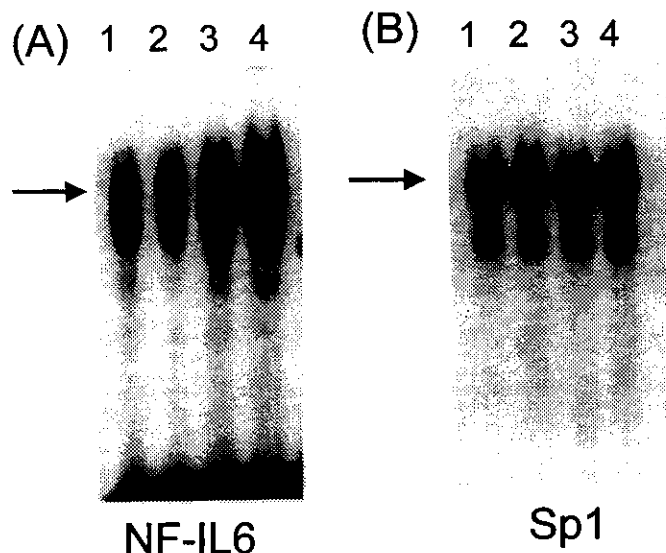


図2



## Modulation of Transcription Factor Activation by Sodium Butyrate.

Bamba Tadao (Shiga University of Medical Science, Second Department of Internal Medicine)

Andoh Akira (Shiga University of Medical Science, Second Department of Internal Medicine)

Araki Yoshio (Shiga University of Medical Science, Second Department of Internal Medicine)

Tujikawa Tomoyuki (Shiga University of Medical Science, Second Department of Internal Medicine)

Sasaki Masaya (Shiga University of Medical Science, Second Department of Internal Medicine)

Fujiyama Yoshihide (Shiga University of Medical Science, Second Department of Internal Medicine)

The various biological activities of butyrate, a bacterial fermentation product, have been well documented. In this study, we tested the effects of butyrate on tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ -induced transcription factor activation in human intestinal epithelial cells. The transcription factor-DNA binding activity was assessed by an electrophoretic gel mobility shift assay (EMSA). The EMSAs indicated that sodium butyrate suppressed TNF- $\alpha$ -induced nuclear factor (NF)- $\kappa$ B- and activation protein (AP)-1-DNA binding activity, but did not affect TNF- $\alpha$ -induced activation of NF-IL6-and Sp1-DNA binding activity. It is likely that sodium butyrate may exert its anti-inflammatory effects by modulating transcription factor activation.

## 抗菌薬投与によるヒト大腸粘膜細菌叢の変動

岡村 登\* 小林 久美子\* 千田 俊雄\*  
 岡村 孝\*\*

**要 旨:** [目的] 術前および術中の抗菌薬投与による大腸粘膜細菌叢の変動を科・属、菌種レベルで検討した。 [方法] 抗菌薬投与 (kanamycin/metronidazole術前経口投与, およびcefmetazole術中静注投与) を受けた大腸粘膜の約0.1gを採取後, ホモジナイズし, 好気・嫌気培養を行ない菌種まで同定した。 [結果] 抗菌薬非投与群と比較して抗菌薬投与群における総菌数, 好気性菌数, 嫌気性菌数は有意に減少した。各投与群ではkanamycin/metronidazole投与群で*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Bacteroidaceae*, *Clostridium*の菌数および検出率が有意に減少した。cefmetazole投与群では*Clostridium*, *Peptococcaceae*の菌数および検出率が有意に減少した。抗菌薬投与群間ではkanamycin/metronidazole投与群よりcefmetazole投与群の嫌気性菌, *Bacteroidaceae*の菌数および検出率が有意に高かった。菌種レベルでは非投与群とcefmetazole投与群では*Bacteroidaceae*の菌が優勢であり, kanamycin/metronidazole投与群では*Enterococcus*などの通性嫌気性菌が優勢であった。 [結論] 術前, 術中の抗菌薬投与法により, 大腸粘膜細菌叢の変動が認められた。薬剤間ではkanamycin/metronidazole投与群の方がcefmetazole投与群よりも細菌の減少傾向が大きく見られた。

**KEYWORD:** 大腸粘膜細菌叢, 抗菌薬投与, 潰瘍性大腸炎

### 【はじめに】

我々は以前, 抗菌薬投与を受けていないヒト大腸粘膜細菌叢について検討したが, その結果, 粘膜上に存在する細菌は糞便のそれよりも少なく, 主要な構成菌種も異なっていることがわかった<sup>1)</sup>。そこで, 今回種々の抗菌薬投与を受けた症例についてその大腸粘膜検体を得, 細菌叢について検討を行った。

### 【対象および方法】

都立大塚病院において非炎症性腸疾患の外科的手術を受けた患者 (抗菌薬非投与24例, kanamycin 1g/metronidazole 500mg 術前日3回経口投与群7例, cefmetazole 1g術中静注群3例) から患部以外の正常部位と考えられる部位の大腸粘膜を採取した。粘膜検体約0.1gを輸送培地900 $\mu$ lに入れた。これをホモジナイズし10<sup>-1</sup>希釈液とした。さらに10<sup>-3</sup>, 10<sup>-5</sup>希釈系列を作成し, 10種類の培地に50 $\mu$ ずつ塗布した。培養方法, 菌群の同定および菌数の算定法は光岡の方法にした

が<sup>2)</sup>。検体1g当たりの菌数は対数で表記した。菌種の同定には定法と市販の同定キット (Api Strep, Api 20A, RapID ANA II) を使用した。

### 【結 果】

各々の群から検出された細菌の科・属レベルにおける検出率と菌数を表1に示す。抗菌薬非投与群と比較してkanamycin/metronidazole投与群では*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Bacteroidaceae*, *Clostridium*の検出率および菌数が, *Enterococcus*で

表1. Bacterial flora associated with the colonic mucosa

Bacterial group	抗菌薬非投与群 (n=46)		KM/MTZ経口投与 (n=12)		CMZ静注 (n=3)	
	Mean $\pm$ SD No. of bacteria (log <sub>10</sub> )	frequency (%)	Mean $\pm$ SD No. of bacteria (log <sub>10</sub> )	frequency (%)	Mean $\pm$ SD No. of bacteria (log <sub>10</sub> )	frequency (%)
Total aerobes	5.01 $\pm$ 1.61	95.7	3.69 $\pm$ 1.54*	75.0	3.42 $\pm$ 0.99*	83.3
<i>Streptococcus</i>	3.24 $\pm$ 1.62	56.5	2.85 $\pm$ 1.58	25.0	2.53 $\pm$ 0.63	50.0
<i>Enterococcus</i>	3.10 $\pm$ 1.71	37.0	2.38 $\pm$ 0.64*	33.3	2.34 $\pm$ 0.58*	33.3
<i>Enterobacteriaceae</i>	3.74 $\pm$ 1.58	50.4	2.36 $\pm$ 1.10*	16.7	2.53 $\pm$ 0.83*	33.3
<i>Corynebacterium</i>	2.05 $\pm$ 0.21	6.5	2.03 $\pm$ 0.09	8.3	<2.00	0.0
<i>Bacillus</i>	2.01 $\pm$ 0.04	2.2	2.08 $\pm$ 0.19	16.7	<2.00	0.0
Yeast	2.01 $\pm$ 0.04	2.2	<2.00	0.0	<2.00	0.0
<i>Staphylococcus</i>	2.45 $\pm$ 1.09	28.3	<2.00*	0.0*	2.83 $\pm$ 0.84	83.3*
<i>Lactobacillus</i>	2.01 $\pm$ 0.09	2.2	<2.00	0.0	<2.00	0.0
Glucosyl-nonfermentor	2.13 $\pm$ 0.59	10.9	<2.00	0.0*	<2.00	0.0*
Total anaerobes	5.72 $\pm$ 1.72	100.0	2.59 $\pm$ 0.88*	50.0*	3.83 $\pm$ 0.44*	100.0
<i>Bacteroidaceae</i>	5.42 $\pm$ 1.91	89.1	2.25 $\pm$ 0.48*	25.0*	3.72 $\pm$ 0.40*	100*
<i>Clostridium</i>	3.81 $\pm$ 1.93	50.0	2.24 $\pm$ 0.59*	16.7*	<2.00*	0.0*
<i>Peptococcaceae</i>	2.37 $\pm$ 1.08	15.2	2.05 $\pm$ 0.17	8.3	<2.00*	0.0*
<i>Bifidobacterium</i>	2.26 $\pm$ 0.90	10.9	<2.00	0.0*	2.19 $\pm$ 0.47	16.7*
<i>Eubacterium</i>	2.27 $\pm$ 1.05	6.5	<2.00	0.0	<2.00	0.0
<i>Veillonella</i>	2.21 $\pm$ 0.99	4.3	<2.00	0.0	<2.00	0.0
<i>Actinomyces</i>	<2.00	0.0	2.18 $\pm$ 0.43	16.7	2.35 $\pm$ 0.58	16.7
Total bacterial counts	6.08 $\pm$ 1.58	100.0	3.97 $\pm$ 1.44*	83.3	4.08 $\pm$ 0.40*	100.0

\* p<0.05, t test

\* 東京医科歯科大学医学部, 保健衛生学科

\*\* 東京都立大塚病院, 外科