

HLA class II, CD3, CD4, CD8, mouse IgG2aおよび2b抗体(コントロール抗体)の添加により細胞傷害活性が阻害されるか検討した。抗体の最終濃度は50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。

FACSscan: 樹立したCTL lineの表面抗原について抗CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, TCR  $\alpha\beta$ 抗体を用いてフローサイトメトリーにて検討した。

### [結 果]

LPLをHLAの一致する大腸上皮細胞株WiDrで刺激して培養し、T cell line YKを樹立し、その細胞傷害活性について、培養8週目に検討した。YKはHLAの一致する大腸上皮細胞株WiDrに対して高い細胞傷害活性(68%)を示し、HLAの一致しない大腸上皮細胞株CW2およびACMとNK細胞に感受性の高いK562に対しては有意な細胞傷害活性を示さなかった。また、YKの細胞傷害活性が大腸上皮細胞に特異的かどうかをみるため、HLA-A locusの一致する食道上皮細胞株KE4についても細胞傷害活性を検討したが、HLAの一致する大腸上皮細胞株WiDrに比べ有意な細胞傷害活性は認められなかった。normal controlとして健常者より分離したLPLを、同様な方法でHLAの一致する大腸上皮細胞株WiDrで刺激して培養したT cell lineでは、HLAの一致する大腸上皮細胞株WiDrのほか、HLAの異なる大腸上皮細胞株やNK感受性が高いK562に対しても、高い細胞傷害活性を示したことより、normal controlの細胞傷害活性は明らかに非特異的なものと考えられた。また、CTL line YKおよびnormal controlにおいてHLAが一致する大腸上皮細胞株WiDrに対する細胞傷害活性が、どのpopulationにより引き起こされているかを検討するために各種表面抗原に対する抗体による細胞傷害活性の抑制試験を行った。YKの細胞傷害活性は抗CD3, CD8, HLA-class I抗体を加えた場合、著明に抑制されたが、抗CD4及びHLA class II抗体を加えた場合には抑制されなかった。一方、normal controlでは、抗CD3抗体による抑制がYKと比べ軽度認められたが、それ以外の抗体では有意な細胞傷害活性の抑制は認められなかった。YKの培養65日目のフローサイトメトリーの結果は、CD16は陰性で、CD3陽性リンパ球が99%、CD8陽性が65%、CD4陽性が32%であった。以上よりYKのWiDrに対する細胞傷害活性はほとんどがCD8陽性、HLA class I拘束性のCTLによると考えられた。

### [考 察]

本症は大腸上皮細胞が選択的に傷害される疾患であり、

その大腸粘膜傷害機序についてはADCC<sup>2)</sup>、NK活性、lymphokine-activated killer cell(LAK)活性などの細胞傷害機序が検討されてきた。近年、CTLに関してもShanahanらがUC患者PBL中にCTLが存在することを証明し<sup>3)</sup>、さらに岡崎らがIBD患者のPBLがHLA class I拘束性に大腸上皮細胞株を傷害することを示した<sup>4)</sup>。われわれも、UC患者PBLより大腸上皮細胞に特異的なCTL lineおよびcloneの樹立に成功した<sup>1)</sup>。今回、さらに炎症局所におけるCTLの存在を示すため、これまでと同様な方法を用いてUC患者LPLよりCTL lineの樹立を試み、1例のUC患者LPLよりHLA class I拘束性のCTL lineの樹立に成功した。

CTLは標的細胞上のMHC分子に結合する抗原を認識するが、autologousの標的細胞のみならずHLA-A locusの一致するallogeneicの標的細胞をも傷害することが示されている<sup>5)</sup>。Stevensらはmelanoma患者のPBLをHLA-A locusの一致したallogeneicのmelanoma cell lineで刺激することにより腫瘍特異的なCTL lineの樹立に成功している<sup>6)</sup>。われわれはCTLのcell line化をStevensらが報告した方法に準じて行った。すなわちLPLをHLA-A locusの一致した大腸上皮細胞株で持続的に刺激するという特殊な方法を用いることにより、抗原特異的刺激による長期培養が可能となり、UC患者LPLよりT-cell lineの樹立に成功した。このUC患者LPLより樹立したT-cell lineのphenotypeはCD3+, CD8+, CD56-であり、HLAの一致する大腸上皮細胞株に対して高い細胞傷害活性を示し、HLAの一致しない大腸上皮細胞株に対しては有意な細胞傷害活性は示さなかった。また、このT cell lineの細胞傷害活性は抗CD3, CD8及びHLA Class I抗体で著明に抑制されたことより、HLA class I拘束性のCTL lineが樹立できたと考えられた。さらに、HLAの一致する食道上皮細胞株に対しては有意な細胞傷害活性を示さなかったことより大腸上皮細胞上の抗原を認識している可能性が示唆された。以上のように、我々はUC患者LPLよりHLA class I拘束性に大腸上皮細胞株を傷害するCTL lineの樹立に成功したが、今後、本症の発症および進展におけるCTLの関与や意義などについて症例数を増やして検討し、さらにCTLが認識する大腸上皮細胞上の抗原epitopeを同定していくことが本症の発症機序解明に有用と考えられる。

### [文 献]

- 1) Yonamine Y, et al: Generation of MHC class I-restricted cytotoxic T cell lines and clones against colonic epithelial cells from ulcerative

- colitis. *J Clin Immunol*. In press.
- 2) Hibi T, et al: Anti-colonic antibody and lymphocytophilic antibody in ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol*. 1982;49:75-80.
  - 3) Shanahan F, et al: Enhanced peripheral blood T cell cytotoxicity in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol*. 1989;9:55-64.
  - 4) Okazaki K, et al: Major histocompatibility antigen-restricted cytotoxicity in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1993;104:384-391.
  - 5) Hayashi Y, et al: Cytotoxic T cell lines recognize autologous and allogeneic melanomas with shared or cross-reactive HLA-A. *Cancer Immunol Immunother*. 1992;34:419-423.
  - 6) Stevens EJ, et al: Generation of tumor-specific CTLs from melanoma patients by using peripheral blood stimulated with allogeneic melanoma tumor cell lines. Fine specificity and MART-1 melanoma antigen recognition. *J Immunol*. 1995;154:762-771.

### Establishment of cytotoxic T cell lines against colonic epithelial cells from LPLs of patients with ulcerative colitis.

Sunagawa Takashi (University of the Ryukyus, First Department of Internal Medicine)  
 Kinjo Fukunori (University of the Ryukyus, First Department of Internal Medicine)  
 Yonamine Yoshimasa (University of the Ryukyus, First Department of Internal Medicine)  
 Saito Atsushi (University of the Ryukyus, First Department of Internal Medicine)  
 Watanabe Mamoru (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)  
 Hibi Toshifumi (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

[Purpose] We assessed the characteristics of CTLs against colonic epithelial cells obtained from LPLs of UC patients. [Method] Colonic epithelial cell lines (WiDr, CW2 and ACM), an esophagus cell line (KE4), and an erythroleukemia cell line (K562) were used as target cells. A CTL line established from LPLs of patient with UC who shared at least one haplotype of HLA-A locus with WiDr was used as a effector cell. The CTL line was generated from LPLs by continuous stimulation with colonic epithelial cell line WiDr. We studied the phenotype and cytotoxic activity of the CTL lines. [Result] The CTL line showed increased cytotoxicity against HLA-A locus matched colonic epithelial cell line, but not against non-HLA-A locus matched colonic epithelial cell line, K562 and HLA-A locus matched esophagus cell lines. The cytotoxic activities of the CTL line was significantly decreased in the presence of anti-HLA class I, CD3 and CD8 monoclonal antibody. The phenotype of the CTL line was CD3+, CD8+, TCR  $\alpha\beta$  + and CD16-. [Conclusion] We established a CTL line against colonic epithelial cell line from LPLs of patient with UC. Further studies for the antigenic epitopes recognized by these CTLs may contribute to our understandings of the mechanism for colonic epithelial cell damage in some groups of patients with UC.

## クローン病におけるインターロイキン18の意義

金井隆典\* 岡沢 啓\*\* 中丸幸一\*\*  
 松川英彦\*\* 前田 憲 男\*\* 田原利行\*\*  
 岡本真紀代\*\* 長沼 誠\*\* 矢島知治\*\*  
 山崎元美\*\* 岩男 泰\*\* 渡辺 守\*  
 日比紀文\*\*\*

**要 旨：** [目的] クローン病では単球系細胞の活性化が示唆されている。今回、腸粘膜リンパ球に対するインターロイキン-18 (IL-18) の増殖効果について検討した。 [方法] クローン病、潰瘍性大腸炎、健常者の大腸、小腸、粘膜内リンパ球 (LPL) を単離し、IL-18による増殖アッセイを行った。また、IL-18受容体 (IL-18R) の発現をフローサイトメトリーにより解析した。クローン病、潰瘍性大腸炎、健常者腸粘膜におけるIL-18蛋白の発現について免疫組織学的に検討した。 [成績] クローン病LPLでIL-18に対する強い増殖活性を、潰瘍性大腸炎ではクローン病に比し軽度の増殖活性を認めた。健常者LPLでは増殖活性を認めなかった。フローサイトメトリーではクローン病、潰瘍性大腸炎、健常者LPLでIL-18R、IL-2R弱陽性、IL-7R強陽性で、有意な差を認めなかった。IL-18刺激後クローン病LPLにおいてのみIL-2Rを強く誘導した。免疫組織学的検討ではIL-18は腸上皮細胞にはクローン病、潰瘍性大腸炎、健常者に、粘膜固有層内マクロファージにおいてはクローン病のみ発現を認めた。 [考案] クローン病LPLにはIL-18Rの発現を認め、さらに、IL-18によりIL-2R発現を誘導しIL-2シグナルを介して増殖する病態が考えられ、クローン病腸管粘膜における炎症にIL-18が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。(班外協力:池田雅夫, 栗本雅司, 林原生物化学研究所)

**KEYWORD：** クローン病, インターロイキン18, 腸管免疫

### 【はじめに】

潰瘍性大腸炎とクローン病に代表される炎症性腸疾患 (IBD) は近年、本邦においても急速に罹患患者が増加しており、若年にて発症し長期に渡り慢性に経過する。しかし、その病態は膨大な研究成果にもかかわらず、いまだ原因不明の難病とされ、社会的にも問題とされている<sup>1,2)</sup>。特に、CDは大腸のみならず、消化管全域に罹患範囲が及び、長期にわたり成分栄養剤によるQOLの点からも極めて悪条件の生活を余儀なくされることが多い。IBDの腸管粘膜においては免疫系細胞が活性化されており、特に、クローン病において単球系細胞の活性化が示唆されている<sup>1,2)</sup>。研究代表者のチームは、現在までに提唱されているクローン病の病態機序の中で、マクロ

ファージ細胞機能異常、特に、最近、新しく発見されたサイトカイン、IL-18の関与について着目した。IL-18は主に単球系細胞より産生され、T細胞やNK細胞に作用してIFN- $\gamma$ の産生を誘導する因子として報告されている<sup>3,4)</sup>。今回我々はクローン病LPLに対し、IL-18が機能因子か否かについて検討した。

### 【対象と方法】

- 1) クローン病、潰瘍性大腸炎、健常人血清中のIL-18濃度をELISA法にて検討した。
- 2) クローン病10例、潰瘍性大腸炎10例、健常者10例の手術検体または内視鏡下生検より得られた回腸末端粘膜、大腸粘膜の組織より、粘膜固有層内リンパ球 (LPL) を単離し、種々のサイトカイン (IL-18, IL-2, IL-7, IL-12) による増殖活性を<sup>3H</sup>-thymidineの取り込みによるproliferation assayにて検討した。

\* 慶應がんセンター

\*\* 慶應義塾大学医学部、消化器内科

3) LPLにつきIL-18添加48時間培養後の細胞表面上のphenotype (IL-2R, IL-7R)の発現をクローン病LPLフローサイトメトリーにより解析した。

4) クローン病, 潰瘍性大腸炎, 健常者腸粘膜におけるIL-18蛋白の発現について免疫組織学的に検討した。

### [成 績]

1) クローン病患者血清中のIL-18濃度は有意に潰瘍性大腸炎, 健常人血清に比し高値を示した。

2) クローン病LPLにおいて, IL-18による強い増殖活性を認め, 緩解期に比し活動期に有意に強かった。潰瘍性大腸炎LPLについても同様の傾向を認めたが, その増殖活性はクローン病LPLに比し有意に低かった。一方, 健常者LPLでは増殖活性をまったく認めなかった。IL-12でもIL-18と同様の結果を認めたが, IL-2では疾患による差はなく, IL-7では健常者に比し, IBDで有意に増殖活性は低かった。

3) フローサイトメトリーによる検討では, クローン病, 潰瘍性大腸炎, 健常者において, IL-18刺激後, クローン病においてのみIL-2R発現を強く誘導した。

4) 免疫組織学的検討ではIL-18は腸上皮細胞にはクローン病, 潰瘍性大腸炎, 健常者に, 粘膜固有層内マクロファージにおいてはクローン病のみ発現を認めた。

### [考 案]

IL-18がマクロファージのみならず, 腸上皮細胞からも産生されることより<sup>5)</sup>, 炎症性腸疾患病態への関与を追究することは, 有効で副作用の少ない薬物治療の少ない炎症性腸疾患の新しい治療戦略の可能性をもち, きわめて重要な研究領域と考える。また, クローン病の病理学的特異構造, 非乾酪性肉芽腫の本体がマクロファージの集簇と関連することからもIL-18分子の関与が示唆される。本プロジェクトによってクローン病を代表とした慢性炎症にIL-18が関与し, 他のサイトカイン・ネットワークでの位置づけが明らかとなり, 将来, 臨床における治療戦略に有用な情報をもたらすと考える。最近では, クローン病の新しい治療法として, TNFキメラ抗体の投与が欧米を中心に行われ, 優れた成績をおさめており<sup>6)</sup>, 今後, 特定の重要分子, 特に増悪因子に対するモノクローナル抗体による治療法の開発が発展するものと考えられている。TNF分子がIL-18分子と同じくマクロ

ファージが主産生担当細胞であることを考えれば, IL-18抗体は有望な治療戦略となりうると考えられる。今回の検討では, クローン病LPL, 特に活動期クローン病LPLにはIL-18Rの発現が増強し, 局所より産生されるIL-18により, IL-2R発現を誘導し, 一部はIL-2シグナルを介して増殖する病態が考えられ, クローン病腸管粘膜における炎症にIL-18が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

### [参考文献]

- 1) 日比紀文, 金井隆典, 渡辺 守: 炎症性腸疾患における免疫異常 消化器外科 1997;20:85-93.
- 2) 渡辺 守, 金井隆典, 岩男 泰, 日比紀文: 炎症性腸疾患におけるサイトカインの意義 Medical Practice 1997;14:1141-1144.
- 3) Dinarello CA, Novick D, Puren AJ, Fantuzzi G, Shapiro L, Muhl H, Yoon D-Y, Reznikov LL, Kim S-H, and M Rubinstein: Overview of interleukin-18: more than an interferon-g inducing factor. J. Leukocyte Biology 1998;63:658-664.
- 4) Taniguchi M, Nagaoka K, Kunikata T, Kayano T, Yamauchi H, Nakamura S, Ikeda M, Oriya K, and M Kurimoto: Characterization of anti-human interleukin-18 (IL-18) / interleukin-g-inducing factor (IGIF) monoclonal antibodies and their application in the measurement of human IL-18 by ELISA. J. Immunol. Methods. 1997;206: 107-113.
- 5) Takeuchi M., Nishizaki Y., Sano O., Ohta T., Ikeda M., Kurimoto M: Immunohistochemical and immuno-electron-microscopic detection of interferon-gamma-inducing factor(IGIF)/ interleukin-18(IL-18) in mouse intestinal epithelial cells. Cell Tissue Res. 1997;289:499-503.
- 6) van Dullemen, HM., van Deventer SJH., Hommes DW., Bijl HA., Jansen J., Tytgat GNJ., Woody J: Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). Gastroenterology 1995;109:129-135.

## The pathophysiological role of interleukin-18 on Crohn's disease.

Kanai Takanori (Keio University School of Medicine, Keio Cancer Center)

Okazawa Akira (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Nakamaru Kouichi (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Matsukawa Hidehiko (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Maeda Norio (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Tahara Toshiyuki (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Okamoto Makiyo (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Naganuma Makoto (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Yajima Tomoharu (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Yamazaki Motomi (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Iwao Yasushi (Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Watanabe Mamoru (Keio University School of Medicine, Keio Cancer Center)

Hibi Toshifumi (Keio University School of Medicine, Keio Cancer Center)

(Keio University School of Medicine, Department of Internal Medicine)

Interleukin-18 (IL-18) derived from activated macrophages induces interferon- $\gamma$  production and mediates Th1 responses. We have demonstrated that activated macrophages and Th1 CD4<sup>+</sup> mucosal T cells mediated the intestinal inflammation in Crohn's disease (CD). We assessed the expression of IL-18 in intestinal mucosa and functional role of IL-18 in the regulation of mucosal T cell proliferation in CD. [Methods] Lamina propria lymphocytes (LPLs) were isolated from tissues of intestinal mucosa in patients of ulcerative colitis (UC), CD, and in healthy controls. Proliferation assays were done by culturing LPLs with recombinant IL-18. IL-18R expression on LPLs was assessed by flow cytometry. Tissue sections of intestinal mucosa were stained with anti-IL-18 mAb for immunohistochemistry. [Results] 1) IL-18 significantly enhanced the proliferation of LPLs from CD, but not from controls. 2) In flow cytometry analysis, IL-18R, IL-2R and IL-7R were expressed in LPLs from CD, UC and controls. The expression of IL-2R was induced significantly only in LPLs from CD after stimulation with IL-18. 3) IL-18 protein was expressed in both intestinal epithelial cells and lamina propria mononuclear cells in ileum in CD. IL-18 expression in CD mucosa was increased as compared to UC or controls. [Conclusion] These results indicated that IL-18 expression is increased in intestinal epithelium and infiltrated macrophage, and locally-produced IL-18 regulates the proliferation of mucosal T cells in the intestinal mucosa with CD.

## 炎症性腸疾患における血小板由来増殖因子とその受容体

樋 渡 信 夫\* 熊 谷 進 司\* 豊 田 隆 謙\*  
大 谷 明 夫\*\* 名 倉 宏\*\*

**要 旨：** [目的] 炎症性腸疾患 (IBD) における血小板由来増殖因子 (PDGF) の関与を明らかにするために、PDGF とその受容体 (PDGF-R) の発現を検討した。 [方法] 潰瘍性大腸炎、クローン病の手術標本を用いて、免疫染色、免疫電顕と In situ hybridization (ISH) により検討した。 [結果] 炎症部ではマクロファージと好中球がPDGF-AA と -BBの蛋白およびmRNAが陽性であり、マクロファージと線維芽細胞が-R $\alpha$ 陽性であり、その陽性率は癒痕、健常部と比較して有意差を認めた。線維化の部分では、PDGF-AA,-BB, と-R $\beta$ の蛋白およびmRNAが陽性であった。免疫電顕の検討では、PDGF-R $\alpha$ はマクロファージ、線維芽細胞、-R $\beta$ は線維芽細胞、血管内皮細胞、pericyteに発現していた。 [結論] PDGFはIBDにおいて主に潰瘍底の炎症細胞や血小板から放出され、マクロファージや好中球の遊走、増殖を促進し、急性炎症の成立に関与すると考えられた<sup>3)</sup>。また、PDGFは線維芽細胞の遊走や活性化をもたらすとともに、血管内皮細胞に作用し、血管新生を誘導し、線維化に関与することが示唆された。  
KEYWORD：炎症性腸疾患, IBD, 血小板由来増殖因子, PDGF

### 【はじめに】

血小板由来増殖因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) は、血小板から分離された増殖因子のひとつである<sup>1)</sup>。PDGFは単球、好中球、線維芽細胞などの遊走と増殖、血管新生、創傷治癒などに関連があることが明らかにされた。PDGFはPDGF-AA, -AB, -BBの3種類のダイマーの形で存在する。PDGFはPDGF受容体 (PDGF-R) を有する細胞と結合してシグナルを伝達すると考えられ、PDGF-Rには $\alpha$ と $\beta$ の2種類のsubunitがあり、A鎖は-R $\alpha$ に、B鎖は-R $\alpha$ , -R $\beta$ の両方に結合する<sup>2-11)</sup>。

PDGFは炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease, IBD) への関与が予想されている。そこで、我々はIBDにおけるその関与を明らかにするために、手術標本を用いて、PDGF, PDGF-Rの発現を検討した。

### 【材料と方法】

手術摘出標本を、periodate-lysine-4% paraformaldehyde (PLP) と4% paraformaldehyde+0.5% glut-

araldehyde/0.075M phosphate buffer (GA) の2種類の固定液で固定した。前者は凍結標本、後者はパラフィン包埋標本とし、それぞれ免疫染色、免疫電顕と In situ hybridization (ISH) に用いた。

(1) 免疫染色には潰瘍性大腸炎 (UC) とクローン病 (CD) の他に、対照として手術摘出大腸癌患者の健常腸管を用いた。酵素抗体間接法で染色し、抗体にはPDGF-AA, -BB, -R $\alpha$ , -R $\beta$ を用いた。また、procollagen type I C-peptide (PIP) 抗体を線維化の指標として用いた。

染色結果の評価には、標本の粘膜、粘膜下層、固有筋層のそれぞれの部で、高倍3視野を任意に選び、陽性細胞の個数を数え、平均値の0%を0、1~20%を1、21~40%を2、41~60%を3、61~80%を4として、シュールマンらの方法に準じて半定量化した<sup>12)</sup>。また、UC, CDの各標本でHE染色とPIPの免疫染色を用い、サヴェリイマツらの分類法<sup>13)</sup>を参考にして、炎症、線維化のPhaseを潰瘍、線維化、癒痕、健常の4段階に分類して比較した。統計処理にはMann-WhitneyのU検定を用い、p値<0.05を有意差ありとした。

(2) UCとCDを対象に、-R $\alpha$ と-R $\beta$ のpre-embedding免疫電顕を行った<sup>14)</sup>。

\* 東北大学医学部、第三内科

\*\* 大学院医学系研究科医科学専攻病理学講座病理形態学分野

(3) ISHには、UCとCDの他に対照として手術摘出大腸癌患者の健常腸管を用いた。PDGF A chain, B chain, -R $\alpha$  (extra cellular domain), -R $\beta$  (extra cellular domain)のcDNAからIn vitro transcriptionの方法でdigoxigenin標識のantisenseとsense probeを作成し、用いた<sup>14)</sup>。

### [結 果]

(1) UCとCDで各免疫染色陽性細胞は同じであった。PDGF-AAと-BBはほぼ同一の結果であり、陽性細胞は炎症部でマクロファージ、好中球などであり、線維化層では、線維芽細胞と血管内皮細胞であった。-R $\alpha$ 陽性細胞は、炎症部でマクロファージであり、線維化層では線維芽細胞であった。-R $\beta$ 陽性細胞は線維芽細胞と血管内皮細胞であった。

UCとCDで発現パターンは類似し、粘膜と固有筋層では有意差を認めなかったが、粘膜下層では、潰瘍、線維化と瘢痕、健常の間にPDGF-AA, -BB, -R $\alpha$ では有意差を認め、瘢痕、健常のphaseでは有意に発現率が低下した。一方、-R $\beta$ の発現率にはphase間で差がみられなかった。CDでは、UCと比較して粘膜下層における各発現細胞の比率が高く、また、分布が固有筋層に達する傾向があった。

(2) -R $\alpha$ の免疫電顕では、潰瘍底のマクロファージと線維化部の線維芽細胞の細胞膜に、-R $\beta$ の免疫電顕では線維化部の線維芽細胞と血管内皮細胞、pericyteの細胞膜とperinuclear spaceに陽性所見を確認した。UCとCDで陽性細胞に差はなかった。

(3) ISHではPDGF A chain, B chain, -R $\alpha$ はその分布が類似しており、炎症部では炎症細胞や血管内皮細胞に、線維化部では線維芽細胞にsignalが認められた。-R $\beta$ は血管内皮細胞と線維芽細胞に発現を認めた。健常部および対照ではその発現はganglion cell以外にはほとんど認められなかった。

### [考 察]

PDGFはIBDにおいて主に潰瘍底の炎症細胞や血小板から放出され、マクロファージや好中球の遊走、増殖を促進し、急性炎症の成立に関与すると考えられた<sup>3)</sup>。また、PDGFは線維芽細胞の遊走や活性化をもたらすとともに、血管内皮細胞に作用し、血管新生を誘導し、線維化に関与することが示唆された<sup>4), 15), 16)</sup>。CDのtransmural fibrosisを有する例では、PDGF, PDGF-RのタンパクおよびmRNAの発現がその部に多数見られ、CDのstrictureはPDGFによるoverhealingの結果と考えられた。

### [参考文献]

- 1) Ross R, Glomset JA, et al: A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. Proc Nat Acad Sci USA 1974;71:1207-1210.
- 2) Deuel TF, Kawahara R, et al: Growth factors and wound healing: platelet-derived growth factor as a model cytokine. Annu Rev Med 1991;42: 567-584.
- 3) Deul TF, Senior R, et al: Chemotaxis of monocytes and neutrophils to platelet-derived growth factor. J Clin Invest 1982;69:1046-1049.
- 4) Seppa H, Grotendorst G, et al: Platelet-derived growth factor is chemotactic for fibroblasts. J Cell Biol 1982;82:584-588.
- 5) Martinet Y, Rom WN, et al: Exaggerated spontaneous release of platelet-derived growth factor by alveolar macrophages from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. N Engl J Med 1987;317:202-209.
- 6) Pierce GF, Tarpley JE, et al: Tissue repair processes in healing chronic pressure ulcers treated with recombinant platelet-derived growth factor BB. Am J Pathol 1994;145:1399-1410.
- 7) Alexander RJ, Panja A, et al: Expression of growth factor receptor-encoded mRNA by colonic epithelial cells is altered in inflammatory bowel disease. Dig Dis and Sci 1995;40:485-494.
- 8) Pierce GF, Mustoe TA, et al: Role of platelet-derived growth factor in wound healing. J Cell Biochem 1991;45:319-326.
- 9) Reuterdaahl C, Sundberg C, et al: Tissue localization of  $\beta$  receptors for platelet-derived growth factor and platelet-derived growth factor B chain during wound repair in humans. J Clin Invest 1992;91:2065-2075.
- 10) Szabo S, Sandor Z: Basic fibroblast growth factor and PDGF in GI diseases. Bailliere's Clin Gastro 1996;10:97-112.
- 11) Hart CE, Bailey M, et al: Purification of PDGF-AB and PDGF-BB from human platelet extracts and identification of all three PDGF dimers in human platelets. Biochemistry 1990;29:166-

- 172.
- 12) Schurmann GM, Bishop AE, et al: Increased expression of cell adhesion molecule P-selectin in active inflammatory bowel disease. *Gut* 1995; 36:411-418.
- 13) Saverymuttu SH, Camilleri M, et al: Indium 111-granulocyte scanning in the assessment of disease activity in inflammatory bowel disease: a comparison with colonoscopy, histology and fecal indium 111-granulocyte excretion. *Gastroenterology* 1986;90:1121-1126.
- 14) Ohtani H, Motohashi H, et al: Dual over-expression pattern of membrane-type metalloproteinase-1 in cancer and stromal cells in human gastrointestinal carcinoma revealed by in situ hybridization and immunoelectron microscopy. *Int J Cancer* 1996;68:565-570.
- 15) Marx M, Perlmutter RA, et al: Modulation of platelet-derived growth factor receptor expression in microvascular endothelial cells during in vitro angiogenesis. *J Clin Invest* 1994;93: 131-139.
- 16) Risau W, Drexler H, et al: Platelet-derived growth factor is angiogenic in vivo. *Growth Factors* 1992;7:261-266.

### Platelet-derived growth factor and its receptors in inflammatory bowel disease.

Hiwatashi Nobuo (Tohoku University School of Medicine, Third Department of Medicine)  
Kumagai Shinji (Tohoku University School of Medicine, Third Department of Medicine)  
Toyota Takayoshi (Tohoku University School of Medicine, Third Department of Medicine)  
Ohtani Haruo (Tohoku University School of Medicine, Department of Pathology)  
Nagura Hiroshi (Tohoku University School of Medicine, Department of Pathology)

[Purpose] PDGF(platelet-derived growth factors) has been reported to be chemotactic for fibroblasts and monocytes to the inflamed area, and to play an important role in wound healing and fibrosis. [Method] We studied the expressions of PDGF and PDGF-R (PDGF receptor) in IBD (inflammatory bowel disease) by immuno-histochemistry, immuno-electron microscopy and in situ hybridization. [Results] In active inflammatory area, macrophages and neutrophils were positive for proteins and mRNA of PDGF-AA and -BB, and macrophages and fibroblasts were positive for -R $\alpha$ . In active fibrogenic area, the expressions were different; fibroblasts and capillary endothelial cells were positive for proteins and mRNA of PDGF-AA, -BB, and -R $\beta$ . Immunoelectron microscopy revealed that -Ra was expressed in macrophages and fibroblasts, and -Rb in fibroblasts, capillary endothelial cells, and pericytes. [Conclusion] It is suggested that PDGF acts as a chemoattractant of inflammatory cells and fibroblasts to the inflammatory area and induce angiogenesis to form granulation tissues during healing of IBD.



## Eosinophil cationic protein:ECPの腸管平滑筋への作用

牧山和也\* 竹島史直\* 谷山紘太郎\*\*  
 浜野真城\*\*\*

**要 旨**：[目的] 潰瘍性大腸炎（以下UC）の炎症性大腸粘膜には活性化された多数の好酸球の浸潤を認める。活性化された好酸球は好酸球顆粒蛋白の一つである eosinophil cationic protein (ECP) を遊離し、活動期UC患者循環血液中で上昇する。すなわちECPがUCの炎症形成過程（粘膜組織障害機構）に強く関わっていることが考えられ、その機構を明らかにするために、ECPの抽出精製を行った。純度の高いECPの抽出精製に成功し、今回は、まずECPの腸管平滑筋への関与を追求するために、モルモット小腸片を用いて収縮作用を検討した。[方法] 1.ECP精製：Peterson(1988年)らの方法に準じた。(1)前処置：①正常人buffy coat約2 lをDextran処理にて白血球を分離、②ソニケーター処理によって顆粒を分離、③限外濾過にて20倍に濃縮。(2)カラム精製：①分子ふるいクロマトグラフィー(Superdex75p.g.,  $\phi$ 26×600mm)、②イオン交換クロマトグラフィー(SOURCE,  $\phi$ 10×100mm)、③Zn-キレートクロマトグラフィー(Chelating Sepharose,  $\phi$ 5×100mm)の精製過程で行った。2.腸管平滑筋収縮作用：モルモット小腸の条片をマグナス装置に懸垂し、ECPを添加し小腸条片の収縮性を測定した。[結果] 1.ECP精製：最終カラム分離でECP活性値の高いメインピークを認め、電気泳動で16kD～21.4kDの分子領域に存在し、ECP精製置換が充分行われたと考えられた。2.腸管平滑筋収縮作用実験：10  $\mu$ g/l濃度のECPによって一過性の収縮を認めた。これは基準物質であるアセチルコリンの収縮高の13%～16%の収縮作用であった。

KEYWORD：Eosinophil cationic protein, 抽出精製, 潰瘍性大腸炎, 平滑筋収縮作用

### 【はじめに】

好酸球が活性化を受けると、好酸球顆粒蛋白の一つである eosinophil cationic protein (ECP) を遊離し、また刺激により産生される、活性酸素・フリーラジカル、LTC<sub>4</sub>、PAFなどを過剰産生し、組織障害を惹起すると考えられている<sup>1,2)</sup>。1991年、われわれは潰瘍性大腸炎（以下UC）の大腸炎症性粘膜に浸潤している多数の好酸球が活性化を受けECPを遊離していることを最初に報告した<sup>3,4)</sup>。また、炎症が持続するUC患者で血中ECP値が高めに推移している事実から、ECPが難治性再燃を繰り返す潜在的要因である可能性を秘めている<sup>5)</sup>。しかしながら、UCの炎症形成過程の最終段階である上皮細胞障害機構へECPが有害性に働いているメカニズムについては明らかになっていない。1996年からECPの組織障害

性のメカニズムを解明するために、ECPの抽出精製を試み、ECP精製置換に成功した。さらに、今回はECPの腸管平滑筋への作用をモルモット小腸片を用いた収縮作用の実験系によって検討した。

### 【方 法】

1. ECP抽出精製：(1)抽出：Peterson(1988年)ら<sup>6)</sup>の方法に準じて抽出を行った。①buffy coatからDextran処理にて白血球を分離、②ソニケーター処理で顆粒を分離、③限外濾過にて20倍に濃縮。(2)カラム精製：①分子ふるいクロマトグラフィー(Superdex75p.g.: 26×600mm)、②イオン交換クロマトグラフィー(SOURCE S:10×100mm)、③Zn-キレートクロマトグラフィー(Zn<sup>2+</sup>にチャージしたChelating Sepharose: 5×100mm)の3段階で精製した。ECP活性値はRIA法(Pharmacia ECP RIAキット)にて測定した。

2. 腸管平滑筋収縮作用実験：モルモット小腸の盲腸側から口側の約10cm～20cmの部位で約2cmの条片を作

\* 長崎大学医学部、光学医療診療部

\*\* 同、第二薬理

\*\*\* アマシャム ファルマシア バイオテク

成し、マグヌス装置に懸垂し、0.6gの負荷をかけてECPを添加し、等長性に小腸片の収縮性をプレアンプで増幅し、記録計にて測定した(図1)。添加したECPは正常人血清カットオフ値である10 $\mu$ g/lの濃度とした。

### 【結 果】

1. ECP抽出精製:最終カラムZn-キレートクロマトグラフィー精製によって3284 $\mu$ g/l~4292 $\mu$ g/lの高い活性値を有するフラクションを得ることができ、電気泳動で16kD~21.4kDの分子領域に存在し、ECP精製置換が充分行われたと考えられた。

2. 腸管平滑筋収縮性: ECP10 $\mu$ g/lの濃度によって、添加後明らかな収縮が認められた。これは基準物質であるアセチルコリン10 $\cdot$ 6Mの収縮高の13%~16%の収縮作用に匹敵する収縮であった(図2)。

### 【考 案】

高いECP濃度のサンプルでは、電気泳動で16kD~21.4kDの分子領域に存在し、純度の高いECPを精製できたと考えられた。今後、アミノ酸配列を明らかにする必要がある。さらに、腸管平滑筋への収縮作用があることが明らかになったが、アセチルコリン受容体に結合するのか、あるいはコリン作動性神経に働いてアセチルコリン遊離を促進し収縮を引き起こすか、アトロピンによる抑制実験などによる確認が必要である。UCの病態における腸管平滑筋の収縮は下痢の増悪との関連が考えられるが、また、虚血性変化の増強による組織障害の可能性も示唆される。さらに、今後は、①活性酸素・フリーラジカルを介した組織障害性、②apoptosis誘導亢進による上皮細胞障害7)、③実験腸炎起炎物質などの観点からECPの組織障害性を追求する必要がある。

### 【参考文献】

- 1) Kay AB: Eosinophil as effector cells in immunity and hypersensitivity disorders. Clin Exp Immunol 1985;62:1-2.
- 2) Fukuda T, Gleich GJ: Heterogeneity of human eosinophils. J Allergy Clin Immunol 1989;83: 369-373.
- 3) Yamasaki K, Makiyama K: Eosinophil cationic protein (ECP) in ulcerative colitis. Acta Med Nagasaki 1994;39:67-71.
- 4) Makiyama K, Kanzaki S, Yamasaki K, Zea-Iriarte WL, Tsuji Y: Activation of eosinophils in the pathophysiology of ulcerative colitis. J Gastroenterology 1995;30:64-69.
- 5) 牧山和也, 竹島史直, 水田陽平, 岩本美智子: 潰瘍性大腸炎の長期経過中の血清ECP値上昇の臨床的意義 厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班, 平成8年度研究報告書 1997,50-51.
- 6) Peterson CGB, Jornvall H, Venge P: Purification and characterization of eosinophil cationic protein from normal human eosinophils. Eur J Haematol 1988;40:415-423.
- 7) Iwamoto M, Koji T, Makiyama K, Kobayashi N, Nakane PK: Apoptosis of crypt epithelial cells in ulcerative colitis. J Pathol 1996;180:152-159.

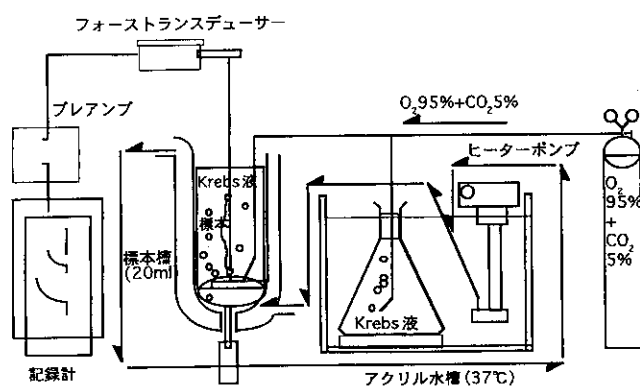


図1 マグヌス装置模式図

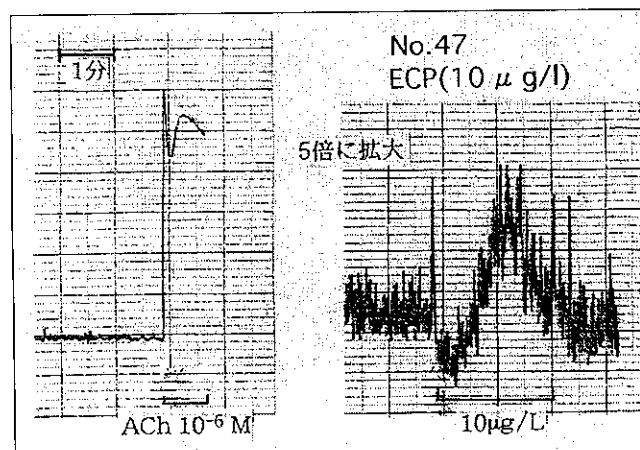


図2 マグヌス装置を用いて記録したECPによるモルモット小腸平滑筋の収縮波。正常人血清のカットオフ値である10 $\mu$ g/l濃度のECPを添加し一過性の収縮を認めた(右図)。この収縮は基準物質であるアセチルコリン10 $\cdot$ 6M(左図)の収縮高の約13%であった。

## Eosinophil cationic protein (ECP) contracts the smooth muscle of guinea-pig intestine.

Makiyama Kazuya (Nagasaki University School of Medicine, Department of Endoscopy)

Takeshima Fuminao (Nagasaki University School of Medicine, Department of Endoscopy)

Taniyama Kohtaro (Nagasaki University School of Medicine, Second Department of Pharmacology)

Hamano Masaki (Amersham Pharmacia Biotech, K.K.)

[Purpose] Colonic mucosa in the active stage of ulcerative colitis exhibited marked infiltration of eosinophils that bear the secretory form of eosinophil cationic protein (ECP). Even if it is strongly suggested that ECP contributes to the pathophysiology of ulcerative colitis, the direct effect of ECP on the intestine remains obscure. To examine the effect of ECP, purified from normal human eosinophils, on contraction of the smooth muscle of guinea-pig small intestine. [Methods] (1) Purification of ECP: It was purified from granules of the buffy coat layer of human eosinophils obtained from healthy individuals according to Peterson CGB et al. (ER J Haematol 1988; 40: 415-423). Briefly, it included gel filtration on Superdex 75, ion exchange chromatography on SOURCE, and chelating chromatography on zinc-chelating Sepharose. (2) Effect of ECP on Small Intestine Contraction: Two-centimeters long strips of guinea-pig small intestine were removed from a region located at 10 cm proximal to ileo-cecal junction. They were placed in an organ bath in presence of Krebs-Ringer solution and 600 mg, approximately, of resting tension was applied and kept it constant. ECP was added to the organ bath and mechanical activity of the strips was recorded using an isometric transducer. [Results] (1) Purification of ECP: Chromatography on zinc-chelating Sepharose showed a main peak that demonstrated to have high concentration of ECP as determined by radioimmunoassay. We decided to use the fraction No. 47 (ECP concentration, 4292  $\mu\text{g/l}$ ) and No. 48 (ECP concentration, 3805  $\mu\text{g/l}$ ) on chelating chromatography. (2) Effect of ECP on Small Intestine Contraction: After addition of 10  $\mu\text{g/l}$  of ECP into the organ bath that is the normal concentration in serum, a transient contraction was observed. The width of the contraction induced by ECP was approximately 13% of that of  $10^{-6}$  M acetylcholine. [Conclusion] This is the first report in which the contractile effect of ECP on smooth muscle of guinea-pig small intestine has been demonstrated. As ECP has been found in high concentration in ulcerative colitis, it may contribute to the mechanical disturbances as well as other pathophysiological effects of this disease.

## 潰瘍性大腸炎における虫垂病変

舟 山 裕 士 \* 佐々木 巖 \* 内 藤 広 郎 \*  
 福 島 浩 平 \* 柴 田 近 \* 増 子 毅 \*  
 高 橋 賢 一 \* 小 川 仁 \* 佐 藤 俊 \*  
 上 野 達 也 \* 橋 本 明 彦 \* 増 田 高 行 \*\*  
 樋 渡 信 夫 \*\*\* 松 野 正 紀 \*

**要 旨:**潰瘍性大腸炎における虫垂病変と大腸病変との関連について検討するために、虫垂について検索し得た手術例41例について組織学的に検討したところ、27例(66%)において虫垂病変が確認され、活動期14例、緩解期13例、正常3例、萎縮虫垂11例であった。虫垂病変と罹患範囲、重症度との間には関連がなかったことから虫垂病変は大腸病変と独立して推移している可能性が示唆された。

**KEYWORD:**潰瘍性大腸炎, 虫垂, skip lesion

### 【はじめに】

潰瘍性大腸炎は従来より直腸より口側へ連続的な病変を形成することが常識的に知られているが<sup>1)</sup>、手術標本による検索や内視鏡による観察からskip lesionとしての虫垂病変が確認されつつある<sup>2)</sup>。また、最近になって、潰瘍性大腸炎症例で虫垂切除の既往が少ないことから虫垂と潰瘍性大腸炎の病変進展との関連が注目されてきている<sup>3)</sup>。本稿では、手術標本による組織学的検索により虫垂病変の詳細と病変分布との関連について検討した。

### 【対象および方法】

#### 1. 症例の概要

1993年4月より1997年8月の間に、東北大学第1外科にて手術を施行し虫垂が検索可能であった潰瘍性大腸炎41例を対象とした。病期期間は中央値で49.9ヵ月(0.5-222.8ヵ月)、手術時の年齢は中央値で30.5才(10.2-73.1才)であった。症例の内訳についてみると、病期では活動期31例、緩解期10例、病型別にみると初回発作型8例、慢性持続型6例、再燃緩解型27例であつ

た。重症度分類別にみた内訳は軽症7例、中等症15例、重症19例で、罹患範囲別にみると左側大腸炎型は8例、全大腸炎型は33例であった。

#### 2. 組織学的検討

手術標本を腸間膜対側で切り開き、4°C10%緩衝ホルマリンで数日間固定の後、虫垂の中間部分を輪切りにし、その近位側、遠位側を長軸方向に切り出し、パラフィン包埋の後、hematoxylin-eosin染色を行い鏡検した。

虫垂病変は、Kroftら<sup>4)</sup>の分類に準じ以下のごとく3群に分けた。

a. 活動期病変(active disease): うっ血, 杯細胞のmucin depletion, 粘膜固有層内の多核白血球およびリンパ球, 形質細胞などの急性および慢性炎症性細胞浸潤, 陰窩膿瘍のみられるもの。

b. 緩解期病変(qiescent disease): 多核白血球の浸潤はほとんどみられず, 活動性の炎症が消退した時期, 多くには陰窩の短縮, 陰窩の分岐が認められ, 陰窩配列の平行性が保たれなくなっている。また, 粘膜筋板の肥厚, パネート細胞化生がみられるようになる。

c. 正常(normal): 上記の変化が認められずほぼ正常の虫垂と考えられるもの。

\* 東北大学医学部, 第一外科

\*\* 東北大学医学部医療技術短期大学部病理

\*\*\* 東北大学医学部, 第三内科

d. 萎縮虫垂(atrophy): 虫垂に粘膜が存在せず中心に線維化を伴う硝子変性, リンパ球の集団のみがみられるもの(fibrous obliteration).

## [成 績]

### 1. 各虫垂病変の分類

活動期病変を有する虫垂は14例で, 潰瘍性大腸炎の像と全く同様の組織像を呈し, 杯細胞の減少と好中球の浸潤と陰窩膿瘍がみられ高度な例では偽ポリポーシスを示していた. しかし, ほとんどの例で虫垂の炎症は粘膜内にとどまり重症例であっても筋層内および漿膜下にまで炎症細胞浸潤のみみられるものは少なかった.

緩解期病変を有する虫垂は13例にみられ, 陰窩の分岐, ねじれ, 短縮など再生性的変化と萎縮性変化の混在した像を示していた. また, 多くの例で粘膜筋板の肥厚がみられた.

正常虫垂は3例にみられ, 上皮の炎症性変化, 陰窩の変形は全く認められず, リンパ装置も発達していた.

萎縮虫垂は11例にみられたが, 虫垂の中心は, 上皮は全く認められず, リンパ球の集簇, 線維化, 硝子化が認められ内腔は閉鎖された状態となっていた.

### 2. 虫垂病変と重症度

手術時の重症度と虫垂病変の程度について検討した. 軽症例においても活動期病変が3例にみられた. また反対に, 重症例においても緩解期病変が6例にみられ, 重症度と虫垂病変とは必ずしも相関しなかった.

### 3. 罹患範囲と虫垂病変

左側大腸炎8例での虫垂病変の内訳は, 活動期病変3例, 緩解期病変1例, 正常1例, 萎縮3例であった. これに対し全大腸炎型33例では活動期病変11例, 緩解期病変12例, 正常2例, 萎縮8例であった. 病変罹患範囲別でみると両群間に差は認められなかった.

## [考 察]

BC Morson<sup>1)</sup>によれば, 虫垂病変は潰瘍性大腸炎の約半分の症例にみられ, 特に全大腸炎型ではほとんどすべてにみられ盲腸病変と連続している. 肉眼的には明らかではないが, 病理組織学的所見は大腸の病変となら変わらなず, また, 病変は粘膜内にとどまり合併症は通常おこさないと記載されている.

虫垂病変の頻度は, 報告者によって異なるが, 切除標本を用いた検索ではJahadiら<sup>5)</sup>は47%, Davisonら<sup>6)</sup>は61%, Goldblumら<sup>7)</sup>は62%, Groismanら<sup>8)</sup>は87

%, Kroftら<sup>4)</sup>は61.5%とほぼ一定している. 当科での検討では, 41例中27例(66%)に虫垂病変が認められた.

虫垂病変は, 肉眼的には出血や膿汁の貯留を伴う虫垂の腫張を活動性病変に認めるが, 粘膜面の変化は大腸ほど顕著ではなく, 出血や発赤を伴うびらん面として認めることができる. これより軽度の病変では粘膜面の変化は肉眼的にはほとんど明らかではなく見逃されることが多いと思われる.

組織学的には, 大腸と同様に活動期には粘膜固有層における多核白血球の浸潤や陰窩膿瘍, 血管のうっ血像, 杯細胞の減少, 偽ポリポーシスを代表とする種々の潰瘍形成がみられる. また, 緩解期には陰窩の変形, 平行性の消失, 陰窩の分岐像, 陰窩の短縮, 粘膜筋板の肥厚やパネート細胞化生などの変化がみられる.

潰瘍性大腸炎は一般には直腸から口側へ連続する病変であることが知られているが, 虫垂病変が大腸病変と連続した病変なのかまたは独立した病変なのかは従来から問題とされ, 手術標本を用いた検索が行われてきた. また, 近年本邦でも内視鏡的観察から潰瘍性大腸炎における虫垂病変が注目されてきている<sup>9)</sup>.

Cohenら<sup>2)</sup>は1974年skipした虫垂病変を呈する潰瘍性大腸炎の1例を初めて報告した. しかし, その後Jahadiら<sup>5)</sup>は検索した30例の虫垂のうち14例に病変を認め, そのすべてが盲腸~右側結腸の病変と連続していたと報告しており, skip lesionは認めなかったと述べている. また, Goldblumら<sup>7)</sup>は87例の全大腸炎型の手術標本の検索において, 虫垂病変が認められた66例ではすべてに盲腸病変が存在し, 盲腸病変が欠如またはほとんどないものでは虫垂病変は認めなかったと述べている.

しかし, これらの検索は全大腸炎型を主な対象としており右半結腸に高度な病変が存在する症例における検索と考えられる. したがって, 何らかの軽微な病変が盲腸に存在する可能性が高く厳密なskip lesionを検索することは困難と思われる. Davisonら<sup>6)</sup>は, 62例の手術標本の検索で, 盲腸病変を活動期, 緩解期, 非特異的炎症, 正常と分類し活動性虫垂病変の認められた38例のうち盲腸病変が存在しなかった13例でskip lesionが認められたと判断し, 21%の頻度でskip lesionが存在すると述べた. また, Groismanら<sup>8)</sup>は潰瘍性大腸炎病変を全大腸炎(universal colitis)と非全大腸炎(non-universal colitis)とに分け非全大腸炎型ではskip lesionが21例中18例(86%)に活動性虫垂病変が認められ, 全大腸炎型と頻度は変わらないと述べている. Kroftら<sup>4)</sup>は, 虫垂病変と盲腸病変との関連について, 32例の検索の中で病変の程度

## [文 献]

が一致しないものが50%あり、そのうち62%では盲腸よりも虫垂病変のほうが高度な病変であったと述べ、虫垂に活動性病変があるのに盲腸に病変が存在しないものが6例あり、潰瘍性大腸炎全体の15%にskip lesionがあると結論した。

潰瘍性大腸炎におけるskip lesionの判定には虫垂と肛門側大腸の病変部との間の介在粘膜の病変の評価が問題となる。緩解期粘膜では陰窩の変形、分岐、粘膜筋板の肥厚など何らかの痕跡が残るとGoldblumら<sup>7)</sup>は主張しているが、Kroftら<sup>4)</sup>は構造の変化を伴わない完全な治癒がおこりうるのではないかと述べている。また、skip lesionの検索には間に正常粘膜を残した症例の詳細な検討が必要となるため、対象とした病変が全大腸炎またはそれに近い病変を主としているか、また左側大腸炎を多く含んでいるかが重要な要素であると思われる。

当科での検索では手術症例が全大腸炎を多数含んでいるためか、厳密な意味でのskip lesionは明らかではなかったが、左側大腸炎でも8例中3例に活動期病変が認められ、虫垂病変が必ずしも大腸病変と平行して推移するわけではないことが明らかとなった。

1994年、Rutgeertら<sup>3)</sup>は潰瘍性大腸炎患者での虫垂切除の既往が非常に少ないのに着目し、174例の潰瘍性大腸炎患者と161名の対照群との間で症例対照試験を行った。彼らによれば、潰瘍性大腸炎患者では発症前に虫垂切除を施行されたのは1例のみ(0.6%)であったのに対し、対照群では41例(25.4%)で明らかに潰瘍性大腸炎群では虫垂切除が少なかった。このことから虫垂切除は発症を抑制する因子であると結論づけている。また、Russelら<sup>10)</sup>もこの報告を受けて、232例の潰瘍性大腸炎患者と対象例との症例対照試験で同様な結果を報告している。しかし、虫垂切除と潰瘍性大腸炎発症の因果関係については明らかではなく今後の検討を待たねばならない。おわりに手術標本を用いた組織学的検討から、虫垂病変は大腸病変と独立して推移している可能性が示唆された。虫垂が潰瘍性大腸炎の発症および病変進展に関してどのような役割を果たしているかは今後の検討が必要であろう。

- 1) Morson BC, Dawson IMP: Appendix (Chapter 5). In Morson BC, Dawson IMP (eds). *Morson & Dawson's Gastrointestinal Pathology*. third edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1990;397-429.
- 2) Cohen T, Pfeffer RB, Valensi Q: Ulcerative appendicitis occurring as a skip lesion in Chronic ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1974;62: 151-155.
- 3) Rutgeert P, D'Haens G, Hiele M, et al: Appendectomy protect against ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1994;106:1251-1253.
- 4) Kroft SH, Stryker SJ, Rao MS: Appendiceal involvement as a skip lesion in ulcerative colitis. *Mod Pathol* 1994;7:912-914.
- 5) Jahadi MR, Shaw ML: The pathology of the appendix in ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum* 1976;19:345-349.
- 6) Davison AM, Dixon MF: The appendix as a skip lesion in ulcerative colitis. *Histopathology* 1990; 16:93-95.
- 7) Goldblum JR, Appleman HD: Appendiceal involvement in ulcerative colitis. *Mod Pathol* 1992;5:607-610.
- 8) Groisman GM, George J, Harpaz N: Ulcerative appendicitis in universal and nonuniversal ulcerative colitis. *Mod Pathol* 1994;7:322-325.
- 9) 滝澤英昭, 山口修, 梅津元樹, 他: 虫垂病変が先行した潰瘍性大腸炎の1例, いわゆる"ulcerative appendicitis"を呈した1例 *日本消化器病会誌* 1996;93:109-113.
- 10) Russel MG, Dorant E, Brummer RJ, et al: Appendectomy and the risk of developing ulcerative colitis or Crohn's disease: Results of a large case-control study. *Gastroenterology* 1997; 113:377-382.

## Appendiceal involvement in ulcerative colitis-Histopathological study using operative specimen.

Funayama Yuji (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Sasaki Iwao (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Naito Hiroo (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Fukushima Kohei (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Shibata Chikashi (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Masuko Tsuyoshi (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Takahashi Ken-ichi (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Ogawa Hitoshi (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Sato Shun (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Ueno Tatsuya (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Hashimoto Akihiko (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)  
Masuda Takayuki (Tohoku University School of Medicine,  
College of Medical Technology, Department of Pathology)  
Hiwatashi Nobuo (Tohoku University School of Medicine, Third Department of Internal Medicine)  
Matsuno Seiki (Tohoku University School of Medicine, First Department of Surgery)

To investigate the relationship between the appendiceal involvement and colitis, histopathological study using 48 operative specimens was performed. Three out of 48 patients had been undergone appendectomy before their onset of the disease. The appendectomy rate among our patients was 6%, which was significantly lower than that in the normal population. From the investigation using 41 specimens with appendices available, appendiceal involvement was noticed in 27 patients (66%). Their histological stages were active stages in 14, quiescent stage in 13, normal in 3, and atrophic in 11 patients. No relationships were found between the appendiceal involvement and the extent of colitis, nor between the appendiceal involvement and the severity of the disease. These results have indicated that appendiceal inflammation is independent of colitis. In all of the cases with active appendiceal involvement, however, presence or previous evidence of inflammation was observed. In conclusion, appendiceal involvement was seemed to change independently of the colitis. Skip lesion of appendix in ulcerative colitis was identified in 3 cases (7%) in our series.

## 潰瘍性大腸炎治療指針改訂案

棟方昭博\* 下山孝\*\*

**要旨**：1975年に潰瘍性大腸炎の薬物治療指針案が厚生省特定疾患潰瘍性大腸炎・クローン病調査研究班（土屋班）で作成されて以来、小改訂がなされてきた。今回は、平成10年度の第1回、第2回の本班会議での討論およびアンケート調査に対する回答をもとに改訂を行った。主な改訂点は、①軽症と中等症を区別したこと、②中等症で炎症反応がみられる場合にはプレドニゾロンの投与を初期より行ってもよいとしたこと、③ペンタサ錠の使用を本文中に入れたことである。

**KEYWORD**：潰瘍性大腸炎、治療指針、ulcerative colitis

### 【目 的】

潰瘍性大腸炎の薬物治療指針(案)は1975年に厚生省特定疾患潰瘍性大腸炎・クローン病調査研究班の内科的治療分科会(班長:土屋周二,分科会長:井上幹夫)で作成された。以後改訂が加えられ、現行の潰瘍性大腸炎治療指針改訂案(班長:武藤徹一郎)に至っている。今回は、治療法の進歩と治療経験の蓄積をもとに改訂を検討した。

### 【方 法】

1998年1月の班会議・分科会で改訂を要する箇所を討議し、1998年7月の総会では具体的な改訂案を出して、以後関係各位と手紙、Faxなどで意見を交換し、潰瘍性大腸炎治療指針改訂案を作成した。

### 【治療指針改訂案】

主な改訂点は以下の3点である。

- 1) これまでの治療指針では、軽症と中等症を同様に扱っていたが、軽症と中等症を分けた。さらに、軽症を直腸炎型と左側大腸炎型・全大腸炎型とで区別した。
  - 2) 中等症で炎症反応(CRP 1.0mg/dl以上または赤沈30mm/h以上)がみられる場合は、プレドニゾロンの経口投与を初期より行ってもよいこととした。
  - 3) 5-ASA製剤が日常臨床で使用可能となったため、ペンタサ錠を本文中に入れた。
- これらの他にも御意見をいただいたが、今回は各々の

意見の要所をまとめて改訂を行ったので、取り上げることができなかつたものもあつた。

この治療指針改訂案は、今後も病因・病態の解明や治療法の進歩とともに、さらに改訂を重ねていかねばならないものとする。

以下に、改訂案の全文を記載する。改訂した箇所は下線で示した。

### 潰瘍性大腸炎治療指針改訂案 (下山班:平成11年2月10日)

#### 治療原則

重症例やある程度の全身障害を伴う中等症例に対しては、入院のうえ、脱水、電解質異常(特に低カリウム血症)、貧血、低蛋白血症、栄養障害などに対する対策が必要である。激症型は極めて予後不良であるので、内科と外科の協力のもとに強力な治療を行い、短期間の間に手術の要、不要を決定する。

#### 薬物療法

薬物療法は、次のごとく主として重症度に応じて薬物の種類とその使用法を選択して行う。緩解導入後も、再燃を予防するため維持療法を行う。

治療継続中に急性増悪を起こした場合や維持療法中に再燃を起こした場合には、前回の活動期と同一の治療法が奏効しないことや、より重症化することが多いので、これらの点を参考にして治療法を考慮する。

\* 弘前大学医学部、第一内科  
\* 兵庫医科大学、第四内科



重症例，難治例は専門医に相談するのが望ましい。

## 1. 軽症

(1) 直腸炎型：ペンタサ錠1日1.5～2.25gまたはサラゾピリン錠1日3～4gの経口投与（3～4回分服）にステロイドの坐剤（リンデロン坐剤：1剤にベータメサゾン0.5あるいは1.0mg含有）1日1～2mgまたはサラゾピリンの坐剤（1剤に0.5g含有）1日2～4剤を併用してもよい。また，ステロイドの坐剤またはサラゾピリンの坐剤のみで様子をみてもよい。2週間以内に改善があれば引き続きこの治療を続ける。改善がなければ坐剤をステロイドの注腸（プレドニゾロン換算1回20mg，1日1回就寝前または1日2回就寝前及び午前の排便後）に変更する。

緩解導入後は，ステロイド注腸併用の場合はまずこれを中止し，続いてペンタサ錠またはサラゾピリン錠を2週間以上投与した後減量し，最後は再燃防止の目的で，ペンタサ錠1日1.5gまたはサラゾピリン錠1日2gを維持量とし，副作用がない限り長期間持続投与する。

(2) 左側大腸炎型・全大腸炎型：ペンタサ錠1日1.5～2.25gまたはサラゾピリン錠1日3～4gを経口投与する。ステロイドの注腸を併用してもよい。2週間以内に明らかな改善があれば引き続きこの治療を続け，緩解導入後は(1)に従った維持療法を行う。改善がなければ以上に加えて中等症の(1)の治療を行う。

〈注1〉直腸炎型は短期間で改善傾向を示さないことも多く，病変の口側伸展や悪化がみられない場合には（注意深い観察の下で）長期間の治療継続を行ってもよい。

## 2. 中等症

基本的には軽症の(1)，(2)に準じてよいが，

(1) CRP 1.0mg/dℓ以上または赤沈 30 mm/h以上と炎症反応がみられる場合は，軽症の治療に加えてプレドニゾロン1日30～40mgの経口投与を初期より行ってもよい。

また軽症に準じた治療で2週間以内に明らかな効果がない場合や途中で増悪する場合も，プレドニゾロン1日30～40mgの経口投与を併用する。これで明らかな効果が得られたら，20mgに減量して2週間投与し，以後は2週間毎に5mg程度ずつ減量する。ステロイド注腸はプレドニゾロンの経口投与を中止するまで続ける。その後は軽症の(1)に準じて治療を続ける。

(2) プレドニゾロンの効果が不十分な場合や，この減量に伴って再増悪または再燃が起これば離脱が困難な場合は，アザチオプリン（イムランなど）または6MPを1日50～100mg（1.5～2.0mg/kg）併用する。これが有効で副作用がない時は，まず経口プレドニゾロンを徐々に減量，中止し，ついで免疫抑制剤を中止する。その後は軽症の(1)に準じて治療を続ける。

(3) プレドニゾロンの経口投与を行っても，2週間以内に明らかな効果が認められない時は，入院させ重症の(2)の治療を行う。

〈注2〉緩解の判定は内視鏡検査で行い，生検所見は参考にとどめる。

〈注3〉ペンタサ錠とサラゾピリン錠の副作用として発疹が起きる時は，1日1mgから始めて徐々に増量すると，多くの場合は脱感作に成功する。消化器症状や頭痛がある時は1日各々0.25g，0.5gから始め，数週間かけて増量する。このほか，サラゾピリン錠は溶血や無顆粒球症，肝機能障害なども起こり得るので，定期的に血液検査や肝機能検査を行う。また，男性の場合には精子の抑制作用も報告されている。

〈注4〉ステロイド注腸製剤としてはステロネマ（100ml中にベータメサゾン 3mg含有）がある。その他用いられる薬剤としては，プレドニゾロン，ハイドロコチゾン，水溶性デキサメサゾンなどがあり，使用に際してはこれらを微温湯または肝油に混じて直腸内に注入，または点滴注腸して留置する。

〈注5〉アザチオプリンや6MPの副作用として，白血球減少，胃腸症状，膵炎，肝機能障害などが起こり得る。頻回に血液検査を行い，白血球数が減少したら減量，または一時中止する。これらの効果発現は比較的緩徐で，1～3カ月後に効果が現われることがある。

## 3. 重症

(1) 入院させて全身障害に対する治療を行う。薬物療法としては，当初よりプレドニゾロン1日40～80mg（成人においては1～1.5mg/kgを目安とする）の経口投与あるいは点滴静注，またはACTH1日40～50単位（2回に分注）の点滴静注あるいは筋注，さらにペンタサ錠1日1.5～2.25gまたはサラゾピリン錠1日3～4gの経口投与，及びステロイド注腸を併用する（注腸が刺激となり排便回数が増える場合は中止）。これで明らかな効果が得られたら，

プレドニゾロンを漸次減量し40mgで緩解導入を期し、その後は30mg, 20mgと2週間ずつ減量し、以後は中等症の(1), (2)に準じた治療を行う。発熱や白血球増多が著明な期間は、広域スペクトル抗生物質を短期間併用する。必要と思われる症例には、当初より(2)の治療を行ってもよい。

- (2) 前項の治療を行っても明らかな改善が得られない場合は、強力静注療法(\*1)、またはプレドニゾロン動注療法(\*2)と経静脈的栄養補給を行う。これで明らかな効果が得られた時は、上記の(1)の治療に戻す。
- (3) 以上の治療でも明らかな改善が得られない時は、手術を考慮する。

〈注6〉重症度にかかわらず、ステロイドの使用は漫然と投与することを避ける。

〈注7〉合成ACTH(テトラコサクチド) 1mgは天然ACTH 100単位に、また合成ACTH-Z 1mgは天然ACTH 40単位に相当する。

#### \*1. 強力静注療法

- ①経口摂取を禁ずる。
- ②水溶性プレドニゾロン40～80mg(成人では1～1.5mg/kgを目安とする、4回分注)。この他ACTH 1日40～50単位の点滴または筋注を加えてもよい。
- ③広域スペクトル抗生物質。
- ④輸液、電解質特にカリウムの補給、経静脈的栄養補給、血漿蛋白製剤、輸血。

#### \*2. プレドニゾロン動注療法

選択的腸間膜動脈撮影後、上・下腸間膜動脈内に、症状に応じてそれぞれに水溶性プレドニゾロン10～20mgを、カテーテルを通じて動注する。有効例では

通常3日以内に効果が現われる。やや有効な場合は追加動注を行ってもよい。

#### 4. 激症型(急性激症型または再燃激症型)

激症型はきわめて予後不良であり、次のように取り扱う。

- (1) 経口摂取を禁じ、経静脈的栄養補給と次のいずれかを行う。

a) 強力静注療法

b) プレドニゾロン動注療法

プレドニゾロン動注療法が無効な時は、強力静注療法に切り替える。

- (2) 以上の治療で激しい症状のほとんどが消失した場合は、この時点から重症(1)の治療に移行する。

- (3) (1)の治療を行っても症状が悪化する場合、あるいは早期に症状の明らかな改善が得られない場合は、時期を失することなく緊急手術を行う。

〈注8〉重症例、特に激症型では中毒性巨大結腸症や穿孔を起こしやすいので、腹部所見(膨隆、腸雑音など)に留意し、腹部単純X線撮影による観察を行う。

#### 5. 中毒性巨大結腸症

重篤な症状を伴って、結腸、特に横行結腸の著明な拡張を起こした場合は、直ちに緊急手術を行うか、外科医の協力のもとに短期間上記の強力な治療を行い、所見の著明な改善が得られない場合は緊急手術を行う(外科療法)の項参照)。

〈注9〉仰臥位腹部単純X線撮影で、横行結腸中央部の直径が6cm以上の場合は本症が考えられる。

### A new guidelines on drug therapy for ulcerative colitis.

Munakata Akihiro (Hirosaki University School of Medicine, First Department of Internal Medicine)  
Shimoyama Takashi (Hyogo College of Medicine, Department of Internal Medicine IV)

Since the first guidelines on drug therapy for ulcerative colitis were established by the Research Committee of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease organized by the Ministry of Health and Welfare of Japan in 1975, the some minor changes have been made. The present revised guidelines were made based on the discussions at the Research Committee in 1998 and the replies to questionnaires. The major revisions are 1) the therapy for mild type was distinguished from that for moderate type, 2) oral prednisolone could be used at early stage for moderate type with active inflammation, and 3) 5-ASA administration was added.

## 炎症性腸疾患に対する白血球除去・吸着療法の 効果に関する多施設共同研究

下山 孝\* 澤田 康史\*

**要 旨：** [目的] 潰瘍性大腸炎 (UC) 患者に対する、フィルター法による白血球除去療法 (LCAP) の活動期療法及び維持療法における有効性、安全性を評価すること。 [方法] プレドニゾロン (PSL) 群を対照とし、PSL 群と LCAP 群との多施設無作為比較臨床試験を実施した。83 例 (PSL 群 40 例, LCAP 群 43 例) について活動期療法は 7 週間 (LCAP 1 回/月, PSL 30~80mg/日), 維持療法は 43 週間 (LCAP 1 回/月, PSL 15mg/日) で評価した。 [結果] 活動期療法における有効性の総合評価では、PSL 群の改善以上は 37.5% であったが、LCAP 群の改善以上が 69.8% であり有意に高かった。PSL 群の副作用出現率は 67.5% であり、それに比較し LCAP の副作用出現率は 23.3% で有意に低かった。維持療法における有効性は緩解維持率でみて PSL 群 46.2% (6/13) であり、LCAP 群では 55.0% (11/20) であり、有意差は認められなかった。副作用出現率でも PSL 群で 53.8% (7/13), LCAP 群で 40.0% (8/20) であり、有意差は認められなかった。 [考察] このように維持療法における治療頻度が 4 週に 1 回では、緩解維持に不十分であったが、活動期療法における緩解導入効果は、今までの PSL 治療より高いことが分かった。また、再燃し試験継続不可能に至までの期間は、PSL 群と比較し有意に長く、LCAP 群の治療研究中総ステロイド量は PSL 群に比し有意に少なく PSL の総使用量を減少させることが分かった。詳細は J of Gastroenterology を参照。

KEYWORD：潰瘍性大腸炎, 細胞除去療法, 白血球除去療法, 体外循環

### 【はじめに】

SASP, 5-ASA, SH, ACTH 時には免疫抑制剤のような従来の薬剤投与は、多くの UC 症例において効果的な治療法である。しかし、重症再発症例の中には、それらの薬剤療法は必ずしも有効でない場合もある。さらに、薬剤療法の長期投与、特に SH では、困った副作用、満月様顔貌、消化性潰瘍、白内障、緑内障、骨粗鬆症、糖尿病、ホルモン分泌異常、精神障害等のため UC の症状が不安定であるにも関わらず薬剤の減量を余儀なくされ増悪を起こす例もみられる。よって、SH 治療に関係するこれらの臨床症状の問題を解決するためにも、病状をコントロールする外科治療以外の他の内科的治療法が待ち望まれている。平成 5 年、厚生省特定疾患 難治性炎症性腸管障害調査研究班会議 (以下研究班) で澤田、下山らが LCAP 炎症性腸疾患へのその有効性を報告<sup>1)</sup>して以来、体外循環を利用した UC に対する特殊治療研究が当研究

班を中心に始まった。その後本研究は、研究班の班長が東京大学腫瘍外科 武藤徹一郎教授から兵庫医科大学第 4 内科 下山 孝に変わった後も本治療研究は引き継がれた。体外循環治療である本療法は、外科的治療と薬剤治療の間に位置する UC の第三の治療法と考えられる。また、白血球を除去する膜を利用した本治療は、1994 年の 12 月より 1998 年の 4 月までの約 3 年 5 ヶ月間、UC に対する日本独自の治療研究として日本全国 17 施設において施行されてきた。本文では、その大がかりな controlled study の臨床結果を紹介する。詳細は J of Gastroenterology を参照して頂きたい。

### 【目 的】

今までの治療に白血球除去療法を併用した群と今までの治療にプレドニンを追加あるいは増量した群 (PSL group：今までのすでに治療されている場合はその治療に PSL を追加あるいは増量した。ただし、中等症患者には 40mg/day, 重症患者には 80mg/day を最高投与量とし

た。)とを前向き多施設無作為比較臨床試験で比較し、その効果、安全性、有用性を評価した。

本臨床研究の対象患者は、1989年に厚生省特定疾患・難治性炎症性腸管障害調査研究班により作成された潰瘍性大腸炎の診断基準に該当する患者のうち、左側大腸炎型と全大腸炎型症例で中等症、重症、及び激症の活動期患者とした。活動期は、治療研究開始の2週間以内に下部消化管内視鏡検査にて客観的に証明しているものとした。重篤な心血管系疾患(発症後6ヶ月以内の急性心筋梗塞、脳出血または脳梗塞などを含む脳血管障害、重篤な不整脈や心不全、重篤な慢性腎不全、最高血圧80mmHg以下の低血圧症、35kg以下の患者、年齢12才以下の患者、妊婦、及びdrug abuse, dementia, そして今行われている治療がうまく行っている患者は除外した。また、ステロイド坐薬 (suppository of steroid), salazosulfapyridine (SASP) または5-aminosalicylic acid (5-ASA) 等でコントロールできることが多い軽症症例と直腸炎型症例は今回本治療研究より除外した。LCAPのPreliminary studyより得た治療に期待できる有効性と治療に伴い起こる可能性のある副作用と、本治療研究を患者の意志でいつでも中止できそれによって不利益な扱いを受けないという保障についてを治験登録前に口頭と書面で患者に十分説明した後患者の同意を得た。研究治療施設とは別に、コントローラー委員会(清水直容教授: 帝京大学医学部第3内科, 広津千尋教授: 東京大学工学部)を設け、PSLまたはLCAPの割り付けのためFAXで登録し治療の割付を得た。潰瘍性大腸炎(UC)患者は、重症度、臨床経過、罹患範囲、難治性に従って2群間で患者背景に差がないよう白血球除去療法群(LCAP group)とステロイド療法群(PSL group)に割り付けそれに従って治療を開始した。

登録症例は計95名で、PSL群49例、LCAP群46例であった。除外診断は12例でPSL群9例、LCAP群3例であった。除外診断後の患者は、PSL群40例、LCAP群43例であった。除外症例の理由別の症例数は、PSL群では、割り付け後の患者の試験拒否7例、パルス療法施行1例、UCではなく大腸クローン病であった1例の合計9例を除外した。LCAP群では、軽症1例、転倒後脳出血1例、試作品以外のフィルターを使用した1例の合計3例を除外した。

LCAP治療開始2週間以内と治療中にPSLの増量や、免疫抑制剤のような新しい薬剤の投与開始がないこととし、副作用、有効性、有用性の評価を行った。LCAPは、体外循環治療として白血球除去器セルソーバIBD94(旭メディカル社製、東京、日本)<sup>2,5)</sup>を用いPlasuto 1,000

apheresis unit(旭メディカル社製)<sup>6,7)</sup>により治療を行った。治療の流速は毎分約50mlで、治療時間を約1時間とし、1治療当たり計約3,000mlの血液を処理した。1治療で約 $1.6 \times 10^{10}$ 個の白血球を除去した。抗凝固剤として半減期約6分のフサン(鳥居製薬、東京、日本)<sup>8)</sup>を使用した。IBD94白血球除去膜内でのプロセスは、抗凝固化した患者全血より、局所組織障害の予備群と考えられる白血球全般を膜に吸着させることにより除去し、白血球を除去した血液を再び患者に戻す全血液灌流として行った。活動期に対する初期集中治療として週に1回計5回を、また有効であった患者には、維持療法として約4週(2~6週)に1回の治療を継続した。

2つの治療群における集中治療後の有効性、副作用、有用性の評価は、集中治療5回後(第1回目の治療より7週間目)に行った。

維持療法間の有効性、有用性、副作用の評価は、維持療法開始より43週間後、集中治療の開始から約1年後に行った。また、治験中、両群とも投与薬剤の増量や免疫抑制剤やSH剤等の新たな薬剤投与は行なわなかった。維持療法中は、LCAP群、PSL群ともにPSL 0~15mg/day, SASP 0~3g/dayあるいは5-ASA 0~1.5g/日のみの併用を許可した。

副作用の出現は、1)軽度:出現した副作用に対し引き続き観察は必要であるが、治療必要としない場合、2)中等度:出現した副作用に対し治療が必要となった場合、3)高度:出現した副作用によって後遺症が残ったり、生命を脅かす危険のある場合または、致死的な場合、の3段階に分け評価した。治療効果は、集中治療期において1)著効:すべての臨床症状が消失し、CRPやESRの急性炎症マーカーが著明改善し、下部消化管内視鏡検査(CF)上緩解となり、SHの投与量を減らし、絶食中の患者は食事摂取を開始しても症状の増悪がない場合、2)有効:臨床症状が十分に改善し、CRPやESRの急性炎症マーカーが改善し、CFで緩解ではないが改善を認め、SHの投与量を減量し、絶食中の患者は食事摂取を開始しても症状の増悪がない場合、3)不変、臨床的、内視鏡的改善も悪化も認めない場合、4)臨床的あるいは内視鏡的悪化を認めた場合の4群に分けて行なった。前者の1)と2)は有効群に、後者の3)と4)は無効群に分類した。

コントローラー委員会は、両グループの有効性、有用性、副作用の統計処理を行った。強化療法後の有効性、有用性、副作用と維持療法後の有用性、副作用の評価は、Mann-Whitney's U testとChi-square testを用い、p値0.05未満をもって統計学的有意な変化と考えた。試験継続不能に至るまでの期間についてはCox-Mantelの生