

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

痔瘻を伴うクローン病に合併した直腸肛門管癌症例  
および本邦集計例の検討

分担研究者 中野 博重 奈良県立医科大学 第一外科 教授

研究要旨:[はじめに]近年、欧米ではクローン病に大腸癌を合併した症例が増加しており、本邦においてもクローン病が大腸癌の high risk 群として注目されるようになってきている。今回我々は、クローン病発症後17年目に直腸肛門管癌を認めた1例を経験したので本邦集計を加え報告する。[症例]経験した症例は37歳男性。発症より17年経過し、複雑痔瘻を伴う小腸大腸型のクローン病で直腸肛門管癌を合併した。病理組織像では腺扁平上皮癌でly3, v2であった。明らかなdysplasiaの存在は認めなかった。[まとめ]本邦集計例では癌発症の平均年齢は53.8才で、40才以下のいわゆる若年者大腸癌が27%であった。男女比は差はなく、クローンの罹病期間は中央値が8年と長期経過例に多かった。部位別では直腸、S状結腸に66%と一般の大腸癌と同じような分布を示した。組織型では高分化腺癌を除く未分化な癌が多かった。dysplasiaを伴った症例は1例のみであった。尚、腺扁平上皮癌の報告は本例のみであった。

共同研究者

山内 昌哉, 藤井 久男, 畑 倫明,  
小山 文一, 寺内 誠司, 杉森 志穂,  
榎本 泰三

所属 奈良県立医科大学 第一外科

A. 研究目的

近年、欧米ではクローン病に大腸癌を合併した症例が増加しており、本邦においてもクローン病が大腸癌の high risk 群として注目されるようになってきている。今回我々は、クローン病発症後17年目に直腸肛門管癌を認めた1例を経験したので本邦集計を加え報告する。

B. 症 例

患者:37歳男性主訴:水様下痢, 腹痛, 発熱家族歴:特記事項なし既往歴:特記事項なし現病歴:発症は21歳で当初は潰瘍性大腸炎と言われ、複数の病院で入院を繰り返して、保存的治療を受けていた。平成8年2月に水様下痢, 発熱, 腹痛を主訴に内科を受診し、小腸大腸型のクローン病と診断し治療を開始した。以後、再燃緩解を繰り返して、その度に成分栄養およびステロイド内服等の保存的治療と、腸管狭窄に対し、内視鏡拡張術を行ってきた。平成10年10月に再燃増悪認め、保存的治療に抵抗し、腸管および肛門の狭窄が強いため手術目的にて外科に紹介となる。現症:身長172cm, 体重51kg. 眼瞼結膜に軽度の貧血を認め、右下腹部に手拳大の腫瘍と同部位に軽度の圧痛を認めた。肛門診ではskin tagと複雑痔

瘻を認め、示指がかりうじて通過する程度の高度の狭窄を認めた。入院時検査所見:Hb12.2 g/dl, Ht 37%と軽度の貧血を認めた。コリンエステラーゼ1718, T-CHO 95と軽度低下し、また、CRP 9.1, 血沈1時間値 83 mm, 2時間値 100mmと炎症反応の亢進を認めた。注腸像(初診時):病変は強い狭窄が直腸, 横行結腸, 回盲部に3箇所ある。いわゆるskip lesionとして認められた。病変部には縦走潰瘍, 裂溝, 炎症性ポリープが存在した。以上より肛門から回腸末端まで及ぶ小腸大腸型のクローン病であると診断した。大腸内視鏡像:回盲部の病変では、回盲部に狭窄と数ヶ所の瘻孔の形成を認めた。横行結腸は高度の狭窄を認め、周囲に炎症性ポリープが散在した。下部直腸は肛門管の狭窄を越えた下部直腸に白苔を伴う縦走傾向のある潰瘍を認め周囲は炎症による外部からの圧迫像と思われた。手術:今回、入院による保存的治療では緩解せず、腸管、特に肛門の狭窄が進み、肛門から内視鏡の挿入が不可能となったため、平成11年3月16日、下行結腸からS状結腸の一部を残す、大腸亜全摘、直腸切断術を施行した。なお術前に、癌の存在は確認できなかった。病理組織像:下部直腸から肛門管上縁にかけて大部分が異形細胞の認められない、いわゆる正常粘膜下に存在する5型(分類不能)の腫瘍を認めた。深達度はa2, 組織型は腺腔構造と癌真珠を伴う腺扁平上皮癌で脈管侵襲はly3, v2であった。尚、明らかなdysplasiaの存在は認められなかった。

C. 考 察

論文として報告され、詳細が判明しているクローン病に合併した大腸癌の本邦報告例18例についてまとめると、癌発症の平均年齢は53.8±19.3歳で、40才以

下のいわゆる若年者大腸癌が18例中5例(27.8%)と若年者の発症が多く認められた。男女比は10:8で差はなく、クローンの罹病期間は中央値が96ヶ月(8年)と長期経過例に多く認められた。癌の発生部位別では直腸、S状結腸に12例(66.7%)と一般の大腸癌と同じような分布を示した。組織型では高分化腺癌を除く未分化な癌が12例(66.7%)であった。dysplasiaを伴った症例は1例(5.6%)であった。尚、腺扁平上皮癌の報告は本例のみであった。

#### D. 結 論

1. 痔瘻を伴うクローン病に合併した直腸肛門管癌を経験した。2. 我が国ではCrohn病の癌の合併例は18例と少ないが、長期経過例の増加する現在においてはこれに留意する必要があると思われる。

#### E. 参考文献

- 1) Ribeiro MB, Greenstein AJ, Sachar DB, et al: Colorectal adenocarcinoma in Crohn's disease. *Ann Surg* 1996;233:186-193.
- 2) Bernstein D, Rogers A: Malignancy in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1996;91:434-440.
- 3) Greenstein AJ, Sugita A, Yamazaki Y: Cancer in inflammatory bowel disease. *Jpn. J. Surg* 1989;19:633-644.
- 4) Stahl TJ, Schoetz DJ Jr, Roberts PL, et al: Crohn's disease and carcinoma: increasing justification for surveillance? *Dis Colon Rectum* 1992;35:850-856.
- 5) Rubio CA, Befrits R: Colorectal Adenocarcinoma in Crohn's Disease: a retrospective histologic study. *Dis Colon Rectum* 1997;40:1072-1078.
- 6) Savoca PE, Ballantyne GH, Cahow CE: Gastrointestinal malignancies in Crohn's disease: a 20-year experience. *Dis Colon Rectum* 1990;33:7-11.
- 7) Michelassi F, Testa G, Pomidor WJ, et al: Adenocarcinoma complicating Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1993;36:654-661.
- 8) Yamazaki Y, Ribeiro MB, Sachar DB, et al: Malignant colorectal strictures in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1991;86:882-885.
- 9) Gillen CD, Andrews HA, Prior P, et al: Crohn's disease and colorectal cancer. *Gut* 1994;35:651-655.
- 10) Ekobom A, Helmick C, Zack Matthew, et al: Increased risk of large-bowel cancer in Crohn's disease with colonic involvement. *Lancet* 1990;336:357-359.
- 11) Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, et al: Intestinal cancer and mortality in patient with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1993;105:1716-1723.
- 12) 中崎隆行, 飛永晃二, 武富勝郎ほか: クローン病に合併した直腸癌の1例 *日臨外会誌* 1998;59:450-453.
- 13) 王 奇明, 福島常男, 原田博文ほか: 大腸型Crohn病に合併した虫垂癌の1例 *日本大腸肛門病会誌* 1994;47:152-156.
- 14) 西 隆, 小澤正則, 落合浩平ほか: クローン病変の併存した結腸癌の1例 *函医誌* 1993;17:118-123.
- 15) 小林直哉, 高倉範尚, 山本浩史ほか: クローン病発症後5年目に発見された直腸癌の1例 *IRYO* 1995;49:497-500.
- 16) 原 均, 後藤 司, 福本進ほか: 大腸癌を併存したCrohn病の1例 *日消外会誌* 1989;22:2130-2133.
- 17) 川口満宏, 木場文男, 渡辺英宣: クローン病に合併したS状結腸癌の1例 *大分県立病院医学誌* 1988;17:150-154.
- 18) 山下元康, 前田正光, 新妻義文ほか: Crohn病に合併した直腸癌の1例 *茨城農村医学誌* 1998;11:15-18.
- 19) 本村 明, 植木光彦, 桜井俊弘ほか: 直腸癌を併発したCrohn病の1例. *日本大腸肛門病会誌* 1993;46:1076.
- 20) 金 仁燮, 樋口哲郎, 家城和男ほか: Crohn病に合併した大腸癌の1例 *日本大腸肛門病会誌* 1999;52:1007.
- 21) 清水輝久, 谷口英樹, 近藤正道ほか: クローン病様病変に合併した直腸癌の1例 *日本大腸肛門病会誌* 1995;48:851.
- 22) 加藤知行, 安井健三, 加藤王千ほか: クローン病に合併した直腸癌の1例 *日本大腸肛門病会誌* 1985;38:434.
- 23) 山本睦生, 工藤進英, 鹿島雄治ほか: 大腸クローン病に合併したS状結腸癌の1例 *日本大腸肛門病会誌* 1985;38:434.
- 24) 長谷川修三, 二見喜太郎, 山崎宏一ほか: 直腸癌を合併したCrohn病の2例 *日消外会誌* 1995;28:368.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

ラット大腸亜全摘後残存腸管における  
水チャネル遺伝子発現に関する検討

分担研究者 畠山 勝義 新潟大学医学部 第一外科 教授

研究要旨：[背景] これまで消化管における水の移動は細胞間経路と考えられてきたが、水チャネル(AQP)の発見により経細胞経路の存在が提起されている。しかし、消化管における水の吸収と分泌への水チャネルの関与は明かでない。[目的] 大腸大量切除後の消化管における水チャネルの役割を、水チャネル遺伝子の発現変動から検討する。[対象と方法] ラットに大腸亜全摘兼回腸大腸吻合術を施行。対照群として回腸単切離再吻合術群を用いた。術後3・6週目に犠牲死。残存腸管におけるAQP mRNA発現の変動を、RNase Protection Assay法にて検討した。[結果] 残存大腸においてAQP8 mRNAの著明な発現増強を認めた。[考察] 潰瘍性大腸炎や家族性大腸腺腫症に対する大腸大量切除後の残存腸管のadaptationに、水チャネルの発現増強が寄与している可能性が考えられた。

共同研究者

谷 達夫, 畠山 悟, 島村 公年, 岡本 春彦,  
須田 武保, 酒井 靖夫<sup>1)</sup>, 山本 格<sup>2)</sup>

所属 新潟大学医学部 第一外科<sup>1)</sup>,  
同 腎研究施設<sup>2)</sup>

tection Assay法を用いて、水チャネルmRNAの検出を行った<sup>2),4)</sup>。プローブはラット正常小腸・大腸で発現の認められるrat AQP1, 3, 4, 8 cDNA, またhome keeper geneとしてrat glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) cDNAをテンプレートとし32 PラベルcRNA プローブを作製し使用した<sup>3)</sup>。

C. 研究結果

切除群における残存大腸でのAQP8 mRNAの発現が、3週・6週群ともSham群に比し、著明に増加していた(略・図1)。しかし、小腸におけるAQP1, 3, 4, 8や残存大腸におけるAQP1, 3, 4に明らかな変化は認められなかった。

D. 考 察

潰瘍性大腸炎や家族性大腸腺腫症に対する大腸大量切除後は術後の著しい下痢を生じるが、時間の経過とともに排便回数は減少する。術後の下痢回復機構は残存腸管のadaptationによるとされているが、その病態生理の解明は十分ではない。一方、AQPの研究は近年始まったばかりなのでその機能については不明な点が多いが、研究の進んでいるAQP2は、腎臓の集合管上皮細胞の細胞膜に存在し、バゾプレシンで刺激されると管腔側膜表面に移動することが示されている<sup>5,6)</sup>。このことはバゾプレシンで集合管の水の再吸収が盛んになる機序を明確に説明でき、同時に集合管細胞の中を大量の水が通りうることを示した点で注目された。今回、残存大腸で発現増加の認められたAQP8は消化管のなかでも大腸に優位に発現し、その局在は最上皮にあることが我々のこれまでの研究で判明している<sup>3)</sup>。そして今回の検討で、大腸大量切除後の残存大腸においてAQP8 mRNAが著明に増加していることが判明した。これらの点を加味すると、

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎や家族性大腸腺腫症に対する大腸大量切除後の下痢回復機構は、残存腸管のadaptationによるとされているが、その病態生理の解明は十分ではない。

一方、近年、さまざまな細胞の膜表面に存在して選択的に水を通す水チャネル(aquaporin, AQP)が発見されており<sup>1)</sup>、当科でも大腸粘膜に発現するAQP8のクローニングに成功した<sup>2)</sup>。これまで消化管における水の移動は、細胞間経路によると考えられてきたが、この水チャネルの発見により経細胞経路の存在が提起されている。しかし、消化管における、水の吸収分泌への水チャネルの関与の研究はまだほとんど行われていない<sup>3)</sup>。

そこで今回、大腸大量切除後の消化管における水チャネルの役割を残存小腸・大腸における水チャネル遺伝子の発現変動から検討する目的で、この実験を行った。

B. 研究方法

WKY雌性6～8週齢ラットに大腸亜全摘・回腸大腸吻合術を行った。対照群として回腸単切離再吻合をおいたSham群を設定。術後3週目、6週目に犠牲死。小腸(上部・中部・下部)・残存大腸、Sham群でも同様の部位より全mRNA抽出。サンプル数は3週目、6週目の大腸亜全摘群、Sham群ともにいずれも4例。RNase Pro-

大腸においてAQP8が水の吸収分泌に大きな役割を果たしている可能性があるものと思われる。

小腸に関して、今回の実験では水チャネル発現の変動は認められなかった。しかし、今回検討したAQP1, 3, 4, 8の正常小腸における発現は少なく<sup>3)</sup>、また小腸で優位に発現する水チャネルはまだ発見されておらず、その存在の可能性が示唆されているものと思われる。

今後、未発見のものを含めた水チャネルファミリーの消化管分布、細胞内分布とその量、制御機構等をさらに明らかにすることが、消化管における水の吸収分泌の理解、そして術後のadaptationにおける病態生理の解明に必要であると思われる。

#### E. 参考文献

- 1) Preston GM, Agre P: Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons : member of an ancient channel family. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:11110-11114.
- 2) Koyama Y, Yamamoto T, Kondo D, et al : Molecular cloning of a new aquaporin from rat pancreas and liver. J Biol Chem 1997;272:30329-30333.
- 3) Koyama Y, Yamamoto T, Tani T, et al : Expression and localization of aquaporins in rat gastrointestinal tract. Am J Physiol 1999;276:C621-C627.
- 4) Yamamoto T, Sasaki S, Fushimi K, et al : Expression of AQP family in rat kidneys during development and maturation. Am J Physiol 1997;272:F198-F204.
- 5) Fushimi K, Uchida S, Hara Y, et al : Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. Nature 1993;361:549-552.
- 6) Yamamoto T, Sasaki S, Fushimi K, et al : Vasopressin increases AQP-CD water channel in apical membrane of collecting duct cells in Brattleboro rats. Am J Physiol 1995;268:C1546-C1551.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

潰瘍性大腸炎の診療・治療の今後の検討について

分担研究者 棟方 昭博 弘前大学医学部 第一内科 教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎の診断基準と治療指針は、病因・病態の解明や診断学・治療法の進歩とともに今後も改訂を重ねていく必要がある。さらに、本症患者数の増加とともに医療給付対象者の適応を検討する必要性も生じてきた。そこで今回、医療給付、診断、治療に関するアンケート調査を本研究班の分担研究者に対して行った。その結果、医療給付に関しては、可能な限り多くの患者を対象とすべきというものから入院治療のみを対象とすべきというものまで幅広い意見があった。診断基準に関しては、大きな問題点は指摘されなかった。治療指針に関しては、白血球除去療法や新治療薬の使用に関して積極的な意見が多かったものの、治療指針案への組み込みは保険適応の認可後にすべきという意見もあった。以上の結果を参考として、今後も議論を加え、医療給付の適応基準に関する班としての見解を出し、診断基準および治療指針に関してもさらなる改訂を行う予定である。

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎の診断基準は1974年に厚生省特定疾患潰瘍性大腸炎調査研究班(土屋班)で作成され、治療指針は1975年に同研究班で作成された。以後改訂が加えられ、現行の診断基準改訂案<sup>1)</sup>(平成9年度, 下山班)および治療指針改訂案<sup>2)</sup>(平成10年度, 下山班)に至っている。しかし、本症のいまだ解明されていない病因・病態に関する研究が進んでおり、さらに診断学や治療法の進歩もみられ、今後もさらに改訂を重ねていく必要がある。さらには、潰瘍性大腸炎患者数の増加とともに医療給付対象者の適応を検討する必要性も生じてきた。そこで今回、医療給付、診断、治療に関するアンケート調査を行った。

B. 研究方法

1999年12月に本研究班の分担研究者28名に対してアンケート用紙を送付し、そのうち14名から回答が得られた。アンケートの質問内容は結果の項を参照された。

C. 研究結果

質問4項目と各々の回答をまとめたものを以下に記す。

A. 潰瘍性大腸炎の医療給付の対象をいかにすべきか

- ・有効な患者情報を得るためにも、可能な限り多くの患者を対象とすべき。
- ・緩解例を除く(意見複数あり)。しかし、緩解期の定義を明確にすべき。
- ・1年以上の緩解例を除く。
- ・○年以上の緩解例を除く。(○の期間は給付者数により増減する。
- ・緩解期を除くと維持療法がおろそかとなり再燃率が上がる可能性あり。

- ・初回発作型の転帰調査を行い、再燃がなければ給付から外す。
- ・直腸炎型を除く。
- ・疑診例を除く。
- ・除外例を決めるのではなく、給付適応の基準を設けるべき。
- ・入院治療のみを対象とする。直腸炎型や緩解期を除くといっても判定基準があいまいとなる。
- ・手術例は全例、術後も含め給付対象としてほしい。
- ・重症認定基準を考慮する。

B. 現在の潰瘍性大腸炎診断基準の問題点、改訂すべき点など

- ・初回発作型で軽症例を疑診例としたらどうか。そして、確診例のみ医療給付の対象としたらどうか。
- ・「右側あるいは区域性大腸炎」の診断に関する定義を明確にすべき。なぜなら、学会で安易に用いられている可能性あり。
- ・診断基準として問題ないが、内視鏡像と病理組織像に重点がおかれている。
- ・一般医家にも定着したため、現行の診断基準は評価できる。

C. 現在の潰瘍性大腸炎治療指針の問題点、改訂すべき点など

- ・直腸炎型でステロイド注腸が無効な場合の以降の記載がない。
- ・保険適応でないイムラン等が治療指針にあるが、載せるのであれば班としてのデータや使用方法を詳しく明記してほしい。
- ・ACTH療法の再評価と具体的な治療方法の明記。
- ・強力静注療法は4回分注ではなく持続静注ではだめなのか。

- ・難治例や慢性持続型におけるメトロニダゾールの適応は。
  - ・ペンタサの最高投与量と維持量の再検討。
  - ・cyclosporineAを含めた免疫抑制剤の位置づけの再検討。
  - ・白血球除去療法は施行可能な施設に限られており、一般医家を対象とする治療指針に組み込むのは時期尚早である。
  - ・白血球除去療法の適応をステロイド無効例としたらどうか。
  - ・白血球除去療法のマニュアル作成を急ぐべき（意見複数あり）。
  - ・白血球除去療法の適応基準，施行回数，施行期間の制限が必要では。
- D. 潰瘍性大腸炎の新治療法に関して
- ・メサラジンの注腸の検討。
  - ・cyclosporineAや新ステロイド剤のプロトコールを班で作成し，その評価をもとに，保険適応を目指すべき（意見多数あり）。
  - ・新ステロイド剤は，本邦で保険適応となつてからの記載でよい。
  - ・白血球除去療法とcyclosporineAの使い分けに関する検討をしてほしい（意見複数あり）。
  - ・現時点では，治療指針の欄外に「新しい治療法として……などがある」などと紹介程度にとどめておくべき（意見複数あり）。
  - ・実験動物モデルで増殖因子による新治療法を検討する。

#### D. 考 察

以上のように多くの意見を頂いたが，その結果を総括すると，医療給付に関しては，可能な限り多くの患者を対象とすべきというものから入院治療のみを対象とすべきというもので幅広い意見があった。診断基準に関しては，大きな問題点はないようであった。治療指針に関しては，白血球除去療法や新治療薬の使用に関して積極的な意見が多かったものの，治療指針案に組み込むのは時期尚早であるという意見もあった。

今後の予定としては，医療給付に関しては，その適応基準をいかにすべきかという点でさらに検討を加え研究班としての見解を早急に出すつもりである。診断基準に関しては，より精度を高めるために若干の修正と追加を行う予定である。治療指針に関しては，白血球除去療法の多施設共同研究を継続し，そのデータをもとに適応症例，施行回数，施行期間などの基準を設定したい。また，欧米で有用性が示唆されている新ステロイド剤やcyclosporineAなどの新治療薬に関する臨床試験も行い，その結果をもとに新しい治療法として治療指針に組み込むべきか否かを考えたい。その他としては，6MPやペンタサなどの従来治療薬に関する再検討も行いたい。

#### E. 参考文献

- 1) 棟方昭博：潰瘍性大腸炎診断基準改訂案 厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班，平成9年度研究報告書 1998:96-99.
- 2) 棟方昭博，下山 孝：潰瘍性大腸炎治療指針改訂案，厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班，平成10年度研究報告書 1999:123-125.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

潰瘍性大腸炎患者における大腸粘膜の色調・血管透見性と  
組織学的大腸粘膜の血管・炎症細胞数との相関

分担研究者 棟方 昭博 弘前大学医学部 第一内科 教授

研究要旨：[目的] 潰瘍性大腸炎で内視鏡の色調・血管透見性を定量し、組織学的大腸粘膜の血管・炎症細胞数との相関を調べる。[方法] 潰瘍性大腸炎患者 (UC) 30 人、正常者 (NC) 5 人を用いた。内視鏡写真の画像解析から、関心領域のヘモグロビンインデックスと血管透見性を計算した。関心領域の生検標本から、血管数と血管床面積、および炎症細胞数を定量した。[結果] ヘモグロビンインデックスは UC で高く ( $22.43 \pm 3.76$  for NC vs.  $33.02 \pm 9.79$  for UC,  $p < 0.001$ )、血管床面積に正の相関を示した ( $r=0.80$ )。血管透見性は UC で低く ( $7.27 \pm 2.66$  for NC vs.  $3.43 \pm 3.23$  for UC,  $p < 0.001$ )、炎症細胞数が 25000 (counts/mm<sup>2</sup>) 以上、あるいは血管床面積が 2.5% 以上のとき著しく低下した。[結論] 炎症の定量化は、治療効果の定量的判定を可能とし、治療法決定の客観的な根拠を与えると考えられた。

共同研究者  
佐々木 賀広

所属 弘前大学医学部 第一内科

A. 研究目的

大腸粘膜の発赤と血管透見の消失は、活動期の潰瘍性大腸炎に伴う内視鏡所見である<sup>1)</sup>。炎症の改善とともに発赤の程度は弱くなり、血管透見が出現することから、この2つの所見が炎症に連動することが強く示唆されてきた。われわれは、内視鏡画像の画像解析によって粘膜の絶対的色調を測定する方法を開発し、大腸癌の赤みが大腸腺腫よりも有意に強いことを証明した<sup>2)</sup>。この方法は、腫瘍性病変のみならず、炎症粘膜の色調の定量にも応用可能である。

一方、潰瘍性大腸炎の組織学的特徴は、微小血管の鬱血・拡張を伴う著しい炎症細胞浸潤である<sup>3)</sup>。しかしながら、組織学的大腸粘膜の血管数、血管の形態変化に関する定量的検討はなされていない。

本研究の目的は 1) 潰瘍性大腸炎の患者において内視鏡的な粘膜の色調 (赤み)・血管透見性を定量化し、2) 対応する部位の組織学的大腸粘膜の血管数・血管床面積と炎症細胞数を定量化し、3) 内視鏡的変数と組織学的変数との相関を調べることである。

B. 研究方法

潰瘍性大腸炎 (UC) 30 人と、それに年齢を合わせた正常コントロール (NC) 5 人を対象とした。大腸内視鏡

下に S 状結腸の中央と直腸の第一 Houston 弁の写真撮影を行い、それぞれの部位から 1 個ずつ鉗子生検を行った。生検組織は 10% ホルマリン液で固定した。

粘膜の赤みと血管透見性の定量画像解析装置を用いて、粘膜の赤みの指標としてヘモグロビンインデックスを計算した<sup>4)</sup>。血管透見性は血管領域と背景領域とのヘモグロビンインデックスの差で表わした。

血管数と血管床面積の計算血管内皮を CD34 で標識した。光学顕微鏡 ( $\times 200$ ) 下に画像解析ソフトを用いて、血管数 (counts/mm<sup>2</sup>) と血管床面積 (%) を求めた。血管床面積は、腺管を除いた粘膜固有層の面積に対する微小血管の断面積の総和として計算した。

炎症細胞数の計算炎症細胞の核をヘマトキシリン染色により標識し、画像解析ソフトを用いて炎症細胞数 (counts/mm<sup>2</sup>) を測定した。

C. 研究結果

1. 内視鏡的変数ヘモグロビンインデックスは NC では  $22.43 \pm 3.76$  であったのに対して、UC ではばらつきが大きく、高値を示した ( $33.02 \pm 9.79$ ,  $p < 0.001$ )。血管透見性は 4 以下になると肉眼的に判別困難となることが分かった。血管透見性は、NC では全例が 5 以上の値を示し透見明瞭であった ( $7.27 \pm 2.66$ ) のに対して、UC では 69% で判別困難であった ( $3.43 \pm 3.23$ ,  $p=0.001$ )。

2. 組織学的変数血管床面積は UC ( $3.10 \pm 1.70\%$ ) では NC ( $1.06 \pm 0.33$ ) の 3 倍の高値を示した。血管数は UC ( $235 \pm 101$  counts/mm<sup>2</sup>) が NC ( $93 \pm 40$ ) の 2.5 倍の値を示した。短径の最大値は NC ( $19.06 \pm 4.00 \mu\text{m}$ ) に比較して UC ( $26.24 \pm 10.85$ ) で有意に大き

いことから、UCでは直径の太い血管が少数出現することが分った。炎症細胞数は、UC (20625 ± 7994 counts/mm<sup>2</sup>) でNC (10478 ± 3436) の2倍の高値を示した。一方、炎症細胞数は血管床面積 (r=0.12)、血管数 (r=0.20)、血管の短径 (r=-0.04)、血管短径の最大値 (r=-0.02) とは相関を示さなかった。

3. 内視鏡的変数と組織学的変数との相関ヘモグロビンインデックスは、血管床面積に正の相関 (r=0.80) を示した。血管透見性は炎症細胞数が 25000 (counts/mm<sup>2</sup>) 以上のとき4以下 (判別困難) になった。しかし細胞数が 25000 (counts/mm<sup>2</sup>) 以下でも判別困難なものが 29 例見られた。その 29 例中 24 例 (83%) は血管床面積が 2.5% 以上であった。従って、血管透見性は炎症細胞数が 25000 (counts/mm<sup>2</sup>) 以上、あるいは血管床面積が 2.5% 以上になると判別困難となることが分かった。
4. 内視鏡的・組織学的変数と臨床的変数血管透見性は臨床的軽症例に比べて (4.34 ± 2.83)、臨床的重症例で有意に低かった (1.49 ± 0.83, p=0.00034)。一方、炎症細胞数は、1日の排便回数が4回以内の症例に比べて (17750 ± 3683)、5回以上の症例で有意に高かった (24796 ± 7792, p=0.011)。また、ヘモグロビンインデックスは血液ヘモグロビン濃度とは相関しなかった (r=0.254)。

#### D. 考察

今回、われわれは潰瘍性大腸炎患者で、大腸粘膜の色調と血管透見性、その関心領域における組織学的な血管数・血管床面積と炎症細胞数を定量化した。その結果、1) 潰瘍性大腸炎では、正常粘膜に比較してヘモグロビンインデックスが高く、血管透見性が低いこと、2) これらの巨視的変数は、それぞれ粘膜の血管床面積と炎症細胞数に相関することが証明された。

ファイバースコープの時代には、内視鏡画像の所見を定量化する手段がなかったため、その表現は術者の経験・主観によるところが大きかった。このことが、内視鏡所見を共通の尺度で記載することを制限していたと考えられる。われわれは、以前内視鏡画像から粘膜の絶対的色調を測定する方法を開発し、大腸癌の赤みが大腸腺腫よりも有意に強いことを証明した<sup>2)</sup>。この方法を用いて、潰瘍性大腸炎の粘膜の赤み (ヘモグロビンインデックス) を定量化した。さらに、新たな変数である血管透見性を粘膜下の血管と背景との赤みの差として定義した。これは、色差が大きいほど粘膜下の血管が背景からはっきり区別されることに基づく。

潰瘍性大腸炎における粘膜ヘモグロビンインデックスは、コントロールレベルから、コントロールの2倍までの値を示した。これは分光光度計を用いた測定結果に一致する<sup>3)</sup>。一方、この研究ではヘモグロビンインデックスと炎症細胞数との間に相関を認めなかった。血管数あるいは血管床面積と炎症細胞数とが相関しないことは組織学的な分析からも証明された。しかしながら、前報告では、ヘモグロビンインデックスが炎症細胞数に比例する (r=0.846) とされている。この違いは、以下のことによると思われる。この研究では、生検前後の内視鏡写真を参照しながらヘモグロビンインデックスを計算する関心領域を設定したので、関心領域と生検部位はきわめて高い精度で一致していたと考えられる。それに対して前報告では、写真を参照できないので一致精度は低いと考えられる。またこの研究では、組織学的分析の関心領

域をランダムに設定し、炎症細胞数の計算を画像解析により自動的に行った。それに対して、前報告では病理学者が手動で計算しているの、バイアスがかかりやすいと考えられる。

内視鏡画像から計算した粘膜の赤み (ヘモグロビンインデックス) は粘膜固有層の血管床面積に正の相関を示した。血管床面積の増加のメカニズムは、血管数の増加あるいは血管径の増大と考えられる。潰瘍性大腸炎の単位面積あたりの血管数は 235 で、正常粘膜 (93) に比較して 2.5 倍に増加していた。それに対して、血管径の平均は正常粘膜に比べて 7% 大きいものの、有意水準には達しなかった。以上のことから、ヘモグロビンインデックス増加の組織学的背景は血管新生 (数の増加) と考えられた。ところが、活動期の潰瘍性大腸炎の組織学的特徴は、粘膜固有層における毛細血管の拡張 (鬱血) を伴う細胞浸潤と記載されている<sup>4)</sup>。この研究で、血管径の平均は変わらないものの、その最大値は潰瘍性大腸炎で有意に大きいことが分かった。従って、この組織学的な記載は、数としては少ない著名に拡張した血管に関するものと考えられた。一方、血管数は大腸癌組織においても増加し (180-354 counts/mm<sup>2</sup>)、生存期間に逆相関<sup>5)</sup>、肝転移率に正相関<sup>6)</sup> することが報告されている。潰瘍性大腸炎における血管数は、治療過程において、炎症細胞数とは違った変化を示すことから、炎症に関係する新たな生物学的変数と考えられた。

血管透見性は炎症細胞数が 25000 (counts/mm<sup>2</sup>) 以上、あるいは血管床面積が 2.5% 以上になると判別困難となることが分かった。これは、正常レベルの 2.5 倍に相当する。粘膜下層の血管が背景から区別されるためには、1) 照射光が粘膜層を透過して粘膜下層に到達し、2) 血管と背景からの充分な量の反射光が再び粘膜層を透過して戻ってくる必要がある。いま粘膜層の透過率を  $\tau$  ( $0 < \tau < 1$ ) とすると、血管透見性は  $IMT = C \times \log [40 - 78 / (\tau + 2)]$  で与えられる。これは、粘膜層の透過率が小さくなると、血管透見性が低下することを表す。正常粘膜の  $\tau$  は予備実験から 0.4 であることが分かっているので、IMT を 10 と仮定すると、換算定数 C は 17 である。一方  $\tau$  は、炎症細胞やヘモグロビン濃度の指数関数なので、濃度が正常の 2.5 倍では  $\tau = (0.4) 2.5 = 0.1$  となる。このとき、IMT は 1.3 となり血管透見は消失する。

内視鏡的変数と臨床的変数との間に相関は見られなかった。これは、臨床的変数がステロイド剤の服用により大きく修飾されるためと考えられる。それに対し内視鏡的変数は局所の炎症 (組織学的変数) を忠実に反映する。原理的には、炎症の評価を局所から結腸全体に広げること可能である。そうすることで、治療に対する炎症の時間・空間的な推移が明らかになると考えられる。

画像解析により、炎症粘膜の色調と血管透見性を定量化することが可能となった。更に、色調は組織学的な粘膜の血管床面積に相関し、血管透見性は粘膜の血管床面積と炎症細胞数に相関することが分った。炎症の定量化は、治療効果の定量的判定を可能とし、治療法決定の客観的な根拠を与えると考えられた。

#### E. 参考文献

- 1) 竹本 忠良, 長廻 紘 編: 消化管内視鏡診断テキスト 小腸・大腸 第2版 東京: 文光堂: 1998 p.83-5.
- 2) Sasaki Y, Uno Y, Nakajima H, Hada R, Munakata A: Comparative colorimetric study on colonic benign and



- malignant lesions. *Gastrointest Endosc* 1996;43:A302.
- 3) Basil C. Morson, Ian M. P. Dawson, David W. Day, et al: *Morson & Dawson's Gastrointestinal Pathology*, 3rd ed. Oxford. Blackwell Scientific Publications. 1990. Chapter 37. 491-513.
  - 4) Tsuji S, Sato N, Kawano S, Kamada T: Functional imaging for the analysis of the mucosal blood haemoglobin distribution using electronic endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1988;34:332-6.
  - 5) Masahiko Tsuji, Sunao Kawano, Shingo Tsuji, et al: Colonic mucosal hemodynamics and tissue oxygenation in patients with ulcerative colitis: Investigation by organ reflectance spectrophotometry. *J Gastroenterol.* 1995;30:183-8.
  - 6) Isozaki H, Fujii K, Nomura E, Mabuchi H, Hara H, Sako S, Nishiguchi K, et al: Prognostic value of tumor cell proliferation and intratumor microvessel density in advanced gastric cancer treated with curative surgery. *Int J Oncol* 13:255-259,1998.
  - 7) Tomisaki S, Ohno S, Ichiyoshi Y, Kuwano H, Maehara Y, Sugimachi K: Microvessel quantification and its possible relation with liver metastasis in colorectal cancer. *Cancer* 1996;77:1722-8.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

前胸骨部に再発性無菌性皮下膿瘍を合併した潰瘍性大腸炎 (UC) の一例

分担研究者 金城 福則 琉球大学医学部 第一内科 助教授

研究要旨：症例は34歳、女性であり、平成9年に左側結腸型UCと診断された。外来での緩解維持療法中の平成11年6月22日より38℃台の発熱と1日4～5行の下痢、右肘右膝の関節痛が出現したが、患者が外来通院治療を希望したためにプレドニゾロンの20mg/日の経口投与を行った。しかし、症状が増強したため、7月1日に入院となった。入院後上記症状に加え、前胸骨部に有痛性の皮下膿瘍も出現した。膿瘍は穿刺排膿、プレドニゾロンの増量で治癒し、UCも緩解となり7月19日に退院した。しかし、9月3日、UCは緩解状態にあったが、前回と同部位に再度有痛性の皮下膿瘍が出現し、再入院となった。入院後再度穿刺排膿、プレドニゾロン増量にて治癒退院した。穿刺採取した膿の細菌培養は陰性であり、画像上は皮下膿瘍のみであった。本症例は、UCの病因との関連性で興味のある症例と思われたので報告した。

共同研究者

宮里 史郎, 砂川 隆, 半仁田慎一,  
平田 哲生, 久貝 雪野, 金城 渚, 斎藤 厚

所属 琉球大学医学部 第一内科

A. 研究目的

炎症性腸疾患の腸管外合併症として皮膚粘膜病変は潰瘍性大腸炎 (UC) の5.5%, Crohn病 (CD) では12.2%との報告がなされている<sup>1)</sup>。今回われわれは左傍胸骨部に繰り返す有痛性無菌性皮下膿瘍を認めたUCの一例を経験したので報告する。

B. 症例

症例：34歳、女性

主訴：38℃台の発熱と1日4から5行の水様性下痢、前胸骨部・右肘・右膝関節痛

現病歴：

平成8年8月に出産後の粘血便で発症し、平成9年7月に近医で左側結腸型UCと診断された。平成10年8月以降は当科で治療中であった。平成11年6月22日より左下腹部痛、38℃台の発熱、1日に4～5行の水様性下痢が出現し、同月25日より前胸骨部と右肘と右膝関節の痛みが強くなった。患者が外来治療を希望したので、6月29日よりプレドニゾロン1日20mgの投与を行ったが、疼痛は増強したため、7月1日に入院となった。

既往歴：平成9年7月に子宮外妊

入院時現症：

前胸骨部の圧痛著明。また、心窩部、下腹部に圧痛を認めた。四肢末梢では、右肘・右膝関節に疼痛を認めたが、発赤、腫脹、可動域制限はなかった。

臨床検査データ (略・表-1)：

白血球数は8400/cmmと明らかな増加は認めなかったが、CRPが7.7mg/dlと高値であり、赤沈は29mm/hと亢進していた。また、前胸骨部膿瘍からの穿刺液は黄緑色で、無臭混濁しており、塗抹では無数の好中球を認めるのみであり、細菌培養でも有意な起炎菌は検出されなかった。

経過 (略・図-1,2)：

初回入院2日前よりプレドニゾロン20mg/日を内服していたが、関節痛の軽減がみられず、入院後30mg/日に増量した。その後血便、発熱、関節痛はすみやかに軽快していたが、入院第8病日より前胸骨部の皮下腫瘤に気づき、当院整形外科へ診察を依頼した。皮下膿瘍の診断で、切開排膿を施行した。膿の細菌培養および2回の静脈血細菌培養でも陰性であり起炎菌は検出できなかった。皮下膿瘍は切開排膿処置後は経過順調であり、特に抗生物質を使用することもなく治癒し、UCも緩解状態となり、最終的にはプレドニゾロンを15mg/日に減量し、7月19日に退院となった。退院後プレドニゾロンの経口投与を15mg/日で維持し、UCの経過は良好であった。しかし、9月3日より前回の入院時と同じ前胸骨部に痛みを伴う皮下膿瘍が再び出現してきたため、入院の上、穿刺排膿、プレドニゾロンを30mg/日に増量した。入院後の経過は順調であり、膿瘍は治癒し、9月14日に退院となった。皮下膿瘍の再発時にUCの再燃は認められなかった。

肉眼所見 (略・図-3) :

前～左傍胸骨第2肋間の高さに、大きさ約4cm、表面平滑、軽度の発赤と著明な圧痛を伴う皮下膿瘍を認めた。膿瘍およびその周囲にはざ瘡は認めなかった。

CT所見 (略・図-4) :

CT上胸骨の前面の皮下に大きさ約40mmの内部が比較的均一な low density を示す半円形の病変を認めた。病変は動脈相で辺縁が造影剤にて増強された。病変と接する胸骨の骨膜、骨髄には異常所見を認めなかった。

骨シンチ所見 (略・図-5) :

骨シンチ上は胸骨部に異常な集積像を認めなかった。また、右肘、右膝の関節部にも異常所見を認めなかった。

### C. 考 察

炎症性腸疾患の腸管外合併症として皮膚粘膜病変は平成4年度の武藤班のアンケート調査では、UCの5.5%、CDでは12.2%との報告がなされている。UCにおける皮膚病変では、皮膚発疹、結節性紅斑、壊疽性膿皮症、血栓性静脈炎などが代表的なものである<sup>2)</sup>。その中でも特に本症例のような有痛性の皮下結節を呈するものは結節性紅斑、壊疽性膿皮症を鑑別する必要があるが、結節性紅斑、壊疽性膿皮症いずれも好発部位は下腿前面に出現する<sup>3)</sup>。また、皮膚病変の治療とその効果に関しては、結節性紅斑はステロイド剤が奏効し、再発は30%以下と少ないのに対して、壊疽性膿皮症ではステロイド剤はあまり奏効せず、また放置すると潰瘍を形成し、さらに骨髓炎を併発し下肢切断を必要とすることもある<sup>4)</sup>。本

症例は34歳の女性で、有痛性の皮下膿瘍を前胸骨部に形成し、再発を認めるものの、ステロイド剤への反応性は良好であり、発生部位および経過が通常の結節性紅斑とは異なっていた。また、病変は骨までは達しておらず、潰瘍の形成なども認めないことより壊疽性膿皮症とも異なる。本症例の皮膚病変は無菌性として抗生剤の使用はしておらず、ステロイド剤による治療が奏効した。本症例は、UCの経過中に、非定型的な部位に皮膚病変を繰り返し生じ、ステロイド剤が奏効しており、病因論的に興味あり報告した。

### D. 結 論

1. 前胸骨部に繰り返す無菌性皮下膿瘍を認めたUCの一例を経験した。
2. 胸部CTおよび骨シンチ上は骨に明らかな変化は認められなかった。
3. 治療としては、特に抗生剤を使用することなく、ステロイド剤の増量と、膿瘍の切開排膿のみで治癒した。

### E. 参考文献

- 1) 澤田俊夫, 樋口芳樹, 篠崎 大, 他: 炎症性腸疾患の腸管外合併症 厚生省特定疾患難治性炎症性腸肝障害調査研究班平成4年度業績集 1993;105-108.
- 2) 武藤徹一郎, 八尾恒良, 名川弘一, 櫻井俊弘, 他: 炎症性腸疾患 医学書院 1999;139-143.
- 3) 川口 淳, 丹波寛文: 腸管外合併症 消化器診療プラクティス 炎症性腸疾患 文光堂 1995;150-156.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
 「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
 分担研究報告書

IBD の皮膚病変

分担研究者 牧山 和也 長崎大学医学部 光学医療診療部 助教授

研究要旨：[目的] 炎症性腸疾患は様々な腸管外合併症を伴うが、皮膚病変もその1つである。我々は皮膚病変を伴う炎症性腸疾患の2症例の治療経験を中心に報告した。症例1：32才男性で11年の経過をもち、これまで8回の開腹手術を受けている小腸・大腸型クローン病であった。栄養療法で維持していたが、両下腿に小潰瘍を伴う地図状発赤斑が出現し、皮膚生検で巨細胞を伴う非乾酪性肉芽腫を認め転移性皮膚クローン病と診断し、ジアフェニルスルフォン内服と局所療法にて6ヶ月後に癒痕化した。症例2：20才男性で、全大腸炎型潰瘍性大腸炎であった。発症から1年目に水様性下痢と高熱を伴う最初の再燃時（重症型）に両下肢に潰瘍が出現した。病理組織学的には真皮深層まで単核球主体の炎症性細胞浸潤を認め、壊疽性膿皮症と診断した。プレドニゾロン静注や白血球除去療法などに反応せず、メチルプレドニゾロンパルス療法とシクロスポリンA内服にて2ヶ月後に癒痕化した。[総括] 転移性皮膚クローン病の1例及び壊疽性膿皮症を伴った潰瘍性大腸炎の1例を、治療経過を中心に報告した。

共同研究者

磯本 一、竹島 史直

所属 長崎大学医学部 光学医療診療部

A. 研究目的

炎症性腸疾患(IBD)は様々な腸管外合併症を来し、全身疾患としてとらえることもできる。なかでも皮膚病変の頻度は高く、IBDの病態を考えるうえで興味もたれている<sup>1,2)</sup>。今回、我々は転移性皮膚病変を併発したクローン病の1例及び壊疽性膿皮症を伴った潰瘍性大腸炎の1例を経験し、治療と経過を中心に報告した。

B. 症 例

症例1：32才男性、21才時発症の小腸・大腸型クローン病である。1988年5月に回腸横行結腸瘻にて右半結腸切除術、S状結腸切除術、回腸横行結腸吻合術及びS状直腸吻合術を行い、さらに、1993年5月には回腸皮膚瘻に対して永久回腸瘻造設術を施行した。以後は外来にて栄養療法を中心に治療を続けていたが、1997年11月に両下腿に有痛性皮疹の出現を認めた。皮膚病変は両下腿内側に認められ、地図状発赤斑の中に小潰瘍を伴っていた。同部の皮膚生検組織所見では真皮下層から皮下脂肪組織にかけて、多核巨細胞を伴った非乾酪性肉芽腫を数個認め、転移性皮膚クローン病と診断した。治療はジアフェニルスルフォン(DDS)(75mg/日)の内服と、局所療法としてステロイド軟膏、トレチノイントコフェリル及び亜鉛華軟膏を使用した。約4ヶ月後に治癒傾向を

示し始め、6ヶ月後に癒痕化した。

症例2：20才男性、1998年発症の全大腸型潰瘍性大腸炎である。プレドニゾロン(10mg/日)とメサラジン(2250mg/日)内服にて緩解していたが、1999年5月初旬にプレドニゾロンを自己中止したところ、5月27日から頻回の水様性下痢と高熱を認め、翌日、両下肢に膿瘍を伴う有痛性潰瘍が出現した。皮膚病変は周囲の紅斑が目立つ潰瘍性病変で、膿包形成を伴っていた。病理学的には真皮深層まで主に血管周囲にリンパ球主体の炎症性細胞浸潤を認め、壊疽性膿皮症と診断した。なお一般細菌や結核菌等の培養は陰性であった。入院時の大腸内視鏡検査では全大腸に散在する深掘れ潰瘍や出血、びらん認められ、重症活動期であった。治療はステロイド強力静注療法(プレドニゾロン60mg/日)とウリナスタチン静注(20万単位/日)に加え、白血球除去療法(遠心分離法)を1回施行した。しかし皮膚病変は軽快しなかったため、ステロイドパルス療法(メチルプレドニゾロン1000mgを3日間点滴静注)とシクロスポリンA(250mg/日)の内服治療を行ったところ、約2ヶ月後癒痕治癒した。なお末梢血のIL-8、IL-10、eosinophilic cationic protein(ECP)及びgranulocyte-colony stimulating factor(G-CSF)が治療後に低下した。一方、大腸病変は軽快せず、3ヶ月後に外科的切除術と回腸直腸吻合術を施行した。

C. 考 察

1976年、McCallumとGrayが、皮膚に非連続性に腸管と類似した非乾酪性肉芽腫を伴う病変を転移性皮膚クローン病と呼称し報告している<sup>3)</sup>。しかし、その後の報告はきわめて少なく、本邦では自験例を含めこれまでに

表1

症例No	報告者	年齢性	腸管病変	クローン病の経過	皮膚病変の部位	皮膚病変の性状	治療	皮膚病変の経過
1	水川ら <sup>4)</sup>	22 男	大腸	2年3ヶ月	右下腿前面、足関節	鶏卵〜くるみ大の硬結	プレドニゾロン動注、サラゾピリン	消退
2	山近ら <sup>5)</sup>	31 男	大腸・小腸	6年1ヶ月	陰茎背面	類円形潰瘍	成分栄養療法	癒癒化
3	真鍋ら <sup>6)</sup>	52 男	小腸	7年	両側足関節〜足底	結節紅斑様皮疹	サラゾピリン	消退
4	Chibaら <sup>7)</sup>	22 男	大腸・小腸	1年8ヶ月	陰茎	・	成分栄養療法、ステロイド局所療法	消退
5	丸岡ら <sup>8)</sup>	56 女	胃・小腸・大腸	3年7ヶ月	右肘関節外側部	境界明瞭な紅斑	半消化態栄養療法、プレドニゾロン増量	改善傾向

6例が報告されているのみであった(表1)<sup>4-8)</sup>。男性が5例、女性が1例で、平均年齢は36歳であった。いずれも腸管病変が先行しており、特に自験例は発症約11年後と最も長い経過年数を有していた。転移性皮膚クローン病の罹患部位としては下肢が3例と多く、男性性器にも2例に認められた。また病変の性状は多彩で、自験例の如く潰瘍を伴うものや結節性紅斑との鑑別が困難な病変がみられた<sup>6)</sup>。特異的な治療法は報告されていないが、栄養療法やサラゾピリン内服、ステロイドの全身投与に良く反応し、全例が軽快、治癒していた。自験例は痔瘻や回腸皮膚瘻を合併していたためステロイドの全身投与は行わず、ハンセン氏病に使用されるDDS内服と局所療法(病変部へのステロイド軟膏、トレチノイントコフェリル軟膏及び亜鉛華軟膏の塗布)を行い、約2ヶ月後に軽快した。クローン病では瘻孔や難治性肛門病変を合併していることが多く、ステロイドの全身投与が困難な場合も少なくない。このような症例に対しては活性酸素、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 産生抑制作用があるDDS内服と局所療法が有効であることを示した症例であった。壊疽性膿皮症は、拡大性、穿掘性の潰瘍を形成する比較的まれな原因不明の慢性炎症性皮膚疾患であり、炎症性腸疾患特有の合併症ではなく、大動脈炎症候群や慢性骨髄性白血病などにも合併してくる<sup>9)</sup>が、本邦では潰瘍性大腸炎に合併する症例が42%と、最も多いとされている<sup>10)</sup>。亀井ら<sup>11)</sup>は壊疽性膿皮症を伴う潰瘍性大腸炎の本邦報告82例を集計し、男性、女性各41例で性差はなく、平均年齢は33歳であったと報告している。壊疽性膿皮症の出現部位としては、自験例のように下肢が39.5%と最も多く、次いで躯幹が25.8%、頭頸部が17.7%、上肢が9.7%であった。発症時期は、潰瘍性大腸炎の先行あるいは同時発症が大多数で、壊疽性膿皮症が先行した症例はわずか5例、6.1%であった。また潰瘍性大腸炎の罹患範囲は全大腸炎型が66.7%を占めており、ほとんどが活動期に発症していた<sup>11)</sup>。治療はステロイドやサラゾピリンの全身投与が第一選択であり、壊疽性膿皮症のほとんどに有効であると報告されている<sup>10)</sup>が、自験例ではプレドニゾロン強力静注療法さらには白血球除去療法には反応せず、メチルプレドニゾロンパルス療法とシクロスポリンAの内服治療が顕著に反応した。ステロイドパルス療法やシクロスポリンなどの免疫抑制剤の有効性はCalunら<sup>12)</sup>やTjandraら<sup>13)</sup>が報告しているように、特に難治性の壊疽性膿皮症に対する治療として位置づけられるかも知れない。しかし、壊疽性膿皮症を伴う潰瘍性大腸炎は重症のことが多い<sup>11)</sup>ためと考えられるが、自験例の如く強力療法にもかかわらず大腸病変には反応せず、外科的手術が施行された症例が約28%に認められている<sup>10)</sup>。本症を合併している場合、強力療法が大腸の炎症には反応し難いことに注目すべきであろう。壊疽性

膿皮症の原因は不明であるが、嫌気性菌や大腸菌などの細菌感染や免疫学的異常、サイトカインの関与が示唆されている<sup>1,10)</sup>。本症例では、IL-8やIL-10、ECP、G-CSFなどが壊疽性膿皮症の消褪後、大腸の炎症が残っているにもかかわらず低下したことは、壊疽性膿皮症の病態を考えるうえで興味深い。今回、我々は、転移性皮膚クローン病の1例及び潰瘍性大腸炎に合併した壊疽性膿皮症の1例を治療を中心に報告した。いずれもまれな合併症であるが、発現が腸管病変の病勢とよく一致することから<sup>1,8)</sup>、発症時あるいは再燃時が重症の場合には、これらの皮膚病変の合併を再認識しておく必要がある。

#### D. 参考文献

- 1) 丹羽寛文, 小山 洋, 永尾重昭, 他: 潰瘍性大腸炎と皮膚・粘膜病変 臨床消化器内科 1999;14:1731-1739.
- 2) 五十嵐正広, 勝又伴栄, 小林清典, 他: クローン病と皮膚病変 臨床消化器内科 1999;14:1741-1747.
- 3) McCallum DI, Gray WM: Metastatic Crohn's disease. Br J Dermatol 1976;95:551-554.
- 4) 水川良子, 長島正治, 八木田旭邦: Metastatic Crohn病の1例 臨床皮膚 1991;45:389-393.
- 5) 山近貴輔, 松浦 昭, 白井正人, 他: 陰茎Metastatic Crohn病の1例 日消誌 1992;89:2063-2067.
- 6) 真鍋治樹, 堀之園 弘, 種田明生, 他: クローン病患者に生じた metastatic cutaneous Crohn's disease 皮膚病診療 1995;17:1142-1144.
- 7) Chiba M, Iizuka M, Horie Y, et al: J Gastroenterol 1997;32:817-821.
- 8) 岡岡 寿, 伊藤喜三男, 日高康雄, 他: 胃, 十二指腸, 小腸, 大腸, 皮膚に病変を認めたCrohn病の1例 臨床消化器内科 1998;13:557-561.
- 9) Powell FC, Schroeter AL, Su WPD, et al: Pyoderma gangrenosum: A review of 86 patients. Q J Med 1985;217:173-186.
- 10) 天羽康之, 太田幸則, 饗場伸作, 他: 急速に進行する潰瘍性大腸炎に合併した壊疽性膿皮症の1例 皮膚臨床 1998;40:813-816.
- 11) 亀井美奈子, 内田善仁, 佐々原勝幸, 他: 壊疽性膿皮症を合併した潰瘍性大腸炎の2例 臨床と研究 1996;73:133-137.
- 12) Calun E, Flugelman MY, Rachmilewitz D: Pyoderma gangrenosum complicating ulcerative colitis: Successful treatment with methyl-prednisolone pulse therapy and dapsone. Am J Gastroenterol 1986;81:988-989.
- 13) Tjandra JJ, Hughes LE: Parastomal pyoderma gangrenosum in inflammatory bowel disease. Dis Colon Rectum 1994;37:938-942.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

クローン病膿瘍合併例の検討

分担研究者 亀岡 信悟 東京女子医科大学 第二外科 教授

研究要旨: [目的] クローン病の合併症のうち、治療に難渋するのは膿瘍および瘻孔合併症例の外科治療方針であるが、未だ確立されていない。今回われわれは、特に膿瘍合併例の治療方針について検討したので報告する。 [対象および方法] 1999年12月までに経験したクローン病手術症例は97例である。このうち膿瘍合併例10例について、外科的マネジメント(術前の保存的療法の有用性、ドレナージ、手術のタイミング)について検討した。 [結果] 膿瘍の発生部位および原因腸管について検討すると、膿瘍の部位が腹壁のみで原因腸管が回腸および上行結腸の7例中6例で保存的療法でIOIBD scoreが改善した状態で一期的切除・ドレナージが可能であった。しかし、腸腰筋膿瘍および骨盤内膿瘍例、原因腸管が左側結腸である場合には保存的治療のみではIOIBD scoreは改善せず、このような症例では早期のドレナージまたはFecal diversionを行っていた。 [結論] 1. 膿瘍発生部位: 膿瘍の発生部位でみると、腹壁膿瘍に比較し、腸腰筋膿瘍および骨盤内膿瘍は保存的治療に抵抗する。2. 原因腸管: 回腸および上行結腸が原因腸管である場合、保存的治療で軽快し、一期切除が可能である。しかし、左側結腸が原因腸管である場合には保存的治療に抵抗性である。

共同研究者

板橋 道朗<sup>1)</sup>, 飯塚 文瑛, 林 直諒<sup>2)</sup>,  
高崎 健<sup>3)</sup>

所属 東京女子医科大学 第二外科<sup>1)</sup>,  
同 消化器病センター内科<sup>2)</sup>,  
同 消化器病センター外科<sup>3)</sup>

年齢35.0歳)について術前の保存的療法の有用性、ドレナージ、手術のタイミングについて検討した。

表1 CD症例の手術理由

		~1999.12
手術症例97例	狭窄	47例 37.30%
	瘻孔	32例 25.4
	膿瘍	10例 7.9
	穿孔	4例 3.2
	出血	4例 3.2
	癌合併	3例 2.4
	その他	8例 6.3
	肛門病変	18例 14.3

A. 研究目的

クローン病の外科治療方針については、1998年に治療指針(案)が提出された。この治療指針では、小腸および大腸狭窄についての詳細な記載がなされ、実際の臨床でも狭窄のため手術適応となる症例が最も多い<sup>1)</sup>。しかしながら、臨床的には重症であり治療に難渋することが多い膿瘍および瘻孔合併症例の外科治療指針は明記されていない。今回われわれは、特に膿瘍合併例の治療方針について検討した。

B. 研究方法

1999年12月までに東京女子医科大学第二外科および消化器病センターで経験したクローン病手術症例は97例である。クローン病手術症例97例の手術理由を見ると、最も多いのが狭窄で47例(37.3%)、次いで瘻孔32例(25.4%)、膿瘍10例(7.9%)、穿孔4例(3.2%)、出血4例(3.2%)、癌合併3例(2.4%)、肛門病変18例(14.3%)、その他8例(6.3%)であった<e 01(表1)>。このうち膿瘍合併例10例(男性8例、女性2例;平均

C. 研究結果

膿瘍の発生部位: 膿瘍の発生部位をみると、腹壁膿瘍は6例(60%)と最も多く、腸腰筋膿瘍2例(20%)、骨盤内膿瘍2例(20%)、傍結腸膿瘍1例(10%)の順であった。腹壁膿瘍6例中5例の腹壁膿瘍単独例では、保存的療法(絶食、高カロリー輸液、抗生剤投与)のみでIOIBD scoreが改善し膿瘍腔も縮小した状態で手術を施行、いずれも一期的切除吻合が可能であった。腹壁膿瘍のうち1例は、同時に右腸腰筋膿瘍を有していた症例であった。上述の保存的療法を施行したが炎症所見およびIOIBD scoreが改善せず、腹壁膿瘍を超音波下穿刺ドレナージし全身状態が改善した後に右半結腸切除術を施行した。傍結腸膿瘍の1例は、他医にて約1ヶ月間の保存的療法で膿瘍が1度消失したが、さらに1ヶ月後に膿瘍が再燃し紹介来院した症例である。保存的療法で

表2 膿瘍合併症例

症例	膿瘍部位	原因腸管	保存的療法の効果	術前ドレナージ	手術	直後経過	長期経過	QOL
1	59F 腹壁	回腸	あり	なし	切除+ドレナージ	良	良	良
2	46M 腹壁	回腸	あり	なし	切除+ドレナージ	良	良	良
3	27F 腹壁	回腸	あり	なし	切除+ドレナージ	良	良	良
4	21M 腸腰筋・腹壁	回盲部	なし	あり	切除+ドレナージ	良	良	良
5	40M 腹壁	回盲部	あり	なし	切除+ドレナージ	良	良	良
6	30M 腹壁	上行結腸	あり	なし	切除+ドレナージ	良	良	良
7	25M 傍結腸	上行結腸	あり	なし	切除+ドレナージ	良	良	良
8	28M 腸腰筋	下行結腸	判定不能	なし	切除+ドレナージ	良	不良(再燃)	不良(再燃)
9	48M 骨盤内	下行結腸	なし	なし	人工肛門造設	良	不良	不良(人工肛門)
10	26M 骨盤内	S状結腸	なし	なし	人工肛門造設	良	不良(再燃)	不良(人工肛門)

IOIBD scoreが改善し膿瘍腔も縮小した状態で手術を施行した。腸腰筋膿瘍単独の1例は、保存的療法を施行しているが明らかな改善傾向は認められず手術に至っているが、原因腸管も含め切除吻合した。

また、骨盤内膿瘍の2例は保存的療法に反応せず、いずれも横行結腸に人工肛門を造設しfecal diversionを施行することでようやく炎症所見およびIOIBD scoreが改善した。しかしながら、その後も軽度の炎症所見を繰り返している。

原因腸管：膿瘍の原因となった腸管の部位からみると、回腸3例(30%)、回盲部2例(20%)、上行結腸2例(20%)で、原因腸管のうち回腸および右半結腸が7例(70%)を占めていた。この7例のうち腸腰筋膿瘍を合併した1例を除く6例は、いずれも保存的療法で炎症所見およびIOIBD scoreが改善していた。しかしながら、原因腸管が左側結腸の3例では、保存的療法を施行しているが明らかな改善傾向は認められなかった。

#### D. 考察

Crohn病の手術適応となる病態は狭窄、瘻孔、膿瘍、穿孔、難治、出血、痛などがあげられる。厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班で定めた外科治療指針では、これら適応のうち狭窄については、小範囲切除および狭窄形成術など細かな点にまで及び、指針として一応の体裁は整っている<sup>2)</sup>。しかしながら、実際に臨床の場では治療選択に迷うのは、瘻孔(内瘻、外瘻)および膿瘍を合併した症例で、EDと抗生剤で保存的に治療するのか？するとすれば期間は？イレウスチューブ等で減圧をはかるべきか否か？外科的治療を行うとすればその時期は？ドレナージのみか？切除か？人工肛門か？などである。また、Hulten<sup>3)</sup>は術前の敗血症状態があった患者の術後合併症発症率は49%で、敗血症を合併していない患者の合併症発症率12%に比べ有為に高率であ

ると報告している。しかし外科治療指針にはこれらにつき全く記載がない。そこで、今回の検討では膿瘍合併症を対象として、保存的療法の有効性および手術のタイミングについて部位別、原因腸管別にretrospectiveに検討した。膿瘍の発生部位および原因腸管について検討すると、膿瘍の部位が腹壁のみで原因腸管が回腸および上行結腸の症例で保存的療法の反応が良好で、その後に一期的切除吻合・ドレナージが可能であった。しかし、腸腰筋膿瘍および骨盤内膿瘍例、原因腸管が左側結腸である場合には保存的治療のみでは治療に難渋することが多く、このような症例では早期のドレナージまたはFecal diversionも視野に入れた手術が必要と思われる。

#### E. 結論

- 1) 膿瘍発生部位：膿瘍の発生部位でみると、腹壁膿瘍に比較し、腸腰筋膿瘍および骨盤内膿瘍は保存的治療に抵抗する。
- 2) 原因腸管：回腸および上行結腸が原因腸管である場合、保存的治療で軽快する場合がある。しかし、左側結腸が原因腸管である場合には保存的治療に抵抗性で外科適応とせざるをえない場合が多い。

#### F. 参考文献

- 1) 福島恒男, 杉田 昭: Crohn病術後再発因子の検討 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:pp99-102.
- 2) 名川弘一, 馬場正三: クロhn病の外科治療指針 厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班平成10年度研究報告書 1999:pp136-137.
- 3) Hulten L: Surgical treatment of Crohn's disease of the small bowel or ileocecum. World J Surg 1988;12:180-185.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢

分担研究者 岡村 登 東京医科歯科大学医学部 保健衛生学科 教授

研究要旨：[目的] 潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢を科・属レベルで検討した。[方法] 潰瘍性大腸炎患者の外科的切除された大腸の粘膜約0.1gを採取後、ホモジナイズし、好気・嫌気培養を行ない科・属レベルの推定同定をした。[結果] 潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢の部位別比較では各菌群の菌数および検出率に有意差はなかった。どの部位でも好気性菌群と嫌気性菌群の総菌数の比は1対1であった。潰瘍性大腸炎では総菌群、好気性菌群および嫌気性菌群の各総菌数が大腸癌患者の正常部位よりも有意に多かった。[結論] 潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢は大腸癌患者のそれとは異なることが示唆された。

共同研究者

千田 俊雄, 小林 久美子, 馬場 千恵美<sup>1)</sup>, 岡村 孝<sup>2)</sup>, 松村 徹也, 下山 孝<sup>3)</sup>

所属 東京医科歯科大学医学部 保健衛生学科<sup>1)</sup>, 東京都立大塚病院 外科<sup>2)</sup>, 兵庫医科大学 第四内科<sup>3)</sup>

B. 研究方法

兵庫医科大学病院において大腸の外科的手術を受けた潰瘍性大腸炎患者(表1)から大腸粘膜を採取し、その約0.1gを輸送培地900 $\mu$ lに入れ、氷冷下で輸送後、これをホモジナイズし10-1希釈液とした。さらに10-3, 10-5希釈系列を作成し、10種類の培地に50 $\mu$ l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った<sup>2)</sup>。検体1g当たりの菌数は対数で表記した。検体採取から培養まで24-30時間で処理を行った。

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎は大腸粘膜に炎症病変が広がる慢性疾患で、未だに原因不明であるが、腸内細菌と病態との関連性が示唆されている。我々はヒトの消化管粘膜細菌叢について研究してきた。大腸粘膜上に存在する細菌叢は糞便と異なり好気性菌群と嫌気性菌群の比がほぼ同じであることを明らかにした<sup>1)</sup>。今回、我々は、腸内細菌と病態との関連性を検討するため、潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜について部位別の菌叢解析を科・属レベルで行った。

表1 潰瘍性大腸炎手術症例および検体

症例	検体数*	年齢	性別	罹患範囲	臨床経過
1	4	48	F	全大腸型	活動期
2	5	52	F	全大腸型	活動期
3	5	25	F	全大腸型	活動期
4	5	62	F	全大腸型	活動期
5	5	19	F	全大腸型	活動期

\* 粘膜採取部位: 上行、横行、下行、S状結腸および直腸

表2 潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢の部位比較

菌群	上行(n=5)		横行(n=5)		下行(n=5)		S状(n=5)		直腸(n=4)	
	菌数(log Mean $\pm$ SD)	検出率 (%)	菌数(log Mean $\pm$ SD)	検出率 (%)	菌数(log Mean $\pm$ SD)	検出率 (%)	菌数(log Mean $\pm$ SD)	検出率 (%)	菌数(log Mean $\pm$ SD)	検出率 (%)
好気性菌群	6.06 $\pm$ 0.78	100	4.94 $\pm$ 1.11	100	5.49 $\pm$ 0.90	100	5.07 $\pm$ 0.96	100	5.10 $\pm$ 0.87	100
<i>Enterobacteriaceae</i>	5.09 $\pm$ 0.73	100	3.91 $\pm$ 0.56	100	4.25 $\pm$ 1.23	100	4.36 $\pm$ 0.88	100	4.17 $\pm$ 1.12	100
<i>Streptococcus</i>	4.51 $\pm$ 2.43	60	4.11 $\pm$ 2.02	60	4.47 $\pm$ 1.68	80	4.14 $\pm$ 1.98	60	3.77 $\pm$ 2.06	50
<i>Staphylococcus</i>	<2.00	0	2.20 $\pm$ 0.48	20	<2.00	0	<2.00	0	<2.00	0
<i>Corynebacterium</i>	2.70 $\pm$ 1.56	20	2.22 $\pm$ 0.48	20	2.79 $\pm$ 1.77	20	2.25 $\pm$ 0.56	20	3.23 $\pm$ 1.54	50
<i>Bacillus</i>	<2.00	0	<2.00	0	<2.00	0	<2.00	0	<2.00	0
<i>Lactobacillus</i>	2.16 $\pm$ 0.35	20	2.78 $\pm$ 1.58	40	2.68 $\pm$ 1.51	20	2.47 $\pm$ 0.65	40	2.47 $\pm$ 0.55	50
Yeast	2.24 $\pm$ 0.54	20	2.12 $\pm$ 0.16	40	2.12 $\pm$ 0.27	20	2.06 $\pm$ 0.13	20	<2.00	0
嫌気性菌群	6.18 $\pm$ 0.70	100	5.98 $\pm$ 0.31	100	4.99 $\pm$ 1.12	100	5.49 $\pm$ 0.67	100	5.34 $\pm$ 0.73	100
<i>Bacteroidaceae</i>	5.27 $\pm$ 1.95	80	5.62 $\pm$ 0.78	100	4.63 $\pm$ 1.50	80	4.64 $\pm$ 1.49	80	5.15 $\pm$ 0.62	100
<i>Clostridium</i>	<2.00	0	<2.00	0	<2.00	0	<2.00	0	<2.00	0
<i>Peptostreptococcus</i>	3.44 $\pm$ 2.03	40	2.52 $\pm$ 1.16	20	2.46 $\pm$ 1.03	20	2.88 $\pm$ 1.96	20	<2.00	0
<i>Eubacterium</i>	5.48 $\pm$ 0.91	100	4.69 $\pm$ 1.53	80	3.22 $\pm$ 1.30	60	3.61 $\pm$ 1.77	60	4.11 $\pm$ 1.45	75
<i>Bifidobacterium</i>	3.77 $\pm$ 1.66	60	3.75 $\pm$ 1.61	60	4.06 $\pm$ 1.23	80	4.00 $\pm$ 1.30	80	3.58 $\pm$ 1.95	50
総菌群	6.44 $\pm$ 0.70	100	6.10 $\pm$ 0.39	100	5.72 $\pm$ 0.85	100	5.89 $\pm$ 0.58	100	5.65 $\pm$ 0.74	100



### C. 研究結果

潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜菌叢について部位別(上行, 横行, 下行, S状および直腸)の菌科・属レベルの菌数および検出率を表2に示す。大腸粘膜細菌叢の部位別比較では各菌群の菌数に有意差はなかった。どの部位でも好気性菌群と嫌気性菌群の総菌数の比は約1対1であった。潰瘍性大腸炎では総菌群, 好気性菌群および嫌気性菌群の各総菌数が大腸癌患者のそれらよりも有意に多かった(表3)。各菌群についてみると, 潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢では *Enterobacteriaceae* および *Bacteroidaceae* の菌数および検出率が高かった。大腸癌患者では潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢でみられなかった *Clostridium* が検出された。

表3 潰瘍性大腸炎患者と大腸癌患者の大腸粘膜菌叢の比較

菌群	潰瘍性大腸炎(n=24)		大腸癌(n=13)	
	菌数(log) Mean±SD	検出率 (%)	菌数(log) Mean±SD	検出率 (%)
<b>好気性菌群</b>	<b>5.34±0.95*</b>	<b>100**</b>	<b>3.90±1.46*</b>	<b>76.9**</b>
<i>Enterobacteriaceae</i>	4.36±0.94	100**	3.57±1.33	76.9**
<i>Streptococcus</i>	4.22±1.88	62.5	3.40±1.38	30.8
<i>Staphylococcus</i>	2.04±0.20	4.1	<2.00	0.0
<i>Corynebacterium</i>	2.61±1.23	25.0	2.11±0.38	7.7
<i>Bacillus</i>	<2.00	0.0	2.05±0.17	7.7
<i>Lactobacillus</i>	2.51±1.01*	33.3**	<2.00*	0.0**
<i>Yeast</i>	2.11±0.28	20.8	<2.00	0.0
<b>嫌気性菌群</b>	<b>5.61±0.82*</b>	<b>100.0</b>	<b>4.70±1.30*</b>	<b>100.0</b>
<i>Bacteroidaceae</i>	5.06±1.32	87.5	4.25±1.28	100.0
<i>Clostridium</i>	<2.00*	0.0**	2.13±0.32*	21.3**
<i>Peptostreptococcus</i>	2.69±1.43	20.8	2.87±1.26	38.5
<i>Eubacterium</i>	4.23±1.54	75.0	4.02±1.67	76.9
<i>Bifidobacterium</i>	3.84±1.42	66.7	3.16±1.51	46.2
<b>総菌群</b>	<b>5.97±0.67*</b>	<b>100</b>	<b>4.98±1.25*</b>	<b>100</b>

\*: 菌数に有意差の認められたもの

\*\* : 検出率に有意差の認められたもの

### D. 考察

潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢は大腸癌患者のそれとは異なることが示唆された。しかしながら, 潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢の好気性菌群菌数と嫌気性菌群菌数の比が同じであることから, 粘膜細菌叢のひとつの特徴であるかもしれない。今後, 潰瘍性大腸炎患者の粘膜細菌叢の解析症例を増やすと共に, さらに菌種レベルの解析, より詳細な分子疫学的手法を用いた解析で腸内細菌と病態との関連性を検討する必要がある。

### E. 参考文献

- 1) 岡村 孝, 千田俊雄, 岡村 登: プロジェクト研究 大腸粘膜上の細菌叢の検討—菌種から— 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(班長・下山 孝) 1997, pp30-33.
- 2) 光岡知足: 腸内菌の世界 冬至書房新社 1984.

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業  
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」班  
分担研究報告書

腸内細菌叢通常化モデルを用いた炎症性腸疾患関連遺伝子スクリーニング  
—その可能性と限界—

分担研究者 佐々木 巖 東北大学大学院 医学系研究科 外科病態学 生体調節外科 教授

研究要旨:炎症性腸疾患の病態は疾患特異的反応と腸内細菌による非特異的反応があるが、我々は腸内細菌叢通常化モデルを確立し、通常化によって著明な形態的变化をきたす上皮細胞の mRNA 発現パターンを differential display (以下 DD) と DNA マイクロアレイ (以下 DMA) で解析した。現在までに 120通りの DD で約 30種類 の分子について塩基配列を決定しその内の三つは未知の遺伝子だった。DMA では無菌マウスと通常化後三日目の大腸、および無菌状態と SPF 状態の大腸で約 8000 種類の遺伝子の発現について比較した。既に報告した REGIII-beta は、通常化後 3 日目に発現が著明に亢進し SPF でも軽度の上昇を示した。こうした遺伝子産物が炎症性腸疾患の病態に関与すると考えられ、病因への直接的アプローチが困難な現状では腸内細菌との相互作用から IBD を捕らえる本法は極めて有用である。

共同研究者

北山 卓, 福島 浩平, 小川 仁, 内藤 広郎,  
舟山 裕士, 柴田 近, 児山 香, 増子 毅,  
高橋 賢一, 佐藤 俊, 上野 達也, 橋本 明彦,  
松野 正紀

所属 東北大学医学部 第一外科

A. 研究目的

炎症性腸疾患の病因については、これまで様々なアプローチで研究がされてきたが、未だに特定には至っていない。炎症性腸疾患では疾患特異的な変化は、個々の症例の遺伝的背景、環境要因、治療経過、病期などによって修飾され、我々が通常目にする病態は疾患に特異的な反応と、腸内細菌の存在によるいわゆる“非特異的”反応が混在した状態と考えられる。ある種のノックアウトマウスや薬剤起因性腸炎モデルでは腸内細菌の存在が炎症の発生に必要である。腸内細菌に対する生体防御機構と、それにより引き起こされる炎症の発生と治癒過程を解明することは、炎症性腸疾患の少なくとも病態の一部を解明することに繋がると考えられる。そこで我々は無菌マウスに SPF マウスの腸内細菌を導入する腸内細菌叢通常化モデルを確立し、腸内細菌叢に対する生体反応を上皮細胞を中心に検討した。

B. 研究方法

通常化によりマウス盲腸の中では導入3日後から大腸で上皮の増殖性変化と粘膜内の細胞浸潤を伴った、炎症性変化が観察される。これは徐々に消退し、約4週間後に

は右下に示した SPF とほぼ同様となり、細菌叢の存在にもかかわらず炎症は消失する(図1)。つまり、この間に腸管の細胞に何らかの変化が生じたものと考えられ、我々は腸内細菌に対する生体防御機構の最前線にあり、形態学的に著明な変化をきたす上皮細胞に注目した。

この変化を同定するため、我々は無菌状態、通常化後および SPF マウスの小腸および大腸の上皮細胞から mRNA を抽出し、その発現パターンの変化を differential display 法と DNA マイクロアレイ法で解析した。differential display は、図2のような電気泳動のパターンを比較して発現遺伝子を同定する方法で、左側が小腸、右側が大腸の上皮細胞からの得られたサンプルで、それぞれのレーンは無菌マウス、通常化後3日目、7日目、14日目、SPF の mRNA 発現状態を示す。発現が亢進している場合には矢印に示したようなバンドが見られ、これをクローニングし塩基配列の決定を行った。

図1 腸内細菌叢通常化に伴う組織像の変化(マウス盲腸)

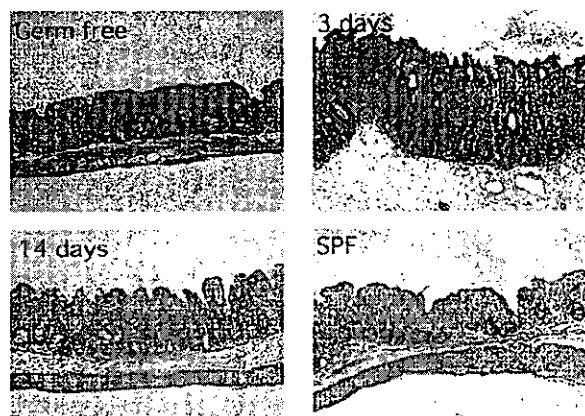
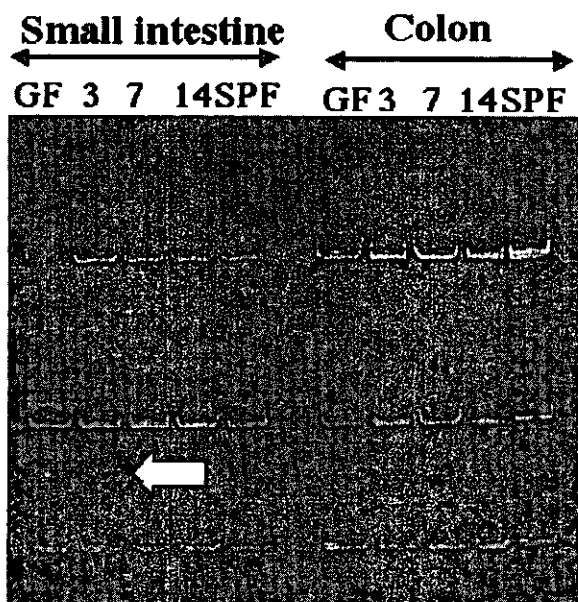


図2 Differential Display による遺伝子スクリーニング



### C. 研究結果

これまで120通りのプライマーの組み合わせでdifferential displayを行い、無菌マウスに比べ通常化により発現が亢進する遺伝子を小腸では6種類、大腸では19種類を単離した。またこの他に小腸特異的または大腸特異的に発現する遺伝子も21種類単離した。これらの分子のうち約30種は塩基配列の同定を終了し、そのうちの3つは未知の遺伝子であった。次に、DNAマイクロアレイを用いて上皮細胞のmRNA発現パターンを検討した。(略・図3) 無菌マウスと通常化後3日目の大腸、(略・

図4) 無菌マウスとSPFの大腸上皮細胞について約8000種類の遺伝子の蛍光強度をプロットしたグラフをしめす。この結果については現在も解析中だが、既に教室の小川らが報告した regeneration gene III-beta は、(略・図3,4) のように通常化後3日目に発現が著明に亢進しSPFでも軽度発現が亢進する傾向が見られた。

### D. 考察

通常化モデルで腸内細菌との相互関係により変化する上皮細胞の遺伝子を mRNA の発現パターン解析から検出した。腸内細菌の導入では組織学的な変化に加え、上皮細胞自体の遺伝子発現にも変化がみられた。このような遺伝子の産物は炎症性腸疾患の病態に関与している可能性も考えられる。例えば、通常化モデルで発現が亢進した遺伝子のヒトホモログが、実際のIBD症例でも発現が亢進している場合には、いわゆる疾患に“非特異的な”反応と考えられ、mucosal inflammation一般を解明する上で重要となる。一方実際の症例で発現低下がみとめられれば、この遺伝子がIBDの病因に関与する可能性も考えられる。こうした遺伝子産物が炎症性腸疾患の病態に関与すると考えられ、病因への直接的アプローチが困難な現状では腸内細菌との相互作用からIBDを捕らえる本法は極めて有用である。

### E. 参考文献

- 1) I.J. Fuss, W. Strober: Animal models of inflammatory bowel disease: insights into the immunopathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Current Opin. Gastroenterol* 1998;14:476-82.
- 2) B.McCormick, J.L. Madara: Epithelial crosstalk with bacteria and immune cells. *Current Opin. Gastroenterol* 1998;14:492-97.

## Yersinia enterocolitica Hsp60 単独投与によるマウス大腸炎の発症

分担研究者 八木田 旭邦 近畿大学 腫瘍免疫等研究所 教授

研究要旨：[目的] 精製 *Yersinia enterocolitica* (Y.e.) Hsp60 単独接種後のマウス大腸の変化と自己反応性を検討する。[方法] 精製 Y.e. Hsp60 蛋白質をマウスに週1回計9回腹腔接種し、大腸の病理像を検討し、大腸局所での自己Hsp60の発現を免疫組織化学的に検討した。大腸に対する血清の自己反応性と、mammalian Hsp60 に対する血清の反応性を ELISA で調べた。[結果] マウス大腸に腺管減少や糜爛や陰窩膿瘍類似所見が観察され、大腸局所での自己Hsp60の発現が亢進していた。大腸に対する血清の自己反応性と、mammalian Hsp60 に対する血清の反応性は無処置マウスに比べて有意に増加していた。[結論] これらの結果は、Y. e. Hsp60 を投与することが、マウスに潰瘍性大腸炎類似の腸炎や自己免疫反応を引き起こすことを示している。

共同研究者

助川 寧, 丸山 正二

所属 近畿大学腫瘍免疫等研究所

### A. 研究目的

*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、Y.e.Hsp60 の精製蛋白質をマウスに接種して、大腸を調べた。

### B. 研究方法

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>4,5)</sup> を用いた。マウスへの抗原投与は、1匹のマウスに対して 3 μg を週1回計9回腹腔接種し、最終接種2日後に大腸を採取した。大腸の一部をソニケートして 10,000g 上清を蛋白量 2 μg/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 100 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。哺乳類の Hsp60 に対する血清の抗体価も、シグマ社の mammalian Hsp60 を 0.2 μg/ml の濃度で ELISA 固層化抗原として同様に測定した。大腸局所での自己 Hsp60 発現は、サンタクルズ社の N-20 を 1次抗原として免疫組織化学的に検討した。

### C. 研究結果

Y.e.Hsp60 接種群大腸に、腺管減少や糜爛や陰窩膿瘍類似所見が見られた。大腸局所での自己 Hsp60 の発現は、上皮細胞の表層や粘膜の血管周辺で亢進しており、病変部位と一致していた。大腸に対する自己血清の反応性は、無処置群 (0.037-0.014) (O.D.values, mean-SD, 以下同)、Y.e.Hsp60 接種群 (0.178-0.049) であった。哺乳類の Hsp60 に対する血清の反応性は、無処置群 (0.005-0.005)、Y.e.Hsp60 接種群 (0.023-0.014) であった。

### D. 考察

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。Y.e. Hsp60 接種によりマウスに潰瘍性大腸炎類似の自己免疫性腸炎を誘導できたと考えられた。

### E. 参考文献

- 1) Yamamoto T., et al: Cloning and nucleotide sequence analysis of immunodominant heat-shock protein of *Yersinia enterocolitica*. Res. Micro. 1993;144:691-701.
- 2) 八木田旭邦ら：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) Yagita A., et al: Mouse colitis induced by *Escherichia coli* producing *Yersinia enterocolitica* 60-kilodalton heat shock protein, light and electron microscope study. Dig Dis Sci 1999;44:445-451.
- 4) Yamaguchi H., 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) Yamaguchi H., et al: Induction of secretion of interleukin-8 from human gastric epithelial cells by heat-shock protein 60 homologue of *Helicobacter pylori*. J Med Microbiol 1999;48:927-933.