

D. 考 察

潰瘍性大腸炎は原因不明の炎症性腸疾患の1つであり、治療に難渋することがしばしばある。内科的治療が第1選択であるが、大出血や穿孔、中毒性巨大結腸症などの緊急例や内科的治療に抵抗する難治例、ステロイドによる重症副作用合併例などには手術が選択される。症例が増加するにともない、手術の安全性も確立され、最近では術後の長期予後も明らかになりつつある。そのような中で、潰瘍性大腸炎術後の回腸嚢炎は大きな問題であり、今後克服すべき課題となっている。

回腸嚢炎の原因として、免疫説や細菌説があげられているが、いまだはっきりとした原因は分かっていない。そのため、治療法も確立していないのが現状である。

当科でも、過去12例(13.5%)に回腸嚢炎を認めた。その治療法を検討すると、初期治療としてメトロニダゾールを投与したものの10例のうち8例(80%)に症状改善を認めた。また、メトロニダゾール無効例には、ステロイドが著効した。以上より潰瘍性大腸炎術後回腸嚢炎の初期治療としてメトロニダゾールの投与は妥当であり、

その無効例にはステロイド投与が考慮されるべきと考えられた。

回腸嚢炎は、いまだ診断基準も確立されていない。今後、診断基準を確立し全国的に解析することで、その原因や確固とした治療法が明らかになることが望まれる。

E. 結 論

潰瘍性大腸炎術後回腸嚢炎の初期治療としてメトロニダゾールの投与は妥当であり、その無効例にはステロイド投与が考慮されるべきと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

第102回日本外科学会総会で発表予定。

G. 知的所有権の取得状況

特に行っていない。

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

回腸 J-pouch と結腸 J-pouch の解剖学的比較検討

分担研究者 吉岡 和彦 関西医科大学 第二外科 講師

研究要旨

目的：潰瘍性大腸炎の患者に対する回腸 J-pouch と直腸癌に対する結腸 J-pouch を解剖学的に比較検討した。対象と方法：潰瘍性大腸炎にて大腸全摘手術および回腸 J-pouch 肛門管吻合術を施行した 12 例（回腸 J 群）と、直腸癌にて低位前方切除術および結腸 J-pouch による再建を行った 12 例（結腸 J 群）、straight 再建を施行した 17 例（結腸 S 群）を対象とした。術前と術後 2ヶ月目（UC では術後 2ヶ月目のみ）に臨床的評価、生理学的検査と defecography による解剖学的検討を行った。結果と結論：Defecography による検討では、直腸(pouch)最大幅は結腸 J 群が結腸 S 群より有意に大きかった。回腸 J 群と結腸 J 群の間には有意差は認めなかった。直腸(pouch)肛門角は 3 群間で有意差は認めなかった。

A. 目的

潰瘍性大腸炎に対する回腸 J-pouch 肛門あるいは肛門管吻合は術後の排便機能の改善のために施行されてきた。一方直腸癌に対する低位前方切除術に際しても結腸による J-pouch を作成して同様に術後排便機能の改善を試みる術式が行われてきた。これらの術後機能の評価は主に臨床的評価あるいは肛門内圧や pouch のコンプライアンスの測定などの生理学的検査によりなされてきた。今回われわれは術後において作成した回腸あるいは結腸の J-pouch が実際に骨盤腔内で解剖学的にどのような形態で機能しているかを比較検討した。

B. 対象と方法

潰瘍性大腸炎にて大腸全摘手術および回腸 J-pouch 肛門管吻合術を施行した 12 例（回腸 J 群）と、直腸癌にて低位前方切除術および結腸 J-pouch による再建を行った 12 例（結腸 J 群）、straight 再建を施行した 17 例（結腸 S 群）を対象とした。術前と術後 2ヶ月目（UC では術後 2ヶ月目のみ）に臨床的評価、生理学的検査と defecography による解剖学的検討を行った。Defecography は造影剤と繊維性物質の混合物を肛門から直腸(pouch)内に注入した後、安静時、肛門括約筋収縮時および排便時に側面からレントゲン撮影を行った。

C. 結果

術後 2ヶ月目（回腸 J 群では covering stoma 閉鎖後 2ヶ月目のみ）の排便回数は回腸 J 群で平均 7 回、結腸 J 群で 5 回、結腸 S 群で 6 回であった。肛門内圧などの生理学的検査では 3 群間に有意差は認めなかった。Defecography による検討では、直腸(pouch)最大幅は結腸 J 群 ($4.9 \pm 1.2\text{cm}$) が結腸 S 群 ($2.3 \pm 1.1\text{cm}$) より有意に ($p < 0.05$) 大きかった。回腸 J 群 ($4.5 \pm 1.5\text{cm}$) と結腸 J 群の間には有意差は認めなかった。直腸(pouch)肛門角は 3 群間

で有意差は認めなかった（回腸 J 群： 97 ± 18 度、結腸 J 群： 94 ± 21 度、結腸 S 群： 96 ± 25 度）。さらに perineal descent, pelvic floor descent 肛門管長においても 3 群間で有意差はなかった。

D. 考察

潰瘍性大腸炎に対する回腸 J-pouch 肛門あるいは肛門管吻合の術後排便機能は臨床的評価と生理学的検査により主に検討されてきた。また解剖学的検討では pouch の大きさと、直腸(pouch)肛門角により評価されてきた^{1,2)}。一方、直腸癌に対する低位前方切除術は術後に排便障害をきたすことが知られており³⁾その対策として結腸 J-pouch が作成されてきた⁴⁾。その術後の解剖学的機能評価にも pouch の大きさと pouch 肛門角が重要な指標とされてきた⁵⁾。

今回の検討では、安静時における回腸 J-pouch と結腸 J-pouch を比較すると解剖学的にはどの指標においても有意差は認めなかった。直腸(pouch)の最大幅は安静時における最大径のみを測定した結果であり、pouch の容量を測定したものではない。長い結腸 J-pouch を作成すると排便障害がおこることが知られており、実際には pouch の長さを 5cm にし、回腸では長さが約 15cm 以上の pouch を作成している。従って実際の容量は回腸 J-pouch の方が大きい結腸においても作成時の pouch の幅が術後も保たれている。

回腸 J-pouch も結腸 J-pouch も骨盤底においては作成されたときの形態を維持し、解剖学的に重要な指標の 1 つである直腸(pouch)肛門角も保たれていると思われる。

E. 文献

1) Barkel DC, Pemberton JH, Pezim ME et al. Scintigraphic assessment of the anorectal angle in Health

- and after ileal pouch-anal anastomosis. *Ann Surg* 1988;208:42-48.
- 2) Oresland T, Fasth S, Nordgren S et al. Pouch size:important functional determinant after restorative proctocolectomy. *Br J Surg* 1990;77:265-269.
 - 3) Suzuki H,Matsumoto K,Amano S et al. Anorectal pressure and rectal compliance after low anterior resection. *Br J Surg* 1980;67:655-657.
 - 4) Yik-Hong H, Tan M, Leong AFPK et al. Ambulatory manometry in patients with colonic J-pouch and straight coloanal anastomoses. *Dis Colon Rectum* 2000;43:793-799.
 - 5) Hida J, Yasutomi M,Fujimoto K et al. Functional outcome after low anterior resection with low anastomosis for rectal cancer using the colonic J-pouch. *DiS Colon Rectum* 1996;39:986-991.

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

クローン病患者の血中特異抗体の検出

分担研究者 福田 能啓 兵庫医科大学 消化器内科 助教授

研究要旨：【目的】クローン病では食事性蛋白抗原が発症ならびに増悪に関与している可能性がある。本研究では、クローン病患者の血中の蛋白抗原に由来する抗体の存在を検索した。【対象】クローン病70例、潰瘍性大腸炎97例、炎症性腸疾患以外のその他の疾患99例、健常対照67例の計333例を対象にした。【方法】血清をマイクロプレート内のウェルに固相化されたアミラーゼと反応させ、ELISA法にて抗ブタ膵アミラーゼ抗体価を測定した。バクテリオファージを用いてランダムペプチドライブラリーを作製し、クローン病患者とその他の疾患患者の血清と反応させ、特異的にクローン病患者で陽性となるペプチドを選別した。このペプチドを用いてELISAによって血清特異的抗体の検出を行った。【結果】血清抗ブタ膵アミラーゼ抗体価は、クローン病 0.29 ± 0.42 、潰瘍性大腸炎 0.097 ± 0.10 、その他の疾患 0.104 ± 0.09 、健常対照 0.11 ± 0.04 であり、クローン病で有意に高値であった。ランダムペプチドライブラリーから選ばれた特異的ペプチドに対する血清抗体は陽性率は、クローン病54.2%、潰瘍性大腸炎0%、健常対照6.3%であった。同一検体で測定したASCA陽性率は、クローン病30.2%、潰瘍性大腸炎10%、健常対照10.4%であった。【結論】食事性抗原に対する炎症反応がクローン病にみられ、潰瘍性大腸炎ではみとめられなかった。これまで行ってきた成分栄養剤による栄養療法が理にかなっていないことも明らかとなり、食事指導の重要性がクローズアップされたといえる。今後は、これらの抗原がクローン病の発症や増悪にどのように関与するかを検討することにより、病因の解明が近づくものと考えられる。

共同研究者
馬場裕子、小坂 正、田村和民、里見匡迪、
下山 孝
所属 兵庫医科大学消化器内科

1. 研究目的

クローン病では経口的に食事を摂取すると炎症が惹起され、小腸や大腸に潰瘍形成がみられる。しかし、動物性脂肪や蛋白の摂取を禁止または制限し、成分栄養剤による栄養療法を行うと病勢のコントロールが可能である。食事性蛋白抗原がクローン病の発症ならびに増悪に関与している可能性がある。欧米ではパン酵母*Saccharomyces cerevisiae*に対する抗体(ASCA)がクローン病患者血中に高頻度に検出されることからクローン病との関連性が追求されている。本研究では、クローン病患者の血中の蛋白抗原に由来する抗体の存在を検索し、病態および消化管の粘膜透過性亢進との関連性を検討した。

患者に本研究の内容を十分説明し、同意を得た後、研究にエントリーした。

2. 研究方法

A:クローン病70例、潰瘍性大腸炎97例、炎症性腸疾患以外のその他の疾患99例、健常対照67例の計333例

の血清を、マイクロプレート内のウェルに固相化されたアミラーゼと反応させ、ELISA法にて抗ブタ膵アミラーゼ抗体価を測定した。

B:バクテリオファージを用いてランダムペプチドライブラリーを作製し、クローン病患者とその他の疾患患者の血清と反応させ、特異的にクローン病患者で陽性となるペプチドを選別した。このペプチドを用いてELISAによって血清特異的抗体の検出を行った。

3. 研究結果及び考察

A:血清抗ブタ膵アミラーゼ抗体価は、クローン病 0.29 ± 0.42 、潰瘍性大腸炎 0.097 ± 0.10 、その他の疾患 0.104 ± 0.09 、健常対照 0.11 ± 0.04 であり、クローン病で有意に高値であった。また、陽性率もクローン病で有意に高率であった。穿孔型と比穿孔型では差はみられなかった。39ヶ月まで経時的に経過観察したところ、高値のまま推移する場合と栄養療法により緩解維持が継続されると低化する場合があった。クローン病の非侵襲的診断法として有用であり、病勢の評価にも役立つと考えられる。

B:ランダムペプチドライブラリーから選ばれた特異的ペプチドに対する血清抗体は陽性率は、クローン病54.2%、潰瘍性大腸炎0%、健常対照6.3%であった。同一検体で測定したASCA陽性率は、クローン病30.2%、潰瘍性大腸炎10%、健常対照10.4%であった。新規に作成したペプチドに対する抗体測定ELISAは、クロー

ン病の非侵襲的診断法として有用である。

4. 結論

食事性抗原に対する炎症反応がクローン病にみられ、潰瘍性大腸炎ではみとめられなかった。これまで行ってきた成分栄養剤による栄養療法が理にかなっていることも明らかとなり、食事指導の重要性がクローズアップされたといえる。今後は、これらの抗原がクローン病の発症や増悪にどのように関与するかを検討することにより、病因の解明が近づくものと考えられる。

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

炎症性腸疾患の患者対照研究

分担研究者 古野 純典 九州大学大学院医学研究院 予防医学 教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎(UC)およびクローン病(CD)の発生要因としての生活環境要因の影響を検討する目的で全国14施設において症例対照研究を実施した。症例群は診断後3年以内の15～34歳のUC患者114例及びCD患者128例で、症例と病院、性、5歳年齢階級を合わせた対照239名を解析の対象とした。虫垂切除がUCに予防的であり、アトピー性皮膚炎既往歴がCDのリスク増加と関連していた。ファースト・フードはUC及びCDの有意なリスク増加と関連しており、ウーロン茶飲用はUCのリスク低下と関連していた。脂肪摂取量はUC及びCDのリスク増加と関連していた。

共同研究者

今井 浩三¹⁾、新津洋司郎²⁾、棟方 昭博³⁾、
樋渡 信夫⁴⁾、高添 正和⁵⁾、亀岡 信悟⁶⁾、
澤田 俊夫⁷⁾、鈴木 康夫⁸⁾、馬場 忠雄⁹⁾、
福川 能啓、里見 匡迪、下山 孝¹⁰⁾、
牧山 和也¹¹⁾、守田 則夫¹²⁾、坪内 博仁¹³⁾、
金城 福則¹⁴⁾、阪本 尚正¹⁵⁾

所属 札幌医科大学 第一内科¹⁾
札幌医科大学 第四内科²⁾
弘前大学医学部 第一内科³⁾
仙台赤十字病院 大腸疾患センター⁴⁾
社会保険中央総合病院 内科⁵⁾
東京女子医科大学 第二外科⁶⁾
群馬県がんセンター⁷⁾
千葉大学医学部 第二内科⁸⁾
滋賀医科大学 第二内科⁹⁾
兵庫医科大学 消化器内科¹⁰⁾
長崎大学医学部 光学医療診療部¹¹⁾
高野病院 大腸肛門センター¹²⁾
宮崎医科大学 第二内科¹³⁾
琉球大学医学部 第一内科¹⁴⁾
兵庫医科大学 衛生学¹⁵⁾

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎(UC)及びクローン病(CD)は、ともに若年・壮年期に発症することが多く、増悪と緩解を繰り返しながら長い経過をたどる慢性疾患である。喫煙とUCとの予防的関連性を除けば、これらの炎症性腸疾患(IBD)の原因はまったく分かっていない。厚生省難治性腸管疾患研究班では、これまでにIBDの発症要因としての生活環境要因についてUC及びCDの症例対照研究を実施した。UCの研究では、西洋型の食事との間に正の関連が認められ、CDの研究では幼少時の居住衛生環境

及びファースト・フードとの関連性を指摘した。しかし、単独の研究の結果を単純に発生要因として結論づけることは困難である。また、これまでの2つの研究では、食物・栄養要因についての検討が不十分であった。

脂肪、食物繊維などについて、IBDとの関連性をより詳細に検討し、過去の2つの症例対照研究の結果が再現されるか否かを検討するため、IBDの患者対照研究を実施した。

B. 研究方法

患者群は、IBD診断後3年以内の15～34歳の患者とした。対照群は、IBD患者1名に対し、性、5歳年齢階級を合わせてIBD患者と同じ病院から選定した。但し、受診理由が、白血病を除くがん、慢性腸疾患、虫垂炎、アレルギー疾患、痔瘻の患者は除外した。全国の14施設(北海道2、東北2、関東4、関西2、九州3、沖縄1)で、UC症例120例、CD症例150例とそれぞれの症例に対応する対照107例と132例の調査がおこなわれたが、選定基準に合わない患者が若干含まれていた。解析にはUC症例114例、CD症例128例と対照239例(UC対照107例とCD対照132例)を用いた。

自記式質問調査票を用いて、5年前の食物・栄養摂取量、幼少期の生活環境、虫垂炎などの既往歴について調査をおこなった。IBDのために起こる食事の変化を考慮して5年前の食事について調査し、90項目の食品・料理の習慣的な摂取頻度にもとづいて栄養素の摂取量を推定した。食物・栄養調査に関しては、難病の疫学班が調査票の開発を担当した。研究参加施設との連絡、調査票の整理及びデータ入力作業は兵庫医科大学衛生学教室の阪本尚正が担当した。

多重ロジスティック解析により性別、年齢階級(5歳階級)及び地域(北海道、東北、関東、東京、近畿及び九州)を補正して調整オッズ比(OR)とその95%信頼区間(CI)を求めた。栄養素摂取量の解析では総カロリー摂取量も補正した。

研究計画と質問調査票は、兵庫医科大学倫理委員会での審査の結果、審査対象外(審査するほどの倫理的問題はない)との判断を受けた。

C. 研究結果

表1に幼少時の生活環境及び既往歴との関連性を示すが、虫垂切除がUCに予防的であり、アトピー性皮膚炎既往歴がCDのリスク増加と関連していた。水洗トイレの有無はUC、CDのいずれとも関連を示さなかった。

表2と表3に嗜好飲料及びファースト・フードとUC及びCDとの関連をそれぞれ示す。緑茶は統計的に有意ではないが、UC及びCDの軽度のリスク低下と関連しており、ファースト・フードはUC及びCDの有意なリスク増加と関連していた。ウーロン茶の飲用はUCのリスク低下と関連していたが、CDとの関連は見られなかった。ファーストフードの摂取は7つの食品項目(ハンバーガー、フライドチキン、ピザ、ドーナツ、インスタントラーメン、市販の弁当、ポテトチップス・スナック菓子)の摂取頻度の合計である。

表1 生活環境・既往歴の調整オッズ比

要因	UC	CD
小学生時	1.12	0.95
水洗トイレ	(0.66-1.91)	(0.58-1.56)
食物関連の下痢・湿疹	0.55	1.10
	(0.21-1.43)	(0.52-2.33)
扁桃腺腫大	0.84	1.01
	(0.48-1.48)	(0.61-1.96)
虫垂切除	0.29	0.84
	(0.08-1.03)	(0.36-1.94)
アトピー性皮膚炎	1.06	2.13
	(0.51-2.20)	(1.14-3.97)
喘息の既往	0.64	0.96
	(0.29-1.37)	(0.52-1.80)

() 内は95%信頼区間

なお、喫煙はUCとのみ予防的な関連を示した。非喫煙者に対する以前喫煙者及び現在喫煙者のUCの調整オッズ比は0.63 (95%CI 0.24-1.64) 及び0.36 (0.19-0.69) であり、CDの調整オッズ比はそれぞれ1.08 (95%CI 0.45-2.61) 及び0.80 (0.47-1.35) であった。

表2 お茶及びファーストフードとUC

要因	調整オッズ比
緑茶 (杯/週)	
0	1.00
1-6	0.85 (0.46-1.56)
7+	0.79 (0.42-1.51)
ウーロン茶 (杯/週)	
0	1.00
1-3	0.61 (0.34-1.09)
4+	0.49 (0.26-0.93)
ファースト・フード (回/週)	
0-3	1.00
4-6	1.53 (0.82-2.86)
7+	1.87 (1.04-3.36)

() 内は95%信頼区間

表3 お茶及びファーストフードとCD

要因	調整オッズ比
緑茶	
0	1.00
1-6	1.23 (0.71-2.13)
7+ 杯/週	0.77 (0.42-1.41)
ウーロン茶	
0	1.00
1-3	1.09 (0.62-1.93)
4+ 杯/週	0.94 (0.50-1.77)
ファースト・フード	
0-3	1.00
4-6	0.78 (0.42-1.46)
7+ 回/週	1.89 (1.12-3.20)

() 内は95%信頼区間

表4 栄養素摂取量 (1日あたり) とUC及びCDの調整オッズ比

栄養素	UC	CD
総カロリー (100kcal)	1.02 (0.99-1.06)	1.01 (0.98-1.04)
蛋白質 (10g)	1.24* (1.00-1.54)	1.17 (0.97-1.41)
脂肪 (10g)	1.19* (1.00-1.42)	1.21* (1.04-1.41)
炭水化物 (10g)	0.98 (0.92-1.05)	0.95 (0.90-1.01)
食物繊維 (g)	1.01 (0.95-1.07)	0.97 (0.91-1.04)
カルシウム (100mg)	1.11 (0.98-1.26)	0.97 (0.86-1.09)
ビタミンD (10mg)	1.00 (0.99-1.01)	1.01 (1.00-1.02)

* p<0.05 () 内は95%信頼区間

栄養素摂取量との関連では(表4)、対照群に比較してUC及びCD患者で脂肪摂取量が有意に多かった。蛋白質摂取もUCリスクの高まりと有意に関連していた。

D. 考察

疫学研究では、統計学的偶然によって思わぬ結果が得られる場合が多い。従って、単独の研究結果にもとづく性急な結論は控えなければならない。先の症例対照研究ではファースト・フードの摂取がCDリスクの高まりと関連していたが、今回の研究でも同様の結果が得られた。ファースト・フードのIBD発症と関連していることが強く疑われる。以前のUCの症例対照研究ではファースト・フードについての調査はおこなわれていない。

喫煙及び虫垂切除がUCに予防的であることは、先のUCの症例対照でも観察されており、また、世界の多くの患者対照研究でも指摘されていることである。従来から指摘されていることが同じ結果であることは、今回の調査結果の信憑性を高めるものである。

ウーロン茶との関連は本研究ではじめて検討されたが、UCとの予防的関連は予想外であり、今後の研究が必要である。

E. 結 論

潰瘍性大腸炎(UC)およびクローン病(CD)の発症要因としての生活環境要因の影響を検討する目的で多施設患者対照研究をおこない、ファースト・フードがUC及びCDのリスク増加と関連していることを観察した。また、脂肪摂取もUC及びCDと正の関連を示した。新たな知見としてウーロン茶がUCに予防的であることが観察された。

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

炎症性腸疾患に関する情報提供の問題点

分担研究者 高添 正和 社会保険中央総合病院 内科 部長

研究要旨:炎症性腸疾患患者・家族へのより効果的な情報提供の方法を模索するため、各地の保健所・患者会主催の医療講演会や市民公開講座において得られた質問内容を解析した。【結果】難病情報センターのインターネットを介しての情報の遣り取りが同センターからの偏方向性で患者側からの質問をリアルタイムで受けるシステムが存在しておらず、双方向性の情報の遣り取りが必要であることが明らかになった。その解決手段として、既に難病情報センターとネットでリンクし、ボランティア活動を行っている Japanese Forum for Crohn's & Colitis patients:JFCC (炎症性腸疾患 QOL 研究会)「=各地保健所に患者向けの情報誌を提供している」による双方向性の情報提供の確立が望まれる。【結論】患者・家族に向けて情報提供をより活性化するためには保健所を介してボランティア活動に取り組んでいる Japanese Forum for Crohn's & Colitis patients の NPO 財団化に対して、民活を促進する意味からも研究班として研究内容や治療指針・診断基準に関する情報支援を行っても良い時期に来ているものと思われる。

共同研究者

福島 恒男¹⁾、福田 能啓、下山 孝²⁾、
屋代 庫人³⁾、武藤徹一郎⁴⁾

所属 横浜市民病院 外科¹⁾
兵庫医科大学 消化器内科²⁾
JR 東京病院 成人科³⁾
癌研究会付属病院 外科⁴⁾

【目的】:炎症性腸疾患に関する情報提供のあり方を探る。

【対象と方法】:平成13年度に各地の患者会、栄養士会、保健所主催医療講演会、各地難病連絡協議会において患者、家族及び現場の保健婦から寄せられた質問などから問題点を整理してみた。情報源は全国稀少難病連、東京都難病連を含む総計92団体で、参加者は総計2973人であった。

【結果】:

《情報提供の現況》:既に行われている情報提供は下記を通じて行われている。

- 1 難病情報センターよりの発信
- 2 JFCC(Japanese Forum for Crohn's & Colitis patients) 発行の IBD ニュース
- 3 各地の保健所での医療講演会
- 4 各患者会主催の医療講演会
- 5 医師・栄養士・看護婦などの執筆の啓蒙書
- 6 医薬品会社の販売促進に用いる患者向けパンフレット

ト・ホームページ

- 7 各患者会の会誌、患者自らが発行している商業用情報誌

《情報提供の問題点》

- 1 難病情報センターのホームページ、患者向け情報誌の IBD ニュースなどは、情報の流れが双方向性ではなく、患者個々の問題点の解決には不十分である。
- 2 医療講演会(患者会や保健所・難病団体の主催の)では情報の流れは双方向性であるが、対象が参加者に限られており、さらには医療講演会の開催に関する情報伝達にも限りがある。
- 3 啓蒙書やパンフレット、患者会誌、情報誌では、情報の流れは双方向性ではなく、さらには入手に問題がある。

《問題点の解析》

- 1 情報の方向性と、その質が問題である。
- 2 患者・家族の医療講演会での質問内容は殆どが難病情報センターでの FQA(Frequent Question & Answer) の内容で対応しえるものであった。現実にはアクセス件数は多いものの、同じ人が幾度もアクセスし、真に情報を求めている患者・家族が効果的にアクセスしていないようであるし、さらにはインターネットによる情報提供だけでは不十分であることが明らかになった。
- 3 患者・家族は、最新の治療情報と実際的な公的支援の内容の開示を求めている。
- 4 各患者が治療を受けている医療機関での基本的な説明が必ずしも研究班の治療指針と整合性があるとは限らないことが明らかになった。これは、臨床で患者治療に関わっている医療者に本研究班の業績内容を広く提

供する手段を講じる必要があるものと思われた。

- 5 患者同士の情報交換において、特に患者会誌などでは、学会発表内容や医学雑誌の内容の一部のみを切り貼りするような場合がみられ、錯綜・混乱が生じる場合が存在している。

《問題点解決のための対処》

- 1 各医療機関での患者・家族への説明の基になる研究班作成の治療指針や患者取り扱い指針などを医療機関の療養担当者に向けて、情報提供を徹底する必要がある。

例：療養担当者向けのパンフレットや学会誌での流布するのも一手である。

- 2 確実に患者・家族に情報が行き渡るためには、特定疾患の医療受給者証交付の窓口である保健所に向けての情報提供の充実が必要である。既にIBDニュース(JFCC発行の情報誌)は保健所の窓口でコピーが患者に手渡されている。しかし、保健所では炎症性腸疾患患者のみを扱っている訳ではなく、炎症性腸疾患患者への特段のアプローチについては、他の疾患との行政サービスの公平性からみて無理かもしれない。

- 3 情報の質に関しては、あくまでも研究班の研究成果を基にする。

- 4 双方向性の情報提供のためには、新たに、その機能をも付した公正かつ半公的な、炎症性腸疾患に関する団体の活動が望ましい。炎症性腸疾患患者の多い米国ではCCFA(Crohn's & Colitis Foundation of America)

が患者・家族のみならず医療関係者・研究者を交えた団体を結成し、講演会を頻回に行い、患者・家族そして医療者向けの情報誌を発行し、さらには医療関係者のための教育用スライドの作成配布している。さらには、研究推進のために研究者に研究奨励金を援助し、新薬開発のための治験情報を流し治験者の募集や、遺伝子解析研究への協力を呼びかけたりし、真に患者の益になる活動を行っている。本邦でも、「潰瘍性大腸炎およびクローン病など炎症性腸疾患の研究推進と、同患者の救恤を念慮し、患者・家族、一般社会に情報提供を図り、もって炎症性腸疾患患者の療養生活の改善と康寧の向上を期す」を設立理念とする団体の設立が望まれる。そのためには各地の保健所にIBDニュースを配信しているボランティア団体であるJFCCの活動を活性化するのも一手であり、実際、患者・家族を中心に、それを支えるボランティアの医師、看護婦、栄養士、ソーシャルワーカー、そして多くの一般社会の人々を交えたNPOによる炎症性腸疾患協会の設立に向けて活動が開始されつつある。

参考文献：

高添正和，福島恒男，下山孝：炎症性腸疾患患者への情報提供のネットワーク構築について
「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究班」平成12年度研究報告書 p84～85

潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢の研究

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（以下UC）の発症に腸内細菌が関与している可能性が報告されている。今回、大腸粘膜叢の優勢菌の一つである大腸菌に着目し、UC患者粘膜から分離した大腸菌、対照として大腸癌患者正常粘膜部位由来大腸菌、健常者糞便由来大腸菌を用い、既知病原因子の遺伝子検索を行い比較検討した。[方法] 病原遺伝子の検索は24種の病原遺伝子について、プライマープールを作り、PCR法を行った。[結果] 下痢原性大腸菌の付着関連遺伝子 *eaеA*, *bfpA*, *aggR*, M線毛をコードする遺伝子 *bmaE* は検出されなかった。それ以外の20種類の病原遺伝子は検出された。これらの病原遺伝子の検出率をUCあるいは大腸癌由来株と糞便由来株とで比較すると、付着に関与する遺伝子 *pap*, *nfaE*, 侵入に関与する遺伝子 PAI, *fyuA*, *iutA*, *kpsMT k1*, *cvaC*, *traT*, 細胞破壊に関与する遺伝子 *hlyA* の9種類が、糞便由来株よりも粘膜由来株で有意に高かった。さらに PAI, *fyuA*, *iutA* の3種類の遺伝子が、大腸癌由来株よりもUC由来株で有意に高く検出された。[考察] PAI, *fyuA* および *iutA* の遺伝子がUCの発症や増悪に関与しているかどうかはわからなが、粘膜での増殖・生存に有利な遺伝子であると考えられた。また *pap*, *nfaE*, *kpsMT k1*, *traT* も粘膜と関連性があるかもしれないと考えられた。これらの遺伝子と大腸上皮細胞・組織に対する作用や影響については今後検討していく必要がある。一方、UCの発症に下痢原性大腸菌の付着関連遺伝子の関与は低いと考えられた。

共同研究者

千田 俊雄, 馬場 千恵美¹⁾, 岡村 孝²⁾,
 福井 信, 松村 徹也, 下山 孝³⁾
 所属 東京医科歯科大学医学部 保健衛生学科¹⁾,
 東京都立大塚病院 外科²⁾,
 兵庫医科大学 消化器内科³⁾

表1 使用したプライマー

Primer pool	Gene	Primer sequence	Size of product(bp)	Amplifying condition
1	<i>pap</i>	<i>pap1</i> (5'-GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG-3')	328	95°C 12min 94°C 30sec 63°C 30sec 68°C 3min 30cycles 72°C 10min
		<i>pap2</i> (3'-ATAACGTAGGGACGCTCTTTCCTATA-5')		
	<i>sfa</i>	<i>sfa1</i> (5'-CTCCGGAGAACCTGGGTGCATCTTAC-3')	410	
		<i>sfa2</i> (3'-ACGGTCCAAACATTAATGAGGAGGC-5')		
	<i>afa</i>	<i>afa1</i> (5'-GCTGGGCAGCAAACTGATAACTCTC-3')	750	
		<i>afa2</i> (3'-GCCGCCTGCTGTGTTCGGAACCTAC-5')		
<i>fimH</i>	<i>FimHf</i> (5'-TGCAGAACGGATAAAGCCGTGG-3')	608		
	<i>FimHr</i> (3'-ATGGCCTCCCGTCCACTGACG-6')			
2	<i>eaеA</i>	<i>eaek1</i> (5'-GCTTAGTGTGGTMTAGGAT-3')	488	94°C 5min 94°C 30sec 50°C 1min 72°C 1.5min
		<i>eaek4</i> (3'-CGTAGAGACTTGCCTG-6')		
	<i>bfpA</i>	<i>bfp</i> (5'-GAAGTAATGAGCGCAACGTC-3')	233	
		<i>bfpas</i> (3'-CCAACCTATTTCCGCGTACA-5')		
3	<i>aggR</i>	<i>aggRks</i> (5'-GTATACACAAAAGAAGGAGC-3')	253	
		<i>aggRkas2</i> (3'-CGACTACGACTGCTAAGACA-5')		
4	PAI	<i>RPAirf</i> (5'-GGACATCTCTTACAGCGCGCA-3')	925	
		<i>RPAir</i> (3'-CAAGCCGACACTAACCCCGCT-5')		
		<i>ibe1D</i>		
<i>ibe10f</i>	<i>ibe10f</i> (5'-AGGCAGGTGTGGCCGCGGTAC-3')	171		
	<i>ibe10r</i> (3'-CGTACCAAAACGCTCTGTGT-5')			
5	<i>fyuA</i>	<i>FyuAf</i> (5'-TGATTAACCCCGCAGCGGAA-3')	787	95°C 12min 94°C 30sec 63°C 30sec 68°C 3min 30cycles 72°C 10min
		<i>FyuAr</i> (3'-ATGTTGTAGCACGGATGACGC-5')		
	<i>bmaE</i>	<i>bmaEf</i> (5'-ATGGCGCTAACTGCCATGCTG-3')	507	
		<i>bmaEr</i> (3'-CTTCCCOCGATATACAGGGGA-5')		
<i>iutA</i>	<i>AerJf</i> (5'-GGCTGGACATCATGGGAACCTGG-3')	302		
	<i>AerJr</i> (3'-GCTAAGATGGGCAAGGGCTC-5')			
6	<i>hlyA</i>	<i>hlyf</i> (5'-AACAAAGGATAAGCACTGTCTGGCT-3')	1177	
		<i>hlyr</i> (3'-ACCATATAAGCGGTCAATCCCGTCA-5')		
7	<i>rfc</i>	<i>rfc-f</i> (5'-ATCCATCAGGAGGGGACTGGA-3')	788	
		<i>rfc-r</i> (3'-GAGCGTAACCAACCATACCAA-5')		
	<i>nfaE</i>	<i>nfaE-f</i> (5'-GCTTACTGATCTCTGGGATGGA-3')	659	
		<i>nfaE-r</i> (3'-ACCGTATACTGAGCCGGTGGC-5')		
	<i>kpsMT II</i>	<i>kps II f</i> (5'-GCGCATTTGCTGATACTGTTG-3')	272	
		<i>kps II r</i> (3'-ACGAGTACGAATAGCAGACTAC-5')		
<i>kpsMT III</i>	<i>kps III f</i> (5'-TCCTCTGTACTACTAITCCCGCT-3')	392		
	<i>kps III r</i> (3'-CAATCTCCCTACCTATGGCGGA-5')			
<i>kpsMTk1</i>	<i>k1-f</i> (5'-TAGCAAAACGTTCTATTGTGG-3')	153		
	<i>kps II r</i> (3'-ACGAGTACGAATAGCAGACTAC-5')			
8	<i>kpsMTk1</i>	<i>k5-f</i> (5'-CAGTATCAGCAATGGTCTGTGA-3')	159	72°C 10min
		<i>kps II r</i> (3'-ACGAGTACGAATAGCAGACTAC-5')		
	<i>cnfI</i>	<i>cnf1</i> (5'-AAGATGGAGTTTCTATGAGGAG-3')	498	
		<i>cnf2</i> (3'-TTATTACTCCGTCCTGAGACTTAC-5')		
<i>focG</i>	<i>FocGf</i> (5'-CAGCACAGGCACTGGATACGA-3')	360		
	<i>FocGr</i> (3'-TCGTTACCCGTCCTGTTAAG-5')			
9	<i>gaID</i>	<i>gaID-f</i> (5'-TGTGTGACCGTCTCAGGGCTC-3')	952	95°C 12min 94°C 30sec 59°C 30sec 68°C 3min 30cycles 72°C 10min
		<i>gaID-r</i> (3'-TCATTGTCTGCTAAGGCCCTC-5')		
	<i>cvaC</i>	<i>Colv-Cf</i> (5'-CACACACAAACGGGAGCTGTT-3')	680	
		<i>Colv-Cr</i> (3'-TACCTTGATACGAGCCCTTC-5')		
<i>traT</i>	<i>TraTf</i> (5'-GGTGTGGTGGATGAGCACAG-3')	290		
	<i>TraTr</i> (3'-GAGTCCCTACCGACTTGGCAC-5')			

A. 研究目的

大腸粘膜細菌叢について検討を行ってきた結果、最優勢菌は嫌気性ではバクテロイデス、通性嫌気性では腸内細菌科、なかでも *Escherichia coli* (以下大腸菌) であった^{1), 2)}。UCは大腸の非特異性潰瘍性炎症で、原因は特定されていない。しかし潰瘍部分に細菌が侵入していることが報告されており、大腸菌をはじめとして様々な病原菌の提示がなされている。今回、UC患者の大腸粘膜より分離された大腸菌について既知病原因子の遺伝子検索を行った。

B. 研究方法

UC患者大腸粘膜から分離された大腸菌63株(22検体, 7症例)、大腸癌患者の正常粘膜部位から分離された大腸菌84株(34検体, 21症例)、健常者糞便から分離された大腸菌39株(39検体, 37症例)を使用した^{1), 2)}。病原因子の遺伝子検索は表1に示した遺伝子24種について、プライマープールを作り、PCR法で検索した。普通寒天培地上の純培養菌を蒸留水100μlに懸濁後、100

℃, 10分加熱し, その1 μ l (*eaeA*, *bfpA*, *aggR*の遺伝子検索においては4.8 μ l) をテンプレートとした. PCR反応液の組成は, $\times 0.1(\times 1)$ PCR 緩衝液, 0.8mM (0.15mM) dNTP Mixture, 4mM (1mM) MgCl₂, プライマー各0.6 μ M (0.1 μ M), TaqDNA polymerase 1単位で, 全量を25 μ l (50 μ l) とした. 表1に示した条件で遺伝子の増幅を行った³⁾. 増幅DNAは, アガロースゲル電気泳動後, EtBr染色を行い, UV照射下で目的のバンドを確認した. 検索した24種類の遺伝子の病原特性は, ヒトの下痢起因菌である腸管病原性大腸菌 (EPEC), 腸管凝集性大腸菌 (EAggEC), 毒素原性大腸菌 (ETEC) が保有する付着関連遺伝子の *eaeA*, *bfpA*, *aggR*⁴⁾, 尿路感染症に関与する大腸菌が保有する付着因子であるP線毛, S線毛, AFA線毛, type1線毛をコードしている遺伝子, *pap*, *sfa*, *afa*, *fimH*⁵⁾ およびその他の病原遺伝子因子の病原特性を表2に示す⁶⁾.

表2 病原因子とその病原特性

遺伝子	病原特性
<i>bmaE</i>	M血液型抗原特異的M線毛
<i>nfaE</i>	線毛以外の付着因子
<i>focG</i>	F1C線毛 (シアル酸特異的)
<i>gafD</i>	グルコサミン特異的G線毛
<i>hlyA</i>	α -ヘモリジン (溶血素)
<i>cnf1</i>	細胞壊死因子
<i>kpsMTII</i>	グループII莢膜形成
<i>kpsMTIII</i>	グループIII莢膜形成
<i>kpsMTk1</i>	K1莢膜形成
<i>kpsMTk5</i>	K5莢膜形成
<i>rfc</i>	O4 LPS生合成
<i>fyuA</i>	エルシニアバクチン
<i>iutA</i>	エロバクチン
PAI	PAIマーカー
<i>ibe10</i>	脳細胞血管内皮侵入
<i>cvaC</i>	Colicin V
<i>traT</i>	外膜蛋白

C. 研究結果

UC患者粘膜由来大腸菌菌株, 大腸癌患者正常粘膜部位由来大腸菌菌株, 健常者糞便由来大腸菌菌株のそれぞれにおいて遺伝子が検出された検体数を表3-1および表3-2示す. 表中のa~sの文字は, 同じ文字をつけた数値間で有意差を認めた. 下痢原性大腸菌の付着に関与する遺伝子 *eaeA*, *bfpA*, *aggR* およびM線毛をコードする遺伝子 *bmaE* は全く検出されなかった. それ以外の20種

類の病原遺伝子は検出率に差はあるものの, 検出された. これらの病原遺伝子の検出率をUCあるいは大腸癌由来株と糞便由来株とで比較すると, 付着に関与する遺伝子 *pap*, *nfaE*, 侵入に関与する遺伝子 PAI, *fyuA*, *iutA*, *kpsMT k1*, *cvaC*, *traT*, および細胞破壊に関与する遺伝子 *hlyA* の9種類で有意差が認められ, 糞便由来株よりも粘膜由来株で有意に高かった. またPAI, *fyuA*, *iutA* の3種類の遺伝子が, 大腸癌由来株よりもUC由来株で有意に高く検出された. 各遺伝子の検出率を粘膜の部位別に比較した場合, *pap* と *hlyA* の2種類の遺伝子で有意差が認められた. *pap* 遺伝子の検出率は大腸癌由来株では上行結腸側に高く, UC由来株では逆に直腸, S状結腸, 下行結腸, 横行結腸, 上行結腸の順に高かった. *hlyA* 遺伝子の検出率は, 横行結腸においてUC由来株よりも大腸癌由来株で有意に高かった. 付着に関与する遺伝子 *fimH*, *sfa*, *afa*, *focG*, *gafD*, 侵入に関与する遺伝子 *ibe10*, *rfe*, *kpsMT II*, *kpsMT III*, *kpsMT k5*, および細胞破壊に関与する遺伝子 *cnf1* の11種類では検出率に有意差が認められなかった. この中で *fimH*, *kpsMT II* 遺伝子は高頻度で検出された.

D. 考察

UCとの関連が疑われる細菌として大腸菌に着目し, UC患者粘膜, 大腸癌患者正常粘膜, 健常者糞便から分離した大腸菌についてPCR法により既知病原遺伝子の検索を行った. その結果, PAI, *fyuA*, *iutA* の3種類の遺伝子が大腸癌由来株よりもUC由来株で有意に高く, しかも高頻度で検出された [PAI (95%), *fyuA* (100%), *iutA* (86%)]. この3種類の遺伝子がUCの発症や増悪に関与しているかどうかはわからない. 特に, *fyuA* 遺伝子, *iutA* 遺伝子が糞便由来株よりも粘膜由来株から多く検出されたことから, 粘膜で増殖・生存するために有利な遺伝子であると考えられた. *fyuA* 遺伝子はエルシニアバクチン, *iutA* 遺伝子はエロバクチンであり, とともに細菌が生体内で増殖する際のエネルギー代謝に必須な鉄を取り込むためのタンパクである. これらの遺伝子と大腸上皮細胞・組織に対する作用や影響については今後検討していく必要がある. 一方, 下痢原性大腸菌の付着に関与する遺伝子 *eaeA*, *bfpA*, *aggR* は総ての菌株で検出されなかった. 一般に成人健常者糞便での下痢原性大腸菌の遺伝子の検出率は1~2%と報告されている⁷⁾. UC患者では一般に下痢症状が見られるため, UCの発症に下痢原性大腸菌の付着関連遺伝子が関与するかもしれないと注目したが, これらの遺伝子とUCの関連性は低いと考えられた. またM血液型抗原に特異的に付着するM線毛をコードする *bmaE* 遺伝子も, 総ての菌株で検出さ

表3-1 遺伝子が検出された検体の頻度

由来	検体数	遺伝子が検出された検体数												
		<i>pap</i>	<i>sfa</i>	<i>afa</i>	<i>fimH</i>	<i>eaeA</i>	<i>bfpA</i>	<i>aggR</i>	PAI	<i>ibe10</i>	<i>fyuA</i>	<i>bmaE</i>	<i>iutA</i>	<i>hlyA</i>
大腸癌患者大腸粘膜 (正常部)	34	20 ^a	14	3	32	0	0	0	25 ^a	14	26 ^a	0	17 ^{a,j}	11 ⁱ
上行結腸	9	9 ^c	7	0	9	0	0	0	9	6	7	0	7	2
横行結腸	5	3	2	0	5	0	0	0	4	4	5	0	1	4 ^a
S状結腸	8	3	3	2	8	0	0	0	4	2	6	0	3	1
直腸	12	5 ^d	2	1	10	0	0	0	8	2	8	0	6	4
潰瘍性大腸炎患者大腸粘膜	22	15 ^b	7	0	22	0	0	0	21 ^{e,f}	7	22 ^{g,h}	0	19 ^{i,k}	5 ⁿ
上行結腸	3	1 ^c	1	0	3	0	0	0	3	1	3	0	3	1
横行結腸	5	2	1	0	5	0	0	0	5	3	5	0	3	0 ^a
下行結腸	5	4	1	0	5	0	0	0	4	1	5	0	5	1
S状結腸	5	3	1	0	5	0	0	0	5	2	5	0	4	1
直腸	4	4 ^d	2	0	4	0	0	0	4	0	4	0	4	2
健常者糞便	39	13 ^{a,b}	8	3	38	0	0	0	22 ^f	12	26 ^h	0	9 ^{j,k}	2 ^{l,n}

表 3-2 遺伝子が検出された検体の頻度

由来	検体数	遺伝子が検出された検体数										
		<i>rfc</i>	<i>nfaE</i>	<i>kpsMTII</i>	<i>kpsMTIII</i>	<i>kpsMTk1</i>	<i>kpsMTk5</i>	<i>cnf1</i>	<i>focG</i>	<i>gafD</i>	<i>cvaC</i>	<i>traT</i>
大腸癌患者大腸粘膜 (正常部)	34	3	22 ^o	28	4	24 ^p	9	10	6	0	4 ^a	31 ^r
上行結腸	9	2	7	7	3	7	3	4	1	0	2	9
横行結腸	5	0	5	5	0	5	0	2	0	0	0	5
S状結腸	8	1	2	5	1	2	3	2	2	0	1	6
直腸	12	0	8	11	0	10	3	2	3	0	1	11
潰瘍性大腸炎患者大腸粘膜	22	0	11	21	1	13	10	7	4	1	0	22 ^s
上行結腸	3	0	1	3	0	1	1	1	0	0	0	3
横行結腸	5	0	3	5	0	4	2	0	1	0	0	5
下行結腸	5	0	1	4	0	2	2	2	1	0	0	5
S状結腸	5	0	4	5	0	4	2	2	1	1	0	5
直腸	4	0	2	4	1	2	3	2	1	0	0	4
健常者糞便	39	13	11 ^o	32	0	15 ^p	9	4	5	0	0 ^a	23 ^{r,s}

れなかった。この遺伝子を持つ大腸菌もUCとの関連性は低いと考えられた。また、糞便由来株よりも粘膜由来株で検出率が有意に高かった9種類の遺伝子のうち、特に粘膜で高頻度に検出されたのは、*pap*, *nfaE*, PAI, *fyuA*, *iutA*, *kpsMTk1*, *traT*の7種類であった。*pap*は尿路感染症で付着に関与する遺伝子である。*pap*遺伝子を持つ大腸菌の検出率が糞便由来株よりも粘膜由来株で有意に高かった理由として、*pap*遺伝子は大腸粘膜に付着するためにも必要なのではないかと推測し、*pap*遺伝子保有大腸菌と腸管由来組織培養細胞との付着性を調べたが関連性は認められなかった(未発表)。これらの遺伝子が大腸粘膜とどのような関連性を持つのかは、今後検討する必要がある。また*pap*遺伝子は部位別で検出率を比較した場合にも有意差を認めた。その理由ははっきりわからないが、部位別の検体数が少ないことによるバラツキも考えられるので、さらに検体数を増やして検討する必要がある。*hlyA*遺伝子でも部位別の比較で有意差が認められたが、同様のことが考えられた。

E. 文 献

1) 岡村 孝, 千田俊雄, 岡村 登. 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調査研究班平成8年度研究報告書1996:30-33.
- 2) 岡村 登, 千田俊雄, 馬場千恵美, 岡村 孝, 松村徹也, 下山 孝. 潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜細菌叢の研究. 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 平成12年度研究報告書2001:108-111.
- 3) Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J infect Dis* 2000;181:261-72.
- 4) Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998;11: 142-201.
- 5) Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:80-128.
- 6) Johnson JR, Delavari P, Kuskowski M, Stell AL. Phylogenetic distruction of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 2001;183: 78-88.
- 7) 伊藤健一郎, 他. 健常者から分離された大腸菌の血清型及び病原因子保有状況. *感染症学雑誌* 2000;74:210.

炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎）は食事を主とした生活習慣病と考えられる

協力研究者 千葉 満郎 秋田大学第一内科 助教授

研究要旨：腸炎には腸内細菌の存在が必須である。ほぼ共通の文化、食習慣をもつわが国はIBD環境因子解析に好都合である。クローン病、潰瘍性大腸炎の受給者増加数および受給者増加率には強い相関がみられ、発症に共通の因子の存在が示唆された。両疾患はともにわが国の動物性蛋白、動物性脂肪摂取量と正に相関し、植物性蛋白質、食物繊維と負に相関した。すなわちこれまでのわが国での研究は、両疾患共に西洋食品が危険因子であり、和食的なものが予防因子である。両疾患は糞便細菌叢において偏性嫌気性菌の減少、好気性菌の増加、*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* の減少が示されている。これらの異常腸内細菌叢は高肉食によって引き起こされることが知られており、腸内細菌の粘膜内侵入を容易なものとする。すなわちIBDは10, 20代の片寄った食事による異常腸内細菌叢によって惹起される生活習慣病として捉えられる。

共同研究者

千葉 満郎¹⁾, 守田 則一²⁾, 中村 彰³⁾,
辻 啓介⁴⁾, 原島 恵美子⁵⁾

所属 秋田大学 一内¹⁾,
大腸肛門病センター高野病院²⁾,
秋田大学 医科学情報³⁾,
姫路工業大学 生活環境学⁴⁾,
実践女子大学 栄養指導研究室⁵⁾

Staphylococcus, *Strptococcus* などの好気性菌を含む多様な細菌が検出された。すなわち、特定の細菌ではなく、様々な細菌がIBD発症に関与するものと思われた。³⁾ 疾患の原因を追究する場合、環境因子と遺伝因子がより均一である場合に多様な背景因子の影響を排除することが可能である。かつその疾患が増加していると、関与する発症因子が明瞭化しやすい。わが国はIBDが増加しており、ほぼ均一の文化、食習慣があり、長寿に象徴されるように医療水準が高く、長期にわたる国民栄養調査、特定疾患登録制などがありIBD環境因子分析に好都合である。

従来の報告された根拠を統合すると「IBDは食事を主とする若年者の生活習慣病である」と考えられる。⁴⁾ 本研究では、わが国の疫学より1) クローン病と潰瘍性大腸炎の発症に相関がみられるか、2) 国民栄養摂取量とIBD発症の年次推移より、どの栄養成分がIBD発症に関与するかを明かにすることを目的とした。結果はIBDが生活習慣病であることをさらに補強すると思われた。しかし日本での結果が日本だけにあてはまるのでは普遍化されない。世界の報告と比較し検証しIBDがなぜ生活習慣病と考えられるかを考察する。

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎が最初に報告されてから、既に1世紀が過ぎ、クローン病では70年が過ぎようとしている。両疾患は異なる疾患であるが、共通点も多く、inflammatory bowel disease (IBD) と呼ばれている。IBD発症には3つの因子が関与していると考えられている。すなわち①何らかの病原体に対し、②素因(遺伝因子)を持っている人が、③異常な免疫反応を介して発症する。IBDの急激な増加は日本以外でもみられる。急激な症例増加に見合う急激な遺伝子変化は考えられず、その増加は環境因子の変化によるものと考えられている。

これまで、特定の微生物がIBD発症に関与しているとの想定に多くの微生物が検討されたがすべて否定されている。¹⁾ 腸炎における環境因子の大きなコンセンサスは、腸内細菌の存在である。免疫異常を起こすトランスジェニックマウスが、腸炎を起こしてくるか否かは、腸内細菌の有無にかかっている。即ち、腸炎には腸内細菌の存在が必須である。²⁾ 私共は、IBDにおいて最初に微生物が侵入すると思われる腸管リンパ濾胞より、分子生物学的に細菌の検討を行った。その結果、未確認の細菌、

B. 研究方法

厚生省によって潰瘍性大腸炎およびクローン病が特定疾患に指定され受給者登録が開始されたのはそれぞれ1975(昭和50)年、1976(昭和51)年である。受給者登録は実際の症例数の約80%を反映していると見積もられている。⁵⁾ 年毎の受給者増加例を本研究では便宜的に新症例とした。1965年以降受給者登録開始までのIBD新症例数は厚生省難治性炎症性腸管障害に関する調査研究班の全国病院調査によるものを使用した。^{6,7)}

国民の栄養摂取量は国民栄養調査による。食物繊維摂取量は既報のように計測した。⁸⁾

1976年より1999年までのクローン病と潰瘍性大腸炎における受給者数、新症例数、新症例増加率の相関を検討した。1965年より1998年までの栄養摂取量とIBD新症例数の相関を検討した。

統計解析はSAS/INSIGHT, SAS/STAT(SAS Institute Japan Inc)で行った。

本研究はすでに公表されている調査からのものであり個人の人権を侵害する倫理面への問題はない。

C. 研究結果

クローン病と潰瘍性大腸炎においては受給者登録数のみならず新症例増加数や新症例増加率においても両者に強い相関がみられた(図1)。1965年以降、わが国の食事の3大栄養素の摂取内容は大きく変化した。蛋白はわずかの増加であるが、脂肪が大幅に増加した(表1)、とりわけ動物性脂肪および動物性蛋白(肉類)の増加である。一方穀類を主とする炭水化物は大幅に減少した。食物繊維には変化がなかった。

図1 クローン病と潰瘍性大腸炎の相関(1976-1999年)

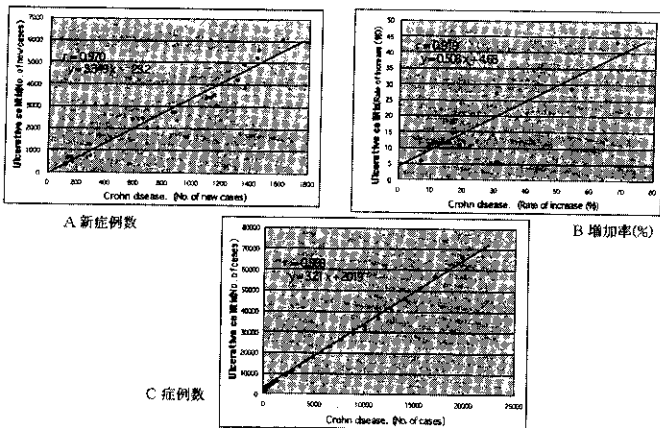


表1 わが国におけるクローン病、潰瘍性大腸炎発症例数と国民栄養摂取量

	1965	1970	1975	1980	1985	1990	1995	1998	1999
Number of Incidence of IBD									
Crohn's disease	3	12	82	122	656	894	1308	1451	1145
Ulcerative colitis	79	256	965	432	2490	2387	4264	5601	3553
Nutrient Intake per capita/day									
Protein (g)	71.3	77.6	81	78.7	79	78.7	81.5	79.2	
Fat (g)	36	46.5	52	52.4	56.9	56.9	59.9	57.9	
Carbohydrate (g)	384	368	357	313	298	287	280	271	
Energy (kcal)	2184	2210	2188	2084	2088	2026	2042	1979	
Fat/energy (%)	14.8	18.9	21.4	22.6	24.5	25.3	26.4	26.3	
Animal fat (g)	14.3	20.9	26.9	26.9	27.6	27.5	29.8	29.2	
Animal protein (g)	28.5	34.2	38.9	39.2	40.1	41	43.9	42.8	
Sucrose (g)	17.9	19.7	14.6	12	11.2	9.6	8.7	9.5	
Total dietary fiber (g)	15.7	16.3	16.5	15.7	15.8	15.2	15.9	15.8	

表2 国民栄養摂取量とIBD発症例数の相関(1965-98)

	クローン病		潰瘍性大腸炎	
	Coefficient of correlation	p value	Coefficient of correlation	p value
Protein	0.264		0.289	
Fat	0.711	**	0.693	**
Carbohydrate	-0.848	**	-0.827	**
Energy	-0.872	**	-0.847	**
Fat/energy (%)	0.811	**	0.790	**
Animal fat	0.585	**	0.592	**
Animal protein	0.696	**	0.693	**
Plant protein	-0.852	**	-0.822	**
Sucrose	-0.794	**	-0.759	**
Total dietary fiber	-0.673	**	-0.576	**

**p<0.01

クローン病、潰瘍性大腸炎発症例数はともに動物性蛋白、脂肪、動物性脂肪摂取量と正に相関し、エネルギー、炭水化物、植物性蛋白質、食物繊維、砂糖摂取量と負に相関した(表2)。蛋白は両疾患ともに強い相関はみられなかった。

D. 考察

本研究では、クローン病と潰瘍性大腸炎において新症例増加数や新症例増加率において両者に強い相関がみられた。これは世界12カ国のクローン病と潰瘍性大腸炎の罹患率が相関することを示した Sonnenberg⁹⁾の成績とともに、両疾患の発症に共通の因子の存在を示唆する重要な根拠となる。

Shodaらは1965年より1985までのわが国のクローン病発症例数と脂肪、動物性脂肪、動物性蛋白質、牛乳蛋白摂取量が正に相関したことを報告した。¹⁰⁾著者らは期間を1998年まで延長し、またクローン病のみならず、潰瘍性大腸炎についても検討を加えた。著者らの成績は、クローン病で検討したShodaらの報告と一致した。かつ潰瘍性大腸炎においてもクローン病と同様の成績が得られた。すなわち潰瘍性大腸炎新症例数は動物性蛋白、脂肪、動物性脂肪摂取量と正に相関し、エネルギー、炭水化物、植物性蛋白質、食物繊維、砂糖摂取量と負に相関した。外国での生態学研究は少なく、貴重な成績と思われる。¹¹⁾

本研究ではクローン病と潰瘍性大腸炎の発症に共通の因子の存在が示唆され、さらに生態学研究では、食事摂取が同様に相関していることが示され、「IBDは食事を主とした生活習慣病である」可能性を更に補強した。

IBDがなぜ生活習慣病と考えられるかを考察する。実際の症例で発症前にどのような食品の摂取傾向にあるかを、同じ年代の同じ性の対照と比較検討する症例対照研究は、国民を対象とした生態学研究以上に重要である。守田らは、年代、性のほか地域をも一致させた健康人の pooled control を用い37種の日本人の一般的な食品につき検討した。有意の危険因子、予防因子をオッズ比とともに表3に示した。^{12,13)}クローン病と潰瘍性大腸炎に共通の因子が多く、牛肉、チーズ、バターなどの西洋食品が危険因子で、白菜、漬物、山菜、日本茶など和食的なものが予防因子である。お菓子は両疾患に危険因子である。なおこの調査では、菓子は西洋菓子と日本菓子を区別していない。理論的には腸内細菌叢に悪影響を与えないと思われるヨーグルトがこの研究では両疾患に危険因子とされた。IBDには小さいときからお腹をこわしやすいという人が多く、ヨーグルト摂取を奨められるため、危険因子にリストされたのではないと思われる。日本でのクローン病、潰瘍性大腸炎の症例対照研究はこのほかにもう1つずつ報告されている。クローン病では砂糖摂取量が多いとするものである。¹⁴⁾潰瘍性大腸炎で検討した Konoらの報告は、守田らの報告と同様、西洋食が危険因子で特にマーガリンをあげている。¹⁵⁾IBDで砂糖摂取量の多いことは外国でも報告されている。¹⁶⁻¹⁸⁾外国の症例対照研究ではクローン病、潰瘍性大腸炎ともに脂肪摂取量に差はないとする報告が多い。^{16,17,19)}またIBDの危険因子としてファーストフード、チョコレート、コーラなどを指摘する報告がある。^{20,21)}

糞便腸内細菌叢は、偏性嫌気性菌が好気性菌の100~1,000倍で圧倒的に多く偏性嫌気性菌優位の状態が潜在的病原性菌の粘膜内侵入を防止すると考えられている。^{22,23)}好気性菌は潜在的に病原性を示す菌が多い。クロー

ン病、潰瘍性大腸炎の活動期の糞便細菌叢の変化は国内では2つのグループによって報告されている。²⁴⁻²⁶ 辨野らの報告は未治療例と明記している。²⁶ 両疾患において *Bacteroidaceae* をはじめとする偏性嫌気性菌の減少がみられ、一方好気性菌は増加している。²⁴⁻²⁶ 善玉菌とされる *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* は、両疾患で減少することが国内外で一貫している。²⁴⁻³⁰ すなわち、IBDの腸内細菌叢は異常細菌叢である。

高牛肉食、西洋食では善玉菌の *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* が減少することが国内外より報告され、日本食はこれらを増加することが報告されている。^{31, 32} 表3で予防因子であるお茶も *Bifidobacterium* を増加することが最近報告されている。³³

表3 食事の症例・対照研究

	クローン病 (n=130)		潰瘍性大腸炎 (n=105)	
	食品	オッズ比	食品	オッズ比
危険因子 (摂取過多)	牛肉*	6.4	チーズ*	6.1
	菓子*	6.3	ヨーグルト*	5
	脂っこい食品	6.2	牛肉*	3.6
	トマト	3.5	菓子*	2.7
	チーズ*	2.8		
	バター	2.8		
	ヨーグルト*	2.6		
	天然果汁	1.8		
予防因子 (摂取不足)	白菜	0.1	みかん*	0.2
	みかん*	0.2	他の果物	0.2
	漬物*	0.3	漬物*	0.2
	山菜* (食べない)	1.9	干魚 (食べない)	2.5
	日本茶* (飲まない)	3.6	山菜* (食べない)	2.2
			レバー (食べない)	1.8
			日本茶* (飲まない)	13.6

*クローン病と潰瘍性大腸炎に共通

守田則一ほか (12, 13)

Whelan は、人口10万人に対しクローン病発症3人以上を高頻度国、1人未満を低頻度国、その中間を中頻度国とした。³⁴ 1990年時点では、北ヨーロッパ、アメリカが高頻度国であり、日本は低頻度国である。その後1990年以降を対象として報告された9カ国はすべてが高頻度国であり、1990年以前に中または低頻度国であった3カ国は高頻度国に推移している。^{35, 36} 日本は急増したといっても、1991年を対象とした守田らのデータでは低頻度国(0.51)であり、現在は1.0前後が予想され低～中頻度国の境界ぐらいと思われる。³⁷ 潰瘍性大腸炎では5人以上を高頻度国、3人未満を低頻度国、その中間を中頻度国としているが、³⁴ 潰瘍性大腸炎もクローン病と同様、世界で増加しており日本は急増したといっても、1991年を対象とした守田らのデータでは低頻度国(1.95)である。³⁷

世界の疫学ではIBD罹患率は最初に都市次いで地方で、³⁸ 人種では、白人次いで黒人の順で上昇することが知られている。³⁹ Shivananda らはヨーロッパ20都市のクローン病罹患率とGNPは相関することを示した。³⁵ すなわち「生活が豊かになるとIBDは増加する」と解釈される。前述の疫学の動向もこの原則によるものと思われる。

豊になると脂肪および砂糖摂取量が増加し炭水化物が少なくなることが世界の食事傾向である。^{40, 41} 日本でも同様である。日本の一昨年の国民栄養調査では、脂質エ

ネルギー比率が適切とされる25%を上回っている。ただし家庭での砂糖摂取量はわが国では減少傾向である。

以上のことを総括的に考えると脂肪、肉類、砂糖、菓子などの摂取過多および野菜、果物、食物繊維の摂取不足による、西洋食を主とした片寄った食事は *Bifidobacterium* をはじめとする偏性嫌気性菌の減少をまねき、腸内細菌の粘膜内侵入を容易にする。粘膜内侵入があると当然免疫反応が生じ炎症を起こしIBDが発症すると考えられる。すなわちIBDは食事を主とした若年者の生活習慣病と考えられる。

もしそうであるなら *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* の菌投与がIBDに有効なはずである。潰瘍性大腸炎で大腸摘出後、回腸嚢にpouchitisが起こる。緩解したpouchitisにこれらの菌のプロバイオテック(善玉菌の直接経口投与)投与により、糞便 *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* の増加がみられ、緩解維持に有効であったことが二重盲検法で示されている。⁴²

男女共働き、外食産業の発達、下宿の消失、多様な時間帯などで、家庭でのバランスのとれた食習慣が保ちにくい傾向にある。一般に言われている好き嫌いのないバランスのとれた食習慣がIBD発症への予防と思われる。一旦発症した炎症は、従来からのステロイドホルモン、メサラジン(ペンタサ)、サラゾスルファピリジン(サラゾピリン)、成分栄養などによるIBD緩解導入が必要である。同時に食事は西洋食より日本食への転換が望まれる。

今後の課題はIBD生活習慣病説が国内外の検討により確立されること、食事という共通因子のもとにクローン病と潰瘍性大腸炎という異なった疾患を呈する機構の解明、食事によるIBD病態制御の検討、プロバイオテックやプレバイオテック(善玉菌が増加する経口物質)の治療効果、再燃防止作用の検討などである。

E. 結論

高脂肪・動物性蛋白食(西洋食)を主とした片寄った食事は *Bifidobacterium* をはじめとする偏性嫌気性菌の減少をまねき異常腸内細菌叢を形成し、腸内細菌の粘膜内侵入を容易にし、IBDが発症すると考えられる。すなわちIBDは食事を主とした若年者の生活習慣病と考えられる。

F. 参考文献

- 1) Sartor RB. Enteric microflora in IBD: pathogens or commensals? *Inflam Bowel Dis* 1997; 3: 230-5.
- 2) Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Zhou M, Fernandez-Sueiro JL, et al. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Exp Med* 1994; 180: 2359-64.
- 3) Chiba M, Kono M, Hoshina S, Komatsu M, Kitagawa Y, Iizuka M, et al. Presence of bacterial 16S ribosomal RNA gene segments in human intestinal lymph follicles. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 824-831.
- 4) 千葉満郎, 守田則一: IBDは生活習慣病か? *日消誌* 2001; 98 suppl: A425.
- 5) Nakamura Y, Kobayashi M, Nagai M, Iwata H, Nose T, Yamamoto M, et al. A case-control study of ulcerative colitis in Japan. *J Clin Gastroenterol* 1994; 18: 72-9.
- 6) 笹川 力, 木村 明. アンケート方式によるクロー

- ン病全国疫学調査とその問題点. 厚生省特定疾患 難治性炎症性腸管障害調査研究班 昭和62年度業績集 1988; 97-101.
- 7) 宇都宮利善, 勝又貴夫, 中山隆盛, 篠原 央, 北洞哲治, 横田 嘩. 潰瘍性大腸炎の疫学. 外科 1992; 54: 13-20.
 - 8) Tsuji K, Harashima E, Nakagawa Y, Urata G, Shirataka M. Time-lag effect of dietary fiber and fat intake ratio on Japanese colon cancer mortality. *Biomed Environ Sci* 1996; 9: 223-8.
 - 9) Sonnenberg A. Geographic variation in the incidence of and mortality from inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum* 1986; 29: 854-61.
 - 10) Shoda R, Matsueda K, Yamato S, Umeda N. Epidemiological analysis of Crohn disease in Japan: increased dietary intake of n-6 polyunsaturated fatty acids and animal protein relates to the increased incidence of Crohn disease in Japan. *Am J Clin Nutr* 1996; 63:741-5.
 - 11) Sonnenberg A. Geographic and temporal variations of sugar and margarine consumption in relation to Crohn's disease. *Digestion* 1998; 41: 161-71.
 - 12) 守田則一, 蓑田智憲, 宗清正紀, 渡辺能行, 武藤徹一郎, 横山徹爾ほか. 潰瘍性大腸炎の症例°対照研究—Pooled control を用いて—. 厚生省特定疾患 難病の疫学調査研究班 平成7年度研究業績集 1996; 153-8.
 - 13) 守田則一, 大中 治, 安藤静一郎, 渡辺能行, 高添正和, 高木幸一ほか. クロウン病の症例°対照研究: Pooled control を用いて. 厚生省特定疾患に関する疫学研究班 平成8年度研究業績集 1997; 58-64.
 - 14) Matsui T, Iida M, Fujishima M, Imai K, Yao T. Increased sugar consumption in Japanese patients with Crohn's disease. *Gastroenterol Jpn* 1990; 25: 271.
 - 15) Kono S, Sasagawa T, Morita N, Munakata A, Watanabe H, Shimoyama T, et al. Dietary and other risk factors of ulcerative colitis. A case-control study in Japan. *J Clin Gastroenterol* 1994; 19: 166-71.
 - 16) Thornton JR, Emmett PM, Heaton KW. Diet and Crohn's disease: characteristics of the pre-illness diet. *Br Med J* 1979; 2: 762-4.
 - 17) Tragnone A, Valpiani D, Miglio F, Elmi G, Bazzochi G, Pipitone E, et al. Dietary habits as risk factors for inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: 47-51.
 - 18) Riordan AM, Ruxton CH, Hunter JO. A review of associations between Crohn's disease and consumption of sugars. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 229-38.
 - 19) Thornton JR, Emmett PM, Heaton KW. Diet and ulcerative colitis. *Br Med J* 1980; 280: 293-4.
 - 20) Persson PG, Ahlbom A, Hellers G. Diet and inflammatory bowel disease: a case-control study. *Epidemiology* 1992; 3: 47-52.
 - 21) Russel MG, Engels LG, Muris JW, Limonard CB, Volovics A, Brummer RJ, et al. Modern life in the epidemiology of inflammatory bowel disease: a case-control study with special emphasis on nutritional factors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10: 243-9.
 - 22) Finegold SM, Sutter VL, Mathisen GE. Normal indigenous intestinal flora. In *Human intestinal microflora in health and disease*. Hentges DJ ed. Academic Press 1983; 3-31.
 - 23) Wells CL, Maddaus MA, Jechorek RP, Simmons RL. Role of intestinal anaerobic bacteria in colonization resistance. *Eur J Clin Microbial Infect Dis* 1988; 7: 107-13.
 - 24) Hori S, Shimoyama T. Bacterial groups of the intestinal microflora in inflammatory bowel disease in Japan. In *Inflammatory bowel disease*. Shiratori T, Nakano H ed. University Tokyo Press, Tokyo 1984: 23-33.
 - 25) 山村 誠. 潰瘍性大腸炎患者の糞便細菌叢に関する研究. 日消誌 1987; 84: 2669-80.
 - 26) 辨野義己, 光岡知足. 炎症性腸疾患における腸内フローラ. 総合臨牀 1989; 38: 2169-78.
 - 27) Gorbach SL, Nahas L, Plaut AG, Weinstein L, Patterson JF, Levitan R. Studies of intestinal microflora. *Gastroenterology* 1968; 54: 575-87.
 - 28) Giaffer MH, Holdsworth CD, Duerden BI. The assessment of faecal flora in patients with inflammatory bowel disease by a simplified bacteriologic technique. *J Med Microbiol* 1991; 35: 239-43.
 - 29) Fabia R, Ar'Rajab, Johansson ML, Andersson R, Willen R, Jeppsson B, et al. Impairment of bacterial flora in human ulcerative colitis and experimental colitis in the rat. *Digestion* 1993; 54: 248-55.
 - 30) Favier C, Neut C, Mizon C, Cortot A, Colombel JF, Mizon J. Fecal β -D-galactosidase production and Bifidobacteria are decreased in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 817-22.
 - 31) 辨野義己, 光岡知足. 発癌因子としての腸内フローラ—ヒトの腸内フローラに及ぼす食餌成分の影響. 「腸内フローラと成人病」光岡知足編 学会出版センター 1985: 29-63.
 - 32) Hentges DJ, Maier BR, Burton GC, Flynn MA, Tsutakawa RK. Effect of a high-beef diet on the fecal bacterial flora of humans. *Cancer Res* 1977; 37: 568-71.
 - 33) 飯田美世, 松井輝明, 山崎英俊, 佐藤秀樹, 高砂憲一, 新橋一彦ほか. 茶葉ポリフェノールの高齢者成人病に及ぼす影響. 日高齢消医学会誌 2000; 2: 159-164.
 - 34) Whelan G. Inflammatory bowel disease: epidemiology. In *Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE, eds. Bockus Gastroenterology. volume 2, 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995: 1318-25.*
 - 35) Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, et al: Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there difference between north and south? Results of the European collaborative study on inflammatory bowel disease (EC-IBD). *Gut* 1996; 39: 690-697.
 - 36) Farrokhyar F, Swarbrick ET, Irvine EJ. A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2001; 36: 2-15.
 - 37) Morita N, Toki S, Hirohashi T, Minoda T, Ogawa K, Kono S, et al. Incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Japan: nationwide epidemiological survey during the year 1991. *J Gastroenterol* 1995; 30 (Suppl VIII): 1-4.
 - 38) Mayberry JF, Rhodes J. Epidemiological aspects of

- Crohn's disease: a review of the literature. *Gut* 1984; 25: 886-99.
- 39) Calkins BM, Lilienfeld AM, Garland CF, Mendeloff AI. Trends in incidence rates of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1984; 29: 913-20.
- 40) 上島弘嗣. 健康長寿をめざした食生活指導のポイント. *日医誌* 2001; 125: RS 133-4.
- 41) Popkin BM. The nutrition transition in low-income countries: an emerging crisis. *Nutr Rev* 1994; 52: 285-98.
- 42) Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000; 119: 305-9.

分子生物学的手法によるヒト大腸内細菌叢の構造解析に関する調査研究

協力研究者 辨野 義己 理研 微生物機能解析室 室長

研究要旨:大腸内細菌叢の検索には培養法が使われてきたが,全細菌叢の約30%が把握されているにすぎず,難培養性の大腸内細菌(叢)の実態が解明されていないのが現状である.本研究において,健常人3名の糞便を材料にして,16S rDNAダイレクトシーケンス法により,大腸内細菌叢の多様性解析を行った.次いで,Terminal-RFLP法によってヒトの大腸内細菌叢の検索を試みた.

A. 研究目的

分子生物学的手法によるヒト大腸内細菌叢の構造解析の一環として,健常人の糞便中より細菌DNAを抽出し,16S rDNAダイレクトシーケンス法により,その多様性解析を行い,また,Terminal-RFLP法によってヒトの大腸内細菌叢の検索を試みた.

B. 研究方法

Wilson and Blichington(1996)の方法に従って,健常人3名(25~53歳,男性)の新鮮排泄便よりDNAを取り出し,16SrDNAダイレクトシーケンス法により分子系統樹による多様性解析を行った.同時にLiuら(1997)の方法によりRFLP法による多様性解析とDNAシーケンサーによる自動解析を組み合わせたTerminal RFLP法により,ヒトの大腸内細菌叢解析の自動化・迅速化を試みた.

C. 研究結果および考察

健常人3名の糞便より744クローンを取り出し,抽出

クローンの25%は98%のホモロジー率を示す31既知菌種であり,残り75%は99の新規名クラスター(難培養性)に属していた.16SrDNAクローンライブラリー構築により,これらが*Clostridium* rRNAクラスターIV, IX, XIVaおよびXVIII, *Bacteroides*クラスター, *Bifidobacterium*クラスターおよび*Streptococcus*クラスターに属することが明らかとなった.さらに,T-RFLP法による大腸内細菌叢の構造解析の結果,得られたデータの解析法を確立することによって,迅速・自動化が可能であることも認められた.このように培養法では解しえなかった難培養性大腸内細菌の多様性解析は炎症性腸管障害の原因解明に重要な役割を演じるかもしれない.

D. 結論

培養法で得られた成績をもとにして,分子生物学的手法によるヒト大腸内細菌叢の多様性解析を試みた.糞便よりのDDNA抽出,再現性等を解決するならば,ヒト大腸内細菌解析に用いることができると思われた.

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

Pouchitis 症例の糞便中細菌叢の検討 (第二報)

分担研究者 藤井 久男 奈良県立医科大学 中央内視鏡部 助教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎(UC)術後の回腸囊炎(Pouchitis)には腸内細菌叢の異常，特に好気性菌の Pouchitisへの関与が示唆されたという前年度の結果を確認するとともに，可能な限り糞便中の優位な細菌種を同定し，Pouchitisと関連のある腸内細菌を調べた。対象：前年度の4例を含む計9例の回腸囊を保有するUC手術症例を対象とした。方法：対象者の新鮮な糞便中の細菌を培養同定し，症状や同日の内視鏡検査所見との関連を調べた。結果：有症状または中等度以上の内視鏡所見で診断される Pouchitis と anaerobes/aerobes 比は相関した。症状は *Bifidobacterium*，中等度以上の内視鏡所見は *Bacteroides vulgatus*，有症状または中等度以上の内視鏡所見は *E. coli* および *B. vulgatus* と関連がみられた。結論：Pouchitisがある患者の糞便中細菌叢は Pouchitisがない患者に比べ，有意に *E. coli* を主とする好気性菌が増加し，*Bacteroides vulgatus*，*Bifidobacterium* の減少がみられた。

共同研究者

石川 博文，小山 文一，向川 智英，
土井 新也，島谷 英彦，中島 祥介¹⁾，
岡村 登，千田 俊雄²⁾

所属 奈良県立医科大学 第一外科¹⁾，
東京医科歯科大学医学部 保健衛生学科²⁾

表1 回腸囊の内視鏡的評価基準

Grade 1	健常
Grade 2	顆粒状粘膜、軽度の発赤
Grade 3	小潰瘍、易出血、膿性粘液
Grade 4	びまん性発赤、自然出血、広範囲または多発性潰瘍

A. 研究目的

前年度(第一報)に引き続き回腸囊を保有するUC手術症例の糞便中細菌叢を調べ，Pouchitisにおける腸内細菌叢の関与を調べた。本年度は前年度の結果を確認するとともに，可能な限り糞便中の優位な細菌種を同定し，関与する腸内細菌の絞り込みを計った。

B. 研究方法

前年度の4例を含む計9例の回腸囊を保有するUC手術症例を対象とした。症例の内訳は，男性2例，女性7例，平均年齢は50.8歳で，術後(回腸囊が機能してから)中央値4年9ヶ月経過している。手術術式は回腸囊肛門管吻合術(IACA)7例，回腸囊肛門吻合術(IAA)1例，回腸囊直腸吻合術(IPRA)1例である。

方法は，自然排便直後に糞便を採取し，輸送培地に入れて4°Cに保った状態で東京医科歯科大学に送り，検体採取後24時間以内に分離培地に移して培養同定した。培養方法，菌群の同定および菌数の算定方法は光岡の方法¹⁾に従った。また，検体採取と同日に内視鏡検査を行い，Pouchitisの有無を調べた。回腸囊の内視鏡的評価は表1に示す Grading で行った。糞便中細菌叢の菌数と症状，内視鏡Gradeの関連についての検討にはMann-WhitneyのU検定，Kruskal-Wallis検定を用い，有意水準を5%とした。

C. 研究結果

表2に各症例の糞便中細菌叢の菌数および糞便中の嫌気性菌群と好気性菌群の総菌数の比(Ratio(anaero/aero))の内訳を示す。表3に症例の内訳と症状からみた Pouchitisの有無，内視鏡Grade，およびRatio(anaero/aero)を示す。症例8は，メトロニダゾール無効の難治性 Pouchitisとして糞便中細菌叢を調べたが，大腿骨頭壊死手術を受けた際の絶食・セフェム系抗生剤投与を契機に Pouchitisが治癒した。しかし，糞便中細菌叢の再検査時には Pouchitisが再燃していた(症例8)。Pouchitis症状がある症例，内視鏡Gradeが高い症例はRatio(anaero/aero)が小さい，すなわち糞便中に好気性菌が多い傾向がみられた。また，表4に分離された菌種を菌数の多い順に並べて示す。症例により優位な菌種は様々であった。表5に症状および内視鏡Gradeと，Ratio(anaero/aero)および代表的な菌種である *E. coli*，*Lactobacillus*，*Bacteroides vulgatus*，*Bifidobacterium*の菌数との関連を検定した結果を示す。症例9は抗生剤投与中であつたのでこの検討から除外した。他の症例では検体採取前1ヶ月以内に抗生剤・抗菌剤の使用はない。Pouchitis症状のある症例では有意に *E. coli* が多く，*Bifidobacterium* が少なくなつており，内視鏡Gradeが高いものは *Bacteroides vulgatus* 菌数が少なかった。また，症状または内視鏡Gradeで診断さ