

膜下出血を認め、7日目においては潰瘍形成と炎症細胞浸潤を認めた。

一方、 $I\kappa B\alpha$ 遺伝子導入群では、1日目に上皮の脱落を認めるものの軽度にとどまり、粘膜下出血は認めなかった。また7日目においては、炎症細胞浸潤は認められるもののその程度は無治療群に比べて軽度で、潰瘍形成は認められなかった。 $I\kappa B\alpha$ 遺伝子導入により TNBS 腸炎が軽症化されることが示された。この効果は、TNBS 誘発前日遺伝子導入群よりも、7日前導入群においてより顕著であった。

体重変化をみると、1週前に AdCA- $I\kappa B\alpha$ を注腸投与した群では、腸炎導入後2日目から体重増加を示し、無治療群が体重減少し続けたのと対照的であった。

D. 考察

$NF\kappa B$ は、通常、細胞質内で抑制物質 $I\kappa B\alpha$ と結合し、不活化の状態で存在している。細胞外からの刺激により、 $I\kappa B\alpha$ 分解酵素が活性化され、 $I\kappa B\alpha$ をリン酸化、続いてユビキチン化の後、 $NF\kappa B$ が活性化となる。活性化された $NF\kappa B$ は核内に入り、核酸の κB site に結合し、炎症性サイトカインが合成される。そこで、 $I\kappa B\alpha$ を遺伝子導入することにより、 $NF\kappa B$ を不活化し、腸炎の発症を抑制し得る可能性が示唆される。

遺伝子導入には、染色体に組み込まれず、一過性発現

が得られるアデノウイルスベクターを用いたが、注腸投与により、結腸上皮に特異的な遺伝子発現が得られ、有効かつ安全な投与方法であると考えられた。

TNBS 腸炎は、エタノールの急性腸粘膜障害と、TNBS を接触抗原とする慢性腸炎モデルである。組織学的には慢性の全層性肉芽腫性炎症で、下痢、脱肛、体重減少を示す。Th1 型のサイトカイン反応を示し、ヒト Crohn 病に類似する。AdCA- $I\kappa B\alpha$ を注腸投与した群では、TNBS 腸炎の組織学的程度が軽度になり、対照群と比較して有意な体重増加を認めた。以上から、 $I\kappa B\alpha$ 遺伝子導入することで TNBS 腸炎発症予防効果が認められた。ヒト IBD においても $NF\kappa B$ が中心的な役割を果たしており、 $I\kappa B\alpha$ を遺伝子導入することでその炎症を制限する可能性が示唆された。

E. 結論

アデノウイルスベクターの注腸投与は腸管を目的臓器とした場合に有用な投与経路であり、この方法を用いた $I\kappa B\alpha$ 遺伝子導入はラット TNBS 腸炎を軽症化できる。

F. 参考文献

- 1) Schreiber S, Nikolaus S, Hampe J Activation of nuclear factor κB in inflammatory bowel disease. *Gut* 1998;42:477-484

潰瘍性大腸炎長期経過例へのサーベイランスシステムの確立 狙撃生検を中心としたサーベイランスによる 早期発見の可能性に関する研究

分担研究者 松本 蒼之 大阪市立大学消化器器官制御内科 助教授

研究要旨：研究目的 潰瘍性大腸炎では、患者数、長期経過例の増加に伴い、炎症性発癌の増加が問題となっている。本研究では、潰瘍性大腸炎からの発癌をより早期に効果的に発見するサーベイランスシステムの確立をめざし、狙撃生検を主体とした多施設の研究を行なった。その結果 2004 年 2 月現在 302 例が集積され、184 例が解析された。

共同研究者

工藤進英	昭和大学横浜北部病院	教授
春間 賢	川崎医科大学	教授
名川弘一	東京大学大学院	教授
渡邊聡明	東京大学大学院	助教授
五十嵐正広	北里大学	講師
味岡洋一	新潟大学大学院	助教授

A. 研究方法

上記の目的でプロジェクトメンバーが協議し、多施設の共同研究のプロトコルを策定し、それに従って、内視鏡下の精密観察・写真撮影ならびに組織採取を行った。事務局で整理の後、病理プロジェクトグループ（リーダー：味岡洋一）において、H-E 染色・p53 や Ki67 の特殊染色を施し、dysplasia について病理学的検討を行った。

（倫理面への配慮）

参加者からのインフォームドコンセントを得るため、統一様式の説明文書と同意書を作成した。個人情報に配慮し、本研究への参加が自由意志で行われ、参加しなくても不利益を得ないことを明記した。

B. 研究結果

平成 15 年 3 月 1 日～平成 16 年 2 月 20 日現在までの結果で、313 例（うち 41 例は従来のステップバイオブシー法併用）の症例登録があった。そのうち 184 例（809

生検）については、病理プロジェクトグループで検討が終了した。

- 1) 1 症例あたり平均 4.5 個の生検が行われた。
- 2) 癌・high grade dysplasia（研究班の判定基準で UC-IV）が 4 例（7 病変）であった。
- 3) 腫瘍性変化（UC-III）は 23 例（28 病変）であった、そのうち Low grade dysplasia と判定されたのは 4 例（うち 1 例は UC-IV と共通例）であり、19 例は sporadic adenoma と判断された。
- 4) 腫瘍性変化が疑われる UC-IIb は 7 例（9 病変）であった。
- 5) Dysplasia と判定された部位は、全例内視鏡的に異常所見が認められた部位であった。
Dysplasia の内視鏡的特徴としては、平坦隆起・乳頭状隆起・平坦隆起が大部分であったが、一部（2 例）で平坦発赤粘膜があった。

C. 考察

潰瘍性大腸炎で発症後長期経過（10 年以上）した症例で、特に全大腸炎型では、腸炎を背景とした発癌のリスクが高くなることが知られている。腸炎を背景とする癌は、多発したり粘膜の深いところから発生するため、早期診断が容易でないといわれている。このような癌の発見を目指して、これまで高リスク群に、一定期間で全大腸の内視鏡検査と組織検査（内視鏡的異常の有無にかかわらず盲目的に一定間隔で多数の組織を採取）で前癌病

変の発見を行うサーベイランス検査が勧められている。欧米では、サーベイランスの精度を上げるには、盲目的に採取する生検の個数を増やし、数十個以上にすることが議論されている。しかしながら、必ずしも効率的な発見が得られないこと、症例数の増加に伴い実地診療に当たっては医療資源の効率的な利用にならないこと、内視鏡技術の進歩が著しいことなどから、何らかの異常所見のあるところからの生検組織を中心として、より患者への負担が少なく確実なサーベイランスが可能と考え、本プロジェクトが行われた。

内視鏡的有所見部からの生検で dysplasia の検出率は、3.8%であった。これは、多数のランダム生検を元に

したサーベイランスに基づく報告に匹敵するものであった。また、今回の結果では、内視鏡的正常部 (Rb 主体)からは dysplasia は検出されなかった。病理学的に、炎症を背景とする dysplasia と sporadic adenoma の鑑別・分類には p53 や Ki67 の特殊染色が有用であった。

D. 結論

本研究の結果は、内視鏡的有所見部を中心とした狙撃生検の有用性が示された。狙撃生検を中心とした、低侵襲であり、かつ医療資源の有効利用にもつながる、効率的なサーベイランス指針を設定し検証することが、今後の重要な課題であると考えられる。

潰瘍性大腸炎長期経過例のサーベイランスシステムの確立に関する研究 拡大内視鏡を用いた狙撃生検を中心としたサーベイランスの 有用性に関する検討

研究協力者 五十嵐正広 北里大学東病院消化器内科 講師

研究要旨：潰瘍性大腸炎発症長期経過例における癌発生のサーベイランスをより効率的に行うための手段や方法を明らかにするための一つの手段として、拡大観察を行い dysplasia を疑う所見を狙撃生検し発見の効率化に寄与できるかどうかを検討した。その結果、拡大観察により腫瘍性ピットが観察された部位を狙撃生検することで効率的に dysplasia が発見されることが判明した。したがって dysplasia や癌のサーベイランスには拡大観察が有用と考えられた。

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎におけるサーベイランスの方法として拡大観察と狙撃生検が dysplasia, colitic cancer の発見に有用か否かを検討することを目的とした。

B. 研究方法

2003年4月から2004年2月まで当施設において潰瘍性大腸炎で7年以上経過しサーベイランスに同意し大腸鏡検査を施行した38例に対し、色素撒布と拡大観察を行い生検を施行した。生検組織は、プロジェクトの病理担当の味岡先生に提出し検索を行った。これまで病理学的検索が終了したものは29例であり、内視鏡所見と病理組織学的所見とを比較検討した。

C. 結果

1. dysplasia は4例5病変(13.7%)に発見された。
2. sporadic adenoma は5例(17.2%)に発見された。
3. dysplasia の生検個数に対する頻度は、5/104(4.8%)と高率であった。
4. dysplasia の発生部位は直腸3病変、S状結腸2病変であった。
5. dysplasia 部の色調は、通常観察では発赤5病変、肉眼形態は平坦隆起2病変、乳頭状隆起1病変、マスキメロン様粘膜1病変などであった。
6. 拡大所見では dysplasia 部は IIIs-IIIIL 様ピット

2病変、IV型様ピット2病変であった。

D. 考察

これまでの潰瘍性大腸炎におけるサーベイランスの方法は、10cmごとの区域別にアトランダムに生検を行うことが推奨されている¹⁾。今回は前向き試験としてサーベイランスを全例拡大内視鏡を用いて拡大観察を行った結果、dysplasia 部で大腸腫瘍のピットパターン(工藤分類)の IIIIL、IV型に類似するものが確認され、以前の検討と同様の結果²⁾であった。したがって、拡大内視鏡によるサーベイランスでは、これらのピットがみられる部位を主体に狙撃生検することがより効率的なサーベイランスになりうるものと推測された。

E. 結論

潰瘍性大腸炎における dysplasia、癌のサーベイランスには拡大観察が有用である。

F. 文献

1. Lennard-Jones JE et al: Cancer in colitis; Assessment of the individual risk by clinical and histological criteria. Gastroenterology 73:1280-1289, 1977.
2. 五十嵐正広、他：潰瘍性大腸炎に伴う dysplasia と colitic cancer の内視鏡診断に関する検討。-特に

拡大観察の有用性に関して。胃と腸 37:925-935, 2002.

G. 健康危険情報
特になし

H. 研究発表

I. 論文発表

M. Sada, M. Igarashi, S. Yoshizawa, K. Kobayashi,
T. Katsumata, K. Saigenji, Y. Otani, I. Okayasu,
H. Mitomi: Dye spraying and magnifying endoscopy

for dysplasia and cancer surveillance in ulcerative colitis. DIS COLON RECTUM (in press)

2. 学会発表

佐田美和, 五十嵐正広, 勝又伴栄: colitic cancer 早期発見のための拡大観察の有用性の検討. 第66回日本消化器内視鏡学会総会 (DDW-Japan 2003), 2003年10月, 大阪.

五十嵐正広, 佐田美和, 小林清典, 勝又伴栄: 潰瘍性大腸炎 (UC) の cancer surveillance における拡大観察の有用性の検討. 第21回日本大腸検査学会総会, 2003年11月9日, 大津市.

colitic cancer/dysplasia の細胞粘液形質

分担研究者 味岡洋一 新潟大学医歯学総合研究科分子・病態病理 助教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎（UC）を発生母地とする大腸癌（colitic cancer）の胃幽門腺型粘液発現を免疫組織学的に検討した。colitic cancer および前癌病変である dysplasia では、胃幽門腺型粘液 core protein である MUC 6 の発現が 4/11 (36.4%) にみられ、同値は対照とした散発性大腸早期癌（陽性率：1/47, 2.3%）、同進行癌（陽性率：7/153, 4.6%）に比べ有意に高かった（それぞれ $p=0.004, 0.003$ ）。colitic cancer では胃腺窩上皮型粘液発現（平成 14, 15 年度本研究結果）に加え幽門腺型粘液の発現もあり、同癌は 2 方向性の胃型分化を示す腫瘍と考えられた。このことは、同癌の発生に大腸粘膜の胃型化生（幽門腺粘膜化生）が関連している可能性を示唆するものと考えられた。

A. 研究目的

潰瘍性大腸炎（以下 UC）の重要な合併症に、大腸癌がある（以下 colitic cancer）。日本における UC 症例および（内科的治療の進歩による）その長期経過観察例の増加を考慮すると、今後 colitic cancer の早期発見・治療のためのサーベイランスプログラムの確立が急務である。これまで本分担研究者は、colitic cancer では胃腺窩上皮型粘液の core protein である MUC5AC が高発現し、その細胞形質が胃型へ転換している可能性があること、colitic cancer 発生の背景粘膜にも同様の細胞形質変換が起きていること、従って UC 粘膜の胃型への細胞粘液形質変換が cancer high risk UC の選別のためのマーカーになりうる可能性があることを示してきた。本年度は、更に、colitic cancer における胃幽門腺型粘液発現の有無について検討した。

B. 研究方法

colitic cancer および前癌病変である dysplasia 1 1 病変を対象とした。炎症性腸疾患（IBD）非併存正常大腸粘膜、散発性大腸管状腺腫（21 病変）、早期癌（47 病変）、進行癌（153 病変）をコントロールとした。

胃幽門腺型細胞形質の同定は、同細胞が産生する粘液 core protein である MUC 6 に対する免疫染色（モノクローナル抗体 CLH5）で行った。

なお、個人識別情報秘守のため、対象症例は全て通し番号として表記した。また対象は外科切除大腸標本であり、本研究により対象者の健康および生命にに対する危険性は全くな

い。

C. 研究結果

- ① colitic cancer/dysplasia の MUC6 陽性頻度は、4/11 (36.4%) であった。
- ② コントロール例では、正常大腸粘膜には MUC6 陽性腺窩はなく (0/2938)、腺腫、早期癌、進行癌の陽性率はそれぞれ 3/21 (14.3%)、1/47 (2.3%)、7/153 (4.6%) であった。
- ③ 散発性早期癌と進行癌および colitic cancer/dysplasia との間には、MUC 6 陽性率に有意差がみられた（それぞれ $p=0.004$ と 0.003 ）。

D. 考察

これまでの本研究者の検討では、colitic cancer の胃腺窩上皮型粘液発現は 5/8 (63%) であり、散発性進行大腸癌に比べ有意に高値であった (1/60, 1.7%)。本年度の研究結果から、colitic cancer には胃幽門腺型粘液発現もみられ、同癌は腺窩上皮と幽門腺への 2 方向性の胃型形質分化を示す腫瘍であることがわかった。

こうした 2 方向性胃型形質分化は、小腸では潰瘍などによる粘膜障害の際の再生上皮（いわゆる幽門化生上皮、もしくは UACL (ulcer-associated cell lineage)）にみられることが知られている。colitic cancer は粘膜の脱落・再生を繰り返す長期経過 UC に発生するが、本研究結果は、colitic cancer 発生の前段階として UACL と同様に、大腸粘膜の胃型化生（胃幽門腺粘膜化生）が

重要な役割を果たしている可能性を示唆するものと考えられる。

E. 結論

colitic cancer には胃腺窩上皮型のみならず、幽門腺型粘液の発現もあり、同癌は 2 方向性の胃型形質分化を示す腫瘍と考えられた。このことは、同癌の発生母地として大腸の胃型化生の可能性を示唆するものである。

F. 文献

MUC1, MUC2, and MUC5AC mucin core protein expression in ulcerative colitis- associated colorectal carcinoma. Kano T, Ajioka Y, et al. Acta Medica et Biologica, 2004 (accepted).

G. 知的所有権の取得状況

なし

遺伝子多型を用いた炎症性腸疾患感受性・疾患修飾遺伝子の検討

分担研究者 木内喜孝 東北大学大学院病態学消化器病態学 助教授

研究要旨：炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎・クローン病）発症・病態には遺伝的要因が強く関与することが指摘され、欧米では既にクローン病の感受性遺伝子として NOD2 遺伝子が同定されている。本研究では日本人炎症性腸疾患における遺伝的要因を明らかにすることを目的に、1) 多施設共同で検体を収集するシステムの構築、2) 日本人炎症性腸疾患病型を考慮に入れた相関解析について検討を行なった。その結果、3 省庁合同指針「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い計画書・患者説明文書・同意書・マニュアル書を作成し、既に 3 施設での倫理委員会の承認が得られ多施設共同での研究がスタートされた。病型を考慮に入れた相関解析の結果、日本人のクローン病・潰瘍性大腸炎ともに病型ごとに遺伝的背景が異なることが明らかとなった。

共同研究者

高橋成一¹⁾、根来健一¹⁾、下瀬川 徹¹⁾
日比紀文²⁾、井上 詠²⁾

所属

東北大学医学部附属病院消化器内科¹⁾
慶応義塾大学医学部内科²⁾

ながっている。残念ながら、現在まで日本人炎症性腸疾患を対象とした連鎖解析のまとまった報告は存在しない。一方、日本においては現在まで多くの候補遺伝子解析がなされ、表 1 の遺伝子多型との相関が報告されている。しかし、1) 症例-対照研究の解析だけである、2) sample size が小さい、3) HLA と TNF を除いて、再検討されていない、4) disease phenotype との関係が不明確、以上 4 点が問題であると、しばしば研究者より指摘されている。

A. 研究目的

炎症性腸疾患（クローン病・潰瘍性大腸炎）の発症に遺伝因子が関与していることは既に定説となり、欧米においては複数の感受性遺伝子座位や感受性遺伝子 NOD2 が同定されている。疾患感受性遺伝子が同定されることにより、本疾患の病因・病態の解明、診断・治療法の進歩への大きな貢献が予想されている。しかし、人種によって感受性遺伝子が少なくとも部分的に異なることが判明したため、欧米の研究結果をそのまま日本人に当てはめることは不可能であり、今後日本人炎症性腸疾患感受性遺伝子の解明を、行わなければならない。

炎症性腸疾患のような多因子疾患における感受性遺伝子同定戦略は、大きく分けて 2 通りある。1 つは、罹患者同胞対による連鎖解析によって感受性遺伝子座位を特定していく方法、もう 1 つは候補遺伝子解析による方法である（現実的には 2 つの方法を組み合わせる解析することが多い）。罹患者同胞対を用いた連鎖解析は、欧米において既に 10 数件に達する報告が存在し、その成果が欧米クローン病患者の感受性遺伝子 NOD2 同定につ

表 1

Gene	Disease type	Author
HLADRB1*1502	Ulcerative colitis	Asakura H ¹²⁾
HLADQB1*0401, 0402	Crohn's disease	Nakajima A ¹³⁾
TNF(-1031, -863, -857)	Crohn's disease	Negoro K ¹⁴⁾
Nramp1	Ulcerative colitis Crohn's disease	Kojima Y ¹⁵⁾
TNF-RSF1B	Ulcerative colitis Crohn's disease	Sashio H ¹⁶⁾
TNF(-308, -238)	Ulcerative colitis	Sashio H ¹⁶⁾
CD14	Ulcerative colitis	Obana N ¹⁷⁾
HSP70-2	Subgroup of the Crohn's disease	Esaki M ¹⁸⁾
MUC3A	Ulcerative colitis Crohn's disease	Kyo K ¹⁹⁾
ICAM1	Ulcerative colitis Crohn's disease	Matsuzawa J ²⁰⁾
MICA	Ulcerative colitis	Sugimura K ²¹⁾

以上の点を克服するため、1) 多施設共同で検体を収集するシステムの構築、2) 日本人炎症性腸疾患病型を考慮に入れた相関解析(特にHLAについて)を目的としてH15年度の研究を行った。

B. 研究方法

- 1) 多施設共同で検体を収集するシステムの構築: 3省庁合同指針「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い計画書・患者説明文書・同意書・マニュアル書を作成する。収集する検体は、罹患同胞対、Transmission Disequilibrium Test 用検体、症例-対照用検体で、過去の結果より power 計算を行い収集必要検体数を設定した。
- 2) 日本人炎症性腸疾患病型を考慮に入れた相関解析: 平成14年度に、東北大学附属病院の2セットの症例対象を用いて、クローン病小腸型と小腸大腸型とは遺伝背景(*HLA-DQB1*)が異なることを示したが、平成15年度は、その再現性を確認するため、慶応大学附属病院で収集した症例を対象に検討した。潰瘍性大腸炎は、*HLA-DRB1*のタイピングを行った後、健常対照者と有意差検定(χ^2 解析)を行い相関する対立遺伝子を同定した。さらに各臨床表現型別(罹患範囲・診断時年齢・関節炎)に相関解析(χ^2 解析)を行った。クローン病症例は100例(小腸型18例、小腸大腸型69例、大腸型13例)で、慶応大学附属病院の症例である。潰瘍性大腸炎の検討では、潰瘍性大腸炎患者294例、健常対照者333例を対象に行った。DNAタイピングにはPCR-sequence specific primer (SSP)法を用いた。

(倫理面への配慮)

検体の採取に際しては、倫理委員会の承認の上、患者或いは健常対照者より文書にて同意を得た。

C. 研究結果

- 1) 3省庁合同指針「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い計画書・患者説明文書・同意書・マニュアル書を作成した。作成した計画書について、現在順次各施設の倫理委員会に審査申請しており、平成15年12月東北大学で承認された後、2施設でさらに承認され、現在申請予定が3施設である。
- 2) 日本人炎症性腸疾患病型を考慮に入れた相関解析(クローン病): 「*HLA-DQB1*04*は小腸型クローン病

と相関し、小腸大腸型と相関しない」ことが、平成14年度の研究で示されたが、その再現性を確認するため、慶応大学附属病院からの症例にて検討した。その結果、*HLA-DQB1*04*の対立遺伝子頻度が、小腸型で36.0%、小腸大腸型19.1%と $p=0.03$ で有意差を再確認された。

- 3) 日本人炎症性腸疾患病型を考慮に入れた相関解析(潰瘍性大腸炎): 潰瘍性大腸炎全体と健常対照者全体での比較検討において、*HLA-DRB1*1502* ($p=1.1 \times 10^{-14}$)、*HLA-DRB1*1501* ($p=0.014$)が正の相関を、*HLA-DRB1*04* ($p=2.7 \times 10^{-8}$)、*HLA-DRB1*09* ($p=1.0 \times 10^{-5}$)が負の相関を示した。臨床表現型別検討では、患者群と健常対照者群の比較で非常に強い正相関を示した*HLA-DRB1*1502*は、どの表現型においても健常対照者群と比較し強い相関を示していた。一方患者群と健常対照者群の比較で差を示さなかった*HLA-DRB1*08*は、各表現型別に subgroup 解析を行ったところ、罹患範囲別で対立遺伝子頻度が全大腸炎型で19.5%、左側大腸炎型で14.8%、直腸炎型で7.8%と $p=0.003$ で病型間で差を認めた。また同様に診断時年齢別検討でも20歳未満群で11.3%、20-40歳未満群で16.5%、40歳以上群で19.3%と $p=0.03$ で有意差を認めた。また全体で負相関示した*HLA-DRB1*04*では、関節炎を合併する群(17.2%)においては、関節炎を合併しない群(9.2%)に比較し有意に($p=0.04$)対立遺伝子頻度が高いことが示された。

D. 考察

海外に比較し日本においては、クローン病・潰瘍性大腸炎の罹患率が低いため、信頼される遺伝統計解析データを1施設単独で出すことは難しい。また日本人クローン病・潰瘍性大腸炎の感受性遺伝子は、欧米患者のそれと異なることが明らかとなったことから、日本での多施設共同での研究体制の構築が急務であった。今回初めて、日本においてそのシステムが構築されたことは、今後の研究の発展に大きく寄与すると考えられる。

さて上記システムによって Transmission Disequilibrium Test 用検体が集積するまでの間、相関解析は既に収集されている症例-対照研究のサンプルを用いて解析していかねばならないが、その場合重要なことは、1回目の症例-対照相関解析で得た解析結果が、再現性のある結果であることを示すことである。今回クローン病で問題にした「*HLA-DQB1*04*は小腸型クローン病と相関し、小腸大腸型と相関しない」ことについては、平成14年度に2回の独立した症例-対照研究

で確認されていたが、今回3回目の確認を行い再確認された。このことより、「*HLA-DQB1*04* は小腸型クローン病と相関し、小腸大腸型と相関しない」と十分結論できると考えられた。この結論は、日本人小腸型クローン病と小腸大腸型クローン病の遺伝的背景が異なることを示しており、遺伝学的にも日本人クローン病の異質性を示したことになる。

一方潰瘍性大腸炎については、以前より *HLA-DRB1*1502* との正相関、*HLA-DRB1*04* との負相関が報告されていたが、今回新たに *HLA-DRB1*09* の負相関が確認された。今回のデータを用いて *HLA-DRB1*1502* における population attributable risk を計算すると約 36% となり、欧米人クローン病における NOD2 遺伝子の population attributable risk が約 20-30% であることを考慮に入れると、*HLA-DRB1*1502* 或いはそのハプロタイプは日本人潰瘍性大腸炎の主要な感受性遺伝子であることが示唆された。

一方臨床表現型別の相関解析では、*HLA-DRB1*1502* についてはどの表現型においても健常対照者と比較し正相関を示すことから、*HLA-DRB1*1502* 或いはそのハプロタイプは病型によらず、潰瘍性大腸炎全体の感受性を規

定していることが示された。一部の欧米の研究者は、*HLA-DRB1*1502* は疾患修飾遺伝子であると主張しているが、明らかにその主張は間違いであることが示された。

また臨床表現型別解析で今回さらに新たにされたことは、1) *HLA-DRB1*04* と関節炎合併潰瘍性大腸炎との正相関、2) *HLA-DRB1*08* と全大腸炎型との正相関、3) *HLA-DRB1*08* と 40 歳以上で診断された患者群との正相関である。1) については、日本人慢性関節リウマチの感受性遺伝子の一つが *HLA-DRB1*04* とされており、理解可能な結果と考えられた。一方、*HLA-DRB1*08* と罹患範囲、発症年齢との相関は予想外であった。臨床的には、*HLA-DRB1*08* を持っている患者は、全大腸炎型になりやすいという予後予測に使える可能性もあり今後の展開を待ちたいと思う。また高齢発症の潰瘍性大腸炎と若年発症の潰瘍性大腸炎ではその発症メカニズムが違うのではないかと予想されていたが、今回初めて遺伝的背景が異なることが示された。

E. 結論

日本人クローン病・潰瘍性大腸炎の遺伝的異質性を確認した。

炎症性腸疾患とMDR1遺伝子多型の相関

協力研究者 田村和朗 兵庫医科大学先端医学研究所家族性腫瘍部門 助教授

研究要旨:炎症性腸疾患であるクローン病(CD)と潰瘍性大腸炎(UC)の発症に関わる遺伝的背景として消化管粘膜で発現し、脂溶性物質の細胞外への排出トランスポータータンパク質であるP-glycoproteinが関わっている可能性がある。P-glycoproteinをコードするMDR1遺伝子は7q21.1にあり、候補遺伝子座位に位置する。MDR1遺伝子のエキソン26に存在するC3435T多型による炎症性腸疾患の症例-対照研究を行った。アレル頻度、遺伝子型で明かな相関は認めなかった。しかし、上部消化管に病変を有するL4型CD患者において、3435TT遺伝子型が認められ上部消化管病変の発症に抑制的に働くこと可能性が示唆された。

共同研究者

高川哲也¹⁾、武田直久¹⁾、澤田康史¹⁾、福田能啓¹⁾、
松本誉之¹⁾、池内浩基²⁾、山村武平²⁾、押谷伸英³⁾

所属

兵庫医科大学 下部消化管内科学講座¹⁾
兵庫医科大学 外科学第2講座²⁾
大阪市立大学 医学部 消化器器官制御内化学講座³⁾

A. 研究目的

難治性の炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease: IBD)には潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis: UC)とクローン病(Crohn's disease: CD)が知られ、その病態解明は進められてきたが、未だ原因不明である。特定疾患としてその原因究明と根治的治療の開発が切望されている¹⁾。IBDも多くの疾患と同様に個人の疾患に対する易罹患性と環境因子などの多種多様な外的要因が加わり、それらの総和の結果によって発症することものと考えられている。UCとCDは消化管粘膜の物質の輸送や透過性、さらには局所免疫システムに何らかの異常が生じ、慢性化に転じた疾患と考えられる。その発症機序に関わる要因は実に多様な因子が考えられており、いわゆる多因子病の一つとして認識されている。個人が生来持ち合わせている易罹患性は局所での機能が重要であろうと予測されている。

ATP駆動型トランスポーターABC(ATP binding cassette)タンパク質の一つP-glycoproteinをコード

するMDR1遺伝子(7q21.1)に注目し、そのエキソン26に存在するC2435T多型と炎症性腸疾患の相関を検討した。

B. 研究方法

潰瘍性大腸炎患者、クローン病患者の病態調査を行うとともに、インフォームドコンセントを得た上で、末梢血からDNA抽出を行った。研究対象数はUC患者群133例、CD患者群139例で健康成人180名を対照群とした。核酸試料を遺伝子多型解析に供した。

MDR1遺伝子多型の内(Table 1)^{2,3)}、P-glycoprotein発現との相関が明らかなエキソン26のC3435T多型を用いて解析した。解析はDNAシーケンス法を用いた。対立遺伝子(アレル)頻度を基に統計的解析を行った。

(倫理面への配慮)

研究計画書、説明書、意思確認書等とともに兵庫医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する専門小委員会に申請し、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」(平成13年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)に沿って審査を経た後、同大学倫理委員会で最終的な承認を得た。研究の内容や方法等を十分説明した後、研究協力依頼をする。個人の自由意思を尊重し、「意思確認書」に書面で意思を記載してもらい同意を得られた場合は、試料採取等を行った。試料や臨床情報は個人情報分担管理者のもと、連結可能匿名化し個人情報保護に努める。解析はネットワークから遮断されたコン

ピューターを用いた。

C. 研究結果

MDR1 遺伝子の C435T はエキソン 26, コドン 1144 の第 3 塩基に相当する。日本人健常対照者 180 名の解析から, C アレルは 59.7%, T アレルは 40.3%, 遺伝子型で見ると CC ホモ接合体が 36.1%, TT ホモ接合体が 16.7% で, CT ヘテロ接合体は 47.2% であった (表 2)。UC 患者群, CD 患者群の C アレル頻度 62.3%, 54.7%, T アレル頻度は 37.6%, 45.3% であり, 統計的有意差は認めなかった。遺伝子型においてもそれぞれ CC ホモ接合体が 37.8%, 28.1%, TT ホモ接合体は 12.8%, 16.5% で, CT ヘテロ接合体は 49.6%, 54.7% であり, アレル頻度同様に有意な差を認めていない。(table 2, Fig 1)。

CD 患者群の罹患部位別に分類すると上部消化管(胃, 十二指腸)病変を伴う症例が 17 例存在したが, 3435CC 型 9 例, 3435CT 型 8 例で, C アレルを持たない 3435TT 遺伝子型の 23 例には全く認めることがなかった。

Table 1 Polymorphisms of the MDR1 gen

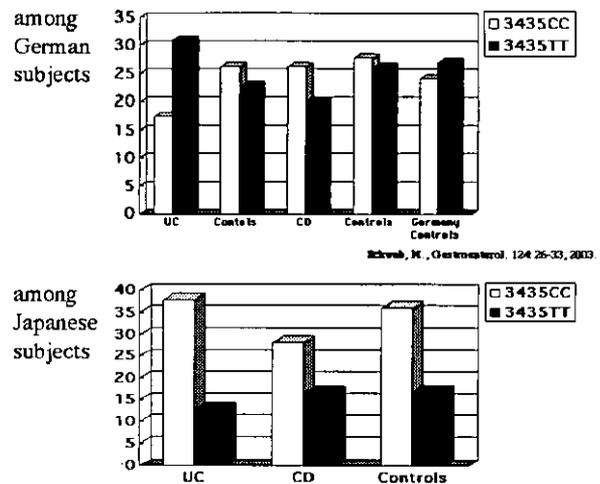
Exon	Type
2	-1G/A
2	A61G
5	T307C
6	+139C/T
11	G1199A
12	C1236T
12	C+44T
17	-76T/A
21	G2677A
21	G2677T
26	C3435T

(Cascorbi I, et al. Clin Pharmacol Ther 69: 169, 2001³⁾より改編)

Table 2 Frequencies of MDR1 C3435T alleles and genotypes of patients of inflammatory bowel disease and disease-free controls in Japan

	Alleles		Genotypes			C vs. T		CC vs. TT	
	C	T	C/C	C/T	T/T	OR (95% C.I.)	P-value	OR (95% C.I.)	P-value
UC (n=133)	166 (62.4%)	100 (37.6%)	50 (37.8%)	66 (49.6%)	17 (12.8%)	1.12 (0.81, 1.56)	0.49	1.36 (0.67, 2.73)	0.39
Controls (n=180)	215 (59.7%)	145 (40.3%)	65 (36.1%)	85 (47.2%)	30 (16.7%)				
CD (n=139)	152 (54.7%)	126 (45.3%)	39 (28.1%)	76 (54.7%)	23 (16.5%)	0.81 (0.59, 1.12)	0.20	0.78 (0.40, 1.53)	0.47
Controls (n=180)	215 (59.7%)	145 (40.3%)	65 (36.1%)	85 (47.2%)	30 (16.7%)				

Fig 1 Comparison of Genotypes between in German IBD-patients and Japanese those



D. 考察

ATP 駆動型トランスポーター「ABC (ATP binding cassette) タンパク質」は細胞質内から有害となる生体異物の外界からの進入を防ぐ生体防御に重要な役割を演じており, P-glycoprotein (170kDa) はその代表である⁴⁻⁶⁾。P-glycoprotein は ATP の水解エネルギーによる細胞膜排出ポンプ作用で濃度勾配に逆行する分子輸送を司る⁶⁾。P-glycoprotein をコードする遺伝子は当初, 多種類の制癌剤に対して耐性を獲得した細胞株で増幅していることからクローニングにいたった。そのため多剤耐性 (multi-drug resistance) 株由来の遺伝子といいきさつから MDR1 名付けられた。MDR1 は古最近から真正細菌まで認められ, ヒトにおいては腎近位尿管, 肝の網細胆管, 脳・精巣の網細血管内皮, 副腎皮質, 子宮・胎盤で発現している。特に, 結腸, 回腸の表層にある円柱上皮での発現が顕著である⁶⁻⁸⁾。局所において有害な脂溶性低分子物質の単純拡散による細胞膜透過作用に対抗し, 体内吸収を防いでいると推測される⁶⁻⁸⁾。MDR1 遺伝子はヒトの第 7 番染色体長腕 (7q21.1) に位置し, 1279 アミノ酸をコードする。第 7 番染色体長腕は多型マーカーによる全ゲノムスクリーニングの結果, 候補遺伝子座として指摘されてきた⁹⁾。また, mdrla knockout mouse (mdrl^{-/-}) がヒトの炎症性腸疾患に類似した表現型を呈することが示されており^{10, 11)}, 炎症性腸疾患の疾患感受性遺伝子の候補と考えられてきた。ドイツの潰瘍性大腸炎患者をもとにした MDR1 遺伝子 C3435T 多型分析は, 3435TT 遺伝子型は P-glycoprotein 機能が低下し, 腸管内細菌やトキシンからの防御能に障害をきたし, 潰瘍性大腸炎の易罹患性が高まることを示唆した¹²⁾。ま

た米国の研究結果は、G2677A/T (Ala893Ser/Thr) 多型において 2677G (Ala893) が炎症性腸疾患に相関することを示した¹³⁾。報告者らは日本人の炎症性腸疾患患者および対照者による C3435T 多型解析を行ったが、独国人対象で示された有意な相関は認めなかった。英国の研究者からも 3435TT 遺伝子型が潰瘍性大腸炎と相関しないことが示された¹⁴⁾。この原因は MDR1 遺伝子のアレル頻度が人種差によって強い多様性が示されている¹⁵⁾。したがって、たとえ候補遺伝子であったとしても単独の一塩基多型のみで結論づけることは困難であると推測される。対照者間のアレル頻度を比較すると日本人のそれは欧米白人とアフリカ人の中間に位置する。

報告者らの結果では罹患部位が上部消化管に及んでいる例、素すなわち Vienna 分類の L4¹⁶⁾相当例では 3435TT 遺伝子型が皆無であり、上部消化管病変と腸管粘膜排出ポンプ機能との関係が注目され、今後の研究課題と考えられる。

MDR1 遺伝子は制癌剤の多剤耐性株から単離されたが、ジギタリス剤等の吸収、排泄能を評価するなど Pharmacokinetics の分野で研究が進んでいる¹⁷⁾。P-glycoprotein 170 を高発現する炎症性腸疾患患者ではステロイド剤の効果が低いとの報告があり¹⁸⁾、消化管での薬物吸収あるいは細胞内からステロイド剤の排出に参与している可能性が示唆され、今後の課題と考えている。

E. 結論

MDR1 遺伝子の C3435T 多型による炎症性腸疾患の症例-対照研究の結果、疾患単位での明かな相関は認められなかった。しかし、L4 型 CD 患者に対しては 3435TT 遺伝子型が抑制的な役割を演じている可能性が示唆された。

F. 参考文献

- 1) Podolsky DK: Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 1997; 325: 928-937, 1008-1016.
Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sorensen IA, Binder V. Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 324: 84-88, 1991.
- 2) Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence

variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 97:3473-3478, 2000.

- 3) Cascorbi I, Gerloff T, John A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, Schaeffeler E, Eichelbaum M, Brinkmann U, Roots I. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 69: 169-174, 2001.
- 4) Chen CJ, Chin JE, Ueda K, Clark DP, Pastan I, Gottesman MM, Roninson IB. Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* 47:381-389, 1986.
- 5) Ueda K, Clark DP, Chen CJ, Roninson IB, Gottesman MM, Pastan I. The human multidrug resistance (*mdr1*) gene. cDNA cloning and transcription initiation. *J Biol Chem*. 262: 505-508, 1987.
- 6) Gottesman MM, Pastan I. The multidrug transporter, a double-edged sword. *J Biol Chem*. 263: 12163-12166, 1988.
- 7) Bremer S, Hoof T, Wilke M, Busche R, Scholte B, Riordan JR, Maass G, Tumber. Quantitative expression patterns of multidrug-resistance P-glycoprotein (MDR1) and differentially spliced cystic-fibrosis transmembrane-conductance regulator mRNA transcripts in human epithelia. *Eur J Biochem*. 206: 137-149, 1992.
- 8) Ho GT, Moodie FM, Satsangi J. Multidrug resistance 1 gene (P-glycoprotein 170): an important determinant in gastrointestinal disease? *Gut*. 52: 759-766, 2003.
- 9) Satsangi J, Parkes M, Louis E, Hashimoto L, Kato N, Welsh K, Terwilliger JD, Lathrop GM, Bell JI, Jewell DP. Two stage genome-wide search in inflammatory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 and 12. *Nat Genet*. 14: 199-202, 1996.
- 10) Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*,

- spontaneously develop colitis. *J Immunol.* 161: 5733-5744, 1998.
- 11) Maggio-Price L, Shows D, Waggle K, Burich A, Zeng W, Escobar S, Morrissey P, Viney JL. Helicobacter bilis infection accelerates and H. hepaticus infection delays the development of colitis in multiple drug resistance-deficient (mdr1a-/-) mice. *Am J Pathol.* 160: 739-751, 2002.
 - 12) Schwab M, Schaeffeler E, Marx C, Fromm MF, Kaskas B, Metzler J, Stange E, Herfarth H, Schoelmerich J, Gregor M, Walker S, Cascorbi I, Roots I, Brinkmann U, Zanger UM, Eichelbaum M. Association between the C3435T MDR1 gene polymorphism and susceptibility for ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 124: 26-33, 2003.
 - 13) Brant SR, Panhuysen CI, Nicolae D, Reddy DM, Bonen DK, Karaliukas R, Zhang L, Swanson E, Datta LW, Moran T, Ravenhill G, Duerr RH, Achkar JP, Karban AS, Cho JH. MDR1 Ala893 polymorphism is associated with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet.* 2003 73: 1282-1292, 2003.
 - 14) Croucher PJ, Mascheretti S, Foelsch UR, Hampe J, Schreiber S. Lack of association between the C3435T MDR1 gene polymorphism and inflammatory bowel disease in two independent Northern European populations. *Gastroenterol.* 125: 1919-1920, 2003.
 - 15) Schaeffeler E, Eichelbaum M, Brinkmann U, Penger A, Asante-Poku S, Zanger UM, Schwab M. Frequency of C3435T polymorphism of MDR1 gene in African people. *Lancet.* 358: 383-384, 2001.
 - 16) Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, Jewell DP, Rachmilewitz D, Sachar DB, Sandborn WJ, Sutherland LR. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis.* 6: 8-15, 2000.
 - 17) Sakaeda T, Nakamura T, Horinouchi M, Kakumoto M, Ohmoto N, Sakai T, Morita Y, Tamura T, Aoyama N, Hirai M, Kasuga M, Okumura K. MDR1 genotype-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res.* 18: 1400-1404, 2001.
 - 18) Farrell RJ, Murphy A, Long A, Donnelly S, Cherikuri A, O'Toole D, Mahmud N, Keeling PW, Weir DG, Kelleher D. High multidrug resistance (P-glycoprotein 170) expression in inflammatory bowel disease patients who fail medical therapy. *Gastroenterol.* 118: 279-288, 2000.

潰瘍性大腸炎患者大腸内細菌叢のターミナル RFLP 法による解析

分担研究者 藤山佳秀 滋賀医科大消化器内科 教授

研究要旨：炎症性腸疾患の病因は未だ特定されていないが、腸内細菌叢に対する免疫応答の異常の関与が示唆されている。これまでに、炎症性腸疾患の腸内細菌叢の変化に関する報告がいくつかみられるが、未だ、その詳細は明らかになっていない。今回、潰瘍性大腸炎患者 (UC 群) 23 例と健常人 20 例から得られた便中細菌叢について、ターミナル RFLP 法を用いて検討した。UC 群と健常人の大腸内細菌叢は明らかに異なり、2 例の健常者が UC 群のそれに類似したクラスターを示した。今後、さらなる症例の蓄積が必要と考えられた。

共同研究者

坂田慎治、辨野義巳

所属

理化学研究所微生物系統保存施設

A. 研究目的

炎症性腸疾患の病因、病態において重要な役割を果たしている腸内細菌叢の変化を明らかにする。今回の検討では、潰瘍性大腸炎患者と健常人の糞便内細菌叢から得た 16S リボゾーム RNA を標的とし Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) 解析を行った。

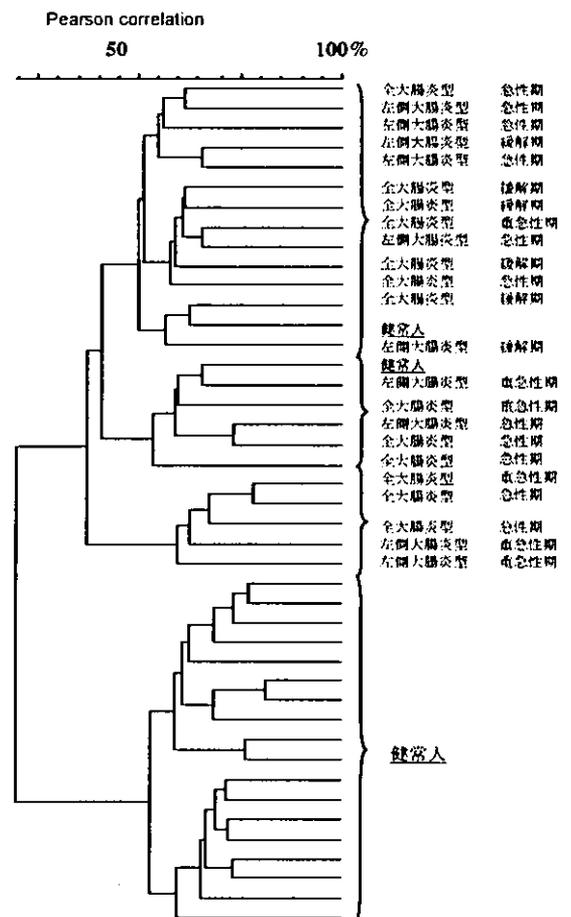
B. 研究方法

便を提供して頂くにあたり、十分な説明のうえ書面で同意を得た。健常人 20 例、UC23 例を解析した。16S リボゾーム RNA を得、PCR 反応、制限酵素処理の後、電気泳動して切断パターンを比較した。

C. 研究結果

UC 群と健常人の大腸内細菌叢は明らかに異なり、2 例の健常者が UC 群のそれに類似したクラスターを示したにすぎなかった (図 1)。

図 1



D. 結論

腸内細菌に限らず多くの生物のリボゾーム RNA の一次および二次構造は保存されているため、系統関係を知るための有用な標的とされている。今回の検討では、UC の大腸細菌叢は、健常人と異なる結果が得られた。ただ、対象症例数が少なく、さらなる症例の集積による検討が必要と考えられた。

F. 文献

1. 藤山佳秀, 安藤朗. 環境因子からみたクローン病の病因・病態 腸内フローラ異常とプロバイオティクス. *G. I. Research*, 11:511-517, 2003.
2. 藤山佳秀, 小川敦弘, 安藤朗. 自己免疫の機序. *臨床消化器内科* 18:1717-1722, 2003.
3. Matsuda H, Fujiyama Y, Andoh A, Ushijima T, Kajinami T, Bamba T. Characterization of

antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 15:61-8, 2000.

4. Fujiyama Y, Kobayashi K, Senda S, Benno Y, Bamba T, Hosoda S. A novel IgA protease from *Clostridium* sp. capable of cleaving IgA1 and IgA2 A2m(1) but not IgA2 A2m(2) allotype paraproteins. *J Immunol*. 134:573-6, 1985.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服対策研究事業
「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

メトトレキサート誘発腸炎に対する麴菌含有製剤の効果

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：クローン病の活動期の治療として、栄養療法が行われている。最近では抗サイトカイン療法が開発され、さらには免疫抑制剤の使用方法が確立するにつれ、緩解導入率の向上が図られている。しかし、有効的な維持療法は少なく、成分栄養剤の投与が継続され、食事指導が実施されている。しかし、下痢などの症状が難治化し QOL を損なう原因となることがある。麴菌含有製剤投与で臨床症状の改善効果がえられたので、メトトレキサート誘発腸炎モデルを用いて効果を検討したところ、腸炎改善効果がみられた。

共同研究者

堀 和敏、富田寿彦

所属

兵庫医科大学消化器内科

A. 研究目的

クローン病の活動期の治療として、栄養療法が行われている。最近では抗サイトカイン療法が開発され、さらには免疫抑制剤の使用方法が確立するにつれ、緩解導入率の向上が図られている。しかし、有効的な維持療法は少なく、成分栄養剤の投与が継続され、食事指導が実施されている。しかし、下痢などの症状が続き、止痢剤投与で改善傾向をみない場合もある。このような難治化し、QOL を損なう原因ともなる下痢症状に対して、麴菌含有製剤を投与したところ臨床症状の改善効果がえられた。また、クローン病では腸管粘膜透過性の亢進が指摘され、病勢とも関連している。そこで、小腸粘膜を傷害するメトトレキサート誘発動物実験モデルを用いて効果を検討した。

B. 研究方法

メトトレキサート誘発ラット腸炎モデルを用いて検討した。5%の麴菌含有製剤投与群、対照群、メトトレキサート非投与群の3群で体重、粘膜重量、DNA 量 MPO 活性、絨毛の高さ、粘膜の傷害、SOD 活性などについて、比較した。

C. 研究結果

メトトレキサート誘発腸炎では体重、粘膜 DNA 量が減少したが、麴菌含有製剤投与群では、抑制された。MPO 活性も低下傾向にあった。メトトレキサート投与で絨毛の丈の低下、crypt や goblet 細胞の減少がみられたが、麴菌含有製剤投与群では抑制傾向にあり、回復も速やかであった。SOD 活性は対照群に比して高値であった。

D. 考察

麴菌含有製剤には、メトトレキサート誘発の小腸傷害モデルで、粘膜傷害を軽減させる作用があり、絨毛の損傷の程度の減弱化と速やかな回復作用が示された。多核白血球浸潤や MPO 活性の低下傾向をみとめ、SOD 活性も高値であった。

E. 結論

メトトレキサート誘発腸炎に対して、麴菌含有製剤の経口投与で、腸炎の軽減作用がみられた。

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服対策研究事業
「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

TNBS 腸炎に対する麴菌含有製剤の効果

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：クローン病の活動期の治療として、栄養療法が行われている。最近では抗サイトカイン療法が開発され、さらには免疫抑制剤の使用方法が確立するにつれ、緩解導入率の向上が図られている。しかし、有効的な維持療法は少なく、成分栄養剤の投与が継続され、食事指導が実施されている。しかし、下痢などの症状が難治化し QOL を損なう原因となることがある。麴菌含有製剤投与で臨床症状の改善効果がえられたので、TNBS 腸炎モデルを用いて効果を検討したところ、腸炎改善効果がみられた。

共同研究者

堀 和敏、富田寿彦

所属

兵庫医科大学消化器内科 助手

ていた *Lactobacillus* などが改善する傾向にあった。IL-1 β や TNF α の産生が、麴菌含有製剤投与群で抑制されており、一方、腸粘膜の亜鉛濃度と SOD 活性は対照群に比して高値であった。麴菌含有製剤投与群では、粘膜の炎症や傷害程度が軽度であったが、MPO 活性の有意な低下はみられなかった。

A. 研究目的

クローン病の活動期の治療として、栄養療法が行われている。最近では抗サイトカイン療法が開発され、さらには免疫抑制剤の使用方法が確立するにつれ、緩解導入率の向上が図られている。しかし、有効的な維持療法は少なく、成分栄養剤の投与が継続され、食事指導が実施されている。しかし、下痢などの症状が続き、止痢剤投与で改善傾向をみない場合もある。このような難治化し、QOL を損なう原因ともなる下痢症状に対して、麴菌含有製剤を投与したところ臨床症状の改善効果がえられた。そこで、動物実験モデルを用いて効果を検討した。

B. 研究方法

TNBS ラット腸炎モデルを用いて検討した。1%および5%の麴菌含有製剤投与群、対照群、TNBS 非投与群の4群で粘膜傷害の程度、MPO 活性、SOD 活性、亜鉛濃度、腸内細菌叢、IL-1 β 発現、TNF α 産生などについて、比較した。

C. 研究結果

麴菌含有製剤投与群では、TNBS 処置対照群で減数し

D. 考察

麴菌含有製剤には、TNBS 誘発のクローン病モデルで、粘膜傷害を軽減させる作用があり、炎症性のサイトカインの産生も抑制することが明らかとなった。しかし、多核白血球浸潤や MPO 活性の有意な低下をみとなかったことから、炎症細胞浸潤に対しての作用ではなく、亜鉛濃度が高値であることと SOD 活性が高いことが粘膜保護作用に関連している可能性が示唆された。

E. 結論

TNBS 誘発腸炎に対して、麴菌含有製剤の経口投与には、腸炎の軽減作用がみられた。

潰瘍性大腸炎に対する新規プレバイオティクス BGS の効果

協力研究者 光山慶一 久留米大学医学部第2内科 講師

研究要旨：[目的] プロピオン酸菌による乳清発酵物(BGS:Bifidogenic Growth Stimulator)は、乳清をエメンタールチーズ由来のプロピオン酸菌で発酵させた新規プレバイオティクスである。今回、潰瘍性大腸炎患者でのBGSの有効性を検討した。[方法] 活動期潰瘍性大腸炎患者10例に対して基準薬剤に加えてBGS 4.5g/日を4週間経口投与し、臨床症状や内視鏡所見、血液生化学所見、糞便中短鎖脂肪酸や腸内フローラの変化を観察した。[結果] BGS投与により糞便中ビフィズス菌の増加とバクテロイデスの減少とともに、臨床症状や内視鏡所見の改善がみられた。有害事象は観察されなかった。[総括] BGSは潰瘍性大腸炎の有効かつ安全なプレバイオティクスであることが示された。今後のrandomized controlled trialでの評価が期待される。

共同研究者 鈴木飛鳥、古賀浩徳、富安信夫
所属 久留米大学医学部 第2内科

A. 研究目的

近年、炎症性腸疾患の発症・進展に腸内細菌が重要な因子であることが明らかとなり、腸内フローラを宿主に有益な方向へと是正するプロバイオティクスやプレバイオティクスなどの研究が活発化している。これらの治療法は有害菌の増殖を抑制し、宿主の免疫力を増強し、さらに腸管機能を活性化作用を有し、実際に炎症性腸疾患での有用性も報告されている。

BGS (Bifidogenic Growth Stimulator) は乳清をエメンタールチーズ由来のプロピオン酸菌で発酵させた新しいプレバイオティクスである。健常人への投与により腸内の有用菌であるビフィズス菌を選択的に増加させ、腸内環境を宿主に有益な方向へ導くことが報告されている。

今回の研究は、潰瘍性大腸炎でのBGSの効果と安全性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

ステロイドやアミノサリチル酸製剤による基準を行っても臨床症状が1ヶ月以上不変、または無治療で経過中の軽症～中等症の潰瘍性大腸炎患者10例を対象とした。内訳は、臨床経過別分類では、再燃緩解型7例、

慢性持続型2例、初発型1例で、罹患範囲別分類では、全大腸炎型4例、左側大腸炎型4例、直腸炎型1例、区域性大腸炎型1例である。BGS 4.5g/日を基準治療薬とともに4週間にわたって経口投与し、臨床症状、内視鏡所見、血液生化学所見、糞便中短鎖脂肪酸や腸内フローラの変化を観察した。本研究は患者のinformed consentを得てから実施した。

C. 研究結果

BGSの投与により、血中ヘモグロビン、アルブミン値は有意に増加した。糞便中のビフィズス菌は増加しバクテロイデスは減少傾向を示した。糞便中の酪酸などの短鎖脂肪酸値は増加傾向がみられた。臨床スコアは有意に低下し、内視鏡スコアも改善傾向がみられた。有害事象は観察されなかった。

D. 考察

炎症性腸疾患の発症・進展に腸内細菌が重要な因子であることが明らかとなり、腸内フローラを宿主の有益な方向へと是正する治療法の研究が活性化している。BGSは1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid (DHNA)が主要成分で、in vitroの実験でビフィズス菌を特異的に増殖させることが明らかにされている。今回の潰瘍性大腸炎患者での検討でBGSによりビフィズス菌が実際に増加することが確認されるとともに、代謝産物である短鎖脂肪酸も増加することが判明した。さらに臨床症状、内視

鏡所見、血液生化学検査の改善も認められた。

E. 結論

BGS は軽症から中等症の潰瘍性大腸炎の有効かつ安全なプレバイオティクスと考えられた。今後の randomized controlled trial での評価が期待される。

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特許出願中

2. 実用新案登録

なし

3. その他

健康危機情報

本研究を含めたこれまでの臨床試験において BGS が原因と推定される有害事象は観察されず、BGS の安全性に大きな問題はないものと考えられる。