

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

クローン病の食事に関する日英比較と  
IBDにおける probiotics と prebiotics の使用状況の実態調査

分担研究者 藤山 佳秀 滋賀医科大学消化器内科 教授

研究要旨：クローン病の食事に関する日英比較では、食事に対する認識の違いが明らかとなった。すなわち、本邦のクローン病患者は、n=6 系多価不飽和脂肪酸の豊富な肉類や、牛乳などの乳製品、さらに穀類など繊維の多い食品を制限している割合が極めて高いのに対し、英国のクローン病患者では、これらの食材が疾患の増悪因子であるとの認識に乏しく、ほとんど制限することなく発症前と同様の食事を継続していることが多い。一方、近年、腸内環境の改善から IBD に有効とされる prebiotics の使用率は CD で 11.5%、UC で 21.8%と低く、probiotics は CD で 63.3%、UC で 69%であり、特に乳酸菌、ビフィズス菌、ヤクルトの使用頻度が高かった。

共同研究者

佐々木雅也<sup>1)</sup> 辻川知之<sup>1)</sup> 安藤 朗<sup>1)</sup>  
岩川裕美<sup>2)</sup>、Akiko Kato<sup>3)</sup>、Alastair Forbes<sup>3)</sup>

所属

滋賀医科大学消化器内科<sup>1)</sup>  
滋賀医科大学付属病院栄養管理室<sup>2)</sup>  
Department of Gastroenterology,  
St. Mark's Hospital, UK<sup>3)</sup>

A. 目的

クローン病では、成分栄養療法が primary therapy と位置づけられ、緩解維持の目的で長期の在宅成分栄養法 (HEN) もおこなわれる。しかし、コンプライアンスの低下から再燃をきたすことも少なくない。そこで、本邦では、併用する食事についても低脂肪低残渣食による栄養指導がおこなわれるのが一般的である。一方、欧米では、クローン病の治療の中心は 5-アミノサリチル酸製剤やステロイド剤、免疫抑制剤などの薬物療法であり、成分栄養療法や食事指導がおこなわれることは少ないとされている。今回、本邦と英国のクローン病患者における食事状況の比較検討するために、国際比較調査をおこなった。

一方、近年の臨床研究により、炎症性腸疾患においても prebiotics や probiotics が有用との報告が散見されるが、薬剤のみならず、食品として多くの製剤が市販されており、本邦における使用状況は明らかでない。今回は 5 つの患者会の協力を得て、所属の 900 名にアンケートを送付し、prebiotics、probiotics の使用状況について調査研究をおこなった。

B. 研究方法

研究 1 クローン病の食事状況に関する日英比較

英国の Department of Gastroenterology, St Marks Hospital の Dr Akiko Kato と Dr Alastair Forbes との共同研究として、クローン病の食事状況に関する日英間の比較調査をおこなった。日本での質問票は、英国と同内容の和訳とし、さらに日本食の内容を含めて一部修正した。日本では、滋賀 IBD、兵庫 CD 倶楽部、大阪 IBD、阪大 CD 友の会、かながわ CD、W・ハロー会 (和歌山)、京都 IBD 友の会、萌木の会 (神戸) の協力を得て、英国と同数の 106 名の患者から回答を得た。

質問の内容は、社会環境、発症時期、手術歴の有無、成分栄養剤、ステロイド剤の使用状況、診断後の喫食状況の変化、各種食品の摂取頻度調査、栄養指導の有無などである。

研究 2 IBD 患者における prebiotics、probiotics の使用状況

J-IBD、滋賀 IBD、大阪 IBD、かながわ CD、W/ハロー会 (和歌山) の 5 つの患者会に所属する IBD 患者 900 名に質問票を送付し、prebiotics、probiotics の使用状況、1ヶ月あたりに要する費用について調査した。

C. 研究結果

研究 1 日本では、クローン病と診断された後、油脂類、肉類などの脂肪の豊富な食品、牛乳などの乳製品、繊維の多い種実やキノコ類、あるいは加工食品や香辛料などを制限する割合が 70%以上と極めて多かった。英国では、診断された後にも、診断前と同様の食事を継続される割合が高く、肉類や乳製品を制限する割合は 40%以下と少なかった (図 1)。

一方、診断後に摂取が増加した食品には、日本では魚類が多く、英国ではビタミン剤が多かった（図2）。

病状が悪化すると認識している食品は、日本では肉類、脂物、乳製品、ラーメンなどが多いのに対し、英国では脂物や肉類が病状を悪化させるという認識は極めて低かった（図3）。

**研究2** CD182名、UC148名、計330名(37%)より回答を得た。CDでは、62.6%がprobioticsを、11.5%がprebioticsを使用していた。一方、UCでは、69.0%がprobioticsを、21.8%がprebioticsを使用していた。Probioticsでは、乳酸菌製剤、ビフィズス菌製剤、ヤクルトなどを使用する頻度が高かった。一方、prebioticsでは、オリゴ糖を用いる割合が高かった。1ヶ月の費用では、3000円以下が約60%と多かった。

**D. 考察**

本邦では、低脂肪低残渣食を基本とした極めて細やかな栄養指導が行き届いており、乳製品や香辛料、加工食品は、クローン病を悪化させる食品として十分に認知されている。その結果、クローン病と診断が確定した後に、油脂類や肉類などn-6系多価不飽和脂肪酸の豊富な食品や、乳製品、加工食品などは制限されている。N-6系多価不飽和脂肪酸からアラキドン酸カスケードを介して産生されるLTB<sub>4</sub>やTXA<sub>2</sub>は炎症性メディエーターとして作用することが確認されており、これらの食事療法は合目的であるといえる。しかしながら、過度な食事制限はQOL悪化を招く危険もある。本邦とは逆に、英国では、クローン病と診断された後にも、肉類や油脂類を制限することは少ない。成分栄養剤の使用状況においても同様であるが、食事状況の違いにも、両国間の国民性や社会的な背景、医療経済的な差異が大きく関与しているものと推測される。

Prebioticsの使用頻度は、CD、UCともに低く、1ヶ月あたりの費用も3000円以下となっている。一方、probioticsの使用頻度は、prebioticsに比べて高いが、医薬品の乳酸菌製剤やビフィズス菌製剤の使用頻度が高いことによる。高価な食品製剤を購入されているケースも散見されたが、その割合は極めて低かった。低残渣食を基本とするクローン病の食事では、食物繊維の摂取量が著しく低下し、食事に含まれるprebiotics作用の不足を招く。Prebiotics作用を有する食品は、多くの製品が市販されているが低繊維食を補う繊維食品の使用率は極めて低かった。

**E. 結論**

クローン病の食事状況においては、日英両国間の差異が浮き彫りとなった。今後の栄養指導のあり方を考える上での参考となると思われる。なるべく過度な食事制限を避け、QOLの向上を目指すことが理想である。Prebiotics、probioticsの有用性については、本邦におけるエビデンスに乏しい。多くの種類の食品製剤が市

販されているが、その有用性については不明な製剤も多い。しかも、医療経済的な面から考えると、今後、一定の使用ガイドラインの作成も必要と考えられる。

**F. 研究発表**

第6回日本病態栄養学会 2005年

British Association of Parenteral and Enteral Nutrition 2004年

図1 食品別減少率の日英比較

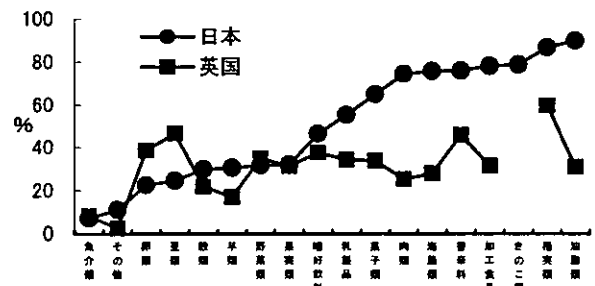


図2 食品別増加率の日英比較

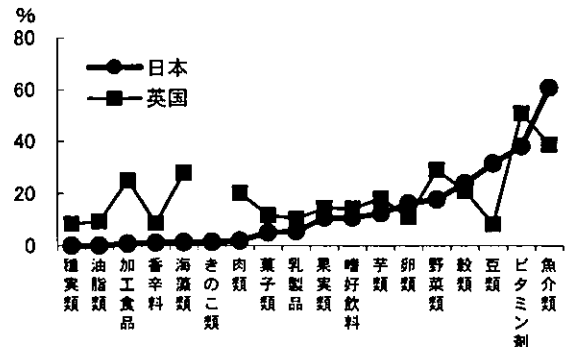
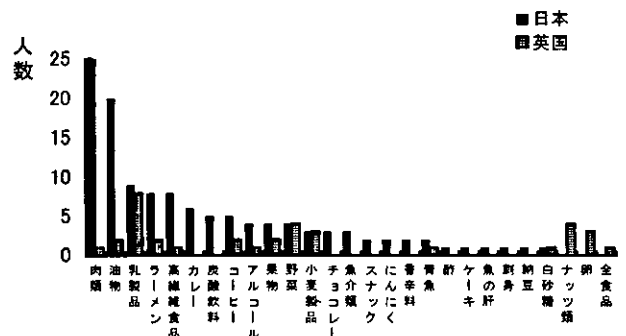


図3 症状が悪化する食品の認識



## IBD の病態解明に向けて Regenerating gene 蛋白の炎症性腸疾患の病態への関与

分担研究者 千葉 勉 京都大学大学院医学研究科消化器内科学講座 教授

研究要旨：炎症性腸疾患における大腸癌 (colitic cancer) 発生のメカニズムは解明されていない。近年、IBD 患者の大腸粘膜に過剰発現する遺伝子をマイクロアレイで検討した結果、Regenerating gene (Reg) 遺伝子が最も強く発現している遺伝子であることが報告された。そこで、IBD 患者の大腸組織における Reg 蛋白の発現と臨床病理学的因子の関連、炎症性サイトカインによる Reg 遺伝子の発現誘導、さらには Reg 蛋白の細胞増殖作用と抗アポトーシス作用を *in vitro* 実験で検討した。その結果、Reg 蛋白は炎症によって傷害された大腸上皮細胞のみならず前癌病変の dysplasia や colitic cancer でも強発現していた。また、IBD 患者の大腸粘膜における Reg 遺伝子の発現は、内視鏡的あるいは病理学的な炎症の程度と相関した。一方、大腸癌培養細胞を用いた *in vitro* 実験では、IFN- $\gamma$  と IL-6 が Reg 遺伝子プロモーターを活性化すること、ならびに、Reg 蛋白が細胞増殖作用と抗アポトーシス作用をもつことが証明された。以上より、Reg 遺伝子の発現はサイトカインの刺激によって誘導され、その遺伝子産物である Reg 蛋白の細胞増殖作用または抗アポトーシス作用が IBD からの大腸癌発生に関与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

潰瘍性大腸炎やクローン病をはじめとする炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) は、寛解と再燃を繰り返す難治性疾患であり、その原因は未だに不明である。そこで近年、IBD の病態解明を目的として、IBD 患者の大腸粘膜に過剰発現する遺伝子をマイクロアレイで検討した結果、異なる3つの施設から共通して、Regenerating gene (Reg) 遺伝子が最も強く発現している遺伝子であることが報告された。このことは、Reg 蛋白が炎症性腸疾患の病態に重要な役割を果たす可能性を示唆している。

Reg 遺伝子は腸の再生時に高発現する遺伝子としてクローニングされたが、その後の研究で、Reg 蛋白は腸の再生を促進させることが明らかとなった。私達はこの Reg 蛋白の消化管における役割に注目し検討を進めてきたが、その結果、Reg 蛋白が胃粘膜上皮細胞に対し増殖促進作用をもつことを明らかにした。さらに私達は、この Reg 蛋白が実際の消化管の病態でどのような役割を果たしているか検討した結果、Reg 蛋白の細胞増殖作用が *Helicobacter pylori* 感染胃炎における胃粘膜の再生や胃癌組織における癌細胞の増殖に関与することも明らかにした。ところで近年、罹患期間が長い IBD 患者の大腸癌発生率が弧発性大腸癌の発生率に比べ有意に高いことが報告されているが、私達の胃癌における成績から、この大腸炎から大腸癌が発生する病態にも Reg 蛋白が深く関与している可能性が示唆される。そこ

で今回我々は、IBD 患者の大腸組織における Reg 蛋白の発現と臨床病理学的因子の関連を解析し、炎症性サイトカインが Reg 遺伝子の発現誘導に関与しているかを検討した。さらに、Reg 蛋白の大腸癌細胞に対する細胞増殖作用と抗アポトーシス作用を *in vitro* 実験で検討した。

### B. 研究方法

1. インフォームドコンセントを取得後、健常者および IBD 患者 (潰瘍性大腸炎およびクローン病) から、内視鏡的に大腸粘膜組織を採取し、RNA を抽出した。健常人を対照として、IBD 患者の Reg 遺伝子発現量を Real-Time PCR 法で評価し、その発現量と臨床病理学的因子の関連を検討した。
2. 外科的に切除された IBD 関連大腸癌 (colitic cancer) と前癌病変 (dysplasia) 対して免疫染色を行い、Reg 蛋白、PCNA の発現を検討した。
3. 1.2kb の Reg 遺伝子プロモーター領域を含むルシフェラーゼベクターを構築し、ヒト大腸癌細胞株である LoVo 細胞、SW403 細胞にトランスフェクションした。これらの細胞を種々のサイトカインで刺激し、Reg 遺伝子プロモーター活性の経時的变化を検討した。
4. リコンビナント Reg 蛋白を LoVo 細胞に投与した後、経時的に MTT assay を行ない、Reg 蛋白の細胞増殖作用を検討した。

5. Reg 蛋白を投与した LoVo 細胞に対して種々の濃度の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激を行い, REG・蛋白の抗アポトーシス作用を TUNEL 染色を用いて評価した。
6. LoVo 細胞に対して Reg 蛋白を投与し, Akt, リン酸化 Akt, Bcl ファミリー蛋白などの抗アポトーシス関連蛋白の発現変化を, ウェスタンブロット法で検討した。

#### C. 研究結果

1. Real-Time PCR の結果, IBD 患者の大腸粘膜では, Reg 遺伝子の発現が健常者に比べて著しく増強し, その発現強度は, 内視鏡的あるいは病理学的な炎症の程度や, colitic cancer のリスクファクターである罹患期間と有意に相関していた。
2. 免疫染色の結果, Reg 蛋白と PCNA はともに, 炎症によって傷害された大腸上皮細胞のみならず dysplasia や colitic cancer でも強発現していた。
3. 大腸癌培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイの結果, IFN- $\gamma$  と IL-6 の刺激により Reg 遺伝子プロモーターが活性化された。
4. MTT assay の結果, Reg 蛋白を投与した大腸癌細胞は, コントロール大腸癌細胞に比べ, 有意に細胞数の増加を認め, Reg 蛋白の細胞増殖作用を確認した。
5. TUNEL 染色の結果, Reg 蛋白を投与した大腸癌培養細胞は, コントロールに比べて有意にアポトーシス細胞の割合が減少し, Reg 蛋白の抗アポトーシス作用を確認した。
6. Reg 蛋白を投与した大腸癌培養細胞において, リン酸化 Akt, Bcl-2 および Bcl-xL 蛋白の発現増加が見られた。

#### D. 考察

今回の研究では, 大腸粘膜における Reg 遺伝子発現は, 健常人に比べて IBD 患者で著しく増強しており, その発現強度は大腸炎の炎症程度に比例していた。このことから, Reg 遺伝子が IBD の病態に関与しているのは明らかであり, その発現誘導に関しては炎症に関連する因子が関与していると考えられた。そこで, *in vitro* 実験において, サイトカイン刺激による Reg 遺伝子プロモーターの活性化を検討したところ, 実際, IL-6 と IFN- $\gamma$  が Reg 遺伝子プロモーターを活性化し, Reg 遺伝子の発現を誘導することが明らかとなった。これらのことから, IBD 大腸組織における Reg 遺伝子の発現増強には, 炎症に伴って大腸組織で産生される IL-6 と IFN- $\gamma$  が重要な役割を果たしていると考えられた。

IBD 大腸組織における Reg 蛋白の発現を免疫染色で検討した結果, Reg 蛋白が, 炎症によって傷害された大腸上皮細胞のみならず, dysplasia や colitic cancer の腫瘍細胞にも強発現していることが明らかになった。また, 興味深いことに, Reg 遺伝子の発現は大腸癌発生の危険性が高い長期罹患 IBD 患者で有意に増強していた。これらことは, Reg 蛋白が大腸炎の病態のみならず大腸炎からの発癌機序にも関与している可能性を示唆する。

一方, 今回我々は Reg 蛋白が大腸癌細胞に対して細胞増殖作用のみならず抗アポトーシス作用をもつことも示した。したがって, これらの結果から, Reg 蛋白の細胞増殖作用または抗アポトーシス作用が dysplasia や colitic cancer の発生に関与していることが示唆される。

#### E. 結論

Reg 遺伝子の発現はサイトカインの刺激によって誘導され, その遺伝子産物である Reg 蛋白の細胞増殖作用または抗アポトーシス作用が IBD からの大腸癌発生に関与している可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

とくに該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takeda J, Kitajima K, Fujii S, Horiuchi H, Hori H, Chibana Y, Okuyama T, Tominaga K, Ichikawa K, Ono U, Teramoto T, Ohkura Y, Imura J, Shinoda M, Chiba T, Sakamoto C, Kawamata H, Fujimori T: Inhibitory effects of etodolac, a selective COX-2 inhibitor, on the occurrence of tumors in colitis-induced tumorigenesis model in rats. *Oncology Rep* 11:981-985:2004.
2. Fujii S, Fujimori T, Kawamata H, Takada J, Kitajima K, Omotehara F, Kaihara T, Kusaka T, Ichikawa K, Ohkura Y, Ono Y, Imura J, Yamaoka S, Sakamoto C, Ueda Y, Chiba T: Development of colonic neoplasia in p53 deficient mice with experimental colitis induced by dextran sulfate sodium. *Gut* 53:710-716:2004.
3. Fukui H, Fujii S, Takeda J, Kayahara T, Sekikawa A, Nanakin A, Suzuki K, Hisatsune H, Seno H, Sawada M, Fujimori T, Chiba T: Expression of RegI  $\alpha$  protein in human gastric cancer. *Digestion* 69:177-184:2004.
4. Suzuki K, Meek B, Doi Y, Muramatsu M, Chiba T, Honjo T, Fagarasan F: Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:1981-1986:2004.
5. Suzuki K, Fukui H, Kayahara T, Sawada M, Seno H, Hiai H, Kageyama R, Okano H, Chiba T: Hes1-deficient mice show precocious differentiation of Paneth cells in the small intestine. *Biochem Biophys Res Commun* 328: 348-352: 2005.
6. Fukuda A, Nakase H, Seno H, Chiba T. Successful treatment for doudeno-colonic fistula in a patient with Crohn's disease with tacrolims. *J Gastroenterol* 2005 (in press).
7. Matsuura M, Okazaki K, Nishio A, Nakase H, Tamaki

- H, Uchida K, Nishi T, Asada M, Kawasaki K, Fukui T, Yoshizawa H, Ohashi S, Inoue S, Kawanami C, Hiai H, Tabata Y, Chiba T: Therapeutic effects of rectal administration of basic fibroblast growth factor on experimental murine colitis. *Gastroenterology* 2005 (in press).
8. S Fujii, K Tominaga, K Kitajima, J Takeda, T Kusaka, M Fujita, K Ichikawa, S Tomita, Y Ohkura, Y Ono, J Imura, T Chiba, T Fujimori : Methylation of the estrogen receptor gene in non-neoplastic epithelium as a marker of colorectal neoplasia risk in long-standing and extensive ulcerative colitis. *Gut* 2005 (in press)
2. 学会発表
1. 川崎公男、西尾彰功、岡崎和一: Helicobacter 感染胃粘膜障害におけるチオレドキシンの防御作用の検討: 第90回日本消化器病学会・パネルディスカッション, 2004. 4. 21
2. 井上聡子、仲瀬裕志、西尾彰功: 炎症性腸疾患における上皮再生および炎症からみた転写因子 NF- $\kappa$ B の重要性: 第90回日本消化器病学会・ワークショップ, 2004. 4. 21
3. H Nakase, K Okazaki, T Chiba: Novel Specific Antibodies Against Insertion Element 900 of Mycobacterium Paratuberculosis in Japanese Patients with Crohn's Disease: Digestive Disease Week and the 105th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association, 2004. 5. 15
4. 松浦 稔、西尾彰功、仲瀬裕志、玉置敬之、井上聡子、田畑泰彦、千葉 勉: basic FGFによる腸炎改善効果の作用機序に関する基礎的検討: 第41回日本消化器免疫学会総会, 2004. 7. 15
5. 福井広一、鈴木克昌、菅原隆久、澤田光孝、千葉 勉: 小腸における神経幹細胞マーカーMusashi-1, Hes1の発現とその役割について: 第36回胃分泌研究会, 2004. 8. 7
6. 玉置敬之、仲瀬裕志、西尾彰功: 難治性クローン病に対する tacrolimus 投与-自験例 10例における有効性の検討: 第46回日本消化器病学会大会・シンポジウム, 2004. 10. 21
7. 藤井茂彦、富永圭一、武川賢一郎、堀 宏成、知花洋子、喜多嶋和晃、武田 純、藤田幹夫、市川一仁、富田茂樹、小野祐子、大倉康男、千葉 勉、藤盛孝博: 大腸粘液癌における BRFA 遺伝子変異: 第46回日本消化器病学会大会, 2004. 10. 21
8. H. Tamaki, H. Nakamura, H. Nakase, K. Okazaki, J. Yodoi, T. Chiba: Human Thioredoxin-1, a novel therapeutic molecule, treats experimental colonic inflammation: The 2nd Science and Research Symposium, 2004. 11. 11
- II. 知的所有権の取得状況  
特許取得、実用新案登録は現在のところおこなっていない。

## 炎症性腸疾患における Heme oxygenase の役割に関する研究

研究協力者 吉川 敏一 京都府立医科大学大学院医学研究科生体機能制御学 教授

研究要旨：マウス Dextran Sodium Sulfate (DSS) 腸炎モデルを用いて誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 由来の一酸化窒素 (NO) ならびに Hemoxygenase-1 (HO-1) から誘導される一酸化炭素 (CO) の役割を検討した。その結果、腸炎の発現過程において発現の亢進する HO-1 は生体防御に関与し、iNOS は炎症の促進に関与していることが示された。また、各々から誘導されるガス状メディエーターである NO, CO は炎症の場において互いに制御していることが示された。今後さらなる検討を行いヒト炎症性腸疾患における新規治療標的分子としての可能性に関して調査研究していきたい。

### 共同研究者

内藤裕二<sup>1)</sup> 高木智久<sup>2)</sup>

### 所属

京都府立医科大学大学院医学研究科消化器病態制御学<sup>1)</sup>

同 生体機能制御学<sup>2)</sup>

### A. 研究目的

Hemoxygenase-1 (HO-1) やこの HO-1 から誘導される一酸化炭素 (CO) は炎症抑制的に働くことが報告されている。我々は昨年度、本研究事業においてマウス Dextran Sodium Sulfate (DSS) 腸炎モデルにおいて HO-1 が Th1/Th2 cytokine balance の維持を通じて炎症制御に重要な役割を担っていることを報告してきた。一方、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 由来の一酸化窒素 (NO) は炎症性腸疾患の病態形成に重要な役割を担っていることが知られている。そこで今回我々は、マウス Dextran Sodium Sulfate (DSS) 腸炎モデルを用いて 2 つのガス状メディエーターである CO, NO の役割を検討した。

### B. 研究方法

7 週齢雄性 BALB/c マウスを用いて、8% DSS (分子量 8000) の自由飲水により炎症性腸疾患モデルを作製した。経時的に体重変化、腸管長、腸管内出血、炎症性サイトカイン蛋白量・mRNA 発現を検討し、組織学的に炎症像の評価を行った。また、経時的に大腸粘膜中の iNOS, HO-1 mRNA 発現を検討し、腸管内の NO, CO 濃度を測定した。また、NO, CO のセカンドメッセンジャーである腸管粘膜中 cGMP 濃度を測定した。さらに、iNOS 阻害剤 ONO1714, HO-1 阻害剤 Zinc Protoporphyrin (ZnPP) を投与することによる病態の修飾についても検討を加えた。本実験に関しては本学内実験動物取り扱い規約を遵守して施行された。

### C. 研究結果

DSS 腸炎では大腸粘膜層を中心に著明な炎症細胞浸潤を伴う腸炎が発生し、1) DSS 腸炎では経時的に大腸粘膜における iNOS, HO-1 mRNA 発現の増加、腸管内 NO, CO の増加が認められた。2) ONO-1714 は DSS 腸炎を有意に改善させ ZnPP は DSS 腸炎を有意に増悪させた。また、ZnPP 投与による腸炎の増悪は ONO-1714 の投与により改善された。3) ZnPP は DSS 腸炎における iNOS, NO 発現に影響を及ぼさないが、cGMP は有意に上昇していた。

### D. 考察

DSS 腸炎の発症に伴い大腸粘膜における HO-1 の発現は経時的に誘導されてきた。HO-1 阻害剤 ZnPP 投与により腸炎の有意な増悪を認めたことから、この HO-1 の発現は組織保護的もしくは修復的に働いている可能性が考えられた。一方、iNOS 阻害剤 ONO1714 の投与は腸炎を有意に改善させ iNOS 発現は炎症促進的に働いていることが示された。

HO-1, iNOS からそれぞれ誘導されるガス状メディエーターである CO, NO はこの炎症の局面で互いに制御していることが判明した。すなわち、炎症が著しい大腸粘膜において NO 産生が亢進しており、同じく産生亢進している CO がこの NO の作用に拮抗し炎症制御に作用していることが示された。

### E. 結論

DSS の成立とともに発現の亢進する HO-1 は生体防御に関与し、iNOS は炎症の促進に関与していることが示された。また、各々から誘導される NO, CO は炎症の場において互いに制御していることが示された。

### F. 研究発表

別紙参照

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

取得なし

2. 実用新案登録

登録なし

3. その他

特記事項なし

## ベーチェット病 (BD) 患者末梢血単核球における Streptococcus sanguis の cell wall に対する反応性に関する研究

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：ベーチェット病 (BD) 患者末梢血単核球における Streptococcus sanguis の cell wall に対する反応性について検討した。BD では UC および control と比べてその末梢血単核球が Streptococcus sanguis の cell wall に対し過剰な免疫応答を示すことが示唆された。また、IL-8・TNF- $\alpha$  の産生において、control・BD・UC とも p38MAPK・NF- $\kappa$ B を介する経路が関与していることが示唆された。

### 共同研究者

蝦名佐都子<sup>1)</sup> 石黒 陽<sup>1)</sup> 山形和史<sup>1)</sup>  
櫻庭裕丈<sup>1)</sup> 藤田 均<sup>1)</sup> 平賀寛人<sup>1)</sup>  
島谷孝司<sup>1)</sup>、中根明夫<sup>2)</sup>

### 所属

弘前大学医学部第一内科<sup>1)</sup>  
弘前大学医学部細菌学<sup>2)</sup>

### A. 研究目的

ベーチェット病 (以下 BD) は慢性の全身性炎症性疾患であり、連鎖球菌群に対して高い感受性をもっていることが示唆されている。また、治療薬剤については colchicine や infliximab, thalidomide の有効性が示唆されており、TNF- $\alpha$  や IL-8 の病態への関与が示唆される。Streptococcus sanguis の cell wall に対する反応性と pathway を明らかにすることを目的とする。

### B. 対象

ステロイド未使用の BD6 例、ステロイド未使用の UC4 例、および健常対照 (control) 3 例を対象とした。

### C. 研究結果

①非刺激時の IL-8 産生量と TNF- $\alpha$  産生量は UC において control に比し有意に ( $p < 0.05$ ) 増加していた。BD では control に比し有意差はみられなかった。

②cell wall 刺激時の IL-8 産生量は BD・UC とも control に比し有意に ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) 増強していた。cell wall 刺激時の TNF- $\alpha$  産生量は BD で最も高値であったが他群に比し有意差はみられなかった。

③cell wall 刺激による IL-8 増加率は BD で最大 (35.4

倍) であり UC (6.3 倍) に比し有意な ( $p < 0.05$ ) 増加がみられた。TNF- $\alpha$  の増加率は BD で最大 (10.9 倍) であったが有意差はみられなかった。

④cell wall 刺激による IL-8・TNF- $\alpha$  産生は control・BD・UC とも SB203580 および MG-132 で有意 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ) に抑制されたが、Curcumin では抑制されなかった。

### D. まとめ

BD では UC および control と比べて IL-8・TNF- $\alpha$  ともに cell wall 刺激により産生量が最も大きく増加したことから、BD 患者の末梢血単核球が Streptococcus sanguis の cell wall に対し過剰な免疫応答を示すことが示唆された。また、IL-8・TNF- $\alpha$  の産生において、control・BD・UC とも p38-MAPK・NF- $\kappa$ B を介する経路が関与していることが示唆された。

### E. 参考文献

- 1) Fumio Kaneko, Noritaka Oyama, Akiko Nishibu. Streptococcal Infection in the Pathogenesis of Behcet's Disease and Clinical Effects of Minocycline on the Disease Symptoms. Yonsei Med Journal 1997;38:444-454
- 2) Emiko Isogai, Shigeaki Ohno, Koichi Takeshi, et al. Close Association of Streptococcus sanguis Uncommon Serotypes with Behcet's Disease. Bifidobacteria Microflora 1990;9:27-41
- 3) Kenji Yokota, Shunji Hayashi, Yoshio Araki, et al. Characterization of Streptococcus sanguis Isolated from Patients with Behcet's Disease. Microbiol. Immunol. 1995;39:729-732



## $\gamma\delta$ 型腸管上皮細胞間 T 細胞 ( $\gamma\delta$ -IEL) の胸腺外発達分化局所の追究

分担研究者 石川 博通 慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学 教授

研究要旨：腸管上皮細胞間には膨大な数の腸管上皮細胞間 T 細胞 (intestinal intraepithelial T cells: IEL) が分布し、いわゆる胸腺由来の T 細胞とは性質の異なった T 細胞であることが分かっている。マウス IEL には  $\alpha\beta$  型 TCR を保持する  $\alpha\beta$ -IEL と  $\gamma\delta$  型 TCR を保持する  $\gamma\delta$ -IEL が存在し、約半数の  $\alpha\beta$ -IEL とほぼすべての  $\gamma\delta$ -IEL は胸腺を欠如するヌードマウスにも十分みられる。これらの IEL、特に  $\gamma\delta$ -IEL 前駆細胞が集積する新しいリンパ組織“クリプトパッチ”をマウス小腸粘膜細胞の陰窩に同定した。近年、ヌードマウスの T 細胞が腸間膜リンパ節 (MLN) やパイエル板 (PP) で発達分化することが報告 (JEM193:333, 003) されたので、本研究はこれの検証を目指した。

### A. 研究目的

胸腺を欠如するヌード (nu/nu) マウスにみられる  $\gamma\delta$ -IEL の発達分化に MLN や PP が必須であるか否かを明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

胸腺が存在する nu/+ 雌マウスと胸腺を欠如する nu/nu 雄マウスを交配し、妊娠 13 日目と 16 日目の nu/+ 雌マウスに 200 $\mu$ g の LT $\beta$ -R-Ig と TNFR-55-Ig 融合蛋白質を投与し、全身のリンパ節や PP を欠損する nu/nu マウス (nu/nu LNP) マウスを得た。さらに nu/nu マウスと aly/aly (aly:alymphoplasia) マウスから nu/nu aly/aly マウス (胸腺、すべてのリンパ節、PP 及び腸管粘膜に分布する孤立リンパ小節を欠損するミュータントマウス) を作製して、 $\gamma\delta$ -IEL とクリプトパッチの有無を精査した。

(倫理面への配慮)

実験動物取扱い規定に従って行った。

### C. 研究結果

nu/nu LNP 及び nu/nu aly/aly マウスにも CD8 $\alpha\alpha$ <sup>+</sup> サブセットを主とする  $\gamma\delta$ -IEL が十分発達分化することや、クリプトパッチが存在することが明らかとなった。

### D. 考察

nu/nu マウスの  $\gamma\delta$ -IEL と比較して nu/nu LNP 及び nu/nu aly/aly マウスの  $\gamma\delta$ -IEL 数はやや減少していた。この事実から MLN や PP が  $\gamma\delta$ -IEL の発達分化局所の一部である可能性は否定出来ない。

### E. 結論

nu/nu マウスの  $\gamma\delta$ -IEL 発達分化に MLN や PP が必須でないことが明らかになるとともに、クリプトパッチが発達分化に必要であることが示唆された。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

“国際誌”

- 1) Shikina, T., Hiroi, T., Iwatani, K., Ho Jang, M., Fukuyama, S., Tamura, M., Kubo, T., Ishikawa, H. and Kiyono, H. IgA class switch occurs in the organized nasopharynx- and gut- associated lymphoid tissue, but not in the diffuse lamina propria of airways and gut. *The Journal of Immunology* 172 :6259-6264, 2004.
- 2) Uezu, K., Kawakami, K., Miyagi, K., Kinjo, Y., Kinjo, T., Ishikawa, H. and Saito, A. Accumulation of gamma-delta T cells in the lungs and their regulatory roles in Th1 response and host defense against pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*. *The Journal of Immunology* 172 :7629-7634, 2004.
- 3) Matsuo, K., Galson, D.L., Zhao, C., Peng, L., Laplace, C., Wang, K. Z. Q., Bachler, M. A., Amano, H., Aburatani, H., Ishikawa, H. and Wagner, E. F. Nuclear factor of activated T-cells (NFAT) rescues osteoclastogenesis in precursors lacking c-Fos. *The Journal of Biological Chemistry*

279 :26475-26480, 2004.

- 4) Nonaka, S., Naito, T., Chen, H., Yamamoto, M., Moro, K., Kiyono, H., Hamada, H. and Ishikawa, H.  
Intestinal  $\gamma\delta$  T Cells Develop in Mice Lacking Thymus, All Lymph Nodes, Peyer's Patches and Isolated Lymphoid Follicles.  
The Journal of Immunology  
174 :1906-1912, 2005.
- 5) Ishikawa, H., Kanamori Y., Hamada, H and Kiyono H. 2005. Development and Function of Organized Gut-Associated Lymphoid Tissues. In Mucosal Immunology. P.L. Ogra, J. Mestecky, M.E. Lamm, W. Strober, J. Bienenstock, and J.R. McGhee, eds. Academic Press, San Diego, P. 385-405.
- 6) Kai, Y., Takahashi, I., Ishikawa, H., Hiroi, T., Mizushima, T., Kishi, D., Hamada, H., Tamagawa, H., Ito, T., Yoshizaki, K., Kishimoto, T., Matsuda H. and Kiyono, H.  
Absence of common cytokine receptor  $\gamma$  chain results in the development of colitis by IL-6-producing CD4<sup>+</sup> T cells.  
Gastroenterology 2005 (in press)

#### “国内誌”

- 1) 南野昌信, 石川博通.  
腸管粘膜における孤立リンパ小節とクリプトパッチの発生と機能  
実験医学 (増刊 免疫研究のフロンティア) 22 (No5) : 184 (750) -188 (754), 2004年3月.
- 2) 村井政子, 石川博通.  
腸管免疫の特殊性とGVHD  
分子消化器病 1 (No.2) : 6 (98) -10 (102), 2004年6月.
- 3) 石川博通.  
腸管粘膜免疫とアレルギーの制御【シンポジウム】  
日本医学会シンポジウム記録集 : 68-75, 2004
- 4) 南野昌信, 石川博通.  
腸管リンパ組織の形成機構  
アレルギー科 18 (No6) : 476-482, 2004年12月6月

#### 2. 学会発表

- 1) 木邊量子, 野中聡史, 坂本光央, 保坂奈美, 横田博, 石川博通, 辨野義己.  
腸管上皮間T-cellによる腸内細菌叢の統御.  
第77回日本細菌学会総会・学術集会, 大阪, 2004年4月1日~3日
- 2) 松尾光一, 後藤真一, 石川博通, 松井秀則.  
サルモネラのマクロファージ内増殖機構の解析.

第77回日本細菌学会総会・学術集会, 大阪, 2004年4月1日~3日

- 3) 石川博通.  
腸管粘膜免疫とアレルギーの制御.  
第126回日本医学会シンポジウム, 東京, 2004年6月24日
- 4) 茂呂和世, 陳昊, 村井政子, 石川博通.  
胸腺欠損マウスにおけるT細胞抗原受容体 (TCR) 遺伝子再構成の場の追究.  
第16回日本比較免疫学会・学術集会, 沖縄, 2004年8月25日~27日
- 5) Hiroichi Ishikawa.  
<symposium; Mucosal Immune System> Functional Development of Intestinal Immune Surveillance.  
Korean Immunology Conference, Seoul, Korea, 2004年10月22日~23日
- 6) Hiroichi Ishikawa.  
Functional Development of Intestinal Immune Surveillance.  
2004 KOSEF-JSPS Asian Science Seminar, Seoul, Korea, 2004年10月24日~27日
- 7) 石川博通  
腸管粘膜免疫防御の特殊性.  
第2回Pfizer Science and Research Symposium, 名古屋, 2004年11月11日
- 8) 石川博通  
腸管粘膜の生体防御機構.  
第9回SIRS/sepsis研究会, 東京, 2004年11月27日
- 9) 木邊量子, 保坂奈美, 石川博通, 辨野義己.  
腸管上皮間T細胞の違いによる腸内細菌叢の変化.  
第34回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 2004年12月1日~3日
- 10) 陳昊, 南野昌信, 金成安慶, 内藤智昭, 石川博通.  
T細胞抗原受容体 (TCR)  $\alpha$ 鎖欠損マウスの炎症性腸疾患における $\gamma\delta$ -T細胞の役割.  
第34回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 2004年12月1日~3日
- 11) 茂呂和世, 森美穂, 廣田真衣, 石川博通.  
腸管上皮間 $\gamma\delta$ T細胞 ( $\gamma\delta$ -IEL) の胸腺外発達分化機構の追究.  
第34回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 2004

年12月1～3日

12) Ray Neelanjan, Gen-ichiro Sano, Hikomichi  
Ishikawa, Koichi Matsuo.

c-Fos suppresses systemic inflammatory  
response to endotoxin.

第34回日本免疫学会総会・学術集会, 札幌, 2004  
年12月1日～3日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
特になし

## 抗 ECP 抗体による Dextran Sulfate Sodium 腸炎の抑制

研究協力者 牧山 和也 長崎大学光学医療診療部 助教授

研究要旨：好酸球の浸潤が潰瘍性大腸炎（以下、UC）患者の大腸炎症性粘膜において活動期のみならず緩解期にも目立ち、しかも“活性化された好酸球”で“eosinophil cationic protein（以下、ECP）を放出している”ことを我々は明らかにし<sup>1)</sup>、さらに抗 ECP 抗体を作成した<sup>2)</sup>。今回、この抗体の腸炎抑制作用を UC の実験モデルである dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis を用いて検討した。結果は、抗 ECP 抗体投与群では、対照群に比して体重増加が有意に高く、血便、下痢の頻度は減少した。Ulcer Index は低下を示し、大腸の短縮は軽減された。再生表層上皮における Ki-67 陽性細胞が多く観察され、ED1 陽性細胞の数およびサイズは減少した。大腸組織における ED1 および MIF の発現は低値を示した。以上より、DSS 腸炎において、抗 ECP 抗体は ECP の組織傷害作用を抑制することが示され、1) 大腸上皮の再生能を高め、2) マクロファージを介した免疫反応を down regulation することによって組織傷害を抑制したと考えられた。

### 共同研究者

七條和子 関根一郎

### 所属

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科原研病理

投与は 1 匹当たり、0 日と 1 日目に 0.25 ml、その後の 5 日間は 0.5ml ずつ連日腹腔内投与した。体重、血便、下痢を観察し、Ulcer Index と大腸の長さを測定した。ラットの取り扱いには長崎大学動物実験委員会規定に従って行った。

3. 免疫染色：ED1 抗体（活性化マクロファージ）、Ki-67 抗体（増殖細胞）を用い、Histofine Simple Stain Kit を使用した。

4. Western blot 法：大腸組織について SDS-PAGE でタンパクを分離後、ED1 抗体、macrophage migration inhibitory factor (MIF) 抗体を用い、ECL detection kit にて検出した。

### A. 研究目的

好酸球は G/M-CSF、IL-6、IL-2、YNF- $\alpha$ 、神経成長因子、IL-5、幹細胞因子など多くの多面性サイトカインを発現あるいは遊走し、生体にとって重要な役割を果たしている。この好酸球の浸潤が UC 患者の大腸炎症性粘膜において活動期のみならず緩解期にも目立ち、しかも“活性化され、ECP を放出している好酸球”であることを我々は明らかにしてきた<sup>1)</sup>。今回の研究目的は、我々が作成した抗 ECP 抗体の腸炎抑制作用を追求するために、UC の実験モデルである DSS 腸炎を用いて検討することであった。

### B. 研究方法

#### 1. 抗 ECP 抗体

既に報告しているように<sup>2)</sup>、ECP ポリペプチドの合成は Barker ら<sup>3)</sup> が明らかにしたヒト ECP アミノ酸配列をもとに、ラットに相同性が高い部分と考えられているアミノ酸配列、TRAQWFAlQHISLNPPR の部分を選択し合成した。さらに Hemocyanin Keyhole Limpet: KLH タンパクとのコンジュゲートを作製した後、ウサギへ免疫し抗 ECP 抗体を得た。

#### 2. 実験腸炎の作製

ラットに 3%DSS を飲水にて 7 日間投与した。ECP 抗体

### C. 研究結果

1. 抗 ECP 抗体投与群では、対照群に比して有意に体重増加を認めた。血便、下痢の頻度は減少した。

2. DSS 投与後 3 日目には大腸組織の傷害された陰窩に沿って好酸球が出現し、ECP 抗体による免疫染色では好酸球及び細胞外の粘膜固有層内に陽性反応が認められた。7 日目には陰窩の消失、強い炎症細胞浸潤及び潰瘍が認められた。抗 ECP 抗体投与群では、対照群に比して全般的な病理組織学的変化は軽度だった。Ulcer Index は低値を示し、大腸の短縮は軽減された (Table)。再生表層上皮において Ki-67 陽性細胞が多く観察され、ED1 陽性細胞の数およびサイズは減少した。

Table Effect of anti-ECP antibody  
on ulcer index and colon length

Groups	Ulcer Index (%) <sup>a</sup>	colon length (cm)
DSS+normal serum	61.1±25.5	12.3±0.6
DSS+anti-ECP	43.1±29.4 <sup>b</sup>	13.4±0.4 <sup>c</sup>

Data are mean±SEM.(n=7)

<sup>a</sup>Ulcer length/circumference length×100.

<sup>b</sup>p<0.05, compared with DSS+normal serum

<sup>c</sup>p<0.01, compared with DSS+normal serum

3. Western blot 法による ED1 および MIF の発現は、抗 ECP 抗体投与群で低値を示した。

#### D. 考察

ECP は 1974 年、Olsson ら<sup>4)</sup>によって命名され、これまでに、1) 殺菌作用、2) 殺寄生虫作用、3) 細胞、組織障害作用、4) 神経毒性、5) リンパ球増殖抑制作用、6) ヒスタミン遊離促進作用、7) 血液凝固および線維素溶解作用、8) ribonuclease 活性作用などがあることが報告されているが、まだ不明な点が多い。2001 年、Th2 優位炎症性腸疾患において、eotaxin 1 の介在のもとに好酸球が増加することが報告されているが<sup>5)</sup>、一方、IL-5 による好酸球の誘導が DSS 腸炎モデルの病態の発症と進展に関係がないとした報告もみられる<sup>6)</sup>。しかしながら、好酸球が活性化を受けると脱顆粒を起こし、major basic protein、eosinophil peroxidase、ECP などの顆粒蛋白や二重項酸素を放出し組織傷害を惹起する考えに異論はない。しかし、UC の炎症性粘膜に多く浸潤している活性化好酸球の組織傷害作用についてはほとんど解明されていない。

今回、我々は、抗 ECP 抗体がラット DSS 腸炎モデルにおいて臨床症状および粘膜組織傷害パラメーターの改善をもたらすことを示した。さらに、傷害された大腸粘膜表層上皮の再生能を増強させること、2) マクロファージを介した免疫反応を down regulation することによって DSS 腸炎を抑制することを明らかにした。

したがって、ECP は UC の大腸粘膜傷害に強く関与していることが示唆され、また、抗 ECP 抗体の臨床応用への可能性を模索する糸口として期待がもてる。

#### E. 結論

抗 ECP 抗体は、DSS 腸炎において ECP の組織傷害作用に抑制的に働き、この抑制作用は、1) 傷害された大腸の表層上皮の再生能を高め、2) マクロファージを介した免疫反応を down regulation することによって考えられた。

#### F. 文献

- 1) Makiyama K, Kanzaki S, Yamasaki K, et al. : Activation of eosinophils in the pathophysiology of ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 30: 64-69, 1995.
- 1) Makiyama K, Tsuzimura N. : Synthesis and evaluation of an ECP polypeptide as a polyclonal antibody for staining of migrating inflammatory cells in the colonic mucosa of patients with ulcer active colitis (in Japanese). *The Japan Ministry of Health, Labour and Welfare p. 113-115, 2004.*
- 3) Barker RL, Loegerring DA, Ten RM, et al. : Eosinophil cationic protein cDNA: Comparison with toxic cationic proteins and ribonucleases. *J Immunol* 143: 952-955, 1989.
- 4) Olsson I, Venge P: Cationic proteins of human granulocytes. Separation of the cationic proteins of the granules of leukemic cells. *Blood* 44: 235-246, 1974.
- 5) Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, et al: A pathological function for eotaxin and eosinophilic gastrointestinal inflammation. *Nat Immunol* 2: 353-360, 2001.
- 6) Stevceva L, Pavli P, Husband A, et al: Eosinophilia is attenuated in experimental colitis induced in IL-5 deficient mice. *Genes Immunity* 1: 213-218, 2000.

## SAMP1/Yit マウス回腸炎粘膜における免疫担当細胞動態の生体観察 および抗接着分子抗体の腸炎抑制効果の検討

研究協力者 三浦 総一郎 防衛医科大学第二内科 教授

研究要旨：クローン病類似回腸炎を自然発症する SAMP1/Yit マウスの回腸末端における免疫担当細胞動態の生体観察では、微小血管において T リンパ球および単球 migration の増加を認めた。また、組織学的に MadCAM-1・VCAM-1 陽性血管、CD68・PSGL-1 陽性細胞の増加を認めた。免疫担当細胞の migration は抗接着分子抗体投与により抑制された。さらに抗 MadCAM-1 抗体、抗 PSGL-1 抗体の定期投与は回腸炎を抑制した。SAMP1/Yit マウスの腸炎発症において接着分子の発現増加を伴う免疫担当細胞の migration 増加の関与が示唆され抗接着分子抗体の治療応用の可能性が考えられた。

### A. 研究目的

クローン病類似回腸炎を自然発症する SAMP1/Yit マウスを用いて腸炎発症腸管における T リンパ球および単球の migration の生体観察を行い、さらに血管内皮接着分子の発現を組織学的に検討し、腸炎の発症進展における関与につき検討した。

### B. 研究方法

AKR/J (コントロール) マウスの脾臓および腸間膜リンパ節から T リンパ球は分離カラムで単球は CD14 陽性細胞として MACS を用いて単離し、AKR/J および約 30 週齢の SAMP1/Yit マウスに尾静脈から投与した。生体顕微鏡を用いて回腸末端部パイエル板 PCV (postcapillary venule)、絨毛微小血管、粘膜下細静脈での migration を観察した。また、AKR/J および SAMP1/Yit マウスから回腸を採取し、CD4, CD8, PSGL-1, CD68, MadCAM-1, VCAM-1, P-selectin の発現を免疫組織学的に検討した。

(倫理面への配慮)

防衛医科大学の動物実験規定に基づき計画書を提出し承認された。

### C. 研究結果

SAMP1/Yit マウスの回腸末端では絨毛の短縮、腸管壁の肥厚および CD4, CD8 陽性細胞の増加を認め、回腸炎の発症が確認された。同部位における生体観察では SAMP1/Yit マウスのパイエル板 PCV、絨毛微小血管、粘膜下細静脈において T リンパ球の接着および単球 rolling・接着の増加を認めた。免疫組織学的検討では SAMP1/Yit マウス回腸粘膜での MadCAM-1, P-selectin, VCAM-1 陽性血管, CD68 陽性細胞, PSGL-1 陽性細胞の増加を認めた。T リンパ球の rolling および接着は抗

MadCAM-1 抗体投与により、単球の rolling は抗 PSGL-1 抗体、接着は抗 PSGL-1 抗体および抗 VCAM-1 抗体投与により有意に抑制され、特に抗 PSGL-1 抗体による抑制効果が著明であった。抗 MadCAM-1 抗体または抗 PSGL-1 抗体の週 2 回投与は回腸炎を抑制したが、抗 VCAM-1 抗体は抑制しなかった。

### D. 考察

回腸炎を自然発症するマウスモデルを用いて腸炎発症に関与する免疫担当細胞 migration の関与を検討した。その結果、T リンパ球、単球が各々 MadCAM-1, PSGL-1-P-selectin interaction を介して炎症腸管に浸潤し、腸炎の進展に関与することが示唆された。また、これらに対する抗体投与が慢性腸炎に対する治療として可能性があると考えられた。

### E. 結論

SAMP1/Yit マウスの腸炎発症において細胞および血管内皮接着分子の発現増加を伴う免疫担当細胞の migration 増加の関与が示唆された。

### F. 参考文献

- (1) Matsumoto, S., Okabe, Y., Setoyama, H., Takayama, K., Ohtsuka, J., Funahashi, H., Imaoka, A., Okada, Y., Umesaki, Y. (1998) Inflammatory bowel disease-like enteritis and caecitis in a senescence accelerated mouse P1/Yit strain. *Gut* 43, 71-8.
- (2) Kosiewicz, M.M., Nast, C.C., Krishnan, A., Rivera-Nieves, J., Moskaluk, C.A., Matsumoto, S., Kozaiwa, K., Cominelli, F. (2001) Th1-type responses mediate spontaneous ileitis in a novel murine model of Crohn's disease. *J Clin Invest* 107,

695-702.

(3) Ishii, N., Tsuzuki, Y., Matsuzaki, K., Miyazaki, J., Okada, Y., Hokari, R., Kawaguchi, A., Nagao, S., Itoh, K., Miura, S. (2004) Endotoxin stimulates monocyte-endothelial cell interactions in mouse intestinal Peyer's patches and villus mucosa. *Clin Exp Immunol* 135, 226-32.

(4) McEver, R.P., Cummings, R.D. (1997) Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. *J Clin Invest* 100, S97-103.

(5) Kato, S., Hokari, R., Matsuzaki, K., Iwai, A., Kawaguchi, A., Nagao, S., Miyahara, T., Itoh, K., Ishii, H., Miura, S. (2000) Amelioration of murine experimental colitis by inhibition of mucosal addressin cell adhesion molecule-1. *J Pharmacol Exp*

*Ther* 295, 183-9.

(6) Burns, R.C., Rivera-Nieves, J., Moskaluk, C.A., Matsumoto, S., Cominelli, F., Ley, K. (2001) Antibody blockade of ICAM-1 and VCAM-1 ameliorates inflammation in the SAMP-1/Yit adoptive transfer model of Crohn's disease in mice. *Gastroenterology* 121, 1428-36.

(7) Haddad, W., Cooper, C.J., Zhang, Z., Brown, J.B., Zhu, Y., Issekutz, A., Fuss, I., Lee, H.O., Kansas, G.S., Barrett, T.A. (2003) P-selectin and P-selectin glycoprotein ligand 1 are major determinants for Th1 cell recruitment to nonlymphoid effector sites in the intestinal lamina propria. *J Exp Med* 198, 369-77.

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

潰瘍性大腸炎における虫垂の役割

研究協力者 岡崎 和一 関西医科大学第三内科 教授

研究要旨:潰瘍性大腸炎(UC)における虫垂の役割が、最近注目されている。今回の研究目的は、UC 患者の虫垂における免疫担当細胞の不均衡を明らかにし、UC 発症における虫垂の役割を解明する事である。方法:UC 患者群(活動性全結腸型(A-Pan)、活動性左側結腸型(A-Lt)、活動性左側結腸型で虫垂開口部に炎症を伴っている型(A-Lt/Ap)、非活動性全結腸型(I-Pan)、非活動性左側結腸型(I-Lt))とコントロール群において、虫垂開口部・横行結腸・直腸の内視鏡下生検標本を用いた。粘膜内 T 細胞を分離した後、CD4/CD8 比と活性化 T 細胞の割合を、コントロール群と比較検討した。結果:活動性 UC、特に左結腸型における虫垂の CD4/CD8 比は有意に高値であった。直腸では活動期だけでなく非活動期においても CD4/CD8 比の有意な高値を認めた。活性化初期 CD4+T 細胞の割合は、UC の病型に関係なく虫垂で有意な増加を認めた。活性化晩期 CD4+T 細胞の割合は、A-Pan 群の直腸でのみ有意な増加を認めたが、横行結腸や虫垂では UC の病型に関係なく有意な増加を認めなかった。結論:UC の発症において虫垂は、腸管内抗原の最初の認識部位として重要な役割を演じている可能性が示唆される。

共同研究者

松下光伸 関西医科大学第三内科

A. 研究目的

現在、潰瘍性大腸炎(UC)の病態生理には、主に活性化 CD4 陽性細胞によると思われる Th2 型免疫が関わっていると考えられている(1)。また、種々の遺伝子ノックアウトマウスを用いた研究により、その発症には腸内細菌などの腸内抗原に対する免疫寛容の破綻などの可能性が考えられている。免疫寛容の破綻による自己免疫性疾患マウスモデルでは、最近 FoxP3 CD4 陽性 CD25 陽性のレギュラトリー T 細胞に加え(2)、ヒトの HLA-E に相当する Qa1 分子の関与する MHC I b 拘束性のレギュラトリー CD8 陽性 T 細胞の存在することが明らかになり注目されている(3)。しかし、これらのヒトにおける詳細は不明である。

一方、従来より虫垂は退化した臓器と考えられているが(4)、UC における虫垂の役割が最近注目されている。すなわち、虫垂切除歴のあるヒトでは UC の発症率が有意に低く、虫垂切除により UC 発症だけでなく、病変の進展や重症化あるいは再発の抑制される可能性が考えられている(5, 6)。更に UC のモデル動物である TCR $\alpha$  ノックアウトマウスでは、虫垂切除により腸炎発症の抑制や腸炎の改善が認められ(7)、また UC 患者においても虫垂切除により UC の寛解する例も報告されている(8)。しかしながら、このように UC の発症あるいは病態生理において虫垂は、何らかの関連性が考えられるものの、ヒトに

における虫垂の免疫学的意義については不明である。

今回我々は、UC 患者の炎症粘膜と非炎症粘膜、特に虫垂粘膜における CD4/CD8 比と活性化 CD4+T 細胞の割合と病型とを比較検討する事により、UC の病態生理における虫垂の意義を理解する事を目的とする。

B. 研究方法

対象患者は本研究に対し同意の得られた UC86 例と、コントロール群として大腸憩室やポリープなど非炎症性患者の 27 例である。UC 患者はマッツの分類 2 以上を活動性とし、活動性全結腸型(A-Pan) 15 例、活動性左結腸型(A-Lt) 25 例、更に虫垂開口部に炎症を認めるもの(A-Lt/Ap) 10 例、非活動性全結腸型(I-Pan) 14 例、非活動性左結腸型(I-Lt) 22 例に分類した。

虫垂開口部、横行結腸、直腸の各粘膜の 4 個の生検材料から分離された主に粘膜固有層のリンパ球を使用した。トリパンブルー染色で 90%以上のバイアピリティーを確認後、抗-CD4-PE/ 抗-CD8-FITC 抗体(コルター; 東京)で染色した。また、抗-CD45-PE-Cy5 抗体(イムノテック; フランス)でゲーティング後、抗-CD4-PE 抗体(ニチレイ; 東京)と活性化初期抗原である CD69 に対する抗-CD69-FITC 抗体(ベクトンデイキンソン; 東京)や活性化晩期抗原の HLA-DR に対する抗-HLA-DR-FITC 抗体(イムノテック; フランス)でも三重染色した。そしてフローサイトメトリー(EPICS XL system II; Coulter)にて解析し、CD4/CD8 比や活性化 CD4+T 細胞と病型との関連性について検討した。

我々のパイロットスタディでは、粘膜内 T 細胞で CD4、



CD8, CD69, HLA-DR を表現している細胞割合は、術前の虫垂開口部生検標本と虫垂切除標本では類似していたので、虫垂開口部の生検標本は、虫垂粘膜の免疫応答を反映していると判断した。

結果は平均 ± 標準偏差で表し、Student's t-test にて各 UC 群とコントロール群を比較検討した。p 値は 0.05 (two-tailed) 未満を統計学的に有意と判断した。

### C. 研究結果

活動性 UC、特に左結腸型における虫垂の CD4/CD8 比はコントロール群に比し有意に高値であった (A-Pan;  $p = 0.1654$ , A-Lt;  $p = 0.0166$ , and A-Lt/Ap;  $p = 0.0445$ ) (表 1)。興味深いことに虫垂の CD4/CD8 比が増加するにしたがって、直腸の CD4/CD8 比にも増加傾向が見られ、虫垂と直腸における何らかの関連性が示唆される。また A-Lt/Ap 群では正常粘膜像を呈する横行結腸でも CD4/CD8 比がコントロール群に比し有意に高値であった ( $p = 0.0374$ )。また、直腸では他の結腸部位と異なり非活動期においても CD4/CD8 比の有意な高値を認めた (A-Pan;  $p = 0.0102$ , A-Lt;  $p < 0.0001$ , A-Lt/Ap,  $p < 0.0001$ , I-Pan;  $p = 0.0109$ , and I-Lt;  $p = 0.0046$ )。

表 1. 大腸粘膜における CD4/CD8 比

	A-Pan	A-Lt	A-Lt/Ap	I-Pan	I-Lt	Control s
直腸	2.3 (2.0)*	3.6 (1.6)**	4.9 (2.2)**	1.8 (1.1)*	2.4 (2.0)**	1.0 (0.6)
横行 結腸	1.5 (0.7)	1.1 (0.4)	1.8 (0.4)*	0.9 (0.5)	1.3 (0.9)	1.2 (0.8)
虫垂	3.2 (1.3)	3.5 (1.3)*	3.9 (0.9)*	2.9 (1.9)	2.6 (1.4)	2.6 (1.1)

\*  $p < 0.05$  as compared with the controls.

\*\*  $p < 0.01$  as compared with the controls.

活性化初期抗原である CD69 陽性の CD4+T 細胞の割合は、コントロール群に比し UC の病型に関係なく、虫垂では有意な増加を認めた (A-Pan;  $p = 0.0013$ , A-Lt;  $p = 0.0042$ , A-Lt/Ap;  $p = 0.0245$ , I-Pan;  $p < 0.0001$ , and I-Lt;  $p = 0.0357$ ) が、横行結腸では有意な増加を認めなかった (表 2)。またその割合はコントロール群に比し、直腸では A-Pan 群 ( $p = 0.0497$ ) のみ有意な増加を認めた。以上より、UC の発症において虫垂は、腸管内抗原の最初の認識部位として重要な役割を演じている可能性が示唆される。

表 2. 大腸粘膜における活性化 T 細胞の割合

	A-Pan	A-Lt	A-Lt/A p	I-Pan	I-Lt	Control ls
CD4+CD69 + T 細胞						
直腸	29.7 (4.6)*	23.2 (5.0)	24.0 (7.6)	24.5 (6.2)	28.2 (8.6)	23.1 (4.1)
横行結腸	25.0 (5.7)	20.4 (7.8)	23.4 (4.3)	21.5 (7.3)	22.1 (6.2)	21.0 (9.1)
虫垂	26.6 (3.0)*	28.0 (7.0)*	26.0 (4.0)*	28.9 (3.9)*	25.4 (7.3)*	19.6 (4.1)
CD4+CD69 +T 細胞						
直腸	15.2 (6.2)*	10.1 (3.8)	7.3 (2.4)	11.6 (4.1)	11.1 (6.0)	8.6 (4.7)
横行結腸	13.2 (5.0)	7.9 (4.0)	9.1 (4.9)	14.9 (6.7)	9.5 (3.7)	9.5 (5.3)
虫垂	8.9 (2.4)	9.9 (4.1)	9.9 (2.4)	12.6 (2.8)	10.9 (4.3)	8.8 (3.6)

\*  $p < 0.05$  as compared with the controls.

\*\*  $p < 0.01$  as compared with the controls.

一方、活性化晚期抗原である HLA-DR 陽性の CD4+T 細胞の割合は、コントロール群に比し直腸では A-Pan 群でのみ有意な増加を認めた ( $p = 0.0299$ )、横行結腸や虫垂では UC の病型に関係なく有意な増加を認めなかった。

### D. 考察

UC 発症に関しては、異常な粘膜内の免疫反応が重要な役割を演じていると考えられているが (4)、UC 患者、特に左側結腸型 UC 患者の虫垂における免疫担当細胞に関してはあまり研究されていない。大部分の研究は切除標本からの検討であり、大腸切除は通常、全結腸型の重症例や難治例で行なわれるので、全ての UC 患者の病態把握をしていない欠点がある (9)。そのため我々は、様々な活動性の UC 患者において、内視鏡下の生検標本を用いて粘膜内免疫担当細胞を分離して検討した。通常、虫垂の粘膜は生検できないが、虫垂粘膜の免疫応答を反映していると考えられる虫垂開口部の生検標本を代りに用いた。

CD4/CD8 比は免疫学的活動性の最も有用なマーカーの一つであり、今回の研究では虫垂の CD4/CD8 比は、コントロール群に比較し A-Lt 群と A-Lt/Ap 群において有意に増加していた。また、A-Pan 群においても増加傾向を認めた。興味深いことに虫垂の CD4/CD8 比が増加するにしたがって、直腸の CD4/CD8 比にも増加傾向が見られ、虫垂と直腸における何らかの関連性が示唆された。

A-Lt/Ap 群では正常粘膜像を呈する横行結腸でも CD4/CD8 比がコントロール群に比し有意に高値であっ

た。Matsumoto からも A-Lt 群に比較し A-Lt/Ap 群の全結腸において組織学的炎症の程度が強い傾向があり、特に炎症部位の虫垂開口部と非炎症部位の上行結腸で有意に強いと報告した(10)。これらの事より、CD4/CD8 比は各大腸粘膜における炎症の程度を表していると思われる。また、直腸粘膜では他の結腸部位と異なり非活動期においても CD4/CD8 比の有意な高値を認めた。この事より、有意な免疫不均衡が非活動性の直腸粘膜でも持続しており、この免疫不均衡が持続している限り UC の再燃が起こると考えられる。

種々の遺伝子ノックアウトマウスを用いた研究により、その発症には腸内細菌などの腸内抗原に対する免疫寛容の破綻などの可能性が考えられている(7)。しかし、大腸における腸管内抗原の認識部位は明らかになっていない。そのため、我々は活性化初期抗原である CD69 と活性化晚期抗原である HLA-DR を用いて検討した。CD4+CD69+T 細胞の割合は、コントロール群に比して UC の病型に関係なく虫垂では有意な増加を認めたが、横行結腸では有意な増加を認めなかった。またその割合はコントロール群に比して、直腸では A-Pan 群でのみ有意な増加を認めた。また、CD4+HLA-DR+T 細胞の割合は、コントロール群に比し直腸では A-Pan 群でのみ有意な増加を認めたが、横行結腸や虫垂では UC の病型に関係なく有意な増加を認めなかった。

#### E. 結論

UC の発症において虫垂は、腸管内抗原の最初の認識部位として重要な役割を演じている可能性が示唆される。

#### F. 文献

1. Rachmilewitz D, Karmeli F, Takabayashi K, et al. Immunostimulatory DNA ameliorates experimental and spontaneous murine colitis. *Gastroenterology* 2002;122:1428-1441.
2. Walker MR, Kasproicz DJ, Gersuk VH, et al. Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells. *J Clin Invest* 2003;112:1437-1443.
3. Hu D, Ikizawa K, Lu L, et al. Analysis of regulatory CD8 T cells in *Qa-1*-deficient mice. *Nat Med* 2004;5:516-523.
4. Panaccione R, Sandborn WJ. The appendix in ulcerative colitis: a not so innocent bystander. *Gastroenterology* 1999;117:272-273.
5. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, et al. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2001;344:808-814.
6. Naganuma M, Iizuka B, Torii A, et al. Appendectomy protects against the development of ulcerative colitis and reduces its recurrence: results of a multicenter case-controlled study in Japan. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1123-1126.
7. Mizoguchi A, Mizoguchi E, Chiba C, et al. Role of appendix in the development of inflammatory bowel disease in TCR- $\alpha$  mutant mice. *J Exp Med* 1996;184:707-715.
8. Okazaki K, Onodera H, Watanabe N, et al. A patient with improvement of ulcerative colitis after appendectomy. *Gastroenterology* 2000;119:502-506.
9. Haruta J, Kusugami K, Kuroiwa A, et al. Phenotypic and functional analysis of lamina propria mononuclear cells from colonoscopic biopsy specimens in patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1992;87:448-454.
10. Matsumoto T, Nakamura S, Shimizu M, et al. Significance of appendiceal involvement in patients with ulcerative colitis. *Gastrointest Endosc* 2002;55:180-185.

#### G. 研究発表

末尾参照

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得: 番号 2000-143538
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

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

エビデンスに基づく潰瘍性大腸炎の  
診療ガイドライン開発に関する研究

分担研究者 上野 文昭 大船中央病院 特別顧問

研究要旨：潰瘍性大腸炎の診療の支援を目的とした診療ガイドラインの開発を試みた。文献情報と専門医の意見から構築された診療指標に引用文献とエビデンス・レベルを付記して専門家パネルに配布し、その適切性を評価した。パネル会議を挟んで計3回のデルファイ評価を行った結果、コンセンサスの収束が顕著に認められた。質の高いエビデンスの多い治療に関するカテゴリーでは、文献情報と専門家の評価が比較的高い一致を示した。デルファイ法を用いたコンセンサス形成は、特にエビデンスの得にくいカテゴリーにおいて推奨指標を補充する上で有用と考えられた。

共同研究者

尾藤誠司<sup>1)</sup> 小林健二<sup>2)</sup> 井上 詠<sup>3)</sup>  
古宮憲一<sup>4)</sup> 五十嵐正広<sup>5)</sup> 伊藤裕章<sup>6)</sup>  
正田良介<sup>7)</sup> 杉田 昭<sup>8)</sup> 野口善令<sup>9)</sup>  
樋渡信夫<sup>10)</sup> 福島恒男<sup>11)</sup> 松井敏幸<sup>12)</sup>  
松本啓之<sup>13)</sup> 棟方昭博<sup>14)</sup>

所属

国立病院東京医療センター臨床疫学部<sup>1)</sup>  
東海大学消化器内科<sup>2)</sup>  
慶應義塾大学包括先進医療センター<sup>3)</sup>  
国立病院東京医療センター消化器科<sup>4)</sup>  
北里大学消化器内科<sup>5)</sup>  
大阪大学分子病態内科学<sup>6)</sup>  
国立国際医療センター消化器科<sup>7)</sup>  
横浜市立市民病院外科<sup>8)</sup>  
藤田保健衛生大学一般内科<sup>9)</sup>  
いわき市立総合磐城共立病院<sup>10)</sup>  
横浜市立市民病院<sup>11)</sup>  
福岡大学筑紫病院消化器科<sup>12)</sup>  
兵庫医科大学下部消化管科<sup>13)</sup>  
弘前大学第1内科<sup>14)</sup>

A. 研究目的

臨床現場において適切な判断を支援するために診療ガイドライン(以下PGと略す)が整備されつつあるが、新しい研究成果が蓄積し治療体系が複雑になりつつある炎症性腸疾患(以下IBDと略す)においても、一般医家が用いやすいPGの開発が期待されている。けれども

IBD診療の特徴から、エビデンスのみに固執せず十分に専門医の意見が反映されたPGの作成が望ましい。

昨年度の先行研究において、IBD類縁疾患である腸管ペーチェット病・単純性潰瘍の診療に関するコンセンサスをデルファイ法を用いて科学的に形成できることを確認した。そこで今年度は潰瘍性大腸炎(以下UCと略す)を対象疾患として選択し、現存する臨床エビデンスと専門家のコンセンサス形成の双方を基盤とし、一般診療で利用されることを想定したPGの開発を試みた。

B. 研究方法

1. パネルの設立：5名で構成される評価パネルと、IBD専門医6名、総合内科医2名および病院管理者2名の計10名で構成される専門家パネルを設立した。

2. 初期指標項目の作成：過去20年間の原著論文、総説、既存のPGなどの文献的情報が収集され、よくデザインされた疫学的研究以上のエビデンス・レベルを有する情報を選別しこれを基に診療指標を作成した。また疾患概念、分類、診断などのエビデンスが得にくい項目に関しては専門家の意見交換や既存のPGから指標を抽出した。指標は診療のカテゴリー別に、診療上の疑問とそれに対する推奨ステートメントを対し、ステートメント作成の基となった情報源とそのエビデンス・レベルを付記した。原著論文については構造化抄録を作成した。

3. 指標項目の適切性評価：これらの指標を専門家パネルに配布し、各委員が診療における推奨指標としての適切性を9段階に評価した。集計結果を基にそれぞれの指標に対する評価の中央値と最小値・最大値の幅を算出した。

4. エキスパート・パネル会議：専門家パネル委員を招集し、コンセンサス形成のための協議を行った。事前の評価で採択に不十分な中央値(6~6.5)の項目と最小

値・最大値の幅が大きく(5以上)コンセンサスが得られていない項目を中心に適切性を討議した。また推奨ステートメントの不適切または曖昧な表現につき検討し修正や削除を行った。初期の文献情報で不足する重要な診療指標を模索し、適宜項目を追加することで合意した。

5. 再評価と指標項目の選定: エキスパート・パネル会議での討議内容に基づき、評価パネルにより診療指標が再構築された。第1回評価での中央値・最小値・最大値が付記された指標項目が専門家パネルに配布され再評価を受けた。再評価の結果を集計し、さらに第2回評価結果を付記した指標項目を再配布し、第3回評価を行って最終結果とした。

6. 指標項目の採択と推奨グレードの決定: それぞれの指標項目の基となるエビデンス・レベルと専門家による適切性評価の中央値をもとに各ステートメントの推奨グレードを決定した。

なお、本研究の方法論から考えて、研究者および研究対象者に対する倫理上の問題点は指摘できない。

### C. 研究結果

1. 文献情報の抽出: PubMed をリソースとして過去20年間の文献を調査し、UC の診療に関連性が高く、患者アウトカムに影響し、わが国で行いうる診療行為で、AHPCR のレベル III 以上エビデンスを有するという条件で選別した結果、計207論文が抽出された。この内薬物治療に関する論文が大半を占め152論文に及び、レベル I のエビデンスは薬物治療に集中した。さらに既存の PG とエビデンスの引用が明らかな総説計22編を選別した。

2. 初期指標項目の作成: 得られた文献情報と専門医による意見交換を基に、計172項目の UC の診療に関する推奨ステートメントが作成された。指標項目のカテゴリーは、疾患概念、分類、病因・リスク・機序、診断、罹患部位と重症度による活動期の緩解導入治療、緩解期の維持治療、外科治療、フォローアップ・指標に分類された。

3. 指標項目の適切性評価: 作成の根拠となった引用文献などの出典先とエビデンス・レベルを付記した172項目の推奨ステートメント専門家パネル委員に配布し評価した結果、中央値7以上の項目は約65%であった。

4. パネル会議と再評価: パネル会議での討議結果から182項目の指標が再構築された。これらの指標項目に対し、専門家パネル委員による2回の再評価を行った。その結果中央値7以上の項目は80%近くに増加し、さらに最大値・最小値の幅の減少が顕著となり、適切性を支持する方向に意見が集約された。

5. 推奨グレードの決定: 情報源のエビデンス・レベルと専門家パネルによる適切性評価から推奨グレードを暫定的に定めた。しかしながらエビデンスの得にくい疾患概念、分類、診断などに関する指標項目では、専門家の高い支持を受けながらもエビデンスの希薄さのために低い推奨度に留まる問題点が露呈した。この点に関し現在検討中である。

### D. 考察

前年度の先行研究で対象となった腸管ペーチェット病・単純性潰瘍と異なり、UC の診療に関する質の高いエビデンスは少なくない。一方 UC に関する新しい診療行為が次々と開発され、エビデンスが希薄なままに臨床現場に導入されている。このため標準的な診療行為と特殊な診療行為との区別が曖昧となりつつある。

今回、専門医に限らず UC を診療する機会のある医師の臨床判断を支援できるような PG の開発を試みた。わが国では臨床判断に際して専門医の経験的な意見が重視される傾向があるが、世界標準に即した PG を開発するため文献調査によるエビデンスの収集を先行させた。少なくとも薬物治療に関するエビデンスは多く、このカテゴリーの診療指標の大半は質の高いエビデンスに基づいた。一方それ以外のカテゴリーでは質の高いエビデンスは少なく、専門家の意見交換や総説論文の記載からの情報を基に指標項目を作成せざるを得なかった。

EBM において専門家の意見のエビデンス・レベルは低く設定されているが、実際の診療では経験的な意見も無視できない。特に UC のように複雑な病態と治療体系を有する疾患では、専門家の意見を十分反映した PG の開発が望ましい。エビデンスに固執した PG は実際の利用に当たってコンプライアンスが著しく低下することが知られている。

前年度の先行研究でデルファイ法を用いてコンセンサスを科学的に形成することが可能との判断に至ったため、今年度の研究においても同様の手法を用いた。ただし質の高いエビデンスのほとんどなかった前年度の対象疾患と異なり、今年度は専門家パネルの評価を受けたすべての指標項目に情報源とそのエビデンス・レベルを付記した。また引用した原著論文の構造化抄録を作成し配布したため、評価に当たって専門家の経験だけでなく文献情報が十分に勘案されていることが期待された。

専門家による診療指標の評価は最終的に適切性を支持する方向で収束された。しかしエビデンス・レベルと専門家の評価が解離を呈した項目が治療カテゴリーで約20%、その他のカテゴリーで半数近くに及んだ。この結果から、エビデンスのみに依存した PG は利用段階でのコンプライアンスが低いことが予測でき、今回の開発手法の妥当性を示すものと考えられる。

### E. 結論

エビデンスに基づき専門家のコンセンサス形成を加えた UC の診療ガイドライン開発を試みた。コンセンサス形成の上で、パネル会議前後のデルファイ法を用いた評価が有用であったと考えられた。

### F. 今後の展望

今回得られた推奨ステートメントは準備段階にあり、未だ公表の域に達していない。今後推奨グレードの最終決定、アルゴリズムの作成、推奨ステートメントに関する解説などの作業を経て最終段階に入り、関係各方面の評価を受けた後に公表予定である。