

潰瘍性大腸炎の糞便中腸内細菌叢の検討

東京医科大学内科学 (指導: 芦澤真六教授)

高 橋 秀 理

A Study on Fecal Intestinal Flora in Ulcerative Colitis

Hidemichi TAKAHASHI

Department of Internal Medicine, Tokyo Medical College

(Director: Prof. Shinroku ASHIZAWA)

For the purpose clarifying the role of intestinal flora in ulcerative colitis (UC), fecal intestinal flora in patients of UC was compared with that of a control group, and a clinical study was conducted, dividing according to each disease stage and each affected region. Using a rat experimental model of colonic ulcer induced by acetic acid, a basic study was also conducted with respect to influence of enterobacteria on the colic mucosa. The clinical study showed significant reduction of major obligate anaerobes in fecal intestinal flora of patients of UC. Especially, *Bifidobacterium* was significantly reduced. *Bifidobacterium* was reduced significantly in the order of control group, remission, and active stage, and moreover, it was reduced more significantly in a wider affected region. Therefore, *Bifidobacterium* was considered to have highest correlation with improvement of pathologic condition in UC. In order to confirm protective and repairing effects of *Bifidobacterium* on the colic mucosa, a basic study was conducted using the experimental model of colonic ulcer induced by acetic acid. The group in which *Bifidobacterium* was administered showed a significantly reduced death rate, and the group's feces became solid earlier in comparison with the control group. While colic ulcer was seen even 2 weeks later in the control group, the group administered *Bifidobacterium* was cured in one week. Histopathologically, secondary infection was reduced prophylactically. Accordingly, healing of the ulcer in the group with *Bifidobacterium* was considered to be promoted in comparison with the control group. From those results, *Bifidobacterium* appeared to protective and repairing effects on the colic mucosa.

I. 緒 言

大腸疾患における常在腸内細菌叢の関与についての検討は、光岡による嫌気性菌の培養法¹⁾の確立以来、各方面で盛んに行われている。

潰瘍性大腸炎 (以下 UC) に関する検討では、現

在二つの方面から研究が進められている。その一つは感染性腸炎と同様に単一細菌を病原体として追求する立場であるが、現時点では未だ特定の細菌は同定されていないのが現状である²⁾。他方は腸内細菌全体の変動により病態の変化を説明しようとする立場であるが、攻撃因子あるいは防御因子としての腸

(1990年10月2日受付, 1990年10月8日受理)

Key words: 潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis), 腸内細菌叢 (intestinal flora), 実験大腸潰瘍 (experimental colonic ulcer), ガラクトシル転移オリゴ糖 (transgalactosylated oligosacchrides), ビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*)

内細菌叢の関与についても、現在一定の見解は得られていない。今回、筆者は UC における腸内フローラの役割を解明する目的で、健康成人を対象として、UC の糞便中腸内細菌叢を比較検討した。さらに酢酸ラット実験大腸潰瘍モデルを用いて、腸内細菌の大腸粘膜に及ぼす影響について、基礎的検討を試みた。

II. 対象及び方法

A. 臨床的検討

対象は昭和62年6月から平成2年4月の間に東京医科大学病院にて治療した UC 21 症例(平均年齢 39.8 歳)である。また対照群は大腸内視鏡検査あるいは大腸 X 線検査で異常のみられない健康成人 20 症例(平均年齢 40.4 歳)である(表 1)。

細菌の培養方法は光岡の方法に準じ、新鮮排泄便 1g を 5 種類の好気性培地と 8 種類の嫌気性培地を用いて培養し、集落の形態とグラム染色標本の顕微鏡的観察により、菌群レベルで同定、定量を行った。菌数は集落 1g 当たりの常用対数で示し、統計学的有意差の検定は t 検定で行った。検討方法は UC を対照群と比較すると共に、病期別、罹患範囲別に比較検討した。

B. 実験的(基礎的)検討

実験動物は、基礎食(飼育用固形飼料 A-1 日本クレー)で飼育した 200g~300g の Sprague-Dawley 系雄性ラット 96 匹を用いた。方法はラットを図 1 の如く 4 群に分け、酢酸(10%, 5cc)を金属ゾンデを

表 1 対照

	UC		対 照
	活動期	緩解期	
症 例	13	9	20
検 体	18	18	20

- A 群 ; ガラクトオリゴ糖 (以下 TOS) 1g/日, Bifidobacterium breve (以下 BB) 1g/2日を経口的に、浣腸の 2 週間前より連日投与し、浣腸後も継続投与した群 (27 匹)
 B 群 ; TOS, BB を浣腸前 2 週間投与し、浣腸後中止した群 (21 匹)
 C 群 ; TOS, BB を浣腸後から投与開始した群 (20 匹)
 D 群 ; TOS, BB 未投与群 (対照群) (28 匹)

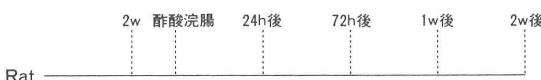


図 1 酢酸ラット実験大腸潰瘍における実験群

用いて経肛門的に浣腸し、15 秒間留置した後、同量の生理食塩水で 3 回洗浄した。浣腸後 1 日, 3 日, 7 日, 14 日後に開腹し、潰瘍の治癒過程を観察する目的で、hematoxylin and eosin 染色にて病理学的に検討すると同時に死亡率と便の性状についても比較検討した。Bifidobacterium breve (以下 BB) は、1g/匹を胃ゾンデを用いて隔日投与した。ガラクトオリゴ糖 (Transgalactosylated oligosaccharides 以下 TOS) は腸内で BB を確実に増殖させるために、2% 水溶液としてラット用ポリエチレン給水ビンに入れ、上記に規定した一定期間連日自由に摂取させ、それ以外の期間は水道水を自由に摂取させた。糞便細菌は臨床的検討と同様に光岡の方法に準じ、実験開始前と屠殺直前に糞便を採取し、速やかに培養し菌群レベルで同定、定量した。

III. 結 果

A. 臨床的検討

① UC の糞便中腸内細菌叢の検討 (表 2)

腸内細菌叢を総菌数及び各菌群に分けて、それぞれ対照群と比較検討すると、UC では総菌数 ($p < 0.01$) *Lactobacillus* ($p < 0.05$) および主要嫌気性菌群である *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Peptococcaceae*, *Bifidobacterium* ($p < 0.01$) が有意に減少し、好気性菌群では *Enterobacteriaceae* は有意差はないが増加傾向にあった。

各菌群における総菌数に含める割合を見ると、対照群では主要嫌気性菌群が 98% 以上を含めているのに対して、UC では 35.7% と有意に減少し、逆に好気性菌群は 58.2% と有意に増加した。主要嫌気性菌群のうち、特に減少したのは *Bacteroidaceae* ($p < 0.05$) と *Bifidobacterium* ($p < 0.01$) で、好気性菌群のうちでは、*Enterobacteriaceae* と *Streptococcus* が有意に増加していた ($p < 0.05$)。

② 病期別検討 (表 3)

UC を活動期と緩解期に分けて検討した。総菌数は対照群に比較して、緩解期、活動期の順で、いずれも有意に減少した ($p < 0.01$)。主要嫌気性菌群では対照群に比較し、緩解期、活動期とも有意に減少していたが ($p < 0.01$)、そのうち *Bacteroidaceae*, *Eubacterium*, *Peptococcaceae* では病期別には有意差は認められなかった。しかし *Bifidobacterium* は緩解期、活動期の順で菌数は減少し、対照群、緩解期、活動期のそれぞれの間に有意差を有した ($p <$

表2 UCにおける糞便中腸内細菌叢

	Control (20症例20検体)	UC (21症例36検体)
Total	11.0±0.2	9.7±1.0* ¹
(Obligate anaerobes)		
Bacteroidaceae	10.6±0.4(55.6)	8.1±2.2* ¹ (11.8* ²)
Eubacterium	10.0±0.5(13.9)	7.8±2.1* ¹ (5.7)
Peptococcaceae	9.9±0.7(11.0)	8.0±1.5* ¹ (9.1)
Bifidobacterium	10.1±0.8(18.1)	8.0±1.9* ¹ (9.1* ¹)
Veillonella	7.1±2.1(0.1)	8.3±1.3 (18.2* ²)
Clostridium	8.0±1.7(0.1)	7.7±0.8 (4.5* ²)
Lactobacillus	7.9±2.3(0.1)	6.5±2.3* ² (0.3)
(Facultative anaerobes)		
Enterobacteriaceae	8.3±1.0(0.3)	8.5±1.8 (29.1* ²)
Streptococcus	8.8±1.9(0.9)	8.5±1.7 (29.1* ²)
Yeasts	5.0±2.5()	4.1±2.3 ()
Staphylococcus	3.9±0.6()	4.2±2.7 ()

*1 健康成人に対する統計学的有意差 P<0.01
 *2 健康成人に対する統計学的有意差 P<0.05
 ()は総菌数に占める各菌群の割合 %
 空欄は総菌数に占める割合が0.05%未満の場合

表3 病期別にみた UC の糞便中腸内細菌叢

	Control (20症例20検体)	Remission(9症例18検体)	Active (13症例18検体)
Total	11.0±0.2	9.7±1.0* ¹	9.4±1.3* ^{1*3}
(Obligate anaerobes)			
Bacteroidaceae	10.6±0.4(55.6)	7.8±2.9(2.7) ^{*1 *2}	7.9±2.6(11.3) ^{*1 *2*4}
Eubacterium	10.0±0.5(13.9)	7.0±2.6(0.4) ^{*1 *2}	7.9±2.1(11.3) ^{*1 *4}
Peptococcaceae	9.9±0.7(11.0)	8.2±1.2(7.0) ^{*1 *1}	7.8±1.7(9.0) ^{*1 *3 *2*4}
Bifidobacterium	10.1±0.8(18.1)	8.8±1.7(27.4) ^{*2}	7.1±1.9(1.9) ^{*1 *3 *2*4}
Veillonella	7.1±2.1(0.1)	8.8±0.3(27.4) ^{*1 *2}	7.7±1.5(7.1) ^{*3 *2*4}
Clostridium	8.0±1.7(0.1)	8.1±0.6(5.7) ^{*2}	7.5±0.7(4.6) ^{*2}
Lactobacillus	7.9±2.3(0.1)	6.1±2.6* ² (0.1)	6.5±2.6(0.4)
(Facultative anaerobes)			
Enterobacteriaceae	8.3±1.0(0.3)	8.7±1.1(21.7) ^{*2}	8.1±2.2(18.6) ^{*2}
Streptococcus	8.8±1.9(0.9)	8.1±2.1(5.7) ^{*2}	8.4±1.3(35.7) ^{*2*4}
Yeasts	5.0±2.0()	3.8±2.0()	4.0±2.5() ^{*4}
Staphylococcus	3.9±0.6()	3.1±2.0()	5.0±2.9() ^{*4}

*1 健康成人に対する統計学的有意差 P<0.01
 *2 健康成人に対する統計学的有意差 P<0.05
 *3 UC緩解期に対する統計学的有意差 P<0.01
 *4 UC緩解期に対する統計学的有意差 P<0.05
 ()は総菌数に占める各菌群の割合 %
 空欄は総菌数に占める割合が0.05%未満の場合

0.01). また *Veillonella* では緩解期は活動期及び対照群に比べ有意に増加しており (p<0.01), *Lactobacillus* では緩解期は対照群に比べ有意に減少し (p<0.05), *Staphylococcus* では活動期は緩解期に比べ有意に増加していたが (p<0.05), 対照群, 緩解期, 活動期の順で増減は示さなかった。そ

他の菌群には, 有意な変化を認めなかった。

総菌数に対する各菌群の割合を検討すると, 正常細菌叢の 98.6% を占める主要嫌気性菌群は, 活動期では 33.5% 緩解期では 37.5% と有意に減少した (p<0.05). 主要嫌気性菌群は, 緩解期は活動期に比べ増加傾向にあり, そのなかでも特に *Bifido-*

bacterium は緩解期では 27.4% と活動期の 1.9% に比べて有意に増加していた ($p < 0.05$)。嫌気性菌群のうち *Veillonella* と *Clostridium* は対照群に比べ、緩解期、活動期との有意に増加していた ($p < 0.05$)。好気性菌群では *Enterobacteriaceae* は対照群に比べ、活動期と緩解期は有意に増加しており ($p < 0.05$)、*Streptococcus* は活動期は対照群と緩解期に対して有意に増加していた ($p < 0.05$)。

③ 罹患範囲別検討 (表 4)

活動期における罹患範囲を proctitis, left side colitis, total colitis の 3 群に分けて検討した。*Bifidobacterium* では対照群, proctitis, left side colitis, total colitis と罹患範囲が広がるほど菌数は減少し、それぞれの間に有意差を有していた。その他の菌群では、罹患範囲との間には一定の関係は認められなかった。

総菌数に対する各菌群の割合では、*Streptococcus* は罹患範囲が広がるほど有意に増加しており、それ以外の菌群には一定に関係は認められなかった。

B. 実験的 (基礎的) 検討

① 酢酸ラット実験大腸潰瘍における糞便中腸内細菌叢の経時的検討

各群の糞便 1g 中の *Bifidobacterium* の経時的変化を図 2 に示した。*Bifidobacterium* は A 群ではいずれの期間においても 10^9 個以上を維持していたの

に対し、B 群では浣腸後早期に低下し 1 週間で 10^7 個まで減少した。一方 C 群では浣腸後一時期低下するものの、その後漸増し 1 週間で 10^9 個以上となった。D 群では菌数も検出率も低かった。

② 死亡率の検討 (表 5)

死亡したラットはいずれも浣腸後 48 時間以内に死亡した。死亡率は TOS, BB を使用し、*Bifidobacterium* を増加させた A 群, B 群では 0.02% と *Bifidobacterium* の増加していない C 群, D 群の 18.8% に比較し、有意に減少していた ($p < 0.05$)。

③ 糞便性状の検討 (図 3)

糞便性状を固形便 5, 半固形便 4, 泥状便 3, 粘液便 2, 血便 1 と 5 段階で評価すると、24 時間では *Bifidobacterium* の多い A 群, B 群は 3 以上、*Bifidobacterium* の少ない C 群, D 群は 2 以下であったが、*Bifidobacterium* の増加に伴い A 群は早期に、C 群はやや遅れて固形化し 5 に近づいたのに対し、B 群は *Bifidobacterium* の減少に従い一度軟化した。対照の D 群では 2 週間後に 5 に近づき、固形化が最も遅れた。

④ 新鮮切除標本における潰瘍治癒経過の検討 (図 4-①, ②)

24 時間後、すべての群で遠位大腸に広範な潰瘍を認めた。*Bifidobacterium* の多い A 群では 1 週間で潰瘍は治癒した。B 群は 72 時間後では、A 群と同

表 4 罹患範囲別にみた活動期の UC の糞便中腸内細菌叢

	control (20症例20検体)	proctitis (2症例2検体)	left side colitis (4症例4検体)	total colitis (7症例12検体)
Total	11.0±0.2	10.0±0.4	9.0±0.1	9.4±1.5
(Obligate anaerobes)				
Bacteroidaceae	10.6±0.4(55.6)	9.0±0.3(7.7) ^{*2}	5.7±0.1(0.1) ^{*1*4 *2*4}	7.9±2.8(9.4) ^{*1*5 *2*6}
Eubacterium	10.0±0.5(13.9)	7.9±0.4(0.6) ^{*2}	8.3±0.7(35.7) ^{*1 *2*4}	7.5±2.9(3.8) ^{*2*6}
Peptococcaceae	9.9±0.7(11.0)	9.6±0.1(30.8) ^{*2}	7.5±0.5(5.7) ^{*2*3 *4}	7.3±1.9(2.4) ^{*1*3 *2*4}
Bifidobacterium	10.1±0.8(18.1)	9.3±0.1(15.4)	8.2±0.5(28.6) ^{*1*4 *4}	6.9±1.9(0.9) ^{*1*3*6*2*4*6}
Veillonella	7.1±2.1(0.1)		7.3±1.3(3.6)	7.8±1.5(7.5)
Clostridium	8.0±1.7(0.1)	7.4±0.1(0.2)		7.5±0.8(3.8)
Lactobacillus	7.9±2.3(0.1)	6.0±1.0()	7.3±1.0(3.6)	6.4±2.9(0.3)
(Facultative anaerobes)				
Enterobacteriaceae	8.3±1.0(0.3)	9.7±0.4(38.5) ^{*2}	7.5±0.8(5.7) ^{*4 *2*4}	8.0±2.5(11.9) ^{*4 *2*4}
Streptococcus	8.8±1.9(0.9)	8.9±0.1(6.1) ^{*2}	8.0±0.9(17.9) ^{*2*4}	8.7±1.6(59.5) ^{*2*4*6}
Yeasts	5.0±2.5()	1.8±2.0()	3.0±2.0()	4.5±2.6()
Staphylococcus	3.9±0.8()	8.7±1.5(3.8)	3.0±1.0()	4.8±2.8()

*1 健康成人に対する統計学的有意差 $P < 0.01$

*2 健康成人に対する統計学的有意差 $P < 0.05$

*3 proctitisに対する統計学的有意差 $P < 0.01$

*4 proctitisに対する統計学的有意差 $P < 0.05$

*5 left side colitisに対する統計学的有意差 $P < 0.01$

*6 left side colitisに対する統計学的有意差 $P < 0.05$

() は総菌数に占める各菌群の割合 %

空欄は総菌数に占める割合が 0.05%未満の場合

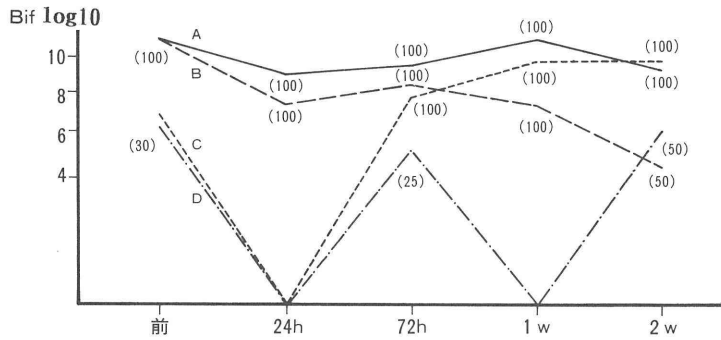


図 2 糞便中 *Bifidobacterium* 数

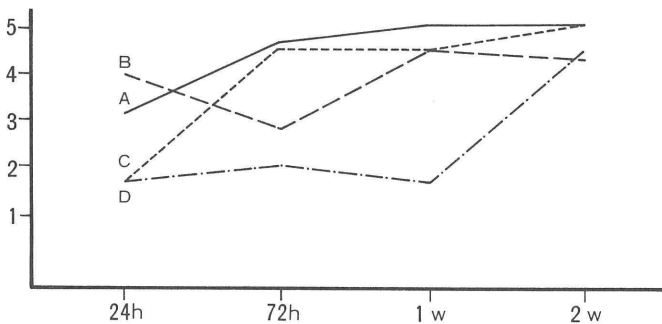


図 3 糞便性状

固形便：5，半固形便：4，泥状便：3，粘液便：2，血便：1

表 5 死亡率

A群	0/27 (0%)	1/48 (0.02%)	*
B群	1/21 (0.05%)		
C群	3/20 (15%)	9/48 (18.8%)	
D群	6/28 (21%)		

*p<0.05

程度に潰瘍は軽快傾向にあったが、*Bifidobacterium* が減少する1週間後より、潰瘍の治癒が A 群に比べ遷延化した。一方、C 群は当初 D 群と同様に潰瘍の軽快が遅れたが、*Bifidobacterium* の増加する72時間後以降急速に軽快し、2週間後に潰瘍は治癒した。対照の D 群では2週間後にも潰瘍を認めた。

⑤ 病理標本における検討

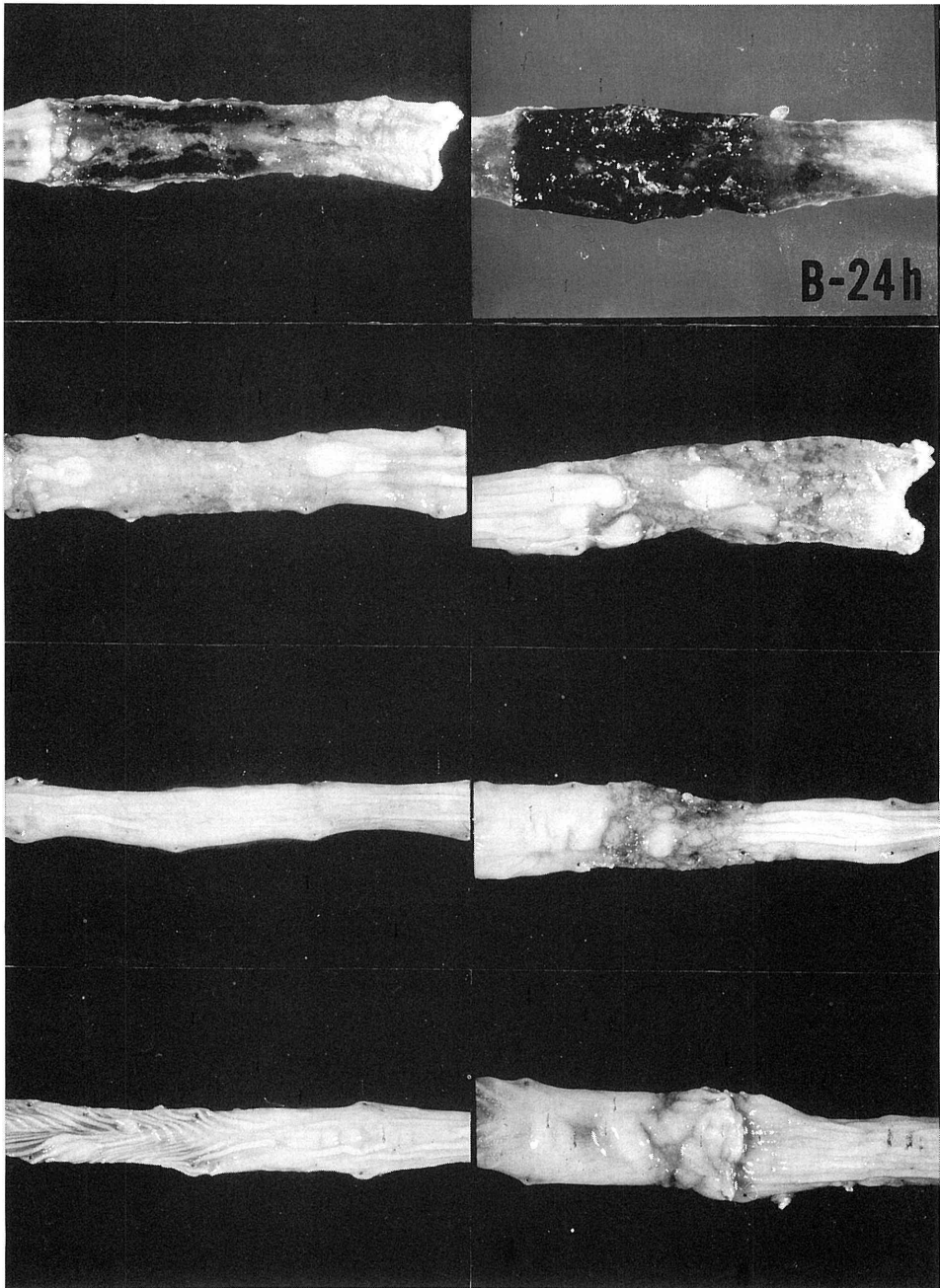
ラットの酢酸大腸潰瘍モデルの病理組織はヒトの虚血性腸炎に類似し、出血と浮腫を中心とする急性炎症の病理像を呈していた。各群の72時間後と1週間後の病理組織を検討すると、対照の D 群に比較し、A 群と C 群は経時的に再生腺管の増殖が認め

られた。一方 B 群では潰瘍の治癒が遷延化していた。また A 群、C 群に比べ B 群、D 群では粘膜及び粘膜下層に好中球を中心とする強い炎症性細胞浸潤が認められた。特に C 群では炎症性細胞浸潤は A 群と同様に経時的に軽快したのに対し、B 群では逆に増悪した (図5-①, ②)。

炎症性細胞浸潤の程度を経時的に検討する目的で、各標本の最も炎症の強い部位における細胞浸潤の程度を、-, +, ++の3段階で評価した。A 群では経時的に軽快したのに対し、C 群は一度増悪した後 *Bifidobacterium* の増加とともに1週間後より軽快した。逆に B 群は *Bifidobacterium* の減少とともに増悪傾向を呈した (図6)。

⑥ 糞便 pH の検討 (表6)

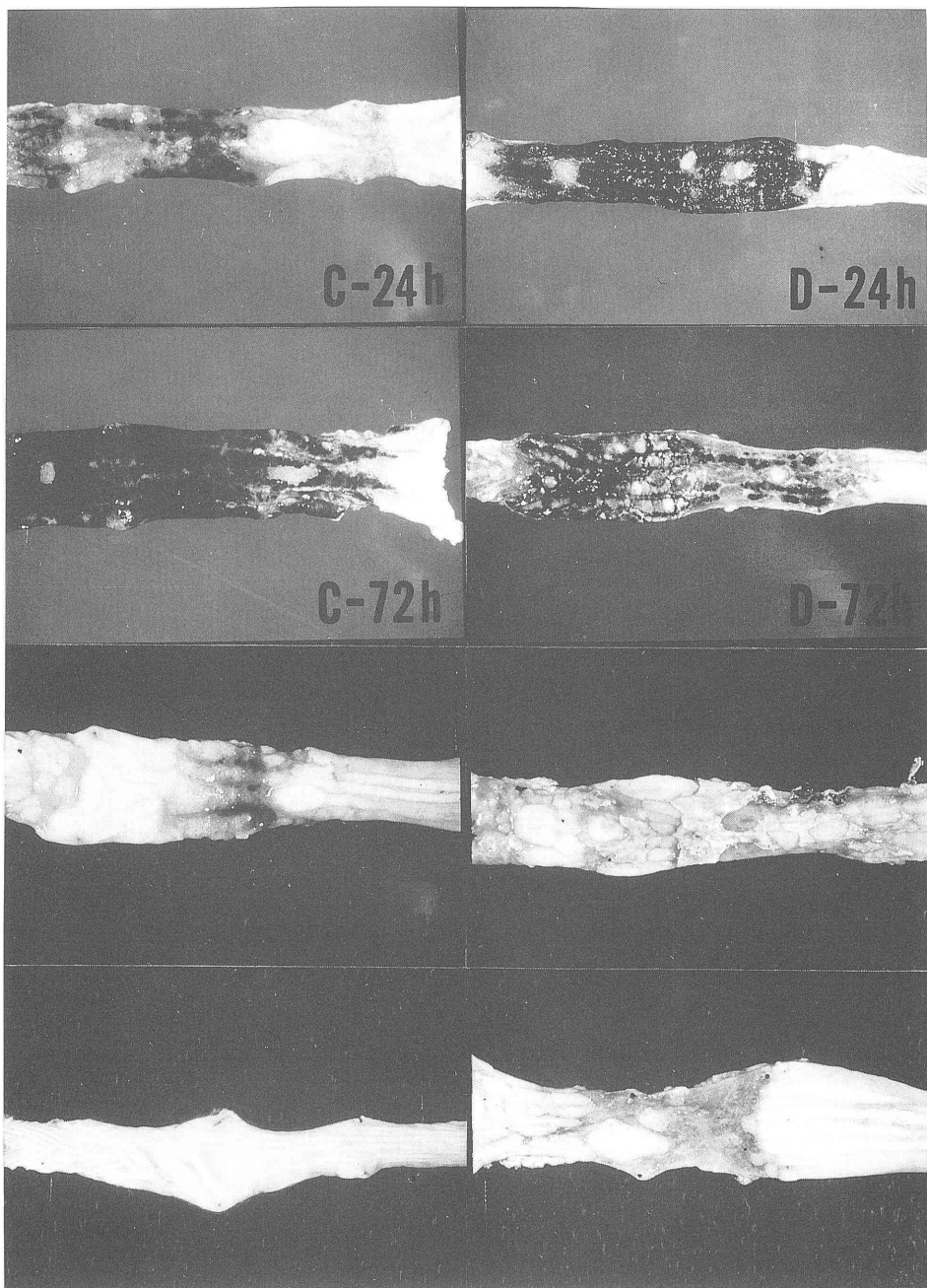
糞便の pH は対照の D 群に比較し、酢酸浣腸前では A 群 B 群が、浣腸後では A 群 B 群 C 群が *Bifidobacterium* の増加にともない、有意に低下していた。



A-24h	B-24h
A-72h	B-72h
A-1w	B-1w
A-2w	B-2w

図 4-① 酢酸ラット実験大腸潰瘍モデルにおける新鮮切除標本 (A群, B群)

A-24h ; A 群, 酢酸洗腸後 24 時間後 B-24h ; B 群, 酢酸洗腸後 24 時間後
 A-72h ; A 群, 酢酸洗腸後 72 時間後 B-72h ; B 群, 酢酸洗腸後 72 時間後
 A-1w ; A 群, 酢酸洗腸後 1 週間後 B-1w ; B 群, 酢酸洗腸後 1 週間後
 A-2w ; A 群, 酢酸洗腸後 2 週間後 B-2w ; B 群, 酢酸洗腸後 2 週間後



C-24h	D-24h
C-72h	D-72h
C-1w	D-1w
C-2w	D-2w

図 4-② 酢酸ラット実験大腸潰瘍モデルにおける新鮮切除標本 (C 群, D 群)
C-24h : C 群, 酢酸洗腸後 24 時間後 D-24h ; D 群, 酢酸洗腸後 24 時間後
C-72h : C 群, 酢酸洗腸後 72 時間後 D-72h ; D 群, 酢酸洗腸後 72 時間後
C-1w : C 群, 酢酸洗腸後 1 週間後 D-1w ; D 群, 酢酸洗腸後 1 週間後
C-2w : C 群, 酢酸洗腸後 2 週間後 D-2w ; D 群, 酢酸洗腸後 2 週間後

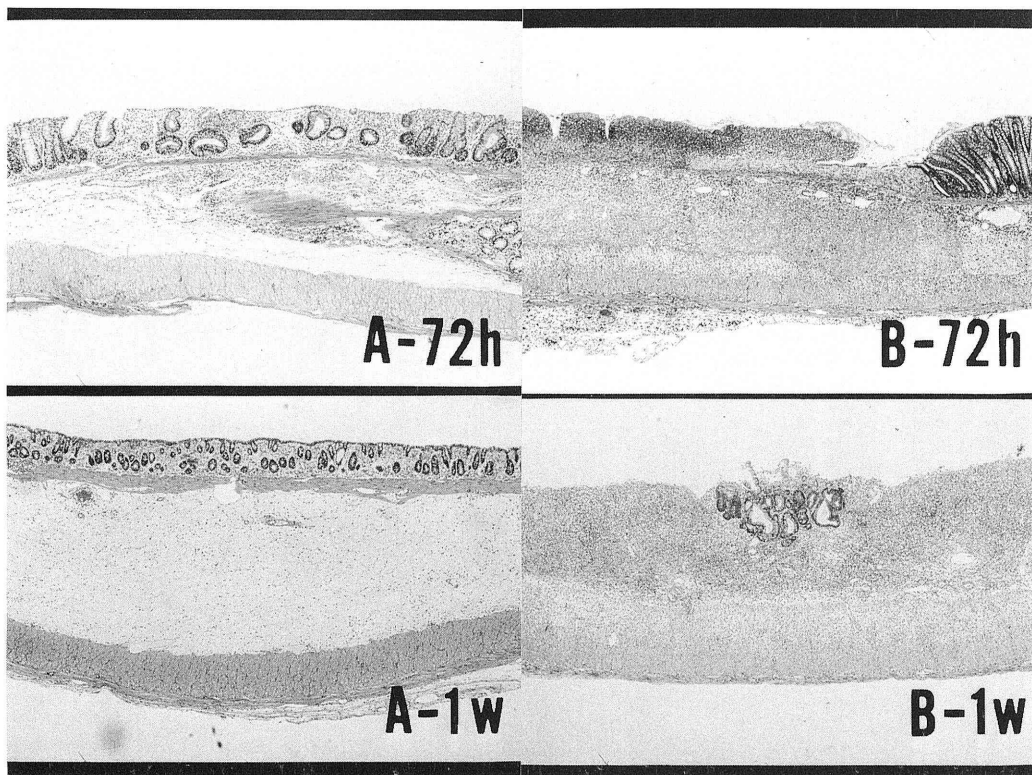


図 5-① 酢酸ラット実験大腸潰瘍モデルにおける病理標本 (A 群, B 群)
 A-72h ; A 群, 酢酸浣腸後 72 時間後 B-72h ; B 群酢酸浣腸後 72 時間後
 A-1w ; A 群, 酢酸浣腸後 1 週間後 B-1w ; B 群酢酸浣腸後 1 週間後

IV. 考 案

UC の起因菌として, かつて *Shigella*, *Diplostreptococci*³⁾, *Bacteroidaceae*⁴⁾ などが疑われたが, Kirsner, Palmer⁵⁾ および Weinstein⁶⁾ は本症の成因と単一の細菌との関わりについて否定している。現時点においては UC の発生に関する特異的な細菌や代謝産物について一致した見解は得られておらず, 下山はその原因を単一菌属に求めるのではなくむしろ嫌気性菌の著減を主因とする細菌叢全体の異常に基づいていると考えるべきではないかと提唱している⁷⁾。最近 UC 患者のフローラを正常腸内フローラと取り替えると, その病勢は抑制され, 腸内フローラの制御にて一時的な緩解が期待できるという報告があり⁸⁾, 病態の増悪予防や軽快には常在腸内細菌のある種のものが, 強く関与していることは確実であると考えられる。

UC の糞便中腸内細菌叢を検討した報告の多く

は, 対照群と比較し総菌数の著減, 嫌気性菌群のうち *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroidaceae*, の著減, および好気性菌群のうち *Enterobacteriaceae* は増加傾向にあるという点では共通するが, その他の点に関しては必ずしも一致した成績は得られていない^{7,9)10)}。筆者の検討でも, 同様に総菌数と主要嫌気性菌群は, 有意に減少しており, *Enterobacteriaceae* は増加する傾向にある。病期に分けた検討では, 総菌数と *Bifidobacterium* が緩解期では活動期と対照群の中間の値を示すという点で一致する報告が多く, 特に筆者の結果では総菌数と *Bifidobacterium* のみが対照群, 緩解期, 活動期の順で減少しており, 対照群と緩解期, 緩解期と活動期, 対照群と活動期のすべてに有意差を有している。さらに病変範囲別検討でも, 活動期の症例では病変が広がるほど, *Bifidobacterium* は有意に減少しており, 緩解期の症例には有意な変化は認められない。従って, 病態の改善と最も相関性が高いのは *Bifidobacterium* と考

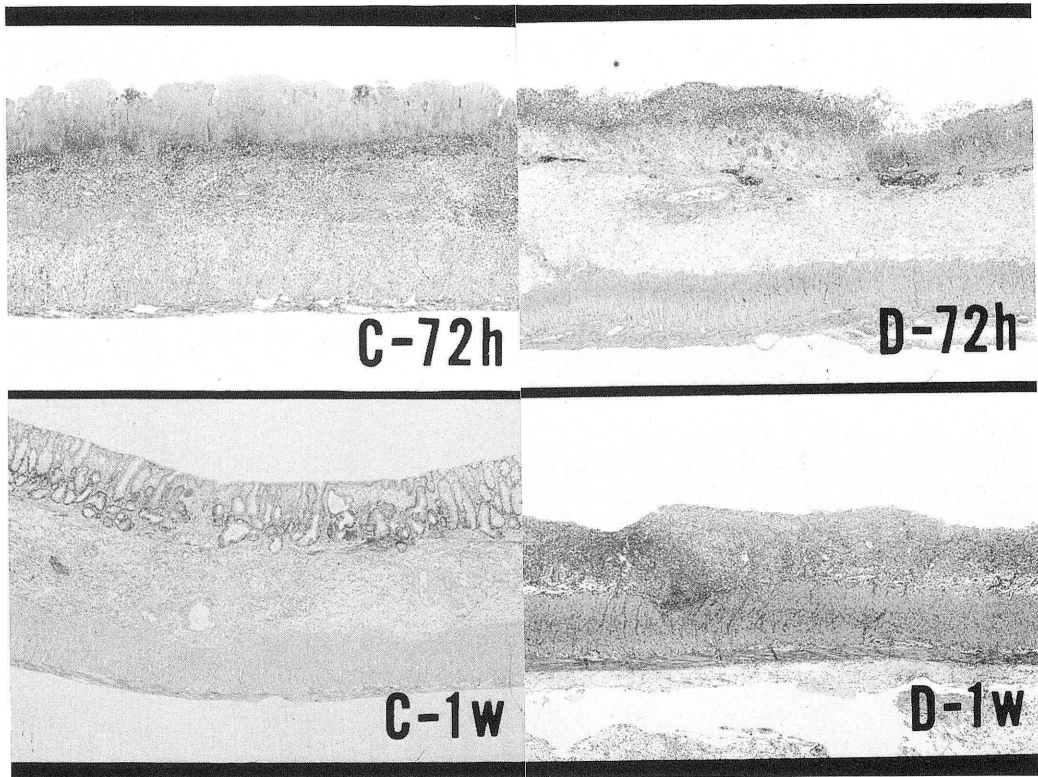


図 5-② 酢酸ラット実験大腸潰瘍モデルにおける病理標本 (C 群, D 群)
 C-72h : C 群, 酢酸洗腸後 72 時間後 D-72h : D 群, 酢酸洗腸後 72 時間後
 C-1w : C 群, 酢酸洗腸後 1 週間後 D-1w : D 群, 酢酸洗腸後 1 週間後

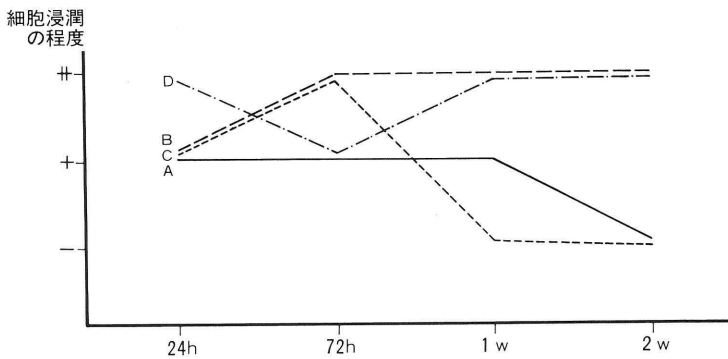


図 6 炎症性細胞浸潤の程度

えられる。

過去の報告例は、すべて糞便 1g 中の菌数にて比較検討しているが⁷⁾⁹⁾¹⁰⁾、本症患者では一日排便回数や糞便中水分含有量が増加するため、糞便 1g 中の総菌数や各菌群の絶対数の比較は困難であるという考え方や、一日当たりに排泄される菌数で検討する

必要があるのではないか、という考え方もある⁷⁾。筆者の検討も糞便 1g 当たりの検討であるが、24 時間間に排泄された総糞便中の菌数で検討している報告例はなく、またそれは事実上不可能であると思われる。そこで筆者は慢性炎症性腸疾患の腸内細菌叢の構成を見るために、腸内細菌の絶対数のみならず、

表 6 糞便 pH

	酢酸浣腸前	酢酸浣腸後
A群	6.4±0.4 *	6.3±0.5 *
B群	6.4±0.4 *	6.4±0.2 *
C群	6.9±0.4	6.6±0.2 *
D群	6.9±0.4	6.9±0.1

* p < 0.01

総菌数に対する各菌群の割合についても検討した。UC では対照群に比べて、主要嫌気性菌群のうち *Bacteroidaceae* と *Bifidobacterium* の総菌数に対する割合は有意に減少しており、逆に *Veillonella*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* の割合は有意に増加している。病期別の検討でも、本来細菌叢の大半を占める主要嫌気性菌群は活動期に著しく減少し、*Veillonella*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* が主たる割合を占めるのに対し、緩解期で対照群に有意に近づくのは、*Bifidobacterium* と *Streptococcus* の割合のみである。さらに罹患範囲別の検討でも主要嫌気性菌群や *Enterobacteriaceae* および *Streptococcus* などを中心に有意に増減している。これらの変化を水分含有量の変化のみで説明することは困難であり、特にその割合と菌数の変化が類似した動きを示した菌群に関しては疾病との関連性も否定できず、今後の検討課題と考えられる。菌数の検討にて UC の病態と最も相関性の高かった *Bifidobacterium* に関してみると、病期別では他の主要嫌気性菌群が緩解期は活動期に比べ減少しているのに対して、*Bifidobacterium* の割合は活動期の 1.9% に比べて緩解期では 27.4% と有意に増加している。範囲別では対照群に比べ proctitis, total colitis では *Bifidobacterium* は有意に減少しているが、left side colitis では逆に増加している。これは left side colitis の 4 例中 1 例に *Bifidobacterium* を増やす目的で治療としてガラクトオリゴ糖を使用したため、*Bifidobacterium* が増加したと考えられ、この 1 例を除いて検討すれば菌数の変化と同様に、病変範囲の広がりにつれて、その割合も減少している。以上より *Bifidobacterium* は防御因子の一つとして、炎症の軽快と密接な関係を有すると考えられる。

しかし UC でのこの *Bifidobacterium* の変化は、

大腸粘膜の恒常性の変化や大腸通過時間の変化などの二次的な現象である可能性もあり、筆者は酢酸ラット実験大腸潰瘍モデルを用いて、*Bifidobacterium* の大腸粘膜保護作用、修復作用を検討した。動物実験にて UC 類似病変作成法としては高分子デキストラン硫酸腸炎、カラゲニン腸炎があるが¹¹⁾¹²⁾。これらは炎症起因薬剤を持続投与する必要があるため、潰瘍の治癒の促進や遷延を比較検討するには適していない。一方酢酸潰瘍はあくまで急性潰瘍であり、ヒトの UC とは明らかに異なる病変であるが、1 回刺激の潰瘍であるため潰瘍の治癒過程の経時的観察をするには、高分子デキストラン硫酸腸炎、カラゲニン腸炎よりむしろ有用であると考えられる。

酢酸ラット実験大腸潰瘍モデルでは、ラットの死亡はすべて酢酸投与後 48 時間以内に出現している。死因は潰瘍部位からの雑菌感染による敗血症であると推察され、この結果は横倉らの報告と一致する¹³⁾。死亡率は *Bifidobacterium* 投与群で有意に低下しており、*Bifidobacterium* が粘膜保護作用を有し敗血症を予防したと考えられる。しかし作成された潰瘍は 24 時間後では A 群から D 群において *Bifidobacterium* 数に関係なく一定であり、この点に関しては *Bifidobacterium* による粘膜保護作用を確認するのは困難である。これは 10% 酢酸の刺激がラットに対して強すぎるためと考えられ、さらに弱い刺激であれば、*Bifidobacterium* 数の差によって作成される潰瘍に差が出る可能性も否定できない。

新鮮切除標本上肉眼的に、*Bifidobacterium* の増減に従って潰瘍の治癒は促進、遅延しており、特に経過中に *Bifidobacterium* が増減する B 群においては、*Bifidobacterium* の減少とともに増悪する傾向を認める。この原因としては、潰瘍面における二次感染による悪影響が考えられる。なぜならば病理組織上酢酸潰瘍は虚血性腸炎類似の組織像を呈し、炎症性細胞浸潤はほとんどないと思われ、切除標本上に認められた潰瘍底を中心とする好中球浸潤は、二次感染によるものと考えられる。本研究では *Bifidobacterium* の多い群では少ない群に比べ好中球を中心とする炎症性細胞浸潤の程度は弱く、特に C 群では炎症性細胞浸潤は 72 時間で一旦増悪したのち、*Bifidobacterium* の増加とともに 1 週間で急速に軽快する。しかし、B 群は逆に *Bifidobacterium* の減少とともに増悪していく。従って *Bifidobacterium* が二次感染を予防、軽快させることによって、

潰瘍の治癒を促進させると思われる。UC の場合では活動期には対照群や緩解期に比べ生検粘膜試料より検出される *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Bacteroidaceae* 数が増加しており¹⁴⁾, またリンパ組織からは *Enterobacteriaceae*, *Bacteroidaceae* が検出されている⁹⁾。 *Bifidobacterium* の増加が, これらの菌による二次感染を予防し軽快させ, 病勢を抑制させると考えられる。

二次感染の予防, 軽快の原因の一つとして, *Bifidobacterium* による pH の変化に伴う環境の変化が考えられる。感染原因菌としては前述の如く *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Bacteroidaceae* などが考えられるが, *Bifidobacterium* が乳酸を産生することにより, あるいは *Enterobacteriaceae* を減らすことにより, 糞便中の pH を 0.3~0.6 有意に低下させ, これらの感染起因菌の至適環境を破壊し, 結果的に二次感染を予防する可能性が考えられる。さらに *Bifidobacterium* における分泌型の IgA の増加も原因の一つと考えられる。無菌ラットに *Bifidobacterium* を投与することにより, 大腸内のポリクローナルな分泌型の IgA の増加が実験的に確認されており¹⁵⁾, 難治性下痢症の患者に *Bifidobacterium* を投与することにより, 下痢の軽快と糞便中分泌型 IgA の増加の報告もある¹⁶⁾。また *Bifidobacterium* の壁構成成分による免疫付活作用も報告されている¹⁷⁾。したがってラットでも *Bifidobacterium* 投与群に分泌型 IgA が増加し, 二次感染を予防, 軽快させたと考えられる。

UC において *Bifidobacterium* はその病因として減少することも否定はできないが, 仮に二次的な要因で一旦減少したとしても, その経過, 予後には *Bifidobacterium* の存在は重要な意義を有していると考えられる。また若年発症, 慢性持続型, total colitis の UC は癌化のリスクの高い疾患とされているが, このような患者では長期間 *Bifidobacterium* が著しく減少した状態が続くと思われる。大腸癌の糞便中細菌叢では *Bifidobacterium* が減少している¹⁸⁾ 点から考え併せ, 本症における癌化の成因となり得る可能性がある。従って, *Bifidobacterium* 製剤や TOS にて腸内の *Bifidobacterium* を増加させることは, UC の治療のみならず癌化の予防となりうるものと考えられる。

結 語

UC 患者の糞便中腸内細菌叢をそれぞれ対照群と比較し, 病期別, 罹患範囲別に分け臨床的検討を行うと共に, ラット酢酸大腸潰瘍モデルを用いて, 腸内細菌の大腸粘膜に及ぼす影響について基礎的検討をし, 以下の結論を得た。

1. 臨床的検討

- ① UC 患者の糞便中腸内細菌叢は主要嫌気性菌群が有意に減少し, そのなかでも特に *Bifidobacterium* と *Bacteroidaceae* が有意に減少していた
- ② 病期別検討では *Bifidobacterium* は, 対照群, 緩解期, 活動期の順で有意に減少していた。
- ③ 罹患範囲別検討では *Bifidobacterium* は, 罹患範囲が広いほど有意に減少していた

2. 基礎的検討

- ① 酢酸ラット実験大腸潰瘍において, *Bifidobacterium* 投与群は対照群に比較し, 死亡率が有意に減少した。
- ② 酢酸ラット実験大腸潰瘍において, *Bifidobacterium* 投与群では *Bifidobacterium* の増加に従い, 糞便が固形化し, 経過中に *Bifidobacterium* を中止した群では固形化が遅延した。
- ③ 酢酸ラット実験大腸潰瘍において, *Bifidobacterium* は二次感染を防ぎ, 潰瘍の治癒を促進させた。

以上の結果より *Bifidobacterium* には大腸粘膜の保護修復作用があると思われた。

稿を終えるにあたり御指導, 御校閲を賜りました恩師芦澤真六教授に深甚なる謝意を捧げます。また直接御教示, 御助言を頂きました斎藤利彦助教授, 宮岡正明講師に深く感謝いたしますと共に, 本研究について直接御指導頂きました窪田良彦博士並びに多大なる御協力を頂いた教室員各位に深く感謝いたします。さらに研究にあたり御指導, 御鞭撻を頂いたヤクルト中央研究所の諸先生方に厚く御礼申し上げます

なお, 本論文の要旨は第76回日本消化器病学会総会, 第43回, 第44回日本大腸肛門学会にて発表した。

文 献

- 1) 光岡知足: 腸内菌叢の検索法, 腸内菌の世界: 嫌気性

- 菌の分離と同定,改訂版,叢文社,東京,53~95,1984
- 2) 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 **84**:2669~2680,1987
- 3) Bargen, J. A. :Experimental studies on the etiology of chronic ulcerative colitis. *JAMA* **83**:332~336,1924
- 4) Dack, G. M., Dragstedt, L. R., Heinz, T. E. : Bacterium necrophorum in chronic ulcerative colitis. *JAMA* **106**:7~10,1936
- 5) Kirsner, J. B., Palmer, W. L. :Ulcerative colitis: considerations of its etiology and treatment. *JAMA* **155**:341~346,1954
- 6) Weinstein, L. :Bacteriologic aspects of ulcerative colitis. *Gastroenterology* **40**:323~330,1961
- 7) 下山孝,大野忠嗣,橋本尚,他:IBDに対する治療による腸内細菌叢の変動. 最新医学 **38**:1490,1983
- 8) Bennet, J. D., Brinkman, M. :Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora. *Lancet* **1**:164,1989
- 9) 中谷林太郎,千田俊雄,長谷川潔,他:潰瘍性大腸炎の細菌叢:サラゾピリン及び抗生物質非投与例ならびに大腸切除例における検討. 最新医学 **38**:2461~2467,1983
- 10) 辨野義巳,光岡知足:Inflammatory Bowel Disease (IBD) における腸内細菌の特徴,最新医学 **38**:1481,1983
- 11) Marcus, R., Watt, J.:Seaweeds and ulcerative colitis in laboratory animals. *Lancet* **II**:489~490,1969
- 12) Watt, J., Marcus, R. :Carrageenan-induced ulceration of the large intestine in the guinea pig. *Gut* **12**:164~171,1971
- 13) 横倉輝雄,尾山正治,務台方彦:マウスの放射線障害に対するビフィズス菌投与の影響. 医学の歩み **116**:153~155,1981
- 14) 梶並稔正,藤山佳秀,程原佳子,他:潰瘍性大腸炎の腸内細菌叢—病変部腸粘膜材料を用いた検討. 嫌気性菌感染症研究 **16**:50~62,1986
- 15) 上田雄幹:腸内菌による免疫賦活. 治療学 **14**:619~622,1985
- 16) 高野健一郎,富沢修一,浅見直,他:分泌型IgAによる局所免疫補充療法の試み. 日小児会誌 **88**:70~75,1984
- 17) 浪岡茂郎:周生期の免疫応答と菌叢. 治療学 **14**:623~627,1985
- 18) 窪田良彦:大腸腺腫および大腸癌患者における糞便中腸内細菌叢の検討. 日消誌 **87**:771~779,1990

(別刷請求先:〒160 新宿区西新宿 6-7-1

東京医科大学内科学第4講座 高橋秀理)