第１回道南医学会医学研究奨励賞受賞論文（医師部門）

当科における炎症性腸疾患(IBD)の臨床的、免疫病理学的検討

函館中央病院　内科　○早　坂　　隆・畑　中　一　映・松　井　　淳・阿　部　雅　一・紺　野　　潤
同　　児　島　美　朝・江　原　亮　子・林　下　尚　之・筒　井　理　裕・佐々木　春　喜
同　　川　村　詔　導

【Ⅰ.緒　言】

クローン病と潰瘍性大腸炎は症状や合併症が類似しているため炎症性腸疾患（Inflammatory Bowel Disease、IBO）として一つの疾患単位にまとめられている[1]。昭和 59 年から平成 8 年まで経験した炎症性腸疾患について臨床的、免疫病理学的に検討したので報告する。

【Ⅱ.材料と方法】

1)　症　例

厚生省特定疾患（難治性炎症性腸管障害調査研究班 H5 年度、H6 年度）の診断基準に準じて診断した[2]。また H5 年度以前の症例に関しては retrospective に検討して診断基準をみたす症例を潰瘍性大腸炎あるいはクローン病と診断した。

2)　生検材料の免疫病理学的検討

内視鏡検査時に採取した大腸粘膜の生検材料を液体窒素で急速凍結後-80℃に保存し、大腸粘膜上皮細胞における HLA class Ⅰ、class Ⅱ抗原の発現の有無を蛍光抗体間接法で観察した。4～6μに薄切した凍結切片をエタノールで固定後、HLA-ABC 抗原に対する monoclonal 抗体(DAKOPATTS,Lot No.097)、HLA-DR、HLA-DQ、HLA-DP 抗原に対する monoclonal 抗体(Becton Dickinson、Lot No.E1214、J0809、J0105)と 37℃、45 分間反応させた。続いて Biotinyl horse anti-mouse IgG 血清(VECTOR Laboratories)と 37℃、45 分間、次に Avidin-FITC(VECTOR Laboratories)と 4℃、30 分間反応させ蛍光顕微鏡で観察した。Biotinyl horse anti-mouse IgG 血清、Avidin FITC は人肝 homogenate と正常人血清で吸収後使用した。さらに CD3、4、5、8、16、57 (Becton Dickinson)、CD19、20(Coulter Clone)、 CD llb、16、21、3 (Ortho Diagnostic Systems)に対するモノクローナル抗体を用いて病変部に浸潤している炎症細胞を解析した。

【Ⅲ.結　果】

(1) 臨床的所見

(a) 潰瘍性大腸炎

潰瘍性大腸炎は 21 名（男性 7 名、女性 14 名)、女性が男性の倍の頻度であった(図 1)。初発の平均年齢は 32.0 ± 9.7 歳であった。初発症状は下痢と粘血便が圧倒的に多かった（図 2)。初発症状としての痔瘻はみられなかった。型別頻度は左結腸型と全結腸型はほぼ同じ割合であり、直腸型の頻度は少なかった（図 3a)。治療別にみると SASP(Salazosulphapyridin)と Steroid の併用が最も多く、SASP 単独投与も 38%にみられた（図 3b)。現在の通院の有無をみると 29%が通院を中止していた（図 4)。

(b) クローン病

クローン病は 15 名(男性 11 名、女性 4 名)、男性が 73%を占め ていた(図 1)。初発の平均年齢は 22.8 ± 6.5 歳であった。初発症状は腹痛、下痢が多く、痔瘻もみられた（図 2)。型別頻度は大腸型が最も多く、混合型は少なかった（図 5a)。治療別にみると SASP と Steroid の併用、SASP と ED(Elemental Diet)の併用が多くみられた（図 5b)。現在の通院の有無をみると 13%が通院を中止していた（図 4)。

(c) 潰瘍性大腸炎とクローン病の比較

男女別頻度では潰瘍性大腸炎が 女性に、クローン病が男性に多くみられた（図 1)。発病の平均年齢はクローン病が潰瘍性大腸炎より 10 歳若かった。初発症状では潰瘍性大腸炎が粘血便、クローン病は腹痛が特徴であった（図 2)。経過中の痔瘻の出現頻度は潰瘍性大腸炎が 5%に対してクローン病が 60%であった（図 6)。経過中の手術の頻度は潰瘍性大腸炎が 5%に対してクローン病が 40%であった（図 7)。潰瘍性大腸炎の手術例は Toxic megacolon のためであり、クローン病では腸管が穿孔して限局性の腹膜炎を引き起こし肉芽を形成した症例や腸管が Fistel を形成したり、狭窄のために通過障害を起こしたためであった。経過中に通院を中止した患者割合は潰瘍性大腸炎が 29%に対してクローン病が 13%であった（図 4)。

(d) クローン病の合併症

経過中に回腸末端の切除術を受けていな

い20歳女性と28歳男性にVitamin B12、葉酸欠乏のため巨赤芽球性貧血の合併をみたが、悪性貧血は合併していなかった。このうち20歳女性は巨赤芽球性貧血の治療2年後に亜急性連合性脊髄変性症を合併した。治療前の血清Vitamin B12は140pg/ml(N:230-800pg/ml)、葉酸0.6ng/ml>(N:2.5-9.2ng/ml)、治療後はそれぞれ1,600pg/ml<、15.0ng/ml<、髄液Vitamin B12は110pg/ml、葉酸1.1ng/ml、治療後はそれぞれ260pg/ml、4.8ng/mlであった。治療はVitamin B12、葉酸いずれも経口投与で行い改善した。

(2) 免疫病理学的所見

(a) 正常大腸粘膜および急性大腸炎

正常の結腸腺管上皮細胞はHLA-ABC抗原陽性、HLA-DR、DQ、DP抗原は陰性であった（図8)。急性非特異的大腸炎の結腸粘膜上皮細胞はHLA-ABC抗原陽性、HLA-DR抗原は5例中2例に陽性であったが、不均一な染まりが少数の腺管上皮細胞にみられた（図9)。HLA-DQ、DP抗原は陰性であった。治療後はHLA-DR、DQ、DP抗原は陰性であった。

(b) 潰瘍性大腸炎

病変部の結腸または直腸粘膜上皮細胞はHLA-ABC、HLA-DR抗原が全ての腺管上皮に均一に陽性であったが、病変の高度な腺管上皮細胞に強く染まる傾向がみられた（図10)。HLA-DQ、DP抗原は病変の高度な腺管上皮細胞の一部に陽性であった（図11)。治療後のHLA-DR、DQ、DP抗原はtrace～陰性であった。病変部に浸潤しているリンパ球はHLA-DR抗原が大部分陽性（図12)CD4(Leu3a)、CD21(OKB7)、CD15(LeuM1)分子は一部に陽性の症例もみられた。他のCD分子は陰性であった。

(c) クローン病

病変部に残存している結腸粘膜上皮細胞はHLA-ABC、HLA-DR抗原が全ての腺管上皮細胞に均一に陽性であったが、HLA-DQ、DP抗原は一部に陽性であった（図13、14)。治療後のHLA-DR、DQ、DP抗原はtrace～陰性になる症例もみられた（表1)。病変部に浸潤しているリンパ球はHLA-DR抗原が大部分陽性、CD21(OKB7)、CD15(LeuM1)分子は一部に陽性の症例もみられた。他のCD分子は陰性であった。

【IV.考　案】

(1) 臨床的特徴

潰瘍性大腸炎とクローン病は炎症性腸疾患として一つの疾患単位にまとめられているが、臨床的には明らかに異なっており、男女別頻度、腸管穿孔、通院中の患者割合、痔瘻、手術の頻度に差がみられた。治療を途中で中断した患者割合は潰瘍性大腸炎がクローン病の2倍以上であるが、重症感の異いから治療を中断した患者や、潰瘍性大腸炎で寛解に入った患者も含まれているためとも思われる。手術の頻度は潰瘍性大腸炎はクローン病に比較して少ないが、手術適応になった場合は緊急を要し重症であった。治療に関しては潰瘍性大腸炎の場合は精神的なストレスが病勢に対して強く影響するため、ステロイドの減量、離脱の困難な症例もみられた。クローン病は成分栄養剤の登場によって予後がかなり改善されるようになったが、成分栄養剤を服用するかどうかは患者自身の認識度にかかっており、服用を中断する患者もいるため注意を要する。

クローン病の合併症として巨赤芽球性貧血がみられたが、悪性貧血の合併によるものではなく、2例とも混合型のクローン病で回腸末端の病変による吸収障害によるものであった。回腸末端粘膜には正常粘膜が残存しているため治療はVitamin B12、葉酸いずれも経口で投与し改善した。巨赤芽球性貧血治療2年後のクローン病に亜急性連合性脊髄変性症を合併した症例では臨床症状と平行して治療後の血清のみならず髄液でもVitamin B12、葉酸の濃度が改善していた。いずれも回腸末端の切除を受けていないにもかかわらず回腸末端の吸収障害を起こしたものであり注意を要する。

(2) 病　因

主要組織適合抗原(MHC)は細胞性免疫による自己組織の破壊の際に重要な役割をしていることが知られている。さらにある種の臓器特異的自己免疫疾患では標的細胞にHLA-DR抗原の発現がみられ、免疫学的機序による自己組織の破壊に何らかの役割をしていることが示唆されている。以前に著者は臓器特異的自己免疫疾患である悪性貧血患者の胃底腺細胞にHLA-DR、DQ、DP抗原の発現がみられ胃底腺細胞の障害に際して重要な役割をしている可能性を示唆した[3]。また各種サイトカインのうちIFN-γがHLA class II抗原の発現を誘導できるとされている[4]。潰瘍性大腸炎、クローン病患者の大腸粘膜腺管上皮細胞にもHLA-DR、DQ、DP抗原の発現が均一にみられ、悪性貧血の胃底腺細胞の所見に一致している。さらに治療後のHLA-DR、DQ、DP抗原の発現は減弱或いは消失しており、潰瘍性大腸炎、クローン病患者の大腸粘膜上皮細

胞のHLA-DR、DQ、DP抗原の発現は単に炎症の結果ではなく大腸粘膜の障害に際して重要な役割をしているものと思われる。一方、急性非特異的大腸炎の際のHLA-DR、DQ、DP抗原の発現は慢性胃炎の所見に類似して不規則に発現しており、炎症の二次的結果である可能性が考えられる。

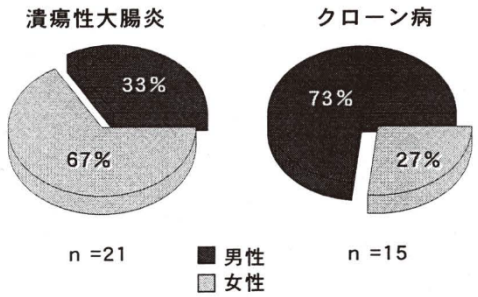
病変部に浸潤している炎症細胞は、HLA-DR抗原陽性の細胞であったが、他のCD分子に関しては所見は得られなかった。今回使用した材料は病変の完成された時期のものであるが、発症機序を検討するためには病変初期に浸潤している炎症細胞の解析ともに病変形成に関与する各種サイトカインの解析が重要である。

【V.結　語】

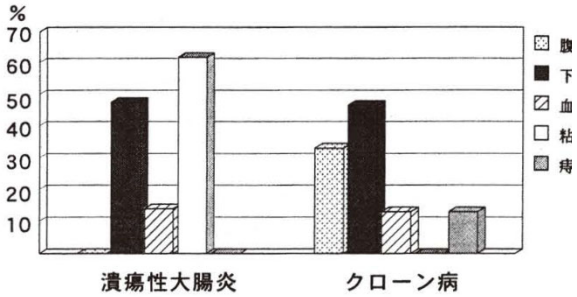
1) 当科で経験した潰瘍性大腸炎、クローン病患者を臨床的、さらに凍結生検材料を用いて免疫病理学的に解析し、結腸粘膜のHLA class Ⅰ(HLA-ABC)、class Ⅱ(HLA-DR、DQ、DP)抗原の発現を検討した。
2) 潰瘍性大腸炎とクローン病は男女別頻度、穿孔、小腸病変、痔瘻、手術の頻度に差がみられた。
3) クローン病の合併症として回腸末端の切除術を受けていないにもかかわらず巨赤芽球性貧血と亜急性連合性脊髄変性症がみられたが、いずれもVitamin B12 、葉酸の経口投与で改善した。
4) 潰瘍性大腸炎、クローン病患者の大腸粘膜腺管上皮細胞にはHLA-DR抗原が均一に発現され、治療によって抗原の発現は減弱あるいは消失しており大腸粘膜の障害に際して重要な役割をしているものと思われた。

【文　献】

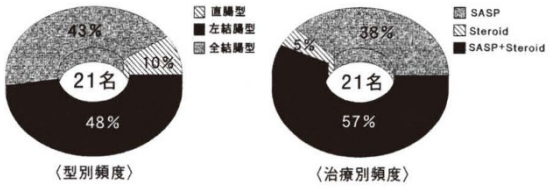
1) Kirsner, JB, Shorter RG, ed. Inflammatory bowel disease. 4d ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995.
2) Cronh病および潰瘍性大腸炎の診断基準と治療指針（案）厚生省特定疾患，難治性炎症性腸管障害調査研究班，平成5年度，平成6年度研究報告書.
3) 早坂 隆，広瀬定徳，丸山 裕：悪性貧血患者の胃底腺細胞におけるHLA classI classII抗原の発現．臨床免疫，21 ： 472-478，1989.
4) Skoskiewicz, MJ, Colvin RB, Schneeberger, EE, et al.: Widespread and selective induction of major histocompatibility complex-determined antigens in vivo by γinterferon. J Exp Med, 162 ： 1645 , 1985.



（図１）男女別頻度の比較

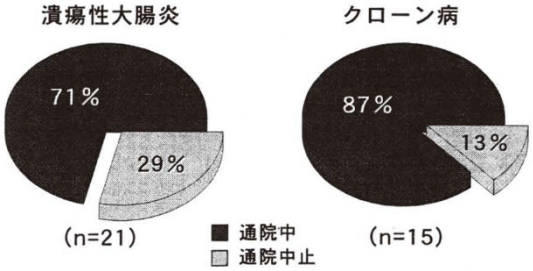


（図２）初発症状の比較

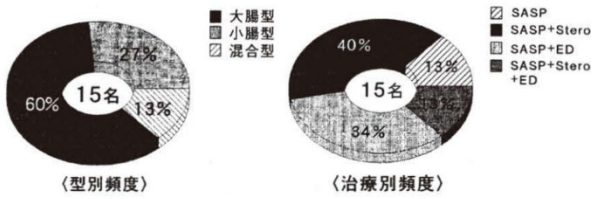


a〈型別頻度〉　b〈治療別頻度〉

（図３）潰瘍性大腸炎

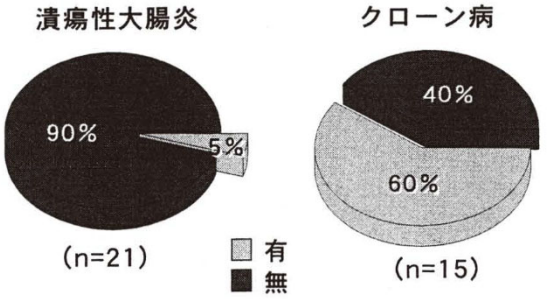


（図４）通院中の患者割合

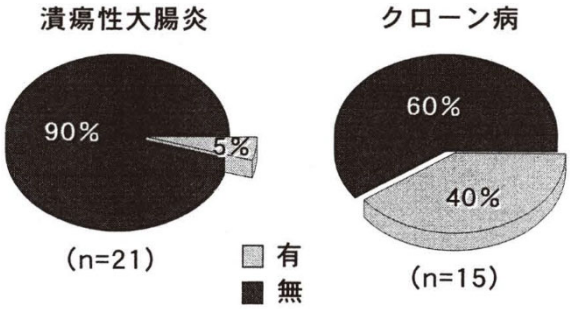


a〈型別頻度〉　b〈治療別頻度〉

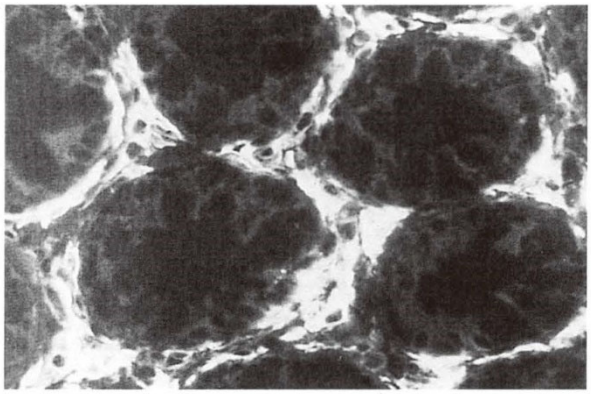
（図５）クローン病



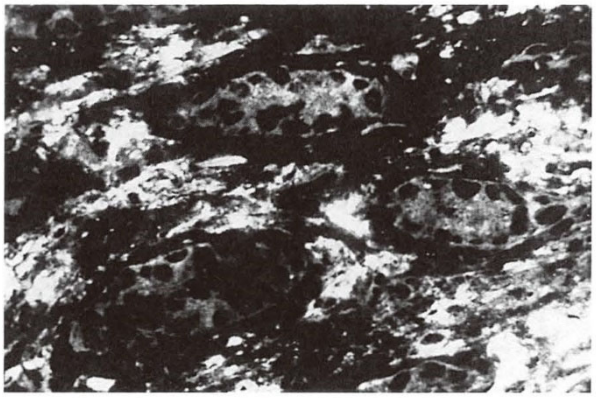
（図６）痔瘻の頻度



（図７）手術の頻度

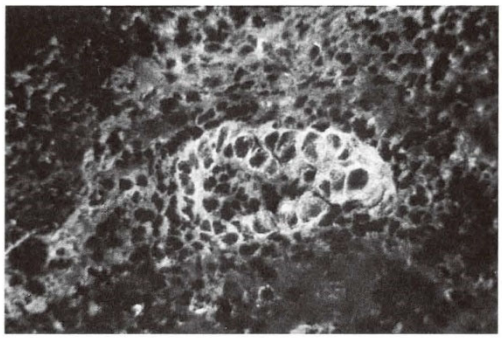


（図８）HLA-DR（正常粘膜）×200

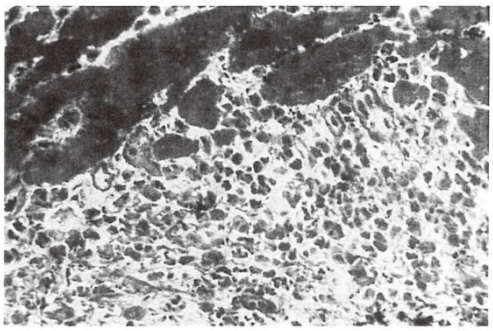


（図９）HLA-DR（急性大腸炎）×100

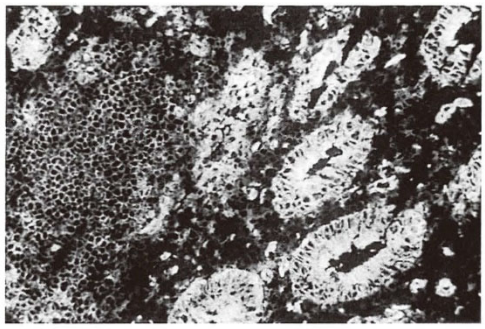
（図10）HLA-DR（潰瘍性大腸炎）×100



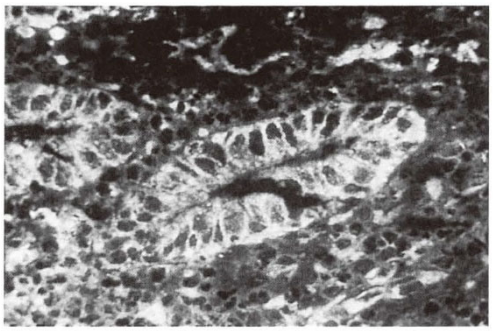
（図11）HLA-DQ（潰瘍性大腸炎）×200



（図12）HLA-DR（潰瘍性大腸炎）×100



（図13）HLA-DR（クローン病）×100



（図14）HLA-DP（クローン病）×200

（表１）

HLA Antigen Expressions on Colonic Epithelium

	HLA-			
	ABC	DR	DQ	DP
Crohn's Disease	7/7	7/7	1/7	2/7
Ulcerative Colitis	6/6	4/4	1/4	2/4
Acute Colitis	5/5	2/5	0/5	0/5
Normal Colon	9/9	0/9	0/9	0/9