

## 炎症性腸疾患の腸間膜リンパ節内細菌

横浜市立大学第2外科

福島 恒男 久保 章 川本 勝  
杉田 昭 石黒 直樹 竹村 浩  
土屋 周二

### BACTERIAL CULTURE OF MESENTERIC LYMPH NODE IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Tsuneo FUKUSHIMA, Akira KUBO, Masaru KAWAMOTO, Akira SUGITA

Naoki ISHIGURO, Hiroshi TAKEMURA and Shuji TSUCHIYA

Second Department of Surgery, Yokohama City University

炎症性腸疾患(IBD)のうち、潰瘍性大腸炎6例、Crohn病3例の腸間膜リンパ節を培養し、他の38例の腹部疾患の腸間膜リンパ節培養結果と比較した。前者の9例中4例(44.4%)に細菌が検出され、菌種ではPropionibacteriumが多く、4例の平均菌数は $4.0 \times 10^4$ /gmであった。

一方、炎症性腸疾患38例中23例(60.5%)に細菌が検出され、そのほとんどがPropionibacteriumであり、23例の平均菌数は $3.1 \times 10^3$ /gmであった。両群間の細菌検出率、平均菌数に統計的有意差は認められなかった。腸間膜リンパ節内にはPropionibacteriumが常在すると思われ、IBDに特異的な細菌は検出されなかった。

索引用語：炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、Crohn病、腸間膜リンパ節内細菌

炎症性腸疾患(IBD)の病因は不明であるが、腸内細菌がその発生に深く関与しているという報告は多い<sup>1)2)</sup>。粘膜病変部から大腸粘膜と共通抗原性を有する腸内細菌が侵入して大腸壁内でリンパ球を感作し、この感作リンパ球が共通抗原性を通じて大腸粘膜を標的細胞として傷害すると言う説は免疫学的立場から支持されている<sup>3)</sup>。腸内細菌は粘膜下をとおり腸間膜リンパ節まで侵入する可能性もあり、本症の門脈血中に細菌が検出されたと言う報告もある<sup>4)</sup>。Burhamら<sup>5)</sup>は本症7例の腸間膜リンパ節から細胞膜の欠如する微生物を検出し、これがmycobacteria kansasiiで、本症の発生因子であるとした。Crohn病の肉芽腫と類似した組織所見を報告するSarcoidosisのリンパ節を培養してPropionibacterium acnesを検出した報告もある<sup>6)</sup>。われわれはこれらの結果にもとづき潰瘍性大腸炎とCrohn病の腸間膜リンパ節を手術時に採取して細菌培養を行ない、対照群のそれと比較検討したので報告する。

### 対 象

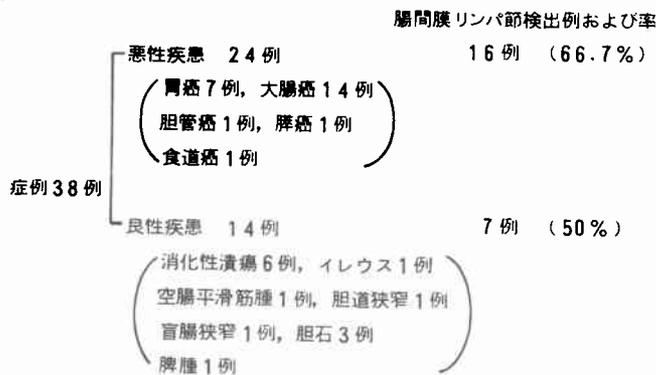
対象は炎症性腸疾患の9例で、その内訳は潰瘍性大腸炎6例、Crohn病3例である(表1)。潰瘍性大腸炎症例手術例のうち4例は全大腸炎型、1例は左側大腸炎型、1例は直腸炎型である。全大腸炎型の3例は初回手術例で、結腸全摘兼回腸直腸吻合術を行った際に採取し、他の1例(EM, 27歳♂)は2年前に同手術を行ない、直腸病変の炎症が高度なため、直腸切断術兼回腸人工肛門を造設した際に採取した。これら4例のうち2例(K.C. 43♀, EM 27♂)の大腸粘膜は偽ポリポーシス型で、病期は活動期であり、他の2例の大腸粘膜は萎縮型で、病期は緩解期であった。左側大腸炎型症例は胆石を合併し、直腸炎型症例は胃癌を合併して手術を受けたが、いずれも手術時の大腸粘膜は萎縮型で、病期は緩解期であった。

Crohn病のうち2例(IS, 39♂, FA, 19♂)は回腸結腸型で腸閉塞を合併して緊急手術となったものである。NK, 42♀は結腸型で左側結腸切除を行った際に採

表1 炎症性腸疾患の分類と腸間膜リンパ節内細菌数

|         |                        |        |  |
|---------|------------------------|--------|--|
| KC 43 ♀ | 潰瘍性大腸炎(全大腸炎型)          | S状結腸間膜 | $1.3 \times 10^5$ Propionibacterium                                      |
| OS 19 ♂ | 潰瘍性大腸炎(全大腸炎型)          | 〃      | negative   |
| YS 64 ♀ | 潰瘍性大腸炎(直腸炎型)<br>胃癌合併   | 〃      | $1.1 \times 10^2$ Propionibacterium<br>$3.3 \times 10^2$ Micrococccaceae |
| WC 46 ♀ | 潰瘍性大腸炎(左側大腸炎型)<br>胆石合併 | 〃      | negative   |
| EM 27 ♂ | 潰瘍性大腸炎(全大腸炎型)          | 腸間膜    | 〃  |
| AC 29 ♀ | 潰瘍性大腸炎(全大腸炎型)          | S状結腸間膜 | 〃  |
| IS 39 ♂ | クローン病(小腸大腸炎型)          | 腸間膜    | 〃  |
| NK 42 ♀ | クローン病(大腸炎型)            | 〃      | $2.8 \times 10^4$ yeasts   |
| FA 19 ♂ | クローン病(小腸大腸炎型)          | 〃      | Sarcina $1.1 \times 10^3$<br>Propionibacterium $3.5 \times 10^2$         |

表2 対照群の原疾患名と腸間膜リンパ節内細菌検出率



取した。また対照群は当科で開復術を行った38例で、悪性疾患24例、良性疾患14例であった(表2)。

方法

開復後、皮膚からの汚染をさけるために手術器具を新しく、腸管操作に先立って小腸間膜または結腸間膜よりリンパ節を採取した。炎症性腸疾患症例のリンパ節は罹患腸管部位の腸間膜で腸管近傍のものを選んだ。対照群のうち悪性疾患症例は転移可能な部位を避け、良性疾患も腸間膜の腸管近傍のリンパ節を採取した。リンパ節の大きさは長径4~11mmであった。採取後ただちに嫌気ポーターに入れ、可及的すみやかに培養した。まず秤量後リンパ節表面を良く洗浄し、炭酸ガスを注入しながらガラスhomogenizerで乳化し、稀釈して培養した。培養方法は光岡の方法<sup>7)</sup>に従い、3種の非選択培地と10種の選択培地を用いて、好氣的なら

びに嫌氣的に培養してから同定した。そしてリンパ節1gm当りの細菌数を対数で示した。

結果

炎症性腸疾患9例の腸間膜リンパ節培養結果を表1に示した。潰瘍性大腸炎6例中2例に、Crohn病3例中2例に細菌が検出された。潰瘍性大腸炎の2例にPropionibacteriumがそれぞれ $1.3 \times 10^5$ /gmと $1.1 \times 10^2$ /gm検出され、後者の1例で $3.3 \times 10^2$ /gmのmicrococccaceaeが検出された。

Crohn病の1例ではyeastsが $2.8 \times 10^4$ /gm、他の1例ではPropionibacteriumが $3.5 \times 10^2$ /gmとSarcinaが $1.1 \times 10^3$ /gm検出された。細菌陽性率は9例中4例44.4%で、陽性例の平均菌数は $3.0 \times 10^4$ /gmであった。

対照群の腸間膜リンパ節培養結果をみると、悪性疾

患24例中、細菌陽性例は16例(66.7%)であり、良性疾患14例中の陽性例は7例(50%)であった(表2)。悪性疾患では表3に示すように1例を除いてPropionibacteriumが検出され、良性疾患では7例の細菌は全例Propionibacteriumであった(表4)。前者の平均菌数は $3.1 \times 10^3$ /gm, 後者の平均菌数もまた $3.1 \times 10^3$ /gmであった。対照群の細菌陽性群と陰性群について原因疾患、リンパ節採取部位、リンパ節の大きさなどを比較したが差はみられなかった。検出されたPropionibacteriumの4株について菌種レベルまで

同定した結果、全例Propionibacterium acnesで、groupおよびsubgroupはそれぞれA-1, D, G-1, Eであることが判明した<sup>9)</sup>。

考 察

炎症性腸疾患の腸間膜リンパ節を培養した結果、9例中4例に細菌が検出され、そのうち3例はPropionibacteriumであった。対照群として他の消化器疾患38例の手術時採取した腸間膜リンパ節を培養した結果は、悪性疾患では66.7%、良性疾患では50%にPropionibacteriumが検出され、菌種レベルまで同定した株はすべてPropionibacterium acnesであった。細菌数は1gmあたり $10^2 \sim 10^4$ 個で、少数であった。炎症性腸疾患に特異的な細菌は検出されず、腸間膜リンパ節内には原因疾患にかかわらず、約半数に少数のPropionibacteriumが常在すると考えられた。腸間膜リンパ節内に腸内細菌叢のうち、この菌のみが定着していたが、この菌が腸間膜リンパ節の中で生き残れる数少ない菌のひとつなのか、それとも腸管以外から流入したのか不明である。Propionibacteriumはヒトの皮膚の常在菌であり、皮膚から侵入し、乳糜槽から逆流して定着した可能性もあると思われる。Propionibacteriumは嫌気性、無芽胞性、グラム陽性の桿菌でカタラーゼ陽性である<sup>9)</sup>。そしてプロピオン酸、酢酸と少量のイソ甘草酸、蟻酸、りんご酸、乳酸などを生成する。嫌気性菌全体の97%は無芽胞性のBacteroides, Peptococcus, Fusobacterium, Peptostreptococcus, Eubacterium, Propionibacterium, Veillonellaであり、臨床材料から分離された嫌気性菌のうち、Propionibacteriumは7%を占めたと報告されている<sup>10)</sup>。上野<sup>11)</sup>は466例の患者の細菌分離、同定試料中103株(18.2%)に嫌気性菌を検出し、そのうちPropionibacteriumは30%を占めたと報告し、なかでも感染症を有する症例の胸骨骨髓の培養で本菌の検出率が高かったと言う。また臨床的には感染症のない患者48名の骨髓培養でも23名にPropionibacteriumが検出されたと言う。一般成人の皮膚には100%にPropionibacteriumが多数検出される。そして皮脂腺の分布の密度と密接な関連を有し、皮脂腺の分布しない部位からは検出されない。皮脂腺分布の多い皮膚では1cm<sup>2</sup>当り $10^5 \sim 10^6$ 個の本菌が個人別、入浴発汗、季節に関係なく検出され、皮膚の組織切片においても、皮脂腺の導管、毛根部に本菌と思われる形態の細菌集団を証明したと言う。健康人結膜囊内にも本菌が検出され、便中にも $10^7 \sim 10^8$ /gm個の本菌が検出される<sup>10)</sup>。

表3 悪性疾患の腸間膜リンパ節細菌陽性例の細菌種と細菌数

| (悪性疾患) |    |   |     |                             |                   |
|--------|----|---|-----|-----------------------------|-------------------|
| 患者名    | 年齢 | 性 | 疾患名 | 細菌の種類                       | 細菌数/gmリンパ節        |
| OC     | 57 | ♀ | 結腸癌 | Propionibacterium           | $7.4 \times 10^2$ |
| AK     | 58 | ♀ | "   | "                           | $4.5 \times 10^3$ |
| ST     | 44 | ♀ | 直腸癌 | "                           | $1.2 \times 10^5$ |
| SI     | 58 | ♂ | "   | "                           | $2.1 \times 10^2$ |
| NK     | 73 | ♂ | 結腸癌 | "                           | $1.9 \times 10^3$ |
| KV     | 45 | ♀ | "   | "                           | $5.2 \times 10^2$ |
| IS     | 55 | ♂ | 胃癌  | "                           | $2.1 \times 10^3$ |
| OS     | 75 | ♂ | "   | "                           | $1.1 \times 10^4$ |
| OT     | 35 | ♂ | "   | "                           | $2.5 \times 10^3$ |
| UM     | 69 | ♂ | "   | "                           | $4.2 \times 10^3$ |
| KS     | 38 | ♂ | "   | "                           | $6.1 \times 10^3$ |
| MT     | 63 | ♂ | 直腸癌 | "                           | $1.9 \times 10^2$ |
| IM     | 77 | ♂ | 胃癌  | "                           | $1.2 \times 10^2$ |
| HM     | 58 | ♂ | 直腸癌 | "                           | $2.2 \times 10^2$ |
| IS     | 59 | ♂ | 結腸癌 | Enterobacter                | $7.0 \times 10^2$ |
|        |    |   |     | Propionibacterium           | $1.3 \times 10^3$ |
|        |    |   |     | Micrococccaceae             | $3.7 \times 10^2$ |
|        |    |   |     | Bacteroides melaninogenicus | $6 \times 10^2$   |
|        |    |   |     | Veillonella parvua          | $1.6 \times 10^5$ |
|        |    |   |     | Eubacterium aerofaciens     | $2 \times 10^2$   |
| AK     | 50 | ♂ | 胃癌  | Lactobacillus fermentum     | $6 \times 10^2$   |
|        |    |   |     | Streptococcus intermedius   | $1 \times 10^5$   |
| 平均     |    |   |     |                             | $3.1 \times 10^3$ |

表4 良性疾患の腸間膜リンパ節細菌陽性例の細菌種と細菌数

| (良性疾患) |    |   |        |                   |                   |
|--------|----|---|--------|-------------------|-------------------|
| 患者名    | 年齢 | 性 | 疾患名    | 細菌の種類             | 菌数/gmリンパ節         |
| NM     | 46 | ♂ | 胃潰瘍    | Propionibacterium | $2.3 \times 10^3$ |
| TS     | 71 | ♀ | "      | "                 | $2.0 \times 10^3$ |
| ST     | 59 | ♂ | 十二指腸潰瘍 | "                 | $1 \times 10^4$   |
| TM     | 52 | ♂ | 胃潰瘍    | "                 | $2.1 \times 10^3$ |
| SM     | 47 | ♂ | 空腸平滑筋腫 | "                 | $8.3 \times 10^2$ |
| HK     | 54 | ♀ | 盲腸狭窄   | "                 | $3.3 \times 10^3$ |
| ST     | 38 | ♀ | 脾腫     | "                 | $1.2 \times 10^2$ |
| 平均     |    |   |        |                   | $3.1 \times 10^3$ |

このようにヒトの体中どこにも検出される本菌が腸間膜リンパ節内にも検出されたと言うことはそれ自体、特異的な意味を持たないかも知れない。しかし本菌をマウス、モルモットの皮下および腹腔内に接種し、潰瘍、膿瘍形成がみられ、肝臓、心臓では肉芽腫がみられたと言う報告もある<sup>11)</sup>。PropionibacteriumはBirgy's manual<sup>9)</sup>によれば7種の菌属に分類されている。このなかでP. lymphophilumは名前が示すようにリンパ節に親和性がありHodgkin病のリンパ節内で最初に検出され、またサルの腸間膜の神経節からも検出されている。

ヒトのリンパ節は本来、細菌の濾過器の役割りを演じており、感染症の場合には生体の防御地点として、感染の広がりを防ぐ器官である。感染のない時点で、腸間膜リンパ節に細菌を検出したことは、Propionibacteriumがリンパ節のなかで捕食されずに共存していると推定される。

Weedら<sup>12)</sup>は頸部リンパ節を培養しtubercle bacilli, Coccidioides rinmitis, Brucella suis, Aspergillus gumigatusなどを検出し、確定診断の手掛りにしている。その際に嫌気性のdiphtheroidとmicrococciを検出しているが、前者は現在の分類上、Propionibacteriumであり、病原菌との共存も証明されている。

最近、炎症性腸疾患の起因菌に関する報告がみられている。

Stanfordら<sup>13)</sup>は、腸間膜リンパ節培養を行い、Crohn病50例中33例、潰瘍性大腸炎20例中11例、対照群26例中2例に好酸性に染色される細胞膜の欠如したMycobacteriumを認めた。またParent<sup>14)</sup>もCrohn病の腸管壁と腸間膜リンパ節を培養して細胞膜の欠如したPseudomonaslike bacteriaを高率に認めた。Burhamら<sup>5)</sup>も同様の微生物を検出し、これはmycobacteria kansasiiであると同定している。これらの細菌は細胞膜を欠如しているため0.2 $\mu$ のmicrofilterを通過出来、これらを家兎の腸管壁に接種してCrohn病類似を作ることが出来たと言われている<sup>15)</sup>。そしてこれらの細菌がCrohn病や潰瘍性大腸炎の発生因子であると報告している。Parent<sup>14)</sup>らはあらかじめ試料を0.2 $\mu$ のfilterで濾過し、高張液で培養するという特異的な方法をとっており、またStanfordら<sup>14)</sup>も最低9カ月間も長期間にわたり培養するという特異的な手法をとっており、これらの方法では通常の細菌は発育しない。

彼らによって同定されたcell wall defective mi-

croorganismが炎症性腸疾患の真の起因菌かどうかは、近い採来解決されるであろう。

以上、炎症性腸疾患の腸間膜リンパ節を培養し、Propionibacteriumが多くみられ、他の疾患の腸間膜リンパ節にも同菌が多くみられ、炎症性腸疾患に特異性のないことを報告した。

## 結 論

炎症性腸疾患(潰瘍性大腸炎、Crohn病)の腸間膜リンパ節の細菌培養を行い、以下の結果を得た。

① 潰瘍性大腸炎6例中2例、Crohn病3例中2例の腸間リンパ節に細菌が検出された。細菌陽性率は44.4%で、Propionibacteriumが多く、陽性例の平均菌数は $4.0 \times 10^4$ /gmであった。

② 対照群のうち、悪性疾患24例中16例(66.7%)良性疾患14例中7例(50%)の腸間膜リンパ節に細菌が検出された。細菌はPropionibacteriumが多く、陽性例の平均菌数は $3.1 \times 10^3$ /gmであった。

③ 同定しえた細菌はPropionibacterium acnesであった。

④ 炎症性腸間膜リンパ節内には特異的な細菌は検出されなかった。

本研究は厚生省特定疾患「特発性腸管障害」調査研究費によった。またPropionibacteriumのgroupingは理化学研究所光岡知足先生の御協力によるものであり、ここに深謝致します。

## 文 献

- 1) Kirsner JB, Shorter RG: Inflammatory bowel disease. Section 4, Philadelphia, Lea & Febiger, 1980, p55-70
- 2) Brooke BN, Wilkinson AW: Inflammatory Disease of the Bowel. Chapter 3, Kent, Pitman Press, 1980, p15-24
- 3) 吉田 豊, 黒江清郎: 潰瘍性大腸炎の成因. 内科セミナー. 潰瘍性大腸炎, クロウン病, 永井書店, 東京, 1982, p98-111
- 4) Brooke BN, Slaney G: Portal bacteremia in ulcerative colitis. Lancet I: 1206-1207, 1958
- 5) Burham WR, Lennard-Jones JE, Stanford JL: Mycobacteria as a possible cause of inflammatory bowel disease. Lancet II: 693-394, 1978
- 6) Homma JY, Abe C, Chosa H, et al: Bacteriological investigation on biopsy specimen from patients with sarcoidosis. Jpn J Exp Med 48: 251-255, 1978
- 7) 光岡知足: 腸内常在菌叢. 臨検 23: 320-341, 1979

- 8) Mitsuoka T, Benno Y, Homma JY, et al: Characterization of propionibacterium acnes isolated from biopsy specimens obtained from patients with sarcoidosis. *Jpn J Exp Med* 48 : 275—277, 1978
  - 9) Buchanan RE, Gibbons NE: Birgy's manual of determinative bacteriology. 8th Edition, Williams & Wilkins, Baltimore, 1974, p633
  - 10) 上野一恵, 渡辺邦友: 無芽胞嫌気性菌による感染症. *臨病理* 37 : 48—65, 1979
  - 11) 上野一恵: 常在菌としての嫌気性菌と病原性としてのきめて. *日細菌誌* 22 : 347—348, 1967
  - 12) Weed LA, Dahlin DC: Bacteriologic examination of tissue removed for biopsy. *Am J Clin Path* 20 : 116—132, 1950
  - 13) Stanford JL, White SA, Burham WR: Mycobacteria and inflammatory bowel disease. *Lancet* II : 444, 1979
  - 14) Parent K, Mitchell P: Cell wall-defective variants of pseudomonas-like (group Va) bacteria in Crohn's disease. *Gastroenterology* 75 : 368—372, 1978
  - 15) Cave DR, Mitchell DN, Brooke BN: Experimental animal studies of the etiology and pathogenesis of Crohn's disease. *Gastroenterology* 69 : 618—624, 1975
-