

潰瘍性大腸炎の成因および増悪にかかわる細菌因子の一つとしての硫酸還元細菌

渡 邊 邦 友 三 鴨 廣 繁 田中香お里

Clinical significance of sulfate reducing bacteria for ulcerative colitis

Kunitomo Watanabe, Hiroshige Mikamo, Kaori Tanaka

Division of Anaerobe Research, Life Science Research Center, Gifu University

Abstract

Ulcerative colitis(UC) is colon-localized disease. Broad epithelial cell damage, crypt abscesses and accumulation of neutrophils are recognized for UC. Although the cause of UC is indistinct at this time, there is a growing consensus that abnormal intestinal microflora would be related with UC. There have been several evidences that excessive production of hydrogen sulfide by bacteria in colon would be associated with UC. Sulfate reducing bacteria are able to utilize sulfate as an electron receptor for dissimilation of organic substrate and hydrogen gas, resulting in generating toxic hydrogen sulfide. This review is dealt with the association between sulfate reducing bacteria and UC in aetiology and bacterial pathogenesis.

Key words: hydrogen sulfide, sulfate reducing bacteria, ulcerative colitis

はじめに

硫酸塩を最終電子受容体として用いて、有機物からエネルギーを獲得する異化型硫酸還元嫌気性細菌(dissimilatory sulfate reducing bacteria: DSRB)という細菌がある。DSRBは代謝産物として有毒ガスである硫化水素を産生する。DSRBが関与する硫酸還元反応は、地球上のいろいろな場所、生活排水、埋設管、硫黄鉱床などで起こっており、人の生活とは種々の面で深いかわりをもっていることはよく知られていて、工学、応用生物学などの分野で研究対象となることが多かった微生物である。

このDSRBが人の口腔や腸管の常在菌であることは知られていたが、臨床細菌学の進歩と

免疫不全宿主の増加によるのではと思われるが、感染症患者の臨床材料からDSRBの範疇に含まれる*Desulfovibrio* spp.が分離される症例が近年少しずつ増加している。特に、血液から分離される症例があることから著者は*Desulfovibrio* spp.に興味をもっていた¹⁻³⁾。文献を収集しているうちに、このDSRBが潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis: UC)との関連で内科外科の分野で問題になっている微生物の一つであることがわかった。と同時に、我が国のUC関連出版物の中にはこのDSRBに関する記載がほとんどないことに気づいた。

本稿ではDSRBについて、UCとの関連のもとで基礎の立場から解説を試みることにした。

1. 潰瘍性大腸炎 (UC) の定義と病因

UC は、主として粘膜を侵し、びらんや潰瘍を形成する大腸の原因不明のびまん性非特異的炎症 (厚生省特定疾患潰瘍性大腸炎) であり、本特定疾患への登録患者数は 6 万人 (1999 年) と報告されている。好発年齢は男性 20-24 歳、女性 24-29 歳と若い世代に多発する。UC の成因は不明であるが、UC は腸内細菌の豊富に存在する大腸に好発することから、腸内細菌叢に対する免疫応答の異常や細菌そのものが病態形成に重要な役割を演じていると考えられてきた。近年、腸内細菌叢に対する免疫応答についての学術的興味がますます高まっている。つまり腸内細菌叢や腸内細菌に由来する分子に対する過剰な免疫応答が UC の病因、病態形成において重要な役割を担っているのではないかと考えられている^{4,5)}。また、この疾患が遺伝的背景をもつこともよく知られている。

2. UC の成因、増悪に関与する細菌因子

幾つかの細菌種が UC の病因に大きく貢献しているのではないかと指摘されている。あげられている細菌種には病原菌と日和見菌が含まれている⁵⁾。例えば、病原菌としては、ベロ毒素産生の *Escherichia coli* 株がある。UC の再燃例 (4 例/18 例) で分離されたとする報告と寛解期の直腸生検 (28 例/28 例) で分離されたとする報告の 2 つの報告が異なる研究者によって発表され注目された^{6,7)}。また細胞内寄生菌である *Lawsonia intracellularis* の関与が疑われたこともある。この菌はブタの proliferative enteropathy の原因菌として知られている。最近の研究結果によると、*L. intracellularis* と UC との関連性は低いと考えられる⁸⁾。また、エンテロトキシン産生性の *Bacteroides fragilis* の関与を示唆する論文もみられる。この嫌気性菌は小児下痢症との関連が指摘されている嫌気性菌である⁹⁾。

UC 患者における糞便および粘膜細菌叢構成の質的な異常について指摘した論文は少ない。UC にクローン病 (Crohn's disease: CD) をも加えた炎症性腸疾患 (inflammatory bowel

diseases: IBD) 患者の腸管粘膜上の細菌叢の構成は、粘膜の防御に関係する細菌 (potentially protective mucosal bacteria: PPMB) が減少し、病原的意味合いの濃い細菌 (pathogenic species) が増加しているとの考えに基づき、細菌培養法、あるいは分子生物学的手法も導入して、UC 患者と健康人との糞便の細菌叢 (fecal bacteria)、最近ではむしろ腸管粘膜細菌叢 (mucosal bacteria) の相違について検討が行われてきた⁵⁾。例えば、腸内常在菌である *Bacteroides vulgatus* が、UC 患者の粘膜で、健康人に比し高濃度に分離されたとの報告がある¹⁰⁾。更には、UC 患者粘膜から分離した各種細菌、例えば *Enterococcus*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Veillonella* の各属に含まれる幾つかの常在菌の菌種についての検討の中から、*Fusobacterium varium* の UC への関与を示唆した論文もある。*F. varium* 培養液に存在する酪酸が、ベロ細胞毒性を示したこと、またその培養液をマウスに注腸接種することによりマウスに UC に類似の病巣を作ることにより成功したとの報告がある^{11,12)}。

fluorescent *in situ* hybridization 法という新しい分子生物学的な手法を導入して、ごく最近行われた細菌叢の検討成績が発表されている¹³⁾。それによると、細菌はほとんど上皮に付着してあるいはクリプトの内部にみられるが、上皮に付着している細菌のうち、本質的に有益と考えられている前述の PPMB の範疇に入る *Bifidobacterium* spp. は IBD の活動期で菌数が最も少なくなるという。そして、緩解期、対照の順で菌数が多くなっていく。しかし、病原的意味合いのある *E. coli* と *Clostridia* はそれとは逆の態度をとることが示されている。更に *Lactobacillus* と *Bacteroides* は、対象とした CD 患者のグループと UC 患者のグループ間で差がないことが報告されている。総じて、患者の病期と非患者の間の上皮に付着する細菌叢には明らかに変化があったとして、その細菌叢構成菌のバランスの崩壊が病因にかかわっているという考え方を支持している研究である。

同様に分子生物学的な手法を用いた糞便の優勢細菌叢についての研究では、UC患者とCD患者の糞便の優勢細菌の差異、健康人の糞便細菌と感染性腸炎の患者の糞便の優勢細菌との差異を指摘した¹⁴⁾。つまり、彼らが研究で用いた糞便内構成菌として代表的な6つの群特異的なプローブで認識できた細菌の割合を、全糞便菌数を100%として算出すると、健康人では86.6%、感染性腸炎患者では84.0%とかなりの高値であったのに比し、CD患者では70.9%、UC患者では60.1%とかなり低値で、明らかに質的異常があるというものである。またUC患者では*Clostridium coccoides* groupが、CD患者では*Clostridium leptum* groupが減少しているというようにUC患者とCD患者の間にも、変動に質的相違があったことが報告されている。一方、従来からUCとの関連で問題視されている菌種を含む*Bacteroides*の割合は、感染性腸炎患者で36.4%と多かったが、健康人、CD患者、UC患者の3群ではいずれも10%台と大きな差異がなかったことが報告されている点には注意する必要がある。

著者は、DSRBが比較的古くからUCとの関連のもとで、その意義が論じられている細菌の一つであることが最近わかった。腸内にDSRBが多く生息している事実により、そして患者で健康人よりsulfidogenesisの率が増加するという事実により、硫化水素と慢性腸疾患との関連性が今日まで論じられてきているようである¹⁵⁻¹⁸⁾。PitcherとCummingらの総説でその概要をつかむことができる。つまり、一般的な嫌気性細菌によるアミノ酸の発酵とDSRBによる硫酸塩の還元によって産生される硫化水素が産生されるが、消化管腔での硫化水素の総量がUC患者では増加する。粘膜には遺伝子により規定されている硫化水素の解毒システムがあるが、硫化水素の過剰の増加がその解毒能力を超えると、腸管上皮細胞レベルでの酪酸の酸化が阻害され、その結果、結腸上皮細胞の破綻、炎症が起こるというものである。腸管内の硫化水素の量は、食餌由来の硫酸塩の摂取量により変わり、またUC患者に治療薬として使用されて

いる5-ASA投与により修飾されるというものである¹⁹⁾。腸管上皮に備わっている硫化水素の解毒システムについては後述する。

最近Pitcherらは、このような考え方を支持する結果を得る目的で、UC患者23人と健康人16人の糞便を用いて、DSRBの菌数測定、硫酸塩還元能、そして硫化水素濃度の測定を実施して、研究結果を報告した。すべての検体からDSRBが分離されていて、その総菌数は臨床で観察した重症度と有意に関連していたという。活動期の患者では $9.43 \log_{10} \text{CFU}$ (7.75-10.67)、寛解期の患者では $6.26 \log_{10} \text{CFU}$ (1.00-9.16)、そして健康人では $6.90 \log_{10} \text{CFU}$ (5.47-9.05)であった。分離したDSRBには増殖の速い菌株と遅い菌株の2つのタイプがあり、前者は高い硫酸塩還元能を有し、UC患者の30%、健康人の44%に存在した。しかし、後者はほとんど硫酸塩還元活性がなかったと報告している²⁰⁾。

更に、UC患者の糞便中から、対照群より有意に高率にDSRBが分離されるとの報告が、Pitcherらのグループと異なるグループの研究者から発表された。患者の糞便に存在するこのDSRBと疾患との関連性が研究されている²¹⁾。その研究では、健康人41人中の10人(24%)から、IBD患者22人中15人(68%)から、IBD以外の下部および上部消化管疾患での入院患者88人中33人(37%)からDSRBが分離されている。彼らが考案したmultiplex PCR法による同定結果は、*Desulfovibrio piger*が39株、*Desulfovibrio fairfieldensis*が19株そして、*Desulfovibrio desulfuricans*が1株であり、IBD患者から*D. piger*が分離される頻度(55%)は、健康人(12%)やIBD以外の患者(25%)より有意に高いという結果を示している。DSRBのこの病態における役割について、新しい視点から再評価しようとする研究は今も展開している。

3. Dissimilatory sulfate reducing bacteria (DSRB)の細菌学

嫌気性菌を代謝の点から見て分類すると、①メタン生成細菌(methanogenic bacteria)、②硫酸還元細菌(sulfate reducing bacteria: SRB)そ

表 1 SRB の分類 (F Widdel) (文献²²⁾より引用)

<ul style="list-style-type: none"> ・ group 1. hydrogen-lactate group <ul style="list-style-type: none"> 乳酸 (ピルビン酸) を電子供与体とする <i>Desulfovibrio</i> spp. (vibrio, 30–38°C, Desulfovibridin(+)) 炭酸ガスと酢酸などの存在下で、水素を利用することができる能力を有する 世代時間 3–4 時間 ・ group 2. acetate group <ul style="list-style-type: none"> 世代時間 20 時間以上 <i>Desulfobacter</i> (oval or vibrio, 28–32°C, Desulfovibridin(–)) <i>Desulfotomaculum</i> (straight or curved rods, spore, 30–38°C, Desulfovibridin(–)) ・ group 3. fatty acid group <ul style="list-style-type: none"> 酢酸より炭素数の多い脂肪酸を酸化する ① incomplete fatty acid-oxidizers <ul style="list-style-type: none"> 世代時間 10–15 時間 <i>Desulfobulbus</i> (oval, 28–39°C, Desulfovibridin(–)) ② complete fatty acid-oxidizers <ul style="list-style-type: none"> 世代時間 20 時間 <i>Desulfococcus</i>, <i>Desulfonema</i>, <i>Desulfosarcina</i>

して③糖、乳酸またはアミノ酸を発酵する多種類の細菌の3種類のグループに分類することができる。これまで医学的に関心がもたれてきた *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Peptostreptococcus*, *Fingoldia*, *Micromonas*, *Clostridium* などは③のグループである。①②についての医学的見地からの研究は少ない。現在、硫酸還元細菌と硫酸還元細菌とその周辺の分類は、表1のように整理することができる。今回問題にしている DSRB は、硫酸塩を利用し、異化的にエネルギーを得る異化型硫酸還元細菌で、代謝の過程で、細胞毒性を示す猛毒の硫化水素を産生することは既に述べたが、DSRB には、胞子を形成しない硫酸還元細菌と胞子を形成する硫酸還元細菌がある。前者の代表に *Desulfovibrio* があり、後者に *Desulfotomaculum* がある²²⁾。

a. *Desulfovibrio* (図1)

芽胞を有しない硫酸還元細菌である。δ-Proteobacteria 中の *Desulfovibrionaceae* に分類される。系統発生的には、虫垂炎との関連で話題になった *Bilophila wadsworthia* と近い。グラム陰性の湾曲した桿菌で、鞭毛を有する菌種が多いが、鞭毛をもたない菌種もある。*Desulfovibrio piger* である。*D. piger* はかつて

Desulfomonas pigra に分類されていた菌種である²³⁾。これらの細菌は酢酸を酸化することができず、そのため有機基質の酸化の最終生産物として酢酸を生ずる。細胞には、デスルホビリン (亜硫酸還元酵素) とシトクローム c3 が存在する。

b. *Desulfotomaculum*

芽胞を形成する硫酸還元細菌である。中心性、亜端在性、端在性の芽胞を有する。芽胞は 80°C で 10–20 分の熱処理、乾燥、酸素に耐える。電子供与体として、水素、アルコール、数種の糖、有機酸があれば増殖する。デスルホビリンはもたない。シトクローム b3 をもつものが多いが、シトクローム c をもつものもある。sulfide に対する感受性は *Desulfovibrio* より弱い²⁴⁾。

さて、DSRB の生息部位は有機物質と硫酸をともに含む嫌気的な場所である。そのような場所として、結腸や口腔内がある。DSRB は、硫酸塩のような高い酸化状態にある塩を電子受容体として利用し、有機酸と水素を代謝する。食餌由来および腸管粘液由来の硫酸塩、亜硫酸塩が最終的な電子受容体となる。飲料水や食品には、sulphur oxide、亜硫酸塩、カラギーナンなどの硫酸塩を含む薬物が保存薬として使用されていることはよく知られている。保存食を食す

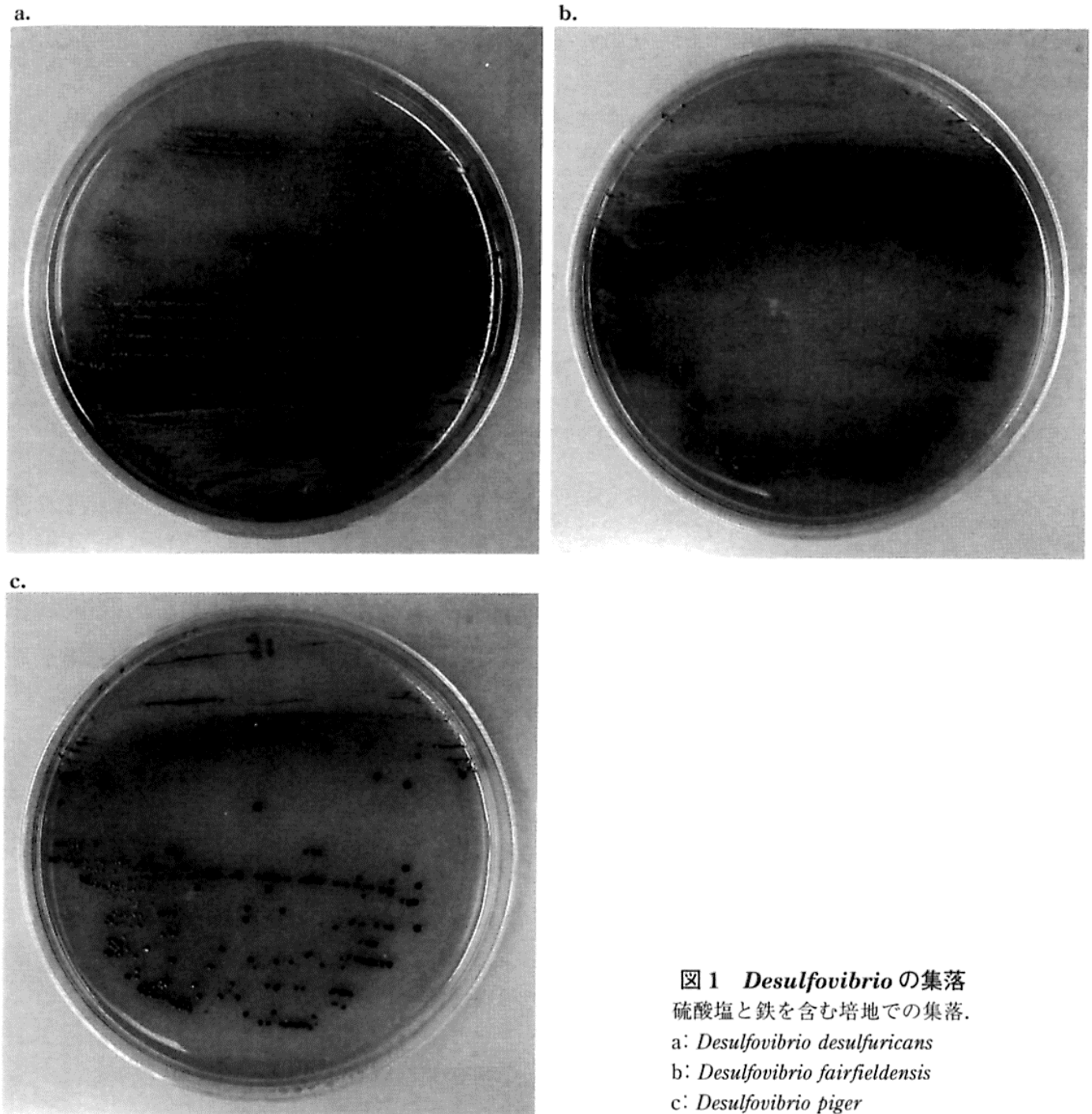


図1 *Desulfovibrio* の集落
硫酸塩と鉄を含む培地での集落.
a: *Desulfovibrio desulfuricans*
b: *Desulfovibrio fairfieldensis*
c: *Desulfovibrio piger*

ることがないアフリカ原住民たちが1日にとる食餌中の硫酸塩は、2.7 mmole/day と少ないが、西洋人のそれは16.6 mmole/day と高いという¹⁹⁾。腸切除術(ileostomy)を受けた患者での詳細な検討結果であるが、小腸ではおおよそ7 mmole/day の硫酸塩が粘膜から吸収される。したがって、7 mmole/day を超えた硫酸塩は、吸収されることなく結腸にまで持ち越されることになり、腸管に生息する DSRB の電子受容体として働くことが可能になる。すなわち硫酸塩の摂取は、結腸での DRSB による硫酸還元

の調節因子である。飲料水や食品に含まれる硫酸塩のような‘いわゆる外因性の硫酸塩’のほかに、腸管内には、硫酸化ムチン(スルホムチン: sulfomucin)、硫酸塩抱合した胆汁、コンドロイチン硫酸塩のような‘内因性の硫酸塩’が存在する。腸上皮にみられるほとんどの杯細胞はスルホムチンを恒常的に産生していることは古くからわかっている事実である(Kent PW, Marsden JC, 1963)。また、スルホムチンのスルホン化の程度は腸の遠位部で高く、すなわち盲腸や結腸で最も高いこともわかっている。そ

して、DSRB による内因性の硫酸基の利用は、腸内に生息する *Bacteroides* spp. のようなスルファターゼをもち、スルホムチンを分解する嫌気性細菌との相互作用により増強するとされる。

前述したように、口腔内でも DSRB の生存は可能である^{25,26)}。口腔内にも多種類の有機酸、短鎖脂肪酸が存在する。歯周ポケット内液の中には遊離硫酸塩が、また歯周組織にもスルホムチンが含まれている。血清中の遊離の硫酸塩濃度は 0.3 mmole/l であるという。また、口腔内には、スルホムチンを分解できるスルファターゼを有するレンサ球菌の存在も知られている²⁷⁾。

硫酸還元により形成された硫化物が酸性の環境中に放出されると、加水分解により生物学的活性のある硫化水素になる。実際、マウスおよびヒトの消化管中には硫化水素が 200–3,400 μ mole/l の濃度で存在している。

4. DSRB の代謝産物としての硫化水素の毒性と粘膜における解毒機構

腸管内の発酵の主要産物である短鎖脂肪酸である酪酸の酸化によるエネルギーは、結腸の上皮細胞に必要なエネルギーのおおよそ 70% を供給する。この酪酸酸化の阻害を起こすことができるのが硫化水素である。結腸の上皮細胞における細胞膜の脂質合成、イオンの吸収、ムチン合成、解毒作用は酪酸酸化に依存しているので、酪酸代謝が障害されると、結果的に結腸上皮細胞のバリエー機能が低下する²⁸⁾。実際に、UC の状態で酪酸の酸化が著しく阻害されていることは周知のことである。硫化水素による粘膜上皮細胞のバリエー機能の破壊は、細菌や食品抗原の転移現象 (translocation) を容易にし、健常時では問題のないような抗原に反応し、局所の炎症反応を引き起こすことになる。また、腸管上皮が硫化水素に慢性的に曝露されると、腸管上皮のリニューアルのサイクルは攪乱され、結腸癌のような増殖性病変を起こす基盤を作る可能性もあるとされている。

還元された硫酸化合物の 2,000 μ mole/l が、75% 程度の結腸の酪酸の酸化の選択的および一部可逆的な阻害を、43% 程度の上行結腸の

それを起こすことがヒトのコロノサイトを使用した実験で明らかになっている。また、酪酸酸化の抑制の順番は、sulfide > methanethiol > mercaptoacetate の順で強いこともわかっている²⁹⁾。そして、麻酔したマウスの結腸に生理学的な濃度の NaHS を灌流すると、用量依存的にアポトーシス、杯細胞の消失、クリプト構造の歪みがみられ、粘膜表面の潰瘍ができる事実も知られている。その他、硫化水素の哺乳動物の細胞に対する毒性については、シトクロームオキシダーゼの不活化作用、蛋白質の S-S 結合を開裂させる作用、金属イオンとの結合作用、ミエロペルオキシダーゼの阻害作用などが知られている¹⁹⁾。更に、近年、硫化水素の遺伝子毒性についての新情報も加わった。マイクロプレートアッセイを使用した硫化物 (sulfide) の慢性毒性と single cell gel electrophoresis (SCGE) を用いた硫化物の遺伝子毒性 (genotoxicity) を検査した結果、硫化物が CHO 細胞に %C1/2 368.57 μ mole/l で慢性細胞毒性を示したこと、硫化物は、標準的な SCGE assay 系では遺伝子毒性を発揮しなかったが、DNA 修復を阻害した変法 SCGE assay 系では、ヒトの結腸内で観察される硫化物濃度である 200 μ mole/l という濃度で genomic DNA の有意な損傷を引き起こしたという実験結果が発表されている。また、CHO 細胞よりも感受性は低いが、ヒトのコロノサイトセルライン (HT29–Cl.16E) でも、遺伝子修復を阻害した状況下で、Na₂S の増加に応じた遺伝子損傷がみられるとの結果が示されている³¹⁾。このように硫化水素には UC の病因となり得る性質が備わっていることがわかる。

一方、生体には硫化水素に対する防御機構も備わっている。結腸の粘膜下組織クリプトにはチオールメチルトランスフェラーゼ (thiol methyltransferase) やロダナーゼ (rhodanase) が存在する。これらの酵素は硫化水素の解毒に関与していると考えられていた。近年の研究では、ロダナーゼの方が硫化水素の解毒に関与する主要な酵素であると報告されている³¹⁾。

5. DSRB の生態学

DSRB の腸管における分布をみると、近位腸管より遠位腸管で多い。DSRB は、呼気からメタンが検出されない個体の糞便検体では大腸菌と同程度の菌数かその 1,000 倍以上と極めて優勢に存在するが、呼気からメタンが検出される個体では、十万個/g 以下少ないことも報告されている。この結果は、水中生態系ではよく記載されている現象と同様に、DSRB とメタン産生菌が水素を競合して奪っていることを示唆する所見であるという。試験管内で、硫酸塩と硫酸塩を有するムコ多糖体を DSRB が存在する糞便に加えると、硫化水素の産生量の増加が起こり、反対にメタン産生量の低下が起こる。また、生体内でも、食餌に硫酸塩を添加すると、個体の半数でメタン産生量の減少と DSRB の増殖が観察される。特に反芻動物の場合には極めて特徴的な所見が得られる。つまり、食餌に硫酸塩を添加すると、反芻動物のルーメン中の硫化水素の産生量は直線的に増加し、硫化水素産生量が過剰となると、その反芻動物に体重減少、発熱、血性下痢、腸管の炎症など急性毒性の症状が出現することがわかっている。

我が国では、*Bacteroides* 選択分離培地として使用される *Bacteroides bile Esculin* 寒天培地を用いて、成人の糞便 42 検体中 32 検体(76%)から *D. pigra* が分離されたとの報告があるが、古い成績であるため、現在の *Bilophila wadsworthia* が含まれていた可能性がある。本年、著者らは、DSRB を効率良く分離できる選択確認分離培地を使用して検討を行っているが、経腸栄養を摂取している寝たきりの高齢者 12 人の糞便から 4 人に DSRB を高濃度に分離することに成功した。また、健康人 5 人中 2 人が SRB を保有していることを増菌培養で確認した。UC に対する大腸全摘、回腸囊肛門吻合術の際、便を貯留する目的で作られる回腸囊に 30–50% の頻度で起こる原因不明の炎症(回腸囊炎)の急性期または頻回に回腸囊炎を繰り返す症例では、回腸囊炎の既往のない症例もしくは既往はあるが 1 年以上再燃のない安定した症例

と比較して、硫化水素産生および硫化水素産生菌数が有意に高値であることが報告されている³²⁾。著者らの経験でもこれらの回腸囊炎局所の粘膜をぬぐって採取した検体から DSRB が容易に分離されることを確認している。

6. UC の動物モデルとしての DSS 誘導大腸炎と DSRB

UC のモデルとして汎用され dextran sulfate sodium(DSS)-induced mouse(rat) colitis がある。飲料水中に DSS を加えることにより、実験動物に UC を容易に誘導することができる³³⁾。これらのモデルにおいて、発症に腸内細菌叢が必須であることは無菌動物を用いた実験、腸内細菌叢を抗菌剤で修飾した実験などにより知られている。また、DSS を投与されたマウス、ハムスターに誘導される結腸炎は、偏性嫌気性菌にのみ抗菌力を示すメトロニダゾールの投与で防止することが可能である。しかし、通性嫌気性のグラム陽性菌や通性嫌気性の大腸菌群に抗菌力があるが偏性嫌気性菌に抗菌力がない薬剤では、これらの病気を弱めることはできない。硫酸化された食餌性の物質のメトロニダゾール感受性の菌による発酵が、毒性物質を産生し、慢性炎症と潰瘍を引き起こすと考えられている¹⁹⁾。しかし、このモデルでの大腸炎発生のメカニズムの詳細は依然不明であるが、このモデルにおける DSRB の関与についての研究が出現してきた。

これらのモデル動物の UC の急性相に一致して、その動物の腸管内の細菌叢に変化がみられるという成績がある。*Bacteroidaceae* を中心とした嫌気性グラム陰性菌の増加である。7 日間の 5% DSS を含む飲料水の投与と 10 日間の蒸留水の投与を 1 サイクルとし、5 サイクルをマウスに行うことにより生じる慢性の結腸炎における腸内細菌叢では、*Bacteroides distasonis* と *Clostridium* spp. の有意な増加があったことが報告されている³³⁾。

また、IBD の発症には、環境因子のほかに遺伝因子が深くかかわっていると考えられている。宿主の遺伝的要素と腸内細菌叢と環境因子の関

わり合いから IBD の発症が規定されるとの仮説に妥当性を与える動物を用いた研究も少なくない。例えば、遺伝子操作により作製された免疫関連遺伝子のノックアウトマウスやトランスジェニックマウスに自然発生的に慢性炎症が生じるが、これらの腸炎の多くは無菌環境下では発症しない。この事実は腸内細菌叢に対する免疫応答の異常が腸管での慢性炎症において重要な役割を担っていると判断される基礎を提供している。IL-2 ノックアウトマウスは UC と同様の病理学的、臨床的な特徴を有する自然の結腸の炎症を獲得する。しかし、ジャームフリーの状態では IBD を生じない。ところが、スペシクパソゲンフリー状態では、マウスはサブクリニカルな組織学的な病変を獲得するようになる¹⁹⁾。IL-10 欠損マウスの場合でも類似の結果が得られている。無菌環境では腸炎を生じないが、*Enterococcus faecalis* や *E. coli* の単独投与により腸炎が発生する。しかし、*B. vulgatus*, *H. hepaticus*, *Clostridium sordellii* の投与では発生しない。HLA-B27 トランスジェニックラットでも類似の現象が観察できる。無菌環境では大腸炎は自然発生しないが、*Streptococcus faecium*, *E. coli*, *Streptococcus avium*, *Eubacterium contortum*, *Peptostreptococcus productus* に *B. vulgatus* を加えて投与すると炎症が起こるといものである。*B. vulgatus* を除いた場合には炎症は起きない³⁴⁾。

これらの動物モデルを用いた研究には DSRB の記載は全くない。DSRB は通常行われている細菌学的アプローチでは検出が極めて困難な細菌群であることがその要因の一つかもしれない。近年、この点に関して、マウス C57BL/6J を対象として行われた興味ある分子生物学的な研究報告がある。アデノシンホスホ硫酸 (adenosine A-5'-phosphosulphate: APS) reductase 遺伝子の A サブユニットの一部の領域をターゲットにした生物学的的手法 (PCR-based metabolic molecular ecology 的アプローチ) による検討で、1 日、4 日、7 日齢のマウスの胃と小腸に、14 日、21 日、30 日、60 日、そして 90 日齢マウスの消化管全体に DSRB の存在が証明されることが

報告された。また、新生児マウスの胃、小腸、盲腸から得られた APS reductase のアプリコンの系統発生的解析結果から、それらは *Desulfotomaculum* の菌種であると考えられると述べている。更には、マウスの DSRB はマウスの週齢とは無関係に、スルホムチンを含むゴブレット細胞の存在する部分に濃厚であることを報告している³⁵⁾。

しかし、ラットを用いたこのモデルを使用した実験で、硫化水素を吸着する作用を示すビスマス (bismuth subsalicylate) を投与して硫化水素を除去しても DSS によって誘導される腸炎を防止できなかったとの実験結果を示し³⁶⁾、DSS 誘導大腸炎の発症には硫化水素は関与していないのではないかと考察している論文がある。

おわりに

近年、医学微生物学および免疫学領域における研究の進歩により、感染症と難治性慢性疾患との間に密接な関連があることが次第に判明しつつあり、あらためて大きな注目を集めている。すなわち、感染症の原因微生物が同時に難治性慢性疾患の原因となり得るというエビデンスが次第に得られつつある。昨年、京都薬科大学教授西野会長の下、京都で開催された日本化学療法学会総会で、東北大学臨床検査医学賀来満夫教授と著者が司会を担当して ICD 講習会がもたれ、このテーマで、結城伸泰氏による Guillain-Barré 症候群と *Campylobacter jejuni* について、江石義信氏によるサルコイドーシスと *Propionibacterium acnes* について、大草敏史氏による UC と *Fusobacterium varium* について、甲畑俊郎氏による Parkinson 病と *Nocardia* について、そして山本容正氏による動脈硬化症と *Chlamydia pneumoniae* についての話題を聞く機会があった。これまでの感染症の概念を超えた考え方、コンセプトを共有することで、感染症という疾患のもつ広がりや微生物の病因的意義について理解を深めることができた。

さて、我が国での UC 患者は若い世代を中心に増加傾向にある。今回は触れなかったが、近年のプロバイオティクスやファイバーの投与で

病状が改善する報告が幾つかみられ、ごく最近でも、グアーガムを材料とするファイバーによる効果が動物モデルで評価され、その結果が報告されていることから³⁷⁾、本疾患に腸内の細菌叢の関与があることは間違いない。本稿では、

UCの病因の中で、細菌学的因子の一つとして欧米を中心に研究が行われているにもかかわらず、我が国ではあまり着目されていない腸内に生息する異化型嫌気性硫酸還元細菌 DSRB について紹介した。

■ 文 献

- 1) Goldstein EJ, et al: *Desulfovibrio desulfuricans* bacteremia and review of human *Desulfovibrio* infections. J Clin Microbiol 41(6): 2752-2754, 2003.
- 2) Loubinoux J, et al: Bacteremia caused by a strain of *Desulfovibrio* related to the provisionally named *Desulfovibrio fairfieldensis*. J Clin Microbiol 38(2): 931-934, 2000.
- 3) Loubinoux J, et al: Isolation of Sulfate reducing bacteria from human thoracoabdominal pus. J Clin Microbiol 41(3): 1304-1306, 2003.
- 4) 日比紀文(編): 新しい診断と治療のABC 29. 炎症性腸疾患. 消化器4, p206, 最新医学社, 2005.
- 5) Ohkusa T, et al: The role of bacterial infection in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Intern Med 43(7): 534-539, 2004.
- 6) Burke DA, Axon AT: Adhesive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease and infective diarrhea. BMJ 297: 102-107, 1988.
- 7) Von Wulffen H, et al: Verocytotoxin producing *Escherichia coli* O2: H5 isolated from patients with ulcerative colitis. Lancet i: 1449-1450, 1989.
- 8) Michalski CW, et al: Human inflammatory bowel disease does not associate with *Lawsonia intracellularis* infection. BMC Microbiol 6: 81, 2006.
- 9) Prindville T, et al: *Bacteroides fragilis* enterotoxin gene sequences in patients with inflammatory bowel diseases. Emerg Infect Dis 6: 171-174, 2006.
- 10) Matsuda H, et al: Characterization of antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. J Gastroenterol Hepatol 15: 61-68, 2000.
- 11) Ohkusa T, et al: Bacterial invasion into the colonic mucosa in ulcerative colitis. J Gastroenterol Hepatol 8: 116-118, 1993.
- 12) Ohkusa T, et al: Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. Gut 52: 79-83, 2003.
- 13) Mylonaki M, et al: Molecular characterization of rectal mucosa-associated bacterial flora in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 11(5): 481-487, 2005.
- 14) Sokol H, et al: Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 12(2): 106-111, 2006.
- 15) Beerens H, Ramond C: Sulfate reducing anaerobic bacteria in human feces. Am J Clin Nutr 30: 1770-1776, 1977.
- 16) Gibson GR, et al: Occurrence of sulphate reducing bacteria in human feces and the relationship of dissimilatory sulfate reduction and methanogenesis in the large gut. J Appl Bacteriol 65: 103-111, 1988.
- 17) Gibson GR, et al: Use of a three stage continuous culture system to study the effect of mucin on dissimilatory sulfate reduction by mixed populations of human gut bacteria. Appl Environ Microbiol 54: 2750-2755, 1988.
- 18) Gibson GR, et al: Growth and activities of sulfate reducing bacteria in gut content of healthy subjects and patients with ulcerative colitis. FEMS Microbiol Ecol 86: 101-112, 1991.
- 19) Pitcher MC, Cumming JH: Hydrogen sulfide: a bacterial toxin in Ulcerative colitis? Gut 39: 1-4, 1996.
- 20) Pitcher MC, et al: The contribution of sulfate reducing bacteria and 5-aminosalicylic acid to faecal sulphide in patients with ulcerative colitis. Gut 46: 64-72, 2000.

- 21) Loubinoux J, et al: Sulfate-reducing bacteria in human feces and their association with inflammatory bowel diseases. *FEMS Microbiol Ecol* 40: 107-112, 2002.
- 22) Widdel F, Hansen TA: Chapter 24: The Dissimilatory Sulfate and Sulfur Reducing Bacteria. In: *The Prokaryotes* 2nd ed, vol 1 (ed by Balows A, et al), p583-624, Springer-Verlag, New York, 1991.
- 23) Loubinoux J, et al: Reclassification of the only species of the genus *Desulfomonas*, *Desulfomonas pigra*, as *Desulfovibrio piger* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 52: 1305-1308, 2002.
- 24) Widdel F: Chapter 80: The Genus *Desulfotomaculum*. In: *The Prokaryotes* 2nd ed, vol 1 (ed by Balows A, et al), p1792-1799, Springer-Verlag, New York, 1991.
- 25) Van der Hoeven JS, et al: Sulfate-reducing bacteria in the periodontal pocket. *Oral Microbiol Immunol* 10: 288-290, 1995.
- 26) Willis CL, et al: Growth, incidence and activities of dissimilatory sulfate-reducing bacteria in the human oral cavity. *FEMS Microbiol Lett* 129: 267-272, 1995.
- 27) Smalley JW, et al: Mucin sulfatase activity of some oral streptococci. *Caries Res* 28: 416-420, 1994.
- 28) Roediger WE, et al: Colonic sulfide in pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 42: 1571-1579, 1997.
- 29) Roediger WE, et al: Reducing sulfur compounds of the colon impair colonocyte nutrition: Implication for ulcerative colitis. *Gastroenterology* 104: 802-809, 1993.
- 30) Attene-Ramos MS, et al: Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. *Mol Cancer Res* 4: 9-14, 2006.
- 31) Picton R, et al: Mucosal protection against sulphide: importance of the enzyme rhodanase. *Gut* 50: 201-205, 2002.
- 32) 大毛宏喜ほか: 腸内硫化水素産生菌の回腸囊炎病因への関与. *日本臨床腸内微生物学会誌* 7(1): 13-16, 2007.
- 33) Okayasu I, et al: A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 98: 694-702, 1990.
- 34) Rath HC, et al: Differential induction and gastritis in HLA-B-27 transgenic rats selectively colonized with *Bacteroides vulgatus* or *Escherichia coli*. *Infect Immun* 67(6): 2969-2974, 1999.
- 35) Deplancke B, et al: Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 66(5): 2166-2174, 2000.
- 36) Furne JK, et al: Binding of hydrogen sulfate-induced colitis in rats. *Dig Dis Sci* 45(7): 1439-1443, 2000.
- 37) Naito Y, et al: Partially hydrolyzed guar gum down regulates colonic inflammatory response in dextran sulfate sodium induced colitis in mice. *J Nutr Biochem* 17: 402-409, 2006.