

氏 名 (本籍)	すず 鈴      き 木      くに 邦      ひこ 彦
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 9 1 0 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 5 9 年 3 月 2 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科 ( 博 士 課 程 ) 内 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	健 常 人 お よ び 腸 疾 患 患 者 に お け る 糞 便 フ ロ ー ラ の 研 究

( 主 査 )

論 文 審 査 委 員   教 授 後 藤 由 夫   教 授 石 森   章

教 授 山 根   績

# 論文内容要旨

## 目 的

最近、臨床医学の領域においても腸内フローラの重要性が認識されてきたが、とくに本邦ではまだそれに関する報告は少ない。著者は、腸内フローラを検索するのに最も優れていると思われた光岡の方法を用いて、健常人および種々の腸疾患患者の糞便を培養し、フローラの解析を行なって、その動態を明らかにすることを目的として本研究を行なった。

## 対 象

培養法ならびに健常人の糞便フローラの検討には、現代の日本人の平均的食生活（普通食）を営む、年齢23～27歳、平均年齢24歳の便通異常のない健康な男性11例を対象とした。癌年齢の日本食摂取の健常人の糞便フローラの検討には、1日3食とも米飯を中心とする日本式の食生活を営む、年齢38～68歳、平均年齢52歳のいわゆる癌年齢に相当する便通異常のない健康な男性5例、女性6例を対象とした。同一個人における糞便フローラの変動の検討には、普通食を摂取している25歳の便通異常のない健康な男性を対象とした。クローン病患者の糞便フローラの検討には、未治療患者5例、全例男性、平均年齢22歳で、罹患範囲別に見ると小腸大腸型4例、小腸型1例を対象とした。これらの患者では、成分栄養剤（elemental diet, エレンタール<sup>®</sup>、以下EDと略記）を2400 kcal/日、24時間持続注入し、他の食物および薬剤は原則として中止して、45～60日、平均51日間投与した際の糞便フローラも検討した。なお、ED投与により5例とも臨床的には緩解状態となった。大腸癌、大腸腺腫患者の糞便フローラの検討には、著明な狭窄を有しない進行大腸癌患者7例（平均年齢56歳、男性2例、女性5例で、病変部位は右半結腸2例、左半結腸3例、直腸2例）、早期大腸癌患者3例（平均年齢49歳、男性3例で、病変部位は3例とも左半結腸）、および大腸腺管腺腫患者5例（平均年齢48歳、男性4例、女性1例で、病変部位は左半結腸4例、直腸1例）を対象とした。

## 方 法

検体は自然排泄糞便を用い、その1gまたは1mlを炭酸ガス通気下で10倍段階希釈を行ない、 $10^{-1}$ ～ $10^{-8}$ 希釈液のうち適当な組み合わせの希釈液を、4種類の非選択培地（M10, EG, BL, TS）および11種類の選択培地（VS, LBS, BS, ES, NBGT, NN, DHL, TATAC, PEES, P, NAC）に塗布した。このうち、6種類の培地は好気性1～2日間、8種類の培地は炭酸ガス置換したSteel wool法で嫌気性3日間、M10はPlate-in-bottle法で嫌気性4日間の培養を行

なった。培養終了後は、コロニーの数と形態、グラム染色性、菌形態、好気性発育試験などにより菌群、菌属レベルでの同定、定量を行なった。なお、菌数は糞便湿重量 1 g 当たりの対数値で表わし、菌数の比較は t 検定、検出率の比較は  $\chi^2$  検定によって行なった。

### 成績および考案

1) M10を用いた Plate-in-bottle 法は、用いない場合に比べて、嫌気性菌の増加により総菌数も有意に増加し ( $p < 0.01$ )、Curved rods は用いた場合にのみ検出された。したがって、嫌気性菌の培養を主目的とする場合には有効であると考えられた。2) 20歳代の普通食摂取の健常人の糞便フローラは、総菌数が  $11.2 \pm 0.1$  で、その 99.4% が嫌気性菌であった。癌年齢の日本食摂取の健常人の糞便フローラは、20歳代の普通食摂取の健常人に比べて、総菌数および *Bifidobacterium* に有意な減少が見られたが ( $p < 0.01$ )、これには、加齢に伴う変化や検体の輸送に伴う減少とともに食餌による影響も考えられた。同一個人の糞便フローラを一定期間に数回検索した結果、優勢菌群を中心にかなり安定していた。3) 未治療のクローン病患者の糞便フローラでは、20歳代の健常人に比べて菌群レベルで変動が見られたが、これは主に下痢に伴う非特異的な変化と考えられた。ED 投与により、糞便単位湿重量当たりの菌数は増加したが、糞便量が著しく減少することから、腸内フローラ全体としては減少すると考えられた。このうち、菌数の増加は食物残渣が激減したために、腸内フローラ全体の減少は、主に腸内容物の減少により腸内フローラの維持に必要な栄養分の不足によるものと思われた。また、同時に一部の有害菌の増加が認められ、これは腸内容物の減少とそれによる腸管運動の低下に伴う相対的な腸内うっ滞による可能性や、ED を構成する成分による影響も考えられたが、臨床的には全身状態が良好であれば問題はないと思われた。4) 大腸癌のほとんどは大腸腺腫→早期大腸癌→進行大腸癌の経過をたどることから、それぞれの糞便フローラと大腸癌との関連を検討したが、大腸癌の病因としての役割を考えることはかなり困難であると思われ、細菌の代謝活性を含めた研究が必要であると思われた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

腸内細菌叢に関する記載は近年の検査法の進歩によって急速に書き改められている。この研究は嫌気性菌培養法としてすぐれている光岡の方法を用いて健常人および各種腸疾患患者の糞便を培養してその動態を明かにすることを目的に行われたものである。

著者は、対象としては若年健常者11例、中高年令健常者11例、クローン病患者5例、進行大腸癌患者7例、早期大腸癌患者3例、大腸腺腫例5例を選び、自然排泄糞便を好気性ならびに嫌気性の15種類の培地に塗布し、コロニーの数と形態、グラム染色性、菌形態、好気性発育試験などにより菌群、菌属レベルでの同定、定量を行い、つぎの成績を得たという。20才代の健常者では総菌数  $11.2 \pm 0.1$  (湿重量 1 g 当りの対数値) でその 99.4 % が嫌気性菌であった。中高年令健常者では若年令者に較べて総菌数および Bifidobacterium に有意な減少が認められた。未治療のクローン病患者の糞便フローラでは菌群に変動がみられ、成分栄養剤の投与により糞便単位湿重量当りの菌数は増加したが糞便量は著減することから腸内フローラ全体としては減少すると考えられた。また同時に一部の有害菌の増加が認められたが、これは栄養剤の構成成分によるものと考えられ臨床的には問題はないと判断された。大腸癌は腺腫、早期大腸癌、進行大腸癌の経過をたどるので、これらの各病期にある症例で糞便フローラとの関連について検討したが、大腸癌の病因としての役割を明確にすることはできなかったとしている。

この研究は健常者ならびに腸疾患患者の腸内細菌叢に新知見を加えたものであり学位授与に値する。