HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	大腸鋸歯状病変発生における腸管スピロヘータの関与についての検討
Author(s)	大森, 沙織
Description	配架番号：2139
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11657号
Issue Date	2015-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k11657
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58970
Type	doctoral thesis
File Information	Saori_Omori.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文

大腸鋸歯状病変発生における腸管スピロヘータの関与についての検討
(Is human intestinal spirochetosis associated with sessile serrated adenoma/ polyp?)

2015 年 3 月

北海道大学
大森沙織

学位論文

大腸鋸歯状病変発生における腸管スピロヘータの関与についての検討
(Is human intestinal spirochetosis associated with sessile serrated adenoma/ polyp?)

2015 年 3 月

北海道大学
大森沙織

目 次

発表論文目録および学会発表目録・・・・・・１頁
緒言・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・３頁
略語表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・４頁
方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・５頁
結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・１０頁
考察・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・１６頁
結論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・１７頁
謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・１９頁
参考文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・２０頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した

Omori S, Mabe K, Hatanaka K, Ono M, Matsumoto M, Takahashi M, Yoshida T, Ono S, Shimizu Y, Sugai N, Suzuki A, Katsuki S, Fujii T, Kato M, Asaka M, Sakamoto N.
Human intestinal spirochetosis is significantly associated with sessile serrated adenoma/polyp
Pathology-reserch and practice, 2014 Jul; 210(7):440-3.

大森沙織，間部克裕，大野正芳，鈴木美櫻，高橋正和，小野尚子，清水勇一，加藤元嗣，畑中佳奈子，坂本直哉
粘膜内癌を合併した SSA/P に腸管スピロヘータが確認された 1 例
日本内科学会雑誌　102 巻 8 号 2046-2049 (2013.8)

本研究の一部は以下の学会に発表した

Katsuhiro Mabe, Saori Ishigaki, Kanako Hatanaka, Masayoshi Ono, Shuichi Miyamoto, Takeshi Mizushima, Shoko Ono, Yuichi Shimizu, Nozomi Sugai, Akira Suzuki, Shinichi Katsuki, Mototsugu Kato, Naoya Sakamoto
Human intestinal spirochetosis is significantly associated with sessile serrated adenoma/polyp
United European Gastroenterology Week 2012, October 2012, Amsterdam

Masayoshi Ono, Katsuhiro Mabe, Saori Omori, Shunsuke Ohnishi, Kanako Hatanaka, Mio Suzuki, Masakazu Takahashi, Takesi Yoshida, Shoko Ono, Yuichi Shimizu, Mototsugu Kato, Naoya Sakamoto
Histological and Molecular Examinations of Intestinal Spirochetosis in Patients with Sessile Serrated Adenoma/Polyps
6th International Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans, September 2013, Guildford ,United Kingdom

石垣沙織，大野正芳，鈴木美櫻，高橋正和，中川学，小野尚子，森康明，山本純司，工藤俊彦，中川宗一，間部克裕，清水勇一，加藤元嗣，久保田佳奈子，坂本直哉
粘膜内癌を合併した SSA/P に腸管スピロヘータ感染が確認された 1 例
第 4 回日本ブラキスピラ学会，平成 24 年 7 月，栃木

大森沙織，間部克裕，大野正芳，高橋正和，鈴木美櫻，吉田武史，森康明，
小野尚子，中川学，中川宗一，清水勇一，畑中佳奈子，加藤元嗣，坂本直哉
腸管スピロヘータ症は大腸腫瘍に関連するか
第 5 回日本ブラキスピラ学会，平成 25 年 7 月，茨城

緒言

大腸癌の発癌経路として，腺腫が発生し腺腫の増大に伴い腺腫内に癌が発生するというadenoma-carcinoma sequenceがいわれており，その発癌にはAPC遺伝子の異常が関連する[1]．また，前癌病変を経ず癌化するde novo cancerがあることも知られている[2]．一方，過形成性ポリープはmalignant potentialを欠く非腫瘍性病変と考えられてきたが，近年になり過形成性ポリープなど鋸歯状構造を有するポリープを前駆病変として発癌するserrated pathwayが注目されている．Serrated pathwayにはtraditional serrated adenoma (TSA)とsessile serrated adenoma/polyp (SSA/P)を経由するタイプがあり，SSA/Pは右側結腸に多く，BRAF遺伝子変異やマイクロサテライト不安定性(Microsatellite instability: MSI)の関与が指摘されている[3]．しかしながら，その遺伝子変異やエピジェネティックな変化を惹起する原因は明らかになっていない．

胃癌においては，*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の感染が原因であることが明らかとなり，除菌治療による胃発癌の予防効果が前向き大規模ランダム化試験やメタ解析において証明された[4]．胃癌はDNAメチル化異常の関与が深い癌であり，最近ヘリコバクターピロリがメチル化異常誘発の原因であることが示された[5]．

森[6] は大腸癌の発生においても背景粘膜の炎症と関連する可能性を考え，検討を行った．その検討ではadenoma-carcinoma sequenceで発する大腸癌の前駆病変と考えられる腺腫に着目されているが，背景粘膜の炎症が腫瘍性病変発生にどのように関わっているかは十分な結果は得られていない．

我々は大腸癌においても感染とそれに続くDNAメチル化異常による発癌の可能性があるのではないかと考えた．特にSSA/Pでは多発する傾向，発癌機序，さらに粘液分泌が多いという特徴から腸管感染症との関連と疑っていたところ，大腸癌を合併したSSA/P症例に腸管スピロヘータ感染(Human intestinal spirochetosis: HIS)を認めた症例を経験した[7]．

ヒトにおける腸管スピロヘータ症は*Brachyspira aalborgi*と*Brachyspira pilosicoli*による感染症で，イヌ，ブタ，サル，ニワトリなどに感染がみられ，水様性下痢を起こすことが証明されている[8]．ヒトの腸管からも分離され，人畜共通感染症として知られているが，人における病原性については確立していない[9]．MSI大腸癌の前駆病変であるSSA/Pにおいてスピロヘータ感染が関与している可能性を強く疑い，今回の検討を計画した．

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである

CIMP	CpG islands methylation phenotype
EPMR	endoscopic piecemeal mucosal resection
EMR	endoscopic musosal resection
ESD	endoscopic submucosal dissection
H. pylori	*Helicobacter pylori*
HIS	human intestinal spirochetosis
IBD	inflammatory bowel disease
IBS	irritable bowel syndrome
MSI	microsatellite instability
PCR	polymerase chain reaction
SSA/P	sessile serrated adenoma/polyp
TA	tubular adenoma
TSA	traditional serrated adenoma
TP	treponema pallidum

方法

検討 1　HIS の疫学調査

対象

2011 年 7 月から 2011 年 12 月に当院で施行された大腸生検検体 172 症例を対象とした．スピロヘータは大腸粘膜の表層に付着するとされている [10] が進行大腸癌では表層上皮の残存が少ないと考えられるため，進行大腸癌の症例を除外した．

調査方法

年齢，性別，大腸内視鏡の施行理由，大腸内視鏡所見を診療録と画像ファイリングを用いて確認した．

標本作製

得られた組織はパラフィン包埋として, 厚さ約 4 μ m の連続切片を作製した．切片は常法により Hematoxylin と Eosin で染色(HE 染色)した. さらに EnVision FLEX(DAKO, 東京，日本)と，希釈倍率 1200 倍で抗 Treponema Pallidum(TP)抗体(AbD serotec, UK)を用いて染色した [11].

Brachyspira の診断

抗 TP 染色で検討し，偽刷子縁所見が免疫染色で陽性で認められるもの(Figure 1)，および菌体が表層の粘液中および陰窩内の粘液中に認められるもの(Figure 2)をスピロヘータ感染と診断した．免疫染色で偽刷子縁が認められる検体については HE 染色でも偽刷子縁として認められることを確認した．鏡検は二人の病理医が行い評価した．評価が不一致となった場合には上級医の評価を採用した．

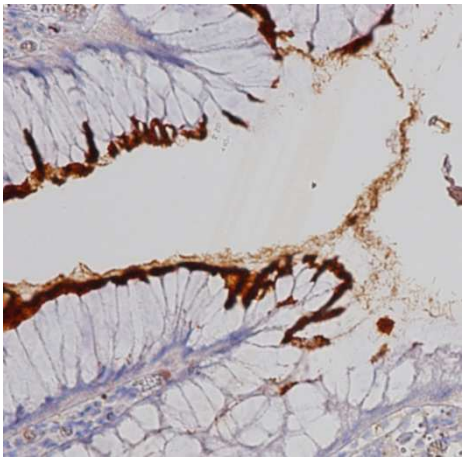


Figure 1: 抗 TP 染色所見
偽刷子縁が認められる

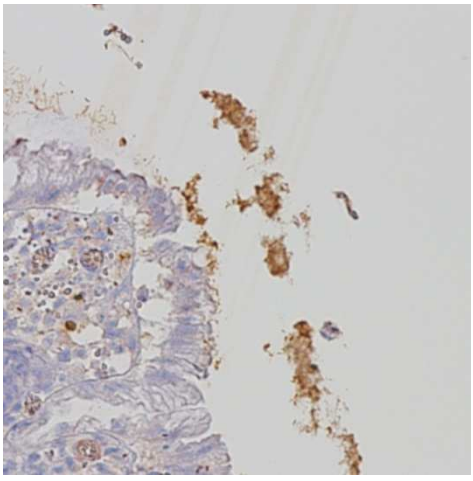


Figure 2: 抗 TP 染色所見
表層の粘液中に菌体が認められる

統計

統計解析はχ^2検定を用いて行った．$p<0.05$を有意差ありと判定した．

検討 2　SSA/P の HIS 感染率

対象

2008 年 1 月から 2011 年 12 月に北海道大学病院および協力施設で内視鏡治療を施行した SSA/P 症例 19 症例を対象とした．対照は，検討 1 で用いた大腸生検検体 172 症例である．

SSA/P の診断

参加施設において内視鏡及び病理検査にて SSA/P と診断された症例の内視鏡写真と HE 染色標本，未染色標本を北海道大学病院に集めた．2 人の病理医で鏡検し，①Crypt dilation，②Irregularly branching crypts，③Horizontally arranged basal crypts(Inverted T-and/ or L-shaped crypts)のうち２つ以上合致する病変を SSA/P と診断した[12]．



Figure 3: SSA/P の病理組織像
陰窩の拡張と不規則分岐が認められる．

Brachyspira の診断

検討 1 と同様に行った．

統計

統計解析はχ^2検定，Student の t 検定，Fisher の正確確率検定を用いて行っ

た．$p<0.05$ を有意差ありと判定した．

検討 3　SSA/P と管状腺腫の感染率の比較

SSA/P と HIS の関連について，内視鏡治療での検体と生検検体では大きさが異なり，検体からスピロヘータを検索する際に影響を及ぼしている可能性が考えられる．検体の大きさを揃えるため，治療検体での比較が必要と考え，検討 3 を計画した．

対象

2003年1月から2012年12月までの10年間のうち，北海道大学病院及び全国協力施設10施設で内視鏡治療（内視鏡的粘膜切除術(Endoscopic mucosal resection: EMR，内視鏡的分割粘膜切除術: Endoscopic piecemeal mucosal resection: EPMR，内視鏡的粘膜下層剥離術: Endoscopic submucosal dissection: ESD)）を行った10mm以上の表面隆起型(IIa, LST)大腸鋸歯状病変症例132症例を対象とした．

対象は原則としてSSA/P症例としたが, 鋸歯状病変の病理診断は必ずしも標準化されておらず病理医間の一致率も高くない．そのため，過形成性ポリープも含む10mm以上の表面隆起型鋸歯状病変を対象とした．

対照は同時期に内視鏡治療を施行した腺腫症例とし, 年齢, 性別, 病変部位(右側結腸，左側結腸)を一致させて抽出した．

SSA/P の診断

検討 2 と同様に行った．

Brachyspira の診断

検討 1, 2 と同様に免疫染色を併用して行った．陽性所見について，明らかな偽刷子縁としてみとめられるものを f 所見とした(Figure1)．表層や陰窩に浮遊する形で認められるものについては，単独の菌体と取りうる所見を a 所見(Figure4a), 偽刷子縁に似るが長さが短いものを b 所見として(Figure4b)にわけて検討した．また，陽性所見が認められる部位について，腫瘍の表層に認められるか，背景粘膜の表層に認められるか，その両方に認められるかにつき検討した．

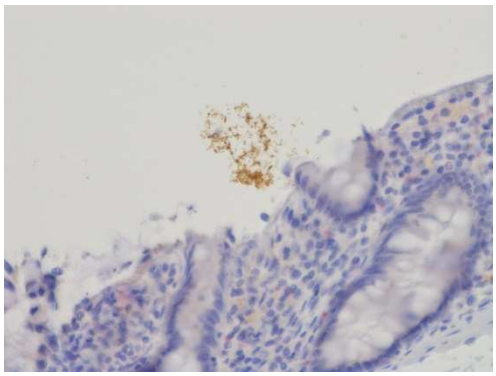


Figure 4a: 抗 TP 染色所見
単独の菌体としてとりうる

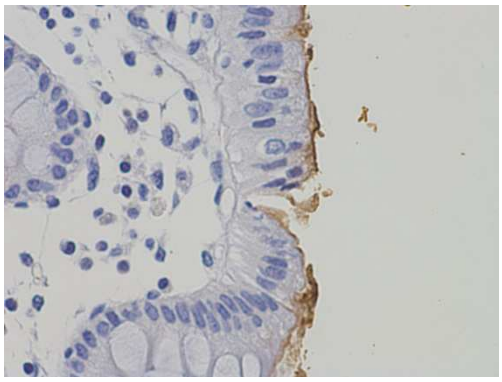


Figure 4b: 抗 TP 染色所見
偽刷子縁に似るが短い

切除標本の評価

前述のように，スピロヘータの多くは粘膜表層に付着する．切除標本の表層の状態によりスピロヘータの検出に差が出る可能性がある．表層の状態を 2 : ほぼ全体が保たれている，1: 部分的に保たれている，0: ほとんど保たれていないとしてスコア化した．また周辺粘膜の状態を 2: 評価可能な周辺粘膜が採取されている，1: 周辺粘膜が採取されているが表層の評価は難しい，0: 周辺粘膜が採取されていない，としてスコア化した．

統計

統計解析は χ^2 検定，Student の t 検定を用いて行った．$p<0.05$ を有意差ありと判定した．

検討 4：病理での Brachyspira の診断に対する PCR での確認

Brachyspira の診断について，表層や陰窩の粘液中に浮遊する形で認められる陽性所見については標準的な診断基準ではなく，過剰に評価している可能性がある．偽刷子縁を形成していない陽性所見について HIS の有無を確認するため検討 4 を計画した．

対象

2013 年 12 月から 2014 年 3 月まで，北海道大学病院で下部消化管内視鏡検査を施行した症例のうち，同意が得られた 38 症例で，上行結腸，横行結腸，下行結腸よりそれぞれ生検を施行した．得られた検体はパラフィン包埋とし組織ブロックを作製した．

PCR

組織ブロックから厚さ 5μm の切片を 3 枚ずつ切り出し， DNA 抽出試薬 (TaKaRa DEXPAT, Tokyo, JAPAN) 500μl が入っている 1.5ml エッペンチューブに入れた．100℃10 分の加熱処理後，12000rpm,4℃で 10 分遠心し，パラフィン薄膜を剥がして上清のみを抽出し DNA を得た．抽出した DNA は 1μL 分光高度計(Nanodrop2000)で濃度および OD260/280 を測定した．抽出・精製した DNA を Brachyspira 属に特異的な Primer（16SrDNA; F:GGCGATGCGTCTTAAGCA, R:AAATCCGAGCAACGTTTG:496bp）を用いて PCR 法にて増幅した(2720 Thermal Cycler Applied Biosystems)．試薬は 10×PCR buffer 5μl、10mM dNTP 1μl, Primer 0.5μl(0.5μM each), DNA polymerase 1U,(Advantage® 2PCR Kit, TaKaRa, Tokyo, Japan) Nuclease-Free water 41.5μl を用いて、抽出した DNA を 1μl 使用した．94℃ 10 分の後、熱変性 94℃1 分，アニーリング 49℃30 秒，伸長反応 72℃1 分を 40 サイクル施行した．PCR 産物は 6×Loading Dye(PROMEGA, Madison, USA)2μl と Sample10μl を混和し，2%アガロースゲルを用いて電気泳動を行った．

病理組織学的診断

検討 1-3 と同様に HE 染色と TP 染色を施行し, 陽性所見を検討 3 と同様に明らかな偽刷子縁としてみとめられるものを f 所見とした(Figure 1)．表層や陰窩に浮遊する形で認められるものについて，単独の菌体と取りうる所見を a 所見(Figure 4a)，偽刷子縁に似るが長さが短いものを b 所見とし(Figure 4b)，PCR で確認された結果と比較検討した．

結果

検討 1

対象症例は男性 115 例，女性 57 例，平均年齢 56 歳(16-89 歳)であった(Table 1).

172症例		症例数
年齢		平均56歳(16-89，中央値 59)
性別(男：女)		115:57
検査目的	IBS症状	50
	IBDの経過観察	32
	GVHDおよびその疑い	5
	他疾患のスクリーニング	51
	内視鏡治療後のフォローアップ	23
	便潜血陽性	11
内視鏡所見	腺腫	73
	過形成性ポリープ	4
	その他の隆起性病変	13
	発赤・浮腫	16
	びらん・アフタ・潰瘍	59
	瘢痕	2
	正常	5

Table1：患者背景

大腸内視鏡目的と HIS の関連は，IBS 症状が 3/50 症例(6%)，IBD の経過観察目的が 3/32 症例(9.4%)，GVHD およびその疑いが 0/5 症例(0%)，他疾患のスクリーニングが 3/51 症例(5.9%)，腺腫や大腸癌に対する内視鏡治療後のフォローアップ目的が 3/23 症例(13.0%)，二次検診目的が 2/11 症例(18.2%)であった(Figure 5)．スピロヘータ感染と IBS 症状が関連するという報告[13] もみられるが，今回の検討では検査目的により感染率に差はなく，特異な症状は見いだせなかった.

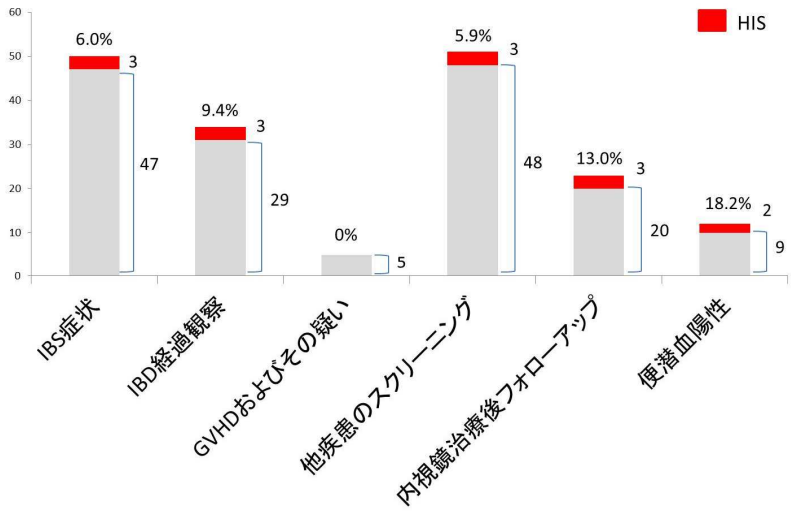


Figure 5　検査目的と HIS の頻度
検査目的により感染率に差はなく，特異な症状は見いだせなかった.

内視鏡所見と HIS の関連については，腺腫が 5/73 症例(6.8%)，過形成性ポリープが 2/4 症例(50%)，その他の隆起性病変が 1/13 症例(7.7%)，発赤や浮腫が 3/16 症例(18.8%)，びらん，アフタや潰瘍が 3/59 症例(5.1%)，瘢痕や正常所見の部位ではスピロヘータ感染はみられなかった. (Figure 6). 少数例ではあるが，過形成性ポリープで高率にスピロヘータ感染が認められており，鋸歯状病変との関連も疑う結果であった.

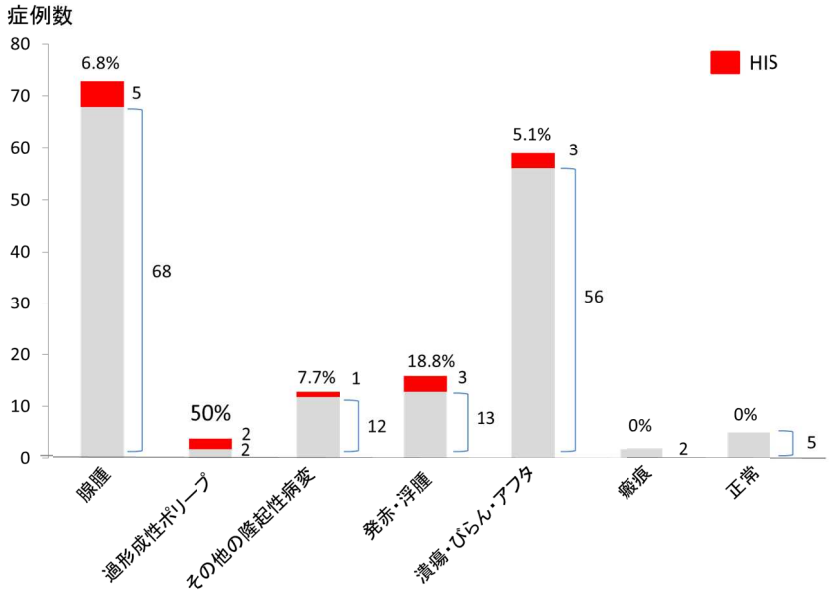


Figure 6　内視鏡所見と HIS,
過形成性ポリープで高率にスピロヘータ感染が認められており，鋸歯状病変との関連も疑う結果であった.

スピロヘータ感染は 14 症例(8.1%)にみられた(Figure 7).

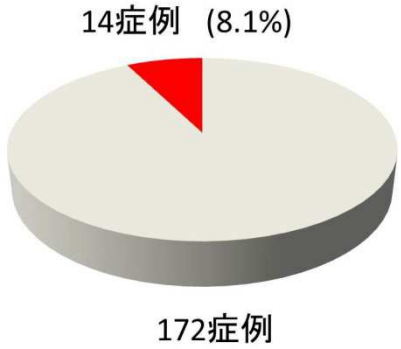


Figure 7: HIS の頻度
14 症例(8.1%)でスピロヘータ感染がみられた.

検討 2

SSA/P 症例は当院を含む 5 施設から集められた 19 症例で，平均年齢 62.3 歳(25 歳-82 歳)，男女比 12:7 であった．病変は全て右側結腸からのものであり，3 症例で癌の併存がみられた．(Table 2)

症例数(単発/多発)	19症例(11/8)
病変数	35病変
平均年齢	62.3歳(25-82)
部位(右側結腸:左側結腸)	35:0
癌の併存	3症例

Table 2　SSA/P 症例の背景

コントロール群は検討 1 の 172 症例である．年齢，男女比において両群間に有意差はみられなかった(Table 3).

	SSA/P	control	*P*値
症例数	19症例	172症例	
病変数	35病変	348病変	
平均年齢	62.3歳 (25-82)	56歳 (16-89)	*N.S**
性別 (男性:女性)	12:7	115:57	*N.S***

Table 3　両群の背景，*Student の t 検定，** χ^2 検定

スピロヘータの感染率は SSA/P 群で 52.6%であったのに対し，コントロール群で 8.1%であり，SSA/P 群で有意に感染率が高かった(Figure 8).

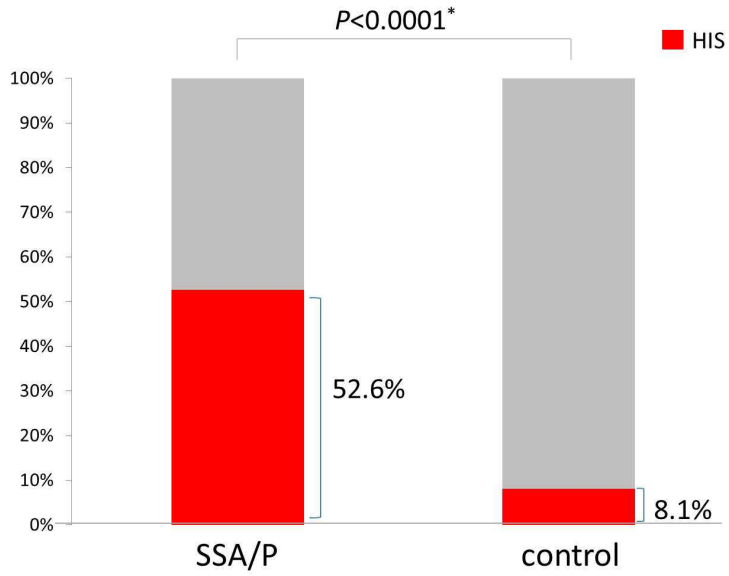


Figure 8: 各群における HIS の頻度の比較，*Fisher の正確確率検定
SSA/P 群とコントロール群の間で HIS の頻度に有意差が認められた.

検討 3

回収された検体を HE 染色で診断し，TSA，TA のみで SSA/P もしくは HP が認められない症例 25 症例を除外した．SSA/P もしくは HP を有する症例(S 群とする)は 107 症例 199 病変，平均年齢 66.0 歳(25-90)，男性 54 例，女性 53 例であった．対照(C 群とする)は 37 症例 38 病変，平均年齢 63.9 歳(32-83)，男性 24 例，女性 13 例であった．1 症例あたりの検体の大きさは平均値で，S 群で 19.3mm，C 群で 19.9mm であった．両群間に背景に有意差は認められなかった (Table 4).

	S群 n=107, 199病変	C群 n=37, 38病変	*P*
平均年齢	66.0歳(25-90)	63.9歳(32-83)	*P*=0.34**
性別(男性:女性)	54:53	24:13	*P*=0.13*
1症例あたりの検体の大きさ(長径の平均値，mm)	19.3	19.9	*P*=0.57**

Table 4: 対象症例の背景の比較　*χ^2 検定，**Student の t 検定

標本の状態は両群とも良好であり，表層スコアは S 群で 1.88 であったのに対

し C 群で 1.89，周辺粘膜スコアが S 群で 1.55 であったのに対し C 群で 1.5 と差はみられなかった．

スピロヘータの感染率は S 群が 74.8%であったのに対し，C 群が 70.3%であり有意差はみられなかった(Figure 9)．陽性所見別に検討すると f 所見や a 所見では差はみられなかったのに対し，b 所見で低い結果となった(Figure 10, Table 5)．

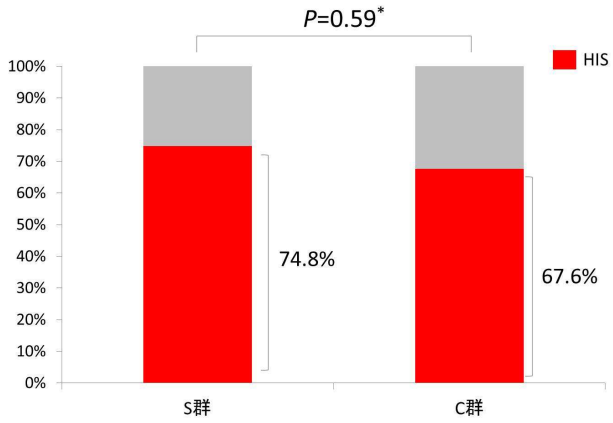


Figure 9: 各群における HIS の頻度，*χ^2 検定
S 群と C 群の間で HIS の頻度に有意差はみられなかった

陽性所見	S群	C群
f	6 (5.6%)	2 (5.4%)
a	46 (42.0%)	20 (54.1%)
b	28 (26.2%)	3 (8.1%)

Table 5: 陽性所見別の頻度
f：明らかな偽刷子縁
a：浮遊する単体の菌
b：偽刷子縁に類似するが長さが短い

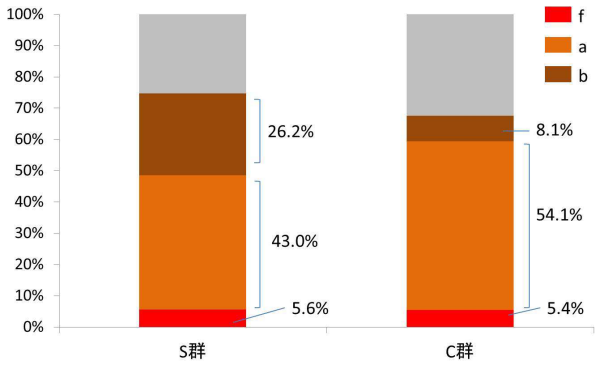


Figure 10：陽性所見別の頻度
S 群では b 所見において C 群より頻度が高かった

検討 4

生検を施行した 38 症例 114 検体のうち，TP 染色を施行していた 22 症例 66 病変を対象とした．症例は男性 14 症例，女性 8 症例，平均年齢 58.7 歳(27-78)

であった．原疾患は大腸腫瘍（癌，腺腫，カルチノイド)の治療後フォローアップもしくは腫瘍の経過観察が 9 例，他の悪性腫瘍が 7 例，IBS が 3 例，その他 3 例であった（Table 6).

性別 (男 : 女)		14:8
平均年齢		58.7歳 (27-78)
原疾患	大腸腫瘍	9例
	その他の悪性腫瘍	7例
	IBS	3例
	その他	3例

Table 6: 22 症例の背景

病理所見で f 所見が認められたものは 15 検体，a または b 所見が認められたものが 10 検体，陽性所見が認められなかったものが 41 検体であった．PCR での陽性数と陽性率はそれぞれ 10 検体（66.7%），1 検体（10%），1 検体（2.4%）であった（Figure 11, Table 7).

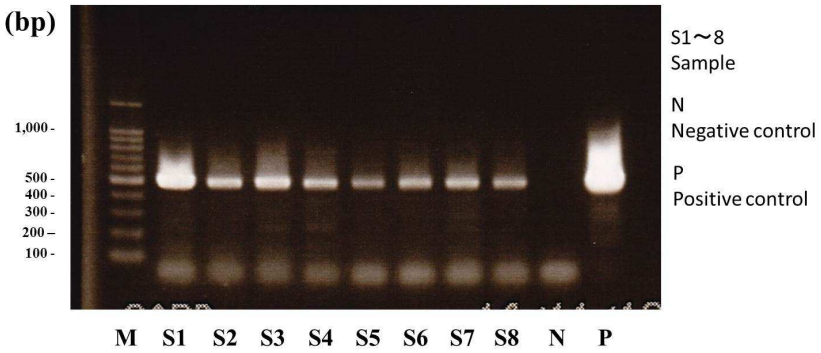


Figure 11: PCR 産物の電気泳動像
PCR で陽性と診断した症例の電気泳動像を 8 症例抜粋して S1 から S8 に示す

免疫染色での陽性所見	免疫染色での陽性数 (病変)	PCRでの陽性数 (病変，%)
f	15病変	10病変 (66.7%)
aまたはb	10病変	1病変 (10%)
陰性	41病変	1病変(2.4%)

Table 7：病理診断と PCR での陽性結果の対比

考察

スピロヘータ陽性の SSA/P 症例を経験し，SSA/P が多発すること，粘液付着があることから何らかの感染，特にスピロヘータ感染との関連を疑い検討した．

大腸鋸歯状病変は，従来の adenoma-adenocarcinoma sequence とは異なる新たな経路、serrated pathway をたどる病変として注目を集めている [3]．しかし遺伝子変異やメチル化異常の原因はまだ不明である．

今回の検討 2 では SSA/P 症例では対照群に比べて高いスピロヘータ感染率を示し，SSA/P の発生や発癌過程にスピロヘータ感染が関わっている可能性が示唆された．SSA/P の発生や発癌過程にスピロヘータの関与が証明されれば，*H. pylori* 同様にスピロヘータ感染の治療を行うことで serrated pathway 由来の大腸癌を予防できる可能性がある．

検討 2 では生検検体を対照としている．HIS は右側結腸に多くみられるという報告もあり，また検討 2 での SSA/P は全て右側結腸から採取であったため，バイアスとなる可能性が考えられたが，今回，検討 2 で対照とした全結腸および直腸から採取された生検検体について右側，左側にわけて感染率を算出したところ，両者の間に差はみられなかったため，対照として使用可能と考えた．しかしながら，検体の大きさや症例数が limitation となったため，検討 3 を計画した．

検討 3 では SSA/P と対照群で感染率に有意差はみられず，SSA/P とスピロヘータ感染の関連について詳細は不明な結果となったが，SSA/P，対照群ともに高い感染率を示しており，HIS と大腸腫瘍性病変との関連は否定できない．胃では *H. pylori* のみが感染するため，感染と疾患の関係が明らかにされたが，それでも胃癌の原因であることは発見から 20 年で証明され，除菌による予防は 30 年で証明された [14]．癌の原因としては感染症が占める割合が多くなってきている．ヒトパピローマウィルスにより子宮頸癌，肝炎ウィルスによる肝細胞癌，*H. pylori* による胃癌が知られている．大腸腫瘍と感染については，大腸内に無数の細菌が存在する中での検討となり，*H. pylori* と胃癌よりも複雑な関係であると考えられるが，最近，腸内細菌叢の変化が大腸発癌に関与するのではないかとの知見が出始め，動物実験では抗生剤の使用で腸内細菌叢を変化させることにより，大腸腫瘍の大きさや数が減ったという報告もある [15]．また，Tahara ら [16] は *Fusobacterium* と CIMP や MSI，遺伝子変異との関連を報告しており，感染を契機とする大腸発癌については，今後も検討を続ける必要がある．

背景粘膜についても病理学的に可能な範囲で検索を行ったが，炎症所見に差はみられなかった．分子病理学的アプローチについては今後の課題である．

今回の検討ではこれまでの日本で報告されてきた感染率の 0.19~0.9%[11 17,18] と比較して明らかに高い感染率を示した. 日本の以前の報告と我々のコントロールとの感染率の違いは地域性や測定した年代の違いなどの可能性もあるが, スピロヘータの検査方法の違いが大きいと考えられる．すなわち，Tanahashi らの報告 [11] では通常の HE 染色で感染の有無を確認し陽性例に対して免疫染色で確認する方法をとっているのに対し, 我々は全例に HE 染色と免疫染色を行っており，HE 染色で見逃された偽刷子縁を拾い上げることができた．検討 3 では所見別に陽性率を算出したが，従来スピロヘータに特徴的とされる偽刷子縁のみの場合でも 5%台と高い感染率を示している．塩沢ら [19] はスピロヘータ感染率の違いは病理医がスピロヘータの存在を意識して診断するかどうかに依存する可能性を指摘しており，その報告では 4.2%と欧米と同等の感染率を報告している. 本検討の偽刷子縁の結果のみでもこの報告を支持する結果となった．さらに，緒方ら [20] は病理学的に偽刷子縁を形成せずに粘液内に浮遊する菌の存在を示しており，捺印細胞診による検索法を紹介している．HE 染色で偽刷子縁を確認するだけではスピロヘータの感染率を検索するには不十分であると考え，今回の検討では偽刷子縁を形成していないものでも，菌体と判断されるものが免疫染色で陽性の場合には感染ありとして集計し, 高い感染率を示した. しかしながら偽刷子縁を形成しない所見についてコンセンサスは得られていない．検討 4 で，生検検体を用いて病理による陽性所見と PCR での陽性率を比較した．偽刷子縁を形成しない陽性所見を示すものでは 10 検体のうち，PCR で陽性を示したものは 1 検体のみであり(Table 7)，HIS とは取り難い結果であった．HIS の診断については今後も検討を要する．

ヒトに感染する *Brachyspira aalborgi* と *Brachyspira pilosicoli* の 2 菌種に対する PCR による検討を加え確実な感染率と関与する菌株を検討するなど更なる検討が必要である．スピロヘータ感染と SSA/P 発症やその発癌との関連を示すためには、細胞培養系など vitro での実験や動物実験、関連する遺伝子変異やメチル化との関与についても検討を進める必要がある.

今回の検討ではいくつかの limitation がある．1 つ目は後ろ向き検討であることである．SSA/P は通常の腺腫と比較して頻度が低いため、関連を見るためにこの研究デザインとした．2 つ目は腺腫症例が少なかったことである．多施設共同研究であり，対照を SSA/P と同施設から回収する計画であったが，対照については目標数に到達しなかった.

結論

SSA/P の発生においてスピロヘータ感染の関与については不明な結果となった．腸管スピロヘータの病理学的所見については，今後も検討が必要である．

謝辞

本稿を終えるにあたり，本研究の機会を与えて下さるとともに終始，御指導，御鞭撻を賜りました北海道大学院医学研究科内科学講座消化器内科学分野 坂本直哉教授に深く感謝申し上げます．また，懇切に本研究についての直接の御指導を賜りました，北海道大学病院光学医療診療部 加藤元嗣診療教授に心より感謝申し上げます．本研究の遂行にあたり終始御助言御指導を賜りました北海道大学がん予防講座 間部克裕特任講師に深甚なる謝意を表します．

参考文献

1 Morson, B. C. Precancerous and early malignant lesions of the large intestine. *Br. J. Surg.* 55, 725-731 (1968).

2 中村恭一. A. 大腸癌の構造とは-腫瘍発生の基本概念の上にたつ大腸の腺腫と癌の臨床病理学的関係, B. "腺腫-癌連続学説"の構造, その崩壊. In, *大腸癌の構造*. 医学書院, 東京, 2010, pp. 1-36.

3 Leggett, B. & Whitehall, V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 138, 2088-2100 (2010).

4 Fukase, K. *et al.* Effect of eradication of Helicobacter pylori on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 372, 392-397 (2008).

5 Ushijima, T. & Sasako, M. Focus on gastric cancer. *Cancer Cell* 5, 121-125 (2004).

6 森康明. 大腸腫瘍性病変の背景粘膜の検討. *北海道医学雑誌* 81, 409-417 (2006).

7 大森沙織. *et al.* 粘膜内癌を合併した SSA/P に腸管スピロヘータが確認された 1 例. *日本内科学会雑誌* 102, 2046-2049 (2013).

8 Smith, J. L. Colonic spirochetosis in animals and humans. *J. Food Prot.* 68, 1525-1534 (2005).

9 Anthony, N. E., Blackwell, J., Ahrens, W., Lovell, R. & Scobey, M. W. Intestinal spirochetosis: an enigmatic disease. *Dig. Dis. Sci.* 58 202-208 (2013).

10 Harland, W. A. & Lee, F. D. Intestinal spirochaetosis. *Br. Med. J.* 3, 718-719 (1967).

11 Tanahashi, J. *et al.* Human intestinal spirochetosis in Japan; its incidence, clinicopathologic features, and genotypic identification. *Mod. Pathol.* 21, 76-84 (2008).

12 八尾隆史. *et al.* 【大腸鋸歯状病変と癌化】 大腸 SSA/P の病理組織学的特徴と診断基準--大腸癌研究会プロジェクト研究から. *胃と腸* 46, 442-448 (2011)

13 Calderaro, A. *et al.* Infective colitis associated with human intestinal spirochetosis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 22, 1772-1779 (2007).

14 Kato, M. & Asaka, M. Recent knowledge of the relationship between Helicobacter pylori and gastric cancer and recent progress of gastroendoscopic diagnosis and treatment for gastric cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 40, 828-837 (2010).

15 Zackular, J. P. *et al.* The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *mBio* 4, e00692-13. doi: 10.1128/mBio.00692-13 (2013).

16 Tahara, T. *et al.* Fusobacterium in colonic flora and molecular features of colorectal carcinoma. *Cancer Res.* 74, 1311-1318 (2014).

17 田邉寛. *et al.* 【感染性腸炎　最近の動向と知見】　感染性腸炎の最近の知見 腸管スピ

ロヘータ症(intestinal spirochetosis)　自験 34 例からみた内視鏡像・臨床的意義・治療. *胃と腸* 43, 1670-1679 (2008).

18　立石陽子. *et al.* 腸管スピロヘータの感染頻度と臨床病理学的検討. *診断病理* 27, 189-192 (2010).

19　塩沢朋子. *et al.* 腸管スピロヘータ症 Intestinal spirochetosis の臨床病理学的検討. *昭和医学会雑誌* 72, 229-237 (2012).

20　Ogata, S. *et al.* Imprint cytology detects floating Brachyspira in human intestinal spirochetosis. *Hum. Pathol.* 41, 249-254 (2010).