

4400120

炎症性腸疾患モデル TNBS enterocolitis に関する研究

(課題番号 03670343)

平成5年度 文部省科学研究費補助金 (一般研究C)
研究成果報告書

1994年3月

研究代表者 柴田 好
(旭川医科大学第三内科助手)

炎症性腸疾患モデル TNBS enterocolitis に関する研究

(課題番号 03670343)

平成5年度 文部省科学研究費補助金 (一般研究C)
研究成果報告書

1994年3月

研究代表者 柴田 好
(旭川医科大学第三内科助手)

はしがき

炎症性腸疾患はわが国においても増加し、若年者に多く発生しまた再発を繰り返す問題となっているが、その病因・病態は依然として不明な部分が多い。これには適当な動物実験モデルが存在しないことが一因となっている。われわれはMorrisらの方法を参考にして、ラットとイヌにTrinitrobenzen sulfonic acid(TNB)とethanolを経腸的に投与して炎症性腸疾患のモデルを作成し、内視鏡的および病理組織学的に経過観察を行い、このモデルの免疫学的特性を明らかにした。また、このモデルを通して炎症性腸疾患の腸吸収能の分析を行った。さらに各種薬剤による治療効果を検討し多くの成果を得た。

研究組織

研究代表者：柴田 好（旭川医科大学第三内科助手）

研究分担者：蘆田 知史（旭川医科大学第三内科医員）

研究経費

平成3年度 1,600 千円

平成4年度 300 千円

平成5年度 200 千円

計 2,100 千円

研究発表

(1) 学会誌等

垂石正樹 蘆田知史 綾部時芳 齊藤裕輔 横田欽一 柴田 好 並木正義：逆行性回腸胆汁酸負荷試験による小腸吸収能の評価，消化と吸収，14，1，29-33，1991

柴田 好 蘆田知史 綾部時芳 垂石正樹 奥山修兒 村上雅則 齊藤裕輔 北守 茂 小原 剛 原田一道 岡村毅與志 並木正義： 実験的モデルとしての haptin-induced colitisの内視鏡的経過観察，Gastroenterological Endoscopy，33，6，1122-1127，1991

柴田 好 蘆田知史 綾部時芳 垂石正樹 齊藤裕輔 岡村毅與志 並木正義： TNBSを用いたイヌの実験回腸炎の作成とその意義，日本消化器病学会雑誌，89，6，1395，1992

柴田 好 蘆田知史 垂石正樹 綾部時芳 北守 茂 奥村利勝 原田一道 並木正義：炎症性腸疾患の実験的モデルの作成と，その内視鏡的経過観察，実験潰瘍，19，26-30，1992

Y.Shibata T.Ashida T.Ayabe M.Taruishi K.Yokota S.Okuyama Y.Saito K.Okamura and M.Namiki：Endoscopic scoring system for experimental colitis with trinitrobenzene sulfonic acid in rats，Dig Endosc，5，1，13-17，1993

Y.Shibata T.Ashida and M.Taruishi：Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid
-Colonic and histopathologic study- Gastroenterologia Japonica，28，4，518-527，1993

垂石正樹 蘆田知史 綾部時芳 野村昌史 榮浪克也 齊藤裕輔 横田欽一 柴田 好 並木正義：経口胆汁酸負荷試験からみたCrohn病における吸収障害の評価，消化と吸収，16，1，94-97，1993

T.Ashida Y.Shibata T.Ayabe and M.Namiki：Antigen deposition and immunological response in rat haptin induced colitis，Gastroenterology，104，A662(suppl.)

垂石正樹 蘆田知史 柴田 好：逆行性回腸胆汁酸負荷試験-基礎的および臨床的検討-，北海道医学雑誌，69，9，1994印刷中

(2) 口頭発表

柴田 好 蘆田知史：消化器疾患における実験モデル動物 hapten で惹起される腸の非特異性炎症による炎症性腸疾患モデル，第78回日本消化器病学会総会ワークショップ，1992年4月8日，東京

柴田 好 蘆田知史 並木正義 原田一道 村上元庸：動物実験モデルと内視鏡 炎症性腸疾患の実験モデル（ラットとイヌ）の作成と，その内視鏡的経過観察，第43回日本消化器内視鏡学会総会フロンティアトーク，1992年4月16日，大阪

蘆田知史 柴田 好：炎症性疾患を考えるうえに役立つ実験モデル—rat TNB colitis とそのEndoscopic scoring system による病像の評価を含めて—，第20回日本実験潰瘍学会，1992年10月8日，旭川

蘆田知史 綾部時芳 垂石正樹 野村昌史 齊藤裕輔 柴田 好 並木正義：hapten-induced colitis の免疫機構，第34回日本消化器病学会大会，1992年10月12日，宇都宮

蘆田知史 綾部時芳 垂石正樹 野村昌史 齊藤裕輔 柴田 好 並木正義：hapten-induced colitis に対するpeptide leukotrine antagonist の効果，第79回日本消化器病学会総会，1993年3月29日，京都

垂石正樹 蘆田知史 綾部時芳：消化吸収の諸問題：基礎と臨床における新しい展開 経口胆汁酸負荷試験からみたCrohn病における吸収障害の評価，第24回日本消化吸収学会総会ワークショップ，1993年7月10日，東京

蘆田知史 綾部時芳 垂石正樹 栄浪克也 野村昌史 渡 二郎 齊藤裕輔 柴田 好 並木正義：hapten-induced colitis の免疫機構(I)，第35回日本消化器病学会大会，1993年9月20日，神戸

研究成果

Morrisらの方法を参考にして、ラットとイヌにTrinitrobenzen sulfonic acid(TNBS)とethanolを経腸的に投与して炎症性腸疾患のモデルを作成し、内視鏡的および病理組織学的に経過観察を行いこのモデルの免疫学的特性を明らかにした。

方法はTNBSをethanolに溶解したものを経肛門的に注入し、それによる変化を経時的に内視鏡的観察を行った。われわれの独創であるイヌにおける病変の作成は以下の方法による。内視鏡的で回腸末端まで観察し、ガイドワイヤーを挿入した後に新たに考案した4連バルーンチューブを挿入する。前後のバルーンで境界された10cmのセグメントに100%エタノールと蒸留水100ml/mlの濃度に溶解したTNBSを10mlを順次注入し25分間留置する。

その結果、潰瘍性病変は投与3週目以降に狭窄を残して治癒する傾向にあったが、3週以上持続する例も観察された。組織学的には投与4週目にも慢性非特異的炎症所見を認めた。病変は屠殺することなく内視鏡的に充分観察可能であった。ラットの遠位大腸炎およびイヌの回腸炎は長期間持続する潰瘍性病変を特徴とし、ヒトのCrohn病に類似している。

ラットのモデルでは免疫学的背景について検討した。TNBSとethanolを経腸的に投与した後3日目に内視鏡観察で明らかな潰瘍性病変を有するものは血中抗TNBS抗体価が高値となる。また潰瘍周辺での組織内にもTNBSの局在を認めた。潰瘍性変化を認めなかった群ではTNBS抗体価は低値であった。局所における抗原の侵入と、これによる感作が本モデルの腸管の潰瘍性病変の治癒を遷延させると考えられる。

また、ラットのモデルでは内視鏡的 scoring system を確立し、薬物の治療効果についても検討を行った。その結果として、

1)5ASA100mg/kgの経口投与および注腸投与では、投与群で治癒が促進される傾向にあったが統計学的な有意差はなかった。

2)抗leukotriene剤のAS-35 300mg/kg(東京田辺製薬)の経口投与では、有意にスコア値の低値を認め治癒が促進されたと考えられた。この効果にはdose-responseが認められた。

3)抗leukotriene剤のTBX(東京田辺製薬)の経口投与では、投与群で治癒が促進される傾向にあった。dose-responseや統計学的処理については現在検討中である。

このモデルの成因の解析から、発症した動物における抗TNBS抗体の産生が確認されているが、AS-35 300mg, 150mg/kgの投与で血中抗体価が減少することが明らかとなった。従ってこの薬物の作用機序の詳細は現在不明であるが、免疫系への影響があることが示唆された。

イヌのモデルでは炎症性腸疾患の機能評価として逆行性回腸胆汁酸負荷試験を考案し、腸管吸収能の基礎的検討を行ない、これを臨床例への応用した。方法としては回腸胆汁酸負荷試験（UDCA溶液10mg/ml 30ml）および十二指腸胆汁酸負荷試験（5mg/ml 40ml）を行い健常犬と比較検討した。臨床例への応用は健常対照およびクローン病症例に対して、同様の方法で回腸胆汁酸負荷試験（UDCA溶液10mg/ml, 30ml）を行った。その結果、回腸病変のない健常犬では負荷したUrsodeoxycholic acid濃度に対し、血中総胆汁酸濃度の上昇はDose-Responseであった。実験的回腸病変を作成した後では、血中総胆汁酸の増加量が有意に低かった。臨床例の回腸胆汁酸負荷では、健常対照に比較して、回腸病変を有するクローン病においてTBA値が低値を示す傾向を認めた。われわれが開発した逆行性回腸胆汁酸負荷試験は腸管通過時間や病変の局在の差に影響されず、内因性胆汁酸の増加による負荷量の変動が無視でき、クローン病に多い回腸病変に選択的に負荷できるなど、経口負荷に比べとくに回腸病変の評価法として有用である。

これまで生理学的な検討を行える動物に再現性よく、しかも簡便に作成できる炎症性腸疾患モデルの報告は少ない。本研究ではMorrisらの報告したラットのモデルを、内視鏡的手技を用いてはじめてイヌの回腸に作成し得た。ラットを屠殺することなく経時的に観察し病変を評価することが可能である内視鏡的 scoring system の確立とともに、この実験モデルから炎症性腸疾患の病因・病態への新しいアプローチが可能となった。

現在、ラットのモデルでは炎症性腸疾患の再発・悪化に対する食事や食品環境の評価を行っている。イヌのモデルにおいては障害腸管の腸管運動について検討予定である。