

自然発症クローン病モデルマウスSAMP1/Yitにおける小腸蠕動運動機能障害

Impairment of peristalsis of the inflamed terminal ileum in SAMP1/Yit mice, a spontaneous ileitis model of Crohn's disease

堀 正敏^{*1}・藤沢 正彦^{*1}・山本 康代^{*1}・飯野 哲^{*2}・堀口 和秀^{*2}
(Masatoshi Hori) (Masahiko Fujisawa) (Yasuyo Yamamoto) (Satoshi Ino) (Kazuhide Horiguchi)

松本 敏^{*3}・梅崎 良則^{*3}・尾崎 博^{*1}
(Satoshi Matsumoto) (Yoshinori Umezaki) (Hiroshi Ozaki)

東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室^{*1}
福井大学医学部形態機能医科学講座^{*2}
ヤクルト本社中央研究所基礎研究Ⅱ部^{*3}



背景

クローン病(Crohn's disease)は、潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis; UC)とともに原因不明の炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease; IBD)として、厚生労働省の難治性疾患として指定されている。

IBDにおける消化管運動機能障害は、腸内フローラの乱れをきたし、エンドトキシンの曝露により粘膜炎症をさらに悪化させることが示唆されており、IBDにおける消化管運動機能の改善は、病態の再発防止や緩和、ならびに治癒機転に重要である。しかし、IBDにおける消化管運動機能障害機構や筋層部での炎症応答の詳細は十分解明されていない。

SAMP1/Yitマウスは、世界ではじめて発見された自然発症型の小腸炎タイプのクローン病モデルマウスであり¹⁾、生後12~15週齢以降、回腸末端部に炎症を発症し、30週齢以上のマウスでは重篤な小腸炎を引き起こす。SAMP1/Yitマウスはクローン病の原因や病態解析、治療法の確立に必須の実験動物として現在最も期待されている。



目的

本研究では、SAMP1/Yitマウス小腸病変部における、筋層部の炎症応答について明らかにするとともに、消化管運動機能障害の分子機構について検討した。



方法

30~34週齢の雄のSAMP1/Yitと同じ週齢の雄のAKR/Jマウスを実験に使用した。消化管平滑筋条片を用いたマグヌス法による収縮応答の測定、電磁血流系を用いた摘出回腸の蠕動運動反射の測定、筋層部全層伸展標本(whole-mount標本)を用いた各種免疫染色を行った。



結果

蠕動運動反射測定実験から、SAMP1/Yitマウス回腸炎症部では管腔内圧上昇によって発生する蠕動運動が顕著に抑制されていた。消化管の蠕動運動は、壁内神経叢とカハールの介在細胞(interstitial cells of Cajal; ICC)ならびに平滑筋

細胞の機能の相互作用により制御されている。そこで、まず、摘出回腸平滑筋組織を用いて回腸平滑筋の収縮能力について解析した。SAMP1/Yitマウス回腸炎症部から摘出した平滑筋組織における高濃度Kならびにカルバコール収縮は、AKR/Jマウス回腸より摘出した平滑筋組織とほぼ同等の収縮反応を発生した。次に、ICCの機能について解析した。摘出した平滑筋組織は自発性収縮を発生するが、この収縮はテトロドトキシン(tetrodotoxin; TTX)非感受性であり、ICCの機能を反映していると考えられている。SAMP1/Yitマウスにおいて、回腸炎症部の平滑筋組織は正常な自発性収縮を発生した。また、Ack2抗体により壁内神経叢のICCネットワークについて解析したところ、SAMP1/Yitマウス回腸においても正常なICCネットワークが観察された。さらに、PGP9.5抗体とnNOS抗体を用いて壁内神経叢のネットワークについて検討したが、SAMP1/Yitマウス回腸炎症部で顕著な異常は認められなかった。しかし、壁内神経叢周囲には細い神経線維の異常増生が認められた。SAMP1/Yitマウス回腸

の筋層部神経叢には常在型マクロファージ数が増加しており、また、肥満細胞が多数浸潤していた。さらに、消化管炎症部での神経発育因子(nerve growth factor; NGF)と血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor; VEGF)のmRNA(messenger RNA)発現の増加が認められ、PECAM-1抗体による免疫染色により、SAMP1/Yitマウス回腸筋層部では異常な血管新生像が観察された。この血管新生の増加に伴って、SAMP1/Yitマウス回腸炎症部では粘膜層、筋層ともに顕著な肥厚が認められた。



考 察

SAMP1/Yitマウス回腸炎症部では、顕著な蠕動運動反射の抑制が認められた。この蠕動運動の機能障害は、平滑筋の収縮機構やICCの機能異常によるものではなく、壁内神経叢における細い神経線維の異常な増生に起因した壁内神経-ICC-平滑筋細胞間の刺激伝導異常が原因の1つと考えられた。近年、癌組織周囲に浸潤してきた肥満細胞

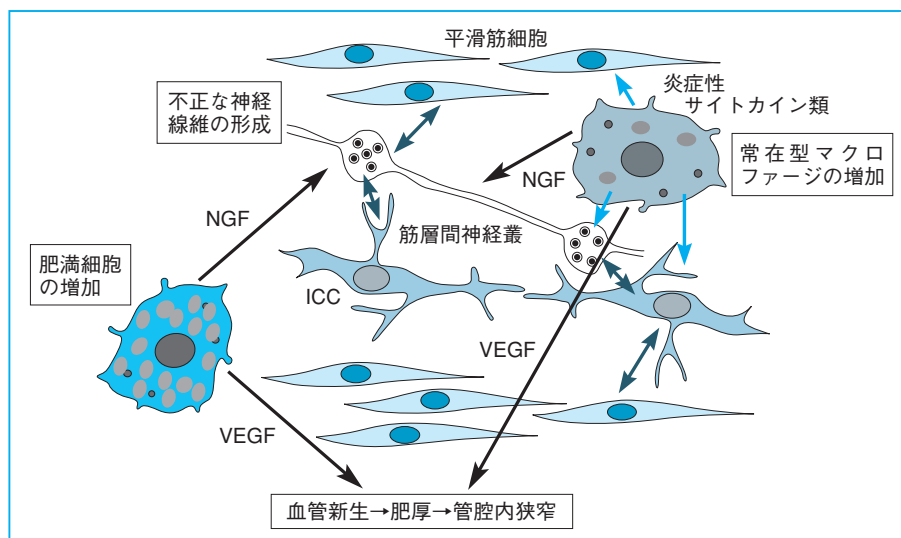


図1. SAMP1/Yitマウス小腸病変部における筋層部の炎症応答と蠕動運動反射抑制機構
NGF: 神経発育因子, ICC: カハールの介在細胞, VEGF: 血管内皮細胞増殖因子

胞からのVEGF産生が血管新生を促すことが報告された²⁾。また、肥満細胞やマクロファージから産生されるNGFは、強力な肥満細胞遊走因子として働くことが知られている³⁾。したがって、SAMP1/Yitマウス小腸病変部における不正な神経線維形成異常には、筋層部において増加した常在型マクロファージや肥満細胞から産生されるNGFが関与すると考えられた。また、NGFは肥満細胞の筋層部への浸潤を促し、マクロファージや肥満細胞から産生されるVEGFが異常な血管新生を引き起こして筋層や粘膜層の肥厚を生じ、それによる管腔内狭窄も蠕動運動機能障害の一因となっていると考えられる(図1)。

謝 辞

本稿記載の成績は、文部科学省科学研究費、生物系特定産業技術研究支援センター(生研センター)新

技術・新分野創出のための基礎研究推進事業、ヤクルト・バイオサイエンス研究財団研究助成金の補助のもと行った。

文 献

- 1) Matsumoto S, Okabe Y, Setoyama H, et al : Inflammatory bowel disease-like enteritis and caecitis in a senescence accelerated mouse P1/Yit strain. *Gut* **43** : 71-78, 1998
- 2) Heissig B, Rafii S, Akiyama H, et al : Low-dose irradiation promotes tissue revascularization through VEGF release from mast cells and MMP-9-mediated progenitor cell mobilization. *J Exp Med* **202** : 739-750, 2005
- 3) Sawada J, Itakura A, Tanaka A, et al : Nerve growth factor functions as a chemoattractant for mast cells through both mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *Blood* **95** : 2052-2058, 2000