

論 文 要 旨

Temporal and spatial dependence of inflammatory biomarkers and suppression by fluvastatin in dextran sodium sulfate-induced rat colitis model.

Dextran sodium sulfate 惹起ラット腸炎モデルにおける炎症性バイオマーカーの
部位別経時的変化とフルバスタチンの抗炎症効果

関西医科大学外科学講座
(指導：権雅憲 教授)
大 石 賢 玄

【背景と目的】

Dextran sodium sulfate (DSS) 誘発性ラット腸炎モデルは、ヒト潰瘍性大腸炎 (UC) と病理組織所見が類似しており、UC の病態解明や新規治療薬の開発に広く用いられているが、これまで大腸各部位での炎症性バイオマーカーについての詳細な報告はなされていない。一方、脂質異常症治療薬である Fluvastatin はこれまで肝細胞肝炎モデルにおける肝保護効果、腸炎関連性発癌抑制効果、腸粘膜上皮の NF- κ B シグナル抑制による腸炎軽減効果やヒト炎症性腸疾患患者への投与によりステロイド使用量の減量や血漿中の炎症性バイオマーカーの低減効果などが報告されている。本研究では、DSS 誘発性ラット腸炎モデルにおける大腸各部位別での炎症性バイオマーカーの経時的変化と Fluvastatin の抗炎症効果を検討した。

【方法】

Wistar 雄性ラットに DSS 溶液 (0-4 日目は 5%、5-15 日目は 2%) を飲水させて腸炎を惹起したコントロール群を DSS 群とし、さらに 0-4 日目に Fluvastatin (20 mg/kg/日) を経口強制投与した群を DSS/Flu 群とした。DSS 誘発腸炎の臨床的評価 (disease activity index, DAI) は体重、便の性状、血便の有無により行った。病理学的評価には、全結腸重量/長さ比 (W/L) および遠位結腸の HE 染色による病理スコアを用いた。また、直腸皮膚縁から 1 cm 刻みに直腸 (R) と遠位結腸 (D0、D1、D2) を採取し、炎症性バイオマーカー (iNOS, TNF- α , CINC-1, IL-1 β , IL-6) の mRNA を定量的 RT-PCR で測定した。

【結果】

DSS 群では、投与後 2-6 日目まで体重減少が持続した。投与開始 1 日目から下痢のため DAI が高値となり、3 日目には下血のため DAI はさらに高値となった。W/L は DSS 投与開始後、経時的に漸増した。病理組織所見は 5 日目には高度の炎症が潰瘍形成、腺窩の短縮や消失を惹起し、炎症性細胞の浸潤によるリンパ濾胞の形成を認めた (病理スコア 13.9 ± 1.6)。TNF- α mRNA の発現は経時的に 4-6 日目に最大値となり、12 日までは漸減したものの 12-15 日目の発現は維持されていた。部位別にはいずれの時期においても R から口側 (D0、D1、D2) に向かって漸減した。iNOS、CINC-1、IL-1 β 、IL-6 の各 mRNA 発現は、その発現量に多寡を認めたものの経時的変化、部位別変化は TNF- α と同様であった。

DSS/Flu 群は、DSS 群に比べて 5 日目まで体重増加に差は認めなかったが、DAI では 5 日目に DSS 群に比べて有意に低値であった。W/L は DSS/Flu 群では低値になる傾向を示した。TNF- α 、iNOS、CINC-1 mRNA の発現はいずれも R において DSS 群に比べて DSS/Flu 群では有意に低下した。また CINC-1 mRNA は D0 においても有意に低下した。

【考察】

遠位結腸および直腸における炎症性メディエーターの経時的、部位別の変化を病理学的検討とともに過去の報告に比べて極めて詳細に検討することができた。炎症性メディエーターの経時的部位別変化は急性期および慢性期の体重変化、DAI および W/L と高い相関性を認めた。TNF- α と iNOS mRNA は特に急性

期に DAI と病理学的評価と高い相関関係にあった。TNF- α はヒト UC の病因としてよく知られているが、本研究では急性期のみならず慢性期においても病態の把握に有用なメディエーターであることが分かった。本モデルにおける直腸での TNF- α と iNOS mRNA は急性期の重症度の指標として適当であると考えられた。CINC-1 と IL-6 は DSS 投与開始後 4-9 日目をピークとし、慢性期にかけて徐々に減少する変化を認めた。また、部位別の炎症性メディエーターは直腸で最も高発現し、口側に向かって発現が漸減していたことから、急性期および慢性期における炎症の指標として適当であると考えられた。さらに、本実験における Fluvastatin の抗炎症効果の検討では、DSS 誘発腸炎モデルにおいて TNF- α 、iNOS、CINC-1 mRNA の発現抑制による腸炎の軽減効果を認めた。

DSS 腸炎モデルにおいて炎症性バイオマーカーを検討する際には、時期とサンプルの採取部位を考慮することが UC に対する新規治療薬の効果判定や作用機序解明にきわめて重要である。また、ヒト UC においてもこれらの炎症性バイオマーカー遺伝子発現を抑制することが治療につながる可能性があると考えられた。