

4 マウス IBD モデルと炎症性腸疾患

新潟大学医学部第三内科学教室

鈴木 健司

Murine IBD Models and Inflammatory Bowel Disease

Kenji SUZUKI

*The Third Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine*

Abstract

Inflammatory bowel diseases consist of ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). Their pathogenesis remains largely unknown and hence there lacks any fundamental treatment for these diseases. To reveal the etiopathogenesis and to find novel treatment for IBD, many animal models for IBD have been developed so far. We have established a new animal model for IBD, especially UC, using adoptive cell transfer of immunocompetent cells from mice infected with a murine retrovirus that we termed "MAIDS colitis". In addition, to develop a new treatment for IBD, we have analyzed the therapeutic effect of anti-IP-10 antibody treatment on DSS colitis model. In this seminar, I would like to discuss details of the data.

Key words: Inflammatory bowel disease, experimental colitis, MAIDS

はじめに

口に始まり、肛門に終わる消化管は消化器の中心臓器であり、その表面面積はテニスコート1.5面におよび人体内で外界に接する最大の粘膜領域と言える。すなわち、生体が外界からの異物や病原体を日夜排除するために繰り広げている戦いの最前線は、かくも広大な領域である。それを反映して腸管を主体とした粘膜免疫組織は人体最大の免疫機構を有する。近年、我が国においてもこの腸の免疫機構の破綻により生ずると考えられてい

る炎症性腸疾患が増加傾向にあり注目されている。本稿では、これらの疾患に対して我々が行ってきた研究成果について報告したい。

炎症性腸疾患とは

腸は十二指腸、小腸、虫垂、大腸、肛門よりなるが、これら腸に炎症が生じることで下痢、下血などを呈する疾患を総称して炎症性腸疾患と言う¹⁾。これらは急性炎症性腸疾患と慢性炎症性腸疾患に分けられる。前者は細菌などの感染性腸炎や薬剤

Reprint requests to: Kenji SUZUKI
The Third Department of Internal Medicine
Niigata University School of Medicine
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8122 Japan

別刷請求先: 〒951-8122 新潟市旭町通り1-757
新潟大学医学部第三内科 鈴木 健司

性腸炎などに代表され、原因がある程度分かっているものが多いことから特異性炎症性腸疾患と呼ばれる。

一方、後者は潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis, UC) とクローン病 (Crohn's disease, CD) の二大疾患に代表され、原因不明で難治性であり非特異性炎症性腸疾患と呼ばれる。一般的に炎症性腸疾患 (Inflammatory bowel disease, IBD) と言った場合、これら UC と CD をさすことが多い。本邦において両疾患は 1980 年代と比較して現在はほぼ 3 倍に患者数が増加しており、およそ UC が 6 万人、CD が 1.7 万人とされている。ともに 20 才代に発症のピークがあり、患者は QOL が大きく障害されることなどから、近年注目されている。IBD と一纏まりにされることが多いが、両疾患では病態に差異が見られる。病変の局在に関して、UC は大腸が炎症の主座であり、直腸に始まり口側に連続性に病変が広がる。これに対し、CD は回腸終末部が病変の好発部位ではあるが、口から肛門に至るいかなる場所にも生じることがあり、非連続性に病変が存在することが特徴である。腸管壁層構造における炎症の主座にも両疾患には特徴がある。UC は大腸の粘膜固有層と粘膜下層にリンパ球、マクロファージを主とした慢性細胞浸潤と腸上皮細胞の破壊像がみられ、活動期には好中球、好酸球浸潤が加わる "acute on chronic" の組織像が特徴である。CD では腸管壁全層に炎症が生じ、肉芽腫がみられることが特徴である。両者に対して、サラゾピリンやペンタサ、ステロイド剤などの薬物療法や栄養療法がおこなわれているが、両疾患ともに発症原因が不明であるため、現在根本的な治療法が存在しない。

炎症性腸疾患動物モデル

IBD 発症機序解明および新たな治療法開発のために、表 1 に示すようにこれまで種々の動物実験モデルが作られてきた。現時点では UC、CD とともに発症原因は不明であるが、両疾患患者に種々の免疫異常や自己免疫疾患の合併がみられることなどより、免疫異常がその発症に密接に関連して

表 1 Experimental colitis model

I. Spontaneous animal model

- ① Cotton-top tamarin
- ② Juvenile rhesus macaques

II. Induced animal model

1. Chemical model

- (1) Acetic acid
- (2) Ethanol
- (3) Sulfated polysaccharides
 - ① Carrageenan
 - ② Dextran sulfate sodium (DSS)

2. Immunological model

- (1) B cell model
 - ① Egg albumin
 - ② LPS
- (2) T cell model
 - ① 2,4-dinitro-chlorobenzene (DNCB)
 - ② Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)

(3) Cell transfer model

- ① CD4⁺CD45RB^{high}T→SCID mice
- ② MAIDS colitis
- ③ GVHD colitis

3. Genetic engineering model

(1) Transgenic animal model

- ① HLA-B27 transgenic rat
- ② IL-7 transgenic mice
- ③ Bone marrow reconstituted tg ε 26 mice

(2) Gene targeting animal model

- ① IL-2-deficient mice
- ② IL-10-deficient mice
- ③ T cell-receptor mutant mice
- ④ TGF-β 1-deficient mice
- ⑤ Gαi2-deficient mice

いることが示唆されている。いくつかの自己免疫疾患は CD4⁺T 細胞の産生サイトカインの不均衡により発症することが示されてきたが、IBD においてもこの考えに基づき、UC では Th2 優位、CD では Th1 優位の免疫異常が重要であろうと想定されている。この IBD におけるサイトカイン不均衡説の真憑性は、最近になって種々の遺伝子工学的 IBD モデルが開発されることにより支持されてきた。また、CD の抗 TNF α 抗体治療が現在有望な治療として行われつつあるが、これも動物モデルを用いた基礎実験が土台となっている。われわれも、これまで、UC の新たな動物モデルを作出したり、従来のモデルを用いた UC の新たな治療法の開発を試みてきたので以下に紹介する。

炎症性腸疾患動物実験モデルを用いた 我々の研究

MAIDS colitis

レトロウイルス LP-BM5 マウス白血病ウイルス (murine leukemia virus, MuLV) は、感受性を持つマウスに感染すると、そのマウスに AIDS 類似の重篤な免疫不全、すなわち Murine AIDS (MAIDS) をもたらしことが知られていた。われわれはこの MAIDS マウスの唾液腺、涙腺、膵臓などの外分泌腺に細胞浸潤が見られることを見出した。また、本マウスの感染初期には T, B 細胞のポリクローナルな活性化、高ガンマグロブリン血症、抗核抗体の出現など免疫反応の亢進状態がみられ、感染末期にはリンパ腫の発症もみられることから、本マウスはシェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome, SjS) 類似の病態を呈することを提唱した²⁾。この MAIDS マウスのリンパ節細胞をヌードマウスに移入したところ、レシピエントマウスは SjS 様外分泌腺症のみならず、UC 様の大腸炎を生じ下痢、下血を呈した³⁾。細胞浸潤は CD4⁺細胞と Mac-1⁺細胞が主体で、粘膜固有層、粘膜下層に局限し、腸上皮のびらんや陰窩膿瘍がみられた。RT-PCR による mRNA 発現の解析では Th1 サイトカインの代表である IFN- γ と Th2 サイトカインの IL-10 とともに MAIDS 腸炎マウス大腸で有為に検出された。免疫蛍光法 (IF) 二重染色による解析では、CD4⁺細胞に関しては IL-10 陽性細胞が IFN- γ 陽性細胞より多い傾向がみられた。これに対し、Mac-1⁺細胞では IFN- γ 陽性が多かった⁴⁾。次に、MAIDS リンパ節細胞を CD4⁺分画と Mac-1⁺分画に分けて、各々をヌードマウスに移入したところ更に興味深い結果が得られた。すなわち、CD4⁺分画移入群では SjS 様外分泌腺症のみが生じ、Mac-1⁺分画移入群では UC 様大腸炎のみが生じた。このことから類推されることは、MAIDS マウスの CD4⁺T 細胞は SjS 様の外分泌形成能を獲得しているのに対し、Mac-1⁺細胞は UC 様大腸炎形成能を有しているということである。MAIDS colitis における Mac-1⁺細胞はマクロファージが多数を

占めることが、これまでの電子顕微鏡による解析や FACS あるいは IF による細胞表面マーカーの解析から示唆されているが、この他にも NK 細胞や樹状細胞 (Dendritic cell, DC) が含まれるものと考えられる。以上のことを考慮して、現時点で、われわれは、MAIDS 腸炎発症機構を図1の様に考えている。これまで、IFN- γ 産生細胞は T 細胞あるいは NK 細胞であり、マクロファージは想定されていなかった。UC 患者大腸生検標本を二重染色 IF 法で解析したところ、MAIDS 腸炎で見られたのと同様の、IFN- γ 産生マクロファージが認められた。今後は UC における組織破壊の実行細胞として T 細胞のみならず、マクロファージに関しても注意深い解析が必要であることが示唆された。

DSS 腸炎に対する抗 IP-10 抗体治療

UC では炎症が大腸に局限していることが特徴であるが、その臓器特異性を規定している因子に関しては良く分かっていない。近年細胞の走化性因子として同定されてきたケモカインおよびケモカインレセプターという分子群が、いくつかの疾患の臓器特異性を規定する因子として作用している可能性が示されてきた。CD4⁺T 細胞に関しては、Th1 細胞上には CXCR3 などのケモカインレセプターが発現され、これのリガンドである IP-10 などのケモカインを発現した臓器に特異的に Th1 リンパ球が移動するというような可能性が考えられる。また、UC においても大腸粘膜固有層において IP-10 の発現がみられるとする報告もある。そこで、われわれは Th1 免疫反応優位の実験腸炎モデルである DSS 腸炎マウスに抗 IP-10 抗体治療実験を行って見た。臨床経過、大腸の長さ、病変組織いずれにおいても抗 IP-10 抗体治療は DSS 腸炎に対して治療効果を有することが明らかとなった。更に解析を進めて、人 UC の新たな治療法になりうるか検討を加えたい。

ま と め

われわれは、これまで主にマウス IBD モデルを用いて人 IBD 特に UC の病因に関する研究お

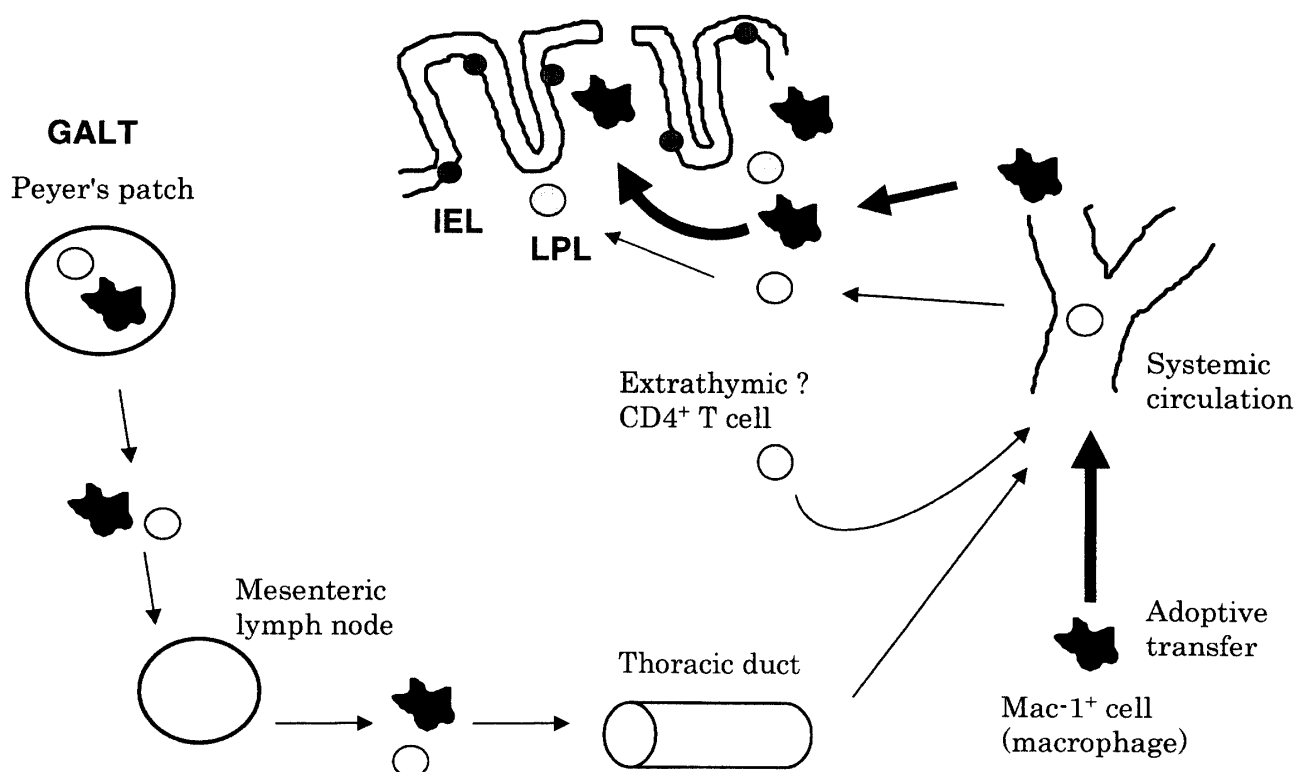


図1 Postulated mechanism of induction of MAIDS colitis

よび、UC に対する抗ケモカイン抗体療法の可能性につき研究を行ってきた。今後は、これらの動物実験モデルで得られた知見を、人 UC における病態と比較検証を加えながら、最終的には実際の人における UC あるいは CD の病因の解明ひいては新たな治療法の開発につながるよう研究を進めていきたい。

注：本研究は新潟大学医学部第三内科，摺木陽久，馬場靖之，米山博之，相場恒男，佐々木俊哉，渡部史郎，河内裕介，朝倉 均，医学部附属腎研究施設分子病態部門，河内 裕，清水不二雄の各先生方との共同研究である。

文 献

- 1) 石井裕正，朝倉 均：わが国における炎症性腸疾患の現状と問題点。日本医師会雑誌 2: 145-151 2001.
- 2) Suzuki K, Makino M, Okada Y, Kinoshita J, Yui R, Kanazawa H, Asakura H, Fujiwara M, Mizuochi T and Komuro K: Exocrinopathy resembling Sjogren's syndrome induced by a murine retrovirus. Lab Invest. 69: 430-435 1993.
- 3) Suzuki K, Narita T, Yui R, Ohtsuka K, Inada S, Kimura T, Okada Y, Makino M, Mizuochi T, Asakura H and Fujiwara M: Induction of intestinal lesions in nu/nu mice induced by transfer of lymphocytes from syngeneic mice infected with murine retrovirus. Gut 41: 221-228 1997.
- 4) Suriki H, Suzuki K, Baba Y, Hasegawa K, Narisawa R, Okada Y, Mizuochi T, Kawachi H, Shimizu F and Asakura H: Analysis of cytokine production in the colon of nude mice with experimental colitis induced by adoptive transfer of immunocompetent cells from mice infected with a murine retrovirus. Clin Immunol 97: 33-42 2000.

司会(伊藤(薫)) それでは質問ございますか。

山本 細菌学教室の山本ですが、先生ケモカインの抗体を使って治療とか、されてますけど現実問題抗体でやるというのは非常に難しいと思うのですが、抗菌剤の中にもサイトカインを抑えるとか、いろんな抗免疫作用のあるマクロライドとかあると思うのですが、こういう薬剤を使ってこういう IP-10とかそういうものが下がるとかそういうケモカインのレベルを下げるという方向性というのは難しいでしょうか？

鈴木 確かに先生おっしゃるとおり非常に重要な方

向でございますので是非進めていきたいと思います。人の炎症性腸疾患の治療にペントサとかサラゾピリンなどの薬をよく使うのですけど、作用機序がよく分かっていないことがありますので、本モデルに対する同薬剤の治療実験を行なっています。その際に、先生から御助言頂きました点に関して検討したいと思っています。

司会(伊藤(薫)) その他いかがでしょうか。それではつづいて皮膚科学教室の富山先生お願いいたします。

5 マウス GVHD モデルと炎症性皮膚疾患

新潟大学医学部皮膚科学教室(主任:伊藤雅章教授)

富山 勝博

Murine GVHD Models and Inflammatory Cutaneous Diseases

Katsuhiko TOMIYAMA

*Department of Dermatology,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Masaaki Ito)*

Abstract

Human inflammatory cutaneous diseases include immunologically induced diseases, e.g. contact dermatitis, drug eruption, cutaneous GVHD. Although many murine experimental models mimicking human immunological events have been reported, there have been few murine models manifesting inflammatory cutaneous lesions. We previously reported that systemic GVHD in athymic nude mice involved apparent cutaneous lesions like human cutaneous GVHD. Our studies suggested that dendritic epidermal T cells (DETC) might play an important role for regulation of murine cutaneous GVHD. Here, we will demonstrate DETC-dependence of cutaneous rigidity to GVHD.

Key words: murine GVHD, DETC, inflammatory cutaneous diseases

Reprint requests to: Katsuhiko TOMIYAMA
Department of Dermatology
Niigata University School of Medicine
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市旭町通り1-757
新潟大学医学部皮膚科学教室 富山 勝博