

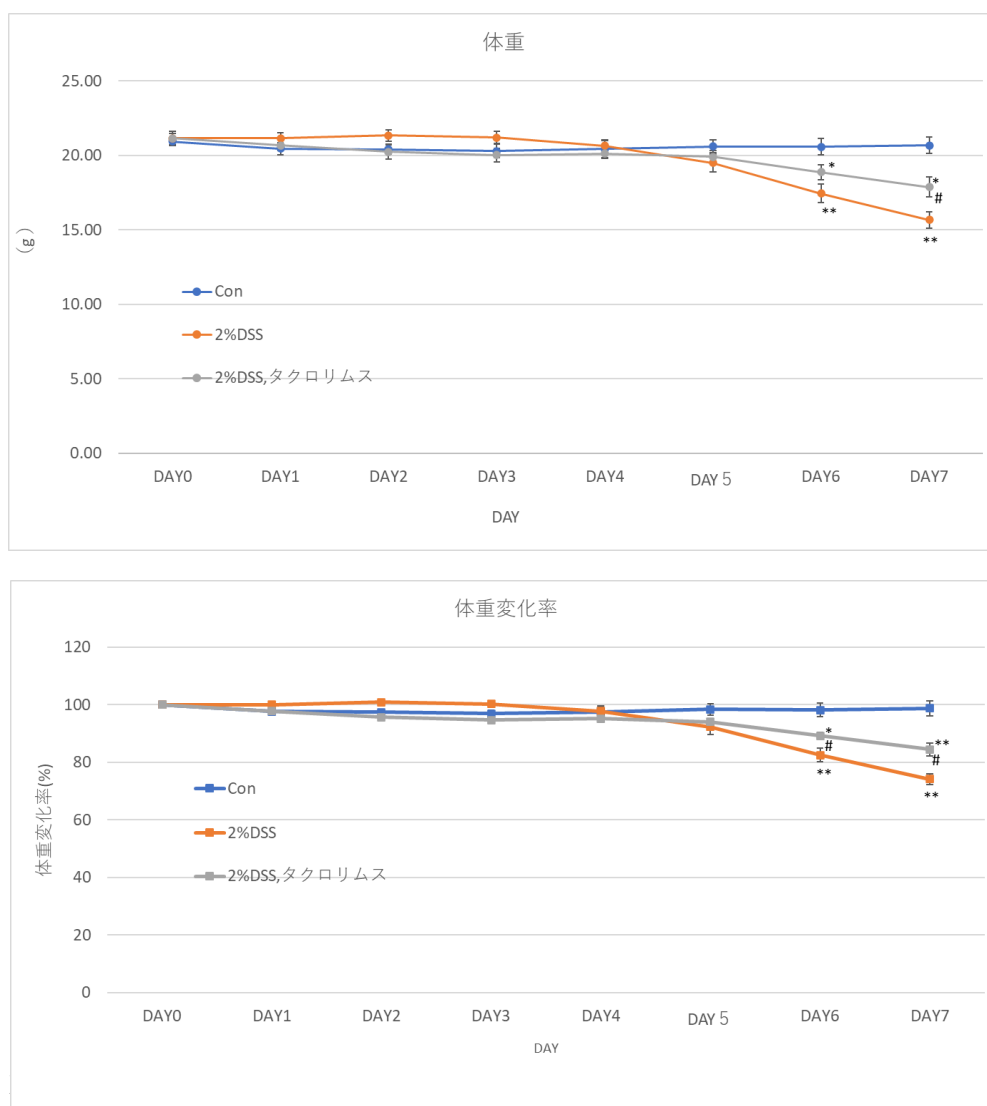
デキストラン硫酸ナトリウム誘発潰瘍性大腸炎モデルの作製

目的	潰瘍性大腸炎は原因不明の腸に炎症を起こす炎症性腸疾患（IBD）の一種であり、大腸粘膜にびらん、潰瘍が発生する自己免疫性疾患と考えられており、日本においては「指定難病」に定められている。現在でも特効薬はなく、症状を抑える対症療法薬を使用し、緩解に誘導し、緩解を維持する薬物療法により再燃させないことが目標とされている。しかし、これまで用いられてきた薬物に対して効果が不十分或いは耐性を持つことがあり、さらなる薬物の開発が求められており、潰瘍性大腸炎のモデルは必要とされている。そこで、デキストラン硫酸ナトリウム（以下 DSS）水溶液を飲水させることにより潰瘍性大腸炎モデルを作製し、その作製したモデルに既存の緩解導入薬であり免疫抑制薬であるタクロリムス(TCL)の効果を検討した。
動物	C57BL/6J オス
週齢	7 週齢
群構成	Control 群(水道水+CMC 水溶液 p.o.) , 2%DSS 群(2%DSS 水溶液+CMC 水溶液 p.o.) , 2%DSS+TCL 群 (2%DSS 水溶液+TCL10mg/kg p.o.) 各群 4 例
方法	飲用水として Control 群は水道水,2%DSS 及び 2%DSS+TCL 群は 2%DSS 水溶液を 8 日間自由飲水させた.また Control 群には 3%CMC 水溶液,2%DSS 群は 3%CMC 水溶液, 2%DSS+TCL 群はタクロリムス 懸濁液 (10mg/kg)を毎日 10mL/kg の容量を経口投与した。 期間中体重,飲水量,摂餌量,便の状態を毎日観察した.体重,糞便,血便（潜血含む）は基準に従いスコア化し、その合計を病態スコアとした.潜血便は目視できないため、ルミノール液を用いて判定した.最終日に採血し,貧血の程度を確認するため赤血球数を測定した.また大腸を摘出し大腸長の測定を行った。
結果	2%DSS 溶液を 8 日間飲水させることにより、潰瘍性大腸炎モデルを作製することが出来、これまでの報告通り、大腸の長さの短縮、病態スコアの増加（体重の減少、糞便の状態等）が認められた。また、赤血球数を測定することにより、明確な貧血も確認されている。 陽性対照薬としての TCL を経口投与することにより,体重減少,便の状態など

の病態スコアが改善され、貧血症状、大腸長の短縮の抑制を確認することが出来た。

まとめ DSS を溶解した飲用水により潰瘍性大腸炎を作製するプロトコールはいくつかあり、DSS の濃度は 2～5%が多く使われている。弊社で実施した方法では 2%の DSS を飲水させることにより 8 日間で十分な潰瘍性大腸炎になることが示された。また、今回実施した実験方法で陽性対照薬であるタクロリムスの効果が確認でき、今回用いた DSS 濃度が薬効を確認するために適切な濃度であることが示されている。

図 1 体重と変化率



2%DSS 群及び 2%DSS+TCL 群では 5 日目から体重が減少する傾向が認められ、6 日目

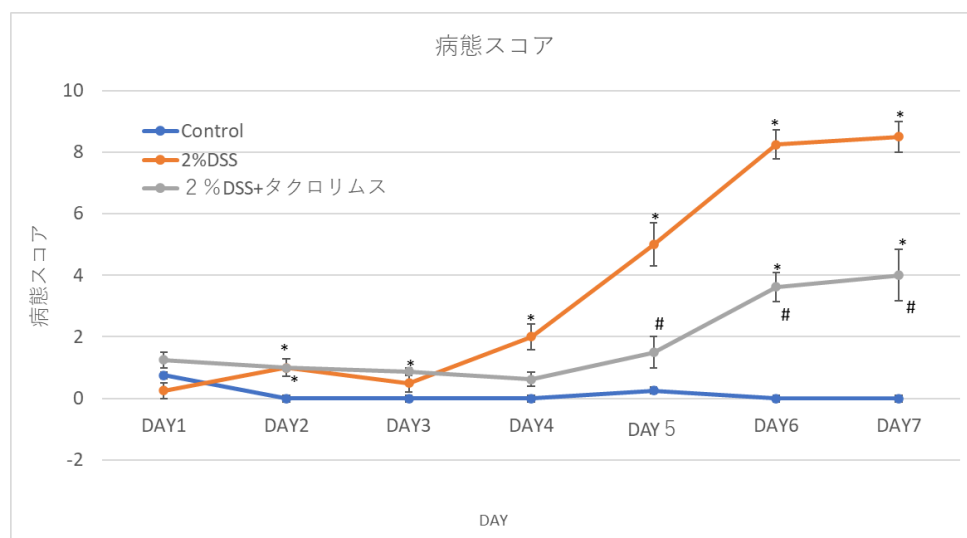
降では対照群と比較し有意な体重の低下が認められた。また、体重の絶対重量では2%DSS群が2%DSS+TCL群と比較し7日目で有意な体重の低下が認められ、体重変化率では6日目から有意な減少が認められており、TCLが2%DSSによる体重減少を抑制していることを示している。

また、一般状態としては2%DSS群では摂水摂餌量の減少、うずくまり等の一般状態の低下が認められた。2%DSS+タクロリムス群は5日目以降、体重は減少しているが摂水摂餌量の減少や一般状態の低下は認められなかった。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ vs 対照群 (t 検定)

#: $p < 0.05$ vs 2 %DSS (t 検定)

図2 病態スコア



スコア基準

体重/ 0: $\geq 98.01\%$ 1: $98.00 \sim 95.01\%$ 2: $95.00 \sim 90.01\%$ 3: $90.00 \sim 85.01\%$ 4: $\leq 85.00\%$

糞便/0: 正常な便 1: 形のある軟便 2: 形の崩れた軟便 3: 下痢 4: 便なし

潜血,出血/0: 潜血なし 1: 潜血あり 2: 出血痕あり 3: 常に出血

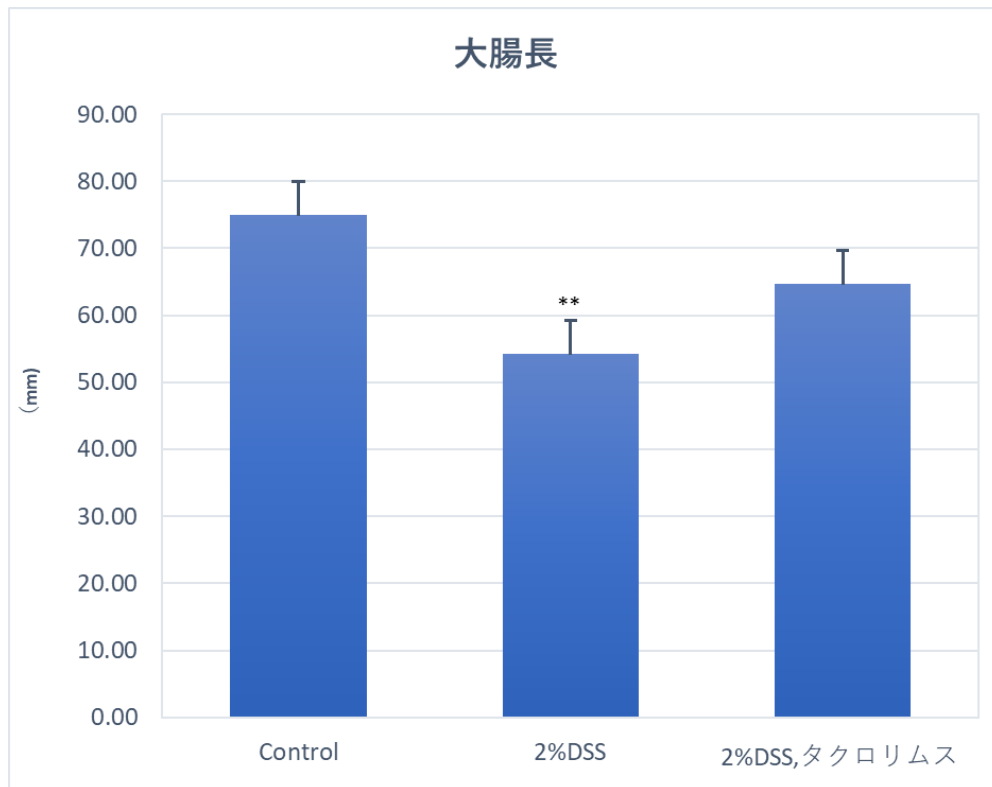
病態スコアは Day2 から2%DSS 飲水群は対照群より高い数値を示し、Day4 よりさらに病態が悪化する傾向が認められ、対照群と比較し有意な高スコアであった。しかし、TCL の投与はその病態悪化を有意に抑制した。

糞便の性状に関しては最終日まで2 %DSS 群はすべての個体に下痢、肛門から出血が確認出来たのに対し、2 %DSS+タクロリムス群は軟便、潜血はあったが下痢や出血は認められなかった。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ vs 対照群 (U 検定)

#: $p < 0.05$ vs 2 %DSS (U 検定)

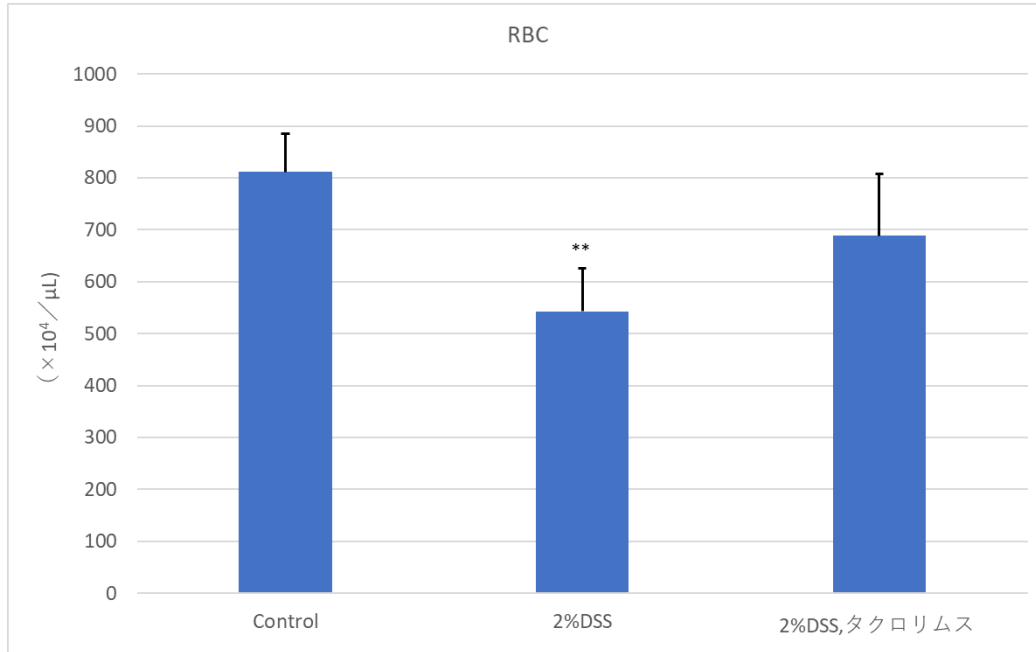
図3 大腸長と大腸写真



2%DSS は大腸を対照群と比較して有意に短縮させ、TCL はその短縮を抑制した.

** : $p < 0.01$ vs 対照群 (t 検定)

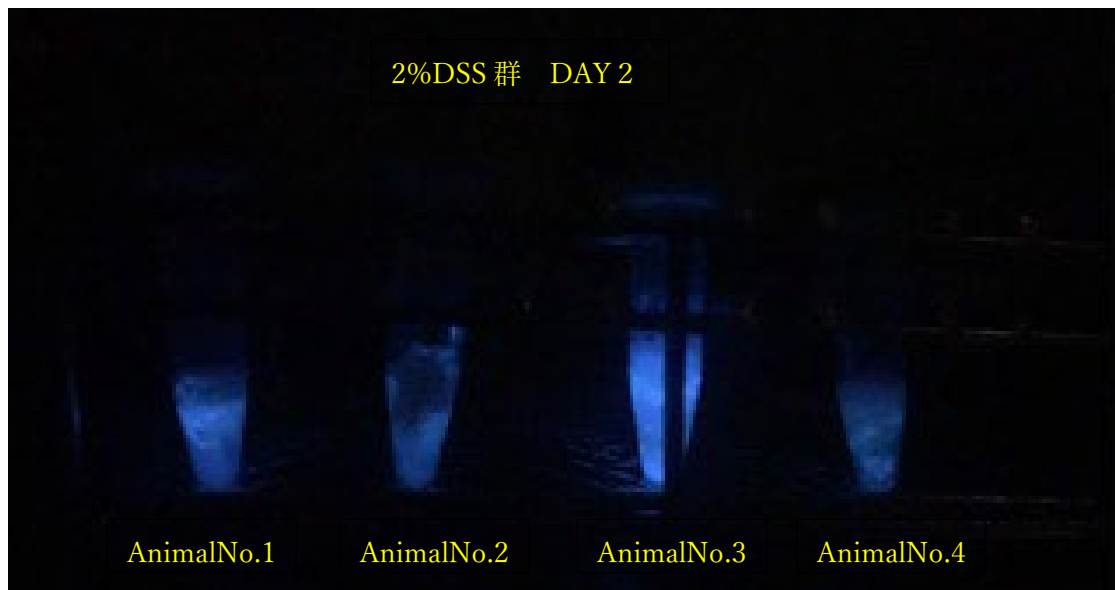
図 4 赤血球数



貧血の確認のために赤血球数を測定した結果、2%DSS の飲水により赤血球数が有意に減少していた。このことは貧血を意味しており、TCL はその貧血を抑制することが示されている。

**: $p < 0.01$ vs 対照群 (t 検定)

ルミノール反応による潜血確認



潜血は肉眼で観察することが出来ないため、本試験ではルミノール反応を利用し、潜血の有無を確認した。潜血反応はルミノール溶液 100 μ L と糞便をボルテックスを用いて混和することにより行い、発光の有無により判別した。

2 %DSS 群は 2 日目以降、すべての個体で潜血が認められたが、2 %DSS+タクロリムス群は 5 日目からすべての個体に潜血が認められた。