



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

The Role of the Tumor Necrosis Factor Receptor  
in 2,4,6-Trinitrobenzene Sulphonic Acid  
(TNBS)-induced Colitis in Mice

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2008-02-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中井, 実 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/14864">http://hdl.handle.net/20.500.12099/14864</a>

氏名(本籍)	中井 実(岐阜県)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第 1408 号
学位授与日付	平成 17 年 11 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	The Role of the Tumor Necrosis Factor Receptor in 2,4,6-Trinitrobenzene Sulphonic Acid (TNBS)-induced Colitis in Mice
審査委員	(主査) 教授 森 脇 久 隆 (副査) 教授 清 島 満 教授 高 見 剛

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

クローン病や潰瘍性大腸炎など炎症性腸疾患の病因には様々なサイトカインが関与しているとされる。近年クローン病に対する抗TNF- $\alpha$ モノクローナル抗体(インフリキシマブ)の有効性が報告され、クローン病とTNF- $\alpha$ の強い関連性が示唆されるが、その作用機序については不明な点が多い。今回我々は、TNF receptor knockout (KO) マウスを用い、クローン病モデルとされるtrinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) 腸炎モデルを作製し、TNF receptorの役割について検討した。

#### 【方法】

8-10週齢のC57BL/6 (wild type, TNFR-1KO, TNFR-2KO及びTNFR-1, 2KO) 雌マウスを用い、24時間絶食の後、麻酔下に4Fr小児用栄養チューブを肛門より4cm挿入。TNBS 6mg/bodyを50%エタノール100  $\mu$ lに溶解した液を注腸した後1週間にてsacrificeし、血清及び大腸組織を採取。

①H&E染色にて大腸の炎症細胞浸潤と組織障害をスコアにて評価、②TUNEL染色を用い組織内の粘膜固有層単核球アポトーシスについて評価、③ELISA法にて血清TNFを測定するとともに、RT-PCR法にて組織内のTNF m-RNAを測定、④ゲルシフト法による大腸組織内のNF- $\kappa$ Bの発現、について比較検討した。

#### 【結果】

①組織学的検討において、TNBSを投与した群ではコントロール群と比べて炎症細胞浸潤は増加していたが、各群間での有意な差は認めなかった。一方粘膜障害に関しては、TNF receptor 1を有する群(wild type, TNFR-2KO)に比べて、TNF receptor 1を欠如した群(TNFR-1KO, TNFR-1, 2KO)において有意に抑制されていた。

②TUNEL染色を用いた組織内アポトーシスの検討では、TNBSを投与したいずれの群においても、コントロール群に比べて有意に粘膜固有層単核球のアポトーシスは抑制されていたが、各群間での差異は認めなかった。

③血清TNFは、TNBSを投与したすべての群においてコントロール群と差異を認めなかった。一方大腸組織におけるTNF m-RNAの発現は、TNBSを投与したすべての群において有意に増加していたが、各群間での差異は認めなかった。

④TNF receptor 1を欠如した群では、TNF receptor 1を有する群に比べてNF- $\kappa$ Bの活性が抑制されていた。

#### 【考察】

今回の検討にて、TNBS腸炎の主な病態である慢性的な炎症細胞浸潤には、粘膜固有層単核球のアポトーシスの障害が関与していると考えられる。しかしTUNEL染色を用いた粘膜固有層単核球のアポトーシスの検討にて、

TNF receptor 1及びTNF receptor 2の有無による差異を認めなかったことより、このアポトーシスの障害に関してはTNF receptor を介さない他の要因が関与している可能性が示唆された。また粘膜障害の機序については、この持続的な炎症細胞浸潤によって産生の亢進したTNFのシグナルをTNFR-1が伝達することによって、NF- $\kappa$ Bを活性化し大腸粘膜の障害を増強するものと考えられた。近年クローン病に対して使用されるようになった抗TNF- $\alpha$ モノクローナル抗体は、その優れた有用性の一方で、TNFの作用をブロックすることによる重症感染症などが問題となっている。TNBS腸炎の主要な病因と考えられる粘膜固有層単核球のアポトーシスの障害に関しては、TNF receptorを介さない他の要因の関与が示唆されることより、クローン病に対するより有用で副作用の少ない治療法の開発のためにも、その病因についての更なる検討が必要であると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 中井実は、TNF receptor knockoutマウスを用いTNBS腸炎におけるTNF receptor 1及び2の役割について解明した。これらの知見は、炎症性腸疾患における病態を解明し今後の治療を開発する上で重要であり、消化器病学の発展に少なからず寄与するものと認める。

---

#### 【主論文公表誌】

The Role of the Tumor Necrosis Factor Receptor in 2,4,6-Trinitrobenzene Sulphonic Acid (TNBS)-induced Colitis in Mice

Digestive Diseases and Sciences 50, 1669-1676 (2005).