



Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本大腸肛門病学会雑誌 (1995.01) 48巻1号:11～24.

閉塞性大腸炎の実験モデル作成と潰瘍形成過程の検討

北守 茂

原 著 II

閉塞性大腸炎の実験モデル作成と潰瘍形成過程の検討

旭川医科大学内科学第3講座（主任：並木正義教授）

北 守 茂

独自に考案した閉塞器具（OC maker）を用いて、ラットの大腸に不完全閉塞を作成し、また一定期間の後にその閉塞を解除できる閉塞性大腸炎の実験モデルを確立した。閉塞作成後は経時的に口側腸管が拡張し、それに伴って潰瘍性病変が出現、進展した。閉塞後3日目までには、肉眼的にも明らかに潰瘍と認められる病変が出現し、その潰瘍底にはしばしば偽膜の付着を認めた。病理組織学的には虚血性大腸炎の急性期と同様の所見が得られた。閉塞後の口側腸管の拡張度と潰瘍性病変の総面積との間には強い正の相関関係が得られた。腸管血流は閉塞直後より減少し始めて5日目まで漸減し、閉塞解除後1週間では有意の回復を示した。腸管血流と腸管の拡張度および潰瘍性病変の総面積とは強い負の相関関係が得られた。大腸粘膜の細胞増殖能は、閉塞後1日目から5日目までを通じて著明に亢進しており、腸管血流との間には負の相関関係が得られた。本実験モデルは、腸管の閉塞と虚血性病変発生の関連性を直接証明することができ、かつ簡便であることから、閉塞性大腸炎の病態生理解明に有用であると考えらる。

索引用語：閉塞性大腸炎、虚血性大腸炎、腸管拡張、腸管血流、細胞増殖能

はじめに

大腸癌などによる内腔の閉塞あるいは腸管内容物の通過障害がある場合、その口側の大腸粘膜に潰瘍性病変を形成することがある^{1,2)}。近年、大腸診断学の進歩とあいまって同様の所見を呈する症例が閉塞性大腸炎として報告されてきた³⁻⁵⁾。

その成因に関しては、閉塞により誘発された口側腸管の拡張と内圧上昇により腸管壁局所に虚血が生じた結果、潰瘍性病変が発生するもので、基本的には虚血性大腸炎と同様のものと推定されている⁶⁾。しかし、拡張した腸管の全てに潰瘍性変化が認められるとは限らず⁷⁾、閉塞性大腸炎の発生機序には未だ不明な点も多い。また、検索した限りにおいて、従来報告されてきた実験モデルで腸管の閉塞と虚血性病変の関連性を直接証明したものは見当たらない。

著者は、独自に考案した閉塞器具（obstructive colitis maker, 以下 OC maker と略）を用いて、ラットの大腸に不完全閉塞を作成し、その口側腸管の拡張と潰瘍発生について、血管処理を施すことなく経時的に観察することのできる実験モデルを作成しえたので報告する。実験1では本実験モデルの有用性を実証するために比較対照群を設定して実験的閉塞性大腸炎の経時的变化を検討し、実験2においてはその結果を基に本実験系の病態生理学的変化を解明することを目的として、閉塞後の腸管における形態学的変化と血流・細胞動態との関連性および閉塞解除後の変化について検討を加えた。

I. 実験1：閉塞性大腸炎の実験モデルの作成と病理組織学的検討

閉塞性大腸炎の実験モデルの作成のために比較

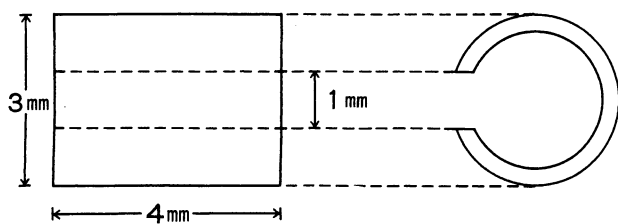


Fig. 1 OC maker : plastic cylinder of 4 mm in length and 3 mm in diameter with a longitudinal slit of 1 mm in width.

対照実験を行い、潰瘍性病変（びらんを含む）の経時的变化について検討した。

1. 対象と方法

対象は10週齢、体重250～300 gのWistar系雄性ラット75匹を用いた。エーテル麻酔下で下腹部を正中切開し、大腸下部にOC makerを挿入することにより不完全閉塞を作成した。OC maker (Fig. 1) は直径3 mm、長さ4 mmの合成樹脂製の円筒で、縦に入った1 mm幅のスリットを利用して下部大腸を内部に挿入する。その結果、同部位で糞便の通過が妨げられることになり、腸管局所の不完全閉塞が完成する。marginal vesselsおよびvasa rectiはこのスリットにより保護され、血管を損傷することはない。実験群としては以下の3群に分け、各群ともあらかじめ術後1日目から5日目までそれぞれ5匹ずつのサブグループを設定して計25匹を観察した。なおこの間は各群とも抗生物質の投与は行わなかった。

①コントロール群：Sham operationのみを施し、術前後において自由に摂食させた群。

②閉塞群：OC makerを装着し、術前後において自由に摂食させた群。

③絶食群：OC makerを装着し、術前24時間よりすべて絶食とした群。

予備実験の結果、OC maker装着によって糞便通過が十分に妨げられることが確かめられている。またできるだけ自然な腸管内容の閉塞を期すために、sham operationのコントロール群と閉塞群（OC maker群）では、術前後においてもまったく制限を加えることなく自由に摂食させることにした。絶食群は摂食による腸管拡張を与えずに、OC makerの機械的影響の有無を検討するために設定した。術後は1日目から5日目まで

各群であらかじめ設定したサブグループ5匹ずつを屠殺し、閉塞部を含めて10 cm（閉塞部の肛門側へ1 cm、口側へ9 cm）の単位で大腸を摘出し、以下の検討を行った。

①内容物をも含めた摘出腸管総重量（G）

②閉塞部より口側9 cmまで1 cmごとの腸管周径の総和（ ΣC ）

③実体顕微鏡による大腸粘膜病変の観察

④画像解析装置による潰瘍性病変面積の総和の算出（ ΣS ）

⑤病理組織学的検討

閉塞後は、腸管内容物（大腸内においては硬便）が口側腸管内に充満・貯留する。摂食状態が保たれていれば、閉塞部位の口側大腸内には漸次内容物の貯留が増すことになる。その指標として、一定の張力（150 g）のもとで、一定の長さに摘出した腸管の総重量Gを用いた。画像解析に関しては、実体顕微鏡下にびらんを含めた潰瘍性病変を確認した後にトレースし、KONTRON社（オーストリア）画像解析システムMOP AMO 3を用いて各腸管ごとに潰瘍性病変面積の総和（ ΣS ）を求めた。①から④までの観察が終了した後に、標本をホルマリン固定し、著明に拡張した腸管の潰瘍性病変形成部位より2本、その口側の肉眼的に潰瘍性変化の認められない部分より2本を切り出してヘマトキシリン・エオジン染色により病理標本を作成した。得られた数値は $M \pm SD$ で表示し、病理学的変化については軽度（+）から高度（+++）まで3段階で評価・判定した。統計学的処理は、Mann-Whitney検定により2群間の差の検定を行い、単回帰式により相関係数を求め、重回帰式により多変量解析を行った。コンピューターはApple社製Macintosh Centris660、統計プログラムはStatView 4.0を用いた。

2. 結果

閉塞群では、4日目群でOC makerの自然脱落を1例、5日目群で腸管穿孔による死亡を1例に認めた。絶食群では、衰弱によると考えられる死亡を2日目群で2例、4日目群で1例、5日目群に2例認めた。

1) 体重変化

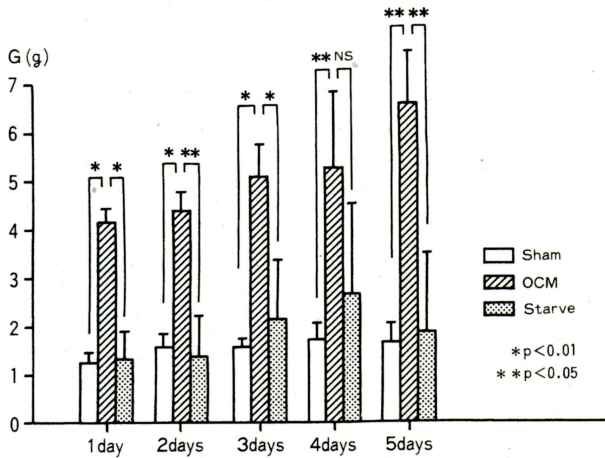


Fig. 2 Sequential changes in weight of the resected colon including the contents (G)(sham : control, OCM : obstruction with feeding, starve : obstruction without feeding).
n = 5 ; except OCM 4 days (n = 4), OCM 5 days (n = 4), starve 2 days (n = 3), starve 4 days (n = 4), starve 5 days (n = 3).



Fig. 4 Macroscopic finding of the resected colons 1 day after obstructive procedure.

術後の摂食状況と、手術侵襲のラットに及ぼす影響を推定するために、術前と屠殺直前の体重変化を計測した。Sham operation では術後 4 日目群の -27.5 ± 7.5 g まで徐々に体重が減少したが、5 日目群では -10.0 ± 5.0 g と回復する傾向が認められた。閉塞群の摂食状況には特に差が認めら

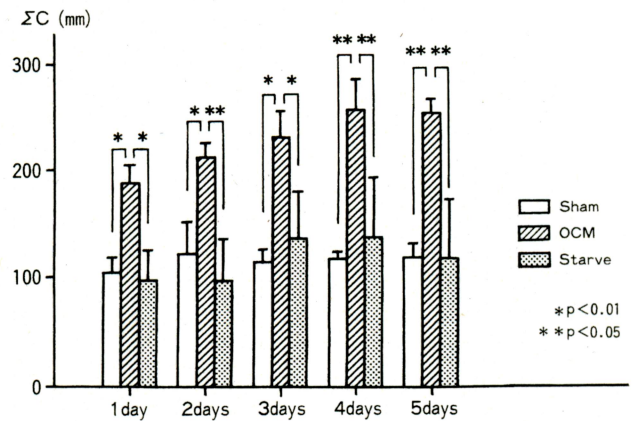


Fig. 3 Sequential changes in sum of perimeter of every 1 cm-section in the 9 cm-long oral portion (ΣC). (sham : control, OCM : obstruction with feeding, starve : obstruction without feeding).
n = 5 ; except OCM 4 days (n = 4), OCM 5 days (n = 4), starve 2 days (n = 3), starve 4 days (n = 4), starve 5 days (n = 3).

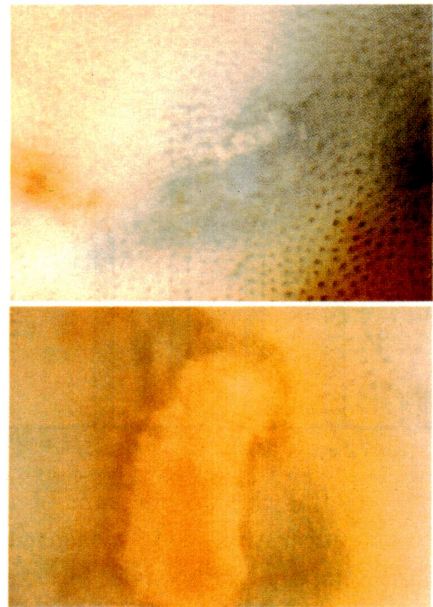


Fig. 5 Pseudomembrane on the ulcer floor observed by dissecting microscopy. (above ; 3 days after obstruction, below ; 5 days after obstruction).

れなかったが、5 日目群の体重減少が -61.67 ± 10.3 g と、コントロール群に比べて有意に大きかった ($P < 0.01$)。また、閉塞群では固形便の排泄はなく、少量の泥状便の排泄がみられた。

Table 1 Histopathological findings in experimentally induced obstructive colitis in rats.

treatment	macroscopic findings ulcer(area)	microscopic findings ulcer	submucosal edema	inflammatory cell infiltration	degeneration of proper muscle	pseudo- membrane	serosal change
obstruction with feeding							
1 day (n = 5)	+	UI- I	++~+++	-~+	-	-	+
2 days (n = 5)	+	UI- II	++	+~++	-~+	-~+	++
3 days (n = 5)	++	UI- II~III	++	++	+	+	++
4 days (n = 4)	+++	UI-IV	++	+++	++	+	+++
5 days (n = 4)	+++	UI-IV	+	+++	+++	+	+++
obstruction without feeding							
1 day (n = 5)	-	-	-~+	-	-	-	+
2 days (n = 3)	-	-	-~+	-	-	-	+
3 days (n = 5)	-	-	+	-~+	-	-	+
4 days (n = 4)	-	-	+	-~+	-~+	-	++
5 days (n = 3)	-	-	+	-	-~+	-	++

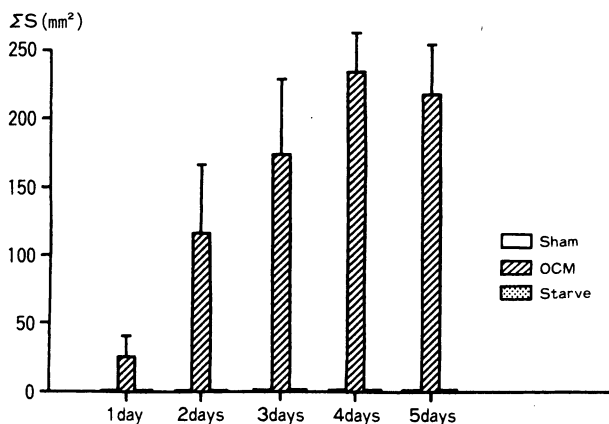


Fig. 6 Sequential changes in sum of area of every ulcerative lesion measured by an imaging analysis system (ΣS). (sham : control, OCM : obstruction with feeding, starve : obstruction without feeding)
 n = 5 ; except OCM 4 days (n = 4), OCM 5 days (n = 4), starve 2 days (n = 3), starve 4 days (n = 4), days (n = 3).

2) 摘出腸管重量 G (Fig. 2)

コントロール群では、1日目群の 1.23 ± 0.18 g から5日目群の 1.64 ± 0.34 g まで有意の変化は認められなかった。それに対して閉塞群では、1日目群でも 4.14 ± 0.35 g と、コントロール群に比較

して有意の増加を示し、以後も5日目群の 6.56 ± 1.21 g まで経時的に増加する傾向にあった。絶食群では特に一定の傾向は認められなかった。

3) 腸管径の総和 ΣC (Fig. 3)

閉塞後の腸管の拡張度を総合的に検討するために、閉塞部位より口側9 cmまでの腸管周径を1 cm 間隔で9ヵ所計測し、その総和を算出した。コントロール群では経時変化は認められなかったが、閉塞群では各時期ともにコントロール群に比較して有意に高値で、1日目群の 188.6 ± 15.9 mm から5日目群の 250.8 ± 12.3 mm まで経時的な増加がみられた。なお、絶食群では有意の変化はなかった。

4) 実体顕微鏡による大腸粘膜病変の観察

コントロール群では、粘膜表面に多数の陰窩の開口部が認められ、全体が繊細な網目状に観察された。この所見は各時期を通じて一定したものであった。一方、閉塞群では、経過とともに種々の程度に粘膜表面構造が破壊され、潰瘍性病変が形成された。閉塞後1日目群においても全例で著明に拡張した腸管に粘膜表面模様の乱れと軽度のびらん性変化が認められた (Fig. 4)。局所的な強い圧迫による変形はあるものの、明らかな潰瘍形成は認められなかった。しかし、粘膜の浮腫性変化は中等度以上で、透見される血管の拡張・充



Fig. 7 Microscopic findings of dilated colonic wall 1 day after obstruction. Marked submucosal edema and inflammatory cells infiltration are seen. H. E. $\times 40$.

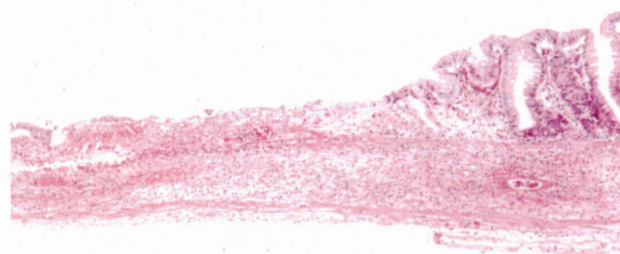


Fig. 8 Experimentally induced ulcer 3 days after obstruction. H. E. $\times 40$.

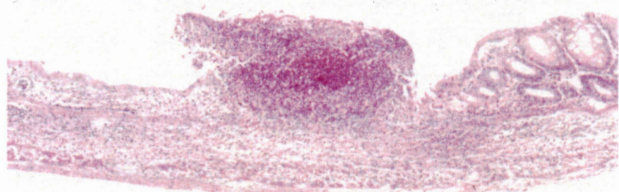


Fig. 9 Microscopic findings of pseudomembrane on the ulcer floor. H. E. $\times 40$.

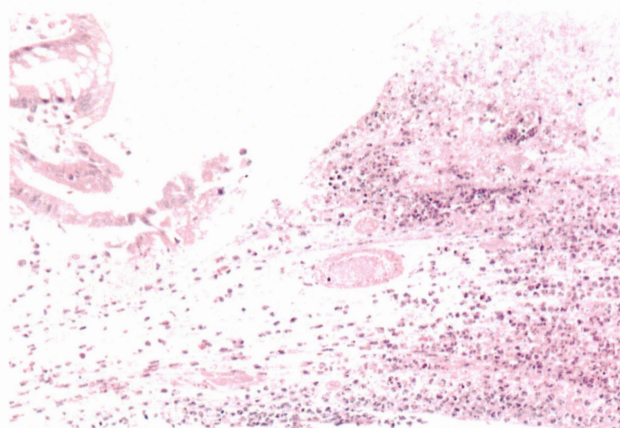


Fig. 10 Organizing fibrin thrombus in the small blood vessel of the submucosa. H. E. $\times 100$.

血がみられた。2日目以降の群になると、肉眼的にも明らかな粘膜の欠損像（潰瘍）の出現が散見されるようになり、経過とともにその程度・広がりが増した。潰瘍の形態は不整形で、縦走化などの一定した傾向はなく、閉塞部位の口側0.5～5 cmの糞便塊による局所的な圧迫が強く加わる部位に出現していた。発生部位に関しては、腸管膜付着側との関連性は特に認められなかった。また、全例において、種々の程度に偽膜の付着を潰瘍底に確認することができた（Fig. 5）。閉塞後2日目群では潰瘍底にわずかに付着する綿のような存在にすぎないが、経過とともに徐々に発育してその密度・大きさを増し、4日目群ではチーズ塊のような形態を示す偽膜へと成長した。コントロールおよび絶食群ではこのような変化は認められなかった。なお5日目では閉塞群の4例中3例が穿

孔性潰瘍を伴っていた。

なお、絶食群総数25例中7例で、糞便ではなくガスの充満による腸管の拡張が認められたが、いずれにも潰瘍性病変の形成はなかった。

5) 画像解析装置による潰瘍性病変の総和の算出 ΣS (Fig. 6)

びらんを含めた潰瘍性病変の総和（ ΣS ）は、1日目群では $26.16 \pm 16.79 \text{ mm}^2$ と軽度で、しかもびらん性変化のみであった。2日目以降の群では徐々にその程度・広がりが増加し、4日目群では $234.05 \pm 31.34 \text{ mm}^2$ と最高値を示した。コントロール群および絶食群には潰瘍性変化は認められなかった。

6) 病理組織学的検討 (Table 1)

閉塞群の1日目群では、閉塞部の口側0.5～5 cmを中心に、粘膜ならびに粘膜下層の著明な浮腫

と軽度の炎症性細胞浸潤（好中球主体）が出現した（Fig. 7）. 一部には ghost-like appearance や粘膜固有層の部分的脱落も認められたが、コントロール群・絶食群においてはこのような変化はみられなかった. 漿膜側には軽度の発赤・浮腫性変化が認められたが、その程度は絶食群とほぼ同様であった. 閉塞群の2日目群ではこれらの変化がより明らかとなり、UI-IIの病変が出現するにいたった. 部分的には炎症細胞浸潤が粘膜筋板を破壊し、粘膜固有層ならびに粘膜下層の毛細血管の拡張・うっ血・出血が出現した. 腸管壁は全体として著明に肥厚し、炎症の強い部分の漿膜側には腸間膜の癒着が認められた. 3日目以降の群では、固有筋層の分離・断裂・変性が出現した. さらに、腸管壁全層に及ぶ著明な好中球・好酸球を主体とした炎症細胞浸潤と粘膜固有層の脱落が進行した（Fig. 8）. 4日目群の4例中1例に、粘膜下層の炎症細胞浸潤の中に、赤血球を貪食した組織球（担鉄細胞）が認められた. 潰瘍底には炎症細胞・フィブリン・壊死物質よりなる偽膜の形成・突出をみたが、これらは実体顕微鏡で確認された所見に一致していた（Fig. 9）. この時期には、粘膜下層の血管の壁肥厚が出現し、4日目群と5日目群でそれぞれ1例ずつには血栓形成が認められた（Fig. 10）. 5日目群には穿孔性の潰瘍が出現したが、腹膜や腸間膜の強い癒着により漿膜側で被覆されていた.

これらの所見は虚血性大腸炎の病理組織像に極めて類似したものである. そこで、本モデルの潰瘍性病変の発生と腸管虚血の関係を明らかにする目的で、実験2を設定した.

II. 実験2：実験的閉塞性大腸炎に関する病態生理学的検討

本実験モデルにおける大腸壁血流量と腸管拡張および潰瘍性病変発生との関連性を経時的に検討した. また閉塞解除後の潰瘍性病変の回復過程における変化を分析するために、経過中の大腸粘膜の細胞増殖能についても併せて検討した.

1. 対象と方法

10週齢、250～300 g の Wistar 系雄性ラット25匹を用い、実験1と同様の手技で閉塞性大腸炎を

作成した. 実験群は各群5匹とし、正常コントロール群、閉塞作成後1, 3, 5日目までの群と（閉塞群）、5日目に閉塞を解除した後1週間目に屠殺する群を設定し（閉塞解除群）、摘出腸管総重量（G）、腸管周径の総和（ ΣC ）を実験1と同様に計測した. 屠殺直前に大腸壁血流量（BF）を測定し、同時にBrdU（bromodeoxyuridine）標識法による大腸粘膜の細胞動態を検討し、正常コントロール群と比較検討した.

閉塞解除には、閉塞作成後5日目にエーテル麻酔下に再開腹し、直腸に装着したOC maker をスリットを介して取り外した.

腸管血流は水素ガスクリアランス法（バイオメディカルサイエンス社製電解式組織血流計RBF-2）により測定した. エーテル麻酔下37℃保温のもとに開腹し、ステンレス電極を閉塞部の1 cm口側の腸管（腸管膜付着部の反対側）に漿膜側より2ヵ所刺入し、電解電流10 μ A、電解時間50秒で水素ガスを発生させた. 解析には電解式組織血流計用データ解析装置BDA-1を使用した. 測定後直ちに屠殺し、20分後に同様にして腸管血流を測定し、死後拡散値とした. 実測値から死後拡散値を差し引いた値を腸管壁血流量として求め、異なる2ヵ所の血流値の平均を用いた.

BrdU 標識は、屠殺の2時間前に200 mg/kg の BrdU を腹腔内投与した. 100% エタノールで固定し、通常のパラフィンで包埋した後標本を作成した. 脱パラフィン処理を施し、37℃ 4 N HCl に30分間接触させた後、0.3% H_2O_2 /methanol 20分間処理で内因性 peroxidase の阻止を行った. 一次抗体はマウス抗 BrdU モノクローナル抗体（Becton Dickinson Co.）、二次抗体はABC法によった. 0.06% DAB で発色し、核1000個あたりの標識された割合を Labeling index (LI) として算出した. 核の計測にあたっては、病理標本上で大腸の腺窩がほとんどすべての長さにわたって観察されている潰瘍性病変近傍の部分を選び、腺窩ごとに1000個以上の核を計測した. 染色対照として、小腸粘膜を用いた.

実験2では以上の処置を必要とするために、潰瘍性病変面積の総和（ ΣS ）の計測は100% エタノール固定後に行った.

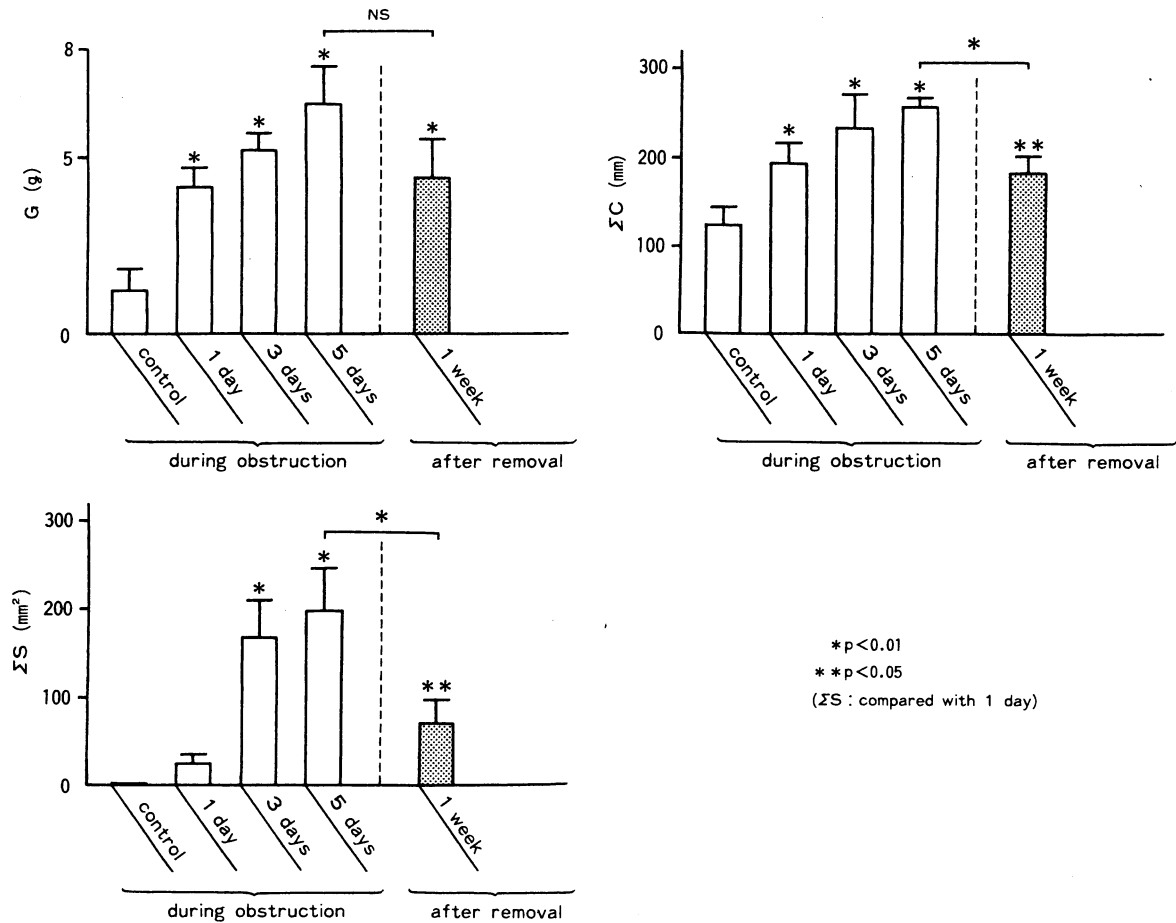


Fig. 11 Sequential changes in weight of the resected colon (G), sum of intestinal perimeter (Σ C) and sum of ulcerative area (Σ S) during obstruction and after removal of a 5 day-obstruction. n = 5.

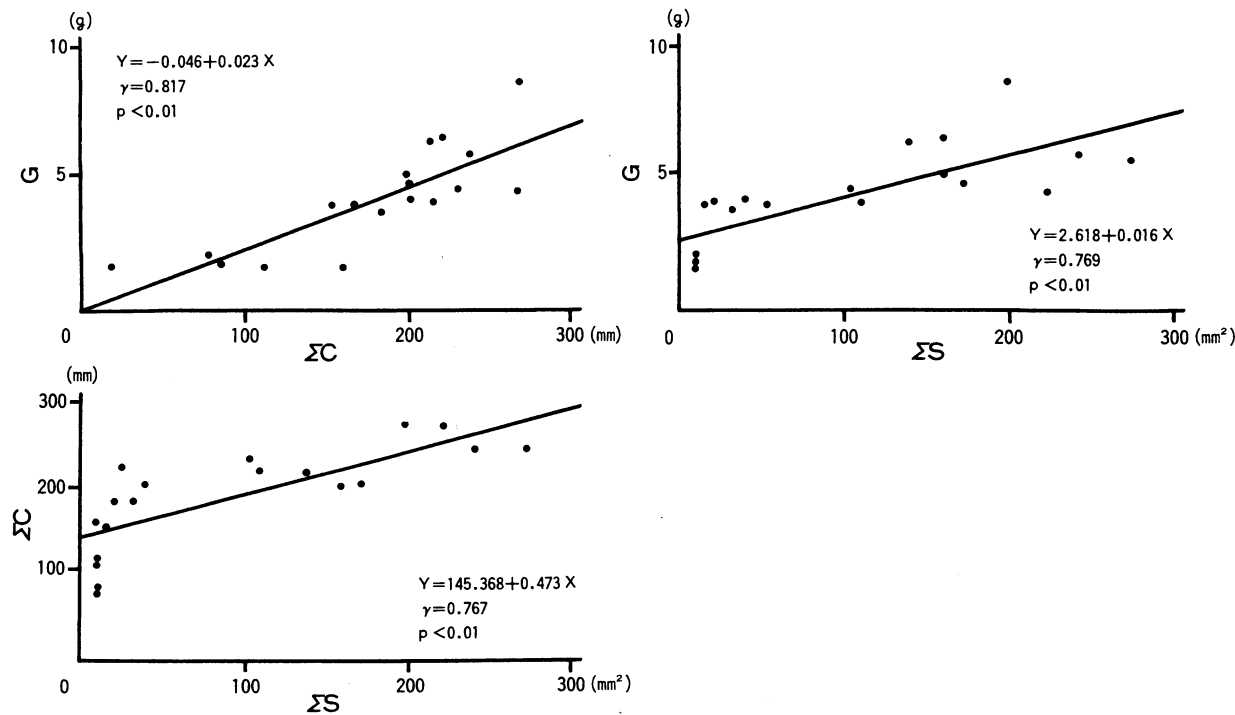


Fig. 12 Correlation between colon weight (G) and intestinal perimeter (Σ C), G and ulcerative area (Σ S), Σ C and Σ S during obstruction period. n = 20.

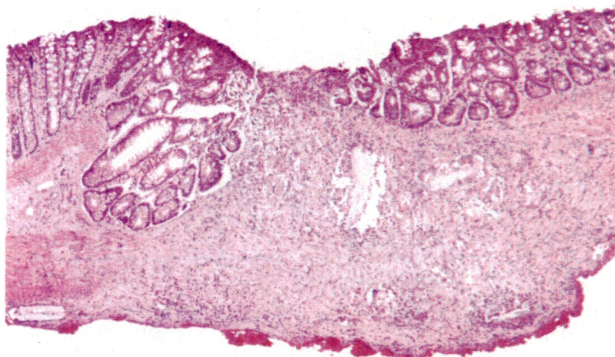
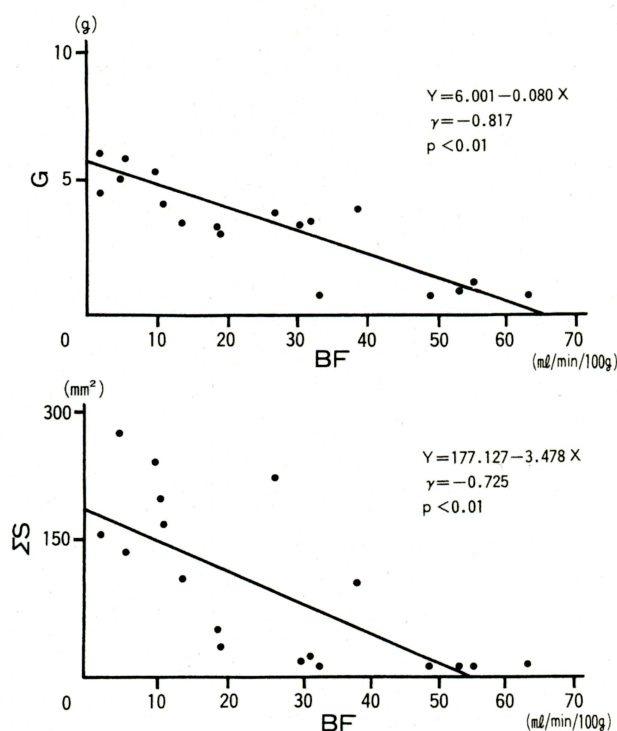


Fig. 13 Healing ulcer 1 week after removal of a 5 day-obstruction. H. E. $\times 40$.



2. 結果

実験2においては、死亡例は認められなかった。

1) 腸管および潰瘍性病変の閉塞による変化

実験モデルの再現性は良好で、閉塞期には実験1と同様に摘出腸管重量 (G), 腸管周径 (ΣC), 潰瘍性病変面積の総和 (ΣS) は経過とともにコントロール群に比較して有意の増加を示した。 ($p < 0.01$, Fig. 11). この間, G と ΣC ($r = 0.817$, $p < 0.01$), G と ΣS ($r = 0.770$,

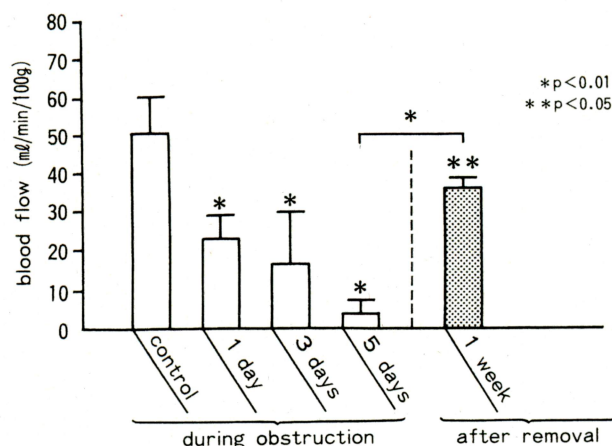


Fig. 14 Sequential changes in blood flow of the colon wall during obstruction and after removal of a 5 day-obstruction. $n = 5$.

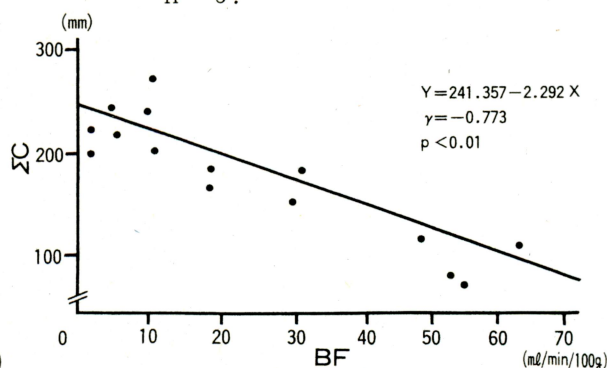


Fig. 15 Correlation between colonic blood flow (BF) and colon weight (G), intestinal perimeter (ΣC), ulcerative area (ΣS) during obstruction period. $n = 20$.

$p < 0.01$), ΣC と ΣS ($r = 0.7.67$, $p < 0.01$) との間には、それぞれ強い正の相関が得られた (Fig. 12).

閉塞解除後1週間目には、 ΣC , ΣS ともに5日目と比較して有意の減少をきたした ($p < 0.01$). Gも減少傾向を示したが、統計学的な有意差は得られなかった。その理由としては、5日目までに貯留停滞した腸管内容物の排泄の程度には個体差が大きかったためと考えられる (Fig. 11). 閉塞解除後の肉眼的所見としては、閉塞部口側1cmの部位を中心として潰瘍性病変がなお散



Fig. 16 Representative staining of BrdU in control rat. Immunohistochemical staining with anti-BrdU MAb; weak counterstain with H. E. $\times 400$.

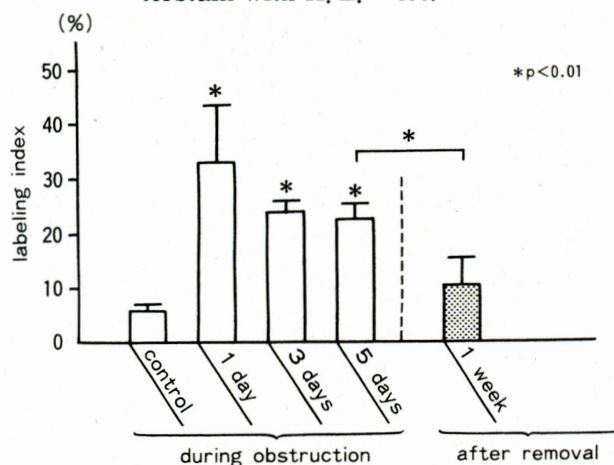


Fig. 18 Sequential changes in labeling index during obstruction and 1 week after removal of a 5 day-obstruction. $n = 5$.

在しており、全層性の腸管壁肥厚も中等度に認められた。しかしながら潰瘍性病変の総面積は $73.58 \pm 31.01 \text{ mm}^2$ と 5 日目の $201.10 \pm 51.61 \text{ mm}^2$ に比較して有意の回復を示しており、実体顕微鏡による観察でも粘膜表面の網目状構造が再生しているのが確認された。病理組織学的には、硬便による圧迫の強い部分では潰瘍はなお U1-IVにとどまっており、軽度から中等度の浮腫性変化と炎症細胞浸潤が認められた。しかし潰瘍縁には再生上皮が出現し (Fig. 13), 周囲粘膜のびらん性変化はほとんど認められなかった。

2) 腸管血流量の変化

ラット大腸の腸管血流量 (BF) はコントロール群では $50.5 \pm 10.2 \text{ ml/min/100 g}$ であった。閉

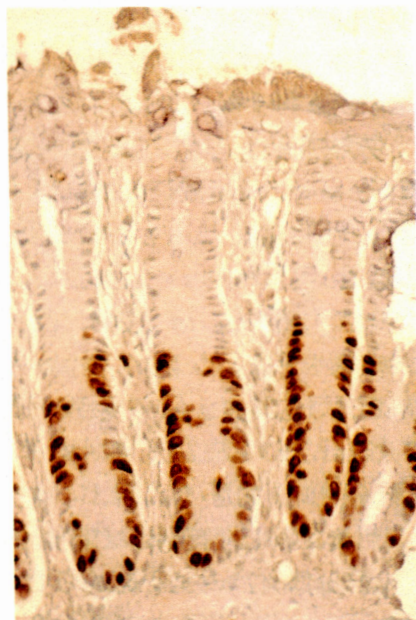


Fig. 17 Representative staining of BrdU 1 day after obstruction. Immunohistochemical staining with anti-BrdU MAb; weak counterstain with H. E. $\times 400$.

塞後は 1 日目群で $23.8 \pm 5.8 \text{ ml/min/100 g}$ と約半減し ($p < 0.01$), 最高値を示す例でも $30.9 \text{ ml/min/100 g}$ であった。3 日目群では $17.0 \pm 13.4 \text{ ml/min/100 g}$ とさらに血流障害が悪化し、5 日目群では $4.7 \pm 3.3 \text{ ml/min/100 g}$ と経時的に血流の減少をきたした (Fig. 14)。この閉塞期においては、BF は G ($r = -0.817$, $p < 0.01$), ΣC ($r = -0.773$, $p < 0.01$), および ΣS ($r = -0.725$, $p < 0.01$) との間にそれぞれ強い負の相関関係を示した (Fig. 15)。閉塞解除後 1 週間目には $37.3 \pm 3.5 \text{ ml/min/100 g}$ と 5 日目に比較して有意に改善が認められ ($p < 0.01$), コントロール群との間には有意の差が認められなくなった (Fig. 14)。

3) 大腸粘膜の細胞増殖能の変化

各群ともに、BrdU に対する大腸粘膜の染色状態は染色対照とした小腸粘膜同様に良好であった。コントロール群では腺窩の下 1/2 における増殖帯において標識された核が散在性に認められた (Fig. 16)。これに対して、閉塞群では増殖帯における標識された核の割合が著明に増加し、腺

窩の基底部および腺窩の上1/2の部分にも標識細胞が認められるようになった (Fig. 17). 閉塞解除後には程度が低くなったが、なおコントロール群よりも標識態度は亢進していた。コントロール群における labeling index (LI) は $5.8 \pm 1.5\%$ であった。閉塞期には、1日目群で $33.1 \pm 11.2\%$ と著明な増加を示した ($p < 0.01$)。3日目群、5日目群ではそれぞれ $22.7 \pm 2.2\%$ 、 $22.3 \pm 3.5\%$ と程度はやや落ちたが、なおコントロール群とは有意の増加を示していた ($p < 0.01$)。閉塞期の各群間では統計学的な有意差は認められなかった。閉塞解除後1週間目には、LIは $10.1 \pm 4.8\%$ と閉塞5日目に比較して有意に減少しており、コントロール群とは有意の差が認められなかった (Fig. 18). LIはG、 ΣC および ΣS とは有意の相関は認められなかったが、BFとの間には負の相関関係が認められた。 ($r = -0.551$, $p < 0.025$).

4) 潰瘍性病変形成に関する多変量解析

本実験モデルにおける各パラメーター (摘出腸管重量G、腸管周径の総和 ΣC 、腸管血流量BF、細胞増殖能LI) と潰瘍性病変形成との関連性を検討する目的で、潰瘍性病変の総面積 ΣS を目的変数とし、G、 ΣC 、BF、LIを説明変数として重回帰分析を行った。それぞれの標準化偏回帰係数は、0.1547、0.6033、 -0.2890 、 -0.2835 であり、この重回帰予測式の全体としての寄与率は75.49%であった。ちなみに、この回帰式における ΣC 単独の寄与率は69.48%であった。したがって、閉塞性大腸炎においては ΣC で表現される腸管拡張度が最も重要な潰瘍発生要因であることが示された。

III. 考 案

1. 実験的閉塞性大腸炎の背景

閉塞性大腸炎の成因に関しては興味深いものがあるが、現在なお不明な点が多い。その病態解明を目的に実験モデルがいくつか報告されている。Glutzer ら⁸⁾は雑種成犬の大腸に不完全閉塞を作成し、口側腸管に潰瘍性病変を発生させることに成功した。その成因としては細菌学的要因は少なく、副交感神経刺激剤により潰瘍が高率に出現す

ることから、腸管壁の虚血が原因であろうと推測した。Watanabe⁹⁾はラットの大腸をアルミニウム性のリングで閉塞する実験大腸炎モデルを考案したが、辺縁血管を結紮した群にのみ潰瘍発生をみたと報告している。

腸管内圧と血流の関係については、実験的に内圧が30mmHgを超えると毛細血管の血流障害が出現し始め、90mmHgでは大部分の血流がなくなるとの報告がある¹⁰⁾。しかし、実際に内圧を測定すると、腸管閉塞時にはせいぜい25mmHgまでにしか達していないという諸家の報告^{11, 12)}があり、現在では腸管壁内における血流分布の変化により、虚血状態が誘発されると考えられている⁷⁾。一方、虚血性大腸炎という概念は、Boley ら¹³⁾、Marston ら¹⁴⁾により報告されたもので、主幹動脈に明らかな閉塞がなく、腹痛と下痢を主訴として発症する大腸の潰瘍性病変である。現在までに多くの症例が蓄積されているが、自然治癒する例も多い。虚血性大腸炎の実験モデルは数多く報告されており¹⁵⁻¹⁸⁾、その病理学的特徴は臨床例の急性期像と同様に、UI-IIの浅い潰瘍で、粘膜の出血、腺管上皮の変性、粘膜下層の出血・うっ血・浮腫・好中球浸潤・小血管の類線維素性変性などが認められ、発症後ある期間を経ると担鉄細胞をみることなどである⁶⁾。その成因としては、器質的血管病変の他に non-occlusive mesenteric ischemia が注目されており、血管攣縮、循環不全、腸管閉塞などが誘発因子となると考えられている¹⁹⁾。佐竹はラットを用いた実験において、大腸辺縁動脈の結紮のみでは20%に潰瘍発生をみたが、これに直腸閉塞処置を加えると80%に上昇したと報告している¹⁷⁾。

2. 本実験系における潰瘍性病変形成過程の検討

臨床的・実験的背景を総合すると、閉塞性大腸炎においては、腸管閉塞による内圧上昇が non-occlusive ischemia を誘発することによって潰瘍性病変を発生させると推定できる。著者はこの仮説のもとに、血管処置を施すことなく、大腸の閉塞と潰瘍性病変発生との関連性を検討する実験モデルを設定した。OC maker は腸管膜の血管を障害することなく大腸の閉塞を作成するために

独自に考案したものである。ラットの大腸は、正常の状態でも糞便のある部分の周径（約20mm）と糞便のない部分の周径（約10mm）では約2倍の差がある。OC maker の直径3mmという大きさは、正常の糞便のないラットの大腸を丁度被い尽くす程度で、しかも糞便（ラットの場合は硬便）の通過は完全に妨げることとなり、不完全閉塞の作成には非常に適したモデルである。1例あたりの手術時間が平均1分以内ときわめて短く、装着してから一定期間の後に解除することも可能であるという利点を有する。またできる限り自然な形で大腸の急性閉塞を発生させる目的で、閉塞直前まで自由に摂食させた。これにより術後摂食開始と同時に大腸の閉塞・拡張が進行する。腸管は閉塞後1日目から固形の腸管内容物の貯留により著明な拡張を示し、それに伴って血流量は半減した。この時期の病理組織学的な観察では、腸管の拡張部分は局所的な強い圧迫のために粘膜固有層が変形しており、同部位を中心として炎症細胞浸潤や潰瘍性病変の形成が進んでいた。また絶食群においては、固形の糞便ではなくガスにより腸管の拡張をきたしていた例が認められたが、いずれも潰瘍性病変の形成には至らなかった。本実験系では腸管内圧の測定は困難であるが、固形便による局所的な強い圧迫に対応するものとして、内容物を含めた腸管の重量（G）を採用した。これは腸管拡張度（ ΣC ）、潰瘍性病変面積（ ΣS ）と正の相関を示し、腸管血流とは負の相関関係を示した。これらのパラメーターは、腸管拡張と血流の関係を検討する際に非常に有用である。また従来報告されてきた腸管拡張と血流に関するデータは、液体あるいは気体による内圧上昇と血流を検討する実験モデルであり^{7,10)}、これのみからは閉塞性大腸炎における腸管虚血を説明するのは困難であると思われる。本研究における実験結果からは、局所的な圧迫壊死の要素をも考慮する必要があることが確認された。Gはこの局所的圧迫壊死の間接的な指標となりうると考えられるが、経過とともに漸増し、それとともに腸管拡張や潰瘍発生は進展した。一方、腸管血流量は漸減し、病理学的所見としての虚血性病変に対応した変化であることが示された。多変量解析の結果では、潰瘍発生に寄与するパラメーターとして、腸管拡張

張度が非常に大きな役割を担っていることが示されたが、その拡張腸管の内容物が硬便であるなどの条件が満たされているという前提が必要であると考ええる。本実験系では、腸壁の血管に処置を加えておらず、大腸の閉塞がnon-occlusive ischemiaの原因になることが証明された。林ら²⁰⁾は、宿便によって発症したと思われる虚血性大腸炎の3症例について報告しているが、この中には23歳と36歳の女性例も含まれており、本実験モデルと同様の機序が働いていると推察される。

閉塞解除後には、回復期に低下していた腸管血流量が増加し、潰瘍辺縁には再生上皮が認められ、潰瘍性病変の開腹傾向がみられた。この時期における ΣS および ΣC と血流量の改善傾向は、Gのそれに比較して速やかであった。閉塞解除後1週間目の値としては、Gについては閉塞後3日目の値に匹敵する程度であるが、血流量はコントロール値と比較しても有意の差が認められないまでに回復した。したがって、Gの持続的増加が腸管虚血の維持に必要で、Gがわずかでも減少すれば腸管血流は大きく回復するものと推定される。臨床例においても虚血性病変中に治癒期の変化が混在している場合も多く認められ^{6,21)}、実際の血流の変動幅は大きいと考えられる。

本実験モデルにおいては、閉塞早期より粘膜固有層の変性やghost-like appearanceが認められ、2日目には偽膜の出現をみているが、岩下ら⁶⁾は、閉塞性大腸炎の潰瘍に偽膜を伴うことを指摘しており、この点からも閉塞性大腸炎の臨床例に極めて類似しているといえる。偽膜に関しては、初期にはびらんやUL-IIの潰瘍底部に小さな綿状の付着物として出現し、それが徐々に大きさや密度を増やしてチーズ塊様の偽膜へと成長した。このように偽膜の形成過程が観察されたことは、非常に興味深い。Glutzerら⁸⁾は、自らの閉塞性大腸炎の実験モデルの中で、潰瘍発生の前後において細菌学的には量的・質的な変化が認められなかったもので、細菌の関与はないであろうと結論している。しかし、潰瘍性病変に付随して二次的に細菌感染が起り、それに伴って偽膜が形成される可能性が残されており、今後の検討課題であると考ええる。

3. 閉塞時の大腸粘膜の増殖能に関する検討

本実験系における大腸粘膜の細胞増殖能は、閉塞解除後1週間目では、腸管壁血流量の増加と潰瘍の回復傾向がみられるにもかかわらず、コントロール群と有意の差が認められなかった。一方、閉塞期には、1日目にはコントロール群の約6倍という著明な亢進状態を示し、以後も程度はやや低いながらもコントロール群と比較して有意に高い亢進状態を保持するという逆説的な結果が得られた。Earlan²²⁾は、閉塞に反応して大腸壁の hypertrophy が起こることを報告し、Morris²³⁾はハプテンを用いた実験的大腸炎の検討の中で、慢性炎症の持続とともに粘膜固有層が著明に肥厚すると述べている。これらは本実験系と同様に、大腸の閉塞や炎症が細胞増殖能を亢進させる可能性を示唆する所見と考えられる。一方、大腸粘膜においては、摂食による腸管内容物の通過が細胞増殖能を亢進させ、絶食後の再摂食によりそれが増強されるという特徴がある^{24, 25)}。つまり、大腸粘膜は食物通過という本来の生理機能を通じて、細胞動態の調節をしていると考えられるが、過度の刺激あるいは細胞障害性の刺激に対してはそれらに反応（順化・適応）する方向として細胞増殖能が亢進すると考えることができる。本実験系においては、腸管の閉塞・拡張という刺激に反応して、細胞増殖能の著明な亢進が誘発されているが、これは局所における栄養（血液）必要量の増加を伴うものと推測される。しかし、同時に腸管血流の低下を伴うために、客観的に把握される以上の著明な虚血状態に陥っており、閉塞後1日目より粘膜固有層の変性、ghost-like appearance などの虚血性変化が出現してくるものと考えられる。

IV. ま と め

独自に考案した閉塞器具（OC maker）を用いて、ラットの閉塞性大腸炎の実験モデルを作成した。その結果、

- 1) 大腸の不完全閉塞作成後、腸管径は経時的に拡張し、腸管血流は経過とともに低下した。
- 2) 閉塞後1日目よりびらん性変化が認められた。2日目からは粘膜筋板が破壊されて潰瘍の出

現が認められ、4日目にはU1-IVにまで進行した。

3) 潰瘍性病変の総面積は経時的に増加して4日目で最大値に達し、腸管の拡張度とは正の、また腸管血流との間には負の相関が得られた。

4) 拡張した腸管粘膜の細胞増殖能は閉塞後1日目より著明な亢進を示した。

5) 大腸粘膜の細胞増殖能は腸管血流の間には負の相関関係を示した。

6) 多変量解析の結果、潰瘍発生に最も強く関与する因子は腸管拡張度であった。

7) 閉塞腸管における潰瘍性病変の発生には、持続的な腸管拡張とそれにとまう腸管虚血が直接関与していることが証明された。

V. 結 論

本実験モデルは、簡便であり、大腸の不完全閉塞作成後の腸管拡張、潰瘍性病変の発生、腸管血流量の変化を総合的に検討できるので、閉塞性大腸炎の病態解明に非常に有用である。

稿を終えるにあたり、終始懇切なるご指導・ご校閲を賜りました旭川医科大学内科学第三講座並木正義教授に深謝いたします。また、統計学的解析に関してご指導いただきました旭川医科大学衛生学講座山村晃太郎教授、実験のご指導・ご協力をいただきました旭川医科大学内科学第三講座の諸兄に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) Kremen AJ : Acute colonic obstruction secondary to carcinoma of the sigmoid colon with gangrene of an extensive segment of the large bowel. *Surgery* 18 : 335-338, 1945
- 2) Hurwitz A, Khafif RA : Acute necrotizing colitis proximal to obstructing neoplasms of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 3 : 749-752, 1960
- 3) Glotzer DJ, Roth SI, Weich CE : Colonic ulceration proximal to obstructing carcinoma. *Surgery* 56 : 950-956, 1964
- 4) 石原明德, 山際裕史, 浜崎 豊 : 大腸癌の口側に合併する潰瘍性病変。胃と腸 10 : 385-389, 1975
- 5) 坂口敏夫, 小西文雄, 腰塚史郎ほか : 閉塞性大腸炎症例の臨床的検討。日本大腸肛門病会誌

- 42 : 1153-1157, 1989
- 6) 岩下明德, 黒岩重和, 遠城寺宗知ほか: 虚血性大腸炎と閉塞性大腸炎の病理. 日本大腸肛門病会誌 34 : 599-616, 1981
 - 7) 佐藤重樹, 信田卓男: 腸管拡張と血流. 医のあゆみ 118 : 286-291, 1981
 - 8) Glotzer DJ, Pihl BG : Experimental obstructive colitis. Arch Surg 92 : 1-8, 1966
 - 9) Watanabe Y : Quantitative evaluation of experimental ischemic colitis correlated with the degree of artificial bowel obstruction in rats. Gastroenterol Jpn 22 : 578-587, 1987
 - 10) Boley SJ, Agrawal GP, Warren AR, et al : Pathophysiologic effects of bowel distension on intestinal blood flow. Am J Surg 117 : 228-234, 1969
 - 11) Ohman U : Studies on small intestinal obstruction. I. Intestinal pressure in experimental low small bowel obstruction in the cat. Acta Chir Scand 141 : 413-419, 1975
 - 12) 落合治海: イレウスの病態生理に関する実験的研究—特に上腸間膜静脈血流量について—. お茶の水医誌 19 : 89-102, 1971
 - 13) Boley SJ, Schwartz S, Lash J : Reversible vascular occlusion of the colon. Surg Gynec Obstet 116 : 53-60, 1963
 - 14) Marston A, Phelis MT, Thomas ML : Ischemic colitis. Gut 7 : 1-15, 1978
 - 15) 加藤俊夫: 阻血性大腸炎の成因に関する実験的検討. 日本大腸肛門病会誌 36 : 194-205, 1983
 - 16) 堀江良秋: 阻血性腸病変に関する実験的研究. 日消病会誌 76 : 1942-1953, 1979
 - 17) 佐竹儀治: 虚血性大腸炎の成因に関する実験的研究. 日消病会誌 81 : 864-873, 1984
 - 18) 水島和雄, 岡村毅興志, 原田一道ほか: 消化管虚血性病変の成因に関する実験的研究. 胃と腸 14 : 627-636, 1979
 - 19) Marston A : Intestinal ischemia. Edward Arnold, London, 1977
 - 20) 林 繁和, 江間幸雄, 市川和男ほか: 宿便によって発症したと思われる虚血性大腸炎の3症例. 日消病会誌 78 : 1663-1667, 1981
 - 21) 堀江良秋, 三島義雄, 重松 宏ほか: 虚血性腸病変の治癒過程. 最新医 34 : 1832-1834, 1979
 - 22) Earlan RJ : Ganglion changes in experimental stenosis of the gut. Gut 12 : 393-398, 1971
 - 23) Butler RN, Lawson MJ, Goland JG, et al : Proliferative activity in the proximal and distal colon of the rat after fasting and refeeding. Immunol Cell Biol 66 : 193-198, 1988
 - 24) 前田壽哉: 大腸粘膜上皮の増殖と栄養—正常組織と癌組織の比較—. 日本大腸肛門病会誌 43 : 1124-1133, 1990

Study of Ulcerative Lesions in Experimentally-Induced Obstructive Colitis

S. Kitamori

Department of Internal Medicine III, Asahikawa Medical College, Asahikawa, Hokkaido

We have established a new rat model using an originally devised occlusion tool made from a plastic cylinder, in which we can easily give incomplete obstruction to the rat rectum without damaging the mesenterium, and also remove the obstruction after a certain period of time. The severity of colonic damage induced by incomplete obstruction of the rectum was increased with the progression of proximal intestinal distention. Even 1 day after the obstructive procedure, various degrees of epithelial exfoliation on the proximal mucosa of the obstruction site and both mucosal and submucosal edema was observed. Until 3 days after obstruction, the damage of the colonic wall progressively increased, and all animals developed macroscopically visible ulcers and inflammation frequently associated with the pseudomembrane on the ulcer floor. Following incomplete obstruction, the ulcerative lesion was aggravated as the oral side of the colon was dilated, and a marked positive correlation was found between the perimeter of the dilated colon and the total area of each ulcerative lesion. The intestinal wall blood flow started decrease just after the beginning of obstruction and continued to decrease until the 5th day. There was a marked negative correlation between the blood flow and the intestinal perimeter or the blood flow and the ulcer area. After removing the obstruction, the levels of the dilated intestinal perimeter and the ulcer area were significantly reduced, as compared with those in the group of rats given a 5-day-obstruction only. The blood flow significantly recovered 1 week after removal of the obstruction. Proliferative activity of mucosal cells in the obstructive colon was remarkably increased during the obstruction periods of 1 to 5 days. There was a significant negative correlation between the labeling index (cell proliferative activity) and the blood flow.

These results suggest that an increase in intracolonic pressure, as reflected in intestinal dilatation, causes ischemia in the colonic mucosa, thereby leading to the development and aggravation of ulcerative lesions.

(特別掲載)