

# AMCoR

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

分子消化器病 (2005.06) 2巻2号:151~155.

消化器疾患モデル動物  
胃疾患モデル動物  
胃潰瘍・胃炎モデルとこれを用いた研究

奥村利勝

# 消化器疾患モデル動物

## 胃疾患モデル動物：胃潰瘍・胃炎モデルとこれを用いた研究

奥村利勝

OKUMURA Toshikatsu

旭川医科大学医学部附属病院総合診療部

胃炎・胃潰瘍の実験モデルについて、これまで繁用されてきた急性胃粘膜傷害モデルや慢性胃潰瘍モデル、*H. pylori* 感染モデル、*in vitro* 胃粘膜損傷治療モデルについてこれまでの報告をまとめた。

### はじめに

胃潰瘍・胃炎の実験動物モデルはこれまで消化性潰瘍治療薬の開発に貢献してきた。また、これらのモデルを用いて胃粘膜傷害形成メカニズムや胃潰瘍治療メカニズムの解析がおこなわれてきた。*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) が胃粘膜に感染し種々の胃疾患に関与することが明らかにされ、スナネズミへの感染モデルがこの細菌の長期感染により胃潰瘍、胃炎、胃癌を引き起こすことも証明した。

本稿では、これまで確立された胃潰瘍・胃炎の動物モデルを概説する。

### *H. pylori* 感染モデル<sup>1)~5)</sup>

スナネズミに対して *H. pylori* の感染モデルを最初に報告したのは1991年 Yokota らであり、彼らは2ヵ月の観察のあいだに胃粘膜の軽度の炎症性細胞浸潤を報告した。1996年には Hirayama らが6ヵ月後には胃潰瘍や腸上皮化生が生じることを報告した。

その後、このモデルの長期観察により慢性活動性胃炎や胃癌が生じることも明らかにされ、ただ1回の *H. pylori* 菌の経口接種で胃への感染が持続し、ヒトに類似した変化が確認できることで、有用な *H. pylori* 感染モデルとして確立された。このモデルでは *H. pylori* 感染の胃粘膜への影響を明らかにすることとともに、胃粘膜の病理学的変化に対する除菌の影響も検討することが可能である。

### 急性胃粘膜病変モデル

#### 1) インドメタシン潰瘍<sup>6)~9)</sup>

非ステロイド抗炎症薬 (NSAIDs) により胃粘膜傷害が生じることは臨床的にも明らかである。この NSAIDs による胃粘膜傷害は実験動物でも再現できる。ラットに NSAIDs の1つであるインドメタシンを全身投与すると胃底腺領域の胃粘膜に出血を伴ったびらん (胃粘膜傷害) が生じる。インドメタシンのもつプロスタグランジン合成抑制作用の結果、胃粘膜防御に深くかかわるプロスタグランジンが低下すること

#### KEY WORDS

<i>H. pylori</i>	TRH
胃炎	拘束ストレス
胃潰瘍	酢酸潰瘍
NSAIDs	胃潰瘍モデル
エタノール	

が主要因と考えられる。またインドメタシンによる胃運動亢進が病変形成程度と相関することから、胃運動の過活動が大きな要因とも考えられている。インドメタシン自体は明らかな胃酸分泌亢進作用をもたないが、胃酸分泌抑制薬によっても病変の程度は軽減する。これはおそらく、攻撃因子としての酸分泌を相対的に抑制したためと考えられ、NSAIDs 潰瘍の予防として PPI などの強力な酸分泌抑制薬が臨床的にも有用であることを裏づけるものとする。

#### 2) エタノール潰瘍<sup>10)~12)</sup>

アルコールによる急性の胃粘膜傷害は臨床的にも知られている。このアルコール性胃粘膜傷害のモデルはラットの胃内に高濃度のエタノール (70% や 100%) を注入することにより1時間以内に形成される (図①)。エタノールが

直接的に胃粘膜を傷害する作用と、生体に吸収されたエタノールによる二次的な作用の両者が胃粘膜病変の形成に関与することが報告されている。たとえば、経口的にエタノールを負荷すると、吸収されたエタノールの全身作用で血管内皮から強力な血管収縮因子であるエンドセリン-1の遊離を増強させる。このエンドセリン-1は胃粘膜微小循環系の血管収縮を誘発し、胃粘膜虚血を生じさせる。このエタノールによる胃粘膜への間接作用がエタノールの接触する胃粘膜への直接作用に加わった作用が胃粘膜傷害の形成メカニズムと考えられる。このエタノール潰瘍は他のモデルと異なり胃酸分泌抑制薬によっても病変の形成程度は抑制されない特徴がある。したがって、この潰瘍モデルを抑制する薬剤には酸分泌といった攻撃因子ではなく粘膜防御因子（胃粘膜血流や胃粘膜内プロスタグランジン）を増強する作用を有する可能性がある。すなわち、胃粘膜防御作用を有する抗潰瘍作用を有するか否かをスクリーニングするのに適した急性胃粘膜病変モデルである。

### 3) 拘束ストレス潰瘍<sup>13)~17)</sup>

絶食ラットを長時間拘束（水侵を負荷する場合もある）すると、急性の出血を伴った胃粘膜病変が形成される。病変の形成は胃粘膜の襞壁に沿って形成される。その病変形成には胃酸分泌などの攻撃因子よりもむしろ胃粘膜血流などの防御因子が低下することが主要因と考えられている。しかし、胃酸分泌抑制薬によっても病変の程度は軽減する。これはおそらく、攻撃因子としての酸分泌を相対的に抑制したためと考えられる。ストレスによって胃潰瘍が生じることは、古くは汎適応症候群を提唱した Selye によっても示され

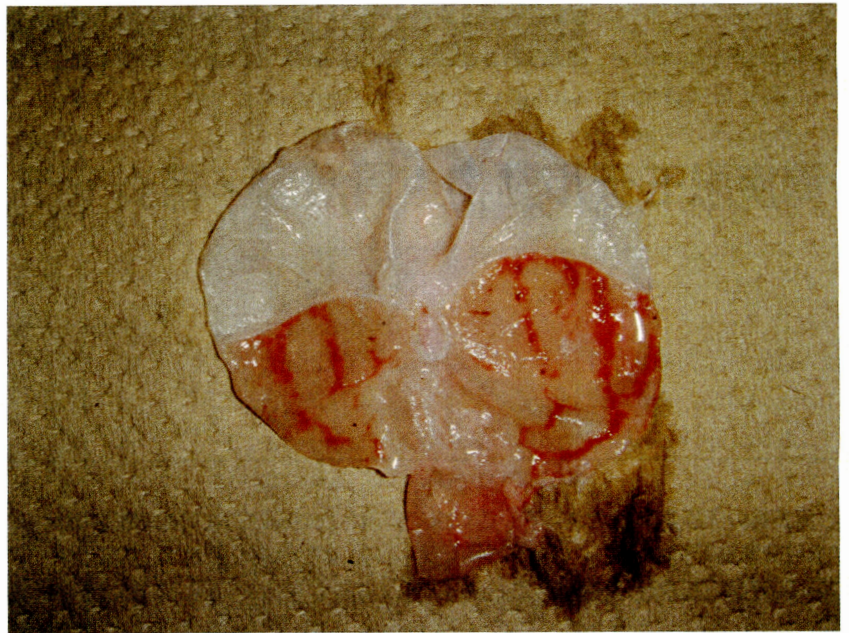


図1 エタノール潰瘍

絶食ラットに経口的に胃管チューブを挿入し70%エタノール1mlを注入し、60分後に胃を取り出した。胃を大弯に沿って切開した、胃粘膜面の肉眼像。胃底腺領域に線状の出血を伴ったびらんが数条認められる。

ている通りであり、ストレスに対する生体反応を研究するモデルでもある。

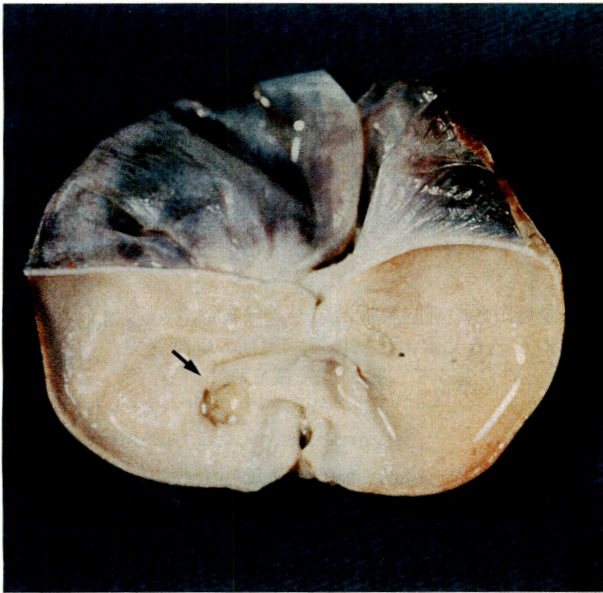
### 4) TRH潰瘍<sup>18)~21)</sup>

Thyrotropin-releasing hormone (TRH) は中枢神経系に作用して胃酸分泌亢進、胃運動亢進を引き起こす。絶食ラットの脳室内に TRH を投与すると2~4時間後に胃粘膜に出血を伴った急性胃粘膜病変が生じる。胃粘膜病変の肉眼的形態は水侵拘束ストレス潰瘍に酷似する。すなわち、胃底腺部胃粘膜の襞壁に沿った線状の出血を伴うびらんである。この病変形成は胃酸分泌抑制薬である H<sub>2</sub>ブロッカーや PPI によって形成が阻止されることから、TRH の酸分泌亢進作用が胃粘膜病変形成の主要因と考えられる。

TRH の作用部位は延髄迷走神経背側核と考えられている。同部位の神経細胞は TRH レセプターを発現しており、TRH は延髄迷走神経背側核の神

経細胞を興奮させ迷走神経を介して胃粘膜病変を形成する。迷走神経依存性に病変が形成されるために、アトロピンや外科的迷走神経切断によっても病変の形成程度は抑制される。この病変形成抑制は中枢からの迷走神経を介する情報伝達をブロックするためであるが、同時に薬理的/外科的に迷走神経を遮断された結果、酸分泌が抑制されていることも要因である。

2-deoxy-D-glucose によっても急性胃粘膜傷害が生じるが、このメカニズムには脳内内因性 TRH が関与することが報告され、脳内 TRH は確かに潰瘍形成的に作用する。このモデルは中枢神経原性に胃粘膜病変を形成することにより、ストレス潰瘍を薬理学的手法で再現できるモデルとも考えられる。現在まで、脳脊髄液中に投与して数時間後に胃粘膜傷害を惹起する生理活性物質は TRH 以外報告がない。



図② 酢酸潰瘍

ラットをエーテル麻酔下に開腹し、マイクロシリンジで20%酢酸0.03 ml を胃底腺と幽門腺領域の境界を中心に胃粘膜下層に注入し閉腹。1週間後に胃を取り出し肉眼的に観察した。円形の潰瘍(矢印部)が認められる。

## 慢性胃潰瘍モデル

### 酢酸潰瘍<sup>22)~24)</sup>

いわゆるヒトでみられる消化性潰瘍は慢性の経過をたどり、病理学的には組織欠損が粘膜筋板を超える。さまざまな胃粘膜損傷モデルのなかでも、臨床でみられる胃潰瘍に類似した粘膜筋板を超え慢性に経過する胃潰瘍モデルは、酢酸潰瘍モデルのみと思われる(図②)。1969年にTakagi, Okabeらによって報告された。胃粘膜下層に酢酸を注入する方法と胃漿膜面に酢酸を局所的に接触させる方法があり、後者は十二指腸潰瘍に適用すると同部の潰瘍を形成することができる。このモデルは持続時間の長い潰瘍モデルであり、再燃、再発の実験にも使用可能なモデルである。しかし、いずれのモデルも潰瘍底部が肝臓組織と癒着する特徴がある。このモデルは潰瘍が形成される過程の解析というより、できあがった胃潰瘍の治癒過程を解析するのによりモデルである。また潰瘍再燃に関与する因子の解析にも適している。たとえ

ば、酢酸潰瘍を発生させたラットに、NSAIDのインドメタシンを連続投与すると、潰瘍の治癒が著明に遅延することが報告され、潰瘍治癒過程に胃粘膜のプロスタグランジンが重要な役割を果たすことが明らかにされている。

さらに、酢酸潰瘍モデルを用いて遺伝子治療の試みが報告されている。Jonesらは、組み換え型ヒト血管内皮増殖因子(rhVEGF<sub>165</sub>)または組み換え型ヒトアンギオポエチン(rhAng-1)のcDNAを組み込んだプラスミドを用いて胃潰瘍の治癒に対する影響を検討した。ラットに酢酸胃潰瘍を作製し、潰瘍発生日にVEGF<sub>165</sub>またはAng-1を組み込んだプラスミドを潰瘍辺縁部の粘膜下に注入し、治癒に対する効果を検討した。潰瘍発生7日目までは潰瘍の治癒に差がなかったが、14日目ではVEGF<sub>165</sub>またはAng-1プラスミド群において潰瘍の治癒は有意に促進していた。とくにVEGF<sub>165</sub>群では18例中6例に胃潰瘍の完全治癒を認めた。以上の成績は、血管新生をターゲットにした遺伝子治療が胃潰瘍治癒を促進させることを示唆している。

## In vitro 潰瘍モデル<sup>25)~27)</sup>

試験管内での胃潰瘍モデルがある。これは、ウサギ胃粘膜より調整した胃粘膜上皮細胞と間質系細胞の初代培養細胞や胃粘膜上皮細胞由来培養細胞株をシャーレのなかで培養し、ほぼコンフルエントになった状態で一定面積の欠損(胃潰瘍のモデル)を人工的に作成する。この欠損は時間経過とともに縮小し、最終的には完全に欠損部は修復される(図③)。これは胃潰瘍が徐々に縮小し、最終的に癒着していく過程と類似している。すなわち、胃潰瘍形成過程ではなく治癒過程の検討に適したモデルと考えられる。

この治癒過程には上皮細胞の増殖と遊走が関与する。Watanabeらは、ウサギ胃粘膜より調整した胃上皮細胞と間質系細胞を用いた系で、さまざまな増殖因子(PDGF, HGF, TGF)が実験的胃粘膜損傷治癒を促進させることを見出し報告している。酢酸潰瘍モデルではin vivoの潰瘍治癒過程を解析できるが、それはあくまでも上皮、間質、

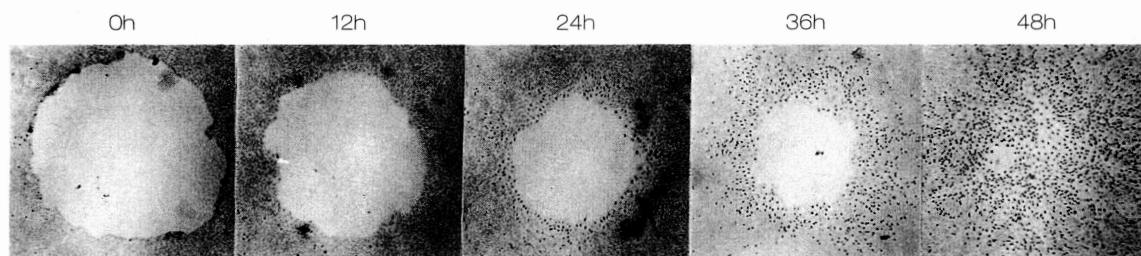


図3 In vitro 胃潰瘍修復モデル

胃粘膜上皮由来 RGM 1 細胞を培養し、コンフルエントの状態でも類円形の細胞欠損部位を人工的に作成した(0 h)。その後経時的に同部を観察したもの。同時に BrdU を取り込ませ BrdU 抗体で増殖期の細胞を免疫染色している。細胞欠損領域は時間とともに修復し 48 時間あとは完全に欠損部は修復されている。

肉芽組織の総合的作用の結果で、胃酸分泌など胃内部環境にも影響を受けるため、上皮細胞がどのように組織修復にかかわるのか分子レベルでの検討には、この *in vitro* の潰瘍治癒モデルが大きな役割を果たす。

## おわりに

胃粘膜傷害形成を予防する薬剤の開発や胃粘膜傷害形成のメカニズムを明らかにするためには、急性胃粘膜傷害モデル(拘束ストレス、エタノール、インドメタシン、TRHによる胃粘膜傷害)を、また胃潰瘍治癒過程のメカニズムや治癒に影響を及ぼす薬剤の開発には慢性胃潰瘍モデル(酢酸潰瘍)を使用することが合目的であろう。加えて、*H. pylori* の関与にはスナネズミの感染モデルが適している。この稿をおえるにあたり、わが国の研究者の貢献なしには胃炎・胃潰瘍の実験動物モデルの開発はなかったと確信した。

\*\*\*

## 文献

- 1) Yokota K, Kurebayashi Y, Takayama Y *et al* : Colonization of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of Mongolian gerbils. *Microbiol Immunol* **35** : 475-480, 1991
- 2) Hirayama F, Takagi S, Kusuha H *et al* : Induction of gastric ulcer and intestinal metaplasia in mongolian gerbils infected with *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol* **31** : 755-757, 1996
- 3) Honda S, Fujioka T, Tokieda M *et al* : Development of *Helicobacter pylori*-induced gastric carcinoma in Mongolian gerbils. *Cancer Res* **58** : 4255-4259, 1998
- 4) Watanabe T, Tada M, Nagai H *et al* : *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology* **115** : 642-648, 1998
- 5) Ikeno T, Ota H, Sugiyama A *et al* : *Helicobacter pylori*-induced chronic active gastritis, intestinal metaplasia, and gastric ulcer in Mongolian gerbils. *Am J Pathol* **154** : 951-960, 1999
- 6) Okabe S, Ohtsu K, Takeuchi K *et al* : Effect of L-glutamine on indomethacin-induced gastric lesions in the rat. *Jpn J Pharmacol* **24** : 169-171, 1974
- 7) Satoh H, Inada I, Hirata T *et al* : Indomethacin produces gastric antral ulcers in the refeed rat. *Gastroenterology* **81** : 719-725, 1981
- 8) Ueki S, Takeuchi K, Okabe S : Gastric motility is an important factor in the pathogenesis of indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats. *Dig Dis Sci* **33** : 209-216, 1988
- 9) Okumura T, Taylor IL, Fukagawa K *et al* : Apolipoprotein A-IV acts centrally in the brain to reduce the severity of gastric ulceration in the rat. *Brain Res* **673** : 153-156, 1995
- 10) Masuda E, Kawano S, Nagano K *et al* : Role of endogenous endothelin in pathogenesis of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Am J Physiol* **265** (3 Pt 1) : G474-481, 1993
- 11) Watanabe Y, Okumura T, Onodera S *et al* : Intracisternal injection of basic fibroblast growth factor reduces the severity of gastric mucosal lesions evoked by ethanol in rats. *Jpn J Physiol* **47** : 231-233, 1997
- 12) Okumura T, Ohning G, Tache Y *et al* : Gastric mucosal damage induced by 2-deoxy-D-glucose involves medullary TRH in the rat. *Regul Pept* **55** : 311-319, 1995
- 13) Brodie DA, Hanson H : A study of the factors involved in the production of gastric ulcers by the restraint technique. *Gastroenterology* **38** : 353-360, 1960
- 14) Takagi K, Okabe S : The effects of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. *Jpn J Pharmacol* **18** : 9-18, 1968
- 15) Takagi K, Okabe S : An experimental gastric ulcer of the rat produced

- with anticholinergic drugs under stress. *Eur J Pharmacol* **5** : 263-271, 1969
- 16) Uehara A, Okumura T, Kitamori S *et al* : Interleukin-1 : a cytokine that has potent gastric antisecretory and antiulcer actions via the central nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* **173** : 585-590, 1990
- 17) Okumura T, Uehara A, Kitamori S *et al* : Central basic fibroblast growth factor inhibits gastric ulcer formation in rats. *Biochem Biophys Res Commun* **177** : 809-813, 1991
- 18) Maeda-Hagiwara M, Watanabe H, Watanabe K : Enhancement by intracerebroventricular thyrotropin-releasing hormone of indomethacin-induced gastric lesions in the rat. *Br J Pharmacol* **80** : 735-739, 1983
- 19) Goto Y, Tache Y : Gastric erosions induced by intracisternal thyrotropin-releasing hormone (TRH) in rats. *Peptides* **6** : 153-156, 1985
- 20) Okumura T, Uehara A, Kitamori S *et al* : Prevention by interleukin-1 of intracisternally injected thyrotropin-releasing hormone (TRH)-induced gastric mucosal lesions in rats. *Neurosci Lett* **125** : 31-33, 1991
- 21) Okumura T, Uehara A, Watanabe Y *et al* : Site-specific formation of thyrotropin-releasing hormone-induced gastric ulcers through the vagal system. *Scand J Gastroenterol* **29** : 226-231, 1994
- 22) Takagi K, Okabe S, Saziki R : A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *Jpn J Pharmacol* **19** : 418-426, 1969
- 23) Jones MK, Kawanaka H, Baatar D *et al* : Genetherapy for gastric ulcers with single local injection of naked DNA encoding VEGF and angiopoietin-1. *Gastroenterology* **121** : 1040-1047, 2001
- 24) Wang JY, Yamasaki S, Takeuchi K *et al* : Delayed healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats by indomethacin. *Gastroenterology* **96** (2 Pt 1) : 393-402, 1989
- 25) Watanabe S, Hirose M, Wang XE *et al* : A new model to study repair of gastric mucosa using primary cultured rabbit gastric epithelial cells. *J Clin Gastroenterol* **21** (Suppl 1) : S40-S44, 1995
- 26) Watanabe S, Hirose M, Wang XE *et al* : Hepatocyte growth factor accelerates the wound repair of cultured gastric mucosal cells. *Biochem Biophys Res Commun* **199** : 1453-1460, 1994
- 27) Watanabe S, Wang XE, Hirose M *et al* : Platelet-derived growth factor accelerates gastric epithelial restoration in a rabbit cultured cell model. *Gastroenterology* **110** : 775-779, 1996