

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3640966号
(P3640966)

(45) 発行日 平成17年4月20日(2005.4.20)

(24) 登録日 平成17年1月28日(2005.1.28)

(51) Int.Cl.⁷

A 6 1 B 10/00

F I

A 6 1 B 10/00

D

A 6 1 B 10/00

H

請求項の数 7 (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願平8-500742
 (86) (22) 出願日 平成7年5月26日(1995.5.26)
 (65) 公表番号 特表平10-501149
 (43) 公表日 平成10年2月3日(1998.2.3)
 (86) 国際出願番号 PCT/SE1995/000602
 (87) 国際公開番号 W01995/032668
 (87) 国際公開日 平成7年12月7日(1995.12.7)
 審査請求日 平成14年2月5日(2002.2.5)
 (31) 優先権主張番号 9401883-5
 (32) 優先日 平成6年6月1日(1994.6.1)
 (33) 優先権主張国 スウェーデン(SE)

(73) 特許権者
 ヘルグレン、ロジャー
 スウェーデン国、エス-740 22・ペ
 ーリンイエ、ドラゴントルプスベークン・
 9
 (74) 代理人
 弁理士 川口 義雄
 (74) 代理人
 弁理士 中村 至
 (74) 代理人
 弁理士 船山 武
 (74) 代理人
 弁理士 伏見 直哉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 食物不耐性／アレルギーを確認する診断方法及び該方法実施時に用いる装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者の直腸から炎症マーカーを捕捉する装置であって、
 膨張可能部分であって、該部分の各々の側で開口する中心チャネルを囲繞する膨張可能部
 分と、
 装置を直腸内に適用した時に膨張可能部分の外壁が直腸の粘膜と直接接触するように膨張
 部分の膨張を制御することを可能にする更なるチャネルと、
 を含み、
 膨張可能部分の外側を規定する面はアレルギーおよび炎症マーカーの受容体を保持するこ
 とを特徴とする装置。

【請求項 2】

アレルギーが、動物及び植物タンパク質またはその部分加水分解アレルギーフラグメント
 の中から選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

受容体が、好中球由来、好酸球由来、肥満細胞／好塩基球由来の炎症マーカー、またはマ
 ーカーの中から選択された物質の受容体であることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載
 の装置。

【請求項 4】

受容体が、ミエロペルオキシダーゼ、好酸球塩基性タンパク質、ヒスタミン、サイトカイン、
 プロスタグランジン、または血漿タンパク質の受容体であることを特徴とする請求項

10

20

1または2に記載の装置。

【請求項5】

アレルゲンが、グルテン、牛タンパク質および大豆タンパク質からなる群から選択されることを特徴とする請求項2に記載の装置。

【請求項6】

炎症マーカーが、サイトカインおよび血漿タンパク質からなる群から選択されることを特徴とする請求項3に記載の装置。

【請求項7】

受容体が、IL-6、IL-8、PGE₂およびアルブミンからなる群から選択される物質の受容体であることを特徴とする請求項4に記載の装置。

10

【発明の詳細な説明】

本発明は、アレルギー、特に食物不耐性/アレルギーを診断する新規な方法に係わり、アレルゲンによる大腸粘膜の反応誘発(provocation)後に大腸において放出される炎症媒介因子(マーカー)の分析に基づく。本発明はまた、上記のような診断において大腸粘膜の反応誘発に用い得る新規な装置にも係わる。好ましい具体例によれば、上記装置は粘膜の反応誘発と同時に、放出された媒介因子(マーカー)の収集にも用い得る。

本発明との関連で「アレルゲン」という語は、食物不耐性/アレルギーの形態の不快と関係付けられる。即ち、この語はIgEによって媒介される不快と必ずしも関係付けられるものではない。

「大腸」という語は結腸及び直腸を意味する。

20

食物不耐性/アレルギーを診断する公知方法及び関連する問題点

食物不耐性/アレルギーが疑われる状態を診断する現行方法は限られた有用性しか有せず、及び/または時間が掛かる。グルテン不耐性の場合、該診断方法は小腸内での絨毛萎縮の確認、及び食事からグルテンを排除すると絨毛萎縮が回復(reverse)することの確認に基づく。前記診断方法のガイドラインは、グルテンに対する血清抗体の存在に見出される。絨毛萎縮以外の形態の食物不耐性/アレルギーに関する診断方法は甚だ不十分である。グルテンの経口摂取(ingestion)が小腸内で局所的炎症反応を助長することは生検試験から知られているが、その過程は詳細には解明されていない。以前の研究では、セリアック病(coeliac disease)患者の局所的炎症応答を、グルテンで反応誘発した小腸の連続灌流によって調べる試みが為された。その結果は、僅かだが重大な応答の発生を示している

30

(B. Lavö等, Gu

t 31, pp. 153-157, 1990; B.

Lavö等, Am. J. Med. 87, pp.

655-660, 1989; B. Lavö等, G

astroenterology 99, pp. 703

40

-707, 1990)。

しかし、小腸灌流の実施は技術的に要求されるものが多く困難であり、臨床診断には実際上不適当である。

セリアック病患者の直腸反応誘発を生検試験と組み合わせて実施することが以前に開示されている(Dobbins等, Gastroenterology 47, pp.471-479, 1964; Austin等, Gut 29, pp.200-205, 1988; Loft等, Gastroenterology 97, pp.29-37, 1989; 及びLoft等, Lancet 335, pp.1293-1295, 1990)。

50

潰瘍性大腸炎、直腸炎、クローン病、及び他の非特異的結腸疾患の患者の基礎的な (basal)、即ち反応誘発されていない時の炎症媒介因子放出についての研究も為されている (Y. Raab等, Am. J. Gastroenterology 87, pp. 1453 - 1459, 1992; Y. Raab等, Gut 34, pp. 1203 - 1206, 1993; 及び Y. Raab等, Digestions 55, pp. 44 - 49, 1994)。試料は結腸及び直腸の分節 (segmental) 灌流によって採取された。腸の結腸直腸部分内に適用されるカテーテルを用いる研究も可能となった (Krog等の国際特許出願公開第9108013号)。上記カテーテルは反応誘発機能を有するとされているが、この反応誘発の方法及び目的は明示されていない。

従って、特定の食物に対する食物不耐性 / アレルギーを簡単、迅速かつ明確に確認し得る試験システムが緊急に求められている。

10

【図面の簡単な説明】

第1図は本発明と組み合わせて用いる得る公知装置 (カテーテル) を示す説明図である (Krog等の上掲国際特許出願公開)。

第2a図及び第2b図は第1図に示した公知装置 (カテーテル) の別の具体例を示す、装置を腸内で適所に保持するべく企図された部分の断面図も含む説明図である (Krog等の上掲国際特許出願公開)。

第3図はアレルギーでの反応誘発、及び / または放出されたマーカーの収集のために大腸内に適用された第1図の装置 (Krog等の上掲国際特許出願公開) を示す説明図である。

第4a図 ~ 第4c図は本発明の装置の一具体例を示す説明図である。

第5図は直腸内に適用された第4図の装置を示す説明図である。

20

異なる図に示した部分で機能上対応するものには同じ参照符号を付した。第4図及び第5図に示した装置は成人に適した大きさを有する。

発明の詳細な説明

本発明者は今や、アレルギーで直腸からの反応誘発 (provocation per rectum) を行なうと、当該アレルギーに対して感作された (sensitized) アレルギー患者、特に食物不耐性 / アレルギー患者ではその大腸粘膜から大腸内腔への炎症媒介因子の盛んでかつ特異的な局所的放出が惹起されることを発見した。健康な個体では対応する放出はみられない。

上記発見から本発明者は、アレルギー、特に食物アレルギーの疑いが有る患者の大腸 (結腸または直腸) 粘膜を疑わしいアレルギーの原因とされるアレルギーで経直腸 (rectally) 反応誘発した後に、前記患者の大腸 (結腸または直腸) から経直腸採取した試料を分析することを含む診断方法に到達した。本発明の最も広い構成において本発明の方法は、(a) 試料を大腸 (結腸及び / または直腸) の内腔から採取すること、(b) 試料中の炎症マーカーを測定すること、及び (c) 試料中のマーカー量の増大 (放出量増大) を、患者が当該アレルギーに対してアレルギーであることの指標と看做することを特徴とする。

30

健康個体の正常値との比較、または同じ方法で、ただし同時に行なわれる反応誘発は行なわずに試験した被検者の値との比較を行なう。

適当な炎症マーカーは、例えば好中球、好酸球、肥満細胞 / 好塩基球に由来する物質である。特定例には、サイトカイン (IL - 6 及び IL - 8 など) 及びミエロペルオキシダーゼ (MPO)、好酸球 (eosinophilic) 塩基性タンパク質 (ECP)、好酸球タンパク質 X (EPX)、ヒスタミン、カテプシン G、ラクトフェリン、リゾチーム及びエラスターゼ並びにプロスタグランジンが有る。血漿タンパク質 (例えばアルブミン) が内腔内に存在することもマーカーと看做することができ、なぜなら前記存在は内腔への漏出を示すからである。

40

試料採取は、大腸の直腸内にのみ、または結腸内にまで結直腸挿入する装置を用いて行なう。この装置は、放出されたマーカーを収集し、かつ場合によっては灌流を可能とし、及び / または直腸 / 結腸粘膜へのアレルギーの接触実現 (presentation) も可能にする手段 8 を含む。

設置する前記手段は、直腸 / 結腸の所与の部分 (例えば分節) の灌流及び反応誘発を可能にし、かつ内腔へと放出された炎症マーカーの前記直腸 / 結腸部分からの収集を可能にするように設計し得る。装置を直腸 / 結腸内で確実に適所に保持するべく、好ましくは上記

50

装置に、直腸 / 結腸の装置上方に位置する部分を装置下方に位置する部分と連絡する貫通チャンネル 2 を設ける。チャンネル 2 は周囲圧力と腸内圧力とを平衡させる (equalize) べく、及び腸の内容物の排出を可能にするべく機能する。収集、灌流及び接触実現手段 8 は装置上で、内括約筋の上方に位置するように配置する。

この点に関して適当な装置は、(上掲国際特許出願公開に) Krog 等によって開示された公知のカテーテルである (第 1 図 ~ 第 3 図)。この装置は、患者の結腸及び直腸の一部を灌流することによって分節の反応誘発と、放出された炎症マーカーの収集とを行なうのに良く適する。装置の重要な構成要素の一つにカテーテル管 1 が有り、この管 1 を貫通して、該管 1 の両端において開口するチャンネル 2 が伸長する。チャンネル 2 は腸内圧力と周囲圧力とを先に述べたように平衡させるべく機能する。カテーテルの、肛門外口を通過して伸長する部分を囲繞して 1 個以上の膨張可能デバイス 3 及び 3' が設置されており、これらのデバイス 3、3' は肛門においてカテーテルを固定する。カテーテルを囲繞する更に別の膨張可能デバイス 4a、4b、4c 及び 4d も該カテーテル沿いに設置されており、これらは直腸 / 結腸内で膨張すると直腸 / 結腸分節の範囲 (5) を規定する。カテーテルはまた、カテーテル壁内で、またはカテーテル壁沿いに伸長する複数のチャンネル 6 も含み、各チャンネル 6 の一方の開口部はカテーテルの、カテーテル使用時に身体外部に位置する部分に位置し、他方の開口部はカテーテル管 1 に沿って配置された膨張可能デバイス 4 のうちのいずれか 1 個の中に位置する。チャンネル 6 は膨張可能デバイス 4 の膨張を制御する手段として機能する。カテーテルは 1 個以上の分離チャンネル 7 も含み、各チャンネル 7 の一方の開口部はカテーテルの外部に位置し、他方の開口部は直腸 / 結腸分節の範囲を規定するべく企図された膨張可能デバイス同士の間位置する。チャンネル 7 は、灌流液を 2 個の膨張可能デバイス (第 1 図では 3' 及び 4a、第 2a 図ではそれぞれ 4a 及び 4b、並びに 4c 及び 4d) によって規定された腸分節 5 へ導入する / 前記腸分節 5 から導出することを可能にする。即ち、上記 2 個の膨張可能デバイスは、1 個以上のチャンネル開口部を伴い上記デバイス間に位置するカテーテル分節と共に、灌流、アレルゲンの付与 (allergen presentation)、及び放出された炎症マーカーの収集に用い得る手段 8 を構成する。大抵のアレルゲンの場合、灌流液をアレルゲンの投与と放出された炎症マーカーの収集との両方に用い得る。幾つかのアレルゲン、例えばペースト状で粘稠なグルテンの場合は、反応誘発は好ましくは装置を直腸 / 結腸から取り出して別個に行なう。後段を参照されたい。1 個の膨張可能デバイス (第 1 図及び第 2a 図の 4d) とこれに関連する制御チャンネルとは常にカテーテルの、直腸 / 結腸内へ最も深く挿入されるべき端部に設置されるべきである。

膨張可能デバイスは、ガスで膨らむ (inflatable) バルーンの形態を有し得る。

カテーテル壁内を伸長するチャンネル (6 及び 7) は、カテーテル壁の内側面または外側面に、または前記内側面内または外側面内に多少とも強固に固定されたホースまたは管の形態を有することも可能である。

第 2 図に示したように、直腸 / 結腸分節 5 を規定するべく企図された膨張可能デバイス (4a 及び 4b) を、カテーテル管 1 上に押し被せ得る管 9 上に配置すれば、直腸 / 結腸の灌流 / 反応誘発するべき部分に関してより高い可撓性を達成することができる。この場合、膨張可能デバイスまで伸長するチャンネル 6 及び膨張可能デバイス同士の間隔まで伸長するチャンネル 7 は好ましくは、中心チャンネルの外壁に沿って軸線方向に移動可能なホースまたは管の形態を有する。可能であれば、それらチャンネルは着脱可能な管内に多少とも強固に固定してもよい。

第 1 図及び第 2 図に示した装置は、直腸 / 結腸 (その全体または一部) をまずアレルゲン非含有緩衝液で灌流すること、直腸 / 結腸反応誘発用の水性アレルゲン組成物を適用すること、前記アレルゲン組成物を直腸 / 結腸から除去すること、及び直腸 / 結腸の反応誘発部分をアレルゲン非含有緩衝液で灌流すること (2 回目の灌流) を含む方法と共に用い得る。少なくとも最後の灌流過程の間に灌流液を回収し、これを炎症マーカーに関して分析する。得られた値を、健康な個体において得られた値と比較する。値の甚だしい増大が観察される場合、これを、当該個体が反応誘発アレルゲンに対して食物不耐性 / アレルギーであることの指標と看做す。本発明の方法のこの変形例では装置を、1 回目の灌流ステッ

10

20

30

40

50

ブと反応誘発ステップとの間で結腸から取り出し、2回目の灌流ステップの前に戻す。別の実施態様では、アレルゲンを灌流緩衝液中に存在させる。この場合、最初に行なう1回目の灌流ステップにおいて、腸の灌流すべき部分を清浄化する。このステップでは、灌流溶液はアレルゲンを含有しない。次に腸を、アレルゲン含有灌流溶液で灌流する。最後に、アレルゲン無含有灌流溶液で腸を還流する。この方法を実施する場合、異なる灌流ステップ間で灌流装置を腸から取り出す必要は無い。

上述の実施態様のいずれを実施する場合も、最初の灌流ステップから回収した灌流液を最後の灌流ステップから回収した灌流液において分析したのと同じマーカに関して分析し、得られた値同士を比較することにも有益である。後の灌流ステップの値の方が大きいことが、当該アレルゲンに対するアレルギーの指標となる。

10

灌流液/灌流溶液は通常、例えば生理学的に許容可能なPBSなどの緩衝液で処理する。灌流溶液中には、該溶液を直腸/結腸粘膜に対して親和性(friendly)とする塩化ナトリウム、塩化カリウム、マンニトール、グルコース、ポリエチレングリコールまたは他の公知物質も存在させ得る。

本発明に関連して、本発明者は直腸反応誘発及び試料採取過程を簡略化する新規な装置を開発した。第4図及び第5図に示したこの装置は、膨張可能部分/デバイス10を有し、この部分10は該部分10の各々の側で開口する第一のチャンネル2と、装置を直腸内に経直腸適用し(て膨張可能部分10を膨張させ)た時に該部分10の外壁が直腸粘膜と直接接触するように該部分10の膨張を制御することを可能にする第二のチャンネル11とを囲繞すること、及び膨張可能部分10の外側を規定する面は拡散性(diffusible)アレルゲンを保持し、かつ好ましい実施態様では炎症マーカーの受容体も任意に保持することを特徴とする。膨張可能デバイス10は、装置の取り扱いを容易にする挿入ロッド12上に配置し得る。膨張可能デバイスの両側で開口するチャンネル2は、周囲圧力と腸内圧力とを平衡させるべく機能する。膨張可能部分10は、第4a図には非膨張状態で、第4c図には膨張状態で示す。

20

拡散性アレルゲンは通常、膨張可能デバイス10の外側を規定する面の全体にか、または第4b図及び第4c図に示した前記面のサブエリア(13a)に吸着もしくは吸収により結合させる。膨張可能デバイス10に、炎症マーカーを捕捉することを特異的に企図する受容体も結合させる場合は、受容体とアレルゲンとを互いに同じサブエリア(13a及び13b)に存在させるか、または受容体をアレルゲンとは異なるサブエリア(13b)に存在させる。受容体はそのサブエリアに、直腸内で優勢な諸条件に耐え得る結合、通常は共有結合で結合させる。受容体の例には、捕捉/測定(アッセイ)すべきマーカーに特異的な抗体が有る。別の一実施態様によれば、上記外側規定面は1種の炎症マーカーに対する受容体のみを保持する。この場合、拡散性アレルゲンは用いない。

30

本発明の装置の膨張可能デバイスの構成材料は、第1図及び第2図の膨張可能デバイスの構成材料と同様のものであり得る(Krog等の上掲国際特許出願公開参照)。即ち、膨張可能デバイス10は、例えばラテックスゴムから成る、ガスで膨らむバルーンの形態を有し得る。バルーン様の膨張可能デバイスを膨張させ、また該デバイスからガスを抜く(empty)のには弾性ゴム球14を用い得る。

本発明の装置は肛門から容易に、膨張可能デバイスが内括約筋を通り越すように挿入できる。実際的な理由から、本発明の装置は、直腸が右曲がりて結腸へと続く部位を越えて挿入するべきでない。非膨張状態に有る時の膨張可能デバイスの直径は、好ましくは肛門の直径より小さく、即ち15~20mmを下回り、その際最適の最小直径値は5mmである。膨張可能デバイスの外側規定面は、膨張状態では直腸の粘膜に届き、このことは前記デバイスが直径20~70mmまで膨張し得ることを意味する。先に述べたように、膨張可能デバイスはガスで膨らむバルーンであり得る。本発明の装置はしばしば挿入ロッド12を含み、このロッドの前端に膨張可能デバイス10が配置される。ロッド12の長さは様々とし得るが、直腸の十分奥まで到達させるためには好ましくは最短で180mmとし、更に直腸内に挿入する必要のない50~100mmを付加する。挿入ロッド12は先に述べた圧力平衡化チャンネル2と、膨張可能デバイスの膨張を制御するべく企図された制御チャンネル11とを含む。ロッド12は、PVCプラスチックまたは何らかの同様な材料から成り得る。

40

50

本発明の装置は、膨張可能デバイスが膨張していない状態で患者の直腸内の適当な位置に挿入する。アレルギーが直腸粘膜に拡散し、当該個体がこのアレルギーに対してアレルギーであれば該アレルギーは炎症マーカーの放出を惹起し、炎症マーカー自体は内腔に拡散し、そこで受容体によって捕捉（結合）される。マーカーが放出され、かつ膨張可能デバイスに結合した後、前記デバイスを取り出して結合したマーカーに関し分析する。正常値より大きい値は、膨張可能デバイス上に存在させたアレルギーに対して患者がアレルギーであることを示す。上記正常値は、拡散性アレルギーを用いない点以外同様の装置で得られた値であり得る。正常値を、健康で正常な集団に該当する値とすることも可能である。

本発明実施の最良形態

本発明の装置の優先権主張日時点における本発明実施の最良形態を第4図に示す。本発明の診断方法が有効であることを最も良く証明した実施態様を、本明細書の「実験」の項に説明する。本発明者は、本発明の方法の最も実際的な実施態様では、反応誘発と、内腔へ放出されたマーカーの収集とを同一装置で行なうものであると考える。

実験

患者

試験には9人のセリアック病患者を用いた。診断基準は次のとおりとした。

a) 診断の際に小腸の生検において、ほぼ全体的な、または部分的な絨毛萎縮を示す。

b) グルテン無含有食事の後に組織病理学的回復が認められる。

生検は総て、1人の同じ病理学者が、一切の予備知識を持たずに試験した。

5人の患者を新たにセリアック病と診断し、通常の食事を摂らせた。残りの4人の患者にはグルテン無含有の食事を摂らせた。健康な有志、即ち胃腸病に罹患したことのない4人の男性及び1人の女性を対照個体として用いた。対照個体の平均年齢は37才であった（年齢範囲は28～52才）。

直腸灌流

灌流技術としては、Raab等が教示している技術（Am.J.Med.87,pp.1453-1459,1992）に、装置を直腸使用に適応させるための改変を幾つか加えて用いた。手短に言えば、内径10mm、外径16mm及び全長38cmの6チャンネルPVCホースを用いた。このホースにガスで膨らむバルーン3個を、長さ8cmの直腸灌流分節が得られるように固定した。6個のチャンネルは、バルーンを膨らませたり、分節を還流したり、ホース先端に色素マーカーを供給したりするのに用いた。各個体に対して同じ日のうちに2回の直腸灌流、即ち基礎的な灌流と、グルテン導入の3時間後の灌流とを行なった（後段参照）。被検者は17時間絶食させた後に試験し、4Lの経口緩下薬溶液（Laxabon[▲]_▼；TIKA,Lund,Sweden）を浣腸剤として用いた。前投薬として、25mgのMepiridene[▲]_▼及び2.5mgのDiazepam[▲]_▼を静脈内投与した。直腸及びS状結腸の内視鏡検査によって腸を調べ、上記ホースは内視鏡（Olympus胃鏡P2）に重ねて配置した。内視鏡を適所に配置し、これを用いてホースを直腸内へと導いた。ホースをその所望位置まで挿入したところで内視鏡を引き出し、バルーンを空気で満たした。用いる空気の体積は被検者の反応も見て決定した。患者が腸内に軽い圧力を感じたら、空気の供給を中断した。最後に、ホースの位置を蛍光透視検査装置で確認した。

灌流はシリンジポンプ（Model 355;Sage Instruments,Orion Research,Inc.,Cambridge,MA,U.S.A.）を用いて、3ml/分の流量で開始した。灌流緩衝液には、120mMのNaClと、5.4nMのKClと、2nMのNa₂HPO₄と、10mMのグルコースと、35mMのマニトールと、1g/Lのポリエチレングリコール（PEG;分子量4kD）とを含有させた。この緩衝溶液は7.20～7.25の最終pHと、290mosm/Lの浸透圧重量モル濃度とを有した。灌流ステップの間、緩衝溶液を37

の温度に維持した。液が澄明となった直後に試料採取を開始した。試料は20分間隔で80分間にわたり採取した。灌流液には、回収率測定マーカーとして¹⁴C標識PEG（分子量4kD;Amersham Lab.,Buckinghamshire,England）を、最終濃度2.3mCi/Lで添加した。灌流緩衝液1L当たり10mlのアプロチリン（aprotinin;10,000KIU/ml）を添加して、タンパク質分解活性を抑制した。結腸から灌流分節内への漏れを生起させないように、前記分節の近位にフェノールレッド溶液（生理的食塩溶液中に50mg/L）を一定流量（0.5ml/分）で注入した。

10

20

30

40

50

基礎的灌流過程終了後、バルーンを凋ませ、ホースを引き出し、被検者を化粧室へ行かせてからグルテン含有浣腸剤を投与した。グルテン導入の135～150分後、直腸をグルテン及び退廃物から清浄化するべく直腸 - S 状結腸 (sigmodeum) を500mlの灌流緩衝液で濯ぎ、その後灌流ホースを再挿入した。2回目の直腸灌流はグルテン反応誘発の180分後に開始し、180分間継続した。

グルテンでの反応誘発

小麦グルテン (6.2～6.5g; 非精製小麦グルテン; Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, U.S.A.) を25mlの灌流緩衝液中に懸濁させた。得られた懸濁液を、左向きに横たわらせた被検者の直腸内へ、60ml容シリンジを用いて注入した。その後、被検者をできるだけ動き回らせ、かつ被検者に浣腸剤を60分間保持するように指示した。

10

化学分析

試料を総て氷上に取り、各灌流液試料 (60ml) に1mlのアプロチリン (10,000KIU/ml) を添加してタンパク質分解活性を抑制した。すぐに分析しない試料は - 70 °C で冷凍した。試料 (1ml) の液体シンチレーション計数 (10分間) によって¹⁴Cを測定した。目視確認時に試料が赤色であった場合は、pH11にアルカリ性化後、520nmでの分光光度測定によってフェノールレッドを測定した。ECP、ヒスタミン、MPO及びアルブミンはラジオイムノアッセイ (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Sweden) によって二重に測定した。プロスタグランジンE₂はラジオイムノアッセイ (DuPont, Dreich, Germany) によって二重に測定し、IL - 6 及びIL - 8 はエンザイムイムノアッセイ (Medgenix, Brussels, Belgium) によって測定した。

20

統計分析

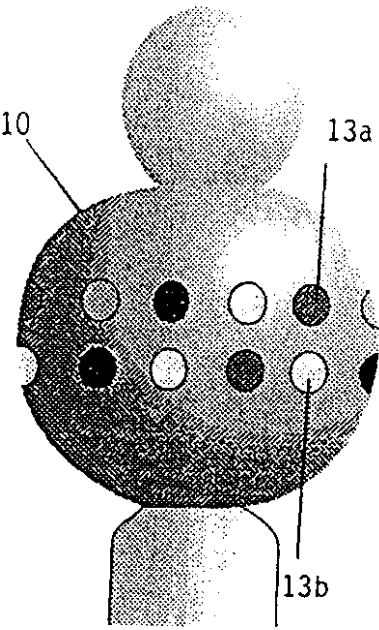
結果を、平均値 ± SD 及び95%信頼区間として求めた。統計的計算は、Mann - WhitneyのU検定で行なった。直腸から採取した液体のMPO、ECP、ヒスタミン、PGE₂、IL - 6 またはIL - 8 濃度がそれぞれの検出方法の検出レベルを下回る場合は、計算上の濃度を前記検出レベルより僅かに高く設定した (MPO = 7.9 µg/L; ECP = 1.9 µg/L; ヒスタミン = 0.9 µg/L; PGE₂ = 1 µg/L; IL - 6 = 1 µg/L; 及びIL - 8 = 1 µg/L)。

結果

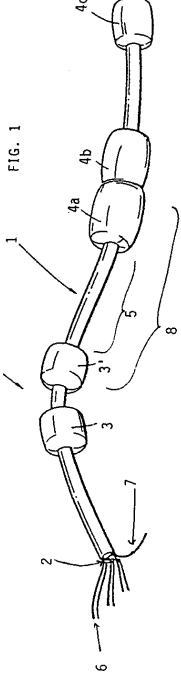
いずれの被検者も直腸灌流を受け容れることができ、かついずれの被検者もグルテン反応誘発に起因する症状を現わさなかった。反応誘発は炎症マーカーの放出量増大を惹起し、この増大は、好中球由来のマーカー (例えばミエロペルオキシダーゼ) の場合は25倍、(好酸球由来の) 好酸球塩基性タンパク質の場合、及びPGE₂の場合は平均で3倍、サイトカイン (例えばIL - 6 及びIL - 8) の場合は平均で7倍であり、ヒスタミン (肥満細胞 / 好塩基球由来のマーカー) の場合は数人の被検者で20倍にも達した。セリアック病に罹患した被検者 / 患者の場合、直腸内でのグルテンの反応誘発は、直腸内腔への血漿タンパク質 (アルブミン) の放出と定義される粘液漏出を4倍を越えて増加させた。

30

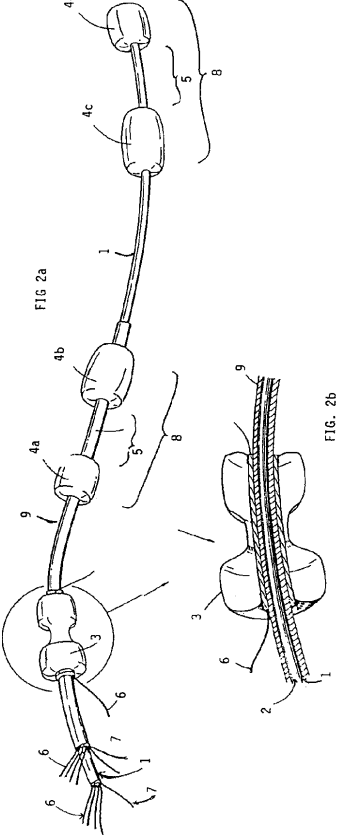
【 図 4 c 】
FIG. 4c



【 図 1 】

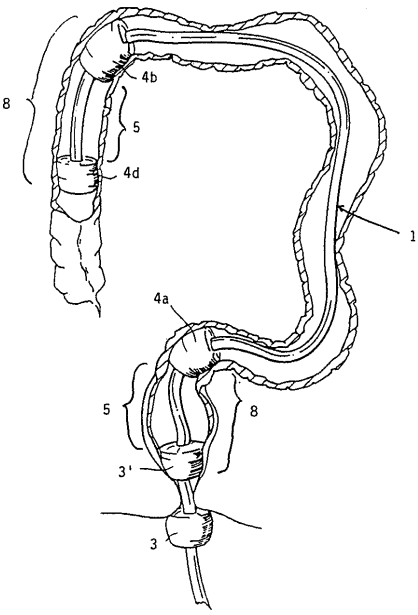


【 図 2 】

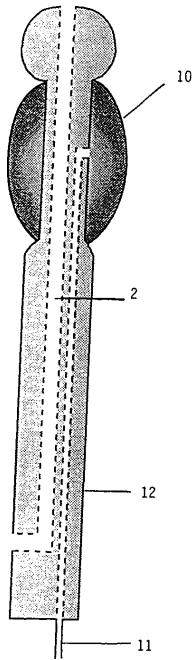


【 図 3 】

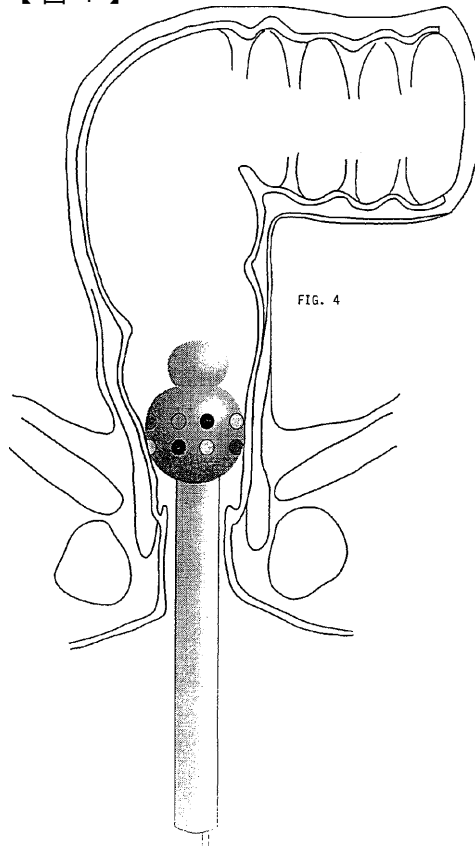
FIG. 3



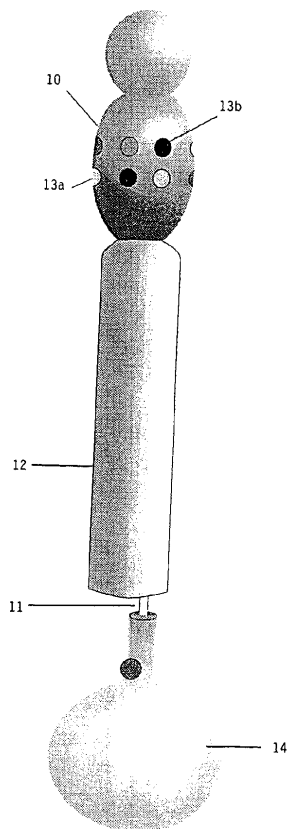
【 図 4 a 】
FIG. 4a



【 図 4 】



【 図 4 b 】
FIG. 4b



フロントページの続き

(72)発明者 ヘルグレン, ロジャー

スウェーデン国、エス - 7 4 0 2 2 ・ ベーリンイエ、ドラゴントルプスベーゲン・9

審査官 小田倉 直人

(56)参考文献 特表昭63 - 501074 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

A61B 10/00