

炎症性腸疾患モデル動物を用いたカルバコール刺激による結腸収縮機能の経時的変化

野部 裕美¹, 坂井 泰²

¹文京学院大学保健医療技術学部作業療法学科

²元文京学院大学

要旨

難治性疾患であるクローン病の患者は年々増加し、この疾患は腸管を構成している平滑筋組織に障害が生じていることが知られている。平滑筋の機能障害により、腸管運動機能障害が引き起こされ、QOLの低下が問題となっている。本研究では、炎症時における腸管平滑筋の機能障害について、炎症性腸疾患モデル動物を用いて、炎症処置後1, 3, 7日目の収縮能の経時的変化と神経性の要因について検討した。炎症処置後1, 7日目の収縮反応は、炎症群は非炎症群より脱分極性刺激薬による収縮反応が大きかった。副交感神経様刺激薬では、全ての日数で炎症群の方が大きかった。神経性の要因について、テトロドトキシン(TTX)を用いて検討した結果、炎症処置後1日目ではTTXの影響はなかったが、3, 7日目では炎症群で収縮抑制が起こらなかった。これらのことから、炎症初期の反応性と炎症処置3日目以降の反応性は、収縮能に対する障害因子が異なることが明らかとなった。

キーワード

炎症性腸疾患モデル動物, 収縮機能, 副交感神経様刺激薬, 神経障害, 腸管平滑筋組織

1 序論

平滑筋は、多くの内臓を形成している筋肉であり、なかでも管状、袋状の形をした組織を構成している筋細胞である。例えば、平滑筋組織は胃や腸、膀胱、血管、子宮、気管支などに存在し、機能面では重要な役割を担う筋肉である。消化管は、毎日の生活の中で常に働いている臓器であり、直接生命の危機にかかわる重篤な障害を引き起こすことは少ない。しかしながら、機能障害が起こるとQOLの低下につながり、慢性化してくると、日常生活において不自由を強いられることが多くなる。

近年、難治性の慢性炎症性大腸疾患であるクローン病や潰瘍性大腸炎の患者は増加し、低年齢(10~20歳代)から発症することが多く、長期間に渡り病気と向き合うこととなる。この疾患は、炎症により腸管を構成している平滑筋組織に障害が生じ、消化管の吸収障害により十分な栄養が取れず、また機能障害が引き起こされることにより腹痛や下痢、便秘などといった症状が引き起こされると考えられている¹⁾。慢性炎症性大腸疾患は、寛解と再発を繰り返すことから、生活においては食事制限や症状の状態による薬物療法が必要となっている。クローン病や潰瘍性大腸炎

などの腸管平滑筋の機能障害は、原因不明の疾患であり、現在の治療法は生物学的製剤などにより、飛躍的に進歩してきているが、完全に完治するのは困難である。そのため、ステロイド剤などを併用しての対症療法治療も行われている。このことから、原因解明と根本的治療法の確立が望まれている。

本研究は、この病態時における腸管平滑筋の機能を詳細に検討するため、炎症性腸疾患モデル動物を作製し、摘出腸管平滑筋組織を用いて収縮能の経時的な薬物の反応性を検討した。炎症を惹起するトリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)試薬は、ラットの腸管の内腔側に肛門よりゾンデで薬液を直接注腸することにより、炎症を引き起こすハプテンとして一般的に用いられている薬物である^{2,3)}。この炎症性腸疾患モデル動物は、粘膜部から筋層にわたって病理組織学的炎症病変が観察されることから⁴⁾、炎症性腸疾患と類似し、研究においてTNBS試薬による腸炎は、確立されている方法であると報告されている²⁾。

そこで今回我々は、炎症により正常な収縮反応機構が障害されるというこれまでの報告から⁵⁾、ラット結腸に炎症を引き起こし、腸管平滑筋の機能解析において、神経性の要因について検討を行った。さらに、炎症性腸疾患の患者

は再燃と寛解を繰り返すという特徴から、炎症処置 1, 3, 7 日目の機能的な面を経時的変化として検討し、それぞれの段階で収縮能の変化や神経性の要因について検討を行った。これらの治験により、将来的には症状にあった薬物治療の開発の基盤となることを目的とする。

2 方法

2.1 対象

実験には、7週齢ウイスター系雄性ラット（体重 200～250g）を東京実験動物(株)より購入し、2～3日間本学の動物飼育環境に慣らした後、実験に用いた。飼育環境は、室温を 24℃に保ち、12時間の明暗サイクルで自由に飲食・飲水させて飼育した。実験動物の取り扱いおよび処置に関しては、文京学院大学動物実験倫理審査委員会の管理下においておこなった。

2.2 炎症性腸疾患モデル動物の作製

結腸炎症モデル動物の作製は、ラットにイソフルラン吸入麻酔下で肛門からゾンデを挿入し、起炎物質であるトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) 試薬 (100 mg/kg) を直接注腸することにより炎症を惹起した⁶⁾。これを炎症群とした。また、同様に麻酔下で生理食塩水 (0.9% NaCl : 100 mg/kg) をラットの結腸内腔に投与したものを非炎症群とした。それぞれの試薬を投与した後に、ラットはケージ内にて、室温 24℃、12時間の明暗サイクルで自由に飲食・飲水させ 1, 3, 7日間それぞれの群の動物を飼育した。

2.3 張力測定方法

炎症処置 (TNBS 試薬注腸) 後、1, 3, 7日目にラットを放血致死させ、開腹し結腸を摘出した。近位結腸平滑筋組織を約 5mmの長さに切り取り、リング状の標本として輪走筋方向の等尺性張力を測定した。張力の測定方法は、それぞれの標本をオーガンバスに懸垂し、36.5℃に加温した生理的塩類栄養液 (Krebs 溶液 : 120 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 1.1 mM KH₂PO₄, 23.8 mM NaHCO₃, 11.1 mM glucose, 95% O₂, 5% CO₂ の混合ガスを通気し、pH 7.4 とした) 10 mL 中で張力測定をおこなった。平滑筋組織標本に約 1 g (10 mN) の静止張力をかけ、張力の大きさは、反応前と反応後の最大張力の変化量 (g) を組織湿重量当たりの収縮力 (mN/mg wet wt) で示した。各薬液投与後は、Krebs 溶液で十分洗浄し、各反応系で薬液が混ざらないようにした。

2.4 使用薬物

使用薬物は、副交感神経遮断薬である硫酸アトロピン、副交感神経様刺激薬であるカルバコール (CCh) (アセチルコリンの非加水分解性薬物)、一酸化窒素合成酵素阻害薬である Nニトロ-Lアルギニンメチルエステル (L-NAME)、脱分極性刺激薬である塩化カリウム (KCl)、神経作用を抑制する (Naチャンネル阻害薬) テトロドトキシン (TTX) を用いた。

2.5 統計分析

解析は、それぞれの実験データ (n = 3～4) から収縮力を解析し、反応前と反応後の最大張力の変化量を組織湿重量あたりの収縮力 (mN / mg wet wt) に換算して求めた (平均値 ± 標準誤差)。統計分析は、分散分析法に基づき、有意水準を 5% 未満とした。

3 結果

3.1 炎症による体重変化と結腸の観察

はじめに、非炎症群と炎症群のラットの体重変化率を測定した (図 1)。非炎症群において、生理食塩水を処置する前のラットの体重を 100% とすると、生理食塩水処置後の 1 日目の体重は 101.7% とわずかに体重の増加がみられ、3 日目では 104.8%、7 日目では 126.9% と日数の経過に伴い体重の増加が認められた。これに対して、炎症群では TNBS 試薬処置前のラットの体重を 100% とすると、TNBS 試薬処置後の 1 日目の体重は 92.4% とわずかに体重の減少がみられ、3 日目では 104.0%、7 日目では 121.0% と 1 日目と 7 日目は、非炎症群より炎症群では体重の増加率が有意に低下した。

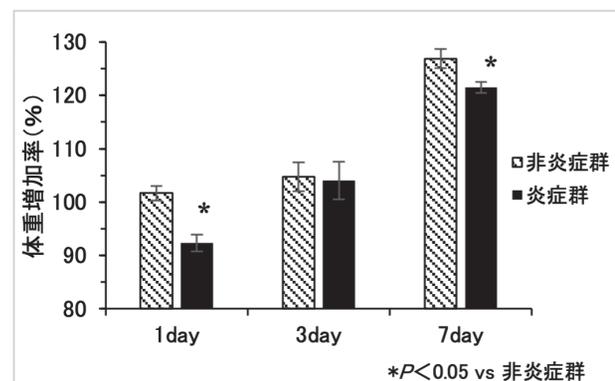


図 1 ラットの体重増加率

生理食塩水、TNBS 試薬処置前のラットの体重を 100% としたときの、それぞれの処置後 1, 3, 7 日目の体重の増減率で表した。結果は、平均値 ± 標準誤差 (n=3～4)、*p<0.05 vs. 非炎症群として示した。

次に、摘出した腸管組織標本の炎症度を観察した(図2) いずれにおいても、炎症群は非炎症群と比較して発赤が生じているのを肉眼で確認できた。また、1日目の腸管内部に発赤が多く見られ、3日目では腸管全体に発赤が生じ、7日目では濃い赤色が点在している様子が観察できた。

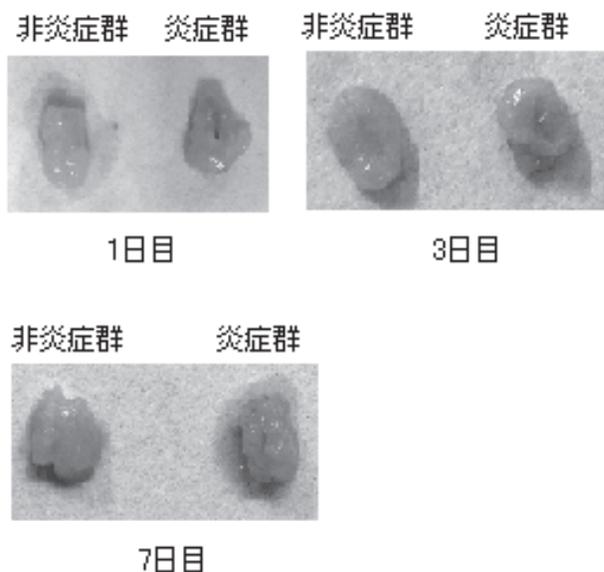


図2 摘出した腸管

摘出した典型的な腸管(約5mm)を示した。1日目の腸管の一部(左)、3日目の腸管の一部(中)、7日目の腸管の一部(右)で、いずれも非炎症群、非炎症群の順で示した。

3.2 薬物刺激による収縮反応

次に、腸炎症を惹起した腸管(結腸)組織標本を用いて収縮機能解析を行った。結腸平滑筋細胞の膜電位変化を引き起こす塩化カリウム(KCl)の用量依存性収縮反応を検討した(図3)。100mM KCl刺激時の収縮力を100%としたときの各濃度における反応率で示した。

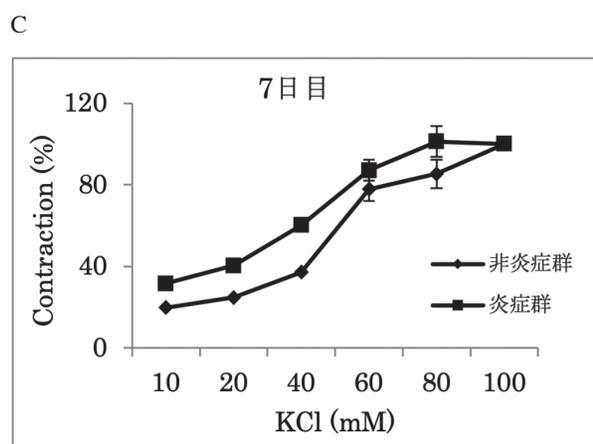
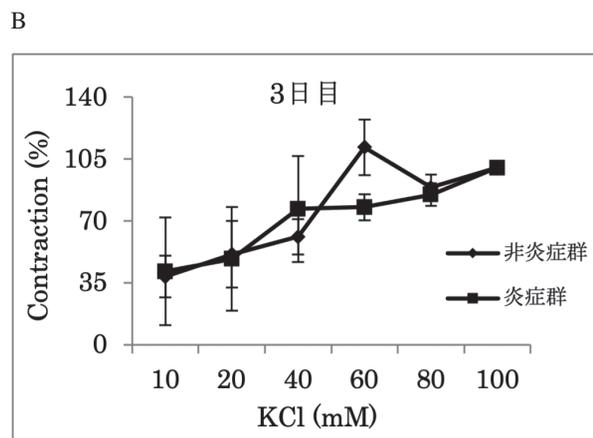
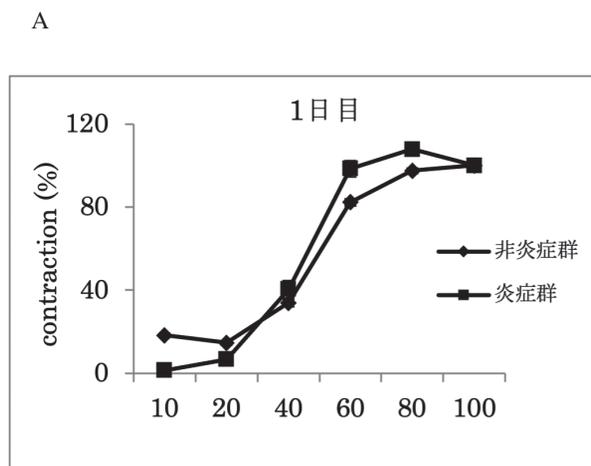


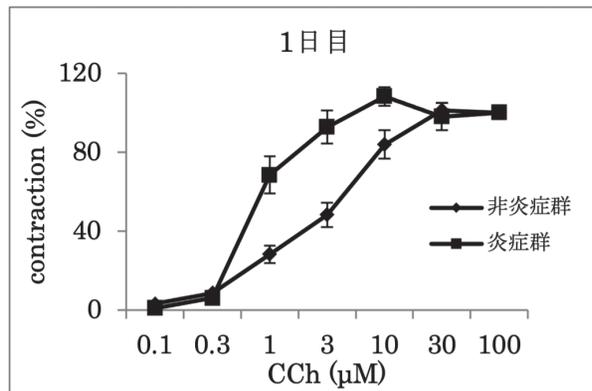
図3 KCl刺激に用量依存性収縮反応

結腸組織標本にKClを用いて、累積投与を行った。100mM KCl刺激時の最大収縮反応を100%として10~100mM KClの反応性で示した。Aは処置1日目の結腸組織の反応、Bは処置3日目、Cは処置7日目の結腸組織の用量依存性収縮反応を示した。結果は、平均値±標準誤差(n=3~4)で示した。

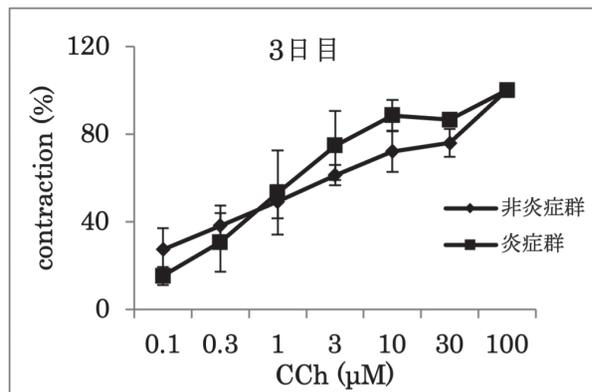
その結果、10~100mM KClの収縮反応は用量依存的に増加した。80mM KClを投与した時の感受性は、1日目と7日目において炎症群の方が非炎症群と比較して高い傾向となった。3日目においては、両群にほとんど差はなかった。

消化管は、副交感神経の興奮により収縮反応が引き起こされる^{7,8)}ことから、副交感神経伝達物質のアセチルコリンの非加水分解性物質であるカルバコール(CCh)を用いて、機能解析を行った(図4)。100μM CCh刺激時の収縮力を100%としたときの各濃度における反応率で示した。0.1~100μM CChの収縮反応は、KClと同様に用量依存性収縮を示した。1, 3, 10μM CCh刺激による収縮反応は、全ての日数において炎症群の方が非炎症群と比較して高い傾向となった。

A



B



C

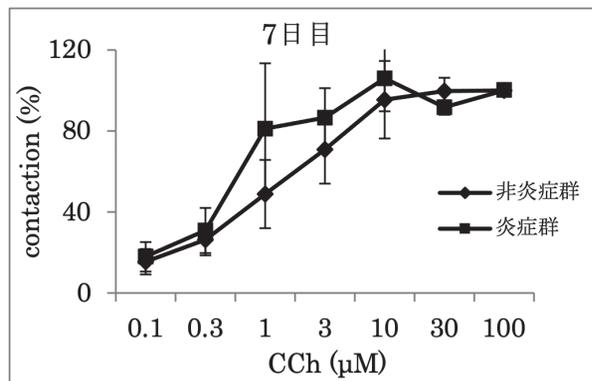


図4 CCh 刺激に用量依存性収縮反応

結腸組織標本にCChを用いて、累積投与を行った。100 μM CCh 刺激時の最大収縮反応を100%として0.1～100 μM CChの反応性で示した。Aは処置1日目の結腸組織の反応、Bは処置3日目、Cは処置7日目の結腸組織の用量依存性収縮反応を示した。結果は、平均値±標準誤差 (n=3～4) で示した。

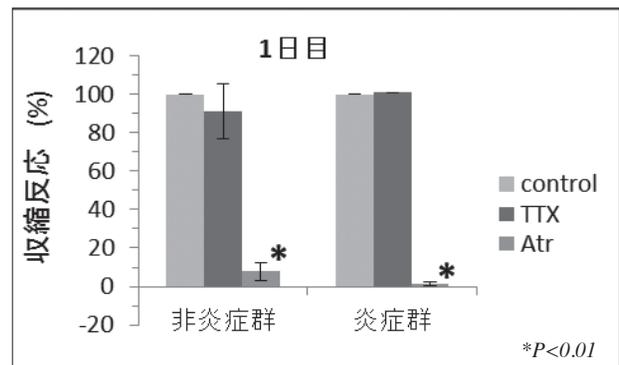
3.3 CCh 刺激時の収縮反応における抑制薬の影響

次に、CCh 刺激時の収縮反応における抑制薬の影響について検討を行った。電位依存性ナトリウムチャンネルを阻害

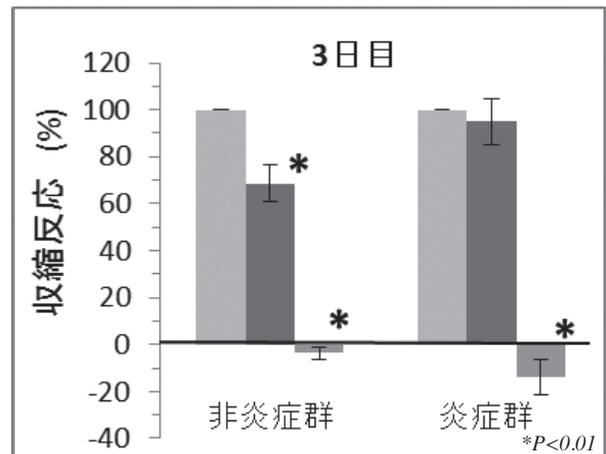
し、神経の興奮伝導を遮断するテトロドトキシン (TTX) を用いて収縮反応における影響を測定した (図5)。10 μM CChの反応を100%としたとき、1日目において非炎症群の0.1 μM TTX存在下でのCChの収縮反応は91.2%、炎症群では101.0%であった。同様に、3日目では非炎症群では68.5%、炎症群では95.0%であった。7日目は非炎症群では74.6%、炎症群では97.4%であった。これらの結果から、TTX存在下では、3日目、7日目の非炎症群のCCh刺激による収縮反応は、有意に抑制された。

抗コリン作動薬で副交感神経の作用を遮断するアトロピン (Atr) 存在下でのCCh刺激による収縮反応を測定した (図5)。TTXと同様に10 μM CChの反応を100%としたとき、1日目において非炎症群の0.1 μM Atr存在下でのCChの収縮反応は10.8%、炎症群では1.3%であった。同様に、3日目では非炎症群では-3.5%、炎症群では-13.7%であった。7日目は非炎症群では17.2%、炎症群では7.7%であった。これらの結果から、Atr存在下では、非炎症群、炎症群ともに全ての日数においてCCh刺激による収縮反応は、ほぼ完全に抑制された。

A



B



C

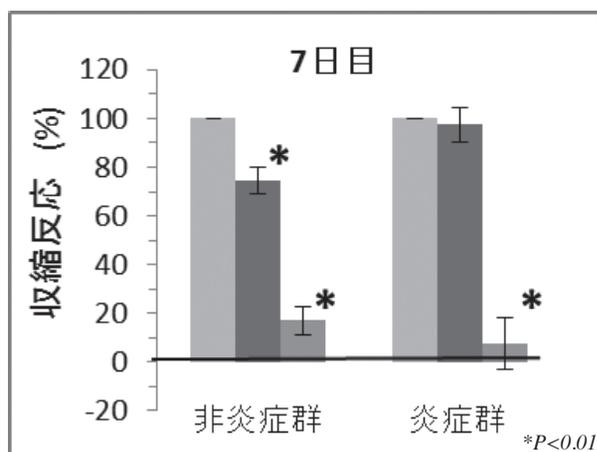


図5 CCh刺激時の収縮反応におけるTTXおよびAtrによる影響

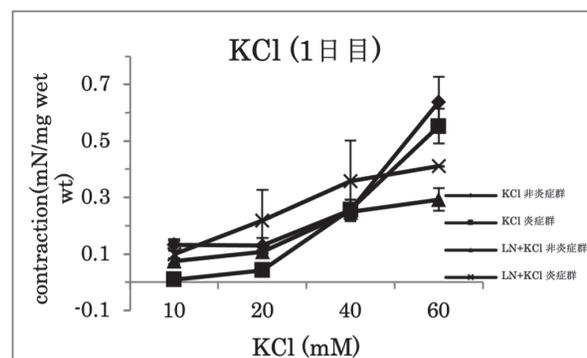
10 μ M CCh 刺激において、CCh 刺激 10 分前に 0.1 μ M TTX および 0.1 μ M Atr 薬物を結腸組織標本に投与し、それぞれの薬物存在下での CCh の収縮反応を測定した。10 μ M CCh 単独刺激時の反応を 100% として、TTX および Atr 存在下での CCh 刺激時の収縮反応を換算して示した。A は処置 1 日目の結腸組織の反応、B は処置 3 日目、C は処置 7 日目の結腸組織の用量依存性収縮反応を示した。結果は、平均値 \pm 標準誤差 (n=3~4)、* p<0.01 vs. 10 μ M CCh として示した。

次に、KCl、CCh 刺激薬に与える一酸化窒素 (NO) の収縮反応に与える影響について検討を行った。NO 合成酵素阻害薬である N-ニトロ-L-アルギニンメチルエステル (L-NAME) を用いて KCl および CCh を用量依存的に投与し、収縮反応への影響を測定した (図 6)。KCl の反応は、100 μ M L-NAME 存在下において用量依存的に収縮反応が増加した。しかし、1 日目、7 日目の L-NAME 存在下の非炎症群と炎症群は 60 mM KCl 刺激時では、収縮力の増加は認められなかった (図 6A)。しかし、非炎症群では 40 mM KCl までの濃度では、L-NAME 存在下の方がやや収縮反応が大きく、60 mM KCl 刺激では、L-NAME 非存在下の方が収縮反応が大きくなった。

CCh の反応は、100 μ M L-NAME 存在下において 1 日目、3 日目では非炎症群では、用量依存的な収縮反応はあまり見られなかった。1 日目の 10 μ M CCh 刺激においては、L-NAME 存在下により非炎症群、炎症群ともに収縮反応は抑制傾向であった (図 6B)。

今回、3 日目と 7 日目の結果は示さなかったが、経時的な変化を測定したところ、1 日目は KCl、CCh 刺激ともに低濃度では L-NAME 存在下での収縮反応は増加したが、高濃度では L-NAME 非存在下の方が L-NAME 存在下より収縮反応が大きくなった。炎症群では、低濃度で L-NAME の影響を受ける傾向が強かった。

A



B

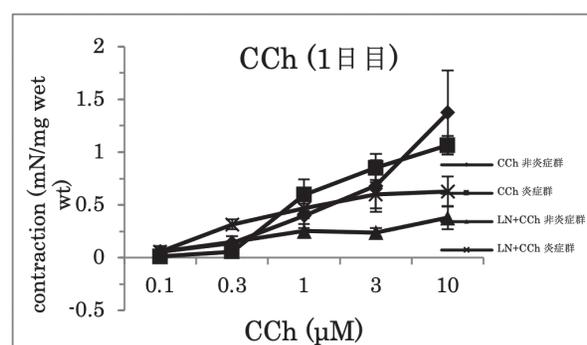


図6 KCl および CCh 刺激時の収縮反応における L-NAME による影響

KCl (A) および CCh (B) の用量依存性収縮反応刺激における L-NAME 薬物存在下での収縮反応を測定した。KCl および CCh 刺激 10 分前に 100 μ M L-NAME 薬物を結腸組織標本に投与し KCl および CCh を累積投与した。結果は、平均値 \pm 標準誤差 (n=3~4) で示した。

4 考察

本研究では、炎症を惹起した病態モデル動物 (ラット) を用いて、経時的な機能変化と神経性の障害について検討した。はじめに、ラットの体重変化を測定した。炎症群は非炎症群と比較して体重の増加率が低かった。これは、炎症により腸管運動機能に障害が生じ、栄養素や水分の吸収効果が低下したためと考えられる¹⁰⁾。組織の炎症所見については、1 日目の局所的な発赤は、急性炎症による発赤であると考えられ、炎症処置 7 日目では、点在した潰瘍性の病変であると考えられる。これらは、炎症性腸疾患での初期症状であるアフタ (浅い潰瘍) とその後の縦走潰瘍と類似していると考えられる。したがって、TNBS 試薬の効果は、1 日目から炎症を惹起することが明らかとなった。また、これによりラットの体重が減少したと示唆される。

次に、腸管組織の収縮機能について詳細な検討を行った。

KClおよびCC刺激はいずれも用量に依存して収縮反応を誘発することが明らかとなった。またこの収縮反応は、炎症群の方が非炎症群より感受性が高くなったことが明らかとなった。炎症性腸疾患では、ヘルパーT細胞のタイプ1とタイプ2のバランス異常が起こっていると報告されている¹¹⁾。このうちヘルパーT細胞タイプ2に関連した腸炎では、消化管平滑筋の収縮反応の亢進が引き起こされるとの報告がある。このことから、本研究においても炎症群の方が非炎症群より感受性が高まった可能性が考えられる。

次に神経性の関与について、TTXの影響を検討した。TTXは、ナトリウムチャネルを阻害し神経の興奮伝導を抑制する作用がある。これにより、TTXを用いることで神経性の要因を検討することができる。本研究の結果から、非炎症群の3日目と7日目では、TTXによりCChによる収縮反応は有意に抑制されたが、1日目では抑制されなかった。これは、消化管平滑筋には骨格筋などと異なり、自動的な輸送機能をもった固有の蠕動運動がある^{12, 13)}。蠕動運動は、消化管組織に存在する固有の神経叢が関与し、具体的には筋層間の神経叢であるアウエルバッハ神経叢と粘膜下組織に存在するマイスネル神経叢が作用することで引き起こされる運動と考えられている。また、カハール細胞の関与も指摘されている¹⁴⁾。腸管には、内在性神経とともに自律神経である副交感神経節前線維や交感神経節後線維、さらに内臓求心性神経が密に分布している。内在性求心性神経と抑制性神経の働きにより、自動的に複雑収縮弛緩反応を生み出している¹⁵⁾。これらのことから、本研究におけるCCh刺激による収縮反応は、神経性の要因が強く7日目の収縮反応が亢進したのは、炎症により神経が障害を受けたからだとして示唆される。

消化管平滑筋の収縮・弛緩メカニズムについて、弛緩反応の一部はNOにより調節されていることが知られている。NO合成酵素(NOS)は平滑筋内のNOを産生し、NOは可溶性グアニル酸シクラーゼを活性化し、cGMP生成を促進する。cGMPはG-キナーゼを活性化し、機能タンパクをリン酸化した結果、カルシウムイオンの筋小胞体への取り込みを促進し、細胞外へのカルシウムの排出を促進し、さらにミオシン軽鎖キナーゼの不活化をもたらすことで平滑筋は弛緩する方向に作用する¹⁶⁾。本研究の結果より、炎症処置1日目ではL-NAME存在下でのKClおよびCCh刺激による反応は、低濃度では収縮反応は増加したが高濃度では収縮反応が低下した。この結果は、以前我々が基礎データとして取得した結果と同じであり、さらにデータの信頼性を得る結果となった。炎症群では、低濃度でL-NAMEの影響

を受ける傾向があることが示唆された。

また、これまでに蠕動運動への影響を検討した結果から、L-NAME存在下の蠕動運動の頻度は非炎症群が炎症群より高頻度となることが明らかとなっている。炎症の1日目ではNOの作用が炎症により障害され、平滑筋の弛緩反応が抑制され、そこにCCh刺激を行うことで収縮反応が亢進したと考えられる。

5 結語

以上のことから、炎症処置の経過観察において、1日目では薬物刺激による収縮反応の感受性の高まりは、神経性の要因とNOが関係していると考えられ、7日目の薬物刺激による収縮反応は、内在性の神経が強く関与していることが示唆された。炎症により経時的に異なる増悪因子が存在し、その時の症状や状態にあった適切な薬物治療が必要であることが明らかとなった。

引用文献

- 1) Podolsky DK., Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*; 2002; 347: 417-429.
- 2) Wehner S, Behrendt F, Lyutenski B, Lysson M, Bauer A, Hirner A, Kalff J., Inhibition of macrophage function prevents intestinal inflammation and postoperative ileus in rodents. *Gut* 2007; 56: 176-185.
- 3) Krinsky M, Yedgar S, Aptekar L, Schwob O, Goshen G, Gruzman A, Sasson S, Ligumsky M., Amelioration of TNBS-induced colon inflammation in rats by phospholipase A2 inhibitor. *Am J Physiol Gast* 2003; 285: G586-G592.
- 4) Morris GP, Beck PL, et al., Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*. 1989; 96: 795-803.
- 5) Moreels T.G. De Man JG. Dick JM. et al. Effect of TNBS-induced morphological changes on pharmacological contractility of the rat ileum. *Eur. J. Pharmacol.*, 2001; 423: 211-222.
- 6) Choudhury BK., Shi XZ., Sarna SK., Gene plasticity in colonic circular smooth muscle cells underlies motility dysfunction in a model of postinfective IBS. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, 2009; 296: G632-G642.
- 7) Bhattacharya S, Mahavadi S, Al-Shboul O, Rajagopal S, Grider JR, Murthy KS., Differential regulation of muscarinic

- M2 and M3 receptor signaling in gastrointestinal smooth muscle by caveolin-1. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2013; 305: C334-347.
- 8) Al-Jarallah A, Khan I, Oriowo MA., Role of Ca²⁺-sensitization in attenuated carbachol-induced contraction of the colon in a rat model of colitis. *Eur J Pharmacol.* 2008; 579: 365-373.
- 9) Asfaw TS, Hypolite J, Northington GM, Arya LA, Wein AJ, Malykhina AP., Acute colonic inflammation triggers detrusor instability via activation of TRPV1 receptors in a rat model of pelvic organ cross-sensitization. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011; 300: R1392–R1400.
- 10) Lynn PA, Chen BN, Zagorodnyuk VP, Costa M and Brookes SJH, TNBS-induced inflammation modulates the function of one class of low-threshold rectal mechanoreceptors in the guinea pig. *Am J Physiol Gastrointest. Liver Physiol.* 2008; 295: G862–G871.
- 11) Hori M, Nobe H, Horiguchi K, Ozaki H., MCP-1 targeting inhibits muscularis macrophage recruitment and intestinal smooth muscle dysfunction in colonic inflammation. *Am J Physiol Cell Physiol:* 2008; 294: C391-C401.
- 12) 野部裕美, 石田行知, 坂井泰, 難病大腸炎の治療法的一端を知る. 文京学院大学総合研究所紀要: 2016; 16; 95-106.
- 13) 野部裕美, 石田行知, 坂井泰. 炎症時における結腸平滑筋機能解析. 文京学院大学総合研究所紀要: 2012; 13; 249-259.
- 14) Ward SM and Sanders KM., Physiology and pathophysiology of the interstitial cell of Cajal: from bench to bedside. I. Functional development and plasticity of interstitial cells of Cajal networks. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001; 281: G602-611.
- 15) Suzuki T, Won KJ, Horiguchi K, Kinoshita K, Hori M, Torihashi S, Momotani E, Ito K, Hirayama K, Ward SM, Sanders KM, Ozaki H, Muscularis inflammation and the loss of interstitial cells of Cajal in the endothelin ETB receptor null rat. 2004; 287: G638-646.
- 16) Zhu YK, Liu XD, Skold MC, Umino T, Wang, H, Romberger DJ, Spurzem JR, Kohyama T, Wen FQ, Rennard SI, Cytokine Inhibition of Fibroblast-Induced Gel Contraction Is Mediated by PGE2 and NO Acting Through Separate Parallel Pathways. *Am J Respir. Cell Mol. Biol.* 2001; 25: 245-253.

The Effects of Time Dependent Manner of Carbachol-induced Contractile Responses in Animal Models for Inflammatory bowel disease

Hiromi Nobe¹, Yasushi Sakai²

1 Department of Occupational Therapy, Faculty of Health Science Technology, Bunkyo Gakuin University

2 Bunkyo Gakuin University

Abstract

Inflammatory bowel disease is a group of chronic disorders characterized by damaged smooth muscle tissues in the digestive tract. We investigated the alteration of carbachol (CCh) and potassium chloride (KCl) -induced contractile responses in rat colon under inflammatory conditions. Inflammation was induced by an infusion to colonic lumen of the TNBS and the preparations for ring specimen of the colon which we resected were done one day three days and seven days after an injection. The colon tissues were isolated from saline-treated control and TNBS-treated rats. These tissues were placed in physiological organ bath system and then, isometric force were assessed. Treatment of CCh induced dose-dependent force responses in both types of tissue, but the responses were increased in the TNBS-treated rat on one day and seven days. The presence of atropine markedly inhibited the CCh-induced contraction. On three days and seven days the presence of tetrodotoxin inhibited the CCh-induced contraction in non-inflammatory bowel. This the results suggest that the contractile response to CCh of the rat colonis muscle is caused primarily the increase in the depend on muscarinic receptor. The relationship is that the CCh response after one day of TNBS injection treatment is the NO relaxation factor and the response after seven days is the neurogenic factor.

Key words ——— Animal models of inflammatory bowel disease, contractile responses, parasympathetic-like stimulants, neuropathy, intestinal smooth muscle tissue

Bunkyo Journal of Health Science Technology vol.14: 19-26