

論文内容の要旨

論文題目 5-HT₄受容体作動薬クエン酸モサプリドの術後腸管麻痺に対する

改善効果の検討

指導教員 瀬戸泰之教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 19 年 4 月入学

医学博士課程

外科学 専攻(消化管外科学)

氏名 土田泰昭

背景

近年、開腹手術の術後早期からの腸管使用の有用性が指摘され、術後回復能力強化を狙った周術期プログラムである Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) の考え方が広まっている。具体的には、大腸手術症例について、入院前の患者教育、手術前の術前腸管処置簡略化、絶飲食期間短縮、手術中の過剰輸液回避、保温、侵襲の小さい術式の選択、手術後の疼痛管理、早期離床、経口摂取の早期再開などの工夫により、術後偶発症発症率の低減、入院期間の短縮などがえられたことが報告されている (Fearson KCH et al. 2005)。

開腹手術後には、術後腸管麻痺 postoperative ileus (以下、POI) のために数日間の禁飲食を要するが、POI が軽減されれば ERAS の確立および適応拡大に寄与すると考えられる。

POI の病態形成には、腸管の漿膜下層・筋層間に常在するマクロファージによる炎症的機序が関与していることが報告されている (Mikkelsen EB et al. 1985, Wehner S et al. 2007)。

Intestinal Manipulation (以下、IM) の後に、筋層部の常在型マクロファージが活性化し、炎症性サイトカインやケモカイン、プロスタグランジンを産生し、IM 施行腸管の漿膜下層・筋層

間への単球および単球由来滲出性マクロファージ、好中球の浸潤を誘導し、これらの炎症細胞は iNOS を誘導し多量の NO を産生することで腸管運動障害を引き起こすと考えられている (Kalff JC et al. 2000, Hori M et al. 2001)。

腸管壁内神経叢の 5-HT₄R に作用する 5-HT₄R 作動薬は、上部および下部消化管の運動促進作用が確かめられ (Cellek S et al. 2006, Kim HS et al. 2008)、POI への有用性が指摘されているが (De Winter BY et al. 1999, Narita K et al. 2008)、POI の炎症的側面への影響を含めた、その詳細な機序には不明な点も多い。

近年、自律神経系と消化管の炎症性疾患との関連性が指摘されている。交感神経刺激優位の状況では消化管の炎症は増悪し (Tanila et al. 1993, Kreiss C et al. 2004)、一方、副交感神経刺激優位の状況では炎症は軽減する。具体的には、LPS 腹腔内投与モデル、炎症性腸疾患モデル、POI モデルなどにおいて、迷走神経刺激により炎症および腸管運動障害が軽減されることが報告されている (Borovikova et al. 2000, Ghia et al. 2006, Rongqian Wu et al. 2007, Xuan-zheng Shi et al. 2009)。迷走神経遠心路を介した抗炎症経路のリガンドにはアセチルコリンが挙げられる。迷走神経遠心路の神経終末から放出されたアセチルコリンは、本来の効果器である固有筋層の平滑筋細胞 (ムスカリン受容体 M₂、M₃) だけでなく、マクロファージの細胞膜表面に存在する $\alpha 7$ nicotinic ACh 受容体 (以下、 $\alpha 7$ nAChR) に対するリガンドとして作用し、マクロファージ細胞内における NF κ B 活性化の抑制と Jak2-STAT3 系のシグナル伝達促進により抗炎症作用を発揮させる (de Jonge WJ et al. 2007)。POI モデルなどのモデルにおいて、炎症および腸管運動障害が $\alpha 7$ nAChR 刺激により軽減すると報告されている (Wang H et al. 2003, de Jonge WJ et al. 2005, The FO et al. 2007)。

目的

ラット POI モデルにおける回腸筋層部の炎症および腸管運動障害における 5-HT₄R 作動薬による影響について検討する。特に、迷走神経遠心路やマクロファージ細胞膜上の $\alpha 7$ nAChR を介した抗炎症作用に注目し、5-HT₄R 作動薬の作用機序について検討する。

方法

SD ラット(7~9 週齢、雄)を用いて、ペントバルビタールによる全身麻酔下に開腹し、Intestinal Manipulation(以下、IM。滅菌生理食塩水を浸した滅菌済みの綿棒にて遠位回腸の 20 cm を 5 往復擦る)を施行して POI モデルを作成した。5-HT₄R 作動薬モサプリドクエン酸塩水和物 mosapride citrate(以下、MOS)は手術 2 時間前、2 時間後、6 時間後に計 3 回投与した。術後に安楽死させたラットから回腸を摘出し、粘膜層側を剥離・廃棄して、筋層・漿膜側(筋層部)を実験に用いた。「炎症」については、各種炎症性メディエーターの定量(半定量的 RT-PCR)、常在型マクロファージ、滲出性マクロファージ、好中球、肥満細胞などの炎症細胞数の定量(whole mount 標本に対する蛍光免疫染色、MPO 染色、トルイジンブルー染色)、「腸管運動障害」については、回腸輪走筋収縮力測定(マグヌス管)、消化管通過性(フェノールレッド経口投与 60 分後の胃・小腸への分布)を測定項目とした。

結果

ラット POI モデルの回腸筋層部において、IM 術後 6 時間後に各種炎症性メディエーター(IL-1 β , IL-6, TNF- α , MCP-1, iNOS)の発現量増加、IM 12 時間後に漿膜下層への肥満細胞浸潤、IM 22 時間後に消化管通過性遅延・胃排出停滞、IM 24 時間後に漿膜下層・筋層間の常在型マクロファージの増加および滲出性マクロファージ、好中球の著明な浸潤、回腸輪走筋収縮力低下がみられた(第 1 章および図 15)。

腸管運動改善薬である 5-HT₄R 作動薬 MOS(0.3, 1, 3 mg/kg)投与により、IM 施行回腸における炎症および運動障害は有意に軽減した(第 2 章 2-1)。MOS には 5-HT₄R 刺激作用の他に弱い 5-HT₃R 拮抗作用があるが、MOS による軽減作用は 5-HT₄R 拮抗薬 GR 113808(1, 3, 10 mg/kg)により、MOS による単球・好中球浸潤に対する軽減作用、収縮力改善作用は有意に低下した。また、異なる 5-HT₄R 作動薬 CJ-033466(1 mg/kg)も MOS と同等の作用を示した。POI モデルにおける MOS による抗炎症作用および運動障害改善作用は 5-HT₄R を介することが示唆された(第 2 章 2-2)。

次に、POI モデルにおける MOS による抗炎症作用および運動障害改善作用の機序を検

討し、特に迷走神経遠心路およびマクロファージ細胞膜上の $\alpha 7nACh$ 受容体を介した機序に注目した。非特異的副交感神経遮断薬 hexamethonium chloride (1 mg/kg) 投与により、MOS による単球・好中球浸潤に対する軽減作用、収縮力改善作用は有意に低下した(第3章 3-1)。また、 $\alpha 7nAChR$ 拮抗薬 methyllycaconitine citrate (0.087 mg/kg) 投与により、MOS による単球・好中球浸潤に対する軽減作用、収縮力改善作用は有意に低下した。続いて、IM 施行回腸筋層部における $\alpha 7nAChR$ 発現細胞を同定するために、 α -bungarotoxin, $\alpha 7nAChR$ 抗体の2種類の試薬を用いた蛍光免疫染色を行なった。Control 群では $\alpha 7nAChR$ 発現は非常に乏しく、常在型、滲出性マクロファージの一部にのみ発現を認めた。IM 24 時間後にはマクロファージへの発現率は 50~60%に著明に増加した。好中球、神経、平滑筋、血管内皮などには $\alpha 7nAChR$ の発現は認めなかった(第3章 3-2)。

$\alpha 7nAChR$ に関して、アロステリックリガンドである secreted mammalian leukocyte antigen 6/urokinase-type plasminogen activator receptor related protein (SLURP)-1 が知られ、非神経組織から放出されることが報告されている(Knut Adermann et al. 1999, Horiguchi K et al. 2009)。SLURP-1 の免疫染色を行なった。平常時の回腸筋層部には発現は稀であったが、IM 24 時間後には SLURP-1 を発現する炎症細胞が顕著に増加した(第3章 3-3)。

以上により、ラット POI モデルにおいて、5-HT₄ 受容体作動薬 MOS は消化管壁内神経叢に分布する迷走神経遠心路に作用し、神経終末から放出されたアセチルコリンがマクロファージ細胞膜上の $\alpha 7nAChR$ に作用してその抗炎症作用を発揮させることにより、回腸筋層部における炎症と運動障害を軽減させると考えられた。

結論

5-HT₄ 受容体作動薬は回腸壁内神経叢の神経終末からのアセチルコリン放出を促進し、マクロファージ細胞膜上の $\alpha 7nAChR$ を刺激してその抗炎症作用を発揮させ、術後腸管麻痺を改善する。