

論文の内容の要旨

獣医学専攻
平成 18 年度博士課程入学
氏 名 牧村幸敏
指導教員名 局 博一

論文題目 実験的炎症性腸疾患における骨盤神経の侵害受容に関する研究

潰瘍を伴う炎症性腸疾患（IBD）は、近年 10 万人以上の罹患者が存在するとされ、医療的にも社会的にも大きな関心が集まっている。IBD はこれまで主に腸管における免疫機序の観点から研究が進められてきたが、実際には免疫系以外にも神経系の役割が重要な位置を占める可能性が考えられている。そのため、IBD における腸管支配知覚神経の興奮特性とその役割を電気生理学的手法や薬理学的手法を用いて明らかにすることは、IBD の病態発現機構の解明や治療・予防法の開発にとって極めて有意義なことと考えられる。

そこで、本論文においては、まず、消化管を支配する知覚神経の存在を確認するために起炎剤でもある酢酸を消化管内に投与したときの骨盤神経求心性線維の興奮性の変化を検討した。次に、下部消化管知覚神経の興奮特性を明らかにすることを目的として、DSS を自由飲水させることで作成した IBD のモデル動物を用い、その骨盤神経求心性線維の興奮性の変化をカプサイシンに対する応答性を比較しながら検討した。また、その興奮性の変化に関わる生理学的メカニズムを追及するために、C 線維を興奮させるカプサイシンの受容体 TRPV1 が含まれる TRP チャンネルに着目し、その非選択的阻害薬であ

ルテニウムレッド(RR)を投与したときの興奮性の変化を検討した。

第1章「序論」では、IBDに関する病態の解説とIBDの発症要因に関する過去の研究経緯ならびに本研究の目的と意義について述べた。

第2章「骨盤神経の化学的侵害刺激に対する応答」では、結腸の知覚を担っているとされる骨盤神経(Pelvic nerve)が腸内の化学的侵害刺激に対する応答性を示すか否か、またその応答性はどのようなものであるかを明らかにするために、正常ラット(Wistar Kyoto)に酢酸溶液の直腸内投与を行い、骨盤神経の求心性活動を電気生理学的に記録した。酢酸溶液の濃度は5% (n=6)、10% (n=6) および25% (n=6) とし、それぞれ0.5 mlを1回だけ直腸内に30秒間かけて投与した。さらに、酢酸溶液の投与後一定時間の回復期間を経た後にC線維(侵害受容器)の選択的刺激剤であるカプサイシン溶液(10.0 μ g/kg)を静脈内に投与し、骨盤神経の応答性を観察した。5%、10%、25%のいずれの濃度においても、酢酸投与直後から骨盤神経求心性活動の増加が認められ、その増加度は酢酸濃度依存性を示した(最大応答時の放電数の増加率:5%酢酸 133.8%、10%酢酸 160.8%、25%酢酸 286.6%)。放電頻度の増加は投与後10分間にわたって認められたが、5%および10%の酢酸では投与直後の30秒間で最大を示したのに対し、25%の酢酸では、投与直後から放電頻度が増加するとともに、投与後120-180秒間にわたって最大反応が持続した。一方、これらの神経活動はカプサイシン溶液に対しても明瞭な応答性(459.6%の増加)を示した。これらの実験結果から、骨盤神経中には化学的侵害刺激に応答する侵害受容器(C線維)が存在することが明らかになった。

第3章「腸炎モデル動物における骨盤神経の化学的侵害受容」では、より長時間にわたる腸炎発症下での骨盤神経の興奮性を明らかにするために、Dextran Sulfate Sodium(以下DSS)溶液の自由飲水によって腸炎モデルラットを作出した上で、カプサイシンの下部消化管内投与に対する応答性を調べた。Wistar Kyoto ラットに5%のDSS水溶液を1日(DSS-1群)または8日間(DSS-8群)飲水として与えた。また水道水のみを与えた対照群(non-DSS群)を設けた。DSS-8群ではすべての個体に下痢、血便が観察された。DSS-1群ではすべての個体において、軟便が観察されたものの、下痢や血便は観察されなかった。non-DSS群についてはすべての個体において便の性状は正常であった。各群に対して、骨盤神経の神経活動を記録しながら、薬物投与前90秒間の対照記録を行った後、30秒間かけてカプサイシン溶液(100 μ g/ml、0.5 ml)を直腸カテーテルを介して下部結腸内への投与を行い、その後神経活動を10分間連続記録した。カプサイシン刺激による放電頻度の増加は投与後90秒間で特に顕著であり、その期間にお

いては non-DSS 群および DSS-1 群において、カプサイシン刺激により、投与前に比べて有意に増加 (non-DSS 群 : 47.9 imp./30s v.s. 34.5 imp./30s, DSS-1 群 : 55.7 imp./30s v.s. 39.7 imp./30s) ($p < 0.05$) し、DSS-8 群においても増加する傾向 (43.8 imp./30s v.s. 36.0 imp./30s) を示した。non-DSS 群では投与後 5-10 分で放電頻度が減少し、投与前のレベルにまで戻ったのに対して、DSS 群 (DSS-1 群、DSS-8 群) においては放電頻度の 10 分間にわたる持続的な増加が観察され、特に DSS-8 群では、その持続的な増加が明瞭であった。またカプサイシンに対する最大応答に関しては、DSS-1 群ではその応答性が non-DSS 群および DSS-8 群に比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。

これらの結果から、DSS 誘発腸炎モデルラットでは、カプサイシンの結腸内投与に対する侵害受容が亢進しており、とくに DSS 飲水の 1 日目からすでに高い感受性を発現していることが明らかになった。

第 4 章「腸炎モデル動物における骨盤神経の化学的侵害受容における TRP チャネルの関与」では、第 3 章で明らかにされた DSS 誘発腸炎モデルラットにおけるカプサイシン感受性の亢進に TRP チャネルがどのように関与しているかを明らかにするための実験を行った。non-DSS 群、DSS-1 群および DSS-8 群に対して、予め TRP チャネルの非選択的阻害薬であるルテニウムレッド (以下 RR) を静脈内投与した後に、カプサイシンの下部消化管内投与に対する骨盤神経の応答性を観察した。RR を前投与した群と前投与しなかった群における、骨盤神経求心性活動のカプサイシンに対する最大応答を比較したところ、DSS 群、とくに DSS-1 群では、RR の前投与によってカプサイシンの結腸内投与による骨盤神経放電頻度の増加が有意に抑制されたが、non-DSS 群では RR の前投与の有無に関わらず、カプサイシンによる骨盤神経放電頻度の増加が観察され、RR による抑制効果は認められなかった。

以上の実験結果から、DSS 誘発腸炎、とくにその初期段階においてはカプサイシン感受性の亢進に TRP チャネルが深く関与していることが示唆された。

第 5 章「腸炎モデル動物における骨盤神経の機械的侵害受容」では、骨盤神経の機械的刺激に対する応答性の有無と、DSS 誘発腸炎モデルラットにおける機械的刺激受容の変化を観察した。non-DSS 群では、下部消化管のバルーン拡張刺激に対する応答性が明瞭に発現したのに対して DSS 群では明瞭な応答性が示されなかった。このことから、骨盤神経には下部消化管内の機械的刺激に反応する知覚線維が含まれることが明らかになったとともに、その機械的刺激受容は腸炎によってむしろ抑制される傾向があることが判明した。

第 6 章 「総合考察」では、上記の第 2 章から第 5 章までの実験結果を踏まえ、下部消

化管を支配する骨盤神経の化学的、機械的侵害刺激に対する知覚受容機構の一端を明らかにしたとともに、炎症性腸疾患における本神経活動の動態が腸炎病態の発現性に少なからず影響をもたらす可能性を指摘した。