

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 牧村 幸敏

近年、わが国において潰瘍性大腸炎（Ulcerative Colitis）で代表される「炎症性腸疾患 Inflammatory Bowel Disease（IBD）」は患者数が 10 万人を超えるなど医療上、社会上大きな問題になっている。IBD は結腸を含む下部消化管に生じる難治性の腸疾患であり、その発症要因および発症機序に関する研究はこれまで免疫学的領域で多くなされているものの、IBD 発症の全体像において未だ不明な点が少なくない。本研究では、IBD の病態解明において、これまで取り組みが遅れている腸管支配知覚神経の関与の有無とその関与の仕方を明らかにする目的で電気生理学的方法を中心にした実証実験を行い、従来の免疫学的知見に加えて新たに神経学的な情報を提供したものである。

まず下部消化管を支配する骨盤神経（pelvic nerve）中に下部消化管の侵害刺激に応答する知覚神経が存在するか否かを明らかにするために、Wistar Kyoto ラットの結腸内に 5%、10%、25%の酢酸溶液を投与し、骨盤神経求心性活動を電気生理学的に記録した。いずれの濃度においても、酢酸投与直後から求心性活動の増加が認められ、その増加は濃度依存性を示した。これらの神経は同時に侵害受容器（C 線維）の選択的刺激剤であるカプサイシン（以下、CAPS）に対しても明瞭な応答性（平均 459.6%の増加）を示した。この実験結果から、骨盤神経中には化学的侵害刺激に応答する侵害受容器が存在することが明らかになった。

上記の結果を踏まえて、より実際に近い腸炎における下部消化管知覚神経の侵害受容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る腸炎モデルラットを作出し、本モデル動物を用いた実験を行った。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。各群に対して、骨盤神経の神経活動を記録しながら、CAPS 溶液（100 μ g/ml、0.5 ml）の結腸内への投与を行った。CAPS 刺激による放電頻度の増加は投与後 90 秒間で明瞭であり、non-DSS 群、DSS-1 群、DSS-8 群において、投与前に比べて有意な増加（ $p < 0.05$ ）が示された。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 CAPS 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、CAPS の結腸内投与に対する侵害受容が亢進しており、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。

次いで、DSS 誘発腸炎モデルラットにおける CAPS 感受性の亢進に TRP (transient receptor type) チャン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 チャン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、CAPS 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 CAPS に対する最大応答を比較したところ、DSS 群、特に DSS-1 群では、RR の前投与によって CAPS 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、CAPS 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、特にその初期段階においては CAPS 感受性の亢進に TRP チャンネルが深く関与していることが示唆された。

次いで、DSS 誘発腸炎モデルラットにおける機械的侵害刺激に対する応答性を明らかにするための実験を行った。その結果、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応答する知覚線維が含まれることが明らかになったが、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。

上記の成績から、骨盤神経の知覚神経は腸炎発症下で下部消化管の化学的侵害刺激に対して過敏な応答性を示し、その過敏性は TRP チャンネルを介していることなどが明らかになった。また応答性の経時的変化には TNF α のような炎症性メディエーターや各種の神経ペプチド、オピオイド受容体などの機能も関与する可能性が推測された。

以上を要するに、本研究は腸管支配知覚神経からその興奮性の変化を記録するといった直接的な実証方法を用いて、腸炎病態の発現や制御に侵害受容器が関わっていることを裏付けたものであり、学術上、応用上資するところが大きい。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位を授与するにふさわしいものと認めた。