



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory transmissions in the hamster alimentary tract

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松山, 勇人 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2170

氏名(本籍)	松山 勇 人(熊本県)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第116号		
学位授与年月日	平成14年3月13日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	岐阜大学		
学位論文題目	Non-adrenergic,non-cholinergic inhibitory transmissions in the hamster alimentary tract (ハムスター消化管における非アドレナリン・非コリン作動 性抑制神経情報伝達に関する研究)		
審査委員	主査	岐阜大学 教授	武 脇 義
	副査	帯広畜産大学 教授	西 村 昌 数
	副査	岩手大学 教授	小 林 晴 男
	副査	東京農工大学 教授	小久江 栄 一
	副査	岐阜大学 教授	小 森 成 一

論 文 の 内 容 の 要 旨

腸管の運動は壁在神経によって調節を受けている。近年、その神経系を構成する非アドレナリン・非コリン作動性(NANC)抑制神経が腸内反射の面から特に注目されている。NANC抑制神経の候補伝達物質としてATP、血管作動性腸ペプチド(VIP)、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド、一酸化窒素(NO)などが提唱されている。しかし、NANC抑制神経の調節機構については未だ十分な解明はされていない。

本研究の目的は、ハムスターの腸管を用いて、NANC抑制神経-平滑筋伝達におけるNOおよびVIPの役割を明らかにすることにある。

(I) NANC抑制神経による腸管の運動抑制に対するNOとVIPの関与について：

NO合成酵素(NOS)阻害薬(L-NAME)、NO捕捉剤(Oxy-Hb)およびVIP受容体拮抗薬(VIP(6-28))がNANC神経刺激(EFS)による腸管の弛緩に及ぼす影響を調べた。L-NAMEはEFSによる弛緩を著しく抑制または消失させた。この抑制された弛緩はNOの前駆体(L-アルギニン)の添加によ

りほぼ完全にもとに戻った。Oxy-Hb と VIP(6-28)はそれぞれ EFS による弛緩を部分的に抑制した。外因性の NO および VIP による弛緩は、Oxy-Hb あるいは VIP(6-28)によって完全に消失した。さらに、壁在神経叢における NO 作動性神経および VIP 作動性神経の存在を明らかにするために、免疫組織化学的手法を用いた。神経型 NOS および VIP 陽性の神経細胞体や神経繊維が観察され、神経繊維の一部は膨大部 (varicosity) を数珠状に形成し、平滑筋に沿って走行していた。以上の結果から、NO および VIP は NANC 神経の伝達物質として腸管運動の抑制性調節に関与していることが示唆された。

(II) NO 作動性神経と VIP 作動性神経との相互作用について：

電気生理学的手法および放射免疫測定法を用いて調べた。EFS あるいは外因性 NO は時間経過の早い成分に続いて遅い成分からなる 2 峰性の過分極を引き起こした。EFS による過分極は L-NAME によって完全に抑制された (内因性 NO による過分極)。内因性および外因性 NO による過分極の遅い成分は VIP(6-28)によって抑制された。¹²⁵I-VIP 遊離に対する NO の影響を調べたところ、内因性および外因性 NO は VIP 遊離を増加させた。これらの結果は NO 作動性神経と VIP 作動性神経との間に相互作用が存在することを示唆している。

(III) NO および VIP の効果器 (平滑筋) における細胞内情報伝達機構について：

グアニル酸シクラーゼ阻害薬 (ODQ) は内因性および外因性の NO による膜の過分極と筋弛緩を抑制したのに対して、アデニル酸シクラーゼ阻害薬は内因性および外因性の NO による膜の過分極の遅い成分と筋弛緩を抑制した。サイクリック GMP (cGMP) 加水分解酵素阻害薬 (ザプリナスト) は内因性および外因性の NO による膜の過分極と筋弛緩を増強したのに対して、サイクリック AMP (cAMP) 加水分解酵素阻害薬 (ロリプラム) は内因性および外因性の NO による過分極の遅い成分と弛緩を増強した。NO によって cGMP と cAMP 量は増加した。この効果は ODQ、または VIP(6-28)によって抑制され、ザプリナストおよびロリプラムによって亢進した。VIP による膜の過分極、筋弛緩および cAMP 量の増加は、VIP(6-28)で抑制され、ロリプラムで亢進した。このことから、内因性の NO は平滑筋において cGMP および cAMP を、VIP は cAMP を介して腸管運動を抑制していることが示唆された。

(IV) NO と VIP による膜の過分極および筋弛緩における K⁺チャネルの関与を明らかにするために、低コンダクタンス Ca²⁺活性化型 K⁺チャネル阻害薬 (アパミン) を用いて調べた。アパミンは、NO と VIP による膜の過分極および筋弛緩を抑制した。このことから、NO および VIP はアパミン感受性の K⁺チャネルを活性化することにより膜の過分極と筋弛緩を引き起こし、腸管運動を抑制しているものと思われる。

以上の研究結果は、NO および VIP がハムスターの腸管における NANC 抑

制神経伝達物質であり、神経から放出された（内因性）NOはVIP作動性神経に作用して腸管運動を制御するという新たな知見を提供する。また、内因性NOは平滑筋に作用してcGMPを生成し、さらに内因性NOはVIP作動性神経に作用してVIPを放出させる。このVIPは平滑筋においてcAMPを生成する。これらのcGMPおよびcAMPは、膜のK⁺チャンネルを活性化して平滑筋の過分極および弛緩を引き起こすことが示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

非アドレナリン・非コリン作動性（NANC）抑制神経は消化管において、食塊通過時に反射性に生ずる輪走平滑筋の弛緩発現の終末ニューロンとして注目されている。しかし、NANC抑制神経の調節機構については未解決の問題が多い。本研究は、腸管平滑筋への一酸化窒素（NO）およびVIP作動性抑制神経伝達機構を解明することを試みたものである。

先ず、免疫組織化学的手法により壁在神経叢におけるNO作動性神経およびVIP作動性神経の存在を明らかにした。次いで、NANC神経刺激による輪走筋の弛緩に及ぼす影響を調べ、NOおよびVIPはNANC神経の伝達物質として腸管運動の抑制性調節に関与していることを明らかにした。

更に、NO作動性神経とVIP作動性神経との相互作用について、細胞内微小電極法および放射免疫測定法を用いて調べ、内因性（NO作動性神経）および外因性NOはVIP作動性神経に作用してVIP遊離を増加させることを見出し、NO作動性神経とVIP作動性神経との間に相互作用が存在することを示した。最終章では、NOおよびVIPの効果器（平滑筋）における細胞内情報伝達機構について調べ、内因性のNOは平滑筋においてcGMPおよびcAMPを、VIPはcAMPを介して平滑筋弛緩に関与していることを示すと共に、NOおよびVIPはアパミン感受性のK⁺チャンネルを活性化することにより平滑筋細胞膜の過分極と輪走筋弛緩を引き起こし、腸管運動を抑制していることを明らかにした。

以上、本研究は、NOおよびVIPがハムスターの腸管におけるNANC抑制神経伝達物質であり、神経から遊離された（内因性）NOはVIP作動性神経に作用して腸管運動を制御することを初めて明らかにしたことに大きな意義を持っている。この研究は、消化管における蠕動のメカニズム解明に有益な知見を提供するものと思われる。

以上について、審査委員は、全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

- 1) 題 目 Cyclic GMP-associated apamin-sensitive nitrergic slow inhibitory junction potential in the hamster ileum
著 者 名 Matsuyama Hayato, Thapaliya Sharada and Takewaki Tadashi
学術雑誌名 British Journal of Pharmacology
巻・号・頁・発行年：128(3)：380～386, 1999

- 2) 題 目 Peptidergic and nitrenergic inhibitory neurotransmission in the hamster jejunum: regulation of vasoactive intestinal peptide release by nitric oxide
著 者 名 Matsuyama Hayato, Unno Toshihiro, AbuBakr El-Mahmoudy, Komori Seiichi, Kobayashi Haruo, Thapaliya Sharada and Takewaki Tadashi
学術雑誌名 Neuroscience
卷・号・頁・発行年 : 2002 (in press)

既発表学術論文

- 1) 題 目 ATP released from perivascular nerves hyperpolarizes smooth muscle cells by releasing an endothelium-derived factor in hamster mesenteric arteries
著 者 名 Thapaliya Sharada, Matsuyama Hayato and Takewaki Tadashi
学術雑誌名 The Journal of Physiology
卷・号・頁・発行年 : 521(1) : 191~199, 1999
- 2) 題 目 Bradykinin causes endothelium-independent hyperpolarisation and neuromodulation by prostanoid synthesis in hamster mesenteric artery
著 者 名 Thapaliya Sharada, Matsuyama Hayato and Takewaki Tadashi
学術雑誌名 European Journal of Pharmacology
卷・号・頁・発行年 : 408(3) : 313~321, 2000
- 3) 題 目 Enhancement of ATP release in hindlimb sympathetic perivascular nerve of the golden hamster during hibernation
著 者 名 Saito Hideki, Thapaliya Sharada, Matsuyama Hayato, Nishimura Masakazu and Takewaki Tadashi
学術雑誌名 The Journal of Physiology
卷・号・頁・発行年 : 531(2) : 495~507, 2001
- 4) 題 目 Reversible impairment of endothelium-dependent relaxation in golden hamster carotid arteries during hibernation
著 者 名 Saito Hideki, Thapaliya Sharada, Matsuyama Hayato, Nishimura Masakazu, Toshihiro Unno, Seiichi Komori and Takewaki Tadashi
学術雑誌名 The Journal of Physiology
卷・号・頁・発行年 : 2002 (in press)