

氏名（本（国）籍）	嶋 剛 士（静岡県）
主指導教員氏名	岐阜大学 教授 志 水 泰 武
学 位 の 種 類	博士（獣医）
学 位 記 番 号	獣医博甲第450号
学位授与年月日	平成28年3月14日
学位授与の要件	学位規則第3条第2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	ラット食道の蠕動運動を制御する神経回路に関する研究
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 海 野 年 弘 副査 帯広畜産大学 教 授 石 井 利 明 副査 岩 手 大 学 教 授 木 崎 景一郎 副査 東京農工大学 教 授 渡 辺 元 副査 岐 阜 大 学 教 授 志 水 泰 武

学位論文の内容の要旨

胃や小腸、大腸が平滑筋で構成されているのに対して、食道には横紋筋で構成されている部位が存在する。平滑筋で構成される消化管の運動は、主に壁内に存在する内在神経系によって調節されているが、食道横紋筋の運動は外来神経である迷走神経により制御されている。食道横紋筋部にも良く発達した内在神経系が存在しているものの、その機能は不明であった。近年、摘出食道標本を用いた研究により、カプサイシン感受性神経を含む内在性の神経回路が食道横紋筋運動を抑制的に支配している可能性が示唆されている。しかしながら、中枢から切り離した摘出標本では攣縮様の収縮反応しか誘発できないため、このカプサイシン感受性の神経回路が胃に食物を移送するための蠕動運動に寄与するか否かは、明らかとなっていない。そこで本研究では、カプサイシン感受性感覚神経を起点とする局所神経回路が、食道蠕動運動にどのような役割を果たすか解明することを目的とした。食道の横紋筋部の運動に焦点を当てるため、実験動物として食道全長が横紋筋で構成されるラットを選択している。

第1章では、食道横紋筋部の蠕動運動機能を評価するため、新たに *in vivo* の実験系を作出した。ラットをウレタンで麻酔し、頸部食道と腹部食道にそれぞれカニューレを設置し、内腔を液体で満たして、内腔圧の変化および送り出された液体の量を測定した。食道内腔に4mmHgの圧刺激を加えると、液体の送り出しを伴った食道内圧の変化が引き起こされた。このような反応は、迷走神経を切断すると消失することから、迷走-迷走神経反射によるものであることが確認された。刺激圧を4mmHgから、8mmHgへと上昇させた場合には、内腔液の推送は増加したものの、運動頻度は変化しなかった。また、運動時の圧力の変化を分析したところ、内腔圧の変化量、曲線下面積は増加し、持続時間は変化しなかった。食道内腔への圧刺激の大きさは内腔物の量を反映していると考え、これらの結果は、

食道は嚥下物の量が多いと、蠕動の回数や速さを増やすのではなく、蠕動の強さ（運搬能力）を大きくするという調節を行っていることを示唆している。これは、確実に物質を送るという機能に合致したものであり、作出した *in vivo* 実験系は食道の機能を評価できるものであると考えられる。

第2章では、新生子期にカプサイシンを投与するとカプサイシン感受性神経が選択的に破壊されることを利用し、食道蠕動運動に対するカプサイシン感受性神経の持つ役割について検討した。カプサイシン感受性神経を破壊したラットにおいても、無処置（対照）ラットと同じように蠕動運動が誘発されたが、蠕動運動と連動して上昇する食道内腔圧の持続時間が長いことがわかった。また、無処置ラットにおける内圧の変化が、高い単一のピークを持つものであったのに対し、カプサイシン感受性神経破壊ラットでは、複数の低いピークを持つものであった。これらの結果から、カプサイシン感受性神経破壊により食道筋収縮の統合が阻害され、ゆっくりとした速度の力の弱い蠕動となったものと考えられる。カプサイシン感受性神経を破壊することによって、このような運動パターンの変化がもたらされることに対して、内在性の局所神経回路が働かなくなったこと、あるいは中枢への情報入力途絶えたことの2つの機序が想定された。後者が正しい場合には、無処置ラットでも中枢への入力を遮断する処置を施すと、カプサイシン感受性神経破壊ラットと同様の変化が起こると予想できる。しかし、無処置ラットの脊髄を切断しても運動パターンの変化は再現されなかった。従って、カプサイシン感受性神経は抑制性の内在神経回路を活性化し、特定の食道横紋筋の収縮に抑制をかけることで、食道全長にわたる収縮輪の移動を統合し、力強い蠕動運動を引き起こすように機能しているものと推察される。

第3章では、カプサイシン感受性神経を起点とした抑制性の調節が恒常的に機能しているか否かを、摘出標本を用いた実験で検討した。迷走神経を電気刺激して攣縮様の筋収縮を誘発し、各種パラメーターを無処置ラットとカプサイシン感受性神経破壊ラットとで比較した。カプサイシン感受性神経が恒常的に機能しているならば、両者に差が出るはずだが、刺激電圧、刺激時間、刺激頻度を変化させたときの収縮張力、d-ツボクラリンへの反応、収縮までの潜時に対して、カプサイシン感受性神経の破壊は影響を与えなかった。

以上、本研究では、食道横紋筋部の蠕動運動を評価のできる新規 *in vivo* 実験系を確立し、食道横紋筋による蠕動運動に対するカプサイシン感受性神経を含めた内在神経系の機能的役割を解析した。本研究で得られた結果から、内在神経系が機能することによって個々の食道横紋筋の運動が統合され、力強い蠕動運動が引き起こされることが判明した。これらの作用により、摂取した食物を口腔から胃側へと効率的に運ぶ食道蠕動運動が実現されるものと推察される。これまで食道横紋筋部に存在する内在神経系の役割は不明であったが、本研究によりその一端が解明された。

審 査 結 果 の 要 旨

平滑筋で構成されている消化管の運動は、壁内に存在する内在神経系によって調節されている。一方、食道には横紋筋で構成されている部位が存在し、この部位の運動は外来神経である迷走神経により制御されている。形態学的には食道横紋筋部にも内在神経系が見出されており、何らかの役割を演じていることが予想されているが、不明な点が多く残されているのが現状である。摘出食道標本を用いた研究により、カプサイシン感受性神経を含む内在性の神経回路が食道横紋筋運動を抑制性に支配している可能性が示唆されているものの、この神経回路が胃に食物を移送するための蠕動運動に寄与するか否かは不明である。そこで申請者は、食道の蠕動運動を実験的に誘発できる *in vivo* の実験系を作出し、

カプサイシン感受性感覚神経を起点とする局所神経回路が食道蠕動運動にどのような役割を果たすか解明することを目的として研究を進めた。

横紋筋部の運動に焦点を当てるため、実験動物として食道全長が横紋筋で構成されるラットを選択している。ウレタン麻酔下で、食道にカニューレを設置し、内腔を液体で満たして、内腔圧の変化および胃側へ推送された液体量を測定する実験系を作出した。食道内腔に圧刺激を加えたときに液体の送り出しを伴った食道内圧の変化が記録されること、このような反応が迷走神経を切断すると消失することから、迷走-迷走神経反射によって誘発される蠕動運動であることを確認している。

このように実験的に食道蠕動運動を誘発できる実験系を確立した後に、新生子期にカプサイシンを投与するとカプサイシン感受性神経が選択的に破壊されることを利用し、食道蠕動運動に対するカプサイシン感受性神経の持つ役割について検討した。カプサイシン感受性神経を破壊したラットで食道蠕動運動を誘発したところ、持続時間が長く、複数の低いピークを持つ食道内腔圧の変化が記録された。申請者は、無処置ラットでは持続時間が短く、高い単一のピークを持つ圧変化が記録されることを考慮し、カプサイシン感受性神経を起点とした神経回路が、横紋筋の収縮のタイミングを揃え集中化させ、強い蠕動を誘発するために重要な役割を果たしているとの見解を提示している。

上記のように、申請者は機能が不明であった食道の内在神経系に対して、新規の実験系を整備して詳細な検討を行った。得られた成果は、消化管の内在神経系の機能に新知見を提供するとともに、逆流性食道炎などの病態解明にも示唆を与えるものとして、非常に意義のあるものと認める。

以上について、審査委員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があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Functional roles of capsaicin-sensitive intrinsic neural circuit in the regulation of esophageal peristalsis in rats: in vivo studies using a novel method

著 者 名 : Shima, T., Shiina, T., Naitou, K., Nakamori, H. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : American Journal of Physiology:

Gastrointestinal and Liver Physiology

巻・号・頁・発行年 : 306 (9) : G811-G818, 2014

- 2) 題 目 : Does the capsaicin-sensitive local neural circuit constitutively regulate vagally evoked esophageal striated muscle contraction in rats?

著 者 名 : Shima, T., Shiina, T., Naitou, K., Nakamori, H., Sano, Y. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : The Journal of Physiological Sciences

巻・号・頁・発行年 : In Press

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Contractile responses induced by physalaemin, an analogue of substance P, in the rat esophagus

著 者 名 : Shiina, T., Shima, T., Hirayama, H., Kuramoto, H., Takewaki, T. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : European Journal of Pharmacology

巻・号・頁・発行年 : 628 (1-3) : 202-206, 2010

- 2) 題 目 : Contractile properties of esophageal striated muscle: comparison with cardiac and skeletal muscles in rats

著 者 名 : Shiina, T., Shima, T., Masuda, K., Hirayama, H., Iwami, M., Takewaki, T., Kuramoto, H. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : Journal of Biomedicine and Biotechnology

巻・号・頁・発行年 : Volume 2010 • Article ID 459789 • 7 pages, 2010

- 3) 題 目 : Contrasting effects of ghrelin and des-acyl ghrelin on the lumbo-sacral defecation center and regulation of colorectal motility in rats

著 者 名 : Hirayama, H., Shiina, T., Shima, T., Kuramoto, H., Takewaki, T., Furness, J.B. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : Neurogastroenterology and Motility

巻・号・頁・発行年 : 22 (10) : 1124-1131, 2010

- 4) 題 目 : Inhibitory effects of zingerone, a pungent component of *Zingiber officinale* Roscoe, on colonic motility in rats

著 者 名 : Iwami, M., Shiina, T., Hirayama, H., Shima, T., Takewaki, T. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : Journal of Natural Medicines

巻・号・頁・発行年 : 65 (1) : 89-94, 2011

- 5) 題 目 : Extract of grains of paradise and its active principle 6-paradol trigger thermogenesis of brown adipose tissue in rats

著 者 名 : Iwami, M., Mahmoud, F.A., Shiina, T., Hirayama, H., Shima, T., Sugita, J. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical

巻・号・頁・発行年 : 161 (1-2) : 63-67, 2011

- 6) 題 目 : Neural regulation of esophageal striated muscle in the house musk shrew (*Suncus murinus*)

著 者 名 : Shiina, T., Shima, T., Suzuki, Y., Wörl, J. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical

巻・号・頁・発行年 : 168 (1-2) : 25-31, 2012

- 7) 題 目 : Inhibitory actions of a local neural reflex on propulsive activity of the esophageal striated muscle portion in rats

著 者 名 : Shiina, T., Shima, T., Suzuki, Y. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : Research in Veterinary Science

巻・号・頁・発行年 : 94 (2) : 331-335, 2013

- 8) 題 目 : Actions of probiotics on trinitrobenzenesulfonic acid -induced colitis in rats

著 者 名 : Shiina, T., Shima, T., Naitou, K., Nakamori, H., Sano, Y., Horii, K., Shimakawa, M., Ohno, H. and Shimizu, Y.

学術雑誌名 : BioMed Research International

巻・号・頁・発行年 : Volume 2015 • Article ID 528523 • 8 pages, 2015