

氏名（本（国）籍）	内 藤 清 惟（愛知県）
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）
学位記番号	獣医博甲第464号
学位授与年月日	平成28年9月26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	脊髄排便中枢を介する大腸運動の制御機構に関する研究
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 河 津 信一郎 副査 岩 手 大 学 教 授 山 本 欣 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

消化管の壁内には、第二の脳と言われるほどよく発達した内在神経系が存在し、内容物の組成と量に合わせて消化管の機能を調節している。内在神経系が中枢神経系と独立して機能できることと関連して、これまでの研究では内在神経系の役割を解明することに主眼が置かれていた。近年、過敏性腸症候群（IBS）のように中枢神経系の影響を大きく受けた結果として生じる排便障害が知られるようになり、中枢神経系による排便制御機構の解明が求められるようになってきた。そこで本研究では、中枢神経系による大腸運動の調節機構を解明することを目的とした。大腸運動の調節に寄与する中枢は、腰仙髄部の脊髄排便中枢と脳の上脊髄排便中枢があると言われているが、特に不明な点が多い脊髄排便中枢の機能に着目した。

実験には、SD 系統の雄ラットを用いた。中枢神経系との神経性および液性の連絡を保った状態で大腸の運動を評価するために、*in vivo* で実験を行った。ケタミンおよび α -クロラロースによって麻酔したラットの遠位結腸と肛門にカニューレを挿入し、内腔を生理食塩水で満たした。結直腸の収縮による内腔圧の変動と排出口から送り出される内容液の量を測定し、大腸運動を評価した。試薬は脊髄腰仙髄部（L6-S1）、大腿静脈内および結直腸内に設置したカテーテルを通して投与した。

第1章では、脊髄排便中枢に作用し大腸運動を亢進させることが報告されているグレリンに着目し、脊髄のグレリン感受性神経の性質を検討した。視床下部弓状核に存在するグレリン感受性神経は、ニューロペプチド Y（NPY）を含み、AMP キナーゼの活性化で興奮すること、レプチンで抑制されることが知られている。しかし、脊髄排便中枢へのグレリン投与によって誘発される大腸運動の亢進は、AMP キナーゼ賦活薬の AICAR または NPY の投与によって再現されなかった。また、レプチンまたは NPY Y1 受容体拮抗薬の脊髄内投与によって抑制されないことから、脊髄排便中枢のグレリン感受性神経の性質は、視床下部弓状核のものとは大きく異なることが明らかになった。

第2章では、グレリン以外の神経伝達物質が脊髄排便中枢に作用して大腸運動を促進す

るか否か検討した。ドパミンを脊髄排便中枢に投与したところ、グレリンと同様に大腸運動が亢進した。このドパミンの作用は、胸部脊髄切断では消失しないが、テトロドトキシンによる脊髄排便中枢の不活性化、または骨盤神経の両側切断によって消失した。さらに、この作用はD2様ドパミン受容体の拮抗薬で阻害され、作動薬で再現された。これらの結果から、ドパミンが脊髄排便中枢のD2様ドパミン受容体に作用して、大腸運動を促進することが明らかになった。脊髄のドパミンは、痛みの制御に関わる下行性疼痛抑制経路の神経伝達物質の一つであることから、痛みの制御系が大腸運動の調節に関わる可能性が示唆された。

第3章では、ドパミンと同様に下行性疼痛抑制経路の主要な伝達物質であるノルアドレナリンも大腸運動制御に関与するかを検討した。ノルアドレナリンを脊髄排便中枢に投与すると、大腸運動が亢進した。この作用は $\alpha 1$ アドレナリン受容体を介して発現することが、薬理的な実験から明らかになった。このことから、脊髄での痛みの伝達を調節している下行性疼痛抑制経路が、脊髄排便中枢での大腸運動制御にも関与している可能性が支持された。

第4章では、下行性疼痛抑制経路が大腸運動を促進しているかを検討した。侵害刺激を与える目的でカプサイシンを結直腸の管腔内に投与したところ、大腸運動が亢進した。この作用は、上脊髄排便中枢との連絡路となる胸部脊髄を切断することにより消失したことから、カプサイシンによる侵害刺激が脊髄および脳を介した経路を活性化していることが示された。さらに、この反応が脊髄排便中枢へ投与したD2様ドパミン受容体の拮抗薬で阻害されたことから、大腸への侵害刺激によってドパミン作動性の下行性疼痛抑制経路が活性化し、脊髄排便中枢にドパミンが放出されることで、大腸運動が促進されていることが示された。このことから、下行性疼痛抑制経路が痛みの情報を脊髄で制御するとともに、大腸運動にも影響を与えていることが判明した。

以上のように、本研究では脊髄排便中枢に着目することで、新たにドパミンとノルアドレナリンが大腸運動促進作用をもつことを発見し、上脊髄排便中枢が下行性疼痛抑制経路を介して脊髄排便中枢を制御していることを明らかにした。痛みと大腸運動の関連が明らかになったことから、IBSのような腹部の痛みを伴う排便障害の病態に関して、新たな病態モデルを提唱するものである。

審 査 結 果 の 要 旨

消化管運動の神経性調節機構に関する研究は、消化管壁内に存在する内在神経系の作用解明が主体となり、中枢神経系の役割についてはあまり注目されてこなかった。排便機能と関連する中枢としては、脊髄腰仙髄部にある脊髄排便中枢と脳にある上脊髄排便中枢の二つが知られているものの、詳細な制御機構は明らかになっていない。そこで、申請者は脊髄排便中枢に着目して、中枢神経系による排便調節機構を解明することを目的として研究を進めた。

実験動物としてラットを選択し、中枢神経系との連絡を保った状態で大腸運動を評価できる *in vivo* の実験系を用いた。第1章では、脊髄排便中枢に作用することが報告されているグレリンに着目し、脊髄のグレリン感受性神経の性質を検討した。脊髄腰仙髄部(L6-S1)に薬剤を投与する手技を用いて検討し、脊髄排便中枢のグレリン感受性神経の性質は、視床下部弓状核のものとは大きく異なることを明らかにした。

次に、グレリン以外の神経伝達物質が脊髄排便中枢に作用して大腸運動を促進するか否か検討した。第2章では、ドパミンが脊髄の神経を活性化させ、骨盤神経を経由して大腸運動を亢進させること、この作用はD2様ドパミン受容体を介することを明らかにした。ま

た第3章では、ノルアドレナリンが脊髄排便中枢の $\alpha 1$ アドレナリン受容体に作用して大腸運動を促進することを解明した。脊髄におけるドパミンとノルアドレナリンは、痛みの制御に関わる下行性疼痛抑制経路の神経伝達物質であることから、痛みの制御系が大腸運動の調節に関わる可能性を提唱した。

最後に、下行性疼痛抑制経路が痛みの制御のみならず大腸運動の調節にも寄与するという、申請者自身が提唱した考えを立証する実験を行った。第4章では、結直腸の管腔内侵害刺激を与えることによって大腸運動が亢進するか検証した。カプサイシンによる侵害刺激を与えると大腸運動が活発になること、この作用は上脊髄排便中枢との連絡路となる胸部脊髄を切断することにより消失すること、脊髄排便中枢へD2様ドパミン受容体の拮抗薬を投与しておくとう作用が消失することが示された。これらのことから、下行性疼痛抑制経路が、痛みだけでなく大腸運動も調節していることが明らかになった。

上記のように、申請者は脊髄排便中枢に着目することで、新たにドパミンとノルアドレナリンが大腸運動促進作用をもつことを発見し、上脊髄排便中枢が下行性疼痛抑制経路を介して脊髄排便中枢を制御していることを明らかにした。痛みと大腸運動の関連が明らかになったことから、過敏性腸症候群のような腹部の痛みを伴う排便障害の病態に関して、新たな病態モデルを提唱するものとして、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 : Characterization of ghrelin-sensitive neurons in the lumbosacral defecation center in rats
著 者 名 : Naitou, K., Shiina, T., Sugita, R., Nakamori, H. and Shimizu, Y.
学術雑誌名 : Neurogastroenterology and Motility
巻・号・頁・発行年 : 27 (1) : 147-155, 2015
- 2) 題 目 : Colokinetic effect of noradrenaline in the spinal defecation center: implication for motility disorders
著 者 名 : Naitou, K., Shiina, T., Kato, K., Nakamori, H., Sano, Y. and Shimizu, Y.
学術雑誌名 : Scientific Reports
巻・号・頁・発行年 : 5 (12623) : doi: 10.1038/srep12623, 2015
- 3) 題 目 : Stimulation of dopamine D2-like receptors in the lumbosacral defecation centre causes propulsive colorectal contractions in rats
著 者 名 : Naitou, K., Nakamori, H., Shiina, T., Ikeda, A., Nozue, Y., Sano, Y., Yokoyama, T., Yamamoto, Y., Yamada, A., Akimoto, N., Furue, H. and Shimizu, Y.
学術雑誌名 : The Journal of Physiology
巻・号・頁・発行年 : In Press

既発表学術論文

- 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 : Regulation of longitudinal esophageal motility in the house musk shrew (*Suncus murinus*)

著者名 : Shiina, T., Naitou, K., Nakamori, H., Sakai, H. and Shimizu, Y.
学術雑誌名 : Autonomic Neuroscience
巻・号・頁・発行年 : 189 : 37-42, 2015

- 3) 題 目 : Hibernation-specific alternative splicing of the mRNA encoding cold-inducible RNA-binding protein in the hearts of hamsters

著者名 : Sano, Y., Shiina, T., Naitou, K., Nakamori, H. and Shimizu, Y.
学術雑誌名 : Biochemical and Biophysical Research Communications
巻・号・頁・発行年 : 462 (4) : 322-325, 2015

- 4) 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 : 2015 (528523) : doi: 10.1155/2015/528523, 2015

- 5) 題 目 : Site and mechanism of the colokinetic action of the ghrelin receptor agonist, HM01

著者名 : Naitou, K., Mamerto, T.P., Pustovit, R.V., Callaghan, B., Rivera, L.R., Chan, A.J., Ringuet, M.T., Pietra, C. and Furness, J.B.
学術雑誌名 : Neurogastroenterology and Motility
巻・号・頁・発行年 : 27 (12) : 1764-1771, 2015

- 6) 題 目 : Inhibitory action of hydrogen sulfide on esophageal striated muscle motility in rats

著者名 : Shiina, T., Shima, T., Horii, K., Naitou, K., Nakamori, H., Sano, Y. and Shimizu, Y.
学術雑誌名 : European Journal of Pharmacology
巻・号・頁・発行年 : 771 : 123-129, 2016

- 7) 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 : 66 (2) : 105-111, 2016