

氏名(本(国)籍)	中 森 裕 之 (岐阜県)		
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496号		
学位授与年月日	平成30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	下行性セロトニン神経による脊髄排便中枢を介した大腸運動制御に関する研究		
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 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

排便は、橋を中心とした上脊髄排便中枢と腰仙髄部の脊髄排便中枢によって制御されると考えられているが、両中枢の機能的な関連は明らかとなっていない。最近、ノルアドレナリンとドパミンを脊髄排便中枢に投与すると大腸運動が亢進することが明らかとなり、下行性モノアミン神経が両中枢を繋ぐ経路となることが示唆されている。セロトニン(5-HT)も脳から脊髄へ投射するモノアミン類のひとつである。そこで本研究では、脊髄排便中枢におけるセロトニンの作用を追究し、中枢神経系による大腸運動の制御機構を解明することを目的とした。

ケタミンと α -クロラロースにより麻酔を施したラットの結腸と肛門にカニューレを挿入し、大腸内腔圧変化の記録と蠕動運動によって送り出された液量を測定することにより、大腸の運動性を評価した。脳の神経核を刺激する実験では、脳固定装置を用いるため、ウレタンで麻酔したラットの肛門から大腸バルーンを挿入する方法で大腸運動を測定した。

第1章では、脊髄排便中枢におけるセロトニンの作用を検討した。腰仙髄部に設置したカニューレよりセロトニンを投与すると、水の送り出しを伴う大腸内腔圧の激しい変動がみられた。5-HT₂および5-HT₃受容体作動薬をそれぞれ脊髄腔内に投与したところ、セロトニンの大腸運動亢進作用が再現された。この結果に一致して、5-HT₂もしくは5-HT₃受容体の拮抗薬を前投与するとセロトニンの亢進反応は減弱し、両拮抗薬を同時投与すると反応は完全に消失した。セロトニンによる大腸運動の亢進反応は、第8胸髄を切断して脊髄排便中枢と脳との連絡を絶った状態でも引き起こされたが、副交感神経系の骨

盤神経を切除すると消失した。これらの結果から、セロトニンが脊髄排便中枢の 5-HT₂ と 5-HT₃ 受容体に作用すると骨盤神経を介して大腸運動が亢進することが明らかとなった。

第 2 章では、大腸運動を促進させる作用のあるセロトニン、ノルアドレナリン、ドパミンについて、脊髄排便中枢における相互作用を検討した。大腸の収縮活動には限界があり、これらのモノアミンの相加作用や相乗作用を評価することは困難であると考えられたので、単独では無効となる用量のモノアミン類を 3 つ同時に投与する実験と、拮抗薬を入れ替える実験を行った。単独では大腸運動の亢進反応が引き起こされない用量で 3 つのモノアミン類を同時に脊髄へ投与したところ、大腸運動の亢進反応が引き起こされた。拮抗薬を入れ替える実験では、セロトニンの受容体拮抗薬を前投与することで、ノルアドレナリンとドパミンの反応は両方とも消失した。さらに、セロトニンの反応は、ノルアドレナリン受容体拮抗薬では抑制されなかったが、ドパミン受容体拮抗薬により減弱した。なお、ドパミンとノルアドレナリンの拮抗薬を入れ替えると、どちらの場合でも反応は消失した。これらのことから、脊髄排便中枢には、モノアミン類による相互作用があることが示された。それぞれの受容体の活性化が、脊髄排便中枢の活性化に必要なことから、これらの受容体は同じ神経に発現して相互作用を発揮している可能性がある。

第 3 章では、脊髄にセロトニン作動性神経を投射している延髄縫線核群が、大腸運動の制御に関与しているかどうかを検討した。はじめに、延髄縫線核群（不確縫線核、大縫線核、淡蒼縫線核）を電気刺激する実験を行ったが、大腸運動に変化は認められなかった。縫線核の神経を電氣的に刺激する条件では、セロトニンのみならず γ-アミノ酪酸（GABA）も放出されるため、これが脊髄排便中枢を不活化させている可能性が考えられた。そこで、脊髄に GABA_A 受容体の拮抗薬を前投与した状態で延髄縫線核群を電気刺激したところ、大腸運動の亢進が観察された。この縫線核による亢進反応は、5-HT₂ 受容体と 5-HT₃ 受容体の拮抗薬の脊髄腔内投与により抑制され、選択的セロトニン再取込阻害薬の脊髄腔内投与により増強された。さらに、骨盤神経を切除すると、亢進反応は消失した。これらの結果から、延髄縫線核群は、脊髄排便中枢の 5-HT 受容体を活性化させ、骨盤神経を介して大腸運動を制御していることが明らかとなった。

第 4 章では、大腸管腔内の侵害刺激が下行性セロトニン神経を活性化させて大腸運動を亢進させるか検討した。大腸管腔内にカプサイシンを投与し侵害刺激を加えたところ、大腸運動が亢進した。このカプサイシンによる亢進反応は、脊髄腔内に投与した 5-HT₂ 受容体と 5-HT₃ 受容体拮抗薬により抑制された。この結果から、カプサイシンの作用は、脊髄のセロトニンを介していることが明らかとなった。さらに、脊髄排便中枢に投射する下行性セロトニン神経が内在的に機能することが示された。

本研究によって、脊髄排便中枢で作用する神経伝達物質として、新たにセロトニンが明らかとなった。また、延髄縫線核群が上脊髄排便中枢のひとつであり、この部位から下行性セロトニン神経によって供給されるセロトニンが脊髄排便中枢を活性化し、大腸運動を亢進させることが示された。

審査結果の要旨

排便を制御する中枢神経系は排便中枢と呼ばれ、橋を中心とした脳と腰仙髄部の脊髄に存在する。これまでに、脳から脊髄に放出されるモノアミン神経伝達物質のノルアドレナリンとドパミンを脊髄腰仙髄部に投与すると、大腸運動が亢進することが明らかとなっている。セロトニンも脳から脊髄へ投射するモノアミン類のひとつである。申請者は、脊髄排便中枢におけるセロトニンの作用を追究し、中枢神経系による大腸運動の制御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、脊髄排便中枢を介した大腸運動制御におけるセロトニンの効果を検討した。脊髄排便中枢の 5-HT₂ と 5-HT₃ 受容体にセロトニンが作用すると骨盤神経を介して大腸運動が亢進することを明らかとした。

第2章では、大腸運動を促進させる作用のあるセロトニン、ノルアドレナリンおよびドパミンを脊髄排便中枢に同時投与する実験を行い、これらのモノアミン類に相互作用があることが明らかとなった。

第3章では、脊髄にセロトニン作動性神経を投射している延髄縫線核群を電気刺激する実験を行った。その結果、延髄縫線核群は脊髄排便中枢の 5-HT 受容体の活性化を介して、大腸運動の制御に関与することが示された。

第4章では、大腸管腔内の侵害刺激が下行性セロトニン神経を活性化させて大腸運動を亢進させるか検討した。大腸管腔内に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、この作用は脊髄のセロトニンを介していることを明らかにし、脊髄排便中枢に投射する下行性セロトニン神経が内在的に機能することを証明した。

これらの結果から、脊髄排便中枢で作用する神経伝達物質として、新たにセロトニンが明らかとなり、さらにこのセロトニンを放出する神経は延髄縫線核群から下行性に投射される神経であることが示された。

上記のように、申請者は脊髄排便中枢のセロトニンに着目することで、延髄縫線核群が脊髄排便中枢を介して大腸運動を制御していることを発見した。脊髄の排便中枢のメカニズムを解明するにとどまらず、上脊髄排便中枢の役割の一端を解明するに至った研究として、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 : Exogenous serotonin regulates colorectal motility via the 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the spinal cord of rats
著 者 名 : Nakamori, H., Naitou, K., Sano, Y., Shimaoka, H., Shiina, T. and Shimizu, Y.
学術雑誌名 : Neurogastroenterology and Motility
巻・号・頁・発行年 : In Press
- 2) 題 目 : Medullary raphe nuclei activate the lumbosacral defecation center

through the descending serotonergic pathway to regulate colorectal motility in rats

著者名：Nakamori, H., Naitou, K., Horii, Y., Shimaoka, H., Horii, K., Sakai, H., Yamada, A., Furue, H., Shiina, T. and Shimizu, Y.

学術雑誌名：The American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology

卷・号・頁・発行年：In Press

既発表学術論文

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

卷・号・頁・発行年：27 (1) : 147-155, 2015

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: Basic and Clinical

卷・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

卷・号・頁・発行年：462 (4) : 322-325, 2015

4) 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

卷・号・頁・発行年：5 : 12623, 2015

5) 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

卷・号・頁・発行年：2015 : 528523, 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

卷・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

8) 題 目：Stimulation of dopamine D2-like receptors in the lumbosacral defaecation 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：594 (15) : 4339-4350, 2016

9) 題 目：Serotonin-induced contractile responses of esophageal smooth muscle in the house musk shrew (*Suncus murinus*)

著者名：Shiina, T., Naitou, K., Nakamori, H., Suzuki, Y., Horii, K., Sano, Y., Shimaoka, H. and Shimizu, Y.

学術雑誌名：Neurogastroenterology and Motility

巻・号・頁・発行年：28 (11) : 1641-1648, 2016