

氏名	吉村 真
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記号番号	博理工甲第 1022 号
学位授与年月日	平成 28 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	胃内酸性化によるモチリン誘発 PhaseIII 収縮抑制機構
論文審査委員	委員長 教授 坂井 貴文 委員 教授 小林 哲也 委員 教授 菅沼 雅美 委員 准教授 坂田 一郎

## 論文の内容の要旨

モチリンは空腹期伝播性収縮運動（MMC）の phase III 収縮を制御している消化管ホルモンである。空腹期において、血中モチリン濃度は MMC の周期と同期して推移し、血中モチリン濃度のピーク値が胃の phase III 収縮の後半と一致すること、モチリンの静脈内投与により胃に phase III 様収縮が惹起されること、モチリンの抗血清やモチリン受容体アンタゴニストの投与により胃の自発性 phase III 収縮の出現が遅延することなどが知られている。それ故にモチリンは、空腹期における胃の MMC 発現に必須であると考えられる。一方、空腹期運動に影響を及ぼす因子として胃酸が知られている。これまでに、ヒトやイヌを用いた研究において、胃内が強酸性の状況下では、モチリンの血中濃度が高いにも関わらず胃に自発性 phase III が出現しないこと、モチリンを静脈内に投与しても胃に phase III 様収縮が惹起されないことなどから、胃内強酸性条件下において、モチリンの胃収縮作用を抑制する機構が存在することが考えられる。しかし、その抑制機構の詳細は不明であり、モチリンの生理作用を理解するためには、胃内強酸性条件下でのモチリンの胃収縮作用の抑制機構の解明が必須である。そこで本研究は、モチリン及びその受容体が存在し、ヒトと同様な胃運動パターンを示すスunksを用い、胃内酸性化によるモチリン誘発 phase III 収縮に対する抑制機構を明らかにすることを目的とした。

実験には、胃運動を測定するためにひずみゲージフォーストランスデューサを胃体部に縫着したスunksを使用し、スunksの胃運動は意識下、無拘束条件下で測定した。まず、ヒトやイヌと同様にスunksにおいても胃内酸性化により自発性 phase III 収縮の出現が遅延すること、モチリンによる phase III 様収縮が抑制されることを確認した。胃酸分泌刺激因子であるヒスタミンを持続静注した結果、ヒスタミンの持続静注は、自発性 phase III 収縮の出現を阻害し、MMC サイクルを遅延させた。また、ヒスタミンの持続静注は、モチリンによる phase III 様収縮刺激作用を有意に抑制した。さらに、胃内酸性化とモチリンの phase III 様収縮刺激作用との関係を明らかにするために生理食塩水（pH6.8）及び pH1.5-pH2.5 生理食塩水を胃内に持続注入した。その結果、生理食塩水及び pH2.5 生理食塩水の持続注入は、モチリンによる phase III 様収縮を抑制しなかったが、pH2.0 以下の生理食塩水の胃内持続注入は、モチリンによる phase III 様収縮を有意に抑制した。一方、pH2.0 生理食塩水の十二指腸内持続注入は、モチリンによる phase III 様収縮を抑制しなかった。これらの結果から、ヒトやイヌと同様にスunksにおいても胃内酸性化によりモチリンによる

phase III 様収縮が抑制されること、その抑制メカニズムとして、十二指腸ではなく胃が重要であるということが示された。

次に、胃内酸性化のモチリン誘発 phase III 収縮の抑制機構への迷走神経の関与を明らかにするため、unksに迷走神経切除術を施した。偽手術を施したunksでは、pH2.0 生理食塩水の胃内持続注入は、モチリンによる phase III 様収縮を有意に抑制した。一方、腹腔内食道レベルでの全迷走神経離断を行ったunksでは、胃内酸性化によるモチリン誘発 phase III 収縮に対する抑制作用が完全に消失した。さらに胃内酸性化と迷走神経の関係を明らかにするために、胃内酸性化により迷走神経が活性化されるかどうか、求心性迷走神経の投射部位である延髄孤束核の c-Fos 産生量を免疫組織化学法により検討した。その結果、偽手術を施したunksにおいては、pH2.0 生理食塩水の胃内持続注入した群では、生理食塩水を持続注入した群と比較して延髄孤束核の c-Fos 免疫陽性細胞数が有意に増加した。一方、迷走神経切除術を施したunksにおいては、生理食塩水及び pH2.0 生理食塩水を持続注入した両群において、延髄孤束核の c-Fos 免疫陽性細胞数に差は認められなかった。これらの結果から、胃内酸性化は迷走神経を介してモチリン誘発 phase III 収縮を抑制することが強く示唆された。

また、胃内の酸感知機構を明らかにするために、正常unksの胃、小腸及び迷走神経下神経節から total RNA を抽出し、RT-PCR 法により酸センサーである transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) の mRNA 発現を検討した。その結果、胃前庭部の筋層及び粘膜層、迷走神経下神経節で TRPV1 mRNA の発現を確認したが、小腸ではその発現を確認できなかった。さらに、胃内酸性化によるモチリン誘発 phase III 収縮の抑制作用に対する TRPV1 の関与を明らかにするため、TRPV1 アンタゴニストである capsazepin を前処置後、pH2.0 生理食塩水の持続注入によるモチリン誘発 phase III 収縮に対する抑制作用を検討した。その結果、capsazepin の前処置は、胃内酸性化によるモチリン誘発 phase III 収縮の抑制作用を完全に阻害し、胃内酸性化によるモチリン誘発 phase III 収縮の抑制には TRPV1 が関与していることが示された。

以上まとめると、胃内酸性化は迷走神経を介してモチリンの phase III 収縮刺激作用を抑制しているということが明らかとなり、胃内での酸検知機構として、酸センサーでもあるカプサイシン受容体 TRPV1 が重要な働きをしていることが示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

吉村 真氏（申請者）の提出した学位論文について、本論文の審査委員会は平成 28 年 2 月 8 日に理学部 84 番教室において公開で発表会を開催し、詳細な質疑を行って内容を審査した。以下に、審査結果の概要を示す。

空腹期の胃では伝播性収縮運動（migrating motor complex; MMC）と呼ばれる胃から下部消化管へと伝播する収縮運動が起こる。MMC は、phase I、phase II 及び phase III の 3 相から構成され、ヒトやイヌでは約 100 分間隔で周期的に出現する。一方、MMC と密接に関連する消化管ホルモンの一つとしてモチリンが知られている。モチリンは、空腹期において十二指腸や空腸から分泌され、モチリンの血中濃度が胃の phase III 収縮後半又は終了後にピーク値となり、静脈内投与したモチリンが胃に phase III 様収縮を惹起することなどから、胃の phase III 収縮に重要であると考えられている。一方、胃内 pH が強酸性の条件下ではモチリンの胃収縮作用が抑制される機構が存在することが示唆されてきた。これまでに、胃内 pH とモチリンの胃収縮作用に関する研究は、ヒトやイヌで行われてきたが、ヒトやイヌを用いる研究は倫理的な制約があることから、進展していなかった。また、実験動物として頻繁に用いられるラット及びマウスのモチリン及びその受容体の遺伝子が偽遺伝子化されていることから、モチリンの生理作用の研究にラット及びマウスを使用することができなかった。申請者の所属研究室の先行研究において、モチリンの消化管運動研究に有用な実験動物としてunksが見出されており、申請者はunksを用いて胃内酸性化によるモチリン誘発 phase III 収縮抑制機構を証明するため、胃内 pH とモチリンの胃収縮誘発作用に関する一連の研究を行っている。本論に述べられている主要な研究成果は以下の通りである。

第一章では、空腹期胃収縮運動におけるモチリンの役割、本論文の着想に至った空腹期胃収縮運動及びモチリンの胃収縮誘発作用に対する胃内 pH の役割について詳細に記述している。さらに、胃内酸性化によるモチリン誘発性胃収縮抑制機構に関する研究が遅延している理由と、モチリンによる消化管機能研究のための食虫目unksの有用性と本研究の目的と仮説について説明している。

第二章では、胃内酸性化がモチリンの胃収縮運動を抑制することを示している。無麻酔無拘束消化管運動測定系を用いて、空腹期のunksでは胃に自発性 phase III が 100 分間隔で出現すること及び合成unksモチリン（100ng/kg）の頸静脈内投与が自発性 phase III 収縮と同様な phase III 様収縮を惹起することを示している。ヒスタミン（1mg/kg）の頸静脈内持続静注は自発性 phase III の出現を抑制し、MMC サイクルを遅延させた。また、ヒスタミンの頸静脈内持続静注はモチリンによる phase III 様収縮刺激作用を有意に抑制し、胃酸がモチリンの胃収縮運動を抑制している可能性を示した。次に、申請者は胃内酸性化によるモチリンの胃収縮運動の抑制と胃内 pH の関係に着目し、酸性生理食塩水（pH1.5、2.0 及び 2.5）の胃内持続投与のモチリンによる胃収縮運動に対する影響を検討している。その結果、pH1.5 及び pH2.0 生理食塩水の胃内投与はモチリンによる phase III 様収縮刺激作用を有意に抑制することを示した。一方、pH2.0 生理食塩水の十二指腸内への持続投与は、モチリンによる胃収縮運動には影響しないことを明らかにしている。以上の結果より、申請者はモチリンによる胃収縮運動の抑制には、十二指腸ではなく胃の pH が重要であり、迷走神経系が関与する可能性を示している。

第三章では、胃内酸性化によるモチリン胃収縮運動の抑制機構の解明を目的に、申請者はまず、迷走神経切除の胃内酸性化によるモチリン胃収縮運動の抑制作用への影響を第2章の運動測定系を用いて検討している。偽手術unksにおいて、pH2.0生理食塩水の胃内持続投与はモチリンの胃収縮作用を抑制した。一方、迷走神経切除unksにおいて、モチリンは、生理食塩水（pH6.8）及びpH2.0生理食塩水の胃内投与群の両群で自発性 phase III 収縮と同様な phaseIII 様収縮を惹起し、pH2.0生理食塩水の胃内持続投与によるモチリン誘発性胃収縮運動の抑制作用が迷走神経切除により完全に阻害されることを明らかにした。また、申請者は、塩酸の胃内投与が延髄孤束核の神経活動マーカーである c-Fos タンパク質の免疫陽性細胞数を増加させることに着目し、pH2.0生理食塩水の胃内持続投与の延髄孤束核 c-Fos タンパク質免疫陽性細胞数に対する影響を検討している。その結果、pH2.0生理食塩水の胃内持続投与は、生理食塩水（pH6.8）の胃内投与群と比較して、偽手術unksの延髄孤束核では c-Fos タンパク質の免疫陽性細胞数が亢進するが、迷走神経切除unksの延髄孤束核では c-Fos タンパク質の免疫陽性細胞数は変化せず、pH2.0生理食塩水の胃内持続投与が延髄孤束核の神経活動を活性化することを明らかにした。これらの結果より、申請者は、胃内酸性化によるモチリンの胃収縮作用の抑制には迷走神経が関与していると結論している。さらに、申請者は、胃内の酸を感知する分子として transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) に着目し、TRPV1 mRNA が胃前庭部の平滑筋及び粘膜層及び迷走神経下神経節には発現するが、胃底部、胃体部及び十二指腸では発現しないことを明らかにした。また、TRPV1 アンタゴニストである capsazepin の前処置が、pH2.0生理食塩水の胃内持続投与によるモチリン誘発性胃収縮運動の抑制作用を完全に阻害することを見出した。以上の結果は、胃内での酸感知に酸センサーでもあるカプサイシン受容体 TRPV1 が重要な役割を果たしていることを示唆している。

以上、本論文によって、unksにおいて胃内酸性化によるモチリン誘発性胃収縮の抑制機構を明らかにした。これらの結果は、これまで不明であった胃内の低 pH がモチリンの胃収縮作用を抑制する機構を明らかにするとともに、胃内酸性化がモチリンの胃収縮作用を抑制する意義として、胃内の低 pH がモチリンによる胃収縮運動を阻害することで、空腹期に分泌された胃酸が過剰に十二指腸に流入するのを抑制して十二指腸粘膜の損傷を妨げる役割を果たしていることを示唆する。なお、上記の内容は査読付き国際学術専門誌に発表している。これらの成果から、本審査委員会は本学位論文を博士（理学）の学位を授与するに値するものと判断し、合格と判定した。