

氏 名 (生年月日) うつ み だい ち
 内 海 大 知 (1990 年 2 月 5 日)

学 位 の 種 類 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 博 第 168 号

学位授与の日付 2018 年 3 月 17 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学 位 論 文 題 目 炎症性腸疾患の病態におけるセロトニン/5-HT₃ 受容体およびサブスタン
 ス P/NK1 受容体の役割の解明

論 文 審 査 委 員 (主査) 教 授 加 藤 伸 一

 (副査) 教 授 中 田 徹 男

 (副査) 准教授 藤 井 正 徳

論 文 内 容 の 要 旨

序章

炎症性腸疾患 (IBD) は、再発と寛解を繰り返す慢性炎症疾患であり、近年我が国でも患者数は増加の一途を辿っている。しかし、その病因および病態は未だ不明な部分が多く、治療法の確立も十分とは言えないのが現状である。

セロトニン (5-HT) は、中枢や末梢において生合成される生理活性アミンであり、神経伝達や血小板凝集、消化管機能などの調節に関与している。生体内の 5-HT のほとんどが消化管に存在しているが、5-HT の消化管における役割については、運動や分泌機能の調節などが知られているだけである。Ghia et al. (2009) は、5-HT 合成酵素である tryptophan hydroxylase-1 遺伝子欠損マウスでは実験的大腸炎が著明に抑制されることを報告した。しかし、大腸炎の病態における 5-HT の役割については、5-HT 受容体サブタイプの関連を含めて不明である。

サブスタンス P (SP) は中枢または末梢に存在する神経ペプチドであり、消化管においては、運動や上皮機能の調節、炎症・免疫応答などに関与することが知られている。SP が IBD の病態に関与することは以前にも報告されているが、5-HT との関連については不明である。

本研究では、IBD の代表的な病態モデルであるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘起マウス大腸炎モデルを用いて、大腸炎の病態における 5-HT/5-HT₃ 受容体および SP/ニューロキニン 1 (NK1) の役割について検討した。

第 1 章 DSS 誘起マウス大腸炎の病態における 5-HT/5-HT₃ 受容体の役割

IBD の病態における 5-HT/5-HT₃ 受容体の役割を明らかにするため、マウス DSS 誘起大腸炎に対する 5-HT₃ 受容体拮抗薬の効果を検討した。2.5% DSS 溶液の 10 日間の自由飲水投与は、顕著な体重減少および下痢・下血を誘起し、10 日目には好中球浸潤の指標である大腸粘膜ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性の上昇および大腸の短縮を伴う重篤な大腸炎を惹起した。5-HT₃ 受容体拮抗薬であるラモセトロン (0.01-0.1 mg/kg) の 1 日 2 回の経口投与は、DSS 処置による体重減少および下痢・下血、さらには 10 日目における大腸の短縮および MPO 活性の上昇を伴う大腸炎を用量依存的かつ有意に抑制した。同様な抑制効果は、他の 5-HT₃ 受容体拮抗薬であるオンダンセトロン (5 mg/kg) の 1 日 2 回の経口投与でも観察された。また、DSS 処置 7 日目には大腸粘膜における誘導型一酸化窒素合成酵

素 (iNOS)、TNF- α 、INF- γ および IL-17 発現の増大を惹起したが、これらの増大もまたラモセトロン (0.1 mg/kg) およびオンダンセトロン (5 mg/kg) の投与により有意に抑制された。DSS 処置 7 日目の大腸粘膜では、5-HT 含有細胞 (EC 細胞) および 5-HT₃ 受容体陽性神経の著明な増加が観察された。5-HT₃ 受容体陽性神経の同定を行ったところ、正常粘膜においては、5-HT₃ 受容体のほとんどは Vascular acetylcholine transporter (VACht) 陽性コリン作動神経に発現していたが、大腸炎発症時には SP 陽性一次求心性知覚神経において著明に発現が増大した。以上の結果より、DSS 誘起大腸炎の病態において、5-HT/5-HT₃ 受容体が関与していることが判明した。5-HT は大腸炎発症時には、一次知覚神経に発現する 5-HT₃ 受容体の活性化により SP 遊離を促進し、炎症性メディエーター発現の増大を介して大腸炎の病態の進展・増悪に寄与するものと推察される。

第2章 DSS 誘起マウス大腸炎の病態における SP/NK1 受容体の役割

第1章において、大腸炎の病態において、5-HT が一次知覚神経に発現する 5-HT₃ 受容体の活性化により SP 遊離を促進する可能性を示した。そこで、本章では DSS 誘起マウス大腸炎の病態における SP/NK1 受容体の役割および 5-HT/5-HT₃ 受容体との関連について検討した。5-HT₃ 受容体拮抗薬と同様に、NK1 受容体拮抗薬であるアプレピタント (1 および 3 mg/kg) の 1 日 2 回の腹腔内投与は、大腸炎の病態を用量依存的かつ有意に抑制した。また、DSS 処置による大腸粘膜 MPO 活性の上昇および各種炎症性メディエーター発現の増大もまたアプレピタントの投与により有意に抑制された。DSS 処置による大腸粘膜における SP 陽性一次求心性知覚神経ならびに SP 含量の増加は、ラモセトロン (0.1 mg/kg) の投与により有意に抑制された。一方、DSS 処置による大腸粘膜 5-HT 陽性細胞 (EC 細胞) の増加は、アプレピタント (3 mg/kg) の投与によっては何ら影響を受けなかった。大腸粘膜における NK1 受容体の発現は主に細胞に認められ、それらは大腸炎発症時には著明に増加した。また、正常および大腸炎発症時のいずれにおいても、NK1 受容体陽性細胞のほとんどは CD11b 陽性マクロファージ様細胞であった。以上の結果より、DSS 誘起大腸炎の病態には、5-HT/5-HT₃ 受容体と同様に SP/NK1 受容体が関与していることが判明した。大腸炎発症時には、5-HT₃ 受容体の活性化により一次知覚神経より SP 遊離が促進され、SP は主にマクロファージの NK1 受容体を介して各種炎症性メディエーター発現を促進することで、大腸炎の病態の進展・増悪に寄与するものと推察される。

総括

本研究では、IBD の病態における 5-HT/5-HT₃ 受容体および SP/NK1 受容体の役割をそれぞれの選択的拮抗薬を用いて明らかにした。さらに、5-HT₃ 受容体の発現部位や大腸炎発症における発現変化から、5-HT/5-HT₃ 受容体の下流には SP/NK1 受容体が関与しており、この一連の経路を介してマクロファージの活性化などの炎症・免疫応答が促進された結果、大腸炎の病態が進展・増悪するものと推察される。5-HT₃ 受容体拮抗薬および NK1 受容体拮抗薬は、抗がん剤による嘔吐に臨床応用されている。したがって、本研究成果は、既存医薬品の適応拡大という、育薬の観点からも興味深いものである。

審査の結果の要旨

炎症性腸疾患 (IBD) は、近年我が国でも患者数は増加の一途を辿っているが、その病因・病態は未だ不明な部分が多く、治療法の確立も十分とは言えない。セロトニン (5-HT) は、多彩な作用を有する生理活性アミンであり、そのほとんどが消化管に存粘膜在しているが、5-HT の消化管における役割については、運動や分泌機能の調節などが知られているに過ぎない。近年、IBD の病態に 5-HT が

関与することが報告されているが、その機序については 5-HT 受容体サブタイプの関連を含めて不明である。内海大知君は、IBD の病態における 5-HT の役割を明らかにするため、代表的な IBD の病態モデルであるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘起マウス大腸炎を用いて、5-HT₃ 受容体拮抗薬の効果を中心に検討した。その結果、IBD の病態の進展・増悪に 5-HT/5-HT₃ が関与すること、さらにその過程には一次求心性知覚神経からのサブスタンス P (SP) 放出を介したニューロキニン 1 (NK1) 受容体の活性化が関与することなどを明らかにし、これらを 2 章に纏めた。

第 1 章では、5-HT₃ 受容体拮抗薬が DSS 誘起マウス大腸炎を有意に抑制することを明らかにした。また、DSS 処置による各種炎症性メディエーター発現の増大もこれら 5-HT₃ 受容体拮抗薬の投与により抑制された。さらに、大腸炎粘膜では、5-HT 含有細胞および 5-HT₃ 受容体陽性神経の著明な増加が観察された。正常粘膜においては、5-HT₃ 受容体のほとんどはコリン作動神経に発現していたが、大腸炎粘膜では SP 陽性一次求心性知覚神経において著明に発現が増大した。以上より、DSS 誘起大腸炎の病態に 5-HT/5-HT₃ 受容体が関与しており、5-HT は一次知覚神経に発現する 5-HT₃ 受容体の活性化により SP 遊離を促進し、炎症性メディエーター発現の増大を介して大腸炎の病態の進展・増悪に寄与するものと推察された。

第 2 章では、NK1 受容体拮抗薬の投与が、5-HT₃ 受容体拮抗薬と同様に、DSS 誘起マウス大腸炎を有意に抑制することを明らかにした。また、DSS 処置による各種炎症性メディエーター発現の増大も NK1 受容体拮抗薬の投与により抑制された。一方、大腸炎粘膜における SP 陽性一次求心性知覚神経および SP 含量の増加は、5-HT₃ 受容体拮抗薬の投与により有意に抑制されたが、5-HT 陽性細胞の増加は、NK1 受容体拮抗薬の投与によっては何ら影響を受けなかった。さらに、大腸粘膜における NK1 受容体発現は主にマクロファージであり、それらは大腸炎粘膜では顕著に増加した。以上より、DSS 誘起大腸炎の病態に SP/NK1 受容体が関与していることが判明した。大腸炎発症時には、5-HT/5-HT₃ 受容体の活性化により一次求心性知覚神経より SP 放出が促進され、マクロファージの NK1 受容体を介して各種炎症性メディエーター発現を促進することで、大腸炎の病態の進展・増悪に寄与するものと推察される。

これらの研究成果は、国際学術雑誌に掲載されており、IBD の病態における 5-HT/5-HT₃ 受容体、さらにその下流に SP/NK1 受容体が関与しており、この一連の経路を介してマクロファージの活性化などの炎症・免疫応答が促進された結果、大腸炎の病態が進展・増悪するという新しい病態理論の解明に繋がった。5-HT₃ 受容体拮抗薬および NK1 受容体拮抗薬は、抗がん剤による嘔吐に臨床応用されており、本研究成果は、既存医薬品の適応拡大という育薬の観点からも興味深いものである。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士 (薬学) の学位論文としての価値を有するものと判断する。