

氏名(本籍)	山田 忠 則 (岐阜県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第449号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成15年3月27日
学位論文題目	<b>Serotonin stimulates endotoxin translocation via 5-HT3 receptors in the rat ileum</b> (ラット回腸においてセロトニンはセロトニン3受容体を介してエンドトキシントランスロケーションを刺激する)
審査委員	主査 教授 藤 山 佳 秀 副査 教授 松 浦 博 副査 教授 竹 内 義 博

## 論文内容要旨

### 【目的】

胃腸の管腔内は多くのバクテリアやエンドトキシンに常時さらされているが、粘膜のバリア機構によって生体内への侵入を防御している。しかし、様々な理由でバリア機構が破綻を来すと、バクテリアルトランスロケーション (BT) やエンドトキシントランスロケーション (ET) が起こり、重篤な状態を招く。このメカニズムに生理活性物質が関与しているという報告はほとんどなく、また、直接粘膜の透過性亢進に寄与するという報告もない。腸管閉塞の状態では腸管内圧の上昇によりBTやETがしばしば観察される。一方で腸管内圧の上昇はEC細胞を刺激し、セロトニン (5-HT) の放出を促すことがわかっている。こうしたことから腸管内圧上昇による5-HTの放出が腸管粘膜の透過性に影響し、ETに関与すると考え、検討を行った。

### 【方法】

ETの測定：ラットを麻酔下に開腹し、回腸の口側と肛門側にカニューレーションする。そこにFITCをラベルしたLipopolysaccharide (LPS) (FITC-LPS) を灌流する。脾静脈から上腸間膜静脈に採血用のカニューレを留置し門脈血を採取できるようにする。回腸から門脈血中へトランスロケーションをおこしたFITC-LPSはFluorescence spectrophotometerでFITCを測定することでETを評価し、経時的に採血を行い、ETの変化を検討した。また、腸管内圧の上昇や5-HT、5-HTレセプターのアンタゴニストの静脈投与、腸管管腔内投与によるETの変化を検討した。

腸管管腔内および門脈へ放出された5-HTの測定：ラットを麻酔下に開腹し、回腸と口側と肛門側にカニューレーションし管腔内の灌流液を、門脈にカニューレーションし門脈の灌流液を回収できるようにした。使用する回腸以外の他臓器には血液が循環しないように結紮した。大動脈にカニューレを留置し、酸素を飽和させた Krebs液を中心とした灌流液で循環を保ち、血液を全身から除去する。中枢の影響を除外するため、腹腔動脈の上位レベルで脊椎を切断し、exvivo回腸灌流モデルを作成した。回収した腸管および門脈の灌流液内の5-HTをHPLC法によって測定した。この時、回腸のクランプによって腸管内圧上昇をはかり、放出された5-HTの濃度変化を検討した。

### 【結果】

腸管内圧上昇によるETの変化：回腸の肛門側をクランプし、40cmH<sub>2</sub>Oまで上昇させたところ、コントロールに比べてETは、有意な増大が認められた。

回腸内圧上昇による腸管管腔内および門脈へ放出された5-HT濃度の変化：回腸の肛門側をクラ

ンプし、40cmH<sub>2</sub>Oまで上昇させたところ、門脈での5-HT濃度の変化は見られなかったが、腸管管腔内に放出された5-HTは有意な上昇が認められた。

5-HTによるETの変化：腸管管腔内への10 μmol/kg/minの5-HTの投与でETは有意に増大した。それ以下の5-HT濃度では変化は認められなかった。静脈への0.1 μmol/kg/minの5-HTの投与でETは有意に増大した。それ以下の5-HT濃度では変化は認められなかった。

5-HTによるETの変化に対する5-HTレセプターアンタゴニストの効果：5-HT1/2、5-HT2、5-HT3、5-HT4レセプターアンタゴニストを用いた。5-HTの腸管管腔内および静脈投与によるETの増大は、5-HT3レセプターアンタゴニストの腸管管腔内および静脈投与のいずれによっても抑制された。5-HT1/2、5-HT2、5-HT4レセプターアンタゴニストの投与はいずれも変化は見られなかった。

腸管内圧上昇によるETの変化に対する5-HT3レセプターアンタゴニストの効果：40cmH<sub>2</sub>Oまで腸管内圧を上昇させたことによるETの増大は、5-HT3レセプターアンタゴニストの腸管管腔内および静脈投与のいずれによっても完全に抑制された。

#### 【考 察】

腸管内圧上昇によるETには5-HTが直接関与しており、その作用は5-HT3レセプターを介していることが判明した。エンドトキシンの腸管粘膜透過経路は、tight junctionを介した経路とtranscellularの経路の2つが報告されている。いずれの経路も5-HTが腸管上皮に存在すると思われる5-HT3レセプターを介して作用し、粘膜上皮の透過性を亢進させている可能性があると思われる。また、5-HT3レセプターの粘膜上皮における局在に関する報告はないが、今回の実験から5-HT3レセプターが粘膜上皮に存在することが示唆された。

#### 【結 論】

腸管内圧上昇によってEC細胞から放出された5-HTが、粘膜上皮に局在する5-HT3レセプターを介して作用し、ETをおこしていることが示唆された。

## 学 位 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

腸管閉塞に伴うエンドトキシン・トランスロケーション (ET) の増大はしばしば重篤な病態を招くことが知られている。これまでに、エンドトキシンに対する免疫反応やトランスロケーションの治療に対する研究が精力的にされてきたが、生理活性物質との関連についてはほとんど報告がない。本研究は、腸管内圧上昇時にセロトニン (5-HT) が分泌されることに着目し、5-HTのETに対する作用を検討したものである。その結果、下記が明らかにされた。

- 1 腸管内圧上昇によりETが亢進した。
- 2 腸管内圧上昇により腸管管腔内への5-HTの分泌が増大した。
- 3 5-HTの腸管管腔内及び静脈投与によってETが亢進した。
- 4 この作用が5-HT3受容体拮抗薬によって抑制された。
- 5 腸管内圧上昇によって亢進したETは5-HT3受容体拮抗薬によって特異的に抑制された。

本研究は腸管内圧上昇に伴うETに対して、5-HTが5-HT3受容体を介して作用することを初めて明らかにしたものであり、博士 (医学) の学位授与に値すると認める。