

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	石王 応知
学位論文題目			
Ghrelin acts in the brain to block colonic hyperpermeability in response to lipopolysaccharide through the vagus nerve. (グレリンは脳に作用して迷走神経を介して LPS で誘導される腸管透過性亢進を抑制する.)			
共著者名			
野津 司, 五十嵐 将, 田邊 裕貴, 桑井 志麻, 大平 賀子, 奥村 利勝 Neuropharmacology 2020;173:108116			
研究目的			
<p>近年, 腸管バリア機能の破綻 (leaky gut) は過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome: IBS) や炎症性腸疾患などの消化管疾患に加え, 認知症, 自閉症, 代謝疾患など様々な疾患の主要病態であることが明らかになり注目されている. Leaky gut のメカニズムには腸管粘液, 粘膜上皮細胞間のタイトジャンクション, 腸管免疫反応など腸管局所に着目した研究が精力的にすすめられているが, 中枢神経系がどのように leaky gut に関与するのかは不明であった. 最近, 我々は神経ペプチド orexin が中枢神経系に作用し迷走神経の興奮を介して, leaky gut を改善することを見出した(1). この成績は, 脳が腸管バリア機能に関与することを世界で初めて示したものであり, この神経系を介した迅速な腸管バリア機能調節は, leaky gut が深く関与する IBS の病態がストレスにより影響を受けやすいという特徴を説明しうると考えている. 本研究は, 神経ペプチド ghrelin に着目し, ghrelin が中枢性に腸管バリア機能調節に関与するか否か, またそのメカニズムについて解明することを目的とした.</p>			
材料・方法			
<p>Lipopolysaccharide (LPS)(1mg/kg)皮下投与で誘導される腸管透過性亢進 (leaky gut) モデルラット(2)を用い, ghrelin 脳室内投与または腹腔内投与における腸管透過性亢進改善作用の有無について検討した. 大腸の透過性は既報に準じ Evans blue (EB)法(3)で評価した. LPS 投与 3 時間後のラットを麻酔下で開腹し, 盲端となるように処置した上行結腸に EB を注入し 15 分間放置. 上行結腸を摘出し PBS で洗浄した後, 抽出液にサンプルを浸して 12 時間放置. 組織から抽出された EB を吸光度計で定量し腸管透過性を評価した. Ghrelin の leaky gut 改善作用機序の解析は, 迷走神経に関与するか, 内因性の脳内 ghrelin が関与するか, また orexin signal が関与するかについて検討した. 試薬の用量や外科的処置については, 我々の既報(1-3)に準じて行った.</p>			

成 績

Ghrelin 脳室内投与は LPS で誘導される leaky gut を濃度依存的に改善させたが, ghrelin 腹腔内投与および ghrelin 受容体との親和性がない des-acyl ghrelin 脳室内投与は leaky gut 改善作用は示さなかった. 従って, ghrelin は中枢神経系に作用し, ghrelin 受容体を介して腸管バリア機能を調節することが明らかになった. この ghrelin による中枢性の leaky gut 改善作用は CRF 投与によるストレスモデルにおいても, LPS モデル同様に認められた. 次に, 迷走神経の興奮が leaky gut 改善に関与するか否かについて, コリン受容体作動薬である carbachol を用いて検討した. Carbachol は LPS による腸管透過性亢進を有意に抑制し, 迷走神経の活性化は腸管バリア機能に関与することが明らかになった. Ghrelin は迷走神経を活性化させることが報告されているため, ghrelin による腸管バリア機能調節に迷走神経に関与するか否かについて, atropine および外科的迷走神経切断術を用いて検討した. Ghrelin による leaky gut 改善作用は, atropine および外科的迷走神経切断術で有意に抑制された. 従って ghrelin による腸管バリア機能制御に迷走神経に関与することが示唆された. 次に, 内因性の脳内 ghrelin が腸管バリア機能制御に関与するか否かについて, 中枢性迷走神経賦活化作用を有する 2-deoxy-d-glucose (2-DG)を用いて検討した. 2-DG は LPS による腸管透過性亢進を抑制したが, ghrelin 受容体拮抗薬は 2-DG による leaky gut 改善作用を抑制した. 従って, 脳内の内因性 ghrelin も腸管バリア機能制御に関与することが示唆された. 最後に ghrelin による leaky gut 改善作用に orexin が関与するか否かについて, orexin 受容体拮抗薬を用いて検討した. Ghrelin による leaky gut 改善作用は orexin 受容体拮抗薬投与により部分的に抑制された. 従って, ghrelin による腸管バリア機能制御の一部は orexin signal を介することが示唆された.

考 案

Ghrelin は中枢神経系に作用し迷走神経を介して leaky gut 改善作用を発揮した. Ghrelin が迷走神経を活性化させる経路は, orexin 神経系を経由し迷走神経の起始核がある延髄迷走神経背側核 (dorsal motor nucleus: DMN)を刺激する経路, また DMN に ghrelin 受容体が発現していることから, ghrelin が直接 DMN の神経細胞を興奮させる経路が想定される. Ghrelin による leaky gut 改善作用の末梢メカニズムは本研究では明らかにはできなかったが, これまでの報告によると, vagal cholinergic anti-inflammatory pathway による抗炎症作用が関与すると考える. 本研究で ghrelin が中枢神経系に作用し leaky gut を改善させることを見出したが, 以前我々は ghrelin が中枢神経系に作用し内臓知覚過敏を改善させることを報告した(3). Creekmore らは腸管透過性亢進が内臓知覚過敏を誘導することを報告しており, 今回の研究で明らかにした ghrelin による腸管透過性亢進改善作用は, 内臓知覚過敏改善作用の上流に位置するメカニズムと考える.

IBS の主病態は leaky gut, 内臓知覚過敏, 消化管運動障害であるが, ghrelin は中枢性に内臓知覚・消化管運動を調節することが既に明らかにされている. 本研究により ghrelin は leaky gut を

改善することを明らかにした。以上から、ghrelin signal が正常に作用する健常人は、腸管バリア機能、内臓知覚、消化管運動は維持されるが、ghrelin signal が低下すると leaky gut, 内臓知覚過敏、消化管運動障害が誘導されることが推定される。すなわち、これらの異常は IBS の主病態であり、脳内 ghrelin signal の低下は IBS の病態形成に関与することが示唆される。従って、脳内 ghrelin signal の増強は、IBS の新たな創薬戦略として期待できる。

結 論

Ghrelin が中枢神経系に作用し、脳内 orexin および 迷走神経を介して leaky gut 改善作用を発揮することを明らかにした。Ghrelin signal の低下は過敏性腸症候群の病態形成に関与する可能性が示唆され、ghrelin signal の増強は IBS を含む leaky gut 関連疾患の新たな治療法開発に結びつく可能性がある。




引用文献

1. Okumura T, Nozu T, **Ishioh M**, Igarashi S, Kumei S, Ohhira M. Brain orexin improves intestinal barrier function via the vagal cholinergic pathway. *Neurosci Lett.* 714:134592; 2020
2. Nozu T, Miyagishi S, Nozu R, Takakusaki K, Okumura T. Altered colonic sensory and barrier functions by CRF: roles of TLR4 and IL-1. *J Endocrinol.* 239(2):241-252; 2018
3. Okumura T, Nozu T, Kumei S, Takakusaki K, Okumura T. Ghrelin acts centrally to induce an antinociceptive action during colonic distension through the orexinergic, dopaminergic and opioid systems in conscious rats. *Brain Res.* 1686:48-51; 2018

参考文献

4. **Ishioh M**, Nozu T, Igarashi S, Tanabe H, Kumei S, Ohhira M, et al. Activation of central adenosine A2B receptors mediate brain ghrelin-induced improvement of intestinal barrier function through the vagus nerve in rats. *Exp Neurol.* 341:113708; 2021
5. Nozu T, Miyagishi S, **Ishioh M**, Takakusaki K, Okumura T. Phlorizin attenuates visceral hypersensitivity and colonic hyperpermeability in a rat model of irritable bowel syndrome. *Biomed Pharmacother.* 139:111649; 2021
6. Okumura T, Nozu T, **Ishioh M**, Igarashi S, Kumei S, Ohhira M. Centrally administered butyrate improves gut barrier function, visceral sensation and septic lethality in rats. *J Pharmacol Sci.* 146(4):183-91; 2021
7. Okumura T, **Ishioh M**, Nozu T. Central regulatory mechanisms of visceral sensation in response to colonic distension with special reference to brain orexin. *Neuropeptides.* 86:102129; 2021
8. Igarashi S, Nozu T, **Ishioh M**, Kumei S, Saito T, Toki Y, et al. Centrally administered orexin prevents lipopolysaccharide and colchicine induced lethality via the vagal cholinergic pathway in a sepsis model in rats. *Biochem Pharmacol.* 182:114262; 2020

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	石王 応知
審査委員長 中山 恒 			
審査委員 川辺 淳一 			
審査委員 高草木 薫 			
学 位 論 文 題 目			
Ghrelin acts in the brain to block colonic hyperpermeability in response to lipopolysaccharide through the vagus nerve. (グレリンは脳に作用して迷走神経を介して LPS で誘導される腸管透過性亢進を抑制する。)			
掲載雑誌 : Neuropharmacology 173:108116; 2020			
(本論文が評価される点及び審査結果を600字から800字以内で簡潔に記載すること。)			
腸管透過性の亢進は過敏性腸症候群(IBS)、炎症性腸疾患、パーキンソン病など、さまざまな疾患で認められる病態であり、腸の痛みや下痢などを伴い、患者の QOL を低下させる。近年、腸機能における脳神経系の役割「脳腸相関」の例が相次いで報告され、注目されている。学位申請者石王氏は、脳内で発現しているホルモン Ghrelin の腸管透過性に与える影響を検証した。LPS 刺激によって亢進した腸管透過性は、Ghrelin の脳室内投与によって改善した。この効果は、中枢に存在するグレリン作動性神経が視床下部でオレキシンを誘導し、迷走神経を経て、腸管透過性を抑制するものであることが、各リガンドと阻害薬を用いた研究により明らかにされた。さらに、Ghrelin の部分変異が一部の IBS 患者にみられることが報告されており、既に開発されている Ghrelin 作動薬や開発の進む Orexin 作動薬を用いることによって腸疾患を改善できる可能性が考察された。申請者は、研究の背景から実験方法、結果、考察までをプレゼンテーションして、その後の質疑にも明確に答えることができた。論文発表会では、Ghrelin およびその受容体の発現分布、腸管透過性と内臓知覚過敏の関連、Ghrelin を起点とする神経伝達機構などに関する質問が出たが、いずれも的確な回答がなされた。			
以上より、本審査委員会は石王氏が本学博士号(医学)を授与するのにふさわしい、十分な学識を有すると判断した。			