

氏 名 (本 籍) 松 田 高 幸 (京都府)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 4 7 6 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Gastric distention-induced release of serotonin stimulates c-fos  
expression in specific brain nuclei via 5-HT<sub>3</sub> receptors in conscious rats  
(意識下ラット胃拡張刺激における脳内 c-fos の発現とセロトニンの関与)

審 査 委 員 主 査 教 授 野 田 洋 一  
副 査 教 授 岡 村 富 夫  
副 査 教 授 山 本 学

## 論文内容要旨

*整理番号	479	(ふりがな) 氏名	まつだ たかゆき 松田 高幸
学位論文題目	<b>Gastric distention-induced release of serotonin stimulates c-fos expression in specific brain nuclei via 5-HT3 receptors in conscious rats.</b> (意識下ラット胃拡張刺激における脳内 c-fos の発現とセロトニンの関与)		
<p>〔目的〕胃拡張刺激に反応する特定の脳内神経核での c-fos の発現を調べ、胃の腸クロム親和性 (EC) 細胞から放出されるセロトニンがこの反応に関わるかどうかを調べた。またこのメカニズムにおける 5-HT3 受容体の役割を調べた。</p> <p>〔方法〕1) 胃拡張刺激によるセロトニンの放出を調べるために、Ex vivo 灌流胃モデルを用いて、血液中および胃内腔へのセロトニンの放出量の測定を行った。2) 脳内 c-fos 発現の分析のために、胃拡張刺激はあらかじめ挿入しておいたバルーンを膨らませることで与えた。また、c-fos 蛋白合成に対する麻酔薬の抑制効果を避けるために意識下ラットモデルを用いた。とくに、摂食の自律神経性調節に重要とされる、延髄および視床下部の神経核での c-fos の発現を調べた。3) 末梢性の刺激の脳への入力経路を調べるために、迷走神経切断術および迷走神経のカプサイシン処置を行った。4) 5-HT3 受容体の作用点を調べるために、5-HT3 受容体拮抗剤 (グラニセトロン) を、脳室内 (icv) および静脈内 (iv) に投与した。5) 胃拡張刺激によって延髄で c-fos を発現するニューロンが視床下部の神経核に軸索を投射しているかどうかを調べるために逆行性トレーサー実験を行った。</p> <p>〔結果〕1) 胃内腔へのセロトニンの放出量は胃拡張刺激により影響を受けなかったが、血液中へのセロトニンの放出量は、胃拡張刺激で有意に増加した。2) 胃拡張刺激による c-fos 発現は最後野 (AP)、孤束核 (NTS) の内側領域、室傍核 (PVN)、視索上核 (SON) において、sham-ope 群と比較して有意に増加した。3) 迷走神経切断術で、胃拡張刺激によって誘導される AP、NTS、PVN、SON での c-fos の陽性細胞数は有意に減少した。またカプサイシン処理においても同様に c-fos 陽性細胞数は有意に減少した。4) 5-HT3 受容体拮抗剤 (グラニセトロン) の脳室内投与で、胃拡張によって誘発される上記神経核における c-fos 陽性細胞数は影響を受けなかった。しかし、グラニセトロンの静脈内投与で、胃拡張刺激によって誘導される c-fos 陽性細胞数は有意に減少した。5) fluorogold の陽性反応と c-fos の陽性反応が NTS のニューロンの細胞体で共存した。この場合、c-fos が核に、fluorogold は細胞質に染色された。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

[考察] 食物の経口摂取が口腔の刺激や吸収後の多くの神経性、体液性の反応を活性化するために、本実験で用いた機械的拡張刺激は選択的に胃の圧受容体を活性化する方法である。Ex vivo 灌流モデルにおいて、胃拡張刺激は胃からのセロトニン放出の増加を引き起こすことがわかった。EC 細胞は消化管における圧受容体としての役割を果たすことが知られており、本研究において検出されたセロトニンは胃粘膜の EC 細胞から放出されたものと考えられる。血液中へのセロトニンの放出量が増加したことから、EC 細胞から放出されたセロトニンは粘膜固有層に入り、それから血流中に入るものと考えられる。また粘膜固有層に入ったセロトニンは迷走神経の求心性神経終末をパラクリン的に刺激すると考えられる。

胃拡張刺激に反応する脳内の神経核を調べるために、免疫組織化学染色によって c-fos 蛋白の発現を観察した。NTS、AP、PVN、SON の神経核で c-fos 発現が見られたが、これらは迷走神経切除によって抑制された。また、カプサイシン処置によっても同様に抑制された。カプサイシンは知覚神経の c-fiber をブロックする神経毒であるので、より選択的な迷走神経の求心性線維の遮断法といえる。この結果は、迷走神経の求心性線維が延髄、視床下部の諸核に、胃拡張刺激によって引き起こされる刺激を伝える伝導路であることを示唆するものである。

5-HT<sub>3</sub> 受容体は胃壁の迷走神経求心性線維終末にも、脳内の NTS にも存在する事が知られている。グラニセトロン (5-HT<sub>3</sub> 受容体拮抗剤) の静脈内投与では胃拡張刺激によって誘発される c-fos 陽性細胞の数は有意に減少したが、脳室内投与では c-fos 陽性細胞の数は影響を受けなかった。この結果は、胃拡張によって胃から放出されるセロトニンは、中枢ではなく末梢の 5-HT<sub>3</sub> 受容体に作用することを示唆する。

NTS での c-fos 陽性細胞が、PVN に注入された逆行性トレーサー (fluorogold) で同時に標識されたことより、胃拡張刺激によって活性化された NTS ニューロンは PVN に軸索を投射することを示唆する。

[結論] 胃拡張刺激によって、胃粘膜に高密度に分布する EC 細胞からのセロトニン放出が刺激され、放出されたセロトニンは胃壁の粘膜固有層で、迷走神経の求心性神経終末にある 5-HT<sub>3</sub> 受容体を活性化する。そこから迷走神経を經由して延髄の NTS と AP のニューロンを活性化し、さらにそれらの神経核から上行性に情報が送られ、視床下部の PVN と SON のニューロンを二次的に活性化することが判明した。

胃拡張刺激によるこれら脳内の神経核の活性化は、食物摂取の自律神経性のコントロールにおいて重要な役割を果たすと考えられる。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	479	氏名	松田高幸
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>消化管の様々な刺激が脳内神経核においてニューロンの活性化を導くことが知られている。今回著者は、胃拡張刺激に反応する特定の脳内神経核での c-fos 発現を免疫組織化学的手法を用いて調べ、5-HT との関わりを明らかにした。</p> <p>その結果、胃拡張刺激により 5-HT の基礎放出量は増加した。延髄および視床下部の摂食機能と関連のある神経核に c-fos 発現がみられたが、これらは迷走神経切断術、カプサイシン処理および 5-HT<sub>3</sub> 受容体拮抗剤の静脈内注入によって有意に減少した。また、視床下部に注入した逆行性のトレーサーの投与で、上記の延髄の神経核が染色された。</p> <p>以上の結果より、胃拡張刺激によって 5-HT の放出が刺激され、末梢の 5-HT<sub>3</sub> 受容体を活性化、迷走神経を経由して延髄のニューロンを活性化、そこから視床下部のニューロンを二次的に活性化することが考えられた。</p> <p>本研究は、胃拡張刺激による脳内神経核の活性化が、食物摂取の自律神経性のコントロールにおいて重要な役割を果たすと考えられることを示唆したもので、博士(医学)の学位授与に値するものと評価された。</p>			
(平成16年2月23日)			