

## 炎症性腸疾患における腸管神経の機能変化に対する

### グリア細胞の関与

#### 学位論文内容の要旨

炎症性腸疾患 (IBD) の病態の一因として、炎症刺激による腸管神経系の機能変化が挙げられる。IBDでは、組織中でのbradykinin (BK) の産生増加に加え、血清中のlipopolysaccharide (LPS) 及び炎症性サイトカインが増加することが報告されている。本研究では、新生ラット小腸の筋層間神経叢より得た初代培養を用いて、BKの腸管神経系への作用について検討した。更に、IBD患者血清中の増加が報告されるLPS及び炎症性サイトカインが腸管神経系に与える影響について調べた。

BKは神経細胞、グリア細胞共に濃度依存性に細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 増加を引き起こした。これらのBK反応はB2受容体拮抗薬により消失したが、B1受容体拮抗薬により変化しなかった。神経細胞のBK反応は非選択的COX抑制薬であるindomethacin 或いはEP<sub>1</sub>受容体拮抗薬により抑制され、外因性PGE<sub>2</sub>により増強された。BKは濃度依存性に筋層間神経叢の初代培養からPGE<sub>2</sub>を放出させた。BKは神経細胞に持続的な脱分極を引き起こし、この作用もindomethacinにより抑制された。LPS或いはinterleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 処置により、神経細胞とグリア細胞におけるBKによる $[Ca^{2+}]_i$  増加反応が増大し、この作用はIL-1受容体拮抗薬により抑制された。LPSはグリア細胞からIL-1 $\beta$ を放出させた。IL-1 $\beta$ 処置により、両細胞のBKによる $[Ca^{2+}]_i$ 増加反応はB1受容体拮抗薬によって有意に抑制された。IL-1 $\beta$ 処置はグリア細胞におけるB1受容体発現を増加させた。IL-1 $\beta$ は初代培養からのBK及びB1受容体作動薬によるPGE<sub>2</sub>放出量を増加させ、これらの作用は非選択的PLA<sub>2</sub>抑制薬、indomethacin 或いは選択的COX-2抑制薬により減弱した。これらの抑制薬は、IL-1 $\beta$ により増強された神経細胞のBK反応も抑制した。IL-1 $\beta$ はグリア細胞におけるCOX-2発現を増強した。

以上の結果より、ラット筋層間神経叢においてBKはB2受容体の活性化を介して神経細胞を脱分極させ、 $[Ca^{2+}]_i$ 増加を引き起こすこと、同時に、BKは腸管グリアのB2受容体を活性化してPGE<sub>2</sub>を放出させ、このPGE<sub>2</sub>が神経細胞におけるBK反応を増強することが明らかとなった。更に、LPSは腸管グリア細胞からのIL-1 $\beta$ 放出を介して腸管グリアにおけるB1受容体及びCOX-2の発現を増大させた結果、腸管グリアからのPGE<sub>2</sub>産生を増大させることにより神経細胞を活性化することが示された。これらのことから、IBD病態には腸管神経系における神経-腸管グリア相互作用の変化が関与している可能性が示された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 伊 藤 茂 男  
副 査 教 授 昆 泰 寛  
副 査 教 授 木 村 和 弘  
副 査 准教授 太 田 利 男

学 位 論 文 題 名

## 炎症性腸疾患における腸管神経の機能変化に対する グリア細胞の関与

炎症性腸疾患では、組織中のbradykinin (BK) や血清中のlipopolysaccharide (LPS) 及び炎症性サイトカインが増加する。本研究では、新生ラット小腸の筋層間神経叢より得た腸管神経とグリア細胞の初代培養を用いて、まず初めにBKの腸管神経叢細胞に対する作用、次いでLPS及び炎症性サイトカイン処置による腸管神経叢細胞のBK反応に対する影響を調べ、以下の成績を得た。

BKは筋層間神経叢の培養細胞である神経細胞とグリア細胞において濃度依存性に細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) を増加させた。両細胞のBK反応はブラジキニンB1受容体拮抗薬では影響受けなかったが、B2受容体拮抗薬により消失した。神経細胞のBKによる[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加反応は非選択的シクロオキシゲナーゼ (COX) 阻害薬であるindomethacin或いはプロスタグランジン EP<sub>1</sub>受容体拮抗薬により抑制された。BKは濃度依存性に筋層間神経叢の培養細胞からprostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)を放出させた。グリア細胞の密度が低い培養細胞ではBKによるPGE<sub>2</sub>放出と神経細胞の[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加反応は大きく抑制された。BKは神経細胞に持続的な脱分極を引き起こし、この作用もindomethacinにより抑制された。

筋層間神経叢の培養細胞をLPS或いはinterleukin-1β (IL-1β) で処置すると、神経細胞とグリア細胞のBKによる[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加反応は、無処置培養細胞よりも増大し、IL-1受容体拮抗薬とB1受容体拮抗薬はこの増加した反応を抑制した。LPSはグリア細胞からIL-1βを放出させ、IL-1βはグリア細胞のB1受容体発現とCOX-2発現を増加させた。これらの発現蛋白質は機能的であり、IL-1βを処置した培養細胞ではB1受容体作動薬はPGE<sub>2</sub>放出を起し、無処置の培養細胞と比較するとBKによるPGE<sub>2</sub>放出反応が増加した。非選択的ホスホリパーゼA<sub>2</sub>阻害薬、indomethacin及び選択的COX-2阻害薬は、IL-1β処置により増加したグリア細胞のBKによるPGE<sub>2</sub>放出反応を消失させた。また、これらの阻害薬はIL-1β処置により増加した神経細胞のBKによる[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加反応も抑制した。

以上のように申請者は、ラット筋層間神経叢においてBKはB2受容体の活性化を介して神経細胞を脱分極させ、[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>増加を引き起こすこと、同時に、BKは腸管グリアのB2受容体を活性化してPGE<sub>2</sub>を放出させ、このPGE<sub>2</sub>が神経細胞のEP1受容体に作用し、神経細胞のBK反応を増強することを明らかにした。更に、LPSは腸管グリア細胞からIL-1β放出を引き起こし、グリア細胞のB1受容体及びCOX-2の発現を増加させ、腸管グリアからのPGE<sub>2</sub>産生をさらに増加せることによ

り神経細胞を活性化することを示した。

これらの発見は、炎症性腸疾患の病態には腸管神経叢における神経細胞と腸管グリアの相互作用が関与していることを示したものであり、炎症性腸疾患の病態研究の発展に大きく貢献した。よって、審査員一同は、上記博士論文提出者村上真津香氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規程による本研究科の行う博士論文の審査などに合格と認めた。