

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24248050

研究課題名(和文) 消化管免疫に寄与するニコチン様受容体を発現する新規マクロファージの同定と機能解析

研究課題名(英文) Identification of new macrophages subset expressed nicotinic receptor and those function in intestinal immunity

研究代表者

堀 正敏 (Hori, Masatoshi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：70211547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、消化管には5-HT4受容体(5-HT4R)を介する消化管局所での抗炎症シグナル機構が存在することを術後イレウスモデルを用いて発見した。そして、さらにその詳細なシグナル伝達系の解明を試みた。その結果、5-HT4Rの活性化を介した消化管壁内神経刺激は、神経終末からAChを放出する。AChは健常時には消化管平滑筋に作用し消化管運動亢進作用を発揮するが、消化管炎症時にはマクロファージ上の7ニコチン様ACh受容体(7nAChR)を活性し、マクロファージ浸潤を抑制するとともに、ムスカリンM2受容体(M2AChR)を介して好中球浸潤を抑制することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)： We found that local anti-inflammatory signaling via 5-HT4R of myenteric motor neuron are existing in postoperative ileus model, then try to identify the detailed mechanisms. Myenteric motor neurons release ACh via 5-HT4R activation. The released ACh can activate smooth muscle cells resulted induction of gastroprokinetic action in healthy condition. In contrast, in inflamed ileum, the released ACh can activate 7nAChR possibly on resident macrophages in small intestine which in turn inhibit macrophages infiltration. Whereas ACh can also stimulate M2 type muscarinic AChR (M2AChR) resulted in inhibition of neutrophil infiltration. In conclusion, we for the first time found that there are neuronal anti-inflammatory pathway in small intestine through two type of AChRs. One is 7nAChR activation to inhibit macrophages infiltration, the other is M2AChR activation to inhibit neutrophils infiltration.

研究分野：獣医薬理学

キーワード： 7ニコチン様アセチルコリン受容体 サブリド 抗炎症作用 術後イレウス ムスカリン2アセチルコリン受容体 マクロファージ 好中球 セロトニン4受容体 モ

1. 研究開始当初の背景

迷走神経刺激により慢性炎症が緩和されることは知られていたがその分子基盤は長らく不明であった。しかし、迷走神経刺激がマクロファージなどに発現するニコチン様アセチルコリン受容体(nicotinic acetylcholine receptors; nAChRs)を介して抗炎症作用を発揮する分子機構が提唱され、自律神経系と免疫との連関が注目されている^(1, 9, 12)。その後、このnACh受容体は $\alpha 7$ サブユニットから構成される $\alpha 7$ nACh受容体と同定されたが、近年になりマクロファージにおいて $\alpha 7$ nACh受容体が恒常的に発現しているのか、あるいは他の異なるnACh受容体の関与の可能性はないのかなどの疑問が提示されている^(8, 11)。研究代表者の堀は、近年、炎症応答によって消化管筋層部に $\alpha 7$ nACh受容体を高発現するマクロファージが新たに(de novo)出現し、これを消化管壁内神経が刺激することで抗炎症作用を発揮することを世界に先駆けて明らかにした⁽¹⁰⁾。しかし、粘膜~筋層に至る消化管壁局所の免疫応答における $\alpha 7$ nACh受容体機能の解明には至っていない。

2. 研究の目的

本研究は、消化管炎症時に消化管局所における神経性抗炎症機構の詳細を解明するために、術後イレウスモデルを消化管炎症モデルとして用い、抗炎症作用を担う $\alpha 7$ nAChRを発現するマクロファージサブセットと、抗炎症作用を発現する情報伝達経路を明らかにすることで、消化管炎症性疾患における新たな創薬標的としての $\alpha 7$ nAChRの病態生理機能を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 実験動物：C57BL/6J マウス(8-10週齢)を用いて、承認を受けている東京大学実験動物計画書に沿って実験を実施した。また、一部の実験には $\alpha 7$ nAChR欠損マウス、セロトニン(5-Hydroxytryptophan; 5-HT)₄受容体(5-HT₄R)欠損マウス、およびムスカリン(muscarinic)2ACh受容体(m2AChR)欠損マウスを用いた。これらの遺伝子改変マウスの使用にあたっては、すべて東京大学での第2種拡散防止承認を受け、実験は、正規の動物実験計画に基づいて実施した。

(2) 術後イレウスモデルマウスの作製
イソフルランで麻酔したマウスを開腹し、回腸末端部約5cmの腸管表層を滅菌生理食塩水で濡らした滅菌綿棒を用いて出血しないように5往復摩擦し、消化管の疑似手術処置とした⁽⁷⁾。処置後速やかに閉腹し、術後イレウスモデル(Post operative ileus; POI)とした。サイトカインのmRNA発現解析実験では閉腹後6時間、その他の実験では閉腹後24時間で動物を安楽死させ、回腸病変部を採材して実験に供した。

(3) 免疫組織化学的解析

マウス回腸標本から筋層を剥離し、伸展固

定標本を作製した。CD68抗体、PGP9.5抗体により、それぞれマクロファージと壁内神経を染色した。好中球はミエロペルオキシダーゼ(MPO)の化学染色で検出した。得られた染色標本を蛍光顕微鏡にて観察し、必要に応じて細胞数の定量解析を行った。

(4) FACSを用いたサブセット解析

炎症による浸潤細胞をより正確に定量化するために、FACSを用いた解析を行った。CD45抗体にて血球系細胞を分取した後、CD11b⁺Gr-1⁻のサブセットをマクロファージ、Gr-1⁺Ly6C⁺のサブセットを好中球として定量解析を行った。

(5) 炎症性メディエーターのmRNA発現解析

健常個体ならびに術後イレウス個体より採取した回腸筋層部より総RNAを抽出し、常法に従ってRT-PCRによるmRNA発現の定量解析をおこなった。

(6) 消化管輸送能

マウス消化管のin vivo輸送能を常法により測定した。腸管摩擦処理後23時間後にFITC-デキストラン水溶液を強制経口投与し、1時間後に動物を安楽死させ、全消化管を摘出後、胃、小腸(10分画)、盲腸、大腸(3分画)の計15分画に分け、それぞれのFITC-デキストランによる蛍光強度を測定することで評価した。

(7) 磁気ビーズ法による細胞分取

磁気ビーズ法(MACS-beads法)により、消化管回腸筋層部よりCD11b陽性のマクロファージ分画を採取した。

4. 研究成果

(1) POIにおける5-HT₄受容体作動薬モサプリドクエン酸塩による抗炎症作用

これまでの申請者のラットを用いた解析結果から、5-HT₄受容体(5-HT₄R)作動薬であるモサプリドクエン酸塩(MOS)のPOI改善効果はMOSの抗炎症作用によることが示されている⁽¹⁰⁾。すなわち、POIにおいて、

MOSは炎症によって筋層部に浸潤してくるマクロファージと好中球の細胞数を顕著に抑制したこと、POIによって増加する炎症性メディエーターのmRNA発現を有意に抑制したこと、ヘキサメトニウム感受性の神経性の抗炎症作用を示したこと、などが明らかになった。しかし、MOSは極めて体内で代謝されやすい薬物であり、経口投与におけるt_{1/2}(β)はラットで8時間であり、しかも、第一代謝産物Met1は5-HT_{3A}受容体(5-HT_{3A}R)阻害作用を有する⁽⁶⁾。近年、制吐剤である5-HT_{3A}R阻害薬も抗炎症作用をもつことを申請者らは発見したことから⁽⁵⁾、MOSによる抗炎症作用も代謝物Met1の5-HT_{3A}R阻害作用に起因する可能性も否定できなかった。そこで、まず、5-HT₄R KOマウスを用いて、MOSによる抗炎症作用が確かに5-HT₄Rを介しているのかを検証した。まず、マウスのPOIモデルにおいてMOSの皮下投与はラット同様に抗炎症作用を発揮しPOIモ

デルの病態を改善した。POI における回腸筋層部への CD68 陽性マクロファージ浸潤、ならびに MPO 染色性の好中球浸潤は、MOS 投与群では顕著に減少し、抗炎症作用が認められた。これに対して、5-HT₄R KO マウスを用いた POI モデルでは、野生型同様の炎症応答が認められ、消化管輸送能も同様に低下した。しかし、MOS による抗炎症作用は完全に消失した。以上の成績から、POI において MOS による抗炎症作用は確かに 5-HT₄R の活性化を介していることが示された。

ラットを用いた解析結果から、我々は MOS による抗炎症作用は α 7nAChR を介していることと示唆していたが、その直接的証拠は得られていなかった。そこで、 α 7nAChR KO マウスを用いて POI モデルを作製し、MOS による抗炎症作用について解析した。 α 7nAChR KO マウスの POI モデルにおいて、野生型同様炎症応答と消化管輸送能低下が認められ、筋層部には多数の CD68 陽性マクロファージと MPO 染色性好中球の浸潤が認められた。 α 7nAChR KO マウスの POI モデルにおいて、MOS による CD68 陽性マクロファージの浸潤抑制は消失し、多数のマクロファージの筋層部への浸潤が認められた。FACS 解析においても POI モデルで増加する CD11b⁺Gr-1⁺のマクロファージサブセットの比率を MOS は全く低下させなかった。つまり、MOS は α 7nAChR の活性化を介してマクロファージ浸潤を抑制することが示された。さらに、好中球の浸潤においても解析した。興味あることに、MOS による好中球浸潤抑制作用は、 α 7nAChR KO マウスの POI モデルにおいても野生型マウスでの成績同様に認められた。また、 α 7nAChR KO マウスの POI モデルにおいて増加する Gr-1⁺Ly6C⁺の好中球サブセットの比率を MOS は野生型マウス同様に顕著に抑制した。さらに、選択的 α 7nAChR 作動薬である PNU-282987 や AR-R17779 は、POI モデルにおいてマクロファージ浸潤のみを抑制し、好中球浸潤を抑制しなかった。以上の成績から、MOS による抗炎症作用には二つの経路が存在し、一つは α 7nAChR を介したマクロファージ浸潤の抑制作用であり、もう一方は同受容体を介することなく好中球浸潤を抑制する経路と考えられた。

MOS による 7nAChR を介したマクロファージ浸潤の抑制作用

KO マウスを用いた解析結果から、MOS の抗炎症作用は確かに 5-HT₄R を介していることから、MOS は消化管壁内神経叢のコリン作動性神経細胞体に発現している 5-HT₄R を活性化し、バリコシティーからの ACh 放出を促進すると考えられた。健常個体において、放出された ACh は周囲の平滑筋細胞に作用し消化管運動亢進作用を示す。一方、POI のように筋層部に炎症が生じた際には、多数のマクロファージや好中球が浸潤することから、放出された ACh がこれらの炎症性細胞に発現する α 7nAChR を活性化し抗炎症作用（マ

クロファージ浸潤抑制作用）を示すと考えられた。そこで、この仮説を検証するために、 α 7nAChR を発現する細胞の同定を試みた。MACS beads 法を用いて、CD11b 陽性の消化管筋層部のマクロファージ分画と Gr-1 陽性の顆粒球分画を分取し総 RNA を抽出して α 7nAChR 発現について検証したところ、マクロファージに α 7nAChR が発現していることが示唆された。よって、バリコシティーから放出された ACh が炎症によって筋層部に浸潤してくる多数のマクロファージ上の α 7nAChR に作用し、オートクライン、パラクライン的にマクロファージ浸潤を抑制すると考えられた。

MOS による 7nAChR を介さない好中球浸潤の抑制作用

MOS は消化管壁内神経叢のバリコシティーからの ACh 放出を促進すると考えられることから、好中球浸潤抑制作用には α 7nAChR 以外の nAChRs の関与か、ムスカリン作動性の AChRs (MACHRs) の関与が考えられた。そこで、POI による好中球浸潤に対する MOS の抑制作用において、後者の選択的阻害薬であるアトロピン (Atr) の効果について検証した。結果、Atr の前処置により、MOS の抗炎症作用のうち、好中球浸潤抑制は完全に消失し、マクロファージ浸潤抑制に対しては全く作用を示さなかった。すなわち、MOS の好中球浸潤抑制作用は MACHRs を介していることが示唆された。MACHRs は M1 ~ M5 までサブセットが分類されるが、消化管壁には主に M1 ~ M3 の MACHRs サブセットが発現していることが知られている。そこで、各受容体阻害薬を用いて薬理的に好中球浸潤抑制作用に関与する MACHRs の同定を試みた。結果、M2AChR の阻害薬であるメソクトラミン (Metho) のみが POI で増加する Gr-1⁺Ly6C⁺の好中球サブセット分画の MOS による抑制を部分的に解除した。さらに、M2AChR KO マウスを用いて POI モデルを作製し、MOS の好中球浸潤抑制作用について解析したところ MOS による好中球浸潤抑制作用は有意に減弱した。以上の結果から、MOS による好中球浸潤抑制作用は ACh による M2AChR の活性化を介していることが示された。しかし、この M2AChR を発現する細胞の同定には至っていない。

(2) POI における消化管運動亢進作用を持つ和漢医薬、大建中湯 (Daikenchuto; DKT) の抗炎症作用機序

DKT が POI の発症予防に有効であることは複数の臨床研究から証明されている。その作用機序の一つは消化管運動亢進作用であるが、近年では、CGRP を介した血流改善作用や抗炎症作用など多様な作用が明らかになってきている。また、DKT の消化管運動亢進作用には 5-HT₄R の関与が示唆されており、術後イレウスにおける DKT による消化管運動回復作用にも一部 5-HT₄R が関与する。そこで、我々は術後イレウスにおける DKT の

予防ならびに治療効果が MOS と類似した 5-HT₄R を介した抗炎症作用によるのではないかと仮説を立てるに至った。そこで、まず POI モデルにおいて DKT が抗炎症作用を示すのか検証することとした。

まず、マウスの POI において、DKT (95 mg/kg ; ヒトでの一日投与量の半分) を手術処置三日前から一日一回、さらに手術後 6 時間に一回経口投与し、POI による病態に対する治療効果について検討した。最後の DKT 投与後 18 時間後において ¹³C 呼気試験法を用いた胃排泄能と蛍光色素投与による腸管輸送能測定を実施した。DKT は健常マウスの消化管運動を有意に亢進した。すなわち、本実験条件において DKT はマウス消化管において消化管運動機構亢進作用を示した。ちなみに、MOS は同様の実験条件下において、すでに血中濃度が減衰し消化管輸送能亢進作用を示さなかったことから、DKT の薬効消失は MOS に比べて緩徐であると考えられた。マウス POI において、消化管輸送能は顕著に低下した。DKT を処置した手術処置群では遅延した消化管輸送能は有意に回復した。さらに、¹³C 呼気試験法を用いた胃排泄能においても手術処置群は胃排泄能の低下をきたし、これに DKT を処置した群では対照群レベルまで胃排泄能を回復させた⁽³⁾。

次に、マウス POI において、筋層部の炎症性細胞浸潤について解析した。手術群ではラットでの成績と同様に多数のマクロファージと好中球の浸潤が認められた。これに大建中湯を処置した群 (19 ならびに 95 mg/kg) では、マクロファージと好中球の浸潤は濃度依存性に軽減し、手術群において増加した TNF- α 、IL-6、MCP-1、および iNOS の mRNA 発現は、DKT 処置群では対照群レベルまで低下した。これらの成績から、DKT は本来の消化管運動亢進作用に加えて、MOS 同様に POI における消化管炎症を緩和し、炎症により低下した消化管運動を回復させることが示唆された⁽³⁾。

さらに、POI における DKT の抗炎症作用機序について解析した。まず、5-HT₄R KO マウスを用いて POI モデルを作製し、DKT の抗炎症作用について解析した。5-HT₄R KO マウスにおいても手術群では顕著な好中球とマクロファージ浸潤が認められた。しかし、これに DKT を処置した群においては、DKT による好中球とマクロファージ浸潤抑制作用は完全に消失した。すなわち、DKT による POI における抗炎症作用は 5-HT₄R を介していることが示された⁽²⁾。さらに、 α 7nAChR KO マウスを用いて POI を作製し、DKT による好中球ならびにマクロファージ浸潤に対する効果について検討した。結果、 α 7nAChR KO マウスにおいても、疑似手術処置による好中球浸潤は DKT 投与によって野生型マウスでの成績同等に抑制された。一方、マクロファージ浸潤については、一部 DKT による抑制作用は残るものの、その抑制効果は α 7nAChR

KO マウスで有意に減弱していた。以上の成績から、DKT による抗炎症作用は MOS による抗炎症作用と同じ作用機序によって発揮されることが示された。

DKT は 3 種の生薬と膠飴 (水飴) から作られる漢方医薬であり、多数の成分から構成され一概に DKT の成績を MOS と比較することはできない。そこで、まず、3 種の生薬 (人参、乾姜、山椒) のどの生薬にマクロファージ浸潤抑制作用を示す成分が含まれるかを検討した。結果、乾姜の抽出液だけが POI によるマクロファージ浸潤を抑制した。さらに、この乾姜によるこのマクロファージ浸潤抑制作用は、5-HT₄R KO マウスで作製した POI モデルでは完全に消失した。さらに、 α 7nAChR KO マウスを用いて作製した POI においても、乾姜によるマクロファージ浸潤抑制作用は 100% ではないが有意に減弱した。これらの成績から、乾姜によるマクロファージ浸潤抑制作用は、やはり 5-HT/5-HT₄R を介した壁内神経終末から放出された ACh がマクロファージ上の α 7nAChR を活性化することに起因することが示された。

それでは、DKT の乾姜はどのような機構で消化管の腸クロム親和性細胞から 5-HT 放出を引き起こすのだろうか？近年、DKT は腸クロム親和性細胞における TRPA1 チャネルを活性化し 5-HT 放出を促すことが報告された⁽⁴⁾。申請者はヒトの胃のクロム親和性細胞株 RIN14-B 細胞を用いて、in vitro で乾姜抽出液により同細胞から細胞培養液中に 5-HT 放出されるか否かを ELISA を用いて検証した。結果、乾姜は RIN14-B 細胞に作用し 5-HT を放出することが確認された。さらに、この乾姜による 5-HT 放出は TRPA1 選択的阻害薬である HC-030031 によって完全に抑制された。また、選択的 TRPA1 作動薬である AITC によって 5-HT 放出が確認された。また、乾姜に含まれる主要な活性成分である 6-shogaol と 6-gingerol も 5-HT を放出し、これらの 5-HT 放出は HC-030031 によって顕著に抑制された。以上の成績から、DKT の乾姜に含まれる 6-shogaol や 6-gingerol などが腸クロム親和性細胞の TRPA1 チャネルを活性化し、5-HT を放出させることが示された。

(3) まとめ

本研究により、消化管局所に迷走神経性コリン作動性抗炎症シグナル経路とは異なり、消化管壁内神経叢において局所の 5-HT 放出を介した神経性抗炎症回路が存在することが明らかになった。その経路の興味ある点はマクロファージ浸潤抑制経路と好中球浸潤経路が異なる経路で制御されている点である。前者は、壁内神経終末から放出された ACh がマクロファージ上の α 7AChR を活性化し抗炎症反応を惹起する経路であり、後者は、標的細胞はまだ判らないが、M2AChR の活性化を介した抗炎症経路である。今後この M2AChR を介した経路の詳細の解明が必要と考えられた。また、様々な炎症応答におい

てマクロファージ優位な炎症と好中球優位な炎症に関して、これら2種類のAChRsの病態生理学的役割のさらなる解明が待たれる。

(4) 引用文献

1. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, and Tracey KJ. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 405: 458-462, 2000.
2. Endo M, Hori M, Mihara T, Ozaki H, Oikawa T, Odaguchi H, and Hanawa T. Zingiberis Siccatum Rhizoma, the active component of the Kampo formula Daikenchuto, induces anti-inflammatory actions through $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor activation. *Neurogastroenterol Motil* In Press, 2017.
3. Endo M, Hori M, Ozaki H, Oikawa T, and Hanawa T. Daikenchuto, a traditional Japanese herbal medicine, ameliorates postoperative ileus by anti-inflammatory action through nicotinic acetylcholine receptors. *J Gastroenterol* 49: 1026-1039, 2014.
4. Kono T, Kaneko A, Omiya Y, Ohbuchi K, Ohno N, and Yamamoto M. Epithelial transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-dependent adrenomedullin upregulates blood flow in rat small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304: G428-436, 2013.
5. Maehara T, Matsumoto K, Horiguchi K, Kondo M, Iino S, Horie S, Murata T, Tsubone H, Shimada S, Ozaki H, and Hori M. Therapeutic action of 5-HT₃ receptor antagonists targeting peritoneal macrophages in post-operative ileus. *Br J Pharmacol* 172: 1136-1147, 2015.
6. Matsumoto S, Tagawa M, Amejima H, Nakao M, Kagemoto A, Fujii T, Miyazaki H, and Sekine Y. Absorption, distribution and excretion of [carbonyl-14C]mosapride citrate after a single oral administration in rats, dogs and monkeys. *Arzneimittelforschung* 43: 1084-1094, 1993.
7. Mihara T, Mikawa S, Kaji N, Endo M, Oikawa T, Tong-Rong J, Ozaki H, and Hori M. Therapeutic Action of Honokiol on Postoperative Ileus via Downregulation of iNOS Gene Expression. *Inflammation*, In Press, 2017.
8. The FO, Boeckxstaens GE, Snoek SA, Cash JL, Bennink R, Larosa GJ, van den Wijngaard RM, Greaves DR, and de Jonge WJ. Activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway ameliorates postoperative ileus in mice. *Gastroenterology* 133: 1219-1228, 2007.
9. Tracey KJ. Understanding immunity requires more than immunology. *Nat Immunol* 11: 561-564, 2010.
10. Tsuchida Y, Hatao F, Fujisawa M, Murata T,

Kaminishi M, Seto Y, Hori M, and Ozaki H. Neuronal stimulation with 5-hydroxy-tryptamine 4 receptor induces anti-inflammatory actions via $\alpha 7$ nACh receptors on muscularis macrophages associated with postoperative ileus. *Gut* 60: 638-647, 2011.

11. van der Zanden EP, Snoek SA, Heinsbroek SE, Stanisor OI, Verseijden C, Boeckxstaens GE, Peppelenbosch MP, Greaves DR, Gordon S, and De Jonge WJ. Vagus nerve activity augments intestinal macrophage phagocytosis via nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 4\beta 2$. *Gastroenterology* 137: 1029-1039, 1039 e1021-1024, 2009.
12. Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, Li JH, Yang H, Ulloa L, Al-Abed Y, Czura CJ, and Tracey KJ. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 421: 384-388, 2003.

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計34件)

Endo M, Hori M, Mihara T, Ozaki H, Oikawa T, Odaguchi H, Hanawa T. Zingiberis Siccatum Rhizoma, the active component of the Kampo formula Daikenchuto, induces anti-inflammatory actions through $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor activation *Neurogastroenterol. Motil.* (2017) In press (査読有り)

Kaji N, Horiguchi K, Iino S, Nakayama S, Ohwada T, Otani Y, Firman, Murata T, Sanders KM, Ozaki H, Hori M. Nitric oxide-induced oxidative stress impairs pacemaker function of murine interstitial cells of Cajal during inflammation. *Pharmacol. Res.* (2016) 111:838-848 (査読有り)

Islam MS, Horiguchi K, Iino S, Kaji N, Mikawa S, Hori M, Ozaki H. Epidermal growth factor is a critical regulator of the cytokine IL-33 in intestinal epithelial cells. *Br J Pharmacol.* (2016) 173:2532-2542 (査読有り)

Maehara T, Matsumoto K, Horiguchi K, Kondo M, Iino S, Horie S, Murata T, Tsubone H, Shimada S, Ozaki H, Hori M. Therapeutic action of 5-HT₃ receptor antagonists targeting peritoneal macrophages in postoperative ileus. *Br J Pharmacol.* (2015) 172:1136-1147 (査読有り)

Endo M, Hori M, Ozaki H, Oikawa T, Hanawa T. Rikkunshito, a Kampo Medicine, ameliorates Post-operative Ileus by anti-inflammatory Action. *J Pharmacol Sci.* (2014) 124: 374-385 (査読有り)

Islam MS, Kusakabe M, Horiguchi K, Iino S, Nakamura T, Iwanaga K, Hashimoto H, Matsumoto S, Murata T, Hori M, Ozaki H.

TGF- β promote tenascin-C expression in subepithelial myofibroblasts and contribute to intestinal mucosal protection in mice. *Br J Pharmacol.* (2014) 171:375-388(査読有り)

Endo M, Hori M, Ozaki H, Oikawa T, Hanawa T. Daikenchuto, a traditional Japanese herbal medicine, ameliorates postoperative ileus by anti-inflammatory action through nicotinic acetylcholine receptors. *J Gastroenterol.* (2014) 49: 1026-1039 (査読有り)

Tsukamoto A, Ohno K, Maeda S, Nakashima K, Fukushima K, Fujino Y, Hori M, Tsujimoto H.: Effect of Mosapride on Prednisolone- induced Gastric Mucosal Injury and Gastric-Emptying Disorder in Dog. *J Vet Med Sci* (2012) 74:1103-1108. (査読有り)

[学会発表] (計 65 件)

Daikenchuto, a Kampo (Japanese herbal) medicine, ameliorates postoperative ileus by anti-inflammatory action through nACh receptor. Endo M, Hanawa T, Ozaki H, Oikawa T, Hori M. *2012 DDW* 2012.5.19-22 アメリカ合衆国 (San Diego)

Inhibition of macrophages but not neutrophils infiltration by 5-HT₄ R stimulation is mediated through α 7nAChR activation post-operative ileus. Kimura H, Imura Y, Kaji N, Murata T, Tsubone H, Ozaki H, Hori M. *The 22nd International Symposium on Molecular of Macrophages* 2014.6.2-3 The Kobe Chamber of Commerce and Industry (兵庫県)

Ameliorative actions of muscularis inflammation by antiemetic drugs, 5-HT_{3A} receptor antagonists, in post-operative ileus Hori M, Maehara T, Imura Y, Matsumoto K, Horie S, Horiguchi S, Iino S, Kondo M, Shimada S, Tsubone H, Murata T, Ozaki H. *The 1st Federation of Neurogastroenterology and Motility Meeting.* 2014.9.5-7 Guangzhou Baiyun International Convention Center (China)

Anti-inflammatory signaling via activation of α 7nACh receptors in small intestine. 堀正敏、猪村優貴、木村仁美、村田幸久、尾崎博 **第 88 回日本薬理学会年会** (企画シンポジウム; 2015.3.18-20 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)

Kimura M, Imura Y, Kaji N, Mikawa S, Ozaki H, Hori M. Anti-inflammatory

pathway via activation of cholinergic receptors in small intestine. *Symposium on Multicellular inputs Regulating Muscle Excitability* 2015.6.14-17 Granlibakken , Tahoe City, CA USA

Neural anti-inflammatory signaling via activating 5-HT₄ receptor in gastrointestinal. Hori M. *The Joint Symposium of the 7th Veterinary Research among Universities of Veterinary Medicine in East Asia* Vietnam National University of Agriculture (VNUA) Hanoi, Vietnam Feb 22-23, 2016 国際学会 Keynote lecture (基調講演)

IBS のヒントを探る - 消化管における免疫・炎症応答と消化管神経叢 - 堀正敏 **第 18 回日本神経消化器病学会** 2016.9.9-10 北海道大学医学部 (北海道・札幌市) (シンポジスト)

Th1/Th2/Th17 シグナルと腸管運動. 堀正敏 **第 12 回日本食品免疫学会学術大会** 2016.11.9-10 東京大学伊藤国際ホール (東京・文京区) (学会招待講演)

[図書] (計 5 件)

術後イレウスにおける消化管運動機能亢進薬による神経性抗炎症作用. 堀正敏、遠藤真理、土田泰昭、木村仁美、猪村優貴、中嶋樹理、三原大輝、三河翔馬、梶典幸、及川哲郎、尾崎博 *Ulcer Research* (2017) vol.44 (5) 印刷中

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/yakuri/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

堀 正敏 (HORI, Masatoshi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号 : 7 0 2 1 1 5 4 7

(2) 研究分担者

藤澤 正彦 (FUJISAWA, Masahiko)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・講師
研究者番号 : 1 0 5 0 8 8 7 3

道下 正貴 (MICHISHITA, Masataka)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・助教
研究者番号 : 5 0 4 3 4 1 4 7

堀口 和秀 (HORIGUCHI, Kazuhide)

福井大学・医学部・准教授

研究者番号 : 2 0 3 7 7 4 5 1

(3) 連携研究者

百溪 英一 (MOMOTANI, Eiichi)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・上席研究員

研究者番号 : 5 0 3 5 5 1 4 5

田島 剛 (TAJIMA, Tsuyoshi)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・助教
研究者番号 : 6 0 5 0 8 8 7 8