

平成 21 年 5 月 19 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790460
 研究課題名（和文）糖尿病胃腸症に対する消化管運動機能改善薬の有効性についての検討

研究課題名（英文）Effects of gastrointestinal prokinetic drugs on diabetic gastroenteropathy.

研究代表者

鬼頭 佳彦 (Kito Yoshihiko)
 名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：60381787

研究成果の概要：膨満感などの上腹部愁訴に処方される六君子湯は小コンダクタンスカルシウム活性化カリウムチャネルの活性化による膜の過分極反応と電位変化を伴わない平滑筋への直接的な作用によりラット胃底部輪走筋を弛緩させることを明らかにした。また、六君子湯は糖尿病性胃腸症により有効である可能性を示した。ラット胃底部において筋層内 ICC (ICC-IM) の電気活動（自発性一過性脱分極 (STD)）の測定に世界で初めて成功した。STD は ICC-IM で発生するアクティブな反応であり、STD が輪走平滑筋に伝播することで単電位が発生することが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：東洋医学

1. 研究開始当初の背景

(1) 10年の糖尿病罹患期間で30～50%の糖尿病患者が糖尿病に伴う胃腸運動障害（糖尿病性胃腸症）を生じると報告されている。糖尿病性胃腸症を生じると腹部膨満感、嚥下障害、悪心、嘔吐、腹痛、便秘、下痢などの多彩な消化器症状が出現し、患者のQOLを著しく低下させる。この病態は摂取した食物

が胃から腸へ速やかに排出されないため、インスリン使用患者では食後低血糖を含め血糖コントロール悪化の原因となっている。従って、糖尿病性胃腸症を改善することは患者のQOLの改善のみならず、血糖コントロールの面においても重要である。

(2) カハールの介在細胞 (ICC) は約 100

年前にスペインの解剖学者であるカハールが消化管の Auerbuch 神経叢に分布する“神経様細胞”として報告した特殊な間質性細胞であり、主に2つのサブタイプが存在する。1つは胃や小腸の輪走筋・縦走筋間の筋間神経叢に分布している ICC (ICC-MY) であり、消化管平滑筋の“筋原性”活動の歩調とり細胞として機能している。もう1つのサブタイプは輪走・縦走各筋層内に分布する ICC (ICC-IM) であり、自律神経からの伝達物質を介した信号を受容してこれを平滑筋に伝えるという神経信号伝達の仲介役を担っている。糖尿病モデル動物では消化管全般に渡り ICC-MY、ICC-IM の減少・消失が観察され、これを裏付けるように自発性収縮活動のリズムをつける緩電位 (スローウェーブ) の発生頻度の低下・消失、興奮性および抑制性接合部電位の振幅減少・消失が報告されている。従って、糖尿病性胃腸症の治療では ICC 減少・消失下において消化管運動機能改善効果を有する薬剤を投与する必要があると思われる。

(3) 現在、消化管運動機能改善薬として臨床に用いられている化学合成薬剤は単一の作用機序を有するものがほとんどであり、患者によって症状が多様な糖尿病性胃腸症においての有効性については不明な点が多く、さらに副作用の問題もある。このような化学合成薬剤とは別に、消化管運動機能改善効果を有し、実際に臨床で用いられている漢方薬がある。その代表例が大建中湯であり、特に術後癒着性イレウスや術後腸管麻痺の治療に効果があるとして用いられている。大建中湯の消化管に対する薬理作用には、運動調節作用、抗炎症作用、血流量増加作用等が報告されており、単純な消化管運動機能改善作用だけでその効果を発揮しているわけではない。合併症のある患者が今後増加していくことを考えると、漢方薬はその特徴である多成分系を駆使して包括的に病態をコントロールできるこれからの時代の薬である。しかしながら、作用機序が不明などの理由で処方のためらう臨床医が多い。よって作用機序の解明が漢方薬研究において最も重要な課題であると思われる。

2. 研究の目的

(1) 生活習慣と密接に関係し、糖尿病患者の大部分を占めるのは2型糖尿病であることから自然発症2型糖尿病モデル動物とその対照動物を用いて、消化管平滑筋の自動運動、電気的自発活動などを比較検討し、糖尿病が消化管平滑筋および ICC の機能に及ぼす影響について調べる。

(2) 糖尿病モデル動物に対する漢方薬 (大建中湯と六君子湯) の効果を検討するとともに、これらの作用機序を明確にするとともに、これらの漢方薬の糖尿病性胃腸症における有用性の解析を行なう。

3. 研究の方法

(1) 筋張力測定: 胃幽門部自発性収縮運動と経壁電気刺激による反応に及ぼす薬剤の効果を検討する。

(2) 細胞内電位記録の測定: 胃幽門部から記録されるペースメーカー電位とスローウェーブ、さらに接合部電位に及ぼす薬剤の効果を検討する。

(3) 小腸、大腸についても同様に検討する。

4. 研究成果

(1) 糖尿病性胃腸症に対する消化管運動機能改善薬の有効性を検討するにあたり、まず糖尿病モデル動物から摘出した平滑筋標本の性質を調べる目的で以下の2種類の実験を行った。実験には既存の糖尿病モデル動物のなかで最も安定して高血糖を呈すると報告されている ZDF ラットを用いた。糖尿病である ZDF (fa/fa) ラットは対照群である ZDF (lean) ラットに比べて有意に高血糖を示した (549mg/dl (fa/fa), 155mg/dl (lean), $p < 0.01$)。

① 小腸: 胃や小腸の筋間神経叢にはカハールの介在細胞 (ICC) と呼ばれる細胞群がネットワークを形成しており、消化管の歩調取り細胞として機能している。ICC が発生する歩調取り電位が平滑筋層に伝播することで平滑筋細胞において緩電位 (スローウェーブ)

が発生する。糖尿病ラット (fa/fa) 小腸輪走筋の緩電位を測定したところ、正常ラット (lean) と同様の緩電位を発生していた。さらにATP感受性Kチャンネル開口薬であるピナシジルは糖尿病ラット (fa/fa) と正常ラット (lean) のいずれの輪走筋細胞も同程度に過分極させた。

② 結腸：糖尿病性胃腸症の症状の一つに自律神経障害がある。結腸平滑筋に経壁電気刺激を行い、神経筋接合部電位を測定することで神経の機能を評価した。正常ラット (lean) は経壁電気刺激により一過性の早い抑制性接合部電位とゆっくりとした時間経過の抑制性接合部電位、さらにリバウンドの脱分極を発生した。同様の接合部電位が糖尿病ラット (fa/fa) においても記録された。

以上のことから、ZDFラットにおいて小腸ICC及び結腸の自律神経は高血糖にも関わらず正常に機能していることが明らかとなった。実験に用いたZDF (fa/fa) ラットは常に安定して高血糖を示したことから、糖尿病性胃腸症は必ずしも血糖値の上昇とは関連しない可能性が示唆された。

(2) ラット胃噴門部を用いて単電位の発生機序について検討した。ラット胃噴門部輪走平滑筋細胞は静止膜電位が -40mV から -50mV で、単電位を不規則に発生していた。細胞内Caポンプの阻害剤であるシクロピアゾン酸 ($5\mu\text{M}$) は膜を約 10mV 脱分極させた後、単電位を消失させた。また、PLC阻害剤のNCDC ($30\mu\text{M}$) は膜を数 mV 過分極させ、単電位を消失させた。シクロオキシングナーゼ阻害剤であるインドメタシン ($10\mu\text{M}$) は膜を数 mV 過分極させ、単電位の発生を減少させた。インドメタシン存在下において、 PGE_2 アナログであるエンプロスチル (150ng/ml) は、膜を約 10mV 脱分極させ単電位を再発生させた。以上の結果から、ラット胃噴門部では内因性プロスタノイドが細胞内Ca動員機構を介して単電位発生に寄与している可能性が示唆された。

(3) 六君子湯は腹部膨満感や食欲不振、消化不良、嘔吐等の上腹部愁訴に用いられる漢

方製剤である。ラット胃底部輪走筋標本において六君子湯 ($0.1-5\text{mg/ml}$) はエンプロスチル (PGE_2 アナログ) により誘発される持続性収縮を用量依存的に弛緩させた。六君子湯の弛緩作用はグアニル酸シクラーゼ阻害剤であるODQの影響を受けなかった。六君子湯による弛緩は早い成分と持続性成分の二相性から成り、早い弛緩成分は小コンダクタンズカルシウム活性化カリウム (SK) チャンネルの阻害剤であるアパミンにより消失した。六君子湯はエンプロスチルによる脱分極反応を抑制した。六君子湯による過分極反応は早い成分と持続性成分の二相性から成り、アパミンにより早い過分極成分は消失した。自然発症 2 型糖尿病ラットであるGKラットの胃底部輪走筋では一酸化窒素作動性神経の機能が低下していたが、六君子湯はGKラットの胃底部輪走筋を対照であるWistarラットよりも強く弛緩させた。以上の結果から、六君子湯はSKチャンネルの活性化による膜の過分極反応と電位変化を伴わない平滑筋への直接的な作用によりラット胃底部輪走筋を弛緩させることが明らかとなった。また、GKラット胃底部輪走筋に対する効果より六君子湯は糖尿病性胃腸症により有効である可能性が示唆された。

(4) ラット胃底部輪走筋標本において筋層内 ICC (ICC-IM) の電気活動の測定に世界で初めて成功した。微小電極内に色素を充填し、刺入した細胞に色素を注入することで電位を記録した細胞の形態を観察すると、胃底部の輪走平滑筋細胞は $2-5\text{mV}$ (最大 10mV) の小さな単電位を発生していたのに対し、ICC-IMは通常 20mV (最大 30mV) の一過性脱分極反応 (STD) を示した。STDにはバーストタイプと連続タイプの2種類のタイプが存在した。STDがバーストタイプになるか連続タイプになるかは標本内のICC-IMの数によるものと思われるが、連続タイプのような電気現象はこれまで胃底部では報告されていない全く初めてのものであった。単電位が一酸化窒素 (NO) ドナーであるSNPやATP感受性Kチャンネル開口薬であるピナシジルで抑制されたのに対し、STDはそれらの薬剤で抑制されなかった。以上のことから

STD は ICC-IM で発生するアクティブな反応であり、STD が輪走平滑筋に伝播することで単電位が発生することが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計2件)

- ① 鬼頭佳彦、鈴木光、ラット胃噴門部における単電位発生機序について、第50回日本平滑筋学会総会、平成20年7月4日、弘前
- ② 鬼頭佳彦、Role of K^+ channels in the generation of electrical spontaneous activity of the mouse small intestine. 第5回国際ICCシンポジウム、平成19年8月22日、アイルランド

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鬼頭 佳彦 (Kito Yoshihiko)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：60381787

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：