

平成 21 年 4 月 23 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007-2008 年
 課題番号：19591528
 研究課題名 (和文) 結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果
 とその作用機序
 研究課題名 (英文) Intracolonic capsaicin stimulates colonic motility and defecation
 via cholinergic receptors in conscious dogs
 研究代表者 柴田 近 (SHIBATA CHIKASHI)
 東北大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号：30270804

研究成果の概要：

「目的」capsaicin 結腸内投与の回・結腸運動、排便に及ぼす効果とそのメカニズムを検討する事。「方法」ビーグル犬を用い strain gauge force transducer を回腸末端、結腸に縫着・固定し、消化管の輪状筋収縮を測定した。生理食塩水、capsaicin 結腸内投与における、また拮抗薬存在下での消化管運動と排便に対する効果を検討した。さらに結腸の外來性神経切離モデル、結腸ループモデルを作成し検討した。「結果」capsaicin 5mg、10mg の投与直後から結腸に巨大収縮波を高頻度に誘発し、排便を誘発した。Atropine と hexamethonium 存在下では capsaicin 結腸内投与の効果は抑制された。また、外來性神経切離モデルでは、capsaicin の効果に減弱が見られ、結腸ループモデルでは capsaicin の効果は消失した。「結語」capsaicin 結腸内投与は、コリン受容体を介して結腸運動・排便を制御しており、この作用は結腸へ分布する外來性神経及び壁在神経系が関与していると考えられた。

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目:外科系臨床医学

キーワード: capsaicin、結腸運動、排便、コリン受容体、外來性神経

1. 研究開始当初の背景

消化管の運動異常が関与している疾患・病態は数多く存在するが、中でも代表的なものは便

秘・下痢であり、回腸・大腸運動の低下や亢進が便秘・下痢の発症に関与していると考えられる。

平均寿命の上昇により超高齢化社会を迎え、老人保健施設等における長期臥床高齢者の排便のコントロールは、介護の面からも大きな社会問題となりつつある。

排便時には、結腸から直腸へと高速度で伝播する極めて特徴的な波高の高い収縮波が出現することが知られており、イヌでは giant migrating contractions (GMCs) と呼ばれている。イヌの場合、下痢時にはこの GMCs が頻発することが報告されている。従って、この GMCs の制御が排便の制御につながり、GMCs を誘発できれば今までとは全く違った機序の下剤、あるいは排便誘発剤の開発につながる可能性がある。

消化管運動を制御する因子としては、1) 遠心性・知覚性線維を含む交感神経系と副交感神経系(外来性神経)、2) 消化管壁に分布する腸管神経系(壁在神経または内因性神経)、3) 消化管ホルモン、が重要と考えられている。その中で、本研究室では以前より、capsaicin の消化管内(胃、十二指腸、回腸)投与が消化管運動に及ぼす効果を検討してきた。

capsaicin は唐辛子の辛味の主成分であり、知覚神経の無髄性 C 線維に存在する侵害性受容器・nociceptor に作用し、局所で Substance P や CGRP を放出させることが知られている。また capsaicin 受容体遺伝子は type-1 (TRPV-1) と呼ばれている。

Capsaicin は臨床的には、難治性の帯状疱疹痛に対しての鎮痛作用や嚥下反射の改善作用目的に使用されているが、食品中に含まれる物質にも関わらず消化管運動に対しての作用はあまり知られていない。

われわれは、capsaicin が投与局所の知覚神経を刺激して離れた部位の消化管運動を抑制、または亢進させ、これらの反応は外来性神経を介した神経反射であることを明らかにしてきた。特に、胃内腔に capsaicin を投与すると、投与直後に結腸運動の亢進が起こり高頻度に排便を誘発できること、これらの反射はコリン受容体を介すること、またセロトニン 3 (5-HT₃) 受容体やニ

ューロキニン 1 (NK-1) 受容体を介することを報告した。この現象は、capsaicin を速効型経口排便誘発剤として臨床応用できる可能性を示唆するが、capsaicin 胃内投与は排便のみならず嘔吐をも高頻度に誘発してしまう点が大きな問題であった。

また、結腸壁内に存在する TRPV-1 への刺激が結腸運動を亢進させ、排便を誘発する可能性も報告されており、capsaicin の結腸内投与で、結腸運動が亢進し、排便が誘発されることが推測された。さらに、結腸内投与では胃内投与時に認められた嘔吐を誘発しない可能性があると考えられた。

意識下でのイヌの結腸には2種類の収縮波が認められる。1つは、colonic motor complexes (CMCs) と呼ばれる収縮波形である。CMCs は、比較的遅い速度で肛門側へと伝播する。もう1つの収縮は前述の GMCs であり、伝播速度が CMCs よりも極めて速く、波高も高い。GMCs が遠位結腸まで伝播したときに排便が起こるため、GMCs は内容物の急速な移動と密接に関与していると考えられている。

その一方で、GMCs 制御における外来性神経、壁在神経系、結腸内容物の役割には不明な点も多い。

2. 研究の目的

以上の背景のもとに、以下の仮説を立てた。

仮説1) capsaicin の結腸内投与は、嘔吐を誘発することなく、用量依存性に結腸運動を亢進させ、GMCs の出現・排便回数を増加させる。

仮説2) 上記の capsaicin の効果にはコリン受容体、5-HT₃ 受容体、NK-1 受容体が関与している。

仮説3) 上記の capsaicin の効果には外来性神経を介した反射である。

本研究の目的は、capsaicin の回・結腸運動、排便に及ぼす効果とそのメカニズムを検討することである。

3. 研究の方法

(1)対象

体重 10 kg～12 kg の雌雄のビーグル犬を 14 頭用いた。また、すべての実験は東北大学動物実験指針に乗っ取って行われた。

(2)動物モデルの作製

全ての手術は全身麻酔下に無菌的に行なった。イヌは正常対照群(N=5)、外来性神経切離群(以下除神経群、N=5)、結腸ループ群(N=4)の3群に分けたが、以下の操作は全てのイヌで共通に行なった。全身麻酔は thiopental(ラボナール®、田辺製薬、大阪) 20 mg/kg の静脈注射にて導入し、halothane(フローセン®、武田薬品、大阪)と酸素の混合ガス麻酔で維持した。麻酔後は開腹操作に先立ち、右外頸静脈よりシリコンチューブ(SH No.2、内径 2 mm、外径 3 mm、クリエイトメディック株式会社、横浜)を上大静脈内に留置し、術後の点滴、薬物投与に用いた。消化管運動の測定は、strain gauge force transducer(F-121S、スターメディカル、東京、以下 transducer)を輪状筋収縮が測定できるように消化管4カ所に縫着・固定して行なった。Transducer の縫着部位は、回盲弁から 5 cm 口側の遠位回腸、近位結腸(C-1)、中部結腸(C-2)、遠位結腸(C-3)、の計 4 か所である。Capsaicin 投与ルートとして、シリコンチューブを盲腸より挿入し、先端が C-1 の transducer の部位に位置するように留置した。

以上の操作は3群に共通であり、正常対照群ではこれ以外の操作は行わなかった。

結腸への外来性神経を切離・遮断した外来性神経切離群(除神経群)では、外来性神経の切離を結腸に分布する動静脈以外の結合組織を外科的に剥離して行なった。その範囲は、回盲弁より 7 cm の回腸から、腹膜翻転部の 7 cm 口側の結腸までとした。

結腸を isolate したモデル(結腸ループ群)では、回盲弁から 7 cm 口側で回腸を、パウヒン弁より約 8 cm 肛側(C-1 と C-2 の間)で結腸を切離した。消化管は回腸結腸端々吻合で再建し、遊離したループの回腸断端は縫合・閉鎖し、結腸断

端は人工肛門として腹壁に縫合・固定した。

除神経群、結腸ループ群ともに transducer の縫着や導線の留置などは正常対照群と同様に行なった。

(3)消化管運動の測定

術後2週間の回復期間の後に、無拘束、意識下で消化管運動の測定を行なった。消化管運動波形は解析専用プログラム(Chart、AD Instrument、Victoria、オーストラリア)を用いて取り込み、解析に用いた。

(4)実験方法

すべての実験は約 16 時間の絶食後、空腹期に at random に1日 1 回行なった。食餌投与を1日 1 回とした場合のイヌの意識下での消化管運動は、空腹期と食後期に大別できる。今回の実験はすべて空腹期に行なった。

A) 正常対照群での検討: capsaicin は 95 %エタノールで 10 mg/ml に溶解し、必要な用量を生理食塩水で希釈して合計 10 ml にして使用した。Capsaicin 1, 2, 5, 10 mg を結腸内に bolus で投与し、消化管運動・排便に対する影響を検討した。95 %エタノール 1 ml + 生理食塩水 9 ml を結腸内に投与した時の反応を placebo control とした。また、capsaicin 投与時に認められた消化管運動亢進効果の作用機序を検討するため、各種拮抗剤または生理食塩水を、capsaicin 5 mg または placebo control の結腸内投与の 10 分前に静脈内に投与した。使用した拮抗剤はムスカリン受容体拮抗剤の atropine (0.1 mg/kg + 0.1 mg/kg-h を 30 分)、ニコチン受容体拮抗剤の hexamethonium (5.0 mg/kg + 5.0 mg/kg-h を 30 分)、5-HT₃ 受容体拮抗剤の ondansetron (0.5 mg/kg + 0.5 mg/kg-h を 30 分)、NK-1 受容体拮抗剤の FK224 (1.0 mg/kg + 1.0 mg/kg-h を 30 分)、β 受容体拮抗剤 propranolol (1.0 mg/kg + 1.0 mg/kg-h を 30 分) である。

B) 除神経群と結腸ループ群における検討: 前述の如く 95 %エタノールに溶解した capsaicin 5, 10 mg を生理食塩水と合計 10 ml になるように混合し結腸内に投与し、消化管運動に対する影響を

検討した。95 %エタノール 1 ml+生理食塩水 9 ml を結腸内投与した時の反応を placebo control とした。

(5) データの解析

同じ実験を2回または 3 回繰り返し、平均値をそのイヌの代表値とした。

全ての実験で、capsaicin を結腸内投与後 30 分間について解析を行った。記録された波形と基線との間の面積を motility index として、運動の定量化に用いた。

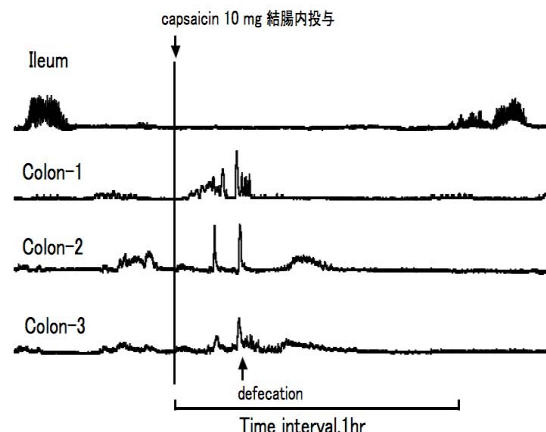
また、capsaicin 投与後 30 分以内の GMCs の出現、排便の頻度を検討し、排便が認められた場合には capsaicin 投与から排便発現までの時間を測定した。除神経や結腸ループ作製による空腹期結腸運動への影響を検討する目的で、正常対照群、除神経群、結腸ループ群における空腹期の GMCs の出現頻度(何分に1回の割合で GMCs が起こるか)を測定した。Motility index、排便出現までの時間、各群における GMCs 出現頻度のデータは平均値±標準誤差で表した。Motility index、排便出現までの時間の統計学的検定には Student-t 検定を用いた。GMCs の出現頻度と排便は全ての実験回数のうち何回認められたかを検討し、GMC の誘発回数と排便誘発回数の統計学的検定には Fisher の直接確率計算法を用いた。危険率 $p < 0.05$ をもって有意と判定した。

4. 研究成果

(1) 正常対照群における capsaicin 結腸内投与の回結腸運動に対する効果

空腹期における placebo control, capsaicin 1, 2 mg の結腸内投与は、回結腸運動に影響を与えなかった。capsaicin 5, 10 mg の結腸内投与は、結腸運動を亢進させ、GMCs を高頻度に誘発し、排便を誘発した。また、いずれの投与量も回腸運動には影響を与えなかった(Figure 1)。

Fig 1 正常対照群におけるcapsaicin 10 mg 結腸内投与の効果



Capsaicin 1, 2 mg は結腸の GMCs・排便に影響しなかったが、5, 10 mg は 15 回の実験のうち、それぞれ 14 回(93.3 %)ずつ GMCs・排便を誘発した。また、いずれの投与量も嘔吐を誘発することはなかった(Table 1, 2)。

Table 1 : capsaicin結腸内投与による各群でのGMCs出現回数

Dose of capsaicin (mg)	Placebo control	1	2	5	10
正常対照群(N=5)	0/15	0/15	0/15	14/15* [§] (93.3%)	14/15* [§] (93.3%)
除神経群 (N=5)	0/15	-	-	0/15	0/15
結腸ループ群 (N=4)	0/11	-	-	1/11(9.1%)	0/11

* $p < 0.05$ (placebo controlと比較して)

§ $p < 0.05$ (同用量の除神経群と比較して)

† $p < 0.05$ (同用量の結腸ループ群と比較して)

Table 2 : capsaicin結腸内投与による各群での排便誘発回数

Dose of capsaicin (mg)	Placebo control	1	2	5	10
正常対照群(N=5)	0/15	0/15	0/15	14/15* [§] (93.3%)	14/15* [§] (93.3%)
除神経群 (N=5)	0/15	-	-	5/15* (33.3%)	4/15* (26.7%)
結腸ループ群 (N=4)	0/11	-	-	1/11(9.1%)	0/11

* $p < 0.05$ (placebo controlと比較して)

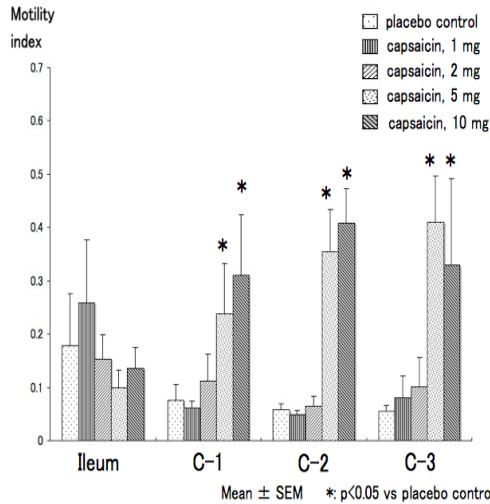
§ $p < 0.05$ (同用量の除神経群と比較して)

† $p < 0.05$ (同用量の結腸ループ群と比較して)

capsaicin 投与時の排便までの所要時間は、5, 10 mg でそれぞれ平均 5.5, 7.6 分であった。capsaicin 5, 10 mg の投与により、すべての結腸部位で、placebo control と比べて有意な motility

index の増加が認められた。また capsaicin の結腸内投与は、回腸の motility index には影響を与えなかった(Figure 2)。

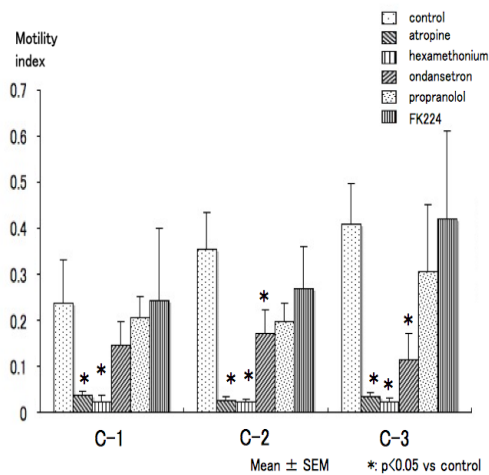
Fig 2 正常対照群におけるcapsaicin結腸内投与のmotility indexに対する効果



(2) 正常対照群での capsaicin による結腸運動亢進作用に対する各種拮抗剤の効果

atropine と hexamethonium は、capsaicin による結腸運動亢進を全ての部位で抑制し、ondansetron は C-2, C-3 において capsaicin の結腸運動亢進効果を抑制した。propranolol と FK224 は capsaicin の結腸運動亢進効果に影響しなかった(Figure 3)。

Fig3 各種拮抗剤の空腹期結腸運動とcapsaicin誘発性結腸収縮に対する効果



atropine と hexamethonium 存在下では capsaicin 5 mg 結腸内投与による GMCs 及び排便の出現回数は抑制されたのに対し、その他の拮抗剤は影響しなかった(Table 3)。

Table 3 : 各種拮抗剤存在下でのcapsaicin 5mg 結腸内投与によるGMCs出現回数と排便誘発回数

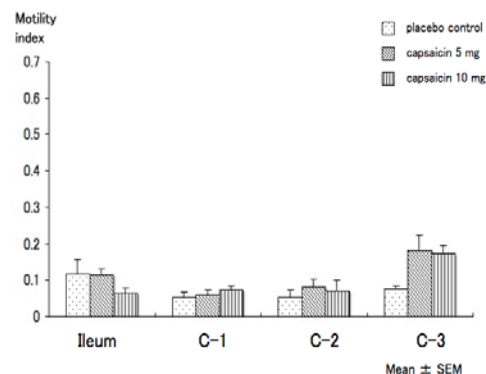
	atropine	hexamethonium	propranolol	ondansetron	FK224
GMCs	0/10	0/10	10/10	9/10	10/10
排便	1/10	1/10	9/10	10/10	10/10

5頭、10回の実験でGMCs、排便が認められた実験数

(3) 除神経群における capsaicin の回結腸運動に対する効果

空腹期における placebo control の結腸内投与は、回結腸運動に影響を与えなかった。除神経群での capsaicin 投与は、正常対照犬と異なり、結腸運動亢進効果は不明瞭となり、全ての実験で GMCs を認めなかった。しかしながら、波高の高い収縮波を C-3 で認め、この波形の出現は 5 mg で 15 回中 6 回、10 mg で 15 回中 7 回認められた。1 カ所でしか認められなかったため、GMCs とは呼べないが、これら高波高収縮波出現に伴って排便が 5 mg で 5 回、10 mg で 4 回認められた。このような効果は、排便が全く認められなかった placebo control に比べて有意な排便誘発作用であったが、正常対照犬に比べると有意に減少していた (Table 1, 2)。また、除神経群では capsaicin 投与から排便までの時間は平均 17~19 分と正常対照犬に比べて有意に遅延していた。Capsaicin 投与後の回・結腸運動の変化を motility index でみると、いずれの部位でも運動亢進効果を認めなかった(Figure 4)。

Fig 4 除神経群におけるcapsaicin結腸内投与のmotility indexに対する効果



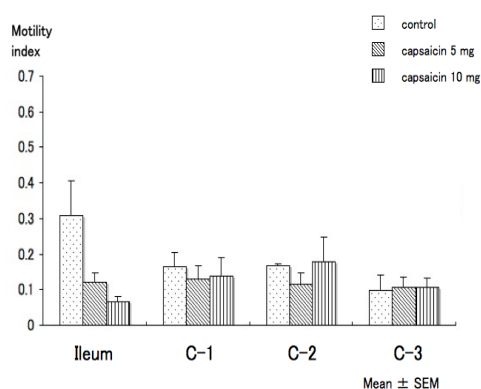
4) 結腸ループ群における capsaicin の回結腸運

動に対する効果

イヌ 1 頭は 3 回目の実験を行う前に突然死したため実験を 11 回しか行えなかった。空腹期における placebo control の結腸内投与は、回結腸運動に影響を与えなかった。Capsaicin の結腸内投与は、主として近位結腸に GMCs ではなく CMC を誘発することがあったが、全ての実験では認められなかった。結腸 GMCs の出現、排便もほとんど認められなくなり、それらの頻度は GMCs・排便共に 5 mg で 11 回中 1 回、10 mg で 11 回中 0 回と、placebo control に比べて有意差はなく、正常対照群と比べて有意に減少していた ($p < 0.05$) (Table 1, 2)。

capsaicin 結腸内投与後に motility index の増加は認めなかった (Figure 5)。

Fig 5 結腸ループ群における capsaicin 結腸内投与の motility index に対する効果



5. 結論

capsaicin は侵害性受容器を刺激し、アセチルコリンの放出をコントロールして結腸運動を亢進させ GMCs と排便を制御していることが示された。また、この結腸運動の収縮・GMCs の出現には結腸の壁在神経系が重要な役割を担い、結腸への外来性神経がこれを修飾していると考えられた。このような侵害性受容器を介した GMCs と排便の誘発効果は、新しい機序の下剤の開発につながる可能性を有している。

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)

[雑誌論文] (計 1 件)

① 林啓一、柴田近、佐々木 巖、結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果とその作用機序、東北医学雑誌、120(1)、80-82、

2008. 査読なし

[学会発表] (計 5 件)

- ① 林啓一、柴田近、他。結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果とその作用機序、日本消化器外科学会。2008. 7. 18. 札幌市
- ② 林啓一、柴田近、他。結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果とその作用機序、日本平滑筋学会。2008. 7. 3. 弘前市
- ③ 林啓一、柴田近、他。結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果とその作用機序、日本外科学会。2008. 5. 15. 長崎市
- ④ 林啓一、柴田近、他。結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果とその作用機序、日本消化器病学会。2008. 5. 11. 福岡市
- ⑤ 林啓一、柴田近、他。結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果とその作用機序、日本国際消化管運動研究会。2008. 5. 11. 福岡市

[図書] (計 1 件)

林 啓一、柴田近。出版社：日本 Neurogastroenterology (神経消化器病) 学会、書名：消化管運動、2008.vol.10.N01.p53-55

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 近 (SHIBATA CHIKASHI)
東北大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：30270804

(2) 研究分担者

佐々木 巖 (SASAKI IWAO)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：60125557
木内 誠 (KINOUCHI MAKOTI)
東北大学・病院・助教
研究者番号：90422146

(3) 連携研究者 なし