

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 29 日現在

機関番号：32519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460127

研究課題名(和文)新規アリルイソチオシアネート誘発機能性ディスペプシア動物を用いた健胃薬の薬効評価

研究課題名(英文) Allyl isothiocyanate, a pungent ingredient of wasabi, induces gastric low-grade inflammation in rodents to lead to the impaired gastric motility for the development of functional dyspepsia

研究代表者

田嶋 公人 (TASHIMA, Kimihito)

城西国際大学・薬学部・准教授

研究者番号：60406783

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：機能性ディスペプシア(FD)は、内視鏡検査では異常が認められないにも関わらず“胃痛・胃もたれ”など胃の不快感が長期にわたり現れる病気である。我々はヒトに類似したFD病態モデル動物を開発することで、その病態の原因解明および新しい治療薬を見出すことを目指し研究を行ってきた。その結果、ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネート処置動物は、胃粘膜において炎症を誘起しFDの病態に係る胃運動の減弱を誘起したが、その異常は持続しなかった。今後、FD病態モデル病物の構築に向けて胃運動減弱状態の持続化、内臓知覚過敏、そして、悪心・嘔吐症状が発現するかなどでFD病態モデル動物の系確立を目指す。

研究成果の概要(英文)：Our findings suggest that allyl isothiocyanate, a pungent ingredient of wasabi, induced gastric low-grade inflammation with no mucosal damage is independent on TRPA1 channels in rat stomachs, but is dependent on capsaicin-sensitive sensory neurons and endogenous prostaglandin. In contrast, endogenous nitric oxide facilitates to suppress gastric low-grade inflammation in response to AITC. These factors are thought to lead to low grade inflammation in gastric mucosa, resulting in the impaired motility in rodents.

研究分野：消化管薬理学

キーワード：ストレス 胃腸機能障害 炎症 実験動物 トウガラシ ワサビ アリルイソチオシアネート 国際情報交換

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒトの疾患の成因解明、治療法および治療薬の開発のために、まずヒトの疾患と類似した病態モデルの作製が実験薬理学的な最優先事項であると考えられる。事実、消化性潰瘍モデル病態動物の開発を例に考えても、実験薬理学的な取り組みが消化性潰瘍の病態成因、治療法および治療薬の開発に大きく貢献してきたことはよく知られている<sup>(1)</sup>。

(2) 我々は消化管機能におけるワサビ受容体 TRPA 1 の役割について薬理学的試薬として TRPA1 活性化薬ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネート (AITC) を使用している。その過程でこの試薬が有する炎症惹起作用に起因すると思われる以下2つの現象を胃粘膜において引き起こすことを見出した。1つはラット胃粘膜タイトジャンクション (TJ) バリアの崩壊作用 (in vitro)、2つ目はラット胃粘膜傷害作用 (ex-vivo) である (図 1)<sup>(2, 3)</sup>。

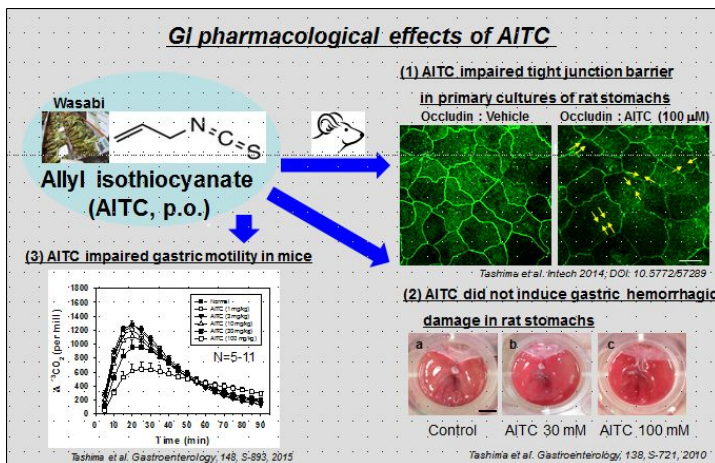


図 1. ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネートによるマウスおよびラット消化管における薬理作用

2. 研究の目的

本研究では、ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネート (AITC) が有する作用を利用して胃運動減弱病態モデルの構築を検討した。また、AITC 投与マウスの胃運動減弱に対する胃腸運動改善薬の効果を検討した。

3. 研究の方法

動物は雄性 ddY 系マウス 6~9 週齢を一晩絶食後に使用した。胃運動は、内田らと松本らの方法に従って測定した<sup>(4,5)</sup>。<sup>13</sup>C 標識酢酸をマウスに経口投与後、チェンバーに入れ呼気から排出される <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> をポンプで吸引し、酢酸投与後 5 分間隔で投与 90 分まで経時的に呼気を呼気バックに採取した。採取した呼気中の <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> 量は赤外分光分析装置 POConc (大塚電子(株)) にて測定した。<sup>13</sup>C 標識酢酸は胃運動により胃から排出され、吸収・代謝を経て、<sup>13</sup>CO<sub>2</sub> として呼気中に排泄される。この呼気を標準ガス (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) との <sup>13</sup>C 量の差を測定し胃運動の変化として評価した。薬物は、AITC (1~100 mg/kg) を測定開始 (<sup>13</sup>C 標識酢酸投与) 30 分前に経口投与した。また、胃運動減弱モデル動物の作製には AITC (80 mg/kg) を測定開始 30 分前に経口投与した。さらに、胃腸運動改善薬イトプリド (ドパミン D<sub>2</sub> 受容体遮断作用とコリンエステラーゼ阻害作用を併せ持つ: 30, 100 mg/kg)、モサプリド (セロトニン 5-HT<sub>4</sub> 受容体作動薬: 0.1~1 mg/kg)、ネオスチグミン (コリンエステラーゼ阻害薬: 30 μg/kg)、そして、機能性ディスペプシア治療薬であるアコチアミド (30, 100 mg/kg) の投与は測定開始 40 分前に皮下投与した。なお、AITC (80 mg/kg, p.o.) による肉眼的胃粘膜傷害の有無は、AITC 投与後 2 および 24 時間に胃粘膜を剖検し、デジタルカメラで撮影評価した。

結果は平均 ± 標準誤差で示し、各群間の統計学的有意差は Bonferroni の多重比較検定を用いて、p < 0.05 の場合を有意とした。

4. 研究成果

(1) ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネート (AITC) 投与による胃運動変化

対照群の呼気から排出される <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> は経時的に増加し 20.0 ± 1.5 分に最大値を示し、そ

の後低下した。AITC 投与により  $^{13}\text{CO}_2$  胃排出パターンは用量依存的に抑制した。 $C_{\max}$  は AITC 30 mg/kg 以上の用量において対照群と比べ明らかに低下し、80 mg/kg の AITC では  $C_{\max}$  が  $307.9 \pm 33.9\%$ まで低下していた。しかし、AITC (80 mg/kg) による胃運動の減弱効果は投与後 24 時間では完全に消失していることを観察した。さらに、AITC (80 mg/kg) の経口投与は、投与後 2 および 24 時間においてマウス胃粘膜において肉眼的な粘膜損傷を惹起しないことを観察した。そのため、以下の実験では AITC (80 mg/kg, po) により生じる胃運動減弱作用を用いて胃運動改善薬の薬効評価を行った。

## (2) ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネート (AITC) 誘起胃運動減弱マウスに対する胃腸運動改善薬の効果

臨床で使用されている胃腸運動改善薬イトプリド、モサプリド、および、ネオスチグミンを用いて検討した。その結果、各薬物の前処置は AITC による胃運動減弱作用を用量依存的かつ明らかに改善した。さらに、AITC 誘起胃運動減弱は機能性ディスぺプシア治療薬であるアコチアミド (100 mg/kg) 前処置においても有意に改善した。

### < 考察 >

今回我々は、覚醒条件下でマウス胃運動を低侵襲性かつ経時的に測定できる  $^{13}\text{C}$  呼気テスト法を用い、AITC の胃運動機能に対する作用を解析した。その結果、AITC は肉眼的な胃粘膜傷害を誘起せず用量依存的に胃運動を低下させることを見出した。また、その作用は胃腸運動改善薬イトプリド、モサプリド、および、ネオスチグミン、さらに、機能性ディスぺプシア治療薬であるアコチアミドによって運動機能を回復することを見出した。これらより、AITC により誘起される胃運動減

弱は、薬効評価が可能な病態モデルであることが示唆された。

今後、AITC 誘起胃運動減弱モデルの発生機序について交感神経系の相対的な増大による運動低下、および、ACh が有する抗炎症作用に着目して検討を進めていきたいと考えている。また、興味あることに、機能性ディスぺプシア治療薬アコチアミドでも他の運動改善薬と同様に回復が認められた。これより、AITC 誘起胃運動減弱モデルマウスは胃腸運動改善薬などの薬効評価に活用できる病態モデルと考えられた。さらに今後検討を重ね、ストレス性胃腸機能障害の1つと考えられている機能性ディスぺプシアの治療薬探索にも応用できる病態モデルにしたいと考えている(図2)。

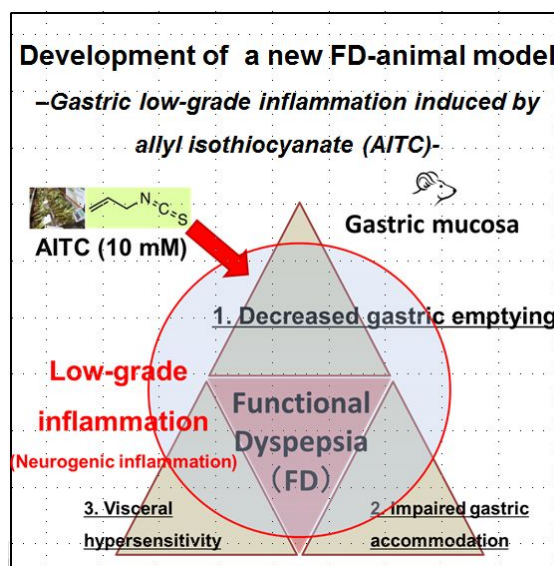


図 2. ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネート (AITC) 投与動物で認められた胃運動減弱状態、および、機能性ディスぺプシア病態モデル動物への展開図

### < 引用文献 >

- 樋口和秀編著 潰瘍学 過去、現在、未来 (第41回日本潰瘍学記念誌)  
Sato S, Tashima K, Matsumoto K et al.:  
Effects of heat- and cold-sensitive TRP channel agonists on tight junction barrier in

primary cultured rat gastric epithelial cells. *Gastroenterology* **134** (Suppl 1): A-704, 2008.

Tashima K, Raimura M, Matsumoto K et al.: Effect of allyl Isothiocyanate, a pungent ingredient of wasabi and mustard oil, on gastric mucosal blood flow and ulcerogenesis in rats: comparison with capsaicin. *Gastroenterology* **138** (Suppl 1): S-721, 2010.

Uchida M, Endo N, Shimizu K: Simple and noninvasive breath test using <sup>13</sup>C-acetic acid to evaluate gastric emptying in conscious rats and its validation by metoclopramide. *J Pharmacol Sci* **98**: 388-395, 2005.

Matsumoto K, Kimura H, Tashima K et al.: Validation of <sup>13</sup>C-acetic acid breath test by measuring effects of loperamide, morphine, mosapride, and itopride on gastric emptying in mice. *Biol Pharm Bull* **31**: 1917-1922, 2008.

Tashima K, Matsumoto K, Hashimoto K et al.: A rodent model of impaired gastric motility resulting from gastric low-grade inflammation induced by allyl isothiocyanate, a pungent ingredient of wasabi, to evaluate therapeutic agents for functional dyspepsia. *Gastroenterology* **148** (Suppl 1): S-893-S-894, 2015.

#### 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 4 件)

田嶋公人、橋本和樹、松本建次郎、堀江俊治. ワサビ辛味成分であるアリルイソチオシアネート誘起胃粘膜炎による胃運動減弱モデル動物 機能性ディスぺプシア病態モデル動物の開発へ *Ulcer Research* Vol.43 87-90 (2016)[査読無]

Matsumoto K, Takagi K, Kato A,

Ishibashi T, Mori Y, Tashima K, Mitsumoto A, Kato S, Horie S. Role of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channels in visceral nociception and hypersensitivity. *Exp Neurol*. Vol. 285 (Pt A):41-50 (2016). [doi: 10.1016/j.expneurol.2016.09.001.] [査読有]

堀江俊治、松本健次郎、田嶋公人. 胃粘膜上皮バリア機能調節におけるワサビ受容体 TRPA1 の役割 *Ulcer Research* Vol.42 32-34 (2015) 5月 [査読無]

田嶋公人、堀江俊治. 大建中湯のラット胃粘膜血流の増大作用：温度感受性チャネルTRPV1およびTRPA1チャネルの役割 *Ulcer Research* Vol.42 76 (2015) 5月 [査読無]

[学会発表](計 17 件)

#### (a) 招待講演(2件)

田嶋公人、松本健次郎、橋本和樹、押 範之、今井 拓、堀江俊治:ワサビ辛味成分であるアリルイソチオシアネートを用いた薬効評価可能な胃運動減弱モデル動物の開発 安定同位体を用いた胃機能評価法 「<sup>13</sup>C 標識化合物を用いた生理機能、薬理作用および毒性評価の実際」第 89 回日本薬理学会年会(パシフィコ横浜、2016.3.11)

田嶋公人: ストレスによる胃腸機能障害とトウガラシ・ワサビ関連受容体に関する薬理学的研究 ~機能性ディスぺプシア病態モデル動物の開発に向けて~ 第 14 回医薬薬学若手研究者セミナー「医薬薬学の革新を目指して」(東北大学大学院薬学研究科、2015.10.17)

#### (b) 国際学会 (2件)

Tashima K., Shimada H., Noma Y., Uraba T., Oshi N., Namiki T., Horie S. Contractile effect of TRPA1 activation with

allyl-isothiocyanate in isolated mouse distal colon: role of TRPA1-expressing neurons and endogenous prostaglandins. Digestive Disease Week 2016 (May 21-24, 2016, San Diego, USA)

Tashima K., Matsumoto K., Hashimoto K, Imai T., Horie S. A rodent model of impaired gastric motility resulting from gastric low-grade inflammation induced by allyl isothiocyanate, a pungent ingredient of wasabi, to evaluate therapeutic agents for functional dyspepsia. Digestive Disease Week 2015 (May 16-19, 2015, Washington DC, USA)

(c) 国内学会 (13 件)

押範之、橋本和樹、今井 拓、田嶋公人、堀江俊治：大建中湯の薬理作用機序解析を目的とした胃運動減弱モデル動物（機能性ディスぺプシアモデル）の確立。

天然薬物研修方法論アカデミー第 19 回岡崎シンポジウム（岡崎、2016.10.14-15）

田嶋公人、松本健次郎、堀江俊治：ウレタン麻酔下ラットにおけるワサビ辛味成分アリルイソチオシアネートによる胃粘膜微小炎症の惹起 TRPA1 チャンネル、一酸化窒素、および、プロスタグランジンの関与

第 44 回日本潰瘍学会（旭川グランドホテル、2016.9.2-3）

島田博文、田嶋公人、浦羽哲平、野間裕記子、並木隆雄、堀江俊治：マウス摘出遠位結腸標本における大建中湯の平滑筋収縮作用：ワサビ受容体 TRPA1 の関与

第 33 回和漢医薬学会学術大会（星薬科大学、2016.8.27-28）

押 範之、田嶋公人、橋本和樹、今井 拓、松本健次郎、堀江俊治：ワサビ辛味成分アリルイソチオシアネート誘起胃運動減弱モデルにおける消化管運動改善薬の胃運動促進作用 胃腸運動改善薬の

投与タイミングと摂食条件下の検討

日本薬学会第 136 年会（パシフィコ横浜 2016.3.29）

山浦しずき、田嶋公人、渡邊裕斗、高野翔太、堀江俊治：麻酔下ラットにおけるワサビ辛味成分アリルイソチオシアネートによる胃粘膜微小炎症惹起のメカニズム：TRPA1 の関与 第 89 回日本薬理学会年会（パシフィコ横浜、2016.3.9）

田嶋公人、浦羽哲平、野間裕記子、島田博文、並木隆雄、堀江俊治：マウス下部消化管の摘出標本における TRPA1 活性化薬アリルイソチオシアネートによる平滑筋収縮反応：内臓知覚神経、内因性プロスタグランジンおよびセロトニン受容体の役割【合同学術集会 2015】

第 17 回日本神経消化器病学会・第 9 回機能性ディスぺプシア研究会（沖縄科学技術大学大学院 OIST、2015.11.12-13）

山浦しずき、田嶋公人、渡邊裕斗、高野翔太、堀江俊治：麻酔下ラットにおけるワサビ辛味成分アリルイソチオシアネートによる胃粘膜微小炎症の惹起 -TRPA1 チャンネルの関与- 生体機能と創薬シンポジウム 2015（千葉・日本大学薬学部、2015.8.27～28）

新村 糧、田嶋公人、小松 徹、加藤 祐、堀江俊治：覚醒下マウスにおける基礎および刺激酸分泌反応に対するヒスタミン H<sub>2</sub> 受容体拮抗薬ラフチジンの効果-メラトニンの関与-生体機能と創薬シンポジウム 2015（千葉・日本大学薬学部、2015.8.27～28）

田嶋公人、松本健次郎、堀江俊治：ワサビ辛味成分であるアリルイソチオシアネート誘起胃粘膜炎症による胃運動減弱モデル動物 機能性ディスぺプシア病態モデル動物の開発へ 第 43 回日本潰瘍学会（沖縄科学技術大学院大学、

2015.6.19)

堀江俊治、松本健次郎、田嶋公人：覚醒下マウスにおける大建中湯の胃酸分泌抑制作用：カプサイシン受容体 TRPV1 第 43 回日本潰瘍学会（沖縄科学技術大学院大学、2015.6.19）

浦羽哲平、田嶋公人、関 裕太、石川恵莉子、松本健次郎、堀江俊治：マウス摘出下部消化管標本におけるワサビ辛味成分アリルイソチオシアネートの TRPA1 チャンネルを介する平滑筋収縮作用 - セロトニン 5-HT<sub>3</sub> および 5-HT<sub>4</sub> 受容体の関与 - 日本薬学会第 135 年会（神戸 2015.3.28）

田嶋公人、渡邊裕斗、來村昌紀、堀江俊治：麻酔下ラットにおける大建中湯による胃粘膜血流の増大反応：知覚神経温度感受性チャンネル TRPV1 と TRPA1 の関与 第 88 回日本薬理学会年会（名古屋 2015.3.19）

田嶋公人、堀江俊治：大建中湯のラット胃粘膜血流の増大作用：温度感受性チャンネル TRPV1 および TRPA1 の役割 第 42 回日本潰瘍学会（慶應大、2014.11.1）（口頭発表）

〔図書〕（計 4 件）

堀江俊治、田嶋公人：「第 12 章 呼吸器系疾患の薬、病態、治療 p429-456」、「第 13 章 消化器系疾患の薬、病態、治療 p457-506」（2016）2 月、「改訂モデル・コアカリキュラム対応 疾患薬理学（監修：成田 年）」ネオメディカル ISBN:978-4-904634-17-2

堀江俊治、松本健次郎、田嶋公人：トピック、展望(4)「FD の分子機構：末梢性内臓知覚過敏と温度感受性 TRPV1 チャンネル」機能性ディスペプシア 日本人に適した診療を求めて（荒川哲男監修、富

永和作編集）（フジメディカル出版）

2014 年 11 月 1 日

Tashima K, Kabashima M, Matsumoto K, Yano S, Hagen SJ, Horie S. Allyl isothiocyanate, a pungent ingredient of wasabi and mustard oil, impairs gastric paracellular barrier in primary cultures from the rat stomach via TRPA1-independent pathway

Intech (ISBN 980-953-307-1143-7) 2014 年 4 月 page 77-99 [査読有]  
doi: org/10.5772/58603

Horie S, Raimura M, Matsumoto K, Namiki T, Terasawa K, Tashima K. Cooperative effects of neuronal nitric oxide synthase and endothelial nitric oxide synthase on gastric hyperemic response to intragastric capsaicin Intech (ISBN 980-953-307-1143-7) 2014 年 3 月 103-123 [査読有]  
doi: org/10.5772/58557

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田嶋 公人 (TASHIMA, Kimihito)  
城西国際大学薬学部・准教授  
研究者番号：60406783

### (4) 研究協力者

内田 勝幸 (UCHIDA, Masayuki)  
並木 隆弘 (NAMIKI, Takahiro)  
島田 博文 (SHIMADA, Hirobumi)