学位の種類 博士 氏名 後藤 学

学位論文題目

Effect of central thyrotropin-releasing hormone on pancreatic blood flow in rats (ラット膵組織血流における中枢性 thyrotropin-releasing hormone の効果)

共 著 者 名 米田政志、中村公英、寺野彰、羽田勝計

Regulatory Peptides 121 巻 57 頁~63 頁 2004 年 9 月

【研究目的】

生体の膵機能における中枢神経系および自律神経系の役割が、神経解剖学的・電気生理学的・神経薬理学的に証明されてきている。近年、神経ペプチドが、中枢神経系および末梢神経において、神経伝達物質として存在し、生体内の種々の生理作用を中枢性にコントロールしていることが報告されている。thyrotropin-releasing hormone (TRH) は、中枢神経系において、神経ペプチドとして存在し、生理学的・薬理学的・組織学的に消化管機能を制御することが報告されている。

脳内において、TRH の神経終末およびTRH レセプターは、視床下部、および延髄迷走神経運動核 と孤束核を含む延髄迷走神経背側核 (DVC) に局在し、膵臓を含む消化器機能を、自律神経を介し て制御する。一方、膵臓には、自律神経終末が密に分布しており、動物モデルにおいて、自律神経 を介して膵組織血流に影響を及ぼすことが知られている。

これまでに我々は、中枢性 TRH が、肝組織血流の増加を来たし、コリン作動性神経を介して実験的肝障害を防御することを報告してきた。

一方、膵臓においては、中枢性 TRH が迷走神経を介して、内・外分泌機能を刺激することから、中枢性 TRH が迷走神経・コリン作動性神経を介して、膵組織血流を変化させるのではないかと考えた。

そこで、今回我々は、ラットにおける TRH の脳槽内投与が、膵組織血流に及ぼす効果について検討した。

【材料・方法】

Wister 系雄性ラット (240-275g) をウレタン麻酔下 (1.5 g/kg, ip) に、気管切開、開腹し、胃内にカニューレを留置。大腿動脈で圧トランスデューサーを用いて、血圧の連続モニタリングを行った。 膵組織血流量は、レーザードプラ血流計を用い、膵体部にプローブを装着し測定した。60 分間心拍と血圧を安定化した後、20 分間基礎血流量を測定し、それに対する相対値で膵組織血流量を表した。

基礎血流量測定後、安定型 TRH アナログ RX77368(1、3、5、10、30、50ng)または 0.9%生理 食塩水 10μ 1 を、マイクロシリンジにて脳槽内に投与。投与後 120 分間血流を観察した。比較実験 として、TRH アナログまたは生理食塩水を、大腿静脈に静注し、膵組織血流量を測定した。その作用機序を検討するため、抗コリン剤である Atropine methyl nitrate (0.15 mg/kg) の腹腔内投与、Nitric Oxide (NO) 合成阻害剤である L-NAME (10 mg/kg) の静脈内投与、横隔膜直下での両側迷走神経切離術、およびドーパミン作動性神経除去作用のある 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を腹腔内投与 (1 日目 80 mg/kg 4 日目 100 mg/kg、7 日目に TRH アナログを脳槽内投与)し、血流量の変化を観察した。さらに、L-NAME の作用の特異性を調べるために、L-アルギニン(200 mg/kg/時間の持続投与に続いて、L-NAME 投与直前に 800 mg/kg のボーラス注入)を投与した。横隔膜下迷走神経切離術または sham operation は、軽度のエーテル麻酔下で、TRH アナログの脳槽内投与 <math>120 分前に施行した。

【結果】

膵組織血流における TRH アナログ脳槽内投与の作用は、30 ng の脳槽内投与において、生理食塩水の 脳槽内投与と比較して、投与後 30 分をピークとする膵組織血流量の増加を示した。膵組織血流量は、 投与後 90 分に基礎値に戻った。

この脳槽内注入後30分における膵組織血流増加作用は、用量依存的であった

TRHアナログの静脈内投与は、膵臓組織血流量に影響を及ぼさなかった。

横隔膜下迷走神経切離術、Atropine methyl nitrate、L-NAME の前処置は、TRH アナログの膵組織血流 増加作用を抑制した。

6-OHDA の前処置は、TRH アナログの膵組織血流増加作用を変化させなかった。

L-アルギニンの前処置は、TRH アナログの膵組織血流増加作用に対する L-NAME の抑制効果を防御した。

平均動脈圧は、TRH アナログの脳槽内投与後、15 分だけわずかに増加して、60 分に基礎値に戻った。アトロピン、L-NAME あるいは横隔膜下迷走神経切離術の前処置は、TRH アナログの脳槽内投与による平均動脈圧上昇に影響を及ぼさなかったが、6-OHDA 前処置は TRH アナログによる平均動脈圧上昇を阻害した。

6-OHDA 処置は平均動脈圧を抑制し、L-NAME 処置が平均動脈圧を上昇させたが、横隔膜下迷走神経 切離術、アトロピン処置は基礎平均動脈圧を変化させなかった。

TRH アナログの静脈内投与は、平均動脈圧を変化させなかった。

【考察】

我々は、ウレタン麻酔下のラットで、安定型 TRH アナログの脳槽内投与が、局所の膵組織血流増加作用を有することを示し、その作用は、TRH アナログを静脈内投与しても影響を及ぼさなかったことから、脳槽内に注入した TRH アナログは、中枢神経系で作用し膵臓組織血流量を刺激しており、末梢循環系への漏出によって、影響されるものではないと考えられた。

学 位 論 文 の 要 旨

この刺激作用は、横隔膜下迷走神経切離術、およびアトロピン前処置によって防御されたが、6-OHDA前処置は効果がなかったことから、TRHの中枢作用は迷走神経のコリン作動性経路を介していると考えられた。

L-NAME は、膵組織血流における中枢性 TRH アナログの刺激作用を防御したことから、中枢性 TRH の膵組織血流に対する効果に NO が関与していることが示唆された。

一方、TRH アナログの脳槽内注入による全身性動脈圧の上昇作用は、6-OHDA 前処置によって遮断された。また、迷走神経切離術、アトロピンおよび L-NAME の前処置はいずれも、TRH アナログによる血圧上昇作用に対しては、影響を及ぼさなかった。以上より、TRH により誘発された膵組織血流増加作用は、末梢循環の変化によって修飾されないと考えられた。

本研究において、TRHの脳内作用部位の詳細な検討は行っていないが、胃機能における検討では、マイクロインジェクション法による、DVCへのTRH注入によって、さまざまな胃機能の変化を引き起こすことが知られている。

さらに、近年我々は、DVC への TRH アナログのマイクロインジェクションが、肝組織血流を増加させることを見出し、他施設の報告では、TRH の中枢投与が膵外分泌を促進することが示されている。ラジオアイソトープを用いた最近の研究では、脳槽内に投与された TRH が、5 分以内に DVC を含む延髄の神経核に到達することが証明されている。

このことは、TRH の中枢に対する作用において、DVC が特異的な部位であることを支持する。

これらの所見は、TRH が、DVC に作用し膵微小循環の調節における生理的役割を有することを示唆する。

膵障害における膵組織血流増加の治療的有効性には議論の余地があるが、我々の研究は、実験的膵炎 モデルにおける膵組織血流の変化の果たす役割を検討するための手技のひとつになると考えられる。

【結論】

TRH は脳内神経核に単独に作用し、コリン作動性迷走神経、NO を介して膵組織血流量増加を誘発することが示唆された。

学位論文の要旨

引用文献

- 1. Taché Y, Vale W, Brown M. Thyrotropin-releasing hormone-CNS action to stimulate gastric acid secretion. *Nature* 1980;287:149-151
- 2. Yoneda M, Hashimoto T, Nakamura K, et al. Thyrotropin-releasing hormone in the dorsal vagal complex stimulates hepatic blood flow in rats. Hepatology 2003;38:1500-1507
- 3. Okumura T, Taylor IL, Pappas TN. Microinjection of TRH analogue into the dorsal vagal complex stimulates pancreatic secretion in rats. Am J Physiol 1995;269:G328-G334

参考論文

- 1. Yoneda M, Goto M, Kimihide Nakamura, et al. Protective effect of central thyrotropin-releasing hormone analog on cerulean-induced acute pancreatitis in rats. Regulatory Peptides 2005; 125: 119-124
- 2. Application of Pure Pancreatic Juice Collection to the Pancreatic Exocrine Function Test. Pancreas 1998; 16: 124-128

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号					•		
学位の種類	博士 (医学)	氏	名	後	藤		学	
		•	*	査委員長	髙	_井_	_章	@
			銋	査委員	_ 葛	西	眞 一	<u>@</u>
			垂	查委員	羽	B	勝計	<u>(1)</u>

学 位 論 文 題 目

Effect of central thyrotropin-releasing hormone on pancreatic blood flow in rats

「ラット膵組織血流における中枢性 thyrotropin-releasing hormone の効果」

本研究は、視床下部ホルモンの一つであり、視床下部以外にも中枢神経系に広く分布することが知られる thyrotropin-releasing horomone (TRH)が、下垂体からの TSH 分泌刺激を介してではなく、副交感神経経路を介して膵臓の血流に与える可能性を検討したものである。

実験は、ウレタン麻酔、人工呼吸下で頭部をstereotacticに固定した雄Wisterラットを用いて行っている。大脳槽への薬剤の投与にはHamiltonシリンジを用いた。膵血流の変化は膵体部表面に設置したDoppler血流計のプロープ(直径 6 mm)を介して記録した。また大腿動脈に刺入したカニューレを介して体循環血圧を持続的にモニターした。胃の幽門部を結紮し体内にカニューレを留置して胃液を継続的に除去することにより、十二指腸部の酸性化や胃の拡張に伴う二次的影響が起るのを防いだ。なお、この実験ではプロテアーゼにより分解され失活しやすいTRHの代りに、その安定なジメチル誘導体であるpGlu-His(3,3'-dimethyl)Pro-NH₃⁺ (RX77368)を用いている。 (次ページに続く)

得られた結果の概要は次の通りである。

- 1. RX77368 (1-50 ng)の大脳槽投与は、濃度依存性に膵血流を増加させた。 膵血流は投与後 30 分に投与前の 145%に達し、それをピークに漸減して 90 分後に投与前のレベルに戻った。大脳槽内投与でほぼ最大の反応を起す 30 ng を静脈内に投与しても膵血流には何ら変化を見なかった。
- 2. RX77368 (30 ng)の大脳槽内投与の膵血流増加作用は、横隔膜下部での迷走神経切断や、アトロピン(0.15 mg/kg)または一酸化窒素 (NO)シンターゼ阻害剤 N^G-nitro-L-arginine-methylnitrate (L-NAME; 10 mg/kg)の静脈内投与を前もって施すと完全に消失した。しかし、動物を 6-hydroxydopamine (6-OHDA)により前処理し交感神経を化学的に除神経しても影響を受けなかった。
- 3. RX77368 (30 ng)の大脳槽内投与は、平均動脈圧の上昇も起した。 この反応は、投与後 30 分に 15-25 %のピークに達して 60 分後には 消失し、膵血圧上昇作用に比べると、やや微弱で一過性のもので あった。また、この RX77368 の平均動脈圧上昇作用は、膵血圧上 昇作用とは逆に、横隔膜下部での迷走神経切断や、アトロピンま たは L-NAME による前処置によっては影響されなかったが、 6-OHDA 前処置によって消失した。

これらの結果に基づき論文提出者は、TRH の安定なアナログである RX77968 の膵血流増加作用が、よく知られた TRH のホルモンとしての 作用ではなく、延髄背側にある迷走神経中枢の細胞群への働きかけによ り迷走神経を経由して現れるものであると推論している。

本論文では、このように適切な方法を用いて行った実験の結果に基づいて注意深い考察がなされている。また、膵血流を特異的に増加させる動物実験モデルを確立したことは、膵血流を増加させることが急性膵炎などにおいて治療的効果を持つや否やというかねてより臨床的にも興味を持たれている問題への実験的検討に道を拓いたものとして大いに評価できる。

論文提出者は、3 名の審査員による個別の口頭試問において、本論文の内容とその重要性について明確に説明し、また、関連領域についての試問でも適切な回答を与えた。それにより、当人がこの領域において十分な知識と経験を有することを確認できた。

以上より、本審査委員会は、本論文が学位授与に値するものと判定した。