

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

G.I.Research (1999.08) 7巻4号:296～299.

遺伝子欠損モデル動物における消化管研究
CCK-Aレセプター欠損(OLETF)と消化管機能

高後 裕、奥村利勝

CCK-A レセプター欠損(OLETF)と消化管機能

高後 裕* 奥村利勝*

はじめに

コレシストキニン (CCK) は小腸粘膜より産生される消化管ホルモンとしてまた神経系における neuromodulator として生体のさまざまな生理機能調節に関与することが明かにされている¹⁾。代表的な胆嚢収縮作用, 膵外分泌促進作用に加えて, 胃酸分泌や胃運動, 胃粘膜の恒常性の維持などの消化管機能にも重要な役割を果たしていることが, 薬理学的研究から示唆されてきた。CCK のレセプターは CCK-A および CCK-B レセプターの 2 種類のレセプターが同定されている。これまで CCK-A および CCK-B のレセプター拮抗剤を用いて, CCK の生理作用がどちらのレセプターを介しているのかが研究されている。

OLETF(Otsuka Long Evans Tokushima Fatty)

ラット糖尿病モデル動物に GK ラットがある。その樹立法は多数の Wister ラットに経口糖負荷をおこない, そのなかから耐糖能の低下しているものを選び, それを交配して多数の F1 を得て, 同様な操作を何代もくり返すと, 耐糖能の低下が高度なものがあらわれ, ついには糖尿病病態のもの

があらわれるのではないかとこの仮説にもとづいておこなわれた。OLETF ラットは同様に Long-Evans 系ラットから樹立された²⁾。OLETF ラットは生後 24 週齢で明らかな糖尿病の状態になるが, 過食, 肥満, 高インスリン血症を伴ういわゆる人の type2 糖尿病に類似していることから, 生活習慣病としての糖尿病のモデル動物として大きな注目を集め, 多くの糖尿病関連病態の研究に用いられるようになってきた。この OLETF ラットを使用した研究論文は 1999 年 4 月現在までに Pub Med で検索し 107 編であった。

国立病院九州がんセンターの船越らは, この OLETF ラットは CCK による膵外分泌の刺激効果がまったく認められないこと, 膵に CCK-A レセプター遺伝子発現が認められないことを見出し³⁾⁴⁾, OLETF ラットでは CCK-A レセプター機能が欠損している可能性を提唱した。その後, OLETF ラットは, 約 10 kb からなるラット CCK-A レセプター遺伝子のうち, エキソン 1&2 およびプロモーター領域を含む約 6.8 kb が欠損し, 彼らは OLETF ラットが自然発症“CCK-A レセプター遺伝子ノックアウトラット”であると報告した⁵⁾⁶⁾。すなわち, OLETF ラットは CCK-A レセプターの機能をみるうえでも非常に興味深いモ

* Yutaka KOHGO, Toshikatsu OKUMURA/旭川医科大学第三内科

デル動物と考えられる。たとえば、OLETF ラットは過食、肥満を経て糖尿病を発症するが、CCKの脳室内投与による摂食の抑制効果が消失しており⁷⁾、CCK-A レセプターの欠損は食欲抑制が駆動しづらく、そのことが摂食の亢進に関与している可能性がある。この成績は摂食亢進、肥満をへて糖尿病になるこの動物で CCK-A レセプターの欠損が糖尿病発症に大きな意味をもつことを示唆している。

CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットの消化管機能

われわれは、CCK-A レセプターの消化管機能調節における役割を OLETF ラットを用いて検討し、報告してきた⁸⁾⁻¹⁰⁾。この場合 OLETF ラットは週齢数が増すほか肥満傾向が強くなり、糖代謝異常を呈することから、5 から 7 週齢のまだ糖代謝異常の出現しない週齢の動物を使用した。

胃酸分泌

脂肪食を摂取した後にみられる胃酸分泌の抑制にはエンテログストロンとよばれる何らかの液性因子が関与することが知られている¹¹⁾。この生理現象は内因性の CCK が CCK-A レセプターを介して発揮されることが、これまでの薬理学的実験により推定されきた¹²⁾。われわれは CCK-A レセプターが正常に発現しているコントロールの LETO ラットでは十二指腸に脂肪を投与すると強力な胃酸分泌抑制が認められるが、CCK-A レセプターの欠損した OLETF ラットではまったく胃酸分泌抑制が認められないことを見出した(図 1)⁸⁾。この成績は脂肪食による胃酸分泌抑制の発現に CCK-A レセプターが重要な分子であることを確信させた。

胃運動

CCK は胃排出調節に重要な役割を有し¹³⁾、その場合 CCK-A レセプターを介することが薬理的

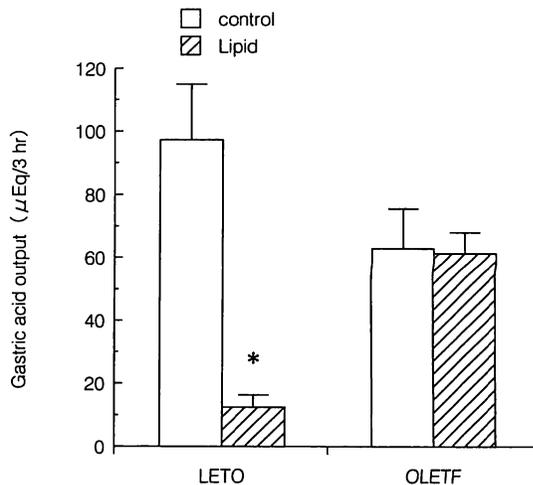


図 1. 十二指腸内脂肪または生食投与による胃酸分泌への影響。

胃酸分泌は幽門結紮法で測定した。コントロールの LETO ラットと CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットでの成績 * $p < 0.01$

実験により推定されきた¹⁴⁾。これまで CCK-A レセプターノックアウトマウスの報告はなく CCK-A レセプターが欠損した場合胃排出にどのような影響を及ぼすのか興味もたれていた。CCK-A レセプター欠損の OLETF ラットでは胃排出が著明に低下していた(図 2)¹⁰⁾。CCK はこれまで胃排出を抑制する作用があるとされており、CCK-A レセプター欠損は一つの抑制系を欠き、むしろ胃排出を亢進させると予想されたが実際は逆であった。現在このメカニズムの解明中である。またこの OLETF ラットでは CCK による胃排出抑制が欠如していたことから外因性の CCK は CCK-A レセプターを介して胃排出を抑制することが確認された(図 2)¹⁰⁾。

胃粘膜抵抗性

胃粘膜にある CCK-A レセプターが胃粘膜の恒常性の維持にどのような役割をもつのかは明らかでない。これまでの薬理学的実験から外因性に投与された CCK は CCK-A レセプターを介して胃粘膜障害惹起物質から胃粘膜を保護する可能性が

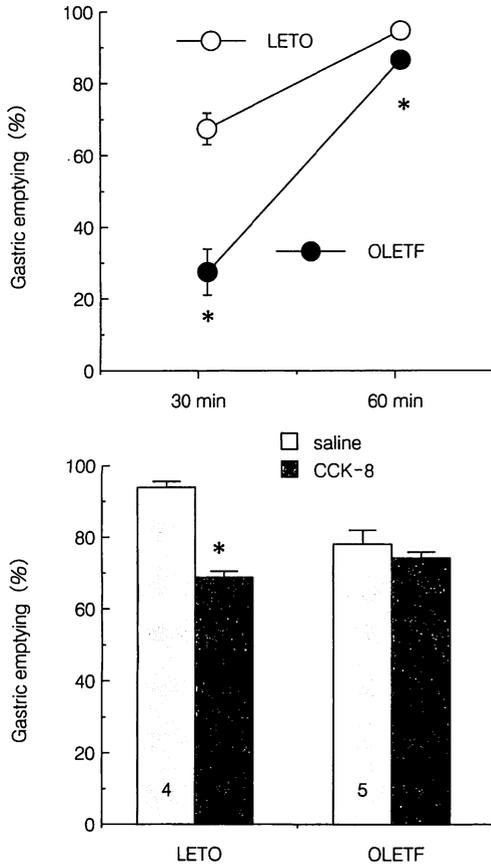


図 2. CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットの胃排出。胃排出はフェノールレッド法で測定した。(上段) 試験食投与後 30 分または 60 分後の胃排出率を示した。(下段) CCK-8 の胃排出へ及ぼす影響。コントロールの LETO ラットと CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットでの排出へ及ぼす影響。コントロールの LETO ラットと CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットでの成績 * $p < 0.01$

示された¹⁵⁾⁻¹⁷⁾。われわれは CCK-A レセプターの欠損した OLETF ラットにさまざまな胃粘膜障害作成プロトコルを適用し、その胃粘膜障害の程度をコントロールの LETO ラットと比較した。その結果、脳室内に TRH を投与して胃粘膜障害を生じさせるモデル、インドメタシン潰瘍モデル、アルコールや塩酸を胃内に投与して作成する胃粘膜障害モデルのいずれのモデルでも胃粘膜障害の程度が OLETF ラットで明らかに高いことが証

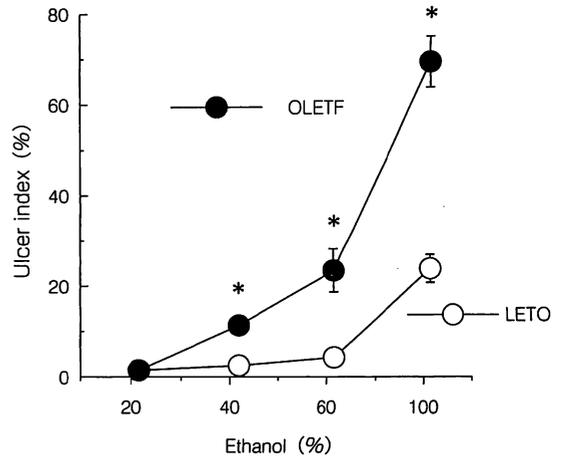


図 3. CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットの胃粘膜病変易形成性。各種濃度のエタノールを経口投与し 1 時間後の胃粘膜病変の形成程度を評価した。コントロールの OLETF ラットと CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットでの成績 * < 0.01

明できた(図 3)⁹⁾。これらの胃粘膜障害の障害形成メカニズムを考慮すると、OLETF ラットの胃粘膜抵抗性の減弱は胃酸分泌機能の変化などでは説明できず、胃粘膜そのものの恒常性維持が脆弱なためと推定している。この詳細なメカニズムはいまだ明らかでないが、OLETF ラットと対照である LETO ラットの胃粘膜を顕微鏡で観察しても明らかな違いは認められなかったことより、CCK-A レセプター以降のシグナル伝達に胃粘膜の恒常性を保つ機能分子が存在するのかもしれない。

おわりに

以上、CCK-A レセプター欠損 OLETF ラットを用いて胃機能調節における CCK-A レセプターの役割につきわれわれの実験成績を示した。現在この OLETF ラットは CCK-A レセプター以外にも糖尿病発症に関与する複数の遺伝子異常が推定されている。純粋な単一遺伝子のノックアウトマウスとは異なり、OLETF ラットから得られた実験成績の解釈はより慎重でなければならない。

しかし薬理学的に CCK-A レセプター拮抗剤を用いる場合に、その効果発現時間や拮抗作用程度およびその薬剤のもつほかの目的としない作用を考慮する必要があるが、OLETF ラットの場合にはその可能性を考慮する必要がない。このことは OLETF ラットが CCK-A レセプター研究において有意義であることを示している。

文 献

- 1) Solcia E, Capella C, Buffa R *et al* : Endocrine cells of the digestive system, In : Johnson LR, ed. Physiology of the gastrointestinal tract. New York, Raven, 1987, pp.111-130
- 2) Kawano K, Hirashima T, Mori S *et al* : Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. *Diabetes* 41 : 1422-1428, 1992
- 3) Funakoshi A, Miyasaka K, Jimi A *et al* : Little or no expression of the cholecystokinin-A receptor gene in the pancreas of diabetic rats (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty = OLETF rats). *Biochem Biophys Res Commun* 199 : 482-488, 1994
- 4) Funakoshi A, Miyasaka K, Shinozaki H *et al* : An animal model of congenital defect of gene expression of cholecystokinin(CCK)-A receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 210 : 787-796, 1995
- 5) Takata Y, Takiguchi S, Funakoshi A *et al* : Gene structure of rat cholecystokinin type-A receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 213 : 958-966, 1995.
- 6) Takiguchi S, Takata Y, Funakoshi A *et al* : Disrupted cholecystokinin type-A receptor (CCKAR) gene in OLETF rats. *Gene* 197 : 169-175, 1997.
- 7) Miyasaka K, Kanai S, Ohta M *et al* : Lack of satiety effect of cholecystokinin(CCK) in a new rat model not expressing the CCK-A receptor gene. *Neurosci Lett* 180 : 143-146, 1994
- 8) Shoji E, Okumura T, Kohgo Y : Intraduodenal lipid dose not inhibit acid secretion in OLETF rats not expressing the CCK-A receptor gene. *Dig Dis Sci* 41 : 2174-2179, 1996
- 9) Okumura T, Shoji E, Onodera S *et al* : Susceptibility to the development of gastric mucosal damage in OLETF rat not expressing the CCK-A receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 224 : 728-733, 1996.
- 10) Shoji E, Okumura T, Onodera S *et al* : Gastric emptying in OLETF rats not expressing the CCK-A receptor gene. *Dig Dis Sci* 42 : 915-919, 1997
- 11) Kosaka T, Lim RSK. Demonstration of the humoral agent in fat inhibition of gastric secretion. *Proc Soc Exp Bio Med* 27 : 890-891, 1930
- 12) Lloyd KCK, Maxwell V, Kovacs TOG *et al* : Cholecystokinin receptor antagonist MK-329 blocks intestinal fat-induced inhibition of meal-stimulated gastric acid secretion. *Gastroenterology* 102 : 131-138, 1992
- 13) Liddle RA, Morita ET, Conrad CK *et al* : Regulation of gastric emptying in humans by cholecystokinin. *J Clin Invest* 77 : 992-996, 1986
- 14) Green T, Dimaline R, Peikin S *et al* : Action of the cholecystokinin antagonist L364, 718 on gastric emptying in the rat. *Am J Physiol* 255 (Gastrointest. Liver Physiol. 18) : G 685-G 689, 1988
- 15) Evangelista S, Maggi CA : Protection induced by cholecystokinin-8(CCK-8) in ethanol-induced gastric lesions is mediated via vagal capsaicin-sensitive fibers and CCKA receptors. *Br J Pharmacol* 102 : 119-122, 1991
- 16) Konturek SJ, Brzozowski T, Pytko-Polonczyk J *et al* : Exogenous and endogenous cholecystokinin protects gastric mucosa against the damage caused by ethanol in rats. *Eur J Pharmacol* 273 : 57-62, 1995
- 17) Mercer DW, Cross JM, Barreto JC *et al* : Cholecystokinin is a potent protective agent against alcohol-induced gastric injury in the rat. *Dig Dis Sci* 40 : 651-60, 1995