

学 位 論 文 の 要 旨

学位の種類	博 士	氏 名	小 関 隆
学 位 論 文 題 目 大建中湯の大腸腸管血流に対する血流増加作用に関する研究 共 著 者 名 河野 透、岩元 純、葛西眞一 未 公 表 研 究 目 的 大建中湯は中国の古典である「金匱要略」を出典とし、山椒（サンショウ）、乾姜（カンキョウ）、人参（ニンジン）、膠飴（コウイ）より成り、山椒は弛緩した組織に活力を与えて停滞したガスを下し、乾姜は腸の冷えを温め、人参は胃腸の消化を促進し、膠飴は腸の急迫症状を緩和して滋養を与えるとされている。大建中湯は「腹が冷えて痛み、腹部膨満感のあるもの」を効能・効果としており、近年、大建中湯は外科手術後の合併症である術後腸管通過障害（イレウス）に対する新しい薬物療法として注目されている。実際、大建中湯は開腹術後の癒着性イレウスの寛解、更に予防および再発防止を目的に使用され、その有効性が報告されている①。また、最近では術後早期からの投与により、早期経口摂取の再開を可能とするとの報告もあり、術後のクリニカルパスにも本薬剤が導入され始めている。これまで、大建中湯の腸管運動に対する作用機序に関する研究でセロトニン受容体を介したアセチルコリン分泌促進作用、モチリン分泌促進作用、バニロイド受容体を介した直接的腸管運動亢進作用などが報告されている②。しかしながら、イレウス改善にも重要な腸管血流に対する効果に関する研究は少なく、特に大腸腸管血流に対する報告はない。そこで、本研究では、大建中湯のイレウス改善効果が如何なる作用に起因するのか、その作用の特徴は何かを解明するために、動物実験で大腸血流に対する作用を検討した。 材 料 ・ 方 法 動物はSprague-Dawley 雄生ラット（BW；250－315g）を使用した。麻酔はウレタン900mg/kgとαクラロース60mg/kgを腹腔内投与、ブトルファノール2mg/kgを筋注で行った。麻酔下でラットを小動物用保温プレート上（37±0.5℃）に仰臥位で固定し、頸部切開し気管カニューレを挿入、Respirator model SN-480-7で60回/分、換気量3mL/回で呼吸管理した。次に、Shibaura Electronics Co.,Ltd. Model MGA3			

を用いて食道に体温プローブを入れ体温測定した。総腸骨動脈にカニューレーションを行い、Colin BP508で血圧、心拍、心電図をモニターした。開腹後、盲腸に薬剤投与用チューブ25Gサーフロー留置針外套を挿入し、大腸へチューブ先端を進め、先端を大腸に15mm入れ、注入時に盲腸への逆流防止を目的にチューブを腸管と共に結紮留置した。大腸の温度低下、乾燥を防ぐため腸管の露出は必要最小限とし、保温・保湿を行った。また、測定目的の遠位大腸をVicryl 5-0(Taper)で腹筋両側に各2ヶ所、計4ヶ所（固定される腸管の長さは約1cm）固定した。非接触型レーザー血流計レーザーメドALF21N（アドバンス社）のプローブを腸管から約4mm離して固定。測定範囲は、プローブと測定面間の距離の1/2を直径とする円形部分。測定深度は表面から約1mm。レーザーメドALF21Nは、不可視レーザー光半導体レーザー（CW波長780nm）、非観血式のレーザー微小循環血流計を使用して遠位大腸の血流を大建中湯投与前、投与後15分から15分毎、90分間測定した。測定した平均動脈血圧(MAP)、心拍数、心電図波形、体温、赤血球密度（組織血液量）、血流速度、組織血流量をPowerLab/8000を使用してデータ集積解析用コンピューターにデータを集め、血流指標としては vascular conductance (VC; 組織血流量/MAP) を使用した。大建中湯は大腸に留置したチューブより各種濃度（10、100、300mg/kg体重/5mL、37.5℃程度に保温）を注腸。大建中湯のコントロールとして溶解液の膠飴溶液を使用。大建中湯の腸管血流増加メカニズム解明のため各種拮抗薬calcitonin gene-related peptide (CGRP) 受容体拮抗薬 (CGRP₈₋₃₇, 45 μg/kg)、vasoactive intestinal polypeptide (VIP) 受容体拮抗薬 ([4-Cl-DPhe6, Leu17]-VIP, 15 μg/kg)、substance P (SP) 受容体拮抗薬 (spantide, 100 μg/kg)、NO合成酵素阻害剤(L-NAME, 200 μg/kg)を使用し、いずれも陰茎背側静脈から静注使用した。統計処理, データの多重比較検定は ANOVA for repeated measuresを用いDuncan's post hoc testを行った。独立した2群比較は Mann-Whitney U testを用いた。p<0.05を有意水準とした。

成 績

大腸VCの変化量を投与前値に対する変化率でみると、大腸VCは大建中湯投与15分後から有意に増加し、10mg/kg投与群では30分、45分で最高となり、60分から減少したが、90分後も有意に増加していた。100mg/kg投与群でも同様な推移であったが、増加率は10mg/kg投与群に比べると15分、30分以外は有意に高かった。300mg/kg投与群と100mg/kg投与群の大腸VC変化率の比較では、いずれの測定時間においても有意差は認められなかった。コントロール群ではいずれの測定時間においても大腸VCの有意な変化は認められなかった。各種受容体拮抗薬を用いた検討では、大建中湯の血流増加作用はCGRP受容体拮抗薬によって殆ど消失した。一方、VIP、SP受容体拮抗薬では殆ど影響がなかった。また、L-NAMEによっても血流増加作用は消失しなかった。

考 案

本研究は、大建中湯が大腸血流増加作用があることを初めて示した。その効果は少なくとも投与90分後まで持続された。この血流増加作用は投与量がある濃度、本実験では100mg/kgでプラトーに達し、それ以上の高濃度でも効果は同じであったことから大建中湯が腸管に存在する何らかの基質を誘導し、特異的な受容体を介して大腸血流増加作用を発現していることが想定され、高濃度では基質飽和状態であると考えられる。臨床使用される大建中湯は一日量7.5gであり、体重75kgで100mg/kg濃度となり、本実験結果からも極めて妥当な投与量と考えられる。

CGRP受容体を介して大建中湯の大腸血流増加作用が発現されていることが今回の実験から明らかとなったが、腸粘膜にはCGRP陽性線維が豊富に存在し、特に血管の周囲を取り巻くように分布している事が報告されている。CGRPは、CGRP1受容体を介してNO遊離も惹起するため、NOを介する血流増加の作用が発揮されることも考えられたが、NO合成阻害剤投与でも一部しか抑制できなかったことは、NOによる血流増加作用が主体ではなく、CGRPが主体の血流増加作用と考えられた。また、同じ神経ペプチドであるSPもCGRPと同時に神経終末から放出されることが報告されている。最近、CGRPおよびSPの血中レベルを大建中湯が増加させることが報告されている③。しかしながら本実験結果でSP受容体拮抗薬投与では全く血流増加作用に影響を与えなかったことからSPの関与は否定的である。同様に血流増加作用を有するVIPについても大建中湯の血流増加作用への関与は否定的である。また、カプサイシン感受性知覚神経に存在するバニロイド受容体も腸管粘膜に多数存在し、刺激によって興奮すると、CGRP遊離を生じることが報告されており、バニロイド受容体の関与はすでに腸管運動で報告されていることから、CGRPを遊離して血流増加を促している可能性もある。

大建中湯が大腸の血流増加作用を有することは、今後の臨床応用拡大を考えると、虚血性腸疾患だけでなく、クローン病、潰瘍性大腸炎、感染性腸炎、放射線腸炎など組織の修復改善に本剤が有効である可能性、また、外科領域では腸管吻合部治癒促進を期待して術後早期に使用する可能性も示唆される。

結 論

1. 大建中湯は大腸血流を濃度依存性に増加させたが、高濃度では基質飽和した。
2. 大建中湯の血流増加作用機序の主体はCGRP受容体を介したもので、NO、SP、VIPの関与は否定的であった。

引 用 文 献

- ①Hayakawa T., Kase Y., Saito K., et al., Effects of Dai-kenchu-to on intestinal obstruction following laparotomy. J. Smooth Muscle Res. 1999;35:47-54
- ②Shibata C., Sasaki I., Naito H., et al., The herbal medicine Dai-Kenchu-Tou stimulates upper gut motility through cholinergic and 5-hydroxytryptamine 3 receptors in conscious dogs. Surgery 1999;126:918-24
- ③Sato Y., Katagiri F., Inoue S., et al., Dai-kenchu-to raises levels of calcitonin gene-related peptide and substance P in human plasma. Biol Pharm Bull. 2004;27(11):1875-7

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	小 関 隆
<u>審査委員長</u> 牛 首 文 隆 ㊞ <u>審査委員</u> 高 後 裕 ㊞ <u>審査委員</u> 葛 西 眞 一 ㊞			
学 位 論 文 題 目 大建中湯の大腸腸管血流に対する血流増加作用に関する研究			
大建中湯は、山椒、乾姜、人參と膠飴より成る漢方薬であり、一般的には「腹部の冷え」や「腹部膨満感」の治療に用いられる。また最近、大建中湯は腹部外科手術後の麻痺性イレウスの新規治療薬として注目を集めている。一方、大建中湯の作用には、腸管運動促進作用が知られている。しかし、大建中湯の大腸血流に対する作用は不明である。			

本研究は、大建中湯の大腸血流に対する作用を解明するため、ラットの近位大腸へ大建中湯を投与し、遠位大腸での血流の変化を検討した。また、その作用機溝を明らかにするため、CGRP 受容体拮抗薬、VIP 受容体拮抗薬、SP 受容体拮抗薬と NO 合成酵素阻害薬を用いた解析を行った。

大建中湯は、用量依存的に大腸血流を有意に増加させたが、その有効量 100 mg/kg はヒトでの一回使用量である 7.5 g と良く一致していた。一方、大建中湯の大腸血流増加作用は、CGRP 受容体拮抗薬によって完全に抑制された。また、NO 合成酵素阻害薬は大建中湯の大腸血流増加作用を部分的に抑制した。しかし、VIP 受容体拮抗薬と SP 受容体拮抗薬は、大建中湯の大腸血流増加作用に影響を与えなかった。

これらの結果、大建中湯が大腸血流を著明に増加させることが明らかとなった。また、その作用機溝の主体は CGRP 受容体を介しており、一部に NO が関与することが示唆された。従来、大建中湯投与後に、血中 CGRP 濃度が上昇することから、大建中湯には CGRP 放出促進作用があることが知られている。今回の結果は、大建中湯が腸管の CGRP 含有知覚神経末端を刺激し、これが軸索反射によって腸血管周辺に密に存在する CGRP 含有神経末端からの CGRP 放出を亢進させて血流を増加させることが示唆された。本研究は、大建中湯の大腸血流増加作用やその作用機溝を解明したのみならず、その血流増加作用が他の大腸疾患の治療薬となる可能性を提示するものであり、当該分野の発展に貢献するものと考えられる。

なお、論文提出者に対し各審査委員より、本論文とその関連領域に関して試問が行われ、適切な回答が得られた。

以上より、本論文は博士の学位論文として適切であると判定した。