

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	五十嵐 将
学位論文題目			
<p>Centrally administered orexin prevents lipopolysaccharide and colchicine induced lethality via the vagal cholinergic pathway in a sepsis model in rats. (オレキシン中枢投与は、リポポリサッカライドとコルヒチンによるラット敗血症死をコリン作動性迷走神経路を介して改善する.)</p>			
共著者名			
<p>野津 司, 石王 応知, 桑井 志麻, 斎藤 豪志, 土岐 康通, 畑山 真弓, 山本 昌代, 進藤 基博, 田邊 裕貴, 奥村 利勝 Biochemical Pharmacology 182巻 114262, 2020年</p>			
研究目的			
<p>オレキシンは1998年 Sakuraiらによって見いだされた神経ペプチドである¹⁾。オレキシンは脳内でも外側視床下部の神経細胞でのみ産生される特徴がある。我々はこれまでオレキシンは中枢神経系に作用して様々な消化管生理機能制御に関与することを世界に先駆けて見出し報告してきた²⁾。一方、敗血症は現在でも高い致死率があると報告されており、新たな治療の選択肢が必要と考えられる。敗血症の病態に関する知見は集積されているものの、中枢神経系による敗血症の病態制御の知見は乏しかった。2016年、神経ペプチドのオレキシンが中枢神経系に作用しマウス敗血症モデルの病態を改善することが報告された³⁾。しかし、その脳内メカニズムは不明であり、本研究ではオレキシンによる敗血症死改善脳内メカニズムの解明を目的とした。</p>			
材料・方法			
<p><u>1. 新規敗血症モデルラットの確立</u> 新たな迅速な致死性の敗血症モデルラット作成のために、7週齢雄ラットに各濃度のリポポリサッカライド (LPS), コルヒチン (COL) を皮下投与し、生存時間を検討した。死亡もしくは72時間の生存をendpointとして生存率を評価し、 Kaplan-Meier 曲線を作成した。 新たに確立した敗血症モデルラットを使用して、 toll like receptor 4 (TLR4) 阻害薬 TAK242 を皮下投与して、生存率を評価した。投与4時間後に採血し、AST, ALT Crを測定した。</p>			
<p><u>2. オレキシンによる敗血症死改善脳内メカニズムの解明</u> 敗血症モデルラットにオレキシンA脳室内投与、腹腔内投与、オレキシンB脳室内投与、カルバコール腹腔内投与、2-deoxy-d-glucose (2-DG) 静脈内投与を行い、生存率を評価した。</p>			

関与していることが示唆された。

内因性のオレキシンが敗血症改善作用を有するかについてオレキシン1受容体拮抗薬を用いて検討した。カルバコール、2-DGによる迷走神経興奮は敗血症死を改善したが、この作用はSB-334867により阻止された。従って、内因性の脳内オレキシンは確かに敗血症死改善作用を有することが示唆された。

最後に敗血症モデルにおいてオレキシン中枢投与が腸管透過性亢進に及ぼす影響を検討した。LPS、COL両方を投与した場合、control群に比べて腸管透過性が有意に亢進したが、このLPS、COL併用投与による腸管透過性亢進はオレキシン-A中枢投与によって有意に阻止された。

考 案

以上の成績からOrexinによる敗血症死改善メカニズムを考察した。本研究からオレキシンは中枢神経系に作用して迷走神経の興奮を介して敗血症死を劇的に改善することを明らかにした。外側視床下部のオレキシン神経細胞が直接投射する迷走神経の起始細胞である延髄の迷走神経背側核DMN細胞のオレキシン1受容体に作用した結果、迷走神経を刺激し敗血症死改善が生じると考えられた。迷走神経興奮作用が敗血症を改善するメカニズムとして一つはvagal cholinergic anti-inflammatory pathwayが想定され、この迷走神経の刺激が全身の炎症を抑制する作用を介していることが考えられる。もう一つは、leaky gut改善による敗血症改善の可能性である。本研究ではオレキシンは中枢神経系に作用してLPS、COLによるleaky gutを改善することが明らかにした。Leaky gutはbacterial translocationを起こし、敗血症の病態を増悪し、敗血症は虚血再灌流障害や高サイトカイン血症を介して、さらにleaky gutを増悪させる悪性サイクルが知られている。オレキシンがleaky gutを改善することによって、このサイクルを阻止し敗血症の病態を改善する可能性があると考えた。

結 論

本研究で新規の迅速な致死性の敗血症モデルを作成し、オレキシンは脳に作用し迷走神経系を興奮させ敗血症死を改善することを明らかにした。中枢のオレキシンやその受容体をターゲットにした新たな敗血症治療法を創出できる可能性がある。

(最終項)




引用文献

1. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H et al, Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92; 573-585: 1998
2. Okumura T, Nozu T, Ishioh M, **Igarashi S**, Kumei S, Ohhira M. Brain orexin improves intestinal barrier function via the vagal cholinergic pathway. *Neurosci Lett* 714, 134592, 2020.
3. Oagawa Y, Irukayama-Tomobe Y, Murakoshi N, Kiyama M, Hosokawa N, Tominaga H, et al. Peripherally administered orexin improves survival of mice endotoxin shock, *eLife*. 5: e20155; 2016

参考論文

1. Ishioh M, Nozu T, **Igarashi S**, Tanabe H, Kumei S, Ohhira M, et al. Activation of central adenosine A2B receptors mediate brain ghrelin-induced improvement of intestinal barrier function through the vagus nerve in rats. *Exp Neurol*. 341:113708; 2021
2. Ishioh M, Nozu T, **Igarashi S**, Tanabe H, Kumei S, Ohhira M, et al. Ghrelin acts in the brain to block colonic hyperpermeability in response to lipopolysaccharide through the vagus nerve. *Neuropharmacology*. 173:108116; 2020
3. Okumura T, Nozu T, Ishioh M, **Igarashi S**, Kumei S, Ohhira M. Centrally administered butyrate improves gut barrier function, visceral sensation and septic lethality in rats. *J Pharmacol Sci*. 146(4):183-91; 2021
4. Okumura T, Nozu T, Ishioh M, **Igarashi S**, Kumei S, Ohhira M. 5-HT_{2A} receptors but not cannabinoid receptors in the central nervous system mediate levodopa-induced visceral antinociception in conscious rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2020.
5. Okumura T, Nozu T, Ishioh M, **Igarashi S**, Kumei S, Ohhira M. Adenosine A(1) receptor agonist induces visceral antinociception via 5-HT(1A), 5-HT(2A), dopamine D(1) or cannabinoid CB(1) receptors, and the opioid system in the central nervous system. *Physiol Behav*. 220:112881; 2020

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	五十嵐 将
審査委員長 高草木 薫  審査委員 西川 祐司  審査委員 川辺 淳一 			
学 位 論 文 題 目 Centrally admistrated orexin prevents lipopolysaccharide and colchicine induced lethality via the vagal cholinergic pathway in a sepsis model in rats. (オレキシン中枢投与は, リポポリサッカライドとコルヒチンによるラット敗血症死をコリン作動性迷走神経路を介して改善する) 掲載雑誌: Biochemical Pharmacology 2020, 182: 114262			
(審査評価・結果のみとし, 800字以内で提出すること。) この論文の持つ医学的重要性は以下の2点である。 第一点は, 論文申請者が共同研究者とともに, リポポリサッカライドとコルヒチンの同時腹腔内投与方法によって, 極めて致死時間(24 時間以内)の短い「敗血症モデルラット」の開発に成功したことである。本動物モデルの確立は治療が困難である敗血症への薬物療法の開発に重要な役割を果たす。 第二点は, 敗血症(多臓器不全)の改善に寄与する脳内オレキシン作動系の機能的役割の理解につながる神経生物学的貢献である。本論文では, 視床下部外側野のオレキシンニューロンが延髄の迷走神経背側核に作用し, これが迷走神経を介して, 敗血症ラットの致死時間を延長させることを証明した。この抗敗血症効果は, 迷走神経による胸腹部臓器における抗炎症作用および同動物モデルにおいて観察される Leaky-gut を改善させることによって齎されたと考えられる。 本論文では, 明瞭な作業仮説が提示してあり, 既に確立された研究手法を基盤としている。実験成績の解析も適切であると共に, その結果に対する考察も十分になされている。従って, 本研究論文は臨床医学のみならず神経生物学においてもその学術的意義は極めて重要である。 学位申請者は審査委員の試問にも適切に回答し, 十分な専門知識を備えていることを証明した。また, 本論文は, 既に Biochemical Pharmacology 誌に掲載されている。以上の審査結果に基づいて, 審査委員一同は, 本論文を博士(医学)の学位論文としてふさわしいと判断した。			