



# Putative mechanisms involved in excitatory and inhibitory effects of somatostatin on intestinal motility

竹田, 武彦

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1990-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0878

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000878>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	たけ だ たけ ひこ 竹 田 武 彦 （愛媛県）
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医博い第667号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与の日付	平成2年3月31日
学 位 論 文 題 目	Putative mechanisms involved in excitatory and inhibitory effects of somatostatin on intestinal motility (腸管運動に対するソマトスタチンの興奮性および抑制性作用に関する作用機序)
審 査 委 員	主査 教授 田 中 千賀子 教授 岡 田 安 弘 教授 藤 田 拓 男

## 論 文 内 容 の 要 旨

消化管運動の神経性調節機構としてコリン作動性神経、アドレナリン作動性神経のほかに壁内神経系が注目されており、壁内神経の伝達物質としてセロトニン、ATP、サブスタンスPおよびその関連物質、数種のペプチドやγ-アミノ酪酸（GABA）が提唱されている。本研究は組織化学的に腸管壁内神経に存在することが証明されているペプチドの一つ、ソマトスタチンに着目し、このペプチドの腸管運動における生理的作用およびその作用機序をGABA作動神経との関連において明らかにすることを目的とした。

### 〔方 法〕

モルモットの回盲部より約10cm口側の回腸から作製した全層標本及び縦走筋-筋層間神経叢標本を用いて運動、アセチルコリン（ACh）およびGABA遊離に対するソマトスタチンの効果を調べた。

#### (1) 運動の測定

二本の平行においた白金電極の間に条版を懸垂して毎分1 mlの速度で栄養液を表面灌流し、1条片の運動性を等尺性に記録した。

#### (2) $^3\text{H}$ -ACh及び $^3\text{H}$ -GABAの遊離の測定

標本を50nMの $^3\text{H}$ -choineあるいは50nMの $^3\text{H}$ -GABAを含む栄養液に1時間浸漬後、1新しい栄養液で20分間洗浄し、1表面灌流装置に標本を懸垂した。ACh遊離の測定には毎分1 mlの速度で栄養液を表面灌流し、1分毎に採取した灌流液中の放射活性を測定した。GABA遊離の測定には浸漬液および灌流液にGABA分解酵素阻害薬である aminooxyacetic acid を含む栄養液を用い、毎

分1.2mlの速度で栄養液を表面灌流し、30秒毎に採取した灌流液中の放射活性を測定した。

## 【結果および考察】

### (1) 運動に対するソマトスタチンの二相性作用

ソマトスタチンは電気刺激による収縮（15V, 0.1Hz, 1ms）を一過性に増大した後、抑制を起こした。全層標本と縦走筋一筋層間神経叢標本では、増大作用の強さに差はなく、抑制作用は全層標本のほうが約40%強かった。この二相性の作用はGABAの作用と類似しているため、ソマトスタチンの作用へのGABA作動性神経の関与を確認するため、ビククリン（GABA<sub>A</sub> 受容体遮断薬）、ファクロヘン（GABA<sub>B</sub> 受容体遮断薬）を前処置し、その作用の変化を観察した。その結果、GABA<sub>A</sub> 受容体を遮断するとソマトスタチンによる一過性の収縮増大作用は消失したが、GABA<sub>B</sub> 受容体を遮断した場合、縦走筋一筋層間神経叢標本では弛緩作用が完全に消失したのに対し、全層標本では弛緩作用は約50%しか抑制されなかった。以上より、ソマトスタチンによる収縮増大作用はGABA神経を介するのに対し、弛緩作用はGABAを介する経路とそれ以外の経路が存在することが示唆された。(2) ACh遊離に対するソマトスタチンの二相性作用

#### (a) ACh遊離促進作用

全層標本、縦走筋一筋層間神経叢標本ともに、ソマトスタチン（ $10^{-8}$ M~ $10^{-6}$ M）は濃度依存性にACh遊離を増加した。最大反応の50%を引き起こす濃度（ED<sub>50</sub>）は $4.2 \times 10^{-8}$ Mであった。このACh遊離は、筋遮断薬であるヘキサメトニウムの前処置で影響を受けず、神経伝達物質の遊離に必要なCa<sup>2+</sup>を除去した栄養液での灌流や神経伝導をブロックするテトロドトキシンの前処置により抑制されたので、ソマトスタチンはコリン作動性節後神経の細胞体に直接作用するかあるいは他の神経を介して間接的に作用して、AChを遊離すると考えられた。さらに、このACh遊離促進作用は、ビククリンでGABA<sub>A</sub>受容体を遮断すると完全に抑制された。即ち、ソマトスタチンにより遊離された内在性GABAがコリン作動性神経のGABA<sub>A</sub>受容体に作用して、ACh遊離を引き起こす経路で、ビククリンがGABA<sub>A</sub>受容体を遮断したために、ACh遊離が減少したと考えられる。ピリラミン、シメチジン、メチセルギド、[D-Pro<sup>2</sup>, D-Trp<sup>29</sup>] サブスタンスP前処置では影響を受けなかったため、ヒスタミン受容体（H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>）やサブスタンスP受容体を介したものでないことが確認された。また、このACh遊離促進作用はソマトスタチン前処置により脱感作されることからソマトスタチン受容体に作用していると考えられた。

#### (b) ACh遊離抑制作用

電気刺激（15V, 5Hz, 1 ms, 30s）によるACh遊離は、ソマトスタチンを二分間前処置することにより濃度依存性に抑制された。全層標本と縦走筋一筋層間神経叢標本ではともにソマトスタチン $10^{-7}$ Mで抑制効果は最大となったが抑制作用は全層標本の方が強かった。最大抑制の50%を引き起こす濃度（ID<sub>50</sub>）は、全層標本が $1.6 \times 10^{-8}$ M、縦走筋一筋層間神経叢標本が $4.2 \times 10^{-8}$ Mであった。この抑制作用は、ファクロヘンでGABA<sub>B</sub>受容体を遮断すると、全層標本では50%、縦走筋一筋層間神経叢標本では100%消失したが、ヨヒンビン、テオフィリン、ナロキソン前処置では影響を受け

なかった。以上のことから、ソマトスタチンによるACh遊離抑制作用にはGABA<sub>B</sub>受容体を介する経路以外に、粘膜、マイスナー神経叢、輪状筋等に存在する未知の抑制性物質を介する経路の存在が示唆された。

### (3) GABA遊離に対するソマトスタチンの作用

ソマトスタチンはGABA遊離を増動させ、そのED<sub>50</sub>は全層標本では $3.8 \times 10^{-8}$  M縦走筋-筋層間神経叢標本では $4.6 \times 10^{-8}$  MでACh遊離に対するED<sub>50</sub>と近い値を示した。ソマトスタチンによるGABA遊離は脱感作現象がみられたので、ソマトスタチンの作用はソマトスタチン受容体を介したものと考えられる。ソマトスタチンのGABA遊離作用はテトロドトキシン前処置によって抑制されたので、ソマトスタチンはGABA作動性神経の細胞体に存在するソマトスタチン受容体に作用してGABA遊離を引き起こすものと考えられる。

以上の結果から、ソマトスタチンの小腸運動に対する二相作用は、このペプチドのGABA遊離促進作用に起因することが明らかとなった。即ち、一過性の興奮性作用は、ソマトスタチンにより遊離したGABAが、GABA<sub>A</sub>受容体を介してコリン作動性節後神経からACh遊離を引き起こし、一方、抑制性作用は、遊離したGABAがGABA<sub>B</sub>受容体を介してACh遊離を抑制することによるものであることが示唆された。また、ソマトスタチンの抑制性作用には未知の抑制性物質も関与するものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

脳腸管ペプチドの一つであるソマトスタチンは、組織化学的に壁内神経に存在し、小腸運動に関与することが知られている。申請者らのグループは、第3の自律神経である腸管壁内神経の一つとしてγ-アミノ酪酸（GABA）作動性神経を見出し、介在神経として腸管運動の調節機構にかかわっていることを明らかにした。本研究は、腸管運動におけるソマトスタチンの作用をコリン作動性神経およびGABA作動性神経との関連において解明することを目的とした。

ソマトスタチンは、モルモット回腸全層標本および縦走筋-筋層間神経叢標本の神経刺激による収縮を、一過性に増大した後、抑制する。増大作用は、ピククリン（GABA<sub>A</sub>受容体遮断薬）で完全に消失したが、弛緩作用は、ファクロヘン（GABA<sub>B</sub>受容体遮断薬）による部分的にしか抑制されなかった。この結果は、ソマトスタチンによる収縮増大作用はGABA神経を介するのに対し、弛緩作用はGABAを介する経路とそれ以外の経路が存在することが示唆された。次に、全層標本および縦走筋-筋層間神経叢標本に3 H-cholinあるいは3 H-GABAを取り込ませ、ソマトスタチンによるACh遊離やGABA遊離に対する作用について検討した。ソマトスタチンは濃度依存性にACh遊離を起すが、神経刺激により誘発されるACh遊離を抑制することを示した。ソマトスタチンによるACh遊離はGABA<sub>A</sub>受容体遮断で阻止され、抑制作用は縦走筋-筋層間神経叢標本ではGABA受容体遮断で完全に、全層標本では部分的にしか阻止されなかった。更に、ソマトスタチンは濃度依存性にGABA遊離を起こすことが確認された。以上の結果から、ソマトスタチンにより遊離

された内在性GABAがコリン作動性神経のGABA 受容体に作用して一過性にACh遊離を起こした後、コリン作動性神経のGABA 受容体に作用してACh遊離を抑制することが明かとなり、抑制作用にはGABAを介する経路以外に粘膜、マイスナー神経叢、輪状筋等に存在する未知の抑制性物質を介する経路の存在も示唆された。

以上のように本研究は、腸管壁内神経叢に存在するソマトスタチンの二相性作用の機序をGABA作動性壁内神経を介したコリン作動性神経との関連において初めて証明し、腸管運動における自律神経調節機構の一部を解明したものとしつ価値ある業績と認める。よって本研究は医学博士の学位を得る資格があると認める。