



## Effects of endothelin-1 on ion transport in guinea pig distal colonic mucosa

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 細田, 佳佐 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1122">http://hdl.handle.net/10271/1122</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 269号	学位授与年月日	平成11年 3月26日
氏名	細田佳佐		
論文題目	Effects of endothelin-1 on ion transport in guinea pig distal colonic mucosa (モルモット遠位大腸粘膜の電解質輸送に対するエンドセリン1の作用)		

博士(医学) 細田佳佐

## 論文題目

Effects of endothelin-1 on ion transport in guinea pig distal colonic mucosa  
(モルモット遠位大腸粘膜の電解質輸送に対するエンドセリン1の作用)

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

エンドセリンは、強力な血管収縮作用をもつペプチドとして同定され、近年その多様な作用が報告されている。腸管においてもその受容体が存在し、分泌、収縮、微小循環などの生理作用と密接に関連している可能性が指摘されている。このため、モルモット遠位大腸粘膜の電解質輸送に対するエンドセリンの作用を *in vitro* にて検討した。

### 〔方法〕

モルモットの遠位大腸を摘出、切開し、スライドガラスを管腔側に押し当てて移動させ、粘膜のみから成る標本を作成した。これをユッシング型チェンバーに装着し、endothelin-1の投与による短絡電流 (Isc) および経上皮伝導度 (Gt) の変化を測定、粘膜の起電性イオン輸送につき検討した。また、各種イオンチャンネル阻害剤や、エンドセリン受容体拮抗薬、一部のイオンを除去した条件等での Isc, Gt の変化につき検討した。

### 〔結果・考察〕

Endothelin-1 (ET-1) の漿膜側投与により、Isc, Gt の変化を認めた。起電性の Na 吸収による変化を除外するため、amiloride を粘膜側に前投与した条件において、ET-1  $10^{-9}$  M の投与により Isc の減少を (Isc 陰性側への変化の最大値  $40.6 \pm 4.4 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ,  $n=10$ )  $10^{-8}$  M の投与では減少、増加、減少の3相性の変動 (Isc 陽性側への変化の最大値  $38.1 \pm 13.3 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  陰性側への変化の最大値  $42.9 \pm 8.1 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ,  $n=10$ ) を示した。 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$  M では増加、減少の2相性の変動を認め (ET-1  $10^{-7}$  M 投与による Isc 陽性側への変化の最大値  $62.4 \pm 4.0 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  陰性側への変化の最大値  $51.7 \pm 8.6 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ,  $n=10$ )  $10^{-6}$  M 投与による Isc 陽性側への変化の最大値  $88.4 \pm 17.7 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  陰性側への変化の最大値  $67.3 \pm 11.0 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ,  $n=5$ )、変動幅は、濃度依存性に増大した。Isc の変化に伴い、Gt も濃度依存性に増加した (Gt 増加の最大値: ET-1  $10^{-9}$  M:  $3.3 \pm 0.5$ ,  $10^{-8}$  M:  $6.0 \pm 0.9$ ,  $10^{-7}$  M:  $7.4 \pm 0.4$ ,  $10^{-6}$  M:  $6.5 \pm 0.7 \text{mS}/\text{cm}^2$ ,  $n=10$ )。  $10^{-10}$  M 以下の濃度や、粘膜側投与では Isc, Gt ともに変化がみられなかった。

ET-1 投与による Isc の陽性側への変化は、粘膜側 Cl チャンネル阻害剤 DPC および、漿膜側 Cl 除去により著明に抑制された。また、Isc の陰性側への変化は、漿膜側 Na-K-2Cl 共輸送体阻害剤 bumetanide によりほぼ完全に抑制、粘膜側 K チャンネル阻害剤 TEA により一部抑制された。このことから、ET-1 は起電性の K および Cl 分泌を刺激することが示唆された。さらに、DPC, bumetanide により K, Cl チャンネルを抑制し、Na の輸送のみの評価を試みたが、ET-1 の投与により Gt の増加がみられ、Na 吸収抑制作用は証明できなかった。ET-1 投与による Isc の陽性側への変化、Gt の増加は、indomethacin の前投与、漿膜側 Ca 除去によっても著明に抑制され、Cl 分泌においてプロスタグランジンや細胞外 Ca が関与していることが示唆された。ET-1 による Gt の上昇を伴う Isc の陽性側への変化、すなわち Cl 分泌は、選択的  $\text{ET}_A$  受容体阻害剤 (BQ485)、 $\text{ET}_B$  受容体阻害剤 (BQ788) いずれにおいても抑制されたが、BQ485

による抑制率の方が有意に大きかった。しかし、Gt 上昇を伴う Isc の陰性側への変化、すなわち K 分泌の抑制率は両阻害剤の間に有意差はなく、主として Cl 分泌において ET<sub>A</sub> 受容体が関与していることが示唆された。

#### 〔結論〕

Endothelin-1 は、モルモット遠位大腸粘膜において、濃度依存性に短絡電流・経上皮伝導度を変化させ、これらは、起電性 K 分泌、起電性 Cl 分泌を反映するものと思われた。こうした変化のうち特に Cl 分泌においては、粘膜内プロスタグランディンや、細胞外の Ca イオンが関与していることが示唆され、主として ET<sub>A</sub> 受容体を介していると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

エンドセリンは血管収縮作用を持つペプチドとしてわが国で見出されたが、腸管においても分泌、収縮に作用をもつことがわかってきた。本研究ではモルモット遠位大腸における電解質輸送に対するエンドセリン-1（以下 ET-1）の作用をインビトロで検討している。

方法としては単離粘膜片をユッシングチェンバーに装着し、ET-1 の投与による短絡電流（以下 Isc）と経上皮伝導度（以下 Gt）の変化を測定することにより、イオンチャンネル阻害剤、エンドセリン受容体アンタゴニスト、溶媒のイオン条件などの影響を検討するものである。

粘膜側の Na イオンチャンネルを阻害すると 1nM の ET-1 の投与では Isc の減少が、10nM のそれでは減少、増加、減少の三相性の変化がみられた。ET-1 投与量をさらに増加させると増加、減少の二相性の変化を示した。変動幅は濃度依存性を示し、Gt の変化もそれに従った。

ET-1 投与による Isc の陽性側への変化は Cl イオンチャンネル阻害剤あるいは漿膜側同イオン欠如により抑制された。陰性側への変化は Na-K-2Cl 共輸送体阻害剤あるいは K イオンチャンネル阻害剤により抑制を受けた。ET-1 投与による Isc の陽性側への変化はプロスタグランジン合成阻害剤あるいは漿膜側 Ca イオン欠如により抑制された。また同変化はエンドセリン受容体アンタゴニストによっても抑制されたが、そのさいタイプ A 受容体のほうが同 B 受容体より抑制作用が強かった。

以上のことから、ET-1 はモルモット遠位大腸粘膜において濃度依存性に Isc, Gt を変化させ、これらは起電性 K 分泌、同 Cl 分泌を反映するものと解釈された。とくに Cl 分泌ではプロスタグランジンと細胞外 Ca が関与していると思われた。

これらの知見と結論は他動物を用いたこれまでの成果をさらに詳細にモルモットにおいても確認するものであり、さらに Isc の変化に対する Na-K-2Cl 共輸送体の関与を明らかにするなど同分野の進歩に寄与するものであることが評価された。

この発表の際、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) アミロライドの阻害作用について
- 2) Na-K-2Cl 共輸送体の輸送方向について
- 3) モルモットを実験動物に選んだ理由
- 4) 1nM 濃度 ET-1 投与の際の Isc 陰性相の解釈
- 5) K イオン分泌と Cl イオン分泌の時間経過について

- 6) フロセマイド投与を試みたか
- 7) ウワバイン存在下に今回の実験を行ったらどうなるか
- 8) プロスタグランジンとNa-K-2Cl共輸送活性の関係について
- 9) エンドセリンのイソ形について

これらの試問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 藤 田 道 也

副査 教授 大 橋 京 一 副査 助教授 林 秀 晴