



Plasma levels of 5-HT and 5-HIAA increased after intestinal ischemia / reperfusion in rats

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: 寺本, 友三 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1569

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	医博論第 292号	学位授与年月日	平成11年 2月12日
氏名	寺本友三		
論文題目	Plasma levels of 5-HT and 5-HIAA increased after intestinal ischemia / reperfusion in rats (ラット腸管虚血再灌流による血漿中 5-HT及び 5-HIAA の増加)		

博士(医学) 寺本友三

論文題目

Plasma levels of 5-HT and 5-HIAA increased after intestinal ischemia/reperfusion in rats
(ラット腸管虚血再灌流による血漿中5-HT及び5-HIAAの増加)

論文内容の要旨

[はじめに]

ラット腸管虚血再灌流モデルは多臓器不全の病態の研究によく用いられている。臨床においては腸管虚血再灌流により心臓、肺、肝臓、血液、腎臓などが障害を受け死に至ることも多い。一方セロトニン(5-hydroxytryptamine, 5-HT)は神経伝達、腸管運動分泌、血管収縮、血小板凝集など多くの生体反応に関与していることが知られており、体内の5-HTの約90%は腸管粘膜のエンテロクロマフィン細胞に存在すると言われている。そこで、我々は腸管虚血再灌流を行うことにより腸管粘膜に障害を与え、血中や腸管の5-HTレベルを測定し、その生体への影響を検討した。

また種々の5-HT receptorのagonistとantagonistを使用することにより、腸管虚血再灌流の病態に及ぼすセロトニンの影響を検討した。

[材料ならびに方法]

9週齢のWisterラットを用いた。麻酔はペントバルビタール40mg/kg腹腔内投与を行い適宜追加した。正中切開にて開腹し腸管を左方によけ、上腸間膜動脈(SMA)を剥離した。微小血管クリップにてSMAを根部よりクランプして腸管虚血を起こし1時間後にデクランプして再灌流した。

(実験1) 外頸静脈よりポリエチレンチューブを上大静脈まで挿入し採血ルートとした。腸管虚血再灌流群とコントロール群(同様の手術を行うがクランプしない群)に分けクランプ前、再灌流直後、1、2、3、4時間後に採血し全血及び血漿中の5-HT、5-HTの前駆物質であるトリプトファン、5-HTの代謝産物である5-hydroxyindole acetic acid(5-HIAA)をそれぞれHPLCにて測定した。

(実験2) 腸管虚血再灌流群とコントロール群(同様の手術を行うがクランプしない群)に分け、再灌流後4時間に再度麻酔し小腸を摘出した。十二指腸起始部より5cmの部位より5cmを第1部位、回盲部より口側20cmの部位より5cmを第2部位、回盲部より口側10cmの部位より5cmを第3部位とし、この3ヶ所を切除し、それぞれ5-HT、トリプトファン、5-HIAAを測定した。

(実験3) コントロール群(虚血再灌流のみで薬剤を投与しない群)、5MeOT(5-Methoxytryptamin)群(5-HT_{1,2,4} receptorのagonistである5MeOT3mg/kgを開腹30分前に腹腔内投与した群)、5MeOTのsham群(5MeOT3mg/kgを開腹30分前に投与したが虚血を行わなかった群)、タンドスピロン群(5-HT_{1A} receptorのagonistであるタンドスピロン10mg/kgを投与した群)、サルボグレラート群(5-HT₂ receptorのantagonistであるサルボグレラート2mg/kgを投与した群)、SB204070投与群(5-HT₄ receptorのantagonistであるSB204070 2mg/kgを投与した群)の6群に分けた。虚血再灌流後、創部を縫合閉鎖し24時間後に生存率を確認した。

[結果]

(実験1) 虚血再灌流群において、血漿5-HTは再灌流1時間後より有意に上昇し4時間後まで上昇した。全血5-HTは有意に上昇したが血漿ほど大きな変化はなかった。全血と血漿5-HIAAは有意に上昇

し再灌流3時間後まで上昇した。全血と血漿トリプトファンは低い傾向を示したが有意ではなかった。セロトニンの代謝を示す5-HT/5-HIAA ratioは有意に高値を示した。

(実験2) 虚血再灌流群において、3つの部位すべてで腸管5-HTは有意に減少し、トリプトファンは有意に増加した。5-HIAAは変化しなかった。肉眼的虚血変化は第2、3、1部位の順に変化が強かった。腸管における5-HTと5-HIAAも変化も第2、3、1部位の順に大きく、肉眼的所見と一致した。

(実験3) 虚血再灌流による24時間生存率は64%であった。5MeOT投与により24時間生存率は26%と有意に低下した。5MeOT投与のみ行い虚血を行わないsham群において死亡したラットはいなかった。タンドスピロン、サルボグレラート、SB204070投与では改善傾向をしめしたが有意ではなかった。

[考察]

虚血再灌流により腸管の5-HTが放出されるため腸管5-HTは減少し血漿5-HTは増加した。この増加した5-HTの生体への影響を調べるためagonistやantagonistを投与した。5-HT_{1,2,4} receptorのagonist投与により生存率は有意に低下し、5-HT₁ receptorのagonist、5-HT₂ receptorのantagonist、5-HT₄ receptorのantagonist投与により生存率は改善傾向をしめした。このことより、増加した5-HTは5-HT₂ receptorと5-HT₄ receptorを介して病態発現に関与していると考えられる。5-HT₂ receptorは血小板凝集等に関与していることが知られており、この病態においても血小板の活性化が悪影響を及ぼしている可能性がある。5-HT₄ receptorは腸管運動亢進に関与しており、それによる酸素消費の増大が悪影響を及ぼす可能性がある。また腸管への分泌亢進作用がありこの病態におけるhypovolemiaを助長してしまう可能性がある。腸管虚血再灌流後には虚血腸管から逸脱するさまざまな因子が、病態の悪化に関与していることが知られているが、腸管から遊離される5-HTもこれに関与していることが示唆された。

[結論]

5-HTは腸管が主な産生貯蔵であるため、腸管虚血再灌流を行うことにより腸管からの5-HT放出が増加し、血漿5-HTは有意に上昇した。5-HT receptorのagonistやantagonist投与により24時間生存率は変化し、腸管虚血再灌流の病態発現において5-HTが関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

ショック、上腸間膜動脈塞栓症、あるいは多臓器不全で、臨床上、腸管に虚血並びに再灌流傷害がおこることがある。腸管に再灌流傷害が起こるとしばしば多臓器不全になることが知られている。一方、セロトニンは体内の大半が腸管のエンテロクロマフィン細胞に存在している。そこで、申請者はラット腸管虚血再灌流モデルを用いて腸管虚血再灌流におけるセロトニン(5-HT)の動態、代謝、および5-HTの生存に及ぼす影響について検討した。

- 1) 虚血再灌流ラットおよび疑似手術ラット(虚血なし)を用いて、虚血再灌流前後の血漿中及び全血中の5-HT、5-HTの前駆物質であるトリプトファン、5-HTの代謝産物である5-HIAAの経時的変化を観察した。5-HT/5-HIAA比で5-HTの代謝を観察した。虚血時間は1時間とした。
- 2) 小腸を上部、中部、下部に分け、各部位の組織中の5-HT、トリプトファン、5-HIAAの量をHPLC法で測定した。
- 3) 虚血再灌流のみの群、虚血再灌流前5-HT_{1,2,4} receptor(以下R)agonist投与群、虚血再灌流を行わず5-HT_{1,2,4} Ragonistを投与した群、5-HT_{1A} Ragonist投与群、5-HT_{2R}antagonist投与群、5

-HT₄R antagonist 投与群、の6群について24時間生存率を観察し、5-HT R subtype の関与について検討した。

1) では再灌流後、血漿の5-HTは有意に上昇し、5-HIAAは全血、血漿とともに有意に上昇した。セロトニンの代謝は有意に亢進した。2) では組織中5-HTはすべての部位で低値を示し、5-HIAAは変化しなかったが、トリプトファンは有意に増加した。腸管の肉眼的虚血性変化は部位別5-HT、トリプトファンの量の変化と一致した。3) では虚血再灌流後の24時間生存率は64%であったが、虚血再灌流前5-HT_{1,2,4}R agonist投与した群では26%に低下した。5-HT₁R agonist、5-HT₂R antagonist、5-HT₄R antagonist投与では有意ではなかったが、生存率の改善をみた。5-HT₂Rは血小板凝集、腸管の透過性、血管収縮に、5-HT₄Rは腸管の運動、粘膜の電解質分泌亢進に関与していることから血小板の活性化、酸素消費の増大の影響を考察し、腸管から放出される5-HTが多臓器不全に関与している可能性があると考えた。

以上のことから申請者は、腸管虚血再灌流後の病態には5-HTが強く関与して生存率が低下し、5-HTは5-HT₂R、5-HT₄Rを介してその病態発現に関与していると結論した。

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) 5-HTの薬理作用について
- 2) 血小板のセロトニンの由来について
- 3) セロトニンの生合成、代謝と関連酵素について
- 4) セロトニンの体内分布、貯蔵について
- 5) 虚血再灌流による腸管組織トリプトファンの増加の理由について
- 6) 5-HT receptorのsubtypeとその役割について
- 7) 5-HT₄ receptorとコリン作動性神経について
- 8) 脳でのセロトニンの産生、局所での作用について
- 9) 腸管での5-HTのturnoverについて
- 10) ラット腸管の血管支配と解剖について

これらの質問に対し申請者の回答は概ね適切であり、本研究での問題点を十分理解しており、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 中 村 達
副査 教授 金 子 榮 藏 副査 教授 市 山 新