



Title	Effect of endothelin-1 on ion transport in isolated rat colon
Author(s)	清原, 達也
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38750
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	清 原 達 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 9 1 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 9 月 17 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Effect of endothelin-1 on ion transport in isolated rat colon (ラット大腸イオン輸送におけるエンドセリンの作用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 沢 佑 次 (副査) 教 授 鎌 田 武 信 教 授 矢 内 原 千 鶴 子

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

強力な血管収縮作用を持つ血管内皮細胞由来のペプチドとして見いだされた Endothelin (以下 ET) は循環器系の調節因子として重要な役割を有していると考えられるが、必ずしも血管内皮細胞のみではなく神経細胞や炎症細胞などの細胞でも産生されることがや血管収縮以外にいくつかの生理活性を有することが明らかになってきた。消化管においても ET は比較的高濃度に存在し、最近ではアルコール性胃粘膜障害や炎症性腸疾患における微小循環障害の原因物質の一つと推定されているが、ET の消化管生理機能に対する作用機構やその存在意義は明らかではない。本研究では消化管上皮細胞の重要な生理機能の一つである能動的イオン輸送に対する ET の作用に注目し、ラット摘出大腸を用いて粘膜上皮のイオン輸送に対する ET の効果およびその作用機序を検討し、消化管における ET の生理的意義を明らかにしたものである。

〔方 法〕

SD 系雄性ラット (体重250~300g) をエーテル麻酔下に開腹し、下部大腸を摘出、腸間膜付着側に沿って切開し、続いて漿膜及び筋層を剝離して粘膜シートを作成した。この粘膜シートを Ussing Chamber に装着し漿膜側と粘膜側を別々に Ringer 液 (10ml, 37°C) にて灌流した。組織の漿膜側と粘膜側に二対の寒天電極を設置し、能動的イオン輸送により生じる電位差を測定し、これを打ち消すような外部電流すなわち短絡電流 Short-circuit current (以下 I_{sc}) を連続的に通電し記録した。I_{sc} は粘膜上皮細胞で能動輸送されるイオンの総和を反映し、主として起電性の Cl⁻ イオン分泌の指標となることが知られている。ET を漿膜側灌流液に添加した時の I_{sc} の変化を測定し、その反応に対する各種の特異的阻害剤の影響を検討した。また粘膜上皮で能動輸送される主要なイオンである Na⁺ イオンと Cl⁻ イオンの isotope (²²Na と ³⁶Cl) を用いて、両イオンの粘膜側→漿膜側および漿膜側→粘膜側への移動速度を定量し、ET によるそれらの変化を観察した (Ion flux study)。さらに、ET の作用発現における prostaglandin の関与をみるため、漿膜側灌流液中の (prostacyclin 産生を反映する) 6-keto-PGF₁α を経時的に測定した。なお、ET には構造の類似した ET-1, ET-2, ET-3 および Vasoactive intestinal contractor の 4 つの isoform が知られ

ているが、本研究では、ラット大腸において最も含有量が多く、mRNA や receptor の存在も示されている ET-1 を用いて検討を行った。

〔成 績〕

1. ET-1の投与によりラット大腸粘膜の Isc は一過性の僅かな低下の後に急峻な上昇を示し、その後持続的高値を維持した。ET-1による Isc の上昇効果は0.1nM から10nM の間で濃度依存性がみられた。
2. Ion flux study では、ET-1は Na イオンと Cl イオンの共役吸収を著明に低下させ、Cl イオン分泌を刺激することが示された。また ET-1による Isc の上昇は、起電性 Cl イオン分泌の阻害剤である furosemide (100 μ M) で著明に抑制されたが、起電性 Na イオン吸収の阻害剤である amiloride (100 μ M) では影響を受けず、ET-1による起電性 Cl イオン分泌の亢進を反映したのものであると考えられた。
3. ET-1による Isc の上昇は、tetrodotoxin (0.5 μ M) および atropine (10 μ M) による前処置で有意に抑制され、選択的 ETA 受容体拮抗剤 BQ-123 (10 μ M)、Ca-channel blocker の d,l-verapamil (100 μ M) および漿膜側灌流液中の Ca イオンの除去により完全に抑制された。しかし hexamethonium (10 μ M)、ヒスタミン拮抗剤の diphenhydramine (10 μ M)、および血小板活性化因子拮抗剤 CV-6209 (10 μ M) の前処置では影響を受けなかった。以上の結果から、ET-1による反応には ETA 受容体が関与し、大部分が腸管壁内神経の活動を介していること、さらに細胞外 Ca イオンの存在が必要であることが示唆された。
4. ET-1による Isc の上昇は、cyclooxygenase inhibitor の piroxicam (1 μ M) により完全に抑制され、また、漿膜側灌流液中の6-keto-PGF₁ α は ET-1投与により著明に増加した。このことから ET-1の作用発現には prostaglandin の産生が重要であることが示された。

〔総 括〕

ラット大腸粘膜において ET-1は Na イオンおよび Cl イオンの能動的吸収を著明に抑制し起電性 Cl イオン分泌を刺激した。またその作用は prostaglandin の産生と壁内神経の活動を介するものであった。本結果より ET-1は腸管粘膜上皮の能動的イオン輸送の調節因子であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究はラット大腸を用いてエンドセリン-1が大腸イオン輸送の調節因子であることを示し、その作用機序について詳細に検討を加えたものである。Ussing chamber を用いた短絡電流の測定と、Na イオンおよび Cl イオンの isotope を用いた ion flux study により、エンドセリン-1が大腸粘膜上皮における NaCl 共役吸収を抑制し、起電性 Cl イオン分泌を刺激することを明かにした。また、様々な特異的阻害剤を用いて、エンドセリン-1の作用発現に内因性のプロスタグランジンが重要であること、そしてその作用経路に腸管壁内神経の活動が関与していることを示した。さらに、漿膜側灌流液中の6-keto-PGF₁ α を測定し、大腸粘膜におけるプロスタグランジンの産生、放出がエンドセリン-1によって亢進することを示した。本論文は消化管におけるエンドセリン-1の生理的あるいは病態生理的意義を考えるうえで示唆に富む研究であり、学位に値すると考える。