

学 位 論 文 要 旨

氏 名 川村 智恵

論 文 名 ヒトモチリン受容体トランスジェニックマウスを用いての
モチリン受容体アゴニストとグレリンの作用発現に関する研究

学位論文要旨

[背景と目的]

消化管運動は神経性因子と液性因子により制御されている。モチリンとグレリンは消化管運動促進系ホルモンであり、モチリン受容体(MLNR)、グレリン受容体(GHSR)の作動性物質は糖尿病性胃麻痺などの消化管運動機能低下例の治療などに期待されているが、両者の関連に関しては不明である。ヒトではモチリン系とグレリン系が存在するが、げっ歯類にはモチリン系が存在せず、両ホルモン系の研究は困難であった。申請者らはこれまで *in vitro* でモチリン系とグレリン系の相互作用を明らかにしてきた(J Biol Chem 2001, 2002, 2006, J Pharmacol Exp Ther 2005, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2008, Regul Pept 2011, 2012, 2013)。また *in vivo* ではヒト消化管における MLNR、GHSR の発現様式を明らかにし(J Gastroenterol 2006)、動物モデルとして human *motilin receptor* transgenic(Tg)マウスを作成した(Regul Pept 2012)。本研究ではこの Tg マウスを用いて、モチライドが及ぼす消化管運動への影響と、グレリンとの相互連関を明らかにすることを目的とした。

[材料と方法]

1. 10週齢の human *MLNR* Tg マウスと、対象として C57BL/6J のマウスを使用した。Tg マウスは Human *MLNR* の cDNA を挿入したプラスミドを受精卵に前核注入し、作成した。仔マウスの尾より PCR で *MLNR*-DNA が導入されていることを確認した。
2. Real-time RT-PCR にて Human *MLNR*, *GHSR*, グレリンの mRNA を定量した。内在性コントロールとして *GAPDH* を用いた。
3. Erythromycin とグレリンの投与経路は脳室内投与(中枢投与)と腹腔内投与(末梢投与)とした。その他の薬剤(Mosapride, Loperamide, Atropine)は腹腔内投与を行った。

氏名 川村 智恵

4. 脳室内投与は bregma より 0.5mm 後方、1 mm側方の 3 mmの深さに針を注入し、2 μ l/2min で行った。
5. 胃排出能の測定は phenol red 法を用いて行った。phenol red 溶液を経口投与 20 分後における胃内に残存した phenol red の吸光度と 0 分後の吸光度との比より算出した。各リガンド投与はゾンデ挿口の 30 分前とした。
6. 血漿アシルグレリンは ELISA kit を用いて測定した。
7. 組織学的評価の検体は、Erythromycin 脳室内投与 1 時間における時点で取得した。
8. この動物実験は、愛媛大学大学院医学系研究科等遺伝子組換え実験安全委員会および愛媛大学動物実験委員会によって承認されている(承認番号：05TI80-16)。

[結果と考察]

1. Real-time RT-PCR において MLNR mRNA は消化管を中心として、全身に発現していた。GHSR mRNA はほとんどが脳に発現していたが消化管では低発現であった。グレリンの mRNA は胃にて高発現であった。
2. Erythromycin とグレリンには末梢投与、中枢投与ともに胃排出促進効果を認めた。Erythromycin においては、中枢投与の際に Atropine にてその効果が消失することから、遠心性ニューロンは迷走神経を介することが同定され、また末梢投与の際には Atropine にてその効果が消失しないことから、消化管平滑筋に存在する MLNR への直接作用が示唆された。
3. Mosapride での胃排出効果に対する Erythromycin の上乘せ効果を確認した。
4. Loperamide による gastroparesis に対する Erythromycin の改善効果を確認した。
5. Erythromycin を中枢投与した際に、血漿アシルグレリンが抑制されること、胃組織におけるグレリンの免疫染色にてグレリン陽性細胞が減少していることが確認され、モチリン系とグレリン系は相補的な関係にあることが示唆された。

[結論]

開発したヒトモチリン受容体Tgマウスはヒトの消化管機能評価可能な動物モデルとして有用であり、同モデルを用いてモチライドが胃排出を改善するメカニズムを証明し、グレリンとの相補的な関係が示唆された。本研究の成果は、新たな消化管運動機能改善剤の開発、モチリンおよびグレリンを介した消化管運動機能を改善させる治療への臨床応用につながることを期待される。

キーワード (3~5)	モチリン グレリン エリスロマイシン 胃排出
-------------	------------------------