

胃迷走神経求心路に対するCCK作用をもつ食成分の探索

谷 田 守

金沢医科大学生理学II講座 講師

(現 金沢医科大学生理学II講座 准教授)

緒 言

胃・腸での消化器系には、脳へ情報伝達する求心性自律神経経路が存在し、臓器の伸展刺激や化学刺激によって、迷走神経求心路の活動が変化し、脳へ情報伝達されるという末梢器官-求心性自律神経系-脳、といった末梢-脳連関の作用経路が存在する。一般的に胃迷走神経求心路は、伸展刺激(胃の膨張)に対する反応性が強く、化学刺激(うま味成分であるグルタミン酸)に対する反応性は少ないことがわかっている¹⁾。我々の最近の予備検討では、麻酔下ラットの胃迷走神経求心路の活動は消化管ホルモンで摂食抑制作用をもつコレシストキニン(CCK)で促進し、逆に摂食促進作用をもつグレリンで抑制することを見出している。このことは、摂食調節を行うために、ホルモンが直接脳には作用せず、末梢臓器に作用し自律神経求心路を介して脳に作用する可能性を示唆している。また、胃内にはセロトニン産生細胞が存在し、化学物質で胃内に刺激を与えるとセロトニン放出に伴い、求心路の神経終末に作用して神経活動を増やし、脳へと情報伝達することがわかっている¹⁾。これらのことから、食事をすると食べ物による胃内への物理的刺激と化学的刺激が胃での神経伝達物質を介する自律神経求心路に作用することが摂食調節に重要であることが考えられる。特に摂食抑制作用をもち、自律神経求心路に作用するホルモンであるCCKと同様な食品成分が新規に同定されることは、これまで考えられている栄養生理学の「食品成分が胃・腸での消化と吸収を介して血中で増え脳に作用する」という基本概念に新たな作用機序を見出す可能性を秘めている。そこで本研究では、胃での迷走神経求心路を標的に、求心性神経経路に作用する食品成分を新たに発掘することを目的とした。

方 法

実験動物

実験には8週齢のWistar系雄ラット(約260~280g)

を使用し、飼料と水は自由に摂取させた。また動物は12時間ごとの明暗周期(07:00~19:00が明期)下で、室温 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ の条件のもと飼育された。

電気生理学実験

本研究では、12時間絶食させたラットを(ウレタン-1.2g/kg体重、ペントバルビタール-35mg/kg体重、ケタミン-91mg/kg体重+キシラジン-9.1mg/kg体重、三種混合麻酔;メドトミジン-0.15mg/kg体重、+ミダゾラム2mg/kg体重、+ブトルファノール2.5mg/kg体重)の腹腔内投与により麻酔し、体温の低下を防ぐために、直腸温をモニターし、サーモスタット・コントローラにより直腸温が $36.5\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ になるように保った。

右の大腿部を切開し、薬物投与用カニューレを大腿静脈へ挿入した。胃を支配する求心性迷走神経活動(af-GVNA)と求性交感神経活動(af-GSNA)を測定するために、実体顕微鏡下で腹部を正中切開し、食道に沿っている胃を支配する迷走神経と胃動脈に沿っている胃交感神経をそれぞれ剥離した。求心性神経活動を計測するために、神経の中核側を外科的にカットして、剥離した神経を銀線双極電極にのせ、電気的絶縁のためシリコンジェルでコーティングした。

得られた電気信号は、アンプで増幅し、ウインドウ・ディスクリミネーターを通してパルスカウンターで時間当たりのパルス数を算出して、波形とともにコンピューターに記録した。心電図に関しては、標準肢誘導の第2誘導により導出される電気信号をアンプで増幅し、心拍カウンターより得られた値の波形をコンピューターに記録した。なお、これらの信号をコンピューターに記録するためにPower-Lab(model 4sp, AD instruments)を用いた。

胃内投与のために、コントロール液のvehicle(生理食塩水、1mL)、モノグルタミン酸溶液(MSG、1%)、L-オルニチン溶液(2.5%)、L-リジン(10mM)+L-アルギ

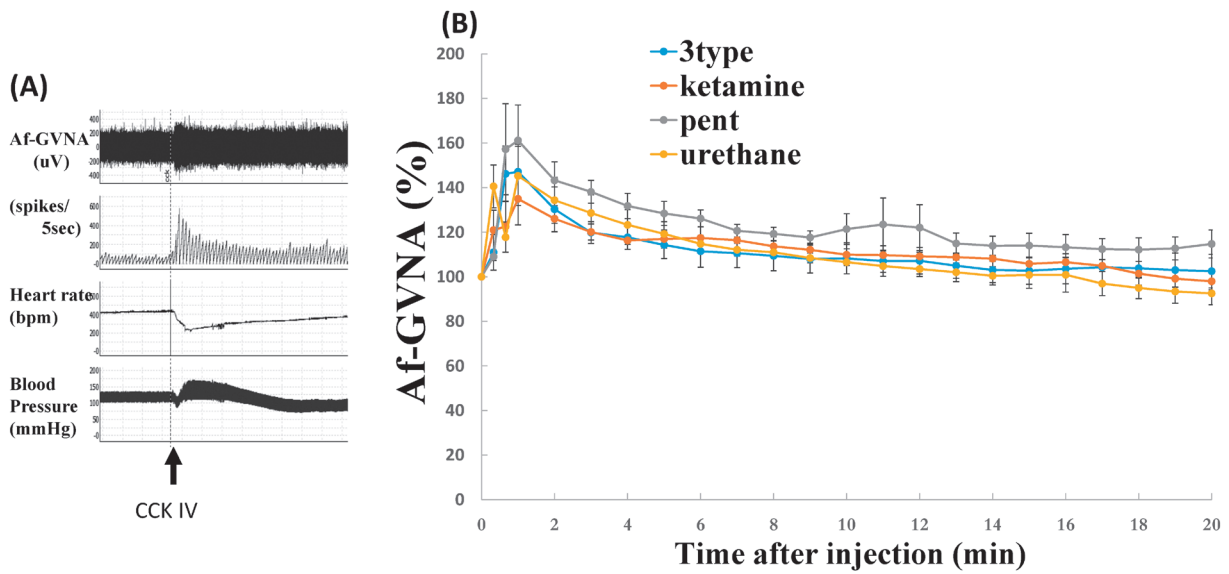


図1 CCK投与によるラット求心性胃迷走神経活動 (Af-GVNA) 反応の麻酔薬の影響

ペントバルビタール麻酔下ラットの求心性胃迷走神経活動 (af-GVNA)、心拍数 (Heart rate) 及び血圧 (Blood pressure) へのCCK 静脈内投与効果 (A)。麻酔薬4種類 (3type; メドミジン+ミダゾラム+ブトルファンール、Ketamine; ケタミン+キシラジン、Pent; ペントバルビタール、urethane; ウレタン) でのCCKによるaf-GVNA反応 (B)。n=3。

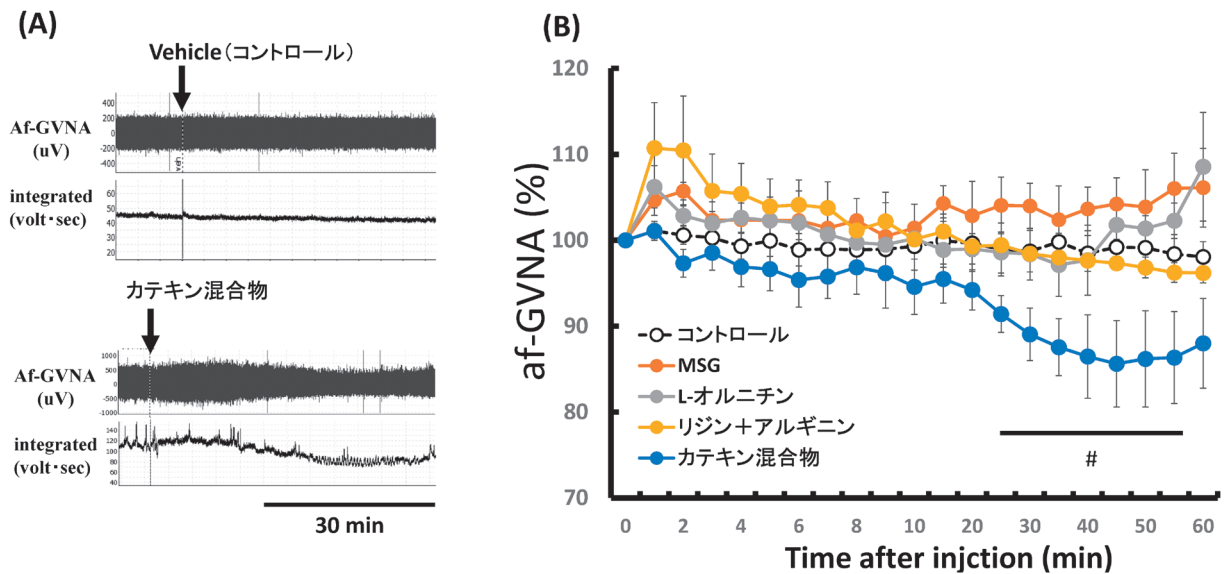


図2 食品成分胃内投与によるラット求心性胃迷走神経活動 (Af-GVNA) 反応

ペントバルビタール麻酔下ラットの求心性胃迷走神経活動 (af-GVNA) へのカテキン混合物の胃内投与効果 (A)。ペントバルビタール麻酔下において食品成分胃内投与によるaf-GVNA反応 (B)。n=3~8。#; P<0.05 v.s. コントロール。

ニン (10 mM) 溶液、カテキン混合溶液 (1.69 mgWAKO) の3溶液について、ポリエチレンカテーテルを用いて各々 1 mL 投与し、30~60分間の反応を観察した。

結 果

実験1 消化管ホルモンであるCCK静脈内投与による胃迷走神経求心路反応について麻酔薬の影響を検

討する。

ラットの求心性胃迷走神経活動 (af-GVNA) を電気生理学的に測定して静脈内へCCK (20 μg) を投与した際の麻酔薬 (ペントバルビタール、ウレタン、ケタミン・キシラジン、3種混合麻酔) による影響を検討した。いずれの麻酔薬においても、CCK投与後1分で神経活動が増大した (図1)。またペントバルビタール麻酔薬で

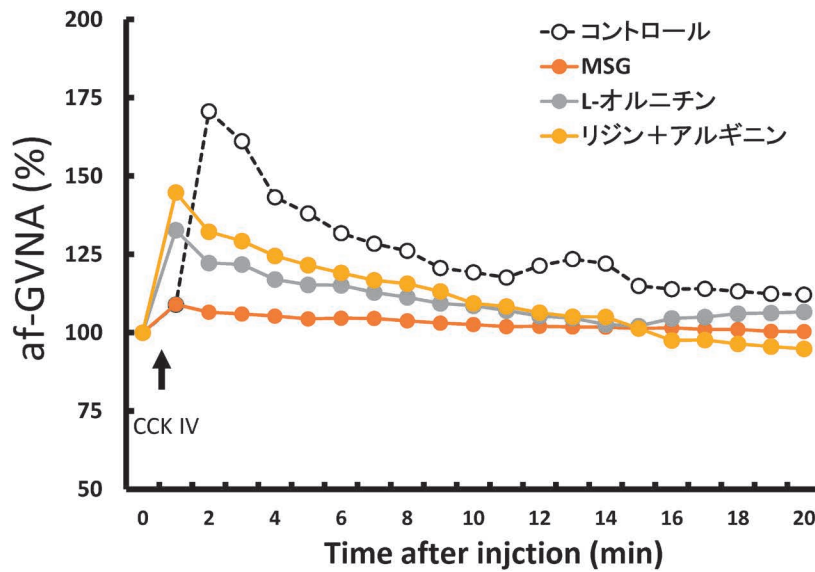


図3 食品成分胃内投与がCCK 静脈内投与による求心性胃迷走神経活動 (Af-GVNA) 促進反応へ及ぼす効果

ペントバルビタール麻酔下ラットにおいて食品成分 (MSG、L-オルニチン、リジン+アルギニン) の胃内投与20分後にCCKを静脈内投与した際のaf-GVNA反応。n=2。

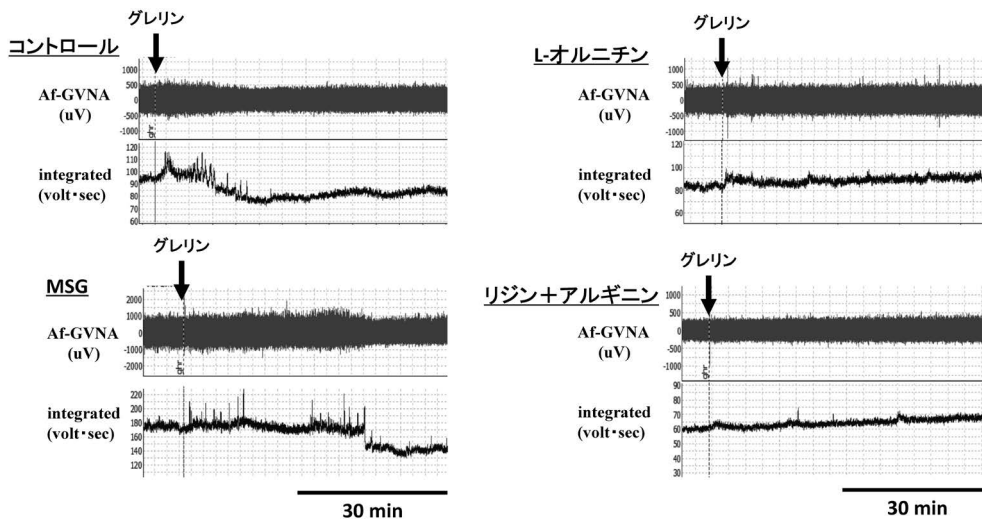


図4 食品成分胃内投与がグレリン静脈内投与による求心性胃迷走神経活動 (Af-GVNA) 抑制反応へ及ぼす効果

ペントバルビタール麻酔下ラットにおいて食品成分 (MSG、L-オルニチン、リジン+アルギニン) の胃内投与20分後にグレリンを静脈内投与した際のaf-GVNA反応。

のaf-GVNAの増大反応が一番大きかった。

実験2 食成分の胃内投与による求心性胃迷走神経活動 (af-GVNA) への効果

ペントバルビタール麻酔下ラットの求心性胃迷走神経活動 (af-GVNA) を電気生理学的に測定して、MSG溶液、L-オルニチン溶液、リジン・アルギニン溶液、カテキン混合溶液の胃内投与効果を検討した。MSG溶液、L-オルニチン溶液、リジン・アルギニン溶液を投与してもaf-GVNAは有意な変化がなかったが、カテキン混合

物の投与は有意にaf-GVNAを低下させた (図2)。

実験3 CCKによる求心性胃迷走神経活動 (af-GVNA) 増大作用への食成分の胃内投与効果

胃内にvehicleを投与した20分後にCCKを投与するとaf-GVNAは増大反応を引き起こす。この作用に与える食成分の効果について検討した。MSG溶液、L-オルニチン溶液、リジン・アルギニン溶液を投与してから20分後にCCKを投与したところ、vehicle投与群と変化がなく、減少している傾向が観察された (図3)。

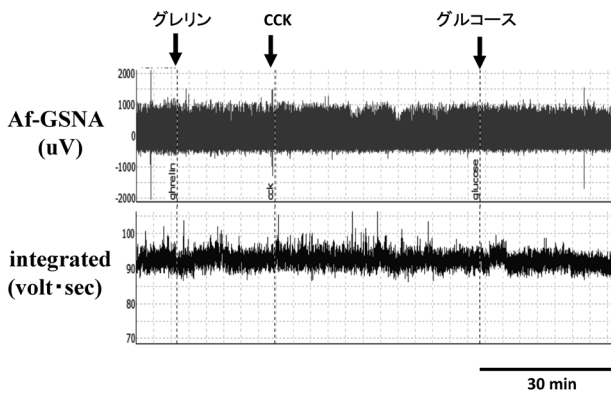


図5 グレリン、CCK及びグルコース静脈内投与によるラット求心性胃交感神経活動 (Af-GSNA) 反応

実験4 グレリンによる求心性胃迷走神経活動 (af-GVNA) 減少作用への食成分の胃内投与効果

胃内に vehicle を投与した20分後にグレリン (3 μg/kg 体重) を投与すると af-GVNA は減少反応を引き起こす。この作用に与える食成分の効果について検討した。MSG 溶液を投与しても変化しなかったが、L-オルニチン溶液またはリジン・アルギニン溶液を投与すると、グレリンによる af-GVNA 抑制作用が消失した (図4)。

実験5 CCK、グレリンまたはグルコース静脈内投与による求心性胃交感神経活動 (af-GSNA) への効果

ペントバルビタール麻酔下ラットの求心性胃交感神経活動 (af-GSNA) を電気生理学的に測定して、CCK (20 μg)、グレリン (3 μg/kg 体重) またはグルコース (200 mg/kg 体重) を静脈内に投与しても顕著な変化は観察されなかった (図5)。

考 察

摂食調節物質である CCK は小腸の I 細胞から産生され、中枢神経系を介して摂食を抑制することがわかっており²⁾、最近では CCK が胃迷走神経求心路を活性化させることがわかっている³⁾。本研究では CCK 作用と同様に求心性胃迷走神経活動を促進させる食品成分を同定することを目的とした。これまでの先行研究において、遠心性自律神経系に有効である食品成分3種類 (MSG、L-オルニチン、L-リジン+L-アルギニン)⁴⁻⁶⁾ およびカテキン混合物について、麻酔下ラットの胃内に投与した際の求心性胃迷走神経活動の変化を観察した。その結果、MSG、L-オルニチン、リジン+アルギニンを投与しても求心性胃迷走神経活動は有意な変化はみられなかったが、カテキン混合液を投与すると投与後25分から有意に減少した。摂食促進物質である胃から分泌されるホル

モンであるグレリンをラット静脈内に投与すると求心性胃迷走神経活動は減少することがわかっている³⁾、カテキン混合物溶液は求心性迷走神経胃枝を介して摂食促進を起こす可能性を示唆している。先行研究ではエピガロカテキンを腹腔内投与すると摂食促進因子である視床下部の NPY 遺伝子の発現量が増えることを報告していることから⁷⁾、カテキンが胃迷走神経求心路に作用して摂食調節に関与している可能性が考えられる。

求心性胃迷走神経活動へ作用しなかった MSG、L-オルニチン、リジン+アルギニンについて、これらの物質が CCK による求心性胃迷走神経活動促進作用やグレリンによる求心性胃迷走神経活動抑制作用を変化させるか否か検討した結果、MSG、L-オルニチン、リジン+アルギニンはいずれも CCK による求心性胃迷走神経活動促進をさらに増大させることはなかったが、L-オルニチンとリジン+アルギニンはグレリンによる求心性胃迷走神経活動抑制作用を消失させることがわかった。したがって、L-オルニチンとリジン+アルギニンはグレリン作用に影響することで、摂食調節作用に関与する可能性を示唆した。我々の先行研究では、L-オルニチンをラットに摂取させると体重増大と摂食量が減少することがわかっている⁵⁾。したがって、L-オルニチンによる摂食抑制作用は、求心性神経を介するグレリンによる摂食促進作用を抑えることが関与している可能性が考えられる。

本研究では、さらに求心性神経活動胃枝の交感神経活動についても検討した。その結果は迷走神経とは違って、CCK、グレリンおよびグルコースを静脈内投与しても変化が観察されなかった。この実験事実は、求心性胃交感神経は迷走神経路とは異なる作用経路をもつことが示唆された。今後この求心路の交感神経がどのような刺激に応答するのかについて検討する必要がある。

要 約

本研究では、CCK による胃迷走神経求心路活性化作用をもつ食品成分の同定を目的に麻酔下ラットの神経活動を測定することにより検討した。

1. 麻酔薬による CCK による胃迷走神経求心路活性化作用は有意な差が観察されなかった。
2. 遠心性自律神経作用物質である MSG、L-オルニチンおよびリジン+アルギニンの胃内投与は、求心性胃迷走神経活動には影響しなかったが、カテキン混合液は求心性胃迷走神経活動を有意に低下させた。
3. MSG、L-オルニチン、リジン+アルギニンはいずれ

もCCKによる求心性胃迷走神経活動促進をさらに増大させることはなかったが、L-オルニチンとリジン+アルギニンはグレリンによる求心性胃迷走神経活動抑制作用を消失させることがわかった。

4. 求心性神経活動胃枝の交感神経活動を計測した結果、CCK、グレリンおよびグルコースを投与しても変化しなかった。

以上の結果から、今後カテキン混合液による胃迷走神経求心路への作用がどのような生理的意義をもつのかについて検討するとともに、CCKによる求心性胃迷走神経活動促進作用を増大させる食品成分の更なる探索を今後行う必要があることが示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人三島海雲記念財団ならびに関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) C. C. Horm, et al.: *Brain Res.*, **1419**, 53-60, 2011.
- 2) R. Larder, S. O' Rahilly: *Nature Medicine*, **18**, 666-667, 2012.
- 3) Y. Date, et al.: *Endocrinology*, **146**, 3518-3525, 2005.
- 4) M. Tanida, J. Satomi: *Neurosci. Lett.*, **491**, 211-215, 2011.
- 5) Y. Konishi, et al.: *Brain Res. Bull.*, **111**, 48-52, 2015.
- 6) J. Shen, et al.: *Auton. Neurosci.*, **147**, 86-90, 2009.
- 7) 石黒真理子ほか： *Trace Nutrients Research*, **30**, 35-40, 2013.