

消化管生理学分野

Division of Gastrointestinal Pathophysiology

教授	門脇 真	Professor	Makoto Kadowaki (Ph.D.)
助手	山本 武	Assistant Professor	Takeshi Yamamoto (Ph.D.)
助手	影山 夏子	Assistant Professor	Natsuko Kageyama (Ph.D.)

◇研究目的

消化管疾患，特に腸管免疫性疾患の病因及び病態形成機序を解明し，それに基づく和漢薬等を含めた新規治療薬の創出を目指す。

◇研究概要

消化管生理学分野では，腸管免疫性疾患，すなわち炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎及び食物アレルギーを研究対象疾患としている。近年，患者が急増している潰瘍性大腸炎は，厚労省の特定疾患に指定されている慢性で難治性の炎症性腸疾患である。腸管での免疫異常を背景とする潰瘍性大腸炎に対して，近年の粘膜免疫学の発展を背景に精力的な研究が展開されているにもかかわらず，その病因や病態形成機序などは未だ多くは不明であり，従って特異的な有用な治療薬や治療法は確立されていない。また，食物アレルギーは腸管粘膜免疫機構の未熟な小児にその頻度が高く，小児の肉体的精神的発育への影響は重大であり，さらに，いわゆる「アレルギーマーチ」の引き金となる疾患として今やその病因・病態形成機序の解明と対策は急務であるが，未だ充分にはなされていない。

消化管は生体と外界とのインターフェイスであり，多くの外来抗原に絶えず暴露されている。そのため，病原微生物を排除しつつ必要な栄養素だけを吸収し，さらに食物抗原などに対しては免疫寛容を誘起するというような“非自己である異種抗原の排除と自己に対する寛容”を巧妙に操る腸管粘膜免疫系が発達している。また，腸管は第三の自律神経系である腸管神経系を有し，中枢からほぼ独立して基本的な機能を発現することができる唯一の器官である。これらの免疫系と神経系は内分泌系と共に「腸管イントラネット」を形成し，緊密なクロストークをしながら生体の恒常性を精妙に維持している。

生体三大制御システムにより精妙に調節されている複雑系である腸管の疾患は，病因や病態が多岐にわたるため，薬理学的メカニズムに限られる単剤を用いる治療法では治療効果に限界がある場合も数多くある。複雑系である腸管の免疫疾患に対する創薬戦略には，消化管全体を1つのシステムとして捉え，“消化管全体のシステムを調整する”という考え方が必要である。一方，複数の薬理作用を持つ多成分系の複合薬物である和漢薬は，生体のバランスや恒常性の維持に重きを置く薬物治療体系であり，生体の最も重要な制御システムである神経系や免疫系は，必然的に和漢薬の主要な治療標的となっている。従って，現代医療の中でも，消化管は和漢薬治療が比較的多く取り入れられている領域となっている。和漢薬はヒトでの長い使用経験（経験知）に基づく経験的臨床研究がなされてきたが，これらの経験知を人類がこれまであまり遭遇してこなかった「現代病」に適応するためには，和漢薬の詳細な作用メカニズムを科学的に解明する研究及び和漢薬治療の科学的合理性を検証する研究（科学知）は必須である。

従って，分子レベル及び生体レベルの両面から和漢薬の作用の科学基盤を確立することは，経験則で行われてきた和漢薬治療に科学的エビデンスを与えるとともに，和漢薬をベースとしたより有用な治療薬の開発を可能にし，そこから東西医学の枠を越えたより良い治療薬の創出が可能であると考えている。

◇原著論文

- 1) **Yamamoto T., Fujiwara K., Yoshida M., Kageyama-Yahara N., Kuramoto H., Shibahara N., Kadowaki M.: Therapeutic Effect of Kakkonto in a Mouse Model of Food Allergy with Gastrointestinal Symptoms.**

International Archives of Allergy and Immunology 148: 175-185, 2008.

Abstract: Background: The number of patients with food allergy has increased dramatically over the last several decades. However, there is no effective drug for food allergies. In the present study, we evaluated the effects of kakkonto, a traditional Japanese herbal medicine, in a mouse model of food allergy with gastrointestinal symptoms. Methods: BALB/c mice were systemically sensitized twice with ovalbumin (OVA) and then were repeatedly given OVA by oral intubation (OVA mice). Kakkonto was administered orally before the OVA challenges. Results: The OVA mice developed allergic diarrhea ($91.8 \pm 3.8\%$ after 6 OVA challenges), and myeloperoxidase (MPO) activity was dramatically elevated in the colons of the OVA mice. Kakkonto significantly suppressed the occurrence of allergic diarrhea and MPO activity in the OVA mice. Furthermore, the number of mucosal mast cells was greatly increased in the proximal colons of the OVA mice, and this was also suppressed by kakkonto. Interestingly, mRNA expression of helper T cell type 1 (Th1) cytokines (IFN-gamma) and Th2 cytokines (IL-4, IL-5 and IL-10) were significantly upregulated in the proximal colons of the OVA mice, an effect which was also reduced by kakkonto. Transcriptome analysis detected increased mRNA expression of suppressor of cytokine signaling-3 in the proximal colons of OVA mice, which was decreased by kakkonto administration. Conclusion: Kakkonto has immunosuppressive effects and interferes with the infiltration of mucosal mast cells in the colons of mice with induced food allergy, leading to improvement of allergic symptoms. Kakkonto has potential as a therapeutic drug for treatment of allergic symptoms induced by the disruption of intestinal mucosal immunity.

- 2) **Kageyama-Yahara N., Suehiro Y., Yamamoto T., Kadowaki M.: IgE-induced degranulation of mucosal mast cells is negatively regulated via nicotinic acetylcholine receptors.**

Biochemical and Biophysical Research Communications 377: 321-325, 2008.

Abstract: The autonomic nervous system is known to mediate mast cell activation. We investigated expression of nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in mucosal-type mast cells and their contribution to the regulation of mast cell activation. Expression of mRNA of nAChR alpha4, alpha7, and beta2 subunits were detected in specially differentiated mucosal-type murine bone marrow-derived mast cells (mBMMCs). Pretreatment with non-specific nAChRs agonists, acetylcholine, nicotine and epibatidine and a specific alpha7 subunit agonist GTS-21 significantly inhibited antigen-induced degranulation of mBMMCs in a dose-dependent manner and GTS-21-induced inhibition was significantly blocked by alpha7 subunit antagonist, alpha-bungarotoxin. Furthermore, confocal microscopy also demonstrated surface binding of alpha-bungarotoxin on mBMMCs. Our findings indicate that mucosal mast cell activation may be negatively regulated mainly through nAChR alpha7 subunit, suggesting that nAChRs are involved in neuronal-mucosal mast cell interactions

- 3) **Leng Y., Yamamoto T., Kadowaki M.: Alteration of cholinergic, purinergic and sensory neurotransmission in the mouse colon of food allergy model.**

Neuroscience Letters 445: 195-198, 2008.

Abstract: It is well known that intestinal anaphylaxis results in a disturbed intestinal motility. It is hypothesized that the chronic intestinal anaphylaxis-induced changes in the enteric neuronal circuitry cause intestinal motor malfunctions. However, detailed mechanisms largely remain unclear. The aim of

this study was to investigate the pathophysiological role of ATP, which acts as a non-cholinergic neurotransmitter and a neuroimmune modulator, in a disturbed intestinal motility of food allergy (FA). The FA mice developed allergic diarrhea accompanied with chronic inflammation and mast cell hyperplasia in the colon. The excised proximal colons (PCs) were suspended in the longitudinal direction in organ baths. In the PCs precontracted by KCl (50 mM), contractile responses to exogenous ATP (1 mM) were significantly ($P < 0.01$) higher in FA mice (34.2% of KCl-induced precontractions) as compared to control mice (17.2%). Pretreatment with P2 purinoceptor antagonists [suramin and PPADs] significantly ($P < 0.01$) reduced the ATP-evoked contractions to 7.7% and 1.5% in FA and control PCs, respectively. Furthermore, in the presence of inhibitors of cholinergic nerves and capsaicin-sensitive sensory nerves the electrical field stimulation (EFS; 10Hz)-evoked contractions were significantly ($P < 0.05$) higher in FA mice (65.8% of EFS-evoked maximum contractions, $n = 6$) than those in control mice (47.9%, $n = 6$). In addition, cumulative application of suramin and PPADs further inhibited EFS-induced contractions by 21.7% in FA mice ($n = 6$, $P < 0.01$) and 8.7% in control mice ($n = 6$, $P < 0.05$). Thus, the present study suggests that the sustained alteration in cholinergic, purinergic and sensory neurotransmission contribute to the disturbed motility during the chronic intestinal anaphylaxis.

4) **Kadowaki H., Yamamoto T., Kageyama-Yahara N., Kurokawa N., Kadowaki M.: The pathophysiological roles of COX-1 and COX-2 in the intestinal smooth muscle contractility under the anaphylactic condition.**

Biomedical Research 29: 113-117, 2008.

Abstract: Various inflammatory mediators released from antigen-activated mast cells are considered to play a key role in the pathogenesis of food allergy. The aim of the present study was to determine the mechanisms underlying the antigen-induced anaphylactic responses in the rat colons. Wistar rats were sensitized by intraperitoneal injection of ovalbumin (OVA). The contractilities of isolated proximal colons of the sensitized rats were studied in the organ bath. OVA challenges of sensitized tissues induced prolonged contractile responses. The antigen-induced contractions were greatly reduced by mast cell stabilizer doxantrazole (10 microM). However, the contractions were resistant to histamine H1 receptor antagonist and prostaglandin D2 receptor antagonist. In contrast, non-selective cyclooxygenase (COX) inhibitor indomethacin (1 microM) significantly reduced the contractions by 61.0%. Furthermore, selective COX-1 inhibitor FR122047 (10 microM) as well as selective COX-2 inhibitor NS-398 (10 microM) significantly inhibited the contractions by 50.1% and 50.3%, respectively. Nevertheless, the transcript levels of COX-2 as well as COX-1 were not upregulated by OVA in the proximal colons of the sensitized rats. The present results indicate that de novo arachidonic acid metabolites synthesis by constitutive COX-1 as well as constitutive COX-2 within mast cells contribute to the altered smooth muscle contractilities in the colons under the anaphylactic condition.

◇学会報告 (*: 特別講演, シンポジウム, ワークショップ等)

- 1) 藏本博史, 門脇 真, 吉田憲正: 食道壁在性 NO ニューロンを介した迷走神経による下部食道括約筋の支配.
日本解剖学会 第 113 回全国学術集会, 2008, 3. 27-29, 大分.
- 2) Leng Y., Kadowaki M.: Alteration of cholinergic and purinergic neurotransmission in the inflamed colon of the mouse with food-induced allergic diarrhea.
Digestive Disease Week, 2008, 5. 17-22, San Diego, U.S.A.
- 3) Suehiro Y., Kageyama N., Kadowaki M.: A novel type of therapeutic potential in a traditional herbal medicine Kakkonto against gastrointestinal anaphylaxis by reducing mucosal mast cell-surface expression of FcεRI.
Digestive Disease Week, 2008, 5. 17-22, San Diego, U.S.A.

- 4) Wang P., Kageyama N., Wang X., Kano Y., Kadowaki M.: Effect of Saireito, Shosaikoto and Goreisan on the antigen-induced degranulation of murine bone marrow-derived mucosal mast cells.
The 7th International Symposium on Natural Medicine and Microflora, 2008, 8. 2-4, Toyama, Japan.
- 5) 山本 武, 吉田益奈子, 藤原加苗, 柴原直利, 門脇 真: マウス食物アレルギーモデルマウスにおける葛根湯の全身免疫系および腸管粘膜免疫系に対する免疫調節作用.
第 25 回和漢医薬学会学術大会, 2008, 8. 30-31, 大阪.
- 6) 藤原加苗, 山本 武, 柴原直利, 門脇 真: 消化器症状を誘発する食物アレルギーモデルマウスにおける葛根湯の治療効果とその有効生薬.
第 25 回和漢医薬学会学術大会, 2008, 8. 30-31, 大阪.
- 7) 影山夏子, 末廣陽子, 前田 太, 門脇 真: 粘膜型マスト細胞に対する葛根湯の効果とその作用機序の検討.
第 25 回和漢医薬学会学術大会, 2008, 8. 30-31, 大阪.
- 8) Wang P., Kageyama N., Wang X., Kano Y., Kadowaki M.: Inhibitory effect of cinnamaldehyde, derived from Cinnamomi cortex, on the degranulation of mast cells.
第 25 回和漢医薬学会学術大会, 2008, 8. 30-31, 大阪.
- 9) 藏本博史, 門脇 真, 吉田憲正: 迷走神経による下部食道括約筋の抑制性メカニズムに関する研究.
第 7 回日本 Neurogastroenterology (神経消化器病) 学会, 2008, 9. 30, 東京.
- 10) 吉田益奈子, 山本 武, 藤原加苗, 門脇 真: オキサゾロン誘起潰瘍性大腸炎モデルにおける $\alpha 7$ ニコチン受容体を介する抗炎症効果.
日本薬学会北陸支部 第 119 回例会, 2008. 11. 9, 金沢.
- 11) 藤原加苗, 山本 武, 吉田益奈子, 柴原直利, 門脇 真: 食物アレルギー性消化器症状誘発モデルにおける葛根湯の有効性とその免疫学的作用機序.
日本薬学会北陸支部 第 119 回例会, 2008. 11. 9, 金沢.
- 12) 坪田悠真, 山本 武, 門脇 真: 食物アレルギーモデルマウスにおける経口免疫寛容の誘導による治療効果とその免疫学.
日本薬学会北陸支部 第 119 回例会, 2008. 11. 9, 金沢.
- 13) 前田 太, 影山夏子, 門脇 真: 粘膜型マスト細胞における PPAR γ の役割.
日本薬学会北陸支部 第 119 回例会, 2008, 11. 9, 金沢.
- 14) 影山夏子, 末廣陽子, 前田 太, 門脇 真: 粘膜型マスト細胞に対する葛根湯の効果とその作用機序の検討.
第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2008, 11. 27-29, 東京.

◇その他

受賞

- 1) 和漢医薬学会若手優秀発表賞 藤原加苗: 消化器症状を誘発する食物アレルギーモデルマウスにおける葛根湯の治療効果とその有効生薬. 第 25 回和漢医薬学会学術大会, 2008, 8. 30-31, 大阪.

招待講演

- 1) 門脇 真: 複雑系である腸管の免疫性疾患に対する複合薬物である和漢薬・漢方薬からの科学的アプローチ.
第 15 回日本東洋医学会北陸支部夏季講演会, 2008, 7. 13, 富山.
- 2) 門脇 真: 消化管疾患における漢方薬治療の位置付け.
第 13 回 富山大学 和漢医薬学総合研究所 夏期セミナー「現代医療の中の和漢薬」, 2008, 8. 6-8, 富山.

- 3) 門脇 真：複雑系である腸管の免疫性疾患に対する複合薬物である和漢薬からの科学的アプローチ。
富山大学・岐阜薬科大学 学術交流セミナー「現代疾患と和漢薬の架け橋」,
2008, 12.13, 富山.

国際協力

- 1) 門脇 真：国際協力機構(JICA) ミャンマー伝統医療プロジェクト,
2008, 12.6-11, Yangon, Mandalay, Myanmar.

新聞

- 1) 研究室発：消化器治療に漢方薬活用 富山大学和漢医薬学総合研究所 門脇真教授。
中日新聞, 2008, 4. 1.

研究会

- 1) 門脇 真, 山本 武：ENS 研究会, 2008, 11. 8, 京都.

◇共同研究

国内

- 1) 藏本博史：京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科応用生物学部門細胞機能学分野
「腸管神経系における迷走神経及び知覚神経支配に関する研究」
「逆流性食道炎の病態生理学的及び形態学的研究」
「腸管粘膜型マスト細胞の形態学的研究」
「腸管免疫性疾患における腸管神経系の役割に関する研究」
2004, 5-
- 2) 門脇 孝：東京大学大学院 医学系研究科 代謝栄養病態学（糖尿病・代謝内科）
「PPAR γ 欠損マウスを用いた免疫学的研究」
「PI3 キナーゼ欠損マウスを用いた免疫学的研究」
2004, 7-
- 3) 小安重夫：慶応義塾大学 医学部 免疫学
「PI3 キナーゼ欠損マウスを用いた免疫学的研究」
2004, 7-
- 4) 東田千尋：富山大学 和漢医薬学総合研究所
「PI3 キナーゼの神経変性疾患への関与に関する研究」
2005, 10-

◇研究費取得状況

- 1) 平成 20 年度 日本学術振興会科学研究補助金 若手 (B) 代表：山本 武
研究題目：網羅的遺伝子発現解析等を用いた食物アレルギーモデルに対する葛根湯の
治療機序の解明
- 2) 平成 20 年度 財団法人喫煙科学研究財団 代表：門脇 真
研究課題：潰瘍性大腸炎モデルにおける T 細胞での $\alpha 7$ 型ニコチン受容体を介するニコ
チンの抗 Th2 型炎症・免疫作用の分子メカニズムの解明
- 3) 平成 20 年度 財団法人喫煙科学研究財団 分担：門脇 真
研究課題：喫煙と胃食道逆流症(GERD)発症に関する研究：特に、実験 GERD モデルでの
下部食道括約筋の抑制性神経回路におけるニコチン受容体の病態生理学的役割

- 4) 平成 20 年度 山崎香辛料振興財団 代表：門脇 真
研究課題：南アジア地域の香辛料のヘリコバクター・ピロリ菌に対する抗菌作用の探索研究
- 5) 平成 20 年度 学長裁量経費 分担：山本 武, 影山夏子
研究課題：伝統薬物による生体機能の革新的解析および創薬戦略
- 6) 富山県 平成 20 年度受託研究 和漢薬・バイオテクノロジー研究 代表：門脇 真
研究課題：免疫調節作用を有する和漢薬・漢方薬の科学的薬効評価と新規和漢薬製剤開発

◇研究室在籍者

薬学部 3 年生：金内優也, 氣賀澤愛

薬学部 4 年生：坪田悠真, 前田太

大学院博士前期 1 年：末廣陽子, 勝木洋佑, 須藤淳美, 李在敏

大学院博士前期 2 年：藤原加苗, 吉田益奈子

大学院博士後期 3 年：Syed Faisal Haider Zaidi

研究生：渡辺哲郎（富山大学大学院医学薬学研究部和漢診療学講座）

遠野雅徳（日本学術振興会特別研究員）

Wang Ping（Department of Pharmacognosy, Heilongjiang University of Chinese Medicine）

◇学位（修士, 博士）取得者

修士論文

宇都宮奈穂：マウス食物アレルギー病態モデルにおけるニコチン受容体の病態生理学的役割

兒玉利尚：マウス食物アレルギー性消化器症状の発症における消化管粘膜型マスト細胞の病態生理学的役割