

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および病態形成機序を解明し，それに基づき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，近年患者が急増してきている腸管免疫性疾患，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気所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。

全身免疫系では神経系さらには内分泌系との間に密接なクロストークが明らかにされているが，腸管粘膜免疫系では腸管の神経系，免疫系，内分泌系などで構成される「腸管イントラネット」という統合的考え方からの研究は世界的にも始まったばかりであり，「腸管イントラネット」の破綻という観点から，腸管疾患の病因・病態に迫る研究は殆んどなされていない。消化管生理学分野では，この点にも着目し「腸管イントラネット」と腸管免疫性疾患の病因・病態との関連を，病態生理学的，分子生物学的，神経科学的及び形態学的に解明することを目的としている。

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が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多く，消化管領域は現代医学のなかでも和漢薬治療が多く取り入れられている領域である。漢方薬は多成分系の複合薬物であり，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。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，漢方薬の詳細な作用メカニズムを科学的に解明する研究（科学知）は必須であり，これらの融合から東西医学の枠を越えたより良い治療薬の創出も可能と考えている。

消化管生理学分野では，腸管免疫性疾患の有用な病態モデルを確立し，遺伝子改変動物（PPAR γ ノックアウトマウス，PI3-キナーゼノックアウトマウスなど）なども用いて，特に神経系と免疫系の接点と考えるニコチン受容体を介するコリン性抗炎症・免疫機構，PPAR γ を介する抗炎症・免疫機構，腸管免疫性疾患において司令塔的役割を担っていると考えている粘膜型マスト細胞などの病態生理学的役割を解明することを目的に研究を展開している。さらに，これらの基礎的研究を基盤として和漢薬を含めた新規特異的治療薬を創出することを目指している。特に，漢方薬にはこれら腸管免疫性疾患に対して有効例が報告されているにもかかわらず，治療効果を示す作用機序などの科学的研究はこれまであまり解明されていない。漢方薬の詳細な作用機序を現代科学の先端的手法を駆使して解明することを目指している。

◇原著論文

- 1) **Yamamoto T., Kuramoto H., and Kadowaki M.: Downregulation in aquaporin 4 and aquaporin 8 expression of the colon associated with the induction of allergic diarrhea in a mouse model of food allergy.**

Life Sciences 81: 115-120, 2007.

Abstract: Food allergies have become increasingly prevalent during the past few decades. Diarrhea is one of the most frequent intestinal symptoms caused by food allergens and is characterized by imbalanced ion exchange and water transfer; however, the underlying mechanism of allergic diarrhea remains unclear. Water transfer across the intestinal epithelial membrane seems to occur via aquaporins (AQPs). However, the molecular mechanism of water transfer and the pathophysiological roles of aquaporins in the intestine have not been fully established. The present studies have focused on the alterations of AQPs in a mouse model of allergic diarrhea in which BALB/c mice developed diarrhea following repeated challenges of orally administered ovalbumin. Quantitative real-time PCR analysis and immunohistochemical technique were used for expression of mRNA and protein of AQPs, respectively. AQP4 and AQP8 mRNA levels were significantly decreased in the proximal colon of allergic mice compared to controls; likewise, expression of AQP4 and AQP8 proteins was reduced in the proximal colon of the allergic mice. These results suggest that allergic diarrhea is associated with a downregulation in AQP4 and AQP8 expression.

- 2) **Tohda C., Nakanishi R., Kadowaki M.: Learning Deficits and Agenesis of Synapses and Myelinated Axons in Phosphoinositide-3 Kinase-Deficient Mice.**

Neurosignals 15: 293-306, 2007.

Abstract: Although previous studies have reported a role for phosphoinositide-3 kinase (PI3K) in axonal definition and growth in vitro, it is not clear whether PI3K regulates axonal formation and synaptogenesis in vivo. The goal of the present study was to clarify the role of PI3K in behavioral functions and some underlying neuroanatomical structures. Immunohistochemistry, an electron-microscopic analysis and behavioral tests were carried out. Knockout mice lacking the p85alpha regulatory subunit of PI3K (p85alpha^{-/-} mice) significantly showed learning deficits, restlessness and motivation deficit. Expression of phosphorylated Akt, which indirectly shows the activity of PI3K, was high in myelinated axons, especially in axonal bundles in the striatum of wild-type mice, but was significantly low in the striatum, cerebral cortex and the hippocampal CA3 of p85alpha^{-/-} mice. The axonal marker protein level decreased mainly in the striatum and cerebral cortex of p85alpha^{-/-} mice. In these two regions, myelinated axons are rich in the wild-type mice. However, the density of myelinated axons and myelin thickness were significantly low in the striatum and cerebral cortex of p85alpha^{-/-} mice. Synaptic protein level was clearly decreased in the striatum, cerebral cortex, and hippocampus of p85alpha^{-/-} mice when compared with wild mice. The present results suggest that PI3K plays a role in the generation and/or maintenance of synapses and myelinated axons in the brain and that deficiencies in PI3K activity result in abnormalities in several neuronal functions, including learning, restlessness and motivation.

- 3) **Yamaguchi N., Yamamoto T., Suruga K., Takase S.: Developmental changes in gene expressions of beta-carotene cleavage enzyme and retinoic acid synthesizing enzymes in the chick duodenum.**

Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology 148: 690-697, 2007.

Abstract: Vitamin A is derived from provitamin A carotenoids, mainly beta-carotene, by beta-carotene 15,15'-monooxygenase (BCMO1; EC 1.13.11.21). We previously reported that chick duodenal BCMO1

activity increased abruptly just after hatching. In this study, we further investigated mechanisms and physiological roles of the postnatal induction of BCMO1 expression in the chick duodenum. We showed that BCMO1 mRNA levels increased in the chick duodenum during postnatal period after hatching, but remain unchanged in the chick liver throughout the perinatal period. Serum hydrocortisone (HC) levels were also increased after hatching. Moreover, HC-administered chicks showed an enhancement of duodenal BCMO1 mRNA during the perinatal period. We further analyzed the developmental gene expression patterns of three types of retinoic acid (RA) synthesizing enzymes in the chick duodenum. Among them, retinal dehydrogenase 1 (RALDH1) mRNA levels in the chick duodenum increased during the postnatal period, indicating a similar developmental expression pattern to that of BCMO1. These results suggest that the postnatal induction of BCMO1 gene expression in the chick duodenum may be caused by the elevation of serum HC levels and may contribute to the RALDH1-mediated RA synthetic pathway.

- 4) **Kuramoto H., Kadowaki M., Sakamoto H., Yuasa K., Todo A., Shirai R.: Distinct morphology of serotonin-containing enterochromaffin (EC) cells in the rat distal colon. Archives of Histology and Cytology 70: 235-241, 2007.**

Abstract: The present study was performed to examine the distribution and particular morphology of the serotonin-containing enterochromaffin (EC) cells in the rat distal colon using immunohistochemical and electron microscopic methods. Serotonin-immunohistochemistry revealed that most of the serotonin-immunoreactive EC cells extended cytoplasmic processes; particularly, the positive EC cells with longer processes were located along the body of the crypt and characterized by bipolar processes that consisted of one process extending straight down vertically to the basal crypt, with the terminal swellings, and the other running upward the luminal side, in many cases, with the apical ends reaching the glandular lumen. A few of the EC cells had the long processes that resembled neuronal ones with varicosities. The observation by electron microscope showed small pleomorphous granules with rod-like, tortuous, oval or round shape in the long process-EC cells; the cell bodies and processes of the EC cells faced directly the crypt epithelial cells including enterocytes and goblet cells at one side and the basement membrane at the opposite side, and the accumulation of their granules sometimes appeared within the cytoplasm at the side of the epithelial cells. These findings suggest that serotonin is released from the long processes of the EC cells and directly acts, in a paracrine fashion, on the crypt epithelial cells to secrete electrolytes, mucus and/or water into the colonic lumen. The presence of such long cytoplasmic processes of the EC cells may contribute to the major part of the serotonin-induced secretory events in the distal colon.

◇学会報告 (*: 特別講演, シンポジウム, ワークショップ等)

- 1) 山本 武, 吉田益奈子, 藤原加苗, 門脇 真: オキサゾロン誘発潰瘍性大腸炎モデルマウスにおける CD4+T細胞の $\alpha 7$ ニコチン受容体を介するコリン性抗炎症機構の病態生理学的役割. 日本薬学会 第 127 年会, 2007, 3.28-30 富山
- 2) 兒玉利尚, 山本 武, 藤原加苗, 吉田益奈子, 門脇 真: 食物アレルギー発症機序における粘膜型マスト細胞, CD4 陽性 T 細胞の役割. 日本薬学会 第 127 年会, 2007, 3.28-30 富山
- 3) 吉田益奈子, 山本 武, 藤原加苗, 兒玉利尚, 宇都宮奈穂, 渡辺哲郎, 門脇 真: オキサゾロン誘発潰瘍性大腸炎モデルに対する漢方薬柴苓湯の治療効果. 日本薬学会 第 127 年会, 2007, 3.28-30 富山
- 4) 藤原加苗, 山本 武, 吉田益奈子, 門脇 真: 消化器症状を発現する食物アレルギーモデルマウスに対する葛根湯の治療効果. 日本薬学会 第 127 年会, 2007, 3.28-30 富山
- 5) Kodama T., Yamamoto T., Fujiwara K., Yoshida M., Koyasu S., Kadowaki M.: Pathological Role of Mucosal Mast Cells and CD4+ T Cells for the Induction of Food Allergy in Mice.

- Digestive Disease Week, 2007, 5.19-24, Wahington, D.C., U.S.A.
- 6) Yoshida M., Yamamoto T., Fujiwara K., Kadowaki M.: Stimulation of Vagus Nerve Attenuates Inflammation by Activating $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors on CD4+ T Cells in the Colon of Oxazolone-Induced Ulcerative Colitis Mouse.
Digestive Disease Week, 2007, 5.19-24, Wahington, D.C., U.S.A.
- 7) Watanabe T., Yamamoto T., Yoshida M., Fujiwara M., Aburatani H., Shimada Y., Kadowaki M.: Therapeutic Effects of Saireito, a Traditional Herbal Medicine, in Oxazolone-Induced Mouse Ulcerative Colitis via the Suppression of Enhanced Expression of the Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS)-3.
Digestive Disease Week, 2007, 5.19-24, Wahington, D.C., U.S.A.
- 8) Yamamoto T., Yoshida M., Fujiwara K., Kadowaki M.: Stimulation of Vagus Nerve Attenuates Inflammation by Activating $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Colon of Oxazolone-Induced Ulcerative Colitis Mouse.
13th International Congress of Mucosal Immunology. 2007, 7. 9-12, Shinagawa
- 9) Kodama T., Yamamoto T., Fujiwara K., Yoshida M., Kadowaki M.: Pathological Role of Mucosal Mast Cells and CD4+ T Cells for the Induction of Food Allergy in Mice.
13th International Congress of Mucosal Immunology. 2007, 7. 9-12, Shinagawa
- * 10) 渡辺哲郎, 山本 武, 嶋田 豊, 門脇 真: 潰瘍性大腸炎に対する柴苓湯の効果.
第 24 回和漢医薬学会大会 シンポジウム: 新しい消化管治療学, 2007, 9.8-9, 富山.
- 11) 末廣陽子, 影山夏子, 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 24 回和漢医薬学会大会, 2007, 9.8-9, 富山.
- 12) 山本 武, 藤原加苗, 吉田益奈子, 宇都宮奈穂, 兒玉利尚, 門脇 真: アレルギー性消化器症状を呈する食物アレルギー病態モデルマウスに対する葛根湯の治療効果.
第 24 回和漢医薬学会大会, 2007, 9.8-9, 富山.
- 13) Kuramoto H., Kadowaki M., Yamamoto T., Kuwano R.:
Characterization of enteric neurons that express calbindin in the rat esophagus.
5th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience. 2007, 10. 5-7, Kyoto.
- * 14) Kadowaki M., Yamamoto T., Kodama T., Yoshida M., Fujiwara K., Kuramoto H.:
Pathophysiological Role of Vagal Anti-inflammatory Pathway via $\alpha 7$ -Nicotinic Receptors in Experimental Ulcerative Colitis.
5th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience. 2007, 10. 5-7, Kyoto.
- 15) Kadowaki M., Yoshida M., Fujiwara K., Yamamoto T.: Cholinergic anti-inflammatory pathway through $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors in the colon reduces oxazolone-induced colitis in mouse.
Falk Workshop "Mechanisms of Intestinal Inflammation" 2007, 10. 8-12, Dresden, Germany.
- 16) Kadowaki H., Yamamoto T., Kurokawa N., Kadowaki M.: Cyclooxygenase-1 as well as cyclooxygenase-2 contributes anaphylaxis-induced alterations in intestinal motility.
Falk Workshop "Mechanisms of Intestinal Inflammation" 2007, 10. 8-12, Dresden, Germany.
- 17) 門脇 真, 山本 武, 藤原加苗, 兒玉利尚, 吉田益奈子, 宇都宮奈穂: 葛根湯は腸管粘膜免疫系を抑制することにより, 食物アレルギー病態モデルに対する治療効果を示す.
第 57 回日本アレルギー学会秋期学術大会, 2007, 11.1-3, 横浜
- 18) 門脇 真, 兒玉利尚, 山本 武, 宇都宮奈穂, 藤原加苗, 吉田益奈子: 食物アレルギー発症機序における粘膜型マスト細胞及び CD4 陽性 T 細胞の役割.
第 57 回日本アレルギー学会秋期学術大会, 2007, 11.1-3, 横浜
- 19) 門脇 真, 山本 武, 宇都宮奈穂, 兒玉利尚, 藤原加苗, 吉田益奈子: 食物アレルギーモデルにおける迷走神経-ニコチン受容体を介する抗炎症免疫機序の役割.
第 57 回日本アレルギー学会秋期学術大会, 2007, 11.1-3, 横浜
- 20) 宇都宮奈穂, 山本武, 兒玉利尚, 門脇真: マウス食物アレルギー病態モデルにおける $\alpha 7$ ニコチン受容体を介する抗炎症機構の役割.

- 日本薬学会北陸支部 第 117 回例会, 2007, 11.11, 金沢.
- 21) 末廣陽子, 影山夏子, 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.
日本薬学会北陸支部 第 117 回例会, 2007, 11.11, 金沢.

◇その他

受賞

- 1) Poster Prize : Makoto Kadowaki; Cholinergic anti-inflammatory pathway through $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors in the colon reduces oxazolone-induced colitis in mouse.
In Falk Workshop "Mechanisms of Intestinal Inflammation" 2007, 10. 10, Dresden, Germany.

招待講演

- 1) 門脇 真: 最複雑系である腸管の免疫性疾患に対する創薬戦略.
フォーラム富山「創薬」第 2 3 回研究会「消化管をターゲットとした創薬」,
2007, 9.21, 富山.

海外調査

- 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,
2007, 7.13-26, ヤンゴン, ネピド, マンダレー, ミャンマー.

新聞

- 1) 「潰瘍性大腸炎」治療に漢方薬 柴苓湯で症状緩和 富山大和漢研・門脇教授ら動物実験.
北日本新聞, 2007, 1.4.

助成関連

- 1) 門脇 真, 門脇 孝, 藏本博史, 山本 武: 腸管粘膜免疫系及び腸管神経系と潰瘍性大腸炎の病因病態との関連—特に $\alpha 7$ 型ニコチン受容体を介するコリン性抗炎症・免疫機構及び PPAR γ を介する抗炎症・免疫機構の破綻—.
財団法人 喫煙科学研究財団 第 21 回助成研究発表会, 2007, 7.12, 東京.
- 2) 門脇 真, 門脇 孝, 藏本博史, 山本 武: 腸管粘膜免疫系及び腸管神経系と潰瘍性大腸炎の病因病態との関連—特に $\alpha 7$ 型ニコチン受容体を介するコリン性抗炎症・免疫機構及び PPAR γ を介する抗炎症・免疫機構の破綻—.
平成 18 年度財団法人 喫煙科学研究財団 研究年報: 404-409, 2007.
- 3) 門脇 真: 腸管粘膜免疫系及び腸管神経系と潰瘍性大腸炎の病因病態との関連—特に $\alpha 7$ 型ニコチン受容体を介するコリン性抗炎症・免疫機構及び PPAR γ を介する抗炎症・免疫機構の破綻—.
Smoking Science 22 No.2 Aug. : 5, 2007
- 4) 山本 武: 腸管粘膜免疫機能の破綻により誘発される食物アレルギーに対する漢方薬の治療効果とその機序の解析.
平成 18 年度 漢方医薬研究振興財団研究助成研究成果発表会, 2007, 11.3, 東京

研究会

- 1) 門脇 真, 山本 武: ENS 研究会, 2007, 11.10, 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，特に食道神経系における迷走神経（副交感神経）支配に関する研究」
「結腸セロトニン含有腸クロム親和性細胞の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」
「逆流性食道炎の病態生理学的及び形態学的研究」
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）
「実験潰瘍性大腸炎を抑制するコリン性抗炎症作用における PPAR γ の役割」
「食物アレルギー病態モデルによる食物アレルギーの発症機序の解析：PI3 キナーゼ欠損マウスを用いての検討」
2004, 7-
- 3) 小安重夫：慶応義塾大学 医学部 免疫学
「食物アレルギー病態モデルによる食物アレルギーの発症機序の解析：PI3 キナーゼ欠損マウスを用いての検討」
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 19 年度 日本学術振興会科学研究補助金 基盤研究 C(2) 代表：門脇 真
研究課題：実験潰瘍性大腸炎モデルにおけるニコチン受容体を介するコリン性抗炎症免疫機構の役割
- 2) 平成 19 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
- 3) 富山県 平成 19 年度受託研究 和漢薬・バイオテクノロジー研究 担当：門脇 真
研究題目：消化管をターゲットにした新しい和漢薬製剤の開発

◇研究室在籍者

薬学部 3 年生：坪田悠真，前田太

薬学部 4 年生：末廣陽子

大学院博士前期 1 年：藤原加苗，吉田益奈子

大学院博士前期 2 年：宇都宮奈穂，兒玉利尚

大学院博士後期 2 年：Syed Faisal Haider

研究生：Yuxin Leng（西山基金）

Long Yimei（中国「内陸部・人材育成事業における医薬系特設研修コース」）