

Trypsin-induced biphasic regulation of tone in the porcine lower esophageal sphincter

田中, 義将

<https://doi.org/10.15017/1543935>

出版情報 : 九州大学, 2015, 博士 (医学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : やむを得ない事由により本文ファイル非公開 (2)

氏 名：田中 義将

論 文 名：Trypsin-induced biphasic regulation of tone
in the porcine lower esophageal sphincter

(ブタ下部食道括約部輪走筋においてトリプシンが引き起こす
2相性収縮弛緩反応の機序)

区 分：甲

論 文 内 容 の 要 旨

トリプシンは三量体Gタンパクと共役した7回膜貫通型受容体であるプロテアーゼ活性化型受容体(PAR)を活性化させることで様々な細胞効果を発揮する。4つのPARサブタイプのうちPAR₁、PAR₂およびPAR₄がトリプシンの受容体である。PARは消化管の平滑筋細胞や隣接した細胞に発現しており、消化管平滑筋の収縮性を調整している。しかしながら、食道機能におけるトリプシンの役割についての情報は限られている。一方、胃食道逆流症(GERD)患者の食道粘膜においてPAR₂発現レベルが亢進しており、GERDの病態と関係している。トリプシンによるPAR₂の活性化がインターロイキン8の分泌を引き起こし、それがGERDの患者の上皮バリア機能の障害に関わっている可能性が示唆されている。食道運動機能においてトリプシンもまた重要な役割を果たすようだが、どのようにトリプシンが食道運動に影響しているかはまだはっきりしていない。食道胃接合部に存在する下部食道括約筋(LES)は食道協調運動において重要な役割を果たす。本研究はトリプシンがLES収縮性に及ぼす影響を解明することを目的とした。ブタ食道胃接合部組織よりLES輪走平滑筋条片を作成し、トリプシンがLES収縮性に及ぼす影響を、等尺性張力を測定し検討した。トリプシン(300 nM)は一過性収縮反応を引き起こした。1 μM以上の濃度では、2相性反応、すなわち初期の一過性収縮反応に引き続き、弛緩反応を引き起こした。この2相性収縮弛緩反応はテトロドトキシンやカルベノキソロン前処置にて抑制されなかったが、セリンプロテアーゼ阻害薬の前処置により完全に消失した。また、PAR₂アンタゴニストであるFSLRLY-NH₂(10 μM)前処置により有意に2相性収縮弛緩反応は抑制された。さらに、PAR₂活性化ペプチドであるSLIGRL-NH₂とSLIGKV-NH₂は有意な収縮反応を引き起こした。実際、免疫組織化学的検査にて、PAR₂がLESの粘膜のみならず、輪走平滑筋に発現していることを確認した。一方、PAR₁活性化ペプチド(TFLLR-NH₂)は100 μMの濃度で明らかな収縮反応を引き起こした。しかしながら、PAR₁アンタゴニストである10 μM SCH79797を前処置しても、この収縮は抑制されなかった。内因性のPAR₁アゴニストで

あるトロンビンを 10 U/ml の濃度まで用いたが、なんら反応を認めなかった。さらに、PAR₁ アンタゴニストである 10 μM SCH79797 は、トリプシン(10 μM)が引き起こす収縮弛緩反応に対してなんら影響を与えなかった。最後に、PAR₄ 活性化ペプチド(AYPGKF-NH₂)は LES 輪走平滑筋において何ら反応を示さなかった。以上の結果より、トリプシンが引き起こす反応には、PAR₂ が関わっていることを示唆された。トリプシン (1 μM)による収縮反応は Y-27632 (10 μM)前処置により部分的に抑制された。一方、トリプシン (10 μM)による弛緩反応は Y-27632 (10 μM)、PD98059 (10 μM)および SB203580 (10 μM)前処置により、部分的に抑制された。さらに、トリプシンによる弛緩反応は NO 合成阻害薬である L-NAME 前処置の影響を受けなかったが、細胞外液の K⁺濃度を 5.9 mM K⁺から 40 mM K⁺にすると完全に消失した。Glibenclamide (10 μM) または 4-Aminopyridine (1 μM)前処置により、部分的に抑制された。結論として、ブタ LES 輪走平滑筋において、トリプシンは主に PAR₂ を活性化することで、独特な筋緊張調節をしている。トリプシンは弛緩作用に必要となる濃度より低い濃度では、収縮作用を引き起こし、結果として 1 μM より高い濃度では初期の一過性収縮反応とそれに引き続く弛緩反応からなる 2 相性反応を起こす。ROK は収縮反応、弛緩反応の両方に関与する一方、ERK1/2 と p38MAPK は弛緩反応に関与すると考えられた。トリプシンが引き起こした弛緩反応は ATP 感受性 K⁺チャネルと電位依存性 K⁺チャネルが関係している。トリプシン/PAR₂ シグナル経路は GERD 患者を含めた食道運動障害の治療における新しいターゲットになる可能性がある。

