

## 第4章 考察

消化管は生命の営みを維持する上での根源的な働きをする器官である。その構造上消化管管腔は外界と接しており、常に外来の細菌や異物などに暴露されている。また内腔にはおびただしい数の腸内細菌が存在するため、消化管の免疫は微妙なバランスの上に成り立っている。何らかの原因でこのバランスが崩れると炎症が惹起され、病態としての腸炎が発症する。おそらく大病を患ったことのない我々の体内でも軽度の腸炎とその治癒の過程は幾度となく経験してきたに違いない。ヒトや動物モデルの腸炎では、しばしば消化管の運動機能障害が認められる。消化管の運動機能障害は腸内容物の滞留などによる腸内フローラの乱れなどをきたすことで病態の悪化を引き起こす原因となっている。炎症という舞台の上で炎症を悪化させるいわば悪役としての役回りをするものは炎症性サイトカインと呼ばれる。IL-1 $\beta$ はその中でもメインキャストとして考えられている。

本研究でははじめ腸炎時の消化管平滑筋の機能学的変化における IL-1 $\beta$ の役割を解明するために、組織培養法を用いて IL-1 $\beta$ を3日間処置することによる収縮力の変化を検討した。その結果、IL-1 $\beta$ は carbachol 収縮の減弱を引き起こし、その一因として細胞内セリン・スレオニンフォスファターゼ阻害因子である CPI-17 の発現量低下が関与することを明らかにした。さらに、CPI-17 が消化管平滑筋収縮に重要な役割を果たすことを確認した上で、この CPI-17 発現量の低下と収縮力の抑制は *in vivo* の回腸炎モデルおよび結腸炎モデルでも観察されたことから、実際の腸炎における運動機能障害でも CPI-17 発現量の低下がその一因となることを解明した。

しかし数多くいる悪役炎症性サイトカインの中で、IL-1 $\beta$ が本当に主犯なのだろうか？この疑問に答えるために、サイトカイン KO マウスから単離した平滑筋組織培養法を用いた検討を行った。その結果 IL-1 $\beta$ を長期間処置することによって引き起こされる収縮力の低下は、実は TNF- $\alpha$ を介した現象であり、本当の主犯は TNF- $\alpha$ であることを明らかとした。このことは *in vivo* の腸炎モデルにお

いて TNF- $\alpha$  KO マウスでは腸炎を起こしても運動機能障害が認められなかったことから確認された。しかも IL-1 $\alpha/\beta$  KO マウスではむしろ炎症が増悪し、CPI-17 発現量低下の程度も悪化していた。

それでは炎症時の運動機能障害における IL-1 $\beta$ は本当に悪役なのであろうか？本研究では次に消化管平滑筋の組織学的な変化に対する IL-1 $\beta$ の役割として、平滑筋細胞増殖に対する IL-1 $\beta$ の作用を検討した。消化管平滑筋層の肥厚は様々な腸炎疾患で観察され、狭窄や運動機能障害につながることから臨床上也非常に重要である。予想通り IL-1 $\beta$ は単離回腸平滑筋細胞に直接作用すると細胞増殖を促進し、悪役としての存在感を十分に示した。しかしながら予想に反し、組織培養法を用いた検討から組織レベルでは逆に増殖を抑制することが明らかとなった。これは IL-1 $\beta$ が平滑筋層に存在する常在型マクロファージの PGE<sub>2</sub>および NO 産生を誘導することによる間接的な現象であった。IL-1 $\beta$ は平滑筋肥厚という舞台の上では単純な悪役を演じるわけではなく、むしろ生体にとって守護者としての役割を果たしていることが明らかとなった。

以上を要約すると、腸炎時の消化管運動機能障害において IL-1 $\beta$ は、① TNF- $\alpha$ を介して CPI-17 発現量を抑制することで平滑筋細胞の収縮機能を低下させる、② 平滑筋細胞に直接的な作用としてその増殖を促進するが、組織レベルでは総体的には常在型マクロファージからの PGE<sub>2</sub>および NO 産生を誘導することで平滑筋細胞の増殖を抑制する、という複雑な作用メカニズムを持つことが明らかとなった (図 46)。以下の項では、さらに詳細な考察を行った。

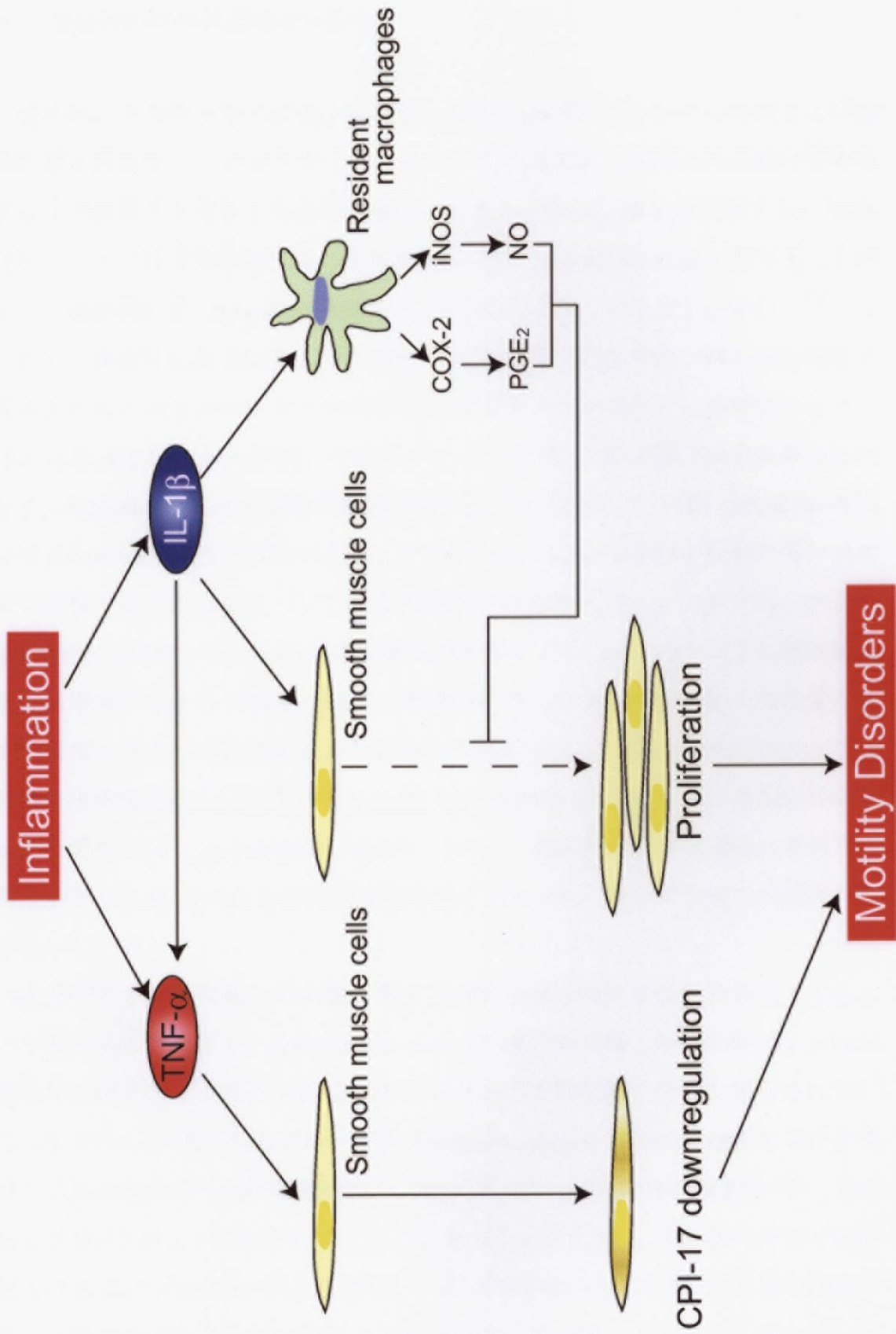


図 46 腸炎時の運動機能障害における IL-1β の役割

## 4-1 腸炎時の平滑筋収縮力の変化

腸炎時の平滑筋収縮力の低下に関する報告：本研究で炎症時の回腸および結腸の縦走筋収縮力が低下することが明らかとなったが、腸炎時の運動機能障害としては収縮力が増強するという報告と減弱するという報告が混在する。Sarnaらのグループはイヌの回腸炎モデルを用いて *in vivo* における消化管収縮力を測定し、腸炎時には muscarine 刺激による収縮力が低下することを報告している (253)。輪走筋収縮力に関しては TNBS 誘発腸炎で急性期に一時的な収縮能の増強がみられるものの、その後収縮力が減弱することは統一した見解となっている (42, 89, 122, 312, 313)。今回我々が主に使用した縦走筋方向の収縮力に関して、Moreels はラット TNBS 誘発回腸炎モデルにおいて TNBS 処置後 36 時間では carbachol 収縮が抑制されるが、7 日目には vehicle 処置の対照群と同レベルまで回復するとしており (177)、この報告は本研究の結果と一致する。一方で Martinolle らはモルモットの TNBS 誘発回腸炎モデルにおいて 6 日目に縦走筋収縮力が増強するとしており (161)、実験に使用した動物種の違い、消化管の部位や炎症のステージの差によって得られる結果は微妙に異なってくるようだ。TNBS 誘発腸炎以外の腸炎モデルにおいても腸閉塞モデル (318) や出血性ショックモデル (76)、manipulation モデル (108)、腹膜炎モデル (325)、本研究で明らかとした IL-10 KO を含めた自然発症モデル (64) などで収縮力の減弱が報告されている。

腸炎時の平滑筋収縮力の増強に関する報告：腸炎時には収縮力が低下するという報告がある一方で、*Schistosoma mansoni* 感染性回腸炎や *Trichinella spiralis* 感染性空腸炎などの寄生虫感染症モデルでは平滑筋収縮の増強が報告されている (21, 301)。Collins らのグループは *Trichinella spiralis* 感染性空腸炎モデルを使用して炎症時の平滑筋収縮能増強のメカニズムについて詳細な検討を行い、IL-4 および IL-13 がこれに関与していることをつき止めた (3)。その後の研究で IL-4 および IL-13 は TGF- $\beta$  の産生を誘導し、この TGF- $\beta$  がさらに PGE<sub>2</sub> の産生を導くことで平滑筋収縮力の増強が引き起こされることを明らかとした。彼らはクロ

ーン病患者の病変部平滑筋組織では IL-4 の発現増強が確認され、そこから単離した平滑筋細胞では carbachol 収縮が増強していることも報告している (4)。また IL-5 KO マウスを用いた検討から IL-5 も好酸球を誘導することでこの収縮力増強に関与することも明らかにしている (296)。一方で *Trichinella spiralis* を結腸に投与したモデルでは自発性収縮の減弱が確認される (11) など、寄生虫感染症モデルでも消化管の部位によって収縮力に与える影響は異なってくるのかもしれない。

腸炎時の平滑筋収縮力の変化の差には、関与するサイトカインの違いが関与する：一部の例外は存在するものの、TNBS などの薬剤投与による腸炎モデルでは収縮力の減弱が、寄生虫感染症モデルでは収縮力の増強が観察され、一言で腸炎と言っても収縮力に対する影響は異なる。これは一つには炎症のメカニズムの違いに起因すると考えられる。前述のように寄生虫感染症モデルでは IL-4 や IL-13、TGF- $\beta$  といった、いわゆる Th2 型のサイトカインが炎症に関与するのに対して、本研究および以前の報告 (121) から、TNBS 誘発腸炎では TNF- $\alpha$  などの Th1 型のサイトカインが運動機能障害に重要な因子である。さらに TNBS 誘発結腸炎において *Schistosoma mansoni* を感染させることで症状を緩和することができる (178) ことから、TNBS 誘発腸炎モデルと *Trichinella spiralis* 感染性腸炎モデルとでは炎症のメカニズムが異なることが運動機能障害の表現型の違いにつながるのではないだろうか。

#### 4-2 腸炎時の運動機能障害に対する PGs と NO の関与

腸炎における COX-2 および iNOS の関与：腸炎における COX-2 および iNOS の関与を示す報告は多い。COX-2 阻害剤を投与することで acetic acid 誘発結腸炎、LTB<sub>4</sub> 誘発結腸炎、manipulation による空腸炎など様々なモデルで収縮力の低下が改善する (246, 260)。また iNOS 阻害剤の投与でも出血性ショックによる空腸炎モデルで収縮力が改善する (76)。さらには manipulation によるラット結腸炎モデルでは炎症部である結腸の自発性収縮の低下には iNOS が関与し、非炎症

部の回腸のそれには iNOS と COX-2 が関与する (293)。COX-2 KO マウスや iNOS KO マウスにおいて manipulation による炎症が減弱する (246, 292) ことから、COX-2 や iNOS は炎症の惹起そのものに関与していると考えられる。

**収縮力に対する COX-2 および iNOS 発現の関与：**本研究ではマウス回腸および結腸平滑筋組織に IL-1 $\beta$ を処置し、結腸に IL-1 $\beta$ を 4 時間処置した場合に収縮力の増強が観察されることを明らかとした。この収縮力の増強は COX-2 阻害剤で抑制されたことから、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> などの prostaglandin の産生が関与していると考えられる。また LPS をラット回腸平滑筋組織に処置した報告 (87, 311) では COX-2 および iNOS の誘導が収縮力の減弱に関与するようであり、比較的短期的な収縮力の変化には prostaglandin や NO が関与すると考えられる。また Lodato らはこの LPS による iNOS 発現を介した収縮抑制には IL-1 $\beta$ と TNF- $\alpha$ が重要であると報告している (149)。ただし NO が *in vitro* の系において回腸平滑筋の収縮力に直接作用するかについては意見の分かれるところである。Tanovic らはラット回腸縦走筋収縮に対して NO は影響を与えないと報告している (280) のに対して、Grasa らはウサギ回腸では NO donor によって acetylcholine 収縮および高濃度 K<sup>+</sup> 収縮が抑制されることを報告している (63)。また自発性収縮の大きさや頻度に関しても、Bossone らはラット回腸では恒常的に発現している NOS によって産生される NO が制御に重要な役割を果たすと報告したが (24)、一方で Grassa らはウサギの回腸では正常時の自発性収縮に NO は関与せず、NOS 阻害剤は自発性収縮に影響しないとしている (63)。これらの矛盾が種差によるものであるとすれば、ラット回腸では NO は平滑筋直接的に収縮を制御するのではなく、神経末端からの acetylcholine の放出を制御するなどして消化管運動を調節しているのではないだろうか。

最近 iNOS が COX-2 に結合することで NO による COX-2 の s-nitrosylation を引き起こし、これが COX-2 の活性化につながることを報告された (119)。したがって腸炎時に産生される NO は prostaglandin の産生に影響することで *in vitro* のアゴニスト収縮に対しても間接的に影響を与えることも考えられる。また本研究の短期的な作用の一方で組織培養法において IL-1 $\beta$ を 3 日間処置したことによ

り引き起こされる収縮力の減弱には prostaglandin や NO は関与していなかったことから、炎症性サイトカインの暴露が長期化することで収縮力の変化に対する prostaglandin や NO の関与は小さくなっていくと考えられる。

消化管平滑筋増殖における COX-2 および iNOS 発現の関与：緒言でも記したように腸炎時にはしばしば平滑筋層の肥厚が観察される (20, 181)。今回 TNBS 誘発回腸炎においても細胞増殖マーカーである PCNA 陽性平滑筋細胞が増加することが確認された。IL-1 $\beta$  は血管平滑筋や気管支平滑筋の増殖を促進することが知られている (38, 144)。今回ラット回腸平滑筋単離培養細胞を用いて再確認したとおり IL-1 $\beta$  は消化管平滑筋細胞に直接作用する際は、他の平滑筋細胞と同様その増殖を促進する (62, 83, 211)。そこで本研究では IL-1 $\beta$  の増殖作用を、組織培養法を用いて検討することを試みたが、予想に反して IL-1 $\beta$  は組織レベルでは増殖抑制作用を示した。そしてこの平滑筋細胞増殖抑制作用は IL-1 $\beta$  による常在型マクロファージからの PGE<sub>2</sub> と NO 産生誘導によるものであった。したがって細胞培養レベルと組織培養レベルでの PGE<sub>2</sub> と NO 産生の有無の違いが、平滑筋細胞が増殖へと進むか否かを定める鍵となっていると考えられる。それでは消化管平滑筋細胞は COX-2 および iNOS を発現しないのであろうか？ Salinthonne らはヒト結腸平滑筋単離細胞に炎症性サイトカインを処置 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$  の混合処置) することで、COX-2 の発現が誘導されると報告している (238)。また Kuemmerle は結腸平滑筋細胞に IL-1 $\beta$  または TNF- $\alpha$  を処置すると iNOS 発現による NO 産生を誘導することを明らかにした (136)。本研究でも回腸平滑筋組織に IL-1 $\beta$  を処置した際の COX-2 および iNOS 免疫染色において、ED2 陽性の常在型マクロファージのみならず周囲の平滑筋細胞にも程度は低いものの、それらの発現が観察されたことから、消化管平滑筋細胞にも COX-2 および iNOS 発現能があると考えられる。しかし、おそらく平滑筋細胞が誘導する PGE<sub>2</sub> だけでは増殖を抑制するのに十分ではなく COX-2 および iNOS 発現レベルの高いマクロファージが産生してはじめて十分な産生量に達するのであろう。さらに前述のように iNOS が COX-2 に結合することで NO による COX-2 の s-nitrosylation を引き起こし、これが COX-2 の活性化につながる可能性もあることから、本研

究における IL-1 $\beta$ による増殖抑制作用は、PGE<sub>2</sub>または NO による個別の作用というよりも総合的な作用の結果であるのかもしれない。一方、消化管平滑筋細胞が eNOS を発現するという報告も存在するが、その発現量は極めて少なく機能的に意味を持つかは不明である (283)。また TNBS 誘発結腸炎において NOS 阻害剤である L-NAME を経口投与すると平滑筋細胞増殖を抑える効果があるとする報告 (81) があり本研究の結論と矛盾するが、前述のように iNOS は炎症の惹起そのものに関与しているため、おそらく L-NAME 投与により免疫反応自体が抑制された結果であると考えられる。*Trichinella spiralis* 感染性空腸炎モデルでは L-NAME 経口投与は平滑筋細胞増殖に影響を与えないとする報告 (80) もあり、炎症のメカニズムや消化管の部位の違いによるものかもしれない。

今回組織培養法を用いた平滑筋細胞の増殖誘導には 10% FBS を用いた。この FBS の成分の中で何が平滑筋細胞増殖に寄与しているかについては、その成分が公表されていないことから明らかではないが、消化管平滑筋細胞増殖因子として代表的な IGF や PDGF がそれに関与していることが想像できる (62, 137)。また CPI-17 発現量の低下の際には IL-1 $\beta$ が誘導する TNF- $\alpha$ が重要であることが明らかとなったが、TNF- $\alpha$ はマウス小腸平滑筋細胞の増殖を誘導しないとする報告と (83)、ヒト消化管平滑筋株化細胞の増殖を誘導するとする報告 (211) が存在し、現在のところその関与は明らかでない。

#### 4-3 腸炎時の消化管収縮力低下のメカニズム

**CPI-17 発現量低下が運動機能障害の原因となる：**本研究では腸炎時の運動機能障害の一因として、内因性セリン・スレオニンフォスファターゼ阻害因子である CPI-17 の関与を指摘した。CPI-17 の発現量は組織によって異なり、大動脈などの持続性収縮を起こす平滑筋では多く、輸精管などの一過性収縮を起こす平滑筋では少ないと言われており、これが PKC 活性化剤による収縮力増強の程度と良く相関することから、PKC 活性化による収縮には CPI-17 が重要であると考えられている (319)。消化管平滑筋は一過性収縮を起こすが CPI-17 発現レベ



ルは高いことが知られており (319)、今回 PKC 阻害剤により carbachol 収縮が約 80% 程度抑制されたことから CPI-17 は消化管収縮に強く関与していることが示唆された。また  $\beta$ -escin 脱膜化標本において抗リン酸化 CPI-17 抗体を処置することで CPI-17 を阻害すると、GTP 存在下における carbachol 刺激による  $\text{Ca}^{2+}$  感受性増加がほぼ完全に抑制されたことから、CPI-17 が消化管平滑筋収縮において重要な役割を果たすと考えられる。一方で  $\alpha$ -toxin 脱膜化標本を用いた検討では、PKC 活性化剤であるホルボールエステルによる  $\text{Ca}^{2+}$  感受性の増大は、IL-1 $\beta$  処置標本において減少傾向にはあったものの、対照と比較して有意な差はなかった。このことは CPI-17 発現量の低下が収縮力の抑制に関与するとの結論と矛盾するが、おそらくホルボールエステルによる MLCP 活性抑制作用は非常に強力であるために、残存している CPI-17 だけでも十分に活性を抑制することができたためと考えられる。本研究では *in vitro* での carbachol 収縮力の低下を示したが、Sarna らのグループはイヌの回腸炎モデルにおいて *in vivo* での muscarine 受容体刺激による消化管収縮能の低下を観察しており、このモデルにおいても収縮力の低下に PKC 経路の不全が関与することを明らかにしており (240)、CPI-17 発現量の低下が関与する可能性が示唆される。以上のことから腸炎時に観察される運動機能障害の一因として CPI-17 発現量低下が関与することが明らかとなった。

本研究で組織培養法によるサイトカイン処置モデルや腸炎モデル動物において、アゴニスト刺激による収縮力は脱分極刺激による収縮力よりも強く抑制されることを示した。この現象はこれまでも他の腸炎モデル動物を用いた検討で報告されてきている (313, 325)。一方、CPI-17 の関与は脱分極刺激よりもアゴニスト刺激による収縮において大きい。両成績から炎症時の消化管運動機能障害において CPI-17 発現量の低下が重要であると考えられた。しかしながらこれまで脱分極刺激による収縮には関与しないと考えられていた Rho/ROCKs の経路が、近年ある程度は脱分極刺激による収縮にも関与することが明らかとなってきた (236, 237)。本研究では、ラット腸炎モデル、マウス組織培養法において脱分極刺激による収縮力の低下が観察されなかった。このことは Rho/ROCKs

系の下流に存在する CPI-17 発現低下が収縮力抑制に関与するという結論と矛盾するが、Rho/ROCKs の経路が直接 MLC をリン酸化する経路が存在すること(7)、前述の報告がすべて血管平滑筋における現象であること、本研究でもラット組織培養法マウス腸炎モデルにおいてはある程度の収縮力抑制が観察されていることなどがその説明になるかもしれない。

**サイトカイン産生量の変化と CPI-17 発現量の変化の時間差：**組織培養法において IL-1 $\beta$ を処置することで引き起こされる CPI-17 発現量の低下および収縮力の低下は、処置後3日目に観察された。一方で、IL-1 $\beta$ による TNF- $\alpha$ の産生誘導は処置後1日目に観察され、3日目にはそのレベルはかなり減少している。また *in vivo* の腸炎モデルにおいても TNF- $\alpha$ の産生が2日目をピークとしているのに対して、CPI-17 発現量および収縮力の低下は3日目から5日目にかけて観察され、7日目には回復傾向にあった。このような時間差は組織が TNF- $\alpha$ に暴露されてから CPI-17 発現量の低下が顕在化するまでに一定の時間が必要であることを示唆する。本研究で炎症時の CPI-17 発現量低下は転写レベルではなく、転写後調節のレベルで制御されていることが示唆された。したがって、TNF- $\alpha$ は CPI-17 を分解する機構のアクセルを踏む役割を果たしていると考えられる。

**IL-1 $\beta$ と TNF- $\alpha$ の関係：**IL-1 $\beta$ は TNF- $\alpha$ を介して CPI-17 発現を抑制することが明らかとなったが、IL-1 $\beta$ による TNF- $\alpha$ の産生部位についての検討は行っていない。近年消化管平滑筋細胞自体に様々な炎症性・抗炎症性の因子を産生する能力があることが明らかとなってきた。ヒト結腸輪走筋単離平滑筋細胞に炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ を共処置すると、IL-1 $\beta$ 、IL-6 などの炎症性サイトカインや COX-2 の発現が上昇することから平滑筋細胞自体も IL-1 $\beta$ を産生する能力があると考えられる(238)。一方で消化管平滑筋細胞自身が TNF- $\alpha$ を産生するという報告は現在のところない。また Sarna らのグループは同じヒト結腸輪走筋単離平滑筋細胞に TNF- $\alpha$ を単独で処置することで IL-6、IL-8、IL-11、ICAM-1 などのサイトカイン産生を確認したが、IL-1 $\beta$ の発現は上昇しなかった(254)。以上のことからおそらく炎症時に常在型マクロファージや平滑筋細胞で産生された IL-1 $\beta$ は、常在型マクロファージの TNF- $\alpha$ 産生を誘導し、こ

の TNF- $\alpha$ は平滑筋細胞に作用して CPI-17 発現量を抑制するが、平滑筋細胞からの新たな IL-1 $\beta$ 産生は誘導しないと考えられる。今回の結果および過去の報告 (10, 92, 94, 158, 298) から、IL-1 $\beta$ は数時間といった短期的な処置で収縮力に影響を与えるが、この作用は一時的なものであると考えられる。Hurst らは TNF- $\alpha$ の消化管平滑筋に対する短期的な作用として norepinephrine 放出抑制作用を報告しているが、これは IL-1 依存的な現象であるとしている (93)。これらの結果は炎症の最初期における IL-1 $\beta$ 優位の関係が、時間が経つにつれて TNF- $\alpha$ 優位へと変化することを示しており、サイトカインの関係性が炎症のステージで劇的に変化していくことが考えられ非常に興味深い。また気管支の組織培養においては TNF- $\alpha$ を長期的に処置することによって 5-HT 収縮が増強することが知られており (1)、組織の違いが表現系の違いにつながることも興味深い。

腸炎時の消化管運動機能障害の一因としての L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel : CPI-17 同様、平滑筋細胞の収縮機構に関与する様々な因子が腸炎によって影響を受けることがこれまでに報告されている。緒言でも著したとおり、L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel の不全による  $\text{Ca}^{2+}$  current の低下が炎症時の運動機能障害の一因であると考えられている (122, 148, 250, 252)。L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel の  $\alpha 1c$  subunit には 2 つのサブライジングバリエーションが存在し (86, 130, 264, 278)、それぞれの別々のプロモーターによって発現が制御されるが (233)、消化管平滑筋細胞においてはこの 2 つのアイソフォーム両方を発現する (113)。Liu らはイヌの acetic acid 誘発結腸炎モデルを用いて、炎症 2 日目には  $\alpha 1c$  subunit の発現量が低下していた (148) とするのに対して、Kinoshita らのラット TNBS 誘発結腸炎モデル (122) および Kang らのマウス DSS 誘発結腸炎モデル (113) では発現量に変化はなく機能のみが抑制されていた。Kang らは 2 つのアイソフォームのどちらも発現量に変化がないことを確認している。この結果の違いには種差や腸炎の誘発方法の違いなどが一因として考えられるが、一方で発現量が低下するメカニズムとして Shi らは TNF- $\alpha$ をヒト結腸平滑筋細胞に処置すると NF- $\kappa$ B 活性化を引き起こし、これが  $\alpha 1c$  subunit のプロモーター領域に結合することでその発現を抑制している (250)。しかしながら彼らはこの中で TNF- $\alpha$ による  $\alpha 1c$  subunit タンパク

質発現量低下が処置後 6 時間から観察されることを報告しているが、少なくともマウスにおいては $\alpha 1c$  subunit の turnover は遅く、半減期は約 14 日であることが報告されている (309) ことから単純に mRNA 発現が抑えられるだけでこれだけ急速なタンパク質発現量の低下につながるとは考えにくく、タンパク質分解を促進する何らかの機構が存在するのであろう。最近 Wegener らは平滑筋細胞特異的な L-type  $Ca^{2+}$  channel KO マウスを用いた検討で、結腸では L-type  $Ca^{2+}$  channel を欠如すると carbachol 刺激による収縮力が約 50%程度抑制されるのに対して、空腸では正常に carbachol 収縮が起こることを報告した (309)。これは空腸では L-type  $Ca^{2+}$  channel が欠如した際には store-operated  $Ca^{2+}$  channel がその機能を代用する機構が存在するためだと考えられている。したがって、Kinoshita らの報告のような L-type  $Ca^{2+}$  channel の不全が炎症時の carbachol 収縮の減弱を引き起こすという機構は結腸特異的なもので、回腸や空腸などでは L-type  $Ca^{2+}$  channel が欠如しても平滑筋細胞自体の収縮には影響はなく、carbachol 収縮低下の直接的な原因にはならない可能性が高いと考えられる。このことは本研究において、 $\alpha$ -toxin 脱膜化標本において  $Ca^{2+}$  刺激による収縮力が IL-1 $\beta$  の長期処置および TNBS 誘発腸炎で抑制されていたこととも一致する。一方で Wegener らは先の報告で L-type  $Ca^{2+}$  channel の欠如は空腸でも自発性収縮の大きさの減少にはつながると報告しており、ICC の制御による消化管運動は機能障害の一因にはなならない。

腸炎時の消化管運動機能障害の一因としてのムスカリン受容体：炎症時の運動機能障害における輪走筋と縦走筋の感受性の違いに関して、ムスカリン受容体のサブタイプに対する依存度の違いが関与するとする可能性が考えられる。消化管平滑筋細胞は M1 から M5 までのムスカリン受容体を発現する (226, 304)。消化管の部位によって多少の差異が存在するが収縮に主に関与するのは M<sub>3</sub> であり、他の受容体では M<sub>2</sub> がわずかに関与するが M<sub>1</sub>、M<sub>4</sub>、M<sub>5</sub> は収縮には関与しないと考えられている (163, 244, 268, 269)。従来 M<sub>2</sub> は収縮に対しては間接的に機能し M<sub>3</sub> の補助的な役割を果たすのみであるとされてきたが、M<sub>2</sub> は c-src や PI3K、PKC を介して L-type  $Ca^{2+}$  channel や nonselective cation channel を活性化すること

から、最近ではより直接的な役割を果たしていると考えられている (97, 106, 305)。Shi らはイヌの Acetic acid 誘発回腸炎モデルを用いて、炎症時には輪走筋の acetylcholine 収縮が抑制されるのに対して縦走筋のそれは変化しないことを報告している (251)。また Martinolle らはモルモットの TNBS 誘発回腸炎モデルを用いて、輪走筋の carbachol 収縮、histamine 収縮などが炎症により抑制されるのに対して、縦走筋ではどちらのアゴニストによる収縮も増強すると報告している (161)。他グループからも同様の報告がなされているが (301)、Shi らは前述の報告でこの原因として輪走筋の muscarine 刺激による収縮が主に M<sub>3</sub> 受容体で制御されているのに対して、縦走筋では M<sub>2</sub> 受容体の関与がより大きくなっているためだとしている。Jadcherla の報告 (104) と合わせて考えると、炎症によって輪走筋では M<sub>3</sub> 受容体が主だった収縮制御機構が M<sub>2</sub> 受容体依存的な割合が増加するため muscarine 収縮が抑制されるのに対して、正常時から M<sub>2</sub> 受容体に対する依存度が高い縦走筋ではその影響が小さいため収縮力が抑制されない可能性が考えられる。Matsui らも M<sub>2</sub> KO、M<sub>3</sub> KO および M<sub>2</sub>/M<sub>3</sub> KO マウスを用いて回腸縦走筋では carbachol 収縮において M<sub>2</sub> が約 25%、M<sub>3</sub> が約 75% 関与すると報告した (163)。しかしながら Unno らは M<sub>2</sub> KO および M<sub>3</sub> KO マウスを用いた検討から、回腸縦走筋の carbachol 収縮において M<sub>2</sub> 受容体は低濃度の carbachol 刺激に対してのみ機能的に関与することを明らかとした (295)。また Takeuchi らも M<sub>2</sub> KO および M<sub>3</sub> KO マウスを用いて回腸縦走筋の収縮機構についての検討を行い、電氣的な刺激による神経伝達物質の放出が引き起こす一過性の収縮に M<sub>3</sub> が強く関与するが、M<sub>2</sub> は関与しないと報告した (275)。彼らはまた M<sub>2</sub> KO では持続的な収縮が増強することから、M<sub>2</sub> はむしろ持続的な収縮を抑制する方向に働いているとしている。本研究では PKC 阻害剤によって回腸縦走筋の carbachol 収縮が約 80% 抑制されることを確認したが、PKC の上流である diacylglycerol (DG) を産生するイノシトールリン酸加水分解系には主に M<sub>3</sub> が関与し、M<sub>2</sub> の関与は薄い (288)。以上のような事実から縦走筋と輪走筋の炎症に対する感受性の違いを、正常時の受容体に対する依存度の違いとして説明する説の正否については慎重に議論する必要があるだろう。本研究では TNBS 誘発

腸炎または TNF- $\alpha$ がムスカリン受容体の発現量を変化させるか否かについては直接的な検討は行っていないが、本研究で使用したモデルにおいて carbachol 収縮の濃度反応曲線は右方に変位しないことから、ムスカリン受容体の発現変化は起こっていないと考えられる。またこのことは、脱膜化標本を用いた検討において  $\text{Ca}^{2+}$ 刺激による収縮力が TNBS 誘発腸炎や組織培養における IL-1 $\beta$ 処置により抑制されたことから示唆される。

腸炎時の消化管運動機能障害の原因に関するその他の報告：消化管運動機能障害のその他の原因として、Akbarali らのグループは  $\text{K}_{\text{ATP}}$  channel の不全の関与を報告している (2, 105)。マウス DSS 誘発結腸炎モデルでは  $\text{K}_{\text{ATP}}$  channel のサブユニットである Kir 6.1 の発現量が上昇し、これによって平滑筋の活動電位が抑制されるため収縮力が低下する。これとは逆に、平滑筋細胞の静止膜電位の上昇の関与の可能性も示唆されている (31, 151)。ICC は平滑筋細胞の過分極に関与する (147, 248) と考えられており、腸炎時には ICC の数が減少することが報告されている (225, 227) ことから、ICC の機能障害が平滑筋細胞の静止膜電位の上昇に関わっている可能性がある。しかしながら、腸炎時に平滑筋細胞の脱分極が観察されないとする報告 (129) もあり、その運動機能障害への関与は明らかでない。

腸炎において NF- $\kappa$ B などの炎症に関連する転写因子の関与を示す報告は多い。IBD 患者でも NF- $\kappa$ B 発現および活性の上昇が報告されている (196)。平滑筋細胞収縮に関しても Shi らは過酸化水素や TNF- $\alpha$ による結腸平滑筋細胞の収縮力低下に NF- $\kappa$ B が関与していると報告した (249)。また Pazdrak らはヒト結腸輪走筋平滑筋細胞に TNF- $\alpha$ を処置すると Sp1 および NF- $\kappa$ B を介して ICAM-1 発現を誘導し、これが収縮力の抑制につながるとしている (221)。また acetic acid 誘発結腸炎 (249) や TNBS 誘発結腸炎 (122) において NF- $\kappa$ B 阻害剤を投与すると収縮力の低下を改善することができることが報告されているが、これらは炎症そのものが抑制されたことに起因すると考えられる。

アゴニストの違いによる腸炎時の収縮力変化の差異：腸炎による収縮力の変化は平滑筋組織をどのようなアゴニストによって刺激するかで異なった挙動を

示す。Wells らは TNBS 誘発結腸炎モデルにおいて TNBS 処置後 4 日目の組織から単離した細胞では acetylcholine 収縮、5-HT 収縮ともに抑制されるが、処置後 36 日目の細胞では acetylcholine 収縮が正常レベルまで回復しているのに対して、5-HT 収縮は依然強く抑制されていると報告した (312)。一方で Moreels らは TNBS 誘発回腸炎モデルにおいて 36 時間目には acetylcholine 収縮や substance P 収縮、5-HT 収縮、PGF<sub>2α</sub>収縮が抑制されているが、7 日目には substance P 収縮のみが抑制されていると報告している (177)。今回運動機能障害に関与する因子として明らかとなった CPI-17 は、ムスカリン刺激のみならず motilin (90)、endothelin-1 (125)、phenylephrine (125)、histamine (124)、thromboxane A2 (308) など様々なアゴニスト刺激によってリン酸化レベルが上昇することが知られている。ただし endothelin-1 は消化管平滑筋において、ETA 受容体を介して CPI-17 をリン酸化するが、同時に ETB 受容体を介して CPI-17 の脱リン酸化を促進する経路も活性化するため、見かけ上 CPI-17 リン酸化は起こらず、endothelin-1 による消化管収縮に CPI-17 は関与しないと考えられている (74)。これまでのところ 5-HT や substance P 刺激が CPI-17 のリン酸化を引き起こすか否かについて検討した報告はない。したがってアゴニストによる収縮力の変化の特異性に CPI-17 が関与するか否かは明らかではないが、5-HT や motilin に関しては炎症時に受容体の発現が低下することが報告されている (41, 312) ことから、収縮力変化のアゴニストによる差異は、おそらく受容体の発現量の変化に起因するものだと考えられる。

#### 4-4 収縮メカニズムの現在の理解

**MYPT1 の Thr853 リン酸化が果たす役割:** 近年 MYPT1 の Thr853 のリン酸化が MLCP 活性調節に果たす役割に注目が集まっている。これまで MYPT1 のリン酸化部位としては Thr696 が MLCP 活性調節機構に重要であると考えられてきた (56, 96)。しかしながら刺激時に MYPT1 の Thr696 リン酸化レベルの上昇が ROCKs 依存的に起こるといった報告がある一方 (56)、これが起こらないという報

告も存在する (125, 199, 290, 320)。また Lukas らは MYPT1 の Thr696 リン酸化の変化はゆっくりとしたものであるとし (152)、Ikebe らのグループは Thr696 のリン酸化はアゴニスト刺激が終了したあとも持続するのに対し MLC は速やかに脱リン酸化されることから、Thr696 のリン酸化は平滑筋の収縮には関与しないとしている (277)。本研究の結果から、回腸平滑筋組織においては Thr696 のリン酸化レベルは無刺激時から高く、さらに刺激時にもそのリン酸化量レベル増加はわずかであり非常にゆっくりとしたものであることから、少なくとも消化管収縮の初期の段階には関与しないと考えられる。おそらく Thr696 のリン酸化は MLC のリン酸化のような急速な反応ではなく、細胞遊走や遺伝子発現など、よりゆっくりとした現象に関与しているのではないだろうか。一方で Thr853 のリン酸化は刺激後速やかに ROCKs に強く依存して起こり、MLCP 活性を抑制することが明らかとなってきた (185, 199, 290, 320)。消化管平滑筋でも carbachol 刺激後速やかにリン酸化レベルが上昇することが本研究で確認された。しかしながら、この Thr853 のリン酸化も収縮との関与を否定する報告もあり (56)、MYPT1 による MLCP 活性調節機構は議論の只中である。本研究で  $\beta$ -escin 脱膜化標本を使用して抗 Thr696 リン酸化 MYPT1 抗体および抗 Thr853 リン酸化 MYPT1 抗体を同時に処置することで MYPT1 のリン酸化を阻害すると、GTP 存在下における carbachol 刺激による  $\text{Ca}^{2+}$  感受性増加がほぼ抑制されることが明らかとなった。このことは少なくともどちらか一方の MYPT1 リン酸化部位のリン酸化が消化管収縮に重要であることを示唆している。しかしながら今回 MYPT1 の Thr696 と Thr853 のリン酸化には PKC が関与しないことが明らかとなった一方で、前述のように消化管平滑筋の carbachol 収縮は PKC 阻害剤によって 80% 程度も抑制されることから、MYPT1 のリン酸化のみが収縮を制御するとは考えにくい。Eto らは、MYPT1 の結合した PP1c に対して CPI-17 が結合すると MLCP 活性は抑制されるのに対して、MYPT1 以外の因子が結合した PP1c に対して CPI-17 が結合した場合は、逆に CPI-17 の脱リン酸化が引き起こされ、MLCP 活性の抑制が起きないことを報告している (51)。このことは MYPT1 の Thr853 リン酸化が MYPT1 と PP1c の結合を制御することで、リン酸化された CPI-17 の脱



リン酸化を制御し、CPI-17によるMLCP活性阻害機構に関与することを想像させる。しかしながら現在のところこれらのメカニズムが細胞内で機能しているかどうかの明確な証拠は存在せず今後の展開が期待される。またMYPT1の他のリン酸化部位としてKaibuchiらのグループはROCKがMYPT1のSer854のリン酸化を制御することを細胞レベルで確認し(115)、さらに脳血管痙攣時にこのリン酸化レベルが上昇することを報告しているが(243)、MYPT1のSer854リン酸化についての報告は少なくその重要性についてはいまだ明らかとなっていない。

**CPI-17/MYPT1活性化機構:**本研究でCPI-17活性化には少なくともPKC、PKN、ROCKsが関与する可能性を示した。しかしながらCPI-17活性化経路についてはいまだ議論の分かれるところである。特にROCKsがCPI-17リン酸化に関与するか否かについては、これを肯定する報告(134, 199, 215)、否定する報告(290, 320, 327)が存在する。本研究から消化管平滑筋においてはCPI-17 Thr38リン酸化にROCKsが関与すると考えられる。また最近CPI-17の新たなリン酸化サイトとしてSer12、Ser128、Ser130が明らかとなった(47, 154)。*In vitro*でSer12はPKCによって、Ser130はCaMKIIによってリン酸化され、Ser128のリン酸化は*in vivo*の脳標本で確認されているが、関与するキナーゼ類は明らかになっていない(47)。これらの新たなリン酸化部位が収縮にいかに関与するかについては今後の展開が期待される。

CPI-17およびMYPT1のリン酸化を制御するキナーゼとしてROCKsやPKC以外にも様々な因子の関与が指摘されている。Zipper-interacting protein kinase (ZIPK)はMLCを直接リン酸化するとともに、MYPT1のリン酸化、CPI-17のリン酸化によるMLCP抑制作用を示す(154, 187, 198)。Integrin-linked kinase (ILK)も同様にMLCを直接リン酸化するとともに、CPI-17やMYPT1のリン酸化を介したMLCP活性抑制という間接的な経路を介して収縮を引き起こす可能性が示唆されている(39, 186)。PAK (p21-activated protein kinase)もCPI-17のThr38やMYPT1のThr696をリン酸化することが報告されている(276)。またPKAおよびPKGもCPI-17のThr38をリン酸化するという報告があるが(49)、

cGMP/PKGの経路がPKCによるCPI-17のThr38リン酸化を抑制するという報告もあり(23)、その詳細は明らかとなっていない。また本研究でも確認したように、protein kinase N (PKN)はRhoの下流に存在しCPI-17をリン酸化する(69)。しかしながらこれまでの報告や本研究の結果から考えて、ROCKsやPKCに比べてこれらのキナーゼの関与は決して大きくはないと考えられる。

平滑筋収縮に関与するシャペロン分子:近年消化管平滑筋収縮において、small heat shock proteinの一種であるHSP27の重要性が示唆されている。HSP27は通常oligomerを形成しているが様々な刺激によりリン酸化されるとoligomerが分解し、細胞膜へ移行することが知られている(67)。Bitarらのグループは一連の研究の中で、結腸平滑筋細胞をacetylcholine刺激することによるRhoA、ROCK II、PKC $\alpha$ の細胞膜への移行やRhoA-PKC $\alpha$ 、RhoA-ROCK IIの結合にHSP27が関与することを報告した(214, 219, 220)。またMYPT1もacetylcholine刺激によりリン酸化されると細胞膜分画でのHSP27およびphosphatidylserineなどのスフィンゴ脂質との結合量が増加する(100, 218)。さらにtropomyosinとactinの分離にもHSP27が関与することが示唆されている(265)。HSP27の発現量は加齢による消化管収縮力の低下と関連し(19)、また子宮平滑筋では妊娠後期にHSP27発現量が増加する(314)など、収縮力の変化との関連性を指摘する報告も存在する。最近Surksらのグループは酵母Two-hybrid法を用いてMYPT1と結合する因子としてM-RIP(p116Rip)を見出した(271)。M-RIPはMYPT-1との結合を介してMLCPをactin-myosin filamentへ導き、MLCのリン酸化制御に関与すると考えられている(184, 272)。また、RhoAとの結合も示唆されており、RhoAに対するGTPase活性をあげることでRhoA活性を抑制すると考えられている(131, 271)。M-RIPの平滑筋収縮における詳細な役割については明らかとなっていないが、HSP27やM-RIPなどのシグナル伝達をつなぐシャペロン分子の運動機能障害における役割は全く明らかとなっておらず今後の展開が期待される。

#### 4-5 MLCP 活性制御機構の不全による運動機能障害

近年様々な病態および生理現象において MLCP 活性調節を担う MYPT1 および CPI-17 の発現およびリン酸化レベルの変化が報告されている。本研究では IL-1 $\beta$  を長期間作用させることで MYPT1 のリン酸化レベルの低下と CPI-17 発現の低下による収縮力の低下が観察されたが、MYPT1 の病態との関連として Kandabashi らのグループは *in vivo* で冠動脈に IL-1 $\beta$  を長期作用させることで作成した冠動脈攣縮モデルの原因として MYPT1 リン酸化レベルの上昇を報告している (112)。また、くも膜下出血モデルにおいても MYPT1 リン酸化レベルの上昇が脳血管痙攣に関与する (243)。血管平滑筋では長期的に低酸素状態にさらされることで、アゴニスト刺激による MLC リン酸化レベルの低下が観察されるが、これには MYPT1 発現量の増加とそれともなう MLCP 活性の上昇が関与することが報告されている (284)。

さらに、新生児遷延性肺高血圧症モデルでは MLCP 活性の低下がみられるが、これには本来成長に伴って減少する CPI-17 発現の低下が起こらないことが関与している (37)。糖尿病モデル動物の動脈系では収縮力の増加が認められるが、これには PKC $\beta$ 2 と PKC $\epsilon$  の発現量増加とともに CPI-17 のリン酸化レベル増加の関与や (183)、RhoA の活性化、CPI-17 タンパク質量の増加の関与 (321) が報告されている。糖尿病モデルでは排尿筋においても運動機能障害が観察されるが、これには ROCK1 と CPI-17 の発現上昇が関与することが示唆されている (30)。また喘息モデルの気管支平滑筋では、CPI-17 発現量およびリン酸化 CPI-17 の量が増加しており、acetylcholine 収縮の増加が認められる (235)。

以上のように2000年以降、病態における MYPT1 や CPI-17 の不全の関与が次々と報告されているが、本研究は消化管において初めてこれら分子の不全を報告した。特に CPI-17 発現量が低下することが収縮力を抑制するという報告 (206) はすべての平滑筋組織を通して初めてであり、非常に重要な知見であると考えられる。

## 4-6 腸炎治療の現状と問題点

慢性の腸炎、特にクローン病や潰瘍性大腸炎といった炎症性腸疾患にはこれまでのところ根本的な治療法が存在しない。治療の基本となるのは炎症および免疫反応の抑制によって速やかに緩解期に導くこと、そして再燃を防止することである。内科的な治療が困難な場合しばしば外科的治療、すなわち腸管切除などの手術が行われるが、これは最終手段としての位置づけになる。腸管切除後には吻合術が施されるが、腸管吻合による炎症は運動機能障害をもたらす(285)。ところで緒言でも述べたとおり、開腹および操作 (manipulation) のみによっても消化管、特に平滑筋層において炎症が引き起こされ(108, 109)、これが運動機能障害、すなわち術後イレウスにつながるため臨床的に大きな問題となっている。Manipulation による筋層部の炎症、平滑筋の収縮力減弱には COX-2 や iNOS の発現が関与する(246, 292, 293)。また筋層間常在型マクロファージを欠損した op/op マウスを用いた検討から、常在型マクロファージが重要な役割を果たすことを報告している(310)。術後イレウスを予防するために様々な方法が検討されているが、特に一酸化炭素 (CO) を術前あるいは術後に吸引させることで一定の治療効果が得られることが明らかとなっている(174, 175, 192)。CO は平滑筋細胞に作用して L-type  $Ca^{2+}$  channel 活性化を NO 依存的に起こすことが報告されており(145)、平滑筋直接的な効果も存在するのかもしれない。また CO と同様に Hemeoxygenase-1 (HO-1) によって産生される biliverdin にも炎症抑制効果があることが腹膜炎モデル(210) および小腸移植による炎症モデル(193) で報告されていることから、術後イレウスの予防にも効果がある可能性が考えられる。さらにチロシンキナーゼ阻害剤である Tryphostin AG12 にも予防効果が報告されている(176)。

**TNF- $\alpha$**  : 現在のところ炎症性腸疾患の内科的治療の中心は 5-ASA 製剤と副腎皮質ステロイド剤である。ステロイド依存例や抵抗例ではサイクロスポリン・アザチオプリンなどの免疫抑制剤や白血球除去療法など免疫異常を標的とした治療が行われる。様々なサイトカインを標的とした治療方法の開発も盛んに試

みられている。その中でもっとも成功を収めていると言えるものにレミケード (infliximab) があげられるだろう (48, 281, 300)。これはキメラ型抗 TNF- $\alpha$ モノクローナル抗体であり、米国では 1998 年に、日本では 2002 年にクローン病の治療薬として認可された。現在米国では潰瘍性大腸炎の治療薬としても認可されている。Corazza らは分泌型の TNF- $\alpha$ を欠損したマウスでも腸炎が起きることから、膜結合型の TNF- $\alpha$ だけでも腸炎を引き起こすことができると報告している (36)。本研究から粘膜層の炎症のみならず平滑筋層の運動という面からも、TNF- $\alpha$ の働きを阻害することが炎症性腸疾患の治療に効果があると考えられる。

**IL-1** : IL-1 $\alpha/\beta$  KO マウスに TNBS 誘発回腸炎を引き起こすと、野生型の C57BL/6J よりも顕著な CPI-17 発現量の低下が認められた。また DSS 誘発結腸炎モデルの生存率が IL-1 $\alpha/\beta$  KO マウスにおいて顕著に低下していたことから、IL-1 $\alpha/\beta$  KO マウスでは炎症が野生型よりも増悪し、CPI-17 発現量の更なる減少につながったと考えられる。IL-1 は代表的な炎症性サイトカインであり、リウマチ性関節炎など様々な炎症性疾患の治療において標的となっている (46)。消化管炎症においては、はじめ Cominelli らのグループがウサギの formalin-immune complex 誘発結腸炎モデルを用いて、IL-1 の内因性アンタゴニストである IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) の作用を抗 IL-1Ra 抗体で抑制すると炎症が増悪し、リコンビナント IL-1Ra を投与すると炎症が抑制されることから報告した (32, 33, 57) ことから IL-1 を抑制することは腸炎治療において有効であると考えられた。しかしながら腸炎に対しては IL-1 の作用を抑制することは必ずしも良い効果をもたらすとは限らないようだ。Cominelli らのグループも前述の報告の一方で、低濃度の IL-1 $\beta$ は腸炎を抑制する効果があることも報告している (34)。その後 Kojouharoff らは DSS 誘発結腸炎モデルマウスを用いた検討で、抗 IL-1 $\beta$ 抗体は炎症の急性期には症状を悪化させ、慢性期には全く効果を示さないことを報告した (132)。また Hogacoam らはマウス消化管単離平滑筋細胞を用いた検討で、IFN- $\gamma$ を平滑筋細胞に処置すると MHC class II、CD86、ICAM1 などの発現上昇を誘導し T 細胞活性化を引き起こすが、IL-1 $\beta$ はこの作用

を抑制することを報告している (82, 83)。また IL-1 $\beta$ は平滑筋層においても恒常的に発現が確認される (116) ことから、平滑筋組織の正常性を保つ上で何らかの作用を持つことが示唆される。本研究において明らかとなった IL-1 $\beta$ の平滑筋細胞増殖抑制効果も IL-1 $\beta$ の抗炎症作用の一端を担っていると考えられる。以上のことから、消化管の炎症においてはある程度の IL-1 $\beta$ 産生が必要であり、抗体療法などで劇的に産生を抑制することは必ずしも有益な結果には結びつかないものと考えられる。

**IL-6:** IL-6 は多機能性サイトカインとして免疫系細胞のみならず線維芽細胞や内皮細胞など多様な細胞種から産生されることが知られている (123)。消化管平滑筋細胞も様々な炎症性サイトカイン刺激によって IL-6 を産生する (117, 197, 254, 297)。ヒト化抗 IL-6 受容体抗体は様々な腸炎モデルで炎症を抑制する効果が証明され (9, 324)、MRA (atlizumab) は炎症性腸疾患の治療薬として期待されている。本研究で IL-6 を消化管平滑筋組織に処置しても収縮力の低下や CPI-17 発現量の低下が起こらないことが明らかとなった。さらに IL-1 $\beta$ 処置による収縮抑制が抗 IL-6 抗体による IL-6 の中和に影響を受けなかったことから、収縮力の抑制に関して IL-6 の関与はないと考えられる。

**IL-11:** 本研究で取り上げなかったサイトカインの中にも治療の標的として期待されているものが多数存在する。IL-11 は多機能性抗炎症性サイトカインであり、急性および慢性の炎症において粘膜保護作用を示すことが知られており (289)、慢性腸炎モデルである HLA-B27 transgenic ラットでは IL-11 を投与することで収縮力の減弱が改善する (64)。また TNF- $\alpha$ を結腸平滑筋細胞に処置すると IL-11 が誘導されることや (254)、IL-11 を皮下注射すると十二指腸での motilin 産生や、十二指腸および結腸平滑筋層における substance P の上昇が確認される (40) ことから、IL-11 は抗炎症作用だけでなく平滑筋収縮に対して直接的に収縮を改善する効果があるかもしれない。

**IL-17:** IL-17 は活性化 T 細胞から産生される炎症性サイトカインであり喘息や関節炎など様々な炎症性疾患で発現の上昇が確認されている (182)。消化管においても腸炎モデル動物 (205) や IBD 患者 (59)、ピロリ菌感染性の胃炎患

者 (153) で発現の上昇が知られている。IL-17 は炎症性サイトカインとして一般的に炎症を増悪する因子として考えられ、実際 IL-17 KO マウスがコラーゲン誘発性の関節炎に抵抗性であることが報告されている (189)。しかしながら腸炎モデルに対して中和抗体を処置すると逆に腸炎が悪化することが報告された (205)、消化管炎症においては IL-17 抗体療法が効果的でないことが示唆された。今後は IL-17 が腸炎を増悪させる機構の解明と、IL-17 自体を投与することが治療方法として有効であるかを検討することに注目が集まるだろう。

**TGF- $\beta$**  : TGF- $\beta$  は強力な抗炎症性サイトカインであり TNF- $\alpha$  による NF- $\kappa$ B 活性化を阻害するなどの作用があるが、CD や UC の患者では TGF- $\beta$  のシグナルを阻害する内因性の因子である smad7 が、p300 によってアセチル化されることで安定化し発現量が増加しているために TGF- $\beta$  シグナルが阻害されることで炎症が増悪すると考えられている (172, 173)。

**その他** : またこれらの他にも腸炎モデルに bFGF 投与を行うと腸炎が抑制されること (165)、TNBS 誘発結腸炎モデルに IL-4 を組み込んだアデノウィルスを腹腔内投与することで炎症の改善が認められる (84) などが報告されている。さらに KO マウスを用いた検討では、MMP-9 (Matrix Metalloproteinase 9) KO マウス (28)、TLR9 KO マウス (204) で腸炎が軽減することが報告されている。TLR9 は細菌 DNA の非メチル化 CpG モチーフを認識するが、結腸炎を誘発する以前に CpG-ODN を投与すると炎症を減弱させ、結腸炎が成立したのちに投与すると逆に炎症が増悪することが報告されており (202, 203)、TLR9 の存在が必ず腸炎の悪化につながるわけではないようだ。

**IBS 発症の一因としての炎症** : 近年患者数の急増が問題となっている疾患として過敏性腸症候群 (IBS: Irritable Bowel Syndrome) がある。ストレスによる消化管運動機能障害が一因と考えられる本疾患は、患者の QOL を著しく下げる。これまで IBS では潰瘍などの炎症像が認められないため、炎症とは無関係の疾患であると考えられてきた。しかしながら、最近感染性腸炎などに罹患した経験のあるヒトが IBS (post-infectious IBS) に罹りやすいなどの関係が明らかとなってきた (267)。さらにマスト細胞などの免疫系細胞の増加や (12, 29, 287)、IBS

患者の組織における炎症性サイトカイン産生の増加や抗炎症性サイトカイン産生の低下などが確認され (68, 201)、また SNP 解析により TNF- $\alpha$ 産生を増加させる SNP(-308(G $\rightarrow$ A)) (25, 316)や IL-10 産生を減少させる SNP(-1082(G $\rightarrow$ A)、-819 (C $\rightarrow$ T)) (294) を持つ割合が IBS 患者で高いことが観察される (61, 299) ことから、免疫系の不全が IBS の病態に関与することが指摘されている。一方で IBD と IBS の違いも報告されている。末梢や中枢の神経系に対して保護作用を持つ NGF は肥満細胞の増加を引き起こし、母子離反による幼児期ストレスに起因する消化管痛覚過敏に関与することから (14, 15)、IBS などストレスに起因する消化管痛覚過敏の一因である可能性が考えられており、NGF を抑制することは治療の標的となる可能性がある。それに対して、NGF は IBD の患者でも発現が上昇しているが (43)、腸炎モデル動物を用いた検討で抗 NGF 抗体は腸炎を悪化させる (228) ことから、IBS とは異なり NGF を抑制することは IBD の治療に有効ではないようだ。本研究で明らかとなった腸炎時の CPI-17 発現量低下が post-infectious IBS に関与するか否かは現在のところ全く明らかではない。急性炎症モデルでは7日目には CPI-17 発現量の差が有意ではなくなったことはこれを否定する材料になると考えられる。しかしその時点で完全に回復したとは言えず、また慢性炎症モデルでも CPI-17 発現量が低下していることから、比較的弱い炎症でも CPI-17 発現に影響を与えることが考えられる。したがって、現時点では CPI-17 発現調節機構の不全が post-infectious IBS の一因となる可能性は十分にあり、今後の検討課題となり得ると考えられる。

サイトカインを標的とした腸炎治療の難しさ：前述のように本研究で明らかとなった消化管における IL-1 の抗炎症作用と同様、炎症性サイトカインとして炎症を増悪させると考えられていた因子 (IL-1 や IL-17) が消化管では必ずしもそのような作用を示さず、逆に炎症を抑制することがある。一方で TNF- $\alpha$ や IL-6 は消化管でも他の臓器同様炎症を促進する。このような他臓器との差異が消化管免疫研究を複雑化し、腸炎に対する抜本的な治療法の開発を遅れさせる原因となっていると考えられる。消化管免疫においては従来の常識にとらわれずに研究にあたる必要があるだろう。また現段階では免疫抑制剤や抗体などサイト



カインの発現を制御する治療法のみが用いられているが、サイトカインは様々な細胞、様々な組織で産生されるためターゲットとなる臓器を絞り込む（例えば消化管の炎症のみを治療する）ことが非常に難しく、また前述のように臓器によって機能が異なるため、特に長期的に使用すると副作用の発現が懸念させる。本研究で腸炎時の運動機能障害の一因と考えられた CPI-17 は比較的平滑筋細胞に特異的に発現し平滑筋収縮を制御する細胞内シグナル伝達因子であるため、腸炎時の消化管運動機能障害という病態により特異的な治療法の標的となりうると考えられる。今後は CPI-17 発現の制御機構を解明することが重要となる。

### 4-7 組織培養法の有用性

生体（個体）における反応を検討することに重点を置くか、それともより条件を単純にして各因子の効果・影響を明確にすることに重点を置くか、は生物学の研究における大いなる問題である。この問題は二者択一的であり、実験方法を選択する上で常に付きまとう。条件を単純化できる実験系としては、単離した均質な細胞集団の培養系や cell free の系がある。しかしながら細胞培養系では、細胞が株化細胞であるか初代培養細胞であるか、また細胞間基質の使用の有無、培養液の種類、あるいは共培養などの方法を採用するかどうかなどにより関係する因子・要因は激しく増減する。平滑筋細胞は細胞培養系に移行させると、おそらく細胞外マトリックスの欠如を一因として内在性のタンパク質発現が大きく変化するなど収縮能を保ちにくい性質がある (26, 142, 150)。消化管平滑筋細胞では単離培養系では初代培養では  $M_3$  受容体の発現が確認できるが、1 代継代しただけでその発現が認められなくなる (257) ことから、細胞培養系が収縮研究に不向きであることは明らかである。コラーゲンゲルファイバーなどでこの短所を補おうとする試みが行われているが、収縮関連のタンパク質発現などを完全に維持するまでには至っていない (207, 320)。

本研究で私が利用した組織培養法は、組織形態を維持した生体内に近い状態

で人工的な操作を行うことが可能である。また検討しようとする因子以外の培養条件を均質にすることや同一個体の器官から複数の組織片を作製して使用することにより、動物個体を用いた実験よりも再現性の高い結果が得られる有用な実験法であると考えられる。さらにその特徴として、組織の血流が遮断されることによって、好中球や B 細胞、T 細胞などの遊走性の血球細胞の関与を除外することができる。このことは特に本研究のような炎症時の組織病態を研究する上ですぐれた実験系であると考えられた。特に今回 IL-1 $\beta$ の平滑筋細胞増殖に対する作用の検討において、培養細胞系や *in vivo* の動物モデルでの実験系では明らかにすることのできなかつた現象を証明したという点からも、組織培養法の可能性を広げる研究となったと考える。

#### 4-8 腸炎における種差、部位差

**種差・系統差の問題：**我々が病態研究を行っていく上では、個体差とともに種差や系統差を十分に考慮する必要があるだろう。実際様々な腸炎モデルにおいて系統の違いによる炎症反応の差異が報告されている。Melgar らは DSS 誘発結腸炎モデルを用いて Balb/c と C57BL/6 マウスの腸炎病態の比較を行い、Balb/c マウスでは DSS 投与による急性腸炎ののち、投与を終了すると速やかに炎症が治まるのに対し、C57BL/6 マウスでは炎症性サイトカインの持続的な発現上昇など程度のより重い慢性腸炎が引き起こされることを報告している (166)。この検討で用いられた DSS の濃度が、Balb/c で 5%であるのに対して C57BL/6 では 3%であることから、C57BL/6 系統のマウスは DSS 誘発腸炎に対する感受性が高いと考えられる。本研究では TNF- $\alpha$  KO および IL-1 $\alpha/\beta$  KO マウスは C57BL/6 をバックグラウンドとする系統を、IL-10 KO マウスは Balb/c をバックグラウンドとする系統を用いた。IL-10 KO マウスでは一般には C57BL/6 をバックグラウンドとした系統がより頻繁に使用されているが、Berg らは様々なバックグラウンドの IL-10 KO マウスの病態を比較し、Balb/c や 129 SvEv マウスをバックグラウンドとした系統では C57BL/6 をバックグラウンドとした系統よりも病態の発症率が

高く、炎症の程度もより重いことを報告している (114)。さらに Beckwith らは炎症の重篤な C3H/HeJBir と炎症の軽度な C57BL/6 をバックグラウンドとする IL-10 KO マウスを比較して、この炎症の程度の差が *cdcs-1* (cytokine deficiency-induced colitis susceptibility 1) allele の特に *nfb1* を含む領域の差異が関与することを明らかとした (16)。以上のことから、マウスの系統および炎症を誘起する方法の組み合わせは腸炎研究において非常に重要であると考えます。私は予備的実験として、様々な慢性腸炎モデルにおける CPI-17 発現量の変化を検討した。その中で CD4<sup>+</sup>/CD45RB<sup>high</sup> T 細胞移植による慢性結腸炎モデルマウス、SAMP1/Yit 自然発症慢性回腸炎モデルマウスおよび C57BL/6 をバックグラウンドとした IL-10 KO 慢性結腸炎自然発症モデルマウスでは CPI-17 発現量の低下が認められなかった。これらのマウスと CPI-17 発現量の低下が観察された Balb/c をバックグラウンドとした IL-10 KO マウスでは明らかな腸炎の重症度の差が見られた。TNBS 誘発回腸炎モデルにおいて、炎症反応の減弱する 7 日目以降は CPI-17 発現量が回復することからも、CPI-17 発現量の低下はある程度炎症反応の強い部位および時期にのみみられる現象なのかもしれない。

**部位差の問題：**これまで考察してきたとおり、消化管の炎症および運動機能障害における反応性には部位による差が存在する。今回 IL-1 $\beta$  の消化管収縮に対する短期的な作用として結腸における carbachol 収縮の増加が観察された。一方で回腸では収縮力の変化は観察されなかった。興味深いことに、ラット消化管の LPS による運動機能障害の反応性については回腸が最も高いようだ (311)。また腸管吻合術の際には炎症による運動機能障害が観察されるが、小腸と大腸とではその症状がかなり異なることが知られている (285)。腸炎疾患では炎症部のみならずその周辺の非炎症部においてもしばしば運動機能障害が認められる。術後イレウスは manipulation を行った部位のみに起こるわけではなく、他の消化管組織にも影響を与える。例えば空腸にのみ manipulation を施しても、胃や結腸にも炎症像や運動機能障害が認められる (247)。TNBS 誘発結腸炎および *Trichinella spiralis* 感染性結腸炎モデルでは炎症部の遠位結腸のみならず、非炎症部の回腸などでも norepinephrine 放出の不全が観察される (103)。消化管におけ

る非炎症部への運動機能障害の波及という現象は腸炎において共通の現象なのかもしれない。なぜ非炎症部に飛び火するかについては明らかとなっていないが、腸内フローラの乱れなどが関与する可能性が考えられる。さらに manipulation によるラット結腸炎モデルでは炎症部である結腸の自発性収縮の低下には iNOS が関与し、非炎症部の回腸のそれには iNOS と COX-2 が関与する (293) ことが報告されており、炎症部と非炎症部ではそのメカニズムは異なるのかもしれない。最近消化管収縮のメカニズム自体が消化管の部位によって異なることが明らかとなってきた。前述のように結腸と回腸では L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel の収縮に対する収縮の重要性が異なる (309)。また Takeuchi らのグループは近位結腸と遠位結腸を比較し、近位結腸においては carbachol 刺激による  $\text{Ca}^{2+}$  感受性増加に主に Rho/ROCKs 系が関与するのに対して、遠位結腸では PKC と Rho が同等に関与することを報告している (274)。消化管の運動機能障害を考える際には、このような腸管部位による収縮メカニズムの違いも考慮する必要があるだろう。

#### 4-9 腸炎時の消化管運動機能障害における IL-1 $\beta$ の役割

前述のように本研究により腸炎時の消化管運動機能障害において IL-1 $\beta$ は、① TNF- $\alpha$ を介して CPI-17 発現量を抑制することで平滑筋細胞の収縮機能を低下させる、② 平滑筋細胞に直接的な作用としてその増殖を促進するが、組織レベルでは総体的には常在型マクロファージからの PGE<sub>2</sub> および NO 産生を誘導することで平滑筋細胞の増殖を抑制する、という複雑な作用メカニズムを持つことが明らかとなった (図 46)。IL-1 $\alpha/\beta$  KO マウスでは腸炎による死亡率が低下することから考えても、IL-1 $\beta$ が腸炎疾患において生体にとって保護的に働いていることは確かであろう。しかし *in vivo* の結果は粘膜層も含めた腸管全体の炎症の結果であり、平滑筋層という限られた部位の現象をそのまま反映しているとはいえないかもしれない。平滑筋組織培養法の結果は IL-1 $\beta$ も、TNF- $\alpha$ を介してではあるが、消化管収縮を抑制することを明らかとした。このことは運動機能障害が病態を悪化させる原因であり、IL-1 $\beta$ は腸炎疾患において保護的な作用を示す

とする仮説と矛盾する。組織培養法においては浸潤してくる免疫系の細胞が存在せず、また IL-1 $\beta$ は直接的に収縮力の低下を引き起こすことはできないことから、常在型マクロファージで PGE<sub>2</sub> や NO を誘導したように、IL-1 $\beta$ が浸潤細胞に作用してなんらかの因子を誘導することで、間接的に収縮力の低下を抑える機構が存在するのかもしれないが、現時点でこれに対する明確な答えを示すことは難しい。

また腸炎時に消化管運動機能の不全が起きること自体が、生体にとって必ず負の効果をもたらすとは考えにくい。一時的な消化管運動機能低下や亢進は、腸内容が他所に拡散することを防ぐことや、逆に速やかな排泄を推し進めることで、生体にとって有益な効果をもたらすと考えられる。このような観点から IL-1 $\beta$ が短期的には結腸の収縮を増強したことは、生体保護的な作用であると言えるだろう。一方で持続的な運動機能障害が生体に悪影響を及ぼすことは間違いない。IL-1 $\beta$ による消化管平滑筋細胞増殖抑制作用は、この持続的な機能障害を防ぐ効果があると考えられ、腸炎時の IL-1 $\beta$ の保護的な作用の一端を担っていると考える。

生物現象は複雑である。特に疾患においてはそのステージにより個々の因子の役割も大きく変化していく。本研究が消化管運動機能障害のメカニズム解明の一助となることを期待する。

第5章 引用文献

- a. Gershon MD: *The Second Brain: A Groundbreaking New Understanding of Nervous Disorders of the Stomach and Intestine*: Harper Collins Publishers: 1998
  - b. 難病情報センターHP: <http://www.nanbyou.or.jp/>
  - c. 日本移植学会 HP: <http://www.asas.or.jp/jst/>
  - d. 動物衛生研究所 HP: <http://ss.niah.affrc.go.jp/index-j.html>
- 
1. **Adner M, Rose AC, Zhang Y, Sward K, Benson M, Uddman R, Shankley NP, and Cardell LO.** An assay to evaluate the long-term effects of inflammatory mediators on murine airway smooth muscle: evidence that TNF- $\alpha$  up-regulates 5-HT<sub>2A</sub>-mediated contraction. *Br J Pharmacol* 137: 971-982, 2002.
  2. **Akbarali HI, Pothoulakis C, and Castagliuolo I.** Altered ion channel activity in murine colonic smooth muscle myocytes in an experimental colitis model. *Biochem Biophys Res Commun* 275: 637-642, 2000.
  3. **Akiho H, Blennerhassett P, Deng Y, and Collins SM.** Role of IL-4, IL-13, and STAT6 in inflammation-induced hypercontractility of murine smooth muscle cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 282: G226-232, 2002.
  4. **Akiho H, Lovato P, Deng Y, Ceponis PJ, Blennerhassett P, and Collins SM.** Interleukin-4- and -13-induced hypercontractility of human intestinal muscle cells-implication for motility changes in Crohn's disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G609-615, 2005.
  5. **Alessi D, MacDougall LK, Sola MM, Ikebe M, and Cohen P.** The control of protein phosphatase-1 by targeting subunits. The major myosin phosphatase in avian smooth muscle is a novel form of protein phosphatase-1. *Eur J Biochem* 210: 1023-1035, 1992.
  6. **Amano M, Chihara K, Nakamura N, Kaneko T, Matsuura Y, and Kaibuchi K.** The COOH terminus of Rho-kinase negatively regulates rho-kinase activity. *J Biol Chem* 274: 32418-32424, 1999.
  7. **Amano M, Ito M, Kimura K, Fukata Y, Chihara K, Nakano T, Matsuura Y, and Kaibuchi K.** Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase

- (Rho-kinase) . *J Biol Chem* 271: 20246-20249, 1996.
8. **Andus T, Daig R, Vogl D, Aschenbrenner E, Lock G, Hollerbach S, Kollinger M, Scholmerich J, and Gross V.** Imbalance of the interleukin 1 system in colonic mucosa--association with intestinal inflammation and interleukin 1 receptor antagonist genotype 2. *Gut* 41: 651-657, 1997.
  9. **Atreya R, Mudter J, Finotto S, Mullberg J, Jostock T, Wirtz S, Schutz M, Bartsch B, Holtmann M, Becker C, Strand D, Czaja J, Schlaak JF, Lehr HA, Autschbach F, Schurmann G, Nishimoto N, Yoshizaki K, Ito H, Kishimoto T, Galle PR, Rose-John S, and Neurath MF.** Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cell resistance against apoptosis in chronic intestinal inflammation: evidence in crohn disease and experimental colitis *in vivo*. *Nat Med* 6: 583-588, 2000.
  10. **Aube AC, Blottiere HM, Scarpignato C, Cherbut C, Roze C, and Galmiche JP.** Inhibition of acetylcholine induced intestinal motility by interleukin 1 $\beta$  in the rat. *Gut* 39: 470-474., 1996.
  11. **Auli M and Fernandez E.** Characterization of functional and morphological changes in a rat model of colitis induced by *Trichinella spiralis*. *Dig Dis Sci* 50: 1432-1443, 2005.
  12. **Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Cremon C, Cottrell GS, Santini D, Pasquinelli G, Morselli-Labate AM, Grady EF, Bunnett NW, Collins SM, and Corinaldesi R.** Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 126: 693-702, 2004.
  13. **Baribault H, Penner J, Iozzo RV, and Wilson-Heiner M.** Colorectal hyperplasia and inflammation in keratin 8-deficient FVB/N mice. *Genes Dev* 8: 2964-2973, 1994.
  14. **Barreau F, Cartier C, Ferrier L, Fioramonti J, and Bueno L.** Nerve growth factor mediates alterations of colonic sensitivity and mucosal barrier induced by neonatal stress in rats. *Gastroenterology* 127: 524-534, 2004.
  15. **Barreau F, Ferrier L, Fioramonti J, and Bueno L.** Neonatal maternal deprivation triggers long term alterations in colonic epithelial barrier and mucosal immunity in rats. *Gut* 53: 501-506, 2004.
  16. **Beckwith J, Cong Y, Sundberg JP, Elson CO, and Leiter EH.** *Cdcs1*, a

major colitogenic locus in mice, regulates innate and adaptive immune response to enteric bacterial antigens. *Gastroenterology* 129: 1473-1484, 2005.

17. **Berg DJ, Davidson N, Kuhn R, Muller W, Menon S, Holland G, Thompson-Snipes L, Leach MW, and Rennick D.** Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4<sup>+</sup> TH1-like responses. *J Clin Invest* 98: 1010-1020, 1996.
18. **Berridge MJ and Irvine RF.** Inositol phosphates and cell signalling. *Nature* 341: 197-205, 1989.
19. **Bitar KN.** Aging and neural control of the GI tract: V. Aging and gastrointestinal smooth muscle: from signal transduction to contractile proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284: G1-7, 2003.
20. **Blennerhassett MG, Vignjevic P, Vermillion DL, and Collins SM.** Inflammation causes hyperplasia and hypertrophy in smooth muscle of rat small intestine. *Am J Physiol* 262: G1041-1046, 1992.
21. **Bogers J, Moreels T, De Man J, Vrolix G, Jacobs W, Pelckmans P, and van Marck E.** Schistosoma mansoni infection causing diffuse enteric inflammation and damage of the enteric nervous system in the mouse small intestine. *Neurogastroenterol Motil* 12: 431-440, 2000.
22. **Boirivant M, Fuss IJ, Chu A, and Strober W.** Oxazolone colitis: A murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4. *J Exp Med* 188: 1929-1939, 1998.
23. **Bonnevier J and Arner A.** Actions downstream of cyclic GMP/protein kinase G can reverse protein kinase C-mediated phosphorylation of CPI-17 and Ca<sup>2+</sup> sensitization in smooth muscle. *J Biol Chem* 279: 28998-29003, 2004.
24. **Bossone C, Hosseini JM, Pineiro-Carrero V, and Shea-Donohue T.** Alterations in spontaneous contractions *in vitro* after repeated inflammation of rat distal colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280: G949-957, 2001.
25. **Bouma G, Crusius JB, Oudkerk Pool M, Kolkman JJ, von Blomberg BM, Kostense PJ, Giphart MJ, Schreuder GM, Meuwissen SG, and Pena AS.** Secretion of tumour necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 43: 456-463, 1996.



26. **Brittingham J, Phiel C, Trzyzna WC, Gabbeta V, and McHugh KM.** Identification of distinct molecular phenotypes in cultured gastrointestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology* 115: 605-617, 1998.
27. **Casini-Raggi V, Kam L, Chong YJ, Fiocchi C, Pizarro TT, and Cominelli F.** Mucosal imbalance of IL-1 and IL-1 receptor antagonist in inflammatory bowel disease. A novel mechanism of chronic intestinal inflammation. *J Immunol* 154: 2434-2440, 1995.
28. **Castaneda FE, Walia B, Vijay-Kumar M, Patel NR, Roser S, Kolachala VL, Rojas M, Wang L, Oprea G, Garg P, Gewirtz AT, Roman J, Merlin D, and Sitaraman SV.** Targeted deletion of metalloproteinase 9 attenuates experimental colitis in mice: central role of epithelial-derived MMP. *Gastroenterology* 129: 1991-2008, 2005.
29. **Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, and Wilson I.** Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 122: 1778-1783, 2002.
30. **Chang S, Hypolite JA, Disanto ME, Changolkar A, Wein AJ, and Chacko S.** Increased basal phosphorylation of detrusor smooth muscle myosin in Alloxan-induced diabetic rabbit is mediated by up-regulation of Rho-kinase  $\beta$  and CPI-17. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005.
31. **Cohen JD, Kao HW, Tan ST, Lechago J, and Snape WJ, Jr.** Effect of acute experimental colitis on rabbit colonic smooth muscle. *Am J Physiol* 251: G538-545, 1986.
32. **Cominelli F, Nast CC, Clark BD, Schindler R, Lierena R, Eysselein VE, Thompson RC, and Dinarello CA.** Interleukin 1 (IL-1) gene expression, synthesis, and effect of specific IL-1 receptor blockade in rabbit immune complex colitis. *J Clin Invest* 86: 972-980, 1990.
33. **Cominelli F, Nast CC, Duchini A, and Lee M.** Recombinant interleukin-1 receptor antagonist blocks the proinflammatory activity of endogenous interleukin-1 in rabbit immune colitis. *Gastroenterology* 103: 65-71, 1992.
34. **Cominelli F, Nast CC, Llerena R, Dinarello CA, and Zipser RD.** Interleukin 1 suppresses inflammation in rabbit colitis. Mediation by endogenous prostaglandins. *J*

*Clin Invest* 85: 582-586, 1990.

35. **Cook TA, Brading AF, and Mortensen NJ.** Abnormal contractile properties of rectal smooth muscle in chronic ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 14: 1287-1294, 2000.
36. **Corazza N, Brunner T, Buri C, Rihs S, Imboden MA, Seibold I, and Mueller C.** Transmembrane tumor necrosis factor is a potent inducer of colitis even in the absence of its secreted form. *Gastroenterology* 127: 816-825, 2004.
37. **Dakshinamurti S, Mellow L, and Stephens NL.** Regulation of pulmonary arterial myosin phosphatase activity in neonatal circulatory transition and in hypoxic pulmonary hypertension: A role for CPI-17. *Pediatr Pulmonol*, 2005.
38. **De S, Zelazny ET, Souhrada JF, and Souhrada M.** Interleukin-1 $\beta$  stimulates the proliferation of cultured airway smooth muscle cells via platelet-derived growth factor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 9: 645-651, 1993.
39. **Deng JT, Sutherland C, Brautigam DL, Eto M, and Walsh MP.** Phosphorylation of the myosin phosphatase inhibitors, CPI-17 and PHI-1, by integrin-linked kinase. *Biochem J* 367: 517-524, 2002.
40. **Depoortere I, Thijs T, Thielemans L, Keith JC, Van Assche G, and Peeters TL.** Effect of recombinant human interleukin-11 on motilin and substance P release in normal and inflamed rabbits. *Regul Pept* 97: 111-119, 2001.
41. **Depoortere I, Van Assche G, and Peeters TL.** Motilin receptor density in inflamed and noninflamed tissue in rabbit TNBS-induced colitis. *Neurogastroenterol Motil* 13: 55-63, 2001.
42. **Depoortere I, Van Assche G, Thijs T, Geboes K, and Peeters TL.** Differential changes in ACh-, motilin-, substance P-, and K<sup>+</sup>-induced contractility in rabbit colitis. *Am J Physiol* 277: G61-68, 1999.
43. **di Mola FF, Friess H, Zhu ZW, Koliopoulos A, Bley T, Di Sebastiano P, Innocenti P, Zimmermann A, and Buchler MW.** Nerve growth factor and Trk high affinity receptor (TrkA) gene expression in inflammatory bowel disease. *Gut* 46: 670-679, 2000.
44. **Dinareello CA.** Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87: 2095-2147, 1996.

45. **Dinarello CA.** Interleukin-1. *Cytokine Growth Factor Rev* 8: 253-265., 1997.
46. **Dinarello CA.** Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol* 4: 378-385, 2004.
47. **Dubois T, Howell S, Zemlickova E, Learmonth M, Cronshaw A, and Aitken A.** Novel *in vitro* and *in vivo* phosphorylation sites on protein phosphatase 1 inhibitor CPI-17. *Biochem Biophys Res Commun* 302: 186-192, 2003.
48. **Egan LJ and Sandborn WJ.** Advances in the treatment of Crohn's disease. *Gastroenterology* 126: 1574-1581, 2004.
49. **Erdodi F, Kiss E, Walsh MP, Stefansson B, Deng JT, Eto M, Brautigam DL, and Hartshorne DJ.** Phosphorylation of protein phosphatase type-1 inhibitory proteins by integrin-linked kinase and cyclic nucleotide-dependent protein kinases. *Biochem Biophys Res Commun* 306: 382-387, 2003.
50. **Eto M, Bock R, Brautigam DL, and Linden DJ.** Cerebellar long-term synaptic depression requires PKC-mediated activation of CPI-17, a myosin/moesin phosphatase inhibitor. *Neuron* 36: 1145-1158, 2002.
51. **Eto M, Kitazawa T, and Brautigam DL.** Phosphoprotein inhibitor CPI-17 specificity depends on allosteric regulation of protein phosphatase-1 by regulatory subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 8888-8893, 2004.
52. **Eto M, Ohmori T, Suzuki M, Furuya K, and Morita F.** A novel protein phosphatase-1 inhibitory protein potentiated by protein kinase C. Isolation from porcine aorta media and characterization. *J Biochem (Tokyo)* 118: 1104-1107, 1995.
53. **Eto M, Senba S, Morita F, and Yazawa M.** Molecular cloning of a novel phosphorylation-dependent inhibitory protein of protein phosphatase-1 (CPI17) in smooth muscle: its specific localization in smooth muscle. *FEBS Lett* 410: 356-360, 1997.
54. **Fabiato A.** Myoplasmic free calcium concentration reached during the twitch of an intact isolated cardiac cell and during calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of a skinned cardiac cell from the adult rat or rabbit ventricle. *J Gen Physiol* 78: 457-497, 1981.
55. **Fell JM, Walker-Smith JA, Spencer J, and MacDonald TT.** The distribution of dividing T cells throughout the intestinal wall in inflammatory bowel disease (IBD).

*Clin Exp Immunol* 104: 280-285, 1996.

56. **Feng J, Ito M, Ichikawa K, Isaka N, Nishikawa M, Hartshorne DJ, and Nakano T.** Inhibitory phosphorylation site for Rho-associated kinase on smooth muscle myosin phosphatase. *J Biol Chem* 274: 37385-37390, 1999.
57. **Ferretti M, Casini-Raggi V, Pizarro TT, Eisenberg SP, Nast CC, and Cominelli F.** Neutralization of endogenous IL-1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis. *J Clin Invest* 94: 449-453, 1994.
58. **Flores-Langarica A, Meza-Perez S, Calderon-Amador J, Estrada-Garcia T, Macpherson G, Lebecque S, Saeland S, Steinman RM, and Flores-Romo L.** Network of dendritic cells within the muscular layer of the mouse intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 19039-19044, 2005.
59. **Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, and Fujiyama Y.** Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 52: 65-70, 2003.
60. **Fujisawa K, Fujita A, Ishizaki T, Saito Y, and Narumiya S.** Identification of the Rho-binding domain of p160ROCK, a Rho-associated coiled-coil containing protein kinase. *J Biol Chem* 271: 23022-23028, 1996.
61. **Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, and Hutchinson IV.** Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component? *Gut* 52: 91-93, 2003.
62. **Graham MF, Willey A, Adams J, Yager D, and Diegelmann RF.** Interleukin 1 $\beta$  down-regulates collagen and augments collagenase expression in human intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology* 110: 344-350, 1996.
63. **Grasa L, Rebollar E, Arruebo MP, Plaza MA, and Murillo MD.** The role of NO in the contractility of rabbit small intestine *in vitro*: effect of K<sup>+</sup> channels. *J Physiol Pharmacol* 56: 407-419, 2005.
64. **Greenwood-Van Meerveld B, Venkova K, and Keith JC, Jr.** Recombinant human interleukin-11 restores smooth muscle function in the jejunum and colon of human leukocyte antigen-B27 rats with intestinal inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 299: 58-66, 2001.
65. **Griswold DE, DiLorenzo JA, and Calabresi P.** Quantification and pharmacological dissection of oxazolone-induced contact sensitivity in the mouse. *Cell*

*Immunol* 11: 198-204, 1974.

66. **Grusby MJ, Johnson RS, Papaioannou VE, and Glimcher LH.** Depletion of CD<sup>4+</sup> T cells in major histocompatibility complex class II-deficient mice. *Science* 253: 1417-1420, 1991.

67. **Gusev NB, Bogatcheva NV, and Marston SB.** Structure and properties of small heat shock proteins (sHsp) and their interaction with cytoskeleton proteins. *Biochemistry (Mosc)* 67: 511-519, 2002.

68. **Gwee KA, Collins SM, Read NW, Rajnakova A, Deng Y, Graham JC, McKendrick MW, and Moolhala SM.** Increased rectal mucosal expression of interleukin 1 $\beta$  in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome. *Gut* 52: 523-526, 2003.

69. **Hamaguchi T, Ito M, Feng J, Seko T, Koyama M, Machida H, Takase K, Amano M, Kaibuchi K, Hartshorne DJ, and Nakano T.** Phosphorylation of CPI-17, an inhibitor of myosin phosphatase, by protein kinase N. *Biochem Biophys Res Commun* 274: 825-830, 2000.

70. **Hartshorne DJ, Ito M, and Erdodi F.** Myosin light chain phosphatase: subunit composition, interactions and regulation. *J Muscle Res Cell Motil* 19: 325-341, 1998.

71. **Hatakeyama N, Mukhopadhyay D, Goyal RK, and Akbarali HI.** Tyrosine kinase-dependent modulation of calcium entry in rabbit colonic muscularis mucosae. *Am J Physiol* 270: C1780-1789, 1996.

72. **Hatakeyama N, Wang Q, Goyal RK, and Akbarali HI.** Muscarinic suppression of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel in rabbit esophageal smooth muscle. *Am J Physiol* 268: C877-885, 1995.

73. **Hermiston ML and Gordon JI.** Inflammatory bowel disease and adenomas in mice expressing a dominant negative N-cadherin. *Science* 270: 1203-1207, 1995.

74. **Hersch E, Huang J, Grider JR, and Murthy KS.** Gq/G13 signaling by ET-1 in smooth muscle: MYPT1 phosphorylation via ETA and CPI-17 dephosphorylation via ETB. *Am J Physiol Cell Physiol* 287: C1209-1218, 2004.

75. **Hibi T, Ohara M, Toda K, Hara A, Ogata H, Iwao Y, Watanabe N, Watanabe M, Hamada Y, Kobayashi K, and et al.** *In vitro* anticolon antibody

production by mucosal or peripheral blood lymphocytes from patients with ulcerative colitis. *Gut* 31: 1371-1376, 1990.

76. **Hierholzer C, Kalff JC, Billiar TR, Bauer AJ, Tweardy DJ, and Harbrecht BG.** Induced nitric oxide promotes intestinal inflammation following hemorrhagic shock. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286: G225-233, 2004.

77. **Hirata K, Kikuchi A, Sasaki T, Kuroda S, Kaibuchi K, Matsuura Y, Seki H, Saida K, and Takai Y.** Involvement of rho p21 in the GTP-enhanced calcium ion sensitivity of smooth muscle contraction. *J Biol Chem* 267: 8719-8722, 1992.

78. **Hirst GD and Ward SM.** Interstitial cells: involvement in rhythmicity and neural control of gut smooth muscle. *J Physiol* 550: 337-346, 2003.

79. **Hodgson HJ, Potter BJ, Skinner J, and Jewell DP.** Immune-complex mediated colitis in rabbits. An experimental model. *Gut* 19: 225-232, 1978.

80. **Hogaboam CM, Collins SM, and Blennerhassett MG.** Effects of oral L-NAME during *Trichinella spiralis* infection in rats. *Am J Physiol* 271: G338-346, 1996.

81. **Hogaboam CM, Jacobson K, Collins SM, and Blennerhassett MG.** The selective beneficial effects of nitric oxide inhibition in experimental colitis. *Am J Physiol* 268: G673-684, 1995.

82. **Hogaboam CM, Snider DP, and Collins SM.** Activation of T lymphocytes by syngeneic murine intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology* 110: 1456-1466, 1996.

83. **Hogaboam CM, Snider DP, and Collins SM.** Cytokine modulation of T-lymphocyte activation by intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology* 112: 1986-1995, 1997.

84. **Hogaboam CM, Vallance BA, Kumar A, Addison CL, Graham FL, Gauldie J, and Collins SM.** Therapeutic effects of interleukin-4 gene transfer in experimental inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 100: 2766-2776, 1997.

85. **Hollander GA, Simpson SJ, Mizoguchi E, Nichogiannopoulou A, She J, Gutierrez-Ramos JC, Bhan AK, Burakoff SJ, Wang B, and Terhorst C.** Severe colitis in mice with aberrant thymic selection. *Immunity* 3: 27-38, 1995.

86. **Holm AN, Rich A, Sarr MG, and Farrugia G.** Whole cell current and membrane potential regulation by a human smooth muscle mechanosensitive calcium

- channel. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 279: G1155-1161, 2000.
87. **Hori M, Kita M, Torihashi S, Miyamoto S, Won KJ, Sato K, Ozaki H, and Karaki H.** Upregulation of iNOS by COX-2 in muscularis resident macrophage of rat intestine stimulated with LPS. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280: G930-938, 2001.
88. **Horowitz A, Menice CB, Laporte R, and Morgan KG.** Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiol Rev* 76: 967-1003, 1996.
89. **Hosseini JM, Goldhill JM, Bossone C, Pineiro-Carrero V, and Shea-Donohue T.** Progressive alterations in circular smooth muscle contractility in TNBS-induced colitis in rats. *Neurogastroenterol Motil* 11: 347-356, 1999.
90. **Huang J, Zhou H, Mahavadi S, Sriwai W, Lyall V, and Murthy KS.** Signaling pathways mediating gastrointestinal smooth muscle contraction and MLC20 phosphorylation by motilin receptors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G23-31, 2005.
91. **Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel M, Malysz J, Mikkelsen HB, and Bernstein A.** W/k<sub>it</sub> gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature* 373: 347-349, 1995.
92. **Hurst S and Collins SM.** Interleukin-1 $\beta$  modulation of norepinephrine release from rat myenteric nerves. *Am J Physiol* 264: G30-35., 1993.
93. **Hurst SM and Collins SM.** Mechanism underlying tumor necrosis factor-alpha suppression of norepinephrine release from rat myenteric plexus. *Am J Physiol* 266: G1123-1129, 1994.
94. **Hurst SM, Stanisz AM, Sharkey KA, and Collins SM.** Interleukin 1 $\beta$ -induced increase in substance P in rat myenteric plexus. *Gastroenterology* 105: 1754-1760, 1993.
95. **Ichikawa K, Hirano K, Ito M, Tanaka J, Nakano T, and Hartshorne DJ.** Interactions and properties of smooth muscle myosin phosphatase. *Biochemistry* 35: 6313-6320, 1996.
96. **Ichikawa K, Ito M, and Hartshorne DJ.** Phosphorylation of the large subunit of myosin phosphatase and inhibition of phosphatase activity. *J Biol Chem* 271: 4733-4740, 1996.

97. **Inoue M and Kuriyama H.** Muscarinic receptor is coupled with a cation channel through a GTP-binding protein in guinea-pig chromaffin cells. *J Physiol* 436: 511-529, 1991.
98. **Inoue R and Isenberg G.** Acetylcholine activates nonselective cation channels in guinea pig ileum through a G protein. *Am J Physiol* 258: C1173-1178, 1990.
99. **Ishizaki T, Maekawa M, Fujisawa K, Okawa K, Iwamatsu A, Fujita A, Watanabe N, Saito Y, Kakizuka A, Morii N, and Narumiya S.** The small GTP-binding protein Rho binds to and activates a 160 kDa Ser/Thr protein kinase homologous to myotonic dystrophy kinase. *Embo J* 15: 1885-1893, 1996.
100. **Ito M, Feng J, Tsujino S, Inagaki N, Inagaki M, Tanaka J, Ichikawa K, Hartshorne DJ, and Nakano T.** Interaction of smooth muscle myosin phosphatase with phospholipids. *Biochemistry* 36: 7607-7614, 1997.
101. **Ito M, Nakano T, Erdodi F, and Hartshorne DJ.** Myosin phosphatase: structure, regulation and function. *Mol Cell Biochem* 259: 197-209, 2004.
102. **Iwanami K, Ishikawa T, Nalesnik MA, Okuda T, Neto JS, Zhu Y, Turler A, Moore BA, Bauer AJ, Venkataramanan R, and Murase N.** Long-term function and morphology of intestinal autografts and allografts in outbred dogs. *Am J Transplant* 3: 1083-1090, 2003.
103. **Jacobson K, McHugh K, and Collins SM.** Experimental colitis alters myenteric nerve function at inflamed and noninflamed sites in the rat. *Gastroenterology* 109: 718-722, 1995.
104. **Jadcherla SR.** Inflammation inhibits muscarinic signaling in *in vivo* canine colonic circular smooth muscle cells. *Pediatr Res* 52: 756-762, 2002.
105. **Jin X, Malykhina AP, Lupu F, and Akbarali HI.** Altered gene expression and increased bursting activity of colonic smooth muscle ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in experimental colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 287: G274-285, 2004.
106. **Jin X, Morsy N, Shoeb F, Zavzavadjian J, and Akbarali HI.** Coupling of M<sub>2</sub> muscarinic receptor to L-type Ca channel via c-src kinase in rabbit colonic circular smooth muscle. *Gastroenterology* 123: 827-834, 2002.
107. **Kaibuchi K, Kuroda S, and Amano M.** Regulation of the cytoskeleton and cell adhesion by the Rho family GTPases in mammalian cells. *Annu Rev Biochem* 68: 459-486, 1999.



108. **Kalff JC, Schraut WH, Simmons RL, and Bauer AJ.** Surgical manipulation of the gut elicits an intestinal muscularis inflammatory response resulting in postsurgical ileus. *Ann Surg* 228: 652-663, 1998.
109. **Kalff JC, Turler A, Schwarz NT, Schraut WH, Lee KK, Tweardy DJ, Billiar TR, Simmons RL, and Bauer AJ.** Intra-abdominal activation of a local inflammatory response within the human muscularis externa during laparotomy. *Ann Surg* 237: 301-315, 2003.
110. **Kamm KE and Stull JT.** The function of myosin and myosin light chain kinase phosphorylation in smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 25: 593-620, 1985.
111. **Kanai T, Watanabe M, Okazawa A, Nakamaru K, Okamoto M, Naganuma M, Ishii H, Ikeda M, Kurimoto M, and Hibi T.** Interleukin 18 is a potent proliferative factor for intestinal mucosal lymphocytes in Crohn's disease. *Gastroenterology* 119: 1514-1523, 2000.
112. **Kandabashi T, Shimokawa H, Miyata K, Kunihiro I, Kawano Y, Fukata Y, Higo T, Egashira K, Takahashi S, Kaibuchi K, and Takeshita A.** Inhibition of myosin phosphatase by upregulated rho-kinase plays a key role for coronary artery spasm in a porcine model with interleukin-1 $\beta$ . *Circulation* 101: 1319-1323, 2000.
113. **Kang M, Morsy N, Jin X, Lupu F, and Akbarali HI.** Protein and gene expression of Ca<sup>2+</sup> channel isoforms in murine colon: effect of inflammation. *Pflugers Arch*, 2004.
114. **Kawachi S, Jennings S, Panes J, Cockrell A, Laroux FS, Gray L, Perry M, van der Heyde H, Balish E, Granger DN, Specian RA, and Grisham MB.** Cytokine and endothelial cell adhesion molecule expression in interleukin-10-deficient mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 278: G734-743, 2000.
115. **Kawano Y, Fukata Y, Oshiro N, Amano M, Nakamura T, Ito M, Matsumura F, Inagaki M, and Kaibuchi K.** Phosphorylation of myosin-binding subunit (MBS) of myosin phosphatase by Rho-kinase *in vivo*. *J Cell Biol* 147: 1023-1038, 1999.
116. **Khan I and al-Awadi FM.** Colonic muscle enhances the production of interleukin-1 $\beta$  messenger RNA in experimental colitis. *Gut* 40: 307-312., 1997.

117. **Khan I, Blennerhassett MG, Kataeva GV, and Collins SM.** Interleukin 1 $\beta$  induces the expression of interleukin 6 in rat intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology* 108: 1720-1728, 1995.
118. **Khan I and Collins SM.** Expression of cytokines in the longitudinal muscle myenteric plexus of the inflamed intestine of rat. *Gastroenterology* 107: 691-700, 1994.
119. **Kim SF, Huri DA, and Snyder SH.** Inducible nitric oxide synthase binds, S-nitrosylates, and activates cyclooxygenase-2. *Science* 310: 1966-1970, 2005.
120. **Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, Yamamori B, Feng J, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, and Kaibuchi K.** Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science* 273: 245-248, 1996.
121. **Kinoshita K, Hori M, Fujisawa M, Sato K, Ohama T, Momotani E, and Ozaki H.** Role of TNF- $\alpha$  in muscularis inflammation and motility disorder in a TNBS-induced colitis model: clues from TNF- $\alpha$ -deficient mice. *Neurogastroenterol Motil* 18: 578-588, 2006.
122. **Kinoshita K, Sato K, Hori M, Ozaki H, and Karaki H.** Decrease in activity of smooth muscle L-type Ca<sup>2+</sup> channels and its reversal by NF- $\kappa$ B inhibitors in Crohn's colitis model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 285: G483-493, 2003.
123. **Kishimoto T.** Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Res Ther* 8 Suppl 2: S2, 2006.
124. **Kitazawa T, Eto M, Woodsome TP, and Brautigan DL.** Agonists trigger G protein-mediated activation of the CPI-17 inhibitor phosphoprotein of myosin light chain phosphatase to enhance vascular smooth muscle contractility. *J Biol Chem* 275: 9897-9900, 2000.
125. **Kitazawa T, Eto M, Woodsome TP, and Khalequzzaman M.** Phosphorylation of the myosin phosphatase targeting subunit and CPI-17 during Ca<sup>2+</sup> sensitization in rabbit smooth muscle. *J Physiol* 546: 879-889, 2003.
126. **Kitazawa T, Kobayashi S, Horiuti K, Somlyo AV, and Somlyo AP.** Receptor-coupled, permeabilized smooth muscle. Role of the phosphatidylinositol cascade, G-proteins, and modulation of the contractile response to Ca<sup>2+</sup>. *J Biol Chem* 264: 5339-5342, 1989.

127. **Kitazawa T, Takizawa N, Ikebe M, and Eto M.** Reconstitution of protein kinase C-induced contractile  $\text{Ca}^{2+}$  sensitization in triton X-100-demembrated rabbit arterial smooth muscle. *J Physiol* 520 Pt 1: 139-152, 1999.
128. **Kobayashi S, Kitazawa T, Somlyo AV, and Somlyo AP.** Cytosolic heparin inhibits muscarinic and  $\alpha$ -adrenergic  $\text{Ca}^{2+}$  release in smooth muscle. Physiological role of inositol 1,4,5-trisphosphate in pharmacomechanical coupling. *J Biol Chem* 264: 17997-18004, 1989.
129. **Koch TR, Carney JA, Go VL, and Szurszewski JH.** Inhibitory neuropeptides and intrinsic inhibitory innervation of descending human colon. *Dig Dis Sci* 36: 712-718, 1991.
130. **Koch WJ, Hui A, Shull GE, Ellinor P, and Schwartz A.** Characterization of cDNA clones encoding two putative isoforms of the  $\alpha 1$  subunit of the dihydropyridine-sensitive voltage-dependent calcium channel isolated from rat brain and rat aorta. *FEBS Lett* 250: 386-388, 1989.
131. **Koga Y and Ikebe M.** p116Rip decreases myosin II phosphorylation by activating myosin light chain phosphatase and by inactivating RhoA. *J Biol Chem* 280: 4983-4991, 2005.
132. **Kojouharoff G, Hans W, Obermeier F, Mannel DN, Andus T, Scholmerich J, Gross V, and Falk W.** Neutralization of tumour necrosis factor (TNF) but not of IL-1 reduces inflammation in chronic dextran sulphate sodium-induced colitis in mice. *Clin Exp Immunol* 107: 353-358, 1997.
133. **Kontoyiannis D, Pasparakis M, Pizarro TT, Cominelli F, and Kollias G.** Impaired on/off regulation of TNF biosynthesis in mice lacking TNF AU-rich elements: implications for joint and gut-associated immunopathologies. *Immunity* 10: 387-398, 1999.
134. **Koyama M, Ito M, Feng J, Seko T, Shiraki K, Takase K, Hartshorne DJ, and Nakano T.** Phosphorylation of CPI-17, an inhibitory phosphoprotein of smooth muscle myosin phosphatase, by Rho-kinase. *FEBS Lett* 475: 197-200, 2000.
135. **Kozasa T, Jiang X, Hart MJ, Sternweis PM, Singer WD, Gilman AG, Bollag G, and Sternweis PC.** p115 RhoGEF, a GTPase activating protein for  $\text{G}\alpha 12$  and  $\text{G}\alpha 13$ . *Science* 280: 2109-2111, 1998.

136. **Kuemmerle JF.** Synergistic regulation of NOS II expression by IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in cultured rat colonic smooth muscle cells. *Am J Physiol* 274: G178-185., 1998.
137. **Kuemmerle JF, Zhou H, and Bowers JG.** IGF-I stimulates human intestinal smooth muscle cell growth by regulation of G1 phase cell cycle proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286: G412-419, 2004.
138. **Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K, and Muller W.** Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 75: 263-274, 1993.
139. **Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC, Roberts AB, Sporn MB, Ward JM, and Karlsson S.** Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 770-774, 1993.
140. **Kureishi Y, Kobayashi S, Amano M, Kimura K, Kanaide H, Nakano T, Kaibuchi K, and Ito M.** Rho-associated kinase directly induces smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation. *J Biol Chem* 272: 12257-12260, 1997.
141. **Li L, Eto M, Lee MR, Morita F, Yazawa M, and Kitazawa T.** Possible involvement of the novel CPI-17 protein in protein kinase C signal transduction of rabbit arterial smooth muscle. *J Physiol* 508 (Pt 3) : 871-881, 1998.
142. **Li X, Tsai P, Wieder ED, Kribben A, Van Putten V, Schrier RW, and Nemenoff RA.** Vascular smooth muscle cells grown on Matrigel. A model of the contractile phenotype with decreased activation of mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 269: 19653-19658, 1994.
143. **Libby P, Warner SJ, and Friedman GB.** Interleukin 1: a mitogen for human vascular smooth muscle cells that induces the release of growth-inhibitory prostanoids. *J Clin Invest* 81: 487-498., 1988.
144. **Libby P, Wyler DJ, Janicka MW, and Dinarello CA.** Differential effects of human interleukin-1 on growth of human fibroblasts and vascular smooth muscle cells. *Arteriosclerosis* 5: 186-191, 1985.
145. **Lim I, Gibbons SJ, Lyford GL, Miller SM, Strege PR, Sarr MG, Chatterjee S, Szurszewski JH, Shah VH, and Farrugia G.** Carbon monoxide activates human intestinal smooth muscle L-type Ca<sup>2+</sup> channels through a nitric

- oxide-dependent mechanism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G7-14, 2005.
146. **Lin A, Lourenssen S, Stanzel RD, and Blennerhassett MG.** Selective loss of NGF-sensitive neurons following experimental colitis. *Exp Neurol* 191: 337-343, 2005.
147. **Liu LW and Huizinga JD.** Electrical coupling of circular muscle to longitudinal muscle and interstitial cells of Cajal in canine colon. *J Physiol* 470: 445-461, 1993.
148. **Liu X, Rusch NJ, Striessnig J, and Sarna SK.** Down-regulation of L-type calcium channels in inflamed circular smooth muscle cells of the canine colon. *Gastroenterology* 120: 480-489, 2001.
149. **Lodato RF, Khan AR, Zembowicz MJ, Weisbrodt NW, Pressley TA, Li YF, Lodato JA, Zembowicz A, and Moody FG.** Roles of IL-1 and TNF in the decreased ileal muscle contractility induced by lipopolysaccharide. *Am J Physiol* 276: G1356-1362., 1999.
150. **Lourenssen S, Wells RW, and Blennerhassett MG.** Differential responses of intrinsic and extrinsic innervation of smooth muscle cells in rat colitis. *Exp Neurol* 195: 497-507, 2005.
151. **Lu G, Qian X, Berezin I, Telford GL, Huizinga JD, and Sarna SK.** Inflammation modulates *in vitro* colonic myoelectric and contractile activity and interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol* 273: G1233-1245, 1997.
152. **Lukas TJ.** A signal transduction pathway model prototype II: Application to  $Ca^{2+}$ -calmodulin signaling and myosin light chain phosphorylation. *Biophys J* 87: 1417-1425, 2004.
153. **Luzza F, Parrello T, Monteleone G, Sebkova L, Romano M, Zarrilli R, Imeneo M, and Pallone F.** Up-regulation of IL-17 is associated with bioactive IL-8 expression in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *J Immunol* 165: 5332-5337, 2000.
154. **MacDonald JA, Eto M, Borman MA, Brautigan DL, and Haystead TA.** Dual Ser and Thr phosphorylation of CPI-17, an inhibitor of myosin phosphatase, by MYPT-associated kinase. *FEBS Lett* 493: 91-94, 2001.
155. **MacPherson BR and Pfeiffer CJ.** Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion* 17: 135-150, 1978.

156. **Madara JL, Podolsky DK, King NW, Sehgal PK, Moore R, and Winter HS.** Characterization of spontaneous colitis in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) and its response to sulfasalazine. *Gastroenterology* 88: 13-19, 1985.
157. **Maeda H, Yamagata A, Nishikawa S, Yoshinaga K, Kobayashi S, Nishi K, and Nishikawa S.** Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system. *Development* 116: 369-375, 1992.
158. **Main C, Blennerhassett P, and Collins SM.** Human recombinant interleukin 1 $\beta$  suppresses acetylcholine release from rat myenteric plexus. *Gastroenterology* 104: 1648-1654., 1993.
159. **Malykhina AP and Akbarali HI.** Inflammation-induced "channelopathies" in the gastrointestinal smooth muscle. *Cell Biochem Biophys* 41: 319-330, 2004.
160. **Marcus R and Watt J.** Seaweeds and ulcerative colitis in laboratory animals. *Lancet* 2: 489-490, 1969.
161. **Martinolle JP, Garcia-Villar R, Fioramonti J, and Bueno L.** Altered contractility of circular and longitudinal muscle in TNBS-inflamed guinea pig ileum. *Am J Physiol* 272: G1258-1267, 1997.
162. **Masuo M, Reardon S, Ikebe M, and Kitazawa T.** A novel mechanism for the Ca<sup>2+</sup>-sensitizing effect of protein kinase C on vascular smooth muscle: inhibition of myosin light chain phosphatase. *J Gen Physiol* 104: 265-286, 1994.
163. **Matsui M, Motomura D, Fujikawa T, Jiang J, Takahashi S, Manabe T, and Taketo MM.** Mice lacking M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> muscarinic acetylcholine receptors are devoid of cholinergic smooth muscle contractions but still viable. *J Neurosci* 22: 10627-10632, 2002.
164. **Matsumoto S, Okabe Y, Setoyama H, Takayama K, Ohtsuka J, Funahashi H, Imaoka A, Okada Y, and Umesaki Y.** Inflammatory bowel disease-like enteritis and caecitis in a senescence accelerated mouse P1/Yit strain. *Gut* 43: 71-78, 1998.
165. **Matsuura M, Okazaki K, Nishio A, Nakase H, Tamaki H, Uchida K, Nishi T, Asada M, Kawasaki K, Fukui T, Yoshizawa H, Ohashi S, Inoue S, Kawanami C, Hiai H, Tabata Y, and Chiba T.** Therapeutic effects of rectal administration of basic fibroblast growth factor on experimental murine colitis. *Gastroenterology* 128: 975-986, 2005.

166. **Melgar S, Karlsson A, and Michaelsson E.** Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: correlation between symptoms and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G1328-1338, 2005.
167. **Mikkelsen HB, Thuneberg L, Rumessen JJ, and Thorball N.** Macrophage-like cells in the muscularis externa of mouse small intestine. *Anat Rec* 213: 77-86, 1985.
168. **Mitsui T, Inagaki M, and Ikebe M.** Purification and characterization of smooth muscle myosin-associated phosphatase from chicken gizzards. *J Biol Chem* 267: 16727-16735, 1992.
169. **Mombaerts P, Mizoguchi E, Grusby MJ, Glimcher LH, Bhan AK, and Tonegawa S.** Spontaneous development of inflammatory bowel disease in T cell receptor mutant mice. *Cell* 75: 274-282, 1993.
170. **Moncada S and Higgs EA.** The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1: S193-201, 2006.
171. **Monteleone G, Biancone L, Marasco R, Morrone G, Marasco O, Luzzza F, and Pallone F.** Interleukin 12 is expressed and actively released by Crohn's disease intestinal lamina propria mononuclear cells. *Gastroenterology* 112: 1169-1178, 1997.
172. **Monteleone G, Del Vecchio Blanco G, Monteleone I, Fina D, Caruso R, Gioia V, Ballerini S, Federici G, Bernardini S, Pallone F, and MacDonald TT.** Post-transcriptional regulation of Smad7 in the gut of patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 129: 1420-1429, 2005.
173. **Monteleone G, Mann J, Monteleone I, Vavassori P, Bremner R, Fantini M, Del Vecchio Blanco G, Tersigni R, Alessandroni L, Mann D, Pallone F, and MacDonald TT.** A failure of transforming growth factor-beta1 negative regulation maintains sustained NF- $\kappa$ B activation in gut inflammation. *J Biol Chem* 279: 3925-3932, 2004.
174. **Moore BA, Otterbein LE, Turler A, Choi AM, and Bauer AJ.** Inhaled carbon monoxide suppresses the development of postoperative ileus in the murine small intestine. *Gastroenterology* 124: 377-391, 2003.
175. **Moore BA, Overhaus M, Whitcomb J, Ifedigbo E, Choi AM, Otterbein LE, and Bauer AJ.** Brief inhalation of low-dose carbon monoxide protects rodents and

- swine from postoperative ileus. *Crit Care Med* 33: 1317-1326, 2005.
176. **Moore BA, Turler A, Pezzone MA, Dyer K, Grandis J, and Bauer AJ.** Tyrphostin AG 126 inhibits development of postoperative ileus induced by surgical manipulation of murine colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286: G214-224, 2004.
177. **Moreels TG, De Man JG, Dick JM, Nieuwendijk RJ, De Winter BY, Lefebvre RA, Herman AG, and Pelckmans PA.** Effect of TNBS-induced morphological changes on pharmacological contractility of the rat ileum. *Eur J Pharmacol* 423: 211-222, 2001.
178. **Moreels TG, Nieuwendijk RJ, De Man JG, De Winter BY, Herman AG, Van Marck EA, and Pelckmans PA.** Concurrent infection with *Schistosoma mansoni* attenuates inflammation induced changes in colonic morphology, cytokine levels, and smooth muscle contractility of trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis in rats. *Gut* 53: 99-107, 2004.
179. **Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, and Wallace JL.** Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 96: 795-803, 1989.
180. **Morrissey PJ, Charrier K, Braddy S, Liggitt D, and Watson JD.** CD4<sup>+</sup> T cells that express high levels of CD45RB induce wasting disease when transferred into congenic severe combined immunodeficient mice. Disease development is prevented by cotransfer of purified CD4<sup>+</sup> T cells. *J Exp Med* 178: 237-244, 1993.
181. **Morson BS.** Histopathology of Crohn's disease. *Proc R Soc Med* 61: 79-81, 1968.
182. **Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, and Reddi AH.** Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 14: 155-174, 2003.
183. **Mueed I, Zhang L, and MacLeod KM.** Role of the PKC/CPI-17 pathway in enhanced contractile responses of mesenteric arteries from diabetic rats to  $\alpha$ -adrenoceptor stimulation. *Br J Pharmacol* 146: 972-982, 2005.
184. **Mulder J, Ariaens A, van den Boomen D, and Moolenaar WH.** p116Rip targets myosin phosphatase to the actin cytoskeleton and is essential for RhoA/ROCK-regulated neuriteogenesis. *Mol Biol Cell* 15: 5516-5527, 2004.
185. **Muranyi A, Derkach D, Erdodi F, Kiss A, Ito M, and Hartshorne DJ.**



- Phosphorylation of Thr695 and Thr850 on the myosin phosphatase target subunit: inhibitory effects and occurrence in A7r5 cells. *FEBS Lett* 579: 6611-6615, 2005.
186. **Muranyi A, MacDonald JA, Deng JT, Wilson DP, Haystead TA, Walsh MP, Erdodi F, Kiss E, Wu Y, and Hartshorne DJ.** Phosphorylation of the myosin phosphatase target subunit by integrin-linked kinase. *Biochem J* 366: 211-216, 2002.
187. **Murata-Hori M, Suizu F, Iwasaki T, Kikuchi A, and Hosoya H.** ZIP kinase identified as a novel myosin regulatory light chain kinase in HeLa cells. *FEBS Lett* 451: 81-84, 1999.
188. **Nagumo H, Sasaki Y, Ono Y, Okamoto H, Seto M, and Takuwa Y.** Rho kinase inhibitor HA-1077 prevents Rho-mediated myosin phosphatase inhibition in smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 278: C57-65, 2000.
189. **Nakae S, Nambu A, Sudo K, and Iwakura Y.** Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J Immunol* 171: 6173-6177, 2003.
190. **Nakagawa O, Fujisawa K, Ishizaki T, Saito Y, Nakao K, and Narumiya S.** ROCK-I and ROCK-II, two isoforms of Rho-associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase in mice. *FEBS Lett* 392: 189-193, 1996.
191. **Nakamura M, Saito H, Kasanuki J, Tamura Y, and Yoshida S.** Cytokine production in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 33: 933-937, 1992.
192. **Nakao A, Moore BA, Murase N, Liu F, Zuckerbraun BS, Bach FH, Choi AM, Nalesnik MA, Otterbein LE, and Bauer AJ.** Immunomodulatory effects of inhaled carbon monoxide on rat syngeneic small bowel graft motility. *Gut* 52: 1278-1285, 2003.
193. **Nakao A, Otterbein LE, Overhaus M, Sarady JK, Tsung A, Kimizuka K, Nalesnik MA, Kaizu T, Uchiyama T, Liu F, Murase N, Bauer AJ, and Bach FH.** Biliverdin protects the functional integrity of a transplanted syngeneic small bowel. *Gastroenterology* 127: 595-606, 2004.
194. **Nakazawa A, Watanabe M, Kanai T, Yajima T, Yamazaki M, Ogata H, Ishii H, Azuma M, and Hibi T.** Functional expression of costimulatory molecule CD86 on epithelial cells in the inflamed colonic mucosa. *Gastroenterology* 117: 536-545, 1999.
195. **Natale L, Piepoli AL, De Salvia MA, De Salvatore G, Mitolo CI, Marzullo**

- A, Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G, and Mitolo-Chieppa D.** Interleukins 1 $\beta$  and 6 induce functional alteration of rat colonic motility: an *in vitro* study. *Eur J Clin Invest* 33: 704-712, 2003.
196. **Neurath MF, Fuss I, Schurmann G, Pettersson S, Arnold K, Muller-Lobeck H, Strober W, Herfarth C, and Buschenfelde KH.** Cytokine gene transcription by NF- $\kappa$ B family members in patients with inflammatory bowel disease. *Ann NY Acad Sci* 859: 149-159, 1998.
197. **Ng EK, Panesar N, Longo WE, Shapiro MJ, Kaminski DL, Tolman KC, and Mazuski JE.** Human intestinal epithelial and smooth muscle cells are potent producers of IL-6. *Mediators Inflamm* 12: 3-8, 2003.
198. **Niiro N and Ikebe M.** Zipper-interacting protein kinase induces Ca<sup>2+</sup>-free smooth muscle contraction via myosin light chain phosphorylation. *J Biol Chem* 276: 29567-29574, 2001.
199. **Niiro N, Koga Y, and Ikebe M.** Agonist-induced changes in the phosphorylation of the myosin-binding subunit of myosin light chain phosphatase and CPI17, two regulatory factors of myosin light chain phosphatase, in smooth muscle. *Biochem J* 369: 117-128, 2003.
200. **Nishimura J, Kolber M, and van Breemen C.** Norepinephrine and GTP- $\gamma$ S increase myofilament Ca<sup>2+</sup> sensitivity in  $\alpha$ -toxin permeabilized arterial smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 157: 677-683., 1988.
201. **O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Hurley G, Luo F, Chen K, O'Sullivan GC, Kiely B, Collins JK, Shanahan F, and Quigley EM.** Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* 128: 541-551, 2005.
202. **Obermeier F, Dunger N, Deml L, Herfarth H, Scholmerich J, and Falk W.** CpG motifs of bacterial DNA exacerbate colitis of dextran sulfate sodium-treated mice. *Eur J Immunol* 32: 2084-2092, 2002.
203. **Obermeier F, Dunger N, Strauch UG, Grunwald N, Herfarth H, Scholmerich J, and Falk W.** Contrasting activity of cytosin-guanosin dinucleotide oligonucleotides in mice with experimental colitis. *Clin Exp Immunol* 134: 217-224, 2003.

204. **Obermeier F, Dunger N, Strauch UG, Hofmann C, Bleich A, Grunwald N, Hedrich HJ, Aschenbrenner E, Schlegelberger B, Rogler G, Scholmerich J, and Falk W.** CpG motifs of bacterial DNA essentially contribute to the perpetuation of chronic intestinal inflammation. *Gastroenterology* 129: 913-927, 2005.
205. **Ogawa A, Andoh A, Araki Y, Bamba T, and Fujiyama Y.** Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Clin Immunol* 110: 55-62, 2004.
206. **Ohama T, Hori M, Sato K, Ozaki H, and Karaki H.** Chronic treatment with interleukin-1 $\beta$  attenuates contractions by decreasing the activities of CPI-17 and MYPT-1 in intestinal smooth muscle. *J Biol Chem* 278: 48794-48804, 2003.
207. **Oishi K, Itoh Y, Isshiki Y, Kai C, Takeda Y, Yamaura K, Takano-Ohmuro H, and Uchida MK.** Agonist-induced isometric contraction of smooth muscle cell-populated collagen gel fiber. *Am J Physiol Cell Physiol* 279: C1432-1442, 2000.
208. **Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, and Nakaya R.** A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 98: 694-702, 1990.
209. **Okubo S, Ito M, Takashiba Y, Ichikawa K, Miyahara M, Shimizu H, Konishi T, Shima H, Nagao M, Hartshorne DJ, and et al.** A regulatory subunit of smooth muscle myosin bound phosphatase. *Biochem Biophys Res Commun* 200: 429-434, 1994.
210. **Overhaus M, Moore BA, Barbato JE, Behrendt FF, Doering JG, and Bauer AJ.** Biliverdin protects against polymicrobial sepsis by modulating inflammatory mediators. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290: G695-703, 2006.
211. **Owens MW and Grisham MB.** Cytokines increase proliferation of human intestinal smooth muscle cells: possible role in inflammation-induced stricture formation. *Inflammation* 17: 481-487., 1993.
212. **Pacaud P and Bolton TB.** Calcium entry into guinea-pig jejunum cells after calcium stores depletion. *Z Kardiol* 80 Suppl 7: 69-72, 1991.
213. **Pacaud P and Bolton TB.** Relation between muscarinic receptor cationic current and internal calcium in guinea-pig jejunal smooth muscle cells. *J Physiol* 441: 477-499, 1991.
214. **Pang H and Bitar KN.** Direct association of RhoA with specific domains of

- PKC- $\alpha$ . *Am J Physiol Cell Physiol* 289: C982-993, 2005.
215. **Pang H, Guo Z, Xie Z, Su W, and Gong MC.** Divergent kinase signaling mediates agonist-induced phosphorylation of phosphatase inhibitory proteins PHI-1 and CPI-17 in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 290: C892-899, 2006.
216. **Panwala CM, Jones JC, and Viney JL.** A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. *J Immunol* 161: 5733-5744, 1998.
217. **Parekh DB, Ziegler W, and Parker PJ.** Multiple pathways control protein kinase C phosphorylation. *Embo J* 19: 496-503, 2000.
218. **Patil SB and Bitar KN.** RhoA- and PKC $\alpha$ -mediated phosphorylation of MYPT and its association with HSP27 in colonic smooth muscle cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290: G83-95, 2006.
219. **Patil SB, Pawar MD, and Bitar KN.** Phosphorylated HSP27 essential for acetylcholine-induced association of RhoA with PKC $\alpha$ . *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286: G635-644, 2004.
220. **Patil SB, Tsunoda Y, Pawar MD, and Bitar KN.** Translocation and association of ROCK-II with RhoA and HSP27 during contraction of rabbit colon smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 319: 95-102, 2004.
221. **Pazdrak K, Shi XZ, and Sarna SK.** TNF- $\alpha$  suppresses human colonic circular smooth muscle cell contractility by SP1- and NF- $\kappa$ B-mediated induction of ICAM-1. *Gastroenterology* 127: 1096-1109, 2004.
222. **Pizarro TT, Michie MH, Bentz M, Woraratanadharm J, Smith MF, Jr., Foley E, Moskaluk CA, Bickston SJ, and Cominelli F.** IL-18, a novel immunoregulatory cytokine, is up-regulated in Crohn's disease: expression and localization in intestinal mucosal cells. *J Immunol* 162: 6829-6835, 1999.
223. **Podolsky DK.** Inflammatory bowel disease (1). *N Engl J Med* 325: 928-937, 1991.
224. **Podolsky DK.** Inflammatory bowel disease (2). *N Engl J Med* 325: 1008-1016, 1991.
225. **Porcher C, Baldo M, Henry M, Orsoni P, Jule Y, and Ward SM.** Deficiency

- of interstitial cells of Cajal in the small intestine of patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 97: 118-125, 2002.
226. **Preiksaitis HG, Krysiak PS, Chrones T, Rajgopal V, and Laurier LG.** Pharmacological and molecular characterization of muscarinic receptor subtypes in human esophageal smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 295: 879-888, 2000.
227. **Rasmussen HH, Fallingborg JF, Mortensen PB, Vyberg M, Tage-Jensen U, and Rasmussen SN.** Hepatobiliary dysfunction and primary sclerosing cholangitis in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 32: 604-610, 1997.
228. **Reinshagen M, Rohm H, Steinkamp M, Lieb K, Geerling I, Von Herbay A, Flamig G, Eysselein VE, and Adler G.** Protective role of neurotrophins in experimental inflammation of the rat gut. *Gastroenterology* 119: 368-376, 2000.
229. **Rogler G and Andus T.** Cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Surg* 22: 382-389., 1998.
230. **Rudolph U, Finegold MJ, Rich SS, Harriman GR, Srinivasan Y, Brabet P, Boulay G, Bradley A, and Birnbaumer L.** Ulcerative colitis and adenocarcinoma of the colon in  $G\alpha_{i2}$ -deficient mice. *Nat Genet* 10: 143-150, 1995.
231. **Ruhl A, Berezin I, and Collins SM.** Involvement of eicosanoids and macrophage-like cells in cytokine-mediated changes in rat myenteric nerves. *Gastroenterology* 109: 1852-1862, 1995.
232. **Ruhl A, Hurst S, and Collins SM.** Synergism between interleukins  $1\beta$  and 6 on noradrenergic nerves in rat myenteric plexus. *Gastroenterology* 107: 993-1001, 1994.
233. **Saada N, Dai B, Echeteu C, Sarna SK, and Palade P.** Smooth muscle uses another promoter to express primarily a form of human Cav1.2 L-type calcium channel different from the principal heart form. *Biochem Biophys Res Commun* 302: 23-28, 2003.
234. **Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, and Horak I.** Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell* 75: 253-261, 1993.
235. **Sakai H, Chiba Y, Hirano T, and Misawa M.** Possible involvement of CPI-17 in augmented bronchial smooth muscle contraction in antigen-induced airway hyper-responsive rats. *Mol Pharmacol* 68: 145-151, 2005.

236. **Sakamoto K, Hori, M., Izumi, M., Oka, T., Kohama, K., Ozaki, H., Karaki, H.** Inhibition of high K<sup>+</sup>-induced contraction by ROCKs inhibitor Y-27632 in vascular smooth muscle; possible involvement of ROCKs in a signal transduction pathway. *J Pharmacol Sci* In press, 2003.
237. **Sakurada S, Takuwa N, Sugimoto N, Wang Y, Seto M, Sasaki Y, and Takuwa Y.** Ca<sup>2+</sup>-dependent activation of Rho and Rho kinase in membrane depolarization-induced and receptor stimulation-induced vascular smooth muscle contraction. *Circ Res* 93: 548-556, 2003.
238. **Salinthon S, Singer CA, and Gerthoffer WT.** Inflammatory gene expression by human colonic smooth muscle cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 287: G627-637, 2004.
239. **Sanovic S, Lamb DP, and Blennerhassett MG.** Damage to the enteric nervous system in experimental colitis. *Am J Pathol* 155: 1051-1057, 1999.
240. **Sarna SK.** *In vivo* signal-transduction pathways to stimulate phasic contractions in normal and inflamed ileum. *Am J Physiol* 274: G618-625, 1998.
241. **Sarna SK.** Neuronal locus and cellular signaling for stimulation of ileal giant migrating and phasic contractions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284: G789-797, 2003.
242. **Sartor RB, Cromartie WJ, Powell DW, and Schwab JH.** Granulomatous enterocolitis induced in rats by purified bacterial cell wall fragments. *Gastroenterology* 89: 587-595, 1985.
243. **Sato M, Tani E, Fujikawa H, and Kaibuchi K.** Involvement of Rho-kinase-mediated phosphorylation of myosin light chain in enhancement of cerebral vasospasm. *Circ Res* 87: 195-200, 2000.
244. **Sawyer GW and Ehlert FJ.** Muscarinic M<sub>3</sub> receptor inactivation reveals a pertussis toxin-sensitive contractile response in the guinea pig colon: evidence for M<sub>2</sub>/M<sub>3</sub> receptor interactions. *J Pharmacol Exp Ther* 289: 464-476, 1999.
245. **Schaefer N, Tahara K, Websky M, Kalff JC, Hirner A, and Turler A.** Acute rejection in allogeneic rodent small bowel transplantation causes smooth muscle dysfunction via an inflammatory response within the intestinal muscularis. *Transplant Proc* 38: 1792-1793, 2006.
246. **Schwarz NT, Kalff JC, Turler A, Engel BM, Watkins SC, Billiar TR, and**

- Bauer AJ.** Prostanoid production via COX-2 as a causative mechanism of rodent postoperative ileus. *Gastroenterology* 121: 1354-1371, 2001.
247. **Schwarz NT, Kalff JC, Turler A, Speidel N, Grandis JR, Billiar TR, and Bauer AJ.** Selective jejunal manipulation causes postoperative pan-enteric inflammation and dysmotility. *Gastroenterology* 126: 159-169, 2004.
248. **Serio R, Barajas-Lopez C, Daniel EE, Berezin I, and Huizinga JD.** Slow-wave activity in colon: role of network of submucosal interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol* 260: G636-645, 1991.
249. **Shi XZ, Lindholm PF, and Sarna SK.** NF- $\kappa$ B activation by oxidative stress and inflammation suppresses contractility in colonic circular smooth muscle cells. *Gastroenterology* 124: 1369-1380, 2003.
250. **Shi XZ, Pazdrak K, Saada N, Dai B, Palade P, and Sarna SK.** Negative transcriptional regulation of human colonic smooth muscle Cav1.2 channels by p50 and p65 subunits of nuclear factor- $\kappa$ B. *Gastroenterology* 129: 1518-1532, 2005.
251. **Shi XZ and Sarna SK.** Differential inflammatory modulation of canine ileal longitudinal and circular muscle cells. *Am J Physiol* 277: G341-350, 1999.
252. **Shi XZ and Sarna SK.** Impairment of Ca<sup>2+</sup> mobilization in circular muscle cells of the inflamed colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 278: G234-242, 2000.
253. **Shi XZ and Sarna SK.** Inflammatory modulation of muscarinic receptor activation in canine ileal circular muscle cells. *Gastroenterology* 112: 864-874, 1997.
254. **Shi XZ and Sarna SK.** Transcriptional regulation of inflammatory mediators secreted by human colonic circular smooth muscle cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289: G274-284, 2005.
255. **Shimizu H, Ito M, Miyahara M, Ichikawa K, Okubo S, Konishi T, Naka M, Tanaka T, Hirano K, Hartshorne DJ, and et al.** Characterization of the myosin-binding subunit of smooth muscle myosin phosphatase. *J Biol Chem* 269: 30407-30411, 1994.
256. **Shirazi A, Iizuka K, Fadden P, Mosse C, Somlyo AP, Somlyo AV, and Haystead TA.** Purification and characterization of the mammalian myosin light chain phosphatase holoenzyme. The differential effects of the holoenzyme and its subunits on

- smooth muscle. *J Biol Chem* 269: 31598-31606, 1994.
257. **Singer CA, Vang S, and Gerthoffer WT.** Coupling of M<sub>2</sub> muscarinic receptors to Src activation in cultured canine colonic smooth muscle cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 282: G61-68, 2002.
258. **Singer HA.** Phorbol ester-induced stress and myosin light chain phosphorylation in swine carotid medial smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 252: 1068-1074, 1990.
259. **Singer HA.** Protein kinase C activation and myosin light chain phosphorylation in <sup>32</sup>P-labeled arterial smooth muscle. *Am J Physiol* 259: C631-639, 1990.
260. **Singh VP, Patil CS, Jain NK, Singh A, and Kulkarni SK.** Effect of nimesulide on acetic acid- and leukotriene-induced inflammatory bowel disease in rats. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 71: 163-175, 2003.
261. **Smith AS and Smid SD.** Impaired capsaicin and neurokinin-evoked colonic motility in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 20: 697-704, 2005.
262. **Smith DL, Willis AL, and Mahmud I.** Eicosanoid effects on cell proliferation *in vitro*: relevance to atherosclerosis. *Prostaglandins Leukot Med* 16: 1-10, 1984.
263. **Snape WJ, Jr., Matarazzo SA, and Cohen S.** Abnormal gastrocolonic response in patients with ulcerative colitis. *Gut* 21: 392-396, 1980.
264. **Soldatov NM.** Ca<sup>2+</sup> channel moving tail: link between Ca<sup>2+</sup>-induced inactivation and Ca<sup>2+</sup> signal transduction. *Trends Pharmacol Sci* 24: 167-171, 2003.
265. **Somara S, Pang H, and Bitar KN.** Agonist-induced association of tropomyosin with protein kinase C $\alpha$  in colonic smooth muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G268-276, 2005.
266. **Spencer SD, Di Marco F, Hooley J, Pitts-Meek S, Bauer M, Ryan AM, Sordat B, Gibbs VC, and Aguet M.** The orphan receptor CRF2-4 is an essential subunit of the interleukin 10 receptor. *J Exp Med* 187: 571-578, 1998.
267. **Spiller RC.** Postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 124: 1662-1671, 2003.
268. **Stengel PW, Gomeza J, Wess J, and Cohen ML.** M<sub>2</sub> and M<sub>4</sub> receptor knockout mice: muscarinic receptor function in cardiac and smooth muscle *in vitro*. *J Pharmacol Exp Ther* 292: 877-885, 2000.



269. **Stengel PW, Yamada M, Wess J, and Cohen ML.** M<sub>3</sub>-receptor knockout mice: muscarinic receptor function in atria, stomach fundus, urinary bladder, and trachea. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 282: R1443-1449, 2002.
270. **Sundberg JP, Elson CO, Bedigian H, and Birkenmeier EH.** Spontaneous, heritable colitis in a new substrain of C3H/HeJ mice. *Gastroenterology* 107: 1726-1735, 1994.
271. **Surks HK, Richards CT, and Mendelsohn ME.** Myosin phosphatase-Rho interacting protein. A new member of the myosin phosphatase complex that directly binds RhoA. *J Biol Chem* 278: 51484-51493, 2003.
272. **Surks HK, Riddick N, and Ohtani K.** M-RIP targets myosin phosphatase to stress fibers to regulate myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 280: 42543-42551, 2005.
273. **Takai Y, Sasaki T, and Matozaki T.** Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev* 81: 153-208, 2001.
274. **Takeuchi T, Kushida M, Hirayama N, Kitayama M, Fujita A, and Hata F.** Mechanisms involved in carbachol-induced Ca<sup>2+</sup> sensitization of contractile elements in rat proximal and distal colon. *Br J Pharmacol* 142: 657-666, 2004.
275. **Takeuchi T, Tanaka K, Nakajima H, Matsui M, and Azuma YT.** M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> muscarinic receptors are involved in enteric nerve-mediated contraction of the mouse ileum: findings obtained using muscarinic receptor knockout mouse. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006.
276. **Takizawa N, Koga Y, and Ikebe M.** Phosphorylation of CPI17 and myosin binding subunit of type 1 protein phosphatase by p21-activated kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 297: 773-778, 2002.
277. **Takizawa N, Niuro N, and Ikebe M.** Dephosphorylation of the two regulatory components of myosin phosphatase, MBS and CPI17. *FEBS Lett* 515: 127-132, 2002.
278. **Tanabe T, Takeshima H, Mikami A, Flockerzi V, Takahashi H, Kangawa K, Kojima M, Matsuo H, Hirose T, and Numa S.** Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. *Nature* 328: 313-318, 1987.
279. **Tanaka J, Ito M, Feng J, Ichikawa K, Hamaguchi T, Nakamura M, Hartshorne DJ, and Nakano T.** Interaction of myosin phosphatase target subunit 1 with the catalytic subunit of type 1 protein phosphatase. *Biochemistry* 37: 16697-16703,

1998.

280. **Tanovic A, Jimenez M, and Fernandez E.** Lack of effect of nitric oxide on KCl, acetylcholine and substance P induced contractions in ileal longitudinal muscle of the rat. *Life Sci* 67: 531-541, 2000.

281. **Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, and Rutgeerts PJ.** A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 337: 1029-1035, 1997.

282. **Taugog JD, Maika SD, Simmons WA, Breban M, and Hammer RE.** Susceptibility to inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rat lines correlates with the level of B27 expression. *J Immunol* 150: 4168-4178, 1993.

283. **Teng B, Murthy KS, Kuemmerle JF, Grider JR, Sase K, Michel T, and Makhlouf GM.** Expression of endothelial nitric oxide synthase in human and rabbit gastrointestinal smooth muscle cells. *Am J Physiol* 275: G342-351, 1998.

284. **Teoh H, Zacour M, Wener AD, Gunaratnam L, and Ward ME.** Increased myofibrillar protein phosphatase-1 activity impairs rat aortic smooth muscle activation after hypoxia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H1182-1189, 2003.

285. **Testini M, Portincasa P, Scacco S, Piccinni G, Minerva F, Lissidini G, Papa F, Loiotila L, Bonomo GM, and Palasciano G.** Contractility *in vitro* and mitochondrial response in small and large rabbit bowel after anastomosis. *World J Surg* 26: 493-498, 2002.

286. **Thomsen L, Robinson TL, Lee JC, Farraway LA, Hughes MJ, Andrews DW, and Huizinga JD.** Interstitial cells of Cajal generate a rhythmic pacemaker current. *Nat Med* 4: 848-851, 1998.

287. **Tornblom H, Lindberg G, Nyberg B, and Veress B.** Full-thickness biopsy of the jejunum reveals inflammation and enteric neuropathy in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 123: 1972-1979, 2002.

288. **Tran JA, Matsui M, and Ehlert FJ.** Differential coupling of muscarinic M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, and M<sub>3</sub> receptors to phosphoinositide hydrolysis in urinary bladder and longitudinal muscle of the ileum of the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 318: 649-656, 2006.

289. **Trepicchio WL and Dorner AJ.** The therapeutic utility of Interleukin-11 in the treatment of inflammatory disease. *Expert Opin Investig Drugs* 7: 1501-1504, 1998.

290. **Tsai MH and Jiang MJ.** Rho-kinase-mediated regulation of receptor-agonist-stimulated smooth muscle contraction. *Pflugers Arch*, 2006.
291. **Turler A, Kalff JC, Heeckt P, Abu-Elmagd KM, Schraut WH, Bond GJ, Moore BA, Brunagel G, and Bauer AJ.** Molecular and functional observations on the donor intestinal muscularis during human small bowel transplantation. *Gastroenterology* 122: 1886-1897, 2002.
292. **Turler A, Kalff JC, Moore BA, Hoffman RA, Billiar TR, Simmons RL, and Bauer AJ.** Leukocyte-derived inducible nitric oxide synthase mediates murine postoperative ileus. *Ann Surg* 244: 220-229, 2006.
293. **Turler A, Moore BA, Pezzone MA, Overhaus M, Kalff JC, and Bauer AJ.** Colonic postoperative inflammatory ileus in the rat. *Ann Surg* 236: 56-66, 2002.
294. **Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, and Hutchinson IV.** An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 24: 1-8, 1997.
295. **Unno T, Matsuyama H, Sakamoto T, Uchiyama M, Izumi Y, Okamoto H, Yamada M, Wess J, and Komori S.** M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> muscarinic receptor-mediated contractions in longitudinal smooth muscle of the ileum studied with receptor knockout mice. *Br J Pharmacol* 146: 98-108, 2005.
296. **Vallance BA, Blennerhassett PA, Deng Y, Matthaei KI, Young IG, and Collins SM.** IL-5 contributes to worm expulsion and muscle hypercontractility in a primary *T. spiralis* infection. *Am J Physiol* 277: G400-408, 1999.
297. **Van Assche G, Barbara G, Deng Y, Lovato P, Gauldie J, and Collins SM.** Neurotransmitters modulate cytokine-stimulated interleukin 6 secretion in rat intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology* 116: 346-353, 1999.
298. **Van Assche G and Collins SM.** Leukemia inhibitory factor mediates cytokine-induced suppression of myenteric neurotransmitter release from rat intestine. *Gastroenterology* 111: 674-681, 1996.
299. **van der Veek PP, van den Berg M, de Kroon YE, Verspaget HW, and Masclee AA.** Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 100: 2510-2516, 2005.
300. **van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GN, and Woody J.** Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor

- chimeric monoclonal antibody (cA2) . *Gastroenterology* 109: 129-135, 1995.
301. **Vermillion DL and Collins SM.** Increased responsiveness of jejunal longitudinal muscle in *Trichinella*-infected rats. *Am J Physiol* 254: G124-129, 1988.
302. **Vermillion DL, Huizinga JD, Riddell RH, and Collins SM.** Altered small intestinal smooth muscle function in Crohn's disease. *Gastroenterology* 104: 1692-1699., 1993.
303. **Vrees MD, Pricolo VE, Potenti FM, and Cao W.** Abnormal motility in patients with ulcerative colitis: the role of inflammatory cytokines. *Arch Surg* 137: 439-445; discussion 445-436., 2002.
304. **Wang J, Krysiak PS, Laurier LG, Sims SM, and Preiksaitis HG.** Human esophageal smooth muscle cells express muscarinic receptor subtypes M<sub>1</sub> through M<sub>5</sub>. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 279: G1059-1069, 2000.
305. **Wang YX, Dhulipala PD, Li L, Benovic JL, and Kotlikoff MI.** Coupling of M<sub>2</sub> muscarinic receptors to membrane ion channels via phosphoinositide 3-kinase gamma and atypical protein kinase C. *J Biol Chem* 274: 13859-13864, 1999.
306. **Ward SM, Burns AJ, Torihashi S, and Sanders KM.** Mutation of the proto-oncogene c-kit blocks development of interstitial cells and electrical rhythmicity in murine intestine. *J Physiol* 480 (Pt 1) : 91-97, 1994.
307. **Watanabe M, Ueno Y, Yajima T, Okamoto S, Hayashi T, Yamazaki M, Iwao Y, Ishii H, Habu S, Uehira M, Nishimoto H, Ishikawa H, Hata J, and Hibi T.** Interleukin 7 transgenic mice develop chronic colitis with decreased interleukin 7 protein accumulation in the colonic mucosa. *J Exp Med* 187: 389-402, 1998.
308. **Watanabe Y, Ito M, Kataoka Y, Wada H, Koyama M, Feng J, Shiku H, and Nishikawa M.** Protein kinase C-catalyzed phosphorylation of an inhibitory phosphoprotein of myosin phosphatase is involved in human platelet secretion. *Blood* 97: 3798-3805, 2001.
309. **Wegener JW, Schulla V, Koller A, Klugbauer N, Feil R, and Hofmann F.** Control of intestinal motility by the Cav1.2 L-type calcium channel in mice. *Faseb J* 20: 1260-1262, 2006.
310. **Wehner S, Behrendt FF, Lyutenski BN, Lysson M, Bauer AJ, Hirner A, and Kalff JC.** Inhibition of macrophage function prevents intestinal inflammation and

postoperative ileus in rodents. *Gut*, 2006.

311. **Weisbrodt NW, Pressley TA, Li YF, Zembowicz MJ, Higham SC, Zembowicz A, Lodato RF, and Moody FG.** Decreased ileal muscle contractility and increased NOS II expression induced by lipopolysaccharide. *Am J Physiol* 271: G454-460., 1996.
312. **Wells RW and Blennerhassett MG.** Divergent changes to muscarinic and serotonergic signalling following colitis. *Gut* 54: 1699-1706, 2005.
313. **Wells RW and Blennerhassett MG.** Persistent and selective effects of inflammation on smooth muscle cell contractility in rat colitis. *Pflugers Arch* 448: 515-524, 2004.
314. **White BG, Williams SJ, Highmore K, and Macphee DJ.** Small heat shock protein 27 (Hsp27) expression is highly induced in rat myometrium during late pregnancy and labour. *Reproduction* 129: 115-126, 2005.
315. **Willerford DM, Chen J, Ferry JA, Davidson L, Ma A, and Alt FW.** Interleukin-2 receptor alpha chain regulates the size and content of the peripheral lymphoid compartment. *Immunity* 3: 521-530, 1995.
316. **Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, and Duff GW.** Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 3195-3199, 1997.
317. **Wirtz S, Finotto S, Kanzler S, Lohse AW, Blessing M, Lehr HA, Galle PR, and Neurath MF.** Cutting edge: chronic intestinal inflammation in STAT-4 transgenic mice: characterization of disease and adoptive transfer by TNF- plus IFN-gamma-producing CD4<sup>+</sup> T cells that respond to bacterial antigens. *J Immunol* 162: 1884-1888, 1999.
318. **Won KJ, Suzuki T, Hori M, and Ozaki H.** Motility disorder in experimentally obstructed intestine: relationship between muscularis inflammation and disruption of the ICC network. *Neurogastroenterol Motil* 18: 53-61, 2006.
319. **Woodsome TP, Eto M, Everett A, Brautigam DL, and Kitazawa T.** Expression of CPI-17 and myosin phosphatase correlates with Ca<sup>2+</sup> sensitivity of protein kinase C-induced contraction in rabbit smooth muscle. *J Physiol* 535: 553-564, 2001.

320. **Woodsome TP, Polzin A, Kitazawa K, Eto M, and Kitazawa T.** Agonist- and depolarization-induced signals for myosin light chain phosphorylation and force generation of cultured vascular smooth muscle cells. *J Cell Sci* 119: 1769-1780, 2006.
321. **Xie Z, Su W, Guo Z, Pang H, Post SR, and Gong MC.** Up-regulation of CPI-17 phosphorylation in diabetic vasculature and high glucose cultured vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 69: 491-501, 2006.
322. **Yamada T, Deitch E, Specian RD, Perry MA, Sartor RB, and Grisham MB.** Mechanisms of acute and chronic intestinal inflammation induced by indomethacin. *Inflammation* 17: 641-662, 1993.
323. **Yamada Y, Marshall S, Specian RD, and Grisham MB.** A comparative analysis of two models of colitis in rats. *Gastroenterology* 102: 1524-1534, 1992.
324. **Yamamoto M, Yoshizaki K, Kishimoto T, and Ito H.** IL-6 is required for the development of Th1 cell-mediated murine colitis. *J Immunol* 164: 4878-4882, 2000.
325. **Yildiz A, Yazici H, Cine N, Akkaya V, Kayacan SM, Sever MS, and Erginel-Unaltuna N.** The effect of angiotensin converting enzyme gene polymorphism on chronic allograft dysfunction in living donor renal transplant recipients. *Clin Transplant* 16: 173-179, 2002.
326. **Yonamine Y, Watanabe M, Kinjo F, and Hibi T.** Generation of MHC class I-restricted cytotoxic T cell lines and clones against colonic epithelial cells from ulcerative colitis. *J Clin Immunol* 19: 77-85, 1999.
327. **Zemlickova E, Johannes FJ, Aitken A, and Dubois T.** Association of CPI-17 with protein kinase C and casein kinase I. *Biochem Biophys Res Commun* 316: 39-47, 2004.

## 謝辞

本研究を進行するにあたり、御指導、御助言を賜りました東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室の尾崎博教授、堀正敏助教授、村田幸久助手、唐木英明名誉教授、山口大学大学院連合獣医学研究科獣医薬理学教室の山口晃一助教授に厚く御礼申し上げます。また、IL-1 $\alpha$ / $\beta$  KO マウスを御提供頂いた東京大学医科学研究所の岩倉洋一郎教授、TNF- $\alpha$  KO マウスを御提供頂いた独立行政法人動物衛生研究所の百溪英一チーム長、IL-10 KO マウスを御提供頂いた味の素株式会社の橋本雅棋博士に心より感謝致します。公私共に支えて下さった獣医薬理学教室の室員の皆様、特に御忙しい中、本研究の校正を引き受けて下さった岡田宗善氏、梶田昌裕氏に感謝の意を表します。本研究は多くの動物達の犠牲の上に成り立っています。その霊が慰められるよう心よりお祈り申し上げます。最後に日頃から私を支えて下さる両親および妻の三紗子に感謝致します。