

審査の結果の要旨

氏名 三河 翔馬

制吐剤として用いられているセロトニン3受容体 (5-HT₃R) 阻害薬は、腸管神経および中枢神経の 5-HT₃R を阻害することで嘔吐中枢を抑制し、制吐作用を発揮する。近年、5-HT₃R 阻害薬には抗炎症作用および抗アポトーシス作用が存在することが示唆されているが、その詳しいメカニズムは明らかになっていない。本研究では、抗癌剤である 5-フルオロウラシル (5-FU) による腸管上皮細胞 (IEC) のアポトーシスモデルを用い、制吐剤である 5-HT₃R 阻害薬によるアポトーシス抑制作用機序を解明することを目的としている。

5-FU 誘発性小腸上皮アポトーシス誘導モデルマウスを用いて解析した。アポトーシスは小腸粘膜組織の活性型カスパーゼ3の免疫染色法で評価した。正常な小腸ではアポトーシスを起こしている細胞はほとんど観察されなかったが、5-FU の投与により腸陰窩の IEC にアポトーシスを引き起こした。オンダンセトロン(5 mg/kg, p.o.)の投与は 5-FU 単独投与に比べ有意に IEC におけるアポトーシス細胞の数を減少させた。一方、5-HT₃R 作動薬 mCPBG (3 mg/kg, i.p.)の投与は 5-FU 誘発性アポトーシスを有意に増強した。しかし、mCPBG の単独投与はアポトーシスを引き起こさなかった。また、5-HT_{3A}R 欠損マウスを用いた解析結果から、5-FU 投与による小腸 IEC のアポトーシスは 5-HT_{3A}R 欠損マウスにおいて有意に抑制された。これらの結果より、5-HT₃R の活性化は 5-FU 誘発性アポトーシスを促進する作用を持つこと、そして制吐剤であるオンダンセトロンは、5-HT₃R を抑制し抗アポトーシス作用を発揮することが示唆された。

次に標的細胞として免疫細胞の可能性を明らかにするために、5-HT_{3A}R 欠損マウスの骨髄移植モデルを作製して解析した。結果、骨髄由来細胞特異的に 5-HT_{3A}R を欠損させたキメラマウスにおいても、野生型マウス同様に 5-FU によるアポトーシス誘導が認められた。すなわち、5-HT₃R を発現する免疫細胞は 5-FU による IEC アポトーシス誘導には関与しないことが示唆された。

続いて、5-HT_{3A}R-EGFP レポーターマウスを用いて消化管における 5-HT_{3A}R の発現細胞の同定

を試みた。結果、5-HT_{3A}R は腸管神経と IEC の一部の細胞に発現しており、免疫細胞には発現していなかった。また、5-HT_{3A}R を発現する IEC の一部は 5-HT 含有のエンテロクロマフィン細胞 (EC 細胞) であった。そこで、5-HT_{3A}R を発現する IEC が 5-FU により産生される 5-HT により直接アポトーシスを生じる可能性を検討した。野生型ならびに 5-HT_{3A}R 欠損マウスの小腸より EC 細胞を含む IEC の小腸オルガノイドを作製し、5-FU によるアポトーシス誘導作用について比較した。結果、5-HT_{3A}R 欠損マウスから作成した小腸オルガノイドにおいても、対照と変わらず 5-FU によりアポトーシスを生じた。すなわち、5-HT_{3A}R を発現する IEC が直接 5-FU によって放出された 5-HT によりアポトーシス誘導を生じるのではないことが示唆された。

最後に、EC 細胞の一部が 5-HT_{3A}R を発現することから、5-FU 投与による EC 細胞からの 5-HT 放出に 5-HT_{3A}R が関与する可能性が考えられた。そこで、5-FU を投与したマウスにおける血漿中 5-HT 濃度を測定した。結果、野生型マウスでは 5-FU の投与により血漿中 5-HT 濃度は有意に上昇したが、5-HT_{3A}R 欠損マウスでは 5-FU を投与しても血漿中 5-HT 濃度の増加は認められなかった。末梢血中の 5-HT の 90% は小腸 EC 細胞より放出されることから、小腸 EC 細胞において 5-HT_{3A}R の活性化により 5-HT 放出がオートクライン/パラクライン様に増強される可能性が考えられた。

以上の成績から、制吐剤である 5-HT_{3A}R 阻害薬が 5-FU 誘発アポトーシスを抑制する作用を持つことが示された。その作用機序の一つとして EC 細胞に発現する 5-HT_{3A}R の活性化を介した 5-HT 放出を阻害することに因ると考えられた。放出された 5-HT は標的細胞から炎症性サイトカインを産生することで、5-FU による IEC のアポトーシスを促進すると考えられた。

本研究は、制吐剤である 5-HT_{3A}R 阻害薬が、単に抗がん剤の副作用である悪心や嘔吐を抑制するだけでなく、抗がん剤による IEC のアポトーシス抑制を引きおこすことで、抗がん剤による副作用を抑制する新たな薬理作用を明らかにしたものであり、これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。