

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	梶 原 稜
論文審査担当者	主 査 栗 田 浩 副 査 中 山 淳・梅 村 武 司・各 務 秀 明
論文題目  Water intake releases serotonin from enterochromaffin cells in rat jejunal villi (飲水によるラット空腸壁のエンテロクロマフィン細胞からのセロトニン分泌機構)	
(論文の内容の要旨)  〔背景と目的〕日本では古来より適度な水分を摂取することが健康の秘訣であると言われている。我々は以前、ラットに蒸留水を経口投与することで腸管膜リンパ管の流量、アルブミンの総量が増加し、空腸上部粘膜固有層に局在する3型自然リンパ球(以下 ILC-3)を活性化し、IL-22 の分泌を促進することを報告した。セロトニンはリンパ管の収縮に重要な物質であり、能動輸送に関与することが知られている。セロトニンは腸管に存在するエンテロクロマフィン細胞にて産生され血小板に貯蔵されている。しかしながら、セロトニンによる腸管膜リンパ管におけるリンパ機構の制御に関しての報告はない。そこで、本研究では飲水によるセロトニンを介した空腸微小循環におけるリンパ機構の生理的制御、自然免疫の維持、向上機構の解明を目的とした。  〔方法〕ラット (SD オス 10-12 週齢) を使用した。蒸留水 (3mL) は経口投与し、セロトニン、5-HT <sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるケタンセリン、セロトニン受容体非特異的拮抗薬であるメチセルジドは静脈投与した。門脈血、腸管膜リンパ管よりリンパ液を採取し、それぞれ流量を測定し、ELISA 法にてセロトニン、アルブミン、IL-22 の濃度を測定した。また、空腸を摘出し、蛍光染色、鍍銀染色を行った。さらに空腸粘膜固有層から ILC-3 をセルソーターにて単離し、セロトニン 10 <sup>-6</sup> M を加えた培養液にて培養し、RT-PCR で IL-22 の mRNA の発現を調べた。  〔結果〕蒸留水経口投与後に摘出した空腸上皮にてセロトニンの発現が有意に増加し、エンテロクロマフィン細胞中の好銀性の顆粒が有意に減少した。また、蒸留水経口投与後に門脈、腸管膜リンパ管において流量、セロトニンの総量が有意に増加し、門脈におけるセロトニンの総量は腸管膜リンパ管の約 1000 倍であった。次にセロトニン 10 <sup>-5</sup> M (0.3mL)、5-HT <sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるケタンセリン 10 <sup>-6</sup> M (0.3mL) をそれぞれ静脈投与した。セロトニン投与群において腸管膜リンパ管の流量、アルブミン、IL-22 の濃度がそれぞれ有意に増加した。一方、ケタンセリン投与群では腸管膜リンパ管の流量、アルブミンの濃度が有意に減少したが、IL-22 の濃度に有意な変化は認めなかった。最後に ILC-3 におけるセロトニンの効果について調べた。空腸粘膜固有層より ILC-3 をセルソーターを用いて分離し、セロトニン 10 <sup>-6</sup> M を含む培養液にて培養した。その結果、IL-22 の mRNA が有意に増加した。また、ケタンセリン、メチセルジド持続投与下で蒸留水を経口投与した後に空腸を摘出した。蒸留水のみ投与した群、ケタンセリン投与群においては IL-22 の発現が有意に増加した。一方、メチセルジド投与群は蒸留水のみ投与した群と比較して IL-22 の発現が有意に減少した。  〔結論〕蒸留水経口投与後に空腸上皮内、門脈血中のセロトニンが増加したことは、機械的刺激によりエンテロクロマフィン細胞よりセロトニンが分泌され、門脈を経由し、全身へ運搬されると考えた。またケタンセリン静脈投与により腸管膜リンパ管のリンパ流量、アルブミン濃度が減少したことは、セロトニンは 5-HT <sub>2</sub> 受容体を介して空腸微小循環を制御していると考えられた。さらにセロトニンによって ILC-3 中の IL-22 の mRNA が増加し、メチセルジド持続投与下で蒸留水を経口投与したラットの空腸粘膜固有層の IL-22 が減少したことは、ILC-3 はセロトニンによって 5-HT <sub>2</sub> 受容体とは異なる受容体を介して IL-22 を分泌すると考えられた。これらのことから、飲水によってセロトニンを介した空腸微小循環におけるリンパ機構の生理的制御、自然免疫の維持向上機構がある可能性が示唆された。	