

胆嚢収縮運動に及ぼす cholecystokinin の作用点

—特に迷走神経と知覚神経の関与について—

貞光病院外科

高 橋 徳

ミンガン大学内科

Chung Owyang

モルモットの胆嚢内に挿入した圧トランスデューサーにより cholecystokinin-octapeptide (CCK-8) の胆嚢収縮運動を検討した。CCK-8 (2.5~80ng/kg/min) の投与により用量依存性の胆嚢収縮運動が見られ、低濃度の CCK-8 (2.5~5ng/kg/min) による収縮運動のみが atropine, hexamethonium, 全幹迷切で著明に抑制された。Atropine や hexamethonium は全幹迷切後にみられた CCK-8 (5ng/kg/min) の収縮運動の抑制に対しては、もはや影響をおよぼさなかった。食後に上昇した血中 CCK 値は、CCK-8 (5ng/kg/min) の投与後にみられた血中 CCK 値とほぼ一致した。知覚神経毒 (capsaicin) で前処置したモルモットでも CCK-8 (5ng/kg/min) による収縮運動は著明に抑制された。これらの事実により生理量を上回る高濃度の CCK-8 は直後に胆嚢平滑筋に作用するが、生理的濃度の CCK-8 は迷走神経 (知覚神経—コリン作動性神経節前繊維—節後繊維) を介し胆嚢収縮を促すと考えられる。

Key words: acetylcholine, capsaicin, presynaptic cholinergic neurons, postsynaptic cholinergic neurons, truncal vagotomy

目 的

胆嚢収縮運動は、主として、食後に十二指腸粘膜や空腸粘膜から血中に放出される cholecystokinin (CCK) によって調節されている。しかしこの血中に放出された CCK がいかなる機序で胆嚢収縮を促すのかはいまだに一定の見解が得られていない。従来、in vitro の muscle strip を用いた実験において CCK の胆嚢収縮作用は atropine で拮抗されず、CCK は神経系を介さず平滑筋に直接作用すると考えられてきた¹⁾²⁾。ところが in vivo の実験では CCK の胆嚢収縮作用は atropine で拮抗され、CCK はコリン作動性神経を介してその収縮運動を発現させる可能性が示唆されている^{3)~9)}。そこで、今回、われわれは、in vivo の実験系を用い、atropine や ganglion blocker である hexamethonium の CCK-octapeptide (CCK-8) による胆嚢収縮運動に及ぼす影響を検討した。さらにこの CCK-8 の胆嚢収縮運動に対する全幹迷走神経切離 (以下全幹迷切) や知覚神経毒 (capsaicin) の効果も合わ

せて検討し、CCK-8 による胆嚢収縮運動には迷走神経内のコリン作動性神経と知覚神経の両者が関与しているという興味ある知見を得たので報告する。

対象と方法

ケタラル (50mg/kg, 筋注) 麻酔下の雄モルモット (体重350~400g) を用い、Hould ら¹⁰⁾ の報告のごとく胆嚢底部より胆嚢内に圧トランスデューサー (Miller micro-tip catheter, PC 350, Millar Instruments Inc., Houston, TX) を挿入し、胆嚢内圧の変化をレコーダー上に記録した。胆嚢への神経支配や血行支配を温存するため胆嚢管は結紮していない。胃の拡張による幽門胆嚢反射¹¹⁾ を防ぐ理由から胃前庭部よりドレナージカテーテルを挿入した。種々の濃度の CCK-8 (2.5~80ng/kg/min) は頸静脈より挿入したカテーテルを用いて2分間持続投与した。20分毎に、同じ濃度の CCK-8 を3回反復投与し、同じ収縮高 (control) が得られた時点で、atropine, hexamethonium を前処置し、control の収縮高と比較した。atropine, hexamethonium は、それぞれ、50 μ g/kg, 20mg/kg の one shot 静注に続き、20 μ g/kg/hr, 10mg/kg/hr で15分間持続静注した。全幹迷切は両側頸部で行い、30分

後に, CCK-8を投与し, control と比較した。

30分間の chow meal (Robert Laboratory Chow # 5002, Purina Millus Inc., St. Louis, MO)投与後や, 種々の濃度の CCK-8 (2.5~20ng/kg/min)の10分間の持続投与後, 心臓穿刺により採血し血中 CCK 値を測定した。血中 CCK 値の測定には既報の, ラット acinar cell を使用する bioassay 法を用いた¹²⁾。

知覚神経毒 (capsaicin) は, 知覚神経末端から放出される神経伝達物質を枯渇させることが知られており, Maggi ら¹³⁾の報告に従い, 2日間で総量55mg 投与 (皮下注) し, capsaicin 投与後4日目に実験に使用した。有意差の検定には, paired t test を用いた。

結 果

静止時の胆嚢内圧は 12.4 ± 1.5 cmH₂O であり, 2分間の CCK-8 (2.5~80ng/kg/min)の投与により用量依存性の胆嚢収縮運動が見られた。低濃度の CCK-

8 (2.5~5ng/kg/min) による収縮運動は atropine, hexamethonium, truncal vagotomy (TV; 全幹迷切) で著明に抑制された。しかし, 高濃度の CCK-8 (10~80 ng/kg/min) による収縮運動は atropine, hexamethonium, 全幹迷切で全く影響を受けなかった (Fig. 1, 2, 3)。atropine による CCK-8 に対する抑制率は CCK-8 (2.5ng/kg/min) で $90.5 \pm 4.5\%$, CCK-8 (5ng/kg/min) で $53.5 \pm 8.9\%$ であり, hexamethonium の前処置や全迷切後でもほぼ同程度の抑制率であった。atropine や hexamethonium は全幹迷切後にみられた CCK-8 (5ng/kg/min) の胆嚢収縮運動の抑制に対しては, もはや影響をおよぼさなかった (Fig. 4)。

空腹時の血中 CCK 値は 1.9 ± 0.3 pM で, 食後には 7.8 ± 1.8 pM に上昇した。この食後に上昇した CCK 値は, CCK-8 (5ng/kg/min) の10分間の投与後にみられ

Fig. 1 Effects of atropine on CCK8 infusion (2.5~80ng/kg/min)-induced gallbladder contraction (mean \pm SE, n=5, *p<0.05).

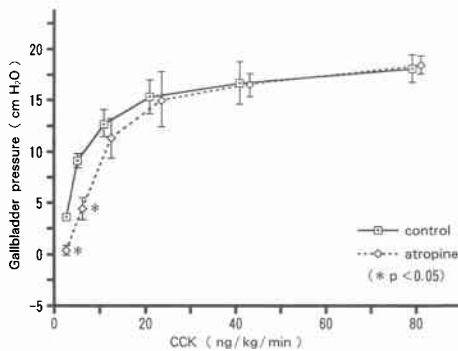


Fig. 2 Effects of hexamethonium (C₆) on CCK8 infusion (2.5~80ng/kg/min)-induced gallbladder contraction (mean \pm SE, n=5, *p<0.05).

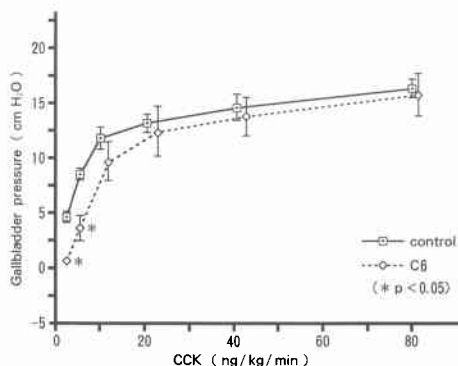


Fig. 3 Effects of truncal vagotomy (TV) on CCK8 infusion (2.5~80ng/kg/min)-induced gallbladder contraction (mean \pm SE, n=5, *p<0.05).

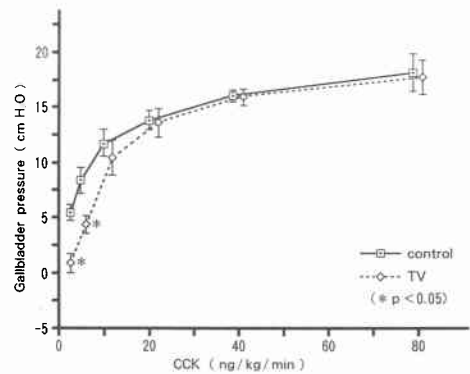


Fig. 4 Effects of atropine and hexamethonium (C₆) on CCK8 infusion (5ng/kg/min)-induced gallbladder contraction after truncal vagotomy (TV) (mean \pm SE, n=5, *p<0.05).

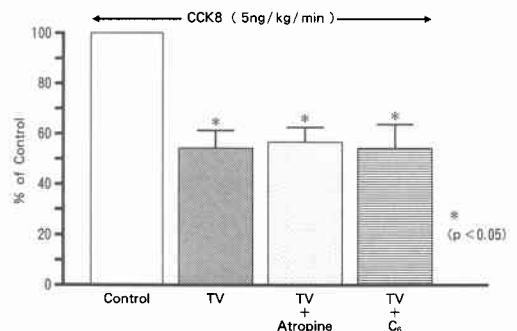
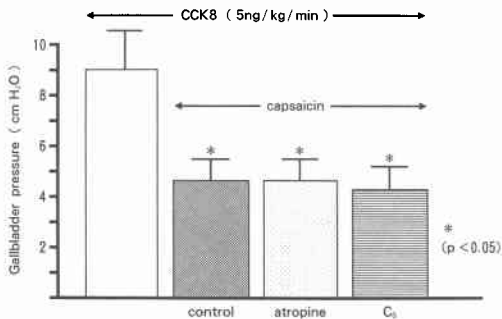


Fig. 5 Effects of chronic pretreatment of capsaicin on CCK8 infusion (5ng/kg/min)-induced gallbladder contraction with and without atropine and hexamethonium (C_6) (mean \pm SE, n=5, *p<0.05).



た血中 CCK 値 (8.4 \pm 2.6pM) とほぼ一致した。高濃度の CCK-8 (10~20ng/kg/min) の投与では著明な血中 CCK 値の上昇 (>10pM) がみられた。Capsaicin で前処置したモルモットでは CCK-8 (5ng/kg/min) による胆嚢収縮運動は atropine や hexamethonium と同程度に抑制された。しかし、atropine や hexamethonium は, capsicin で抑制された CCK-8 の胆嚢収縮運動には, もはや影響を及ぼさなかった (Fig. 5)。

考 察

CCK-8 (5ng/kg/min) の10分間投与後にみられた血中 CCK 値は食後に上昇した CCK 値とほぼ一致し, CCK-8 の5ng/kg/min という投与速度は, モルモットにおいて, 血中のほぼ生理的な CCK の上昇を促す濃度と考えられる。そしてこの生理量である低濃度の CCK-8 (2.5~5ng/kg/min) による胆嚢収縮運動は atropine で著明に抑制された。In vivo におけるこのような atropine の抑制作用はヒト⁵⁾⁶⁾, イヌ⁸⁾⁹⁾, ネコ³⁾⁴⁾, オッポサム⁷⁾などですでに報告され, CCK-8 のコリン作動性神経を介する間接作用が示唆されている。しかし, この CCK-8 の作用点がコリン作動性神経の節前繊維に存在するのか, または節後繊維に存在するのかについての検討は今まで試みられていなかった。

今回われわれが初めて明らかにしたごとく, 生理量の CCK-8 による胆嚢収縮運動は ganglion blocker である hexamethonium や全幹迷切でも atropine と同程度に抑制された。そして, atropine や hexamethonium は全幹迷切後にみられた CCK-8 (5ng/kg/min) の胆嚢収縮運動の抑制に対しては, もはや影響をおよぼさなかった。これらの結果より生理量の CCK-8 は主

にコリン作動性神経の節前繊維にその作用点を持つことが示唆された。われわれは, 全幹迷切を頸部のレベルで行っており, CCK-8 の作用点はこれより上位のコリン作動性神経の節前繊維である可能性が考えられた。しかし末梢静脈から投与された CCK-8 は血液脳関門を通過しがたく, CCK-8 が直接, 中枢神経系に働く可能性は少ないと考える。末梢から投与された CCK-8 は末梢の何者かに働いて, 間接的にコリン作動性神経の節前繊維に作用すると考えるべきである。最近, Raybould ら¹⁴⁾は末梢から投与された CCK-8 が, 胃壁内の知覚神経の興奮を促し, この興奮が中枢神経系にまで上行し, 最終的に胃運動の抑制に関与している可能性を報告している。そこで今回, われわれは, CCK-8 の知覚神経系への作用点を調べる目的で, CCK-8 による胆嚢収縮運動に与える知覚神経毒 (capsaicin) の影響についても検討を加えた。Capsaicin で前処置したモルモットにおいても, 生理量の CCK-8 (5ng/kg/min) による胆嚢収縮運動は, 著明に抑制された。そして, atropine や hexamethonium は, capsaicin で抑制された CCK-8 の胆嚢収縮には, もはや影響を及ぼさなかった。これらの事実により, 血中に上昇した生理量の CCK-8 は主に末梢の知覚神経の興奮を介して, 胆嚢の収縮を促すと考えられる。CCK-8 による知覚神経の興奮は, 迷走神経内を上行し, 中枢神経系内でシナプスをコリン作動性神経の節前繊維に変え, そしてこの興奮が今度は, 迷走神経内を下行し, さらに末梢の節後繊維にまで伝わり, 節後繊維末端からの, アセチルコリン放出により胆嚢収縮運動が発現するものと考えられる。Zarbin ら¹⁵⁾は, 1981年に autoradiography を用い, CCK-8 受容体の迷走神経内の存在を示唆しており, しかもこの迷走神経内の CCK-8 受容体は多分知覚神経に局在するであろうと報告している。今回のわれわれの結果と考え合わせ, 興味深い内容である。

従来の in vitro の muscle strip を用いた実験において, CCK-8 の胆嚢収縮運動は atropine や tetrodotoxin で影響を受けず, CCK-8 は胆嚢平滑筋に直接作用すると考えられてきた¹²⁾。これは, in vitro の muscle strip には上記の pathway (知覚神経の興奮—迷走神経—中枢神経系—コリン作動性神経の節前繊維—節後繊維) が含まれていないため, 当然の結果と思われる。高濃度の CCK-8 (10~80ng/kg/min) による収縮運動は atropine, hexamethonium, 全幹迷走で全く影響を受けなかった。このような高濃度の CCK-8 (>10ng/kg/min) 投与後の血中 CCK 値は, 食後に見られた血中

CCK 値をはるかに上回り、非生理量と考えられた。したがって、生理量を上回る高濃度の CCK-8は、神経系を介さず直接に胆嚢平滑筋に作用すると思われる。

全幹迷切の胆嚢収縮運動に及ぼす影響については、種々の報告があり現在のところ全く意見の一致をみていない。これには、種族差を含めて種々の原因が考えられるが、主に、使用する CCK-8の濃度と全幹迷切後のいつの時期に実験を行ったかが重要な要素と考えられる。使用する CCK-8の濃度については、既述したように、生理量のみ CCK-8が神経系を刺激し、生理量を上回る高濃度の CCK-8は、胆嚢平滑筋に直接作用するため、高濃度の CCK-8を用いると全幹迷切の効果は現われにくいものと考えられる¹⁶⁾¹⁷⁾。全幹迷切後30分に行ったわれわれの実験では生理量の CCK-8による胆嚢収縮運動は著明に抑制された。Friedら¹⁸⁾もイヌの全幹迷切後の急性実験で同様の結果(内因性 CCKによる胆嚢収縮運動の著明な抑制)を報告している。ヒトにおいて、全幹迷切後1か月以内は胆嚢収縮運動は著明に低下するが、これは、数か月の経過により、術前と同じ程度に回復することをわれわれも確認しており¹⁹⁾、全幹迷切後いったん低下した胆嚢収縮運動が時間経過とともに何らかの機序で回復するものと思われる。Takahashiら²⁰⁾は、オポッサムを用い、全幹迷切後1週間で低下した胆嚢収縮運動が2週以降には回復するのを確認している。また、全幹迷切後数か月～数年の検討では CCK-8に対して感受性が増加し(supersensitivity)、CCK-8による胆嚢収縮運動が著しく増強する現象も報告されている⁵⁾²¹⁾²²⁾。全幹迷切という知覚神経およびコリン作動神経の節前繊維が切断された状況下では中枢神経系との連絡は途絶される。このような状況下において、中枢神経系から全く隔離された末梢の胆嚢壁内神経そうで神経間の新たな network が形成される可能性をわれわれは考えている。このことが全幹迷切後 CCK-8に対する supersensitivity の機序の解明につながるかも知れないと考え現在検討中である。

文 献

- 1) Amer MS: Studies with cholecystokinin in vitro. III. Mechanism of the effect on isolated rabbit gallbladder strips. *J Pharmacol Exp Ther* 183 : 527—534, 1972
- 2) Yau WM, Makhlof GM, Edwards LE et al: Mode of action of cholecystokinin and related peptides on gallbladder muscle. *Gastroenterology* 65 : 451—456, 1973
- 3) Behar J, Biancani P: Effect of cholecystokinin and the octapeptide of cholecystokinin on the feline sphincter of Oddi and gallbladder. *J Clin Invest* 66 : 1231—1239, 1980
- 4) Behar J, Biancani P: Pharmacologic characterization of excitatory and inhibitory cholecystokinin receptors of the cat gallbladder and sphincter of Oddi. *Gastroenterology* 92 : 764—770, 1987
- 5) Fisher RS, Rock E, Malmud LS: Cholinergic effects on gallbladder emptying in humans. *Gastroenterology* 89 : 716—722, 1985
- 6) Gullo L, Bolondi L, Priori P et al: Inhibitory effect of atropine on cholecystokinin-induced gallbladder contraction in man. *Digestion* 29 : 209—213, 1984
- 7) Hanyu N, Dodds WJ, Layman RD et al: Mechanism of cholecystokinin-induced contraction of the opossum gallbladder. *Gastroenterology* 98 : 1299—1306, 1990
- 8) Strah KM, Pappas TN, Melendez RL et al: Contrasting cholinergic dependence of pancreatic and gallbladder responses to cholecystokinin. *Am J Physiol* 250 : G665—G669, 1986
- 9) Takahashi I, Suzuki T, Aizawa I et al: Comparison of gallbladder contraction induced by motilin and cholecystokinin in dogs. *Gastroenterology* 82 : 419—424, 1982
- 10) Hould F, Fried GM, Fazekas AG et al: Progesterone receptors regulate gallbladder motility. *J Surg Res* 45 : 505—512, 1988
- 11) Debas HT, Yamagishi T: Evidence for a pyloro-cholecystic reflex for gallbladder contraction. *Ann Surg* 190 : 170—175, 1979
- 12) Louie DS, May D, Miller P et al: Cholecystokinin mediates feedback regulation of pancreatic enzyme secretion in rats. *Am J Physiol* 250 : G252—G259, 1986
- 13) Maggi CA, Santicoli P, Renzi D et al: Release of substance P- and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity and motor response of the isolated guinea pig gallbladder to capsaicin. *Gastroenterology* 96 : 1093—1101, 1989
- 14) Raybould HE, Tache Y: Cholecystokinin inhibits gastric motility and emptying via a capsaicin-sensitive pathway in rats. *Am J Physiol* 255 : G242—G246, 1988
- 15) Zarbin MA, Warmusly JK, Innis RB: Cholecystokinin receptors: presence and axonal flow in the rat vagus nerve. *Life Sci* 29 : 697—705, 1981
- 16) Pellegrini CA, Lewin M, Patti MG et al:

- Gallbladder filling and response to cholecystokinin are not affected by vagotomy. *Surgery* 98 : 452—458, 1985
- 17) Shaffer EA : The effect of vagotomy on gallbladder function and bile composition in man. *Ann Surg* 195 : 413—418, 1982
- 18) Fried GM, Ogden WD, Greeley G et al : Correlation of release and actions of cholecystokinin in dogs before and after vagotomy. *Surgery* 93 : 786—791, 1983
- 19) Takahashi T, Yamamura T, Utsunomiya J : Pathogenesis of acute cholecystitis after gastrectomy. *Br J Surg* 77 : 536—539, 1990
- 20) Takahashi I, Dodds WJ, Hogan WJ et al : Effect of vagotomy on biliary-tract motor activity in the opossum. *Dig Dis Sci* 33 : 481—489, 1988
- 21) Pitt HA, Doty JE, DenBesten L et al : Altered sphincter of Oddi phasic activity following truncal vagotomy. *J Surg Res* 32 : 598—602, 1982
- 22) Masclee AAM, Jansen JBMJ, Driesen WMM et al : Effect of truncal vagotomy on cholecystokinin release, gallbladder contraction, and gallbladder sensitivity to cholecystokinin in humans. *Gastroenterology* 98 : 1338—1344, 1990

**Site of Action of Cholecystokinin on the Gallbladder Contraction
—Participation of Vagal Nerve and Sensory Neurons—**

Toku Takahashi and Chung Owyang*
Sadamitsu Hospital

*Department of Internal Medicine, University of Michigan Medical Center

Gallbladder pressure was measured by a pressure transducer inserted into the gallbladder lumen. Infusion of CCK8 (2.5—80 ng/kg/min) increased gallbladder pressure in a dose-dependent fashion. Atropine, hexamethonium and truncal vagotomy antagonized gallbladder responses to low doses of CCK8 (2.5—5 ng/kg/min) but had no effect on doses above 10 ng/kg/min. Atropine or hexamethonium had no further inhibitory effect on guinea pigs which had undergone truncal vagotomy. Fasted guinea pigs achieved a postprandial peak plasma CCK level of 8 pM, which was most closely approximated by the 5 ng/kg/min intravenous CCK8 infusion. CCK8 (5 ng/kg/min)-induced contraction was significantly reduced by chronic treatment with sensory neurotoxin, capsaicin. Doses of CCK8 which produce physiologic plasma CCK levels are suggested to act via stimulation of sensory neurons and presynaptic cholinergic neurons in a vagal nerve and finally stimulate the release of acetylcholine from nerve terminals of postsynaptic cholinergic neurons, whereas infused doses of CCK8 which produce supraphysiologic CCK levels may act directly on gallbladder smooth muscle.

Reprint requests: Toku Takahashi Sadamitsu Hospital
471-153, Ishimori Kanno-cho, Kakogawa City, 675 JAPAN
