

Effects of Exogenous Injections of Cholecystokinin-8 and Gastrin-I on Gastroduodenal Motility and Feed Intake in Sheep

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 上野, 孝志, 大谷, 文博 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001951

ヒツジの採食量と消化管運動に及ぼすコレシストキニン-8 およびガストリン-I投与の影響

上野孝志・大谷文博¹⁾

家畜育種繁殖部

¹⁾ 北海道農業研究センター

要 約

ヒツジの採食量と消化管運動に及ぼす外因性の消化管ホルモン、コレシストキニン-8 (CCK-8) およびガストリン-I投与の効果について調べた。

採食量は、給飼開始後10分以内では消化管ホルモン投与によって生理食塩水投与(対照)の47~67%に抑制されたが、その後は代償的に増加する傾向が認められた。4時間の採食総量は、有意ではないが対照と比べて消化管ホルモン投与で幾分少なめであった。

第四胃運動では、CCK-8 およびガストリン-I投与の約1~2分後には活動電位群が消失したが、その抑制効果の持続時間は投与量の多いほど長く、用量反応を示した。また、抑制解除後の第四胃運動の頻度は、生理食塩水投与の約1.5倍程度まで急激に増加した後、徐々に投与前の水準にまで戻った。一方、第一胃運動では、それらの投与によって運動抑制は認められるものの、明確な用量反応は認められなかった。また、十二指腸では明確な活動電位群は観察されなかったが、生理食塩水投与と比べて消化管ホルモンの投与によって活動電位の発生が抑制される傾向が認められた。

CCK-8 およびガストリン-Iの第四胃運動抑制効果には明確な差異が認められなかったが、ガストリン-Iの第一胃運動抑制効果はCCK-8に比べて大きく、両消化管ホルモンに対する消化管運動の反応性は消化管の部位で異なる傾向を示した。

キーワード：ヒツジ、CCK、ガストリン、採食量、消化管運動

緒 言

栄養摂取に関わる採食量調節は、家畜の生命や生産性の維持にとって重要な生理的機能であるが、そこには中枢レベルでは視床下部等が、末梢レベルにおいては消化管や肝臓等が関与し、さらに自律神経系や血液をはじめとする体液が情報伝達系として関与する複雑な機構である。

一つのモデルでは、末梢の伸展受容器や化学受容器等からのシグナルが求心性神経経路で中枢に伝達され、採食行動の抑制や促進が引き起こされるとされている。

例えば、消化物の消化管への流入によって消化管が物理的に拡張したり、消化物中のアミノ酸や脂肪酸によって消化管ホルモンの分泌が引き起こされることにより採食行動が抑制されると考えられている⁵⁾。とくに、消化管ホルモンの一種であるCCKやガストリンは、多くの動物種で採食量を低下させ^{4,9,16)}、短期の飽食因子として作用することが知られている。これら腸管ペプチドは末梢(消化管)だけではなく中枢(脳)にも存在することが明らかにされているが、それらの作用機序についてまだ十分には明らかにされていない¹⁹⁾。

哺乳類の消化管運動に対するCCKやガストリンの作用は、平滑筋に対する弛緩作用で、その効果は消化管の部位によって異なることも報告されている。GroVum[®]は、

ヒツジの第二胃運動と採食量に及ぼすCCKやガストリンなど数種の消化管ホルモンの作用を調べ、いずれも抑制効果のあることを報告している。また、McLeayとWong¹¹⁾はin vitroの実験で、反すう動物の4つの胃の運動はガストリン様ペプチドに対して、それぞれ異なる反応と感受性を示すことを報告した。一方、十二指腸運動については、CCKの促進作用を認めた犬での報告¹²⁾と促進作用とともに抑制作用も認めたラットでの報告⁷⁾がある。

本報告では、ヒツジにおける消化管ホルモンCCKおよびガストリンの影響を明らかにするため、それらの合成品であるCCK-8およびガストリン-Iを外因性に投与して採食行動と消化管運動への影響を調べるとともに消化管運動の反応性の部位差について考察した。

材料および方法

供試動物：実験には日本コリデール種の去勢雄3頭（体重は約40kg）を用いた。実験に先立ち消化管各部位への電極の装着手術を行った。ヒツジはペントバルビタール麻酔下（40mg/kg体重）で左側横臥に保定し、塩酸プロカインで局所麻酔を行った後、最後肋骨近傍を開腹して消化管を露出し、図1に示した第一胃の背囊部、第四胃および十二指腸の中央部にそれぞれ針電極（単極）2本を一組として約1cm間隔で筋層に刺し、脱落を防ぐため縫合糸で周囲に固定した。針電極にはステンレス製の釣針を細工して先端部以外をカシューで絶縁したものを用いた。電極に接続した各リード線はまとめて腹腔壁の数カ所に固定し、その先端を右側脇腹の皮膚表面に露出させた。実験には手術後二週間以降の回復を待って供した。

ヒツジは、術後より室温20℃、湿度60%一定に調節されたズートロン内の環境実験室³⁾に設置した個体ケージに収容し、飼料はイタリアンライグラスの乾草ウエファアの

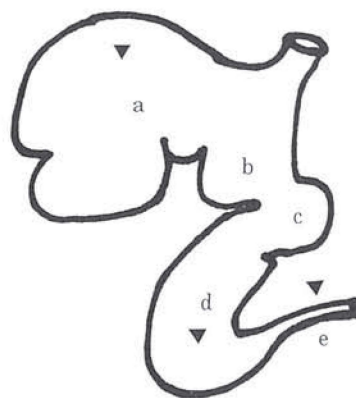


Figure 1. Schematic diagram of ruminant stomach and duodenum : a, rumen ; b, reticulum ; c, omasum ; d, abomasum ; e, duodenum ; Electrodes were placed in each part of digestive organ (▼)

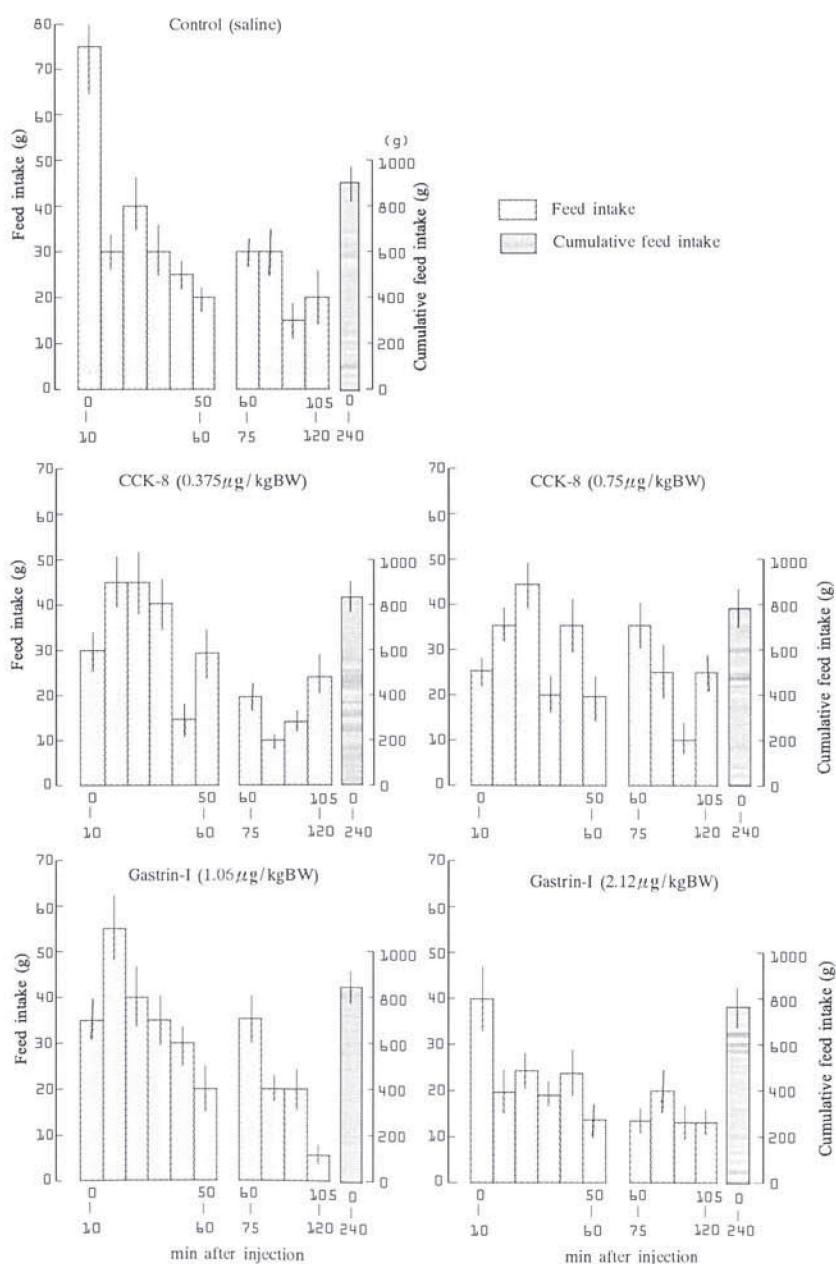


Figure 2. Effects of exogenous injections of CCK-8 and Gastrin-I on feed intake.

みを一日4時間(10:00-14:00)給与した。飲水と鈣塩は自由に摂取させた。

測定：顎運動は、実験直前に左側咬筋に単極のステンレス針電極一対を留置し、また、消化管運動は、第一胃、第四胃および十二指腸の各部位(図1)へ装着された電極のリード線を生体アンプ(AB-820G, 日本光電)に導き、筋電図波形をオシログラフで確認しながら感熱式記録計(WT-685G)のチャート上に記録した。これら筋電図の記録は、飼料給与中の4時間連続して行った。消化管運動の頻度は、筋電図上に記録される単位時間(5分)当たりの活動電位群(バースト)の出現頻度からもとめた。

投与した2種類の消化管ホルモン、合成CCK-8(蛋白質研究所, 大阪)およびガストリン-1(シグマ, USA)は、それぞれ1mlの生理食塩水に溶解し、CCK-8は0.375および0.75 μ g/kg体重、ガストリン-1は1.06および2.12 μ g/kg体重を、また、対照には生理食塩水のみを投与した。これらは給飼と同時に頸静脈より注射筒で一回投与した。採食量は、給飼後より1時間は10分おきに、1~2時間は15分おきに測定し、さらに4時間後に測定した。なお、それぞれの投与実験は処理の影響を考慮して隔日に行った。

得られたデータの統計処理はt-検定によって行った。

結 果

採食量：採食行動の抑制は、CCK-8およびガストリン-1の投与後1~2分以内に現れた。それまで継続していた採食行動が途切れ、頭部をもたげて周囲を見渡し戸惑いをみせる行動を示した。図2にこれら消化管ホルモン投与による採食量の変化を示した。給飼開始から10分間の採食量は、生理食塩水投与と比べて消化管ホルモン投与ではその投与水準に関わらず有意($p<0.01$)に減少した。生理食塩水投与と比較したその抑制の程度は、47~67%であったが、この10分間の採食抑制には、明確

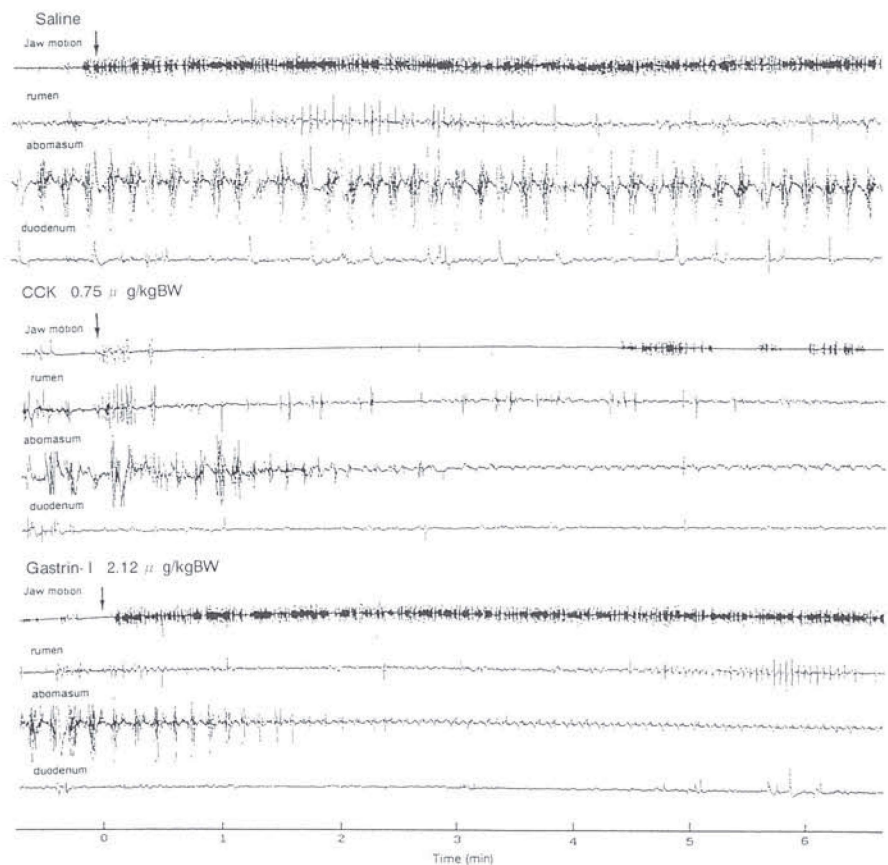


Figure 3. Typical electromyographic activities of rumen, abomasum and duodenum after saline, CCK-8 and Gastrin-I injections.

な用量反応は認められなかった。ガストリン-1の2.12 μ g投与を除いた他の投与水準では、投与後10~30又は40分の間に代償的な採食量の増加が認められた。また、両消化管ホルモンの投与は用量反応的に採食総量を減少させ、対照と比較したそれらの減少割合は、CCK-8が10%, 13%, ガストリン-1が9%, 15%であったが有意差は認められなかった。

消化管運動：顎運動と消化管各部位について得られた筋電図を図3に例示した。CCK-8の投与は顎運動を抑制したが、ガストリン-1投与では抑制効果はほとんど認められなかった。

第一胃では生理食塩水投与で、15~20秒間隔で2つのタイプの運動(A運動およびB運動⁸⁾)が認められた。消化管ホルモンの投与により、活動電位群の発生が抑制された。

第四胃では明確な棘波状の活動電位群が認められ、その頻度は生理食塩水投与で10秒前後の間隔を置いて毎分5~6回であった。両消化管ホルモンの投与によって第四胃運動は抑制された。すなわち、活動電位群の発生頻度は消化管ホルモン投与後1~2分以内に抑制が始まり、その抑制はCCK-8では21~22分間、ガストリン-

Iでは32～33分間にわたって継続した。これら抑制の持続時間には用量反応が認められた。

十二指腸で得られたの活動電位は微弱で明確ではなかったが、両消化管ホルモンの投与によって抑制される傾向が認められた。

第一胃および第四胃における活動電位群の発生頻度を図4に示した。生理食塩水投与での頻度は、第一胃で約10～15回/5分、第四胃で約20～25回/5分で、第一胃および第四胃の活動電位群の発生頻度に及ぼす生理食塩水投与の影響は全く認められなかった。一方、ホルモン投与の影響については、第一胃運動ではCCK-8よりガ

ストリン-Iの方が抑制効果が大きい、第四胃運動では両ホルモンの抑制効果に大きな差は認められなかった。

消化管ホルモンの効果の消失により、抑制されていた胃運動も再び回復に向かうが、第四胃においては一過性に対照よりも大きく増加する著しいリバウンドが認められた。その程度は投与量によって異なり、いずれのホルモンにおいても用量の少ない処理では投与後1時間以内に対照とほぼ同じ水準まで回復したのに対し、多用量の投与では1時間では回復せず、対照の1.2～1.5倍の胃運動増加を示した。一方、第一胃においてはCCK-8、ガ

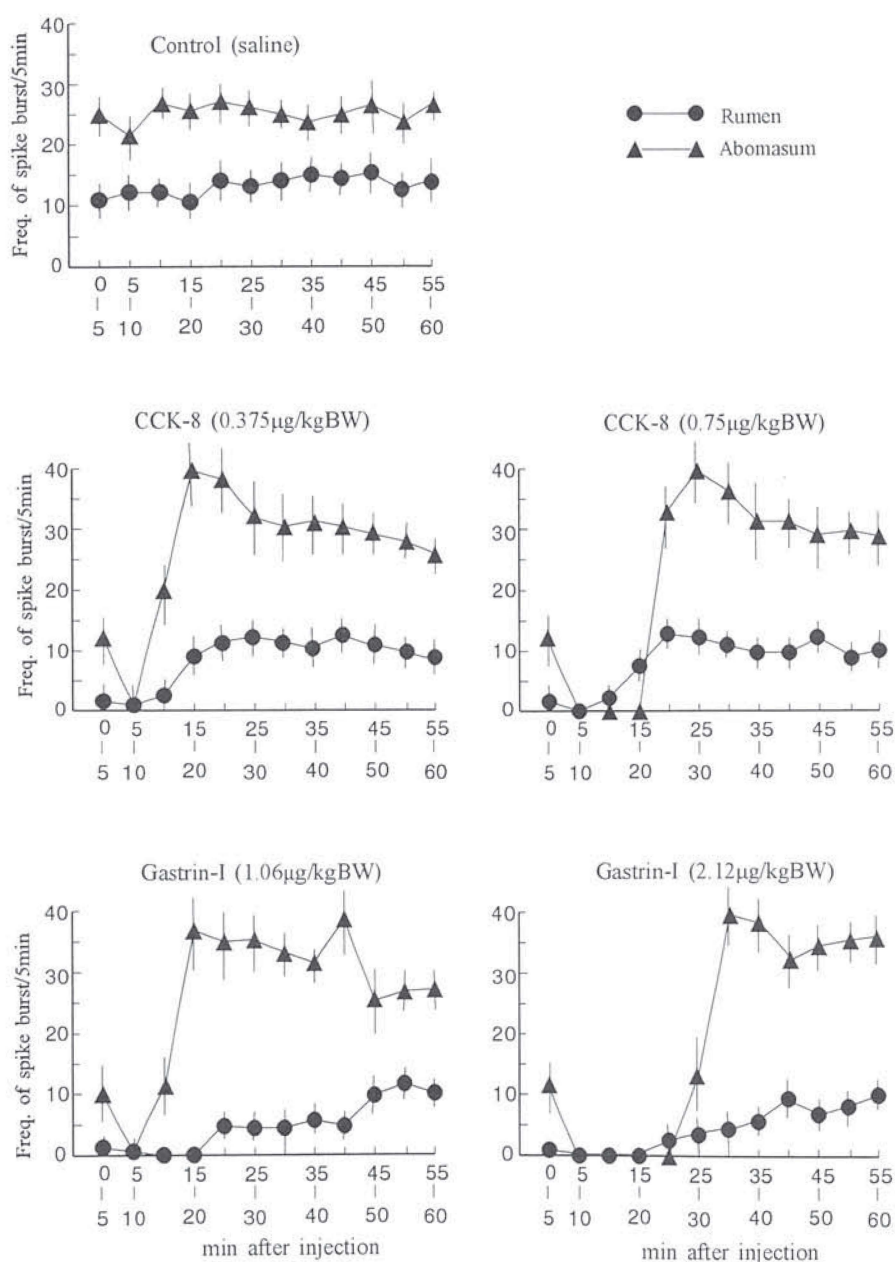


Figure 4. Effects of exogenous CCK-8 and Gastrin-I on frequency of ruminal and abomasal spike bursts.

ストリン-Iともに消化管運動を抑制するものの用量反応は明確ではなく、抑制解除後のリバウンドも認められなかった。

考 察

消化管ホルモンの頸静脈投与後、2～5分以内に採食行動が中断し、座り込むなど餌に対して関心を示さなくなることをEbenezerら²⁾が豚で報告している。我々も、同様な行動を投与1～2分後に認めた。また、かれらはCCKの拮抗剤であるMK-329が用量反応的にCCKの採食抑制効果を減じるとともに行動面でのCCKの影響も抑えることを報告した。近年、CCKの神経調節物質としての機能の一つとして、ヒトでの恐慌障害への関与が示唆されている¹⁹⁾。すなわちラットでの実験結果からCCKが海馬にある錐体神経細胞の興奮を誘発することで不安感が惹起されるという説であるが、今回、不安感と関連のある血圧や心拍数などの生理諸元について調べていないので、観察された行動面での変化がこのようなCCKの神経作用によるものかどうかは不明である。

CCK-8投与によって咀嚼（顎運動）の抑制が認められたのに対して、ガストリン-I投与では抑制が認められなかった。これは図2に示した採食量の抑制と矛盾しているようであるが、咀嚼時間が長く嚥下が遅延したことが採食量の抑制につながったと思われる。消化管ホルモンによって咀嚼の停止と咀嚼時間の延長という採食行動に及ぼす影響が異なるとすれば興味深い点であるが、他にこのような既報もなく例数も少ないので、今後行動面からの検討が必要と思われる。

採食量と消化管運動には因果関係があると思われるが、採食量の低下が図3のような急激な消化管運動低下の直接の原因になるとは考えにくい。実際、4時間の飼料給与後に餌槽中の飼料を除去することによって採食行動を強制的に終了させても、消化管ホルモン投与時のように消化管運動が直ちに低下することはない。消化管ホルモンによる消化管運動の低下、すなわち、胃から下部消化管への食粥流出の遅延（gastric emptying rate）が採食量を低下させていると考える方が妥当である。

Westら¹⁸⁾は、ラットに対して腹腔内へのCCK-8の連続投与を行ない、採食総量では対照区との間に差を認めなかったが、1採食（meal）当たりの採食量の減少と採食頻度の増加という行動面での差異を報告している。われわれは、供試したヒツジの採食行動を数値化して調べていないので客観的なデータとしては示せないが、行動観察からは消化管ホルモンの抑制効果が持続している

間は、採食の中断を頻繁に認めた。このことは採食頻度の増加と1採食当たりの採食量の減少をうかがわせるものである。

我々の実験では、消化管ホルモン投与後1～2分以内のほぼ同時に採食行動の抑制と消化管運動の抑制が観察された。常温下における成ヒツジの心拍出量（毎分）を約80¹⁷⁾として、循環血液量の推定値（体重×7%→約2.80）から試算すると、頸静脈投与された消化管ホルモンは大動脈経路で体内循環に入り、1分以内にはすでに末梢受容体付近に到達していると予想される。

このような消化管ホルモンの末梢投与後、極く短時間でほぼ同時に消化管運動と採食行動の抑制が現れることの解釈として、次のような推論ができる。すなわち、CCK-8の側脳室投与では採食行動の抑制開始が投与後15分と遅いこと¹⁾や、CCK-8は血液脳関門を通過できないこと²⁰⁾、また、横隔膜下迷走神経切断は、腹腔内投与されたCCKの採食抑制効果を阻止する¹⁰⁾ことなどから、消化管や肝臓等の末梢臓器に存在する受容体から中枢への求心性シグナル伝達が採食行動の抑制により大きく関与している可能性が推測される。

CCKの末梢作用に関連してRaybould and Tache¹¹⁾は、ラットを用いてCCK-8による消化管運動の抑制にカプサイシン感受性の迷走神経求心系が関与していることを報告している。

採食量に及ぼす消化管ホルモンの影響は一過性で、投与後一定時間の後には代償的に採食量が増えて、総量では対照区との差は無くなることが報告されている¹⁵⁾。我々の結果でも、消化管ホルモンによる採食量の抑制効果は投与後短時間で消失し、その後、代償的な採食量の増加が認められたが、消化管ホルモンの投与量が増えれば採食量の回復も遅れ、全採食量が少なくなる傾向が認められた。採食抑制効果が長く持続すると、4時間という制限された時間内には採食が回復しないものと思われる。

両消化管ホルモンの運動抑制効果は、第一胃と第四胃で異なった。すなわち、第一胃運動ではCCK-8よりガストリン-Iの方が抑制効果が大きい、第四胃運動では両ホルモンの抑制効果には大きな差は認められなかった。

また投与された消化管ホルモンにより抑制されていた胃運動も一定時間経過後は再び回復に向かうが、第四胃においては一過性に対照よりも大きく増加する著しいリバウンドが認められた。そのリバウンドの持続は投与量によって異なり、いずれのホルモンにおいても用量の少

ない処理では投与後1時間以内にほぼ対照の水準まで回復しているのに対し、用量の多い処理では1時間を経過しても対照の1.2~1.4倍の活発な運動がみられた。一方、第一胃においてはCCK-8、ガストリン-Iともに消化管運動の抑制は認められるものの用量反応は明確でなく、抑制解除後のリバウンドも認められなかった。

このような消化管ホルモンに対する消化管部位の反応差の原因としては、各ホルモン受容体の分布密度の差異などが考えられる。Menozziら¹²⁾によれば、モルモット胃の平滑筋に存在するCCKおよび関連ペプチド受容体は、ともにガストリン受容体であることを報告している。われわれは、第四胃に関しては異なる用量のCCK-8とガストリン-I投与によっても、ほぼ同じような胃運動パターンを得たが、発生分化的に反すう動物の第四胃は単胃動物の胃に相当することを考えると、今回投与した2種類のペプチドは共通のガストリン受容体(CCK-B受容体と同じ)に作用している可能性が考えられる。

消化管ホルモンの受容体にはそれぞれに特異的な拮抗剤があるので、それらを用いて消化管部位の反応差への受容体分布の関与を検証する必要がある。

十二指腸運動に関しては、われわれの実験で得られた活動電位は明確なものではなかったが、CCK投与による運動抑制の傾向を認めた。CCKの十二指腸運動への作用については、促進¹³⁾と促進と抑制の両方⁷⁾が報告されている。後者の事例をラットで報告したGiulianiら⁷⁾によれば、静脈投与されたCCK-8は腹腔神経節の交感神経ニューロンに直接作用することで小腸の運動を抑制するが、小腸上部の神経を刺激することにより小腸運動が促進されると結論している。本実験で明確な活動電位が得られなかったのは、電極装着部位や針電極を用いた測定方法等に問題がある可能性もあるので、十二指腸運動に対する消化管ホルモンの作用について言及するには更に検討が必要である。

引用文献

- 1) Della-Fera, M. A. and Baile, C. A. (1980). CCK-octapeptide injection in CSF and changes in feed intake and rumen motility. *Physiol. Behav.*, 24: 943-950.
- 2) Ebenezer, I. S., De La Riva, C. and Baldwin, B. A. (1990). Effects of the CCK receptor antagonist MK-329 on food intake in pigs. *Physiol. Behav.*, 47: 145-148.
- 3) Furukawa, R., Shishido, H., Yamagishi, N., Ueno, T. and Mitsuhashi, T. (1989). Mechanical structure and functions of Zootron (the climatic facility for domestic animals) in Tsukuba. *JARQ*, 23 (1): 46-52.
- 4) Gibbs, J., Falasco, J. D. and McHugh, P. R. (1976). Cholecystokinin-decreased food intake in rhesus monkeys. *Am. J. Physiol.*, 230: 15-18.
- 5) Glider, J. R. (1994). Role of cholecystokinin in the regulation of gastrointestinal motility. *J. Nutr.*, 124: 1334S-1339S.
- 6) Grovum, W. L. (1981). Factor affecting the voluntary intake of food by sheep. 3. The effect of intravenous infusions of gastrin, cholecystokinin and secretin on motility of the reticulo-rumen and intake. *Br. J. Nutr.*, 45: 183-201.
- 7) Giuliani, S., Lippe, I. T., Maggi, C. A. and Meli, A. (1990). Dual effects of cholecystokinin-octapeptide on duodenal motility of urethane-anesthetized rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 252 (3): 1312-1317.
- 8) 広瀬可恒・大谷 勲 (1952). 山羊の第一胃第二胃の運動機構について、第1報 キモグラフィオンを用いて描画した腹圧及胃内圧曲線に示される前胃運動の考察。日本畜産学会報, 23: 73-78.
- 9) Houpt, T. R., Anika, S. M. and Wolf, N. C. (1978). Satiety effects of cholecystokinin and caerulein in rabbits. *Am. J. Physiol.*, 235: R23-R28.
- 10) Lorenz, D. N. and Goldman, S. A. (1982). Vagal mediation of the cholecystokinin satiety effect in rats. *Physiol. Behav.* 29: 599-604.
- 11) McLeay, L. M. and Wong, M. H. (1989). Excitatory and inhibitory effects of gastrin peptides on gastric motility in sheep. *Am. J. Physiol.*, 257: R388-R395.
- 12) Menozzi, D., Gardner, J. D., Jensen, R. T. and Maton, P. N. (1989). Properties of receptors for gastrin and CCK on gastric smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.*, 257: G73-G79.
- 13) Muller, E. L., Grace, P. A., Conter, R. L., Roslyn, J. J. and Pitt, H. A. (1987). Influence of motilin and cholecystokinin on sphincter of Oddi and duodenal motility. *Am. J. Physiol.*, 253: G679-G683.
- 14) Raybould, H. E. and Tache, Y. (1988). Cholecystokinin inhibits gastric motility and emptying via a capsaicin-sensitive vagal pathway in rats. *Am. J. Physiol.*, 255: G242-G246.
- 15) Savory, C. J. and Gentle, M. (1980). Intravenous injection of cholecystokinin in sheep. *Br. J. Nutr.*, 44: 183-191.

- tions of cholecystokinin and caerulein suppress food intake in domestic fowls. *Experimentia*, 36 (10): 1191-1192.
- 16) Snapir, N. and Glick, Z. (1978). Cholecystokinin and meal size in the domestic fowl. *Physiol. Behav.*, 21 (6): 1051-1052.
- 17) 上野孝志・山岸規昭・大谷文博・四十万谷吉郎・古川良平 (1989). ヒツジの呼吸・循環機能に及ぼす高温環境と運動負荷の影響. *日本生気象学雑誌*, 26 (2): 71-77.
- 18) West, D. B. Fey, D. Woods, S. C. (1984). Cholecystokinin persistently suppresses meal size but not food intake in free-feeding rats. *Am. J. Physiol.*, 246 (5): R776-R787.
- 19) 保田 稔・前田 潔 (1996). 神経ペプチド：CCK と関連ペプチド. *ホルモンと臨床*, 44 (5): 25-35.
- 20) Zhu, X. G., Greeley, Jr. G. H. Lewis, B. G., Lilja, P. and Thompson, J. C. (1986). Blood-CSF barrier to CCK and effect of centrally administered bombesin on release of brain CCK. *J. Neurosci. Res.* 15: 393-403.

Effects of Exogenous Injections of Cholecystokinin-8 and Gastrin- I on Gastroduodenal Motility and Feed Intake in Sheep

Takashi UENO, Fumihiro OHTANI ¹⁾

Department of Animal Breeding and Reproduction

¹⁾ National Agricultural Research Center for Hokkaido Region

Summary

The effects of exogenous injections of gastrointestinal hormones, CCK-8 and Gastrin-I, on feed intake and gastroduodenal motility in conscious sheep were studied in this experiment.

In each sheep initiation of the suppression of feeding behavior was recognized within 1 to 2 min after intravenous injections of all doses of CCK-8 and Gastrin-I. Single bolus injections of CCK-8 and Gastrin-I caused suppression of feeding behavior in the first 1-2 min after injection.

The magnitude of inhibition of feeding were dose related over the range of doses tested. The suppression of feed intake relative to the saline control in the first 10 min after injection were ranged from 47 to 67%. The apparent compensatory increase in feed intake for the decrease at the initial period were observed in the 10-40 min feeding period, however, the total amount of feed intake in 4 hours decreased either by injection of CCK-8 or Gastrin-I.

Abomasal EMG activity was disappeared within 1-2 min after the injections of both CCK-8 and Gastrin-I, and the inhibitory effects lasted 21-22 min and 32-33 min, respectively. The duration of inhibition was longer in high dose injection, and the abomasal motility was suppressed in a dose-dependent manner, whereas suppression of the ruminal motility by CCK-8 and Gastrin-I injections were not in a dose-related manner. After disappearance of inhibitory effect, the abomasal motility abruptly increased by nearly 1.5-fold compared with that of the saline control and then began to gradually decreased to the control level.

The results of these experiments indicate that the gastrointesitinal motilities in sheep show regional differences in its response to exogenous CCK-8 and Gastrin-I