

薬学雑誌  
YAKUGAKU ZASSHI  
III (4, 5) 241-246 (1991)

下痢と生体内アミン: Castor Oil 誘発下痢時におけるラット脳各部位の  
ヒスタミン濃度とセロトニン代謝の変動

櫻井栄一,\* 山崎誠治, 飯塚幸澄, 引地 登, 丹羽弘司  
東北薬科大学

Diarrhea and Biogenic Amines: Regional Changes in Brain  
Histamine Concentration and Serotonin Metabolism  
Following Castor Oil-Induced Diarrhea in Rats

Eiichi SAKURAI,\* Seiji YAMASAKI, Yukisumi IIZUKA,  
Noboru HIKICHI, and Hiroshi NIWA

Tohoku College of Pharmacy, 4-4-1, Komatsushima,  
Aoba-ku, Sendai 981, Japan

(Received December 6, 1990)

Regional changes in concentrations of histamine (HA), serotonin (5-HT) and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) in the rat brain were investigated after diarrhea induced by castor oil. Significant decreases in body weight were observed from the 3rd day after daily oral administration of castor oil (2.5 ml/kg). HA concentrations in most brain regions decreased in diarrhea induced by a single administration of castor oil. A significant decrease was recognized particularly in the case of the hippocampus. The influence has begun to appear in the thalamus and hypothalamus in consecutive (3 d) administration. HA concentration in the striatal and hypothalamic regions of the rat treated with castor oil for 9 d significantly decreased in comparison with the control group. On the other hand, an inhibition of 5-HT turnover was observed in the thalamus at 3 h after a single administration of castor oil. However, this inhibition was not found in rats treated with castor oil for 3 d. Moreover, 5-HT concentration in the midbrain significantly decreased in rats that acquired the adaptability for the occurrence of diarrhea. These data present a new finding that the occurrence of diarrhea or acquisition of adaptability for diarrheal occurrence affects the central histaminergic or serotonergic neuron system.

**Keywords**—diarrhea; histamine; serotonin; 5-hydroxyindoleacetic acid; castor oil

下痢は我々が日常よく経験する症状の1つである。しかし、その発生機序は非常に複雑であり、未だ不明な点が多く残されている。

著者らはこれまでに下痢発生機序を解明する目的で、各種下痢 inducer を用いてマウス及びラットの末梢組織における各生体内アミン動態を検討した。その結果、下痢の発生は小腸粘膜から遊離された histamine (HA) の腸粘膜微小血管に対する透過性亢進作用に起因するのではないかと推察された。<sup>1-3)</sup> しかし、周知のとおり、HA は多彩な作用をもち、また貯蔵細胞が異なるため、HA の生体内における生理学的意義や病態での役割についてはさらに複雑な様相をしめしている。<sup>4)</sup> 最近、渡辺ら<sup>5)</sup> によってラット脳内ヒスタミン・ニューロン系が同定され、これを契機に中枢神経系における neurotransmitter あるいは neuromodulator としての HA の役割が重要になってきた。<sup>6-8)</sup>

一方、ヒスタミンとともにオータコイドと称されるセロトニン (5-HT) もまた neurotransmitter としてその生理学的役割が重要視されている。中枢におけるセロトニン産生ニューロンの細胞体は中脳から延髄尾側端に至る縫線核群を中心に9つ局在し、そこから上行性あるいは下行性ニューロンを送り生体に対して幅広い作用をつかさどっている。

本報は、脳内アミンの動きを中心に、下痢誘発と中枢神経系との関係を解明することを目的とした。下痢 in-

ducer として峻下剤として知られている castor oil を用い、castor oil 誘発下痢時におけるラット脳内 HA の動態を測定し下痢発現のヒスタミン・ニューロンへの関与について検討した。さらに、5-HT とその代謝物である 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) の動態を観察し、脳内セロトニン代謝への影響についても考察を加えた。

## 実 験 の 部

1. 実験動物 体重 150—170 g の Wistar 系雄性ラット (船橋農場) を用いた。

2. 試薬 Castor oil は、半井化学薬品のものを用い、他の試薬は市販特級のものを使用した。

3. Castor Oil による下痢モデルの作製 実験にあたり、100% 下痢を誘発し、かつ、消化管へのダメージを最小限に抑えるために、castor oil の投与量を検討した結果、2.5 ml/kg が最適であったので castor oil の投与量は、2.5 ml/kg とした。また、日内変動を考え 7 時から 19 時までを明期とし、恒温 ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ )、恒湿 ( $55 \pm 5\%$ ) で飼育し、ラットは下痢観察をするために、前日夜 9 時から翌朝 9 時までの 12 時間絶食した。1, 3, 6, 9 日間 1 日 1 回 castor oil を連続経口投与後、ラットの便を経目的に観察し、鶴見らの検定法<sup>9)</sup>により下痢便か否かを判定した。下痢モデルの作製にあたっては、後述するように 6 日目投与以降は下痢の発現が認められなくなることから、castor oil 3 日目投与までは、投与後 3 時間以内に下痢が 100% 誘発したもののみを下痢誘発ラットとして使用した。また 6 日間以上連続経口投与し適応性を獲得したものは下痢適応現象ラットとして実験に供した。

対照群には前述同様生理食塩液投与前 12 時間絶食し、生理食塩液 2.5 ml/kg を同じように連続経口投与したラットを用いた。これらのラットには経口投与した 3 時間後から飼料を与えた。

4. 脳内 HA と 5-HT 及び 5-HIAA の含量測定 前述した条件によって得られたラットの脳を速やかに摘出し、Glowinski と Iversen<sup>10)</sup> の方法に準じ小脳、海馬、線条体基底核、扁桃核、大脳皮質、中脳、視床、視床下部の 8 部分に分画した。

分画された脳を過塩素酸処理後、HA を Shore<sup>11)</sup> らの方法に従って抽出し、抽出溶液と *o*-phthalaldehyde (OPA) を反応させた後 HA-OPA コンプレックスを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にかけて分離し、その蛍光を測定<sup>12)</sup>し HA の脳内含量を求めた。

また、5-HT と 5-HIAA は Murai らの方法<sup>13)</sup>に準じて HPLC-ECD 法にて測定した。

5. 有意差検定 有意差の検定には、Student's-*t* 検定を使用した。

## 結 果

### 1. Castor Oil 投与による下痢誘発率と体重変化

Fig. 1 は castor oil の連続経口投与におけるラットの下痢誘発率 (castor oil 投与ラット数に対する下痢誘発ラット数の百分率) と体重変化との関係を示している。Castor oil 1 日目投与時には 100% 完全に下痢を誘発するにもかかわらず、2 日目投与からその誘発率は低い値を示すようになり、6 日目投与以降、ほとんど下痢を誘発しなくなった。一方、体重の変化についてみてみると、生理食塩液投与の対照群に比べて castor oil 投与ラットは有意に低い値をとった。

### 2. 脳各部位における HA の動態

Castor oil 連続経口投与によるラット脳各部位の HA 含量の変化を Fig. 2 に示した。海馬での HA 含量は、下痢を 100% 誘発する 1 日目で対照群に比べ有意に減少し、3 日目投与までその減少傾向は続く。しかし、下痢を誘発しなくなる 6 日目投与時には対照レベルにまでほぼ回復した。視床においても海馬のそれと同様な推移をとった。すなわち 1 日目に HA 含量が減少しはじめ 3 日目投与時には有意

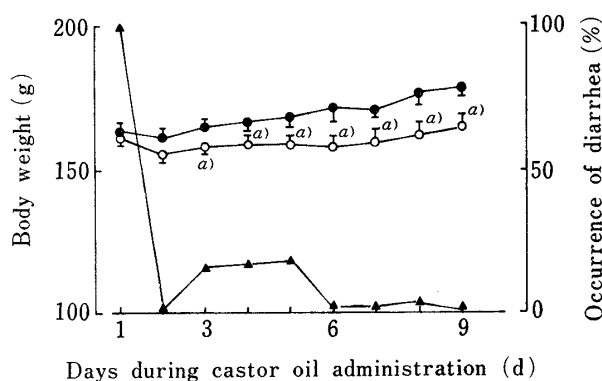


Fig. 1. Changes in Body Weight and Occurrence of Diarrhea after Treatment of Castor Oil in Rats

Castor oil (2.5 ml/kg) was orally administered once a day for 9 d to rats. Each value is the mean  $\pm$  S.E. of 10 rats.

a)  $p < 0.05$ , significantly different from the control. ●, body weight (control); ○, body weight (castor oil); ▲, occurrence of diarrhea.

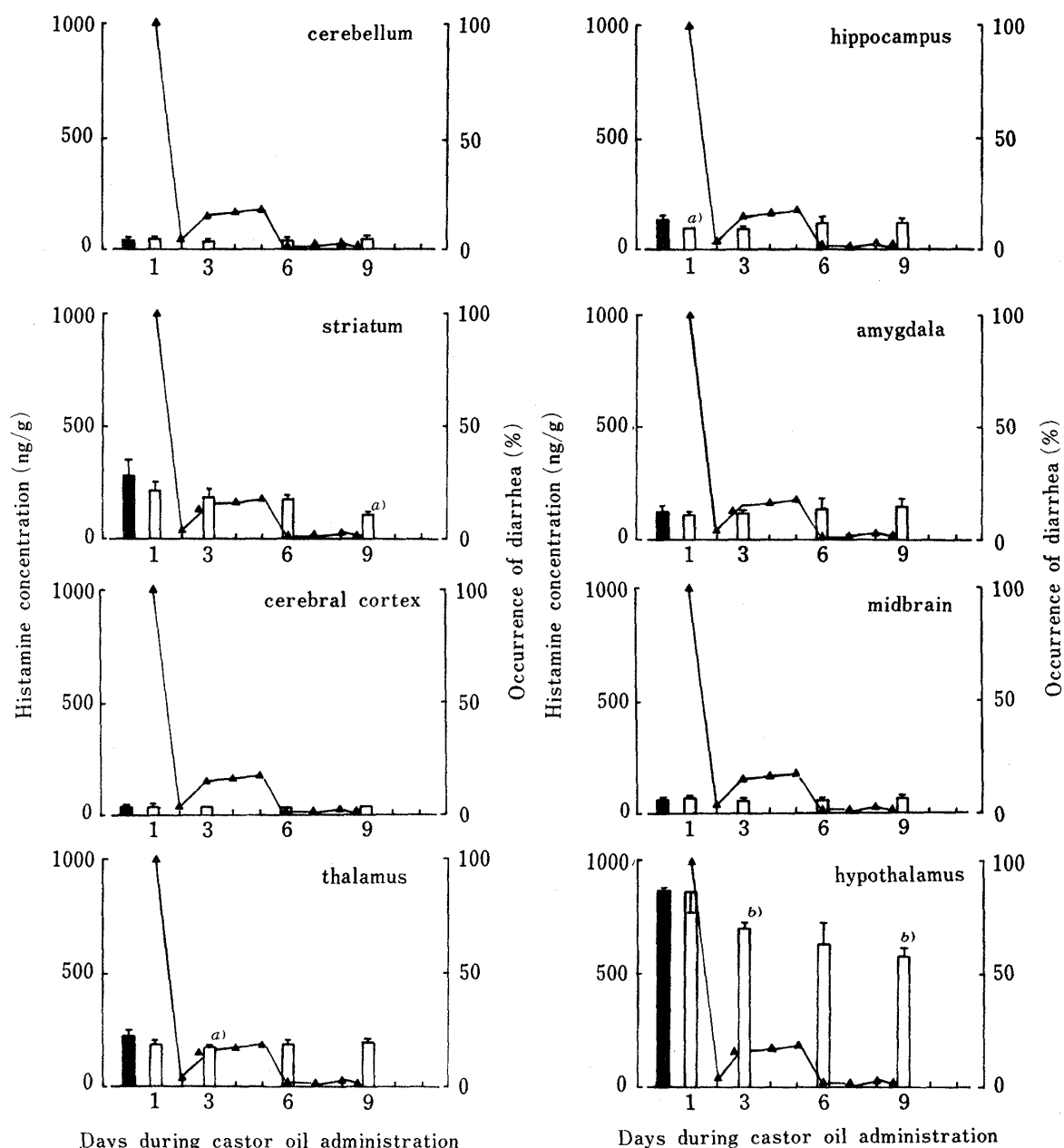


Fig. 2. The Relation between Histamine Concentrations in Various Regions of the Brain and Occurrence of Diarrhea after Treatment of Castor Oil in Rats

Castor oil (2.5 ml/kg) was orally administered once a day for 9 d to rats. Each value is the mean  $\pm$  S.E. of 5 rats.

a)  $p < 0.05$  and b)  $p < 0.01$ , significantly different from the control.

■, histamine concentrations (control); □, histamine concentration (castor oil); ▲, occurrence of diarrhea.

な差が認められるが、6日目投与時には対照レベルまで戻った。線条体基底核での HA 動態は、下痢発現の低下に伴い経日的に減少傾向を示し、9日目投与時には対照群に比べて有意な減少がみられた。視床下部においては日を迫るに従って HA 含量は減少して行くが、特に3日目と9日目投与時には有意差が認められた。また、小脳、大脳皮質、扁桃核及び中脳での HA 含量は、下痢発現の有無に関わらずその動態に変化が認められなかった。

### 3. 脳各部位における 5-HT と 5-HIAA の動態

Fig. 3 は castor oil 連続経口投与後の脳内 5-HT 及び 5-HIAA の含量変化を部位別に示したものである。視床下部における 5-HT 含量は castor oil の連続処理によって経日的に減少し、また、中脳では6日目投与時に有意に減少したが、他の部位では対照群に比べその含量に有意な変動は認められなかった。一方、5-HT の代謝物

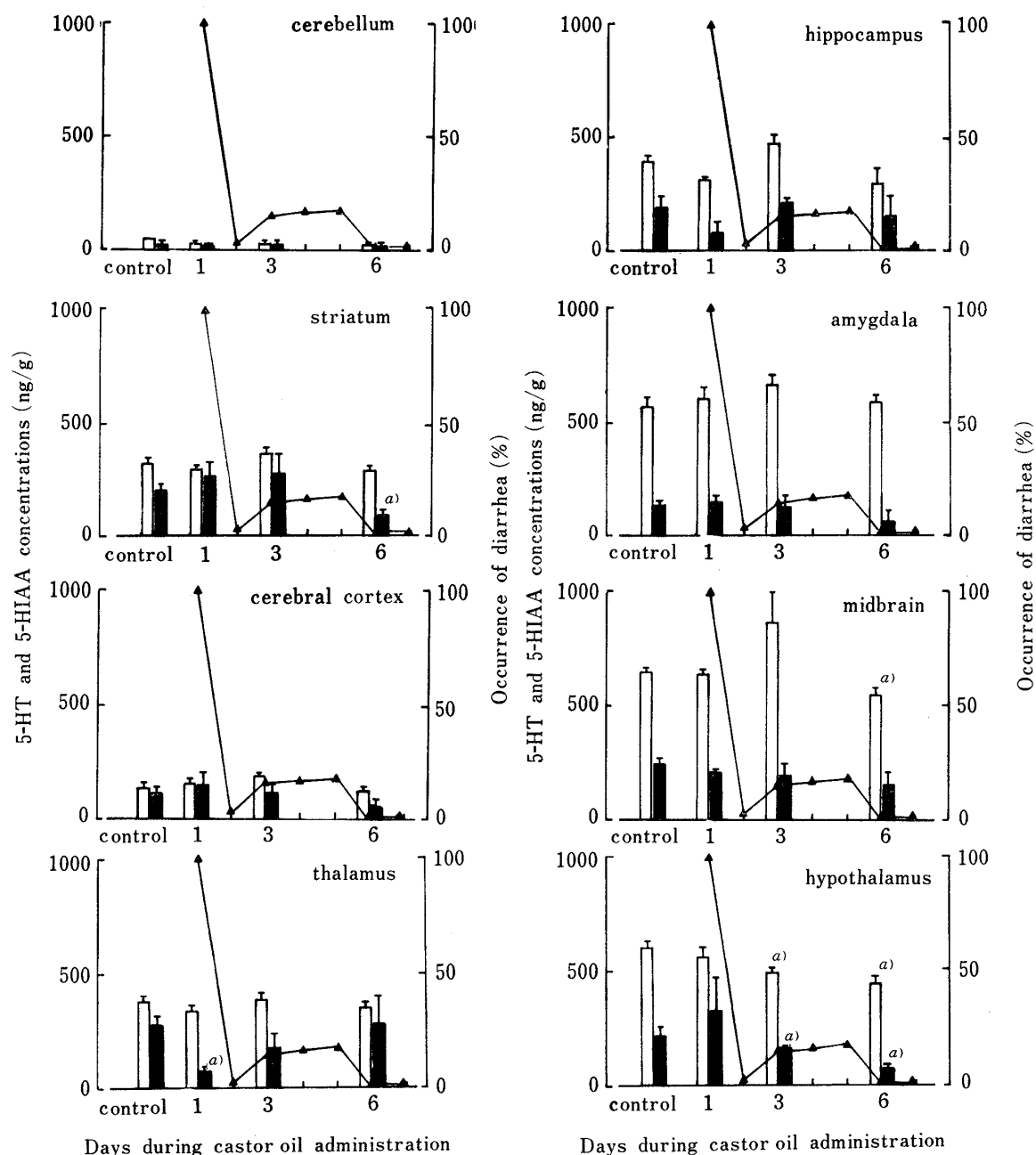


Fig. 3. The Relation between Serotonin and Its Metabolite Concentrations in Various Regions of Brain and Occurrence of Diarrhea after Treatment of Castor Oil in Rats

Castor oil (2.5 ml/kg) was orally administered once a day for 9 d to rats. Each value is the mean  $\pm$  S.E. of 5 rats.

a)  $p < 0.05$ , significantly different from the control.

□, serotonin (5-HT) concentration; ■, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) concentration; ▲, occurrence of diarrhea.

である 5-HIAA の動態をみると、視床では下痢が 100% 誘発される 1 日目投与時に有意に減少し 5-HT の代謝回転の抑制が認められた。しかし、この抑制は日を追うに従って回復してくる。また、線条体基底核では逆に下痢の発現が認められなくなる 6 日目投与時に有意な低下が観察された。さらに 5-HT の変化が認められた視床下部においてもまた、5-HIAA の含量が有意に低下した。しかし、その他の部位では顕著な変化は認められなかった。

## 考 察

実験にあたり、100% 下痢を誘発し、かつ、消化管へのダメージを最小限に抑えるために、castor oil のラットに対する投与量を検討した結果、2.5 ml/kg の投与量が最適であることが分かった。そこで、castor oil をラットに1日1回 2.5 ml/kg 連続経口投与したところ、1日目投与時には100% 完全に下痢が誘発されるものの、2日目投与からその誘発率は低下し、6日目投与以降、ほとんど下痢を誘発しなくなったことから、ラットが castor oil による下痢の発生に対して適応性を獲得したものと思われる。また、castor oil 投与後の体重変化をみると、実験の部・3 に記述したように、対照ラットについても同じ条件下（9日間 saline 2.5 ml/kg を投与する前12時間絶食している）で体重を測定したため通常の正常ラットの発育状態に比べその成長は遅いものの、castor oil 投与群の体重は対照群に比べて有意に低い値をとりながら推移していった。この原因については摂食等との関係ともあわせて今後詳細な検討が必要である。

脳内 HA のレベルはそれ自身ヒスタミン神経線維の分布に指標を与えるもので、その変動は神経内ヒスタミンの貯蔵、軸索輸送あるいは代謝機能の損傷を敏感に反映する。<sup>14-17)</sup> ヒスタミン・ニューロン系はその細胞体を後部視床下部の乳頭体に持ち、そこから各部位へと神経線維をのびしている。Castor oil を経口投与して下痢が誘発される1日目に脳内の HA 含量はほとんどの部位で減少傾向を、とくに海馬においては対照群に比べて有意な差が認められた。続く3日目投与時には、視床と視床下部に影響が始め、9日目投与になると線条体基底核と視床下部で対照群に比べ HA 含量は有意に低下している。Castor oil の連続投与による HA 含量の変化は、視床下部から内側前脳束を抜け中隔を通るヒスタミン・ニューロン系の走行路に対し逆行していることが分かった。さらに、この変動には異なる2つのパターンが観察される。すなわち、下痢の発現率が高い時期で海馬と視床下にみられる HA 含量の減少から回復のパターンと、連続投与6日目以後の下痢の適応期において線条体基底核と視床下部の HA 含量が経日的に減少するパターンの2つである。前述したように、ヒスタミン・ニューロンの細胞体は後部視床下部の乳頭体にもつ。それゆえに castor oil 連投によって生じた視床下部での HA 含量の低下は細胞体における HA の合成能の低下に起因することが十分に予測でき、線条体基底核での HA の低下はこの部位への HA の供給低下<sup>14)</sup>か、あるいは HA の代謝回転の亢進<sup>15,16)</sup>に関連していることが推測される。しかし、castor oil 投与による HA の量的変化が下痢誘発の引金になり、また下痢の適応性獲得に直接関与するのかを判断することは現時点では難しい。さらに、本実験で測定された脳内ヒスタミン含量の変化を考える場合、これまで述べてきたヒスタミン神経性細胞のほかに、ラット脳内に存在する肥満細胞 (mast cell)<sup>18)</sup> の関与も当然考慮にいれなければならない。ビタミン B<sub>1</sub> 欠乏によるラット脳内壊死や出血など炎症過程の行程<sup>19)</sup>で、視床下部における mast cell が動員され、その結果 HA の含量が増加するという報告もある。<sup>17)</sup> しかしながら、castor oil の連投による視床下部での HA の含量が有意に低下していることから、細胞体において mast cell が動員されるということは考えにくい。現在、我々は (S)- $\alpha$ -fluoromethylhistidine<sup>4)</sup> を用い、非肥満細胞性 HA を特異的かつ完全に涸渇させた状態における castor oil の投与を試み、mast cell 由来の HA の関与について検討中である。

一方、HA と同様に、セロトニン・ニューロン系の走行路に、5-HT 及び 5-HIAA の含量変化を重ねてみた。Castor oil を経口投与して下痢が100% 誘発される1日目投与時に視床の 5-HT 含量に変化は認められないが、5-HIAA 量が有意に減少していることから 5-HT の代謝回転の抑制が推測される。しかし、この抑制は3日目投与以降回復してくる。また、下痢の発現に適応性が認められた6日目投与時には、中脳において 5-HT 含量に有意な低下が観察されたが、5-HIAA に有意な変化が認められなかったことから、セロトニン・ニューロンの細胞体が存在する中脳で 5-HT の取り込み能が阻害されたか、あるいは 5-HT の合成能が抑制されたものと推測される。

以上、下痢の誘発がヒスタミンあるいはセロトニン・ニューロン系に影響することが推測された。さらに、下痢の適応性獲得に関してもその関与が考えられる。

## 引 用 文 献

- 1) 櫻井栄一, 福勢 元, 植田公孝, 引地 登, 丹羽弘司, 日薬理, **76**, 293 (1980).
- 2) 丹羽弘司, 引地 登, 櫻井栄一, 植田公孝, 福勢 元, 薬誌, **101**, 567 (1981).

- 3) E. Sakurai, N. Hikichi, H. Niwa, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 186 (1985).
- 4) 大和谷 厚, 渡辺建彦, 病態生理, **5**, 660 (1986).
- 5) T. Watanabe, Y. Taguchi, S. Shiosaka, J. Tanaka, H. Kubota, Y. Terano, M. Tohyama, H. Wada, *Brain Res.*, **295**, 13 (1984).
- 6) 後藤秀機, 佐藤 誠, 医学のあゆみ, **138**, 883 (1986).
- 7) 渡辺建彦, 小野寺憲治, 小倉保己, 臨床科学, **22**, 1097 (1986).
- 8) T. Watanabe, A. Yamatodani, K. Maeyama, H. Wada, *Trends Pharmacol. Sci.*, **11**, 363 (1990).
- 9) 鶴見介登, 林 元英, 日比野隆二, 藤村 一, 日薬理, **65**, 643 (1969).
- 10) J. Glowinski, L. L. Iversen, *Neurochem.*, **13**, 655 (1966).
- 11) P. A. Shore, A. Burkhalter, V. H. Cohn, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **127**, 182 (1959).
- 12) 櫻井栄一, 引地 登, 丹羽弘司, 東北薬科大学研究年報, **33**, 207 (1986).
- 13) S. Murai, H. Saito, Y. Masuda, T. Itoh, *J. Neurochem.*, **50**, 473 (1988).
- 14) M. Garbarg, G. Barbin, C. Llorens, J. M. Palacios, H. Pollard, J. C. Schwartz, "Recent Development in Brain Histamine Research; Pathways and Receptors. In Neurotransmitters, Receptors and Drug Actions," ed. by W. B. Essman, Spectrum Publications, New York, 1980, p. 179.
- 15) I. Yoshitomi, R. Oishi, K. Saeki, *Brain Res.*, **398**, 57 (1986).
- 16) J. P. Green, J. K. Khandelwal, "Histamine Turnover in Regions of Rat Brain. In Advances in Biosciences; Frontiers in Histamine Research," Vol. 51 ed. by C. R. Ganellin, J. C. Schwartz, Pergamon Press, Oxford, 1985, p. 225.
- 17) K. Onodera, K. Maeyama, T. Watanabe, *Jpn. J. Pharmacol.*, **47**, 323 (1988).
- 18) L. B. Hough, R. C. Goldschmidt, S. D. Glick, J. Padawer, "Mast Cells in Rat Brain: Characterization, Location and Histamine Content. In Advances in Biosciences; Frontiers in Histamine Research," Vol. 51 ed. by C. R. Genellin, J. C. Schwartz, Pergamon Press, Oxford, 1985, p. 131.
- 19) D. M. Robertson, S. M. Wasan, D. B. Skinner, *Am. J. Pathol.*, **52**, 1081 (1968).