

[原著論文]

迷走神経機能不全下での知覚神経感作とセロトニン4
受容体作動薬 mosapride による鎮痛効果古田 貞由^{*1} 松本健次郎^{*2,*3} 堀江 俊治^{*3} 鈴木 勉^{*1} 成田 年^{*2}^{*1} 星薬科大学薬品毒性学教室^{*2} 星薬科大学薬理学教室^{*3} 城西国際大学薬学部薬理学研究室

(2011年9月16日受理)

【要旨】 本研究では、慢性的な迷走神経機能不全下での表在組織、深部組織および内臓組織における求心性知覚神経 (C線維, A δ 線維, A β 線維) の感受性変化を明らかにするために、横隔膜下迷走神経切断 (SDV) 処置2週間後のラットの尾部、下肢、下行結腸における疼痛閾値と求心性知覚神経の電流閾値の変化を検討した。SDVによって、尾部疼痛閾値と知覚神経の電流閾値に変化はなかったが、下肢脛脛ではA δ 線維の閾値低下を伴った痛覚過敏が生じた。さらに、下行結腸において、C, A δ , A β 線維の閾値の顕著な低下が観察され、内臓疼痛様行動が認められた。この内臓痛は、5-HT₄受容体作動薬 mosapride の投与で有意に減弱した。以上より、慢性的な迷走神経機能不全は、内臓求心性知覚神経を強く感作して強度の内臓痛を誘発する可能性が示唆され、また、この内臓痛には mosapride が有効であることが明らかになった。

キーワード：迷走神経切断, 内臓痛, 体性痛, mosapride, ラット

緒 言

迷走神経は、延髄と胸腹部臓器を遠心性あるいは求心性に接続する副交感神経であり、交感神経と相互にバランスを調節しあうことで生体内の恒常性を維持している。特に、横隔膜下の迷走神経は、遠心性には消化管運動を亢進させ、求心性には、消化管の物理化学的刺激や消化管ホルモンによる刺激を延髄へと伝達させる役割を有している。近年、Billroth I型胃切除術の際に横隔膜下の迷走神経を切断された患者では、術後に内臓感覚過敏が生じるとの臨床報告がなされた¹⁾。また、基礎研究では、横隔膜下迷走

神経を外科的に切断処置させた、あるいは横隔膜下迷走神経求心路を化学的に脱落させた横隔膜下迷走神経機能不全の動物において、慢性的な体性痛^{2,3)} や内臓痛³⁻⁶⁾ が誘起されることが報告されている。これらの研究成果は、横隔膜下迷走神経機能不全が慢性疼痛の要因となりうることを示唆するのみでなく、自律神経バランスの不均衡が一次求心性知覚神経に機能障害を引き起こす可能性を提示している。しかしながら、生理学的に非常に興味深いこの現象を、一次求心性知覚神経の機能評価で検証した報告はほとんどない。

一般に痛みは、その発生部位から体性痛と内臓痛に分類され、さらに、体性痛は表在痛と深部痛に細分化される。これらの痛みを中枢神経系へと伝達する一次求心性知覚神経は、その神経伝導速度や細胞体の大きさによって、無髄線維で鈍い痛みを伝えるC線維、有髄線維で鋭い痛みを伝えるA δ 線維、有髄線維で触覚を伝えるA β 線維に分類される。近年、これら3種の知覚神経線維を選択的に電気刺激することで個々の神経線維の感受性を測定するNeurometer[®]が開発された。本装置は、非侵襲的かつ経皮的に2極間を電気刺激することで、刺激部位での知覚神経線維の感受性を電流閾値として定量的に評価することが可能であり、基礎研究で利用できる新たな疼痛評価法といえる⁷⁻¹⁰⁾。

われわれは最近、Neurometer[®]を用いた *in vivo* 試験、および一次求心性知覚神経細胞の single-cell patch clamp での *in vitro* 試験で、横隔膜下迷走神経機能不全下では、

問合先：鈴木 勉 〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41 星薬科大学薬品毒性学教室

E-mail : suzuki@hoshi.ac.jp

成田 年 〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41 星薬科大学薬理学教室

E-mail : narita@hoshi.ac.jp

略語一覧

5-HT : 5-hydroxytryptamine (セロトニン)

5-HT₄R : 5-hydroxytryptamine 4 receptor (5-HT₄受容体)

AUC : area under the curve (曲線下面積)

CPK : creatine phosphokinase

DMSO : dimethyl sulfoxide

EMG : electromyography (筋電図)

IBD : inflammatory bowel disease (炎症性腸疾患)

IBS : irritable bowel syndrome (過敏性腸症候群)

LDH : lactose dehydrogenase

SDV : subdiaphragmatic vagotomy (横隔膜下迷走神経切断)

腰髄の一次知覚神経のうち、A δ 線維の感受性が亢進することを明らかにした¹¹。これは、慢性期の迷走神経機能不全で侵害性知覚神経の感作が生じていることを示すはじめての所見であったが、痛みの発生部位が、表皮、筋肉、内臓のいずれであるかを特定するには至っていなかった。

そこで本研究では、慢性期の迷走神経機能不全下での表在、深部、内臓組織それぞれの一次知覚神経の感受性変化を明らかにするために、行動薬理学的評価と Neurometer[®] による知覚神経機能評価によって、横隔膜下迷走神経切断ラットの尾部、下肢、および下行結腸における疼痛閾値と知覚神経の電流閾値を測定した。また、近年、腸管運動や内臓痛の発現に重要な役割を示す可能性が提唱されている腸管内セロトニン 5-HT₄ 受容体¹²⁻¹⁶ の機能亢進が、迷走神経機能不全下の痛み反応に及ぼす影響について検討する目的で、5-HT₄ 受容体作動薬である mosapride を使用し、行動薬理学的評価を行った。

方 法

本研究を遂行するにあたり、科学的にはもとより、動物福祉の観点からも適正な動物実験の実施を促すことを目的として制定された星薬科大学動物実験指針に従い、同大学の動物実験委員会で承認を得たうえで、動物に対する倫理面を十分に考慮し、さらに使用動物数を最小限にするよう努力して、実験を行った。また、下行結腸への伸展刺激に対する検討では、城西国際大学動物実験指針に従い、同大学の動物実験委員会で承認を得たうえで実験を行った。

1. 実験動物

実験には、SD 系雄性ラット（体重 250～300 g）を使用し、電流閾値測定の実験には日本エスエルシー（株）（静岡）から、その他の試験には東京実験動物（株）（東京）から購入した動物を用いた。ラットは、恒温室（23 ± 1℃）にて 12 時間ごとの明暗サイクルで飼育し、摂餌（固形飼料 MF；オリエンタル酵母工業（株）、東京）および飲水はともに自由摂取とした。

2. 横隔膜下迷走神経切断（SDV）ラット作製

動物をペントバルビタール（50 mg/kg, i.p.；東京化成工業（株）、東京）麻酔下で、腹部を正中切開し、食道に並走する迷走神経を両側性に約 5 mm 部分的に切除した。胃幽門部の過収縮を抑制するため、幽門括約筋を切開し、切開と平行に 7-0 絹糸（（株）夏目製作所、東京）で縫合して、幽門部を再建する処置を施した。ペニシリン G（10,000 Unit/ラット）を腹腔内に投与し、筋肉と皮膚を 4-0 ナイロン（ネスコスーチャー；アルフレッサ（株）、東京）で縫合した。また、迷走神経の切除以外は同様の手術を行い、sham 動物を作製した。

3. 尾部熱刺激による逃避潜時評価

動物を無麻酔下で保定ケース（Rat holder, 室町機

械（株）、東京）にて 15 分間以上馴化させた後、tail-flick 装置（Socrel model DS20, Ugo basile Co., Ltd., Varese, Italy）を用いて、尾部に熱刺激を加え、逃避行動を示すまでの時間を逃避潜時として測定した。測定は 2 回行い、平均値を算出して結果とした。

4. 後肢圧迫刺激による逃避閾値評価

下肢脛脛の腓腹筋の疼痛閾値を測定するため、動物の上半身を柔らかい布で軽度拘束し、直径 9 mm の probe を用いて、左右両後肢の脛脛に 10 mmHg/s の加圧速度でランダルセリット装置（TK-201C ANALGEY-METER, 室町機械（株））にて圧迫刺激を加えた際の逃避閾値を測定した³。測定は、両後肢それぞれ 5 回行い、最高値と最低値を除いた 3 回分の平均を求め、さらに両足の平均値を算出して結果とした。

5. 大腸伸展刺激に対する腹筋収縮運動の筋電図評価

動物を無麻酔下で保定ケース（Rat holder, 室町機械（株））にて 15 分間以上馴化させた後、肛門から挿入したバルーンで下行結腸を伸展刺激した際の外腹斜筋の筋電図（electromyography; EMG）を記録して、その AUC を算出した。EMG 記録にあたり、動物をイソフルラン（3%、吸入；マイラン製薬（株）、大阪）麻酔下で、双極電極を外腹斜筋に留置し、3 日間以上の回復期間を設けた後に、試験に使用した。伸展刺激には、barostat（Distender Series II, G&J Electronics Co., Ltd., Toronto, Canada）を使用し、ポリエチレン性のバルーン（直径 1.5 cm）を肛門から下行結腸まで挿入した後、段階的に圧力を増大させた（0～80 mmHg, 20 mmHg ずつ増加, 120 秒間隔で 20 秒間刺激）。結果は、0 mmHg での EMG の AUC からの変化量で表した。Mosapride（Sigma Chemical Co., Ltd., MO, USA）は、使用直前に 5% DMSO-生理食塩液に溶解して腹腔内投与し、1 時間後に評価した。

6. 電流閾値測定

測定には Neurometer[®] CPT/LAB を使用した（Neurotron, Inc., MD, USA）。動物を無麻酔下で保定ケース（Rat holder, 室町機械（株））にて 15 分間以上馴化させた後、尾部の中枢端および末梢端に電極（Goldtrode[®], Neurotron, Inc.）を貼り付ける、あるいは、左右後肢の足蹠に電極を貼り付けることで、尾部および腰下肢の電流閾値を測定した。また、白銀電極（直径 0.25 mm, Warner instruments, Inc., CT, USA）の先端 2 mm 以外を絶縁してリード線に接続することで刺激電極を作製し、肛門から 2.5 cm の位置まで刺激電極を挿入した。剃毛した腰部に分散電極（SDE-44-4, Neurotron, Inc.）を貼付して参照電極とし、下行結腸の電流閾値を測定した。測定は、5 Hz, 250 Hz および 2,000 Hz の周波数にて刺激電流強度を増加し、啼鳴反応あるいは逃避行動が生じた最小電流を閾値（電流閾値）として記録した。測定は 2 回行い、平均値を算出し

た。結果は、sham 群の電流閾値に対する比で示した。

7. 統計解析

結果はすべて、平均値±標準誤差で示した。統計学的有意差は、Student's *t* 検定 (両側) あるいは二元配置反復測定分散分析で検定した。 $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。

結果

1. SDV ラットの尾部における熱刺激逃避潜時と知覚神経電流閾値の変化

SDV 手術後 14 日目において、尾部熱刺激に対する逃避潜時は sham 群と同等であり、両群間に有意な差は認められなかった ($p = 0.50$, 図 1a)。また、電気刺激に対する知覚神経の電流閾値にも sham 群との間に、明確な差はなかった ($p = 0.26, 0.53, 0.85$; それぞれ C 線維, A δ 線維, A β 線維, 図 2a)。

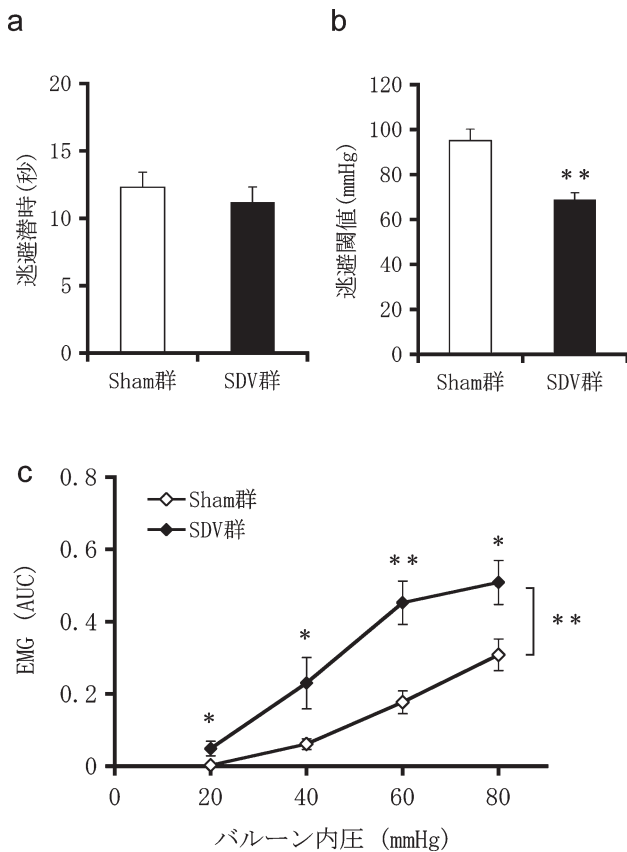


図 1 横隔膜下迷走神経切断ラットにおける尾部熱刺激 (a), 脛脛圧刺激 (b) および下行結腸伸展刺激 (c) に対する逃避行動閾値の変化。手術 14 日目に tail-flick 法にて尾部に熱刺激を加えた際の逃避潜時 (a), Randall-Selitto 法にて下肢に圧迫刺激を加えた際の逃避閾値 (b), colorectal balloon distension 法にて下行結腸に伸展刺激を加えた際の腹筋収縮運動量 (腹筋筋電図の AUC) を算出し、0 mmHg 時の AUC との差で示す (c) を測定した。結果は平均値±標準誤差で示す。各群 $n = 5 \sim 9$, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ vs. sham 群, SDV: 迷走神経切断。

2. SDV ラットの後肢における圧迫刺激下逃避閾値と知覚神経電流閾値の変化

SDV 群では、手術後 14 日目の後肢脛脛への圧迫刺激に

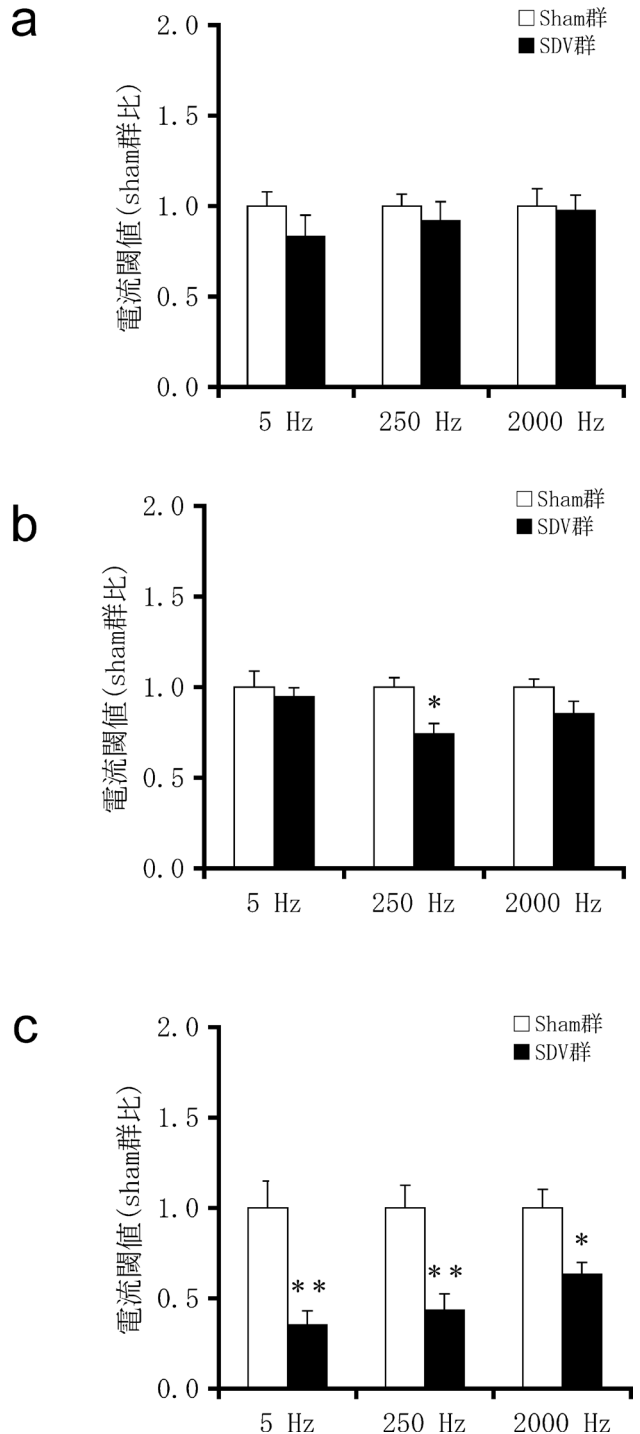


図 2 横隔膜下迷走神経切断ラットにおける尾部 (a), 下肢 (b) および下行結腸 (c) の知覚神経電気刺激に対する C 線維 (5 Hz), A δ 線維 (250 Hz) および A β 線維 (2,000 Hz) の電流閾値の変化。手術 14 日目に Neurometer[®] で尾 (a), 下肢 (b) あるいは下行結腸 (c) を電気刺激した際に、啼鳴反応あるいは逃避行動が生じた最小電流を閾値 (電流閾値) として計測した。結果は平均値±標準誤差で示す。各群 $n = 5 \sim 8$, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ vs. sham 群, SDV: 迷走神経切断。

対して、逃避閾値が有意に低下した ($p < 0.01$, 図 1b). また、後肢への電流刺激によって、250 Hz の電流閾値に 24% の減少が認められ、その差は sham 群に比べて有意であった ($p < 0.05$, 図 2b).

3. SDV ラットの下行結腸における伸展刺激下腹筋収縮運動と知覚神経電流閾値の変化

手術後 14 日経過した SDV 群では、下行結腸の伸展刺激に対して、非侵害刺激と考えられる 20 mmHg から有意な応答性の増大を示し ($p < 0.05$), 80 mmHg においても腹筋収縮運動の有意な増大を認めた ($p < 0.05$, 図 1c). さらに、5 Hz, 250 Hz, 2,000 Hz のいずれの周波数の電気刺激下においても、sham 群に比べて電流閾値の著明な低下が認められた ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$; 5 Hz, 250 Hz, 2,000 Hz, 図 2c).

4. SDV ラットの下行結腸感覚過敏に対する 5-HT₄ 受容体作動薬 mosapride の効果

SDV 群の手術 2 週間後の内臓感覚過敏は、mosapride 1 mg/kg の腹腔内投与によって、投与 1 時間後に有意に抑制され ($p < 0.01$ vs. baseline), 特に 80 mmHg では sham 群に比べて顕著な抑制作用が認められた ($p < 0.05$, 図 3). 一方、sham 群の疼痛閾値には mosapride 投与による変化は生じなかった ($p = 0.51$ vs. baseline).

考 察

本研究によって、迷走神経機能不全による尾部、下肢および下行結腸の疼痛閾値の変化を行動薬理的に検討するとともに、同部位の痛覚伝達を担う求心性知覚神経の感受性の変化を検討した結果、尾部<下肢<下行結腸の順に、

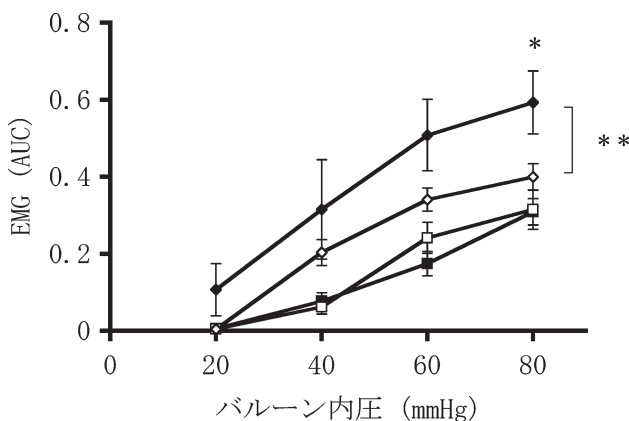


図 3 横隔膜下迷走神経切断ラットの臓感覚過敏に対する 5-HT₄ 受容体作動薬 mosapride の効果. 手術 14 日目に colorectal balloon distension 法にて下行結腸に伸展刺激を加えた際の腹筋収縮運動を腹筋電図として記録し、その AUC を算出して、0 mmHg 時との差で示した. 結果は平均値±標準誤差で示す. 各群 $n = 7 \sim 9$, ■: Sham-baseline, □: Sham-mosapride 1 mg/kg i.p., ◆: SDV-baseline, ◇: SDV-mosapride 1 mg/kg i.p. SDV: 迷走神経切断.

疼痛関連行動の増強と求心性知覚神経の感受性亢進が認められた. このことから、慢性的な迷走神経機能不全下では、深部組織側を支配する求心性知覚神経の感受性が亢進し、下腹部痛が強い痛みとして現れる可能性が示唆された.

一方、本研究では、SDV による尾部の疼痛閾値および知覚神経感受性に影響は認められなかった. これまでにわれわれは、SDV では後肢足蹠皮下の疼痛閾値に変化が認められないことを報告している³⁾. これらのことから、SDV は下肢表在痛が表現されない疼痛モデル動物である可能性が示唆される.

本研究において Neurometer[®] で実施した下肢知覚神経の変化は、皮膚および骨格筋の双方を含む知覚神経の感受性を反映すると考えられるが、上述の通り、SDV では皮膚の感覚神経に異常がないと推察され、本研究で得られた後肢 A δ 線維の感受性亢進は骨格筋の知覚神経を反映するものと考えられる. われわれはこれまでに、本モデルでは、手術直後から 4 週間後まで、sham 群と比較して、血中逸脱酵素である CPK や LDH の変動が認められていないこと³⁾, また、腓腹筋重量比に変化がなく、筋萎縮が生じていないこと (未発表) を確認している. こうした結果から、われわれは SDV による変化が骨格筋自体の器質的な変化に由来した、いわゆる筋肉痛ではない可能性を想定していた. 本研究で得られた結果は、このようなわれわれの仮説を裏づけるものであると考えられる.

SDV で求心性知覚神経の感受性増加を導く機序として、われわれは、以下の機構を想定している. すなわち、横隔膜下迷走神経を切断すると、速やかに平均血圧の上昇が生じることから (未発表), 迷走神経切断直後から自律神経バランスの変化が生じている. 平均血圧の上昇は、さまざまなホルモン分泌能を有する副腎の機能亢進に由来すると考えられることから、副腎からのホルモン分泌を促進するアンギオテンシン II, あるいは副腎からのホルモンの過剰分泌が、末梢知覚神経に断続的に作用することで、末梢知覚神経の可塑的な変化を誘起する可能性がある. 横隔膜下迷走神経切断ラットによる痛みは、副腎の摘出によって抑制される²⁾ことや、アンギオテンシン II は、2 型アンギオテンシン受容体を介して一次知覚神経細胞の突起伸張を誘発する¹⁷⁾との報告は、こうした仮説を裏づけるものである. しかしながら、なぜ内臓支配の知覚神経でこの現象が最も生じやすいかという点を説明するには、さらなる検討が必要である.

Sham 群では、40 mmHg 以下での下行結腸伸展刺激によっては、下腹部痛による筋性防御反応を示さなかった. このことから、こうした刺激は非侵害性であることが推察される. これに対して SDV 群では、下行結腸に対して非侵害性刺激である 20 mmHg の伸展刺激から明確に腹筋収

縮運動が確認されていることから、下行結腸では著明なアロディニア反応（非侵害性の刺激に対する感覚過敏）が誘導され、これが重度の内臓痛の一因となっている可能性が明らかになった。

近年、過敏性腸症候群（IBS）や炎症性腸疾患（IBD）などの現代病ともいべき慢性腸疾患において、セロトニン（5-HT）が排便症状や腹痛に関与することが報告されている¹⁸⁻²²⁾。5-HTはさまざまな5-HT受容体サブタイプを介してその生理作用を発揮するが、こうした5-HT受容体サブタイプの中で特に、腸管の求心性内在性神経に主に発現している5-HT₄受容体が、内臓感覚の調節に重要な役割を果たしていると考えられている¹²⁻¹⁵⁾。事実、5-HT₄受容体部分作動薬であるtegaserodは、動物モデルにおいて、用量依存的に内臓感覚過敏を軽減させることが報告されている²³⁾。そこで本研究では、本邦で承認済みである5-HT₄受容体作動薬であるmosaprideに着目し、SDVモデルの内臓感覚過敏に対するその効果を検討した。その結果、mosaprideは、sham動物の内臓感覚閾値を変化させない条件下において、病態下における内臓感覚過敏を有意に改善させた。われわれはSDVによる病態下では、下行結腸での5-HT₄受容体の発現量および発現部位に変化がないことを確認している（未発表）ことから、5-HT₄受容体の量的変化は誘導されないことが推察される。一方、本研究によって、5-HT₄受容体作動薬であるmosapride処置がSDVによる疼痛閾値の変化を正常レベルに回復させたことから、SDV病態下では腸管における外来性神経である迷走神経が退縮し、代償的に内在性神経の活動を亢進させ、結果的に5-HT₄受容体の感受性が機能的に亢進している可能性が考えられる。いずれにしても、こうした仮説を証明するためには、さらなる分子レベルでの検討が必要であると思われる。

以上、本研究によって、迷走神経機能不全下では、特に下行結腸において、C線維、A δ 線維、A β 線維のすべての求心性知覚神経で感作が確認され、また、こうした反応に連動するかたちで非侵害性の伸展刺激に対して腹筋収縮運動の応答性の増大が確認された。これらのことより、迷走神経機能不全下では、強度の内臓痛が誘発されると考えられる。また、この内臓痛には、mosaprideが有効であったことから、5-HT₄受容体の活性化は、ひとつの有効な治療標的である可能性が示唆された。

文 献

- Holtmann G, Goebell H, Jockenhoovel F, et al. Altered vagal and intestinal mechanosensory function in chronic unexplained dyspepsia. *Gut* 1998; 42: 501-506.
- Khasar SG, Miao FJ, Jänig W, et al. Vagotomy-induced enhancement of mechanical hyperalgesia in the rat is sympathoadrenal-mediated. *J. Neurosci.* 1998; 18: 3043-3049.
- Furuta S, Shimizu T, Narita M, et al. Subdiaphragmatic vagotomy promotes nociceptive sensitivity of deep tissue in rats. *Neuroscience* 2009; 164: 1252-1262.
- Gschossmann JM, Mayer EA, Miller JC, et al. Subdiaphragmatic vagal afferent innervation in activation of an opioidergic antinociceptive system in response to colorectal distension in rats. *Neurogastroenterol. Motil.* 2002; 4: 403-408.
- Chen SL, Wu XY, Cao ZJ, et al. Subdiaphragmatic vagal afferent nerves modulate visceral pain. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2008; 294: G1441-1449.
- Zhang LY, Dong X, Liu ZL, et al. Luminal serotonin time-dependently modulates vagal afferent driven antinociception in response to colorectal distention in rats. *Neurogastroenterol. Motil.* 2011; 23: 62-69.
- Kiso T, Nagakura Y, Toya T, et al. Neurometer measurement of current stimulus threshold in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001; 297: 352-356.
- Koga K, Furue H, Rashid MH, et al. Selective activation of primary afferent fibers evaluated by sine-wave electrical stimulation. *Mol. Pain* 2005; 1: 13.
- Finkel J, Besch V, Hergen A, et al. Effects of aging on current vocalization threshold in mice measured by a novel nociception assay. *Anesthesiology* 2006; 105: 360-369.
- Melzer J, Besch V, Finkel J, et al. Neuronal nitric oxide synthase does not impact on sex differences in nociception. *Anesthesiology* 2006; 105: A708.
- Furuta S, Watanabe L, Doi S, et al. Subdiaphragmatic vagotomy increases the sensitivity of lumbar A δ primary afferent neurons along with voltage-dependent potassium channels in rats. *Synapse* in press.
- Liu M, Geddis MS, Wen Y, et al. Expression and function of 5-HT₄ receptors in the mouse enteric nervous system. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2005; 289: G1148-1163.
- Poole DP, Xu B, Koh SL, et al. Identification of neurons that express 5-hydroxytryptamine₄ receptors in intestine. *Cell Tissue Res.* 2006; 325: 413-422.
- Gershon MD and Tack J. The serotonin signaling system: From basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology* 2007; 132: 397-414.
- De Giorgio R, Barbara G, Furness JB, et al. Novel therapeutic targets for enteric nervous system disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 2007; 28: 473-481.
- Degen L, Matzinger D, Merz M, et al. Tegaserod, a 5-HT₄ receptor partial agonist, accelerates gastric emptying and gastrointestinal transit in healthy male subjects. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2001; 15: 1745-1751.
- Chakrabarty A, Blacklock A, Svojanovsky S, et al. Estrogen elicits dorsal root ganglion axon sprouting via a renin-angiotensin system. *Endocrinology* 2008; 149: 3452-3460.
- Oshima S, Fujimura M, Fukimiya M, et al. Changes in number of serotonin-containing cells and serotonin levels in the intestinal mucosa of rats with colitis induced by dextran sodium sulfate. *Histochem. Cell Biol.* 1999; 112: 257-263.
- Miwa J, Echizen H, Matsueda K, et al. Patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome (IBS) may have elevated serotonin concentrations in colonic mucosa as compared with diarrhea-predominant patients and subjects with normal bowel habits. *Digestion* 2001; 63: 188-194.
- Linden DR, Chen JX, Gershon MD, et al. Serotonin availability is increased in mucosa of guinea pigs with TNBS-induced colitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2003; 285: G207-216.

- 21) Dunlop SP, Coleman NS, Blackshaw E, et al. Abnormalities of 5-hydroxytryptamine metabolism in irritable bowel syndrome. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2005; 3: 349-357.
- 22) Coates MD, Mahoney CR, Linden DR, et al. Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004; 126: 1657-1664.
- 23) Greenwood-Van Meerveld B, Venkova K, Hicks G, et al. Activation of peripheral 5-HT receptors attenuates colonic sensitivity to intraluminal distension. *Neurogastroenterol. Motil.* 2006; 18: 76-86.

Subdiaphragmatic Vagotomy Induces Sensitization of Primary Afferent Fibers and Its Beneficial Treatment of a 5-HT₄ Receptor Agonist Mosapride

Sadayoshi FURUTA^{*1}, Kenjiro MATSUMOTO^{*2,*3}, Syunji HORIE^{*3},
Tsutomu SUZUKI^{*1}, and Minoru NARITA^{*2}

^{*1}Department of Toxicology, Hoshi University School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2-4-41 Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan

^{*2}Department of Pharmacology, Hoshi University School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2-4-41 Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan

^{*3}Laboratory of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai International University, 1 Gumyo, Togane, Chiba 283-8555, Japan

Abstract: Peripheral nociceptive reactions transmit to the central nervous system via primary afferent nociceptive fibers. To determine the change in the sensitivity of the primary afferent nociceptive fibers (*e.g.*, C, A δ and A β fibers) located in the skin, deep tissues and visceral organs due to chronic subdiaphragmatic vagal dysfunction, we investigated the change in nociceptive withdrawal thresholds and transcutaneous current thresholds of the tail, hind limbs and distal colon at 2 weeks after subdiaphragmatic vagotomy (SDV). Both nociceptive- and current-thresholds of the skins were not affected in the SDV group compared to the sham-operated group. In contrast, SDV significantly decreased the nociceptive threshold of the muscles, which was judged by hyperalgesia observed in deep tissues, and the current threshold of A δ fibers, which was judged by hypersensitivity observed in A δ fibers. SDV also caused a remarkable hyper-reaction to innocuous- and noxious-stimuli in the distal colon along with hypersensitivity in the C, A δ and A β fibers. Under these conditions, treatment with a 5-hydroxytryptamine 4 receptor (5-HT₄R) agonist mosapride was found to be effective for SDV-induced visceral hypersensitivity. These results suggest that chronic vagal dysfunction caused severe pain in the distal colon along with the hypersensitivity in the visceral primary afferent fibers. Furthermore, the present study provides evidence that mosapride may be effective for reducing SDV-induced visceral hypersensitivity.

Key words: vagotomy, visceral pain, somatic pain, mosapride, rat