

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15267

研究課題名(和文)過敏性腸症候群の網羅的メタボローム・遺伝子解析による原因物質の同定

研究課題名(英文) Identification of Substances that Relate to Irritable Bowel Syndrome

研究代表者

福土 審 (Fukudo, Shin)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：80199249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)： ストレス関連疾患の克服は現代社会における大きな課題である。過敏性腸症候群(IBS)はその解明に好適な疾患である。視床下部下垂体副腎皮質軸関連物質の遺伝子多型がストレスの影響を受け、蛋白・代謝産物を介してIBS病態に影響するという仮説を検証した。対象はIBS群と健常対照群である。対象から採血し、DNAを分離し、ゲノム分析を行った。遺伝子多型、主要症状と心理行動特性の関連を解析した。これらの遺伝子多型はIBSの表現型に直接には関連しないが、心理状態を介して影響していた。以上から、仮説が支持された。得られた結果は、ストレス関連疾患全般に拡張することが可能であり、科学的・社会的意義を示すものである。

研究成果の概要(英文)： How to cope with stress-related disorders is a crucial problem to solve in the modern society. Irritable bowel syndrome (IBS) is an appropriate disorder to find a hint to do so. We verified the hypothesis that genetic polymorphism of substances regulating hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis may affect the phenotype of IBS via proteins/metabolites. Subjects were IBS patients and healthy controls. DNA was extracted from the blood. Genotyping, phenotyping and psycho-behavioral analyses were performed. These genotypes did not directly relate to IBS phenotypes. However, these genotypes were found to be associated with psycho-behavioral factors relating IBS. The hypothesis was thus supported. Findings in this study have scientific and social significance because they can be expanded to the other stress-related disorders.

研究分野：心身医学

キーワード：脳腸相関 過敏性腸症候群 遺伝子 ストレス 炎症 消化管運動 消化管知覚 神経伝達物質

1. 研究開始当初の背景

ストレス病の克服は現代社会における非常に大きな課題である。ストレスによって発症・増悪する病態はストレス関連疾患と総称され、多岐にわたる。その病態が解明され、その克服の方法が開発されれば、社会的な意義が大きい。この問題を解決するためには、A. 内科疾患としての診断基準が明確である、B. 典型的なストレス関連疾患である、C. 高頻度である、D. 経済的・社会的損失が大きい、E. 国際的に見てわが国の研究者が病態を解明する突破口を開く可能性が高い、以上の5要因を満たす病態に焦点を当て、それを解明する効率的な戦略を取るべきである。

過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome; IBS) はその最も好適な疾患である。IBS は、国際的基準である Rome III/IV で診断基準が統一されている。IBS は、ストレスなどの刺激によって腹痛と便通異常が発症もしくは増悪する特徴がある。IBS 患者はストレスを感じやすく、内臓知覚過敏、うつ・不安症状の合併頻度が高い。IBS の有病率は概ね一般人口の 10-15%、1 年間の罹患率は 1-2% である。主要文明国では、IBS が医療費に及ぼす悪影響が甚大である。さらに、IBS 症状によって quality of life (QOL) は大きく障害され、その経済的損失も甚大である。

研究代表者は、IBS とその関連疾患の国際的診断基準を決める委員会である Rome III 委員会と Rome IV 委員会に連続して選ばれ、これらと国際 Liaison 委員会、国際 Multi-Cultural Working Team を兼ねる研究者である。研究代表者は、IBS の研究により、アメリカ心身医学会 Early Career Award とアメリカ消化器病学会 Masters Award を受賞しており、本領域におけるわが国の地位を高める位置にいる。

2. 研究の目的

研究代表者は、ストレス関連物質の遺伝子多型が環境刺激に特に反応するという遺伝子-環境相関 gene-environment interactions の機序が IBS を発症・増悪させる、というモデルを提唱している。本研究では、このモデルに沿い、関連遺伝子群がその遺伝子産物である蛋白質と代謝物群を介し、「健常者-診断基準に満たない者-IBS 患者」という IBS 表現型を連続的に規定する、という仮説を証明することを目的とする。即ち、視床下部下垂体副腎皮質軸の関連遺伝子多型あるいはそのハプロタイプが、IBS と健常者とで異なる、IBS エンドフェノタイプのサブタイプ・心理的異常に影響するという仮説を検証した。合わせて、尿中代謝物質が IBS 症状の消長に関連する、また、腸内細菌に代謝されて消化管内腔に増加する気体の容量負荷により、便秘型 IBS では腹部膨満感が苦痛度を規定する、以上の仮説を検証した。

3. 研究の方法

対象を、東北大学病院心療内科を受診した未治療の IBS 患者もしくは IBS 有症状者とした。診断は Rome III 診断基準で行った。これを消化器症状と精神症状がない健常者と比較した。

方法は、静脈採血により、遺伝子型を同定した。Genotyping は、血液検体から白血球を分離し、DNA を抽出した。次いで、real time polymerase chain reaction (RT-PCR) により、単塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) を分析した。先行研究を参考にし、corticotropin-releasing hormone (CRH) 遺伝子 2 つ、CRH-binding protein (CRH-BP) 遺伝子 1 つ、グルココルチコイド受容体 (glucocorticoid receptor: GR) をコードする NR3C1 遺伝子から 4 つの SNP を選択した。また、一部症例では、尿検体を採取し、メタボローム解析を実施し、メタゲノムと脳画像解析を加えた。

対象の IBS-phenotype は Rome III の項目で分析し、心理状態を、Self-rating Depression Scale (SDS) にて抑うつ、State-trait Anxiety Inventory (STAI) にて状態特性不安、Perceived Stress Scale (PSS) にて自覚ストレスを定量化した。いずれも信頼性と妥当性が検証されている。更にインターネット疫学調査を実施し、IBS 消化器症状の苦痛度を分析した。

統計は SPSS v22 を用いて分析し、 $p < 0.05$ を以って有意な差もしくは関連と判定した。

4. 研究成果

検討対象となったのは IBS 群 157 名、健常対照群 157 名であった。疫学調査の対象数は 30,000 名であった。

CRH 遺伝子と CRH-BP 遺伝子において選択した SNP のジェノタイプ頻度と IBS との直接の関連は見られなかった。しかし、CRH-BP 遺伝子多型 rs10474485 のマイナーアレル (A アレル) 保有により、IBS 群の PSS 得点が有意に低下した。特に A アレル保有群では、下痢型 IBS における PSS や特性不安得点、混合型 IBS における SDS 得点が低かった。また、女性 IBS 群の SDS や PSS 得点が有意に低値であった。

GR 遺伝子 NR3C1 については、IBS 群と健常者群間の SNP 発現頻度に有意差は見られなかった。しかし、rs6196 については、マイナーアレル保有群 (CT) が非保有群 (TT) に比べ、有意に高い自覚ストレス、状態不安を示した。特に便秘型 IBS で、抑うつ、自覚ストレス、状態不安を悪化させた。男女別の解析では、rs6196 のマイナーアレル保有群において、男性の抑うつ、自覚ストレスが有意に高かった。

尿検体のメタボローム解析では IBS と健常者の代謝産物に差が見られた。メタゲノムと脳画像解析でも差を検出した。更に、疫学調査では調査対象の 16.5% に Rome III 基準の IBS を検出し、便秘型が 2.8% を占めた。便秘型 IBS では腹部膨満感の苦痛度が最も高かった。

以上から、以下の内容を考察した。第一に、CRH 遺伝子そのものは今回の検討では IBS の表現型に影響していなかった。第二に、CRH-BP 遺伝子多型 rs10474485 のマイナーアレル(A アレル)が IBS の不安、うつ、自覚ストレスなど陰性情動の保護因子であった。第三に、GR 遺伝子 NR3C1 の rs6196 については、マイナーアレル保有群(CT)が非保有群(TT)に比べ、自覚ストレス、状態不安の増悪因子であるが、IBS サブタイプや性別が影響することが明らかになった。第四に、IBS に関連する代謝産物、腸内細菌、脳画像が有望である。第五に、消化管内腔の代謝産物の増加によると考えられる腹部膨満感が便秘型 IBS では苦痛の主要因と示唆された。

副腎から放出されるグルココルチコイドは海馬などに存在する GR に結合し、視床下部下垂体副腎皮質軸を調節する。本研究では、選択した 4 つの SNP の中の rs6196 のマイナーアレルにより GR 機能が抑制されると考えられる。これにより視床下部下垂体副腎皮質軸へのフィードバック機能が低下し、ストレス応答が持続することで、心理状態の悪化に繋がる機序が示唆される。これまで、CRH 受容体 R1 遺伝子、CRH 受容体 R2 遺伝子を包含する遺伝子多型を分析し、IBS との関連を示して来た。この知見は米国でも UCLA が独立に IBS との関連性を報告している(Gadd M, et al. *Gastroenterology* 144: S-121, 2013)。本研究により、視床下部下垂体副腎皮質軸の調節が IBS の情動面の病態に及ぼす影響を更に明らかにし得た。

結論として、CRH-BP 遺伝子多型と GR 遺伝子多型は IBS 関連の心理状態に影響し、尿中代謝物質、腸内細菌、脳の状態が IBS 症状の消長に関連し、便秘型 IBS では腹部膨満感が苦痛度を規定する、以上が分かり、仮説が支持された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1) Tanaka Y, Kanazawa M, Palsson OS, Van Tilburg MA, Gangarosa LM, Fukudo S, Drossman DA, Whitehead WE. Increased postprandial colonic motility and autonomic nervous system activity in patients with irritable bowel syndrome: a prospective study. *J Neurogastroenterol Motil* 24 (1): 1-9, 2018. doi: 10.5056/jnm16216. 査読有

2) Ida M, Nishida A, Akiho H, Nakashima Y, Matsueda K, Fukudo S. Evaluation of the irritable bowel syndrome severity index in Japanese male patients with irritable bowel syndrome with diarrhea. *Biopsychosoc Med* 11: 7, 2017. doi:

10.1186/s13030-017-0092-x. eCollection 2017. 査読有

3) Kanazawa M, Miwa H, Nakagawa A, Kosako M, Akiho H, Fukudo S. Abdominal bloating is the most bothersome symptom in irritable bowel syndrome with constipation (IBS-C): a large population-based Internet survey in Japan. *Biopsychosoc Med* 10: 19, 2016. doi: 10.1186/s13030-016-0070-8. 査読有

4) Sasaki A, Sato N, Suzuki N, Kano M, Tanaka Y, Kanazawa M, Aoki M, Fukudo S. Associations between single-nucleotide polymorphisms in corticotropin-releasing hormone-related genes and irritable bowel syndrome. *PLoS One* 11(2):e0149322, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0149322. eCollection 2016. PMID: 26882083. 査読有

5) Endo Y, Shoji T, Fukudo S. Epidemiology of irritable bowel syndrome. *Ann Gastroenterol* 28(2):158-159, 2015. PMID: 25830818. 査読有

[学会発表](計 13 件)

1) Shin Fukudo. Invited Lecture: Management of Diarrhea Predominant Irritable Bowel Syndrome: An Asian Perspective. Symposium on Management of Irritable Bowel Syndrome. Bengaluru, India, November 19, 2017.

2) Shin Fukudo. Invited Lecture: Management of Diarrhea Predominant Irritable Bowel Syndrome: An Asian Perspective. Symposium on Management of Irritable Bowel Syndrome. Kolkata, India, November 18, 2017.

3) Shin Fukudo. Invited Lecture: Management of Diarrhea Predominant Irritable Bowel Syndrome: An Asian Perspective. Symposium on Management of Irritable Bowel Syndrome. Chennai, India, November 17, 2017.

4) Shin Fukudo. Invited Lecture: The Role of Gut Microbiota and Brain Function in Irritable Bowel Syndrome. Gut Microbiota and Human Diseases. Annual Meeting of the Chinese Medical Association, Taipei, Twawan, June 10, 2017.

5) Shin Fukudo. Invited Lecture: Gut Microbiota in Irritable Bowel Syndrome. Symposium of Advanced Image and Gut Microbiota. Meeting at Room of GI Division (12F), Taipei Veterans General Hospital,

Taipei, Twawan, June 9, 2017.

6) Shin Fukudo. Invited Lecture: Novel Concepts in Sensory Neurobiology. Research Forum: Novel Concepts in Sensory Neurobiology. The 118th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association, Chicago, IL, USA, May 9, 2017.

7) Shin Fukudo. Global and Regional Perspective in Irritable Bowel Syndrome. In; Rome-ANMA-JSNM Symposium: Multicultural Aspect of FGIDs in the East and the West. The 5th Biennial Congress of the Asian Neurogastroenterology and Motility Association and the 19th Annual Congress of the Japanese Society of Neurogastroenterology and Motility. Osaka, Japan, 03.23, 2017.

8) Shin Fukudo. New Aspects of Gut Microbiota and Irritable Bowel Syndrome. The 16th World Congress on Pain, International Association for the Study of Pain, Yokohama, Japan. September 28 (Wednesday), 2016.

9) Motoyori Kanazawa, Hiroto Miwa, Ayako Nakagawa, Masanori Kosako, Hiraku Akiho, Shin Fukudo. Abdominal bloating is the most bothersome symptom in irritable bowel syndrome with constipation (IBS-C): A large population-based Internet survey in Japan. The 117th Annual Meeting of American Gastroenterological Association, San Diego, USA, May 21-24, 2016.

10) Shin Fukudo, Tomohiko Muratsubaki, Michiko Kano, Yuka Endo, Tomotaka Shoji, Yasuhiro Sato, Motoyori Kanazawa. Smoking and post-infectious etiology in prevalence of irritable bowel syndrome. The 23rd World Congress on Psychosomatic Medicine. Glasgow, Scotland, UK, Aug 20-22, 2015.

11) Shin Fukudo. Strategy for treatment of patients with irritable bowel syndrome with diarrhea and positioning of ramosetron. Luncheon Seminar. The Gastroenterological Association of Thailand, Dusit Thani Pattaya Hotel, Pattaya, Thailand, July 3, 2015.

12) Chinami Sugai, Yukari Tanaka, Motoyori Kanazawa, Joe Morishita, Michiko Kano, Tomotaka Shoji, Yuka Endo, Shin Fukudo. Identifying functionally meaningful biomarkers in irritable bowel syndrome.

The 116th Annual Meeting of American Gastroenterological Association (46th Annual Digestive Disease Week), Washington, DC, USA, MAY 16-19, 2015.

13) Shin Fukudo, Yoshikazu Kinoshita, Toshikatsu Okumura, Motoko Ida, Hiraku Akiho, Yoshihiro Nakashima, Akito Nishida, Ken Haruma. Effect of ramosetron in female patients with irritable bowel syndrome with diarrhea: a randomized, placebo-controlled phase III trial. The 116th Annual Meeting of American Gastroenterological Association (46th Annual Digestive Disease Week), Washington, DC, USA, MAY 16-19, 2015.

〔図書〕(計3件)

1) Sperber AD, Francisconi CF, Fukudo S, Fang X, Gerson MJ, Kang JY, Schmulson WMJ. Multicultural Aspects of Functional Gastrointestinal Disorders. In; Drossman DA, Chang L, Chey WD, Kellow J, Tack J, Whitehead WE, and the Rome IV Committees eds. Rome IV: Functional Gastrointestinal Disorders. Disorders of Gut-Brain Interaction, Fourth Edition. Volume I. Rome Foundation, Raleigh, NC, pp373-442, 2016.

2) 福土審. 過敏性腸症候群. 矢崎義男総編集: 内科学, 第11版, 朝倉書店, 東京, pp992-994, 2017.
ISBN 978-4-254-32270-5 C3047
Total 2822 pages

3) 福土審. 過敏性腸症候群. 福井次矢, 高木誠, 小室一成総編集. 今日の治療指針. 医学書院, 東京, pp484-487, 2018.
ISBN 978-4-260-03233-9
Total 2066 pages

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
東北大学病院心療内科
http://www.hosp.tohoku.ac.jp/sinryou/s08_sinryou.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福土 審 (FUKUDO, Shin)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：80199249

(2) 研究協力者

金澤 素 (KANAZAWA, Motoyori)
遠藤 由香 (ENDO, Yuka)
庄司 知隆 (SHOJI, Tomotaka)
鹿野 理子 (KANO, Michiko)
村椿 智彦 (MURATSUBAKI, Tomohiko)
田中 由佳里 (TANAKA, Yukari)
佐々木 彩加 (SASAKI, Ayaka)
小室 葉月 (KOMURO, Hazuki)
菅井 千奈美 (SUGAI, Chinami)
山田 晶子 (YAMADA, Akiko)