

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

2013年 6月19日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011年～2012年

課題番号：23790821

研究課題名（和文）

慢性ストレス誘発性のラット消化管知覚過敏モデルの作成と中枢性オキシトシンの効果

研究課題名（英文）

The effect of oxytocin on visceral hypersensitivity in rats

研究代表者

近藤 隆 (KONDO TAKASHI)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：90594870

研究成果の概要（和文）：

ラット胃伸展刺激に伴う機械的侵害刺激に対して、DRGにおける p38 MAPK の活性化が関与していることが分かった。このことは、p38 MAPK が内臓知覚に関与していることを示唆しており、新たな内臓知覚の指標として用いることができる。この指標を用いることで、今後オキシトシン投与に伴う知覚の分子メカニズムを客観的に評価できると考える。

研究成果の概要（英文）：

The activation of p38 pathways in DRG neurons by noxious GD in vivo is correlated with the activation state of the primary afferent neurons and further involved in the development of visceral sensation. The activation of p38 MAPK may be useful for investigating and assessing a neural activity of afferent nerve by oxytocin administration.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：内臓知覚

1. 研究開始当初の背景

消化管に器質的疾患を認めないにもかかわらず心窩部痛や胃もたれ、胃部膨満感などの上腹部症状を認める機能性ディスペプシア (Functional Dyspepsia: FD) や下痢や便秘を伴う腹痛、腹部不快感を慢性的に繰り返す過敏性腸症候群 (Irritable Bowel Syndrome: IBS) といった機能性消化管障害が近年増加してきており注目を集めている。

その病態についてはいまだ不明な部分が多いが、慢性ストレスに伴う消化管知覚過敏が関与している可能性が示唆されている。すなわち、慢性ストレスによる視床下部からの Corticotropin releasing factor (CRF) 放出の増加と、それに続く自律神経系の活性化

および視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 系の活性化により、消化管の知覚過敏を来すというメカニズムが考えられている。

そこで、消化管知覚過敏に関し動物で検討する際に、消化管の知覚に関する客観的な指標が必要となってくるが、それに関しては体性感覚のそれと比べ少ない。

2. 研究の目的

そこで、まず第1にラット脊髄後根神経節 (dorsal root ganglion: DRG) において、細胞内伝達物質の一つである p38 MAPK に着目し、その活性化を p38 MAPK のリン酸化抗体を用いることで可視化し、定量化することで消化管神経の活性化の指標の確立を目的

とした。さらに、実際ヒト食道内に酸を還流し、その還流前後での食道粘膜組織を採取し、粘膜内分子を定量化することで、知覚を客観的に評価することを目的とした。

具体的に下記に挙げた項目を検討している。

- 胃機械的侵害刺激と DRG における p38 MAPK の活性化との関連
- 慢性ストレス負荷ラットと DRG における p38 MAPK の活性化の関連
- 抗ストレスホルモンであるオキシトシン脳室内投与と p38 MAPK の活性化への影響と、さらに自発運動能との関連

3. 研究の方法

内臓知覚神経活性化の指標の確立

ラットの胃をバルーンで圧刺激を加えた直後に、Th9、10 レベルの DRG を摘出し、p38 MAPK 活性化の指標であるリン酸化 p38 (p-p38 MAPK) に対する抗体を用いた免疫染色を施行し定量化した。胃のバルーンによる刺激に伴う疼痛関連動作として僧帽筋での筋電図を定量化することとした。

ヒト内臓知覚評価法の確立

ヒト食道内に胃酸と同濃度の塩酸を還流する酸還流試験を行い、その間の上腹部症状をスコア化した。同時に酸還流前後で経鼻内視鏡を用いて下部食道粘膜を生検鉗子により採取した。

4. 研究成果

内臓知覚神経活性化の指標の確立

ラット胃内にバルーンで圧刺激を加えた後に、支配領域の DRG を摘出し、p38 MAPK 活性化の指標であるリン酸化 p38 MAPK に対する抗体を用いて免疫染色を施行したところ、DRG において p38 MAPK の活性化陽性細胞数が、胃への侵害刺激強度に応じて増加することを確認した (図 1)。

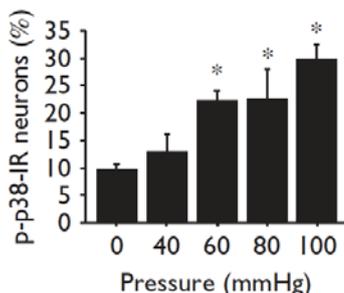


図 1 胃伸展刺激に伴う p38 MAPK の活性化

またその p38 のリン酸化は胃伸展刺激後 2 分がピークであり (図 2)、ともに TRPA1, TRPV1 そして ASIC3 陽性の小型ニューロンを

中心に活性化していることが判明した。

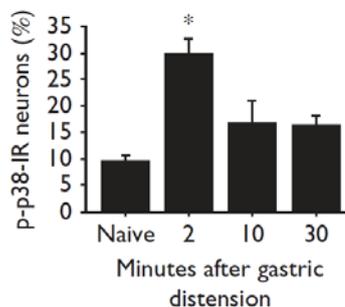


図 2 p38 MAPK 活性化の time course

さらに p38 活性化阻害剤である SB203580 を髄腔内に投与したところ、侵害刺激に対する痛み反応が有意に減弱した (図 3)。

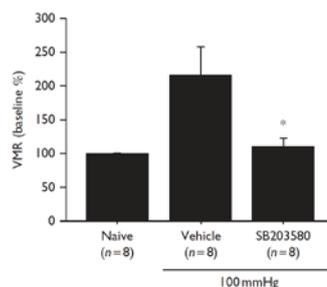


図 3 SB203580 の効果

従って、胃侵害刺激に伴う痛み反応に p38 の活性化が関与していることが判明した。

現在、逆流性食道炎モデルにおいても p38 の活性化が神経活動の指標となり得るかどうか、さらにオキシトシンの投与によりその p38 の活性化に変化があるのかどうかを検討中である。

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)

- Kondo T, Sakurai J, Miwa H, Noguchi K. Activation of p38 MAPK through transient receptor potential A1 in a rat model of gastric distension-induced visceral pain. *Neuroreport*, 24, 68-72, 2013. 査読あり doi:10.1097/WNR.0b013e32835c7df2.
- Kondo T, Oshima T, Tomita T, Fukui H, Watari J, Okada H, Kikuchi S, Sasako M, Matsumoto T, Knowles CH, Miwa H.

Prostaglandin E2 mediates acid-induced heartburn in healthy volunteers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 304, G568-73, 2013. 査読あり
doi: 10.1152/ajpgi.00276.2012.

3. Tomita T, Okugawa T, Yamasaki T, Kondo T, Toyoshima F, Sakurai J, Oshima T, Fukui H, Daimon T, Watari J, Kashiwagi T, Matsumoto T, Miwa H. Use of scintigraphy to evaluate gastric accommodation and emptying: comparison with barostat. *J Gastroenterol Hepatol*, 28, 106-11, 2013. 査読あり
doi: 10.1111/j.1440-1746.2012.07261.x.
4. Yamasaki T, Oshima T, Tomita T, Kondo T, Toyoshima F, Sakurai J, Fukui H, Matsumoto T, Watari J, Miwa H. Effect of age and correlation between esophageal visceral chemosensitivity and mechanosensitivity in healthy Japanese subjects. *J Gastroenterol.* 48, 360-5, 2013. 査読あり
doi: 10.1007/s00535-012-0665-1.
5. Koseki J, Oshima T, Kondo T, Tomita T, Fukui H, Watari J, Hattori T, Kase Y, Miwa H. Role of transient receptor potential ankyrin 1 in gastric accommodation in conscious guinea pigs. *J Pharmacol Exp Ther*, 341, 205-12, 2012. 査読あり
doi: 10.1124/jpet.111.189027.

[学会発表] (計 9 件)

1. Kondo T, Oshima T, Tomita T, Fukui H, Watari J, Okada H, Miwa H. A randomized double-blind crossover placebo-controlled study to investigate the effect of nonsteroidal anti-inflammatory drug on acid-induced esophageal sensation in healthy volunteers. (Oral presentation) *Digestive Disease Week 2013 (DDW2013)*. 5.21, Orlando, USA, 2013
2. 近藤隆, 大島忠之, 山崎尊久, 奥川卓也, 李兆亮, 豊島史彦, 櫻井淳, 池原久朝, 田中淳二, 富田寿彦, 福井広一, 渡二郎, 伊達一郎, 古根村崇, 岡田啓希, 三輪洋人

食道内プロスタグランジンと胸やけ症状発現との関連. 第44回日本消化器病学会総会. 3.21, 鹿児島, 2013

3. 近藤隆, 大島忠之, 山崎尊久, 豊島史彦, 櫻井淳, 池原久朝, 富田寿彦, 福井広一, 渡二郎, 三輪洋人. ラット胃急性内臓痛におけるp38MAPKの活性化とTRPA1の関与. 第14回日本神経消化器病学会. 11.9, 大阪, 2012
4. 近藤隆, 大島忠之, 豊島史彦, 櫻井淳, 田中淳二, 富田寿彦, 福井広一, 渡二郎, 伊達一郎, 古根村崇, 岡田啓希, 松本譽之, 三輪洋人. 食道におけるプロスタグランジンE2及びEP1受容体と胸やけ症状との関連. 第54回日本消化器病学会大会 (JDDW2012). 10.10, 神戸, 2012
5. Kondo T, Oshima T, Toyoshima F, Sakurai J, Tanaka J, Tomita T, Fukui H, Watari J, Matsumoto T, Miwa H. Prostaglandin E2 mediates acid-induced esophageal sensation in healthy volunteers. (Poster) *Digestive Disease Week 2012 (DDW2012)*. 5.21, San Diego, USA, 2012
6. Kondo T, Oshima T, Koseki J, Fukui H, Watari J, Hattori T, Kase Y, Miwa H. Decrease in the Upper Medullary NOS Activity is Involved in Impaired Gastric Accommodation: A Lesson From a Water-Avoidance Stress Model Using Conscious Guinea Pigs. (Poster) *Digestive Disease Week 2012 (DDW2012)*. 5.21, San Diego, USA, 2012
7. 近藤隆, 大島忠之, 田村彰朗, 山崎尊久, 豊島史彦, 櫻井淳, 田中淳二, 富田寿彦, 福井広一, 渡二郎, 岡田啓希, 古根村崇, 伊達一郎, 松本譽之, 三輪洋人. 胸やけ症状発現と食道粘膜におけるプロスタグランジンE2及びEP1受容体の関連. (コアシンポジウム) 第8回日本消化管学会総会学術集会. 2.10, 仙台, 2012
8. Kondo T, Oshima T, Yamasaki T, Okugawa T, Asano H, Toyoshima F, Sakurai J, Tanaka J, Tomita T, Fukui H, Hori K, Watari J, Matsumoto T, Noguchi K, Miwa H. Activation of p38 MAPK through transient receptor potential A1 mediates gastric distention-induced visceral pain in rats. (Oral

presentation) 19th United European
Gastroenterology Week (UEGW2011),
10.24, Stockholm, Sweden, 2011

9. 近藤隆, 大島忠之, 山崎尊久, 横山聡子,
奥川卓也, 豊島史彦, 櫻井淳, 田中淳二,
森田毅, 富田寿彦, 福井広一, 堀和敏,
渡二郎, 松本譽之, 三輪洋人. ラット胃
伸展刺激によるp38MAPKの活性化と
TRPA1の関与. (ミニシンポジウム) 第
97回日本消化器病学会総会, 5.13, 東
京, 2011

〔図書〕(計 1件)

1. 近藤隆, 大島忠之, 山崎尊久, 田村彰朗,
野口光一, 三輪洋人. TRPA1について
何がわかっているか. 分子消化器病,
先端医学社, 8, 310-5, 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 隆 (KONDO TAKASHI)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：90594870