

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659344

研究課題名(和文)過敏性腸症候群のエンドフェノタイプに対する感受性遺伝子とストレスの影響

研究課題名(英文) Impact of susceptible genes and stress on endophenotype of irritable bowel syndrome

研究代表者

福土 審 (Fukudo, Shin)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・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)：過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome; IBS)はストレス感受性が高い。本研究は、IBSの中間表現型(エンドフェノタイプ)の関連遺伝子を同定し、そのストレスとの関係を証明することを目的にした。健常者とIBS患者を対象とし、ストレス応答の鍵となる分子corticotropin-releasing hormone (CRH)受容体R1遺伝子多型ほか、複数の遺伝子を分析した。その結果、CRH-R1遺伝子多型およびハプロタイプとIBSならびにそのエンドフェノタイプである便秘状態が関連した。ストレス応答の鍵となる分子とIBSならびにその中間表現型との関連が証明された。

研究成果の概要(英文)：Patients with irritable bowel syndrome (IBS) are characterized with exaggerated response to psychosocial stressors. We previously reported exaggerated colonic motility in IBS patients in response to administration of corticotropin-releasing hormone (CRH) which is one of key mediators of stress response. This study aimed to test the hypothesis that IBS and its phenotypes are associated with candidate genotypes and stress. Several candidate genes including CRH and allied molecules with association to IBS and its phenotypes were analyzed. As results, CRH receptor 1 genotypes and its haplotype were associated with IBS phenotype and bowel pattern. These results suggest that psychosocial stress may affect on the phenotype and endophenotypes of IBS.

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. 損失が大きい、E. わが国の研究者が努力すれば克服できる、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 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。

IBS は代表的な内科疾患 (消化器病) であり、かつ、ストレス関連疾患である。このため、精神障害とは異なり、標的臓器が明瞭であり、有力な中間表現型(endophenotype)を同定でき、研究上有利である。その結果を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・社会的意義がきわめて大きい。

2. 研究の目的

本研究は、IBS を突破口としてストレス関連疾患全般にアプローチする萌芽を得ようとするものである。その実現可能性は極めて高い。その根拠は以下の通りである。IBS にはうつ病性障害・不安障害が高率に併存・合併する。内臓刺激に対して IBS では辺縁系の異常な活性化が見られる。特に、前帯状回がより活性化される。この前帯状回の活性化はうつ病性障害・不安障害では安静時から見られる。IBS には選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)やセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬(SNRI)が有効であるが、これらは前帯状回の活性化を抑制する。IBS に認知行動療法が有効であるが、これは前帯状回の活性化を抑制する。IBS では迷走神経機能低下・交感神経機能亢進が見られる。うつ病性障害に対しては、迷走神経電気刺激療法(VNS)が有効であるが、これは内臓感覚神経を刺激することで、脳内神経伝達物質を調節する機序である。以上の諸点は、IBS、うつ病性障害、不安障害に前帯状回機能亢進をはじめとする endophenotype の共通点が多いことを示す。

われわれは、消化管と中枢神経の機能的相関の主要経路を明らかにすることを長期的

テーマとして研究を推進している。IBS を表現型(phenotype)とする。その源流を辿ると、IBS に関連する endophenotype があり、その更に源流には、遺伝子型(genotype)がある。IBS の有力遺伝子が報告されてきたが、否定的報告もあり、結論はついていない。研究代表者は、遺伝子型が単純に endophenotype、ひいては phenotype を生むのではなく、特定の遺伝子型が環境の変化に特に反応する遺伝子-環境相関 gene-environment interactions の機序が IBS の鍵である仮説を提唱している。本研究では IBS の endophenotype に関係する特定遺伝子を同定し、そのストレスとの関係を証明することを目的にする。

3. 研究の方法

対象を IBS 患者とした。診断は Rome III 診断基準の research criteria で行った。すなわち、腹痛あるいは腹部不快感が 1 ヶ月につき 3 日以上あるものが 3 ヶ月以上続き、その腹痛あるいは腹部不快感が、(1) 排便によって軽快する、(2) 排便頻度の変化で始まる、(3) 便性状の変化で始まる、の 3 つの便通異常の 2 つ以上の症状を伴うもの。更に、IBS を、Bristol 便形状尺度の頻度に基づき、便秘型(IBS-C)、下痢型(IBS-D)、混合型(IBS-M)、分類不能型(IBS-U)の 4 型に分類した。これを消化器症状と精神症状がない健常者と比較した。第 1 に静脈採血を行い、血液検体から白血球を分離し、DNA を分離した。次いで、標的遺伝子の primer を設計し、real-time polymerase chain reaction 法で genotyping を行い、genotype と生物学的 endophenotype を同定した。第 2 に endophenotype を心理計量学的に同定した。重症胃腸炎の既往の有無、両親の過敏性腸症候群の有無を両群で分析した。得られた genotype-endophenotype-phenotype から、cluster 分析により、まず endophenotypic clusters を同定する。その上で関連解析を行うことにより、IBS 全体という不均一な病態が混在する可能性があるものから、生物心理社会的に明瞭なまとまり(cluster)を構成する可能性があるものの遺伝子-環境相関を明らかにすることを試みた。

4. 研究成果

まず、Rome III 基準を満足する IBS 123 例を対象とし、健常者 153 例を対照とした。対象の正中肘静脈からヘパリン採血し、白血球を分離し、DNA を抽出した。IBS においては corticotropin-releasing hormone (CRH) が重要な役割を持つと考えられる。そこで、日本人における一定の多型の保有率が予想される CRH 受容体 1(CRH-R1) 遺伝子 rs7209436、rs242924、rs110402 を標的とし、direct sequence で確認した後、real-time polymerase chain reaction 法で genotyping を行った。対象者の情動は、Perceived-Stress Scale (PSS)、Self-rating Depression Scale (SDS)、State-Trait Anxiety Inventory (STAI) で定量化した。結果は、IBS

群が健常群と比較し、rs7209436 ($p = 0.01$)、rs242924 ($p = 0.02$) で有意に多くの TT を保有していた。また、便通異常のグループ間(健常、下痢型、便秘型、または混合型)と rs7209436 の T allele ($p = 0.008$)、rs242924 の T アリル ($p = 0.019$)、rs110402 ($p = 0.047$) の対立遺伝子、TAT ハプロコピー数 ($p = 0.048$) との間に有意な関連があった。CRH-R1 遺伝子型およびハプロタイプと IBS ならびに便通状態が関連した。これらの因子間の分析により、IBS ならびにその中間表現型との関連を証明することができた。

ついで、CRH の作用は上記 CRH-R1 の他に、CRH、CRH binding protein (CRH-BP) の発現量によって左右されるため、それらが IBS の表現形に関連するという仮説を検証した。CRH 遺伝子 rs6472258、rs28364015、CRH-BP 遺伝子 rs10474485 を標的とし、real-time polymerase chain reaction で genotyping を行い、direct sequence にて補足した。IBS の表現形は、IBS subtype、Perceived-Stress Scale (PSS)、Self-rating Depression Scale (SDS)、State-Trait Anxiety Inventory (STAI) で定量化した。結果は、rs28364015 は最初の 40 例全例が TT であり、minor allele を持つ個体はなかった。rs6472258 と rs10474485 はいずれも IBS、IBS subtype との直接の関連はなかった。しかし、rs6472258 の G allele を持たない個体の SDS ($p = 0.023$)、ならびに、rs10474485 の A allele を持たない個体の PSS ($p = 0.014$) が高値であった。CRH、CRH-BP 遺伝子多型は IBS の陰性情動に関連することが示唆された。

更に、IBS の原因遺伝子が欧米で鋭意追究されており、最近、スウェーデンの IBS 534 例対対照 4932 例の genome wide association study (GWAS) により、第 7 染色体短腕 22.1 における KDEL endoplasmic reticulum protein retention receptor 2 (KDELR2) ならびに glutamate receptor, ionotropic, delta 2 (Grid2) interacting protein (GRID2IP) 遺伝子の変異が見出され、欧米 6 ヶ国のコホートにおいても 6 ヶ国の最小例数 150 サンプルにおいて、再現性が確認されている。そこで、対象を先行研究同数の IBS 患者 ($n = 150$) とし、健常者 ($n = 1000$) として、genotype と生物学的 endophenotype を実施した。Genotyping は、血液検体から白血球を分離し、DNA を抽出する。これより、5-HTTLPR、5-HT3 受容体遺伝子、一酸化窒素合成酵素(NOS)、CRH 遺伝子、CRH 受容体 R1 遺伝子、CRH 受容体 R2 遺伝子を代表とする遺伝子多型を GWAS にて分析した。そのゲノムの第一の分析が終了し、臨床的に意味がある変異の有無を解析することを可能な状態にする結果を得た。

IBS の本格的 GWAS は前述したスウェーデンならびに欧米 6 ヶ国の KDELR2 ならびに GRID2IP 遺伝子、さらには TNFSF15 遺伝子以外は実施されておらず、人種差の有無も含

めた解析に大きな意義がある。6 ヶ国の標本数は幅があるが、150 前後の標本数でも統計学的に高い有意差を検出している。日本における KDELR2、GRID2IP、TNFSF15 遺伝子の再現性の肯定もしくは否定だけに限定しても IBS のゲノム研究の更なる解析には大きな意義がある。

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) 全部有査読

1) Fukudo S, Kaneko H, Akiho H, Inamori M, Endo Y, Okumura T, Kanazawa M, Kamiya T, Sato K, Chiba T, Furuta K, Yamato S, Arakawa T, Fujiyama Y, Azuma T, Fujimoto K, Mine T, Miura S, Kinoshita Y, Sugano K, Shimosegawa T. Evidence-based clinical practice guidelines for irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol* 50 (1): 11-30, 2015. doi: 10.1007/s00535-014-1017-0.

2) Hamaguchi T, Kano M, Kanazawa M, Itoh M, Yanai K, Fukudo S. Preceding stimulation affects brain activation in response to colonic distention in humans. *Psychosom Med* 75(5): 453-462, 2013. doi: 10.1097/PSY.0b013e3182926682.

3) Kano M, Mizuno T, Kawano Y, Aoki M, Kanazawa M, Fukudo S. Serotonin transporter gene promoter polymorphism and alexithymia. *Neuropsychobiology* 65 (2): 76-82, 2012.

10.1159/000329554

4) Sato N, Suzuki N, Sasaki A, Aizawa E, Obayashi T, Kanazawa M, Mizuno T, Kano M, Aoki M, Fukudo S. Corticotropin-releasing hormone receptor 1 gene variants in irritable bowel syndrome. *PLoS ONE* 7: e42450, 2012.

10.1371/journal.pone.0042450.

5) Tayama J, Nakaya N, Hamaguchi T, Tomiie T, Shinozaki M, Saigo T, Shirabe S, Fukudo S. Effects of personality traits on the manifestations of irritable bowel syndrome. *Biopsychosoc Med* 6(1): 20, 2012.

10.1186/1751-0759-6-20.

{ 学会発表 } (計 3 件)

1) Shin Fukudo. Invited Lecture: Irritable bowel syndrome: multimodal disorder of brain-gut interactions. Catholic University of Leuven, Belgium, September 14-17 (15), 2014.

2) Shin Fukudo, Motoko Ida, Hiraku Akiho, Yoshihiro Nakashima, Kei Matsueda. Effects of ramosetron on male patients with irritable bowel syndrome with diarrhea: randomized, placebo-controlled trial. The 114th Annual Meeting of American Gastroenterological Association, Orlando, USA, May 18-21, 2013

3) Shin Fukudo. Pathophysiological and therapeutic approach from the east. IBD & IBS 2012: AGA-JSGE Joint Symposium. Part 2: Basic and clinical linkage of irritable bowel syndrome (IBS). The 113th Annual Meeting of American Gastroenterological Association, San Diego, USA, May 19-22 (19), 2012.

〔図書〕(計2件)

1) Fukudo S, Machida T, Endo Y, Shoji T, Kano M, Kanazawa M. When and how should we study colonic motility? In; Quigley EMM, Hongo M, Fukudo S (eds): Functional and GI Motility Disorders. Frontiers of Gastrointestinal Research. Kager, Basel, Switzerland, 65-81/184, 2014. doi: 10.1159/000356745.

2) 福土審. 内臓感覚と不安・抑うつ. 久保木富房, 久保千春, 野村忍, 不安・抑うつ研究会編. 心身相関医学の最新知識. 日本評論社, 東京. 19-30/191, 2012.

〔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：
出願年月日：
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.htm

1

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