

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790659

研究課題名(和文)腸管グリア細胞の動態・ストレス応答からみた機能性ディスペプシアの病態解析

研究課題名(英文)Enteric glial cells may be involved in a pathophysiological mechanism of clinical symptoms in functional dyspepsia

研究代表者

田中 史生(TANAKA, Fumio)

大阪市立大学・医学(系)研究科(研究院)・後期臨床研究医

研究者番号：20623292

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円、(間接経費) 570,000円

研究成果の概要(和文)：機能性ディスペプシア(functional dyspepsia; FD)患者6名と健常者3名を対象に、質問紙票での調査、十二指腸下行部から組織を採取し下記項目を比較検討した。FD患者群は健常者群に比し、食後のもたれ感などの食後愁訴症候群に属する症状の強度が有意に高かった。FD患者では、十二指腸粘膜内のグリア細胞由来神経栄養因子の発現亢進、および上皮細胞間距離の延長が認められ、ディスペプシア症状の発現に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Design: A clinical assessment and a duodenal biopsy specimens were obtained from 6 patients with functional dyspepsia (FD) and 3 healthy subjects. Mucosal expressions of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) protein and intercellular space between duodenal epithelial cells were evaluated. Results: Compared with healthy subjects, FD patients exhibited: (a) high symptom severities which belong to postprandial distress syndrome and somatization; (b) increased expression of GDNF protein; and (c) dilated intercellular space. The expression of GDNF was positively correlated with intercellular space. The expression of GDNF had a tendency of positive correlation with symptoms such as postprandial distress. Conclusions: The duodenal mucosa of FD patients displays increased expression of GDNF associated with dilated intercellular space, which may be a pathophysiological mechanism of clinical symptoms.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、内科学一般(含心身医学)

キーワード：ストレス 神経科学 機能性ディスペプシア

1. 研究開始当初の背景

(1) 機能性ディスぺプシア (functional dyspepsia; FD) は日本人の約 25%に認められる社会に広く存在する疾患であり、罹患率は年率 1~2%の割合で増加している。しかし現在の治療薬の効果は限定的であり、新たな視点での治療の開発が必要とされる。FD は「抑うつ・不安」「身体化」という 2 つの精神症状に関連するとされ、精神症状に基づく FD の症状発現機序を明らかにすることが、病態理解を深める上での課題である。

(2) FD の病態には内臓知覚過敏、消化管運動機能異常などが関与しており、腸管神経システムと密接な関連がある。腸管グリア細胞は、腸管神経システムの主要な構成要素の一つであり、グリア細胞由来神経栄養因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor; GDNF) 等の神経栄養因子の産生を介した上皮バリア機構の維持に関与するという報告がある。そのため腸管グリア細胞が FD の発症機序に関与する可能性が示唆される。

2. 研究の目的

機能性ディスぺプシアの腹部症状の強さは「抑うつ・不安」という精神症状に関連するとされるが、そのメカニズムは未だ明らかではない。本研究は「抑うつ・不安」を合併した機能性ディスぺプシアにおける腸管グリア細胞の動態を捉えることを目的とする。

3. 研究の方法

Rome- 基準を満たす 20~80 歳の FD 患者 6 名と健常者 3 名を対象に、質問紙票での調査、十二指腸下行部から組織を採取し下記項目を比較検討した。心窩部痛・心窩部灼熱感・早期飽満感・食後のもたれ感の 4 つのディスぺプシア症状強度を 7 点 Likert scale で評価した。精神症状について、抑うつ・不安症状は The validated Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) を用いて、身体化障害は Patient Health Questionnaire-15 (PHQ-15) を用いて評価した。上皮細胞間距離を透過型電子顕微鏡で観察、計測した。十二指腸粘膜内 GDNF 蛋白発現量を ELISA 法で、グリア細胞マーカーである S100 β 、細胞接着因子 mRNA 発現量を real-time RT-PCR 法で解析した。GDNF の局在を検討するため、蛍光免疫染色を行った。

4. 研究成果

(1) 患者背景・特徴

FD 患者群は健常者群に比し、食後愁訴症候群に属する症状強度 (P = 0.02)、身体化障害スコア (P = 0.04) が有意に高かった (表 1)。抑うつ・不安症状は 2 群間で有意差を認めなかった。そのため「抑うつ・不安」を有する FD の特徴を検討するという当初の目的を変更し、精神症状の有無でのグループ化を行わず、

FD 患者全体での特徴を検討することとした。

Characteristic	Controls	Patients with FD	p Value
Gender, F:M	3:0	4:2	-
Age, years (range)	48.3±18.9 (35-70)	49.0±21.8 (28-79)	0.61
BMI, kg/m ²	22.2±3.17	19.3±2.78	0.20
Food allergy, number	0/3	1/6	0.70
Epigastric pain synd., number	0/3	5/6	0.05
Epigastric pain synd., score	1.3±2.3 (0-4)	5.0±3.7 (0-10)	0.16
Postprandial distress synd., number	0/3	6/6	0.02
Postprandial distress synd., score	0.0 (0-0)	6.2±3.3 (2-10)	0.02
HADS; anxiety, number	0/3	1/6	0.70
HADS; depression, number	0/3	1/6	0.70
PHQ-15; somatization, score	3.3±3.2 (1-7)	10.0±3.3 (4-13)	0.04
Infection with <i>H. pylori</i> , number	0/3	0/6	-
Overlap with GERD	0/3	3/6	0.25
Overlap with IBS	0/3	3/6	0.25

[Mean ± SD]

表 1 患者背景・特徴

(2) 上皮細胞間距離と GDNF 発現量の検討

FD では上皮細胞間距離が延長し、接着結合の開大を認めた (20.0±1.8 vs. 31.0±2.8 nm, P = 0.03, 図 1)。また GDNF 蛋白発現量が有意に亢進し (53.3±17.7 vs. 113.8±11.8 pg/mg protein, P = 0.01, 図 2)、上皮細胞間距離と正相関を示した (P = 0.032, r = 0.81, 図 3)。細胞間距離と食後のもたれ感との相関性は強かった (P = 0.06, r = 0.86, 表 2)。GDNF 発現量と心窩部灼熱感、食後のもたれ感は相関傾向であった (P = 0.06, r = 0.52; P = 0.06, r = 0.65, 表 3)。

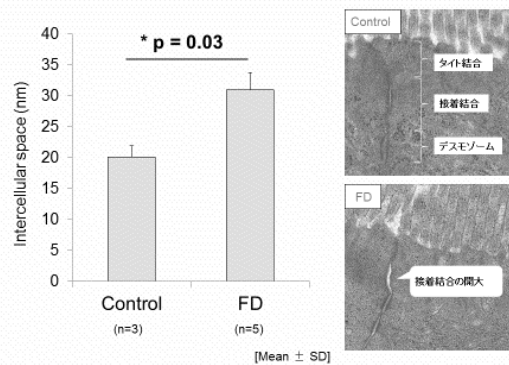


図 1 十二指腸上皮細胞間距離

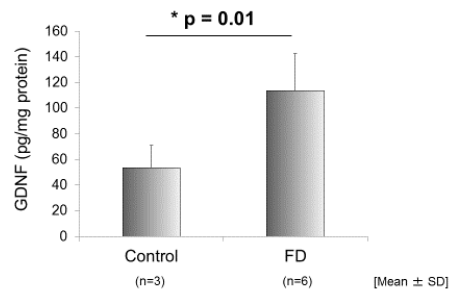


図 2 十二指腸粘膜内 GDNF 蛋白発現量

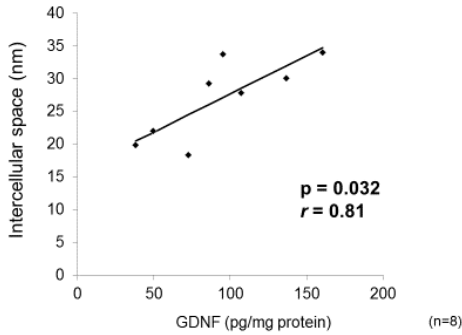


図3 GDNF と上皮細胞間距離の相関

Variables	p Value	Correlation coefficient
Epigastric pain	0.63	0.29
Epigastric burning	0.11	0.58
Postprandial fullness	0.06	0.86
Early satiation	0.13	0.71

(n=8)

表2 上皮細胞間距離とディスペプシア症状強度の相関

Variables	p Value	Correlation coefficient
Epigastric pain	0.88	-0.13
Epigastric burning	0.06	0.52
Postprandial fullness	0.06	0.65
Early satiation	0.16	0.49

(n=9)

表3 GDNF とディスペプシア症状強度の相関

(3)GDNF、グリア細胞の局在

GDNF は絨毛先端部のグリア細胞、陰窩基部の炎症細胞に局在していた。特にグリア細胞においては絨毛先端部で GDNF と GFAP が共発現していた。一方 GDNF は S100 とは共発現を認めなかった。GFAP 陽性グリア細胞数、S100 陽性グリア細胞数については、FD 群と健常者群間で有意差を認めなかった。

(4)各種 mRNA 発現量の検討

GDNF mRNA 発現量は FD 群と健常者群間では有意差を認めなかった(表4)。また GDNF のレ

セプターである GDNF family receptor 1 (GFRA1)発現量も検討したが、GDNF 発現量と同様に有意差を認めなかった。グリア細胞関連 mRNA として GFAP、S100 mRNA 発現量を検討したが、いずれも有意差を認めなかった。細胞接着分子では zonula occludens-1 (ZO-1)、occludin、E-cadherin、 β -catenin、desmoglain-2 mRNA 発現量を検討したが、いずれも有意差を認めなかった。

Gene	Controls	Patients with FD	p Value
Occludin	1.28±1.07	1.42±0.51	0.61
ZO-1	1.20±0.78	1.33±0.50	0.80
E-cadherin	1.11±0.62	1.26±0.38	0.78
β -catenin	1.13±0.70	1.48±0.57	0.30
Desmoglain-2	1.16±0.76	1.54±0.48	0.85
S100 β	1.35±0.98	1.19±0.38	0.61
GDNF	1.06±0.40	0.69±0.61	0.44
GFRA1	1.26±0.81	0.92±0.45	0.44

[Mean ± SD]

表4 十二指腸粘膜内 各種 mRNA 発現量

(5)炎症に対する十二指腸グリア細胞の被刺激性の検討

Ex vivo における炎症時のグリア細胞からの GDNF 産生量を検討するため、十二指腸生検組織を Interleukin-1 1 mg/ml 存在下に 24 時間培養し、培養上清中の GDNF 濃度の測定を試みた。しかし反応性に乏しく、GDNF 値は測定感度下限付近あるいは感度以下であった。

(6)結論

FD 患者では十二指腸上皮細胞間距離の開大、粘膜内 GDNF 蛋白発現の亢進が認められ、腸管グリア細胞が症状発現に関与する可能性が示唆された。

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0件)

〔学会発表〕(計1件)

田中史生 他
グリア細胞由来神経栄養因子と十二指腸上皮細胞間距離からみた機能性ディスペプシアの病態解析
第56回 日本消化器病学会大会
2014年10月23日~26日発表予定
神戸国際展示場等

〔図書〕(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 史生 (TANAKA, Fumio)
大阪市立大学・大学院医学研究科・後期臨床
研究医
研究者番号： 20623292

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし