

平成30年 5月24日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26870039

研究課題名(和文) 脳腸相関と視床下部ストレス・ホルモンネットワーク機構の解明

研究課題名(英文) Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis and Brain Activity in IBS

研究代表者

田中 由佳里 (Tanaka, Yukari)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号：50721453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ストレス関連神経ペプチドである副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)が内臓刺激時の陰性情動関連局所脳に影響を及ぼし、過敏性腸症候群患者(IBS)は健常者と反応性の差異があることを見出した。更に、視床下部 下垂体 副腎皮質軸とカテコラミン系の分泌ネットワーク、自律神経活動との関連が患者と健常者で異なっていた。またマウスを用いた研究で、ヒトで変化を認めた扁桃体の神経シナプス反応が内臓刺激の強度変化により異なっていた。以上より、IBS患者において、ストレスの鍵物質であるCRH存在下で、大腸知覚 自律神経 脳扁桃体ネットワークの変成が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Corticotropin-releasing hormone (CRH) mediates stress responses in the brain-gut axis. Exogenous CRH differentially sensitizes brain regions of the emotional-arousal circuitry within the visceral pain matrix to colorectal distention and synergetic activation of noradrenergic function in IBS patients and healthy individuals. Administration of CRH also modulates the autonomic nervous system in response to colorectal distention. The relationship between HPA-sympathoadrenal responses and CRH levels during colorectal distention differs between patients with IBS and controls. Modulation of adrenal gland activity in response to ACTH stimulation may contribute to the brain-gut pathophysiology characteristic of IBS.

研究分野：消化器内科学

キーワード：過敏性腸症候群 脳腸相関 自律神経活動 副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン

1. 研究開始当初の背景

過敏性腸症候群 (Irritable Bowel Syndrome: IBS) は繰り返す腹痛・便秘症状を主症状とする機能性消化器疾患である。有病率は若年成人の約 15%とされ、うつや不安など心理社会的因子が密接に関与する。よって、脳腸相関の解明が IBS 克服の鍵であると考えられている。

IBS の病態にストレスの鍵物質である CRH が深く関わっている。生体にストレスが負荷されると、視床下部室傍核から CRH が分泌され、下垂体より副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) を放出し、これがコルチゾール分泌を招く。これを視床下部—下垂体—副腎皮質軸 (HPA 軸) と呼び、ストレス調節の要となる。同時に、CRH は内臓知覚過敏を誘発し、腸管運動を亢進させ、CRH 拮抗薬はこれを改善させる。

しかし、体内での CRH の増加環境における内臓刺激時の局所脳活動や血液中ストレス関連ホルモン反応についてまだわかっていない。IBS は慢性的なストレス刺激により、ストレス反応に対する誤ったアダプテーションが生じているとされる。IBS 患者と健常対象者を比較した、内臓刺激中のポジトロン放出断層撮影 (PET) および機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) を用いた脳機能検査が報告されている。

健常対照および IBS 患者では、内臓刺激中のポジトロン放出断層撮影 (PET) および機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) を用いた脳機能検査が実施されている。IBS 患者の結腸直腸刺激の間に、内臓、帯状皮質、前頭前野、扁桃体、および海馬を含む内臓の知覚および感情に関する脳領域が活性化される。fMRI 研究などで、経口投与された CRH-1 受容体アンタゴニストが、IBS 患者および腹部皮膚痛の間の扁桃体、海馬、膝島、前部帯状および前頭前野皮質における血中酸素レベル依存性 (BOLD) シグナル低下を引き起こしたことが報告されている。CRH 受容体の調節は、特に IBS 患者において、ヒトの内臓感受性を変化させる可能性がある。しかし、IBS において、ヒト脳の CRH 受容体アゴニストがどのように局所脳活動に影響するかについて、報告はない。

CRH は、特に視床下部、LC および扁桃体において、ストレス中のノルアドレナリン作動性放出の重要な原因である。これらの脳領域は、陰性情動の調節に加えて、自律神経系の調節にも関連する。心拍変動 (HRV) は、自律神経活動を評価するために用いられており、IBS 患者において、大腸伸展刺激時の迷走神経活動の減少と交感神経活動の増加が報告されている。

これらより IBS について、ストレス関連神経伝達物質と腸管—脳の相互関連に加え、生理学的機序解明が望まれる。

2. 研究の目的

本研究では、IBS 患者および健常対照における内臓刺激に対する HPA 軸および脳・自律神経応答に対する CRH の影響を調べる目的で、具体的には以下の仮説を検証した。

1) IBS 患者では、CRH 投与下大腸伸展刺激時の、脳情動喚起ネットワークおよび HPA 軸反応について、健常者と異なる反応を呈する。2) 1) の状態におけるカテコラミンの反応が IBS と健常者と異なり、更に自律神経活動も類似の反応を呈する。3) 血漿カテコラミンと ACTH 値は HRV と正の相関を示し、CRH は対照と比較して IBS 患者においてこの関係をさらに強化した。

3. 研究の方法

対象は、健常者 32 名 (男性 16 名、女性 16 名、平均年齢 22.0 ± 2.1)、IBS 患者 32 名 (男性 16 名、女性 16 名、平均年齢 21.7 ± 1.6) を対象とした。IBS の診断は Rome 診断基準により行った。対象患者の IBS サブタイプは下痢型 22 名 (男性 13 名、女性 9 名)、便秘型 3 名 (男性 1 名、女性 2 名)、混合型 7 名 (男性 2 名、女性 5 名) であった。

検査方法は、被験者は検査前日は通常の大腸内視鏡検査に準ずる前処置を行い、検査当日は直腸にポリエチレン製ビニルよりなるバロスタットバッグを挿入・留置し、無刺激、低度 (20mmHg)、高度 (40mmHg) 大腸伸展刺激をランダムに加えた (Synectics Visceral Stimulator; Medtronic Synectics; Shoreview, MN)。更に CRH (Tanabe-Mitsubishi; Osaka, Japan) 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ もしくは生理食塩水を静注し、同様の刺激を加えた。刺激毎に H_2^{15}O を静注し、positron emission tomography (PET) による局所脳血流量を測定し、刺激終了毎に採血と腹痛や便意、不安感など 7 項目からなる自覚スケールを聴取した。また検査開始時より心電図測定も施行した。

得られた血漿より、ACTH、ノルアドレナリン、アドレナリン値を測定し、血清よりコルチゾール値を測定した。心電図は大腸伸展刺激時、無刺激時の 64 秒間について RR 間隔を算出し (R-R Interval Analyzing Program, HPS-RRA; Fukuda Denshi) Low frequency bands (LF, 0.04-0.15 Hz)、high frequency bands (HF, 0.15-0.4 Hz) 成分、更に LF/HF 比を算出した。

統計解析は、脳画像については SPM 8 を、その他の内分泌、心拍変動については SPSS 21.0 を用いて解析を、更にネットワーク解析においては AMOS 22.0 を使用した。

情動喚起経路に関する局所脳神経棘突起評価は、10-11 週令の Green fluorescent protein (GFP) マウスに大腸電気刺激による内臓ストレス負荷を行い (無刺激、偽刺激, 2mA, 5mA, 10mA, 各群 3 匹) 終了後ホルムアルデヒドを用いた灌流固定を行った。10 μm 厚の凍結切片を作成し、共焦点顕微鏡 (LSM780, Zeiss) を用いて撮像した画像に

ついて、底外側扁桃体の神経棘突起数をカウ
ントした (NeuroLucida, MBF Bioscience)。

尚、本研究は東北大学大学院医学系研究科
倫理委員会の承認のもと行った。

4. 研究成果

(1) CRH 投与下、大腸伸展刺激時における IBS 群と健常群の局所脳活動比較

CRH 投与下、無刺激時において、IBS 群
は生理食塩水投与群と比べて右扁桃の有意な
賦活化を認めた。(図1)一方、大腸伸展高
度刺激時では、CRH 投与と健常者群において、
IBS 群より右扁桃の有意な賦活化を認めた。
(図1)また大腸伸展刺激時の健常者群内
では、生理食塩水投与に比し、CRH 投与に
より両側扁桃体の他、左海馬の有意賦活が見
られた。

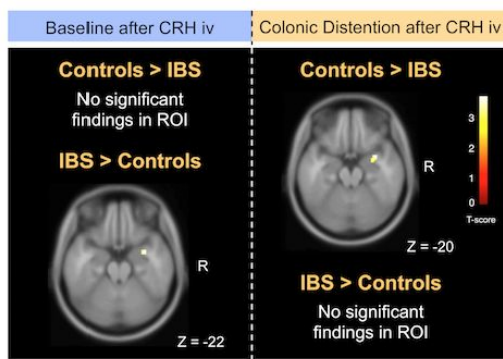


図1. CRH 投与下、大腸刺激時の脳活動の
IBS 群と健常者群比較

(2) HPA 軸・カテコラミン系反応

一般化推定方程式 (GEE) を用いた解析
により、ACTH、コルチゾール、ノルアドレナ
リン、アドレナリン反応全てにおいて、有意
な、大腸伸展刺激×CRH 投与×IBS の交互
作用を認めた。また、ACTH とノルアドレナ
リンについて、大腸伸展刺激×CRH 投与×IBS×
性別について有意な交互作用を認めた。

共分散構造分析を用いた、HPA 軸とカテ
コラミン軸の関連について、大腸高度刺激時
の健常者 CRH 投与群と IBS 生理食塩水投
与群では ACTH とコルチゾールの関連に加
え、ACTH とアドレナリン間でも有意関連
を認めた。(図2)

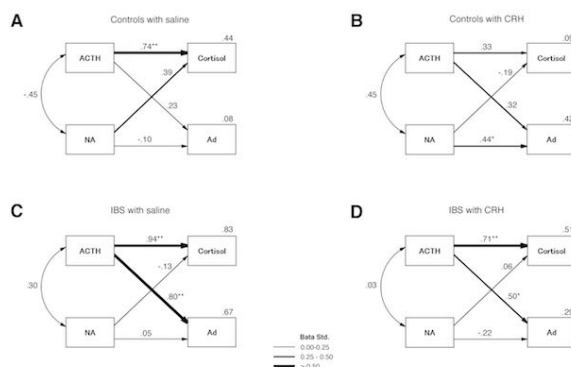


図2. 大腸高度刺激時、HPA—カテコラミン軸
関連。A. 健常者生理食塩水投与群 B. 健常者
CRH 投与群 C. IBS 生理食塩水投与群
D. IBS CRH 投与群。* $P < .05$ and ** $P < .01$
有意パスを示す。

(3) 自律神経活動変化と HPA 軸、カテ コラミン関連

心拍数、交感神経活動指標である LF/HF
比、副交感神経指標である HF について、
GEE を用いた解析により、HF について、有
意な大腸伸展刺激×CRH 投与×IBS 交互
作用を認めた。ACTH、コルチゾール、ノル
アドレナリン、アドレナリンと、自律神経活
動について相関解析を行い、CRH 投与下内
臓刺激時における HPA 軸とカテコラミン-
自律神経活動への関連を調べた。特に CRH
投与と健常者群において、アドレナリンと
心拍数、HF、LF/HF 比についてそれぞれ有
意相関を示した。

(4) 底外側扁桃体の神経棘突起数変化

無刺激に比べて 5mA 刺激では 10 μ m 当
たりの棘突起数は有意に増加し、一方で 10mA
では有意に減少していた。

(5) 考察・結論

本研究により、CRH 投与下大腸伸展刺激
が、IBS 群と健常者群の両方において、内
臓知覚関連脳領域および神経内分泌変化を
すること、更に両群で反応性が異なっていた
ことを明らかにした。内臓痛と情動の重要
な調節を行う扁桃体について、IBS は CRH
投与のみで賦活化し、健常者は更に大腸
刺激を加えた際に有意に賦活化したことは、
IBS では頻回のストレス刺激について、誤
ったアダプテーションが生じていることが
示唆される。

健常者 CRH 群と IBS 生理食塩水投与
群では、ACTH とアドレナリンの関連が
増強しており、更にこれらは自律神経活
動とも相関性を示していた。橋の青斑核
でノルアドレナリンと CHR がポジティブ
・フィードバックする他に、ノルアドレ
ナリンからアドレナリンが生成される経
路において、phenylethanolamine N-
methyltransferase (PNMT) が介在し、
更にこれはコルチゾールの影響を受ける
など、HPA 軸はカテコラミン系と密接な
関連を有する。IBS では、局所脳だけ
ではなく内臓のホルモンネットワークに
ついては病態を有する可能性が示唆され
た。

これら病態の詳細な検討のために、内
臓刺激時のマウス局所脳の構造変化を
観察する中で、刺激の強度に応じて神
経棘突起数が増減することが見出され
た。これまで、一義的にストレス刺激
が扱われていたが、刺激の程度と神
経反応性について検討は殆ど無い。
更なる検討を含めて研究中である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. Tanaka Y, Kanazawa M, Palsson O, Van Tilburg M, Gangarosa L, 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.* 2018;24:87-95. doi: 10.5056/jnm16216. (査読 有)

2. Kano M, Muratsubaki T, Van Oudenhove L, Morishita J, Yoshizawa M, Kohno K, Yagihashi M, Tanaka Y, Mugikura S, Dupont P, Ly HG, Takase K, Kanazawa M, Fukudo S. Altered brain and gut responses to corticotropin-releasing hormone (CRH) in patients with irritable bowel syndrome. *Sci Rep.* 2017;7:12425. doi: 10.1038/s41598-017-09635-x. (査読 有)

3. Tanaka Y, Kanazawa M, Kano M, Morishita J, Hamaguchi T, Van Oudenhove L, Ly HG, Dupont P, Tack J, Yamaguchi T, Yanai K, Tashiro M, Fukudo S. Differential Activation in Amygdala and Plasma Noradrenaline during Colorectal Distention by Administration of Corticotropin-Releasing Hormone between Healthy Individuals and Patients with Irritable Bowel Syndrome. *PLoS One.* 2016;11:e0157347. doi: 10.1371/journal.pone.0157347. eCollection 2016. (査読 有)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Tanaka Y, Kanazawa M, Kano M, Morishita J, Hamaguchi T, Hozawa A, Nakaya N, Van Oudenhove L, Ly HG, Dupont P, Tack J, Tashiro M, Fukudo S. Searching for biological factors in a biopsychosocial model of irritable bowel syndrome. The 25th United European Gastroenterology Week, Barcelona, Spain, 2017.

2. 田中由佳里. 脳腸相関と内臓知覚のメカニズム. 第 33 回日本小児心身医学会学術集会, 国立オリンピック記念青少年総合センター (東京都渋谷区), 2015 年 9 月 11 日.

3. Tanaka Y, Morishita J, Kanazawa M, Tashiro M, Fukudo S. Altered Relation of Autonomic Response and Pituitary-Adrenal Response During Colorectal Distention With Corticotropin-Releasing Hormone in Irritable Bowel Syndrome. The 115th Annual Meeting of American

Gastroenterological Association, Washington DC. USA, 2015

〔図書〕(計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

田中 由佳里 (TANAKA, Yukari)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号 : 50721453