

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 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：2013～2014

課題番号：25860569

研究課題名(和文) ラット逆流性食道炎モデルにおけるプロスタグランジンと自発運動への関与

研究課題名(英文) Effect of prostaglandin on the voluntary movement in rats with experimental reflux esophagitis

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

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)：我々は胸やけ症状発現メカニズムと食道でのプロスタグランジンE2(PGE2)との関与につき検討を行っている。今回、健康成人に対しプロスタグランジンの抑制剤であるジクロフェナクを投与することで、食道内PGE2が減少し、同時に食道内酸還流に伴う胸やけ症状も抑制されることが判明した。従って食道内PGE2が胸やけ症状の発現に関与していることが裏付けられた。現在、GERD患者の胸やけ症状と食道内PGE2レベルとの相関に関する検討と合わせて、末梢・中枢神経系でのプロスタグランジン発現と食道知覚との関係につき動物実験モデルを用いた検討を行っており、胸やけ症状発現メカニズムのさらなる解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effects of diclofenac, a nonsteroidal anti-inflammatory drug that inhibits prostaglandin production, on induction of esophageal sensation by acid perfusion in healthy men. We concluded that diclofenac attenuated acid-induced heartburn by inhibiting PGE2 overproduction in the esophagus. Esophageal PGE2 might be involved in producing heartburn symptoms. Further studies are needed to investigate the expression of PEG2 in the esophagus or in the peripheral/central nervous system of GERD patients, and to correlate such changes with GERD symptoms.

研究分野：神経消化器病学

キーワード：GERD NERD プロスタグランジンE2 胸やけ

## 1. 研究開始当初の背景

胃食道逆流症 (Gastroesophageal reflux disease: GERD) とは、胃内容物の食道への逆流により、逆流性食道炎などの身体的合併症や、胸やけを中心とした逆流関連症状が生じ、健康な生活が障害されているものと定義される。もともと GERD は欧米に多い疾患であったが、最近日本でも食事内容の欧米化やヘリコバクター・ピロリ感染の減少、肥満の増加等の要因により、GERD は急速に増加してきている。さらに良性疾患とはいうものの QOL に大きく影響するため、実臨床において重要な疾患となってきている。その GERD の中でも、特に食道に内視鏡的に異常を認めない非びらん性胃食道逆流症 (NERD) や難治性 GERD においては、その約半数が今までの胃酸分泌抑制薬のみでは胸やけ症状が治まらず治療に難渋するため、新規の治療薬の開発が望まれている。その中で、我々は食道粘膜内の炎症性メディエータと GERD 症状との関連につき着目しており、炎症性メディエータのなかでもその代表的な物質であるプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) に着目し検討を行ってきた。

### 胸やけ症状発現メカニズム

胃酸を抑えるだけでは胸やけ症状が治まらないということは、胸やけ症状発現のメカニズムには、ただ単に酸が食道に逆流し末梢神経を刺激するという理解では説明がつかないことを意味している。胸やけ症状発現のメカニズムにおいて、酸逆流以外の要因として食道組織内の炎症性メディエータの産生、食道細胞間隙の開大 (DIS) あるいは食道を支配する末梢神経の侵害受容器の過剰発現による知覚過敏などの報告がなされているが、いまだその詳細については明らかでない。

### 胸やけ症状とプロスタグランジン E<sub>2</sub>

これまでに我々は、胸やけ症状発現メカニズムの一つとして、食道粘膜内のプロスタグランジン (PG) に着目し検討を行ってきた。PG は代表的な炎症性メディエータであり、その受容体を介して多種多様な生理作用を示すが、その中でも PGE<sub>2</sub> とその受容体である EP1 は、疼痛並びに痛覚過敏に重要な役割を果たしていることが知られている。そこで我々は健康成人の食道に、直接酸による刺激を加えることにより、食道粘膜内で PGE<sub>2</sub> の発現が亢進し、その PGE<sub>2</sub> の発現が酸還流により発現する胸やけ症状と相関することを見だし報告した。また Aziz らは、健康成人に対し EP1 受容体拮抗薬を前投与することで、食道の知覚過敏が抑制されることを報告している。以上の結果より、胸やけ症状発現のメカニズムに PGE<sub>2</sub> が重要な役割を果たしていることが考えられている。

## 2. 研究の目的

以上の研究成績をふまえ、我々は PG 産生抑制薬である非ステロイド性抗炎症薬

(nonsteroidal anti-inflammatory drug: NSAID) であるジクロフェナクを前投与し、食道内 PGE<sub>2</sub> を抑制することにより、食道知覚野中でも、特に胸やけ症状を抑制することができるのではないかと仮説を立て検討を行った。当研究の目的は、ジクロフェナクの投与後に酸還流を行い、胸やけ症状に変化があるのかどうか、そして PGE<sub>2</sub> と胸やけ症状との間に関連性はあるのかどうかにつき検討することである。主要評価項目は、ジクロフェナクによる食道内酸還流時の最初に胸やけを感じるまでの時間及び胸やけ症状スコアをプラセボ群と比較することである。

## 3. 研究の方法

同試験は兵庫医科大学倫理審査委員会の承認を得て行った。

### 対象

消化管症状を有さず、上部消化管内視鏡検査により逆流性食道炎などの食道病変や胃潰瘍を認めない健康成人男性 12 人を対象とした。また同試験はプラセボをコントロールとした二重盲検、無作為化クロスオーバー比較を用いた。

### 方法

酸還流試験は、被験者の食道胃接合部より口側 10cm に ED チューブ (5 Fr) の先端を留置し、その先端から塩酸 (0.15 mol/l) を 8 mL/min の速度で滴下した。ジクロフェナク徐放剤 (ボルタレン SR カプセル<sup>®</sup> 37.5mg) もしくはプラセボ錠を、食道内酸還流試験の 6 時間前と 2 時間前の 2 回に分けて前投与した。酸還流試験の直前と直後に、経鼻内視鏡 (Olympus GIF-XP260N) を用いて下部食道粘膜より生検鉗子を用いて組織を採取し、その食道組織内の含有 PGE<sub>2</sub> 濃度 (pg/mg protein) を ELISA 法により測定した。

### 胸やけ症状の評価

酸還流中の胸やけ症状は Acid perfusion sensory score (APSS) を算出して評価した。APSS は胸やけ症状を感じた時間 (T) (sec) と、酸還流直後の胸やけ症状のスコア (I) (cm) を用いて次のように算出した。APSS =  $I \times T / 100$  (cm × s/100)。

## 4. 研究成果

### ジクロフェナクの胸やけ症状への影響

プラセボをコントロールとした二重盲検、無作為化クロスオーバー比較試験において 1 名が試験から外れた以外、他の 11 人は試験を完遂した。尚、当試験中にジクロフェナクに伴う副作用は認めなかった。ジクロフェナク群ではプラセボ群と比べ、胸やけ症状の知覚開始時間 (min) は有意に延長し (ジクロフェナク群 vs. プラセボ群: 13.7 ± 2.3 vs. 5.6 ± 1.5, P < 0.01, 図 1), 胸やけ症状スコアである APSS も有意に低下した (ジクロフェナク群 vs. プラセボ群: 47.5 ± 8.9 vs. 82.2 ± 12.2, P < 0.01)。また、胸やけ症状以外の上腹部症状に関しては、ジクロ

フェナク投与により有意な APSS の変化は認めなかった。

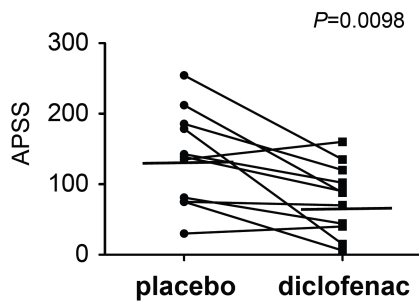


図1 ジクロフェナクの胸やけ症状への影響

#### ジクロフェナク投与後の食道粘膜内 PGE<sub>2</sub>

食道粘膜内 PGE<sub>2</sub> レベルは、酸還流後に還流前と比較して有意に増加しており（酸還流前 vs. 酸還流後: 7.7 ± 1.1 vs. 23.3 ± 5.2, P < 0.01）、ジクロフェナク投与によりその PGE<sub>2</sub> レベルは有意に抑制された（11.4 ± 3.5 vs. 23.3 ± 5.2, P < 0.05, 図2）。

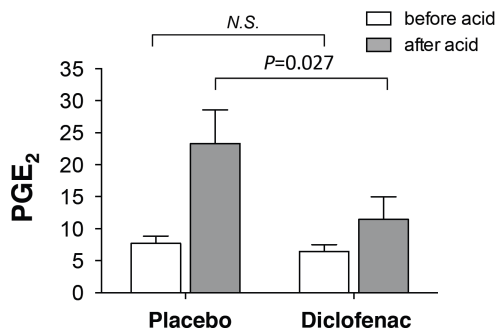


図2 ジクロフェナクが食道内 PGE<sub>2</sub> へ及ぼす影響

#### 胸やけ症状と食道粘膜内 PGE<sub>2</sub> レベルとの相関

食道組織内 PGE<sub>2</sub> レベルと APSS との間に有意に正の相関を認めた ( $r = 0.53$ ,  $P = 0.012$ , 図3)。

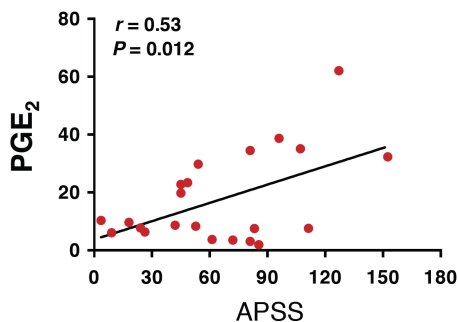


図3 胸やけ症状と食道粘膜内 PGE<sub>2</sub> レベルとの相関

#### ◇ 考察

今回の検討では、PG 産生抑制薬として NSAID であるジクロフェナクを前投与したうえで酸還流試験を行い、その際の胸やけ症状をプラセボ群と比較した。その結果ジクロフェナクは食道粘膜内の PGE<sub>2</sub> 産生を抑制するとともに、胸やけ症状の知覚開始時間を延長させ、さらに胸やけ症状の知覚スコアも抑制することが明らかとなった。さらに我々は以前に、PGE<sub>2</sub> の受容体の一つである EP1 がヒト正常食道組織の上皮細胞、並びに粘膜筋板と粘膜下層の 1 次知覚神経終末に存在することも免疫染色法で明らかにしている。これらの検討結果より、食道内酸還流刺激により食道上皮内で産生が亢進した PGE<sub>2</sub> が、食道内の EP1 受容体を通して食道に分布する末梢神経を感作することで、胸やけ症状発現に關与していることが示唆された。

今回我々は、健常成人の食道に対し、酸を直接暴露することで胸やけ症状を発現させ、NSAID を前投薬することによる症状の変化と PGE<sub>2</sub> との關係につき検討を行った。

#### ◇ 今後の検討課題

- 実際の GERD/NERD 患者での胸やけ症状と、食道内 PGE<sub>2</sub> レベルとの相関について、さらに PGE<sub>2</sub> 産生抑制薬もしくは EP1 受容体拮抗薬の GERD/NERD 患者の胸やけ症状に対する効果について検討する。
- 食道を支配する神経系におけるプロスタグランジンの発現変化も症状発現に影響を与えている可能性を想定している。そこで逆流性食道炎モデル動物を用いて、食道への酸還流刺激により、食道を支配する末梢・中枢神経内でのプロスタグランジン発現と食道知覚との關係につき動物実験モデルを用いて明らかにしたい。

#### ◇ 結語

胸やけ症状発現メカニズムに食道粘膜内の PGE<sub>2</sub> が關与していることが示唆された。PGE<sub>2</sub> 産生抑制薬もしくは EP1 受容体拮抗薬は、難治性 GERD の胸やけ症状に対する新たな創薬ターゲットとなりうると思われる。

#### ◇ 備考

尚、同研究期間中、マウス・ラットを用いた逆流性食道炎もしくは機能性胃腸疾患動物実験モデル作成手法と末梢神経（後根神経節）・中枢神経（脊髄と脳）内の炎症性メディエータ測定手法の習得を目的に、米国ジョンスホプキンス大学消化器内科の Pankaj Jay Pasricha 教授の研究室に留学した。

#### 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 4 件)

1. Kondo T, Oshima T, Tomita T, Fukui H,

- Okada H, Watari J, and Miwa H. The Non-steroidal Anti-inflammatory Drug Diclofenac Reduces Acid-Induced Heartburn Symptoms in Healthy Volunteers. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015, in press. 査読あり DOI:10.1016/j.cgh.2015.01.014
2. Kondo T, Oshima T, Koseki J, Hattori T, Kase Y, Tomita T, Fukui H, Watari J, and Miwa H. Effect of rikkunshito on the expression of substance P and CGRP in dorsal root ganglion neurons and voluntary movement in rats with experimental reflux esophagitis. Neurogastroenterol Motil. 26:913-921, 2014, 査読あり, doi: 10.1111/nmo.12342.
  3. Horii K, Watari J, Fukui H, Tanaka J, Tomita T, Sakurai J, Kondo T, Oshima T, Toyoshima F, Yamasaki T, Okugawa T, and Miwa H. Do endoscopic features suggesting eosinophilic esophagitis represent histological eosinophilia? Dig Endosc. 26, 156-163, 2014, 査読あり, doi: 10.1111/den.12091.
  4. Fukui H, Zhang X, Sun C, Hara K, Kikuchi S, Yamasaki T, Kondo T, Tomita T, Oshima T, Watari J, Imura J, Fujimori T, Sasako M, and Miwa H. IL-22 produced by cancer-associated fibroblasts promotes gastric cancer cell invasion via STAT3 and ERK signaling. Br J Cancer, 12; 111:763-771, 2014, 査読あり, doi: 10.1038/bjc.2014.336.

〔学会発表〕(計 2件)

1. 近藤 隆、胸やけ症状発現メカニズムへのプロスタグランジン E2 の関与、第 56 回日本消化器病学会大会 (JDDW2014)、2014 年 10 月 25 日、神戸国際会議場、神戸
2. 近藤 隆、大島 忠之、山崎 尊久、河野 友彰、豊島 史彦、戸澤 勝之、池原 久朝、應田 義雄、富田 寿彦、福井 広一、渡 二郎、三輪 洋人、胸やけ症状発現メカニズムにおけるプロスタグランジン E2 の関与、第 101 回日本消化器病学会総会、2015 年 4 月 24 日、仙台国際センター、仙台

〔図書〕(計 1件)

1. Miwa H, Kondo T and Yamasaki T. The Rise of Acid Reflux in Asia. -Chapter 5. Diagnosis of GERD: Clinical, pH, Impedance: What is the Best Approach? in press, Springer, 2015. ISBN: 978-81-322-0846-4 1.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hyo-med.ac.jp/department/gstr/>

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