

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07883

研究課題名（和文）中枢神経系による腸管バリア制御機序の解明とLeaky gut治療への応用

研究課題名（英文）Elucidation of the Mechanism of the Central Nervous System Regulation of Intestinal Barrier Function and Its Application to the Treatment of Leaky Gut-related Disease

研究代表者

石王 応知（Ishioh, Masatomo）

旭川医科大学・大学病院 総合診療部・医員

研究者番号：50869211

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）：脳内ghrelinによる腸管バリア機能制御機序に、脳内opioid, dopamine, cannabinoid シグナルは関与せず、adenosine A2Bシグナルが関与していることを明らかにした。また脳内adenosine A2Bシグナル活性化も腸管バリア機能を制御し、その機序に迷走神経系の活性化が関与することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳内ghrelinに加え、脳内adenosine A2Bシグナルが、leaky gutを改善させることを見出した。leaky gut関連疾患である過敏性腸症候群(IBS)は、抑うつ・不安などの精神症状を高率に合併し、病態を増悪させる。ghrelinおよび本研究で見出したadenosine A2Bシグナルは抗精神作用を有することも報告されており、これらの中枢神経系による腸管バリア機能制御機序の解明は、IBSの画期的な創薬研究につながると考える。

研究成果の概要（英文）：We revealed that the central nervous system regulation of intestinal barrier function by brain ghrelin does not involve brain opioid, dopamine, or cannabinoid signals, but rather, it involves adenosine A2B signaling. Furthermore, we found that the activation of adenosine A2B signaling in the brain also regulates intestinal barrier function, and this mechanism involves the activation of the vagus nerve system.

研究分野：神経消化器病

キーワード：Leaky gut Brain Adenosine A2B Ghrelin Orexin Butyrate IBS

1. 研究開始当初の背景

近年、腸管バリア機能の破綻(Leaky gut)は、過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome: IBS)や炎症性腸疾患などの腸疾患に加え、糖尿病、非アルコール性脂肪肝疾患(NAFLD)、慢性腎機能障害(CKD)、自閉症スペクトラム、パーキンソン病、アルツハイマー型認知症などの幅広い疾患の病態に関与し、注目されている (Camilleri M et al., Gut 2019). これら leaky gut 関連疾患のうち、NAFLD、CKD は便秘症治療薬 lubiprostone 投与により、leaky gut 改善を介して、病勢をコントロールできたことが報告され (Kessoku T et al., Lancet Gastroenterol Hepatol 2020, Mishima E et al., J Am Soc Nephrol 2015), leaky gut は新たな創薬ターゲットとなりうることを示唆された。現在、lubiprostone などの上皮機能変容薬に加え、腸内細菌やその代謝産物など、腸管粘膜に着目した研究がなされ、多くの成果がえられた (Chopyk, D.M. et al., Gastroenterology 2020). しかし、leaky gut 関連疾患の多くは抑うつ・不安などの精神症状が病態に影響を与えることから、中枢神経系に焦点をあてた研究も重要である。最近、申請者らは、脳内 orexin, ghrelin が迷走神経を介して leaky gut を改善させることを報告した(Okumura T, et al., Neuroscience Lett 2020, Ishioh M et al., Neuropharmacology 2020). これら神経系を介する迅速な腸管バリア機能制御は、急激なストレスにより症状を増悪させる IBS, 認知症などを含む leaky gut 関連疾患の病態を考える上で意義深い。

2. 研究の目的

本研究は、申請者らが見出した脳内 ghrelin による腸管バリア機能制御の詳細な機序を解析し、中枢神経系による腸管バリア機能制御の生理学的意義を解明し、脳腸相関に基づいた leaky gut 関連疾患の創薬研究に結びつけることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、申請者らが見出した脳内 ghrelin による腸管バリア機能制御機序を薬理的に解析することを目的とする。解析対象とするシグナルは、leaky gut 関連疾患である IBS のもう一つの主病態である内臓知覚過敏に関与する、opioid, dopamine, cannabinoid, adenosine に着目し、各種受容体拮抗薬を用いて解析した。

実験には、本研究室で確立した LPS 皮下投与、CRF 腹腔内投与、水回避ストレス負荷により誘導される leaky gut モデルラットを用い、ghrelin 脳室内投与による leaky gut 改善作用が、いずれかの受容体拮抗薬でブロックされるかを評価した。尚、腸管バリア機能は、盲端となるように処理した上行結腸に Evans blue(EB)を注入し、15 分間で腸管粘膜に浸透した EB を吸光度計で定量化し評価した。

また、これらの薬理的解析により、脳内 ghrelin による腸管バリア機能制御に関するシグナルが明らかとなったら、次にその受容体作動薬を用いて、orexin や迷走神経との関連性を、orexin 拮抗薬、atropine および迷走神経切断術 vagotomy を用いて解析した。さらに、上記以外に中枢性の腸管バリア機能制御に関するシグナルの探索も行い、その機序についても解析を試みた。

4. 研究成果

(1) 脳内 ghrelin による腸管バリア機能制御機序

Ghrelin 脳室内投与による leaky gut 改善作用は、opioid, dopamine, cannabinoid 受容体拮抗薬ではブロックされず、adenosine 受容体拮抗薬 DPCPX でブロックされた。従って、ghrelin による腸管バリア機能制御は、adenosine シグナルが関与することが明らかになった。DPCPX は、adenosine A1 受容体および adenosine A2B 受容体に対する阻害活性を有することから、次に、adenosine A1 受容体作動薬 N(6)-cyclopentyladenosine (CPA), adenosine A2B 受容体作動薬 BAY-606503 を用いて腸管バリア機能の評価した。CPA は脳室内および皮下投与とともに leaky gut に影響しなかったが、BAY-606503 は腹腔内投与で leaky gut に影響しなかったものの、脳室内投与は用量依存的に leaky gut を改善した。Adenosine A2B 受容体選択特異的拮抗薬 alloxazine 投与も、ghrelin 脳室内投与による leaky gut 改善作用をブロックしたことが確認でき、ghrelin による中枢性の腸管バリア機能制御は脳内 adenosine A2B シグナルが関与することが明らかになった。

(2) 脳内 adenosine A2B による腸管バリア機能制御およびその機序

前述のように、adenosine A2B 受容体作動薬 BAY-606503 脳室内投与は用量依存的に leaky gut を改善させたことから、脳内 adenosine A2B シグナルが腸管バリア機能を制御することが明らかになった。この脳内 adenosine A2B シグナル活性化による腸管バリア機能制御は迷走神経切断術 vagotomy で消失し、脳内 adenosine A2B シグナルによる腸管バリア機能制御は迷走神経系が関与することが明らかになった。また、脳内 adenosine A2B シグナルが、これまで本研究室で見出した orexin、ghrelin による腸管バリア機能制御に関与するか否かを、adenosine A2B 受容体選択特異的拮抗薬 alloxazine を用いて検討した。Alloxazine 投与は、orexin による leaky gut 改善作用には影響しなかったが、ghrelin による leaky gut 改善作用を有意にブロックし、adenosine A2B シグナルは、orexin による腸管バリア機能制御ではなく、ghrelin による腸管バリア機能制御に選択特異的に関与することが示唆された。さらに、alloxazine 投与は、2-deoxy-D-glucose 投与で活性化される中枢神経系の迷走神経興奮による leaky gut 改善作用を消失させたことから、脳内内因性の adenosine A2B 受容体も、腸管バリア機能制御に関与することが示唆された。

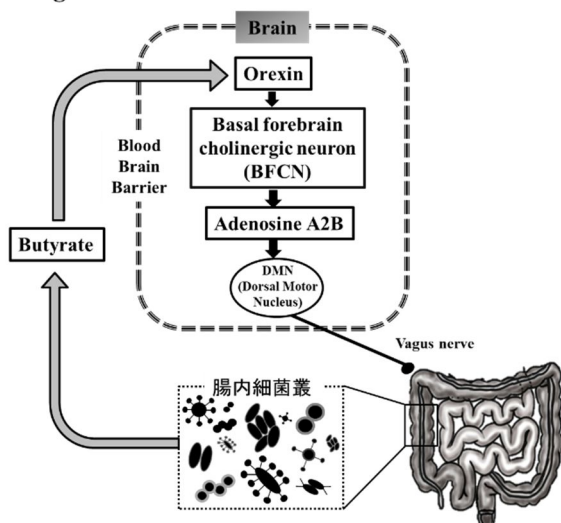
Adenosine A2B 受容体は脳全体に分布しており、炎症や低酸素などで発現が誘導され、その活性化には高濃度の adenosine を必要とする。Adenosine は自然免疫を起動させるダメージ関連分子パターン(DAMPs)という側面もあり、中枢神経系の adenosine A2B シグナルの活性化による腸管バリア機能制御は、過剰な炎症反応を予め調節する上で、合目的的と考えられる。以上の研究成果は、英文原著論文に報告済である (Ishioh M, et al., Experimental Neurology 2021)。

(3) Basal forebrain cholinergic neuron 活性化による腸管バリア機能制御および制御機序

中枢性に腸管バリア機能を制御する orexin は覚醒状態の維持にも作用するが、それは acetylcholine 作動性ニューロンを主体とする basal forebrain cholinergic neuron (BFCN) が関与することが報告されている (Villano, et al., Behav Neurosci 2017)。近年、BFCN の活性化が迷走神経系を介して、抗炎症作用を示すことが明らかにされた (Zhai, et al., Crit Care Med 2017)。そこで BFCN の活性化が、腸管バリア機能を制御するか否かを、BFCN 活性化作用を有する, benzyl quinolone carboxylic acid (BQCA) を用いて検討した。BQCA 脳室内投与は用量依存的に leaky gut を改善させたが、BQCA 末梢投与は、中枢投与で効果がみられた最大投与量を使用しても、leaky gut に影響しなかった。従って、BFCN の活性化は腸管バリア機能を制御することが明らかになった。

次に、この BFCN の活性化による腸管バリア機能制御機序を解析した。BQCA 脳室内投与による leaky gut 改善作用は、opioid, dopamine, cannabinoid 受容体拮抗薬投与で影響されなかったが、adenosine A2B 受容体選択特異的拮抗薬 alloxazine 投与で有意にブロックされ、BFCN 活性化による腸管バリア機能制御は adenosine A2B シグナルが関与していることが示唆された。また、BQCA 脳室内投与による leaky gut 改善作用は、迷走神経切断術 vagotomy で消失し、BFCN 活性化による腸管バリア機能制御は迷走神経系が関与することが明らかになった。次に、orexin および ghrelin による腸管バリア機能制御に BFCN が関与するか否かを、BFCN 活性抑制作用を有する pirenzepine を用いて検討した。Pirenzepine 脳室内投与は、orexin 脳室内投与による leaky gut 改善作用を有意にブロックしたが、ghrelin 脳室内投与による leaky gut 改善作用に影響を及ぼさず、BFCN は orexin による腸管バリア機能制御に関与するが、ghrelin による腸管バリア機能制御には関与しないことが明らかになった。科研研究申請当時、申請者らは腸内細菌の代謝産物である butyrate が、脳に作用し orexin-迷走神経系を介して、腸管バリア機能を制御することを見出している (Okumura T, et al., J Pharmacol Sci 2021)。そこで、butyrate による腸管バリア機能制御に BFCN が関与するかについて検討した。Butyrate 脳室内投与による leaky gut 改善作用は、pirenzepine 脳室内投与によってブロックされ、BFCN は butyrate による中枢性の腸管バリア機能制御に関与することが示唆された。最後に、内因性 BFCN が腸管バリア機能を制御するかについて検討した。Pirenzepine 脳室内投与は、2-deoxy-D-glucose 投与で活性化される中枢神経系の迷走神経興奮による leaky gut 改善作用を有意にブロックしたことから、内因性 BFCN 自体も腸管バリア機能制御に関与することが示唆された。以上、本研究から、butyrate-orexin-BFCN-adenosine A2B-迷走神経系のダイナミックな腸管バリア機能制御機序の存在

Figure 1



が示唆された (Figure 1).

BFCN は記憶、学習に関与するが、その機能低下は認知症発症に関与する (Ma, et al., PNAS 2019). 認知症は leaky gut 関連疾患の 1 つであり、過敏性腸症候群 (IBS) の既往は認知症のリスク因子であることも報告されている (Chen, et al., PLoS One 2016) が、その機序については、明らかにされていなかった。Leaky gut の要因とされる微小炎症は腸粘膜にとどまらず全身に波及し、様々な leaky gut 関連疾患に関与すると考えられるが、本研究から、leaky gut による微小炎症が中枢神経系に波及し、神経炎症が数十年単位で慢性的に持続すると、BFCN はさらに障害され、その投射先である嗅神経や海馬の機能を低下させると、認知症の初期症状である嗅覚障害、短期記憶障害を引き起こすと考えられる。よって、BFCN を含めた中枢性の腸管バリア機能制御は、IBS や認知症などの leaky gut 関連疾患の新たな創薬ターゲットになりうると思う。以上の研究成果は、英文原著論文に報告済である (Ishioh M, et al., Biochem Pharmacol. 2022).

(4) 中枢性の腸管バリア機能制御機序

申請者らは脳内 orexin による腸管バリア機能制御機序の解明を皮切りに、この中枢性神経系による腸管バリア機能制御の研究領域を開拓してきた。近年では、腸内細菌の代謝産物である butyrate が中枢神経系の orexin-BFCN-adenosine A2B-迷走神経を介して腸管バリア機能を制御することを見出し、腸内細菌-脳-腸軸によるダイナミックな腸管バリア機能制御機序についても明らかにした (Figure 1). さらに、これまで申請者らが見出した中枢性の腸管バリア機能制御に関わる分子が、中枢神経系でミクログリアの過剰な活性化を抑えることで、認知症および抑うつ・不安症状などの精神症状を改善することが明らかにされてきている。それらの知見と我々の研究成果をあわせて、“Brain neuropeptides, neuroinflammation and irritable bowel syndrome” という、新たな視点で IBS の病態を総説にまとめた (Ishioh et al., Digestion 2024).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ishioh, M., Nozu, T., Miyagishi, S., Igarashi, S., Funayama, T., Ohhira, M., Okumura, T.,	4. 巻 206
2. 論文標題 Activation of basal forebrain cholinergic neurons improves colonic hyperpermeability through the vagus nerve and adenosine A2B receptors in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Pharmacol	6. 最初と最後の頁 115331-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bcp.2022.115331.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishioh, M. Nozu, T. Igarashi, S. Tanabe, H. Kumei, S. Ohhira, M. Takakusaki, K. Okumura, T.	4. 巻 341
2. 論文標題 Activation of central adenosine A2B receptors mediate brain ghrelin-induced improvement of intestinal barrier function through the vagus nerve in rats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 113708
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.expneurol.2021.113708	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishioh Masatomo, Nozu Tsukasa, Okumura Toshikatsu	4. 巻 105
2. 論文標題 Brain Neuropeptides, Neuroinflammation, and Irritable Bowel Syndrome	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 34 ~ 39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000533275	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石王 応知
2. 発表標題 IBSの病態と脳内Adenosine A2Bシグナル
3. 学会等名 第108回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石王 応知
2. 発表標題 Basal forebrain cholinergic neuron(BFCN)の活性化は迷走神経を介して腸管透過性亢進を改善する.
3. 学会等名 第24回日本神経消化器病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石王 応知
2. 発表標題 Basal forebrain cholinergic neuron (BFCN) の活性化は腸管透過性亢進を改善する.
3. 学会等名 第19回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石王 応知, 野津司, 奥村利勝
2. 発表標題 IBSの病態と脳内AdenosineA2Bシグナル
3. 学会等名 第108回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石王 応知, 野津司, 奥村利勝
2. 発表標題 Ghrelinは中枢神経に作用して迷走神経を介して腸管バリア機能改善作用を有する
3. 学会等名 第48回日本潰瘍学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石王応知, 野津司, 五十嵐将, 田邊裕貴, 桑井志麻, 大平賀子, 高草木 薫, 奥村利勝
2. 発表標題 脳内Adenosine A2B 受容体の活性化はGhrelinによる迷走神経を介する腸管バリア改善に関与する。
3. 学会等名 第23回日本神経消化器病学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野津 司 (Nozu Tsukasa) (30312367)	旭川医科大学・医学部・教授 (10107)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------