

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2010～2014

課題番号：22249024

研究課題名(和文) 脳腸関連の病態生理における脳腸ペプチドの役割

研究課題名(英文) Role of Brain-Gut Peptides in Pathophysiology of Brain-Gut Interactions

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) 37,300,000円

研究成果の概要(和文)：過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome: IBS)では中枢神経と消化管のストレス反応性が亢進している。その病態にはcorticotropin-releasing hormone (CRH)が重要な役割を果たすという仮説を検証した。ヒトと動物の双方で消化管へのストレス負荷時に、脳の特定の部位でCRHを中心とする脳腸ペプチドが放出され、脳腸相関を変化させる成果を得た。これがIBSの源流であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In patients with irritable bowel syndrome (IBS), stress response in the central nervous system and gastrointestinal tract is exaggerated. We tested the hypothesis that corticotropin-releasing hormone (CRH) plays a major role in pathogenesis of IBS. In both humans and animals, visceral stress evoked release of brain-gut peptides especially CRH in the regional brain (e.g. amygdala, anterior cingulate cortex, insula, paraventricular nucleus, and midbrain). These results suggest that regional release of CRH in the specific sites in the brain may be the most important part of pathophysiology 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 CRH 消化管知覚 消化管運動 脳画像 CRH-R1 CRH拮抗薬

1. 研究開始当初の背景

脳と内臓は機能的にどのように関係しているのでしょうか？この問題を脳腸相関と呼ぶが、十分に解明されていない。過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome; IBS)は脳腸相関の異常が病態の中心と目される代表疾患である。IBSはストレスによる症状の発症・増悪、不安・抑鬱・覚醒レベル上昇、内臓知覚過敏と粘膜炎症の先行あるいは潜在という4つの特徴的病態を持つ。先進諸国ではIBSのために膨大な医療費が費やされ、罹患者の quality of life (QOL)が大きく障害される。その原因は不明であり、治療法も確立されていない。IBSは全人口の14%に及び、高頻度である。ヒトの脳腸相関の解明は、心身医学的に重要であり、社会的利益が大きい。

2. 研究の目的

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来た。IBSの脳機能と消化管機能を同時に測定し、米国心身医学会 Early Career Award を受賞した。次いで、IBSの脳腸相関には corticotropin-releasing hormone (CRH)の関与が高いことを証明し、心身医学領域では国際的に高い評価を得て来た。

われわれは、ストレス負荷時に、脳の特定の部位で CRH を中心とする脳腸ペプチドが放出され、中枢神経機能を変化させることが IBS の病態の本質にあると仮説づけている。この仮説をヒトと動物実験とで検証することが本研究の目的である。

脳の特定部位としては、主に視床下部の室傍核、扁桃核、前帯状回、海馬、島、前頭前野を関心領域とした。

3. 研究の方法

(1) ヒト：対象を健常成人、IBS患者とした。研究遂行にあたり、ヘルシンキ宣言に沿い、東北大学医学部倫理委員会の承認を既に得ており、同意書を徴し、個人情報保護した。方法は、対象の心理・性格を心理検査と医療面接で分析した。脳機能の分析は陽電子断層撮影(PET)、機能的磁気共鳴画像(fMRI)、内臓知覚大脳誘発電位を駆使した。まず、対象の大腸にバロスタットバッグを挿入し、20-40mmHgの圧力を無作為順に負荷するとともに、この時のCRH刺激薬の効果を見た。大腸に電極カテーテルを留置した。国際10-20法にて脳波電極を装着し、0(偽刺激)、30(痛覚刺激)mAの大腸電気刺激を順序をrandomizeして与え、内臓刺激大脳誘発電位、脳波 power spectra を分析した。その上で、Papez 情動回路を抑制すると見られる背外側前頭前野に経頭蓋磁気刺激(rTMS)を加えた。rTMSはMagstimを用い、刺激頻度を0.1Hz(抑制性刺激)と10Hz(興奮性刺激)とし、運動閾値の90%の強度にて行った。rTMSの直後に30mA大腸電気刺激による内臓刺激大脳誘

発電位、脳波 power spectra の変化を見る。以上に共通し、刺激負荷中の内臓知覚と情動の変化を計測する。また、視床下部下垂体副腎皮質軸機能を、血中 adrenocorticotropic hormone (ACTH)と cortisol、副腎髄質-交感神経機能を catecholamines により測定した。また、視床下部下垂体副腎皮質系の遺伝子群で、IBSの病態におけるCRHニューロン活動を左右する可能性のある遺伝子多型はCRH遺伝子のプロモーター領域3625bpのvariant(A1B1, A2B1, A2B2)、CRH-binding protein 遺伝子、CRH-R1 遺伝子、CRH-R2 遺伝子(CA, GT, GAT)、glucocorticoid receptor 遺伝子 (BclI, ER22/23EK, N363S)である。これらの多型分析を行った。

(2) 動物：雄性ラットを飼育した。ラット大腸内にミニバロスタットカテーテルを挿入し、圧インフレーターに接続して膨張、弛緩を繰り返し、大腸伸展刺激を統制して加える。選択的CRH-R1拮抗薬、選択的CRH-R2拮抗薬、セロトニン作動薬・遮断薬、蛋白合成酵素阻害薬のこれらに及ぼす影響を分析した。腹壁装着トランスデューサにて疼痛に反応する腹壁収縮を検出し、内臓知覚を評価する。刺激負荷後、断頭し、脳を凍結保存し、クリオスタットにて脳切片を作成する。その後、免疫染色法にて脳c-Fos、CRHおよび受容体蛋白の発現をみた。

4. 研究成果

(1) ヒト：対象を健常成人、IBS患者とし、検査日にバロスタットカテーテルを大腸に留置した。被験者を東北大学サイクロトロンRIセンターPET室でベッド上安静とした。バロスタットを圧インフレーターに接続したコンピュータで大腸伸展刺激を与え、順序をランダムにしたCRHもしくはplaceboを投与した。同時にサイクロトロンで合成したH₂¹⁵Oを静注し、SET2400にて、PET撮影を行ったところ、健常者においてCRHと大腸伸展刺激による扁桃体賦活が得られた。これに対して、IBS患者ではCRH単独による扁桃体賦活が見られ、CRHと大腸伸展刺激を組み合わせると、扁桃体賦活が見られなくなった。この扁桃体の動態と血漿noradrenalineの動態は一致していた。このことから、ヒトではCRH投与による扁桃体のアロスタティック負荷がIBS患者で見られると考えられる。

CRH遺伝子多型はIBS全体で見ると健常者との間に差異を認めなかった。さらに細かな表現型との関連検索が重要である。

また、IBS患者ではCRHの標的部位の一つである背外側前頭前野の萎縮があることが知られている。IBS患者に行動選択に迷うストレスを負荷することで、背外側前頭前野の機能異常を描出できると考えた。fMRIの中でWisconsin Card Sorting Testを実行させることで、上記の仮説を検証した。その結果、健常者で強く活性化される右背外側前頭前野の活動が、IBS患者では低反応であり、かつ、

エラーが多いことが判った。前頭前野の萎縮と相俟って、前頭前野の機能異常が、IBS 患者が日常生活のストレスに対して脆弱であることの一要因であると考えられる。また、領域間結合分析により、IBS 患者は有意に背外側前頭前野から前補足運動野への結合が弱く、前補足運動野から尾状核への結合が有意に強かった。IBS 患者では、消化管関連不安と破局思考という2種類の非適応思考を持つことが知られており、認知行動療法によるこれらの認知の改善と脳機能画像の変化が合致することが期待される。

更に、東北大学行動医学生理検査室において、健常成人を対象として脳波計と心電計に刺激信号を入力し、内臓知覚大脳誘発電位・心電図波形を記録するとともに、脳の核磁気共鳴検査(MRI)の検査結果に基づき、背外側前頭前野に経頭蓋磁気刺激検査(TMS)を行った。その結果、低頻度磁気刺激によって内臓知覚時の陰性情動(不安)が軽減し、高頻度磁気刺激による消化管運動の亢進所見が得られた。

(2) 動物：ラット大腸内にミニバロスタットカテーテルを挿入し、圧インフレータに接続して膨張、弛緩を繰り返し、大腸伸展刺激を統制して加えることにより、内臓知覚を効率的に定量化できる。腹壁装着トランスデューサにて疼痛に反応する腹壁収縮を筋電図検出し、内臓知覚を評価し、選択的 CRH-R1 拮抗薬のこれらに及ぼす影響を分析した。その結果、CRH-R1 拮抗薬の内臓知覚減弱効果が得られた。

さらに、大腸伸展刺激を統制して加えた。この時の室傍核、扁桃体中心核、扁桃体基底外側核 c-Fos、CRH 活性を評価し、選択的 CRH-R1 拮抗薬のこれらに及ぼす影響を分析した。大腸伸展刺激による室傍核、扁桃体中心核、扁桃体基底外側核 CRH ニューロンの活性化と CRH-R1 拮抗薬によるその抑制効果が得られた。

ラットに、大腸伸展刺激を統制して加え、大腸伸展刺激によって扁桃体内 noradrenaline 遊離が生じること、CRH の扁桃体内注入によってこの現象が増悪し、かつ、内臓知覚過敏が生じること、更に、CRH-R1 拮抗薬の前投与によってこれらが阻止されることが示された。

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16件)全部有査読

1) Su J, Tanaka Y, Muratsubaki T, Kano M, Kanazawa M, Fukudo S. Injection of corticotropin-releasing hormone into the amygdala aggravates visceral nociception and induces noradrenaline release in rats. *Neurogastroenterol Motil* 27(1):30-39, 2015. doi: 10.1111/nmo.12462.

2) 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.

3) Fukudo S, Hahm KB, Zhu Q, Sollano JD, Rani AA, Syam AF, Kachintorn U, Suzuki H, Kamiya T, Joh T, Uchiyama K, Naito Y, Takahashi S, Kinoshita Y, Ueno F, Yamagami H, Chan FK, Fock KM, Arakawa T; International Gastrointestinal Consensus Symposium Study Group. Survey of clinical practice for irritable bowel syndrome in East Asian countries. *Digestion* 91(1):99-109, 2015. doi: 10.1159/000369078.

4) Sato N, Takagi K, Suzuki T, Miki Y, Tanaka S, Nagase S, Warita H, Fukudo S, Sato F, Sasano H, Ito K. Immunolocalization of corticotropin-releasing hormone (CRH) and its receptors (CRHR1 and CRHR2) in human endometrial carcinoma: CRHR1 as a potent prognostic factor. *Int J Gynecol Cancer* 24 (9): 1549-1557, 2014. doi: 10.1097/IGC.0000000000000269.

5) Kano M, Coen SJ, Farmer AD, Aziz Q, Williams SC, Alsop DC, Fukudo S, O'Gorman RL. Physiological and psychological individual differences influence resting brain function measured by ASL perfusion. *Brain Struct Funct* 219(5): 1673-1684, 2014. doi: 10.1007/s00429-013-0593-8.

6) 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.

7) Fukudo S. IBS: Autonomic dysregulation in IBS. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10(10): 569-571, 2013. doi: 10.1038/nrgastro.2013.

8) Fukudo S. Stress and visceral pain: Focusing on irritable bowel syndrome. *Pain* 154 (Suppl 1): S63-70, 2013. doi: 10.1016/j.pain.2013.09.008.

9) Fukudo S, Kuwano H, Miwa H. Management and pathophysiology of functional gastrointestinal disorders. *Digestion* 85: 85-89, 2012. doi: 10.1159/000334652.

10) Aizawa E, Sato Y, Kochiyama T, Saito N, Izumiya M, Morishita J, Kanazawa M, Shima

K, Mushiake H, Hongo M, Fukudo S. Altered cognitive function of prefrontal cortex during error feedback in patients with irritable bowel syndrome, based on fMRI and dynamic causal modeling. *Gastroenterology* 143(5): 1188-1198, 2012. doi: 10.1053/j.gastro.2012.07.104.

11) Seino S, Watanabe S, Ito N, Sasaki K, Shoji K, Miura S, Kozawa K, Nakai K, Satoh H, Kanazawa M, Fukudo S. Enhanced auditory brainstem response and parental bonding style in children with gastrointestinal symptoms. *PLoS ONE* 7(3): e32913, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0032913.

12) Aizawa Y, Morishita J, Kano M, Mori T, Izumi SI, Tsutsui K, Iijima T, Kanazawa M, Fukudo S. Effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on rectal function and emotion in humans. *J Gastroenterol* 46 (9), 1071-1080, 2011. doi: 10.1007/s00535-011-0423-9.

13) Fukudo S, Kanazawa M. Gene, environment, and brain-gut interactions in irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 26 (Suppl 3): 110-115, 2011. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06631.x.

14) Kanazawa M, Hamaguchi T, Watanabe S, Terui T, Mine H, Kano M, Fukudo S. Site-specific differences in central processing of visceral stimuli from the rectum and the descending colon in men. *Neurogastroenterol Motil* 22 (2): 173-180, 2010. doi: 10.1111/j.1365-2982.2009.01417.x.

15) Hattori T, Watanabe S, Kano M, Kanazawa M, Fukudo S. Differential responding of autonomic function to histamine H1 antagonism in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 22 (12): 1284-1291, e335, 2010.

16) Kobayashi S, Abe Y, Tashiro M, Koike T, Iijima K, Imatani A, Ohara S, Watanabe S, Fukudo S, Shimosegawa T. Brain activity following esophageal acid infusion using positron emission tomography. *World J. Gastroenterol.* 16: 5481-5489, 2010. doi: 10.3748/wjg.v16.i43.5481.

〔学会発表〕(計7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, Joe Morishita, Satoshi Watanabe, Kosei Kawahata, Nobuharu Ishizu, Yukari Tanaka, Seiichi Watanuki, Kotaro Hiraoka,

Motoyori Kanazawa, Kazuhiko Yanai, Manabu Tashiro. Role of Dopamine in Hypnotic Analgesia under Visceral Stimulation. Symposium: Brain-Gut Interactions. The 13th International Congress of Psychosomatic Medicine, Groningen, Netherland, August 20-23 (22), 2014.

3) Shin Fukudo, Joe Morishita, Satoshi Watanabe, Kosei Kawahata, Nobuharu Ishizu, Yukari Tanaka, Seiichi Watanuki, Kotaro Hiraoka, Motoyori Kanazawa, Kazuhiko Yanai, Manabu Tashiro. Evidence of Dopamine Release during Hypnotic Analgesia under Visceral Pain in Humans. AGA Research Forum (Oral Presentation): Brain-Gut Axis. The 115th Annual Meeting of American Gastroenterological Association, Chicago, USA, May 3-6 (4), 2014.

4) Shin Fukudo. Workshop: International Drug Development. Drug Development for Functional Gastrointestinal Disorders in Japan. The 10th International Symposium on Functional Gastrointestinal Disorders. Milwaukee, USA, April 13, 2013.

5) Shin Fukudo. Invited Plenary Sessions: Stress and Visceral Pain. The 14th World Congress on Pain, International Association for the Study of Pain, Milan, Italy, August 27-31 (30), 2012.

6) Shin Fukudo, Namiko Itoh, Motoyori Kanazawa, Satoshi Watanabe, Toyohiro Hamaguchi, Joe Morishita, Michiko Kano, Manabu Tashiro. Clomipramine reduces visceral perception-related brain activation in humans. The 112th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association, Chicago, USA, May 7-11(9), 2011.

7) Shin Fukudo. Gene, Environment, and Brain-Gut Interactions in Irritable Bowel Syndrome. The First Asian Pacific Gastroenterology Topic Conference, Shiba Park Hotel (Tokyo), November 27, 2010.

〔図書〕(計4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, 2013. doi: 10.1159/000356745.

2) Fukudo S. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis in gastrointestinal physiology. Chapter 28, Section II: Neurogastroenterology. Wood JD Section Editor. In; Johnson L Editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, Fifth Edition,

Elsevier, Oxford, UK, 791-816/2328, 2012.

3) 福土審. IBS 診療 Q & A. 日本医事新報社, 東京, 128, 2011.

4) 福土審. 過敏性腸症候群. 金澤一郎, 永井良三編. 今日の診断指針, 第 6 版, 医学書院, 東京, 737-739/2144, 2010.

〔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 : 8 0 1 9 9 2 4 9

(2)研究分担者

金澤 素 (KANAZAWA, Motoyori)

東北大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号 : 7 0 3 2 3 0 0 3