

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 16 日現在

機関番号：10107

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659391

研究課題名（和文） 睡眠覚醒リズムと消化管運動の連関

研究課題名（英文） Relationship between sleep-awake cycle and gastrointestinal motility

研究代表者

大平 賀子 (OHHIRA MASUMI)

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：30447106

研究成果の概要（和文）：本研究では睡眠覚醒サイクルと消化管運動機能の連関を明らかにすることを目的にした。覚醒自由行動ラットの脳波、眼球運動、骨格筋筋電図と胃運動を同時に測定することに成功した。未だ同時測定に成功した動物は 2 匹にすぎないが、動物の覚醒を示す脳波と筋電活動時の消化管運動と睡眠時を示す脳波と筋電静止時の消化管運動の違いの有無を検討中である。しかしこれまでの解析では両群に大きな差は認められていない。同時測定することが可能になったことで、当初の目的を解明すべく研究を継続する。

研究成果の概要（英文）：The present study was performed to clarify the relationship between sleep-awake cycle and gastrointestinal motility. We have successfully measured simultaneously gastric contractions, electroencephalogram, eye movement, and muscle tones in 2 freely moving conscious rats for a long time. To date, we do not obtain any significant relationship between gastric contractions and sleep-awake cycle analyzed by the monitors. To further study, we are trying to get data from additional rats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：消化管運動，睡眠覚醒サイクル，脳波

1. 研究開始当初の背景

睡眠覚醒リズム及び消化管運動それぞれの研究は多数あるものの、睡眠覚醒リズムと消化管生理機能の関係に迫った知見は非常に

少ない。消化管運動の異常が症状の発現に關与すると考えられている過敏性腸症候群の患者では、決して睡眠時に症状が起きないことが知られている。即ち、睡眠時には大腸運

動が変化しないメカニズムがあるのかもしれない。しかし、睡眠時の消化管運動が覚醒時と異なるのか、睡眠期間でも REM と non REM では違いがあるのか、また、消化管の中でも胃と大腸に違いがあるのかなどの疑問は全く未解明である。加えて、これまでの消化管運動は食事をする前（空腹期）か、食事をした後か（食後期）における知見のみで、睡眠が消化管運動に及ぼす影響は全く明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では睡眠覚醒リズムと消化管運動の関係を明らかにすることを目的にする。

3. 研究の方法

意識下自由行動ラットにおいて消化管運動と脳波・眼球運動・筋電図の同時モニターできる系を確立する。確立した系を用いて、長時間（24時間）同時測定記録を解析し、睡眠覚醒サイクルと消化管運動（胃及び大腸運動）の連関を解析する。睡眠覚醒サイクルは覚醒時・REM 睡眠時・nonREM 睡眠時にわけ、消化管運動は motility index や MMC (Migrating motor complex) の出現率を解析する。胃運動の測定方法を下記に示す。体重約 250g、雄性的の Sprague - Dawley (SD) ラットを用いた。ラットをエーテル麻酔下に開腹し、3Fr のカテーテルを胃体部より前庭部に向けて挿入し、腹筋、皮下トンネルを介して後頸部からカテーテルを体外へ誘導した。術後 2-4 日後にラットを専用のボックスに入れ、無麻酔無拘束の状態で胃内圧の測定を行った。胃内圧の測定はカテーテルに蒸留水を流し、圧トランスデューサーで胃前庭部の内圧を持続的に測定記録した。測定は無麻酔、無拘束で行い、薬剤投与時のみ短時間のエーテル麻酔を施行した。得られた測定記録から area under

manometric trace (AUT) を測定した。

4. 研究成果

覚醒自由行動ラットでの胃前庭部運動の長時間モニターの系を確立し、その実験系で LPS が IL-1 を介して胃運動を抑制することを世界に先駆けて見だし報告した。具体的には、LPS (0.2 mg/kg 以上の容量) 腹腔内投与により、有意に %MI が低下した。また、LPS 投与による胃運動抑制は 60 分以上持続した (図 1)。次に LPS によって誘導され得るサイトカインの内、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 の腹腔内投与を行い、LPS による胃運動抑制のメカニズムを検討した。TNF- α ならびに IL-6 の腹腔内投与では胃運動に影響を及ぼさなかったのに対して、IL-1 β の腹腔内投与により容量依存性に胃運動を抑制し、2 μ g/kg の容量では有意に %MI を低下させた。また、その効果は LPS 同様 60 分以上持続した。以上の結果より、LPS による胃運動抑制のメカニズムに内因性 IL-1 β が特異的に関与するという仮説をたて、次の検討を行った。LPS 0.2 mg/kg 投与 30 分前に IL-1Ra である anakinra 20 mg/kg の腹腔内投与を行い、胃運動の測定を行った。IL-1Ra それ自体は胃内圧に影響を及ぼさなかったが、IL-1Ra の前投与により、LPS の胃運動抑制が強力にブロックされた。この研究では第一に無麻酔、無拘束下ラットにおいて LPS 腹腔内投与が胃運動を有意に抑制することを明らかにした。これまで意識下動物において、LPS が gastric emptying を遅らせることが報告されている。胃前庭部の運動が胃排出に影響することが知られているため、本研究の成績は LPS による胃排出抑制は胃運動を抑制した結果生じることを示唆する。次に LPS によって誘導され得るサイトカインのうち、IL-1 β が特異的に容量依存性に胃運動を抑制することを見いだした。以上

の結果より、無麻酔、無拘束下ラットにおけるLPSによる胃運動抑制のメカニズムに内因性IL-1 β が特異的に関与することが示唆され、引き続きその仮説の検証を行った。IL-1にはIL-1 α とIL-1 β が存在するが、いずれも生体内ではIL-1 receptor 1 (IL-1R1)により認識されることが知られている。これらのIL-1の働きを抑制する内因性のIL-1Raが生体内では存在する。Recombinant human IL-1Ra (anakinra)はIL-1シグナル伝達をブロックする薬剤で、関節リウマチやクオピリン関連周期性発熱症候群といったIL-1の作用が過剰に働く疾患で臨床応用されており、その有効性が示されている。本研究ではこのanakinraを用いてLPSによる胃運動抑制が内因性IL-1を介する反応であることを明らかにした。内因性IL-1が胃運動に影響を及ぼすことを報告した研究は過去にはなく、本研究により内因性IL-1が消化管運動の調節に重要な役割を担っている可能性も示唆された。以上のように、無麻酔ラットで胃運動を長時間測定する系を確立し、その実験系で薬理的な研究を遂行できた。次に、消化管運動と睡眠覚醒サイクルの関連を明らかにする為に、脳波、眼球運動、骨格筋筋電図と胃運動を同時に測定出来る系を確立することを試みた。覚醒自由行動ラットにおいて脳波、眼球運動、骨格筋筋電図と胃運動を同時に長時間測定することに成功した。図2には、同時にモニターした代表結果を示した。急速眼球運動の時期はrapid eye movement (REM)期と考えられる。これらの指標から図に示すような覚醒と睡眠(REMとnon REM)を評価することができるが、無麻酔ラットにおいて確認された。この睡眠覚醒サイクルと胃運動の関連を観察すると、睡眠時に特に消化管運動が抑制されたり、強収縮波(migrating motor complex: MMC)が増減す

るなどの関連は今のところ観察されていない。未だ同時測定に成功した動物は2匹にすぎなく、測定できた時間も6時間程度あり、課題のテーマを明らかにする為に24時間連続の測定結果が必要になる。今後更に研究を継続したい。

図1

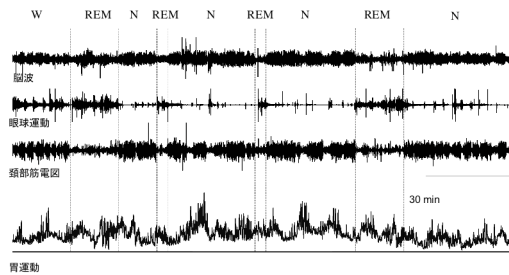
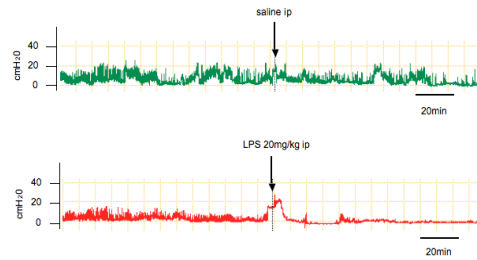


図2 W: 覚醒 REM: REM睡眠 N: ノンREM睡眠

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

Tschiya Y, Nozu T, Kumei S, Ohhira M, Okumura T.

IL-1 receptor antagonist blocks the lipopolysaccharide-induced inhibition of gastric motility in freely moving conscious rats. Dig Dis Sci. 査読有. 2012 Oct;57(10):2555-61.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大平 賀子 (OHHIRA MASUMI)
旭川医科大学・医学部・助教
研究者番号：30447106

(2) 研究分担者

野津 司 (NOZU TSUKASA)
旭川医科大学・医学部・准教授
研究者番号：30312367

奥村 利勝 (OKUMURA TOSHIKATSU)
旭川医科大学・医学部・教授
研究者番号：60281903

高草木 薫 (TAKAKUSAKI KAORU)
旭川医科大学・医学部・教授
研究者番号：10206732