

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 溝口 明範

2 論文題目

レーザー誘起衝撃波の頭部照射による消化管および腸内環境への影響についての研究

3 論文の内容の要旨（博士：2,000字程度）

（1）目的

過敏性腸症候群（Irritable bowel syndrome : IBS）は近年、脳と消化管の機能を統合する双方向性の神経・内分泌性コミュニケーションシステムの障害により、症状が発現するという脳腸相関の関与が注目されている。つまり、ストレスが脳腸相関に影響を与え、消化管運動の異常や内臓知覚過敏、腸管透過性亢進や腸内細菌叢に影響を与え、IBSとしての症状が出現すると考えられている。ストレス反応では視床下部から Corticotropin-releasing hormone (CRH) が分泌され、下垂体門脈を介して下垂体前葉に到達し、adrenocorticotrophic hormone の放出を促す。これは HPA 軸 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis) と呼ばれ、代謝や免疫に影響を及ぼすことがわかっている。CRH の受容体である CRH receptor (CRHR) は、下垂体前葉のみではなく腸管壁内神経叢をはじめ様々な細胞や臓器に発現しており大腸の CRHR は IBS の症状の発現に重要な因子になっていると考えられている。また、軽症と診断された爆風による外傷性脳損傷 (blast-induced traumatic brain injury : bTBI) 患者の中には IBS に特徴的な下痢・腹痛・便秘といった消化器症状が出現することがある。そこで今回、レーザー誘起衝撃波 (Laser-induced shock wave : LISW) による bTBI ラットモデルでも IBS 同様の病態生理が生じているのではないかという仮説を立て、内臓知覚過敏、粘膜透過性亢進や腸内細菌叢の変化が本モデルにおいて生じているかを検討した。加えて CRH や、CRHR の antagonist が IBS の症状に関与していることに注目し、これらを投与することで内臓知覚に影響するのかを検討した。

（2）対象並びに方法

LISW は吸入麻酔後に固定した 9 週齢の Wistar 雄系ラットに対し、YAG レーザーを用いて 1 回照射量 2.4 J/cm^2 でアタッチメントを介して頭部に計 4 発照射した。まず bTBI により消化管粘膜障害が誘発されないことを確認する目的で LISW 頭部照射後の直腸を組織学的に検討した。内臓知覚過敏の評価には、colorectal distension (CRD) test を LISW 頭部照射前後に行い、疼痛に対する閾値 (abdominal withdrawal reflex : AWR) を測定した。また直腸での CRHR

の mRNA 発現量を評価した。また LISW による bTBI の影響が長期に続くのかを評価するため LISW 照射 4 週後に CRD test を行い、AWR を測定した。既報の IBS 動物モデルでは、CRH や、CRHR が内臓知覚過敏に影響する。本モデルにおいても同様の反応がみられるか CRH と CRHR の antagonist (astressin) を用いて、CRD test での AWR を測定することで検討した。IBS ではタイトジャンクション系タンパク質の発現が低下しており、消化管粘膜の透過性が亢進していることから、本モデルでの回腸末端の zonula occludens (ZO) -1, occludin の mRNA の発現量を測定することで評価した。さらに小腸バリア機能の細胞間隙透過性マーカーである fluorescein isothiocyanate dextran 4kDa (FITC-4kDa) を管腔内に投与し、門脈血の血清内の濃度を測定することで消化管粘膜の透過性を評価した。また腸内細菌叢の評価を行うため、LISW 頭部照射前後における糞便中の細菌叢変化を次世代シーケンサーにより検討した。

(3) 成績

LISW 頭部照射後のラットの直腸には大腸粘膜障害は生じていなかった。また CRD test における AWR は閾値が低下していた。この効果は少なくとも 4 週後まで持続していた。また直腸組織内における CRHR1 の mRNA 発現量は増加し、CRHR2 の mRNA 発現量は減少していた。加えて LISW 頭部照射したラットに CRH を投与すると直腸過敏性がさらに増悪した。また astressin を LISW 頭部照射前に投与すると直腸過敏性亢進が抑制された。また回腸末端でのタイトジャンクション系タンパク質の mRNA 発現が低下し、小腸管腔内に FITC-4kDa を投与した後の門脈血清中の濃度は上昇していた。LISW 頭部照射前後の便中の細菌叢は α 多様性、 β 多様性ともに変化していた。

(4) 考察

LISW 頭部照射により AWR が低下したことから内臓知覚過敏が生じていたと考えられる。ストレスにより CRH が分泌され、末梢の CRHR1 を刺激することで大腸壁運動亢進や壁伸展の感覚の過敏性亢進が生じる。また CRHR2 のシグナルは CRHR1 抑制性に作用する。LISW 頭部照射ラットでは直腸の CRHR1 の mRNA 発現が増加し、CRHR2 の発現が低下していた。これは既報の IBS モデルと同様の結果であった。また astressin の投与により内臓知覚過敏の亢進が抑制され CRH 投与で増悪したこと、回腸末端での粘膜透過性亢進がみられたことは本モデルで IBS と同様の病態生理が生じていることを支持する結果であった。LISW 照射前後で α 多様性、 β 多様性ともに変化が生じていたが、それは占有率の低い菌種によるものであった。またヒトでは IBS で *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* の変化があったという報告もあるが、本モデルでは見られなかった。

(5) 結論

LISW により作製した頭部爆傷モデルは内臓知覚過敏が生じることがわかった。この機序には CRH や直腸の CRHR が関与しており、脳腸相関が関係していることが示唆された。また腸管透過性亢進、腸内細菌叢の変化がみられた。これら

の変化は過敏性腸症候群と同様の病態である可能性が示唆され、軽度頭部爆傷後に生じる消化器症状に関して病態生理の一端を解明したと考える。また、レーザー誘起衝撃波の頭部照射モデルは再現性が高く、内臓知覚過敏を惹起することから、新たな過敏性腸症候群の動物モデルとなることが期待され、過敏性腸症候群の病態解明や新規治療方法の開発にも寄与できる可能性がある。

4 キーワード（5個程度）

「過敏性腸症候群」，「頭部爆傷」，「レーザー誘起衝撃波」，「脳腸相関」，「腸内細菌叢」