

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18918

研究課題名(和文)薬物動態変動要因としての栄養組成および腸内細菌叢環境の関与

研究課題名(英文) Involvement of nutrient composition and intestinal flora on regulation factors of pharmacokinetics

研究代表者

嶋田 努 (Shimada, Tsutomu)

金沢大学・附属病院・准教授

研究者番号：90409384

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)：腸内細菌叢の有無は、薬物の体内動態に影響を与えることが知られているが、日常生活に伴う腸内細菌叢の変動が薬の効果・副作用に与える影響は報告されていない。

そこで、食物繊維や整腸剤によりいわゆる善玉菌を増加させたモデルを作成し検討した。その結果、水溶性食物繊維投与により、善玉の腸内細菌が増殖し、肝臓において一部の代謝酵素の遺伝子発現が減少したものの、その影響は小さいものと示唆された。また整腸剤により同様に善玉の腸内細菌叢の増加が認められたが、薬物動態に与える影響は認められなかった。

以上より日常生活での食事や整腸剤投与に伴う腸内細菌叢の変動は、薬物の体内動態に大幅な影響を与えないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Absence of intestinal flora Affect pharmacokinetics of drug, however there was no report whether regulation of intestinal flora by daily life affect drug safe and effective. This study investigated the effects of increment of good bacteria in intestine using the animal model treated dietary fiber and medicine for intestinal disorders. The results showed that water soluble dietary fiber and medicine for intestinal disorders, which increase good bacteria, did not significantly affect pharmacokinetics factors. This study suggested that regulation of intestinal flora in dairy life would not affect pharmacokinetics of drugs.

研究分野：臨床薬学

キーワード：薬物動態変動要因 栄養環境 腸内細菌叢

1. 研究開始当初の背景

薬物治療において、副作用なく治療効果を高めるためには適切な薬物投与設計が必須である。薬物体内動態の変動要因としては、年齢、性差、病態または併用薬などがあり、薬物投与設計にはこれらの変動要因を考慮する必要がある。免疫抑制剤シクロスポリン (CyA) およびタクロリムス (Tac) は、多施設において血中濃度推移が患者間のみならず同一個体においても不安定であることが確認されており、多数の薬物動態変動要因によって血中濃度がコントロールされていると考えられている。実際 CyA や Tac の投与設計は非常に難しく、実臨床においては Therapeutic Drug Monitoring (TDM) 業務で血中濃度を測定し、測定値より次回の投与量を決定するという追従型投与計画を取っているのが現状である。申請者らはこれまでに CyA と Tac の血中濃度変動要因として、移植前の薬物療法に伴う代謝酵素 CYP3A および薬物排出ポンプ P-glycoprotein (P-gp) の遺伝子発現変動の関与 (薬物相互作用)¹⁻⁴⁾、体格指数 (BMI) に伴う CYP3A および P-gp の遺伝子発現変動の関与、⁵⁾ CyA の溶解剤であるポリオキシエチレンヒマシ油による関与 (薬物-溶解剤相互作用)⁶⁾があることを報告し、CyA および Tac の体内動態変動要因として CYP3A や P-gp の関与が大きいことを示した。また、申請者らは、薬物の体内動態の変動要因の1つとして経腸栄養剤の関与、つまり経腸栄養剤の種類によって代謝酵素 (CYP、抱合反応など) や薬物輸送ポンプ (P-gp、OATP など) の発現が変動すること、それに伴いジゴキシンの体内動態が変動することを報告した。⁷⁾ これまでに、抗生物質投与に伴う腸内細菌叢の変化が CYP3A 発現を抑制するという報告、食物繊維による薬物の体内動態変動の報告、水溶性食物繊維が腸内細菌叢の環境を変動させるという報告、さらには高脂肪食負荷により腸内細菌叢が変化するという報告などがなされており、われわれの報告も併せて、栄養素-食物繊維-腸内細菌叢の3因子が相加・相乗的に作用しあい薬物動態変動に関与するという興味深い関連性が考えられた。(図1)

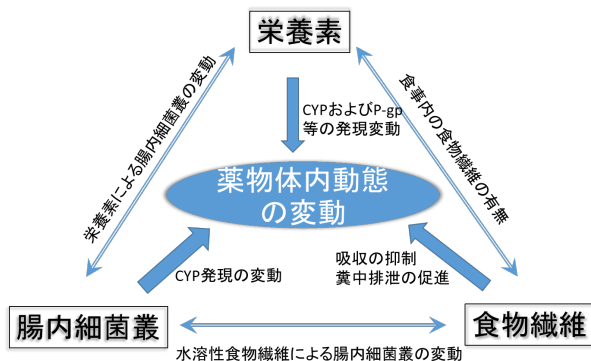


図1. 本研究の仮説

日常生活の基盤である栄養素に伴う薬物動態変動は実臨床において非常にインパクトがあり、その原因究明は急務であるが、これまでに報告は少ない。また、日常生活における腸内細菌叢の変動がどの程度本薬物動態変動に寄与しているかの報告はなされていない。

2. 研究の目的

前述したとおり、これまでの研究により経腸栄養剤の種類により薬物動態変動因子および薬物体内動態が変動することが認められたが、そのメカニズムは不明であった。各種経腸栄養剤には、栄養素レベルで組成が異なるものがあることから、栄養素組成の差異が特に食物繊維の量的・質的差異が薬物動態の変動に関与すると仮説を立てた。本実験で用いるモデルとして、食物繊維投与による腸内細菌叢変動モデルおよび、直接いわゆる善玉菌を投与する整腸剤投与による腸内細菌叢変動モデルを作成し、経時的な糞中腸内細菌叢の変動およびこれら腸内細菌叢変動モデルにおける薬物代謝酵素や薬物輸送ポンプなどの体内動態変動因子 (CYP1A2, CYP2A1, CYP2C11, CYP3A1, CYP3A2, CYP2D1, CYP2E1, UGT1A1, UGT1A6, UGT2B1, GSTA2, P-gp, MRP2, MRP3, BCRP, MATE1, OATP2, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2 など) に及ぼす影響について検討した。

3. 研究の方法

ラットを用い腸内細菌叢変動モデルとして、食物繊維投与モデルとして、善玉腸内細菌の増加が報告されている水溶性食物繊維 (サンファイバー: SF) 投与モデルおよび非水溶性食物繊維であるセルロース処置モデル、さらに整腸剤としてミヤ BM およびラックビー投与モデルを作成した。それぞれのモデルは、粉末飼料に各製品を混餌した飼料を自由摂取にて投与し、定期的に糞を採取した。各モデル作成後、安楽死させ、肝臓、小腸 (十二指腸、空腸、回腸) を摘出し、代謝酵素および薬物排泄ポンプの遺伝子発現、タンパク質発現を検討した。また、糞中の腸内細菌叢の発現レベルは、T-RFLP 法並びに Real time-PCR 法にて解析した。

4. 研究成果

(1) SF 投与モデル

水溶性食物繊維である SF を 5% 含む飼料を 4 週間または 8 週間経口にて自由摂取させることにより、糞中において善玉菌として知られる *Bifidobacterium* の大幅な増加並びに *Clostridium cluster IV* の低下が確認され、腸内細菌叢の変動モデルの作成に成功した (図2)。

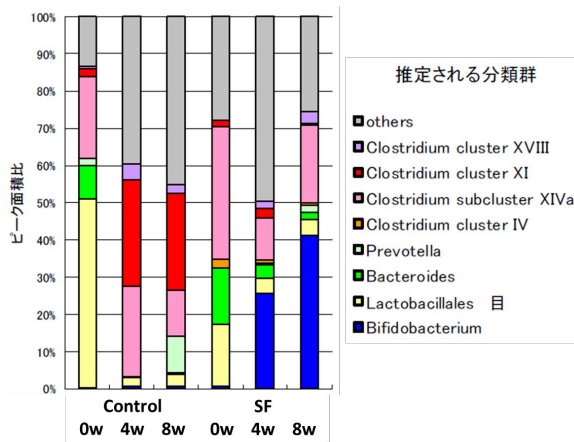


図2 T-RFLPプロファイル各OUTのピーク面積比

そこで本モデルの肝臓及び小腸の代謝酵素及び薬物輸送ポンプの遺伝子発現について検討したところ、特に肝臓において生体で薬物代謝機構として重要な CYP3A1 および CYP2C11 の遺伝子発現の有意な低下が認められた。一方、肝臓での他の薬物動態変動因子や小腸各部位においては有意な発現の変化は認められなかった。そこで、引き続き、肝臓における CYP3A1 および CYP2C11 の蛋白レベル発現を検討したが、遺伝子発現の結果とは異なり、蛋白レベルにおいては有意な低下は認められなかった。(図3)

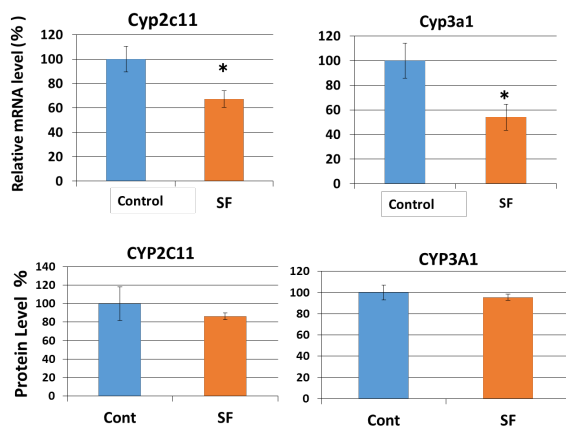


図3. サンファイバー(SF)4週間自由摂取モデル動物の肝臓における代謝酵素の発現変動
*, $P < 0.05$

以上の結果より、水溶性食物繊維である SF 投与により腸内細菌叢変動モデルは作成できたが、本モデルにおいては薬物の体内動態に大きな影響が認められないことが示唆された。

(2) セルロース投与モデル

非水溶性食物繊維であるセルロースを 0%、1%、5% 混餌した飼料を 4 weeks 自由摂取にて投与したモデルを作成した。水溶性食物繊維である SF とは異なり糞中の腸内細菌叢の

大きな変動は認められなかった。肝臓および小腸において、薬物体内動態変動因子についても検討を行った結果、CYP3A1 は用量依存性に減少傾向が認められたが有意な差はなく、他の因子に関しても有意な変動は認められなかった。本結果は、(1) の SF 投与モデルと同様、セルロースの餌中における割合が減少することにより肝臓の CYP3A1 が低下する結果となっており、セルロース含量が肝臓の CYP3A1 遺伝子発現に弱いながら影響することが示唆された。

(3) ミヤ BM 投与モデル

酪酸産生菌である *Clostridium butyricum* MIYAIRI を含むミヤ BM 製剤を 10^7 CFU/day になるように調整した粉末飼料を自由摂取させたモデルを作成した。T-RFLP 法において腸内細菌叢の大幅な変化は認められなかった。続いて遺伝子レベルで肝臓及び小腸の代謝酵素ならびに薬物輸送ポンプの発現変動を確認したが、肝臓において CYP3A1 の発現低下傾向が確認できたが、それ以外に大きな変動は認められなかった。

(4) ラックビー投与モデル

乳酸および酢酸を含む揮発酸産生菌である *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* を含むラックビーの原末を用い、ラットの系統や粉末飼料の種類等の組合せを検討し、最大限に *Bifidobacterium* の変動を認めるモデルを作成した。その結果 Fisher ラットに AIN-93M に *Bifidobacterium* として 10^9 CFU/day となるように混餌させた飼料を自由摂取させたモデルを作成したところ、real-time PCR の結果 *Bifidobacterium* の発現が 100 倍程度増加するモデルの作成に成功した。(図4)

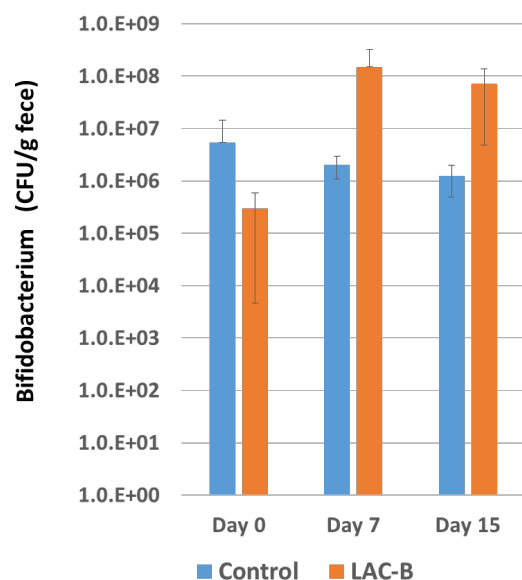


図4. ラックビー原末 (10^9 CFU/day) 摂取による糞中 *Bifidobacterium* コロニー数の変化

そこで肝臓及び小腸における各種代謝酵素および薬物輸送ポンプ発現を検討したが、有意な差を示すものを認められなかった。

(5) 総括

上記4つの腸内細菌叢変動モデルを作成したところ、SFおよびラックビー処置群において、善玉菌であるBifidobacteriumの発現の大幅な増加が認められた。一方糞中においてBifidobacterium 大幅な増加を認めたモデルにおいても、薬物の体内動態に大きな影響を及ぼす因子に対する影響は認められなかった。以上の結果から食事や整腸剤投与など日常生活にて起こりうる腸内細菌叢の変動レベルでは、薬物の体内動態に大幅な影響を与えないことが示唆された。

1. Biochem Pharmacol 72, 1042-50 (2006).
2. Transplant Int 16, 788-793 (2003).
3. Transplantation 74 (10), 1419-1424 (2002).
4. Biochem. Pharmacol 63, 777-783 (2002)
5. Drug Metab Pharmacokinet 29 341-347 (2014)
6. Int J Pharm 293, 137-44, (2005)
7. Drug Metab Pharmacokinet. 28:44-52, (2013)

5. 主な発表論文等

本研究期間においては該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

嶋田 努 (SHIMADA, Tsutomu)
金沢大学・附属病院・准教授
研究者番号：90409384