

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11681

研究課題名(和文)生活習慣病の治療薬の吸収、血中移行過程に対する食物繊維の影響：相互作用の解明

研究課題名(英文)Effect of dietary fibers on the process of absorption and transfer to blood of the therapeutic agent for lifestyle-related disease: Investigation of drug-dietary fiber interaction.

研究代表者

岩崎 綾乃 (Iwazaki, Ayano)

摂南大学・薬学部・講師

研究者番号：20319792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：食物繊維(DF)と生活習慣病治療薬の相互作用について、薬効発現の過程に係る遊離型薬物量および小腸での薬物透過に対するDFの影響に着目し検討した。その結果、混合するDFの種類と混合時の液性が遊離薬物量に影響することを明らかにした。糖尿病治療薬のビグアナイド薬とDFのアルギン酸ナトリウムの混合では、水中で遊離薬物量が減少することおよび小腸上皮細胞の特徴を有するCaco-2細胞膜の薬物輸送量が減少することを明らかにした。薬物の1回服用量と健康食品等での摂取量を考慮すると、医薬品を服用する人がDFを多く含む健康食品等を同時に摂取した場合「薬とDFの相互作用」に注意する必要があることが示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食物繊維は生活習慣病の発症やそのリスク因子の減少に役立つとされ、いわゆる健康食品や保健機能食品にも利用されている。本研究では、食物繊維と薬の組み合わせによっては遊離薬物量の減少や薬物の小腸細胞での輸送量の減少が生じる結果が得られ、食物繊維と薬の相互作用の一端を明らかにすることが出来た。本研究は、健康食品中の食物繊維の1回摂取量を考慮した実験であり、毎日の服用が必要な生活習慣病の治療薬と食物繊維を含む健康食品を同時に摂取することには相互作用に注意が必要であることを社会に示すことが出来た。

研究成果の概要(英文)：We investigated the interaction between dietary fiber and drugs for lifestyle-related diseases, focusing on the amount of the free form of the drug and drug permeation in the small intestine related to the process underlying the drug effect. The amount of free drug was influenced by the type of dietary fiber and related to the solvent condition of the mixture. Mixing a biguanide, a type of drug used to treat diabetes, and sodium alginate, a dietary fiber, decreased the amount of free drug in water and reduced the amount of drug transport through the membrane of Caco-2 cells, which have characteristics of small intestinal epithelial cells. These findings suggest that the potential for drug-fiber interactions should be noted in patients taking drugs simultaneously with supplements rich in dietary fiber.

研究分野：薬学

キーワード：食物繊維 薬物相互作用 糖尿病治療薬 ビグアナイド メトホルミン

## 1. 研究開始当初の背景

食物繊維は生活習慣病との関連が注目されており、食物繊維の摂取量を増やすことにより血圧上昇の抑制、LDL-コレステロール値の減少、糖尿病発症率の減少が認められた等の報告がある。また、平成 27 年の国民健康・栄養調査において「食品購入時の参考として必要だと思う栄養成分表示は？」の回答として、女性が「エネルギー表示」に次いで高い関心を示したのが『食物繊維』であった<sup>1)</sup>。食物繊維は食事摂取基準(2015年版)の中で目標量が示されており、特定保健用食品に利用されているものやいわゆる健康食品や加工食品に利用されているものもある。特定保健用食品を含む「保健機能食品(特定保健用食品、栄養機能食品、機能性表示食品)」や「いわゆる健康食品」の 2015 年度の市場規模は 1 兆 5 千億円と試算されており<sup>2)</sup>、さらに「健康食品」利用実態調査では、健康食品を「ほとんど毎日」「たまに」使う人を合わせ消費者の約 6 割が利用しているという報告<sup>3)</sup>がなされ、健康食品の利用者が多いことが示唆される。加えてこの調査では、健康食品の利用者のうち 34%は病院の処方薬と併用し、中でも肥満・生活習慣病・アレルギー体質の者の 46%が併用していることを明らかにしており、健康食品と薬の相互作用が懸念される。

食物繊維と薬の相互作用に関する研究については、食物繊維のアルギン酸ナトリウムにおいて、金属(亜鉛、鉄)との吸着作用が見られること<sup>4)</sup>、三環系抗うつ薬イミプラミンとの吸着による薬理作用への影響があること<sup>5)</sup>などが報告されている。また、食物繊維の摂取による腸内細菌叢との関連や腸内細菌叢の変化に基づく薬物代謝酵素の変化についての報告はある。しかし、併用者が多いと考えられかつ長期的に投与される生活習慣病の治療薬と食物繊維との相互作用について検討した報告はなく、摂取への関心が高い食物繊維を多く含む健康食品と薬の「のみ合わせ」についての基礎的な検討が求められている。

## 2. 研究の目的

生活習慣病の治療薬と食物繊維の相互作用を明らかにすることを目的に、薬効発現の過程における遊離薬物量、薬の小腸膜輸送・血中移行に対する食物繊維の影響を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 遊離薬物量の測定

糖尿病治療薬として、水溶性のブホルミン、メトホルミン、グリメピリドを用いた。ブホルミンとメトホルミンは両薬物ともにピグアナイド骨格を持ち、グリメピリドはそれらと異なるスルホニル尿素化合物である。食物繊維としては、セルロース、キトサン、アルギン酸ナトリウム、ペクチン(リンゴ由来)、グルコマンナン(こんにやく由来)を用いた。本研究で使用した食物繊維の純度は、グルコマンナンが 90%、その他の食物繊維は 100%であり、薬物、食物繊維ともに試薬として販売されているものを用いた。食物繊維およびブホルミンまたはメトホルミンを水、グリシン緩衝液(pH1.2)あるいは日本薬局方第 17 改正記載の崩壊試験第 1 液(pH1.2; HCl/NaCl)または第 2 液(pH6.8; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/NaOH)でそれぞれ溶解あるいは懸濁したものを 1:1 の割合で混合した。なお、グリメピリドの実験では、第 1 液や水では濁りが生じるため、グリメピリドを少量の N, N-ジメチルホルムアミドに溶解した後、第 2 液(pH6.8)中で食物繊維と混合した。糖尿病治療薬の最終濃度はメトホルミン:3.02 mM、ブホルミン:0.52 mM、グリメピリド:0.024 mM であり、食物繊維の最終濃度はセルロース:2.0%、キトサン:0.3%、アルギン酸ナトリウム:0.8%、ペクチン:0.2%およびグルコマンナン:0.5%である。これらの濃度は、日本における糖尿病治療薬としての 1 回服用量、食物繊維としていわゆる健康食品で用いられる 1 回使用量を考慮し、胃内容量を 500 mL として計算した値を用いた。混合液を 37℃で 30 分間振とうしながらインキュベートし、その液を限外濾過膜セントリカットミニ V-50(分子量 50,000; 倉敷紡績株式会社)を用いてろ過し、ろ液中の薬物量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定した。

HPLC システム(LC-10AVP; 島津製作所)を用い、カラムは Inertsil ODS-2(150 × 4.6 mm i.d., S5 μm; GL サイエンス株式会社)を使用した。ブホルミンとメトホルミン測定時の移動相は、0.23 M 過塩素酸ナトリウム:アセトニトリル(7:1, v/v)、グリメピリド測定時には、リン酸緩衝液(pH7.0):アセトニトリル:テトラヒドロフラン(63:27:10, v/v)を使用した。カラム温度は 35℃、流速は 1.0 mL/min で、UV 検出器を用いてブホルミンとメトホルミンは 233 nm、グリメピリドは 228 nm での吸光度を測定した。遊離薬物(%)算出のための対照としては、食物繊維を含まない薬物溶液を用いた。遊離薬物の割合は、以下の式により算出した。

遊離薬物(%) = (ろ液のピーク面積 / 対照のピーク面積) × 100

混合液の pH はコンパクト pH メーター(Twin pH; 堀場製作所)を用いて測定した。

### (2) Caco-2 細胞を用いた薬物の小腸膜輸送実験

ヒト小腸上皮細胞の特徴を有する Caco-2 細胞を用いて、薬物の細胞への取り込みおよび単層培養にて小腸様の膜を作成後、apical 側から basolateral 側への薬物の透過・輸送を測定し、薬物の消化管吸収への食物繊維の影響を調べた。

## 薬物の細胞取り込み量の測定

Caco-2 細胞をコラーゲンコート(FALCON)の培養プレートに  $2.5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> の濃度で播種し、37℃、5%CO<sub>2</sub> 下で1週間培養した。メトホルミンおよび食物繊維のアルギン酸ナトリウムを 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid(MES)緩衝液(pH6.0)でそれぞれ溶解した液をメトホルミン 5 mM、アルギン酸ナトリウム 0.1-0.8%となるよう 1:1 で混合したものを細胞に添加した。メトホルミン濃度は1回服用時の最低-最大濃度を考慮し設定した。37℃で2分間インキュベーション後、氷冷MES緩衝液で洗浄した。これに30 mMリン酸緩衝液(pH7.0)を添加してホモジナイズし、メタノールを加え混合後、遠心した。遠心上清中のメトホルミン量をHPLCで定量した。ホモジネートのタンパク量をLowryらの方法に基づき測定し、取り込み量はタンパク量当たりで算出した。

## 薬物の transport 試験 (図1)

Caco-2 細胞を transwell (FALCON) の培養プレートに  $3.3 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> の濃度で播種し、37℃、5%CO<sub>2</sub> 下で20日間培養した。経上皮細胞膜間電気抵抗値を測定し、単層膜の評価を行い、250 Ω・cm<sup>2</sup> 以上の細胞を使用した。Apical 側をMES緩衝液、basolateral 側をN-2-hydroxy-ethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid(HEPES)緩衝液(pH7.4)で洗浄後、と同様に調製したメトホルミンとアルギン酸ナトリウムの混合液を apical 側に添加し、37℃で75分間インキュベーションし、basolateral 側および細胞中のメトホルミン量をHPLCで測定した。

## HPLC の測定条件

HPLC システムは(1)と同様のものを用い、カラムはCOSMOSIL 5FPF Packed Column (150 × 4.6 mm i.d., S 5 μm: ナカライテスク株式会社)を用い、移動相は10 mM Ammonium acetate buffer(pH7.0):アセトニトリル(1:4, v/v)、カラム温度は30℃、流速は1.0 mL/minで、UV検出器を用いて233 nmでの吸光度を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) 遊離薬物量への食物繊維の影響

生活習慣病治療薬のうち糖尿病治療薬と食物繊維の混合による遊離薬物量の変化を測定した。pHが胃内pHに近い第1液あるいは腸内pHに近い第2液で混合した場合、アルギン酸ナトリウムを除く食物繊維で遊離ブホルミン(図2A)と遊離メトホルミン(図2B)のレベルは90%を超えていた。したがって、胃および腸では、セルロース、キトサン、ペクチン、グルコマンナンの存在によって遊離ブホルミン、遊離メトホルミンレベルが大きく変化することはないと予想された。なお、pHが第1液と同じで緩衝液の組成が異なるグリシン緩衝液(pH1.2)では、遊離薬物レベルは第1液と同様であったことから、pH1.2では緩衝液の組成は関係しないと考えられた。しかし、水中では、遊離薬物レベルはアルギン酸ナトリウムで最も低く、遊離ブホルミンと遊離メトホルミンのレベルはそれぞれ14.3%と24.5%であり、ペクチンと混合した場合は、それぞれ62.3%および78.5%であった。キトサンまたはグルコマンナンと混合した場合、遊離ブホルミンおよび遊離メトホルミンは90%を超えた。したがって、水中でペクチンまたはアルギン酸ナトリウムとブホルミンやメトホルミンを混合すると、遊離薬物レベルを変化させ、薬物動態学的相互作用が起こる可能性があると考えられた。また、ブホルミンとメトホルミンの濃度をそ

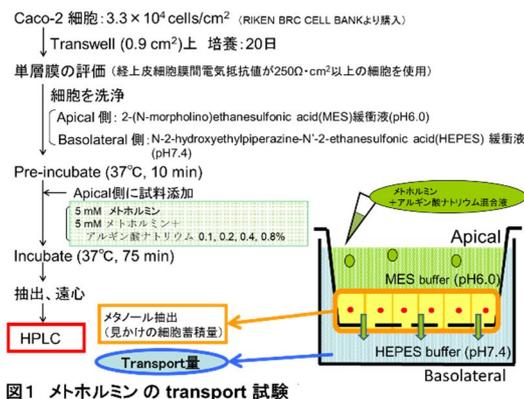


図1 メトホルミンの transport 試験

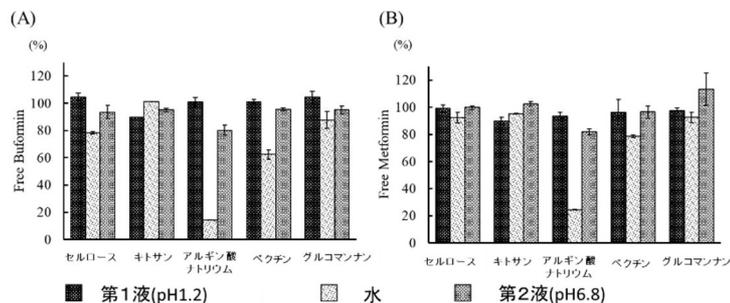


図2 遊離ブホルミン、メトホルミン量に対する食物繊維の影響

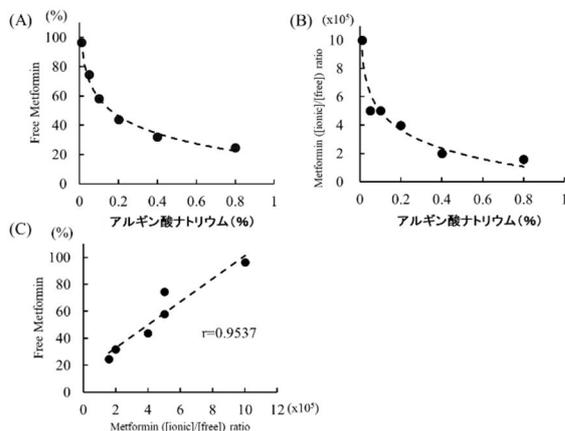


図3 遊離メトホルミン量に対するアルギン酸ナトリウム濃度およびメトホルミンのイオン形濃度の関係

また、ブホルミンとメトホルミンの濃度をそ

ろえて実験を行ったところ、食物繊維の影響は両薬物で同程度であった。この結果は、両薬物に共通するピグアナイド骨格がアルギン酸ナトリウムまたはペクチンとの相互作用に關与している可能性を示唆するものと考えられた。薬物と食物繊維の混合による pH の変化を確認したところ、水中ではピグアナイド単独溶液 (pH6.5-6.7) に比べ、キトサンとアルギン酸ナトリウムとの混合により pH が 7.2-7.3 と高い方向に変化した一方、ペクチンでは 3.2、グルコマンナンでは 5.8 と低くなった。第 1 液 (pH1.2) および第 2 液 (pH6.8) に薬物および食物繊維を添加しても pH は変化せず、それぞれ pH1.2 および pH6.8 に保持されていた。

水中でのアルギン酸ナトリウムとの混合で遊離メトホルミンレベルが低くなったことから、アルギン酸ナトリウム濃度を变化させたときの遊離メトホルミンの変化を調べたところ、アルギン酸ナトリウム濃度依存的に遊離メトホルミン量は減少した (図 3A)。これはアルギン酸ナトリウム添加時に測定された pH とメトホルミンの pKa : 12.4 から導かれたイオン型の割合にも依存していた (図 3B)。このことから、遊離メトホルミンの濃度は、イオン型の濃度に依存することが考えられた (図 3C)。アルギン酸ナトリウムによる遊離メトホルミン量の減少は、イオン型の割合を反映していると考えられ、メトホルミンの解離は pH のわずかな上昇で引き起こされることが示唆された。しかし、キトサンと混合した液の pH はアルギン酸ナトリウムとの混合液の pH とほぼ同じであったにもかかわらず、遊離メトホルミンレベルは変化しなかったことから、遊離薬物と食物繊維の相互作用は、pH 依存性だけでなく食物繊維の種類も関係している可能性がある。

遊離グリメピリドレベルについては、セルロースおよびキトサンを含む溶液ではそれぞれ 83.5% および 88.2% であった一方、ペクチン、アルギン酸ナトリウム、グルコマンナンを含む溶液では、それぞれ 51.9%、19.7%、5.4% と減少した (図 4)。グリメピリド溶液およびグリメピリドと食物繊維の混合液の pH は 6.8 に保持されていた。

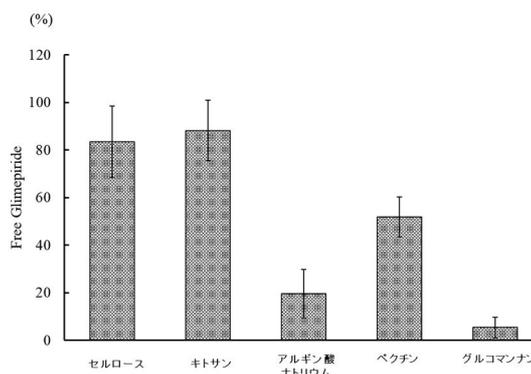


図4 遊離グリメピリド量に対する食物繊維の影響

遊離薬物のレベルは 90 分間のインキュベーション中に変化しなかったことから、食物繊維との混合直後に遊離薬物レベルが低下し、この低下したレベルが維持されるものと考えられる。ピグアナイド系薬物、スルホニル尿素系薬物で、食物繊維による遊離薬物量変化が全く異なったことから、糖尿病治療薬と食物繊維の相互作用が薬物の種類によって異なり、pH 以外の要因にも影響されることを示していると思われる。本実験結果から、ある種の食物繊維は糖尿病治療薬の遊離薬物量を低下させることがあり、その低下量は食物繊維の種類や薬の種類、混合時の溶媒によって異なることが明らかとなった。

## (2) Caco-2 細胞を用いた薬物の小腸膜輸送への食物繊維の影響

遊離薬物レベルの変化が大きかったアルギン酸ナトリウムを用いて細胞実験を行った。メトホルミンの細胞内取り込み量についてはアルギン酸ナトリウム添加による変化はなく、アルギン酸ナトリウムはメトホルミンの細胞内取り込みの過程には影響しないと考えられる。Basolateral 側へのメトホルミン移行量は 0.1% のアルギン酸ナトリウム添加で減少し、用いたアルギン酸ナトリウムの濃度範囲では 29~37% の減少を示したが、濃度依存的な変化は認められなかった。したがって、アルギン酸ナトリウムは一定量以上存在するとメトホルミンの小腸輸送に影響を及ぼすと推察される。メトホルミンおよびアルギン酸ナトリウムの混合による pH の変化はなく、transport および細胞内取り込みにおける混合液の pH の影響はないと考えられる。アルギン酸ナトリウムとの混合により小腸様細胞でのメトホルミンの transport 量が減少したことから、小腸内でメトホルミンの吸収量が減少する可能性が示唆され、糖尿病の治療でメトホルミンを服用中にアルギン酸ナトリウムを摂取する場合には、体内動態や薬効発現の変化に注意が必要と考えられる。

本研究では、食物繊維のアルギン酸ナトリウムと糖尿病治療薬のうちピグアナイド系薬物であるメトホルミンおよびメトホルミン、スルホニル尿素系薬物のグリメピリドとの混合で遊離薬物量が減少することが明らかとなった。アルギン酸ナトリウムは特定保健用食品の機能性成分であることから、アルギン酸ナトリウムを豊富に含むサプリメントと一緒に摂取すると、遊離薬物量が減少することが懸念される。遊離薬物量の減少は糖尿病治療薬のバイオアベイラビリティを変化させ薬理作用にも影響する可能性がある。今回、生活習慣病治療薬のうち、これまで報告してきた血圧降下薬の結果に加え<sup>6,7)</sup>、糖尿病治療薬と食物繊維の影響を明らかにすることが出来た。今後、糖尿病治療薬の薬物動態に及ぼす食物繊維の影響を評価するために、血中移行に関する *in vivo* 試験を実施することにより、食物繊維と薬の相互作用についてより明らかにしていくことができると考えている。

<引用文献>

- 1) 厚生労働省、平成 27 年 国民健康・栄養調査結果の概要、  
<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyoudl/h27-houkoku.pdf>.
- 2) Yamada K., Tanaka H., Ishimi Y., Umegaki k., Ide R., Food with Health Claims: Current Status and Related Issues. *J Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **70**, 91-99 (2017).
- 3) 内閣府消費者委員会、「健康食品」利用実態調査(平成 24 年)、  
[https://www.cao.go.jp/consumer/doc/20120605\\_chousa\\_houkoku.pdf](https://www.cao.go.jp/consumer/doc/20120605_chousa_houkoku.pdf).
- 4) Kay R.M., Dietary fiber., *J. Lipid Res.*, **23**, 221-242 (1982).
- 5) Watanabe S., Suemaru K., Inoue N., Imai K., Aimoto T., Araki H., Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of drug interaction following oral administration of imipramine and sodium alginate in rats., *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **378**, 85-91 (2008).
- 6) Iwazaki A., Takahashi K., Tamezane Y., Tanaka K., Nakagawa M., Imai K., Nakanishi K., Effect of dietary fiber on the level of free angiotensin II receptor blocker in vitro., *Biol. Pharm. Bull.*, **37**, 779-784 (2014).
- 7) Iwazaki A., Takahashi N., Miyake R., Hiroshima Y., Abe M., Yasui A., Imai K., Effect of dietary fibers on losartan uptake and transport in Caco-2 cells., *Biopharm. Drug Dispos.*, **37**, 212-219 (2016).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Ayano Iwazaki, Kimie Imai	4. 巻 45
2. 論文標題 Effect of Dietary Fiber on the Level of Free Hypoglycemic Agents in Vitro	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1716-1719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b22-00385	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩崎綾乃、大西優斗、大畑紀香、和田涼香、今井公江
2. 発表標題 メトホルミンと食物繊維の相互作用－アルギン酸ナトリウムがCaco-2細胞でのメトホルミン膜輸送に与える影響－
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2022（第30回クリニカルファーマシーシンポジウム）
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------