

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08294

研究課題名（和文）水分保持力を軸にしたムチン機能における腸内細菌叢由来代謝物の関連性

研究課題名（英文）Association of water-retaining mucins with metabolites derived from the intestinal microbiota

研究代表者

市川 尊文（Ichikawa, Takafumi）

北里大学・医療衛生学部・教授

研究者番号：30245378

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：水供給機能を持つムチンと腸内細菌との関係性を解明するため、ムチン分泌が削減されるNSAIDs投与モデルと腸炎が改善するヒスタミンH2受容体拮抗薬H2RA併用により検証したところ、IDM投与でErysipelotrichaceaeが増加し、Clostridialesが減少したが、H2RAを併用によりどちらも回復した。酢酸、プロピオン酸、n-酪酸の糞便レベルは、IDM投与で増加し、同時H2RA投与で減少した。IDM群での糞便のムチンとIgA値は減少し、IDM+H2RA群で回復した。したがって、水分保持力を持ち合わせる粘膜防御ムチンが腸内細菌叢を制御する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで臨床で汎用されてきた止瀉薬（下痢止め）は、管腔内の水分吸収作用を機序とするため、即効性はあるが根本治療にはつながらない。日常的に下痢となる過敏性腸症候群（IBS）のような慢性下痢症に対してこの薬剤は不適であり、精神的ストレスを軽減するのが根本解決といえども現実的ではない。そこで即効性がない反面、一度産生されると一定期間の産生維持と腸内環境改善が期待できるムチンという局面から腸内環境に合わせた水分調節を図る効果的な薬効アプローチをここに提言する。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the relationship between mucin, which has a water-supplying function, and intestinal bacteria, a model of NSAIDs administration that reduces mucin secretion and a histamine H2 receptor antagonist H2RA that improves intestinal inflammation were tested, Clostridiales decreased, but both were restored by concomitant use of H2RA. Fecal levels of acetic acid, propionic acid, and n-butyric acid increased with IDM administration and decreased with concurrent H2RA; fecal mucin and IgA levels decreased in the IDM group and recovered in the IDM+H2RA group. Thus, it is suggested that mucin, a mucosal defense that has the ability to retain water, may regulate the intestinal microbiota.

研究分野：消化器病学

キーワード：ムチン 腸内細菌 NSAIDs 粘膜防御 H2ブロッカー

### 1. 研究開始当初の背景

腸管の内腔は独自の空間として存在し、100兆個もの腸内細菌が生息する腸内生態系(腸内エコシステム)を形成している。つまり、腸管では体内でありながら他生物の影響を受けた上で水分調節を行わなければならない。腸内細菌からは、乳酸、酢酸などの有機酸が大量に産生される。一方でいくつかのアクアポリンは水だけでなく乳酸などの非電荷物質も通過させるため、水移動における代謝物の影響は計り知れない。そこで、腸内細菌によって環境が常に変化する状況下でいかにして粘液機能を発揮しうるかという疑問を提起した。

### 2. 研究の目的

当グループは以前よりアクアポリン AQP3 分子がムチンに水供給する可能性を示唆しており、そのムチンと腸内細菌との関係性を解明するため、粘膜炎を安定的に生じさせることができる NSAIDs 誘導性粘膜炎モデルを使用して、本課題の目的達成を試みた。

### 3. 研究の方法

- 1) モデル動物の作成：ムチン分泌が削減される NSAIDs (インドメタシン；IDM) 投与モデルと腸炎が改善するヒスタミン H2 受容体拮抗薬 H2RA 併用モデルを作成し、腸管および糞便を対象とした検証を行った。
- 2) 生体変動および糞便観察：体重、摂餌量、糞便量を測定し、薬物投与開始後2日目の糞便における肉眼的観察、1糞便あたりの長さ、水分含有量、pHを調べた。
- 3) 腸内細菌叢解析：腸内容物を採取し、T-RFLP法により腸内細菌叢の検出を行った。また糞便中の有機酸含有量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を使用して測定した。
- 4) ムチン防御機構解析：糞便ムチンおよびIgA量を測定した。

### 4. 研究成果

(1) IDM および H2RA の全身への影響を検討するため、各群の体重を経時的に測定した。IDM 群では、投与2日後には投与前と比較して体重が約5.2%減少した。IDM + H2RA 群では、この体重減少が抑制された。さらに、消化管吸収を評価するため各群の摂食量と排便量を比較したところ、摂食量については、IDM 群では摂食量が減少したのに対し、IDM + H2RA 群では回復し、IDM 群での糞便量が63%減少したのに対し、IDM + H2RA 群では減少率は33%に留まった。したがって、IDM の投与は体重、食物摂取量、糞便量の減少という形で身体に影響を与えたが、H2RA 併用によりこれらの結果は改善された(図1)。

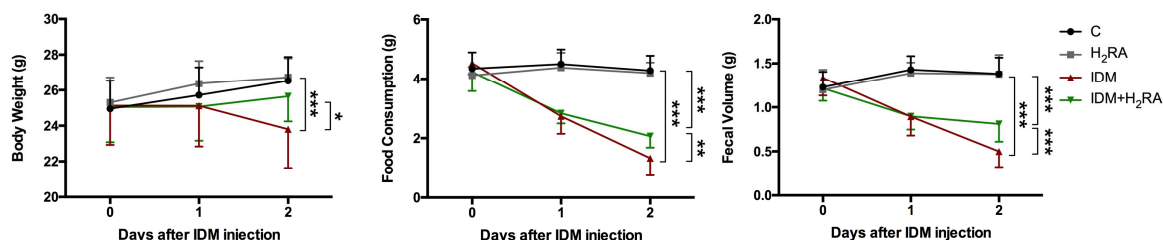
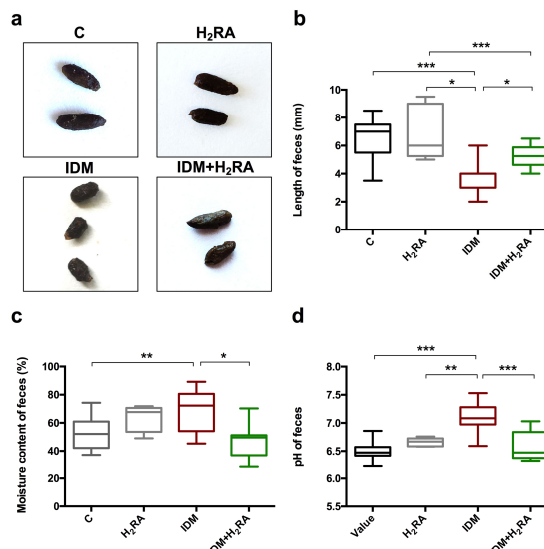


図1：IDM誘発腸粘膜障害モデルに対するH2RA併用での生物学的変化

(2) 糞便の肉眼的観察では、各群間で糞便の色や光沢に特に差はなかった。しかし、糞便形状はIDM群では比較的短く、C群、H2RA群、IDM + H2RA群では同程度の長さであった。糞便水分量はIDM群で上昇したが、IDM + H2RA群では減少した。H2RA単独投与群では、水分量は若干増加したが有意差は認められなかった。糞便pHはC群では6.5付近で弱酸性であったが、IDM群では7.0付近に推移し、IDM + H2RA群ではC群と同程度の弱酸性側に回復した(図2)。

図2：IDM誘発腸粘膜障害モデルに対するH2RA併用での糞便の変化



(3) IDM および H2RA の腸内細菌叢への影響を調べるため、投薬開始 2 日後に採取した糞便サンプルを用いて T-RFLP を行った。各検体から検出されたピークを OTU として、各 OTU の T-RFLP ピークの面積比を算出した。図 3 は推定された *Erysipelotrichaceae* 科 (緑) のピーク面積比について、平均値は C 群で 3.19%、H2RA 群で 3.49%、IDM 群で 14.16%、IDM + H2RA 群で 4.46%であった。つまり、IDM 投与により糞便中の *Erysipelotrichaceae* 科が増加し、H2RA 併用により減少した。また、Clostridiales 目細菌群 (ピンク色) のピーク面積率の推定平均値は、C 群で 35.16%、H2RA 群で 30.94%、IDM 群で 14.69%、IDM+H2RA 群で 24.94%であった。つまり、糞便中のクロストリウム目細菌群は IDM 投与により増加し、H2RA 併用により減少した。

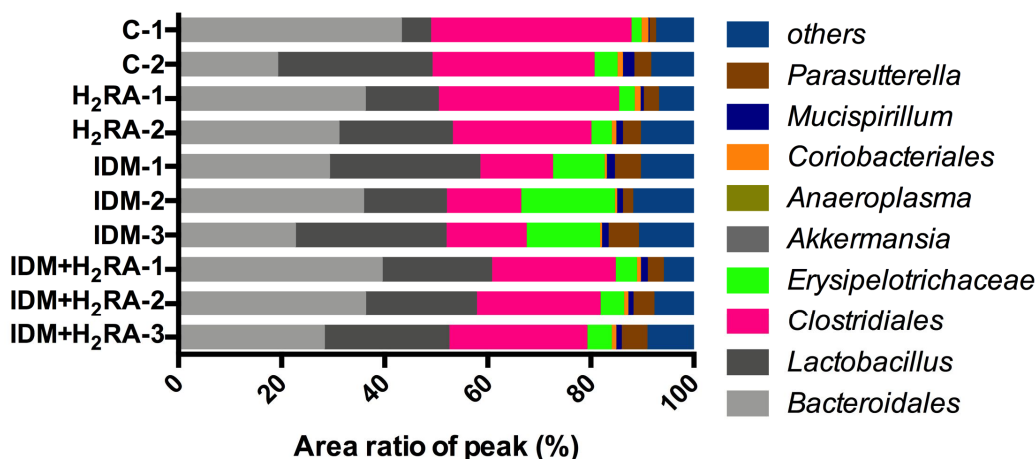
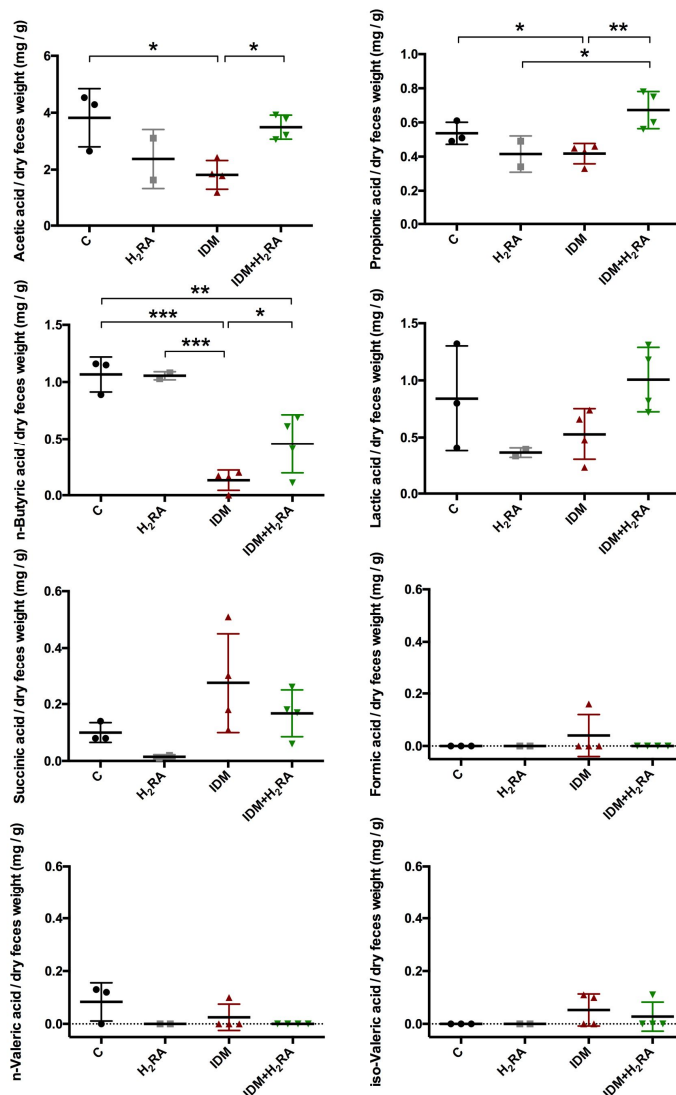


図 3 : IDM 誘発腸粘膜障害モデルに対する H2RA 併用での大腸内容物の腸内細菌叢解析

(4) 腸内細菌叢による腸内環境の変化を検討するため、薬剤投与 2 日目の糞便中有機酸含有量 (酢酸、プロピオン酸、n-酪酸、乳酸、コハク酸、ギ酸、n-吉草酸、イソ吉草酸) を HPLC にて測定した。糞便 1g あたりの平均酢酸含有量は、C 群で 3.82mg、IDM 群で 1.82mg、IDM + H2RA 群で 3.5mg であった。糞便 1g あたりの平均プロピオン酸含有量は、C 群で 0.54mg、IDM 群で 0.42mg、IDM + H2RA 群で 0.67mg であった。糞便 1g あたりの n-酪酸含有量の平均は、C 群で 1.07 mg、IDM 群で 0.13 mg、IDM + H2RA 群で 0.46 mg であった。したがって、糞便中の酢酸、プロピオン酸、n-酪酸の濃度は IDM 投与により増加し、H2RA の同時投与により減少した。糞便中の乳酸濃度は、上記の有機酸と同様の傾向を示したが、有意差は認められなかった。コハク酸、ギ酸、n-吉草酸、イソ吉草酸には変化がなかった (図 4)。

図 4 : IDM 誘発腸粘膜障害モデルに対する H2RA 併用での大腸内容物の有機酸含有量解析



(5) IDM と H2RA の腸管バリア機能に対する効果を調べるため、糞便中ムチンと分泌型 IgA 濃度を測定した。投与 2 日目の糞便 1g あたりのムチンの平均量は、C 群で 850mg、IDM 群で 570mg、IDM+H2RA 群で 957mg であった。糞便 1g あたりの IgA の平均量は、C 群で 1,752ng、IDM 群で 1,600ng、IDM+H2RA 群で 2,202ng であった。したがって、糞便中ムチンと IgA 濃度は IDM 投与により増加し、H2RA の併用により減少したことから、IDM 投与により低下した腸管バリア機能が H2RA の併用により回復したことが示唆された (図 5)。

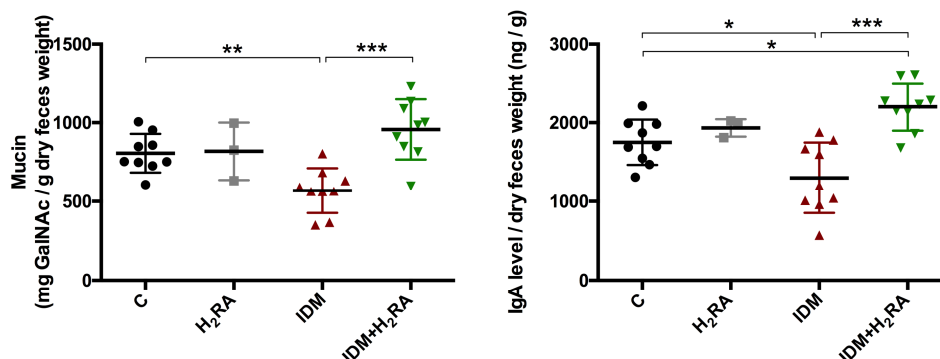


図 5 : IDM 誘発腸粘膜障害モデルに対する H2RA 併用での糞便における粘膜防御因子の解析

NSAIDs 誘発性胃腸炎では腸内微生物の割合が変化し、腸内環境が悪化するが、H2RA を併用することで腸内細菌叢を正常化することができる。

腸内環境を整え健康を維持するためには、病原体や外来抗原を排除するシステムが機能する必要がある。今回の実験では、腸管粘膜障害を誘発すると IDM 群で糞便中のムチンと IgA が減少し、IDM+H2RA 群で回復した。当グループでは、H2RA の 1 つであるラフチジンが粘膜炎を呈する腸管で粘液分泌を促進することを報告しており、NSAID 誘発性粘膜障害において、H2RA の粘膜保護効果の指標としてムチン分泌を検討した。これまでの報告や方法との違いは、試験サンプルとして糞便を用いた点である。予想通り、IDM 投与で減少した糞便中ムチンは H2RA 投与により増加し、粘膜表面への微生物の侵入を防ぐ糞便中 IgA も同様の現象が認められた。これは、H2RA が損傷時に粘膜バリアを強化するのに役立つ可能性があることを示唆している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kawakami Fumitaka, Imai Motoki, Tamaki Shun, Ohta Etsuro, Kawashima Rei, Maekawa Tatsunori, Kurosaki Yoshifumi, Ohba Kenichi, Ichikawa Takafumi	4. 巻 46
2. 論文標題 Nrf2 Expression Is Decreased in LRRK2 Transgenic Mouse Brain and LRRK2 Overexpressing SH-SY5Y Cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 123 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b22-00356	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 -
1. 著者名 Kojima Fumiaki, Sekiya Hiroki, Hioki Yuka, Kashiwagi Hitoshi, Kubo Makoto, Nakamura Masaki, Maehana Shotaro, Imamichi Yoshitaka, Yuhki Koh-ichi, Ushikubi Fumitaka, Kitasato Hidero, Ichikawa Takafumi	4. 巻 42
2. 論文標題 Facilitation of colonic T cell immune responses is associated with an exacerbation of dextran sodium sulfate induced colitis in mice lacking microsomal prostaglandin E synthase-1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 1-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41232-021-00188-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kurosaki Yoshifumi, Imoto Akemi, Kawakami Fumitaka, Ouchi Motoshi, Morita Asuka, Yokoba Masanori, Takenaka Tsuneo, Ichikawa Takafumi, Katagiri Masato, Nielsen Rikke, Ishii Naohito	4. 巻 477
2. 論文標題 In vitro study on effect of bardoxolone methyl on cisplatin-induced cellular senescence in human proximal tubular cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Biochemistry	6. 最初と最後の頁 689-699
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11010-021-04295-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawashima Rei, Tamaki Shun, Kawakami Fumitaka, Maekawa Tatsunori, Ichikawa Takafumi	4. 巻 21
2. 論文標題 Histamine H2-Receptor Antagonists Improve Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Intestinal Dysbiosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21218166	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 -

1. 著者名 Katada Chikatoshi, Fukazawa Saeko, Sugawara Mitsuhiro, Sakamoto Yasutoshi, Takahashi Kaoru, Takahashi Akiko, Watanabe Akinori, Wada Takuya, Ishido Kenji, Furue Yasuaki, Harada Hiroki, Hosoda Kei, Yamashita Keishi, Hiki Naoki, Sato Teruko, Ichikawa Takafumi, Shichiri Masayoshi, Tanabe Satoshi, Koizumi Wasaburo	4. 巻 18
2. 論文標題 Randomized study of prevention of gastrointestinal toxicities by nutritional support using an amino acid-rich elemental diet during chemotherapy in patients with esophageal cancer (KDOG 1101)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Esophagus	6. 最初と最後の頁 296 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10388-020-00787-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imai Motoki, Kawakami Fumitaka, Kubo Makoto, Kanzaki Makoto, Maruyama Hiroko, Kawashima Rei, Maekawa Tatsunori, Kurosaki Yoshifumi, Kojima Fumiaki, Ichikawa Takafumi	4. 巻 43
2. 論文標題 LRRK2 Inhibition Ameliorates Dexamethasone-Induced Glucose Intolerance via Prevents Impairment in GLUT4 Membrane Translocation in Adipocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1660 ~ 1668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00377	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawashima Rei, Tamaki Shun, Kawakami Fumitaka, Maekawa Tatsunori, Koizumi Wasaburo, Ichikawa Takafumi	4. 巻 50
2. 論文標題 Altered expression of amino acid transporter LATs of intestinal cells in 5-fluorouracil-induced intestinal mucosal inflammation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Kitasato Medical Journal	6. 最初と最後の頁 86 ~ 99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Tsubokawa D., Satoh M., Kawakami F., Kawashima R., Ichikawa T.
2. 発表標題 eceptor for advanced glycation products (RAGE) contributes to negative regulation of type 2 mucosal immunity to the intestinal nematode Nippostrongylus brasiliensis infection.
3. 学会等名 The 25th International Congress of Parasitology ICOPA2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢持光理, 前川達則, 玉木竣, 川島麗, 川上文貴, 市川尊文
2. 発表標題 腸管神経系におけるタウリンの生理作用の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 太田成海, 前川達則, 玉木竣, 川上文貴, 川島麗, 市川尊文
2. 発表標題 腸管神経系における シヌクレインの局在解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大久保裕可里, 川島麗, 玉木竣, 川上文貴, 前川達則, 市川尊文
2. 発表標題 放射線誘導性消化管傷害におけるヒスタミンH2受容体拮抗作用による粘膜防御
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川島麗, 玉木竣, 前川達則, 川上文貴, 三澤乃々佳, 大久保裕可里, 植松檀, 矢持光理, 太田成海, 栗原誠, 市川尊文
2. 発表標題 腸炎におけるヒスタミンH2受容体拮抗による腸内フローラバランスの正常化
3. 学会等名 第95回日本生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川上文貴, 石川勇太, 玉木竣, 川島麗, 前川達則, 大場謙一, 市川尊文
2. 発表標題 DSS腸炎モデルマウスを用いたIBD疾患感受性遺伝子LRRK2の腸炎における役割解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Daigo Tsubokawa, Masashi Satoh, Fumitaka Kawakami, Rei Kawashima and Takafumi Ichikawa
2. 発表標題 Receptor for advanced glycation products (RAGE) contributes to negative regulation of type 2 mucosal immunity to the intestinal nematode <i>Nippostrongylus brasiliensis</i>
3. 学会等名 ICOPA2022
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishii N, Carmines PK, Kurosaki Y, Imoto A, Takahashi H, Ikenaga H, Taro S, Yokoba M, Ichikawa T, Takenaka T, Katagiri M.
2. 発表標題 Mitophagy-related renal and proximal tubular protection during the normoalbuminuric stage of diabetes mellitus.
3. 学会等名 Kidney Week 2021 American Society of Nephrology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井直仁、黒崎祥史、井本明美、高橋博之、池永秀樹、土筆智晶、小幡 進、鈴木英明、横場正典、市川尊文、竹中恒夫、片桐真人
2. 発表標題 腎症発症前糖尿病ラットにおける近位尿細管のマイトファジー誘導による腎機能保護について
3. 学会等名 第 61 回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 川島麗, 玉木竣, 前川達則, 川上文貴, 市川尊文
2. 発表標題 NSAIDs誘発性腸管粘膜傷害におけるヒスタミンH2受容体拮抗を介した腸内細菌叢の改善効果
3. 学会等名 第44回分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前川達則, 森谷大地, 川島麗, 川上文貴, 市川尊文
2. 発表標題 Leucine-rich repeat kinase 2 regulates the acquisition of bi-phenotype in enteric neurons
3. 学会等名 第44回分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坪川大悟, 佐藤雅, 川上文貴, 川島麗, 市川尊文
2. 発表標題 Nippostrongylus brasiliensis 感染感受性における終末糖化産物受容体の役割
3. 学会等名 第91回寄生虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井基貴, 川上文貴, 川島麗, 前川達則, 神崎展, 市川尊文
2. 発表標題 Dexamethasone誘導性糖代謝異常におけるLRRK2の生理的役割
3. 学会等名 第39回Cytoprotection研究会
4. 発表年 2021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
研究 分担者	川島 麗  (Kawashima Rei)  (70392389)	北里大学・医療衛生学部・准教授   (32607)	
研究 分担者	河村 由紀  (Kawamura Yuki)  (10392391)	国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局 等・消化器病態生理研究室長   (82610)	

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