

令和元年6月17日現在

機関番号：33403

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2018

課題番号：15K12350

研究課題名(和文)腸管膜粘液分泌に関わる排便機構の解明：CFTR遺伝子多型と慢性機能性便秘との関連

研究課題名(英文) Defecation Mechanism Involving Mucus Secretion in the Intestinal Membrane:  
Association between CFTR Gene Polymorphism and Chronic Functional Constipation

研究代表者

浦本 裕美 (Uramoto, Hiromi)

仁愛大学・人間生活学部・教授

研究者番号：50390696

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、便秘に影響する遺伝的要因として、腸管内への水分等の分泌にかかわるCFTRに着目し、その関連性について検討した。個々の人がもつCFTRの機能は汗中塩分濃度に反映され、被験者全員の平均は50mMで100%機能している場合の30mMよりやや高く、殆どの人に機能低下がみられた。46mM未満と以上で被験者を分類し検討した結果、46mM以上のCFTR機能低下群でのみ、日常の食事・生活要因を考慮した補正便秘症状スコアと汗中塩分濃度との間に正の相関関係があり、また、CFTR活性化成分を含む食品摂取の影響に改善効果が認められ、個々のCFTR機能が影響する便秘があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果より、便秘のなり易さの遺伝的要因として個々の人におけるCFTR機能の影響があることが示唆された。これまで便秘に対する食品摂取の影響は、便秘症状のある人を分類することなく評価されてきていたが、便秘症状を引き起こす個々の人側の要因を考慮し便秘者を分類し解析することで食品摂取の影響をより明確にすることができ、エビデンスレベルの向上に役立つと考えられた。

また、日常的な食事に利用される程度の該当食品の摂取量で、効果が得られる量のCFTRチャネル活性成分の摂取ができることから、容易に活用でき、より多くの人の便秘による不快症状の解消と日常生活のQOLの向上に役立つものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) is involved in fluid secretion into the gastrointestinal tract. This study focused on CFTR as a genetic factor influencing constipation(CON) and examined the association between CFTR and CON. The CFTR function of an individual is reflected in the salt concentration in sweat; the mean sweat salt concentration (SSC) in all subjects in this study was 50 mM, which was slightly higher than 30 mM that is expected when CFTR is fully functional. Most subjects exhibited a decline in the CFTR function. When the subjects were divided into two groups according to SSCs with a threshold of 46 mM, a positive correlation was observed between the CON symptom scores adjusted for daily dietary/lifestyle factors and the SSCs only in the group with decreased CFTR function. In this group, CON was improved by consuming foodstuff containing CFTR-activating components. These findings suggest that CFTR function is involved in some cases of CON.

研究分野：食品機能学

キーワード：CFTR 便秘 遺伝的要因 食品摂取

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) クロライドイオンチャネルの研究は、その機能不全から発症する嚢胞性線維症 (CF) がコーカサス人 (白人) で高頻度に見られることから欧米で盛んに行われてきている。重篤な症状をもつ CF 白人患者で見られる遺伝子変異をもつ日本人は確認されていないが、日本人には白人で確認されていない変異・多型が多く、健常者でも CFTR 遺伝子多型の保有者が多数おり、健常な日本人におけるそのチャネル機能は 50 ~ 70% の範囲にあることが報告されている (石黒ら、2006、Fujiki et al. 2004)。一方、2012 年に厚生労働省が承認した慢性機能性便秘の新治療薬ルビプロストンは、便秘症者の腸管腔内へのクロライドイオンと水分の分泌を促し快便に導くのだが、その際 CFTR クロライドイオンチャネルの活性が必要であることが報告されている (Bijveldts J. C. M. et al. 2009)。以上のことから、健常者でも CFTR 遺伝子多型による機能低下から慢性機能性便秘が誘導されやすくなっていることが考えられる。また、CFTR は食品に含まれる成分のゲニステインやクルクミンによって活性化されることがわかっていることから、CFTR クロライドイオンチャネル活性成分を含む食品摂取は便秘を改善できると推測され興味もたれた。

### 2. 研究の目的

慢性機能性便秘 (以下、便秘) の発症は、食物繊維摂取量不足などの偏った食事、生活習慣の乱れ、様々なストレス等が関与していると考えられている。しかし、それらを正しても症状が改善されない場合があり、その原因の一つとして個々の遺伝的背景の関与が考えられる。本研究は、2012 年に日本で承認された便秘症新治療薬の作用メカニズムが腸液分泌に關与するクロライドイオンチャネル活性であることから、腸液分泌に關与するクロライドイオンチャネルの一つである CFTR クロライドイオンチャネルに着目した。日本人に多い CFTR 遺伝子多型がそのチャネル機能や発現量の低下を引き起こし便秘の発症に關与していると考え、そのチャネル機能と便秘症状との関連、活性化成分を含む食品摂取の影響および CFTR 遺伝子多型と便秘との連関について解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 慢性機能性便秘者の選抜

大学生 (1 年生・2 年生) 約 160 名を調査対象とし、本研究の趣旨および調査方法についての説明を事前に十分に行い、書面による同意を得た上で、Rome 3 による便秘の有無の判断 (便秘者の選抜) 生活習慣調査および食物摂取状況調査を行った。得られたデータはマイクロソフト社製エクセルと統計解析ソフト SPSS を用いて解析した。選抜された対象者の中から研究協力への同意が得られた人を被験者とした。

#### (2) 汗中クロライドイオン濃度の測定

CFTR クロライドイオンチャネルのチャネル機能が低下すると、分泌前の汗中クロライドイオンの再吸収が行われなくなり分泌汗中のクロライドイオン濃度が高くなることが分かっており、嚢胞性線維症患者の診断に利用されている。また、日本で見られる CFTR 多型遺伝子をもつ人においても汗中クロライドイオン濃度が正常者より高い人がいることが確認されている。よって、本研究においても CFTR 多型の存在および CFTR チャネル機能の程度を判断する指標として被験者 (48 名: 便秘者 24 名と非便秘者 (コントロール群として) 24 名) の汗中クロライドイオン濃度を調べた。汗中のクロライドイオン濃度が高いと機能低下を意味する。

#### (3) CFTR チャネル機能亢進効果をもつ成分を含む食品摂取による排便促進効果についての検討

(2) と同じ被験者に次の試験を行った。また、食物アレルギーの有無を確認し、アレルギーを有するものを除き実験を行った。被験者に CFTR チャネル機能亢進作用を示すことが分かっている食品成分 (a. a-1 ゲニステイン、a-2 クルクミン) を含む食品として前者はテンペ、後者はターメリック、およびこれまでに便秘を改善することが分かっている食品成分 (b. 食物繊維) を含む食品を 5 日間連続摂取 / 1 週間と摂取しない 1 週間の合わせて 2 週間を 1 セットとし摂取実験を行い、排便を促すことができるかを確認した。摂取実験の試験食は、a-1 あるいは a-2 の食品成分、b 食物繊維、a・b を含む食品、コントロール食 (インスタントスープ、~ は に溶かしたもの) とした。~ の摂取順が結果に影響しないよう ~ の摂取ができるだけ同条件になるように、便秘群と非便秘群の各 24 名を 8 群に分け、4 通りの摂取順で試験を行った。効果の判定は、排便に関するアンケート (排便時間、排便回数、排便量、便の形状、不快感の有無等を回答) 用紙を 2 週間分毎に配布して、実験開始前 2 週間と実験期間中に毎日記録してもらい、その結果をコントロール食摂取期間の結果と比較し効果の有無を検討した。

なお、本試験の実施経過中、被験者の健康状態を常に確認しながら行い、試験終了時に医師との対面により健康状態の確認を行った。なお、本実験 (1) ~ (3) は、仁愛大学研究倫理委員会に承認 (平成 27 年度承認番号 1) を得て行った。

#### (4) 便秘症状と汗中塩分濃度からみた CFTR クロライドイオンチャネル機能との関係

被験者は、研究の主旨に同意が得られた 61 人の 20 ~ 80 歳代の女性 (20 代は (3) の被験者の

中から同意が得られた人)である。CFTR クロライドイオンチャネル機能の指標として安静時の汗中の塩分濃度を測定した。便秘の判定と便秘症状のスコア化は、Rome 3 の診断基準に基づくアンケート調査の結果をもとにして行なった。また、日常感じている便秘症状に影響している食事・生活面での要因を検討するため、食事・生活についてのアンケートを実施し、便秘症状に影響していると判断された項目への各々の回答をもとに便秘症状スコアの補正を試み、汗中塩分濃度と便秘症状スコアあるいは補正した便秘症状スコアとの相関関係を検討した。なお、本研究は、仁愛大学研究倫理委員会に承認(平成 29 年度承認番号 1)を得て行った。

#### (5)被験者の CFTR 遺伝子多型の解析

CFTR 遺伝子解析実験の趣旨と内容(含む、個々の CFTR 遺伝子解析を行う旨)を伝え、承諾が得られた者についてのみ被験者とした。被験者の口腔細胞を実験試料として、ゲノム DNA の抽出・精製、必要領域の PCR を行い塩基配列解析用の試料を調製した。M470V 変異は PCR-RELP 法で調べ、Poly-T と TG-repeats はイントロン 8 とエクソン 9 の境界部の塩基配列をシークエンサーで分析し調べた。なお、本実験は、仁愛大学遺伝子組換え実験安全委員会の承認(平成 28 年度承認番号 実 28-02)及び、仁愛大学研究倫理委員会の承認(平成 28 年度受付番号 4-)を得て行った。

### 4. 研究成果

#### (1)CFTR チャネル活性作用をもつ成分摂取の便秘改善効果

被験者の総食物繊維摂取量は非常に少なく便秘群 8.0g、非便秘群 9.4g で、日本人の摂取基準(女性:1日 18g 以上)の約半分程度の量であった。CFTR チャネル活性作用をもつ成分摂取の影響は、Rome 3 で分類した便秘群および非便秘群で見ると、個人差が大きく明らかな効果を確認できなかった。しかし、乳酸菌等の生菌を含む食品の習慣的摂取の有無で更に群を分けて検討したところ、前述のとおり摂取量が足りていない食物繊維を補った試験食、即ち、テンペと食物繊維、ターメリックと食物繊維の併用摂取は、便秘群では全ての不快症状を改善する傾向がみられた。しかし、被験者数が少なかったためその真偽については今後更に検討する必要がある。

#### (2)便秘症状と汗中塩分濃度からみた CFTR クロライドイオンチャネル機能との関係

被験者全員の汗中塩分濃度の平均値は 39mM、中央値は 47mM、最小値 20mM、最大値 96mM で、被験者の約 70%が 31~60mM の範囲に集中しており、正常値(CFTR が 100%機能)の 30mM 未満は 4 人(6.5%)であった。日常の食事・生活についてのアンケート結果の解析から便秘に影響していることが認められた要因は、乳酸菌の習慣的摂取、睡眠時間、起床時間、便意があるときに排便を済ませる等で、これら要因を考慮して補正した便秘症状スコアと汗中塩分濃度との相関関係を調べたところ、CFTR 機能がやや劣っている汗中塩分濃度の高い(46mM 以上)群で相関関係が認められ、CFTR 機能の便秘発症への関与が示唆された。一方、全体、Rome 3 の診断基準にもとづく便秘・非便秘群および汗中塩分濃度の低い(46mM 未満)群ではまったく相関性が認められなかった。これらのことから、便秘症状を軽減する方法を考える時、便秘症状をもつ人を汗中塩分濃度など便秘発症に影響している要因を考慮して分類し検討する必要があると考えられた。

#### (3)CFTR チャネル活性化成分を含む食品摂取による便秘症状改善に及ぼす CFTR 機能の影響

CFTR チャネル活性能をもつ成分摂取後の便秘症状への CFTR 機能の影響についての検討は、方法(3)の結果を解析し直して行った。なお、被験者は、コントロール食の実験期間に便秘症状を訴えた者のみ(有訴者 n=20)で検討した。被験者を全体および便秘・非便秘、汗中塩分濃度 46mM 未満・46mM 以上で分類し検討した結果、汗中塩分濃度 46mM 以上の CFTR 機能低下群(n=12)のみが、テンペとターメリックを含むスープ摂取のいずれにおいても改善効果を示し、CFTR 機能低下者で CFTR 活性化成分を含む食品摂取の便秘改善効果が得られやすいことが示唆された。今回の実験では、摂取期間が 5 日間と比較的短期間であったことも影響している可能性があるため、今後、長期間摂取での影響も検討する必要があると考えられた。

#### (4)遺伝子変異解析

これまでの被験者 61 名の CFTR 遺伝子多型を解析し便秘との関係を検討した。日本人に認められる遺伝子多型として CFTR 機能に影響する M470V と、イントロン 8 とエクソン 9 の境界部にある Poly-T と TG-repeats について調べたが、Poly-T と TG-repeats の解析がまだ十分ではないので、ここでは、M470V の結果について報告する。V470 をもつ CFTR は M470 をもつものよりチャネル活性が低いことがわかっている。結果は、全体では M/M、M/V、V/V がそれぞれ 19.7%、54.1%、26.2%となり、Fujiki ら(J Med Genet 2004)の健常者での結果の 15%、51%、35%と大きな違いはなかった。汗中塩分濃度 46mM 未満(28 名)と 46mM 以上(32 名)の群では、前者は 25%、50%、25%、後者は 15.6%、59.4%、25.0%となりいずれも似た傾向で有意差はなかった。更に、ROME3 の診断を参考に便秘群に分類した人を汗中塩分濃度 46mM 未満(14 名)と 46mM 以上(23 名)についてみると、前者は 28.6%、28.6%、42.9%、後者は 21.7%、52.2%、26.1%となり、汗中塩分濃度 46mM 未満者では異なった分布を示したが、被験者数が非常に少なく例数

を増やして調べる必要がある。今回の解析結果だけでは、CFTR 機能と便秘との関連性を明らかにすることはできなかった。

以上から、汗中塩分濃度からみた CFTR チャネル機能と便秘症状、および、CFTR チャネル機能と CFTR チャネル活性化成分を含む食品摂取の便秘症状への影響にそれぞれ関連性が示され、便秘のなり易さに影響する遺伝的要因の一つとして個々の人の CFTR 機能があると示唆された。しかし、CFTR 遺伝子変異と便秘との関連性については、十分に研究を進めることができなかった。今後更に検討する必要がある。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

浦本裕美、高坂裕里、永淵 結、新田 萌、野村利華、築山園美、川端さやか、小林智未、山崎友維、水口富晶、白崎久美子 CFTR チャネル活性化成分を含む食品摂取による便秘症状改善に及ぼす CFTR 機能の影響 第 73 回日本栄養・食糧学会 (2019 年)

浦本裕美、小柳弥歩、片岡優貴乃、末廣 和、灰谷優希、水嶋侑未香、駒見佳歩、水口富晶、白崎久美子、北野利紗 便秘症状と汗中塩分濃度からみた CFTR クロライドイオンチャネル機能との関係 第 72 回日本栄養・食糧学会 (2018 年)

浦本裕美、白崎久美子 CFTR チャネル活性化成分摂取の便秘改善効果におよぼす食物繊維及び水分摂取量の影響 第 64 回日本栄養改善学会 (2017 年)

浦本裕美、高坂裕里、永淵 結、新田 萌、野村利華、加藤卓司 CFTR チャネル活性化作用をもつ成分摂取の便秘改善効果について 第 70 回日本栄養・食糧学会 (2016 年)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：赤塚 結子

ローマ字氏名：Yuko Akatsuka

所属研究機関名：鈴鹿医療科学大学

部局名：薬学部

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 90321611

(2)研究協力者

研究協力者氏名：加藤 卓司

ローマ字氏名：Takuji Kato

研究協力者氏名：水口 富晶

ローマ字氏名：Toaki Mizuguti

研究協力者氏名：白崎 久美子

ローマ字氏名：Kumiko Shirosaki

研究協力者氏名：北野 利紗

ローマ字氏名：Risa Kitano

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。