

令和 2 年 5 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08414

研究課題名(和文)セロトニン異常による薬物消化管吸収挙動の変動機構解析

研究課題名(英文) Analysis of changes in intestinal drug absorption behavior caused by metabolic disorder of serotonin

研究代表者

檜垣 和孝 (Higaki, Kazutaka)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：60284080

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：5-HT代謝異常モデルラットを用い、体内および小腸組織中の高い5-HTレベルが及ぼす薬物吸収への影響を検討した。その結果、経細胞経路を介した受動拡散には変化がないことが、一方、細胞間隙経路を介した受動拡散は有意に亢進していることが明らかとなった。Cephalexinの経口投与後のAUCが有意に増大したことから吸収増大の可能性が示された。そこで単離小腸粘膜を用いて膜透過性を評価したところ、回腸では有意な増大が見られたが、これは受動拡散の亢進によるものであり、PEPT1の寄与は有意ではなかった。空腸においては受動拡散の亢進とともに、PEPT1を介した透過の有意な減少が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの重篤な消化器疾患では5-HT代謝異常を含むENSの機能異常が深く関わっていると考えられている。一方で5-HT代謝異常時における薬物吸収挙動に関する情報はほとんどない。本研究で得られた成果は5-HT異常時に細胞間隙経路を介した薬物吸収、PEPT1を介した薬物吸収が変動する可能性を示唆することに成功しており引き続きの研究遂行により5-HTが関与する消化器系疾患時における有効かつ安全な薬物治療を行うための投与設計立案に結び付くものと考えられる。ENSによる薬物吸収制御に関する検討は依然として極めて少なく学問的に有意義であるばかりでなく病態時における吸収特性の変化を理解するために重要な知見と考える。

研究成果の概要(英文)：Utilizing 5-HT syndrome rats, the effects of excessive level of 5-HT in the body and small intestine on the drug absorption from the small intestine have been investigated. As for the drug absorption via passive diffusion, the drug transport through transcellular route via passive diffusion was not changed at all for antipyrine. On the other hand, the drug transport through paracellular route via passive diffusion was significantly enhanced for FITC-dextran. As for the drug absorption via PEPT1, AUC of cephalaxin after oral administration was significantly enhanced, suggesting the enhancement of its absorption. The transport study utilizing an isolated sheet of small intestine indicated that the activity of PEPT1 in jejunum was significantly decreased and that the transport via passive diffusion was enhanced in both jejunum and ileum.

研究分野：生物薬剤学

キーワード：腸神経系 セロトニン代謝異常 消化管吸収 経細胞経路 細胞間隙経路 水溶性高分子 PEPT1 Cephalexin

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬物の吸収を担う小腸は、その運動及び機能を、中枢神経系(CNS)とは独立した自律神経系である腸神経系(ENS)によって、主として支配されている。ENSによる小腸運動性、水や電解質の吸収制御に関しては多くの研究がなされているが、薬物吸収に及ぼすENSの影響についての検討例は、依然として極めて少ない。また、セロトニン(5-HT)は、その体内における分布量の90%が小腸に集中しており、消化管ホルモンとして、また神経伝達物質として、消化管の運動・機能に重要な働きをしていると考えられている。5-HTの消化管生理、病態生理における役割は、5-HT受容体に非常に多くのサブタイプが存在し、かつ多岐にわたる作用を示すことから、未だ解明途上にあり、消化管粘膜及びENSの成長と維持における5-HTの役割の解明に注目が集まっている。近年では、種々の重篤な消化管疾患に、5-HT異常の関与が指摘されており、小腸の正常な機能維持におけるENS、5-HTの重要性が改めて注目されている。一方で、その薬物吸収への影響に関する情報は、国の内外を問わず、ほとんど無い状況であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ENSにおいて重要な役割を担っており、種々の消化管疾患との関わりが指摘されている5-HTに着目し、5-HT異常時における薬物吸収挙動の変化とその機構を明らかにすることで、より有効な薬物治療を行うための論理的な投与設計の立案を目指すことである。具体的には、既に作製に成功している、体内および小腸粘膜内5-HT含量の高い5-HT代謝異常モデルラットを用いて、5-HT代謝異常時における薬物吸収、特に受動拡散を介して吸収される低分子、高分子薬物の吸収と、抗生物質をはじめとした多くの薬物の吸収に関与しているPEPT1を介して吸収される薬物について、吸収挙動の変動を明らかにすると共にその機構解析を目指した。

3. 研究の方法

5-HT代謝異常モデルラットの作製は、5-HTの代謝酵素 monoamine oxidase A (MAO-A)を clorgyline により阻害 (clorgyline 2 mg/kg/day + 5-HT 5 mg/kg/day; 4日間腹腔内投与) することで行った。同モデルラットを用いて、薬物の経口投与と実験、単離小腸粘膜を用いた透過実験、電気的膜抵抗値測定などを通じ、薬物の吸収性変化、その機構解明を試みた。受動拡散により吸収される低分子薬物として antipyrine を、高分子のモデル薬物として FITC-dextran 4 (分子量 約 4000) を、PEPT1 により吸収される薬物として cephalixin を用いて、種々、検討を行った。

4. 研究成果

既に5-HTの代謝酵素 monoamine oxidase A を clorgyline により阻害することで体内、および小腸粘膜内5-HT含量の高い5-HT代謝異常モデルラットの作製に成功している。本研究では、同モデルラットを用いて、高5-HTレベルが、様々な吸収特性を持つ薬物の吸収性にどのような変化を及ぼすかを明らかにすることを目的に、種々、検討した。まず、5-HT代謝異常モデルラットから単離した小腸粘膜を用い、受動拡散により吸収

される薬物について粘膜透過性を評価した。経細胞経路を介した吸収変動の可能性については、主として経細胞経路を介して吸収されると考えられている antipyrine を用いて膜透過性を検討した。その結果、空腸、回腸、いずれの部位においても対照群との間に差は認められなかったことから、経細胞経路を介した薬物吸収には変動はないものと考えられた。一方、細胞間隙経路を介した吸収変動の可能性については、主として細胞間隙経路を介して吸収されると考えられている水溶性高分子 FITC-dextran 4 (FD-4, 分子量約 4000) を用いて検討した。その結果、空腸、回腸、いずれの部位においても FD-4 の透過が有意の亢進することが明らかとなった。また、同様に単離した小腸粘膜を用いて膜抵抗値を測定したところ、空腸、回腸、いずれの部位においても低下傾向が認められた。このことから、5-HT 代謝異常ラットの小腸粘膜では、tight junction 構造の変化により、細胞間隙経路を介した高分子の吸収が増大することが明らかとなった。

更に、PEPT1 を介して吸収されることが知られている Cephalexin の吸収に及ぼす高 5-HT レベル影響について、種々、検討を行った。その結果、Cephalexin を経口投与した後の血漿中濃度の AUC は、5-HT 代謝異常ラットにおいて、対照群の約 1.5 倍と有意に増加することが明らかとなった。小腸からの吸収が増大している可能性が示唆されたので、次に単離粘膜を用いて Cephalexin の膜透過性について検討を加えた。その結果、空腸では有意な変化が見られなかったが、回腸においては有意な膜透過性の亢進が認められた。部位による差異の原因は明らかではないが、回腸において認められた膜透過性の亢進が、経口投与後の AUC の増加につながったものと考えられた。また、膜抵抗値も測定したが、いずれの部位でも、対照群に比して、有意に低下していることが確認された。このことから、まずは、Cephalexin の細胞間隙経路を介した透過が亢進している可能性が考えられた。そこで引き続き、Cephalexin の吸収増大、膜透過性亢進の機構解明を目的とし、ラット小腸における Cephalexin の透過機構に関して、単離小腸粘膜を用いて検討を行った。回腸においては、細胞間隙経路を介した受動拡散による透過亢進が示唆され、空腸では有意な変動がないとの示唆を得ていたが、PEPT1 の基質である Glycyl-Sarcosine (Gly-Sar) を共存させることで PEPT1 を介した Cephalexin の透過を阻害し、膜透過における受動拡散と PEPT1 の寄与を分離評価することで Cephalexin の吸収性変動を正確に評価することを試みた。その結果、5-HT 代謝異常ラットにおいて Cephalexin の総透過量に差が見られなかった空腸においては、Gly-Sar による透過阻害効果は小さく、統計的には有意な変化ではなかった。一方で、対照群では、Gly-Sar による有意かつ顕著な阻害が見られ、5-HT 代謝異常ラットと比しても有意に低い透過性を示した。このことは、5-HT 代謝異常ラットにおいて、空腸では、PEPT1 の寄与は減少し、受動拡散による透過が増加していることを示唆するものであった。このことは、同時に 5-HT 代謝異常時において PEPT1 活性が減弱していることを示唆するものであった。一方、回腸では、対照群、5-HT 代謝異常群、いずれも Gly-Sar による透過低下はわずかであり、統計的に有意なものではなかった。5-HT 代謝異常群における Cephalexin 透過に対する PEPT1 の寄与も小さいものであり、5-HT 代謝異常群における Cephalexin の透過亢進は、細胞間隙経路の拡大に伴う受動拡散の亢進によるものであることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 坂口 真菜
2. 発表標題 Paracellular routeを介した薬物透過性に及ぼすセロトニンの影響に関する基礎的研究
3. 学会等名 日本薬剤学会 第32年会
4. 発表年 2018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	大河原 賢一 (Ogawara Ken-ichi) (30291470)	神戸薬科大学・薬学部・教授 (34512)	