

令和 3 年 4 月 26 日現在

機関番号：82690

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K10985

研究課題名(和文) 腸内細菌叢とその代謝産物に着目した薬剤誘発性消化管傷害の予防法開発

研究課題名(英文) Dietary factors modulate the intestinal mucosal injury induced by methotrexate.

研究代表者

岡 笑美 (OKA, SHOMI)

独立行政法人国立病院機構東京病院(臨床研究部)・臨床研究部・研究員

研究者番号：60744191

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)：食餌・肥満が薬物動態に影響を及ぼしている可能性は古くから指摘されているが、十分な検証は行われていない。この研究では、次世代シーケンサーで腸内細菌叢を解析すると同時にメタボローム解析を行うことで、メトトレキサートによる薬剤誘発性消化管傷害を防ぐ腸内細菌群と代謝産物を探索・決定する。腸内細菌叢解析とメタボローム解析の結果では、大豆由来蛋白質給餌群と通常食給餌群に類似性が認められた。しかし、単独の腸内細菌や代謝産物は同定されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内細菌叢解析とメタボローム解析の結果から、食餌による腸内細菌叢・腸内代謝産物などの腸内環境の変化がメトトレキサートによる消化管傷害増強に関与していることが示唆された。メトトレキサートの消化管傷害を防ぐことが可能な単独の腸内細菌や代謝産物は同定されなかったが、このことは、複合的な腸内細菌群や代謝産物群がメトトレキサートの消化管傷害を防いでいることを示唆している。この研究成果から、メトトレキサートによる消化管傷害の発症には複雑な要因が関わっていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Animal models of methotrexate (MTX)-induced intestinal mucosal injury were developed to represent the gastrointestinal disorder by MTX. We tried to reveal how dietary factors influence the intestinal toxicity of MTX. Microbiome and metabolome analyses on the feces samples suggested the similarity of the intestinal environments of the mice fed with normal chow and high fat high sucrose diet modified in which casein was replaced by soybean derived proteins. High fat high sucrose diet could modify the toxicity of MTX on intestinal epithelia due to the altered MTX distribution by the composite change of the intestinal environments.

研究分野：健康科学

キーワード：病因・病態 メトトレキサート 腸上皮傷害 腸内細菌 メタボローム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチは女性に多い全身性の炎症性疾患で、関節の破壊を引き起こすが、近年の関節リウマチ治療は種々の新規治療薬により格段の進歩をみせており、関節破壊抑制に有効な結果が得られている。これらの治療薬による有害事象は高齢女性に多く、生命予後や治療継続に重大な影響を及ぼしうるものがあるにもかかわらず、その発症機序の解明や治療法・予防法の確立は不十分である。薬剤応答性に関する研究が相次いでいるが、薬剤有害事象の防御要因についての報告は少ない。

メトトレキサート(MTX)は最もよく処方されている抗リウマチ薬であるが、高頻度に薬剤誘発性消化管傷害をきたすため、減量・中止を余儀なくされることが多い。食餌・肥満がMTXの薬物動態を変化させ、有害事象発症に関与している可能性が疑われているにもかかわらず、確かな結論は得られていない。食餌がMTXの薬物動態に影響を及ぼしている可能性は古くから指摘されているが、十分な検証は行われていない。関節リウマチや乾癬ではMTXによる有害事象が多く、肥満が有害事象の危険因子だとする疫学研究も散見される。

MTX誘発性消化管傷害動物モデルで、成分栄養剤を給餌すると消化管傷害が増悪することが報告されているが、どの成分がMTX誘発性消化管傷害の増悪を引き起こしているかは、報告によりまちまちである。MTX誘発性消化管傷害モデルでは、経口抗生物質カクテルにより腸内細菌叢を一掃すると、消化管傷害が増悪する。成分栄養剤による胆汁中MTX濃度の上昇も報告されており、MTXの腸からの再吸収が増えていると推測されている。腸内細菌の産生する代謝産物が、太りやすさ・細菌感染感受性・自己免疫性大腸炎感受性・インクレチン分泌能・大腸癌発症等に影響を与えている可能性が明らかになりつつある。このようにMTX誘発性消化管傷害モデルでは、食餌による腸内細菌叢の変化がその代謝産物を介して薬物動態に影響を与え、有害事象発症に関与していることが疑われている。現在、MTXによる薬剤誘発性消化管傷害の発症予測・予防はできない。MTXに関連する薬剤有害事象に影響を及ぼす食餌、腸内細菌、代謝物を明らかにすることができれば、プレバイオティクス・プロバイオティクス・ポストバイオティクスなどによる薬剤誘発性消化管傷害発症の予防法の開発につながる。さらに、他の薬剤誘発性消化管傷害を防ぐ為に役立つ情報もたらされる。

食餌等がMTXの薬物動態に影響を及ぼしている可能性は古くから指摘されているが、十分な検証は行われていない。通常食、高脂肪食、通常食およびバンコマイシンを与える各群に、MTX連日経口投与(3mg/kg)を行ったところ、高脂肪食群とバンコマイシン群では通常食給餌群と比べて死亡率が高くなった。大豆由来蛋白質含有高脂肪食を与えた群と、高脂肪食給餌に加えて-3脂肪酸を経口投与した群では、高脂肪食給餌群と比べて死亡率が低くなった。高脂肪食を時間制限給餌(2時間給餌/日)しても死亡率に影響がなく、肥満は死亡率に影響を与えなかった。これらの結果から、食餌による腸内細菌叢の変化がその代謝産物を介して薬物動態に影響を与えていると考えられ、腸内細菌叢解析・メタボローム解析を行い、MTXによる消化管傷害を防ぐ腸内細菌群と代謝産物を探索することを計画した。

2. 研究の目的

これまでの実験で、通常食、高脂肪食、通常食およびバンコマイシンを与える各群に、MTX連日経口投与(3mg/kg)を行ったところ、高脂肪食群とバンコマイシン群では通常食給餌群と比べて死亡率が高くなった。小腸絨毛上皮細胞の脱落が口側に優位に起きており、MTX誘発性消化管傷害が死因となっていると考えられた。さらに、高脂肪食の蛋白質成分をカゼインから大豆由来蛋白質に置換えた大豆由来蛋白質含有高脂肪食を与えた群と、高脂肪食給餌に加えて-3脂肪酸

を経口投与した群では、高脂肪食給餌群と比べて死亡率が低くなった。高脂肪食が腸内細菌叢の変化を起こすことはよく知られている。また、バンコマイシンの経口投与は腸内の Bacteroides 属や Clostridium 属を減らし、二次胆汁酸の産生を減らす、Clostridium 属はクロロホルム処理や熱処理にも耐性で、制御性 T 細胞の分化誘導に関わっている。牛乳由来カゼインを大豆由来蛋白質に置換した高脂肪食を給餌することで、腸内細菌叢に変化が認められるという報告もあり、 ω -3 脂肪酸投与も腸内細菌叢に変化を起こすことが分かっている。これらの結果は、MTX 誘発性消化管傷害モデルでは、食餌による腸内細菌叢の変化がその代謝産物を介して薬物動態に影響を与え、有害事象発症に関与していることを強く示唆している。しかしながら、MTX による消化管傷害を防ぐ腸内細菌群も代謝産物もいまだに明らかになっていない。そこでこの研究では、次世代シーケンサーで腸内細菌叢を解析すると同時に便のメタボローム解析を行うことで、MTX による薬剤誘発性消化管傷害を防ぐ腸内細菌群と代謝産物を探索することを目的とした。

3 . 研究の方法

マウスに通常食給餌、高脂肪食給餌、通常食給餌およびバンコマイシン経口投与、大豆由来蛋白質含有高脂肪食給餌、高脂肪食給餌および ω -3 脂肪酸投与を 2 週間行ってから、3mg/kg の MTX 連日経口投与を開始して、マウスの生存を観察し、血漿中・尿中・便中・胆汁中 MTX 濃度の測定を行う。各群の MTX 投与開始前後の便を採集し、ゲノム DNA を抽出して、次世代シーケンサーにより腸内細菌叢の変化を網羅的に解析した。各群における腸内細菌叢の変化から、MTX の動態に関わる細菌群の候補を挙げた。候補細菌群が産生する物質中には、MTX の腸管からの再吸収に影響を与える代謝物質が含まれている可能性があるため、各群の便のメタボローム解析を行った。通常食群の便微生物移植術・細菌投与・代謝産物投与を行うことで、消化管傷害を防ぐ腸内細菌群と代謝産物の決定を試みた。

4 . 研究成果

腸内細菌叢解析とメタボローム解析の結果では、大豆由来蛋白質給餌群と通常食給餌群に類似性が認められた。腸内細菌叢解析やメタボローム解析からは、食餌による腸内細菌叢・腸内代謝産物などの腸内環境の変化がメトトレキサートによる消化管傷害増強に関与していることが示唆された。候補となる腸内細菌や代謝産物がメトトレキサートの消化管傷害を防ぐことが可能かどうか確認してみたが、単独の腸内細菌や代謝産物は同定されなかった。このことは、複合的な腸内細菌群や代謝産物群がメトトレキサートの消化管傷害を防いでいることを示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Higuchi T, Oka S, Furukawa H, Tohma S, Yatsushashi H, Migita K.	4. 巻 15
2. 論文標題 Modulation of methotrexate-induced intestinal mucosal injury by dietary factors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hum Genomics	6. 最初と最後の頁 6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40246-020-00301-4	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 Furukawa H, Oka S, Shimada K, Hashimoto A, Komiya A, Matsui T, Tohma S.	4. 巻 13
2. 論文標題 Role of deleterious rare alleles for acute-onset diffuse interstitial lung disease in collagen diseases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med.	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1179548419866443	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 Furukawa H, Oka S, Shimada K, Okamoto A, Hashimoto A, Komiya A, Saisho K, Yoshikawa N, Katayama M, Matsui T, Fukui N, Migita K, Tohma S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Serum metabolomic profiling in rheumatoid arthritis patients with interstitial lung disease: a case-control study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Med (Lausanne)	6. 最初と最後の頁 599794
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmed.2020.599794	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 Higuchi T, Yoshimura M, Oka S, Tanaka K, Naito T, Yuhara S, Warabi E, Mizuno S, Ono M, Takahashi S, Tohma S, Tsuchiya N, Furukawa H.	4. 巻 39
2. 論文標題 Modulation of methotrexate-induced intestinal mucosal injury by dietary factors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hum Exp Toxicol.	6. 最初と最後の頁 500-513
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/0960327119896605	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 Oka S, Furukawa H, Shimada K, Hashimoto A, Komiya A, Tsunoda S, Saisho K, Tsuchiya N, Katayama M, Shinohara S, Matsui T, Fukui N, Sano H, Migita K, Tohma S.	4. 巻 98
2. 論文標題 Association of HLA-DRB1 genotype with younger age onset and elder age onset rheumatoid arthritis in Japanese populations.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e18218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000018218	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 Oka S, Higuchi T, Furukawa H, Nakamura M, Komori A, Abiru S, Nagaoka S, Hashimoto S, Naganuma A, Naeshiro N, Yoshizawa K, Shimada M, Nishimura H, Tomizawa M, Kikuchi M, Makita F, Yamashita H, Ario K, Yatsuhashi H, Tohma S, Kawasaki A, Tsuchiya N, Migita K.	4. 巻 63
2. 論文標題 Association of a Single Nucleotide Polymorphism in TNIP1 with Type 1 Autoimmune Hepatitis in the Japanese Population.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Hum Genet	6. 最初と最後の頁 739-744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-018-0440-0	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8件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Higuchi T, Yoshimura M, Oka S, Kawasaki A, Warabi E, Mizuno S, Ono M, Takahashi S, Tohma S, Tsuchiya N, Furukawa H.
2. 発表標題 Dietary Factors Modulate Gastrointestinal Adverse Effects of Methotrexate.
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 樋口貴士, 吉村美郁, 岡笑美, 川崎綾, 藤栄治, 水野聖哉, 小野栄夫, 高橋智, 當間重人, 土屋尚之, 古川宏
2. 発表標題 食餌によるメトトレキサート毒性の増強
3. 学会等名 第22回腸内細菌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 島田浩太 岡本享, 橋本篤, 小宮明子, 税所幸一郎, 吉川教恵, 片山雅夫, 松井利浩, 福井尚志, 右田清志 當間重人
2. 発表標題 関節リウマチ関連間質性肺病変に関連する自己抗体
3. 学会等名 第74回国立病院総合医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 島田浩太 岡本享, 橋本篤, 小宮明子, 税所幸一郎, 吉川教恵, 片山雅夫, 松井利浩, 福井尚志, 右田清志, 當間重人
2. 発表標題 関節リウマチ関連間質性肺病変に関連する自己抗体
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 島田浩太, 橋本篤, 小宮明子, 角田慎一郎, 税所幸一郎, 土屋尚之, 片山雅夫, 篠原聡, 松井利浩, 福井尚志, 佐野統, 右田清志, 當間重人
2. 発表標題 HLAクラスIIと日本人若年発症および高齢発症関節リウマチとの関連
3. 学会等名 第73回国立病院総合医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 島田浩太, 橋本篤, 小宮明子, 角田慎一郎, 税所幸一郎, 土屋尚之, 片山雅夫, 篠原聡, 松井利浩, 福井尚志, 佐野統, 右田清志, 當間重人
2. 発表標題 若年発症および高齢発症関節リウマチとDRB1遺伝型との関連
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 樋口貴士, 岡笑美, 古川宏, 中村稔, 阿比留正剛, 八橋弘, 右田清志
2. 発表標題 日本人自己免疫性肝炎患者のTNFAIP3遺伝子の稀な多様体
3. 学会等名 第63回日本人類遺伝学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡笑美, 古川宏, 川崎綾, 當間重人, 土屋尚之, 右田清志
2. 発表標題 自己免疫性肝炎とHLA
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会
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	古川 宏 (FURUKAWA HIROSHI) (00372293)	独立行政法人国立病院機構東京病院(臨床研究部)・臨床研究部・臨床研究部長 (82690)	

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