

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：33403

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11804

研究課題名（和文）腸管膜腸液・粘液分泌が関わる排便機構の解明：遺伝要因を考慮した便秘の分類と改善

研究課題名（英文）Elucidation of the defecation mechanism involving intestinal fluid and mucus secretion: Classification and improvement of constipation based on genetic factors

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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：汗中塩分濃度（汗濃度）を指標とするCFTR機能（機能）で被験者を分類し、汗濃度が高い人（機能が劣っている）において便秘発症を抑制する日常生活上の要因を検討した。大豆製品摂取に由来するゲニステイン摂取量が多い人で便秘発症が抑制され、また、「総食物繊維摂取量が多い」「乳酸菌を含む食品の習慣摂取がある」が便秘発症を抑制する傾向を示した。しかし、汗濃度が低い機能正常者においては影響がなかった。

また、CFTR阻害剤をマウスに摂取させることで便秘状態（糞水分率低下）を誘導でき、その便秘状態誘導における食物繊維摂取量（DF）の影響を検討したところ、阻害剤の影響はDF欠乏群のみで誘導される傾向となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果は、便秘になり易い人は遺伝的背景の一つとしてCFTR遺伝子多型による軽度のCFTR機能低下があり、便秘の治療をする上で個々人のCFTR機能を知ることが有益であることを示している。よって、汗中塩分濃度を測定しCFTR機能が劣っていることによる便秘なのかを判断することでその後の治療に役立ち、また、病院へ行くほど重篤な症状でない場合は、CFTR機能低下者における日常生活の中での便秘発症に影響する要因等の特徴を反映した質問票を将来的に作成することで、自己判断でCFTR機能を推測し、改善が期待できる習慣を活用することでコントロールし易くなると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We classified the subjects according to CFTR function using salt concentration in sweat (sweat concentration) as an indicator, and examined daily life factors that inhibit the development of constipation in subjects with high salt concentration in sweat (poor function). Constipation was suppressed in subjects with high genistein intake resulting from consuming soy products and products with high total dietary fiber. Furthermore, habitual intake of foods containing lactic acid bacteria was associated with suppression of constipation. However, there was no effect on subjects with normal function with low salt concentration in sweat. Furthermore, we found that constipation (i.e., a decrease in fecal moisture content) can be induced by feeding CFTR inhibitors to mice. We also examined the effect of dietary fiber (DF) intake on the induction of constipation and found that the effect of the inhibitors could only be observed in the DF-deficient group.

研究分野：細胞生理学 食品機能学

キーワード：CFTR 便秘 汗塩分濃度 大豆製品 ゲニステイン

1. 研究開始当初の背景

Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Cl-チャンネル(以下、CFTR)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。遺伝子変異によりCFTR機能を喪失すると重篤なCFとなるのだが、変異箇所によりCFTR機能の残存程度が異なる。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(吉村ら、2005、難治性膵疾患に関する調査研究)。一方、日本人は白人で確認されていない変異・多型をもち、健常者でもCFTR遺伝子多型の保有者が多数いることから、健常な日本人のチャンネル機能はその多型の存在により50-70%の範囲にあると推定されている(Fujiki K et al. 2004, 石黒ら、2006)。

近年、便秘治療薬として腸管膜上皮細胞に発現している分子をターゲットとするルビプロストン(製品名:アミティーザ)やリナクロチド(製品名:リンゼス)等が開発されてきており、ルビプロストンはClC2クロライドチャンネル、リナクロチドはCFTRをターゲットとしている薬であるが、CFTRはいずれの薬でも活性化されることがわかっている(Yang H & Ma T. 2017)。このような背景から、CFTRに関する報告は、便秘治療を意識した新薬開発を目指しているものが増えてきている。

慢性便秘症(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、生活習慣の乱れ等が関与していると考えられている。しかし、2017年に発刊された慢性便秘症に対する治療指針を示す日本で初の「慢性便秘症診療ガイドライン」において、治療としての食事の有効性は、現時点ではそれほど評価されておらず、エビデンスレベルの向上に資する研究や解析が望まれている。我々はこれまでに、便秘のなり易さは遺伝的背景も影響していると考え、そのターゲットの一つとして近年現れた便秘治療薬で活性化され腸液・粘液分泌に関わるCFTRに着目し、その遺伝子多型及び機能と便秘との関連性についての研究を進めてきている。その中で、汗中塩分濃度から判断したCFTR機能により被験者を分類し解析すると、CFTR機能低下群においてのみ、CFTR機能と真の便秘症状スコア間に相関関係があり、そして、CFTR活性化成分を含む食品摂取の効果が認められることを見出した。被験者数が少ない実験での結果ではあるが、便秘改善法を考えると、個々人のCFTR機能も考慮することは、便秘者が満足できる改善方法の選択に役立ち、食事の効果を確かめる研究及び解析に有益な結果をもたらすと推測された。

2. 研究の目的

(1) 我々の先行研究で得た知見に基づき便秘改善方法を選択する上で個々人のCFTR機能が考慮すべき項目なのかを明らかにすることであり、将来的にCFTR機能低下者における便秘発症に影響する日常生活での要因の特徴を明らかにし、問診によりCFTR機能低下者をふるい分け、より効果的な便秘症状の改善に寄与したいと考えており、その手がかりについて検討することが目的である。

(2) CFTR機能の欠損で発症する劣性遺伝性疾患の嚢胞性線維症(CF)は古くから肺疾患と関連付けられているが、肺だけでなく胃腸の組織にも重篤な影響を及ぼす。CFを発症する遺伝子変異を1つもつCFキャリアでは多くのCF関連症状がみられ、その中に便秘もある。また、新しい慢性便秘治療薬にはCFTR機能の活性を促す作用機序を持つものがあり、CFTRの機能が便秘発症と深い関わりがあることが予想される。しかし、CFTR機能低下が便秘を発症するのについて調べた研究は無い。そこでまず、腸に発現しているCFTRの機能を阻害することで便秘を誘導できるかを、CFTR特異的阻害剤であるCFTRinh172を加えた餌をマウスに与え便秘モデルマウスの作成を試み、次に(1)の結果「一般に便秘に有効と考えられる乳酸菌や食物繊維の摂取等がCFTR機能低下者において便秘改善に効果的である」ことを確認することを目的とし、ここでは食物繊維摂取量の影響について検討し、併せてCFTR阻害剤と食物繊維摂取量の腸内細菌叢への影響について検討する。

3. 研究の方法

(1) 被検者は、18~22歳の男女62名で、汗中塩分濃度によりCFTR機能が劣っている・劣っていない、及び、Rome3の診断基準を改変した方法により便秘・非便秘に分けて次のことについて解析した。日常生活に関するアンケートへの回答からみた便秘に対する悪化行動と改善行動の割合と便秘症状との関係を、BDHQ質問票による栄養調査から求められたゲニステイン摂取量の他、便秘症状に影響すると考えられる日常生活の要因毎に検討した。汗中塩分濃度は高感度クロライドイオン電極を用いる方法で測定した。全被験者の汗中塩分濃度の中央値は22mMで、本研究において22mM以上の人をCFTR機能が劣っている人とした。

(2) 生後7週齢雌性マウス(ICR)は、すのこ付きプラスチックケージに個飼いし、餌と水は自由摂取で実験を行った。CFTR阻害剤(阻害剤)はCFTRinh172を用い、AIN93Gの餌に加えマウスに与えた。本実験を行う前にCFTR阻害剤の投与量を検討し、その後、次の本実験を行った。コ

ントロール群 (C 群) 4 匹、阻害剤投与群 5 匹を用い、後者には投与量を検討する予備実験の結果から、毎日 40 μg の阻害剤を含む餌を 2 週間与えた後、通常の餌に戻し 1 週間飼育した。飼育期間中の乾燥糞量、糞水分量、糞通過時間を調べ便秘状態が形成されるかを確認した。

CFTR 機能低下状態における食物繊維摂取量の影響を検討する実験では、食物繊維としてセルロースを用い、コントロールは 5%、欠乏食は 0%とし、阻害剤は前述の実験結果から 40 μg を 1 日分の餌に加え 2 週間継続投与の有り無しの 4 群 (n=3) で実験した。更に 4 群の実験の内、食物繊維欠乏食における阻害剤の影響を食物繊維 0%群 (n=12) と食物繊維 0% + 阻害剤群 (n=6) の 2 群で再確認した。阻害剤の投与量は体重あたりにすると、体重 1g あたり約 0.6 μg 、前述の実験では約 0.8 μg となり、前述の実験での投与量よりも約 25%少ない条件での実験となった。即ち、食物繊維摂取量の影響をみる実験では、阻害剤摂取量を検討する実験よりも CFTR 機能低下の程度が弱い状態での実験となった。また、食物繊維摂取量と阻害剤投与の腸内細菌叢への影響についても調べた。

4. 研究成果

(1) 食品成分で CFTR を活性化することがわかっている成分にゲニステインがある。ゲニステインは大豆イソフラボンのアグリコンの一種である。栄養調査結果のゲニステイン摂取量は、汗中塩分濃度が高く CFTR 機能が劣っている群においては、便秘症状を感じていない人に摂取量が多い人、即ち、改善行動者の割合が高く、便秘症状を訴えている人に悪化行動者の割合が高かった。汗中塩分濃度の低い CFTR 機能が劣っていない群においては、ゲニステイン摂取量の便秘症状への影響はなかった。大豆に含まれるイソフラボンは多くは配糖体の形で含まれておりアグリコンではない。しかし、今回の結果では大豆製品摂取由来のゲニステイン量が影響していたことより、主な大豆製品のゲニステイン含量について調べたところ次の表の通りとなった。豆腐のゲニステイン含量は少ないが、豆腐以外大豆加工食品のゲニステイン含量は、以前にヒトでの研究で効果を確認していた 1 日あたり 1.4mg を上回る量がそれぞれの 100g 中に含まれており、CFTR 機能が劣っていることが原因で便秘になりやすい人ではこれら大豆製品を日常の食事に取り入れるのがよいと考えられた。

表 大豆製品のゲニステイン含量 (mg/100g)

食品名	大豆イソフラボン (アグリコン当量)	ダイゼイン	ゲニステイン
豆腐	23	検出せず	0.6
油揚げ	40	2.8	3.9
厚揚げ	48	2.5	3.0
納豆	100	2.1	4.8
大豆ミート製品	16	1.4	2.2

栄養調査結果では他に「総食物繊維摂取量が多い」がゲニステインと同様の傾向を示し、生活習慣では「乳酸菌を含む食品の習慣摂取」、「運動習慣がある」が同様の傾向を示した。「ゲニステイン摂取量が多い」以外は便秘予防に効果があると一般に認識されている行動であったが、CFTR 機能が劣っていると考えられる人においてのみ便秘予防の効果が得られているという興味深い結果が得られた。

(2) 阻害剤投与 13 日目で糞水分量 (DCF 群: 22.49%) はコントロール群 (C 群: 30.45%) の約 74% (vs C 群、 $p = 0.15$) となり、その後、DCF 群は通常の餌に切替え 3 日目で平均糞水分率は C 群とほぼ同レベルにまで回復し、糞水分率の回復が安定した 5 日目 (30.50%) と比べると阻害剤投与 13 日目の糞水分率は明らかに少ない結果となった ($p < 0.05$) (図)。更に、糞通過時間は、コントロールのマウスが 24 時間であったのに対し、阻害剤投与マウスで 26~30 時間かかり糞通過時間が延長していた。以上から、マウスにおいて CFTRinh172 を餌に加え毎日約 20 μg (実際の摂取量) を 2 週間摂取させると便秘を誘導することがわかった。また、その影響は阻害剤の摂取を止めると比較的速やかに消失したことより、便秘症状は腸での CFTR 機能を抑制

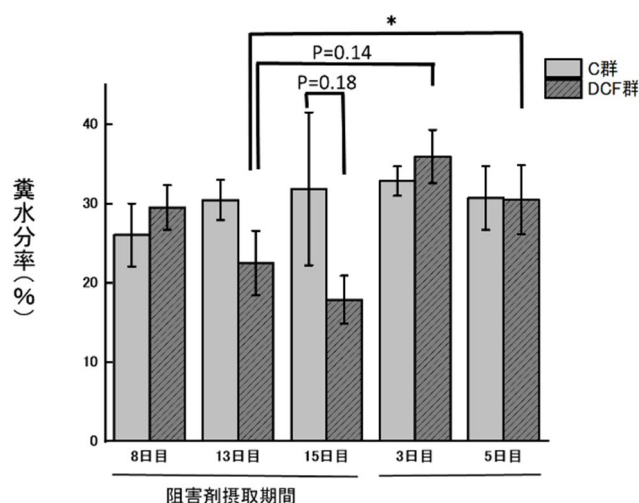


図 値は、平均値 \pm SE で示し、C 群 n=3、DCF 群 n=5 (但し 15 日目は n=4) で行った。C 群 vs DCF 群は対応のない t-検定、同群内の経時変化は、対応のある t-検定を行った。いずれも $p < 0.05$ (*) を有意差ありとした。

したことによるものと推察された。このことから CFTR 機能を低下させることにより便秘を誘導することができると言え、マウスにおいては CFTRinh172 を約 20 μg を毎日摂取させると便秘を誘導できることがわかった。本研究の便秘モデル動物は、CFTR 機能が劣っている人で発症する便秘について、食品に含まれる成分による改善方法などを研究するのに有益であると思われた。

次に、CFTR 機能低下における食物繊維摂取量の影響を検討する実験の結果についてである。方法で述べたとおり食物繊維摂取量の影響をみる実験では、阻害剤摂取量を検討する実験よりも CFTR 機能低下の程度が弱い状態での実験となった。4 群 (n=3) でみた阻害剤の影響は、食物繊維欠乏食群のみに糞水分率減少傾向がみられ、阻害剤を与えない場合変化はなかった。よって、CFTR 機能の弱い阻害では、食物繊維を十分量摂取していれば便秘は誘発されないが、食物繊維欠乏食になると糞水分率を減少し便秘を発症させると考えられた。食物繊維 0%群 (n=12) と食物繊維 0% + 阻害剤群 (n=6) の 2 群で更に検討したところ、糞水分率はそれぞれ 36.44 %、28.41 % (p=0.12) で、CFTR の弱い阻害状態では、食物繊維摂取量が欠乏しているだけでは便秘は誘導されず、阻害剤を摂取し CFTR 機能も低下することで便秘を誘導する傾向にあり、前述の 4 群での結果と一致した。

食物繊維摂取量と阻害剤投与の腸内細菌叢への影響はラクトバチルス属の相対比率にみられ、食物繊維摂取群で値は大きく、阻害剤投与で更に大きくなり (食物繊維 5 %群: 2.3 %、食物繊維 5% + 阻害剤投与群: 6.4 %)、食物繊維欠乏食群は阻害剤の有無のいずれの群もラクトバチルス属の相対比率は 1 %未満 (阻害剤有 > 阻害剤無) であった。このことは(1)の研究結果で CFTR 機能が劣っていると考えられる人のみに「乳酸菌を含む食品の習慣摂取」の便秘改善効果があったことの一理由の一つとして関連付けられるのではないかと考えられた。

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 浦本裕美、辻美由貴、川崎美波、高橋彩花、竹内里奈、前田祥佳、松村和美、村本花奈、山岸七菜	4. 巻 15
2. 論文標題 マウスにおいてCFTR阻害剤含有食の投与は便秘を誘導する	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 仁愛大学研究紀要 人間生活学部篇	6. 最初と最後の頁 1-9
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 浦本裕美、川崎美波、高橋彩花、竹内里奈、前田祥佳、松村和美、村本花奈、山岸七菜、辻美由貴
2. 発表標題 CFTR阻害剤の経口投与は便秘を誘導する
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浦本裕美、辻美由貴、鈴木香南
2. 発表標題 腸管腔粘膜上皮CFTRの機能を考慮した便秘判断におけるゲニステインや食品摂取量の便秘におよぼす影響
3. 学会等名 第68回日本栄養改善学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浦本裕美、金元愛寿香、河合佑奈、田中凜香、中出千遥、西出朱里、榎場美沙、久保朱那
2. 発表標題 汗中塩分濃度を指標とするCFTR機能別にみた被検者便秘症状へのゲニステイン摂取量の影響
3. 学会等名 第67回日本栄養改善学会
4. 発表年 2020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
---------	---------