

包括的微生物叢解析による炎症性腸疾患治療薬の抗炎症機序の解明

三 好 潤

杏林大学医学部消化器内科学教室

背景

炎症性腸疾患（IBD）は消化管炎症を主体とする全身性疾患であり、慢性的に再燃を繰り返す原因不明の疾患である。患者数は全世界的に増加傾向であり、安全、有効かつ経済的な治療法の開発はきわめて重要な医学的、社会的課題である。IBD発症には遺伝的背景、環境因子により生じる免疫異常が関与していると考えられている。さまざまな環境因子の中でも、腸管微生物叢（microbiota）が大きな役割を果たすことが示唆されている。5-アミノサリチル酸製剤（5-ASA）は、比較的安価であり、忍容性と有効性が長期的に実証されているIBD治療薬であるが、その作用機序は確立していない。潰瘍性大腸炎患者やマウスIBDモデルにおいて5-ASAにより腸管microbiotaの細菌構成に変化が生じるという報告があるが、炎症改善による影響か5-ASA自体に腸管microbiotaを変化する作用があるのかは明らかではない。

目的

我々は、5-ASAが直接的にmicrobiotaを含む腸管環境を改善することで抗炎症作用を発揮するという仮説を立てた。第一の目的として非炎症下における5-ASA投与によるマウス腸管microbiota変化の評価することとした。

方法

5-ASA投与により腸管microbiotaが変化するかについてSPF環境下で飼育したマウスを用いた検討を行なった。4週齢の野生型C57BL/6マウスを雌雄各10匹用意し、8週齢まで週2回床敷を混合して、腸管microbiotaの均一化を図った。8週齢から、雌雄各5匹ずつを無治療群（NT群）、5-ASA投与群（5-ASA群）とした。NT群では通常餌料を継続した。5-ASA群では、ヒトIBD臨床での投与量を考慮して、対表面積換算でヒト（60 kg）における

4000 mgに相当する820 mg/kg/日の5-ASAを混合した餌料を開始した。各マウスより、第0週（8週齢時点）、第2週、第4週に糞便を採取し、16S rRNA gene amplicon sequencing解析を行なった。第4週時点で解剖、臓器検体の採取を行なった。

結果

液体クロマトグラフィによりマウス盲腸内容物を解析し、5-ASA群において、5-ASAおよび代謝物であるN-Ac-5-ASAの存在を認めた。5-ASAは消化管上皮で速やかにN-Ac-5-ASAに代謝され、5-ASAとN-Ac-5-ASAはともに薬理効果を有すると考えられている。本解析により、経口摂取された5-ASAおよび代謝物のN-Ac-5-ASAが下部消化管に到達していることが確認された。

採取した腸管組織について、光学顕微鏡、電子顕微鏡により観察を行い、有意な差は認めなかった。

各マウスより得られた糞便サンプルよりDNAを抽出し、16S rRNA gene amplicon sequencing解析を行なった。第0週において、雌マウスではNT群・5-ASA群の腸管microbiomeが均一化されている一方で、雄マウスでは両群のmicrobiomeの構成細菌に差異があると考えられた。床敷混合による腸管microbiomeの均一化において有効性に雌雄差があることが示唆された。雌マウスにおいて、NT群と比較し、5-ASA群では経時的にShannon indexが低下傾向であり、第4週ではNT群よりも有意に低いShannon indexを示した（ $p = 0.016$ ）。5-ASAにより、腸管microbiomeのalpha-diversityは低下すると考えられた。また、腸管microbiomeの細菌構成について、NT群と5-ASA群を比較すると、Unweighted UniFrac distance、Weighted UniFrac distanceともに、第0週で有意差（ $p = 0.118$, $p = 0.095$ ）を認めず、第2週（ $p = 0.014$, $p = 0.011$ ）および第4週（ $p = 0.008$, $p = 0.005$ ）で有意差を認めた。

結論

が変化することが示された。

5-ASA 投与により，非炎症環境において腸管 microbiome

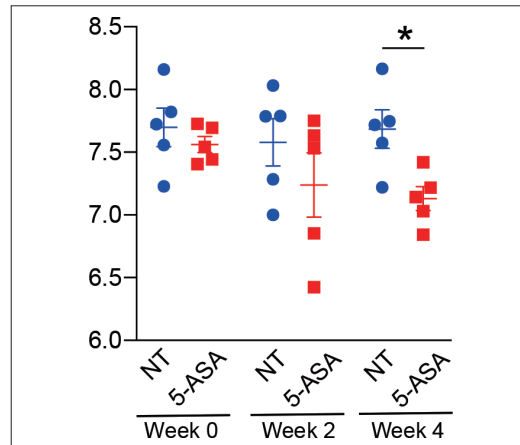


図1 雌マウスにおける Shannon index の経時的変化

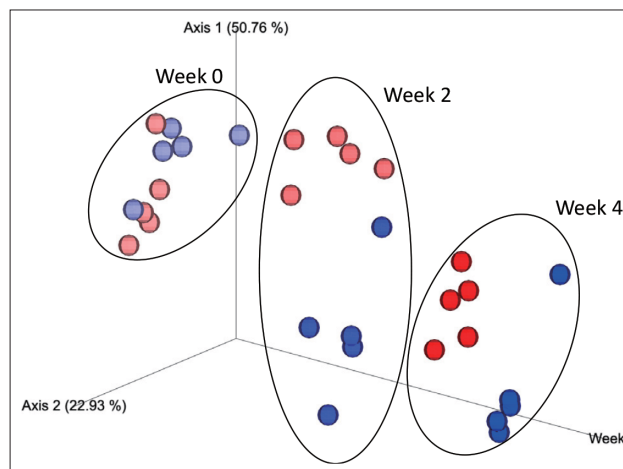


図2 雌マウスにおける細菌叢構成の経時的変化

Weighted Unifrac distance PCoA plots ; 青がNT群、赤が5-ASA群を示す。