

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

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
仁愛大学人間生活学部

Administration of a Diet Containing CFTR Inhibitor Causes Constipation in Mice

Hiromi URAMOTO・Miyuki TSUJI・Minami KAWASAKI・Ayaka TAKAHASHI・
Rina TAKEUCHI・Sachika MAEDA・Kazumi MATSUMURA・Kana MURAMOTO・
Nana YAMAGISHI

Department of Faculty of Human Life, Jin-Ai University

Cystic fibrosis (CF) is a recessive genetic disorder caused by a functional deficiency in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) function. CF has long been associated with lung disease but can also severely affect gastrointestinal tissues. CF carriers—those with a CF-predisposing genetic mutation—have several CF-related symptoms, including constipation. In addition, some of the newer drugs for chronic constipation have a mechanism of action that stimulates CFTR function, suggesting that CFTR function is closely related to the development of constipation. However, there have been no recent studies on whether CFTR dysfunction causes constipation. In this study, to examine whether inhibiting CFTR function in the intestine induces constipation, we fed mice food containing CFTRinh172, a CFTR-specific inhibitor. The results showed that the fecal water content (22.49%) was 74% of that of the control group (30.45%; $p = 0.15$ vs. the control group) on day 13 after inhibitor administration. After switching to the normal diet, the average fecal water content recovered to almost the same level as that of the control group on day 3. There was a significant decrease in fecal water content on day 13 of the inhibitor treatment compared to day 5 after diet switching, when fecal water content recovery was stable (30.50%; $p < 0.05$). Furthermore, the fecal transit time was prolonged from 26 to 30 hours in the inhibitor-treated mice compared to 24 hours in the control mice. In conclusion, constipation was induced in mice that received approximately 20 μg of CFTRinh172 daily for 13 days. The effects of the CFTR inhibitor on constipation disappeared relatively quickly after discontinuing inhibitor administration, suggesting that the constipation symptoms were caused by the inhibition of CFTR function in the intestine.

Keyword : CFTR, constipation, mouse, CFTR inhibitor

CFTR は、全身の上皮細胞のクロライドイオンと水の輸送を調節しているクロライドイオンチャンネルで、腸では、CFTR は腸の全長にわたって発現しており、また、CFTR は腸神経システムにもみられ腸神経伝達に影響していることが報告されている^{1),2)}。CFTR は、劣性遺伝性疾患の嚢胞性線維症の原因遺伝子からつくられるタンパク質で、その遺伝子の変異部位が機能を著しく損なう部位だと嚢胞性線維症になることがわかっておりコーカサス人で発症率が高い³⁾。

日本人を含むアジア人では、コーカサス人に認められる著しく機能を失う変異は殆どなく嚢胞性線維症の発症率は極めて低い^{3),4)}。しかし、CF を発症する重度の CFTR 機能障害は日本人には殆どないが、Fujiki ら⁴⁾ は、日本人においては健常者であっても CFTR 遺伝子多型を保有している人が多数存在し、CFTR 遺伝子多型を保有しているほとんどの健常な日本人で CFTR チャンネル機能が、50 ~ 75% の範囲でしか働いていないのではないかと推定している。また、CF を発症する変異遺伝子を 1 つ持ち、CFTR 機能が 50% 程低下していると考えられる CF キャリアでは、便秘、糖尿病、胆石症などの CF 関連症状を発症するリスクが高いことが示されている⁵⁾。以上のことから健常者においても CFTR 機能の幾分か低下が原因で便秘になりやすい人がいる可能性がある。

近年承認された慢性便秘治療薬に上皮機能変容薬があり、その中には CFTR 機能の活性を促す作用機序を持つルビプロストンとリナクロチドがある⁶⁾。両薬は上皮機能変容薬として、2017 年に出版された「慢性便秘症診療ガイドライン」において、慢性便秘症に対して有用な薬であることが示されており、リナクロチドは細胞内 cGMP を増加し CFTR を活性化する作用機序で腸液分泌を促すことで、便秘型過敏性腸症候群の症状改善の一役を担っていることが述べられている⁷⁾。ルビプロストンは開発時には CIC-2 を活性化する作用機序が示されていたが、その後の研究で CFTR も活性化することが示されており、その活性程度は CIC-2 がわずかで CFTR が多くを占めていることが分かってきている^{8),9)}。

以上のことから、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、健常者でも腸で機能し

ている CFTR の機能が低下していることで便秘が生じるのか興味をもたれる。しかし、CFTR 機能低下により便秘を発症するのかについて調べた研究は無い。そこで本研究では、腸で機能している CFTR の機能を阻害することで便秘を誘導できるかを調べるため、CFTR 特異的阻害剤である CFTRinh172 を加えた餌をマウスに与え検討することにした。

方法

1. 実験動物

実験動物は、生後 7 週齢雌性マウス (ICR) を日本チャールズ・リバー (株) から購入し、明暗調節下 (点灯 6 時 ~ 18 時)、室温・湿度が一定の飼育室で飼育した。マウスは、1 匹ずつのこ付きプラスチックケージで飼い、飼料と水は自由摂取とした。給餌は毎日午前 10 時とし、ケージ交換は約 2 日に一度実施し、ケージの底には、糞の回収を容易にするために事前にオートクレーブ滅菌したロールペーパー (CL-4140, 日本クレア) を敷いた。なお、本実験は仁愛大学動物実験委員会の承認を受け実施した。

2. CFTR 阻害剤・飼料の調製と飼料摂取量

CFTR 阻害剤として CFTRinh172 (Selleck Chemicals) を使用し、CFTRinh172 含有量の異なる餌は AIN-93G 精製飼料 (オリエンタル酵母) に加え調製した。CFTRinh172 使用液 (使用試薬液: 1 ml あたり 1 mg 含有) は、5 mg の CFTRinh172 をジメチルスルホキシド (DMSO: 富士フィルム和光純薬) 1 ml で溶解した後、DMSO で全量を 5 ml にし使用試薬液とし -20℃ でストックした。精製飼料は 1 匹 1 日分 9 g を 1 個とし、餌 1 個あたりの使用試薬液の量は、10 µg の場合 1 個あたり 10 µl, 0 µg マウス (コントロール餌) 用は DMSO 10 µl を使用した。そして調製に使用する精製飼料量の 32% の水でそれぞれの使用試薬液を希釈した後、精製飼料に加え試薬が全体に均一になるようによく混ぜ合わせ、1 個あたり約 11.88 g の団子にし、投与時まで -20℃ で保存した。また、餌摂取量は、毎日残った餌を回収し、重量を測定し、1 個の重さから差し引いて求めた。

3. 実験 1

(1) 餌中 CFTR 阻害剤量の検討 (図 1-A)

飼料に加える CFTR 阻害剤の量を決めるため、CFTR 阻害剤量が異なる餌を 5 匹のマウスに与え 13 日間飼育した。飼育 1 日目は AIN-93G のコントロール食を与え、2 日目以降からは、1 日分の飼料に CFTR 阻害剤をそれぞれ、0 μg ($n = 1$), 10 μg ($n = 2$), 20 μg ($n = 1$), 40 μg ($n = 1$) を加えた飼料を 13 日間与えた (以下、それぞれ 0 μg マウス, 10 μg マウス, 20 μg マウス, 40 μg マウスとする)。

CFTR 阻害剤の投与量は、Sawasvirojwong ら¹⁰⁾が報告しているコレラ感染による下痢を完全に抑えた条件、6 時間毎に 20 μg 腹腔投与を参考に設定した。本研究では、CFTR 阻害剤を餌に加え投与するため、腹腔投与に比べて薬効が低くなることが考えられ、一方で、コレラ感染で生じる下痢を治療するための投与量だと CFTR 機能が抑制され過ぎる可能性がある。そこで、CFTR 阻害剤の投与量は 1 日に与える量を 10 μg , 20 μg , 40 μg とし検討することにした。

(2) 糞重量、ペレット数、糞水分率の測定

糞回収は 3 時間糞を回収し糞水分率を求めた。糞回収は図 1 に示したとおり阻害剤を摂取して 6 日目で行った。3 時間糞は、ケージ交換を行った 3 時間後

に事前に重量を測定したチャック付ポリ袋に回収して重量を測定し、その後、凍結乾燥機 (No. FD1000, EYELA) で 24 時間乾燥し、乾燥した糞はデシケーター内で保存した。乾燥終了後重量を測定し糞水分率を求めた。

(3) 解剖

飼育終了後、セボフルラン (富士フィルム和光純薬) で麻酔後、イソゾール (日医工) の過剰投与 (150 ~ 200 mg/kg 腹腔投与) で安楽死させた後、肝臓を採取し重量を測定した。

4. 実験 2

(1) CFTR 阻害剤投与の便秘形成への影響 (図 1-B)

CFTR 阻害剤投与の便秘形成への影響を検討するため、図 1-B に示した通り実験期間を 20 日間としマウス 10 匹を飼育した。コントロール食で 1 日飼育した後、群分けを行い、コントロール群 (C 群)、CFTR 機能低下 (Decreased CFTR-Function : DCF) 群の 2 群とした。実験期間初日から C 群はコントロール餌を、DCF 群は CFTR 阻害剤 40 μg 含有餌を 1 日 1 個与え、15 日目からは DCF 群はコントロール餌に切り替えた。糞回収は通常糞と 3 時間糞を回収した。事前に重量を測定したチャック付ポリ袋に回収した通

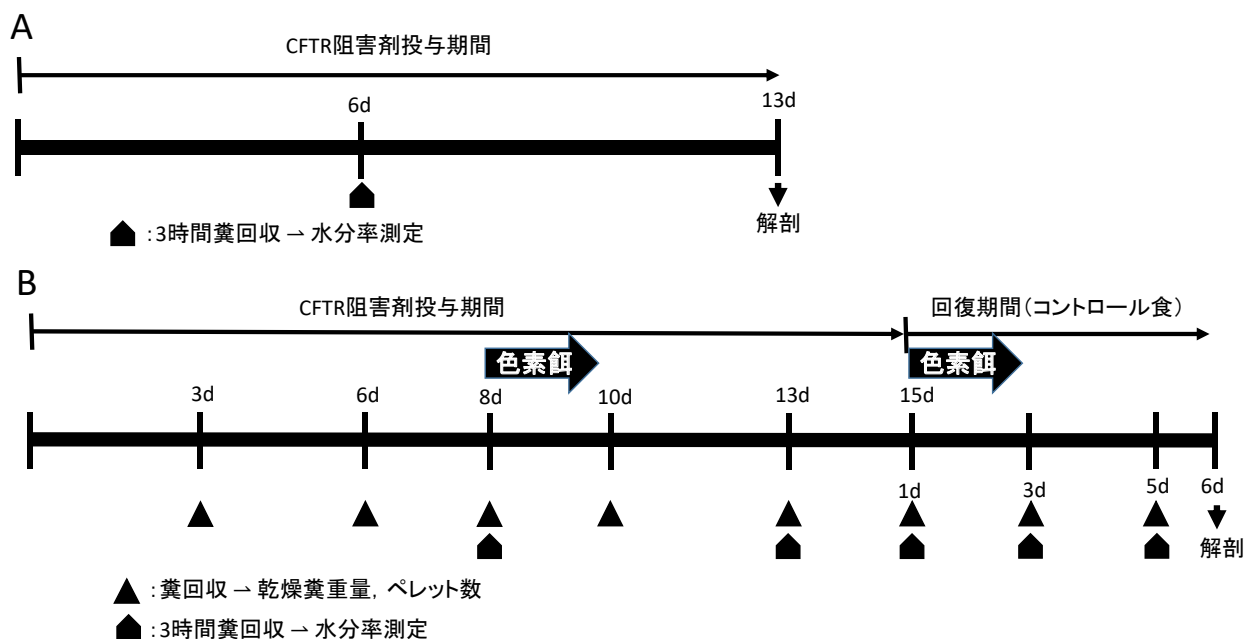


図 1 実験計画

A : 実験 1 阻害剤投与量の検討, B : 実験 2 CFTR 阻害剤投与の便秘形成への影響

常糞は凍結乾燥機で24時間乾燥した。乾燥した糞はデシケーター内で保存し、乾燥終了後糞重量を測定し、またペレット数も数えた。3時間糞は、実験1と同様に行い糞水分率を求めた。

(2) 糞通過時間の観察

糞の腸内通過時間を調べるため、色素添加した餌を投与してから色素を含む糞の排泄が完了するまでの時間を観察した。即ち図1-Bに示した通り阻害剤投与8日目とコントロール餌に切替え一日目（通算15日目）の2回、各群2匹ずつの色素添加食投与後3日間の糞の色調を観察した。色素は食用青色1号色素（東京化成工業）1mgを500μlの水に溶解したものを各群の餌団子1個あたり30μl添加した。これを手で練り色素が均一になるように混和した。糞の観察は一日2～3時間おきに実施し、色素あり糞と色素なし糞のペレット数を観察した。

(3) 解剖

解剖は飼育終了後、実験1と同様に安楽死させた後、肝臓、大腸内糞（結腸・直腸）を採取し、肝臓は重量、大腸内糞は水分含量を測定した。

5. 統計処理

統計処理はSPSS 21.3.0.0 J for Windows (IBM社)を用いて、同群での経時変化の比較を対応のあるt検定、2群間での比較は対応のないt検定で行い $p < 0.05$ を有意差ありとした。

尚、実験2ではCFTR阻害剤40μg投与マウスにおける便秘形成への影響を検討するためC群、DCF群各々5匹ずつで飼育を行ったが、C群の2匹が飼育当初から、餌を与えるとすぐに餌を齧り続けほとん

どの餌を下に落とすなどの異常行動を示し、その影響で摂取量が少なくなり体重に影響が出ていたためデータから除外した。従って、C群は3匹、DCF群は5匹のデータを解析した。

結果

1. CFTR阻害剤投与量の検討

CFTR阻害剤投与開始日から最終日までのマウスの体重変化、実験期間中の平均餌摂取量、平均摂薬量（CFTR阻害剤摂取量）は表1のとおりであった。飼育最終日の体重は、0μgマウス31.8g、40μgマウス31.4gで阻害剤摂取の体重への大きな影響はなかった。平均餌摂取量は、0μgマウス 6.56 ± 0.13 g、40μgマウス 6.11 ± 0.19 gで、餌団子1個11.88gの摂餌率は、0μgマウス55.2%、40μgマウス51.4%、平均54.4%であった。また、CFTR阻害剤の1日平均摂取量は、10μgマウス5.88μg、20μgマウス10.42μg、40μgマウス20.58μgといずれも投与量の約半量であった。

糞水分率のCFTR阻害剤投与6日目の結果は、図2のとおりで、糞水分率は20μgマウスと40μgマウスは、0μgマウスに比べて低値を示し、その中でも40μgマウスが最も低い値を示し、0μgマウスよりも17%少ない糞水分率であった。10μgマウスでは、コントロールマウスと比べて約20%高い値を示した。その原因として10μgマウスには、飲水を撒布する異常行動が飼育開始時よりあり、撒布した水分を糞が吸収したためだと考えられた。従って、10μgマウスの結果を除外すると、糞水分率はCFTR阻害剤投与量の増加に依存し低くなっていた。解剖時での体重に対する肝臓の割合の結果は、データは示していないが

表1 実験I 体重とCFTR阻害剤摂取量

CFTR阻害剤 餌中含水量	体重(g)		平均摂餌量(g/日)	平均摂薬量(μg/日)
	実験初日	最終日		
(n=1)				
0 μg/日	24.8	31.8	6.56 ± 0.13	0
10	27.7	32.3	6.98 ± 0.18	5.88 ± 0.15
20	25.1	29.2	6.19 ± 0.15	10.42 ± 0.26
40	25.7	31.4	6.11 ± 0.19	20.58 ± 0.66

値は、平均値、あるいは平均値±SEで示した。

0 μg マウス 3.7%, 40 μg マウス 4.4% で阻害剤の摂取量が多くなるに従い増加する傾向にあったが、大きな影響は見られなかった。

以上から、実験1で餌中CFTR阻害剤量を検討したところ40 μg マウスで明らかな糞水分の減少を示していたので、実験2では1日分の餌に加えるCFTR阻害剤量を40 μg 、実際の摂取量は約20 μg とすることにした。

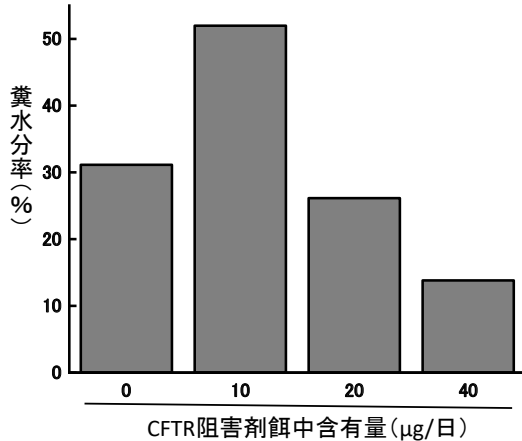


図2 実験1 糞水分率
各群 $n = 1$

2. CFTR 阻害剤投与の便秘形成への影響

体重と肝臓重量の結果は表2の通りで、CFTR阻害剤投与開始日と最終日の体重は、それぞれC群とDCF群の2群間で有意差はなく（開始日 $p = 0.776$ 最終日 $p = 0.769$ ）、解剖時の体重に対する肝臓の

割合は、C群が $4.4\% \pm 0.7$ 、DCF群が $4.2\% \pm 1.0$ で、C群とDCF群との間で差はみられなかった ($p = 0.811$)。以上からCFTR阻害剤摂取の体重および肝臓重量への影響はないと考えられた。

餌とCFTR阻害剤の摂取量は表3に示した通りで、1日あたりの餌摂取量の平均は、C群が $6.90 \text{ g} \pm 0.33$ 、DCF群が $7.35 \text{ g} \pm 0.75$ で、DCF群で摂取量が減ることはなく2群間での差はみられなかった ($p = 0.367$)。DCF群のCFTR阻害剤の平均摂取量は、1日あたり $24.68 \pm 2.60 \mu\text{g}$ で、実験1の結果から計画した20 μg に近い量を1日に摂取していた。

1日あたりの平均乾燥糞量と平均ペレット数および糞水分率は、糞回収した8時点（図1-B）の内、CFTR阻害剤投与1-3日目、10-13日目、コントロール食に切替える2日前からの糞、即ちCFTR阻害剤投与13-15日目、コントロール食へ切替え後3-5日目の4時点の平均乾燥糞量と平均ペレット数の結果を図3に示した。1日あたりの平均乾燥糞量は、いずれの時点においてもC群とDCF群との間で差はみられなかった。しかし、1日あたりの糞ペレット数は、CFTR阻害剤投与10-13日目 ($p = 0.306$)、13-15日目 ($p = 0.169$) でDCF群がC群に比べて平均値は少なく、また、DCF群の実験開始時より減少している傾向にあったが差は認められなかった。

表2 実験II 体重と肝臓重量

群	体重 (g)			解剖時肝臓重量 g / BW*100
	阻害剤投与		回復期 コントロール食投与	
	1日目	15日目	6日目	
C群 (n = 3)	24.03 ± 1.11	29.57 ± 1.88	30.47 ± 1.63	4.38 ± 0.41
DCF群 (n = 5)	24.44 ± 0.75	29.54 ± 1.72	29.64 ± 2.14	4.21 ± 0.43

値は、平均値 \pm SE で示した。

表3 実験II 餌摂取量とCFTR阻害剤摂取量

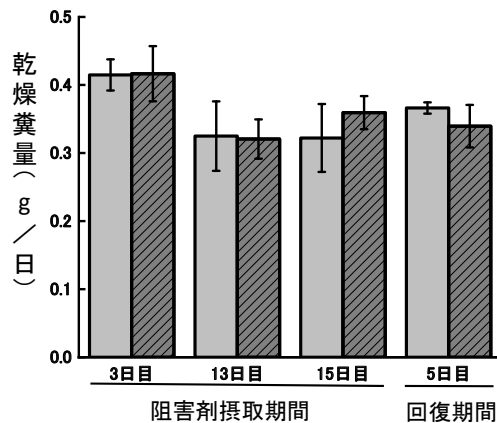
群	平均摂餌量 (g / 日)		平均摂薬量 (μg / 日)
	阻害剤摂取期間	回復期間	
C群 (n = 3)	6.81 ± 0.37	6.67 ± 0.53	0
DCF群 (n = 5)	7.40 ± 0.33	7.18 ± 0.65	24.68 ± 1.16

値は、平均値 \pm SE で示した。

糞水分率の結果を図4に示した。糞水分率は、実験1では阻害剤摂取6日目で17%の減少であったが、実験2では8日目で水分率の減少はなく、コントロール食への切替え2日前、即ちCFTR阻害剤投与13日目でDCF群がC群に比べて8%低い水分率（C群 $30.5 \pm 4.4\%$ 、DCF群 $22.5 \pm 9.1\%$ 、 $p = 0.149$ ）、15

日目で14%低い水分率（C群 31.9 ± 9.7 、DCF群 17.9 ± 3.0 、 $p = 0.181$ ）を示し、コントロール食へ切替えると3日目で2群間の差はなくなった。また、DCF群内での糞水分率の経時変化をみると、コントロール食への切替え5日目の値が安定してきた時点での値とCFTR阻害剤投与13日目との間で明らかな差

A 1日あたりの乾燥糞量



B 1日あたりの糞ペレット数

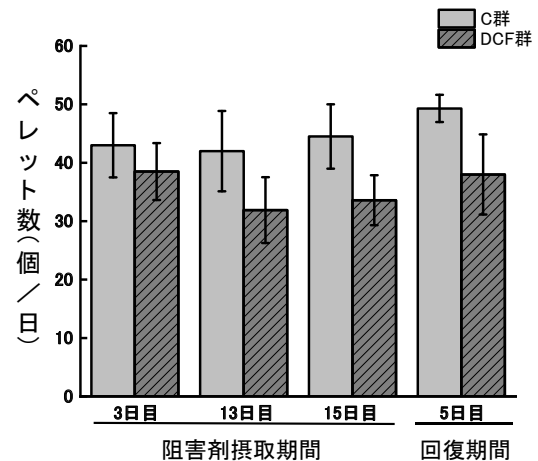


図3 実験2 1日あたりの乾燥糞量と糞ペレット数

値は、平均値 \pm SE で、C 群 $n = 3$ 、DCF 群 $n = 5$ で行った。3日目は1～3日目で回収した糞、13日目は10～13日目で回収した糞、15日目は14～15日目で回収した糞をそれぞれ1日分に換算した値をグラフで示した。

C 群 vs DCF 群は対応のないt-検定、DCF 群内の経時変化は、対応のあるt-検定を行い、いずれも $p < 0.05$ を有意差ありとした。

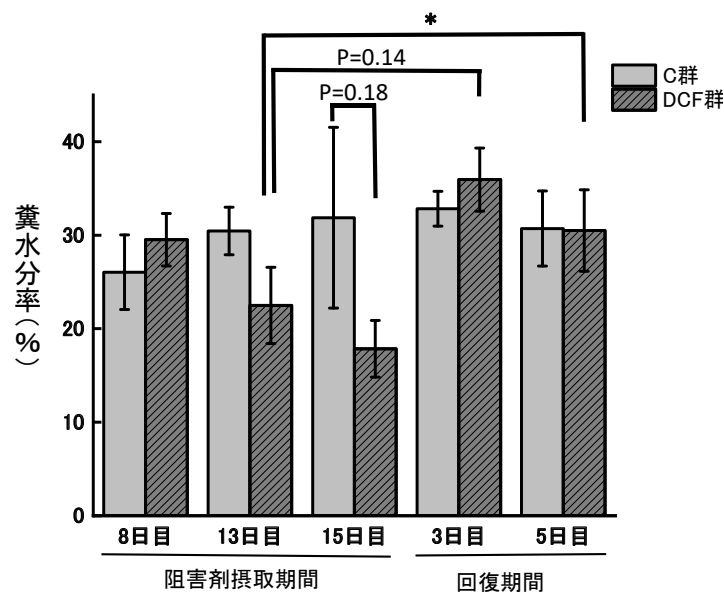


図4 実験2 糞水分率

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 群は対応の無いt-検定、同群の経時変化は対応のあるt-検定を行い、いずれも $p < 0.05$ (*)を有意差ありとした。

($p < 0.05$) がある結果となった。以上から、CFTR 阻害剤の約 2 週間の投与によって糞水分率は減少し、その減少した水分率は、CFTR 阻害剤の投与からコントロール食に切替えることで、比較的すみやかに回復することを確認した。

解剖時の結腸及び直腸内糞の水分率はすべてのマウスで採取できなかったため図には示していない。特に C 群はデータ数が 1 匹や 2 匹と少ない。結腸と直腸の糞水分率は、C 群はそれぞれ $58.2 \pm 4.3\%$ ($n=2$)、 67.3% ($n=1$)、DCF 群はそれぞれ $52.2 \pm 1.1\%$ ($n=5$)、 $52.1 \pm 2.5\%$ ($n=5$) で、いずれも DCF 群で少ない傾向がみられた。

CFTR 阻害剤投与による糞の腸内通過時間への影響をみた結果は、図 5 のとおりであった。阻害剤投与 8 日目に色素含有餌を与えた結果は、糞に色があらわれた後、糞から色素の色が見られなくなるまでに、C 群は約 24 時間、DCF 群では約 26 時間から 30 時間かかり、水分率にまだ影響がみられていない時期ではあったが、C 群に比べ DCF 群で糞の通過時間はやや長くなった。これに対し、コントロール餌に切替え一日目（通算 15 日目）に色素含有餌を与えた結果は、糞に色があらわれた後、糞から色素の色が見られなくなるまでにかかった時間は、C 群と DCF 群のいずれにおいても、色素含有餌を与えてから約 26 時間後であ

った。特に DCF 群の 2 匹の内 1 匹では、餌切替え前(8 日目)に実施した時に比べて、色素を含んだ糞が排泄し終わる時間が約 4 時間短くなっていた。以上から、CFTR 阻害剤投与 1 週間程で糞の腸内通過がやや遅くなり、CFTR 阻害剤の摂取を止めるとすみやかに回復し、糞の腸内通過時間は糞水分率の減少よりもやや早く影響を受けていた。

考察

1. CFTR 阻害剤投与量の検討

CFTR 阻害剤を加えた餌による飼育は、阻害剤を摂取していないマウスと比べると体重増加への影響はなく、また、餌摂取量に大きな影響を与えなかったので、CFTR 阻害剤の投与方法として問題ないと考えられた。便秘症状の指標である糞水分率の減少は、今回与えた阻害剤の投与量の範囲では、投与量が増えるに従い糞水分率が低下する傾向を示し、阻害剤 $40 \mu\text{g}$ を含む餌を 6 日間毎日与えたマウスの糞水分率は、コントロール餌を与えたマウスの糞水分率よりも 17% 少なくなっていた。

糞水分率が最も少なかった $40 \mu\text{g}$ マウスでの CFTR 阻害剤 CFTRinh172 の実際の 1 日平均摂取量は約 $20 \mu\text{g}$ で、コレラ感染による下痢を止めるのに使われる 1 回投与量とほぼ一致した量であった¹⁰⁾。しかし、コレ

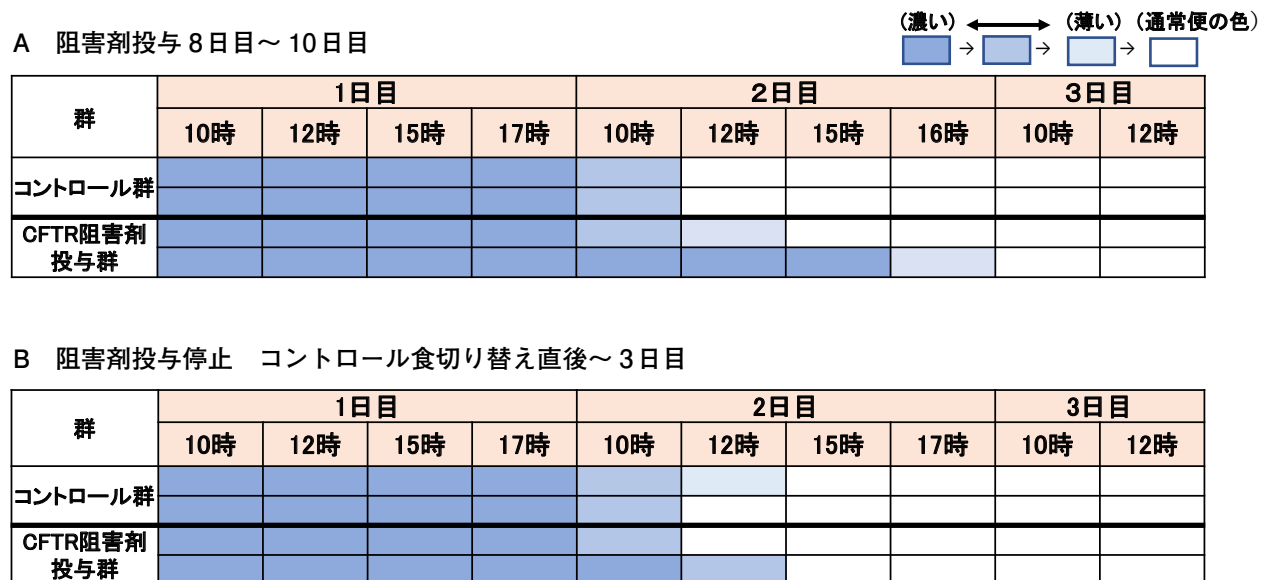


図 5 実験 2 CFTR 阻害剤投与及び投与停止による腸内糞通過時間への影響
 各群 2 匹ずつ観察した結果で、色素が確認できたところを青く塗りつぶし、糞の青色色調を濃淡で示した。

ラ感染の下痢を完全に止めるには腹腔投与で6時間毎に2回投与した12時間後であることが示されており、今回の摂取量は、その投与量よりはCFTR機能の抑制程度は少ないと考えられる¹⁰⁾。また、餌として摂取することからもCFTR阻害剤の効きはやや低下していることが予想される。以上から、CFTR機能が幾分低下している状態が便秘を誘導するかを検討する実験、即ち、実験2のCFTR阻害剤の便秘発症への影響を調べる実験において阻害剤40 µgを含む餌を毎日投与することにした。

2. CFTR 阻害剤の便秘発症への影響

CFTR 阻害剤40 µgを含む餌を与え約2週間飼育することで、糞水分率はC群に比べ約10%減少し、また、腸内糞通過時間の遅延も生じたことから、今回行った方法で便秘を誘導することができたと考えられた。便秘モデルマウスを作成する際によく使われているロペラミドで便秘を誘導すると投与5日目で約10%の糞水分率の減少を示すことが報告されており、今回の糞水分率の減少は、ロペラミドで作成する便秘モデルマウスとほぼ同程度であった¹¹⁾。ロペラミドは、腸の輸送筋等に作用しその運動を抑制して腸内通過時間を遅延させる。CFTR阻害剤は腸粘膜上皮での水分輸送、即ち、腸液分泌を抑制するので、そのことが原因で糞水分率を減少させると推察される。Tanら¹²⁾は、CFTRノックアウトマウスでは、NHE3 (Na⁺ / H⁺ exchanger isoform 3) がCFTRに拮抗的に働き、腸での水分吸収が大きくなることを示している。よって、今回認められた糞水分率の低下は、CFTR阻害剤でCFTR機能を低下させ腸液分泌を抑制しただけでなく、NHE3のCFTR機能への拮抗的働きが糞水分率の減少をより顕著にする一因になったと考えられた。また、CFTRは腸神経システムにもみられCFTRinh172が電気刺激で誘導される筋収縮とアセチルコリン放出を阻害することから、CFTRが腸神経伝達を修飾することが示されており腸内通過時間遅延にも影響するのではないかと予想され、実際、本研究において、糞水分率の減少に先駆けて腸内糞通過時間の遅延が生じた²⁾。

CFTR 阻害剤の摂取は、体重だけでなく体重あたりの肝臓重量においてもC群との大きな違いはなく、

マウスの成長や健康状態への影響はなく2週間飼育可能なCFTR機能低下による便秘モデル動物として利用できると考えられる。また、糞水分率や腸内通過時間が、2週間の阻害剤摂取後、コントロール餌に切替えることにより速やかに回復を見せており、CFTR阻害剤の影響は摂取している間のみであった。即ち、腸の機能はCFTR阻害剤の摂取を止めることで通常の機能を回復しており、恐らく、CFTR阻害剤投与で認められた便秘症状はCFTR機能だけを抑制した結果だと考えられた。

まとめ

CFTR機能の重度の障害で発症する劣性遺伝性疾患の嚢胞性線維症は、肺だけでなく胃腸の組織にも重大な影響を及ぼす。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があり、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た。しかし、CFTR機能低下が便秘を発症するのかについて調べた研究は無い。そこで本研究では、腸に発現しているCFTRをターゲットとし、その機能を低下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毎日与え確認したところ、約2週間阻害剤を与えることで糞水分率が約10%減少し、糞通過時間は阻害剤投与8日目で遅延を生じた。また、それら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から、腸でのCFTR機能を抑制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。

謝辞

本研究は、JSPS 科研費 19K11804 の助成を受け行った。

引用文献

1) Bhattacharya B, Blankenheim Z, Scott PM and Cormier

- RT. CFTR and gastrointestinal cancers: An update. *J. Pers. Med.* (2022) 12, 868-889
- 2) Yeh1 KM, Johansson O, Perera DS. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulates enteric cholinergic activities and is abnormally expressed in the enteric ganglia of patients with slow transit constipation. *J Gastroenterol* (2019) 54, 994-1006
- 3) 岡田泰伸, 高橋信之, 浦本裕美. IV-1. 嚢胞性線維症に関わるCFTRチャネルおよびレギュレーターとしてのABC蛋白質. 植田和光編 (2005) ABC蛋白質, 101-133. 学会出版
- 4) Fujiki K, Ishiguro H, Ko S BH, Mizuno N, Suzuki Y, Takemura T, Yamamoto A, Yoshikawa T, Kitagawa M, Hayakawa T, Sakai Y, Takayama T, Saito M, Kondo T, Naruse S. Genetic evidence for CFTR dysfunction in Japanese: background for chronic pancreatitis. *J Med Genet* (2004) 41, e55
- 5) Millera AC, Comellasb AP, Hornickb DB, Stoltzb DA, Cavanaugh JE, Gerke AK, Welsh MJ, Zabner J and Polgreen PM, Cystic fibrosis carriers are at increased risk for a wide range of cystic fibrosis-related conditions. *PNAS* (2020) 117, 1621-1627
- 6) 富士審, 遠藤由香, 金澤素. 慢性便秘の治療—上皮機能変容薬, 胆汁酸トランスポーター阻害薬の使い分け. 日本内科学会雑誌 (2019) 108, 46-54
- 7) 日本消化器病学会関連研究会 慢性便秘の診断・治療研究会編 (2017) 慢性便秘症診療ガイドライン2017, 71. 南江堂
- 8) Oak AA, Chu T, Yottasan P, Chhetri PD, Zhu J, Bois JD, and Cil O. Lubiprostone is a non-selective activator of cAMP-gated ion channels and chloride channel protein 2 (Clc-2) has a minor role in its prosecretory effect in intestinal epithelial cells. *Mol Pharmacol* (2022) 102: 106-115
- 9) Norimatsu1 Y, Moran AR, and MacDonald KD. Lubiprostone activates CFTR, but not ClC-2, via the prostaglandin receptor (EP4). *Biochem Biophys Res Commun* (2012) 426, 374-379
- 10) Sawasvirojwong S, Srimanote P, Varanuj Chatsudthipong V, Muanprasat C. An adult mouse model of vibrio cholerae-induced diarrhea for studying pathogenesis and potential therapy of cholera. *PLoS Negl Trop Dis* (2013) 7(6) e2293
- 11) Shimotoyodome A, Meguro S, Hase T, Tokimitsu I, Sakata T. Decreased colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation. *Comparative Biochemistry and Physiology* (2000) Part A 126, 203-211
- 12) Tan X, Kini A, Römermann D and Seidler U. The NHE3 inhibitor tenapanor prevents intestinal obstructions in

CFTR-deleted mice. *Int. J. Mol. Sci* (2022) 23, 9993-10000

和文要約

CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) 機能の欠失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かについて調べた研究は無い。そこで本研究では、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確認した。その結果、阻害剤投与13日目で糞水分量 (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、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 ($p < 0.05$)。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 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機能を抑制したことによるものと推察された。

キーワード: CFTR, 便秘, マウス, CFTR 阻害剤

