

# 食餌による腸内細菌叢の変化が大黃甘草湯の下剤活性に及ぼす影響

## 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	たかやま けん 高山 健人
所属等	福山大学 薬学部薬学科 講師
プロフィール	岡山県倉敷市出身。平成 21 年福山大学薬学部生物薬学科卒業後、同年福山大学薬学部漢方薬物解析学研究室助手、平成 28 年同助教、平成 29 年博士（薬学）取得後、平成 31 年から同講師。漢方薬の作用メカニズムを明らかにするため、近年疾病の発症との関わりが解明され始めた腸内細菌叢に着目し、腸内細菌叢の変化を介した漢方薬の新たな作用メカニズムの解明を目指している。

## 1. 研究の概要

大黃甘草湯は、便秘症に対する効果が広く認められている漢方薬である。医薬品には、効果を示す人（レスポnder）と効果を示さない人（ノンレスポnder）の存在がよく知られており、東洋医学ではこのような個人差を証と定義して漢方薬の処方指針として重要視する。私は、大黃甘草湯における下剤効果の個人差は、食生活、特に食事による腸内細菌叢の違いが影響を及ぼすと考え、下剤効果と腸内細菌叢の変化についてマウスを用いて検討を行った。その結果、便秘症患者と腸内細菌叢が類似している高炭水化物および高脂肪飼料摂取下の腸内細菌叢において、大黃甘草湯の下剤効果は促進され、その効果に大黃成分の  $\text{rhein } 8\text{-}O\text{-}\beta\text{-D-glucopyranoside}$  (RG) が関与することを明らかにした。また、大黃甘草湯は腸内細菌叢を大きく変化させることで下剤効果を高めていることを解明した。一方で、高食物繊維飼料摂取下の腸内細菌叢において、大黃甘草湯の下剤効果は反対に抑制された。一般的に食物繊維の摂取により腸内環境は整えられ便通は改善することから、そのような状態にある患者には大黃甘草湯が適応しない、すなわち大黃甘草湯の証ではないと考えられる。本研究によって、食事による腸内細菌叢の違いが漢方薬のレスポnderとノンレスポnderを生み出す一因になっていることが明らかとなり、証と腸内細菌叢が深く関わっていることを証明した。

## 2. 研究の動機、目的

便秘の治療に頻用される大黃甘草湯は、大黃と甘草の 2 つの生薬から構成される漢方薬である。大黃甘草湯の主有効成分は大黃に含まれるセンノシド A (SA) で、ビフィズス菌などの腸内細菌叢によって代謝変換され下剤活性を示すと考えられている。しかし、漢方薬は複数の生薬を組み合わせる処方構成される複成分系薬物であるため、個々の成分の意義やそれらの相互作用などを十分に考慮する必要があり、構成生薬の主有効成分の薬理作用や薬物動態のみで、漢方薬の本質や特徴的な薬効を説明することは困難である。そこで申請者は、大黃甘草湯成分は腸内細菌叢による代謝

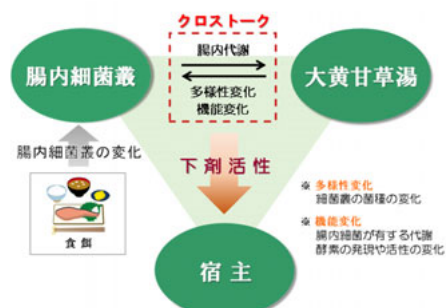


図1. 漢方薬と腸内細菌叢のクロストークの解明

変換だけではなく、腸内細菌叢の多様性や酵素活性など腸内細菌叢の機能に影響を及ぼしているのではないかと、すなわち、大黄甘草湯と腸内細菌叢のクロストークによって、大黄甘草湯の作用が宿主に発現しているという作業仮説を立て研究を進めている【図1】。

プルゼニドなど SA 製剤や大黄甘草湯などの緩下薬は、その薬効発現において大きな個人差（レスポnder、ノンレスポnder）のあることが知られている。一般的に東洋医学において、大黄甘草湯は比較的体力のある食欲旺盛な人の便秘症に適応するとされているが、科学的には主有効成分である SA が腸内代謝を介して作用を発現するプロドラッグであることから、その下剤活性の発現は大黄甘草湯のレスポnderやノンレスポnderと腸内細菌叢の違いに密接な関係性のあることが推測された。

そこで本研究では、飼料組成の異なる3種の食餌をマウスに給餌して腸内細菌叢を変化させた上で、大黄甘草湯や SA を5日間にわたり連日経口投与し、下剤活性変化と投与前後の腸内細菌叢の多様性変化を解析することで、食餌による腸内細菌叢の変化が大黄甘草湯の下剤活性に及ぼす影響について明らかにした。

### 3. 研究の結果

#### ① 食餌の違いは緩下薬の下剤効果に影響を及ぼす

高炭水化物飼料摂取下において SA 単独の下剤活性は有意に抑制された一方で、大黄甘草湯の下剤活性は有意に促進した（図1A）。そこで、この相違に関与する大黄甘草湯成分を明らかにするために、大黄甘草湯の下剤活性促進成分である RG およびリクイリチン（LQ）について SA に添加して下剤活性を評価した。その結果、RG は大黄甘草湯と同様に SA の下剤活性を有意に促進したことから、大黄甘草湯の下剤活性促進作用に RG が関与することが明らかとなった（図1A）。

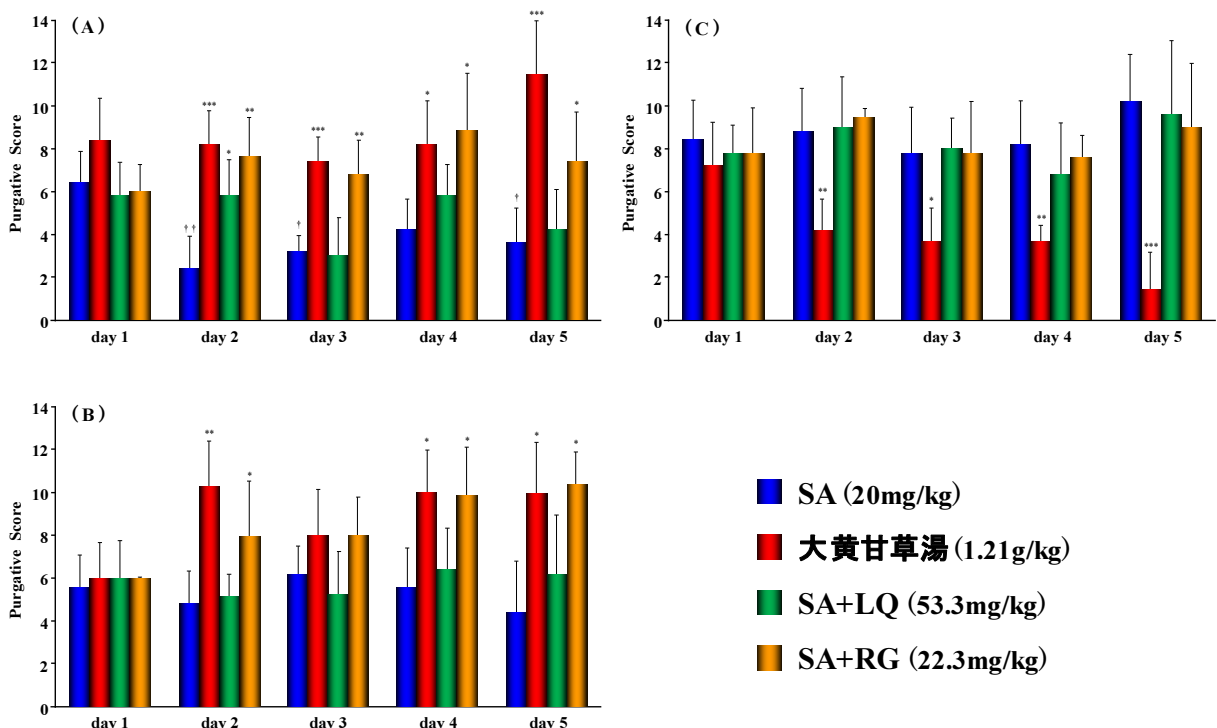


図2. 食餌の違いが及ぼす緩下薬の下剤活性への影響

(A) 高炭水化物飼料、(B) 高炭水化物飼料、(C) 高炭水化物飼料

Data points are presented as the mean ± standard deviation (SD) derived from five mice; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , and \*\*\* $p < 0.001$ , a statistically significant difference in relation to sennoside A (SA) using Bonferroni's multiple comparison test; †  $p < 0.05$  and ††  $p < 0.01$ , significantly different from SA on day 1 using Bonferroni's multiple comparison test.

高脂肪飼料摂取下においては、SA 単独の下剤活性は変化を認めなかったものの、大黄甘草湯の下剤活性は高炭水化物飼料摂取下と同様に有意な下剤活性の促進を認め、この作用にも RG の関与が認められた (図 1 B)。

高繊維飼料摂取下においては、SA 単独の下剤活性は 5 日間を通して高い下剤活性が維持された一方で、大黄甘草湯の下剤活性は有意に抑制された (図 1 C)。この抑制作用に RG や LQ は関与しておらず、他の大黄甘草湯成分の関与が推察された。一般的に食物繊維の摂取により、腸内環境は整えられ便通は改善することから、そのような状態下で大黄甘草湯の下剤活性が抑制される現象は東洋医学的に考えて大変興味深い結果である。現在、この抑制作用について大黄甘草湯を構成するどの生薬に起因する作用か、またどの成分による作用なのか検討を行っている。

## ② 大黄甘草湯は便秘症の腸内細菌叢の状態下で下剤効果を発揮する

3 種の飼料を給餌させた緩下薬投与前の腸内細菌叢を比較した結果、高炭水化物および高脂肪飼料摂取下における腸内細菌叢は高繊維飼料摂取下と比較して Firmicutes が多数を占め (図 2 A、B)、多様性も異なった。Zhu らによると、便秘症患者の腸内細菌叢において Bacteroidetes は有意に減少し Firmicutes は増加傾向にあること、また非便秘症患者と比較して  $\alpha$  多様性および  $\beta$  多様性は異なることを報告しており、また Vandeputte らは硬い便の  $\alpha$  多様性は高いことを明らかにしている。以上の報告から、本研究における高炭水化物および高脂肪飼料摂取下の腸内細菌叢は、便秘症患者の腸内細菌叢と類似していると考えられた。そこで、SA や大黄甘草湯を投与し腸内細菌叢の変化を解析したところ、いずれの緩下薬の投与においても Bacteroidetes の存在比は大幅に増加した (図 2 A、B)。硬い便で多いとされる Ruminococcaceae は SA 単独投与ではほとんど変化しなかったが、大黄甘草湯投与により大きく減少した。また、Enterobacteriaceae は、高炭水化物飼料摂取下において下剤活性が抑制された SA 単独投与では変化しなかったが、大黄甘草湯投与により 100 倍近く増加した。

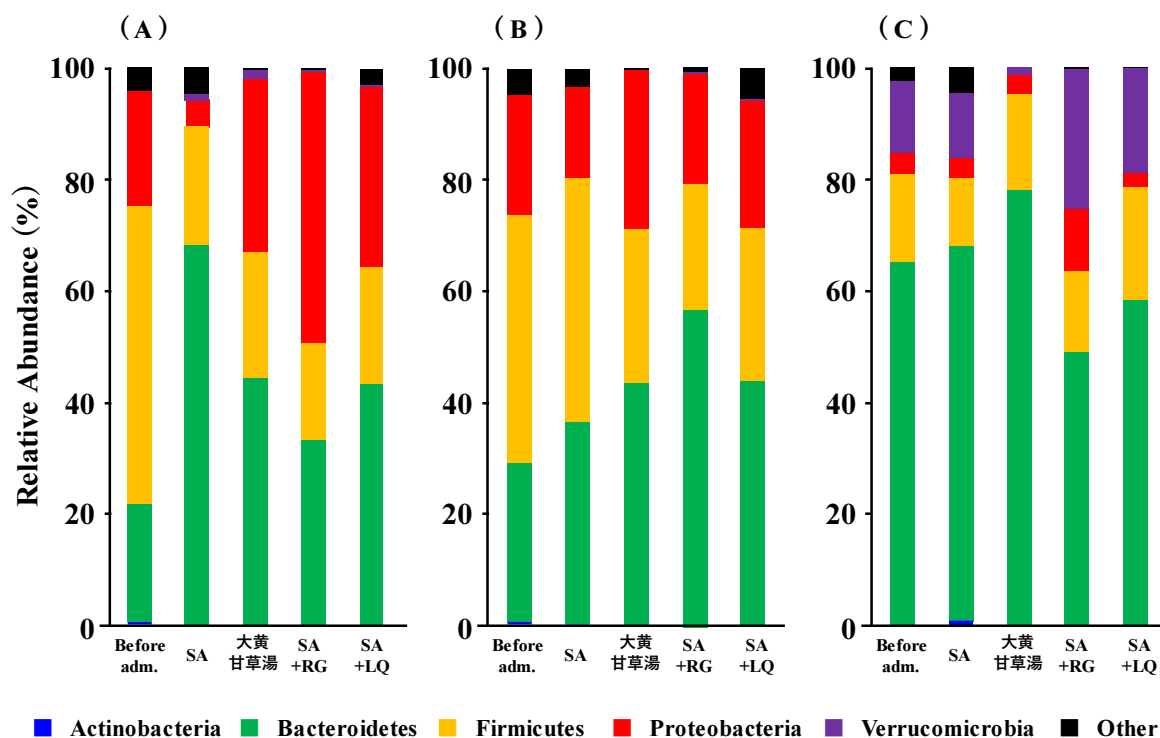


図 3. 緩下薬の投与による腸内細菌叢の変化

(A) 高炭水化物飼料、(B) 高炭水化物飼料、(C) 高炭水化物飼料

一般的に Enterobacteriaceae には下痢などを引き起こす細菌種も含まれており、それらの細菌種の増加と下剤活性の促進作用に関連性が認められた。以上の結果から、SA や大黃甘草湯の下剤効果は食餌による腸内細菌叢の変化に左右され、特に大黃甘草湯は便秘症の腸内細菌叢に類似した状態下において下剤効果を発揮することが明らかとなった。

#### 4. これからの展望

本研究から SA や大黃甘草湯のレスポonder、ノンレスポonderは食餌による腸内細菌叢の状態により決定づけられ、特に大黃甘草湯は RG の作用によりレスポonderに対して下剤効果をより高めることが明らかとなった。臨床では、SA は西洋医学的な診断基準に基づいて処方される。しかし、大黃甘草湯は東洋医学的な診断基準、すなわち漢方薬の適応となる症状（証）に基づいて処方が決定される。本研究から食餌による腸内細菌叢の違いは漢方薬の適応となる証を決める一因になっている可能性を強く示唆した。東洋医学において、治癒は漢方薬など医術だけで臨むものではなく、普段の食生活など生活習慣、すなわち養生が重要であるとされる。これにより腸内細菌叢は決定づけられ、体質だけではなく薬の効き方まで左右していることが本研究から明らかとなった。

本研究成果を基に現在は、腸内細菌叢を介した腸管免疫やマウスの行動特性を指標に漢方薬と腸内細菌叢のクロストークが及ぼす影響について解明を試みている。

#### 5. 社会に対するメッセージ

本研究から、食餌による腸内細菌叢の違いが便秘症の治療に頻用される大黃甘草湯の薬効発現を左右するという事実を証明することができ、その成果を発表することができました (Takayama K., *et al.*, *Sci Rep*, doi:10.1038/s41598-019-40278-2, 2019)。近年、薬の効果が腸内細菌叢の違いによって異なるという事実は、PD-1 を標的とするチェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果においても認められており (Routy B. *et al.*, *Science*, 2018)、漢方薬だけではなく抗がん剤など西洋薬の薬効発現も腸内細菌叢との関連性は指摘され始めました。この度の若手奨励金により遂行することができた本研究から様々な知見を得ることができ、現在新たな研究の進展に活かすことができています。今後、薬の薬効と腸内細菌叢の変化は重要視されると考えられ、私もその一躍を担えるよう努力を積み重ね、研究成果を社会に還元できるよう邁進していく所存です。