

【第129回生涯教育講座】

リーキーガット症候群 (Leaky Gut Syndrome) と疾患
—NASH 発症との関連性を中心として—わ だ こう いち ろう
和 田 孝 一 郎

キーワード：リーキーガット症候群, NASH, 腸粘膜

はじめに

リーキーガット症候群 (Leaky Gut Syndrome) とは腸管壁侵漏症候群 (Increased intestinal permeability) とも呼ばれており、本来であれば透過しないような分子量の大きな物質や食物アレルギー、外来性毒素などが腸粘膜から体内に漏れ出してしまう状態である。リーキーガット症候群に関してはこれまであまり注目されていなかったが、昨今の健康志向や腸内細菌ブームと相まって世間の関心を集めるようになってきた。しかしながら世間が注目する一方でリーキーガット症候群に関する研究はこれまであまり進んでいない状態であり、不明な点が多いのが現状である。特に様々な全身性の疾患発症との関連性についていろいろ指摘はされているが、殆どわかっていないのが現状である。

それではリーキーガット症候群のような腸粘膜の異常な亢進はなぜ引き起こされるのであろうか？ 透過性の異常亢進であるリーキーガット症候群がどのようにして様々な疾患を引き起こしているのであろうか？ リーキーガット症候群はど

のように診断できるのであろうか？ リーキーガット症候群は治療が可能なのか？ 治療が可能であるとするならば、治療することでリーキーガット症候群が原因で発症している様々な全身性疾患を改善することができるのであろうか？ そこで本稿ではこれらの多くの疑問に対して現在わかっている範囲で概説をくわえたうえで、我々の最近の成果をもとにリーキーガット症候群治療による非アルコール性脂肪肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis, NASH) の改善効果などについて解説する。

リーキーガット症候群とは：リーキーガット症候群とは前述のごとく腸管壁侵漏症候群とも呼ばれる状態であり、本来であれば透過しないような分子量の大きな物質や食物アレルギー、外来性毒素などが腸粘膜から体内に漏れ出してしまう状態のことを指している¹⁻⁴⁾(図1)。その名の通り正式な疾患名ではなく、あくまで状態をあらわしているにすぎない。いわゆる腸粘膜の透過性が異常に亢進している状態である。それではこのような腸粘膜の異常な亢進はなぜ引き起こされるのであろうか？

我々哺乳類は基本的に消化管から必要な栄養を吸収して生命活動を維持している。消化管では腸

Koichiro WADA

島根大学医学部薬理学講座

連絡先：〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1

島根大学医学部薬理学講座

粘膜から様々な生体に必要な物質を「吸収」という形で透過させているが、タンパクなど分子量の大きな物質や細菌由来エンドトキシンなどの物質は透過できないバリア機能が存在している。紙面の都合で詳細は割愛するが、単糖類やアミノ酸は通過できるが多糖類やペプチドはそのままでは通過できない、といった具合である。この腸粘膜のバリア機能は主として上皮細胞と粘液層で形成されており、豊富な血流がその機能維持に重要であるとされている^{2,5-8)}。しかしながらストレスや血流障害がおこるとこれらの機能が低下する場合がある。またある種の薬物や化学物質、食物抗原などもバリア機能を障害しリーキーガット症候群を引き起こすことが報告されている^{2,5-10)}。実際にそのような薬物として非ステロイド性抗炎症薬がリーキーガット状態を引き起こす可能性があることも報告されている¹¹⁾。非ステロイド性抗炎症薬といえば胃粘膜障害が有名であるが、腸粘膜に対する障害作用も有していることが最近明らかになりつつある。しかしながら胃粘膜障害に比べて認

知度が低い原因は、自覚的症状として現れにくいことがこれまで注目されなかった一因ではないかと思われる。このほか、免疫系の異常や炎症、ある種の腸内細菌が腸粘膜透過性の機能維持に重要な役割を果たしていることが報告されている。特に特定の腸内細菌や腸内細菌叢の変化がリーキーガット状態の発現に密接にかかわっていることも報告されている^{5,10,12-14)}(図1)。

リーキーガット症候群と各種全身疾患との関連性：それでは腸粘膜透過性の異常亢進状態であるリーキーガット症候群がどのような全身性の疾患を引き起こすのであろうか？ それはどのような機序(メカニズム)で疾患を引き起こしているのであろうか？ これまでの多くの報告からリーキーガット症候群と非アルコール性脂肪肝炎、慢性腎障害、炎症性腸疾患、食物アレルギー、糖尿病、喘息、アトピー性皮膚炎、自閉症、統合失調症、循環器疾患、うつ病、など数多くの疾患との関連性が指摘されており^{1,2,15-20)}、あたかもリーキー

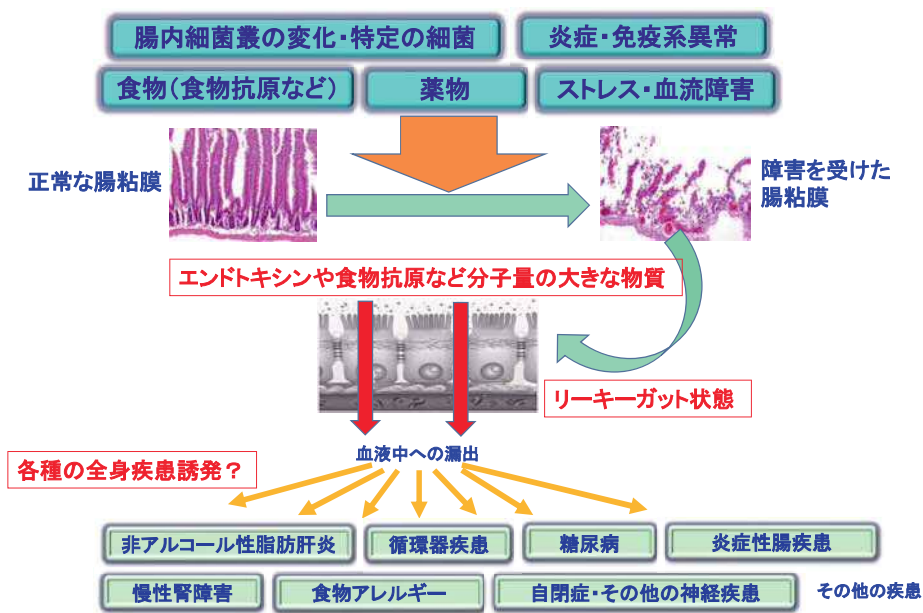


図1：リーキーガット症候群と全身疾患

ガット症候群が万病を引き起こす原因のような扱いである (図1参照)。加えて腸内細菌の産生する様々な物質が我々の健康状態を左右しており、腸内細菌叢の変化自体が炎症性腸疾患や循環器疾患、慢性腎障害の発症や各種の疾患に関連する可能性があることは多くの報告からも明らかである²¹⁻²³⁾。腸内細菌の産生する様々な物質は結局、腸粘膜を通して我々の体に取り込まれるため、腸内細菌とリーキーガット症候群が様々な疾患発症に大なり小なり関連しているという主張はかなり説得性のあるものに聞こえる。しかしながら一方でリーキーガット症候群がどのようなメカニズムで様々な疾患の発症を誘発するのかを明らかにしていくことが科学的な証明であり、そうでなければあくまで推論の域を出ないことになる。紙面の都合上すべての疾患について細述することはできないので、本稿では非アルコール性脂肪肝炎について、リーキーガット症候群との関連性を我々の研究成果をもとに考察することとする。

リーキーガット症候群と非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) : 非アルコール性脂肪性肝疾患 (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) は顕著なアルコール摂取がない(男性で1日あたり20~30g未満、女性で10~20g未満の摂取)にもかかわらず肝臓に脂肪蓄積を認める疾患で、ウィルスなど他の肝疾患を除外した場合がNAFLDであるとされる²⁴⁻²⁷⁾。NAFLDの中には複数の病態が含まれており、脂肪蓄積はあるが病態がほとんど進行しない非アルコール性脂肪肝 (Non-alcoholic fatty liver, NAFL) と、脂肪変性やバルーン様変性に加えて炎症・線維化が顕著であり肝硬変や肝がんに進展する非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) が含まれる²⁴⁻²⁷⁾ (図2)。肥満など生活習

慣の変化により世界的な患者数は増加の一途をたどっており、日本でも1,000万人をこえるNAFLD患者がいると推定されるが詳細は明らかになっていない。このうち特に注目を集め問題視されているのがNASHである。これまでの多くの報告から、NASHではNAFLやその他の一般人と比較して予後が不良であり、肝臓関連死が有意に高い²⁷⁻²⁹⁾。これに加えてNAFLD/NASHの死因は心血管イベント、悪性疾患、肝疾患の順に多いことも報告されている²⁴⁻²⁹⁾。患者数の増加や予後、高い心血管イベントによる死亡率などを考慮すると、NASHの発症を予防し病態の進展を抑制することは非常に重要であると考えられる。

それではリーキーガット症候群がNASHの発症・進展にどのようにかかわっているのでしょうか？ 現在受け入れられている一般的なNASH発症メカニズムは、食生活などの生活習慣やインスリン抵抗性・糖尿病、脂質異常症など様々な要因により肝臓に脂肪蓄積がおこり、単純性脂肪肝 (Simple steatosis) と呼ばれるNAFLとなる。この状態に更なる要因が加わることで炎症・線維化が進展しNASHの状態となると考えられている²⁴⁻²⁹⁾ (図2)。もちろんすべてのNASHがこのような過程をたどるわけではないが、脂肪蓄積状態にさらなる要因が加わることでNASHに進展している可能性は非常に高いと考えられる。炎症・線維化を進展させる要因としては酸化ストレスや脂質過酸化、各種のサイカイン、ミトコンドリア機能異常などが指摘されているが、最も重要とされているのがエンドトキシン (Endotoxin) である。エンドトキシンはLipopolysaccharide (LPS) と呼ばれるグラム陰性菌の細胞壁構成成分であり、その名の通り内毒素とも呼ばれ極めて微量で発熱や炎症反応を引き起こすことが知ら

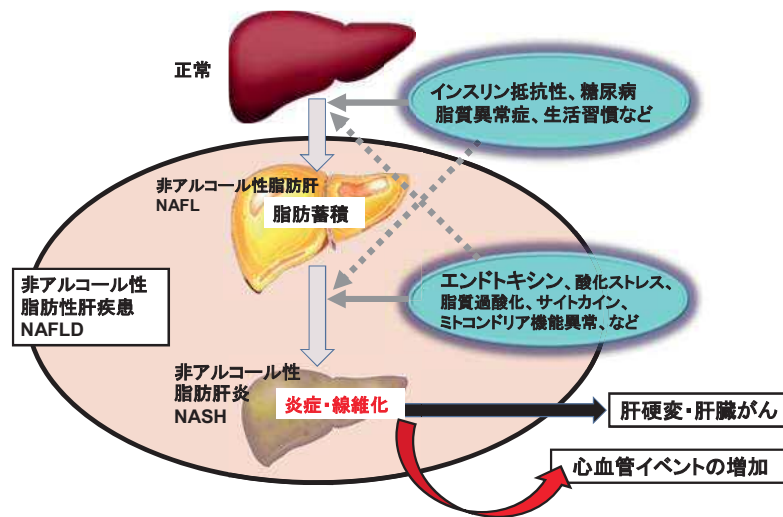


図2：非アルコール性脂肪肝炎発症の概略

れている^{30,31)}。作用機序としてはマクロファージや樹状細胞の表面に発現している Toll-like receptor-4 (TLR4) に結合することで NF- κ B 経路を活性化し、炎症性サイトカインである TNF- α や IL-1, IL-6 など を産生する。産生された各種サイトカインにより炎症反応が惹起されることになる^{30,31)}。我々のグループを含めて多くの論文でエンドトキシンが NASH 発症・進展に重要な役割を果たしていることを報告しており、実際に NASH 患者では血中のエンドトキシンレベルが有意に高い、という報告も非常に多い³²⁻³⁴⁾。

それでは細菌由来と言われているエンドトキシンのソースはどこなのか？ 現在考えられている主なソースは口腔内細菌と腸内細菌である³³⁻³⁷⁾。紙面の都合で口腔細菌に関する記述は他の書物に譲るが、腸内細菌由来のエンドトキシンも NASH 発症における炎症・線維化に重要な役割を果たしている³²⁻³⁴⁾。しかしながらエンドトキシンの分子量は5,000から8,000と言われており、通常であれば腸粘膜を透過して循環血中に現れることは少ない。ここに腸粘膜が異常に亢進した状態であるリーキーガット症候群が関与していると考え

えられる (図1参照)。すなわち前述の腸粘膜透過性を亢進させる様々な要因でまず低分子の物質の透過性が亢進する。その後、エンドトキシンなどの高分子の物質の透過性も亢進するようになると思われる。腸粘膜から透過した物質は門脈を経て肝臓に到達する経路が重要であり、肝臓はこれらの物質の標的となりやすい³²⁻³⁴⁾。エンドトキシンは炎症・線維化を誘発するため、循環血中でエンドトキシンレベルが高いということは、とりもなおさず肝臓への線維化リスクが高いとも考えられる。実際に NAFLD 患者を用いた解析で、低分子の透過性が亢進している患者よりもエンドトキシンなど高分子の透過性亢進が見られる患者でより肝臓の線維化が亢進していることが確認されている^{32-34,38)}。それではリーキーガット症候群を改善し、エンドトキシンの腸粘膜からの透過を抑えることができれば NASH の発症を抑制したり、進行中の NASH 状態を改善することができるのであろうか？

リーキーガット状態改善による NASH 治療：「風が吹けば桶屋が儲かる」という諺があるが、「便

秘の治療薬を飲めば NASH が治る」, といえは皆さんどう思われるであろうか? 最近, 我々は横浜市立大学と共同で便秘治療薬であるルビプロストン (商品名 アミティーザ) が NASH 状態を改善することを報告している³⁹⁾。ルビプロストンは腸粘膜に存在するクロライドチャンネル-2 を特異的に活性化することによりクロライドイオンを含む分泌物が増加し, 便の軟化や腸管の運動性を高め, 結果として自発的排便を促進するという薬物である⁴⁰⁾ (インタビューフォーム)。慢性便秘症などへの適応があるが, 我々はこれまでにルビプロストンがヒトにおいて腸粘膜の異常透過性, いわゆるリーキーガット状態を改善する, という結果を報告している⁴¹⁾。この知見とこれまでの NASH 患者ではリーキーガット状態により腸粘膜透過性が亢進しているという報告から, ルビプロストンの長期投与によりリーキーガット状態を改善すれば, NASH の治療につながるのではないか, という仮説を立てた⁴²⁾。

すなわち過去に便秘の既往歴はあるが, 現在は

便秘の症状はなく服薬もしていない NASH/NAFLD 患者に対し, 便秘治療で用いる量よりも少ない投与量である 24 μg または 12 μg を 1 日 1 回経口投与 (便秘治療は通常, 24 μg を 1 日 2 回経口投与) を 12 週間行って腸粘膜透過性, 肝機能, 肝臓への脂肪蓄積, その他を評価した。詳細は Lancet Gastroenterology & Hepatology³⁹⁾ に掲載された内容を参照していただければ幸いであるが, 要点を述べると, 24 μg または 12 μg を 1 日 1 回経口投与した両群で, プラセボ対象群と比較して腸粘膜透過性の異常亢進が有意に抑制された。その結果, Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), GGT (gamma-glutamyltranspeptidase) といった肝機能の指標が有意差をもって改善された (図 3)。さらに肝臓への脂肪蓄積も改善されていた。一方で体重や BMI, 血中脂質などに有意な変化は認められなかった。これらの結果は腸粘膜の異常亢進状態であるリーキーガット症候群を改善することにより, NASH 状態が改善されることを初め

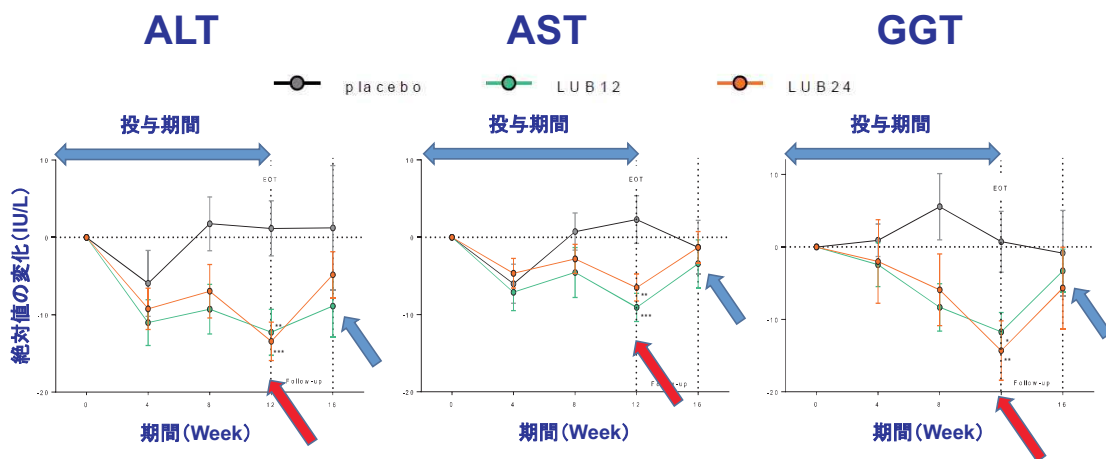


図 3 : ルビプロストン投与による肝機能の改善

ルビプロストン 24 μg (n=55 橙○) または 12 μg (n=50 緑○), あるいはプラセボ (n=45 黒●) を 1 日 1 回 12 週間経口投与し, その後 4 週間フォローアップした時の ALT, AST, GGT の絶対量 (IU/L) の変化を示す。赤矢印は 12 週間投与のエンドポイント時点の値, 青矢印はフォローアップ 4 週間後の値を示す (文献 39 より一部改変)。

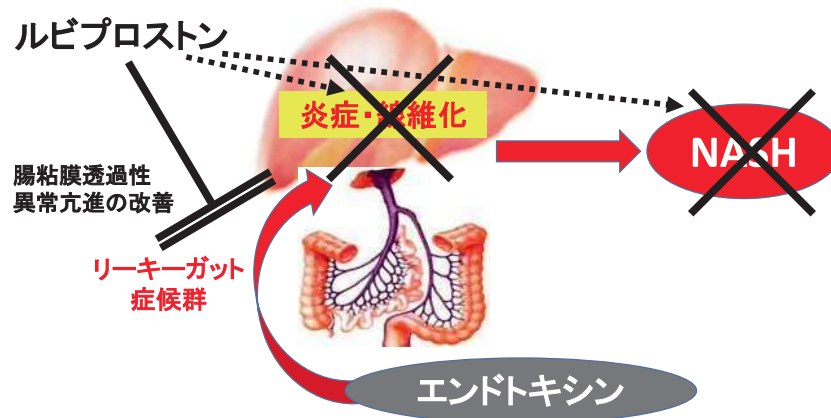


図4：ルビプロストンによる肝機能改善作用の機序（仮説）

て示したものである³⁹⁾。

その一方で「ルビプロストンはもともと便秘治療薬なので下痢によって脂質などの吸収が抑制され、結果的に肝機能が改善しただけではないか」というもっともな指摘もある。この点については、確かに24 μg 投与群で副作用として下痢が31%と高頻度で認められているが、12 μg 投与群ではそのような副作用はほとんど認められなかった。更に12週投与でも体重変化やBMIの変化が認められないこと、各種の血中脂質の値がほとんど変化していないことなどから可能性は低いと考えられる。これに加えて本研究ではルビプロストンに反応して腸粘膜透過性の異常亢進が改善するレスポナーと、投与しても透過性に変化が見られなかいノンレスポナーが存在することが明らかになった。興味深いことにルビプロストン投与で腸粘膜透過性が改善しなかったノンレスポナーでは、ALT, AST, GGTといった肝機能はほとんど改善しなかった。一方でレスポナーではこれらの肝機能の改善や脂肪蓄積の抑制がより顕著であり、腸粘膜透過性の改善とNASH状態の改善がよく相関することも確認された。

さらに本研究では、12週でルビプロストンの投

与を終了した後もフォローアップを行い、その後の透過性や肝機能などの変化についても検討を行った。驚くべきことにルビプロストンの投与終了後4週間でALT, AST, GGTといった肝機能は投与前のレベルまで戻ってしまっていた。これらの結果は腸粘膜透過性はルビプロストンなど薬物投与によって一時的に改善可能であるが、投薬などの積極的介入をやめると元の透過性の高い状態に戻ることを示している。さらに加えて言えば、リーキーガット症候群など腸粘膜透過性が高い人は、もともと何らかの透過性が高くなる要因が存在し続けていることも示しており、非常に興味深い。今後はリーキーガット症候群を誘発する要因を明らかにしていく研究が必要であり、これによってリーキーガット症候群を予防したり改善したりすることが可能になると思われる。今回の研究では、「過去に便秘の既往歴はあるが現在は便秘が改善されて薬を飲んでいない人達」がルビプロストン投与の対象者であったため、便秘との関連性は完全には否定できない。今後は全く便秘とは関係のない人達を対象とした大規模臨床試験によるルビプロストンの有効性の確認が必要になってくるであろう。また、数年といった長期の投与

ではないため、線維化などに関する明確な効果は今後の課題となろう。いずれにしても今回の報告では、ルビプロストン投与だけでNASH/NAFLD状態の改善効果が認められたことが最も注目すべき点であろう。

NASHに対する有効な薬物治療法はまだまだ確立されておらず、様々な作用機序の薬物が臨床試験の段階に入っている。これらの薬物の有効性が確認されて広く使われるようになるためにはいましばらくの時間が必要である。またNASH治療薬は線維化など予後を改善するための長期投与が必要であり、長期投与による副作用リスクも無視できない。その点、今回のように既存の薬の適応を拡大し、他の疾患へ使用できるようにしていくドラッグディポジショニングの手法は効果対費用の面からも、安全性の面からも有効な方法であると思われる。

リーキーガット症候群研究の課題：ここまでリーキーガット症候群はなぜ引き起こされるのか、どのような全身疾患を引き起こす可能性があるのか、どのような機序で様々な疾患を引き起こすのか、リーキーガット症候群は治療可能か、治療によって全身疾患が改善するのか、などの項目についてNASHを中心として述べてきた。それではリーキーガット症候群研究の今後の課題は何であろうか？

実はリーキーガット症候群の正式な定義、診断基準などがいまだに確立されていないという根本的な問題が存在している。すなわち、どれぐらいの分子量が腸粘膜から透過すればリーキーガット症候群と定義されるのか、リーキーガット症候群の程度（重症・中等度・軽症）の区別はどのようになっているのか、など根本的な項目が定まって

いないのが現状である。この原因はリーキーガット症候群の診断法が完全には確立されていないからである。これまで述べてきたヒトでの多くの報告やルビプロストン投与研究などで使用してきたリーキーガット症候群の診断方法は、ラクツロース・マンニトール試験という分子量342と分子量182の大きさの糖の透過性を比較することで低分子の透過性を評価する、という方法である⁴³⁾。もう一つの方法は血液中のエンドトキシンレベルを直接測定する方法であり、これが分子量の大きな物質の透過性を示していると考えられている。しかしながらヒトにおいて分子量1000~4000の大きさの分子量の透過性を直接測定し、比較する方法はいまのところ存在していない。この分子量の透過性を正確に測定できれば、リーキーガット症候群の「程度」（軽症・中等度・重症）が比較できるようになる。

我々はこの問題をクリアするために、ヒトで使用できる新規のリーキーガット症候群診断試薬の開発を本学消化器内科 石原俊治教授のグループと共同で進めている。本試薬を用いることで分子量1000, 4000, 8000の大きさの物質の透過性を正確に測定することができることから、いわゆるリーキーガット症候群の「程度」（軽症・中等度・重症）を比較できる可能性がある。さらにこのシステムを使って詳細な研究を行うことにより、リーキーガット症候群を誘発する諸因子の解明、リーキーガット症候群発症の詳細なメカニズムの解明、リーキーガット症候群によって引き起こされる各種全身疾患発症との詳細な関連性を明らかにすることができると考えている。

おわりに：リーキーガット症候群という「状態」に関してはこれまで述べてきたように多くの解明

すべき点が残されており、不明な点が多いのが現状である。しかしながらこれまでの多くの研究から、腸内細菌叢と腸粘膜の透過性（いわゆる腸粘膜の状態）が我々の健康状態に大きな影響を与えていることは間違いない事実であろう。腸管を含

めた消化管は我々の体の中にあるとはいえ、あくまで外界、いわゆる「内なる外」であるといえる。そうだとすれば、腸粘膜は外界と我々の生体内をつなぐ重要な窓口であり、その状態が我々の健康に直結していることを意識すべきであろう。

引用文献

- 1) Quigley EMM, Leaky gut - concept or clinical entity? : *Curr Opin Gastroenterol*, 32: 74-79, 2016.
- 2) Camilleri M, Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans: *Gut*, 68: 1516-1526, 2019.
- 3) Hollander D, Kaunitz JD, The "Leaky Gut": Tight junctions but loose associations?: *Dig Dis Sci*, 65: 1277-1287, 2020.
- 4) Fasana A, All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases: *F 1000 Research*, 9: 69, 2020, doi.org/10.12688/f1000research.20510.1
- 5) Ahmad R, Sorrell MF, Batra SK, Dhawan P, Singh AB, Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent: *Mucosal Immunol*, 10: 307-317, 2017.
- 6) Turner JR, Intestinal mucosal barrier function in health and disease: *Nat Rev Immunol*, 9: 799-809, 2009.
- 7) Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Intestinal permeability - a new target for disease prevention and therapy: *BMC Gastroenterol*, 14: 189, 2014.
- 8) Odenwald MA, Turner JR, The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target?: *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 14: 9-21, 2017.
- 9) Michielan A, D'Inca R, Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: Pathogenesis, clinical evaluation and therapy of leaky gut: *Mediators of Inflammation*, Article ID 628157, 2015. doi.org/10.1155/2015/628157.
- 10) Álvarez-Mercado AI, Navarro-Oliveros M, Robles-Sánchez C, Plaza-Díaz J, Sáez-Lara MJ, Muñoz-Quezada S, Fontana L, Abadía-Molina F, Microbial population changes and their relationship with human health and disease: *Microorganisms*, 7: 68, 2019.
- 11) Endo H, Sakai E, Kato T, Umezawa S, Higurashi T, Ohkubo H, Nakajima A, Small bowel injury in low-dose aspirin users: *J Gastroenterol*, 50: 378-386, 2015.
- 12) Ukena SN, Singh A, Dringenberg U, Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 inhibits leaky gut by enhancing mucosal integrity: *PLoS One*, 2: e1308, 2007.
- 13) Leclercq S, Matamoros S, Cani PD, Neyrinck AM, Jamar F, Stärkel P, Windey K, Tremaroli V, Bäckhed F, Verbeke K, Timary P, Delzenne NM, Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity: *Proc Natl Acad Soc-USA*, doi.org/10.1073/pnas.1415174111, 2014.
- 14) Jakobsson HE, Rodriguez-Pineiro AM, Schutte A, The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier: *EMBO Rep*, 16: 164-77, 2015.
- 15) Li X, Atkinson MA, The role for gut permeability in the pathogenesis of type 1 diabetes - A solid or leaky concept?: *Pediatr Diabetes*, 16: 485-492, 2015.
- 16) Fukui H, Gut-liver axis in liver cirrhosis: How to manage leaky gut and endotoxemia: *World J Hepatol*, 7: 425-442, 2015.
- 17) Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo XM, Leaky gut as a danger signal for autoimmune diseases: *Frontiers in Immunol*, 8: Article 598, 2017.
- 18) Farshchi MK, Azad FJ, Salari R, Mirsadraee M, Anushiravani M, A viewpoint on the leaky gut syndrome to treat allergic asthma: A novel opinion: *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22: 378-380, 2017.
- 19) Obrenovich MEM, Leaky gut, leaky brain:

- Microorganisms, 6: 107, 2018.
- 20) Kiecolt-Glaser JK, Wilson SJ, Bailey ML, Andridge R, Peng J, Jaremka LM, Fagundes CP, Malarkey WB, Laskowski B, Belury MA, Marital distress, depression, and a leaky gut: Translocation of bacterial endotoxin as a pathway to inflammation: *Psychoneuroendocrinology*, 98: 52-60, 2018.
 - 21) Holmes E, Li JV, Marchesi JR, Nicholson JK, Gut Microbiota Composition and Activity in Relation to Host Metabolic Phenotype and Disease Risk: *Cell Metabolism*, 16: 559-564, 2012.
 - 22) Tidjani AM, Naud S, Khelaifia S, Bonnet M, Lagier JC, Raoult D, State of the Art in the Culture of the Human Microbiota: New Interests and Strategies: *Clin Microbiol Rev*, 34: e 00129-19, 2020.
 - 23) Ferreira RDS, Mendonça LABM, Ribeiro CFA, Calças NC, Guimarães RCA, Nascimento VAD, Gielow KCF, Carvalho CME, Castro AP, Franco OL, Relationship between intestinal microbiota, diet and biological systems: an integrated view: *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1-21. doi: 10.1080/10408398.2020.1836605., 2020.
 - 24) Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ, Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease: *Mayo Clin Proc*, 55: 434-438, 1980.
 - 25) Diehl AM, Goodman Z, Ishak KG, *Gastroenterology*, 95: 1056-1062, 1998.
 - 26) Angulo P, Nonalcoholic fatty liver disease: *N Engl J Med*, 18: 1221-1231, 2002.
 - 27) NAFLD/NASH 診療ガイドライン2014, 日本消化器病学会 (2014).
 - 28) Adams LA, Lymp JF, The natural history of non-alcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study: *Gastroenterol*, 129: 113-121, 2005.
 - 29) Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S, Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes: *Hepatology*, 44: 865-873, 2006.
 - 30) Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC, CD 14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein: *Science*, 249: 1431-1433, 1990.
 - 31) Delude RL, Savedra R Jr, Zhao H, Thieringer R, Yamamoto S, Fenton MJ, Golenbock DT, CD 14 enhances cellular responses to endotoxin without imparting ligand-specific recognition: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 9288-2929, 1995.
 - 32) Harte AL, da Silva NF, Creely SJ, McGee KC, Billyard T, Youssef-Elabd EM, Tripathi G, Ashour E, Abdalla MS, Sharada HM, Amin AI, Burt AD, Kumar S, Day CP, McTernan PG, Elevated endotoxin levels in non-alcoholic fatty liver disease: *J Inflamm*, 7, 15 (2010).
 - 33) Imajo K, Fujita K, Hyperresponsivity to low-dose endotoxin during progression to nonalcoholic steatohepatitis is regulated by leptin-mediated signaling: *Cell Metabolism*, 16: 44-54, 2012.
 - 34) Kessoku T, Imajo K, Characteristics of fecal microbiota in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients: A connection between endotoxin and NAFLD: *J Hepatol*, 64: S 189-S 190, 2016.
 - 35) Wada K, Kamisaki Y, Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases--from molecular mechanisms to clinical cases: Involvement of *Porphyromonas gingivalis* in the development of human aortic aneurysm: *J Pharmacol Sci*, 113: 115-119, 2010.
 - 36) Yoneda M, Naka S, Nakano K, Wada K, Endo H, Mawatari H, Imajo K, Nomura R, Hokamura K, Ono M, Murata S, Tohnai I, Sumida Y, Shima T, Kuboniwa M, Umemura K, Kamisaki Y, Amano A, Okanoue T, Ooshima T, Nakajima A, Involvement of a periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis* on the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease: *BMC Gastroenterol*, 12: 16, 2012.
 - 37) 和田孝一郎, 結束貴臣, 小川祐二, 今城健人, 米田正人, 中島淳, 「歯周病と非アルコール性脂肪肝炎」 pp 236-pp 245, ヒト常在菌叢と生理機能・全身疾患, 落合邦康監修, シーエムシー出版.
 - 38) Kessoku T, Imajo K, Characteristics of fecal microbiota in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease: A connection among gut-permeability, endotoxin and NAFLD: *Gastroenterology*, 152: S 1200, 2017.
 - 39) Kessoku T, Imajo K, Kobayashi T, Ozaki A, Iwaki M, Honda Y, Kato T, Ogawa Y, Tomeno W, Kato S, Higurashi T, Yoneda M, Kirikoshi H, Kubota K, Taguri M, Yamanaka T, Usuda H, Wada K, Kobayashi N, Saito S, Nakajima A, Lubiprostone in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase

- 2a trial: *Lancet Gastroenterol Hepatol*, doi: 10.1016/S 2468-1253(20)30216-8, 2020.
- 40) アミティーザ 添付文書, および医薬品インタビューフォーム (2018年12月改定 第10版).
- 41) Kato T, Honda Y, Kurita Y, Iwasaki A, Sato T, Kessoku T, Uchiyama S, Ogawa Y, Ohkubo H, Higurashi T, Yamanaka T, Usuda H, Wada K, Nakajima A, Lubiprostone improves intestinal permeability in humans, a novel therapy for the leaky gut: A prospective randomized pilot study in healthy volunteers: *PloS One*, 12(4):e 0175626. doi: 10.1371/journal.pone.0175626. eCollection 2017.
- 42) Kessoku T, Imajo K, Kobayashi T, Honda Y, Kato T, Ogawa Y, Tomeno W, Kato S, Higurashi T, Yoneda M, Kirikoshi H, Kubota K, Taguri M, Yamanaka T, Usuda H, Wada K, Saito S, Nakajima A, Efficacy, safety, and tolerability of lubiprostone for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adult patients with constipation: The LUBIPRONE, double-blind, randomised, placebo-controlled study design: *Contemporary Clin Trials*, 69: 40-47, 2018.
- 43) Gervasoni J, Primiano A, Graziani C, Scaldaferrì F, Gasbarrini A, Urbani A, Persichilli S. Gervasoni J, Validation of UPLC-MS/MS Method for Determination of Urinary Lactulose/Mannitol: *Molecules*, 23(10): 2705. doi: 10.3390/molecules 23102705. *Molecules*. 2018.