

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09008

研究課題名(和文) 肝硬変の小腸脂質吸収障害に対するBCAA(分枝鎖アミノ酸)の保護作用の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the protection of BCAA(branched-chain amino acid) for lipid intestinal absorption disorder in patients with liver cirrhosis.

研究代表者

竹下 英次 (Takeshita, Eiji)

愛媛大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：40750542

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：肝硬変患者での脂質、小腸での脂肪酸吸収、分枝鎖アミノ酸(BCAA)の役割は重要である。今回、BCAAの小腸での脂肪酸吸収への影響を検討した。食事由来脂肪酸の吸収動態を健常者と肝硬変患者(門脈圧亢進症合併別)で調べた。脂肪酸吸収は、肝硬変患者で健常者に比べ有意に低下し、門脈圧亢進症合併群でより顕著であった($p < 0.01$)。また、空腸生検での検討で門脈圧亢進症合併肝硬変群は健常者に比べて小胞体のカイロミクロン合成関連蛋白(FATP4とMTTP)の発現が有意に低下していた。肝硬変群での脂肪酸吸収低下は、BCAA投与で有意に軽減した。BCAAは肝硬変患者での吸収障害を改善する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fat lipid, especially dietary long-chain fatty acids (LCFAs) intestinal absorption, and branched-chain amino acid (BCAA) play very important role in patients with liver cirrhosis. In this study, we evaluate an influence of BCAA on LCFAs intestinal absorption. We investigate the distinction between healthy controls and liver cirrhosis with or without portal hypertension in LCFAs intestinal absorption. LCFAs intestinal absorption in patients with liver cirrhosis, especially these with portal hypertension, were significantly lower than in healthy control ($p < 0.01$). Molecular biological examination by small intestine biopsy specimens showed that the expression of FATP4 and I-FABP of liver cirrhosis with portal hypertension were significantly lower than those of healthy control respectively. BCAA improved LCFA absorption which were decreased due to liver cirrhosis. The possibility that BCAA improve LCFA small intestinal absorption in patients with liver cirrhosis was suggested.

研究分野：消化器病

キーワード：肝硬変 小腸 門脈圧亢進症

1. 研究開始当初の背景

(1)肝硬変は、日本では約40~50万人、世界では2,000万人ほど存在し、今後も増加が懸念される。肝硬変患者における低栄養状態は、肝不全、死亡リスクを上げ、特に体脂肪量低下は独立した予後不良因子である。肝硬変患者の6割は低栄養状態とされ、肝萎縮によるグリコーゲン貯蔵量、アミノ酸合成の低下は、エネルギー基質としての糖質・タンパク質の利用効率の低下を引き起こす。このエネルギー不足のため、肝硬変進行に伴いエネルギー基質の燃焼比率では、脂肪の割合が増加する。これらからも肝硬変患者での「脂質」は栄養状態を保つ上で健常者以上に重要な栄養素であると言える。また、脂質の主な供給源は、食事由来の脂肪酸群であり、これらの吸収動態の評価は肝硬変患者においては特に重要である。また、脂質の吸収は、上部空腸粘膜で行われるが、-3系、-9系脂肪酸を代表とする長鎖脂肪酸 (long-chain fatty acid : LCFA)は、肝における炎症軽減や発癌抑制などの報告があり特に重要である。この食事由来のLCFAは、肝硬変患者においては胆汁酸産生が低下による吸収低下が示唆されてきたが、実際にヒトで食事由来LCFAの吸収低下の有無、機序は十分に解明されていなかった。その要因は小腸LCFA吸収能評価の困難さにあった。

(2)小腸LCFA吸収能の評価方法として、これまで非放射性同位元素¹³C標識LCFA試薬を経口負荷し、その代謝産物である¹³CO₂を測定、解析する方法が報告されていたが、胃の排出時間の差が大きなバイアスとなる問題があった。特に肝疾患患者では、食物胃内停滞時間が健常人より延長していることが報告されており、従来法では評価が困難であった。そこで申請者らは、上部消化管内視鏡を用い、胃を介さず液状化¹³C標識LCFA試薬を直接十二指腸水平脚に投与する新たなLCFA吸収試

験法を開発し、肝疾患患者における食事由来LCFAの吸収動態を把握する事を可能にした。

(3)過去に申請者らは、過去に肝硬変患者の小腸絨毛粘膜の形態変化を報告、これにより小腸脂肪酸吸収能にも変化が生じていると考えた。前述の手法を用い、肝硬変患者における食事由来脂肪酸(中鎖脂肪酸およびLCFA)の吸収動態の変化と小腸脂肪酸吸収関連蛋白の発現について検討した結果、肝硬変患者では、そのままの形で吸収される中鎖脂肪酸の小腸粘膜吸収には変化がなかったが、カイロミクロンとして吸収されるLCFAの吸収が健常者に比し著しく低下していた。更にその機序には小腸小胞体におけるカイロミクロン合成関連蛋白(MTP: microsomal triglycerides transfer protein、FATP4:fatty acid transporter protein 4)の発現低下が関与することも報告した。

(4)肝硬変患者での分岐鎖アミノ酸(BCAA)の経口投与により、血清アルブミン値の改善、生存率やQOLの改善が得られることが報告されており、BCAAは低アルブミン血症を伴う進行した肝硬変患者に広く投与されている。しかしながらBCAAの作用としては、これまで筋肉における脂肪酸代謝促進作用、肝臓における脂肪酸代謝亢進作用は報告されているが、小腸粘膜上皮における脂肪酸吸収動態への作用はまだ明らかではない。BCAAの小腸粘膜障害に対する保護作用や上皮細胞増殖効果は報告されており、BCAAによる小腸LCFA吸収能改善の可能性に着目した。脂肪酸吸収障害を有する肝硬変患者に対するBCAAの影響、肝硬変の病態改善作用の検討は、肝硬変患者の予後改善に繋がる重要なものであると考えた。

2. 研究の目的

肝硬変患者の小腸の脂肪酸吸収障害の解明

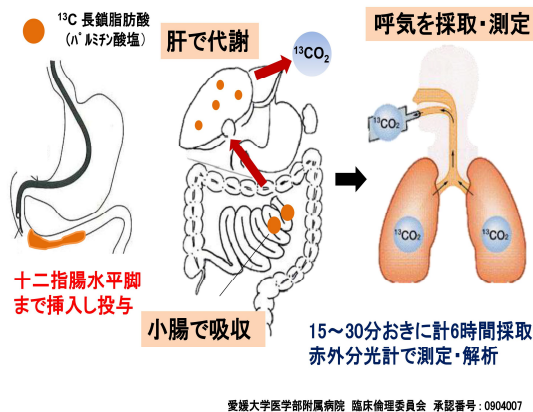
と BCAA の吸収障害への改善効果の有無、肝硬変患者の炎症、線維化、肝発癌への関与の有無を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 先行研究で確立した小腸 LCFA 吸収能の評価法 (図 1) を用い、これまでの測定結果と併せて健常者、肝硬変患者は門脈圧亢進症、BCAA の有無別で小腸 LCFA 吸収能を測定し BCAA の影響も評価する。

(2) 肝硬変患者における小腸生検組織で形態学的評価や脂肪酸吸収関連蛋白の分子細胞学的評価を行い、(1) で得られた変化との関連を解析する。上記で得られた知見と肝硬変の病態に關与するデータとの相関を解析する。

脂肪酸吸収の評価方法 (^{13}C 脂肪酸負荷試験)



愛媛大学医学部附属病院 臨床倫理委員会 承認番号: 0904007

図 1. 脂肪酸吸収の評価方法 (^{13}C 脂肪酸負荷試験)

4. 研究成果

$^{13}\text{CO}_2$ 呼気累積排出量 (AUC) は、特に投与後期 120-360 分において肝硬変患者では健常者に比べ有意に低下しており、門脈圧亢進症合併肝硬変群では他群より低下が顕著であった ($p < 0.01$) (図 2)。

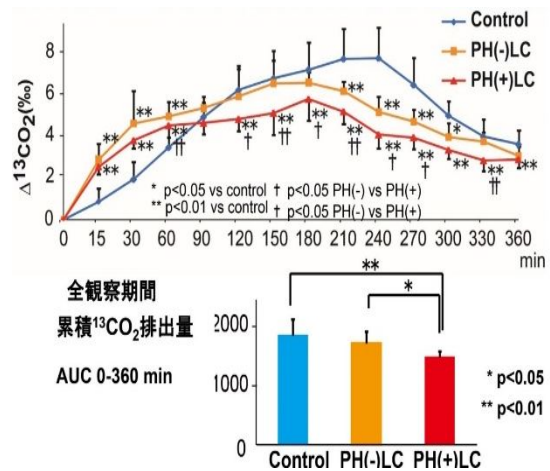


図 2. 肝硬変・門脈圧亢進症合併別に見た ^{13}C 長鎖脂肪酸 (パルミチン酸) 吸収

また、空腸生検組織において門脈圧亢進症合併肝硬変群は健常者群に比べて小胞体中存在する chylomicron 合成関連分子である FATP4 (Fatty Acid Transport Protein 4) と MTTP (Microsomal triglyceride transfer protein) の発現が有意に低下していた ($P=0.007$, $P=0.039$) (図 3)。

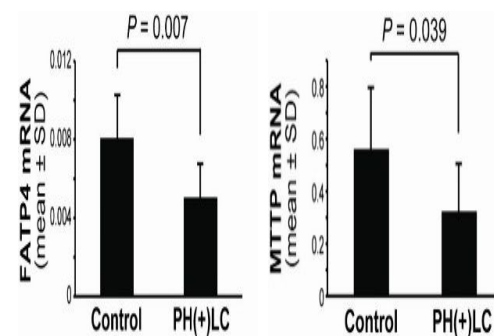


図 3. 門脈圧亢進症合併肝硬変患者と健常者でのカイロミクロン合成関連蛋白発現 (小胞体: カイロミクロン合成酵素; FATP4, MTTP)

BCAA の吸収への関与については、BCAA 群では食事摂取後の血清アポリポ蛋白の経時的変化からも改善が見られた (図 4)。さらに門脈圧亢進症合併肝硬変群で見られた $^{13}\text{CO}_2$ 呼気累積排出量 (AUC) の低下は、BCAA 投与群では、非投与群に比較し有意な改善が見られ

た(図5)。

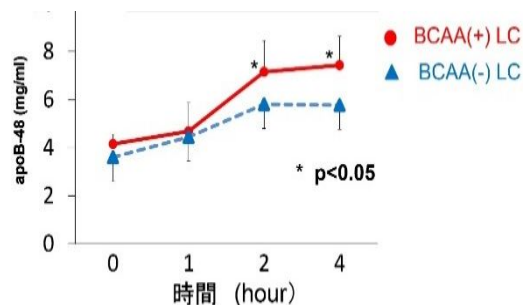


図4. BCAA 投与の有無別にみた血清アポリポ蛋白 B48 の食後の経時的変化

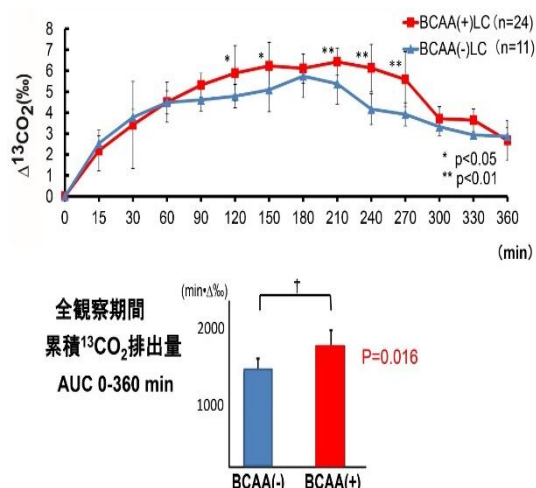


図5. BCAA 投与の有無別にみた肝硬変での¹³C 長鎖脂肪酸(パルミチン酸)吸収

門脈圧亢進症を伴う肝硬変患者では、食事由来脂肪酸の著明な吸収障害と小腸小胞体での chylomicron 合成関連分子の発現低下が見られた。また、BCAA 製剤はその吸収障害の病態を改善する可能性が示唆された。

<引用文献>

Alberino F et al. Nutrition and survival in patients with liver cirrhosis. Nutrition. 17:445-50, 2001

Tajika M et al. Prognostic value of energy metabolism in patients with viral liver cirrhosis. Nutrition

18:229-234, 2002

Yamamoto Y et al. Rapid alternative absorption of dietary long-chain fatty acids with upregulation of intestinal glycosylated CD36 in liver cirrhosis. Am J Clin Nutr. 96:90-101, 2012

5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計1件)

Utsunomiya H, Yamamoto Y, Takeshita E, et al. Upregulated absorption of dietary palmitic acids with changes in intestinal transporters in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). J Gastroenterol. 2017. 52(8):940-954. doi: 10.1007/s00535-016-1298-6. Epub 2017 Jan 6.

〔学会発表〕(計6件)

宇都宮大貴、山本安則ら「食事由来パルミチン酸の吸収変化が NASH の病態に与える影響」第 103 回日本消化器病学会 2017

竹下英次ら「静脈瘤破裂例からみた静脈瘤破裂の危険因子・緊急処置に関する検討」門脈圧亢進症学会 2017

宇都宮大貴、山本安則ら「NASH における小腸粘膜からの食事由来パルミチン酸の吸収動態変化と病態への影響」第 60 回日本糖尿病学会年次学術講演会 2017

竹下英次ら「脾臓摘出術および PSE による消化管への影響」門脈圧亢進症学会 2016

Yamamoto Y, Utsunomiya H, Takeshita E, et al. Upregulated intestinal absorption of dietary saturated fatty acids in non-alcoholic steatohepatitis. 25th The Asian Pacific

Association for the Study of the Liver.

2016

竹下英次ら「Budd-Chiari 症候群に合併
した食道静脈瘤の特徴に関する検討」門

脈圧亢進症学会 2015

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹下 英次 (Takeshita, Eiji)

愛媛大学・医学系研究科・寄付講座准教授

研究者番号：40750542

(2) 研究分担者

山本 安則 (YAMAMOTO, Yasunori)

公益財団法人がん研究会・有明病院・医員

研究者番号：20649066