

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10555

研究課題名(和文) 広範囲腸管切除後の腸管不全関連肝障害の実験的病態解明と新規治療法への展開

研究課題名(英文) Novel treatment and experimental etiology of intestinal failure-associated liver disease following massive bowel resection

研究代表者

向井 基 (MUKAI, Motoi)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：80468024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：短腸症候群モデルラットを用いた実験でグレリン投与により肝臓における炎症細胞浸潤および脂質沈着を防ぐこと、血清ASTおよびLDHの上昇を防ぐことがわかった。また大豆油脂肪乳剤を加えたTPN管理群(SOYBEAN OIL 群)では肝脂肪症を生じたが、魚油脂肪乳剤を加えたTPN管理群(FISH OIL 群)では肝脂肪症を認めなかった。魚油脂肪乳剤単剤投与でもTrien/Tetraene比; T/T比に基づく必須脂肪酸欠乏症を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

短腸症候群ラットを用いた実験で広範囲腸管切除後の腸管不全関連肝障害の病理学的変化が非アルコール性肝障害と類似することがわかり、広範囲腸管切除後の腸管不全関連肝障害の実験的病態解明と新規治療法開発は成人領域で頻繁にみられる非アルコール性肝障害にも応用できるものと思われる。グレリンや魚油が広範囲腸管切除後の腸管不全関連肝障害を軽減することがわかり臨床での応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The AST and LDH levels significantly increased, and the accumulation of lipids in the liver was observed in the short bowel syndrome Rat. The accumulation of lipids in the liver of the rats in the short bowel syndrome Rat was attenuated by the administration of ghrelin. The administration of ghrelin has a therapeutic potential for intestinal failure-associated liver disease.

No significant differences in the serum liver or biliary enzymes were noted between the soybean oil and fish oil groups. The pathological findings and non-alcoholic fatty liver dysfunction score in the fish oil group did not show steatosis and were significantly lower than in the soybean oil group. An analysis soybean oil of the fatty acids profile in the both the soybean oil and fish oil groups did not indicate essential fatty acid deficiency. Fish oil lipid emulsion may have a protective role against steatosis of intestinal failure-associated liver disease without essential fatty acid deficiency.

研究分野：小児外科

キーワード：IFALD NAFLD ghrelin fish oil soybean oil

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

小児の先天性小腸閉鎖症や腸捻転、また成人の上腸間膜動脈血栓症、術後絞扼性イレウス、クローン病などで広範囲腸管切除が行われると、重度の消化吸収障害をきたし長期的静脈栄養が必要となる。このような短腸症候群患者では腸管不全関連肝障害 (IFALD: Intestinal Failure Associated Liver disease) が発生し、治療に極めて難渋する。私たちは短腸症候群患者に IFALD を合併した場合、生存率が低下することを報告している。短腸症候群患者において腸管順応の促進と IFALD の発症予防および治療法の開発は喫緊の課題であった。

### 2. 研究の目的

広範囲腸管切除後の短腸症候群患者に発生する腸管不全関連肝障害 (IFALD) は治療が困難で新たな治療法の開発が求められている。私たちは長年にわたり短腸症候群モデルラットを用いて消化管ホルモンの残存腸管に対する作用解析を行ってきたが、同時にこのモデルが IFALD モデルとなることを報告した。我々は IFALD モデルラットを用いて IFALD 発症のメカニズム解明と、新たな予防法、治療法の開発をめざした。

### 3. 研究の方法

- (1) TPN 管理中の SBS 患者で観察される IFALD の予防として、大量腸管切除 + TPN モデルラットを使用し、大量腸管切除後の長期 TPN が引き起こす肝障害に対するグレリンの経静脈投与の効果を検討した。
- (2) TPN 管理を行った短腸症候群モデルラットで大豆及び魚油脂肪乳剤の肝障害に及ぼす影響と EFAD の評価を行った。

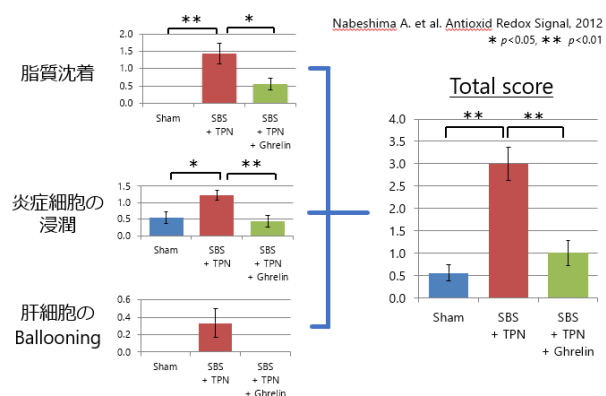
### 4. 研究成果

- (1) 90%大量腸管切除 + 13 日間の TPN 管理により、肝臓に胆汁うっ滞のない脂肪変性を生じた。
- (2) グレリン投与により体重変化および肝重量は有意差を認めなかった。
- (3) グレリン投与により肝臓における炎症細胞浸潤および脂肪変性を抑えることができた。SBS/TPN 群の Steatosis score、Inflammation score は Sham 群より有意に上昇していたが、Ballooning score は有意差を認めなかった。NAFLD score (total score) においても SBS/TPN 群は sham 群、SBS/TPN/Ghrelin 群より有意に上昇していた。SBS/TPN/Ghrelin 群の Steatosis score、Inflammation score および NAFLD score (total score) は、有意に SBS/TPN 群より低値で、Sham 群と同等であった (図 1)
- (4) グレリン投与により血清 AST および LDH の上昇を抑えることができた。T-bil は各群において上昇を認めなかった。
- (5) グレリン投与により肝組織内への脂質 (triglyceride, free fatty acid, cholesterol ester) の沈着を抑えることができた。

大量腸管切除 + TPN モデルラットにおいて肝障害が認められるという結果は既報がなく、新規性がある。本ラットモデルでは、

肝組織中の脂肪変性を認めたが、胆汁うっ滞および線維化は観察されなかった。臨床における IFALD では、新生児、乳児では胆汁うっ滞および線維化、成人では脂肪変性が多く観察されることが報告されており、本モデルでは成人に認められる非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease) 様の脂肪変性が観察されたと考えられる。また本モデルにおいてグレリン投与により肝組織の脂肪変性が抑えられたことから、グレリンは大量腸管切除 + TPN によって観察される肝障害を抑制する働きがあると考えられる。SBS 患者は症例数が少ないが、TPN 管理に難渋することが多いため、

図 1



本モデルを用いた基礎研究は重要な分野であり、今後、その病態メカニズムやグレリンの作用機序についての更なる追及が必要である。大量腸管切除 + TPN モデルラットに対し、経静脈的にグレリンを投与することで、モデルラットにおける肝組織の脂肪変性を抑制することを示した。グレリンが SBS 患者で、新たな術後栄養管理方法の一助となり得ることが示された。

(6) 80%小腸切除 + 大豆油脂肪乳剤を加えた TPN 管理群 (S0 群) では肝脂肪症を生じた。

80%小腸切除 + 魚油脂肪乳剤を加えた TPN 管理群 (F0 群) では肝脂肪症を認めなかった。S0 群の steatosis score は Sham 群、F0 群より有意に高かった (Sham 群、F0 群共に  $p < 0.01$ )。S0 群の inflammation score は Sham 群より有意に高かった ( $p < 0.01$ )。S0 群の NAFLD activity score は他の2群より有意に高値であった (Sham 群、F0 群共に  $< 0.01$ ) (表 1)

	Sham	S0 group	F0 group
Steatosis score	0.00 ± 0.00	1.30 ± 0.95 <sup>††</sup>	0.17 ± 0.41
Inflammation score	0.56 ± 0.53	1.20 ± 0.42 <sup>*</sup>	1.00 ± 0.00
Ballooning score	0.00 ± 0.00	0.30 ± 0.48	0.00 ± 0.00
NAFLD activity score	0.56 ± 0.53	2.80 ± 1.23 <sup>††</sup>	1.16 ± 0.41

表 1 NAFLD activity score \*  $p < 0.01$  vs. Sham, †

(7) 魚油脂肪乳剤単剤投与でも Trien/Tetraene 比; T/T 比に基づく必須脂肪酸欠乏症を認めなかった。

短腸モデルラットに大豆油脂肪乳剤を加えた群 (S0 群) では肝脂肪症を認め、非アルコール性脂肪性肝 (non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD) 型 IFALD の発症が確認された。短腸モデルラットに魚油脂肪乳剤を加えた群 (F0 群) では肝脂肪症を認めず、IFALD における肝脂肪症の予防に魚油脂肪乳剤が有効であることが示唆された。また、本実験モデルにおいては、魚油脂肪乳剤単剤投与でも脱毛・皮膚炎などの臨床症状を認めず、加えて T/T 比に基づく EFAD は確認されなかった。このことは IFALD 予防における魚油脂肪乳剤単剤投与の有効性と安全性の証明に繋がる可能性を示唆した。しかし、魚油脂肪乳剤単剤投与に伴うリスクは EFAD 以外にも脳神経系の発達障害リスクを報告する文献もあり、今後も継続して検討すべき課題である。大量腸管切除に長期 TPN 管理を行うという短腸症候群で経験する実臨床に則したモデルラットを作成し、NAFLD 型 IFALD を認めた点で臨床における有用性が高いと考えられる。加えて、NAFLD 型 IFALD に対して魚油脂肪乳剤の NAFLD 予防効果、魚油脂肪乳剤単剤投与における EFAD の発症が認められないことを示した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Onishi Shun, Kaji Tatsuru, Yamada Waka, Nakame Kazuhiko, Machigashira Seiro, Kawano Masato, Yano Keisuke, Harumatsu Toshio, Yamada Koji, Masuya Ryuta, Kawano Takafumi, Mukai Motoi, Hamada Taiji, Souda Masakazu, Yoshioka Takako, Tanimoto Akihide, Ieiri Satoshi	4. 巻 106
2. 論文標題 Ghrelin stimulates intestinal adaptation following massive small bowel resection in parenterally fed rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 59～67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.peptides.2018.06.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Onishi Shun, Kaji Tatsuru, Machigashira Seiro, Yamada Waka, Masuya Ryuta, Nakame Kazuhiko, Kawano Masato, Yano Keisuke, Yamada Koji, Kawano Takafumi, Mukai Motoi, Yoshioka Takako, Tanimoto Akihide, Ieiri Satoshi	4. 巻 53
2. 論文標題 The effect of intravenous lipid emulsions and mucosal adaptation following massive bowel resection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pediatric Surgery	6. 最初と最後の頁 2444～2448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jpedsurg.2018.08.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kaji T, Nakame K, Machigashira S, Kawano T, Masuya R, Yamada W, Yamada K, Onishi S, Moriguchi T, Sugita K, Mukai M, Ieiri S	4. 巻 47
2. 論文標題 Predictors of a successful outcome for infants with short bowel syndrome: a 30-year single-institution experience	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 1391-1396
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-017-1534-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shinyama S, Kaji T, Mukai M, Nakame K, Matsufuji H, Takamatsu H, Ieiri S	4. 巻 33
2. 論文標題 The novel preventive effect of Daikenchuto (TJ-100), a Japanese herbal drug, against neonatal necrotizing enterocolitis in rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 1109-1114
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00383-017-4145-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Machigashira Seiro, Kaji Tatsuru, Onishi Shun, Yamada Waka, Yano Keisuke, Yamada Koji, Masuya Ryuta, Kawano Takafumi, Nakame Kazuhiko, Mukai Motoi, Ieiri Satoshi	4. 巻 34
2. 論文標題 The protective effect of fish oil lipid emulsions on intestinal failure-associated liver disease in a rat model of short-bowel syndrome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 203 ~ 209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-017-4190-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Mukai M, Moriguchi T, Machigashira S, Kaji T, Sugita K, Yano K, Onishi S, Yamada K, Masuya R, Kawano T, Kawano M, Nakame K, Ieiri S
2. 発表標題 A randomized trial to compare the conventional three-port laparoscopic appendectomy
3. 学会等名 IPEG 's 27th Annual Congress for Endosurgery in Children (IPEG2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町頭 成郎、加治 建、大西 俊、川野正人、矢野圭輔、山田耕嗣、山田和歌、榎屋隆太、川野孝文、中目和彦、向井 基、家入里志
2. 発表標題 短腸ラットモデルを用いた腸管不全合併肝障害 (IFALD) に対する魚油由来脂肪乳剤の肝保護効果の検討
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町頭 成郎、加治 建、矢野圭輔、川野正人、大西 俊、山田耕嗣、山田和歌、榎屋隆太、川野孝文、中目和彦、向井 基、家入里志
2. 発表標題 短腸症候群モデルラットを用いた腸管不全合併肝障害 (IFALD) に対する 3系脂肪乳剤の肝障害予防効果の検討
3. 学会等名 第55回日本外科代謝栄養学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Machigashira S、Kaji T、Onishi S、Masuya R、Nakame K、Ieiri S
2. 発表標題 Does the fish oil lipid emulsion affect intestinal mucosal adaptation after massive small bowel resection in rats?
3. 学会等名 The 30th International Symposium on Pediatric Surgical Research and Update on New born (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	家入 里志  (IEIRI Satoshi)  (00363359)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授   (17701)	
研究分担者	大西 峻  (ONISHI Shun)  (10614638)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任助教   (17701)	
研究分担者	山田 和歌  (YAMADA Waka)  (20457659)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任助教   (17701)	
研究分担者	川野 孝文  (KAWANO Takafumi)  (40457651)	鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員   (17701)	
研究分担者	加治 建  (KAJI Tatsuru)  (50315420)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任教授   (17701)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	武藤 充  (MUTO Mitsuru)  (70404522)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師    (17701)	
研究分担者	中目 和彦  (NAKAME Kazuhiko)  (70448570)	宮崎大学・医学部・講師    (17601)	
研究分担者	町頭 成郎  (MACHIGASHIRA Seiro)  (80404523)	鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教    (17701)	
研究分担者	矢野 圭輔  (YANO Keisuke)  (30757919)	鹿児島大学・附属病院・特任助教    (17701)	