

令和 4 年 6 月 26 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08563

研究課題名(和文) 3系脂肪酸の肝庇護作用と脂質プロファイル網羅的解析による肝障害の新規治療戦略

研究課題名(英文) Novel therapeutic strategies for liver injury based on the hepatoprotective effects of n3 fatty acids and comprehensive analysis of lipid profiles

研究代表者

森井 真也子(morii, mayako)

秋田大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10375280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年、魚油由来脂肪乳剤の腸管不全合併肝障害に対する有効性が報告されており、本剤を投与した臨床例の脂肪性肝炎・肝線維化の改善を報告し、また本症例の血漿を用い、92種類の脂肪酸およびその代謝産物について解析し、複数の脂肪酸代謝産物が正常コントロールの4-10倍に増加していることを見出し Omegaven-induced-factors (OIFs) と名付けて報告した。さらに、OIFs を投与したマウス初代培肝細胞において胆汁酸代謝の律速酵素であるCIP7A1の発現が著明に誘導されることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

魚油由来脂肪製剤の肝庇護に対する作用機序はいまだ不明の点も多い。魚油中に豊富に含まれる 3系脂肪酸の抗炎症作用が主な作用とされてきたが、投与された患児脂肪プロファイルは正常コントロールと著しく異なっており、未知の生理活性を持ちうる代謝産物が複数検出されている。これらの物質の肝細胞、類洞壁細胞、炎症細胞への作用を読み解くことによって肝障害に対する新たな治療戦略を確立したことは、本剤の適応や投与法の検討から臨床に直結し社会的意義のあることであり、また脂肪酸代謝産物の生物学的意義を明らかにしたことは学術的に極めて重要である。

研究成果の概要(英文)：In recent years, the efficacy of fish oil-derived fat emulsion in the treatment of liver disorders complicated by intestinal insufficiency has been reported, and the improvement of fatty hepatitis and liver fibrosis in clinical cases treated with this emulsion was reported, and using plasma from cases treated with the emulsion, 92 fatty acids and their metabolites were analysed and several fatty acid metabolites were found to be 4-10 times higher than in normal controls and were named Omegaven-induced-factors (OIFs). Furthermore, the expression of CIP7A1, the rate-limiting enzyme of bile acid metabolism, was markedly induced in primary cultured hepatocytes of mice treated with OIFs.

研究分野：小児外科

キーワード：3系脂肪酸 肝硬変 腸管機能不全合併肝障害 短腸症候群

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸管より十分な栄養を吸収できない短腸症候群 (short bowel syndrome: 以下 SBS) において、中心静脈栄養のカロリー源として、また必須脂肪酸の補充として脂肪乳剤投与は必須である。1965 年 Wretling らによって大豆油を用いた脂肪乳剤が開発され、SBS の救命率は飛躍的に上昇し長期生存が可能となった。しかし欧米において 3 系脂肪酸補充のために使用されている 100%魚油由来の脂肪乳剤である Omegaven (Fresenius Kabi, Germany) が、腸管機能不全合併肝障害 (intestinal failure-associated liver disease: 以下 IFALD) の治療に効果があるとする報告を受け脂肪製剤の組成や投与方法に関して再評価が進んでいる。

長期の静脈栄養を必要とする小児では IFALD は高率に発症する。その要因の一つは新生児・乳児においては胆汁排泄障害により急激に進行する肝線維化であり、年長児においては非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis: NASH) を伴う肝線維化である。Park らは 2014 年 5 月までのメタ解析によって静脈栄養管理をうけた新生児の IFALD 発症率は 40-85% であり、胆汁鬱滞は植物油由来脂肪乳剤使用例においては腸管リハビリなど総合的な治療でおよそ 20% が改善したが、魚油を配合した脂肪乳剤を使用した場合の改善率はおよそ 60% であったと報告している。本邦で現在唯一薬事認可を受けた脂肪乳剤である大豆油由来脂肪乳剤 (Soy oil lipid emulsion: 以下 SOLE) から魚油由来脂肪乳剤 (Fish oil lipid emulsion: 以下 FOLE) への変更が IFALD による胆汁鬱滞を改善するという報告は多い。しかし、その採用機序ははまだ明らかではなく、SOLE に変えて本剤を脂肪酸補充のために使用した場合 IFALD の進行を長期的に抑制しうるのかということに関しても、臨床症例、実験的検証ともに報告はほとんどなく不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、SOLE が腸管不全合併肝障害の治療に有効であることに関して、その作用機序をあきらかにし、新たな治療戦略を構築することである。

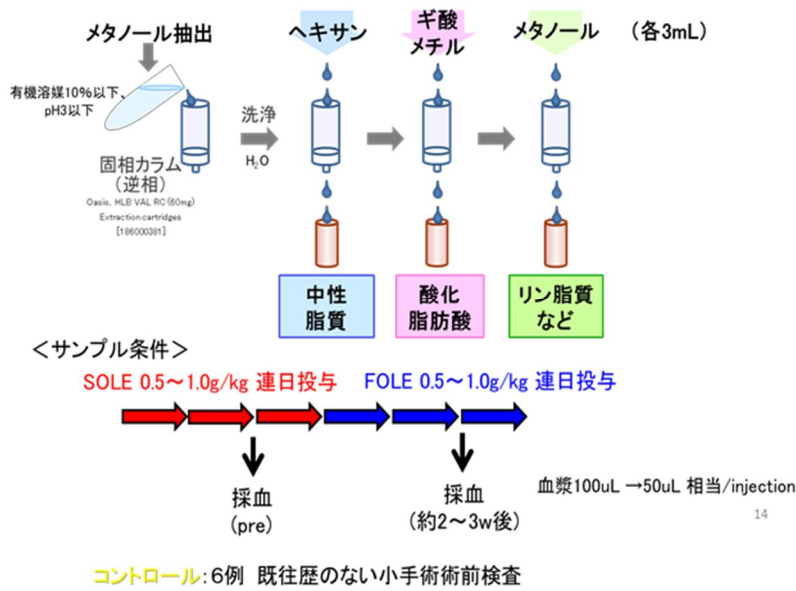
3. 研究の方法

あらたに、新生児期より完全中心静脈栄養を必要とし予後不良が予想される重症 IFALD を発症した乳児 2 症例に対して、臨床研究として SOLE を投与した。この 2 症例は致命的胆汁鬱滞より回復した。これは、秋田大学倫理委員会の承認 (受付番号: 680 肝機能障害を伴う腸管不全症例に対する 3 系脂肪乳剤による治療) を得て、規定に

従い十分なインフォームドコンセントのもと施行した。本症例の血漿について、以前に報告した短腸症候群の学童症例2例と同様の手法によって、92種類の脂肪酸およびその代謝産物について液体クロマトグラフィー質量分析計(3連四重極型)を用いて解析した。

当施設における酸化脂肪酸網羅的解析手法を以下 ~ に示す。

抽出方法およびサンプル条件

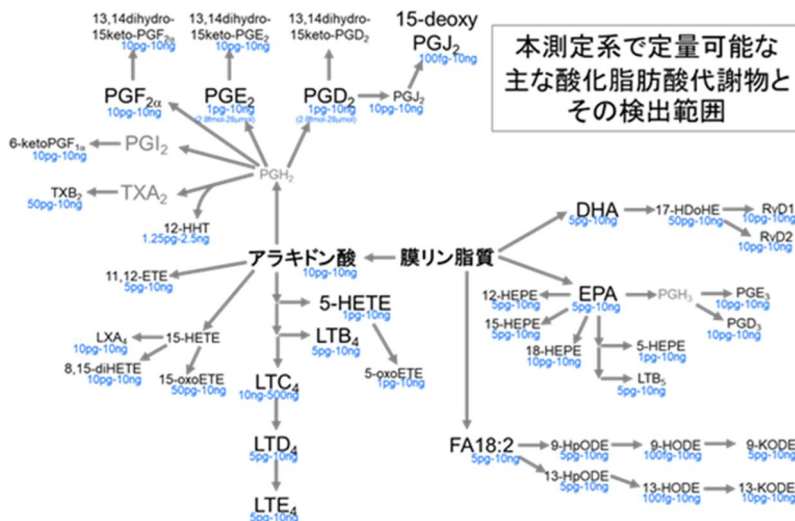


測定条件

LCMS-8040 (超高速トリプル四重極型 LC/MS/MS システム)

((株)島津製作所)(LC system : Nexera) ESI プローブ

主な定量可能参加脂肪酸

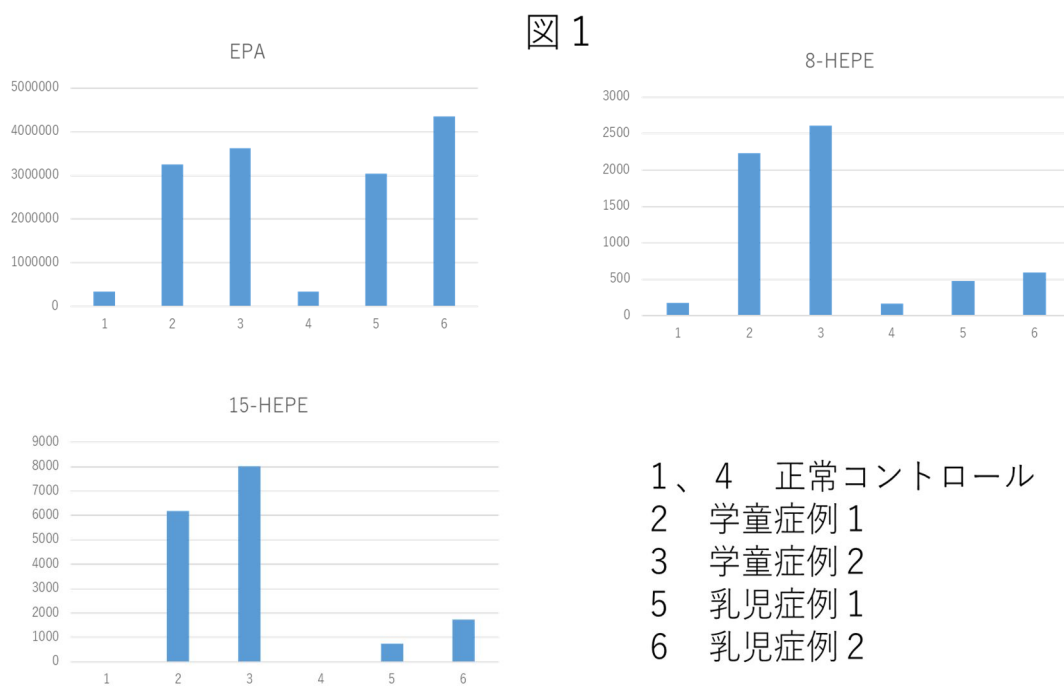


上記測定法によって、短腸症候群学童症例 2 例および IFALD を改善した乳児 2 症例の血漿中の脂質プロファイルを検討し、生理活性を持つ脂肪酸代謝産物の変化について検討した。また、その中で得られた OIFs について培養細胞を用いて、その作用点を検討した。

はじめにマウス初代培養肝細胞に対して上記脂肪酸代謝産物を添加し、脂質代謝、胆汁酸代謝に関する因子について RT-PCR の手法にて検討した。次いで肝線維化の責任細胞である肝星細胞の培養細胞株 LX-2 を用いて、脂肪滴生成・消失、増殖、肝線維化・活性化マーカーの発現など、細胞の病的活性化に対する影響を検討した。

4 . 研究の成果

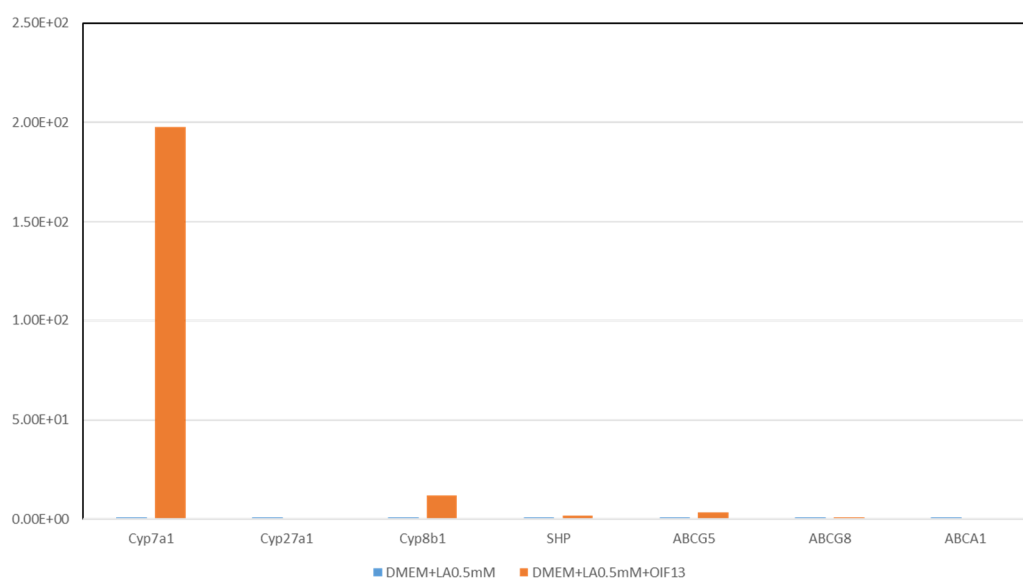
IFALD を発症した乳児 2 症例の脂肪酸プロファイルよりは学童症例を比較した。魚油由来脂肪製剤に豊富に含まれる 3 系多価不飽和脂肪酸 (EPA、DHA など) は同等の上昇を認めたと、その代謝産物は正常コントロールよりは上昇しているものの、学童例に比し著しく低値であった。(図 1) これは、元来乳児の脂肪酸代謝酵素活性が成人年長児にくらべ低いこと、あるいは重度の肝機能障害の脂肪酸代謝が抑制されていることを反映しているものと考えられた。魚油由来脂肪製剤の投与量について、症例の年齢や病状を考慮して決定する必要があることが示唆された。



また、学童例の検討より明らかとなった魚油由来脂肪製剤投与によって血中で上昇する OIFs の肝細胞に対する作用を検討した。静脈灌流法にて得たマウス初代培養肝細胞に、リノール酸 0.5mM および、リノール酸 0.5mM + OIF 1 3 mix を加えたのち、細

胞を回収し RT-PCR で胆汁酸生成に関連する因子の発現を比較した結果、胆汁酸合成の律速酵素である CYP7A 1 の発現が OIFs によって強く誘導されることが明らかとなった。(図 2)

図2



これは、新生児乳児の胆汁うっ滞性肝障害が魚油由来脂肪製剤によって著しく改善された作用点であることが示唆される結果となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森井 真也子, 蛇口 琢, 渡部 亮, 山形建基, 菅沼理江, 吉野 裕顕
2. 発表標題 小児中心静脈栄養の工夫
3. 学会等名 第56回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森井 真也子, 大戸貴代, 渡部 亮, 蛇口 琢, 山形 健基, 林 海斗, 中西 広樹, 吉野 裕顕
2. 発表標題 魚油由来脂肪製剤投与によって胆汁鬱滞が改善した2乳児の脂質プロファイル変化
3. 学会等名 第49回日本小児外科代謝研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森井真也子, 蛇口琢, 渡部亮, 東紗弥, 山形健基, 林海斗, 水野大
2. 発表標題 広域型ヒルシュスプルング病に対する経腸栄養の工夫
3. 学会等名 第50回日本小児外科代謝研究会
4. 発表年 2021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	蛇口 琢 (hebiguchi taku) (20375281)	秋田大学・医学系研究科・助教 (11401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	渡部 亮 (watanabe ryo) (80638255)	秋田大学・医学部附属病院・医員 (11401)	
研究分担者	吉野 裕顕 (yoshino hiroaki) (90182807)	秋田大学・医学系研究科・准教授 (11401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関