

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K08702

研究課題名(和文) 不飽和脂肪酸分解に着目した膵液瘻重症化因子解明と治療的応用

研究課題名(英文) The elucidation of the exacerbating factors for pancreatic fistula and therapeutic application based on the prevention of intraperitoneal lipolysis

研究代表者

長井 和之 (Nagai, Kazuyuki)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：30567871

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)：膵手術後合併症である膵液瘻の増悪因子として内臓性肥満が報告されているが、その機序の詳細は不明である。本研究ではラット膵切離モデルにおいて、中性脂肪腹腔内投与による脂肪分解、遊離脂肪酸産生と膵液瘻増悪、およびリパーゼ阻害薬による病態改善を示し、腹腔内脂肪分解抑制が膵液瘻重症化予防の新規治療法となりうることを示した。さらにより臨床に近い、自家脂肪溶解液を用いた膵液瘻悪化モデルに、リパーゼ阻害薬を Polyethylene glycol (PEG) に内包化したエマルジョンをハイドロゲルに含浸し、局所投与することで遊離脂肪酸産生抑制による膵液瘻発生抑制を図り、生存率向上を含む良好な結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ラット膵切離・膵液瘻モデルを用いて、膵酵素の脂肪分解による遊離脂肪酸産生が膵液瘻における病態増悪因子として寄与すること、またリパーゼ阻害薬による脂肪分解抑制が膵液瘻増悪を防ぐという結果を得た。本研究の成果から膵液瘻に対する新規治療法開発につながる可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)：In pancreatic fistula, intraabdominal fat has been reported to be the aggravating factor of the clinical condition. We have confirmed that serum free fatty acids (FFAs) produced by lipolysis of triglycerides caused systemic inflammatory response, and aggravated the condition of pancreatic fistula in a rat model of pancreatic transection; lipase inhibitors reduced the toxicity of FFAs. We next developed a rat model of clinically relevant pancreatic fistula (CRPF) using intraabdominal administration of autologous fat-dissolver, and evaluated the efficacy of hydrogel mixture of emulsion containing lipase inhibitor encapsulated by polyethylene glycol (PEG) as a drug with high practicability. Intraperitoneal production of FFAs worsened survival in CRPF rats, and the application of the hydrogel mixture of lipase inhibitor with PEG dose-dependently improved survival by reducing the production of intraabdominal FFAs. These results indicate a new therapeutic strategy for pancreatic fistula.

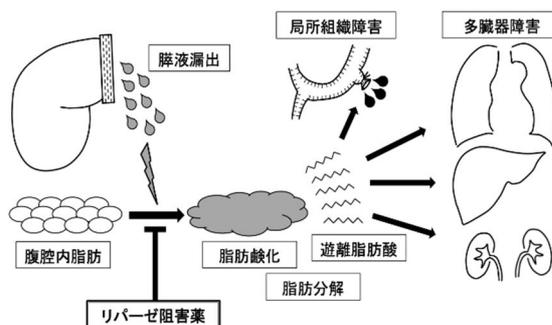
研究分野：膵臓外科

キーワード：膵手術 膵液瘻 遊離脂肪酸 不飽和脂肪酸 膵液瘻重症化因子 リパーゼ阻害 PEG

1. 研究開始当初の背景

National Clinical Database によると本邦では年々膵手術数が増加し、年間約 2 万件に近い手術 (2017 年) が行われている。膵切除術では、術後合併症、特に膵液瘻および膵液瘻に起因する周術期死亡が問題となり、その対策は重要な課題である。しかしながら、膵液瘻が重症化するメカニズムについては明らかになっていない。我々は急性膵炎の重症化メカニズムとして不飽和脂肪酸の関与の報告 (Noel et al. Gut.

2016;65(1):100-11) に注目し、予備実験としてラット膵切離モデルに三価の不飽和脂肪酸 (トリオレイン) を腹腔内投与したところ膵液瘻による全身状態悪化がみられたことから、膵液瘻による不飽和脂肪酸分解が全身炎症を惹起し多臓器不全に陥るといふ仮説を立てた (右図)。



2. 研究の目的

本研究では、ラット膵液瘻モデルにおいて、腹腔内脂肪分解が膵液瘻に与える影響を解析し、またリパーゼ阻害薬を用いた膵液瘻重症化予防策を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

実験 1. ラット膵液瘻モデルの作成、および腹腔内脂肪分解の膵液瘻への影響の解析。

ラット膵液瘻モデルにおいて、腹腔内に中性脂肪 (トリオレイン) を投与し、膵液瘻における腹腔内脂肪分解の影響を評価し、リパーゼ阻害薬 (オルリスタット) の効果を検証した。

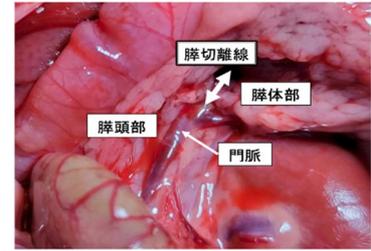
実験 2. 臨床に則したラット膵液瘻重症化モデルの作成およびより実用性の高いリパーゼ阻害薬投与方法開発。

より臨床に即したラット膵液瘻重症化モデルとして、膵切離後に自己脂肪溶解液を投与し、その影響を評価した。また疎水性であるリパーゼ阻害薬を Polyethylene glycol (PEG) に内包化したエマルジョンとし、局所投与する方法を検証した。

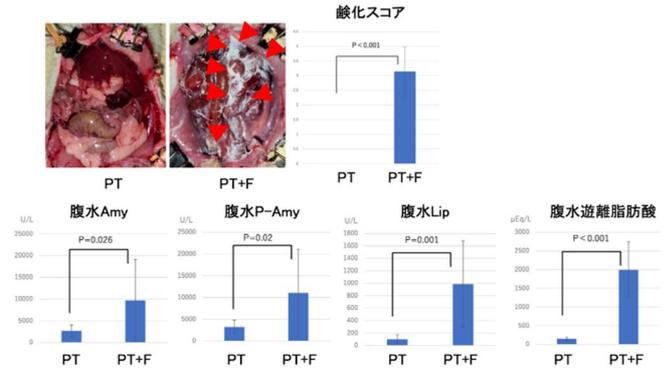
4. 研究成果

実験 1. ラット膵液瘻 (膵切離) モデルを作成し、腹腔内に中性脂肪 (トリオレイン) を投与したところ、脂肪分解により腹水中遊離脂肪酸産生が増加し、腹水中膵酵素上昇、多臓器障害 (血清AST、ALT、LDH、クレアチニン、BUN値の上昇など)、体重減少、生存率悪化の所見がみられ、リパーゼ阻害薬 (オルリスタット) によりこれらはいずれも改善がみられた (Uchida Y, et al. Br J Surg. 2019)。

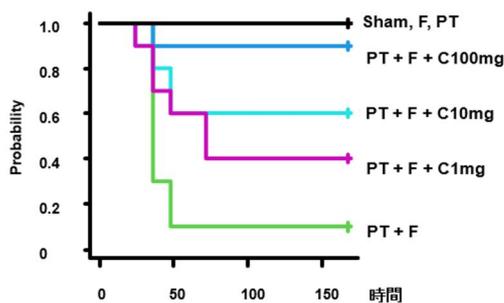
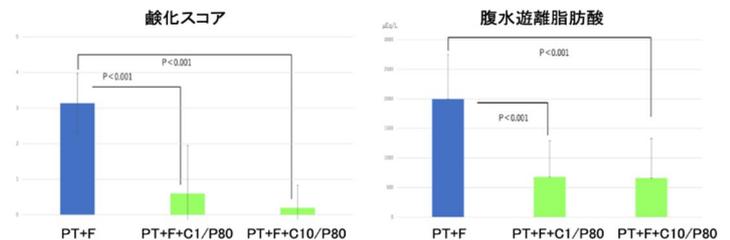
実験 2 . ラット膵液瘻（膵切離）モデル（pancreatic transection: PT、右図）に、前述の中性脂肪付加に代え、自己精巢周囲脂肪を電気焼灼した脂肪融解液を腹腔内投与する（PT + F）ことで、顕著な肉眼的腹腔内餽化所見を呈し、腹水中アミラーゼ、リパーゼ、遊離脂肪酸は有意に高値となり、より臨床に則した膵液瘻重症化モデルを確立した（右中図）。



リパーゼ阻害薬は、肥満症治療薬として保険適応になっているセチリストット（C: C₂₅H₃₉NO₃、分子量 401.6）を用いた。同剤は疎水性であるため原剤形では腹腔内投与に適さないため、様々な粒径のポリエチレングリコールをセチリストットの乳化剤候補として、*in vitro*でセチリストットの徐放率を定量し、10% Polysorbate 80 (P80) を最も徐放効率の良い乳化剤として選定した。次に、重症膵液瘻モデル（PT + F）にセチリストット 1mg/P80 (PT + F + C1) あるいはセチリストット 10mg/P80 (PT + F + C10) を腹腔内投与したところ、肉眼的腹腔内餽化所見の改善、腹水中遊離脂肪酸濃度の低下を認めた（右下図）。



また、ラット膵液瘻重症化モデル（PT + F）の生存解析を行うと、リパーゼ阻害薬による治療介入群において、用量依存性（1mg、10mg、100mg、それぞれ PT + F + C1、PT + F + C10、PT + F + C100）にラットの生存率に改善がみられた（下図）。



<引用文献>

[1] Y. Uchida, T. Masui, K. Nakano, A. Yogo, A. Sato, K. Nagai, T. Anazawa, K. Takaori, Y. Tabata, S. Uemoto, Clinical and experimental studies of intraperitoneal lipolysis and the development of clinically relevant pancreatic fistula after pancreatic surgery, Br J Surg. 106 (2019) 616-625. <https://doi.org/10.1002/bjs.11075>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuichiro Uchida, Toshihiko Masui, Kazuki Hashida, Takafumi Machimoto, Kenzo Nakano, Akitada Yogo, Asahi Sato, Kazuyuki Nagai, Takayuki Anazawa, Kyoichi Takaori, Shinji Uemoto	4. 巻 21
2. 論文標題 Impact of vascular abnormality on contrast-enhanced CT and high C-reactive protein levels on postoperative pancreatic hemorrhage after pancreaticoduodenectomy: A multi-institutional, retrospective analysis of 590 consecutive cases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pancreatology	6. 最初と最後の頁 263-268
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pan.2020.11.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uchida Yuichiro, Masui Toshihiko, Hashida Kazuki, Machimoto Takafumi, Nakano Kenzo, Yogo Akitada, Sato Asahi, Nagai Kazuyuki, Anazawa Takayuki, Takaori Kyoichi, Uemoto Shinji	4. 巻 21
2. 論文標題 Impact of vascular abnormality on contrast-enhanced CT and high C-reactive protein levels on postoperative pancreatic hemorrhage after pancreaticoduodenectomy: A multi-institutional, retrospective analysis of 590 consecutive cases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pancreatology	6. 最初と最後の頁 263 ~ 268
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pan.2020.11.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uchida Yuichiro, Masui Toshihiko, Nagai Kazuyuki, Anazawa Takayuki, Yoshimura Michio, Uza Norimitsu, Takaori Kyoichi, Mizowaki Takashi, Uemoto Shinji	4. 巻 35
2. 論文標題 Postoperative pancreatic fistulas decrease the survival of pancreatic cancer patients treated with surgery after neoadjuvant chemoradiotherapy: A retrospective analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 527 ~ 532
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.suronc.2020.10.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uchida Yuichiro, Masui Toshihiko, Nakano Kenzo, Yogo Akitada, Yoh Tomoaki, Nagai Kazuyuki, Anazawa Takayuki, Takaori Kyoichi, Uemoto Shinji	4. 巻 22
2. 論文標題 Combination of postoperative C-reactive protein value and computed tomography imaging can predict severe pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HPB	6. 最初と最後の頁 282 ~ 288
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.hpb.2019.06.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Y., Masui T., Nakano K., Yogo A., Sato A., Nagai K., Anazawa T., Takaori K., Tabata Y., Uemoto S.	4. 巻 106
2. 論文標題 Clinical and experimental studies of intraperitoneal lipolysis and the development of clinically relevant pancreatic fistula after pancreatic surgery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BJS	6. 最初と最後の頁 616 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bjs.11075	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Yuichiro, Masui Toshihiko, Nakano Kenzo, Yogo Akitada, Yoh Tomoaki, Nagai Kazuyuki, Anazawa Takayuki, Takaori Kyoichi, Uemoto Shinji	4. 巻 22
2. 論文標題 Combination of postoperative C-reactive protein value and computed tomography imaging can predict severe pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HPB	6. 最初と最後の頁 282 ~ 288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hpb.2019.06.020	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Y., Masui T., Nakano K., Yogo A., Sato A., Nagai K., Anazawa T., Takaori K., Tabata Y., Uemoto S.	4. 巻 106
2. 論文標題 Clinical and experimental studies of intraperitoneal lipolysis and the development of clinically relevant pancreatic fistula after pancreatic surgery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BJS	6. 最初と最後の頁 616 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bjs.11075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Yuichiro, Masui Toshihiko, Sato Asahi, Nagai Kazuyuki, Anazawa Takayuki, Takaori Kyoichi, Uemoto Shinji	4. 巻 403
2. 論文標題 Computer tomographic assessment of postoperative peripancreatic collections after distal pancreatectomy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Langenbeck's Archives of Surgery	6. 最初と最後の頁 349 ~ 357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00423-018-1668-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内田 雄一郎、長井 和之、増井 俊彦
2. 発表標題 脂肪分解阻害による膵液瘻予防 遊離脂肪酸に焦点を当てた新しい治療戦略
3. 学会等名 第52回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田 明大、内田 雄一郎、余語 覚匡、仲野 健三、長井 和之、穴澤 貴行、増井 俊彦
2. 発表標題 膵切除術後の膵液瘻に対する重症化因子のマーカーとしてドレーンCa値が有効となる可能性の検討
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 雄一郎、増井 俊彦、余語 覚匡、仲野 健三、佐藤 朝日、長井 和之、穴澤 貴之、高折 恭一、上本 伸二
2. 発表標題 膵頭十二指腸切除術後早期CT検査の臨床的意義
3. 学会等名 第49回膵臓学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増井俊彦、仲野健三、佐藤朝日、長井和之、穴澤貴行、高折恭一、上本伸二
2. 発表標題 膵切除術における膵液瘻防止の工夫
3. 学会等名 第118回外科学会総会
4. 発表年 2018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	増井 俊彦 (Masui Toshihiko) (20452352)	京都大学・医学研究科・客員研究員 (14301)	
研究 分担者	上本 伸二 (Uemoto Shinji) (40252449)	滋賀医科大学・医学部・学長 (14202)	
研究 分担者	田畑 泰彦 (Tabata Yasuhiko) (50211371)	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授 (14301)	

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
---------	---------