

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18032

研究課題名(和文) IGF-1&amp;EPAによる腸管不全の肝障害・腸管順応Dual Therapyの開発

研究課題名(英文) Developing dual-therapy applying IGF-1 &amp; EPA for hepatic damage and intestinal adaptation in intestinal failure

研究代表者

武藤 充 (MUTO, Mitsuru)

鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師

研究者番号：70404522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：今回は、growth factorと 3系脂肪酸に注目した。腸管不全患者にみられる静脈栄養中の肝障害の抑制と残存腸管の順応を同時に誘導するという臨床課題にむけ、基礎研究をすすめた。Growth factorの着想はinsulin-like growth factor-1 (IGF-1)であったが、入手困難であったため代用として、hepatic growth factorを用い実験に着手した。ラットモデルにおいて、growth factorは静脈栄養関連肝障害を軽減し、エイコサペンタ塩酸(EPA)を多く含む 3系脂肪酸は腸管粘膜成長作用を誘導できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新生児・乳児期に発生する腸管不全患児では、長期静脈栄養管理期間に惹起される難治性進行性の胆汁うっ滞性肝障害、静脈栄養関連肝障害(Parenteral nutrition-associated liver disease: PNALD)/腸管不全関連肝障害(Intestinal failure-associated liver disease: IFALD)を制御することが求められている。自己腸管における栄養吸収の促進をはかる諸治療を重ねるとともに、肝の庇護を担保する必要がある。今回の研究は、実臨床において両者を同時にすすめるための一助となるのではないかと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on growth factor and 3 fatty acids. Basic research was conducted to find a solution on the clinical problem in the liver and intestine in patients with intestinal failure. The growth factor we initially conceived of applying was insulin-like growth factor-1 (IGF-1), however, since it was difficult to obtain, then we started our experiments using hepatic growth factor as a substitute. In a rat model, growth factor was found to reduce parenteral nutrition-associated liver damage. And it was found that 3 fatty acids, which are rich in eicosapenta hydrochloric acid (EPA), have the potency to induce intestinal mucosal growth.

研究分野：小児外科

キーワード：腸管不全 短腸症候群 ヒルシュスプルング病類縁疾患 炎症性腸疾患 静脈栄養関連肝障害 腸管不全関連肝障害 腸管順応 腸管リハビリテーション

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) IGF-1 は、組織修復に関連するホルモンとして、腸管粘膜増成作用を有することに加えて、肝疾患に対する有効性の報告も散見されるようになった。世界的に臨床治験が行われ、現在はそのアナログ製剤が臨床適用されている腸管修復促進ホルモン GLP-2 の上位ホルモンにあたる。GLP-2 アナログ製剤の投与により、静脈栄養供給を 20% 削減できた症例や、完全離脱を可能とした症例の報告も散見される。この有用性について、肝臓への影響、腸管への影響を動物実験モデルで検証をする必要があると考えた。

(2) 魚油由来の脂肪乳剤の中の EPA が持つ抗炎症作用に有用性が期待されている。実際に魚油脂肪乳剤を用いた結果高度の胆汁うっ滞性肝障害が軽快した症例を複数経験している。しかし、製剤自体の易酸化変化も考慮しなければならない。魚油は炭素二重結合を多く有する高度不飽和脂肪酸から構成されるため、製剤開封後は空気中の酸素によって非常に酸化されやすい点に留意しなければならない。脂肪乳剤の酸化劣化により生ずる脂質過酸化物は体内に入ると細胞膜を構成する脂肪酸を連鎖的に酸化させ、肝臓のみならず腎臓や肺などの機能障害を引き起こす可能性が指摘されている。小児に実際に使用する少量ずつの管理では工夫を要するため、その安定供給方法を特定する必要がある(文献 1)。

### 2. 研究の目的

今回は、insulin-like growth factor-1(IGF-1)とエイコサペンタ塩酸(EPA)の両者を用いて新規治療法を開発することをめざし研究活動を開始した。本研究は、新生児・乳児期の腸管不全患児において、長期静脈栄養管理時に経験する難治性の胆汁うっ滞性肝障害の進行、静脈栄養関連肝障害(Parenteral nutrition-associated liver disease: PNALD)の制御および残存腸管順応を同時に誘導することを目標とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) Growth factor による肝臓への影響の検証

8 週齢の SD ラットを用い、完全静脈栄養管理を行った。Growth factor の着想は insulin-like growth factor-1 (IGF-1)であったが、入手困難であったため代用として、hepatic growth factor(HGF)を用い実験に着手した。静脈栄養のみを 7 日間行った群と 1.0mg/kg/day の HGF を併用し 7 日間管理した群とを比較した。

#### (2) 魚油含有脂肪乳剤の腸管に与える影響、開封後の保存方法の検証

##### 魚油含有脂肪乳剤の腸管に与える影響の検証

8 週齢の SD ラットを用い、90%小腸切除を施し、13 日間の完全静脈栄養管理を行った。栄養管理に使用した脂肪成分は、1) 本邦で唯一上市されるダイズ由来脂肪乳剤イントラリポス 20%、2) 3 系脂肪酸を豊富に含み目下、胆汁うっ滞性肝障害の治療薬として広く共通認識のある魚油脂肪乳剤である Omegaven10%、3) ダイズ油、オリブ油、中鎖脂肪酸(MCT)オイル、魚油を混合したバランス脂肪乳剤で、海外では広く first choice の脂肪乳剤として静脈栄養管理に用いられている SMOFlipid20%を採用した。各々 2.0g/rat/day を適用しそのアウトカムを比較検討した。

##### 製剤の酸化劣化を最小限に抑える保存方法の検証

製剤の酸化劣化防止には、密閉状態の保持が有効であると考えた。ポリプロピレン製 2.5mL ルアーロックシリンジシリンジ内に分注した脂肪乳剤を次に示す 4 つの方法で包装した。包装 1: 真空パックし遮光フィルムで被覆、包装 2: 真空パックのみ、包装 3: 遮光フィルム被覆のみ、包装 4: 分注シリンジそのままに被覆処置を加えない。これら 4 つの条件に 14 日間おいたシリンジ内脂肪乳剤の酸化劣化度を代謝産物のマロンジアルデヒド濃度を評価することで測定した。

### 4. 研究成果

#### (1) Growth factor による肝臓への影響検証結果

2 群間に検討期間中の体重差はみられなかった。図 1 に示す通り、静脈栄養のみの群では肝細胞に脂肪滴の蓄積が目立つ(図 1 a,b)が growth factor 併用群ではその変化が抑制されている様子が顕著であった(図 1 c,d)。また、興味深いことに同じカロリー投与にもかかわらず、静脈栄養のみの群の平均血清アルブミンレベルが 2.35g/dL であったのに対し、growth factor 併用群の平均血清アルブミンレベルは 2.85g/dL と高く、統計学的にも有意な差が生じていた。

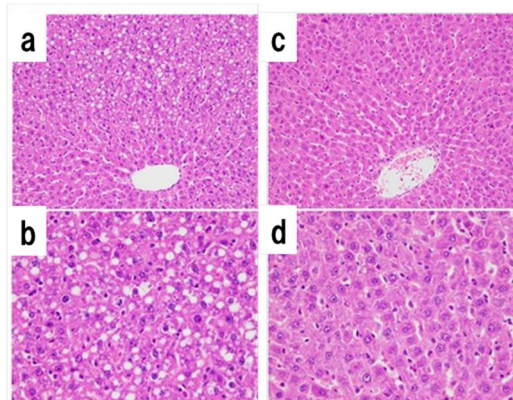


図 1 . Growth factor と肝組織変化

以上の結果より、growth factor は静脈栄養による肝臓の障害を軽減する作用が期待できるとともに、栄養状態の向上に寄与する可能性もあるのではないかと検証された。なお、本結果は当科 松久保より Pediatric Surgery International 誌へ報告している。

(文献2)

(2)

#### 魚油含有脂肪乳剤の腸管に与える影響の検証

完全静脈栄養を施し、経腸栄養を行わない場合、小腸の粘膜は正常状態に比べて顕著に萎縮することが再現性をもって認められた。図2には、適用した脂肪乳剤別の回腸絨毛高を示した。イントラリポス(a)、Omegaven(b)、SMOFlipid(c)の間で有意な差が確認された。

興味深いことに、SMOFlipidによる管理ではイントラリポス管理群に比べ絨毛高、陰窩深、陰窩細胞増殖率について有意に向上が得られ魚油含有脂肪乳剤は小腸粘膜養成に寄与することが確かめられた。(文献3)

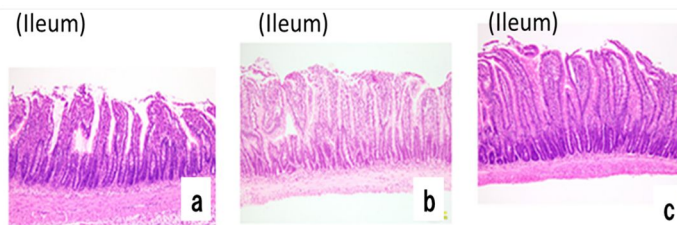


図2. 脂肪乳剤と絨毛増高

#### EPA 含有脂肪乳剤の酸化劣化防止保存法の検証結果

EPA を含む特殊脂肪乳剤として海外で上市されている Omegaven および SMOFlipid を取り上げた。対照として本邦で唯一上市されるダイズ由来脂肪乳剤イントラリポスを検証した。

Omegaven の開封直後のマロンジアルデヒド濃度は  $2.19 \pm 0.10 \mu\text{M}$  であった。これをコントロールとした。シリンジ分注後 14 日間の変化は、真空パック処理を行った検体で最大  $2.71\mu\text{M}$  ( $p = 1.00$ ) を示しいずれの時点でもコントロールと有意差は生じていなかった。一方真空パック未処理の検体では最大  $30.95\mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ) の差を生じ、明らかに酸化劣化を来していることが評価された。SMOFlipid の開封直後のマロンジアルデヒド濃度は  $0.96 \pm 0.08 \mu\text{M}$  であった。これをコントロールとした。シリンジ分注後 14 日間の変化は、真空パック処理を行った検体で最大  $1.32 \mu\text{M}$  ( $p = 0.11$ ) を示しいずれの時点でもコントロールと有意差は生じていなかった。一方真空パック未処理の検体では最大  $12.9 \mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ) の差を生じ、明らかに酸化劣化を来していることが評価された。対照のイントラリポスでは、開封直後のマロンジアルデヒド濃度は  $0.69 \pm 0.15 \mu\text{M}$  であった。Omegaven, SMOFlipid と比較して 14 日間の酸化物質の増加は少なく開封時とほぼ同等であった。

以上の結果より、魚油を含む脂肪乳剤を分注したシリンジは空気との接触を最小限に抑え保存しておくことが最適であると検証された。

#### < 参考引用文献 >

1. Muto M, Kaji T, Onishi S, et al. An overview of the current management of short-bowel syndrome in pediatric patients. Surg Today 2022;52(1):12-21.
2. Matsukubo M, Yano K, Kaji T, et al. The administration of hepatocyte growth factor prevents total parenteral nutrition-induced hepatocellular injury in a rat model. Pediatr Surg Int 2021;37(3):353-361.
3. Onishi S, Kaji T, Machigashira S, et al. The effect of intravenous lipid emulsions and mucosal adaptation following massive bowel resection. J Pediatr Surg 2018;53(12):2444-2448.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Muto Mitsuru, Sugita Koshiro, Ibara Satoshi, Masuya Ryuta, Matsukubo Makoto, Kawano Takafumi, Saruwatari Yumiko, Machigashira Seiro, Sakamoto Koichi, Nakame Kazuhiko, Shinyama Shin, Torikai Motofumi, Hayashida Yoshihiro, Mukai Motoi, Ikee Takamasa, Shimono Ryuichi, Noguchi Hiroyuki, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Discrepancy between the survival rate and neuropsychological development in postsurgical extremely low-birth-weight infants: a retrospective study over two decades at a single institution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 411～417
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00383-020-04825-7	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, Yano Keisuke, Harumatsu Toshio, Yamada Koji, Yamada Waka, Matsukubo Makoto, Muto Mitsuru, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 What is the optimal lipid emulsion for preventing intestinal failure-associated liver disease following parenteral feeding in a rat model of short-bowel syndrome?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 247～256
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00383-020-04802-0	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 Muto Mitsuru, Kaji Tatsuru, Onishi Shun, Yano Keisuke, Yamada Waka, Ieiri Satoshi	4. 巻 52
2. 論文標題 An overview of the current management of short-bowel syndrome in pediatric patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 12～21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-020-02207-z	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 Matsukubo Makoto, Yano Keisuke, Kaji Tatsuru, Sugita Koshiro, Onishi Shun, Harumatsu Toshio, Nagano Ayaka, Matsui Mayu, Murakami Masakazu, Yamada Koji, Yamada Waka, Muto Mitsuru, Kumagai Kotaro, Ido Akio, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 The administration of hepatocyte growth factor prevents total parenteral nutrition-induced hepatocellular injury in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 353～361
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00383-020-04823-9	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 Sugita Koshiro, Kaji Tatsuru, Yano Keisuke, Matsukubo Makoto, Nagano Ayaka, Matsui Mayu, Murakami Masakazu, Harumatsu Toshio, Onishi Shun, Yamada Koji, Yamada Waka, Muto Mitsuru, Kumagai Kotaro, Ido Akio, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 The protective effects of hepatocyte growth factor on the intestinal mucosal atrophy induced by total parenteral nutrition in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 1743 ~ 1753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-021-05002-0	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 武藤 充, 加治 建, 矢野 圭輔, 大西 峻, 山田 和歌, Lim DW, 長野 綾香, 松井 まゆ, 松久保 眞, Turner JM, Wales PW, 家入 里志	4. 巻 54(6)
2. 論文標題 【腸管リハビリテーションUpdate】腸管順応促進ホルモン-ペプチド成長因子を用いた短腸症候群の治療について	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 外科と代謝・栄養	6. 最初と最後の頁 229 ~ 233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11638/jssmn.54.6_229	査読の有無 無
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 Keisuke Yano, Tatsuru Kaji, Shun Onishi, Seiro Machigashira, Taichiro Nagai, Toshio Harumatsu, Koji Yamada, Waka Yamada, Mitsuru Muto, Kazuhiko Nakame, Motoi Mukai, Satoshi Ieiri	4. 巻 35
2. 論文標題 Novel effect of glucagon-like peptide-2 for hepatocellular injury in a parenterally fed rat model of short bowel syndrome.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatric surgery international	6. 最初と最後の頁 1345-1351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-019-04560-8	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 Marihan Lansing, Justine M Turner, Pamela Wizzard, Celeste M Lavallee, David W Lim, Mitsuru Muto, Patrick N Nation, Paul B Pencharz, Ron O Ball, Paul W Wales	4. 巻 35
2. 論文標題 Plasma citrulline is not a biomarker for intestinal adaptation in short bowel syndrome, studied in piglets: a model for human neonates.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatric surgery international	6. 最初と最後の頁 657-663
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-019-04475-4.	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 -

1. 著者名 Kevin Fitzgerald,Mitsuru Muto,Christina Belza,Nicole De Silva,Yaron Avitzur,Paul W Wales	4. 巻 54
2. 論文標題 The evolution of the serial transverse enteroplasty for pediatric short bowel syndrome at a single institution.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of pediatric surgery	6. 最初と最後の頁 993-998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpedsurg.2019.01.051.	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6件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 加治 建、松井 まゆ、長野 綾香、村上 雅一、杉田 光士郎、矢野 圭輔、大西 峻、春松 敏夫、山田 耕嗣、山田 和歌、松久保 眞、武藤 充、家入 里志
2. 発表標題 腸管不全症における生命予後改善に向けての治療戦略
3. 学会等名 第 58 回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武藤 充、大西 峻、森田 康子、松井 まゆ、村上 雅一、杉田 光士郎、矢野 圭輔、春松 敏夫、山田 耕嗣、山田 和歌、松久保 眞、加治 建、家入 里志
2. 発表標題 小児移植の問題点と今後の展開 自験肝小腸移植症例の抱える問題点の検証 非移植施設の立場から
3. 学会等名 第 58 回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武藤 充、永井 太一郎、大西 峻、春松 敏夫、山田 耕嗣、山田 和歌、松久保 眞、町頭 成郎、中目 和彦、向井 基、加治 建、家入 里志
2. 発表標題 短腸症候群の予後を拓くために必要なこととは 基礎・臨床研究から
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 武藤 充
2. 発表標題 【基調発表2】腸管不全児への多職種チーム支援 腸管リハビリテーションについて
3. 学会等名 第46回日本小児栄養消化器肝臓学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 武藤 充、野口啓幸、松久保眞、杉田光士郎、馬場徳朗、大橋宏史、鈴木恵美子、久保美佐子、村田明俊、濱田憲子、指宿卓也、瀬戸口誠、真方美紀、加治佐めぐみ、Paul Wales、茨聡
2. 発表標題 腸管不全乳児から学んだ多職種介入栄養管理の重要性について
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Onishi S, Harumatsu T, Nagai T, Yano K, Yamada K, Yamada W, Matsukubo M, Muto M, Kaji T, Ieiri S.
2. 発表標題 The Bowel Function of Pediatric Colorectal Disease - Long-term Outcomes After Definitive Surgery at Single Institution
3. 学会等名 14th ASEAN SOCIETY OF PEDIATRIC SURGERY CONGRESS (国際学会)
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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