

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：17701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24017

研究課題名（和文）IFALD克服へ向けた水素の抗酸化作用導入による革新的治療法の開発

研究課題名（英文）The novel effect of hydrogen for IFALD in rat model

研究代表者

池江 隆正（Ikee, Takamasa）

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：90363613

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：短腸症候群（SBS）患児らは完全静脈栄養（TPN）による術後管理が必要となるが、腸管不全関連肝障害（IFALD）はTPNの致命的な合併症である。IFALDの病因としてフリーラジカルによる組織障害が原因として報告されており、抗酸化物質である水素をSBSモデルラットに投与して、IFALDに対する予防治療効果を検討した。水素は、高濃度水素を溶存させる水素封入輸液製剤を用いて静脈内投与することとした。水素封入輸液製剤の溶存水素濃度の半減期は3時間以下であり、既存の機器では水素濃度を安定化しつつモデルラットに投与する方法は確立できていない。投与方法のさらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新しい抗酸化物質によるIFALDの予防的効果が明らかになれば、難渋するIFALD診療における画期的な予防・治療法の開発に繋がる。水素は安価で入手も容易な物質であり、静脈内への投与方法を含め、抗酸化物質としての使用方法が確立されれば、小児のSBS患児のみならず、成人のSBS患者やIFALDと同様の肝障害に対する治療に応用できる。本研究の対象となる患者数は潜在的に非常に多いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Short bowel syndrome (SBS) patients require postoperative total parenteral nutrition (TPN), but intestinal failure associated liver damage (IFALD) is a life threatening complication of TPN. It has been reported that the cause of IFALD is tissue damage caused by free radicals, and hydrogen, which is an antioxidant, was administered to SBS model rats to examine its preventive and therapeutic effect on IFALD. Hydrogen was decided to be administered intravenously using a hydrogen-encapsulated infusion preparation that dissolves high-concentration hydrogen. However, the half-life of the dissolved hydrogen is 3 hours or less, so the method of administration the dissolved hydrogen concentration to the model rat while stabilizing the hydrogen concentration has not been established with the existing equipment. Further examination of the administration method is required.

研究分野：IFALD

キーワード：短腸症候群 IFALD 抗酸化物質 水素水

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

短腸症候群(SBS)および IFALD: IFALD は SBS を含む腸管不全の致死かつ重大な合併症である。IFALD が進行し、不可逆的肝不全を来たした場合には肝臓・小腸移植および多臓器移植によってのみ救命可能である。当科の臨床経験でも、SBS 患児において IFALD を発症した場合の累積生存率は有意に低下している。SBS 患児の長期生存のためには IFALD の発症予防と治療法の確立は最重要課題である。

水素の抗酸化作用とその治療効果: 炎症や虚血が起こると、フリーラジカルである OH⁻ が産生され、DNA の損傷やミトコンドリアの脱分極が起こり、細胞壊死やアポトーシスが生じることが知られている。2007 年に Ohsawa らが、水素分子が抗酸化作用を有していることを Nature Medicine に報告して以降、心筋、肝、精巣など、様々な虚血モデル動物による実験において、水素ガスおよび過酸化水素投与が組織障害を防ぐことが報告されてきた。水素を投与すると、水素そのものがフリーラジカルである OH⁻ と結合し H₂O と H⁺ になることで抗酸化作用を生じると考えられている。SBS の重要な合併症である IFALD に対する予防法・治療法は確立されていない。我々の有している IFALD モデルラットを用いて、ハイドロゲン・ナノバブルの IFALD に対する抗酸化作用を検討することによって、新たな SBS 患者の管理方法を確立できると考えた。

2. 研究の目的

当研究は、本邦では当教室のみで確立している IFALD モデルラットを用いて、TPN 下での短腸症候群における IFALD の発症機序を明らかにするとともに、入手が容易かつ安価な水素ガスを用いたハイドロゲン・ナノバブルを作成し、IFALD に対して抗酸化作用を導入した画期的な予防法・治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 治療用ハイドロゲン・ナノバブルの作成: 現在市販されている水素ガスから治療用のハイドロゲン・ナノバブルを作成する。臨床使用目的ではなく動物実験用のため、企業との NDI(秘密保持契約)を結び、含有水素量の組成を変えて作成する。

(2) IFALD モデルラットに対するハイドロゲン・ナノバブル投与実験

動物実験: 7 週齢の雄性 SD ラットを本研究のモデル動物とする。イソフルラン麻酔下に右外頸静脈から右上大静脈起始部に中心静脈カテーテルを留置し、皮下を通して背部に導出し頸静脈栄養ルートを確認する。続いて大量腸管切除を行う。当グループの先行研究により 8 週齢の SD ラットの小腸長は約 90 cm であるため、トライツ靭帯より 5cm 肛側より回腸末端から 5cm 口側間を切除・吻合し、90% 短腸モデルとする。頸静脈栄養ルートを使用し、シリンジポンプで 24 時間持続輸液を行い飼育する。

ハイドロゲン・ナノバブル投与経路の検討: 腹腔内投与 vs 消化管内投与としてそれぞれの群で以下の項目を評価する。

評価項目: 生理学的評価(体重/飲水量/尿量/排便量)、生化学的評価(血清 AST/ALT, ビリルビン, 炎症性サイトカイン, 血糖値) 血中消化管ホルモン(GLP-2/グレリン)、肝内含有脂肪酸。形態学的評価(肝臓重量)、組織学的評価(肝障害の程度; 炎症細胞浸潤, 脂肪沈着/繊維化/肝細胞の ballooning)

(i) 予防効果の検討: ヒトの約 1 年間に相当する 14 日間をモデルラットの長期絶食期間と設定して観察を行う。手術直後からのハイドロゲン・ナノバブル投与を行い、絶食・完全静脈栄養下の肝障害に対する効果を検討する。

(ii) 治療効果の検討: 当科の先行研究により、肝障害の発症には 14 日間の観察期間を要する(文献 6)。手術後 14 日目からハイドロゲン・ナノバブルの投与を開始し、肝障害に対する治療効果を検討する。治療効果や予防効果のメカニズムについての以下の項目で検討を行う。

検討項目: 腸組織内サイトカイン(ホモジネートした空腸回腸試料・ELISA 法)、DAO(血清サンプル・ELISA 法)、酸化ストレスマーカー(TAC, TOS, OSI, Malondialdehyde)、(血清サンプル・キレート法)、iNOS(ホモジネートした空回腸試料・RT-PCR 法)、腸管内細菌叢の変化(qPCR 法)。

以上により治療効果のメカニズムを網羅的に解析することで同時に発症のメカニズムも明らかとなり画期的な予防・治療法への臨床応用が期待できる。

4. 研究成果

(1) 同モデルラットは、2週間の絶食 TPN 管理で、病理組織学的に肝障害を呈した(図1)。小葉中心性の脂肪沈着、炎症細胞の浸潤を認め、非アルコール性脂肪肝/脂肪肝炎 (NAFLD/NASH) 様の肝障害を認めた。

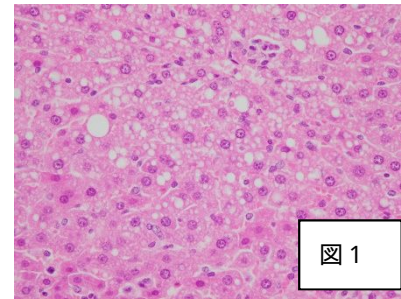


図 1

(2) 市販の水素を生理食塩液内に高濃度で溶存するのは技術的に困難であったが、共同研究中である水素封入輸液製剤を作成する機械を用いて、溶存水素濃度 1.6ppm 程度の水素封入輸液製剤は作成することができた。

ハイドロゲン・ナノバブルを投与する前段階として、水素封入輸液製剤を投与し、IFALD に対する効果を検討することとした。

水素封入輸液製剤は、当初胃内投与または 24 時間持続の経静脈内投与予定としていたが、以下に記す通り水素封入輸液製剤の投与が難しい状況であった。胃内投与は、本モデルに対する栄養チューブを用いた feeding が、創の安静を維持するには困難であった。水素封入輸液製剤は、6 時間で濃度が 1/4 以下になるなど、24 時間持続の投与には適さない状況であった(図2)。

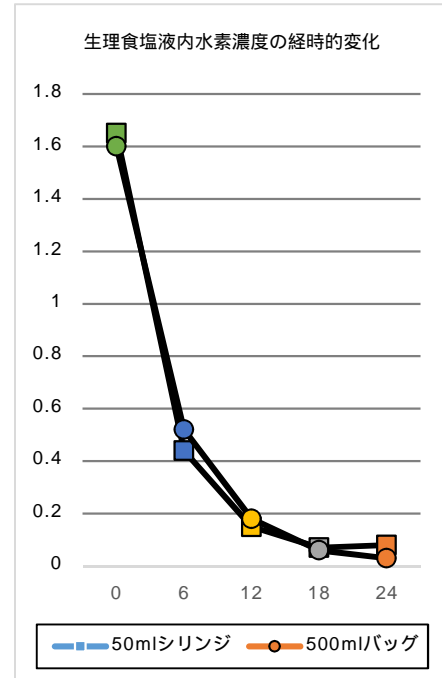


図 2

(3) 24 時間持続ではなくワンショット静注による水素封入輸液の投与であれば問題ないが、本研究のモデルにおいてワンショット静注が安全に行えるのか、また、水素封入輸液の至適投与量は不明である。

今後の方針として、ワンショット静注による水素封入輸液の投与と、IFALD に対する予防または治療効果を検討する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Onishi Shun, Ikee Takamasa, Murakami Masakazu, Yano Keisuke, Harumatsu Toshio, Baba Tokuro, Yamada Koji, Yamada Waka, Masuya Ryuta, Machigashira Seiro, Nakame Kazuhiko, Mukai Motoi, Kaji Tatsuru, Ieiri Satoshi	4. 巻 29
2. 論文標題 A Comparison of the Effectiveness Between Three Different Endoscopic Surgical Skill Training Programs for Medical Students Using the Infant Laparoscopic Fundoplication Simulator: A Randomized Controlled Trial	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques	6. 最初と最後の頁 1252 ~ 1258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/lap.2019.0212	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 Yano Keisuke, Kaji Tatsuru, Onishi Shun, Machigashira Seiro, Nagai Taichiro, Harumatsu Toshio, Yamada Koji, Yamada Waka, Muto Mitsuru, Nakame Kazuhiko, Mukai Motoi, Ieiri Satoshi	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Onishi S, Ikee T, Murakami M, Yano K, Harumatsu T, Baba T, Yamada K, Yamada W, Masuya R, Machigashira S, Nakame K, Kaji T, Ieiri S.
2. 発表標題 A Comparison of the Effectiveness Between Three Different Endoscopic Surgical Skill Training Programs for Medical Students Using the Infant Laparoscopic Fundoplication Simulator : A Randomized Controlled Trial
3. 学会等名 Pacific Association of Pediatric Surgeons 52th Annual Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yano K, Kaji T, Onishi S, Machigashira S, Murakami M, Baba T, Harumatsu T, Yamada K, Masuya R, Kawano T, Nakame K, Mukai M, Ieiri S
2. 発表標題 Novel effect of glucagon-like peptide-2 for hepatocellular injury in a parenterally-fed rat model of short bowel syndrome
3. 学会等名 Pacific Association of Pediatric Surgeons 52th Annual Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Onishi S, Ikee T, Murakami M, Yano K, Harumatsu T, Baba T, Yamada K, Yamada W, Masuya R, Machigashira S, Nakame K, Kaji T, Ieiri S.
2. 発表標題 A Comparison of the Effectiveness Between Three Different Endoscopic Surgical Skill Training Programs for Medical Students Using the Infant Laparoscopic Fundoplication Simulator : A Randomized Controlled Trial
3. 学会等名 International Pediatric Endosurgery Group 28th Annual meeting (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
研究協力者	大西 峻 (ONISHI Shun) (10614638)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任助教 (17701)	
研究協力者	矢野 圭輔 (YANO Keisuke) (30757919)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・医員 (17701)	

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