

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：33916

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22948

研究課題名（和文）リパーゼ阻害剤を用いた急性膵炎および膵液瘻治療のための基盤手法開発

研究課題名（英文）Establishing the treatment of acute pancreatitis and pancreatic fistula utilizing the lipase inhibitor

研究代表者

内田 雄一郎（Uchida, Yuichiro）

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：00763997

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）：肥満ラットを用いた膵切離膵液瘻モデルを確立した。ラットに対して膵切離を行うことによる従来の膵液瘻動物モデルと比較し、脂肪に対する熱凝固処置を加えることで、膵液瘻の病態が有意に重篤化し、脂肪分解の影響で生存率が低下することが示された。難水溶性物質である脂肪分解酵素阻害剤を、ポリエチレングリコール等を適切な比率・条件で脂肪分解酵素阻害剤と混合・調整することで脂肪分解酵素阻害剤の腹腔内投与を安全に実施することが可能になった。脂肪分解酵素阻害剤の腹腔内投与により前述の動物モデルにおいて膵液瘻の重症化が軽減された。脂肪分解抑制機構による膵液瘻の治療という新たな治療戦略についての基礎的な実験根拠をえた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腹部手術後の重大な合併症である膵液瘻はこれまで重症化メカニズムが不明で根本的な重症化予防法が存在しなかった。我々は脂肪分解という全く新しい膵液瘻重症化メカニズムを明らかにし、これに着目して脂肪分解酵素阻害剤を用いた膵液瘻重症化予防法の開発を行った。ラットを用いた重症化膵液瘻モデルを初めて確立した。また難水溶性分子である脂肪分解酵素阻害剤を生体適合性分子と適切に混合することで親水環境である腹腔内への投与が可能となった。開発した親水化脂肪分解酵素（リパーゼ）阻害剤を腹腔内投与することにより膵液瘻重症化防止が可能であることが動物モデルを用いた実験で示された。

研究成果の概要（英文）：We established a pancreatic fistula model using obese rats. Compared to the conventional animal model of pancreatic fistula by pancreatic transection in rats, the pathogenesis of pancreatic fistula was significantly exacerbated by adding thermal coagulation treatment to the adipose tissue, leading to decreased survival rates due to the effects of fat decomposition.

By mixing and adjusting the lipase inhibitor with polyethylene glycol in suitable ratios and conditions, it became possible to safely administer the lipase inhibitor intraperitoneally. Intraperitoneal administration of the lipase inhibitor alleviated the severity of pancreatic fistula in the aforementioned animal model. This provided a fundamental experimental basis for a novel therapeutic strategy involving the treatment of pancreatic fistula through the mechanism of fat decomposition inhibition.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵液瘻 リパーゼ 脂肪 脂肪酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性膵炎は本邦年間発症者数が10万人あたり15人と高頻度で、重症例では死亡率が20%を超える重篤な疾患である。膵炎の病態は膵腺房細胞で産生される消化酵素による病的自己障害反応と考えられているが、現在の治療は適切な輸液等の支持療法が主体で、膵炎の特徴である消化酵素反応を対象とした根本的治療法は十分確立されていない。年々施行数が増えている膵臓手術の合併症である膵液瘻にも膵炎の関与が示唆されている。膵液瘻は腹腔内への膵酵素漏出に伴って生じ、発生率が20-40%と高く、膵臓手術周術期死亡の多くに関与する重要な合併症である。膵液瘻治療も対症療法が主体で、消化酵素による自己障害という病態を考慮した根本的治療法は未だ確立されていない。両疾患とも新規治療法が希求される重要疾患である。

急性膵炎・膵液瘻に共通する疫学的危険因子として、内臓性肥満が知られている。内臓性肥満患者で急性膵炎が増悪する機構について長らく不明であったが、リパーゼが中性脂肪を分解することで生じる遊離脂肪酸が膵炎重症化に関与していることが近年報告された。我々は、膵液瘻において内臓性肥満とリパーゼによる脂肪分解が重症化に関与していることを初めて報告した。本機構に基づくリパーゼ阻害による病的脂肪分解抑制が、急性膵炎・膵液瘻の新規治療法として期待される。リパーゼ阻害剤は、肥満症に対する経口治療薬として実臨床で使用され、安全性が確認されているが、上市されているリパーゼ阻害剤はいずれも難水溶性で、経口投与ではほとんど吸収されず、全身循環中や腹腔内への治療応用は困難であった。難水溶性物質の薬理作用を生体内で発揮させるために、種々の生体適合性親水性材料と組み合わせ親水化する技術が実用化されてきており、リパーゼ阻害剤への応用が期待された。

2. 研究の目的

本研究の目的は急性膵炎・膵液瘻に対する病態特異的新規治療法である親水化リパーゼ阻害剤の生体適合性および治療効果を明らかにし、将来の臨床応用に向けた知見を与えることであった。

3. 研究の方法

(1) 細胞培養実験による親水化脂肪分解酵素阻害剤の生体適合性評価(in vitro)

正常細胞株と親水化リパーゼ阻害剤を様々な条件で共培養し、細胞毒性を評価する。

(2) 親水化リパーゼ阻害剤の脂肪分解阻害効果評価 (in vitro)

膵腺房細胞を中性脂肪と共培養すると、脂肪分解により膵腺房細胞に対する細胞毒性が生じる。ここに親水化リパーゼ阻害剤を加え、脂肪分解阻害効果および細胞保護効果を確認する。

(3) 健常ラットを用いた親水化リパーゼ阻害剤の生体適合性評価(in vivo)

健常ラットに親水化リパーゼ阻害剤を種々の濃度で静注投与または腹腔内投与し、毒性発現の有無を血液生化学検査、組織学的評価、生存期間評価により行う。

(4) 膵液瘻動物モデルを用いた親水化リパーゼ阻害剤による治療実験 (in vivo)

高脂肪食肥満ラットにおいて、膵切離による膵液瘻動物モデルを作製し、親水化リパーゼ阻害剤の経静脈投与または腹腔内投与を行い、治療効果を評価する。

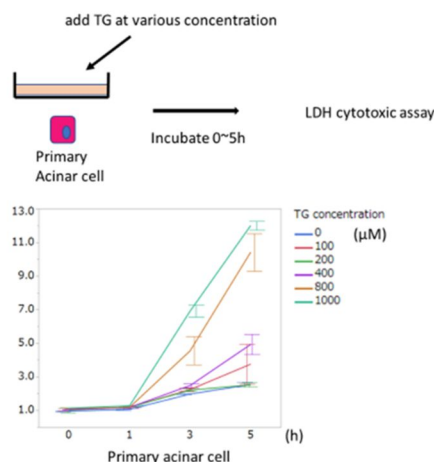
(5) 急性膵炎動物モデルを用いた親水化リパーゼ阻害剤による治療実験(in vivo)

高脂肪食肥満ラットにおいて、セルレイン腹腔内投与による急性膵炎動物モデルを作製し、親水化リパーゼ阻害剤の経静脈投与または腹腔内投与を行い、治療効果を評価する。

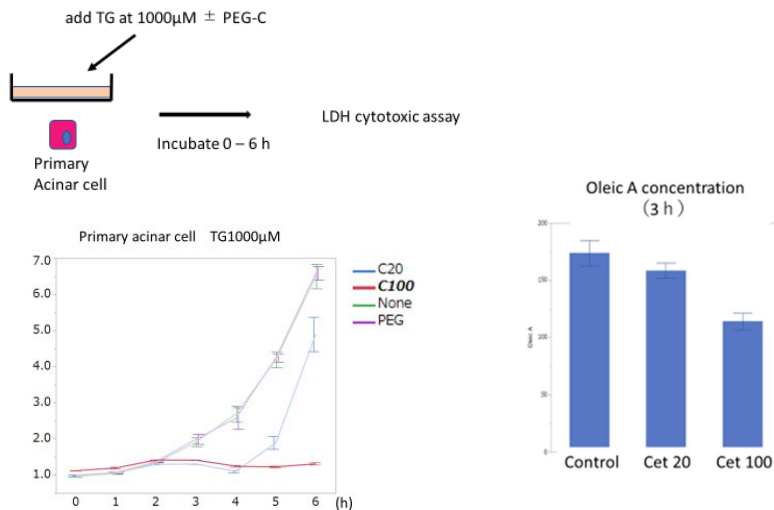
(6) 実臨床患者において、膵液瘻および脂肪、脂肪分解についての関連を検討し、解析する。

4. 研究成果

まず正常細胞株(hMSC)を用いて親水化リパーゼ阻害剤の細胞毒性の評価を行った。これらの実験により、動物実験にすすめるべき親水化リパーゼ阻害剤の組成を推定した。次にラットの膵腺房細胞を単離して、中性脂肪を培養液中に投与し、培養する実験を実施した。中性脂肪の存在下では腺房細胞より分泌される膵酵素により脂肪分解が生じ、腺房細胞に対する細胞障害が生じる。



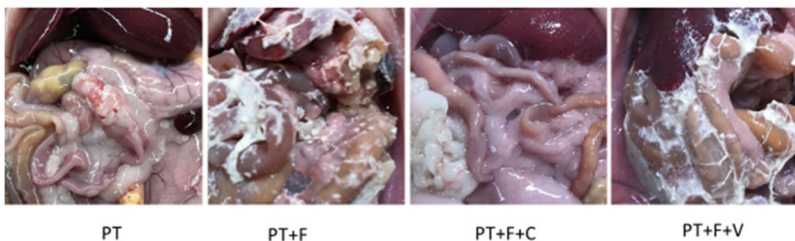
これに対して親水化リパーゼ阻害剤を投与することで脂肪酸生成が抑制され、脂肪分解に伴う腺房細胞障害が軽減される可能性を示唆する実験結果を得た。



健常ラットに対して親水化リパーゼ阻害剤を腹腔内投与し、明らかな有害事象が生じないことを確認した。経静脈投与については、膵炎モデルに対しての治療方法として検討していたが、膵炎モデルについて脂肪分解との関連を証明しうる動物モデルの確立に難渋したため、中断した。肥満ラットに対して膵切離操作を行うことで、膵液瘻モデルを作成した。さらにそのラットの脂肪に対して熱凝固処置を加えることで、膵液瘻が重症化することが示された。脂肪に対する熱凝固処置のみでは、ラットには有害事象をまったく認めないにも関わらず、膵切離処置と脂肪に対する処置を行ったラットでは生存率が有意に低下した。これらは脂肪分解が膵液瘻を悪化させる要因となることを示す基礎的な実験結果であり、学会報告を行った。(第32回日本肝胆膵外科学会・学術集会、第52回日本膵臓学会大会)



さらに、このラットに対して様々な条件で作製した親水化リパーゼ阻害剤を投与し、重症化の抑制が可能であることが見いだされた。投与する親水化リパーゼ阻害剤に対して容量依存性に生存率の改善が認められた。本研究結果の一部について、学会報告を行った。(第34回日本肝胆膵外科学会)



実臨床における膵液瘻と脂肪の関連について解析を深めるため臨床的検討を行い、学会報告を行った。(第26回国際膵臓学会、第14回膵臓内視鏡外科研究会)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名	中村直人 長井和之 余語覚匡 金田明大 笠井洋祐 穴澤貴行 内田雄一郎 増井俊彦 波多野悦朗
2. 発表標題	Establishing a model of pancreatic fistula in rats model and a novel approach to prevent pancreatic fistula
3. 学会等名	第34回日本肝胆膵外科学会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Yuichiro Uchida Takeshi Takahara Takuya Mizumoto Hideaki Iwama Masayuki Kojima Yutaro Kato Ichiro Uyama Koichi Suda
2. 発表標題	Robot assisted distal pancreatectomy for pancreatic cancer
3. 学会等名	第26回国際膵臓学会（国際学会）
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	内田雄一郎 高原武志 三井哲史 水本拓也 岩間英明 小島正之 加藤悠太郎 宇山一郎 須田康一
2. 発表標題	ロボット支援科膵頭十二指腸切除術における膵腸吻合
3. 学会等名	第14回膵臓内視鏡外科研究会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	内田雄一郎
2. 発表標題	脂肪分解阻害による膵液瘻予防：膵液瘻悪化因子として遊離脂肪酸に焦点を当てた新しい戦略
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 Yuichiro Uchida
2. 発表標題 Preventing pancreatic fistula via lipolysis inhibition: a novel strategy focusing on free fatty acid as an exacerbating factor of pancreatic fistula
3. 学会等名 第32回日本肝胆膵外科学会・学術集会
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
---------------------------	-----------------------	----

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