

機関番号：11301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21791267

研究課題名 (和文) 消化管大量切除後の薬物治療検証システムの確立

研究課題名 (英文) Establishing a system to validate the effectiveness of medical therapy after removal of gastrointestinal tract.

研究代表者

羽根田 祥 (HANEDA SHO)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：20436140

研究成果の概要 (和文)：

大腸全摘施行後の患者に対して loperamide を投与したが、下痢の改善効果は見られず、loperamide には aldosterone 系を介した水分電解質の明らかな再吸収促進効果は認められなかった。ヒト検体を用いた Ussing chamber による電気生理学的手法にても Na 輸送に明らかな変化は見られなかった。しかしながら、研究代表者らは過去の研究で同手法によりヒト検体を用いた SGLT-1 における glucose 投与の評価を成功させており、この in vivo のシステムは使用する薬物の薬理作用によっては治療効果検証に機能しうる可能性があると思われた。

研究成果の概要 (英文)：

No obvious changes was seen in watery diarrhea and in sodium transportation by orally intake of loperamide after total proctocolectomy, loop-ileostomy. However, we succeed in making assessment of effect of glucose against SGLT-1 using same methods in our previous report. This system may be a functional technique according to the pharmacodynamic action of the drug we use.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：消化器外科学

キーワード：大腸全摘、消化管大量切除、水様性下痢便

1. 研究開始当初の背景

消化器外科分野における手術では、クローン病、潰瘍性大腸炎、家族性大腸腺腫症、上腸間膜動脈血栓症など消化管大量切除を必要とする手術がなされることも多く、術後に短腸症候群や大腸欠落症状である水様性下痢便・脱水に苦慮することが多い。この水様

性下痢便の改善・コントロールの有無が、その後の患者の Quality of life に強く影響を与えている。その中でも潰瘍性大腸炎と家族性大腸腺腫症の手術では主に大腸全摘、小腸ストーマ造設術が施行されているわけであるが、この術式は術直後の水様性下痢、脱水がほぼ必発であり、診療において大きな問題と

なっている。この水様性下痢便の対策として、これまでは大腸に主に作用し、下痢便を抑えることが知られているものの、大腸全摘後の大腸が存在しない状態における有効性・作用機序のよく解明されていない薬剤 (loperamide) をなかば盲目的に使用しているのが臨床での実態である。今後も臨床の現場ではこれまで同様 loperamide をはじめとする効果・作用機序のはっきりしない薬剤を漫然と使っていくかざるを得ない状況にある。loperamide の様な、作用機序・効果がよく解明されていない薬剤の作用機序・効果を解明するシステムの確立は、臨床上大変重要である。

2. 研究の目的

大腸全摘後の病態改善を目的として、loperamide の大腸全摘後の環境下での小腸における排出抑制作用の機序および水分・電解質・グルコース吸収促進の可能性を検討する。また、その過程において消化管大量切除後の病態改善が期待される薬剤の、前臨床段階における有効性検証システムの構築をはかる。

3. 研究の方法

(1) in vivo の系

①細胞培養

大腸上皮培養細胞株である HT-29/B6 細胞および小腸上皮様培養細胞株である Caco-2 細胞を Millicell PCF filter (Millipore, Schwalbach, Germany) の上に RPMI 培地を用いて単層で培養する。細胞培養の至適条件の検討を行う。

②電気生理学的検討

単層 1 層に培養した HT-29/B6 細胞および Caco-2 細胞を短絡電流測定装置である Ussing chamber に装着し、buffer の粘膜側に loperamide を投与して短絡電流の変化をみる。ナトリウム吸収能、Cl 排出能の測定をする。

(2) in vitro の系

①臨床データの測定

潰瘍性大腸炎にて大腸全摘し、小腸ストーマを造設した患者に対し、経口摂取が落ち着いたところで 3 日間 loperamide を内服してもらい、内服前後でのストーマからの排便量・便性状の変化、アルドステロン、レニン等の血中ホルモン値、尿比重、尿中電解質、(同意が得られれば) D-キシロース吸収試験、糞便の Sudan III 染色、便中脂肪定量、PFD 試験などの消化吸収試験をはじめとする臨床データを測定する。

②電気生理学的検討

大腸全摘後数カ月後に一時的回腸ストーマを閉鎖するが、ストーマ閉鎖手術時に切除するストーマ部より回腸粘膜を採取し、Ussing chamber に装着する。Buffer の粘膜側に loperamide を投与し、ナトリウムチャンネルブロッカーである amiloride、phlorizin を投与することでナトリウム吸収能の変化を測定し、loperamide のナトリウム吸収を介した腸管からの水分・電解質吸収に対する効果をみる。

4. 研究成果

先日の東日本大震災の影響で細かいデータが失われてしまったため、細かい数値が出せなくなってしまい、統計的検討も不可能となってしまったのでここでは大まかな概要のみ提示する。

(1) in vitro の系

ナトリウム輸送機能を評価するためには、輸送にかかわる sodium/glucose cotransporter-1 (SGLT-1)、Na/K ATPase $\alpha 1$ 、および $\beta 1$ subunit、epithelial sodium channel α , β , γ -subunit (ENaC- α , β , γ)、proctasin などをもれなく発現している細胞を用いることが理想的である。各種上皮細胞株における mRNA レベルでの発現を検討したところ、いずれの分子も生体における分化した上皮細胞と比較すると発現レベルは極めて低いことが判明した。従って、各種のナトリウム輸送機構の検討には数種類の細胞を使い分けたり、遺伝子導入などの方法により着目する分子を強制発現する方法が必要と思われた。

電気生理学的検討によるナトリウム輸送の観察では、実際の短絡電流のレベルや薬剤投与による変化が極めて小さく、有意な差として観察することができなかった。これは、上記のように輸送にかかわる分子の発現レベルが低いことや、絨毛様構造をとる実際の粘膜と異なり単層培養であることが影響していると考えられ、変化を増幅して観察するシステムを作り上げる必要があると思われた。

(2) in vivo の系

①臨床データの測定

大腸全摘施行後の患者に対して loperamide を投与したが、排便は 1 日 1000ml ~ 1500ml とその期間内では変わりは見られず、明らかな水様性下痢便の改善効果は見られなかった。しかしながら loperamide 内服後の血中アルドステロン値は平均 9.1 ng/dl と正常範囲にあり、過去の報告 (Huber FX, et al. Dis Colon Rectum 1999) における大腸全摘後 10 日後の平均血中アルドステロン値が 35.1 ng/ml と比べ著明に増加していることを

考えると、大腸全摘後の状態における作用機序までは解明できなかったものの、loperamide には少なからず小腸粘膜からの水分・電解質の再吸収促進効果があると思われる。

尚、施行予定であった消化吸収試験の D-キシロース吸収試験、糞便の SudanIII 染色、便中脂肪定量、PFD 試験であるが、临床上必ずしも必要な検査ではなかったということ、わずらわしい検査を行うことに対して患者の理解が得られず、施行することができなかった。

②電気生理学的検討

小腸ストーマ閉鎖時に採取した小腸粘膜を用いた Ussing chamber による電気生理学的手法にてもナトリウム輸送および Cl 輸送において検討可能なほどのレベルでは短絡電流が変化していなかったためと思われる。しかしながら、研究代表者らは過去の研究で Ussing chamber を用いた同手法により、ヒト小腸粘膜を用いた SGLT-1 を介した glucose 投与の効果の評価を成功させており、この in vivo のシステムは、使用する薬物の薬理作用、薬物の有効濃度などの至適条件によっては治療効果検証に機能しうる可能性があると思われた。

(まとめ)

今回の検討では大腸全摘後の環境における loperamide による明らかな水様性下痢便の抑制効果、およびその作用機序については解明できなかったが、研究代表者らの同手法を用いた過去の検討から、条件によっては Ussing chamber を用いた電気生理学的手法と臨床所見を組み合わせることにより、腸管に作用する他の薬物に関しては、その作用機序の解明にはつながっていきける可能性があると思われた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① 小川仁, 羽根田祥, ほか 8 名(5 番目); *C. Difficile* 関連難治性回腸囊炎の 3 例(査読あり). 日本消化器外科学会雑誌 270-276. 43(3). 2010
- ② 羽根田祥, ほか 8 名(1 番目); IBD における外科治療の現状(査読なし). IBD Research. 32-43. 4(1). 2010
- ③ 渡辺和宏, 羽根田祥, ほか 10 名(9 番目); 手術 vs 非手術-最新のエビデンスから 炎症性腸疾患(査読なし). 外科. 1508-1514. 72(13). 2010
- ④ 佐藤学, 羽根田祥, ほか 11 名(7 番

目); Infliximab 投与後急激な腫瘍マーカーが診断の契機となった Crohn 病合併痔瘻癌の 1 例(査読あり). 日本消化器外科学会雑誌. 885-892. 107(6). 2010

- ⑤ 羽根田祥, ほか 2 名(1 番目); 術後の下痢—その対処法—(査読なし). 成人病と生活習慣病. 96-99. 39(1). 2009
- ⑥ 羽根田祥, ほか 3 名(1 番目); 消化器外科疾患 30 の病態生理とケア: クロウン病(査読なし). 消化器外科 Nursing. 112-118. 春季増刊号. 2009
- ⑦ 羽根田祥, ほか 3 名(1 番目); 消化器外科疾患 30 の病態生理とケア: 潰瘍性大腸炎(査読なし). 消化器外科 Nursing. 119-127. 春季増刊号. 2009
- ⑧ 羽根田祥, ほか 7 名(1 番目); 大腸全摘回腸囊肛門吻合術(査読なし). 外科. 1529-1532. 71(13). 2009
- ⑨ 羽根田祥, ほか 2 名(1 番目); 小腸狭窄に対する形成における縫合・吻合(査読なし). 209-212. 64(11). 2009

[学会発表] (計 11 件)

- ① 羽根田祥; 当科における在宅中心静脈栄養療法の実績. 宮城 IBD 学術講演会. 2010/12/11(仙台)
- ② 羽根田祥; 当科で施行している在宅中心静脈栄養療法の検討. 第 65 回日本大腸肛門病学会総会. 2010/11/26(浜松)
- ③ 羽根田祥; 当科での在宅中心静脈栄養療法の検討. JDDW2010. 2010/10/16(横浜)
- ④ 羽根田祥; 回腸瘻造設後のクロウン病(CD)の残存小腸長からみた在宅中心静脈栄養(HPN)導入基準の検討. 第 65 回日本消化器外科総会. 2010/07/16(下関)
- ⑤ S. Haneda; Critical length of the small intestine to introduce home parenteral nutrition (HPN) in patients with Crohn's disease (CD) having ileostomy. European Society for Surgical Research 2010. 2010/06/10(Geneva)
- ⑥ 羽根田祥; 回腸瘻を造設したクロウン病症例における Home parenteral nutrition(HPN)導入基準の検討—残存小腸長の観点から—. 第 96 回日本消化器病学会総会. 2010/04/24(新潟)
- ⑦ 羽根田祥; ストーマ閉鎖後に小腸出血を来した潰瘍性大腸炎の 1 例. 第 75 回宮城 IBD 研究会. 2010/02/02(仙台)
- ⑧ 羽根田祥; 潰瘍性大腸炎における回腸囊炎に対する治療法と臨床経過. 第 64 回日本大腸肛門病学会. 2009/11/06(福岡)
- ⑨ S. Haneda; Treatment of Bacterial Catheter-Related Sepsis (CRS) with Antibiotic-Lock Technique (ALT). International Surgical Week 2009.

2009/10/09(Adelaido)

- ⑩ 羽根田祥；皮下埋め込み型中心静脈ポータ感染に対して施行した抗生剤ロック療法(ATL)の検討. 第95回日本消化器病学会総会. 2009/05/09(札幌)
- ⑪ 羽根田祥；皮下埋め込み型中心静脈ポータの感染に対する抗生剤ロック療法(ATL)の有用性の検討. 第109回日本外科学会定期学術集会. 2009/04/03(福岡)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

羽根田 祥 (HANEDA SHO)
東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師
研究者番号：20436140

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：