

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08605

研究課題名(和文) IFALDにおけるDPP4阻害薬による革新的予防法の開発

研究課題名(英文) The development of novel prophylaxis method for IFALD by utilizing DPP4 inhibitor.

研究代表者

末吉 亮 (Sueyoshi, Ryo)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：10724172

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)：短腸症候群(SBS)の直接死因の約30%を占める腸管関連性肝障害(IFALD)を克服するべく本研究に取り組んだ。ラットSBSモデルに中心静脈栄養を加えたIFALDモデルにて、経口糖尿病薬であるDPP4阻害薬の薬剤投与実験を行なった。DPP4阻害薬投与により、上記モデルにおいてASTが生食投与群と比較して有意に低下していた。また、病理組織にて脂肪沈着、および肝線維化の抑制効果を呈していた。このメカニズムとして、サイトカインおよびインクレチンを測定したところ、DPP4阻害薬投与によりGLP-1上昇を呈し、TGF- β の低減を誘導することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで短腸症候群の治療薬として世界的に認可されている薬剤は皮下注射製剤1剤のみである。小児に対して毎日皮下注射製剤を使用することは日々痛みを伴ってしまう。また、1バイアル高額な薬剤の費用がかかるため、自ずと高額医療に至ってしまう。経口糖尿病薬であるDPP4阻害薬が短腸症候群に適応された場合には、皮下注射の痛みから解放されるだけでなく、約350分の1の薬価に抑えられる。

研究成果の概要(英文)：We planned to investigate for the overcoming IFALD (: intestinal failure associated liver disease), in which is about 30% direct cause of death in SBS (: Short Bowel Syndrome).

We examined it by DPP4-inhibitor oral gavage in the rat SBS model and IFALD model (SBS+total parenteral nutrition). AST was significantly decreased in the DPP4 inhibitor group than in the control group. DPP4-inhibitor cause to the decrease in hepatic lipid accumulation and fibrosis in the IFALD model. For the purpose of elucidation for the mechanism, we examined cytokines and incretins. DPP4-inhibitor may induce the down-regulation of TGF- β from the up-regulation of GLP-1.

研究分野：短腸症候群

キーワード：短腸症候群 DPP4阻害薬 GLP-1 GLP-2 IFALD TGF- β インクレチン

1. 研究開始当初の背景

短腸症候群（以下、本症）に対して本邦および世界で認可されている薬剤は皮下注射である GLP-2 製剤のみである。皮下注射製剤であることから、毎日投与時の痛みを伴い、薬価も本邦で 1 本 74000 円と非常に高額である。そこで、我々は血中 GLP-2 の上昇による腸管順応作用を別の薬剤にて補完できないかという目的で、経口糖尿病薬として一般的に認知されている DPP4 阻害薬を用いて、本症に対しての効能を動物モデルで研究してきた。マウス本症モデルに対して、DPP4 阻害薬投与により腸管吸収面積の増大を報告した (Okawada M et al, Surgery 2011)、また、同様のモデルにて DPP4 阻害薬投与により、腸管上皮細胞の電気抵抗の増大を示し、腸管バリア機能の増強効果を示唆した (Sueyoshi R et al, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2014)。そしてそのメカニズムとして DPP4 阻害薬による E-cadherin および Occludin の増幅の関連性を報告した (Sueyoshi R et al, Pediatr Surg Int, 2020)。

一方で、本症の予後改善のためには本症の最大の直接死因である腸管関連性肝障害 (Intestinal Failure Associated Liver Disease: IFALD) を克服することが喫緊の課題といえる。また IFALD の発症因子として、1. 肝臓の脂肪沈着・肝線維化と 2. 中心静脈カテーテル感染や腸管バクテリアルトランスロケーションなどの敗血症が原因として考えられている (図 1 参照)。従って、本症の予後改善にはこれらの発症因子に対して、直接的もしくは間接的な効能を有する機序が検討される。

そこで、DPP4 阻害薬は非アルコール性脂肪肝炎 (Nonalcoholic steatohepatitis: NASH) において、脂肪沈着の抑制や抗炎症作用が報告されており、IFALD に対しても有用なのではないかと想起した。何故なら IFALD は NASH モデルと同様に肝臓の脂肪沈着を呈するため、ラット IFALD モデルにおいても DPP4 阻害薬が本症の IFALD の発症予防および治療に以下の 2 点 (肝臓での脂肪変性を抑制する 腸管バリア機能増強による敗血症の発生減少) の理由で有用なのではないかと考えた。

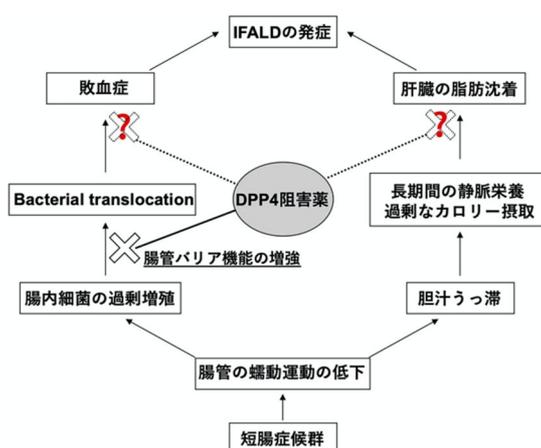


図 1. IFALD 概念図

2. 研究の目的

本研究では、ラット短腸症候群モデルに対して中心静脈カテーテル挿入も施行し、中心静脈栄養管理 (Total Parenteral Nutrition: TPN) を行う IFALD モデルを作成し、研究期間を 3 週間とすることで、SBS モデルと比較して、より臨床的な IFALD を擬似させる外科的モデルを用いて、経口糖尿病薬である DPP4 阻害薬の効能を比較検討する。また、同時にラット SBS モデルとの比較を行い、長期 TPN 管理によるインクレチン (GLP-1、GLP-2) への影響も検討していく。また、これらの作用機序に関して GLP-1、GLP-2 のクロストークも研究していく。

3. 研究の方法

生後 8 週の SD ラットを用いて、以下の 4 群に分類した。1. SBNS 群: SBS モデル+生理食塩水投与群 (n=7)、2. SBDP 群: SBS モデル+DPP4 阻害薬投与群 (n=7)、3. IFNS 群: IFALD モデル+生理食塩水投与群 (n=7)、4. IFDP 群: IFALD モデル+DPP4 阻害薬投与群 (n=7) である。IFALD モデルはラットの右頸部を切開し、右外頸静脈に 1.9Fr の中心静脈カテーテルを挿入した。右頸部から後頸部までを皮下トンネルを作成し、このカテーテルの遠位端を後頸部でカテーテル接続ボタンであるバスキュラーアクセスボタンを皮下に埋め込んだ。アクセスボタンはラット体外のカテーテルを接続してシリンジより点滴内容を注入した。点滴の滴下については、KDSscientific 社の Legato200 を用いて、2.5-2.7ml/hr (ラット体重により投与量変更あり) にてネオパレン 2 号と 20% イントラリポスを 5:1 に混合した溶液を持続投与した。研究期間は 21 日として、手術 21 日後に犠死せしめ、組織 (肝臓・血液・腸管) を採取した。肝臓は H-E 染色スライドにて非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) にて使用されている SAF スコアリングを用いて、肝障害のスコアリングを行った。肝臓の線維化については、Sirius-Red 染色を施行し、評価を行った。肝機能については血清 AST、ALT、ALP、総胆汁酸値を検証した。また、血中インクレチン (GLP-1、GLP-2) およびサイトカイン (TGF- β) について各 ELISA キットを使用して測定した。血糖値については術後 21 日の時点での血糖値を測定した。ラットの体重については術後 1, 3, 7, 14, 21 日に測定した。

4. 研究成果

肝臓マクロ所見においては IFNS 群において肝臓の脂肪沈着により、黄白色の色調を呈していた。その他の群では赤褐色の肝臓の色調が維持されていた。肝臓ミクロ所見では、IFNS 群及び SBNS 群にて脂肪滴 (図 2 矢印) パルーニング (図 2 矢頭) を呈していたが、DPP4 投与群では SBS・IFALD モデル共に脂肪肝炎の所見は呈していなかった。SAF スコアリングでは SBS モデル・IFALD モデル共に DPP4 阻害薬投与群では生理食塩水投与群と比較して有意に低値であった (SBNS 群 4.7 ± 0.5 , SBDP 群 2.6 ± 0.9 , IFNS 群 5.0 ± 1.3 , IFDP 群 2.7 ± 1.7 , $p < 0.05$) (図 2)。

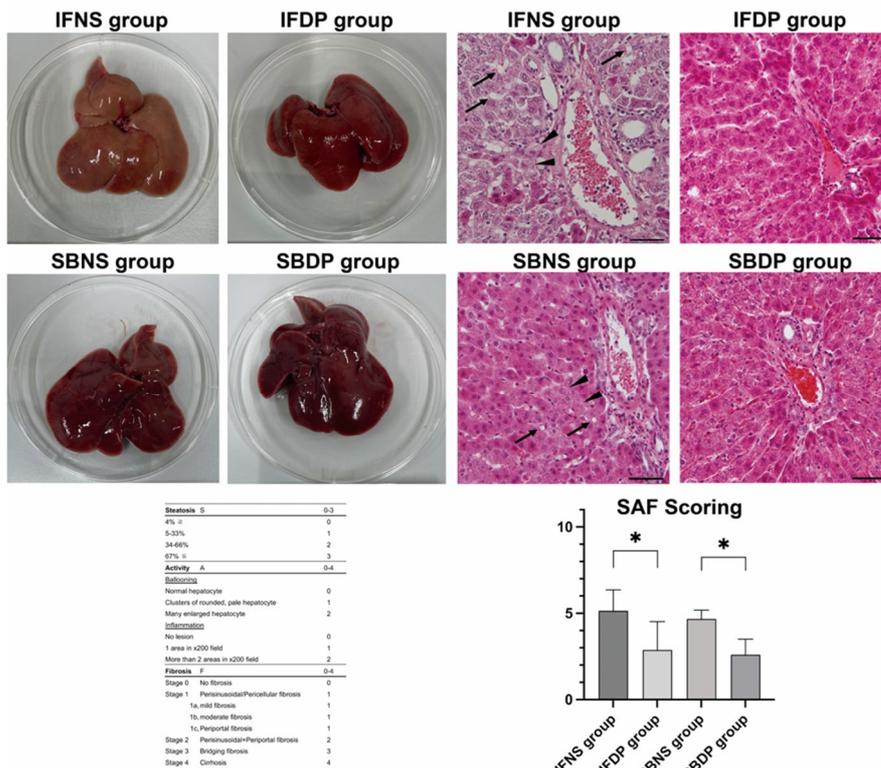


図 2: 肝臓病理組織像

血清 ALT 値については SBS モデル・IFALD モデル共に DPP4 阻害薬投与群では生理食塩水投与群と比較して有意に低値であった (SBNS 群 45.9 ± 9.8 IU/L, SBDP 群 32.0 ± 4.3 IU/L, IFNS 群 52.4 ± 17.1 IU/L, IFDP 群 33.3 ± 9.6 IU/L)。その他、AST, ALP, 総胆汁酸では有意差は認めなかった。血清 GLP-1 値については SBS モデル・IFALD モデル共に DPP4 阻害薬投与により、有意に上昇していた (SBNS 群 59.0 ± 10.3 pM/ml, SBDP 群 80.5 ± 11.5 pM/ml, IFNS 群 48.4 ± 18.0 pM/ml, IFDP 群 102.0 ± 83.7 pM/ml, $p < 0.05$)。一方で、GLP-2 においては何れの群間においても有意差は認めなかった。血清 TGF- β では IFNS 群に対して、IFDP 群で有意に低値を呈していた (IFNS 群 66.2 ± 46.0 pg/ml, IFDP 群 10.6 ± 5.5 pg/ml, $p < 0.05$)。Sirius-Red 染色において、IFNS 群において 7 匹中の 2 匹のラットが線維化所見を呈していた。体重増加については DPP4 阻害薬投与群と生理食塩水投与群の比較において低値となっていたものの、有意差は認めなかった。血糖値についても同様に何れの群間においても有意差は認めなかった。

これらの結果により、長期の中心静脈栄養および短腸症候群の状況下では肝臓の脂肪沈着や肝線維化が進行し、臨床的な IFALD と同様の肝臓病理組織像を呈することがわかった。この状況に対して、仮説通りに DPP4 阻害薬を投与することにより、肝臓の線維化、脂肪沈着の抑制効果を有していることが確認できた。この機序として、現段階では血清 GLP-1 上昇により、TGF- β の低下が誘導され、肝臓の脂肪沈着・肝線維化を抑制していることが示唆された。

本研究により DPP4 阻害薬の肝臓の脂肪沈着抑制、および肝線維化抑制効果が明らかとなり、経口薬による短腸症候群の新たな治療戦略に繋がることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Sueyoshi Ryo, Furuhashi Nanami, Ishii Junya, Yamaguchi Ryusuke, Kawakami Marumi, Tanabe Kenji, Segawa Osamu	4. 巻 39
2. 論文標題 Decreased liver damage in rat models of short bowel syndrome through DPP4 inhibition	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00383-022-05301-0	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ryo Sueyoshi, Nanami Furuhashi, Junya Ishii, Marumi Kawakami, Kenji Tanabe, Osamu Segawa
2. 発表標題 Decreased liver damage in rat models of short bowel syndrome through DPP4 inhibition
3. 学会等名 35th International Symposium on Pediatric Surgical Research (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 末吉 亮, 古橋 七海, 川上 万留実, 久保木 恵理佳, 田邊 賢司, 世川 修
2. 発表標題 DPP4阻害薬によるラット短腸症候群モデルに対しての有用性
3. 学会等名 第59回日本小児外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 末吉 亮, 石井 惇也, 川上 万留実, 田邊 賢司, 世川 修
2. 発表標題 DPP4阻害薬によるラットIFALDモデルに対する肝保護作用
3. 学会等名 第38回日本臨床栄養代謝学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 末吉 亮, 石井 惇也, 川上 万留実, 田邊 賢司, 世川 修
2. 発表標題 DPP4阻害薬によるラットIFALDモデルに対する肝保護作用
3. 学会等名 第60回日本小児外科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryo Sueyoshi, Junya Ishii, Susumu Yamada, Marumi Kawakami, Kenji Tanabe, Osamu Segawa
2. 発表標題 Decrease in liver fatty accumulation and fibrosis in rat intestinal failure associated liver disease models through DPP IV inhibition.
3. 学会等名 The 56th PAPS annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 末吉 亮, 山田 進, 石井 惇也, 川上 万留実, 田邊 賢司, 世川 修
2. 発表標題 DPP4阻害薬によるラットIFALDモデルに対する肝線維化抑制作用
3. 学会等名 第61回日本小児外科学会
4. 発表年 2024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	世川 修	東京女子医科大学・医学部・臨床教授	研究内容の指導、アドバイス
	(Segawa Osamu)		
	(30255682)	(32653)	

6. 研究組織（つづき）

	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	古橋 七海 (Furuhashi Nanami) (60911914)	東京女子医科大学・医学部・後期臨床研修医 (32653)	2023年2月に退職に伴い、研究分担者より削除
研究分担者	山田 進 (Yamada Susumu) (20827894)	東京女子医科大学・医学部・助教 (32653)	研究内容の補助作業

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