

平成 30 年 6 月 21 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：2016～2017

課題番号：16H07090

研究課題名(和文) 腸管不全関連肝障害の病態解明に基づくグレリン誘導周術期管理治療法の開発

研究課題名(英文) The administration of ghrelin improved hepatocellular injury following parenteral feeding in a rat model of short bowel syndrome

研究代表者

大西 峻 (onishi, shun)

鹿児島大学・附属病院・医員

研究者番号：10614638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：【目的】大量腸管切除後の肝障害(IFALD)におけるグレリンの効果を検討することで、短腸症候群の新たな術後管理法の開発につながる可能性があり、短腸症候群患児の健全な発育に寄与することができると考えた。【方法】SD ratで大量腸管切除+TPNモデルを作成。グレリン投与群(SBS/TPN/Ghrelin)、グレリン非投与群(SBS/TPN)、sham群(カテ挿入・腸管切離および吻合のみ)を作成した。【結果】SBS/TPN/Ghrelin群においてSBS/TPN群と比べて肝逸脱酵素が改善し、肝臓の脂質沈着が有意に抑制された。【結語】グレリン投与は短腸症候群の新たな治療法となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Purpose: Long-term parenteral nutrition following massive bowel resection causes liver dysfunction, such as intestinal failure-associated liver disease (IFALD). The aim of this study was to evaluate the effects of the administration of ghrelin in the liver in a parenterally fed rat model of short bowel syndrome (SBS). Methods: Rats underwent jugular vein catheterization, and were divided into 3 groups: 90% small bowel resection (90% SBR) and TPN (SBS/TPN group), 90% SBR and TPN plus ghrelin (SBS/TPN/ghrelin group), sham operation with normal chow (sham group). Ghrelin was administered continuously. Result: The AST and LDH levels significantly increased and the accumulation of lipids in the liver was observed in the TPN/SBS group. The accumulation of lipids in the liver of the rats in the SBS/TPN group was attenuated by the administration of ghrelin. Conclusion: The administration of ghrelin has a therapeutic potential for IFALD.

研究分野：小児外科

キーワード：腸管不全関連肝障害 グレリン 短腸症候群 経静脈栄養 腸管順応 消化管ホルモン

1. 研究開始当初の背景

小児期に短腸症候群になった患児は、長期の絶食・経静脈栄養管理を余儀なくされる。国内での1歳未満発症の短腸症候群は年間200~300例程度と推測される。経静脈栄養関連合併症の1つである静脈栄養関連肝障害(IFALD)を新生時期に発症した短腸症候群の50%はこの肝障害により死亡するとの報告(文献2)がある。当科の経験においても、短腸症候群患児においてIFALDが発症した患児では累積生存率が優位に低下している。IFALD発症の予防には経静脈栄養から経腸栄養への移行が長期生存を担保するには極めて重要となるが、そのためにはまず、肝障害を起こさずに安定した静脈栄養を行うことが必須である。術後我々が改善しうるのは、IFALDを予防しながらの経静脈栄養管理であり、術後管理を工夫することでこのような短腸症候群患児の長期生存を図る努力が必要である。

2. 研究の目的

長期絶食・経静脈栄養管理においてグレリン投与が肝臓、消化管に与える影響を明らかにし、IFALDの抑制や残存腸管順応促進に関し新たな周術期管理法を見出したいと考えている。具体的には、()長期絶食・経静脈栄養管理を動物モデルで確立し、グレリン投与が肝臓、消化管にどのような影響を与えるかを明らかにする。

()大量小腸喪失、術後絶食経静脈栄養管理を動物モデルで確立し、術後のIFALDの予防および残存腸管順応にグレリンがどのように関わるかを明らかにする。

3. 研究の方法

大量腸管切除の長期絶食・経静脈栄養モデルを作成しグレリンがIFALD、小腸粘膜に与える影響を検討し、新たな術後管理方法の確立を目的とする。

(1)長期絶食・経静脈栄養モデルにおいて、グレリン投与がIFALDおよび小腸粘膜萎縮に与える影響を検討する。

Steigerらの方法に従い、吸入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。グレリンの投与・非投与群を作成し、14日間飼育した後、下記の各種評価項目によりグレリンの効果について検討する。

<生理学的評価>

- ・体重 ・飲水量 ・尿量 ・排便量

<生化学的評価>

- ・血漿グレリン ・血清AST/ALT ・血清ビリルビン ・血清GLP-2 ・血清IGF-1 ・血糖値

<形態学的評価>

- ・肝臓の肉眼的変化 ・肝臓重量

<組織学的評価>

・経静脈栄養関連肝障害の程度

(2)大量腸管切除後の長期絶食・経静脈栄養モデルSD ratで80%大量腸管切除モデルを作成し、右頸静脈から中心静脈カテーテルを挿入した。それぞれn=9のグレリン投与群(SBS/TPN/Ghrelin、グレリン10μg/kg/dayを持続投与)、グレリン非投与群(SBS/TPN)、sham群(カテ挿入・腸管切離および吻合のみ)を作成した。SBS/TPN/Ghrelin群およびSBS/TPN群は完全静脈栄養(水分200ml/kg/day、栄養254kcal/kg/day)、Sham群は生食静注および経口摂取とし13日目に犠死せしめた。

4. 研究成果

(1)長期絶食・経静脈栄養モデル

高容量グレリン投与群(TPNHG)、低容量グレリン投与群(TPNLG)、グレリン非投与群(TPN)、生食投与・自由摂食群(OF)を作成し、5日間の観察を行った。TPNLG群で、空腸の絨毛高、陰窩深が有意に高く、長期絶食による小腸粘膜の萎縮予防にグレリンが効果的であった(図1・2)。

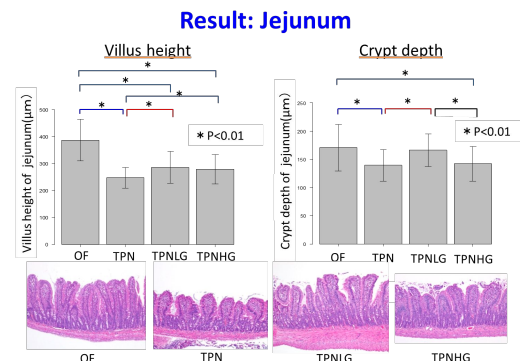


図1 空腸における絨毛高・陰窩深

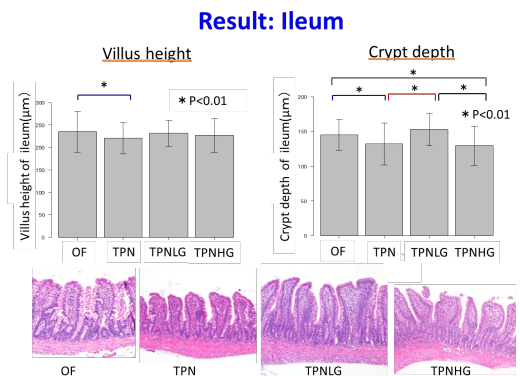


図2 空腸における絨毛高・陰窩深

(2)大量腸管切除後の長期絶食・経静脈栄養モデル

体重増加、腸管重量、肝臓重量は3群間で有意差を認めなかった。組織学的検討ではSBS/TPN/Ghrelin群においてSBS/TPN群と比べて回腸における絨毛高(Sham vs. SBS/TPN vs. SBS/TPN/Ghrelin、平均±SD: 589.55±80.17 vs. 501.84±84.99 vs. 565.50±63.93、μm、p<0.01)および陰窩深(214.14±40.13 μm vs. 185.37±35.89 vs. 229.49±34.73、

p<0.01) が有意に改善した。また肝逸脱酵素が改善し (AST:90.57 ± 15.75 vs. 162 ± 84.32 vs. 95.29 ± 9.78、ALT: 26.86 ± 1.77 vs. 21.14 ± 8.55 vs. 12.00 ± 3.61、IU/L、p<0.05)、肝臓の脂質沈着が有意に抑制された (TG: 19.22 ± 13.47 vs. 82.44 ± 42.54 vs. 69.78 ± 22.02、mg/dl、p<0.05)。

短腸症候群モデルにおいて、グレリン投与は残存回腸の絨毛高、陰窩深の増加を認め、回腸の腸管順応を促進すると考えられた。また肝逸脱酵素の上昇および肝臓の脂質沈着を有意に抑え、静脈栄養関連肝障害が改善された。グレリン投与は短腸症候群の新たな治療法となる可能性が考えられた。

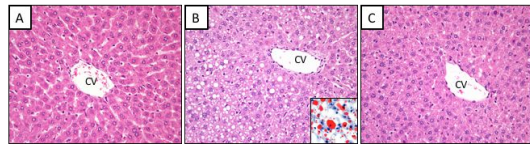


図3 肝 HE 染色(A: Sham 群, B: 80%短腸+TPN 群, C: 80%短腸+TPN+グレリン群, CV: 中心静脈)

80%短腸+TPN 群では脂肪沈着が見られ、Oil-red-O 染色で染色される。

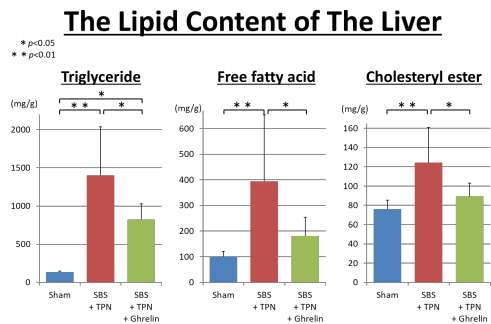


図4 グレリンの投与により、肝組織中のトリグリセリド、有利脂肪酸、コレステロールの沈着が有意に抑えられた。

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11件)

1. Kaji T, Nakame K, Machigashira S, Kawano T, Masuya R, Yamada W, Yamada K, **Onishi S**, Moriguchi T, Sugita K, Mukai M, Ieiri S: Predictors of a successful outcome for infants with short bowel syndrome: a 30-year single-institution experience, *Surgery Today*, 47(11):1391–6, 2017 査読有り
2. Kawano T, Hosomichi K, Inoue I, **Onishi S**, Nakame K, Kaji T, Ieiri S: Identification of a novel variant of RET proto-oncogene in a novel family of Hirschsprung's disease. *Pediatric Surgery International*,

33(10):1041-1046, 2017 査読有り

3. Suzuhigashi M, Kaji T, Noguchi H, Muto M, Goto M, Mukai M, Nakame K, Kawano T, Yamada W, Yamada K, **Onishi S**, Ieiri S: Current characteristics and management of congenital esophageal stenosis - Forty consecutive cases from a multicenter study in the Kyushu area of Japan -. *Pediatric Surgery International*, 33(10):1035-1040, 2017 査読有り
4. Ikee T, **Onishi S*(Equal contribution of first author)**, Mukai T, Kawano T, Sugita K, Moriguchi T, Yamada K, Yamasda W, Masuya R, Machigashira S, Nakame K, Kaji T, Ieiri S: A comparison of the characteristics and precision of needle driving for right-handed pediatric surgeons between right and left driving using a model of infant laparoscopic diaphragmatic hernia repair. *Pediatric Surgery International*, 33(10):1103-1108, 2017 査読有り
5. **Onishi S**, Nakame K, Kaji T, Kawano M, Moriguchi T, Sugita K, Yano K, Nomura M, Yamada K, Yamada W, Masuya R, Kawano T, Machigashira S, Mukai M, Ieiri S: The bowel function and quality of life of Hirschsprung's disease patients who have reached 18 years of age or older - The long-term outcomes after transabdominal Soave procedure -, *Journal of Pediatric Surgery*, 52(12):2001-2005, 2017 査読有り
6. Machigashira S, Kaji T, **Onishi S**, Yamada W, Yano K, Yamada K, Masuya R, Kawano T, Nakame K, Mukai M, Ieiri S: The protective effect of fish oil lipid emulsions on intestinal failure-associated liver disease in a rat model of short-bowel syndrome, *Pediatr Surg Int*. 2018 Feb;34(2):203-209. doi: 10.1007/s00383-017-4190-4, 2017 査読有り
7. Yamada W, Kaji T, **Onishi S**, Nakame K, Yamada K, Kawano T, Mukai M, Souda M, Yoshioka T, Tanimoto A, Ieiri S: Ghrelin Improves Intestinal Mucosal Atrophy During Parenteral Nutrition: An Experimental Study, *Journal of Pediatric Surgery*, 51(12):2039-2043, 2016 査読有り

8. **Onishi S**, Kaji T, Yamada Y, Moriguchi T, Sugita K, Yamada K, Kawano T, Nakame K, Mukai M, Yamada S, Yoshioka T, Tanimoto A, Ieiri S: Ghrelin improves hepatocellular injury following short bowel syndrome in a parenteral nutrition rat model. *Pediatric Surgery International*, 32(12):1165-1171, 2016 査読有り
9. Kaji T, Kawano T, Yamada W, Yamada K, **Onishi S**, Nakame K, Mukai M, Ieiri S, Takamatsu H: Changing Profile of Safe Techniques for Insertion a Central Venous Catheter in Pediatric Patients - Improvement in Outcomes with the Experience of 500 Insertions in a Single Institution, *Journal of Pediatric Surgery*, 51(12):2044-2047, 2016 査読有り
10. Kawano T, Kaji T, **Onishi S**, Yamada K, Yamada W, Nakame K, Mukai M, Ieiri S: Efficacy of Ethanol locks to reduce the incidence of catheter-related bloodstream infections for home parenteral nutrition pediatric patients. Comparison of therapeutic treatment with prophylactic treatment-, *Pediatric Surgery International*, 32(9):863-7, 2016 査読有り
11. Suzuhigashi M, Kaji T, Mukai M, Nakame K, Yamada W, **Onishi S**, Ieiri S: Abdominal wall regenerative medicine for a large defect using tissue engineering: An experimental study, *Pediatric Surgery International*, 32(10):959-65, 2016 査読有り

〔学会発表〕(計 4件)

1. **大西 峻**、加治 建、森口智江、杉田光士郎、山田耕嗣、山田和歌、桝屋隆太、川野孝文、町頭成郎、中目和彦、向井 基、家入里志:短腸症候群に対するグレリン用いた残存腸管順応と肝障害克服を目指した新規治療法開発 モデルラットによる実験的研究, 第 54 回日本小児外科学会学術集会, 平成 29 年 5 月 11 日
2. **Onishi S**, Kaji T, Yamada Y, Moriguchi T, Sugita K, Yamada K, Kawano T, Nakame K, Mukai M, Yamada S, Yoshioka T, Tanimoto A, Ieiri S: Ghrelin improves hepatocellular injury following short bowel syndrome in a parenteral nutrition rat model.

29th International Symposium On Paediatric Surgical Research, September 9, 2016, FRANKFURT/MAIN, Germany

3. **大西 峻**、加治 建、山田和歌、山田耕嗣、川野孝文、中目和彦、向井 基、家入里志: グレリン投与が短腸症候群モデルラットの腸管順応に与える効果, 平成 28 年 7 月 7 日, 日本外科代謝栄養学会第 53 回学術集会
4. **大西 峻**、加治 建、山田和歌、山田耕嗣、川野孝文、中目和彦、向井 基、家入里志: グレリン投与が短腸症候群モデルラットの腸管順応に与える効果, 平成 28 年 5 月 24 日, 第 53 回日本小児外科学会学術集会

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大西 峻 (ONISHI, Shun)

鹿児島大学・附属病院・医員

研究者番号: 10614638