

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18028

研究課題名(和文) Bariatric surgeryの腸内細菌叢変化による肝発癌抑制効果の研究

研究課題名(英文) Prevention of liver carcinogenesis in bariatric surgery

研究代表者

柏原 秀也 (KASHIHARA, Hideya)

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：10548738

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)：肥満手術による肝発癌予防効果について検討した。＜方法＞(1)ラットを肥満手術群、開腹のみ群に分け術後8週で腸内細菌叢、腸管炎症マーカー、腸管バリアを表すclaudin-1、肝腫瘍を比較。(2)ラットを肥満手術群、開腹のみ群に分け肝発癌誘導剤を投与し肝腫瘍を比較。＜結果＞(1)肥満手術群で糖尿病・脂肪肝炎改善に関わるProteobacteriaが増加。肥満手術群で腸管炎症マーカーは低くclaudin-1は強発現した。2群とも肝に腫瘍形成はなし。(2)両群ともに肝臓が腫瘍に置換され差はなし。＜まとめ＞肥満手術では腸管炎症沈静化・透過性の維持により臓器への炎症波及が抑制され発癌が予防された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を行う上で、DJBが腸内細菌叢microbiotaにどのように影響を及ぼしているのか、またこのmicrobiotaの変化がどのように2型糖尿病・NASH・肝発癌に影響しているかを検討することは極めて重要となってくるが、これが判明した際には、これまで内科的治療では到底改善できなかった肥満・糖尿病・NASHやそれらに関連する疾患や発癌に対する治療アプローチが一変する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate prevention of liver carcinogenesis in bariatric surgery. Methods; (1) Obese diabetic rats were divided into bariatric surgery (DJB) group and sham group. At postoperative 8 weeks, gut microbiome, gut inflammatory cytokines, claudin-1 and tumor counts in liver were investigated. (2) Obese diabetic rats were divided into bariatric surgery group (DJB) and sham group. After the operation, rats drunk DEN mixed water for 15 weeks. Tumor counts and size of the liver in two groups were investigated. Results; (1) DJB group showed increase of Proteobacteria. DJB group showed lower gut inflammation and maintenance of gut permeability. There was no tumor in the two groups. (2) Regarding liver tumor, there was no significant difference in the two groups. Conclusion; Bariatric surgery suppressed systemic inflammation through suppression of gut inflammation and maintenance of gut permeability. Bariatric surgery may prevent inflammation induced carcinogenesis.

研究分野：消化器外科学、肥満外科学

キーワード：Bariatric surgery 腸内細菌叢 肝発癌 肥満 2型糖尿病 NASH

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Bariatric surgery の腸内細菌叢変化による肝発癌抑制効果の研究

(1) 肥満症に対する Metabolic surgery の効果

「肥満症」の主な治療目的は、減量を行うことで糖代謝異常、脂質代謝異常、高血圧などから生じる動脈硬化性疾患を予防することにある。Metabolic surgery は、胃縮小術と消化吸収抑制術に大別されるが、消化吸収抑制術は胃あるいは十二指腸・上部小腸に食物が通過しないようにする方法で、Gastric bypass、Duodeno-jejunal bypass(DJB)などの術式が考案されている。この DJB は単にカロリー摂取量の減少による減量にとどまらず、消化管ホルモン分泌動態の変化、特に incretin と呼ばれる上部空腸 K cell より分泌される gastric inhibitory peptide (GIP)、回腸・大腸 L cell より分泌される glucagon-like peptide-1(GLP-1)の変化を介して、insulin 抵抗性を低下させ 2 型糖尿病や、高血圧、高脂血症など心血管障害の risk を直接軽減させることが注目されている。研究代表者はこれまでに肥満・糖尿病ラットである OLETF ラットを用い、Duodenal-jejunal bypass (DJB)の 2 型糖尿病・NASH 改善効果は、胆汁酸により産生増加した glucagon-like peptide-1 (GLP-1)を増加させることによると報告した(JGH 2015)。さらに研究代表者は、DJB は Sham、外来性 GLP-1 投与と比較して腸内細菌叢 microbiota の変化を来すことを報告している(Surgery Today 2017)。最近では、日本でも肥満人口の増加に伴い、腹腔鏡下スリーブ状胃切除が保険収載となり、その有効性が数多く報告されている。このように、Metabolic surgery の効果やそのメカニズム解明については全世界中で盛んに研究されている分野の一つである。

(2) 肥満・糖尿病と腸内細菌叢の変化

肥満・インスリン抵抗性のあるマウスの腸内細菌叢を抗生剤で腸内除菌を施した正常マウスの腸内に移したところ、肥満・インスリン抵抗性になったと報告されており(Science 2010)、腸内細菌叢の変化は肥満・インスリン抵抗性に影響を及ぼしている。そのメカニズムについては、高脂肪食による腸内細菌叢の変化は腸管炎症を来し、腸管の透過性を上昇させることで、LPS や炎症性サイトカインを脂肪組織・肝など標的臓器でのインスリン抵抗性を高めるとされている(Sci Rep 2016)。われわれの検討でも DJB を行うことで腸内細菌叢が変化していたことから、Metabolic surgery においては腸内細菌叢の変化が trigger となり、インスリン抵抗性や NASH の改善といった、様々な変化を引き起こしていることが示唆される。

(3) 癌と肥満・腸内細菌叢

肥満は食道腺癌、大腸癌、乳癌、子宮体癌、肝癌などに関係があるとされている。そのメカニズムとして、肥満になると二次胆汁酸を産生する腸内細菌が増加し、体内の二次胆汁酸の量が増え、これにより肝臓の肝星細胞が細胞老化を起し、発癌促進作用を有する炎症性サイトカインを含む細胞老化関連分泌因子(SASP)を分泌することで、周囲に存在する肝細胞の癌化を促進することが明らかにされた(Nature 2013)。近年では腸内細菌叢(Clostridium 減少)による二次胆汁酸の低下が類洞 CXCL16 を上昇させることで、門脈系からの NKT 細胞のリクルートが増加し、肝癌抑制に寄与することが報告されている(Science 2018)。米国の報告では、胃バイパス術は死亡率を 40%減らし、とりわけ癌による死亡率を 60%減少させたとの報告がある。このように Metabolic surgery の肥満関連発癌抑制効果は報告されているが、そのメカニズムについては未だ不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、DJB による肝発癌抑制・予防効果について検討を行うことである。

3. 研究の方法

・ 検討 1：発癌誘導剤を用いないラットでの検討

肥満・糖尿病ラットを DJB 群 (D 群 n=4)、開腹のみ Sham 群 (S 群 n=4)に分け、術後 8 週で OGTT を施行した。全血・腸管・肝臓・糞便を採取し、腸管中炎症性サイトカイン (real time PCR)・腸管バリア機能を評価するため claudin-1 蛍光染色、肝 NASH grading/staging、肝腫瘍個数・サイズ、microbiome を比較した。

・ 検討 2：発癌誘導剤を用いての検討

肥満糖尿病ラットを DJB 群(n=2)、開腹のみの Sham 群(n=3)に分け、術後より 100ppm の肝発癌誘導剤ジエチルニトロサミン(DEN)を自由飲水させ 15 週で sacrifice。肝腫瘍個数・サイズを比較検討した。

4. 研究成果

・ 検討 1：発癌誘導剤を用いないラットでの検討

D 群の血糖は S 群に比し有意に低値であり、insulin 抵抗性が改善していた。D 群 AST、ヒアルロン酸は有意に低く、NASH grading/staging においても軽度であった。D 群 microbiome で insulin 抵抗性・肝 steatosis の改善に関連するとされている Proteobacteria の増加を認めた。さらに D 群の腸管炎症性サイトカイン IFN、IL1、TNF は S 群より低値を示していた(図 1)。ileum、colon の claudin-1 蛍光染色を行うと D 群で強発現しており、DJB で腸管バリア機能が維持されていることが示唆された(図 2)。しかし、術後 8 週の時点では 2 群とも肝や他の臓器に腫瘍形成はみられなかった。

・ 検討 2：発癌誘導剤を用いての検討

体重、血糖は両群間で差を認めなかった。Sham 群で術後 5 週に 1 匹死亡した。両群の肝臓をミクロ・マクロで比較したが、両群ともに肝臓が腫瘍で置き換わっており、そこに差異は認めなかった(図 3)。

図 1. DJB, Sham における腸管炎症性サイトカイン発現

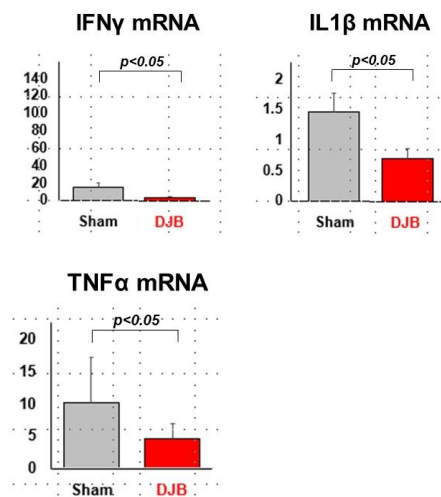


図 2. DJB, Sham における claudin-1 発現

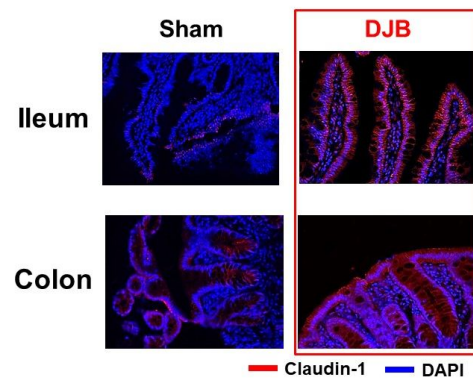
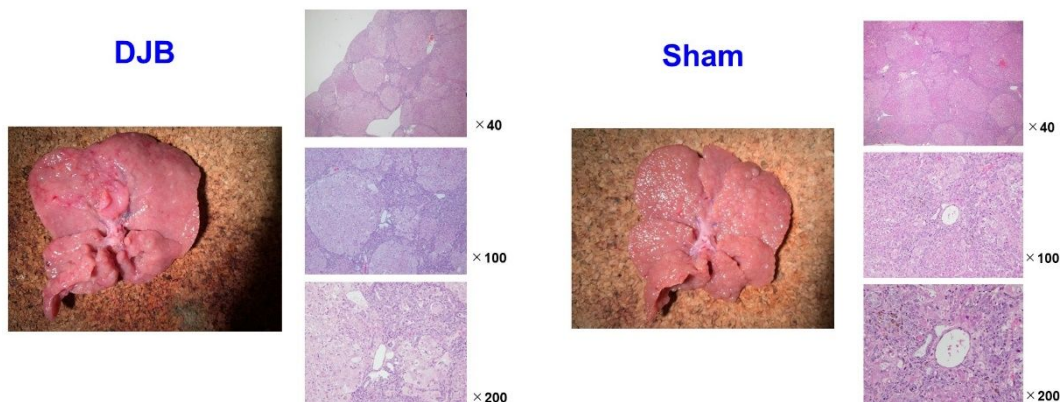


図 3. DJB, Sham における肝臓の変化



Bariatric surgery である DJB には腸管炎症沈静化・透過性の維持により、各臓器への炎症性サイトカインの流出が抑制されていることが示された。このように各臓器の炎症が抑制されることにより、炎症が起因とされる発癌が予防されていると思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9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 Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Miyatani T, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Yoshimoto T.	4. 巻 67
2. 論文標題 Trans-abdominal Pre-peritoneal (TAPP) Inguinal Hernia Repair with Liquid-injection and Gauze Dissection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Med Invest.	6. 最初と最後の頁 271-273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Takasu C, Nishi M, Yoshikawa K, Tokunaga T, Kashihara H, Yoshimoto T, Shimada M.	4. 巻 15
2. 論文標題 Impact of sidedness of colorectal cancer on tumor immunity.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0240408.	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 -
1. 著者名 Yoshimoto T, Yoshikawa K, Higashijima J, Miyatani T, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Kashihara H, Takehara Y, Shimada M.	4. 巻 4
2. 論文標題 Bevacizumab-associated intestinal perforation and perioperative complications in patients receiving bevacizumab.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ann Gastroenterol Surg.	6. 最初と最後の頁 151-155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Wada Y, Nishi M, Yoshikawa K, Higashijima J, Miyatani T, Tokunaga T, Takasu C, Kashihara H, Ishikawa D, Yoshimoto T, Shimada M.	4. 巻 34
2. 論文標題 Usefulness of virtual three-dimensional image analysis in inguinal hernia as an educational tool.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surg Endosc.	6. 最初と最後の頁 1923-1928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Ishikawa D, Yoshikawa K, Takasu C, Kashihara H, Nishi M, Tokunaga T, Higashijima J, Shimada M.	4. 巻 40
2. 論文標題 Expression Level of MicroRNA-449a Predicts the Prognosis of Patients With Gastric Cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 239-244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Kashihara Hideya, Shimada Mitsuo, Yoshikawa Kozo, Higashijima Jun, Miyatani Tomohiko, Tokunaga Takuya, Nishi Masaaki, Takasu Chie, Hamada Yasuhiro	4. 巻 66
2. 論文標題 The Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy on Obesity and Obesity-related Disease : he Results of 10 Initial Cases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 289-292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2152/jmi.66.289	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 -

1. 著者名 Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Miyatani T, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C.	4. 巻 29
2. 論文標題 Duodenal-jejunal Bypass Maintains Gut Permeability by Suppressing Gut Inflammation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Obes Surg.	6. 最初と最後の頁 2745-2749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 ISHIKAWA DAICHI, TAKASU CHIE, KASHIHARA HIDEYA, NISHI MASAOKI, TOKUNAGA TAKUYA, HIGASHIJIMA JUN, YOSHIKAWA KOZO, YASUTOMO KOJI, SHIMADA MITSUO	4. 巻 39
2. 論文標題 The Significance of MicroRNA-449a and Its Potential Target HDAC1 in Patients With Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 2855 ~ 2860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13414	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 -

1. 著者名 Higashijima Jun, Shimada Mitsuo, Yoshikawa Kozo, Miyatani Tomohiko, Tokunaga Takuya, Nishi Masaaki, Kashihara Hideya, Takasu Chie	4. 巻 66
2. 論文標題 Usefulness of blood flow evaluation by indocyanine green fluorescence system in laparoscopic anterior resection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 65 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2152/jmi.66.65	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 -

1. 著者名 Wada Y, Nishi M, Yoshikawa K, Higashijima J, Miyatani T, Tokunaga T, Takasu C, Kashihara H, Ishikawa D, Yoshimoto T, Shimada M.	4. 巻 34
2. 論文標題 Usefulness of virtual three-dimensional image analysis in inguinal hernia as an educational tool.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surg Endosc.	6. 最初と最後の頁 1923-1928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 良元俊昭
2. 発表標題 腹腔鏡下胃・大腸癌手術における術前減量プログラムは短期成績改善に寄与する
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 東島潤, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 江藤祥平, 良元俊昭
2. 発表標題 肥満患者に対する術後合併症の回避を目指した術前減量プログラムの有用性
3. 学会等名 第82回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 宮谷知彦, 西正暁, 高須千絵, 良元俊昭, 武原悠花子
2. 発表標題 肥満外科における術後体重減少・糖尿病寛解予測因子としてのNLRの有用性
3. 学会等名 第75回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 良元俊昭
2. 発表標題 肥満外科における術後体重減少・糖尿病寛解予測因子としてのNLRの有用性
3. 学会等名 日本外科代謝栄養学会 第57回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 東島潤, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 濱田康弘
2. 発表標題 スリーブ状胃切除における多職種介入術前減量入院の効果とNLRによる術後減量効果予測
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柏原秀也, 良元俊昭, 島田光生
2. 発表標題 NASH治療におけるMetabolic surgeryの意義
3. 学会等名 第105回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 東島潤, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 濱田康弘
2. 発表標題 スリーブ状胃切除における多職種介入術前減量入院の効果とNLRによる術後減量効果予測
3. 学会等名 日本外科代謝栄養学会第56回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 東島潤, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 濱田康弘
2. 発表標題 スリーブ状胃切除における術前NLRと糖尿病改善についての検討
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 良元俊昭
2. 発表標題 NASH治療におけるMetabolic surgeryの意義
3. 学会等名 第40回日本肥満学会第37回日本肥満症治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 宮谷知彦, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 良元俊昭, 武原悠花子
2. 発表標題 直腸癌手術におけるICG蛍光法・サーモグラフィによる血流評価を用いた縫合不全回避
3. 学会等名 第81回日本臨床外科学会総会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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