

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09074

研究課題名(和文)オートファジーからみた腸管不全関連肝障害(IFALD)の病態解明とその制御

研究課題名(英文)The roles of autophagy in the pathogenesis of Intestinal failure associated liver disease (IFALD)

研究代表者

松浦 俊治 (Matsuura, Toshiharu)

九州大学・大学病院・准教授

研究者番号：10532856

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：短腸症の生命予後を規定する病態として腸管不全関連肝障害(IFALD)が知られている。肝細胞におけるオートファジー機構の変化が、短腸症によるIFALDの病態の進行にいかに関わっているかについての報告はこれまでになかった。今回の研究において、短腸症モデルの肝組織中におけるオートファジー関連マーカーであるmicrotubule-associated protein light chain (LC3)、Beclin1、LAMP1、p62などの異常蓄積の評価を免疫染色およびRT-PCRにて評価しオートファジーの関与が示唆された。今後、肝細胞の「細胞老化」マーカーの発現について評価する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

短腸症に関する厚労省研究班での全国的調査においてもIFALDが進行し肝硬変や肝不全に至り致命的となる症例が少なからず存在していることは明確に示されている。しかしながら、短腸症におけるIFALDの発症機序については、未だ明確なエビデンスはない。今回の研究において、IFALDの進行にオートファジー関連マーカーの関連性を同定し得たことは、将来的には短腸症におけるIFALD進行に対する標的治療の開発に繋がる可能性が考えられる。また、短腸症のみならず脂肪肝炎などの類似疾患への応用の可能性もあると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Intestinal failure associated liver disease (IFALD) is known as a condition that defines the life prognosis of short bowel syndrome. There has been no previous report on how changes in autophagy mechanisms in hepatocytes are involved in the progression of the pathophysiology of IFALD due to short bowel syndrome.

In this study, the evaluation of abnormal accumulation of microtubule-associated protein light chains (LC3), Beclin1, LAMP1, p62, etc., which are autophagy-related markers in liver tissue in a short bowel syndrome model, was evaluated by immuno-histochemical staining and RT-PCR, suggesting the involvement of autophagy. In the future, it is necessary to evaluate the expression of "cellular senescence" markers in hepatocytes.

研究分野：小児外科

キーワード：腸管不全関連肝障害 短腸症

1. 研究開始当初の背景

平成 23 年度厚生労働省科学研究「小腸機能不全の治療指針作成に関する研究」(代表 福澤正洋)において国内 63 施設より 354 例の小腸機能不全患者の全国調査が行われ、うち 195 例の短腸症の登録を得た。観察期間内を含めた短腸症死亡症例は 23 例あり、その死亡原因の大多数は腸管不全関連肝障害(IFALD: intestinal failure associated liver disease)から不可逆的な肝不全を来した症例であった。すなわち短腸症の管理において、いかに IFALD 発症を予防し治療を行うかが極めて重要である。現在、短腸症を含めた腸管不全患者に対する小腸リハビリテーションプログラムとして多面的なアプローチで IFALD の予防を行う管理の必要性が報告されており、本邦においても平成 28 年度厚生労働省科学研究 難治性疾患等政策研究事業「短腸症の重症度分類・集学的小腸リハビリテーション指針作成に関する研究」班(代表 松浦俊治)において検討がなされた。しかしながら、IFALD の詳細な発生機序は不明であり、今回我々は、腸肝循環を介して、腸管不全に伴う腸内細菌叢などの細胞周囲の微小環境の変化に起因した肝組織へのダメージとその修復機構の破綻がその病態である可能性を考えた。

2. 研究の目的

短腸症に伴う肝機能障害とその修復機能不全の解明において我々は、このオートファジー機構の解析に着目した。これまで、IFALD におけるオートファジーの関与についての研究報告はなく、本研究の骨子は学術的独自性と創造性を有すると考えられる。NASH など類似の病態におけるオートファジーの関与が近年報告されてきていることから、短腸症における IFALD においても肝のオートファジー機構が病態の進行に深くかかわっている可能性が十分に考えられる。肝臓は肝切除などを代表として何らかの傷害やストレスが加わると莫大なエネルギーを消費する肝再生が促進される。すなわち肝細胞は極めて再生能力に優れた細胞であることが知られている。肝再生においては、その開始直後から肝臓における ATP 産生能は亢進するが、エネルギーチャージは低下することが知られており、肝再生期にある肝臓はエネルギー枯渇状態にあることもまた報告されている。短腸症における低栄養状態や腸管細菌叢の変化が肝臓に及ぼす影響とその機序については、様々な報告があるが十分なエビデンスを得るに至っておらず、その対策と治療方針の確立は生命予後に直結する非常に重要な課題である。IFALD での肝細胞障害とその修復機能不全におけるオートファジー役割の分子学的解明とオートファジー制御による治療介入の可能性について検討することを目的とする。

3. 研究の方法

マウスに 90%腸管切除し短腸症モデルを作製し静脈栄養管理を行うと肝酵素の上昇を伴う肝脂肪化、線維化を来す。肝臓特異的にオートファジーのマスター遺伝子である *Atg5* 遺伝子をノックアウトさせたオートファジー不全マウスを用いて 90%腸管切除の短腸症モデルを作成し、短腸症 IFALD におけるオートファジー機構の関与について解析を行う。また、将来的なオートファジー制御による IFALD の発症予防や治療に結びつき得る因子の同定を行うことを目指す。

肝臓特異的 *Atg5* 欠損マウス(L-*Atg5* KO mice)を用いた短腸症モデルでの腸内細菌叢の変化について網羅的メタボロミクス解析を行う。また、こうした変化が腸肝循環に及ぼす影響についても門脈血を採取し検討する。

肝臓特異的オートファジー不全マウスにおける IFALD の重症度評価を行うことにより IFALD の病態の進行におけるオートファジーの関連性と意義について検討する。

Atg5 欠損マウスを用いた短腸症モデルにおける肝組織変化を電子顕微鏡にてオートファジーの組織学的評価を行う。

肝組織中におけるオートファジー関連マーカーである microtubule-associated protein light chain (LC3)、Beclin-1、LAMP1、p62 などの異常蓄積の評価を免疫染色および RT-PCR にて評価しオートファジーの関与について検討する。

4. 研究成果

短腸症の生命予後を規定する病態として腸管不全関連肝障害 (IFALD) が知られている。肝細胞におけるオートファジー機構の変化が、短腸症による IFALD の病態の進行にいかに関わっているかについての報告はこれまでになかった。今回の研究において、短腸症モデルの肝組織中におけるオートファジー関連マーカーである microtubule-associated protein light chain (LC3)、Beclin1、LAMP1、p62 などの異常蓄積の評価を免疫染色および RT-PCR にて評価しオート

ファジーの関与が示唆された。今後、肝細胞の「細胞老化」マーカーである IL-6, CCL2/MCP-1 などの炎症性サイトカインや細胞老化の代表的なマーカーである senescence-associated - galactosidase(SA- -gal)の発現について評価する必要がある。

短腸症に関する厚労省研究班での全国的調査においても IFALD が進行し肝硬変や肝不全に至り致命的となる症例が少なからず存在していることは明確に示されている。しかしながら、短腸症における IFALD の発症機序については、未だ明確なエビデンスはない。今回の研究において、IFALD の進行にオートファジー関連マーカーの関連性を同定し得たことは、将来的には短腸症における IFALD 進行に対する標的治療の開発に繋がる可能性が考えられる。また、短腸症のみならず脂肪肝などの類似疾患への応用の可能性もあると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	田口 智章 (Taguchi Tomoaki) (20197247)	福岡医療短期大学・歯科衛生学科・学長 (47131)	
研究分担者	吉丸 耕一朗 (Yoshimaru Koichiro) (60711190)	九州大学・医学研究院・講師 (17102)	
研究分担者	高橋 良彰 (Takahashi Yoshiaki) (50621710)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	

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