

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08934

研究課題名(和文) Rubiconのオートファジー制御に基づくIFALDのメカニズム解明と克服的治療

研究課題名(英文) Mechanism of IFALD Based on Autophagy Regulation of Rubicon

研究代表者

向井 基 (MUKAI, Motoi)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：80468024

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)：当科のIFALDモデルラットの作成および病理組織学的・生理学的検討により、肝臓への脂肪の沈着を確認した。オメガ6系脂肪酸、オメガ6：オメガ3=2：1のバランス脂肪製剤、オメガ3系脂肪酸の各投与群と非投与群ではrubicon発現量と脂肪沈着が正の相関を示した。オートファジー関連遺伝子の発現を調査したところ、rubicon発現量と負の相関を示した。IFALDではオートファジーは抑制されており、肝細胞の脂肪滴形成に関与していることが示唆された。今後はGLP-2やghrelinなどこれまで当科で研究してきた消化管ホルモンがrubiconにどのような作用をもたらすかを調査していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児短腸症候群におけるIFALDは、小児外科領域において管理に難渋する疾患の1つであるが、症例数が限られているため、臨床情報からだけではエビデンスが得られにくい。オートファジーについては、成人のNAFLD領域での研究は我が国が先行しているが、IFALD/PNALDにおけるオートファジーのメカニズムについての報告はない。本研究の内容は成人におけるPNALDおよび短腸症候群となった患者についても応用が可能であり、対象となる患者数は潜在的には非常に多いと考える。さらに本研究は、大量腸管切除後の腸管順応およびIFALDの予防における新たな術後管理の確立に向けた第一歩になると思われる。

研究成果の概要(英文)：Fat deposition in the liver was confirmed by the creation of our department's IFALD rat model and histopathological and physiological studies. We found a positive correlation between rubicon expression and fat deposition in the treated and non-treated groups of omega-6 rich lipid emulsion, omega-6:omega-3=2:1 balanced lipid emulsion, and omega-3 rich lipid emulsion. The expression of autophagy-related genes was examined and showed a negative correlation with rubicon expression, suggesting that autophagy is suppressed in IFALD and is involved in the formation of fat droplets in hepatocytes. In the future, we plan to investigate the effects of GLP-2, ghrelin, and other gastrointestinal hormones that have been studied in our department on rubicon.

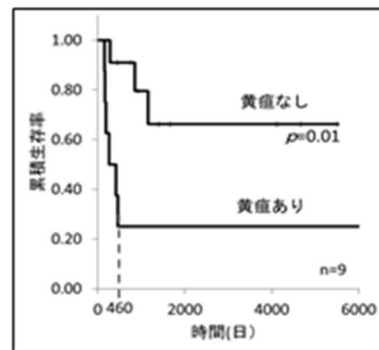
研究分野：小児外科

キーワード：IFALD 短腸症候群 オートファジー Rubicon

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

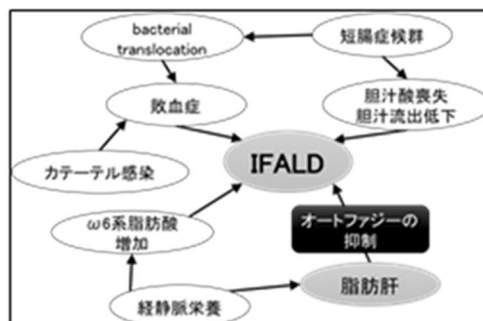
【IFALD について】小児期に短腸症候群になった患児は、もともと顕著な成長期に長期の絶食・経静脈栄養管理を余儀なくされる。小児では多発小腸閉鎖や中腸軸捻転、壊死性腸炎などが原因で短腸症候群となる。これらの発症時期は新生児期から乳児期に多く、国内での1歳未満発症の短腸症候群は年間200~300例程度と推測される。経静脈栄養関連合併症の1つである静脈栄養関連肝障害(PNALD)およびIFALDを新生児期に発症した短腸症候群の50%はこの肝障害により死亡するとの報告がある。当科のデータでも短腸症候群患児において



IFALDの発症と生存曲線

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極めて重要となるが、そのためには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、IFALDを治療的に克服することでこのような長期生存を図るための研究が必要である。

【NAFLDにおけるオートファジーの関与】成人領域において非アルコール性脂肪性肝炎(NAFLD)ではオートファジーが抑制されていることが知られており、肝細胞の脂肪滴形成に關与していることが示唆されている。機序としてAtg遺伝子群の発現低下、インスリン抵抗性、リソソーム酵素の活性低下、オートファゴソームとリソソームの融合低下などが報告されているが、最近ではオートファジーの後期の過程であるオートファゴソームとリソソームの融合低下が主要な原因になっていると考えられている。近年、RubiconがNAFLD患者において上昇していることが国内から報告され、そのメカニズムが明らかにされている。RubiconはBeclin1に結合する分子として、2009年に同定された分子である。オートファジーの最終ステップであるオート



IFALDの要因とオートファジー

ファゴソームとライソソームの融合を抑制し、細胞内のRubiconが増加するとオートファジー機能が低下することが知られている。静脈栄養による脂肪肝がPNALD/IFALDの発生に關与していると考えられているため、オートファジーはPNALD/IFALDにおいても重要な役割を担っていると推測される。

### 2. 研究の目的

小児短腸症候群におけるIFALDは、小児外科領域において管理に難渋する疾患の1つであるが、症例数が限られているため、臨床情報からだけではエビデンスが得られにくい。そのため動物モデルにおける大量腸管切除・術後絶食経静脈栄養管理の検討は極めて重要である。しかし、臨床病態を反映した腸管切除手術や長期におよぶカテーテル管理などは実験手技が煩雑であり、モデルの確立に技術を必要とする。当研究グループはすでに長年の実験により手技が確立され、国内では唯一、安定した結果を継続的に報告している。また近年注目されているオートファジーについては、成人のNAFLD領域での研究は我が国が先行しているが、IFALD/PNALDにおけるオー

トファジールのメカニズムについての報告はない。

本研究の内容は成人における PNALD および上腸間膜動脈症候群や腫瘍によって短腸症候群となった患者についても応用が可能であり、対象となる患者数は潜在的には非常に多いと考える。さらに本研究は、大量腸管切除後の腸管順応および IFALD の予防における新たな術後管理の確立に向けた第一歩になると思われ、社会的な意義は大きいと考える。

本研究では大量腸管切除 + TPN モデルラットを用いて、PNALD/IFALD における Rubicon の制御に着目したオートファジーの機序の解明および克服的治療法の開発を目的とする。

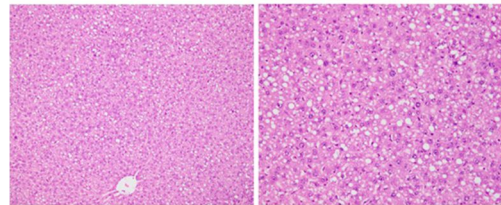
### 3. 研究の方法

#### 【大量腸管切除・絶食経静脈栄養ラットにおける肝障害（IFALD）の評価】

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。続いてラットを開腹して小腸切除を行う。全小腸は約 90 cm のうち、トライツ靭帯より 5cm 肛側より回腸末端から 5cm 口側間を切除し、80% 短腸モデルとする。7 日間の観察期間ののちに、吸入麻酔下で鎮静して脱血犠死を行う。

### 4. 研究成果

当科の IFALD モデルラットの作成および病理組織学的・生理学的検討により、肝臓への脂肪の沈着を確認した。オメガ 6 系脂肪酸、オメガ 6 : オメガ 3 = 2 : 1 のバランス脂肪製剤、オメガ 3 系脂肪酸の各投与群と非投与群では rubicon 発現量と脂肪沈着が正の



短腸症候群ラットモデルの肝組織、×10(左)、×100(右)

相関を示した。オートファジー関連遺伝子の発現を調査したところ、rubicon 発現量と負の相関を示した。IFALD ではオートファジーは抑制されており、肝細胞の脂肪滴形成に参与していることが示唆された。今後は GLP-2 や ghrelin などこれまで当科で研究してきた消化管ホルモンが rubicon にどのような作用をもたらすかを調査していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Yano Keisuke, Sugita Koshiro, Muto Mitsuru, Matsukubo Makoto, Onishi Shun, Kedoin Chihiro, Matsui Mayu, Murakami Masakazu, Harumatsu Toshio, Yamada Koji, Yamada Waka, Kumagai Kotaro, Ido Akio, Kaji Tatsuru, Ieiri Satoshi	4. 巻 57
2. 論文標題 The preventive effect of recombinant human hepatocyte growth factor for hepatic steatosis in a rat model of short bowel syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pediatric Surgery	6. 最初と最後の頁 1286 ~ 1292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpedsurg.2022.02.030	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 矢野 圭輔, 杉田 光士郎, 家入 里志	4. 巻 4
2. 論文標題 研究者の最新動向 GLP-2によるIFALD克服を目指した革新的治療法の開発	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 1357-1361
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 Machigashira Seiro, Kaji Tatsuru, Onishi Shun, Yano Keisuke, Harumatsu Toshio, Yamada Koji, Yamada Waka, Matsukubo Makoto, Muto Mitsuru, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 What is the optimal lipid emulsion for preventing intestinal failure-associated liver disease following parenteral feeding in a rat model of short-bowel syndrome?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 247 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-020-04802-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsukubo Makoto, Yano Keisuke, Kaji Tatsuru, Sugita Koshiro, Onishi Shun, Harumatsu Toshio, Nagano Ayaka, Matsui Mayu, Murakami Masakazu, Yamada Koji, Yamada Waka, Muto Mitsuru, Kumagai Kotaro, Ido Akio, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 The administration of hepatocyte growth factor prevents total parenteral nutrition-induced hepatocellular injury in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 353 ~ 361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-020-04823-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugita Koshiro, Kaji Tatsuru, Yano Keisuke, Matsukubo Makoto, Nagano Ayaka, Matsui Mayu, Murakami Masakazu, Harumatsu Toshio, Onishi Shun, Yamada Koji, Yamada Waka, Muto Mitsuru, Kumagai Kotaro, Ido Akio, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 The protective effects of hepatocyte growth factor on the intestinal mucosal atrophy induced by total parenteral nutrition in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 1743 ~ 1753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-021-05002-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugita Koshiro, Ibara Satoshi, Harumatsu Toshio, Ishihara Chie, Naito Yoshiki, Murakami Masakazu, Machigashira Seiro, Noguchi Hiroyuki, Muto Mitsuru, Matsukubo Makoto, Ieiri Satoshi	4. 巻 56
2. 論文標題 Potential predictors of the onset of focal intestinal perforation in extremely low birth weight infants based on an analysis of coagulation and fibrinolysis markers at birth: A case-control study based on ten years of experience at a single institution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pediatric Surgery	6. 最初と最後の頁 1121 ~ 1126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpedsurg.2021.03.043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Muto Mitsuru, Sugita Koshiro, Ibara Satoshi, Masuya Ryuta, Matsukubo Makoto, Kawano Takafumi, Saruwatari Yumiko, Machigashira Seiro, Sakamoto Koichi, Nakame Kazuhiko, Shinyama Shin, Torikai Motofumi, Hayashida Yoshihiro, Mukai Motoi, Ikee Takamasa, Shimono Ryuichi, Noguchi Hiroyuki, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Discrepancy between the survival rate and neuropsychological development in postsurgical extremely low-birth-weight infants: a retrospective study over two decades at a single institution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 411 ~ 417
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-020-04825-7	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 Matsukubo Makoto, Yano Keisuke, Kaji Tatsuru, Sugita Koshiro, Onishi Shun, Harumatsu Toshio, Nagano Ayaka, Matsui Mayu, Murakami Masakazu, Yamada Koji, Yamada Waka, Muto Mitsuru, Kumagai Kotaro, Ido Akio, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 The administration of hepatocyte growth factor prevents total parenteral nutrition-induced hepatocellular injury in a rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 353 ~ 361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-020-04823-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Machigashira Seiro, Kaji Tatsuru, Onishi Shun, Yano Keisuke, Harumatsu Toshio, Yamada Koji, Yamada Waka, Matsukubo Makoto, Muto Mitsuru, Ieiri Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 What is the optimal lipid emulsion for preventing intestinal failure-associated liver disease following parenteral feeding in a rat model of short-bowel syndrome?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Surgery International	6. 最初と最後の頁 247 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00383-020-04802-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Muto Mitsuru, Kaji Tatsuru, Onishi Shun, Yano Keisuke, Yamada Waka, Ieiri Satoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 An overview of the current management of short-bowel syndrome in pediatric patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surgery Today	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) 10.1007/s00595-020-02207-z	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 -

〔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 Koshiro Sugita, Keisuke Yano, Tatsuru Kaji, Nanako Nishida, Ayaka Nagano, Masakazu Murakami, Toshio Harumatsu, Shun Onishi, Koji Yamada, Waka Yamada, Makoto Matsukubo, Takafumi Kawano, Mitsuru Muto, Kotaro Kumagai, Akio Ido, Satoshi Ieiri
2. 発表標題 The potential of recombinant human HGF - research on a TPN rat model and on a short bowel rat model
3. 学会等名 The 55th Annual PAPS meeting
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田 光太郎, 松久保 眞, 矢野 圭輔, 加治 建, 村上 雅一, 春松 敏夫, 大西 峻, 山田 耕嗣, 山田 和歌, 武藤 充, 熊谷 公太郎, 井戸章雄, 家入 里志
2. 発表標題 完全静脈栄養ラットモデルにおける肝細胞増殖因子の脂肪肝抑制効果および消化管粘膜萎縮
3. 学会等名 日本外科代謝栄養学会第59 回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田光太郎、矢野圭輔、加治 建、松久保 眞、大西 峻、 祁答院千寛、松井まゆ、村上雅一、春松敏夫、山田耕嗣、 山田和歌、武藤 充、家入里志
2. 発表標題 腸管不全関連肝障害モデルラットに対する ヒト組み換えHGFの予防的効果の検討
3. 学会等名 第59回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田光太郎、加治 建、矢野圭輔、松久保眞、祁答院千寛、松井まゆ、村上雅一、春松敏夫、大西 峻、山田耕嗣、山田和歌、武藤 充、熊谷公太郎、井戸章雄、家入里志
2. 発表標題 肝細胞増殖因子（HGF）による腸粘膜上皮再生への試み 完全静脈栄養ラットモデルを用いた 小腸粘膜上皮へ与える効果に関する検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢野圭輔、杉田光太郎、加治 建、松久保 眞、大西 峻、 祁答院千寛、松井まゆ、村上雅一、春松敏夫、山田耕嗣、 山田和歌、武藤 充、家入里志
2. 発表標題 腸管不全関連肝障害モデルラットに対する ヒト組み換えHGFの予防的効果の検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉田 光士郎, 加治 建, 矢野 圭輔, 松久保 眞, 長野 綾香, 松井 まゆ, 村上 雅一, 春松 敏夫, 大西 峻, 山田 耕嗣, 山田 和歌, 武藤 充, 家入 里志
2. 発表標題 完全静脈栄養ラットモデルでの消化管に対する肝細胞増殖因子(HGF)の期待される効果
3. 学会等名 第58回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松久保 眞, 矢野 圭輔, 加治 建, 杉田 光士郎, 大西 峻, 春松 敏夫, 長野 綾香, 村上 雅一, 山田 耕嗣, 山田 和歌, 武藤 充, 家入 里志
2. 発表標題 完全静脈栄養ラットに対する、肝細胞増殖因子投与による肝細胞障害の予防
3. 学会等名 第58回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉田 光士郎, 加治 建, 矢野 圭輔, 松久保 眞, 祁答院 千寛, 松井 まゆ, 村上 雅一, 春松 敏夫, 大西 峻, 山田 耕嗣, 山田 和歌, 武藤 充, 熊谷 公太郎, 井戸 章雄, 家入 里志
2. 発表標題 消化器再生 肝細胞増殖因子(HGF)による腸粘膜上皮再生への試み 完全静脈栄養ラットモデルを用いた小腸粘膜上皮へ与える効果に関する検討
3. 学会等名 第37回日本小児外科学会秋季シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武藤 充, 永井 太一郎, 大西 峻, 春松 敏夫, 山田 耕嗣, 山田 和歌, 松久保 眞, 町頭 成郎, 中目 和彦, 向井 基, 加治 建, 家入 里志
2. 発表標題 小児腸管機能不全の最新知見 短腸症候群の予後を拓くために必要なこととは 基礎・臨床研究から
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 矢野 圭輔, 加治 建, 大西 峻, 町頭 成郎, 永井 太一朗, 春松 敏夫, 山田 耕嗣, 松久保 眞, 武藤 充, 中目 和彦, 家入 里志
2. 発表標題 短腸症候群モデルラットを用いたGLP-2のIFALDに対する予防効果の検討
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

〔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	家入 里志  (IEIRI Satoshi)  (00363359)	鹿児島大学・歯学部医学系・教授   (17701)	
研究分担者	大西 峻  (ONISHI Shun)  (10614638)	鹿児島大学・歯学部鹿児島大学病院・助教   (17701)	
研究分担者	矢野 圭輔  (YANO Keisuke)  (30757919)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任助教   (17701)	
研究分担者	加治 建  (KAJI Tatsuru)  (50315420)	久留米大学・医学部・教授   (37104)	
研究分担者	春松 敏夫  (HARUMATSU Toshio)  (70614642)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任助教   (17701)	

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	武藤 充  (MUTO Mitsuru)  (70404522)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師     (17701)	

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