

論 文 要 旨

Novel effect of glucagon-like peptide-2 for hepatocellular injury in a parenterally fed rat model of short bowel syndrome

短腸症候群モデルラットにおける肝障害に対する GLP-2 の効果

矢野 圭輔

【序論及び目的】

中腸軸捻転、壊死性腸炎、ヒルシュスプルング病類縁疾患などの小児外科疾患により大量腸管切除を施行され、短腸症候群(Short bowel syndrome; SBS)となった患児らは、長期間の絶食管理および完全静脈栄養(Total parenteral nutrition; TPN)を要するが、これらは腸管不全関連肝障害(Intestinal failure associated liver disease; IFALD)の原因となる。IFALD の臨床像には脂肪肝や胆汁うっ滞、胆石症、肝線維化などが含まれ、SBS 患児の生命予後に多大な影響を及ぼす。

一方、Glucagon-like peptide-2(GLP-2)は、回腸および結腸の L 細胞から分泌される消化管ペプチドであり、小腸の絨毛高や陰窩細胞の増殖を増加させることで SBS における腸管順応促進効果を発揮する。他施設の新生仔ブタを用いた研究では GLP-2 の投与は胆汁うっ滞を改善させることが報告されているが、GLP-2 の IFALD における脂肪肝に対する効果はよく分かっていない。

本研究では、短腸症候群モデルラットを用いて、GLP-2 の IFALD に対する予防的または治療的効果について検証することを目的とする。

【材料及び方法】

7 週齢のオスの Sprague-Dawley (SD) ラット (体重 200~240 g) を 6 日間環境馴化ののちに、全身麻酔下で右頸静脈に中心静脈カテーテル挿入を行った後、開腹手術により 90%の大量小腸切除を行う。術直後よりシリンジポンプを用いて高カロリー輸液を開始し、長期間の絶食・TPN 管理を行う。

GLP-2 の投与量に応じて、①コントロール群; SBS/TPN group (GLP-2 の投与なし、絶食 TPN 管理のみ) ②低用量(1 μ g/kg/h)投与群; SBS/TPN/GLP-2(Low) group ③高用量(10 μ g/kg/h)投与群; SBS/TPN/GLP-2(High) group として群分けを行い(各群 n=9)、13 日間の観察ののちに犠死せしめ、血液検体や肝臓検体を採取する。先行研究において、10 μ g/kg/h の GLP-2 投与は腸管順応が得られ、1 μ g/kg/h の投与では腸管順応効果が得られなかったことから、それぞれ高用量・低用量と定義した。

体重変化や飲水量・排泄量など生理学的評価、血液生化学による評価、NAFLD activity score を用いた肝の病理組織学的評価、RT-qPCR による肝組織中の炎症性サイトカインの測定を行った。

【結 果】

13 日間の絶食 TPN 管理下で、体重変化や飲水量、排泄量の生理学的所見には 3 群間で有意な差は認めなかった。血液生化学検査所見も 3 群間に有意な差は認めなかった。

病理組織学的に、全ての群において脂肪肝および炎症性細胞の浸潤を認めた。NAFLD activity score を用いた解析では、GLP-2 低用量投与群では他の群と比較して Steatosis score が有意に低かった [steatosis score: SBS/TPN/GLP-2(Low) group 0.22 \pm 0.44, vs. SBS/TPN group 1.44 \pm 0.88 (p < 0.05), vs. SBS/TPN/GLP-2(High) group 1.56 \pm 1.01 (p < 0.01)]。lobular inflammation score も、他の群と比較して有意に低い結果となった [lobular inflammation score: SBS/TPN/GLP-2(Low) group 0.56 \pm 0.53, vs. SBS/TPN group 1.22 \pm 0.44 (p < 0.05), vs. SBS/TPN/GLP-2(High) 1.22 \pm 0.67 (p < 0.01)]。Hepatocyte ballooning score

は、高用量投与群において他の群と比較して有意に高かった [hepatocyte ballooning score; SBS/TPN/GLP-2(High) 1.44 ± 0.73 , vs. SBS/TPN 0.33 ± 0.50 ($p < 0.01$), vs. SBS/TPN/GLP-2(Low) 0.67 ± 0.71 ($p < 0.05$)]. これら小項目の合計で算出される NAFLD activity score は、低用量投与群において高用量投与群よりも低かった [NAFLD activity score; SBS/TPN/GLP-2(Low) 1.50 ± 1.41 vs. SBS/TPN/GLP-2(High) 4.22 ± 1.79 ($p < 0.01$)].

一方、肝組織中の TNF- α は 3 群間で有意な差を認めなかった。

【結論及び考察】

IFALD の臨床像は様々であるが、胆汁うっ滞は小児に多く、NAFLD として知られる脂肪肝は成人型の IFALD に多いとされている。本研究における肝病理組織像では、大量小腸切除と長期間の絶食 TPN 管理下で成人型の IFALD が観察されており、FALD の脂肪肝における GLP-2 の効果を評価した。

本研究で得られた主な結果は以下の通りである。(1)低用量($1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)の GLP-2 投与により脂肪肝が抑制された (2)高用量($10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)の GLP-2 投与は脂肪肝を悪化させた (3)3 群間での TNF α の発現に有意差はみられなかった。

これまでの SBS モデルラットを用いた研究によれば、高用量の GLP-2 は腸管粘膜の萎縮を改善させ、新生仔ブタにおける胆汁うっ滞を軽減させたが、本研究では脂肪肝の抑制効果はみられなかった。これらは、モデル動物の年齢や大量小腸切除の有無など実験モデルの違いによるものの可能性があり、腸管順応促進と脂肪肝の改善の両方を可能にする GLP-2 の投与方法にはさらなる研究が必要である。

TNF- α は脂肪肝の発生および進行に重要なサイトカインであるが、GLP-2 の投与では TNF- α の発現量に差がなかった。GLP-2 受容体は胃・小腸・結腸で発現しており、肝においてはわずかであるので、本研究における脂肪肝の改善効果は、GLP-2 受容体とは直接関連がない機序によるものと考えられる。GLP-2 は受容体を介さずに糖輸送体に作用することが知られており、脂肪肝の改善に寄与した可能性がある。また、本研究における高用量群とほぼ同等 ($250\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$) の GLP-2 が投与されたマウスモデルにおいて、脂肪肝の発症を認め、GLP-2 は肝における脂質生成遺伝子発現を増加させるという報告がある。GLP-2 が脂肪肝を改善または増悪させる機序についてもさらなる研究が必要である。

実臨床においては、GLP-2 アナログであるテデュグルチドが使用され始めているが、GLP-2 の過剰投与による脂肪肝の発症などは報告がない。本研究結果によれば、GLP-2 アナログの投与は実臨床においても脂肪肝を悪化させる可能性がある。さらに、病理組織学的所見では重度の脂肪肝を認めたのにも関わらず、各群において血液生化学検査および血中脂質には有意な差は認めなかった。GLP-2 投与による脂肪肝の発症は潜在的なものである可能性があり、注意を要する。

低用量の GLP-2 投与は、絶食・TPN 管理下の短腸症候群モデルラットにおいて脂肪肝を減弱させ、高用量の GLP-2 投与は脂肪肝を促進する。GLP-2 の適切な用量や IFALD における脂肪肝の改善の機序を明らかにするためには、さらなる研究が必要である。