

論 文 要 旨

Superiority of intestinal adaptation by hepatocyte growth factor in the jejunum: An experimental study in a short-bowel rat model

肝細胞増殖因子の空腸に対する腸管順応促進効果の優位性
—短腸ラットモデルを用いた研究

杉田 光一郎

【序論及び目的】

短腸症候群 (SBS) は、広範な小腸切除後に発生する吸収不良の状態である。多くの SBS 症例は長期にわたる完全静脈栄養(TPN)を必要としますが、大量腸切除後には、粘膜表面積と吸収酵素能力の増加により残存腸管の適応が促進されるが、腸管順応は急速には完成しません。SBS 患者の腸管順応促進に対する治療薬として、近年グルカゴン様ペプチド-2 (GLP-2) アナログが臨床応用されているが、SBS 患者に唯一適応されている薬剤であり、SBS の複雑な状態を管理するには新規薬剤のさらなる開発が望まれている。そこで我々は、抗炎症、組織修復、抗アポトーシスなどの複数の機能を持つ生理活性ペプチドである肝細胞増殖因子 (HGF) に注目しました。先行研究において短腸症候群に対する腸管順応や肝臓保護効果が米小児外科の一施設から報告されてきたが、ここ 10 数年研究が停滞している現状があった。我々は先行研究で TPN モデルラットに対する HGF の効果を検証し、HGF が腸粘膜萎縮の予防と脂肪肝の抑制に効果があることを確認した。そのため SBS ラットモデルにおける HGF の効果を評価することとした。

【材料及び方法】

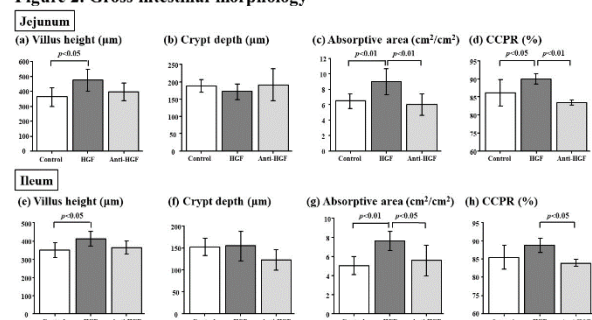
7 週齢のオスの Sprague-Dawley (SD) ラット (体重 200~240 g) を 6 日間環境馴化ののちに、全身麻酔下で右頸静脈に中心静脈カテーテル挿入を行った後、開腹手術により 90% の大量小腸切除を行った。術直後よりシリンジポンプを用いて高カロリー輸液を開始し、絶食・TPN 管理を行った。TPN/SBS (control 群、n = 7)、TPN/SBS/HGF (0.3 mg/kg/day) (HGF 群、n = 7)、および TPN/SBS/c-Met 阻害剤(0.3 mg/kg/day)(Anti-HGF 群、n = 5)。7 日目にラットを安楽死させ、各群における体重変化、血液生化学による評価 (ELISA)、病理組織学的評価、Realtime-PCR を用いた遺伝子発現評価を行った。



【結 果】

組織学的評価では空腸および回腸絨毛の高さは、HGF 群が最も高かった。HGF 群では腸管順応の指標となる S-DAO 濃度が他の群よりも有意に高かった (p=0.04)。HGF 群におけるナトリウム依存性グルコーストランスポーター1(SGLT1)の発現は対照群よりも有意に高く、Anti-HGF 群では有意に抑制された (p<0.01)。空腸におけるペプチドトランスポーター

Figure 2. Gross intestinal morphology



1(PEPT1) の発現は、HGF 群で他の群よりも高く、Anti-HGF 群では有意に抑制されていた ($p < 0.01$)。空腸における GLP-2 受容体の発現は、HGF 群で他の群に比べて高く、抗 HGF 群では有意に抑制されていた ($p < 0.01$)。栄養素輸送体と GLP-2 受容体に関して回腸では空腸と同様の発現効果は得られなかった。

【結論及び考察】

今回の研究においては SBS ラットモデルは絶食下での TPN 管理を特徴とし、今回はラットの観察期間を 1 週間に設定した。SBS の急性期は intestinal hurry(蠕動亢進期)と言われ、腸管順応期へ移行するための準備期であり、約 1 か月程度絶食 TPN で管理されることが多い。生命サイクルにおいてはラットの 1 週間はヒトの 1 か月に相当するため、本研究では臨床に準じたモデルを作成することを目的とした。

HGF は、チロシンキナーゼ受容体媒介の細胞増殖効果とカスパーゼ 3 媒介の高いアポトーシス効果を通じて、腸粘膜の肥厚と維持に寄与するとされている。

本研究では、HGF 投与により、空腸と回腸の両方の CCPR レベルが上昇し、腸の適応が促進された。c-Met 阻害剤による CCPR の減少は、HGF が細胞内に直接的なシグナル伝達経路を介して腸管絨毛高の維持、増高を引き起こした可能性を示していると考えた。新しい上皮細胞はアミノ酸、グルコース、電解質の取り込みに寄与するため、腸管絨毛高の増高は、すなわち腸の長さの単位あたりの吸収能力は増加する。そのため本研究では栄養素輸送体を評価することとした。先行研究と同様に本研究においても、HGF 投与によって空腸における SGLT1 発現が有意に増加していた。また HGF 投与は空腸において PEPT1 発現および GLUT5 発現も増加する傾向が見られた。SGLT1 は空腸と回腸で均等に発現されるが、PEPT1 は回腸と比較して空腸ではわずかに発現が低くなるとされている。空腸と回腸における栄養素輸送体の局在の違いが本研究の結果に影響を与えた可能性はあるが、回腸においては空腸と同様の結果は全く観察されなかった。したがって、HGF から得られる効果が残存腸管の部位と状態によって異なる可能性があることを示唆していると考えた。HGF は、細胞増殖および抗アポトーシスに対する直接的な効果に加えて、チロシンキナーゼ受容体を介した他の G タンパク質共役受容体 (GPCR) との相互作用を通じて間接的な効果を有する可能性があることが報告されている。GLP-2 受容体は GPCR ファミリーのメンバーであり、EGF などの他のチロシンキナーゼ受容体との相互作用機構を報告した先行研究がある。短腸子豚モデルにおける GLP-2 と EGF の相乗効果を調査した研究では、回腸末端を切除したときに最大の利益が得られると報告されている。本研究では、HGF 投与により GLP-2 受容体の発現が増加し、HGF 阻害により減少するという結果が得られた。この効果は回腸よりも空腸でより顕著であり、GLP-2 に対する HGF の間接的な効果が空腸と回腸で異なる可能性があることを示唆していると考えた。先行研究では短腸モデルラットに対する HGF 投与によって、組織学的にグルカゴン反応性が空腸でのみ増加し、回腸では増加しないことを発見した。したがって、HGF と GPCR の相互作用は空腸と回腸で異なる可能性があると考えられる。特に、空腸と回腸の間の栄養輸送体に関する異なる反応結果は、HGF の直接的な効果ではなく、GLP2 受容体を介した間接的な効果である可能性がある。しかしながら、この結果は回腸に対する HGF の投与量が不十分であった可能性もあり、今後の研究課題である。HGF と各種消化管ホルモンや細胞増殖因子の相加・相乗効果の詳細なメカニズムを解明する必要があり、今後の更なる研究が期待されます。

Figure 4. Expression levels of nutrient transporters

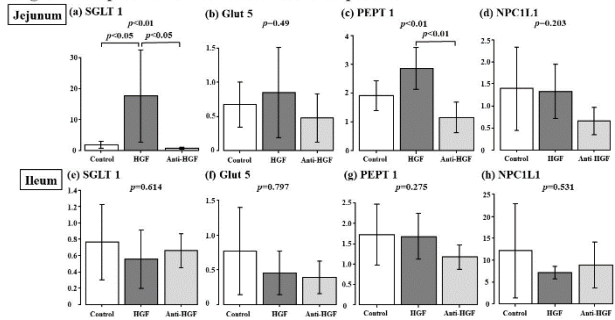


Figure 5. Expression levels of c-Met receptor and GLP-2 receptor

