

論 文 要 旨

The protective effect of fish oil lipid emulsions on intestinal failure-associated liver disease in a rat model of short-bowel syndrome.

短腸症候群モデルラットにおける腸管不全合併肝障害に対する
魚油由来脂肪乳剤の保護効果

町頭 成郎

【序論及び目的】

腸不全を有する患者の多くは経腸脈栄養 (Parenteral nutrition: PN) を必要とし、長期静脈栄養に関連した腸管不全関連肝障害 (Intestinal failure-related liver disease: IFALD) は重篤な合併症である。IFALD は胆汁鬱滞 (hepatic cholestasis) や肝脂肪症 (hepatic steatosis) を契機とし、最終的には肝硬変や肝不全に進行し生命予後に影響を及ぼすことから、その発症と進行を予防することは非常に重要である。

PN で供給可能な脂肪成分は脂肪乳剤で投与され、エネルギーおよび必須脂肪酸供給の 2 つの点で重要である。現在、本邦で唯一認可されている脂肪乳剤は $\omega 6$ 系脂肪酸を多く含む大豆由来脂肪乳剤のみであり、IFALD の誘因の 1 つとして挙げられている。一方、魚油由来脂肪乳剤は $\omega 3$ 系脂肪酸を含有し、胆汁鬱滞および肝脂肪症の改善に寄与することが示されている。しかし魚油由来脂肪乳剤には、低濃度の $\omega 6$ 系脂肪酸しか含有しておらず、必須脂肪酸欠乏 (EFAD) が懸念されている。

本研究では、短腸症候群ラットモデルで誘発された IFALD に対する大豆及び魚油由来脂肪乳剤の肝障害に対する効果と EFAD の評価を行った。

【材料及び方法】

8 週齢の SD 系統ラットを用いて、右頸静脈から中心静脈カテーテルを留置した後に 80% 広範囲小腸切除 (Treitz 靱帯から 5cm 肛門側へ回盲弁から 5cm 口側の小腸を切除) を行うことで短腸症候群ラット (SBS) モデル作成した。

- Sham 群: SBS / 経口摂取 / 生理食塩水持続静注
- SO 群: SBS / TPN / 大豆由来脂肪乳剤 (Intralipos[®])
- FO 群: SBS / TPN / 魚油由来脂肪乳剤 (Omegaven[®])

術後 13 日目に犠死せしめ検体を採取した。

評価項目

＜血液生化学的所見＞

血清より肝胆道系酵素 (AST, ALT, LDH, γ -GTP, T-Bil, D-Bil) と脂質 (T-CHO, TG)、炎症反応 (CRP) を測定した。

＜組織学的所見＞

肝組織の HE 染色標本を作製し NAFLD activity score を用い脂肪滴沈着、炎症細胞浸潤、肝細胞の ballooning を評価した。

＜血清脂肪酸分画＞

血清中の脂肪酸分画を定量し、必須脂肪酸欠乏症の指標となる T/T 比を求めた。

＜肝含有脂質＞

肝組織中の T-CHO, TG, FC (free cholesterol) を測定した。

【結 果】

＜血液生化学的所見＞

TG について、SO 群は Sham 群に比較して有意に高値で (Sham 群 vs. SO 群 $p < 0.01$)、T-CHO について、SO 群は Sham 群、FO 群に比較して有意に高かった (表 1: Sham 群 vs. SO 群、SO 群 vs. FO 群共に $p < 0.01$)。

＜組織学的所見＞

Sham 群では炎症性細胞浸潤および脂質蓄積を含む肝脂肪症の所見は観察されない (図 1a)。SO 群では炎症性細胞の浸潤と著明な脂肪滴の蓄積を認めた (図 1b)。FO 群では肝組織の脂肪滴は観察されなかった (図 1c)。

＜NAFLD activity score> (表 2)

SO 群の steatosis score は Sham 群、FO 群より有意に高かった (Sham 群、FO 群共に $p < 0.01$)。SO 群の inflammation score は Sham 群より有意に高かった ($p < 0.01$)。SO 群の NAFLD activity score は他の 2 群より有意に高値であった (Sham 群、FO 群共に $p < 0.01$)。

	Sham	SO group	FO group
AST (IU/L)	85.0 ± 16.0	141.6 ± 82.5	119.8 ± 38.5
ALT (IU/L)	27.9 ± 5.16	22.4 ± 12.6	24.0 ± 13.3
LDH (IU/L)	455.1 ± 179.2	1384.0 ± 1609.7	557.4 ± 326.7
γ GTP (IU/L)	1.00 ± 0.00	1.30 ± 0.95	4.60 ± 6.07
T-BIL (mg/dL)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.15 ± 0.10
D-BIL (mg/dL)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.10 ± 0.06
TG (mg/dL)	16.6 ± 12.9	67.4 ± 30.8*	42.2 ± 43.7
T-CHO (mg/dL)	55.4 ± 9.84	79.0 ± 15.9*†	52.0 ± 17.7
CRP (mg/dL)	0.029 ± 0.006	0.027 ± 0.007	0.030 ± 0.007

表 1 血液生化学所見 * $p < 0.01$ vs. Sham, † $p < 0.01$ vs.

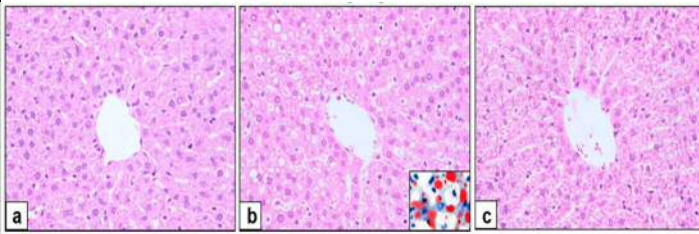


図1 肝組織 HE 染色像 a: Sham 群, b: SO 群, c: FO 群
図 b 中の右下は Oil Red O 染色を示す

	Sham	SO group	FO group
Steatosis score	0.00±0.00	1.30±0.95*†	0.17±0.41
Inflammation score	0.56±0.53	1.20±0.42*	1.00±0.00
Ballooning score	0.00±0.00	0.30±0.48	0.00±0.00
NAFLD activity score	0.56±0.53	2.80±1.23*†	1.16±0.41

表 2 NAFLD activity score * $p < 0.01$ vs. Sham, †

＜血清脂肪酸分画所見＞(表3)

SO 群、FO 群の脂肪酸分析は、投与された脂肪乳剤が含有する脂肪酸の割合に依存していた。SO 群ではアラキドン酸(20:4 ω -6)とオレイン酸(18:1 ω -9)が Sham 群と FO 群より有意に高値であった。FO 群のエICOSAペンタエン酸(EPA、20:5 ω -3)とドコサヘキサエン酸(DHA、22:6 ω -3)は Sham 群、SO 群よりも高かった。

＜Trien(ミート酸) Tetraen(アラキドン酸)ratio:T/T 比＞(T/T ratio) > 0.2 でEFADと判定)

FO 群の T/T 比は他の 2 群より有意に高値であった(図 2: FO vs. Sham、FO vs. SO 共に $p < 0.01$)が、EFAD の基準値以下であった。

	Sham	SO	FO
18:3 ω -3	3.34±1.37	27.73±27.46*†	3.39±1.84
20:5 ω -3	13.41±3.4	22.36±9.13	149.63±69.78*#
22:6 ω -3	62.06±15.61	111.2±32.32	201.4±155.16*#
18:2 ω -6	267.33±54.6	39.7±268.17*	98.7±92.43†
20:3 ω -6	8.86±1.51	9.86±6.18	3.14±1.51*†
20:4 ω -6	338.96±67.19	502.52±114.3*†	107.95±77.28*
22:4 ω -6	5.69±1.64	10.42±2.73*	1.59±0.96*#
18:1 ω -9	78.68±19.07	221.93±138.12*†	93.86±41.4
20:3 ω -9	0.97±0.34	1.97±0.69*†	0.73±0.25
TT ratio	0.003±0.001	0.004±0.003	0.008±0.003*#

表 3 血清脂肪酸分画 (μ g/dl)

* $p < 0.05$ vs. Sham, † $p < 0.05$ vs. FO, # $p < 0.05$ vs. FO

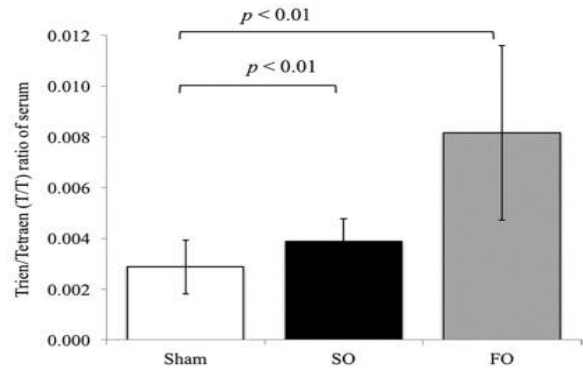


図 2 血清中 T/T 比

	Sham	SO group	FO group
Hepatic T-CHO	2.46±0.08	3.53±0.89	2.7±0.38
Hepatic TG	1.26±0.049	33.71±33.66*†	2.83±1.46*
Hepatic FC	2.53±0.11	2.55±0.18	2.69±0.31

表 4 肝組織中脂質含有量

* $p < 0.05$ vs. Sham, † $p < 0.05$ vs. FO

＜肝組織中含有脂質所見＞

SO 群と FO 群の肝組織中の TG 値は Sham 群よりも有意に高値であった(表 4)。また T-CHO 値と FC 値では 3 群間で有意差は認めなかった。

【結論及び考察】

本研究より以下の結果が導かれた。

- (1) 組織診断において大豆由来脂肪乳剤は肝脂肪症を誘発した。
- (2) 魚油由来脂肪乳剤は肝臓への脂肪蓄積を誘発しなかった。
- (3) 魚油由来脂肪乳剤は T/T 比に基づく EFAD を誘発しなかった。

IFALD の発症には胆汁鬱滞と肝脂肪症の 2 つの病態が関連するが、本研究の SO 群は血液生化学検査所見と組織学的所見で胆汁鬱滞を伴わない著明な肝脂肪症を認めた。この結果より本実験モデルは NAFLD 型 IFLAD を発症していると推測された。胆汁鬱滞を認めなかった理由として我々が用いたラットが成体であったため胆汁鬱滞を来さず肝脂肪症のみを発現したと推測された。

本研究で SO 群の脂肪酸分画でアラキドン酸は高値であり、アラキドン酸から産生される炎症性エイコサノイドが肝脂肪症と関連している可能性が示唆された。また、本実験における FO 群の EPA および DHA が高値であったことは、その代謝物である抗炎症性エイコサノイドが高レベルに産生され、結果として肝脂肪症を予防した可能性を示唆する。

本実験において、FO 群の血液中の T/T 比は Sham 群と比較して増加していたが、正常範囲内であった。また臨床症状からも EFAD を示唆する所見は観察されなかった。この結果は長期間の魚油由来脂肪乳剤単剤療法においても EFAD の発症を誘発することなく安全に投与出来る可能性を示す。

結論として、本実験モデルでは大豆由来脂肪乳剤の投与で引き起こされる肝脂肪症が、魚油由来脂肪乳剤の投与では観察されなかったことを実証した。更に魚油由来脂肪乳剤の単剤投与でも T/T 比に基づいて EFAD が発症しないことを示した。

しかしながら魚油由来脂肪乳剤の中枢神経系に対する深刻な影響の報告もあり、魚油由来脂肪乳剤が成長期の成長と発達に及ぼす影響を明らかにするためには、更なる研究が必要と考える。