授与番号	甲第　1913　号

論文内容の要旨

Identification of a fatty acid for diagnosing non-alcoholic steatohepatitis in patients with severe obesity undergoing metabolic surgery
（減量・代謝改善手術を施行した高度肥満症患者における非アルコール性脂肪肝炎診断のための脂肪酸同定）
（高橋眞人，佐々木章，梅邑晃，菅井有，柿坂啓介，石垣泰）
（Biomedicines 10 巻，11 号 令和 4 年 11 月掲載）

Ⅰ．研究目的

Non-alcoholic steatohepatitis（NASH）は高度肥満症と関連し，線維化の進行により肝臓疾患関連死のリスクが上昇する．NASH の診断とフォローアップは，疾患進行予防のために重要だが，唯一の診断方法である肝生検には出血や胆汁漏出などのリスクが伴い，高度肥満症患者ではよりリスクが上昇する．したがって，NASH のリスクがある患者のスクリーニングにバイオマーカーなどの非侵襲的な診断方法の確立が必要とされている．

遊離脂肪酸（free fatty acid, FFA）は，肥満患者において全身の炎症反応と関連する．減量・代謝改善手術（metabolic surgery, MS）は，高度肥満症患者の代謝改善や NASH 改善効果が報告されているが，MS 後の体内 FFA の変化を調べた報告は稀である．

高度肥満症患者において，治療効果と FFA との関連を評価することにより，NASH 診断のサロゲートマーカーとなる FFA を同定することを目的とした．

Ⅱ．研究対象ならび方法

岩手医科大学附属病院において腹腔鏡下スリーブ状胃切除術（laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG）を受けた高度肥満症患者 20 名（2020-2021 年）の臨床データを初診時と術後 6 か月で比較した．対象患者全員に LSG 時肝生検を実施して，病理専門医が診断とスコア評価を行った．肝組織の診断結果により，NASH 群と非 NASH 群（NAFL または正常肝）に分類した．NASH 群では術後 6 か月に超音波ガイド下肝生検を実施し，NASH 継続群と NASH 改善群に分類した．リピドミクス解析には，血清を初診時と術後 6 か月に採取し，液体クロマトグラフィー質量分析法（liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS）で解析した．肝組織は術中肝生検を用いマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析（matrix-assisted laser desorption/ionization-imaging mass spectrometry, MALDI-IMS）で解析した．統計解析について，ヒートマップの作成にはデータ群の標準化と比較のため Z-score を使用した．血清 FFA 値と臨床データとの相関解析には，2 変数間の直線を当てはめた Spearman の順位係数（ρ）を算出した．各パラメータのカットオフ値の算出には，receiver operating characteristic（ROC）曲線を用いた．

Ⅲ．研究結果

1. 術中肝生検により 15 名を NASH 群，5 名を非 NASH 群に分類した．NASH 群のうち 8 名を NASH 継続群，7 名を NASH 改善群に分類した．
2. NASH 群において，術後 6 か月で肝組織の脂肪化割合，NASH activity score (NAS) の脂肪化スコア，NAS の炎症スコアは有意に改善した．
3. 全患者で共通して検出された 189 種の血清 FFA のうち，術後に 5 種が有意減少，18 種が有意増加し，体重減少効果，肝組織の脂肪化割合と ρ=0.8 以上の相関が見られた．
4. 肝組織から 53 種のリン脂質が検出された．LC-MS で検出された 126 種の血清リン脂質のうち 87 種は脂質クラス，炭素鎖，不飽和結合の数が MALDI-IMS の分析結果と一致した．87 種のリン脂質について濃度変化を検討すると，術後に 3 種のリン脂質の有意増加が見られた．NASH 群と非 NASH 群の比較では，NASH 群で PC(18:1e_20:4)の術後の有意増加が見られた．血清 PC(18:1e_20:4)値と初診時 BMI に area under the curve (AUC) 0.7 を超える ROC 曲線が算出された．
5. PC(18:1e_20:4)はオレイン酸とアラキドン酸が結合した脂肪酸である．NASH の陽性診断との ROC 曲線において，AUC は 0.707，カットオフ値は 20711.3 μg/mL，NASH の陽性診断率は 81.6%と高値であった．

Ⅳ．結　　語

FFA 量の変化と体重減少および代謝改善指標との間の相関関係が示された．リン脂質は LSG 後増加する傾向があり，特にアラキドン酸を含む PC(18:1e_20:4)は，NASH 群においてのみ有意増加した．高度肥満症に対する LSG は，アラキドン酸カスケードの進行を抑制する可能性がある．LSG の代謝改善効果により全身の炎症反応を抑制することで，NASH の改善に影響を与えた可能性が示唆された．また，PC(18:1e_20:4)は NASH 群でのみ術後に有意な増加を認めたことから，NASH の診断や治療効果判定のためのサロゲートマーカーとして使用できる可能性がある．

論文審査の結果の要旨

審査担当者

主査　特任教授　黒田英克（内科学講座：消化器内科分野）

副査　教授　　石垣　泰（内科学講座：糖尿病・代謝・内分泌内科）

副査　特任教授　岩谷　岳（臨床腫瘍学講座）

高度肥満症患者に対する腹腔鏡下スリーブ状胃切除術（laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG）では，減量・代謝改善効果に加え，高率に合併する非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis, NASH)の改善効果が期待される．一方，炎症促進因子である遊離脂肪酸(free fatty acid, FFA）の動態が，NASH の病態に関与するとの報告が散見される．本研究では，LSG の代謝改善効果と脂肪酸代謝の変化を検討するとともに，血清と肝組織のメタボローム解析により，NASH のサロゲートマーカーとなりうる脂肪酸の探索を目的とした．対象は，当院で LSG が施行された高度肥満症患者 20 名．術前，術後 6 か月の血清ならびに肝組織を採取し，液体クロマトグラフィー質量分析法を用いてメタボローム解析を行なった．肝組織リピドミクス解析に関しては，マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析を用いた．LSG 後の有意な体重減少と代謝指標の改善を認め，検出された血清リン脂質のうち，87 種で脂質クラス，炭素鎖，不飽和結合の数で肝組織リピドミクス解析結果と一致した．同定されたリン脂質について LSG 前後の濃度変化を検討すると，NASH 群で PC（18:1e_20:4）の術後の有意な増加を認めた．PC（18:1e_20:4）の NASH の識別に関する AUC は 0.707，陽性診断率は 81.6%であった．

本論文は，LSG の代謝改善効果と脂肪酸代謝の変化を検討し，PC（18:1e_20:4）が NASH のサロゲートマーカーとなりうる可能性を示した研究である．学位に値する．

試験・諮問の結果の要旨

LSG の代謝改善効果と脂肪酸代謝の変化，および，メタボロミクス／リピドミクスについて問い，適切な回答を得た．また，学位論文の作成にあたり，盗用や剽窃等の研究不正は無いことを確認した．

参考論文

1) Pancreatic ductal adenocarcinoma in a patient with pancreas divisum and gastrointestinal duplication cyst: a case report　分裂膵および消化管重複嚢胞を合併した患者における膵管腺癌：症例報告）（高橋眞人，他 11 名と共著）
Surgical Case Reports, 7 巻，1 号（2021）

2) Aggressive Laparoscopic Cholecystectomy in Accordance with the Tokyo Guideline 2018
（東京ガイドライン 2018 に準拠した積極的な腹腔鏡下胆嚢摘出術について）
（高橋眞人，他 8 名と共著）
Journal of the Society of Laparoscopic & Robotic Surgeons, 25 巻，1 号（2021）

3) ゲフェチニブ投与中に腸管嚢腫様気腫症を発症した肺腺癌の 1 例
（高橋眞人，他 3 名と共著）日本臨床外科学会雑誌，82 巻，4 号（2021）：p702-706.