

平成 30 年 5 月 17 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10986

研究課題名(和文) 高度侵襲後の胃蠕動低下とグレリン濃度変化、および六君子湯の有効性の検討

研究課題名(英文) Evaluation of impaired gastric peristalsis, ghrelin concentration and effectiveness of Rikkunshito after severe insult

研究代表者

巽 博臣 (Tatsumi, Hiroomi)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：70404613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：侵襲後の消化管蠕動の低下に関して、六君子湯の有効性の機序の解明を目的として研究を行った。腹膜炎モデルを作製し、胃蠕動に關与する血漿グレリン濃度を測定した。また、胃蠕動低下に対する六君子湯の有効性の機序を、グレリン濃度への影響の側面から検討した。侵襲後に低下した食餌摂取量や水分摂取量は六君子湯投与により早期に回復した。六君子湯投与群では体重の回復も対照群に比べて数日早いことが示唆された。投与群では活性化グレリン濃度が高く、不活性化グレリン濃度が低い傾向がみられたため、経口摂取の回復には活性化グレリンへのシフトが關与していることが示唆され、六君子湯は活性化グレリンの増加に關与していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：On the reduction of gastrointestinal peristalsis after invasion, we studied for the purpose of elucidating the mechanism of the effectiveness of rikkunshito. Peritonitis model was prepared and plasma ghrelin concentration involved in gastric peristalsis was measured. We also examined the mechanism of the effectiveness of rikkunshito against the decrease in gastric peristalsis from the viewpoint of the influence on ghrelin concentration. Dietary intake and water intake decreased after invasion recovered early by rikkunshito administration. It was suggested that the recovery of body weight was several days earlier than that of the control group in the group treated with rikkunshito. In the treated group, the concentration of activated ghrelin was high and the inactivated ghrelin concentration tended to be low, suggesting that a shift to activated ghrelin was involved in recovery of oral intake, and rikkunshito was thought to be involved in the increase of activated ghrelin.

研究分野：集中治療医学

キーワード：六君子湯 グレリン 重症患者 消化管蠕動

## 1. 研究開始当初の背景

### 【研究の背景】

#### (1) 重症患者における消化管機能維持の重要性

高度侵襲下の重症患者では消化管機能の維持は集中治療管理の成否に重要となる<sup>1)</sup>。侵襲後早期の経腸栄養開始により消化管の吸収・防御・免疫機能が維持され、全身性炎症反応症候群(SIRS)や各臓器障害を引き起こすbacterial translocationの予防につながる事が報告されている。さらに、腸管免疫能の維持は感染症などの合併症発生率の低下や予後の改善に関連することが知られている。国内外の栄養ガイドラインにおいても早期経腸栄養の重要性が言及されている。

#### (2) 侵襲後の消化管蠕動低下

重症患者では高度侵襲に伴う臓器障害の一分症として消化管蠕動が低下する<sup>2)</sup>。特に、小腸以下の蠕動低下に比べて胃蠕動の低下は生じやすく<sup>3)</sup>、十二指腸への排泄遅延により胃内容停滞が生じ、胃食道逆流による誤嚥や呼吸器関連肺炎(VAP)を誘発するほか、経鼻胃管排液量増加による電解質の喪失など代謝性障害をきたす可能性もある。このため、胃管からの経腸栄養の開始遅延や経腸栄養そのもの中止を余儀なくされ、重症患者管理に難渋することも多い。このような病態に対しては、種々の消化管運動賦活薬が用いられるほか、胃蠕動・胃食道逆流を改善する薬剤としてエリスロマイシンやメトクロプラミド、モサプリドなどの有効性が報告されている<sup>4, 5)</sup>。しかし、十分な有効性を得られない症例もあるため、その際は栄養剤の経空腸投与を行う必要がある。経空腸投与による合併症の軽減が報告されているが、経胃投与がより生理的である。しかし、投与経路による消化管蠕動や消化管ホルモン分泌の差異については十分に議論されていない。

#### (3) 胃蠕動低下に対する六君子湯の効果

漢方薬である六君子湯の薬理効果は、胃排出能促進などの胃運動機能改善作用や胃粘膜血流量増加作用、胃粘膜防御因子増強作用などが報告されている<sup>6)</sup>。これまでに幽門輪温存胃切除術後の十二指腸への胃内容排出促進効果<sup>7)</sup>や、経皮内視鏡的胃瘻造設術後の胃食道逆流に対する効果<sup>8)</sup>などが報告され、さらに、機能的胃腸症(FD)に対する有効性<sup>9)</sup>なども注目されている。われわれは、胃内容が停滞した重症患者に対して六君子湯を投与し、胃管排液量が有意に減少し、経鼻胃管からの経腸栄養が安全かつ速やかに施行できたことを報告<sup>10)</sup>し、臨床応用しているが、集中治療領域の重症患者に対する六君子湯の使用例の報告は少なく、その有効性の詳細な機序は解明されていない。一方で、六君子湯は副作用が比較的少なく、また、容易に溶解できるため重症患者でも経管投与しやすい薬剤であるため、臨床効果や作用機序の解明により集中治療領域における臨床的な有用性はさらに高まると考えられる。

#### (4) グレリン

グレリン(ghrelin)は、胃から分泌される成長ホルモン分泌促進ペプチドで、アミノ酸28個からなる。グレリンの生理機能として成長ホルモンの分泌促進作用以外にも、摂食・消化管運動・胃酸分泌の促進作用が報告されている。このため、FDや神経性食欲不振症など、内科・小児科・神経精神科領域で血中濃度の変化が注目されている。しかし、重症患者におけるグレリン濃度の変化や、グレリン濃度と消化管蠕動低下との関係については、これまで十分に検討されていない。

#### (5) 六君子湯とグレリン

近年、六君子湯によるグレリン分泌促進作用やアシルグレリン(活性型グレリン)の血中濃度上昇が報告されている<sup>11)</sup>。5-HT<sub>2</sub>受容体の阻害により抑制されていたグレリン分泌の回復<sup>12)</sup>や、アシルグレリンのデスアシル化(不活化)の抑制<sup>13)</sup>などの機序が報告されており、アシルグレリン濃度の上昇が六君子湯による消化管蠕動改善・亢進の機序のひとつと考えられている。

#### (6) 経腸栄養投与経路とグレリン

重症患者における経腸栄養は通常は生理的な経胃投与、胃蠕動低下時には経空腸投与を選択する。経胃投与と可能な症例でグレリン濃度が高いのか、生理的な経胃投与によってグレリン濃度が上昇するのかなど、投与経路の違いによるグレリン濃度の変化については解明されていない。非生理的な経空腸経路によりグレリン濃度が影響されるのであれば、生理的な経胃投与のため胃蠕動を改善する必要があり、その目的に合致する六君子湯の有効性の解明につながると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究はグレリンに着目し、ラット腹膜炎モデルおよび臨床検体を用いて、高度侵襲時の胃蠕動低下に対するグレリンの関与を解明し、胃蠕動低下に対する六君子湯の効果について、六君子湯投与とグレリン濃度の変化との関連を検討し、また、グレリンと他のメディエーターの推移を比較し、経腸栄養投与経路による差異を検討することを目的とし、これまで明らかにされていない重症患者における胃蠕動低下とグレリン濃度の低下を探求するものであり、六君子湯の有効性の機序の解明、さらには活性化グレリン製剤の開発にも貢献できると考えられる。

## 3. 研究の方法

### (1) ラット腹膜炎モデルの作製

実験動物はWisterラット(体重250gの雄)を使用した。麻酔薬(イソフルラン)の吸入麻酔による全身麻酔下に、体重の10%の生理食塩水を皮下に注入した後、腹部正中切開で開腹した。結腸の通過障害が生じないように注意し、盲腸を根部近くで絹糸にて結紮した後、盲腸を注射針(23G)で1か所穿刺し、穿孔させた。穿孔部から盲腸の内容物を少量

絞り出し、腹腔内に露出させ、腹膜炎モデルを作製する（盲腸結紮穿孔モデル：Cecal ligation and puncture [CLP]モデル）。

#### (2) 六君子湯の投与

ヒトにおける六君子湯の常用量は7.5g/dayであるため、体重50kgで換算すると投与量は0.15g/kg/dayとなる。ラットの体重で換算すると六君子湯の投与量は0.0375g/dayとなる。ラットの一日常飲水量を25mL（100g体重あたり10mL）とし、六君子湯1.5g/Lの溶液を作製すると一日投与量が摂取できる。六君子湯を水に溶解して1.5g/Lの濃度に調整し、給水ボトルから自由摂水させて投与した。投与は各モデル作製後から行った。対照群には同量の水を与えた。両群とも飼料は通常のもので与えた。

#### (3) 各モデルの群分けと食事摂取量・体重の測定

CLP - 六君子湯投与群、CLP - 対照群に加えて、Sham（開腹のみ） - 六君子湯投与群、Sham - 対照群の4群で比較した。さらにコントロールとして、手術操作を加えない

健常 - 六君子湯投与群、健常 - 対照群も作製し、前値とした。六君子湯の胃蠕動の改善効果の指標として、各モデル作製前後での食餌摂取量、水分摂取量、体重の推移を記録した。

#### (4) 検体採取

各群について、モデル作成後1日目、3日目、7日目に吸入麻酔下にラットの尾静脈から採血した。採血後のラットは深麻酔で犠死させた。グレリンは不安定であるため、採取した血液のうちグレリン測定用の血液は直ちに血漿分離し、得られた血漿の1/10量の1mol/L塩酸を加え攪拌した後、-80で凍結保存した。各種サイトカイン、HMGB-1測定用の血液は血漿を分離し、濃度の測定まで-80で凍結保存した。

#### (5) 重症症例の血漿サンプル採取および臨床データの記録

高度侵襲下の重症症例から採血を行った。採血ポイントは、診断時（ICU入室時）、1日後、3日後、7日後とした。採血後の処理は上述した研究方法4に準じて行った。対象症例について、主病名・障害臓器・基礎疾患などの背景因子、ICU入室時の重症度スコア（APACHE-II score、SOFA score）、胃管排液量の推移、経腸栄養開始日、経腸栄養の投与経路と投与量の推移、水分バランスと体重の変化、腹部レントゲン写真の推移、通常の血液検査項目、六君子湯など消化管蠕動改善薬投与の有無、などについて記録した。

#### (6) グレリン濃度の測定

塩酸処理後、凍結保存した血漿サンプルを用いて活性型グレリンおよびデスアシルグレリン（不活性型グレリン）の血漿中の濃度を測定した。測定は市販のELISA法を用いたアッセイキット（Active Ghrelin ELISA Kit、Desacyl-Ghrelin ELISA Kit；セティ株式会社

社）を用いて行った。

#### (7) 統計学的解析

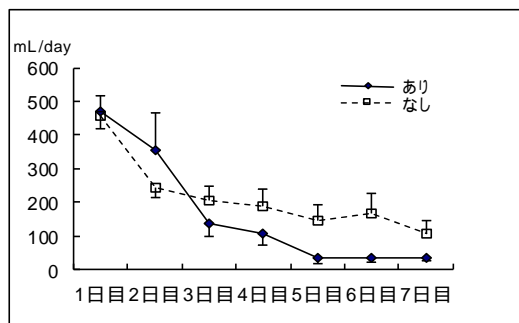
得られたデータを解析し、

ラット腹膜炎モデルにおけるグレリン濃度の推移と、六君子湯投与によるその変化  
重症患者における胃蠕動低下および血漿グレリン濃度の変化

六君子湯投与によるグレリン濃度の推移と六君子湯の臨床効果（胃管排液量や経腸栄養の施行状況など）との関連

経腸栄養投与経路の違い（経胃投与か、経空腸投与か）とグレリン濃度との関係

について解析した。解析結果を基に、重症患者における胃蠕動低下のメカニズムとグレリンの関与について解明した。また、これまでの経験から得られている六君子湯の臨床的有効性（図1）の発現機序が、グレリンの濃度変化に裏付けられるものであるかを検証した。さらに、患者の重症度、臓器障害の種類や程度など病態の差異、また、経腸栄養投与経路の差異などの影響を受けるかどうかについても検討した。



【図1】六君子湯投与の有無と胃管排液量の推移

#### 4. 研究成果

##### (1) ラット腹膜炎モデルにおける六君子湯投与の有効性について

###### 食餌摂取量

CLP群では1日目に食餌摂取量は0になったが、対照群（六君子湯非投与群）では3日目に前値の1/3程度に回復したのに対し、非投与群では1/6程度にとどまっていた。両群間に交互作用がみられた。Sham群でも六君子湯投与群で食餌摂取量が多く、交互作用がみられた。

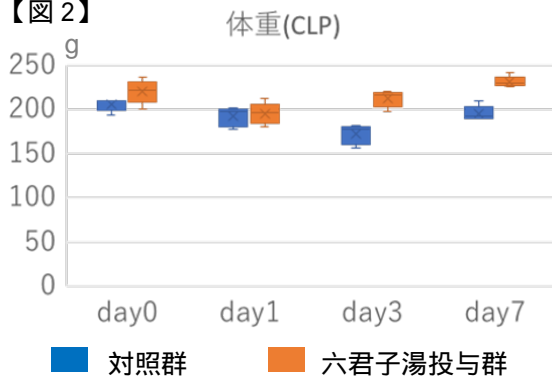
###### 水分摂取量

CLP群では3日目の水分摂取量は対照群に対して六君子湯投与群で高い傾向がみられたが、交互作用はみられなかった。Sham群では交互作用がみられた。

###### 体重

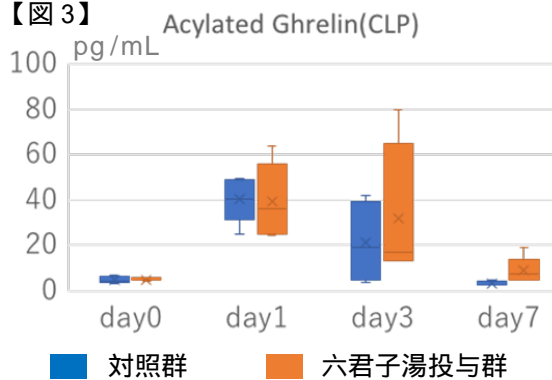
CLP群では対照群で3日目まで体重が減少したのに対し、六君子湯投与群では1日目に低下した体重は3日目、7日目で経時的に改善した（図2）。両群間に交互作用がみられた。Sham群では六君子湯投与群で体重が多い傾向がみられたが、有意差はなかった。また、両群間に交互作用はなかった。

【図2】



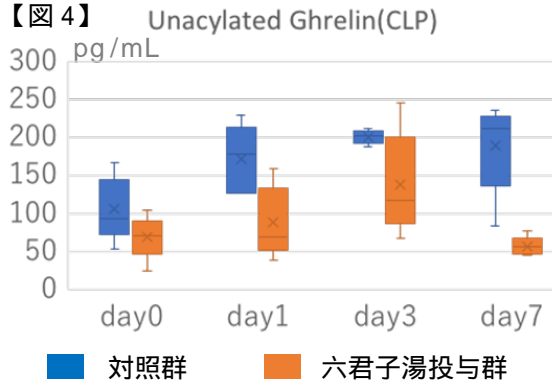
■ 対照群 ■ 六君子湯投与群  
 活性型グレリン濃度  
 対照群に対し、投与群では3日目、7日目の活性型グレリン濃度は高い傾向がみられたが、有意差はなかった(図3)。また、両群間に交互作用はみられなかった。Sham群では両群間に有意差はなかった。

【図3】



■ 対照群 ■ 六君子湯投与群  
 不活性型グレリン濃度  
 対照群に対し、投与群では全ポイントで不活性型グレリン濃度は高い傾向がみられたが、両群間に交互作用はみられなかった。Sham群では両群間に有意差はなかった。

【図4】



■ 対照群 ■ 六君子湯投与群  
 以上をまとめると、侵襲後に低下した食餌摂取量や水分摂取量は六君子湯投与により早期に回復した。それに伴い、六君子湯投与群では体重の回復も対照群に比べて数日早く生じることが示唆された。対照群に比べて六君子湯投与群では活性化グレリン濃度が高く、相対的に不活性化グレリン濃度が低い傾向がみられたことから、侵襲後の経口摂取の回復には活性化グレリンへのシフトが関与していることが示唆され、六君子湯は活性化グレリンの増加に関与していると考えら

れた。今回の検討ではN数が少なく、活性化グレリン・不活性化グレリン濃度にばらつきが大きかったため、有意差や交互作用が出なかったと考えられた。なお、当初予定していた各種サイトカイン・消化管ホルモン・HMGB-1の濃度測定は未測定であるため、測定結果が得られ次第、合わせて検討を行う。また、重症症例のグレリン濃度測定は、同意を得られた患者数が少なく、十分なサンプル数が集まっていないため、今後さらなる症例集積を行い、研究を継続する。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕  
 ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

巽 博臣 (TATSUMI Hiroomi)  
 札幌医科大学・医学部・講師  
 研究者番号： 70404613

##### (2) 研究分担者

升田 好樹 (MASUDA Yoshiki)  
 札幌医科大学・医学部・教授  
 研究者番号： 10244328

赤塚 正幸 (AKATSUKA Masayuki)  
 札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号： 60808161

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )

【参考文献】

- 1) 七戸康夫, 今泉 均. 腸管管理. 並木昭義, 今泉 均編. 敗血症性ショック - 新たな展開. 東京: 南江堂; 2003. p163-76.
- 2) 辻 美隆, 竹内浩紀, 石畝 亨, 他. 臓器不全とその対策 消化管不全. 現代医療 2001;33:2904-8.
- 3) 奈良 理, 上村修二, 浅井康文. 重症例における早期経腸栄養の実際とその問題点. ICU と CCU. 2006;30:617-23.
- 4) Annese V, Janssens J, Vantrappen, G et al. Erythromycin accelerates gastric emptying by inducing antral contractions and improved gastroduodenal coordination. Gastroenterology 1992;102:823-8.
- 5) Delvaux M, Wingate D. Trimebutine: mechanism of action, effects on gastrointestinal function and clinical results. J Int Med Res 1997;25:225-46.
- 6) Kido T, Nakai Y, Kase Y, et al. Effects of rikkunshi-to, a traditional Japanese medicine, on the delay of gastric emptying induced by N(G)-nitro-L-arginine. J Pharmacol Sci 2005;98:161-7.
- 7) Takahashi T, Endo S, Nakajima K, et al. Effect of rikkunshito, a Chinese herbal medicine, on stasis in patients after pylorus-preserving gastrectomy. World J Surg 2009;33:296-302.
- 8) 笠巻伸二, 山口浩彦, 原口美明, 他. 経皮内視鏡的胃瘻造設術後の胃食道逆流に対して六君子湯が著効した 2 症例. 漢方医 2007;31:61-4.
- 9) 原澤 茂, 三好秋馬, 三輪 剛, 他. 運動不全型の上腹部愁訴 (dysmotility-like dyspepsia) に対する TJ-43 六君子湯の多施設共同市販後臨床試験 - 二重盲検群間比較法による検討. 医のあゆみ 1998;187:207-29.
- 10) 巽 博臣, 升田好樹, 今泉 均, 他. 胃内容の停滞した ICU 患者に対して六君子湯が有効であった 3 症例. 日集中医誌 2009;16:187-90.
- 11) Matsumura T, Arai M, Yonemitsu Y, et al. The traditional Japanese medicine rikkunshito increases the plasma level of ghrelin in humans and mice. J

Gastroenterol 2010;45:300-7.

12) Takeda H1, Sadakane C, Hattori T, et al. Rikkunshito, an herbal medicine, suppresses cisplatin-induced anorexia in rats via 5-HT2 receptor antagonism Gastroenterology. 2008;134:2004-2013

13) Sadakane C, Muto S, Nakagawa K, et al. 10-Gingerol, a component of rikkunshito, improves cisplatin-induced anorexia by inhibiting acylated ghrelin degradation. Biochem Biophys Res Commun 2011;412:506-11.