

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791379

研究課題名(和文) 遺伝子多型に基づいた術後合併症予測システムの開発

研究課題名(英文) Development of prediction system of risk of postoperative complications based on cytokine gene polymorphisms

研究代表者

坂本 和彦 (SAKAMOTO, Kazuhiko)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50420526

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はサイトカインの遺伝子多型を術前に解析することによって個々の術後合併症リスクの予測システムを開発することにある。

消化器外科症例の周術期に様々な血清サイトカイン濃度を測定した。血液中より遺伝子採取、サイトカイン遺伝子多型を解析した。その結果、食道癌術後症例において周術期の血清IL-10値はIL-10 -819TT遺伝子多型よりもCT+CC遺伝子多型をもつ群の方が有意に高値であった。またIL-10 -819TT遺伝子多型は術後肺炎を発症した患者群で有意に高頻度であった。IL-10 -819TT遺伝子多型は食道癌術後の肺炎発症の危険因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop a prediction system of risk of postoperative complications individual by analyzing the preoperative cytokine polymorphisms.

In all patients who underwent gastrointestinal surgery, serum samples were obtained to measure levels of various serum cytokine perioperatively. DNA extracted from peripheral blood in all patients was analyzed to determine polymorphisms of various cytokines. As a result, perioperative serum IL-10 levels were significantly higher for IL-10 -819 C/T+C/C genotypes than for T/T genotypes in patients who underwent esophageal surgery. The frequency of the IL-10 -819 T/T genotype was significantly higher in patients with postoperative pneumonia than in patients without pneumonia. Patients with IL-10 -819 TT genotype may be at high risk of postoperative pneumonia after esophagectomy.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：遺伝子多型 サイトカイン 術後合併症 手術

1. 研究開始当初の背景

(1) 手術後の合併症は様々な要因により発症し、それを予防するために術後管理を徹底してもその発症には個人差があり予測は困難である。様々な合併症を予測できれば、術後管理が効率化される。周術期に過剰に炎症性サイトカインが放出され炎症細胞が過剰に活性化されると、本来生体防御に働く炎症細胞の作用が宿主自体の組織損傷を来し、重篤な臓器障害、合併症を併発する危険性がある。逆に炎症性サイトカインに対する抗炎症性サイトカインの誘導が強すぎれば免疫性の減少を呈し易感染性を呈する恐れがある。そのため、術前にさまざまなサイトカイン産生の程度を予測することは術後管理において極めて重要であるといえる。外科手術患者のサイトカインのプロモーター領域の遺伝子多型を解析する事によって、個々の術後サイトカイン産生の程度が予測できるばかりでなく、術後合併症のリスクが予測出来る可能性がある。

(2) 多くの遺伝子多型を網羅的に解析する事で、より精密な生体反応の予測が出来ること考え、炎症に関与する様々なサイトカインのプロモーター領域の多型を測定する必要がある。また現在、遺伝子多型解析は一般的には PCR 法を用いて行うが、これら多数の遺伝子多型を1つ1つ PCR 法で測定するのは設備、コスト、時間も要し、一般的ではない。多数の遺伝子多型を一度に診断可能なチップを開発することによって、検査の簡便化、コスト削減が可能となる。さらに特別な設備のない施設でも多型の検索が可能となり、すべての病院で容易に合併症予測システムが導入できる。

2. 研究の目的

(1) 生体反応の主体であるサイトカインの遺伝子多型を解析、術前に検査することによって個々の合併症リスクの予測システムを開発する。

(2) 多くの遺伝子多型を網羅的に診断できる、安価な遺伝子多型測定チップを開発、作成する。

3. 研究の方法

【対象患者】

各種消化器外科手術症例(胃癌、肝臓癌、食道癌など)で本研究に自由意志によって参加し、文章により同意が得られた症例。侵襲の異なる手術術式ごとに症例を集積、各群間で検討する。

【測定項目】

(1) 遺伝子多型: 前炎症性サイトカイン(IL-1、TNF) IL-1の受容体に拮抗するIL-1RA、炎症性サイトカイン(IL-6)、抗炎症性サイトカイン(IL-10)、抗腫瘍性サイトカイン(IL-18)、マクロファージ遊走阻止因子(MIF (macrophage migration inhibitory factor))のサイトカイン産生に關与するプロモーター領域の多型を測定する。

(2) 血中サイトカイン: 術前、術直後、術後1日目、術後3日目に患者血液を採血、血清を分離保存し、ELISA法により前述した7種類の血中サイトカイン濃度を測定する。

(3) 臨床検査データ

術前の患者の状態(年齢、性別、心疾患・呼吸器疾患・糖尿病の有無など、原疾患名、癌進行度など)、手術侵襲に關与するデータ(術式、開腹or腹腔鏡、手術時間、出血量など)、術後の検査値(白血球数、CRP値など)、術後合併症(急性呼吸促迫症候群、急性肺障害、肺炎、縫合不全、腹腔内膿瘍、創感染など)を詳細に検討、記録する。

【遺伝子多型チップ開発】

企業(東洋鋼鈑)との共同研究により安価な「遺伝子多型測定チップ」の開発を進める。

【解析】

周術期血中サイトカイン濃度と遺伝子多型との関連を解析し多型によるサイトカイン産生量の差を検証し、サイトカイン産生に關与する多型を同定する。また工学部との共同作業で、測定した複数の遺伝子多型の組み合わせにより各種合併症がどのくらいの確率で発症するのかを計算する予測システムを開発する。

【システムの精度検証】

開発した予測システムを用いて prospective study を行いシステムの感度、特異度を検証する。

【遺伝子多型測定チップの精度確認】

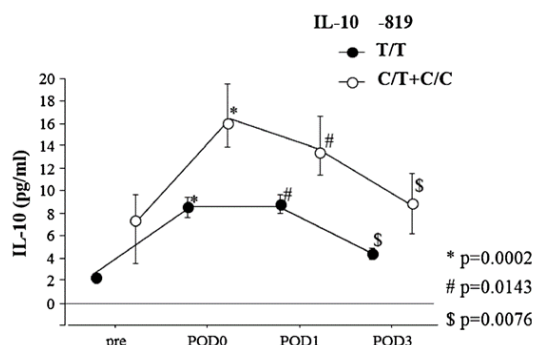
測定した遺伝子多型を、開発した遺伝子多型測定チップで再測定を行い精度が100%である事を確認する。

4. 研究成果

これまでに食道癌、肝臓癌の症例を中心に消化器外科手術200例の症例から同意を得る事ができた。

(1) 食道癌術後症例120例より術後サイトカイン産生ならびに術後肺炎と遺伝子多型との関係を解析した。

IL-10 -819 遺伝子多型 T/T を持つ患者群は術期血清 IL-10 濃度が C/T+C/C をもつ患者群に比べ有意に低値であった。



食道癌術後肺炎発症とサイトカイン遺伝子多型を解析した結果、IL-10 -819 遺伝子多型との間に有意な相関を認めた。

Cytokine polymorphism		Pneumonia+ (n=34)	Pneumonia- (n=86)	p value
TNF-α -1031	T/T	21	62	0.27
	T/C+C/C	13	24	
IL-1β -511	C/C	08	26	0.463
	C/T+T/T	26	60	
IL-6 -634	G/G	20	47	0.678
	G/C+C/C	14	39	
IL-10 -819	T/T	22	37	0.0323
	T/C+C/C	12	49	

食道癌術後肺炎発症について多変量解析した結果、IL-10 -819 遺伝子多型が優位に独立した危険因子であった。

	OR	95 % CI	p value
Gender (male vs. female)	4.64	0.491-43.9	0.18
Smoking (yes vs. no)	1.35	0.235-7.72	0.738
Length of operation (min)	1.002	0.998-1.007	0.276
Field of lymph node dissection (3 vs. 2)	1.43	0.516-3.97	0.491
IL-10 Genotype (T/T vs. C/T+C/C)	2.68	1.08-6.67	0.0334

この結果は Journal of Gastrointestinal Surgery に投稿中である。

(2) 食道癌術後症例 165 例の遺伝子多型データを使用して術後肺炎発症の術前予測システムを工学部と共同研究した。

ランダムに選択した 83 例から術前予測システムを構築、Training したところ 83 例中、82 例が予測的に認識された (98.8%)。肺炎予測の感度、特異度はそれぞれ 78.3%、96.7% であった。

		判別式予測 (症例数)			感度	78.3%
		肺炎あり	肺炎なし	判定保留	特異度	96.7%
肺炎あり	23例	18	4	1	陽性的中度	90.0%
肺炎なし	60例	2	58	0	陰性的中度	93.5%
					正診率	91.6%

残る 82 例で構築した予測式の Validation を行ったところ、76 例が予測的に認識された (92.7%)。肺炎予測の感度、特異度はそれぞれ 18.2%、83.3% であった。

		判別式予測 (症例数)			感度	18.2%
		肺炎あり	肺炎なし	判定保留	特異度	83.3%
肺炎あり	22例	4	15	3	陽性的中度	36.4%
肺炎なし	60例	7	50	3	陰性的中度	76.9%
					正診率	65.9%

肺炎予測の特異度は 8 割を超えていたが感度が低く、実臨床での応用はまだ困難であったが更なるデータ収集、解析を進行中である。

(3) 遺伝子多型チップの開発は精度 100% をめざし現在も進行中である。

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 2 件)

1. 坂本和彦、サイトカイン遺伝子多型による食道癌術後肺炎の術前予測システムの開発、外科侵襲とサイトカイン研究会、2013/12/14、伊香保温泉 (群馬)

2. 坂本和彦、食道癌術後肺炎のリスクとサイトカイン遺伝子多型との関連、Japan Digestive Disease Week 2013、2013/10/9-12、高輪グランドプリンスホテル (東京)

〔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：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本 和彦 (SAKAMOTO, Kazuhiko)
山口大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：50420526

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし