

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861047

研究課題名(和文)スリーブ胃切除術における耐糖能改善機序の解明：糖代謝へ影響するグレリン変化の解析

研究課題名(英文)Resolution of improvement mechanism for type 2 diabetes mellitus: Analysis for ghrelin change influencing on glucose metabolism

研究代表者

宮崎 安弘 (Miyazaki, Yasuhiro)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：00571390

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：病的肥満患者における胃内グレリン発現状況には個体差があり、グレリン発現量が高い患者ほどスリーブ状胃切除後体重減少効果が大きい。発現量に関わらず全例がスリーブ胃切除により糖尿病が寛解した。また、スリーブ切除後残胃小彎にグレリン発現および食欲が亢進する症例が存在し、このような症例は他の症例と比較し、血中インスリン値・Cペプチド値が正常値化しない傾向がみられた。また、このような症例は体重リバウンドを認めた。以上から胃内グレリン発現量は、スリーブ状胃切除術による糖尿病改善効果に直接的相関は認めなかったが、間接的もしくは一因子として影響している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Individual difference with regard to extent of ghrelin expression in gastric mucosa exists among morbid obesity patients. The high Ghrelin expression group exhibited better excess body weight reduction than the low Ghrelin group. Regardless of the ghrelin expression level, all obesity patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) showed the remission for T2DM after laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG). Our study also revealed the re-enhanced ghrelin expression at the lesser curvature of remnant stomach for several cases who underwent sleeve gastrectomy. Serum insulin and c-peptide level of those cases tended to underreach the normal level. In addition, all of patients with re-enhanced ghrelin expression demonstrated rebound of body weight. Our conclusion and implication is that ghrelin expression level at the stomach is an indirect factor and/or one of the direct factors which affect the improvement mechanism of T2DM resolution after LSG, although it is not the solely direct factor.

研究分野：消化器外科

キーワード：グレリン 2型糖尿病 スリーブ状胃切除術 リバウンド 代謝栄養外科学

1. 研究開始当初の背景

肥満外科手術は、大きく摂取量の抑制を目的とする術式と、消化吸収能の抑制を目的とする術式の2つに大きく分けられる。世界的には、前者および後者の両方を目的とする腹腔鏡下 Roux-en Y 胃バイパス手術 (RYGB) がその中心となっており、本邦においては前者を目的とする腹腔鏡下袖状胃切除術 (LSG) が唯一、病的肥満症に対する手術として認められている。肥満外科手術の減量効果は非常に良好で、それと同時に、2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus: T2DM) の改善効果報告も多数見られる。減量は T2DM 治療において最も重要な治療内容の一つであるが、上記肥満手術後の T2DM 改善効果は減量前の、手術直後から認められるのが興味深い。バイパス手術では、インクレチンホルモンの術後上昇により T2DM が改善するとされているが、LSG 手術ではバイパスを伴っていないにもかかわらず、T2DM 改善効果がみられる。このことについては胃内容排泄亢進によるインクレチンの増加が言われているが、いまだ Controversial な点が多い。一方で、LSG 術後に最も大きく変化する耐糖能関連ホルモンは胃が産生するグレリンであるが、グレリンと耐糖能変化の関係については明らかではない。

2. 研究の目的

腹腔鏡下袖状胃切除術におけるグレリン動態変化が耐糖能に与える影響を解明し、治療に応用することを目的とする。本術式では術後最も動態が変化するホルモンはグレリンであり、この減少が術後良好な体重減少につながると考えられている。しかし、術後体重減少が生じる以前より耐糖能改善が得られるとする報告が散見される。グレリンを代表とする内分泌的環境変化が耐糖能に良好に作用していると考えられるが、グレリンが耐糖能に与える影響については明らかでない部分が多い。この仮説の可能性を動物実験および実臨床データより検討するとともに、グレリンと耐糖能の関係について明らかにし、新しい糖尿病治療開発 (Novel Metabolic Surgery の確立) へ応用したい。

3. 研究の方法

われわれは先行研究として、肥満患者における血中グレリン値と胃内グレリン発現状況に注目し、LSG 切除標本のグレリン細胞数について検索を行った。その結果、肥満患者におけるグレリン活性は、血中グレリン値より胃内局所におけるグレリン発現状況がより正確に反映している可能性が示唆され、さらに肥満患者群において、グレリン細胞数が多い群は少ない群より有意に LSG による体重減少効果が大きかった (Miyazaki Y, et al. World J Surg, 2013)。そこで下記の研究方

法を計画した。

グレリン産生量と耐糖能との関係の検証: LSG 術後において、切除胃グレリン細胞量と生検 mRNA 定量による残胃内グレリン産生状況を評価し、T2DM 完全寛解に至らなかった症例と完全間寛解例とを比較検討する。

LSG モデルマウスの作成および LSG 耐糖能改善効果におけるグレリンとインスリンの検討

LSG 術後における胃内容排泄速度と耐糖能改善効果の検証

グレリン産生領域切除による新しい Metabolic surgery の確立

上記において、残胃内グレリン産生状況が T2DM 改善率と相関するのであれば、残存グレリン細胞領域を内視鏡的粘膜剥離術 (Endoscopic submucosal dissection: ESD) により切除し、T2DM 治療が期待できるため、これを検証する。

4. 研究成果

残胃小彎胃粘膜生検サンプル採取および臨床データ収集・血液サンプル採取に着手し、本研究が採択された以降、手術予定となった患者は全例、術前胃小彎および穹窿部の生検サンプルが採取することができた。Preliminary なデータではあるが、実施計画書に記載した仮説どおり、穹窿部グレリン発現量が最も多く、ついで、体上部大彎 > 体中部大彎 > 体下部大彎 > 体部小彎となることが確認できた。さらにグレリンホルモン活性化酵素である GOAT についても mRNA 発現量を解析し、同様の発現状況を確認した。特に 3 例の患者については、LSG 術後残胃小彎グレリン mRNA 発現量定量を行い、リバウンドした 2 症例についてはグレリン発現量増加を認めしたが、リバウンドのない症例では低発現であった。糖尿病との関連については、症例ごとに異なりはつきりしないものの、インスリン感受性に影響している可能性も示唆され追跡調査が必要である。

動物実験については計 8 匹の LSG を施行し、3 匹のマウスの生存および体重推移の観察が可能であった。実際、LSG モデルマウスの作成は困難ではあり研究の進捗が遅れたが、今回の検討により、手技は確立したと思われる。マウスの体重は一旦減少し、すぐに術前体重に回復した。この 3 匹のマウスについては血中グレリン値の測定、術後リバウンド後において、RT-PCR 法によるグレリン mRNA 発現量定量 (残胃小彎、十二指腸、膵臓、脳)、残胃小彎についてはグレリン細胞数カウント (免疫染色) を行った。コントロールマウスと比較し、小彎グレリン細胞数は LSG 術後残胃の方が多く、また

mRNA 発現量の解析では,コントロールと比較しても十二指腸,膵臓,脳でグレリン発現量の変化は認めなかった.よって,LSG 術後のグレリン回復,体重増加については,胃外グレリン産生臓器の代償発現増加ではなく,残胃小彎におけるグレリン発現増加が原因である可能性が高いことが示唆された.今後,インスリン抵抗性マウス,GLP-1 ノックアウトマウスに対してLSGを施行し,その糖代謝状況を評価することを検討している.

今回の研究期間では,LSG 術後の残胃排泄速度に関しては,ガストログラフィンを用いた術後 Upper GI study のみ施行可能であった.計 15 例の LSG について検討したところ,既報のように,十二指腸・上位空腸への造影剤排出が亢進している症例がほとんどであったが,2 例(T2DM 症例・インスリン併用症例)は残胃に一旦造影剤が停滞し,徐々に肛門側へ排泄されることが確認された.LSG 術後では一様に残胃排泄能が亢進するわけではなく,残胃の形状やももとの糖尿病の状況の影響を受けることが示唆された.

上記の結果から,残胃のグレリン発現状況は,T2DM 改善効果の関連について直接的相関はなくとも,間接的もしくは一因子として影響している可能性が示唆される.実際,残胃小彎のグレリン発現が上昇している患者においては,食欲そのものも上昇している.これらの患者は,血中インスリン値,C ペプチド値が正常値化しない傾向も見られた.内視鏡的グレリン産生領域胃粘膜切除術は,食欲・体重だけでなく,T2DM 治療効果も有する可能性があり,今後上記の成果をさらに集積するとともに,新規治療のプロトコル作成を進めていく.

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 9 件)

Takiguchi S, Takata A, Murakami K, Miyazaki Y, Yanagimoto Y, Kurokawa Y, Takahashi T, Mori M, Doki Y. Clinical application of ghrelin administration for gastric cancer patients undergoing gastrectomy. *Gastric Cancer*. 2014 Apr;17(2):200-5.
Takata A, Takiguchi S, Miyazaki Y, Miyata H, Takahashi T, Kurokawa Y, Yamasaki M, Nakajima K, Mori M, Kangawa K, Doki Y. Randomized Phase II Study of the Anti-inflammatory Effect of Ghrelin During the Postoperative

Period of Esophagectomy. *Ann Surg*. 2015 Aug;262(2):230-6.

Takiguchi S, Murakami K, Yanagimoto Y, Takata A, Miyazaki Y, Mori M, Doki Y. Clinical application of ghrelin in the field of surgery. *Surg Today*. 2015 Jul;45(7):801-7.

Takata A, Takiguchi S, Murakami K, Miyazaki Y, Miyata H, Takahashi T, Kurokawa Y, Yamasaki M, Nakajima K, Mori M, Kangawa K, Doki Y. Effects of ghrelin administration on the early postoperative inflammatory response after esophagectomy. *Surg Today*. 2015 Aug;45(8):1025-31

瀧口修司, 宮崎安弘, 村上剛平, 柳本喜智, 高橋剛, 黒川幸典, 山崎誠, 宮田博志, 森正樹, 土岐祐一郎. 胃切除とグレリン. *胃がん perspective*, Vol.7, 2014
宮崎安弘, 瀧口修司, 高橋剛, 黒川幸典, 山崎誠, 宮田博志, 中島清一, 森正樹, 土岐祐一郎. 月刊糖尿病【肥満・糖尿病に対する外科的治療】腹腔鏡下スリーブ状胃切除術とグレリン(解説/特集). Vol.6, 2014

柳本喜智, 宮崎安弘, 瀧口修司, 高橋剛, 黒川幸典, 山崎誠, 宮田博志, 中島清一, 森正樹, 土岐祐一郎. 食道切除術後体重減少患者に対するグレリン投与の臨床試験. *外科と代謝栄養* Vol.4, 2014

宮崎安弘, 瀧口修司, 土岐祐一郎, 森正樹. 腫瘍をめぐる Q&A テーマ Q75. 肥満外科手術による糖尿病治療について. *Surgery Frontier* Vol.21, 2014

宮崎安弘, 瀧口修司, 土岐祐一郎. 外科治療コーナー 肥満外科手術の術後管理. *肥満症治療学展望* Vol.6, 2015

〔学会発表〕(計 7 件)

宮崎安弘ら. 肥満症患者における胃内局所グレリン発現状況の臨床的意義, 第 114 回日本外科学会定期学術集, 2014 年
土岐祐一郎, 瀧口修司, 宮崎安弘ら. 消化器外科領域におけるグレリンの臨床応用, 第 8 回食道・胃外科フォーラム 2014 年

宮崎安弘ら. Clinical significance of ghrelin expression in the gastric mucosa of morbidly obese patients-Effect on outcome of laparoscopic sleeve gastrectomy 34th Annual Meeting of KSELS and International Symposium 2014 年

宮崎安弘ら. Which reflects more significant ghrelin profiles for morbid obese patient, ghrelin cell counts or serum ghrelin level? 14th World Congress of Endoscopic Surgery

and 22nd International EAES meeting
2014 年

Yasuhiro Miyazaki et al. Clinical
Significance of Ghrelin Expression in
the Gastric Mucosa of Morbidly Obese
Patients- Effect on outcome of
laparoscopic sleeve gastrectomy. The
12th Asia-Pacific Congress of
Endoscopic and Laparoscopic Surgery
2015 年

瀧口修司, 宮崎安弘ら. 術後ホルモンの
動向(グレリン): 腹腔鏡下スリーブ
状胃切除術における臨床的意義. 第 32
回日本肥満症治療

Yasuhiro Miyazaki, et al. Metabolic
effect of laparoscopic sleeve
gastrectomy: retrospective analysis
in our institution. 第 70 回日本消化
器外科学会. 2015 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮崎安弘 (MIYAZAKI, Yasuhiro)

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号 : 00571390

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :