

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04930

研究課題名(和文) グレリンによる手術侵襲軽減のメカニズムの解明と臨床応用へ向けた投与法の最適化

研究課題名(英文) Breakthrough in clinical application and optimization of ghrelin administration by clarifying the mechanism of alleviating surgical stress

研究代表者

土岐 祐一郎 (Doki, Yuichiro)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20291445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：LPS腹腔内投与マウスモデルではIL-6濃度は著しく高濃度であることから、PAMPモデルであるLPSモデルはグレリン作用機序の対象ではなく、DAMPモデルがグレリン抗炎症効果のターゲットと考えられた。ヒト研究においては、食道癌術後グレリン持続投与、高齢者胃癌胃全摘患者グレリン投与のランダム化比較試験を開始でき、本結果からグレリン投与方法の最適化が行われる。また活性型グレリン濃度とコリンエステラーゼ値が逆相関し、肝機能と肥満がグレリン値に影響することが判明した。

研究成果の概要(英文)：Basic research revealed that DAMP model would befit the animal model for targeting the anti-inflammatory mechanism of ghrelin rather than the LPS model which showed remarkable high IL-6 concentration in blood. With regard to human researches, we started the two clinical randomized trial of continuous ghrelin administration. One is for patients with esophagectomy and the other is for geriatric patients with total gastrectomy. These trials could optimize the method of ghrelin administration for exerting the anti-inflammatory effect. The last achievement of this study was identifying the association between active ghrelin concentration and the value of choline-esterase, which corresponded to liver function and obesity.

研究分野：食道癌

キーワード：グレリン 抗炎症 手術侵襲 高齢者

1. 研究開始当初の背景

グレリンは1999年に寒川らにより発見された胃より分泌される消化管ホルモんで、食欲増進、成長ホルモン分泌促進作用など多彩な生理活性を有する。臨床応用を目指して神経性食思不振症、癌力ヘキシア、慢性呼吸不全、筋委縮性側索硬化症などを対象として企業治験が行われているが、未だに決定的なポジティブな結果は得られていない。一方我々は消化器外科領域において、胃全摘・食道癌術後の体重減少予防に極めて有用であることを報告した (Gastroenterology. 2010. Surgery. 2010.)。その違いとして前者では体重減少に伴い negative feedback で内因性グレリンが上昇している病態であることが投与による効果が十分に得られない原因の一つと考えられた。つまり、慢性の低グレリン状態には生体が順応していることが推測された。この様な観測から、「グレリンが急激に減少し、グレリン欠乏による症状が強く出ている病態」が臨床的にグレリン投与の効果が最大限に得られるという独自の仮説を立てた。我々は上記に該当する病態として、シスプラチンによるグレリン低下および高度侵襲手術である食道癌根治術後のグレリン低下を同定した。これらに対し、食道癌術前化学療法 (Cancer 2012) および食道癌周術期 (Annals of Surgery 2015) におけるグレリン VS プラセボ投与ランダム化比較試験を実施し、Positive data を得て報告している。つまり、グレリン投与にてシスプラチンによる副作用としての悪心嘔吐が減少し、摂取カロリーも増加すること、ならびにグレリン投与群はプラセボ群に比べて SIRS 期間、炎症性サイトカインが減少し、術後肺合併症が減少していた。食道癌手術は侵襲が大きく周術期死亡率も最も高くそのため多くの高齢者では手術適応がある進行度にも関わらず放射線療法などの姑息治療が選択される。そこで後者の「グレリンによる手術侵襲の抑制」というテーマについて、グレリンの臨床的価値が最も高いと考え、当該研究では高齢食道癌手術症例を対象とした。

2. 研究の目的

本研究では、抗炎症作用を期待する目的でグレリン持続静脈投与を採用しているが、これを支持する基礎的・臨床的研究はまだ存在しない。本研究では抗炎症作用を標的としたときの最適な投与方法を決定するために薬物動態や投与時期の比較などを詳細に検討することを目的とする。また、持続的にグレリン活性を得るためにグレリンのアシル化制御という新規の薬物治療についても検討を開始したい。いくつかの基礎研究では NF κ B や炎症性サイトカインの抑制、交感神経の過緊張状態の解除、迷走神経刺激による抗炎症効果などが想定されているが、その詳細な機序は明らかではない。特に臨床応用を考えた場合、グレリンの投与方法、至適投与量についての検討が必須と考えている。

3. 研究の方法

1. 敗血症・過大侵襲モデル (動物実験) におけるグレリン投与ヒトグレリン投与臨床研究の実施

1-1: モデル作成と実験計画:

敗血症・過大侵襲モデルの作成:
さまざまなモデルが報告されているが、マウスにおける生体反応 (IL-6 産生量など) を確認し最も食道癌手術に近い生体反応を示すモデル作成を目指す。

その後、マウス炎症反応モデルに対するグレリン投与に対する反応を確認する。

グレリンの作用機序を検索する目的で、高グレリン抗体あるいはグレリン受容体阻害剤投与によるグレリン抗炎症効果のキャンセルを確認する。

上記 ~ を行ったうえで、抗炎症効果に関する持続投与と間欠投与の比較を行う。

1-2: これまでの当科におけるグレリン投与臨床試験のデータならびに企業治験のデータを参考に、食道癌手術におけるグレリン投与の安全性、有効性、Dose finding に関する医師主導臨床試験を計画する。

2. 胃全摘症例におけるグレリン投与の検討と薬物動態の解明

グレリン低下のより著しく、かつ手術侵襲の影響を最も受けやすい高齢者胃癌胃全摘症例に対するグレリン投与の臨床研究を計画する研究 (手術侵襲抑制および摂食亢進、筋肉量維持) を行う。主評価項目は経口摂取量 (Kcal/kg/day)、副次評価項目として食欲 (VAS)、術後体重減少率、術後合併症発生割合、体組成 (インピーダンス法)、握力、術後入院期間、周術期 QOL (DAUGS20 による術後障害評価、EORTC QLQ-C30 による QOL の測定、GDS15)、血液検査 (白血球数、CRP、総タンパク量 (TP)、血漿グレリン値、血清 GH 値、血中 IL-6 値、総タンパク量 (TP)、アルブミン (Alb)、プレアルブミン (PreAlb)、トランスフェリン、レチノール結合蛋白 (RBP))、有害事象を設定した。

GH 反応をサロゲートとして、グレリン刺激の馴化によるダウンレギュレーション効果についても検討を予定する。また、薬物動態検討を行うために、投与開始前、10 分後、30 分後、60 分後、2 時間後、6 時間後、24 時間後のグレリン血中濃度の測定を行う。

3. グレリン不活性化メカニズムの解明

アシルグレリンの不活化酵素の同定: 合成グレリン (アシルグレリン) を基質として、グレリン特異的に脱アシル化する酵素活性のアッセイ系確立を目指す。不活化酵素阻害剤によるアシルグレリンの増強作用の検討。アシルグレリンの生体内動態の検討を計画した。特に ~ については当科における胃癌胃切除患者を対象に、術中下記の測定を行い、ヒト生体におけるグレリン性体内動態を検討する。○グレリン産生臓器である胃からの血流経路は以下のとおりとなり、胃切除術

中にできる限り同時に、胃静脈、門脈、下大静脈、末梢静脈から採血を行う。:(胃) 胃静脈 門脈 (肝臓) 下大静脈 <(心臓・右房 右室) 肺動脈 (肺) 肺静脈 (心臓・左房 左室) 大動脈> 末梢動脈 毛細血管 末梢静脈

4. 研究成果

1. 敗血症・過大侵襲モデルとして、LPS 腹腔内投与マウスモデルの検討を行った。実際、マウスにLPSを腹腔内投与した時、投与後4時間で各臓器におけるIL-6 mRNA、多くの臓器で発現上昇が確認され、肺や脾臓でも高かった。しかしながら、このモデルに対するグレリン投与では血中IL-6抑制には至らなかった。LPS投与モデルにおけるIL-6濃度は、ヒト-マウス換算において、われわれがヒトにおいてグレリン投与に関する研究を行った際のIL-6濃度よりも著しく高濃度であり、モデルとしてふさわしくない可能性が示唆された。そのため、再度侵襲学の観点から、PAMP/DAMPの概念に着目し、LPSモデルは前者であることから、DAMPモデル作成が適当であることが判明した。

1-2: グレリン持続投与に関する研究として、食道癌術後グレリン持続投与の多施設臨床試験がPMDA承認を受け開始された。このなかで時速投与における至適濃度のValidationが行われる(プラセボ 25例 VS 0.25mg/kg/H 25例 VS 0.50mg/kg/H 25例)。本試験では、大阪大学症例においてPK/PD解析、炎症性マーカー測定についても問題なく検体集積がなされている。試験集積状況は順調であり、平成30年度に全結果が導出される予定である。本結果により、抗炎症効果を期待するグレリン持続投与の至適濃度が決定する。

2. 胃全摘症例におけるグレリン投与の検討については、高齢者胃癌患者を対象とし、グレリン持続投与期間5日間、間欠投与期間を5日間もつけるランダム化比較試験を開始した。現在、2例の症例登録がなされており、さらに症例集積を行う予定である。グレリン投与に伴う有害事象は認められず、安全に試験は進捗している。

3. グレリン不活性化メカニズムの解明について、肝不全患者は健常人と比較し、有意に活性化グレリン値が高値であることを証明してきた。また、肝不全患者ではコリンエステラーゼ低値、高グレリン血症であるのに対し、逆に肥満患者(特に高度肥満患者)では、コリンエステラーゼ異常高値症例が存在することがわかり、グレリン濃度とコリンエステラーゼ値とのFeedback関係が判明した。グレリン代謝に関わる医薬品、漢方などの使用につながると思われる。また、食道癌手術において、胃管作成時に胃静脈、前腕皮静脈における採血を同時に行い検証したところ、胃静脈におけるグレリン濃度は前腕皮静脈と大きな違いはなく、食道切離、迷走神経切離後における胃管作成時の胃静脈はすでに

修飾がかかっている可能性が示唆された。今後、別の方法(Intervention radiology(IVR)技術など)を用いたヒト体内動態検証方法を検討する必要がある。

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10件)

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. *Annals of Surgery* 査読有 2015年 262:230-236
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. *Surgery Today* 査読有 2015年 45:1025-1031
Takiguchi S, Murakami K, Yanagimoto Y, Takata A, Miyazaki Y, Mori M, Doki Y. Clinical application of ghrelin in the field of surgery. 査読有 2015年 45:801-807
Murakami K, Takiguchi S, Miyazaki Y, Kurokawa Y, Yamasaki M, Nagano H, Mori M, Doki Y Clinical application of ghrelin in the field of surgery. *Journal of Surgical Research* 査読有 2015年 199:450-457
Yanagimoto Y, Takiguchi S, Miyazaki Y, Makino T, Takahashi T, Kurokawa Y, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Hosoda H, Kangawa K, Mori M, Doki Y Improvement of cisplatin-related renal dysfunction by synthetic ghrelin: a prospective randomised phase II trial. *British Journal of cancer* 査読有 2016年 114:1318-1325
Yanagimoto Y, Takiguchi S, Miyazaki Y, Makino T, Takahashi T, Kurokawa Y, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Mori M, Doki Y Plasma ghrelin levels as a predictor of adverse renal events due to cisplatinbased chemotherapy in patients with esophageal cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 査読有 2016年 46:421-426
Takiguchi S, Miyazaki Y, Takahashi T, Kurokawa Y, Yamasaki M, Nakajima K, Miyata H, Hosoda H, Kangawa K, Mori M, Doki Y. Impact of synthetic ghrelin administration for patients with severe body weight reduction more than

1 year after gastrectomy: a phase II clinical trial. Surgery Today 査読有 2016年 46:379-385

Sasaki K, Asaoka T, Eguchi H, Fukuda Y, Iwagami Y, Yamada D, Miyazaki Y, Noda T, Takahashi T, Gotoh K, Kawamoto K, Kurokawa Y, Kobayashi S, Takiguchi S, Mori M, Doki Y. Plasma ghrelin suppression as an early predictor for postoperative complications after pancreatoduodenectomy. Pancreatology 査読有 2018年 18:73-78

宮崎安弘, 瀧口修司, 高橋剛, 黒川幸典, 田中晃司, 牧野知紀, 山崎誠, 中島清一, 森正樹, 土岐祐一郎 消化器がん特に上部消化管がん治療におけるグレリンの役割 日本静脈経腸栄養学会雑誌 査読無 2016年 32:811-816

瀧口修司, 山下公太郎, 柳本喜智, 宮崎安弘, 土岐祐一郎 高齢者外科手術の成績向上を目指した合成グレリン製剤の有用性についての検討 大和証券ヘルス財団研究業績集 査読無 2017年 40:89-92

〔学会発表〕(計 5件)

柳本喜智, 瀧口修司 ほか 上部消化管食道癌 DCF 療法におけるグレリン値と腎障害の検討 第 116 回日本外科学会定期学術集会 大阪国際会議場およびリーガロイヤルホテル大阪 (大阪府大阪市) 2016年 4月 14日 - 2016年 4月 16日

佐々木一樹, 瀧口修司 ほか 膵切除例における周術期グレリン値の推移と臨床的意義 第 71 回日本消化器外科学会総会 あわぎんホールおよびアスティ徳島 (徳島県徳島市) 2016年 7月 13日 - 2016年 7月 15日

新野直樹, 瀧口修司 ほか 病的肥満症に対する LSG 後リバウンド克服に向けてモデルマウスを用いたグレリン産生能変化の検討 第 117 回日本外科学会定期学術集会 パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) 2017年 4月 27日 - 2017年 4月 29日

宮崎安弘, 瀧口修司 ほか 穹窿部およびスリーブ状胃切除後残胃におけるグレリン発現状況と体重減少および術後リバウンドの関連 第 54 回日本外科代謝栄養学会学術集会 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター (新潟県新潟市) 2017年 7月 6日 - 2017年 7月 7日

佐々木一樹, 瀧口修司 ほか 膵頭十二指腸切除術の合併症予測における血漿中グレリン値の有用性 第 72 回日本消化器外科学会総会 石川県立音楽堂ほか (石川県金沢市) 2017年 7月 20日 - 2017年 7月 22日

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1件)

名称: METHOD FOR PREVENTING OR REDUCING POSTOPERATIVE PULMONARY COMPLICATIONS
発明者: 土岐 祐一郎, 瀧口 修司, 宮崎 安弘, 高田 晃宏
権利者: 土岐 祐一郎
種類: 用途特許
番号: 15/202, 952
出願年月日: 平成 27 年 7 月 6 日
国内外の別: アメリカ単独

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

土岐 祐一郎(DOKI, Yuichiro)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 2 0 2 9 1 4 4 5

(2) 研究分担者

瀧口修司(TAKIGUCHI, Shuji)
名古屋市立大学・医学研究科・教授
研究者番号: 0 0 3 0 1 2 6 8

宮崎安弘(MIYAZAKI, Yasuhiro)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号: 0 0 5 7 1 3 9 0

黒川幸典(KUROKAWA, Yukinori)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号: 1 0 4 7 0 1 9 7

高橋 剛(TAKAHASHI, Tsuyoshi)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号: 5 0 4 5 2 3 8 9

山崎誠(YAMASAKI, Makoto)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号: 5 0 4 4 4 5 1 8

柳本喜智(YANAGIMOTO, Yoshitomo)
大阪大学・医学部附属病院・医員
研究者番号: 7 0 6 4 5 0 8 5

宮田博志(MIYATA, Hiroshi)

地方独立行政法人大阪府立成人病センター
(研究所)・その他部局等・副部長
研究者番号：80362713

牧野知紀 (MAKINO, Tomonori)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：80528620

(3)連携研究者

寒川賢治 (KANGAWA, Kenji)
独立行政法人国立循環器病研究センター
研究者番号：00112417