

令和 4 年 9 月 2 日現在

機関番号：87112

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09149

研究課題名(和文) エピジェネティック年齢解析に基づく肝切除、肝移植における安全性の追求

研究課題名(英文) The analysis of epigenetic aging in patients who undergo hepatectomy and in liver transplant recipients

研究代表者

内山 秀昭 (Uchiyama, Hideaki)

独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター(臨床研究部)・独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター臨床研究部・医師

研究者番号：70380425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：近年実年齢と比較した生物学的年齢が注目され、肝硬変など様々な疾患で生物学的年齢が高くなることが報告されている。特定領域のDNAメチル化レベルを測定することにより、かなり高い精度で生物学的年齢を推定することができることが知られている。研究当初はDNAメチル化レベル解析を海外への外注で行う予定であったが、新型コロナウイルス感染拡大により困難となった。生物学的年齢を実年齢が増すことに低下する腸腰筋の断面積で代替することにした。肝切除患者では有意な結果とならなかったが、膵頭十二指腸切除後の患者では術後1週間で平均89%と低下しており手術侵襲の大きさが影響していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年注目されている、実年齢と比較した生物学的年齢を測定することにより、手術の侵襲度を推定することを試みた。DNAメチル化を測定することが困難となったため生物学的年齢は腸腰筋の断面積で推定することとした。比較的侵襲が小さいとされる肝部分切除では腸腰筋面積は術前後でほぼ変化はなかったが、侵襲が大きいとされる膵頭十二指腸切除では術後1週間で平均89%減少していた。術後の腸腰筋面積の減少は手術侵襲の大きさの指標となることが示唆された。近年外科分野において鏡視下手術の低侵襲性が注目されている。低侵襲性に関しては様々な指標が用いられているが、腸腰筋面積の変化はその指標として有用なものとなる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Recently, there has been a great attention to biological aging, compared to chronological aging. Biological aging is often referred to as chronological aging. It has been reported that biological aging increases in various diseases like cirrhosis. Biological aging can be inferred by measuring DNA methylation in relevant DNA areas. In the beginning, we tried to send specimens to a specific laboratory in the United States for measuring DNA methylation. However, it became difficult due to the coronavirus pandemic. We use psoas muscle areas as an alternative because they are known to decrease as biological aging increases. We measured postoperative changes of psoas muscle areas in patients who underwent hepatic resection. Unfortunately, there were no remarkable changes in such patients. Next, we measured postoperative changes of psoas muscle areas in patients who underwent pancreaticoduodenectomy. There was an average of 89% decrease of psoas muscle areas in such patients.

研究分野：消化器外科

キーワード：生物学的年齢 エピジェネティック 手術侵襲 腸腰筋面積

1. 研究開始当初の背景

近年、誕生からの経過日数により求められる「暦年齢」とは別に、組織・細胞の老化の程度から求められる「生物学的年齢」が注目されている（図1）。様々な研究により、DNAメチル化レベルと生物学的年齢には強い相関があることが解明された（Horvath S, Genome Biol 2013; 14; R115）。HorvathはDNA上の353のCpGサイトを選定し、この353のCpGサイトのメチル化レベルを解析することで高い精度で生物学的年齢を推定することが可能であると報告している。マウスに関してはWangらが176のCpGサイトに着目し、同様の手法を用いた生物学的年齢の推定に成功している（Wang T, et al. Genome Biol 2017; 18:57）。このDNAメチル化レベルによる生物学的年齢の測定はすでにコマーシャルベースに行っている（例：DNAge™）。

肝臓は再生可能な唯一の臓器である。正常な肝臓であれば、70%の肝切除を行っても、残肝が再生し、1~2カ月後にはほぼ100%の機能を取り戻す。生体肝移植ドナーにおいては、右肝を提供する場合、全体の約60%の肝切除を行うことになり、残りの40%の肝臓が急速に再生し、ドナーの生体機能を支えることになる。生物学的年齢は細胞の継代数に関連することから、大量肝切除術後の急激な肝再生は生物学的年齢を加速させることが予想される（図1）。本邦における生体肝移植は1993年からスタートし、その後成人間生体肝移植の導入などで症例数が著増したが、その歴史はまだ25年である。生体肝移植ドナーの大量肝切除、その後の急激な肝再生に伴う長期的な健康状態の評価は未だなされていないのが現状である。生体肝移植ドナー術後（特に右葉切除術後）の長期的な変化として、脾機能亢進に伴う血小板数の低下が指摘されている。生体肝移植ドナーの長期的健康状態に関して以下の疑問点が挙げられる。

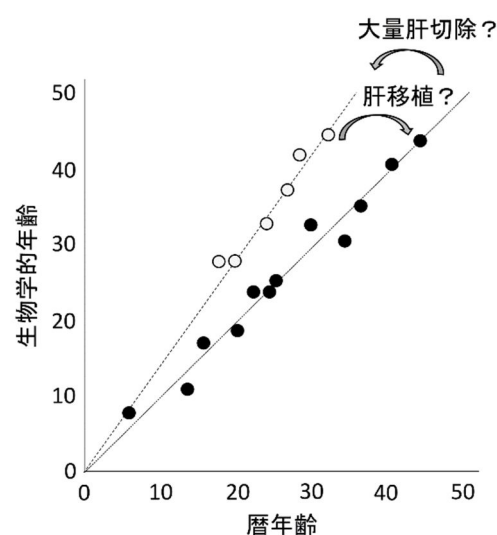


図1. 暦年齢と生物学的年齢の関連

1. 大量肝切除後の長期的な残肝の生物学的年齢は、切除前と比較して全く同等なのか？
2. 生体肝移植ドナー術後の血液の生物学的年齢は、切除前と比較して全く同等なのか？

これまでに我々は、生体肝移植ドナー手術後の残肝に肝細胞癌が発生した症例を経験しており（Ikegami T, et al. Hepatol Res 2017; 47: 715-718）。これは残肝の生物学的年齢が加速したことに起因しているかもしれない。

同様の疑問は、悪性疾患を対象とした肝切除術患者にも当てはまる。Horvathらは、肥満は肝臓の生物学的年齢を加速させることを報告し、これが肥満患者の肝癌発生率が高い原因ではないかと推測した（Horvath S, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2014; 111: 15538-15543）。悪性疾患に対する大量肝切除後に、早期の癌再発をしばしば経験するが、これは大量肝切除後に生物学的年

齡が加速することによるものかもしれない。そこで、悪性疾患を対象とした肝切除患者に関しては以下の疑問的が挙げられる。

1. 大量肝切除後に肝臓や血液の生物学的年齢に変化はあるのか？
2. 早期再発と生体の生物学的年齢に関連はあるのか？

一方、肝移植レシピエントに関しては、ドナーとレシピエントの年齢差がある場合、次の疑問点が挙げられる。

1. 移植された肝臓の生物学的年齢は、ドナーの暦年齢のままなのか？
2. 末期肝不全患者の生物学的年齢は、移植後に変化するのだろうか？

肝移植レシピエントはそのほとんどが余命半年以内の末期肝不全患者である。その肝臓をはじめとする生物学的年齢は異常に高いものと予想される。またドナーとレシピエントの年齢差がある場合、移植された肝臓の生物学的年齢はドナーの暦年齢と同じなのか、あるいはレシピエントの暦年齢にリセットされるのだろうか（**図 1**）。

以上の疑問を解決するために今回の研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、DNA メチル化レベル解析による生物学的年齢測定を通して、生体肝移植ドナーの安全性の検証、悪性疾患に対する肝切除後の早期再発メカニズム解明、高齢ドナーを用いた肝移植の安全性の検証を行うことである。これまでに肝切除や肝移植後の生体の生物学的年齢を検討した報告はなく、学術的独自性と創造性は極めて高いと考える。

3. 研究の方法

マウス大量肝切除モデルにおける生物学的年齢の変化を検討する。

6週齢の C57BL6 マウスを用い、Higgins-Anderson の手法で 70%肝切除モデルを作成する。12週齢で犠牲死させ、肝組織、血液を採取し、これらから DNA を抽出し、DNA メチル化レベル解析による生物学的年齢を sham operation を行ったコントロールマウスの生物学的年齢と比較する。

臨床における大量肝切除後の再肝切除時の生物学的年齢を測定する。

臨床においては、大量肝切除術を受けた後に、再肝切除を受ける患者が存在する（例：大腸癌肝転移に対し、右肝切除 [全体の約 60% の肝切除] を受けた患者が肝転移再発に対し再肝切除を受ける場合）。この再肝切除時に手術検体として得られる肝組織、血液を採取し、これらから DNA を抽出し、肝組織、血液それぞれの生物学的年齢を測定する。

肝移植レシピエントの移植時の生物学的年齢を測定する。

肝移植レシピエントは末期肝不全であるため、生体の生物学的年齢は加速されていると予想される。肝移植時に肝組織、血液を採取し、これらから DNA を抽出し、肝組織、血液それぞれの生物学的年齢を測定する。

肝移植レシピエントの移植後の生物学的年齢を測定する。

肝移植レシピエントは、移植肝が正常に機能していても、様々な問題により再開腹手術を受けることがある。その際に肝組織、血液を採取し、これらから DNA を抽出し、肝組織、血液それぞれの生物学的年齢を測定する。

4 . 研究成果

研究当初は DNA メチル化レベル解析を海外への外注で行う予定であったが、新型コロナウイルス感染拡大により困難となった。生物学的年齢を他の方法で代替することができないかを考慮した結果、CT での腸腰筋の断面積が年齢が増すにつれ低下することから、これを使用することにした。膵頭十二指腸切除術は腹部手術の中で侵襲の高い手術であり、術後の生物学的年齢が低下する可能性が高い。そこで、膵がん、胆管がんに対する根治的膵頭十二指腸切除を受けた患者を対象とし、第 3 腰椎レベルでの腸腰筋の断面積を手術前と術後 1 週間で比較することとした。興味深いことに、術後半年以内で早期がん再発を来した群では術後 1 週目での腸腰筋断面積は 72%と、再発なしの 93%と比較し著明に低下していた(2021 年 5 月までのデータ)。肝切除に関しても同様の検討を行ったが、肝切除は切除のバリエーションが多く、侵襲度のばらつきが認められた。また術後 1 週目の CT で腸腰筋断面積の低下は多くの症例で認められなかった。よって肝臓で当研究を進めることは困難と判断した。

2021 年度は膵頭十二指腸切除術を中心に症例数の蓄積を行った。膵癌 (n=10) あるいは胆管癌 (n=7) で根治的膵頭十二指腸切除を受け術後 1 週目にスクリーニング腹部 CT 検査を受けた 17 人を対象とした。17 例の術前と比較した術後 1 週目の腸腰筋断面積は平均 89.5%に減少していた。9 例で術後 1 年以内の早期再発を起こしており、その危険因子として術後 1 週目の腸腰筋断面積減少率、年齢、性別、手術時間、術中出血量、輸血の有無、術前アルブミン値、術前総ビリルビン値、術前 CEA 値、術前 CA19-9 値、術前 CRP 値、術後在院日数を挙げ統計解析を行った。12 因子のうち、術後 1 週目の腸腰筋断面積減少率(中央値 85.8% vs. 100.7%, P=0.001)、術前総ビリルビン値(中央値 1.44mg/dl vs. 0.58mg/dl, P=0.030)が有意な危険因子となった。この 2 因子で多変量解析を行ったところ、術後 1 週目の腸腰筋断面積減少率が唯一の独立危険因子となった(P<0.001)。術後 1 週目の腸腰筋断面積減少率が 90%以下の 9 人のうち 8 例が術後 1 年以内の早期再発を起こしていた。

今後の展望

腸腰筋面積の減少は膵頭十二指腸術後の早期再発のリスクファクターとなる可能性がある。さらに症例を積み重ねて論文報告につなげていきたい。また手術侵襲により生物学的年齢がどれくらい下がるのかを知るために年齢と腸腰筋面積の標準曲線を作る必要がある。基礎疾患のない、虫垂炎、胆石など侵襲の低い手術を受ける患者(約 500 例)の CT 画像から腸腰筋面積を測定し、実年齢と腸腰筋面積の標準曲線作成を試みている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Uchiyama Hideaki, Kuma Sosei, Ishida Mayumi, Tsujita Eiji, Nobuto Yoshinari, Kasagi Yuta, Natsugoe Keita, Aoyagi Takehiko, Iguchi Tomohiro, Itoh Hiroyuki	4. 巻 7
2. 論文標題 Resection and reconstruction of pancreatic artery aneurysms caused by the compression of the celiac trunk by the median arcuate ligament: a report of two cases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surgical Case Reports	6. 最初と最後の頁 167
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40792-021-01247-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内山秀昭、石田真弓、辻田英司、信藤由成、笠木勇太、隈宗晴、夏越啓多、青柳竹彦、本村貴志、伊東啓行
2. 発表標題 正中弓状靭帯圧迫が原因と考えられる下脛十二指腸動脈瘤に対し切除再建を行った2例
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笠木勇太、青柳竹彦、夏越啓多、信藤由成、石田真弓、辻田英司、隈宗晴、内山秀昭
2. 発表標題 閉塞症状を伴う結腸直腸癌の臨床的特徴と予後因子の検討
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辻田英司、青柳竹彦、夏越啓多、笠木勇太、信藤由成、石田真弓、隈宗晴、内山秀昭
2. 発表標題 腹腔鏡下胆嚢摘出術における術後悪心・嘔吐（PONV）予防介入の効果とリスク因子に関する後方視的検討
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 夏越啓多、辻田英司、青柳竹彦、笠木勇太、信藤由成、石田真弓、隈宗晴、内山秀昭
2. 発表標題 胆嚢捻転症と術前診断し早期に腹腔鏡下胆嚢摘出術を行った3例
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 信藤由成、青柳竹彦、夏越啓多、笠木勇太、辻田英司、石田真弓、隈宗晴、内山秀昭
2. 発表標題 多様な病態を呈する閉鎖孔ヘルニアに対して腹腔鏡下ヘルニア修復術を行った3例
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 南祐、辻田英司、龍神圭一郎、是久翔太郎、信藤由成、石田真弓、松本拓也、内山秀昭
2. 発表標題 急性虫垂炎に対する腹腔鏡下虫垂切除術後のSSIリスク因子に関する検討：術前の抗生剤数回投与はSSIを低減させる？
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 辻田英司、南祐、龍神圭一郎、是久翔太郎、信藤由成、石田真弓、松本拓也、内山秀昭
2. 発表標題 早期手術を前提とした急性胆嚢炎手術例の治療成績の検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 信藤由成、南祐、龍神圭一郎、是久翔太郎、辻田英司、石田真弓、松本拓也、内山秀昭
2. 発表標題 大腿ヘルニア嵌頓に対して腹腔鏡下ヘルニア修復術と小腸切除を一期的に行った2例
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 龍神圭一郎、内山秀昭、松本拓也、石田真弓、辻田英司、信藤由成、是久翔太郎、南祐
2. 発表標題 大腿ヘルニア嵌頓に対して腹腔鏡下ヘルニア修復術と小腸切除を一期的に行った2例
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 是久翔太郎、南祐、龍神圭一郎、信藤由成、辻田英司、石田真弓、松本拓也、内山秀昭
2. 発表標題 新規近赤外光観察対応型内視鏡システムによるICG蛍光イメージングを用いた鏡視下大腸癌手術の経験
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	副島 雄二 (Soejima Yuji) (30325526)	信州大学・学術研究院医学系・教授 (13601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉住 朋晴 (Yoshizumi Tomoharu) (80363373)	九州大学・医学研究院・教授 (17102)	
研究分担者	原田 昇 (Harada Noboru) (80419580)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	
研究分担者	池上 徹 (Ikegami Toru) (80432938)	東京慈恵会医科大学・医学部・教授 (32651)	
研究分担者	伊藤 心二 (Itoh Shinji) (90382423)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関