

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26506013

研究課題名(和文) 宇宙空間における筋萎縮(Sarcopenia)の分子機序解明と新たな治療への展開

研究課題名(英文) Mechanism of sarcopenia in outer space

研究代表者

吉住 朋晴(YOSHIZUMI, Tomoharu)

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：80363373

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：加齢や各種病態による骨格筋萎縮(サルコペニア)は、肝疾患の予後因子であり、肝筋相関の重要性が注目されている。筋肉におけるPGC1⁺過剰発現マウス(サルコペニアモデルマウス)を用い、70%肝切除を行い、肝再生率を検討することを目的とした。PGC1⁺過剰発現マウスの交配を行い、サルコペニアモデルマウスの繁殖を試みた。38匹中、サルコペニアモデルは3匹で得られた。25週時点で肝切除を行い、サルコペニア状態における肝再生を検討する。臨床例による検討では、生体肝移植102例で、サルコペニア患者では肝機能が有意に低下しており、術中出血量が多く、術後経過で敗血症発症率が有意に高く在院日数が長期であった。

研究成果の概要(英文)：The loss of skeletal muscle mass in sick patients due to liver disease is the result of an imbalance between protein synthesis and degradation. We tried to clarify the correlation between liver function and sarcopenia using PGC1⁺ over expression mouse. Thirty-eight PGC1⁺ hetero mouse were mated. Three sarcopenia mouse was obtained. At 25 week, we are going to perform 70% liver resection and will investigate liver regeneration rate in sarcopenia mice. In the clinical setting, 102 liver transplant recipient was investigated. We revealed that liver function was significantly impaired in patients with sarcopenia. Furthermore, sarcopenia patients had more blood loss during the liver transplant, complicated sepsis more frequent and stayed hospital longer after the liver transplant compared to no sarcopenia patients. Liver regeneration rate after the liver transplant was not different.

研究分野：消化器外科学

キーワード：サルコペニア 肝再生 肝移植

1. 研究開始当初の背景

骨格筋量は加齢とともに減少するが、この骨格筋量が減少する状態はサルコペニアと定義されている。60歳以上の約10%にSarcopeniaが認められ、加齢以外にも肝疾患、炎症、低栄養、ステロイドホルモンの低下、インスリン抵抗性などでサルコペニアを呈することが知られている。サルコペニアでは、種々の担癌あるいは肝硬変患者で予後不良であることが報告されている。我々は、サルコペニア症例では、肝細胞癌に対する肝切除後の予後が有意に不良であることを報告した。サルコペニアの簡便な評価方法としては、腹部CTのスライスでの腸腰筋あるいは骨格筋の面積による比較が用いられる。我々は、腹部CTを用い、生体肝移植ドナー候補として腹部CTを撮影した健常人の腰椎L3領域での骨格筋面積と体格の各種パラメーター(身長、体重、body mass index、体表面積)を比較し、骨格筋面積は体表面積と有意に相関すること、腸腰筋面積は個人差が大きく、体格とは相関しないことを報告した。このデータを用いて、我々は腰椎L3領域での骨格筋面積の測定式を以下のごとく、作成した。

男性：骨格筋面積 = 126.9x 体表面積 - 66.2、

女性：骨格筋面積 = 125.6x 体表面積 - 81.1

グルタミンは骨格筋で唯一産生され、血中に最も多く含まれている遊離アミノ酸であり、準必須アミノ酸である。リンパ球や腸管粘膜のエネルギー源であり、リンパ球の機能亢進、腸管免疫能改善などの働きを持つ。グルタミンの経口投与により、腸管由来の bacterial translocation が抑制される。骨格筋はグルタミン酸合成酵素を用いて、グルタミン酸からグルタミンを合成・貯留する最大のグルタミン貯蔵臓器である。サルコペニアでは、血中のグルタミン濃度が低下し、腸管バリア機能の低下から、bacterial translocation をきたし、敗血症を起こす機序が考えられる。我々は生体肝移植症例において、サルコペニアおよび敗

血症症例では、生体肝移植1週間後の血清グルタミン酸濃度が有意に低下することを明らかにした。宇宙環境では、無重力空間のために抗重力筋(体幹筋、大腿四頭筋、下腿三頭筋など)が随意筋(上腕二頭筋)よりも萎縮しやすく、遅筋の速筋化が生じることが知られている。6ヶ月の飛行後には、筋量、筋肉、最大酸素摂取量は平均10~20%減少し、帰還後の回復には6週間を要すると報告されている。国際宇宙ステーションの搭乗員は、毎日1000mgのカルシウムを含む宇宙食、ビタミンDサプリメント、体幹や四肢に荷重を加え、筋力を維持する運動プログラム、ビスフォスフォネートを毎週服用することで骨量減少のリスクは予防できることが明らかになったが、効果的な筋萎縮の予防法と筋萎縮の際に起こる免疫能の評価に関しては未だ明らかになっていない。

2. 研究の目的

宇宙空間においては骨格筋の著明な萎縮(サルコペニア)が起こるが、その詳細な機序は未だ不明である。グルタミンは骨格筋で唯一産生され、血中に最も多く含まれている遊離アミノ酸であり、準必須アミノ酸である。リンパ球や腸管粘膜のエネルギー源であり、リンパ球の機能亢進、腸管免疫能改善などの働きを持つ。タンパク質の分解、生合成、エネルギー産生に必要なオートファジーという新しい生命現象に着目し、

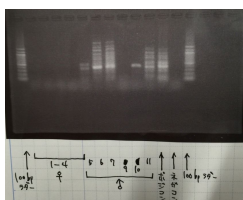
サルコペニアにおけるオートファジーの役割を明らかにし、宇宙空間における筋萎縮の分子機序解明と新たな治療への展開を目的として研究を計画した。

3. 研究の方法

筋肉におけるPGC1 α 過剰発現マウス(サルコペニアモデルマウス) Wild type マウスにそれぞれ70%肝切除を施行、肝再生に関する比較検討を行う。

4. 研究成果

A) PGC1 α 過剰発現マウスの作成



PGC1 α 過剰発現により筋肉の ATP 産生の異常をきたし、加齢とともに骨格筋の萎縮を起こす。左図は生後 25 週のサルコペニアモデルマウスの下肢。

医薬基盤研究所より PGC1 α /E 過剰発現マウスの凍結精子を搬

入。交配によって得られた個体化を進め、サルコペニアモデルマウス(PGC1 α 過剰発現マウス)を繁殖させている。現在 38 匹中、サルコペニアモデルは 3 匹作成した(♀2、♂7、♂10)。研究期間終了時点で 25 週に達したマウスが 1 匹のみで、今後、サルコペニアモデルマウスの繁殖を待ち、70%肝切除を施行、肝再生率を評価する予定である。

B) 臨床例での評価

肝細胞癌 186 例をサルコペニア群(75 例)と非サルコペニア群(111 例)に分けて、検討したところ、サルコペニア群では、術後生存率・術後無再発生存率ともに有意に不良であった。また、サルコペニアは術後生存と再発の独立危険因子であった。この差は特に 70 歳以上の症例において、顕著であった。サルコペニアの有無による合併症の発生頻度に差を認めなかったが、F4 の肝硬変症例で解析すると、サルコペニア群で合併症発生率が有意に高値であった。次に生体肝移植症例 102 例で検討した。骨格筋面積だけでなく、筋力も評価し、サルコペニア群(24 例)と非サルコペニア群(78 例)に分けた。サルコペニア群では、移植前の肝機能が有意に不良であった。また、術中出血量が有意に多く、術後の肝機能が不良であり、敗血症合併率が高値で、入院期間が長期であった。サルコペニアは、肝移植後

6 か月死亡の独立危険因子であった。

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 40 件)

1. Yoshizumi T, Takada Y, Shirabe K, Kaido T, Hidaka M, Honda M, et al. Impact of human T-cell leukemia virus type 1 on living donor liver transplantation: a multi-center study in Japan. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2016 Jun;23(6):333-41.
2. Yoshizumi T, Harimoto N, Itoh S, Okabe H, Ikegami T, Kimura K, Uchiyama H, Soejima Y, Ikegami T, Ikedo T, Maehara Y. Living Donor Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma within Milan Criteria in the Present Era. *Anticancer Res*. 2016 Jan;36(1):439-45.
3. Uchiyama H, Yoshizumi T, Ikegami T, Harimoto N, Itoh S, Okabe H, Soejima Y, Maehara Y. Use of internal jugular vein grafts in reconstructing multiple venous orifices of right hepatic grafts without the middle hepatic vein trunk. *Liver Transpl*. 2016 Sep 22. doi: 10.1002/lt.24644. [Epub ahead of print]
4. Ikegami T, Harimoto N, Shimokawa M, Yoshizumi T, Uchiyama H, Itoh S, Okabe N, Sakata K, Nagatsu A, Soejima Y, Maehara Y. The learning curves in living donor hemi-liver graft procurement using small upper midline incision. *Clin Transplant*. 2016 Sep 21. doi: 10.1111/ctr.12850. [Epub ahead of print]
5. Ikegami T, Yoshizumi T, Sakata K, Uchiyama H, Harimoto N, Harada N, Itoh S, Nagatsu A, Soejima Y, Maehara Y. Left lobe living donor liver transplantation in adults: What is the safety limit? *Liver Transpl*. 2016 Aug 19. doi: 10.1002/lt.24611. [Epub ahead of print]
6. Itoh S, Kohnoe S, Shirabe K, Yoshida D, Kawanaka H, Yoshizumi T, Ikegami T, Yamashita Y, Kurihara T, Maehara Y. Validity of Hepatic or Pancreatic Resection for Elderly Patients Aged 85 Years or Older at a Single Community Hospital in Japan. *Anticancer Res*. 2016 Aug;36(8):4289-92.
7. Kurihara T, Yoshizumi T, Yoshida Y, Ikegami T, Itoh S, Harimoto N, et al. Graft selection strategy in adult-to-adult living donor liver transplantation: when both hemi-liver grafts meet volumetric criteria. *Liver Transpl.*, 2016 Jul;22(7):914-22.
8. Morita K, Shirabe K, Taketomi A, Soejima Y, Yoshizumi T, Uchiyama H, et al. Relevance of MicroRNA-18a and MicroRNA-199a-5p to hepatocellular

- carcinoma recurrence after living donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2016 May;22(5):665-76.
9. Harada N, Maeda T, Yoshizumi T, Ikeda T, Kayashima H, Ikegami T, et al. Laparoscopic Liver Resection Is a Feasible Treatment for Patients with Hepatocellular Carcinoma and Portal Hypertension. *Anticancer Res.* 2016 Jul;36(7):3489-97.
 10. Uchiyama H, Yoshizumi T, Ikegami T, Harimoto N, Itoh S, Okabe H, et al. The use of left grafts with a replaced or accessory left hepatic artery in adult-to-adult living donor liver transplantation: analyses of donor and recipient outcomes. *Clin Transplant.* 2016 Sep;30(9):1021-7.
 11. Itoh S, Yoshizumi T, Shirabe K, Kimura K, Okabe H, Harimoto N, et al. Functional remnant liver assessment predicts liver-related morbidity after hepatic resection in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2016 Jun 10. doi: 10.1111/hepr.12761. [Epub ahead of print]
 12. Itoh S, Yoshizumi T, Kimura K, Okabe H, Harimoto N, Ikegami T, et al. Effect of Sarcopenic Obesity on Outcomes of Living-Donor Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Res.* 2016 Jun;36(6):3029-34.
 13. Okabe H, Kinoshita H, Imai K, Nakagawa S, Higashi T, Yoshizumi T, et al. Diverse Basis of β -Catenin Activation in Human Hepatocellular Carcinoma: Implications in Biology and Prognosis. *PLoS One.* 2016 Apr 21;11(4):e0152695.
 14. Kimura K, Shirabe K, Yoshizumi T, Takeishi K, Itoh S, Harimoto N, et al. Ischemia-Reperfusion Injury in Fatty Liver Is Mediated by Activated NADPH Oxidase 2 in Rats. *Transplantation.* 2016 Apr;100(4):791-800.
 15. Harimoto N, Yoshizumi T, Shimokawa M, Sakata K, Kimura K, Itoh S, et al. Sarcopenia is a poor prognostic factor following hepatic resection in patients 70 years of age and older with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2016 Feb 15. doi: 10.1111/hepr.12674. [Epub ahead of print]
 16. Uchiyama H, Shirabe K, Kimura K, Yoshizumi T, Ikegami T, Harimoto N, Maehara Y. Outcomes of adult-to-adult living donor liver transplantation in 321 recipients. *Liver Transpl.* 2016 Mar;22(3):305-15.
 17. Yoshizumi T, Itoh S, Imai D, Ikegami T, Ninomiya M, Iguchi T, Harimoto N, Takeishi K, Kimura Y, Uchiyama H, Soejima Y, Ikeda T, Kawanaka H, Shirabe K, Maehara Y. Impact of platelets and serotonin on liver regeneration after living donor hepatectomy. *Transplant Proc.* 2015 Apr;47(3):683-5.
 18. Harimoto N, Shirabe K, Ikegami T, Yoshizumi T, Maeda T, Kajiyama K et al. Postoperative complications are predictive of poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *J Surg Res.* 2015 Dec;199(2):470-7.
 19. Takeishi K, Maeda T, Yamashita Y, Tsujita E, Itoh S, Yoshizumi T, et al. A Cohort Study for Derivation and Validation of Early Detection of Pancreatic Fistula After Pancreaticoduodenectomy. *J Gastrointest Surg.* 2016 Feb;20(2):385-91.
 20. Yamashita Y, Yoshida Y, Kurihara T, Itoh S, Harimoto N, Yoshizumi T, et al. Surgical results for recurrent hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy: Repeat hepatectomy versus salvage living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2015;21(7):961-968.
 21. Takeishi K, Maeda T, Shirabe K, Tsujita E, Yamashita Y, Yoshizumi T, Maehara Y. Clinicopathologic Features and Outcomes of Non-B, Non-C Hepatocellular Carcinoma After Hepatectomy. *Ann Surg Oncol.* 2015 Dec;22 Suppl 3:1116-24.
 22. Yamashita Y, Imai D, Bekki Y, Kimura K, Matsumoto Y, Yoshizumi T et al. Surgical Outcomes of Hepatic Resection for Hepatitis B Virus Surface Antigen-Negative and Hepatitis C Virus Antibody-Negative Hepatocellular Carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2015;22(7):2279-2285.
 23. Uchiyama H, Morita K, Itoh S, Harimoto N, Ikegami T, Yoshizumi T et al. Pancreatic Transection Using Tape Sling and Ultrasonic Aspirator Dissection Technique in Pancreaticoduodenectomy and Distal Pancreatectomy. *J Am Coll Surg.* 2015 Nov;221(5):e91-5.
 24. Toshima T, Shirabe K, Kurihara T, Itoh S, Harimoto N, Yoshizumi T et al. Profile of plasma amino acids values as a predictor of sepsis in patients following living donor liver transplantation: Special reference to sarcopenia and postoperative early nutrition. *Hepatol Res*, in press.
 25. Shimoda S, Hisamoto S, Harada K, Iwasaka S, Chong Y, Yoshizumi T et al. Natural killer cells regulate T cell immune responses in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 2015 Dec;62(6):1817-27.
 26. Kurihara T, Yamashita Y, Yoshida Y, Takeishi K, Itoh S, Yoshizumi T et al. Indocyanine Green Fluorescent Imaging for Hepatic Resection of the Right Hepatic Vein Drainage Area. *J Am Coll Surg* 2015;221(3):e49-53.
 27. Konishi H, Shirabe K, Nakagawara H, Harimoto N, Yamashita Y, Yoshizumi T et

- al. Suppression of silent information regulator 1 activity in noncancerous tissues of hepatocellular carcinoma: Possible association with non-B non-C hepatitis pathogenesis. *Cancer Sci* 2015;106(5):542-549.
28. Kawanaka H, Akahoshi T, Kinjo N, Harimoto N, Itoh S, Yoshizumi T et al. Laparoscopic Splenectomy with Technical Standardization and Selection Criteria for Standard or Hand-Assisted Approach in 390 Patients with Liver Cirrhosis and Portal Hypertension. *J Am Coll Surg* 2015;221(2):354-366.
29. Itoh S, Shirabe K, Yoshizumi T, Takeishi K, Harimoto N, Ikegami T et al. Skeletal muscle mass assessed by computed tomography correlates to muscle strength and physical performance at a liver-related hospital experience. *Hepatol Res*, in press.
30. Iguchi T, Shirabe K, Aishima S, Wang H, Fujita N, Yoshizumi T et al. New Pathologic Stratification of Microvascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma: Predicting Prognosis After Living-donor Liver Transplantation. *Transplantation* 2015;99(6):1236-1242.
31. 吉住朋晴, 播本憲史, 原田 昇, 伊藤心二, 本村貴志, 長津明久, 他 我が国における肝移植の現況と将来展望 肝胆膵, in press
32. 吉住朋晴, 池上徹, 武石一樹, 副島雄二, 前原喜彦 右肝の解剖から見た生体肝移植における肝後区域グラフト 手術, in press
33. 吉住朋晴, 播本憲史, 伊藤心二, 池上徹, 内山秀昭, 池田哲夫, 他 高齢者に対する肝胆膵外科・肝移植手術の現況 日本外科学会雑誌, 2016; 117(3): 174-181.
34. 吉住朋晴, 播本憲史, 池上徹, 内山秀昭, 調 憲, 前原 喜彦 生体肝移植レシピエント手術 肝胆膵高難度手術アトラス, 手術, 2016; 70(4): 447-454.
35. 山下洋市, 沖英次, 辻田英司, 佐伯浩司, 山本学, 吉住朋晴 et al. 【Stage IV 胃癌に対する外科治療戦略】 切除可能な Stage IV 胃癌に対する外科治療 胃癌肝転移の外科治療. *外科* 2016;78(4):363-367.
36. 川中博文, 赤星朋比古, 金城直, 吉田大輔, 松本佳大, 吉田佳弘, 吉住朋晴 et al. 【門脈圧亢進症の制御-病態研究と治療の進展】 門脈血栓, 門脈圧減圧療法 外科的アプローチによる門脈圧亢進症治療 脾機能制御の意義について. *肝・胆・膵* 2016;72(2):337-344.
37. 調憲, 吉住朋晴, 今井大祐, 池上徹, 内山秀昭, 播本憲史 et al. 【肝内胆管癌の新しい規約と治療戦略】 再発肝内胆管癌の治療. *外科* 2016;78(2):168-171.
38. 調憲, 新木健一郎, 久保憲生, 播本憲史, 池上徹, 吉住朋晴 et al. サルコペニアと

外科. *臨床外科* 2016;71(6):748-753.

39. 播本 憲史, 伊藤 心二, 木村 光一, 池上 徹, 内山 秀昭, 吉住朋晴, 他 サルコペニアの概念とその対策 *消化器外科* 2015; 38(12): 1727-1731.
40. 調 憲, 播本 憲史, 池上 徹, 吉住朋晴, et al.肝移植におけるサルコペニアの意義. *Clinical Calcium* 2014;24(10):1493-1499.

〔学会発表〕(計5件)

1. 播本 憲史, 吉住 朋晴, 島垣 智成, 下川 雅弘, 坂田 一仁, 吉田 佳弘, 他 サルコペニアは肝硬変合併肝細胞癌における術後合併症のリスク因子である 第54回日本癌治療学会(2016年10月)
2. 播本 憲史, 調 憲, 吉住 朋晴, 他 骨格筋面積と筋力・身体活動性を合わせたサルコペニアの新たな診断基準による生体肝移植後短期治療成績の高精度予測 第116回日本外科学会(2016年4月)
3. 播本 憲史, 調 憲, 吉住 朋晴, 他 肝細胞癌切除患者における Inflammation-based prognostic score と骨格筋量の相関 第41回日本外科学会連合学会(2016年5月)
4. 播本 憲史, 調 憲, 吉住 朋晴, 他 高齢者消化器癌に対する治療戦略 高齢者肝細胞癌におけるサルコペニアの意義 第70回日本消化器外科学会(2015年7月)
5. 吉住朋晴, 調 憲, 前原喜彦 肝移植症例におけるサルコペニアの現状に関する研究 第51回日本肝臓学会(2015年4月)

〔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

吉住 朋晴 (YOSHIZUMI, Tomoharu)
九州大学・医学研究院・准教授
研究者番号：80363373

(2)研究分担者

山下 洋市 (YAMASHITA, Yoichi)
熊本大学・医学部附属病院・特任准教授
研究者番号：00404070

川中 博文 (KAWANAKA, Hirofumi)
独立行政法人国立病院機構別府医療センター・臨床研究部・臨床研究部長
研究者番号：10363334

池田 哲夫 (IKEDA, Tetsuo)
九州大学・大学病院・准教授
研究者番号：60585701

調 憲 (SHIRABE, Ken)
群馬大学・大学病院医学系研究科・教授
研究者番号：70264025

前原 喜彦 (MAEHARA, Yoshihiko)
九州大学・医学研究院・教授
研究者番号：80165662

池上 徹 (IKEGAMI, Toru)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：80432938

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()