

高齢者の消化器臓器障害機構の解明と恒常性維持機構破綻の病態 (24-1)

主任研究者 京兼 和宏 国立長寿医療研究センター 内視鏡診療科 (医長)

研究要旨

本研究では、高齢者の薬剤性消化管障害の発症に栄養状態やADLが関与しているかどうか、および組織障害が発生した場合の再生・修復のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

まず、高齢者の薬剤性消化管障害として非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) による潰瘍発症患者や偽膜性腸炎の患者で、疾患発症と栄養状態の関連を検討した。高齢者 NSAIDs 潰瘍は、栄養状態の悪い症例で発症しやすいこと、NSAIDs 投与中の栄養状態の悪化は潰瘍発症予知の指標になりうるということが推定された。また、抗生剤投与後の偽膜性腸炎の発症はADLの悪い症例に多いことが明らかとなった。

次に、胃潰瘍辺縁からの生検組織および、慢性膵炎組織に対し、免疫組織学的に幹細胞マーカー (LGR5、Zscan4) の発現や局在を調べることにより、組織障害時の修復・再生を検討した。今回の検討で下部消化管で組織幹細胞として確立している LGR5 陽性細胞は胃粘膜においても組織幹細胞であること、組織障害時に発現が誘導され胃粘膜の修復に関与している可能性が推定された。また、膵組織での検討では、Zscan4 陽性細胞は成人膵における組織幹細胞であること、炎症により発現が誘導されることが推測され、再生がおこらないと考えられてきた高齢者の膵組織でも組織再生維持機構が存在する可能性が示唆された。

主任研究者

京兼 和宏 国立長寿医療研究センター 内視鏡診療科医長

分担研究者

新飯田 俊平 国立長寿医療研究センター バイオバンク 副センター長

北川 雄一 国立長寿医療研究センター 感染管理室長

A. 研究目的

高齢者では様々な疾患により栄養の摂取が不良となり低栄養になり易く、低栄養は免疫能や臓器の機能低下を引き起こし、様々な疾患発症の誘因となりうる。

高齢者では薬剤の副作用が非高齢者に比べ発症しやすいことが知られており、例えば

薬剤投与により消化管粘膜障害を起こした場合には消化吸収能の低下から低栄養の原因となる。しかし、逆に低栄養が薬剤性の消化管粘膜障害の誘因となりうるかどうかは明らかにされていない。また、高齢者では臓器障害が起きた際の組織の修復・再生能も非高齢者に比べ劣っていると考えられている。その理由として、加齢による上皮の再生・臓器維持機能が障害されているためと言われているが、その詳細なメカニズムについては研究も少なく不明な点が多い。

最近の研究では、全身の臓器に組織幹細胞、前駆細胞と呼ばれる一群の細胞があり、これらの分化・増殖により臓器の形態や機能が維持されていることが明らかとなっている。高齢者では、組織幹/前駆細胞が老化することで細胞分化・増殖が障害され、臓器維持機能が低下すると考えられているが、様々な病態に対する幹細胞の動態や組織再生の解析はほとんど行われていない。

本研究では、栄養障害が薬剤性消化管粘膜障害の誘因となるかどうか、および、組織が障害された場合の修復・再生のメカニズムを検討することを目的とし、以下の検討を行う。1) 高齢者の薬剤性消化管障害として非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) による薬剤性粘膜障害 (京兼) や偽膜性腸炎 (北川) を発症した患者を栄養状態の面から解析し、低栄養が発症の危険因子かどうか検討する。2) 高齢者の胃粘膜組織 (京兼) や従来は再生しないと考えられてきた膵組織 (新飯田) に対し、免疫組織学的に幹細胞マーカーの発現や局在を、様々な疾患と正常組織で検討することにより、組織障害および修復・再生のメカニズムを明らかにする。

B. 研究方法

1) 高齢者の薬剤性消化管障害と栄養状態との関連の検討

高齢者の薬剤性消化管障害である NSAIDs による上部消化管粘膜障害と偽膜性腸炎を栄養状態の面から解析し、低栄養が疾患発症の危険因子かどうか検討した。

京兼は、2011年1月から12月までの間に国立長寿医療研究センターにて NSAIDs を処方された65歳以上の患者のうち、定期または不定期に4週間以上使用歴のある1,085名を解析の対象とし、潰瘍発症の追跡調査を行った。潰瘍を発症した例と非発症例の栄養状態をレトロスペクティブに検討した。

北川は、2010年8月から2013年10月までに、国立長寿医療研究センターにおいて2週間以上同一の注射用抗生剤を投与された77例を解析の対象とし、偽膜性腸炎の発症を栄養状態や日常生活動作 (ADL) の面からレトロスペクティブに検討した。

栄養評価の指標としてレトロスペクティブに検討可能な GNRI (Geriatric Nutritional Risk Index : $14.89 \times \text{Alb} + 41.7 \times \text{DW/IBW}$) および PNI (Prognostic Nutritional Index : $10 \times \text{Alb} + 0.005 \times \text{TLC}$) を用い、ADL の指標として Barthel Index を用いた。

2) 高齢者の消化器臓器における組織再生分子機構の解析

京兼は、胃粘膜組織における組織修復・再生の課程を明らかにする目的で、NSAIDs 潰瘍を含む胃潰瘍辺縁部から採取した生検組織 70 病変（36 症例）を対象とし、下部消化管における組織幹細胞マーカーとして確立されている LGR5 (Leucine-rich-repeat containing G-protein-coupled receptor 5) の発現や局在を免疫組織学的染色により検討した。同一患者の内視鏡的正常粘膜からの生検組織を対照群とした。

新飯田は、従来は一旦障害されると再生しないと考えられてきた膵組織における組織再生の分子機構を解明することを目的とし、近年 ES 細胞の発生初期に発現する遺伝子として発見された Zscan4 (Zinc finger and scan domain containing 4) 遺伝子に着目し、免疫組織学染色により膵組織におけるその発現や局在を検討した。疾患治療のため膵切除された慢性膵炎組織 3 例を対象とし、胆道癌や胃癌治療のために切除された正常膵組織 5 例を対照群とした。

なお、これらの研究は国立長寿医療研究センターの倫理・利益相反委員会の承認を得てから実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヘルシンキ宣言に基づいた倫理原則を遵守し、「臨床研究に関する倫理指針」「疫学研究に関する倫理指針」に従って実施した。

C. 研究結果

1) 高齢者の薬剤性消化管障害の臨床像の検討

a) NSAIDs 潰瘍の臨床像 (京兼)

追跡対象患者 1085 例のうち 2013 年 9 月までに内視鏡検査で胃または十二指腸潰瘍と診断された症例は 64 例 (5.9%) であった。栄養状態が潰瘍発症の危険因子かどうかを検討した。栄養状態の指標として GNRI を用い、GNRI 算出のデータは薬剤投与開始時から潰瘍発症以前のものを使用した。1085 例中栄養状態の指標である GNRI を算出可能であった症例は 614 (潰瘍発症例 64 例、非発症例 550 例) であった。

GNRI 値は潰瘍発症群で非発症群に比べ有意に低値であった (表 1)。

表 1 潰瘍発症例と非発症例での GNRI 値の比較

	潰瘍発症群 (n = 64)		潰瘍非発症群 (n = 550)		p
	平均±標準偏差	中央値	平均±標準偏差	中央値	
GNRI	95.29±9.06	94.97	99.97±8.27	101.26	<0.001

中等度の栄養障害の指標である GNRI92 未満を低栄養とした場合の潰瘍発症リスクはオッズ比 3.85(95%信頼区間 2.22-6.68)であった。

潰瘍発症群で潰瘍発症以前と発症時の GNRI 値の経時的变化は 53 例で算出可能であった。潰瘍発症時の GNRI は(中央値 91.60)は発症以前の値(中央値 95.30)に比べ有意に低値であった(表 2)。

表 2 潰瘍発症例の GNRI の変化(n=53)

潰瘍発症以前の GNRI		潰瘍発症時の GNRI		p
平均±標準偏差	中央値	平均±標準偏差	中央値	
93.99±1.42	95.3	91.15±1.56	91.6	<0.01

b) 偽膜性腸炎 (北川)

解析対象者 77 例中、下痢症状で CD Toxin を検査され陽性であった症例は 6 例であった。77 例中下痢症状のなかった症例のうち、CD Toxin 陽性例と年・性別をマッチングさせた 12 例を対照群とし、陽性群との間で栄養状態、ADL を比較検討した。栄養状態の指標である GNRI、PNI に有意差はなかったが、陽性例で Barthel Index が有意に低値であった(P=0.02)。

2) 高齢者の消化器臓器における組織再生分子機構の解析

京兼は胃潰瘍辺縁部から採取した生検組織 70 病変(36 症例)を対象とし、下部消化管において組織幹細胞マーカーとして確立している LGR5 の発現や局在を免疫組織学的染色により検討した。同一患者の内視鏡的正常粘膜からの生検組織を対照群とした。LGR5 陽性細胞は、内視鏡的正常粘膜ではほとんどみられないが、潰瘍辺縁の腺頸部付近で発現が増強しており、潰瘍の治癒に伴い発現が減弱する傾向が見られた。経時的に潰瘍治癒課程を観察した 21 例においてもこの傾向が見られ、難治性潰瘍の 3 例では潰瘍辺縁部に LGR5 陽性細胞の発現が極めて弱いか、見られない傾向にあった。LGR5 と細胞増殖マーカーである Ki-67 の 2 重染色では、LGR5 陽性細胞は Ki-67 も陽性であった。

新飯田は、膵臓組織における Zscan4 の発現パターンを解析した。正常膵臓組織では、膵導管細胞及び腺房細胞に極めて少数の Zscan4 が発現していた。更に、外分泌だけではなく、内分泌細胞にも Zscan4 陽性細胞が広く分布していたが、その数は極めて少数であった。これらの Zscan4 陽性細胞は、これまで他の臓器で同定されている LGR5 や BMI1 などの幹細胞マーカーと共局在していた。慢性膵炎組織では炎症の部位で正常膵臓に比べ Zscan4 陽性細胞の数が有意に増加していた。治療介入により膵の炎症が改善した自己免疫性膵炎症例では炎症の改善に伴い Zscan4 陽性細胞の発現も減弱していた。

D. 考察と結論

本年度は、高齢者の薬剤性消化管障害としてのNSAIDs潰瘍および偽膜性腸炎の発症に栄養状態が関与しているかどうかをレトロスペクティブに解析した。

NSAIDs潰瘍発症例と非発症例をGNRIを指標とした栄養状態から解析した結果、高齢者NSAIDs潰瘍は、栄養状態の悪い症例で発症しやすいこと、症状が出にくい高齢者では、NSAIDs投与中の栄養状態の悪化は潰瘍発症予知の指標になりうる事が推定された。

一方、偽膜性腸炎の検討ではGNRI、PNIを用いた栄養評価では有意差はなかったが、発症例で有意にBarthel Indexが低値であり、ADLに悪い症例に対する長期の抗生剤投与は偽膜性腸炎発症のリスクとなることが示唆された。今後も症例の追加検討を行い、これらの疾患発症の危険因子を検索し有効な予防的治療を検討していく予定である。

次に、胃、膵組織を用い幹細胞マーカーによる免疫組織学的染色による検討を行った。胃潰瘍での検討では、下部消化管で組織幹細胞として確立しているLGR5陽性細胞は胃潰瘍辺縁部で発現が増強し、潰瘍治癒に伴い発現が減弱する傾向が見られ、LGR5陽性細胞は胃粘膜においても組織幹細胞であること、組織障害時に発現が誘導され胃粘膜の修復に関与している可能性が推定された。また、膵組織での検討では、Zscan4陽性細胞は成人膵における組織幹細胞であること、炎症により発現が誘導されることが推測され、高齢者の膵組織でも組織再生維持機構が存在する可能性が示唆された。今後症例を増やし、さらに検討を加えていく予定である。

E. 健康危険情報 : なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ko SB, Azuma S, Yokoyama Y, Yamamoto A, Kyokane K, Niida S, Ishiguro H, Ko MS. Inflammation increases cells expressing ZSCAN4 and progenitor-cell markers in the adult pancreas. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013 Apr 18.
- 2) Ko SB, Azuma S, Yoshikawa T, Yamamoto A, Kyokane K, Ko MS and Ishiguro H. Molecular mechanisms of pancreatic stone formation in chronic pancreatitis. *Front Physiol*. 2012;3:415.
- 3) Yuichi Kitagawa. MALNUTRITION, POSSIBLY FRAIL PATIENTS HAS RISK OF CLOSTRIDIUM DIFFICILE ASSOCIATED DIARRHEA (CDAD) INFECTION. *J of Frailty & Aging* 3(1):50, 2014

2. 学会発表

- 1) Yuichi Kitagawa. MALNUTRITION, POSSIBLY FRAIL PATIENTS HAS RISK OF CLOSTRIDIUM

DIFFICILE ASSOCIATED DIARRHEA (CDAD) INFECTION. International Conference on Frailty & Sarcopenia Research (ICFSR) 2014.3.12 Barcelona, Spain

2) 京兼和宏、山田 理、松浦俊博

高齢者の内視鏡的止血術の現況および出血に伴う合併症について

第 20 回 JDDW2012,2012.10.10-13、神戸国際会議場 神戸市

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし