

高齢者の消化器臓器障害機構の解明と恒常性維持機構の破綻の病態

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

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、低栄養は疾患発症の誘因となりうる。高齢者では薬剤性消化管障害や臓器障害が非高齢者に比べ発症しやすいことが知られており、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り組織幹/前駆細胞が老化することで上皮の再生・臓器維持機能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、その詳細なメカニズムについては不明な点が多く、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。

本研究では薬剤性消化管疾患と栄養状態との関わりおよび、組織障害時の修復・再生のメカニズムを検討することを目的とする。

本年度は、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。次に、胃および、再生がおこらないと考えられてきた腸組織に対し、免疫組織学的に幹細胞マーカー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。

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 遺伝子蛋白質解析室長

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、消化管粘膜障害や臓器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。また、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。

一方、消化吸收の中心臓器の一つである膵臓は、以前は一度障害をうけると再生されないと考えられてきたが、高齢者に多い膵炎（自己免疫性膵炎、慢性膵炎）では、治療により膵組織が再生しうることが報告されている。

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、薬剤性消化管疾患と栄養状態との関わりおよび、組織障害時の修復・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、主に栄養状態の面から背景因子を解析し、危険因子の設定が可能かどうか検討する。2) 胃 (京兼) や膵臓 (新飯田) から採取された組織を用い、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の臨床像の検討

高齢者の薬剤性消化管障害として、NSAIDs による上部消化管粘膜障害と偽膜性腸炎に着目し、その臨床像や背景因子、栄養状態との関連を検討した。

京兼は、高齢者における NSAIDs 潰瘍の実態を明らかにする目的で、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で NSAIDs を処方された患者のうち、65 歳以上の患者 2,324 名を対象者とし、有症状にて発見された上部消化管潰瘍の発症例をレトロスペクティブに解析した。

北川は、偽膜性腸炎について、2006 年 1 月 1 日から 2013 年 1 月 31 日までに国立長寿医療研究センターにおいて便 CD トキシン検査が依頼された延べ 1,017 例につき、検査結果および臨床データを解析した。

本年度は、それぞれの疾患発症と栄養状態との関連を検討した。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 : $10 \times \text{Alb} + 0.005 \times \text{TLC}$) をそれぞれ用いた。

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、NSAIDs 潰瘍を含む胃潰瘍患者からの生検組織を用いて、近年下部消化管上皮の組織幹細胞のマーカーと同定された 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、胃粘膜障害における修復・再生の分子機構について解析を行った。

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、正常膵組織および慢性膵炎組織におけるその発現や局在を免疫組織学染色により検討した。

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)

国立長寿医療研究センターにて2011年1月から12月までの間にNSAIDsを処方された65歳以上の患者は2,324名であった。このうち1ヶ月以上にわたり定期または不定期にNSAIDsを使用し、NSAIDs潰瘍発症予防に有効とされている薬剤(PPI、サイトテック)の併用のない症例は619名であった。この対象者の2012年12月末までの潰瘍発症は55例(8.9%)であった。

本年度はNSAIDs潰瘍発症患者において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、データは潰瘍発症前のものを使用した。GNRIでは潰瘍発症例のうち約半数の26例(47.3%)が中等度以上の栄養障害を示す92未満であり、平均値も 91.24 ± 1.50 と92を下回っていた。

b) 偽膜性腸炎 (北川)

2006年1月1日から2013年1月31日までの7年1ヶ月間に、他の原因が除外され、CDトキシン検査の依頼が出された延べ1,017例のうち、CDトキシン陽性例は211例(19.1%)であった。

本年度は電子カルテ導入以降の53例を対象とし背景因子の検討を行った。52例(98.1%)の症例が何らかの基礎疾患を有していた。ADLの指標であるBarthel Indexは中央値5ではほぼ全介助の患者が多く、PNIで栄養状態を評価したところ、その平均値は 32.52 ± 6.48 と基準値40を大きく下回っていた。

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

本年度は、胃潰瘍患者を対象とし、既に下部消化管において組織幹細胞マーカーとして

同定されている LGR5 の発現や局在を免疫組織学的染色により検討した。胃潰瘍の病変辺縁部からの生検組織を対象とし、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。現在までに胃潰瘍の患者 31 症例 (64 検体) の生検組織に対し免疫染色を施行した。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、潰瘍辺縁には腺管の増殖帯に高率に発現しており、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 16 例においてもこの傾向が見られ、難治性潰瘍の 2 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、膵臓組織における組織再生分子機構の解明する目的で、疾患治療のため切除された正常膵臓組織 5 例および高齢者慢性膵炎 3 例の組織を用い、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+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組織に比べ Zscan4 陽性細胞の数が有意に増加していた。

D. 考察と結論

高齢者の薬剤性消化管障害として NSAIDs 潰瘍および偽膜性腸炎に着目し、本年度は、これらの疾患発症者を背景因子および栄養状態の面から解析した。

NSAIDs 潰瘍発症者では、発症前の GNRI を指標にした場合に約半数で中等度以上の低栄養と診断され、GNRI 値は高齢者の NSAIDs 潰瘍発症の危険因子として有用である可能性が示唆された。偽膜性腸炎発症患者では、著明な ADL 低下、PNI を指標とした著明な低栄養がみられ、ADL や栄養状態の悪化が疾患発症の誘因となりうると推定された。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同定されている 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、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. [Epub ahead of print]
- 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.

2. 学会発表

- 1) 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