

氏名（本籍）	米山 智（長野県）		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 6656 号		
学位授与年月	平成 25 年 4 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	A manner of the inflammation-boosting effect caused by acute hyperglycemia secondary to overfeeding and mixed results of insulin therapy in a rat model of sepsis (敗血症下での overfeeding がもたらす急性高血糖による炎症反応増幅作用の形式およびインスリン療法の功罪)		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	水谷 太郎
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	南 優子
副査	筑波大学准教授	医学博士	鬼塚 正孝
副査	筑波大学講師	博士（医学）	高橋 伸二

## 論文の内容の要旨

### （目的）

2001 年の Leuven study 以来，重症病態下での血糖管理に対する重要性は増している。血糖管理による clinical benefit の発現機序は，ミトコンドリアにおける酸化ストレスならびに全身性炎症反応の軽減の 2 点に集約されるが，不明な点が多く残されている。2011 年に発表された EPaNIC study により，背景に overfeeding がある場合，Tight Glycemic Control の効果が得られず，逆に感染性合併症と臓器障害からの回復遅延が惹起されることが示された。この有害事象には overfeeding による nutritional stress の関与が推定されているが，詳細は不明である。これらの背景を踏まえて新たに解明するべき課題を以下のごとく設定した。

- 敗血症下の急性高血糖は全身性炎症反応をどのように増幅するのか？；程度，時間経過，動作形式(血糖値依存性か閾値の存在)，メカニズム
- インスリン療法は，敗血症下において，急性高血糖による酸化ストレス増強と炎症反応増幅作用をどの程度抑制し得るのか？
- インスリン療法は，敗血症下において，overfeeding(グルコース過剰投与)による nutritional stress に対してどのような影響を及ぼすのか？

### （対象と方法）

盲腸結紮穿刺法（cecal ligation and puncture, CLP)により敗血症を誘発した SD ラットに対し

て、グルコース持続静注量の調整によって、以下の血糖値域となる 3 群（各群 n = 7）を作成した；HG 群（重度高血糖群；血糖値 > 300 mg/dL，グルコース投与量 40 mg/kg/min，overfeeding 状態），MG 群（中等度高血糖群；血糖値 200 から 300 mg/dL，グルコース投与量 25 mg/kg/min），NG 群（正常血糖群；血糖値 100 から 150 mg/dL，グルコース投与量 0 mg/kg/min；生理食塩水投与）。HI 群（インスリンによる血糖コントロール群；グルコース投与量 40 mg/kg/min + インスリン持続静注）。Sham 群は sham 手術後に HG 群と同等のグルコース投与を行って中等度高血糖状態とした。術直後から経時的に採血して血糖値および interleukin (IL)-6 値の推移を測定した。9 時間後に犠死させ、組織（肺・肝臓）と血液検体を採取した。肺組織では組織学的に炎症の程度をスコア化，肝組織においては形態的評価と酸化ストレスの指標として total glutathione, malondialdehyde 含有量の測定を行った。骨格筋代謝・アミノ酸代謝等 nutritional stress の影響の指標として血中 3-methylhistidine (3-MH)・glutamine (Gln)・arginine (Arg) 値, advanced glycation end-products (AGEs) pathway の評価として血中 AGEs 値の測定をそれぞれ行った。HG, MG, HI 群を新たに作成し CLP より 48 時間後までの生存解析を行った。

### （結果）

血糖値は、各群とも手術後、設定された目標域で推移した。手術 9 時間後における血糖値は HG で  $463.3 \pm 48.8$  mg/dL であった。IL-6 値は、HG 群では CLP 後、時間経過とともに有意に上昇し、9 時間後には  $7407.5 \pm 1987.3$  pg/mL と他群の 3 倍強に達した。MG, NG, HI 群はほぼ同様の推移を示し、3 群間で有意差はなく、約 2000 pg/mL に留まった。Sham 群では前値と 9 時間目の値に有意差はなかった。AGEs 値は、HG > MG  $\approx$  NG  $\approx$  HI > Sham の順で高値を示した。

肺・肝障害の組織学的評価では、HG > MG  $\approx$  NG  $\approx$  HI > Sham の順で障害が高度であった。HI では肺・肝障害が HG に比して有意に抑制された。

肝組織の酸化ストレス指標は、HG > MG > Sham > HI > NG の順に高値を示した。3-MH 値は、飢餓状態の NG を除くと、HI > HG > MG > Sham の順に高値を示した。Gln, Arg 値は、NG > Sham > MG > HG > HI の順に高値を示した。生存率は、MG > HI > HG の順に高かった。

### （考察）

急性高血糖は一定の閾値 (> 300mg/dL) を超えると、既存の全身性炎症反応を短時間で著明に増幅した。この炎症反応増幅作用には AGEs pathway の関与が示唆された。インスリン療法は血糖値を閾値未満に制御することによりサイトカINSTORM ならびに臓器障害を予防し、肝臓の酸化ストレスを軽減した。この効果はインスリンが骨格筋でのグルコース取り込みを増加させ、肝臓へのグルコース負荷が減少した結果と考えられた。Overfeeding に続発する急性高血糖状態では、骨格筋タンパク代謝の障害(分解亢進，Gln・Arg 欠乏)が惹起されていた。この状態でインスリン療法を行うと、これらの有害事象が一層悪化した。

本研究の新規性は以下のとおりである。

- 敗血症下の急性高血糖が全身性炎症反応を増悪させる程度，時間経過を明らかにし，炎症反応増幅作用には血糖値の閾値が存在する可能性を示した。
- 急性高血糖に対するインスリン療法が炎症反応や酸化ストレスを具体的にどの程度抑制でき

るかを示した。

- 敗血症下で **overfeeding** による高血糖状態ではインスリン療法が **nutritional stress** を増悪させることを示した。

以上から、敗血症下でのグルコース投与による急性高血糖は炎症反応増大、酸化ストレス増大、**nutritional stress** 増大作用により予後を増悪させることが示された。またインスリンによる血糖コントロールは炎症反応を抑制しうるものの、**nutritional stress** を増大させるとするため、急性期の血糖管理に際してはインスリン投与のみではなく、投与カロリー量の調整が必要不可欠であると考えられた。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

敗血症やその他の重症病態における血糖管理は臨床的にも極めて重要な課題である。本研究により、敗血症下の急性高血糖が全身性炎症反応を増悪させ、炎症反応増幅作用には血糖値の閾値が存在する可能性が示された。また、敗血症下で **overfeeding** による高血糖状態ではインスリン療法が **nutritional stress** を増悪させることが示された。今後、敗血症以外の重症病態におけるインスリン療法の効果など、多くの発展性が想定される。今後の研究の進展に期待したい。

2013 年 3 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。