The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | L-グルタミンの臨床応用に向けた薬学的研究 |
| Author(s) | 辻本, 貴江 |
| Citation | 大阪大学, 2014, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://doi.org/10.18910/34397 |
| rights | |
| Note | |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

平成２５年度　博士論文

# L-グルタミンの臨床応用に向けた薬学的研究

大阪大学大学院薬学研究科
医療薬学分野　辻本　貴江

目次

緒論 ..... 1

本論

第１章 頭頸部癌の化学放射線療法下の口腔粘膜障害に対するL-グルタミンの

有用性に関する臨床研究 A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial

研究の背景と目的 ..... 6

対象および方法 ..... 8

結果 ..... 13

考察 ..... 21

小括 ..... 28

第２章　救命救急症例における予後予測因子としての血漿グルタミン値の意義

研究の背景と目的 ..... 29

対象および方法 ..... 30

結果 ..... 32

考察 ..... 39

小括 ..... 44

結論 ..... 45

謝辞 ..... 46

参考文献 ..... 48

# 緒論

L-グルタミン（L-glutamine：Gln、以下グルタミン）は、生体内に最も豊富に含まれる遊離アミノ酸であり、全遊離アミノ酸の約60%をしめる。生体内で生合成が可能であることから非必須アミノ酸に分類されている。グルタミンはターンオーバーの速い細胞、すなわち、腸管粘膜細胞、線維芽細胞、リンパ球、マクロファージなどの主要なエネルギー源であるとともに、DNA合成に関与する[1-4]。さらに、グルタミンは、抗酸化作用を持つグルタチオンの前駆体でもある。通常、生体内で利用されるグルタミンは骨格筋組織で合成、貯蔵されており、生合成で十分量をまかなうことができるが、重症疾患やストレス状態が長引くと、内因性のグルタミン合成が減少し需要に見合う供給が不可能となり欠乏する。このためグルタミンは条件付き必須アミノ酸（conditionally essential amino acid）と呼ばれている[5]。

一方、進行癌で化学療法を受けている患者もまたグルタミンが欠乏するとの報告がある[6]。また、外傷、熱傷、手術後、敗血症など高度侵襲下にある患者はグルタミンが欠乏することを受けて、2006年、欧州静脈経腸栄養学会（ESPEN）ではICU患者に経静脈栄養を行う際には、0.2-0.4g/kg/dayのグルタミンを含むアミノ酸輸液を投与すべきであるとガイドラインで推奨している[7]。グルタミンは通常筋肉細胞内にプールされており、その代謝は、消化管粘膜上皮細胞、白血球、肝細胞、腎細胞でグルタミナーゼによってアンモニアとグルタミン酸に分解され、この時エネルギーが産生される。さらにグルタミン酸は酸化され、アラニン、α-ケトグルタール酸、アンモニアとなる。アラニンは肝臓で糖新生に利用される。また、グルタミンの合成は、骨格筋、肺、心筋、脳、肝臓などでグルタミンシンセターゼによって、グルタミン酸とアンモニアから合成される（Figure 1）[8]。

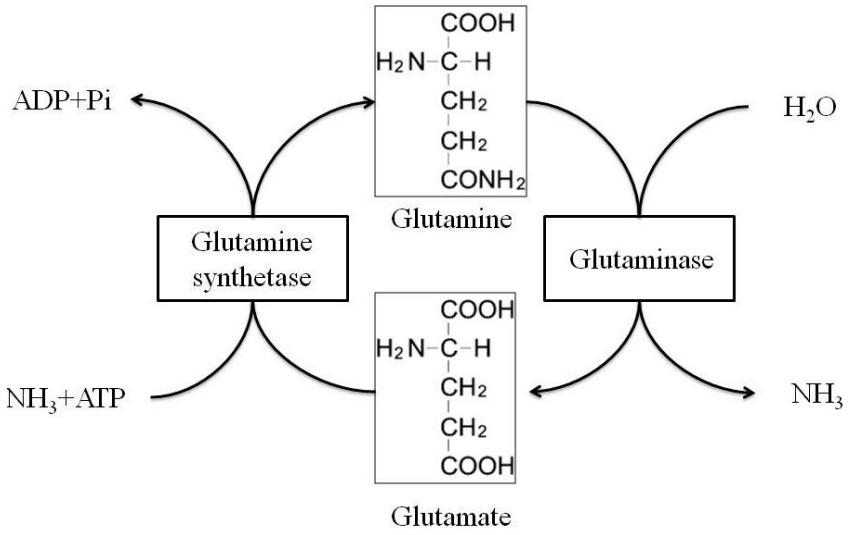


Figure 1 Metabolism of Glutamine

グルタミンとグルタミン酸は生体内でグルタミナーゼとグルタミンシンセターゼの2つの酵素により互いに変換される。注目すべき点は、グルタミン酸は細胞膜を通過しないため、細胞内のグルタミン酸はグルタミンが細胞膜を透過した後に変換されたものである。グルタミン由来のグルタミン酸は、グルタチオン、α-ケトグルタール酸、GABA合成の前駆体であり、さらにプロリン、アルギニン、シトルリン、オルニチンなどの他のアミノ酸に変換されていく（Figure 2）[9]。

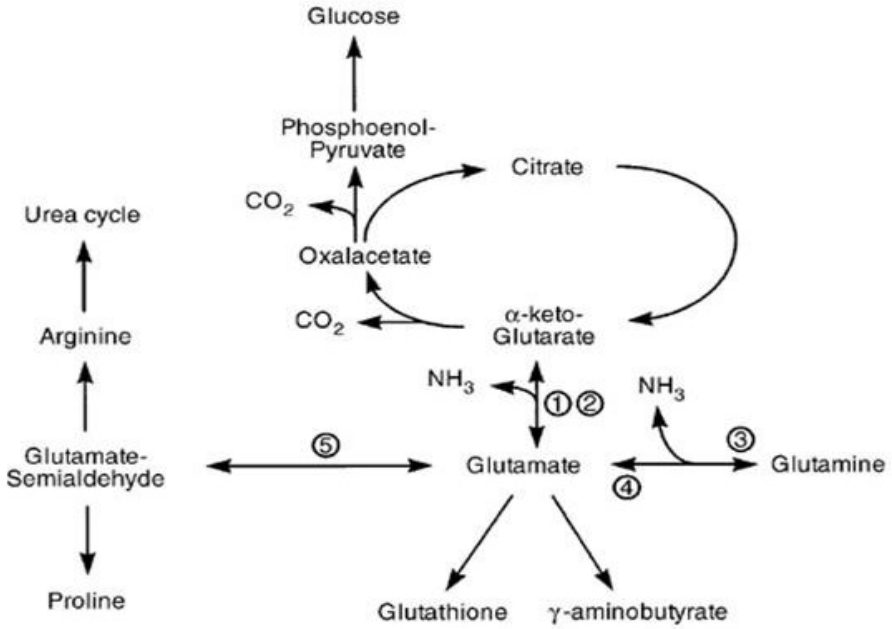


Figure 2 Metabolic Pathway of Glutamine

アミノ基を2つ持つグルタミンは、DNA合成に必要な窒素の供与体であるとともにアンモニアをトラップして、解毒や体内のpHの調整にも関与するなど多くの機能をもったアミノ酸である。特に、腸管の粘膜細胞の主要なエネルギー源は、一般の細胞とは異なりブドウ糖でなくグルタミンである。グルタミンは腸管粘膜細胞に取り込まれると前述したグルタミナーゼにより、グルタミン酸となり、さらにアラニンとなって門脈血中に放出される。腸管はこの際発生するエネルギーによって細胞活動を行うとともに細胞修復や増殖ならびに腸管由来のタンパクを合成する[10]。

現在、アメリカではFDA認定の医薬品として、経口グルタミンは短腸症候群に対して適応を持つ（30g/day）。しかし、欧米でグルタミンは医薬品として使用されているのに対し、日本では、グルタミンが含有された注射製剤は存在せず、内服用製剤としてマーズレンS配合顆粒（グルタミンとして0.99g/1g包）が1.5g-2.0g/dayの用量で胃潰瘍・十二指腸潰瘍・胃炎における自覚症状・他覚症状の改善に対し適応があり、成分栄養剤エレンタール80g包にグルタミンが1.9g含有されている。また、その投与量に関しても、欧米では、グルタミン0.57g/kg/dayがdoes-response studyの結果、副作用なく有効性を発揮する投与量として定着しているが[11]、日本における投与量は格段に少なく、また、医薬品よりも、健康食品やサプリメントとして使用されることの方が主流であるという現状がある。またグルタミンの物理的性質を考える時、グルタミンは水に溶解すると不安定ですぐにアンモニアとグルタミン酸に分解してしまうことから、注射剤や輸液、液状経腸栄養剤として製造することが難しく、医薬品としてよりは、粉末状の健康食品として用いられていることもグルタミンの臨床的応用が進んでいない要因の１つである。また、もう１つの要因として考えられることは、グルタミンの有用性を

評価するための研究デザインが十分ではないことである。過去２０年にわたって、グルタミンを医薬品として投与した臨床研究は多数あるが、その評価に関しては未だに議論がなされている状態である。

そこで今回私は、グルタミンの物性を正しく理解して使用するとともに、正確に評価するための研究デザインを作成し、グルタミンの栄養素を越えた医薬品としての臨床上の有用性について検証し、第１章にて頭頸部癌の化学放射線療法下の口腔粘膜障害に対するグルタミンの有用性に関する臨床研究：A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trialとしてまとめた。

次に、グルタミンは、前述したような医薬品としての可能性の他にも、その血中濃度を測定することにより、病態の把握や、臓器障害の程度の把握、さらに予後を予測するバイオマーカーとしての可能性が、この10年来世界中で研究されてきた。特に、外傷、熱傷、敗血症、外科手術後などの高度侵襲下の救急症例では、タンパク異化が亢進してタンパク合成を上回り、除脂肪体重の減少を加速させ、予後を悪化させる。グルタミンは生体で利用される約20種類のアミノ酸の中で、他のアミノ酸に比較し、量、濃度ともに最大であり、生体のホメオスタシスを維持するために重要な役割を果たしている。それにも関らず、内因性の合成量では高度侵襲下におけるグルタミンの需要量を満たすことができず、グルタミンは欠乏してしまう。前述したように高度侵襲下にある患者に対しては、ESPENではICU患者に経静脈栄養を行う際には、グルタミンを含むアミノ酸輸液を投与すべきであるとガイドラインで推奨している。しかし、実際には、過去の研究において、グルタミン濃度の測定が行われているのはICU入室時のみであり、経時的なグルタミン濃度の測定、並びに再評価が行われずに投与が継続されている現状がある。その一方で、その他の栄養素であるブドウ糖や脂質を投与する際には、生化学検

査を行い、血糖値、中性脂肪値、コレステロール値によって投与量を再評価することはルーチン化しているのに対し、グルタミンを含むアミノ酸全般に関しては測定されないままに投与が行われている。今回私は、救急症例において、血漿グルタミン濃度を測定し、その経時的変化を解析することにより、グルタミンの予測因子としての臨床的な有用性について検証し、第2章　救命救急症例における予後予測因子としての血漿グルタミン値の意義としてまとめた。

今回、グルタミンに関する2つの臨床研究を行い、医薬品としての可能性を含めて、薬学的見地から検討した。

本論

## 第1章　頭頸部癌の化学放射線療法下の口腔粘膜障害に対するL-グルタミンの有用性に関する臨床研究：A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial

### 1.　研究の背景と目的

#### 頭頸部癌の化学放射線治療と有害事象

近年、がんの罹患率は増加の一途を辿っており、2012年の厚生労働省の人口動態統計によれば、全死亡者数は推計で124万5000人である。死因別では悪性新生物が第1位の36万1000人（29.0%）で、第2位の心疾患19万6000人（15.7%）に大差をつけ、しかも、1981年以降常に第1位である。2005年には、既に3人に1人ががんで亡くなっており、今後、生涯でがんに罹患する確率は2人に1人であると言われている。頭頸部癌とは、脳の頭蓋底から鎖骨下までの範囲に含まれる、鼻、口、喉、顎、耳などの部分にできる癌の総称である。国立がん研究センターがん対策情報センターの最新の統計によると、頭頸部癌の罹患率も増加の一途を辿っており、2008年には、人口10万人当たり口腔癌・咽頭癌が12.2人、喉頭癌が4.1人であり、全癌腫の2.8%程度であるが、がんが発見された時には、その60%以上がstageⅢ/Ⅳと、すでに進行している場合が多く、5年生存率は30-50%とされている。頭頸部は呼吸・食事（咀嚼・嚥下）など、人間が生きる上で必要な機能、さらに発声、味覚、聴覚、視覚など社会生活を送る上で重要な機能が集中しているため、この部分に障害が起きると直接QOLに影響する。このため、がんを治すこと（根治性）とQOL（機能温存）とのバランスを保った治療が必要とされる。頭頸部癌では、組織学的に、放射線治療に感受性の高い扁平上皮癌が多いこと、音声言語機能、

嚥下機能など重要な身体機能が密集している臓器の癌であること、治療効果が手術と比較しても遜色ないことから、切除可能であっても、患者のQOLの観点から外科的根治手術ではなく、化学療法と放射線療法を同時に行う化学放射線同時併用療法が施行されることが多い[12]。化学放射線療法により腫瘍の制御率や生存率が向上するなどの有用性を示すエビデンスも増えている[13]。しかし一方で、その有害事象である口腔粘膜炎（咽頭・喉頭を含む）は重症化し、患者は疼痛に苦しむ。摂食痛や嚥下痛による摂食嚥下困難を伴い、十分な食事の経口摂取が不能となり、経管栄養に頼らざるを得なくなる。また、疼痛により、会話が障害され、コミュニケーション機能や活動性の低下をきたし、精神的ストレス、睡眠障害を引き起こす。化学放射線療法の有害事象により、著しいQOLの低下や、粘膜炎による治療中断を余儀なくされる現状がある[14-16]。放射線治療の中断は癌治療のアウトカムに影響を与える[17]。頭頸部癌の自験例では、通常、口腔粘膜炎は、化学放射線療法開始後2週間程度で発現し、治療終了間際の5週、6週目でピークとなり、治療中から終了後に至るまで栄養管理や疼痛管理が必要となる。

**口腔粘膜炎の治療法**

重症度の高い口腔粘膜炎の予防や治療に関しては、様々な方法が試されている。口腔ケア、含嗽、局所麻酔剤リドカインの使用、口腔内の冷却（oral cryotherapy）、唾液の分泌を促す塩酸ピロカルピンの投与などが行われているが、今のところ確立された予防法、治療法はない[18-20]。一方、欧州では、組み換えヒトケラチノサイト増殖因子（KGF）であるPaliferminが化学放射線療法によって引き起こされた口腔粘膜炎の重症度を軽減したという報告がされている[21-23]。KGFには皮膚や口腔粘膜上皮の増殖を促進する作用があるが、皮膚の発赤、発熱、膨潤、舌の変色、血圧上昇などの副作用が報告されていることや、1回の投与量（注射）が5000

ユーロと高額であるため、今のところ、実用化は困難である。

### これまでの口腔粘膜炎に対するグルタミンの有用性に関する臨床試験

1990年代から、化学療法、放射線療法、または、化学放射線療法によって引き起こされた口腔粘膜炎に対し、グルタミンを投与して、その発症率や重症度を軽減する効果を評価すためにいくつかの臨床研究が行われてきた[18-23]。しかし、未だに、グルタミンが口腔粘膜炎の発症や重症度を軽減するかどうかは、議論が分かれるところであり[20-22]、十分な検証がなされていないのが現状である。それらの臨床試験の研究デザインは多様であり、中には、サンプルサイズが小さい、グルタミンの投与量が少ない、投与方法が内服ではなく含嗽である、プラセボコントロールが行われていない、あるいは、グルタミンが単剤ではなく、合剤の１成分として投与されているものもある。そこで、今回私は、Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial（二重盲検プラセボコントロール二群間並行ランダム化比較試験）をデザインし、頭頸部癌患者において、化学放射線療法中の口腔粘膜炎（咽頭・喉頭を含む）に対するグルタミンの有効性を検証した。

## 2.対象患者および方法

### 対象患者と割付方法

大阪大学医学部附属病院（以下大学病院）耳鼻咽喉科頭頸部外科において、化学放射線療法が施行された未治療新鮮の頭頸部癌患者（上咽頭癌、中咽頭癌、下咽頭癌、喉頭癌）40名を対象とした。参加者は、独立した第3者によって、確率的最小化法により、グルタミン群とプラセボ群にランダムに割りつけられた。すべての参加者には書面による説明を行い、書面により承諾を得た。臨床試験参加の

選択基準として、20歳以上である者、シスプラチンとドセタキセルを用いた化学放射線療法を受ける者とし、除外規準として、重篤な肝障害、腎障害を有する者、コントロール不十分な糖尿病を有する者、歯周病など口腔内の痛みを有する者、妊娠、授乳中もしくは妊娠の可能性のある者、グルタミンに対して過敏症の既往歴がある者、主治医が不適当と判断した者とした。割付は、性別、年齢（65歳未満と65歳以上）、疾患名（上咽頭癌/中咽頭癌と下咽頭癌/喉頭癌）で層別化して行った。

**試験デザイン**

二重盲検プラセボコントロール二群間並行ランダム化比較試験を行った。参加者は2010年5月より2013年6月まで順番にエントリーされ、2013年8月に最終介入を終え、臨床試験は終了した。臨床試験はヘルシンキ宣言を遵守し、試験デザインならびにインフォームドコンセントフォームは大学病院倫理委員会の承認を得ている（承認番号09180）。またUMIN CTR（University Hospital Medical Information Network Clinical Trials Registry） 臨床試験に登録し、その情報を公開した（登録番号UMUIN000003991）。

40名の患者は20名ずつグルタミン群とプラセボ群に割り付けられた。グルタミンは米国Emmaus Medical, Inc.（Torrance, California, USA）より提供していただき、プラセボは松谷化学工業株式会社（大阪府吹田市）より提供していただいた。すべての患者は放射線療法としてDay 1からDay 5まで1日2 Gy（グレイ）の照射を受け、化学療法として、シスプラチン（20 mg/$m^2$）とドセタキセル（10 mg/$m^2$）をDay 1に同日投与し、これを 1 コースとして計6コースを施行された。総照射線量は66または70 Gyのいずれかであった（Figure 1-1）。患者は、化学放射線療法の開始日から終了日まで、グルタミンもしくはプラセボを、1 回10 g、1日3回（7:00、

11:00、16:00）服用直前に水に溶かして服用した。口腔粘膜炎が重症化し疼痛のため、経口摂取が不可能となった場合は、投与直前に水に溶かし、経鼻経管もしくは胃瘻･腸瘻より投与した。グルタミン並びにプラセボはほとんど無味である。すべての患者、医師、看護師、薬剤師、栄養サポートチームのメンバー、研究者は臨床試験が終了し解析が終了するまで、被験薬かプラセボかわからない二重盲検でコントロールされた。

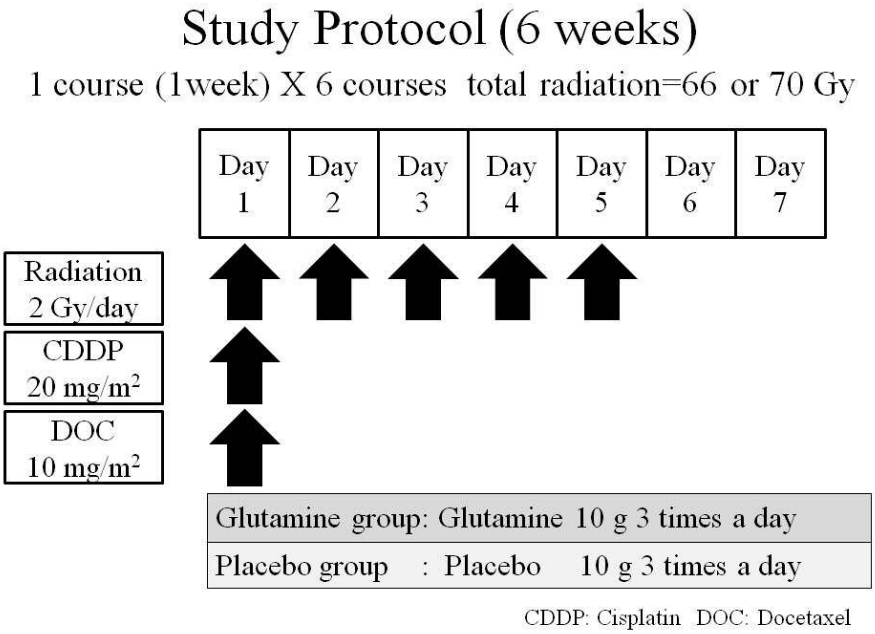


Figure 1-1　Study Protocol

主要評価項目は治療期間における口腔粘膜炎の重症度の評価であり、そのツールとしてNCI CTCAE ver.3.0（米国国立がん研究所 有害事象共通用語基準 v3.0: National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events Version 3.0）を用いた。口腔粘膜炎の重症度の評価は以下のとおりである。なお、日本語訳は、有害事象共通用語基準v.3.0日本語訳 JCOG/JSCO 版（2004年10月27日）を用いた。

Grade 1: 粘膜の赤斑

Grade 2: 斑状潰瘍または偽膜

Grade 3: 融合した潰瘍または偽膜；わずかな外傷で出血

Grade 4: 組織の壊死；顕著な自然出血；生命を脅かす

Grade 5: 死亡

副次評価項目としては、治療期間における口腔粘膜炎の発症までの期間および罹患期間、患者の主観的痛みの評価（NRS：Numerical Rating Scale）、麻薬性鎮痛薬の使用率・使用期間・使用量（経口モルヒネに換算）、経管栄養の施行率・施行期間、および血液生化学検査値とした。

データ収集方法として、口腔粘膜炎の評価は、NCI CTCAE ver. 3.0を用い、評価に熟練した耳鼻咽喉科の医師2名が、週1回、目視ならびに喉頭ファイバーを用いて行った。患者の主観的痛みの評価は、1日の中で1番強い痛みをNRS（Numeric Rating Scale）すなわち、0から10までの数字を用いて患者自身が毎日評価した。血液生化学検査の採血は治療前、治療中（週1回）、治療後に行った。また、採血は早朝空腹時の試験薬の服用前に行われた。化学放射線療法による癌治療の一次治療効果は、化学放射線療法終了後10週目に、CT（computed tomography）、PET-CT（positron emission tomography-CT）ならびに細胞診によって判定された。

**集学的医療スタッフによる介入（栄養サポートチームによる栄養管理、看護師の指導による口腔ケア、薬剤師による継続的服薬指導）**

すべての患者は、治療開始前に口腔内ならびに齲歯の検査と必要に応じてその治療を受けるとともに、治療期間中看護師の指導のもと口腔ケアが施行された。また、すべての患者は栄養サポートチームにより、全臨床試験期間にわたって週1回の回診を受け、栄養管理が施行された。十分な食事が経口摂取できなくなった

場合は、速やかに経管栄養が実施され適正な栄養管理が行われた。本研究中に使用した経管栄養剤にはグルタミンは含まれていない。さらに、すべての患者は、薬剤師によって、継続的な服薬指導を受け、適切な服用とコンプライアンスが保持された。

統計解析

2群間の平均値を比較するために必要なサンプルサイズは以下の式によって計算された。Nはそれぞれの群における対象の数である。

$$N \fallingdotseq 2 \cdot SD^2 \cdot (Z_\alpha + Z_\beta)^2/\Delta^2$$

（N: それぞれの群における対象の数、SD: それぞれの群における標準偏差の測定値、Δ: 有意として検出したい母平均間の最小値、$(Z_\alpha+Z_\beta)^2$: 検出力指数）SDおよびΔを1とし、検出力指数7.9 (80%の検出力および両側$p<0.05$の場合）また検出力指数10.5 (90%の検出力および両側$p<0.05$の場合）として、N=20が妥当と考えた。尚、口腔粘膜炎の重症度は1から5の5段階の評価であり整数スケールのため、評価が１違っても症状は大きく変化し、この評価においては1の差が非常に重要となる。よってΔ＝１が安全であり妥当である。SDは参考文献[30]の論文で0.4となっており、それから予測しSD=1が安全であり妥当であると考えた。口腔粘膜炎の重症度のグレード評価とNRSによる患者の主観的痛みの評価はMann-Whitney *U* test、その他の連続変数はWelch's *T* test を用いた。名義変数はFisher's exact test を用いた。グレード3以上の口腔粘膜炎の発症までの日数はカプランマイヤー法を用い、ログランク検定を行った。*p*値は両側で有意水準を0.05とした。また、多重比較は、Mann-Whitney *U* test、Welch's *T* test 、Fisher's exact testで検出された*p*値を使用してHolmの方法で有意水準を補正した。すべての値は平均値±標準偏差で示した。統計解析はJMP11（SAS Institute, Inc）を用いて行った。

## 3. 結果

### 患者背景

2010年5月から2013年8月までに102名の患者がスクリーニングされ、そのうち50名の患者がグルタミン群とプラセボ群に割り付けられ、40名の患者が最終的な解析対象となった（Figure 1-2）。

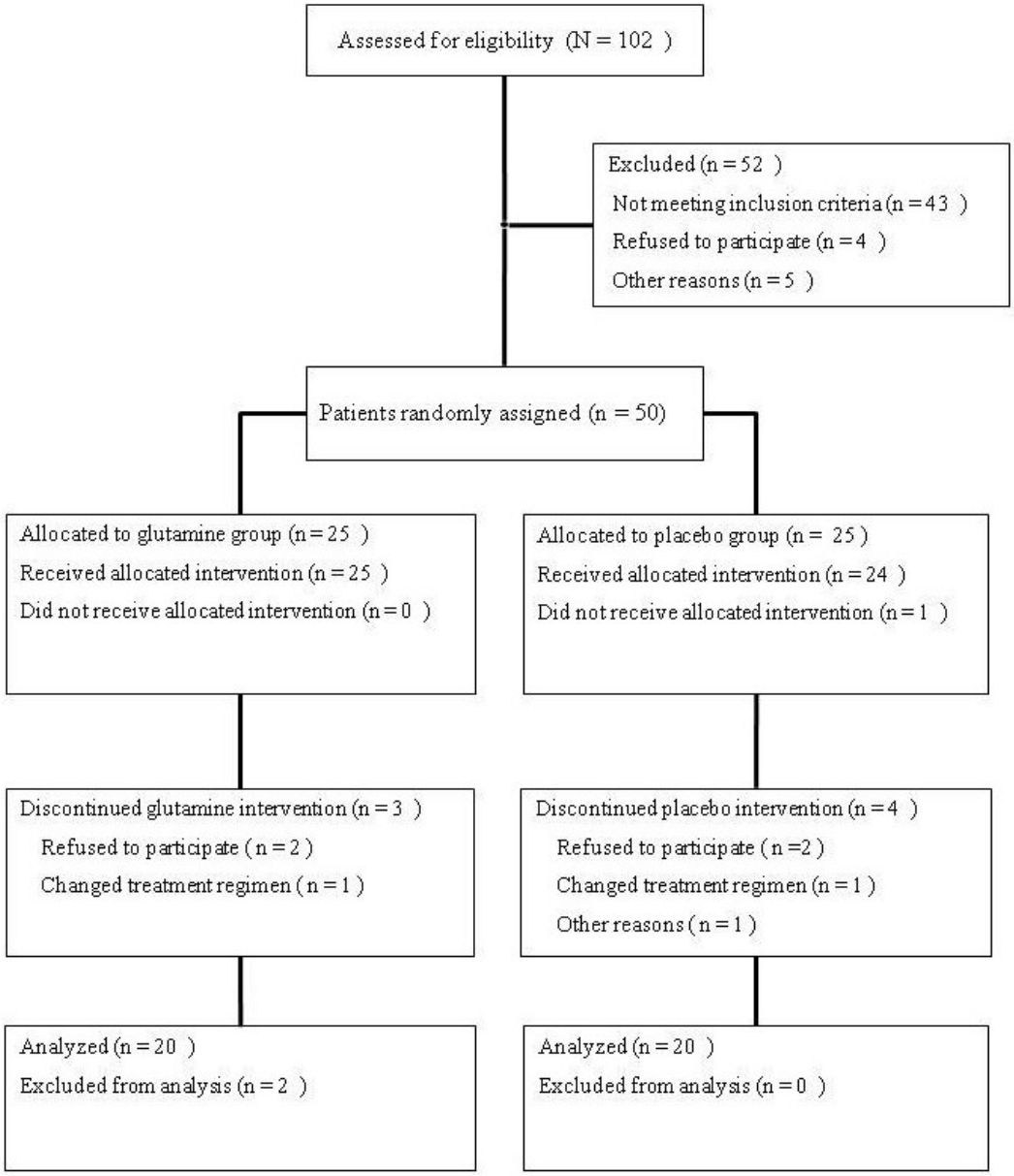


Figure 1-2 CONSORT diagram

患者背景をTable 1-1に示した。両群ともに20名中、男性17名、女性3名が割り付けられ、平均年齢はグルタミン群で60.5±10.8歳、プラセボ群で63.2±5.4歳であった。性別、年齢、腫瘍部位、ステージ、ECOG（Eastern Co-operative Group）パフォーマンスステータス、糖尿病の有無、BMI（Body Mass Index）はいずれも両群で有意差はなかった。さらに、シスプラチンの平均累積投与量はグルタミン群、プラセボ群で、それぞれ193.3 mg、187.2 mgであり、ドセタキセルの平均累積投与量はそれぞれ、97.7 mg、93.9 mgで有意差はなく、放射線総線の平均値も、グルタミン群、プラセボ群でそれぞれ66.4 Gy、66.2Gyで有意差はなかった。治療開始前の口腔粘膜はすべての患者において正常であった。

Table 1-1 Patients Characteristics

| | Glutamine Group (n = 20) | Placebo Group (n = 20) | p value |
|---|---|---|---|
| Male/Female | 17/3 | 17/3 | 1 |
| Age (years) | 60.5 ± 10.8 | 63.2 ± 5.4 | 0.3330 |
| Primary tumor location | | | |
| Nasopharynx | 0 (0%) | 2 (10%) | 0.3755 |
| Oropharynx | 10 (50%) | 6 (30%) | |
| Hypopharynx | 7 (35%) | 7 (35%) | |
| larynx | 3 (15%) | 5 (25%) | |
| Stage | | | 1 |
| I | 0(0%) | 0 (0%) | |
| II | 2(10%) | 3 (15%) | |
| III | 4 (20%) | 3 (15%) | |
| IV | 14 (70%) | 14 (70%) | |
| ECOG performance status | | | |
| 0 | 17(85%) | 19 (95%) | 0.6050 |
| 1 | 3(15%) | 1 (5%) | |
| Total dose of radiation | | | 1 |
| 66 Gy | 18(90%) | 19 (95%) | |
| 70 Gy | 2(10%) | 1 (5%) | |
| Total dose of chemotherapeutic agents (mg) | | | |
| Cisplatin | 193.3 ± 19.2 | 187.2 ± 21.3 | 0.3573 |
| Docetaxel | 97.7 ± 8.8 | 93.9 ± 10.5 | 0.2297 |
| Diabetes Mellitus | 1 (5%) | 3 (15%) | 0.6050 |
| Body mass index (kg/m$^2$) | 21.6 ± 3.2 | 22.1 ± 3.9 | 0.4282 |

Abbreviations: Gy, grays; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group. Values of Age, total dose of chemotherapeutic agents, body mass index are means ±SD, and analyzed by Welch 's ttest . Values of Gender, primary tumor location, stage, total dose of radiation, diabetes are patient number and percentage, and analyzed by Fisher's exact test.

## 口腔粘膜炎の発症状況と重症度

口腔粘膜炎はすべての患者に発症した（Table 1-2）。しかし、治療中最高グレードがG4となった患者はプラセボ群で25%であったのに対しグルタミン群では0%であった。一方、最高グレードがG2と軽症の粘膜炎であった患者は、グルタミン群では10%であったのに対し、プラセボ群では0%であった。Fisher's exact testで得られたp値を用い、Holmの方法により多重比較を行い、有意水準を0.025と補正した結果、グルタミン群はプラセボ群に比べて有意に最高グレードを低下させるという結果を得た（$p<0.025$）。さらに、グルタミン群はプラセボ群に比べて有意にグレードの平均値を低下させるという結果を得た(グルタミン群:2.9±0.4、プラセボ群:3.3±0.4；$p<0.05$)。口腔粘膜炎発症までの日数は、グルタミン群で2.3±0.3週、プラセボ群では2.1±0.8週（$p=0.663$）、口腔粘膜炎の罹患期間は、グルタミン群で4.8±0.9週、プラセボ群で5.0±0.8週（$p=0.617$）と有意差は見られなかった。

Table 1-2 Incidence and Severity of Oral Mucositis

| | Glutamine (n=20) | Placebo (n=20) | p value | Effect Size |
|---|---|---|---|---|
| Incidence of OM | 20(100%) | 20(100%) | 1 | |
| Maximum Grade of OM | | | 0.0234* | |
| Nothing | 0 | 0 | | |
| Grade 1 | 0 | 0 | | |
| Grade 2 | 2 | 0 | | |
| Grade 3 | 18 | 15 | | |
| Grade 4 | 0 | 5 | | |
| Maximum grade of OM | 2.9±0.4 | 3.3±0.4 | 0.0049** | 0.89 |

Abbreviations: OM, oral mucositis. Continuous variables are analyzed by Mann-Whitney U test and categorical variables are analyzed by Fisher's exact test. All p values were adjusted for multiple comparisons using by Holm-Bonferroni method. *, $p < 0.0333$; **$p < 0.0167$

グレード3以上の重症度の高い口腔粘膜炎を比較してみると、G3以上の口腔粘膜

炎発症までの日数は、グルタミン群で4.2±1.1週、プラセボ群で4.2±1.0週（p=0.829）、G3以上の口腔粘膜炎の罹患期間は、グルタミン群で2.2±1.4週、プラセボ群で2.8±1.1週（p=0.145）とグルタミン群で短い傾向があるが有意差はなかった(Figure 1-3)。さらに、粘膜炎の最高グレードの平均値について経時変化をみると、グルタミン群ではプラセボ群より、治療開始後5週目と6週目における粘膜炎のグレードが有意に低値であった（5週目：p<0.05,　6週目：p<0.01；Figure 1-4-A）。

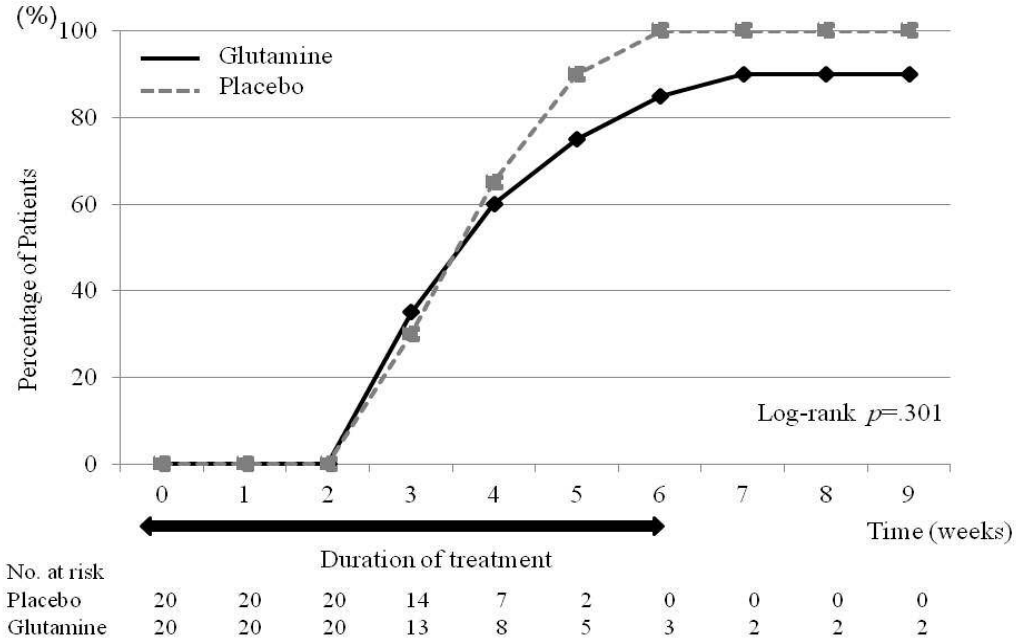


Figure 1-3 Cumulative Incidence Rate of Severe Oral Mucositis

Kaplan-Meier method is used to analyze the time to onset of severe mucositis (≥G3, NCI CTCAE ver. 3.0), and the curves are compared using stratified log-rank tests.

## 患者の主観的痛みの評価（NRS）と医療用麻薬の使用状況

患者の主観的痛みの評価としてのNRSスコアは4、5、6週目でグルタミン群ではプラセボ群に比して有意に低値を示した（4、5、6週目それぞれ：p<0.05,　；Figure 1-4-B）。すべての患者は非ステロイド性消炎鎮痛薬（NSAID）を服用した。NSAIDに加えての医療用麻薬の使用率はグルタミン群では17名（85%）、プラセボ群で

は19名（95%）であった。医療用麻薬の使用期間の平均値は、グルタミン群はプラセボ群に比べて短い傾向があるという結果を得た（グルタミン群：19±11日、プラセボ群：28±14日；p=0.0294；Table 1-3）。モルヒネに換算した医療用麻薬の総使用量はグルタミン群では2370±2237 mg 、プラセボ群では3959±3566 mg（p=0.101；Table 1-3）と、プラセボ群に比べてグルタミン群では医療用麻薬の総使用量が低い傾向が見られた。

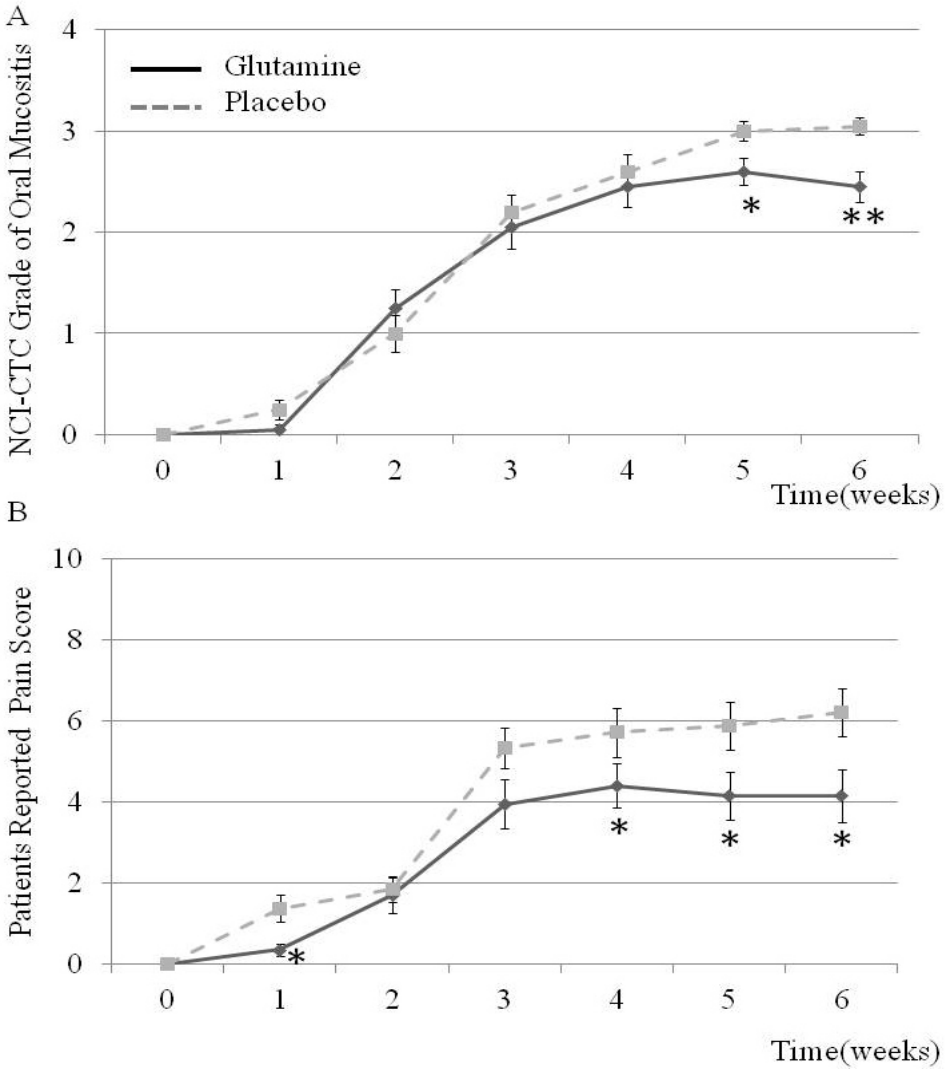


Figure 1-4 NCI CTCAE grade of Oral Mucositis and Patient-Reported Pain Score during Study

(A) Mean NCI CTCAE grade of mucositis. The NCI CTCAE grades were determined by two well-trained physicians weekly throughout chemoradiotherapy.

(B) Mean patient-reported pain score. NRS was used as a patient-reported pain score. Patients assessed the strongest pain experienced during a day on a 0-10 scales. Both NCI CTCAE grades and NRS scores were analyzed using Mann-Whitney *U* test. *, $p < 0.05$; **$p < 0.01$ vs. placebo group. Values are means ± SE.

## 経管栄養の施行状況と期間

口腔粘膜炎の疼痛により、十分な経口による栄養摂取が不能となり、経鼻チューブや胃瘻・腸瘻を介した経管栄養が施行された患者がグルタミン群で16名（80%）、プラセボ群で19名（95%）見られた。経管栄養が施行された期間は、グルタミン群ではプラセボ群に比べて短縮された傾向がみられた（グルタミン群：18 ±13日、プラセボ群：27±11日；p=0.0455；Table 1-3）。また、治療開始前に対する治療終了後（8週目）の体重の変化率を両群で比較すると、グルタミン群では-3.6%、プラセボ群では-6.0%であり有意差はなかった。BMIの平均値を両群の治療開始前と治療終了後（8週目）で比較したところ、治療開始前のBMIは、グルタミン群で21.2±3.2、プラセボ群で22.1±3.9であり、治療終了後のBMIは、グルタミン群で20.2±2.9、プラセボ群で20.7±3.2であり、両群で差は見られなかった。また、血漿アミノ酸値のバランスも両群で有意な差は見られなかった（Table 1-4）。

Table 1-3 Rate of Opioid Use and Supplemental Nutrition Required Because of Oral Mucositis

| | Glutamine (n=20) | Placebo (n=20) | p value | Effect size |
|---|---|---|---|---|
| Incidence of Opioids use | 17 (85%) | 19 (95%) | 0.6050[a] | - |
| Time to onset of Opioids use (days) | 24±9 | 19±9 | 0.1011[a] | 0.56 |
| Duration of Opioids use (days) | 19±11 | 28±14 | 0.0294[a] | 0.69 |
| Total dose of Opioids (mgs), morphine equivalents | 2370±2237 | 3959±3566 | 0.1012[a] | 0.52 |
| Incidence of Supplemental Nutrition | 16 (80%) | 19 (95%) | 0.3416[b] | - |
| Time to onset of administration of Supplemental Nutrition (days) | 24±11 | 21±8 | 0.3867[b] | 0.35 |
| Duration of Supplemental Nutrition (days) | 18±13 | 27±11 | 0.0455[b] | 0.69 |

Continuous variables were analyzed using Welch's T test and categorical variables were analyzed using Fisher's exact test. All p values were adjusted for multiple comparisons using by Holm-Bonferroni method. a, significance levels were adjusted to $p < 0.0125$; b, significance levels were adjusted to $p < 0.0167$.

Table 1-4 Plasma Amino Acids Profiles in Glutamine and Placebo Groups

| Amino acids | standard value (nmol/mL) | Baseline | | After Treatment | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Glutamine (n=20) | Placebo (n=20) | Glutamine (n=20) | Placebo (n=20) |
| Glutamine | 481.5-795.9 | 541.3±59.8 | 590.3±89.2 | 533.3±80.3 | 558.4±86.5 |
| Alanine | 202.8-502.8 | 353.5±81.4 | 339.4±85.8 | 298.8±84.7 | 304.6±64.8 |
| Valine | 144.3-275.1 | 229.1±46.7 | 228.0±60.6 | 206.3±54.0 | 207.4±37.7 |
| Glycine | 126.0-298.8 | 212.9±33.6 | 229.1±49.3 | 212.1±54.1 | 209.3±49.5 |
| Lysine | 113.6-238.8 | 193.1±37.4 | 205.9±55.7 | 190.6±48.0 | 180.9±39.8 |
| Serine | 95.7-165.5 | 120.5±23.6 | 120.3±24.1 | 97.4±26.8 | 101.4±16.6 |
| Leucine | 78.3-158.3 | 125.9±28.5 | 130.0±41.1 | 116.7±33.8 | 116.0±26.6 |
| Proline | 76.9-230.9 | 147.9±27.2 | 149.0±43.6 | 139.1±64.4 | 137.9±63.1 |
| Threonine | 66.5-193.5 | 117.9±27.2 | 122.1±25.8 | 115.9±36.4 | 115.5±41.8 |
| Histidine | 58.4-98.0 | 76.3±13.0 | 76.0±14.6 | 61.5±11.5 | 62.0±11.5 |
| Phenylalanine | 43.4-67.0 | 61.8±11.8 | 67.4±17.9 | 60.4±14.0 | 65.8±17.5 |
| Tyrosine | 40.8-70.8 | 64.2±11.9 | 67.9±12.8 | 64.9±15.7 | 63.2±20.5 |
| Taurine | 38.0-67.3 | 60.0±11.7 | 60.7±14.3 | 48.3±13.6 | 52.8±11.9 |
| Asparagine | 37.7-70.3 | 45.1±6.0 | 45.2±10.6 | 38.2±8.5 | 38.2±9.3 |
| Isoleucine | 36.4-83.0 | 65.6±12.9 | 58.8±45.6 | 64.7±21.1 | 64.7±17.5 |
| Ornithine | 36.1-108.1 | 63.6±16.4 | 67.1±19.7 | 60.7±16.1 | 54.8±12.2 |
| Tryptophan | 35.5-73.9 | 54.9±8.5 | 54.8±8.5 | 49.0±9.1 | 47.2±9.8 |
| Arginine | 20.4-100.0 | 94.7±23.2 | 96.5±23.8 | 80.8±25.9 | 77.5±23.1 |
| Citrulline | 19.1-43.9 | 31.4±12.3 | 30.6±9.2 | 26.6±10.7 | 24.7±10.8 |
| Glutamate | 11.8-60.6 | 50.0±16.5 | 47.3±14.2 | 53.3±30.8 | 48.8±17.6 |
| Methionine | 10.3-30.7 | 26.3±4.4 | 26.9±8.9 | 22.5±6.4 | 23.2±5.3 |
| Cystine | 6.0-25.9 | 39.2±13.8 | 37.0±13.9 | 38.8±14.7 | 39.5±12.9 |
| Aspartic acid | <3.3 | 3.8±1.4 | 3.3±1.4 | 3.8±1.7 | 3.5±1.8 |

Abbreviations: SD, standard deviation. Values of plasma amino acids concentration (nmol/mL) are means ± SD, and the standard values of amino acid consentrations are also shown. There are no significant differences between two goups. Valiables are analyzed by Welch' T test.

## 一次治療効果に対するグルタミンの影響

粘膜炎の増悪のため化学放射線療法が一時休止となった患者はグルタミン群では皆無であったのに対しプラセボ群では3名（15%）であった（Table 1-5）。

Table 1-5 Interruption and Cessation of Treatment due to Oral Mucositis

| | Glutamine (n=20) | Placebo (n=20) | p value |
|---|---|---|---|
| Interruption of treatment | 0(0%) | 3(15%) | 0.2308 |
| Cessation of treatment | 0(0%) | 0(0%) | 1 |

Fisher's exact test

治療終了後10週目においてCT、PET-CTならびに細胞診による一次治療効果判定では、グルタミン群ではCR （complete response：完全寛解）が65%, 13/20、PR（partial response：部分寛解）が25%, 5/20、SD （stable diseases：不変）が10%, 2/20、

PD（progressive diseases：進行）が0%, 0/20であった。プラセボ群ではCRが60%, 12/20、PRが25%, 5/20、SDが0%, 0/20、PDが10%, 2/20、不明が5%, 1/20であった。CRとPRを合わせた奏功率はグルタミン群が90%、プラセボ群では85%と両群に有意差はなかった。グルタミン投与による副作用や血液生化学検査の異常値は全患者、全投与期間で認められなかった（Table 1-6）。

Table 1-6 Biochemical Data of Glutamine and Placebo Groups

| | Baseline | | After Treatment | |
|---|---|---|---|---|
| | Glutamine (n=20) | Placebo (n=20) | Glutamine (n=20) | Placebo (n=20) |
| White blood cell count ($\times 10^3/mm^3$) | 6.2 ± 1.5 | 5.8 ± 1.3 | 3.8 ± 1.6 | 4.2 ± 2.0 |
| Total neutrophil count ($\times 10^3/mm^3$) | 4075 ± 1170 | 3689 ± 1211 | 2805 ± 1459 | 3157 ± 2095 |
| Total lymphocyte count ($\times 10^3/mm^3$) | 1360 ± 481 | 1430 ± 312 | 424 ± 171 | 520 ± 204 |
| Red blood cell count ($\times 10^6/mm^3$) | 4.2 ± 0.5 | 4.1 ± 0.5 | 3.4 ± 0.5 | 3.3 ± 0.3 |
| Hemoglobin, g/dL | 13.2 ± 1.7 | 13.1 ± 1.7 | 10.1 ± 0.5 | 10.7 ± 1.0 |
| Platelet count ($\times 10^3/mm^3$) | 220.3 ± 77.3 | 248.4 ± 83.3 | 250.1 ± 63.4 | 261.3 ± 105.0 |
| Blood urea nitrogen, mg/dL | 14.0 ± 4.8 | 13.8 ± 3.1 | 19.0 ± 9.8 | 18.7 ± 6.3 |
| Creatinine, mg/dL | 0.7 ± 0.2 | 0.7 ± 0.2 | 0.8 ± 0.2 | 0.8 ± 0.2 |
| Asparatate aminotransferase, U/L | 24 ± 18 | 26 ± 16 | 17 ± 5 | 19 ± 5 |
| Alanine aminotransferase, U/L | 25 ± 28 | 19 ± 9 | 16 ± 5 | 16 ± 5 |
| γ-glutamyl transpeptidase, U/L | 64 ± 87 | 44 ± 36 | 48 ± 40 | 63 ± 63 |
| Cholinesterase, U/L | 282 ± 90 | 273 ± 74 | 256 ± 83 | 244 ± 91 |
| Creatine phosphkinase, U/L | 59 ± 17 | 64 ± 21 | 72 ± 58 | 52 ± 31 |
| Total cholesterol, mg/dL | 182 ± 28 | 170 ± 45 | 159 ± 23 | 153 ± 33 |
| Total bilirubin, mg/dL | 0.7 ± 0.3 | 0.6 ± 0.1 | 0.3 ± 0.1 | 0.4 ± 0.1 |
| C-reactive protein, mg/dL | 0.5 ± 0.6 | 0.5 ± 0.6 | 2.3 ± 2.2 | 2.8 ± 3.1 |
| Albumin, g/dL | 3.8 ± 0.4 | 3.7 ± 0.4 | 3.3 ± 0.4 | 3.1 ± 0.6 |
| Transferrin, mg/dL | 222 ± 26 | 194 ± 28 | 203 ± 25 | 172 ± 26 |
| Transthyretin, mg/dL | 26 ± 8 | 22 ± 7 | 19 ± 4 | 17 ± 8 |
| Retinol-binding protein, mg/dL | 4.1 ± 1.3 | 3.2 ± 1.0 | 3.4 ± 0.9 | 3.1 ± 1.4 |
| Iron, μg/dL | 85 ± 41 | 77 ± 31 | 67 ± 29 | 69 ± 21 |
| Copper, μg/dL | 119 ± 25 | 124 ± 25 | 143 ± 46 | 149 ± 24 |
| Zinc, μg/dL | 81 ± 18 | 75 ± 8 | 76 ± 14 | 82 ± 17 |

Values are means ± SD.

## 4. 考察

臨床試験の結果、グルタミンが頭頸部癌患者の化学放射線療法による口腔粘膜炎の重症度を有意に軽減することが示された。本研究でグルタミンを口腔粘膜炎の軽減に用いた理由は、グルタミンが粘膜上皮の保護をする可能性と、粘膜障害の治癒のプロセスに複数の作用点で影響を与える可能性を考えたからである。

グルタミンはユニークなアミノ酸で、生体内において、複数の重要な役割を果たしている。グルタミンは、DNA合成や、細胞分裂、細胞増殖には不可欠であり、これらの細胞レベルでの営みは、創傷治癒や組織修復の過程に必要とされる[31]。グルタミンはタンパク合成や細胞外のマトリックスの形成に関与し、ヒト線維芽細胞において、直接的に刺激することによって、また、間接的にはプロリンやハイドロキシプロリンの前駆体として、創傷治癒や組織修復に必要なコラーゲンの生合成を促進する働きがあることが示されている[32,33]。また、グルタミンは免疫機能を高める作用があり、マクロファージやリンパ球の発育と増殖のための重要なエネルギー源となる。ラットにグルタミンの静脈投与を行うとIgAの産生が促進されることが報告されている[34]。

さらに、グルタミンは抗酸化作用を持つグルタチオン合成の前駆体である。グルタチオンは細胞内でグルタミンから変換されたグルタミン酸とシステインとグリシンから成るトリペプチドである。Leitaoらは5FUを投与し、口腔粘膜炎を発症させたハムスターにジペプチドであるL-アラニル-l-グルタミン（以下アラニルグルタミン）を静脈投与したところ、粘膜修復が促進されるとともに粘膜組織のグルタチオンが増加することを明らかにした[35]。野瀬らはラットに経腸的にグルタミンを投与したところ、シスプラチンによる小腸の粘膜障害を予防することを明らかにし、グルタミン投与により細胞内のグルタチオンが増加し、細胞を保護

した結果としている[36]。臨床研究においても、グルタミンの粘膜上皮に対する保護作用が報告されている[30,37,38]。Topkanらは放射線治療を受けている非小細胞肺癌患者において、経口でグルタミンを投与したところ急性放射線性食道炎の発症率と罹患期間を短縮したと報告し[37]、Cerchiettiらは、頭頸部癌患者に対してジペプチドであるアラニルグルタミンを静脈投与したところ、化学放射線療法による口腔粘膜炎の重症度が軽減したことを示した[30]。アラニルグルタミンの静脈注射は口腔粘膜炎の予防や治療に有効であるが、日本では市販されていない。また、医薬品として使用が可能な国であっても、高額であることから、口腔粘膜炎の治療薬として広く普及することに制限があるのが現状である。このような観点から、今回、グルタミンの経口投与により口腔粘膜炎が軽減する可能性を予測して臨床試験を行った。

本研究において得られた重要な知見は、グルタミン投与群においてグレードG4の口腔粘膜炎が発症しなかったことである。グレードG4の口腔粘膜炎は、融合した潰瘍から自然出血が発生する最も深刻な所見であり、治療の中断を余儀なくされる。グレードG4の口腔粘膜炎により治療が中断された患者は、プラセボ群でのみ15%の患者に見られた。介入前の自験例では6週間にわたる化学放射線療法レジメンの中で、治療開始後5週目、6週目がもっとも口腔粘膜炎が重症化し、患者は疼痛に苦しみ、NSAIDに加えて医療用麻薬の継続的使用が不可欠となり、さらに、食事の経口摂取が不可能となり、静脈栄養や経鼻チューブや胃瘻・腸瘻からの経管栄養が必要となる。今回の研究結果では、グルタミンはこの最も口腔粘膜炎が重症化する5週目、6週目の粘膜炎の重症度を軽減し、同時期の患者の主観的痛みの評価のスコアも、低下させた。グルタミンが口腔粘膜炎の重症度を軽減するばかりではなく、患者自身が感じる痛みの強さがグルタミンにより軽減したこ

とは、臨床上大きな意義があるものと考える。さらに、グルタミンは、医療用麻薬の使用期間ならびに経管栄養の施行期間を短縮する傾向を示した。疼痛が軽減されたことにより、麻薬性鎮痛薬の使用期間が短縮されれば、悪心・嘔吐、便秘、眠気、呼吸抑制など麻薬性鎮痛薬の副作用のリスクも低下させることにつながる。さらに、経管栄養の施行期間が短縮されることにより、患者は経口で食事ができる期間が長くなる。そのため、栄養状態のみならず、チューブから栄養を直接胃に入れるという精神的ストレスを受ける時期が短縮されることにより、患者のQOLが向上することが示唆された。

骨髄移植（BMT: bone marrow transplant）や造血幹細胞移植（HCT: hematopoietic stem cell transplant）の前処置としての化学放射線療法による口腔粘膜炎に対するグルタミンの有効性を検証した臨床研究が複数ある[26, 39-45]。このうち、幾つかの研究は、グルタミンの口腔粘膜炎に対する効果が認められないと報告している[26,45]。しかし、実際にその報告における臨床試験の研究デザインを確認してみると、サンプルサイズが少ない、グルタミンの投与量が十分でない、プラセボ群と比較していないなど、グルタミンの口腔粘膜炎に対する効果を評価するには十分ではないものもある[26,27,46]。また、骨髄移植や造血幹細胞移植の前処置としての化学放射線療法と頭頸部癌に対する化学放射線療法を比較すると、前者は、移植後の拒絶反応を抑える目的でレシピエントの免疫力を低下させるために放射線を全身に照射するのに対し、後者では、頭頸部領域の悪性腫瘍に直接、大量の放射線を照射するという違いがある。化学放射線療法を施行された頭頸部癌患者の口腔粘膜炎は、局所に限定されてはいるがより重症度の高いものとなっている。口腔粘膜炎に対するグルタミンの効果を検討する時には、放射線照射の方法を考慮して評価する必要があると考えられる。従って、骨髄移植や造血幹細胞移植の

領域においても、グルタミンの効果を評価するための適正な研究デザインによる臨床試験が必要である。

グルタミンの投与方法に関しては、静脈投与を除くと、内服により体循環を経て局所へ到達させる方法と口腔粘膜炎に直接グルタミンを接触させる含漱などの局所的投与があり、どちらが効果的であるかについて議論がなされてきた。その中で海外では局所に留まるように設計された製剤も開発されている[47]。本研究では内服によるグルタミンの投与を選択した。グルタミンの口腔粘膜炎の軽減作用は、治療開始後5週目、6週目に有意に発現している。実際、この時期はほとんどの患者が疼痛のため、試験薬を経口で摂取することが困難となり、経鼻チューブや胃瘻・腸瘻から試験薬を投与している。これらは口腔粘膜にはグルタミンが接触しない状態での投与方法であるにもかかわらず、口腔粘膜炎が軽減していることから、必ずしも、グルタミンを口腔粘膜炎に接触させる必要性はないと示唆される。また、口腔粘膜炎が重症化している状態での含漱は疼痛のため現実的には困難であると考える。

グルタミンは不安定な物質である。水溶液中では、容易に自然分解してアンモニアとグルタミン酸に変換され、現在でもグルタミン含有の注射剤や液状経腸栄養剤の製造を困難にしている。しかし、経口グルタミンは、水溶液中で不安定であるという物性を理解して用いることにより、その十分な効果を引き出すことができる。また、経口投与が不能となっても、投与直前に水に容易に溶解でき、経管栄養チューブを閉塞させることなく容易にチューブから投与することが可能である。

今回私は、頭頸部癌患者を対象に、化学放射線療法の有害事象である口腔粘膜炎に対してグルタミンがその重症度を軽減できるかどうかを検証するために、プ

ラセボコントロール二重盲検二群間並行ランダム化比較試験を行った。私の知る限り、本研究は、頭頸部癌領域においてグルタミンの経口投与で行った世界で初めてのプラセボコントロール二重盲検二群間並行ランダム化比較試験である。未治療の頭頸部癌患者はすべて同じ化学放射線療法のレジメンで治療を受けた。また、本研究の最も大きな特徴のひとつとして、大学病院の栄養サポートチームによる栄養管理がある。栄養サポートチームは臨床試験に参加したすべての患者に対し、全治療期間を通して栄養管理を行った。毎週1回、患者回診を行うとともに、体重、血清タンパクを測定し、患者の栄養状態を評価し、経口摂取が不能になった場合の経管栄養移行のタイミングやその投与内容も含めて栄養管理を行った。低栄養状態は免疫担当細胞の浸潤を低下させ、障害された粘膜の治癒や再生を遅らせるため[48]、栄養サポートチームは、この研究には欠かすことのできない存在であった。両群間で栄養状態に差が出ないように、患者の栄養状態を管理することが本研究を成功させるための鍵であった。栄養サポートチームの介入の結果、グルタミン投与群とプラセボ投与群の間には、体重減少率、BMI、栄養学的パラメータである血清アルブミン値、血清トランスサイレチン（プレアルブミン）値、血清トランスフェリン値、血清レチノール結合タンパク値、鉄、銅、亜鉛、血漿アミノ酸値のいずれにおいても有意な差は見られず、治療期間中、両群での栄養状態が等しく保たれていた。さらに、グルタミンの物性を熟知した薬剤師が薬学的観点からデザインした臨床試験であること、耳鼻科頭頸部外科の医師による正確なアウトカム評価が行われたこと、病棟看護師による正確な試験薬の投与が行われたこと、薬剤師によるコンプライアンスの維持が行われたことにより、コンプライアンスは99.6%であった。また栄養サポートチームの介入により、患者の適切な栄養管理がおこなわれたことにより、スタディの質が高められたものと考

える。

全研究期間を通して、グルタミン投与による副作用はみられなかった。両群において血液生化学検査における異常値の差や血漿アミノ酸値のインバランス、血清アンモニアの異常値も見られなかった。さらに、治療終了後10週目に行われた癌治療の一次効果判定においても、両群に差はなく、グルタミンは癌治療の効果に悪影響を与えないことが確認された。しかし、グルタミンの投与によって酵素的、非酵素的に分解されたアンモニアが発生することになるため、肝機能が正常な場合は、尿素サイクル等の働きにより、アンモニアを代謝することが可能であるが、肝機能障害を合併している患者には、慎重な投与が必要である。グルタミンを投与する場合には、肝機能のチェックを行うことが必要である。

口腔粘膜炎は、粘膜バリアが障害を受けた状態であり、その形成はいくつかの過程を経る[49]。グルタミンはその過程の中で、複数の作用点を持つと予測される。まず初めに、粘膜の障害は、酸化ストレスや、放射線やシスプラチンから産生される活性酸素種（ROS）によって引き起こされる。グルタミンは、細胞内で抗酸化作用をもつグルタチオンの前駆体である。外因性のグルタミンは、化学療法によって低下した組織でのグルタチオンの量を回復させる作用があり[50]、癌治療による腫瘍縮小効果に影響を与えない範囲で、酸化ストレスやROSから粘膜上皮を保護したと考えられる。次の粘膜炎の形成過程は、粘膜バリアの崩壊後の潰瘍形成期である。この時期が、患者に強い疼痛を与え、バクテリアル・トランスロケーションのリスクが高い時期である。口腔粘膜炎のグレードがG4となると、潰瘍の深堀を受け、潰瘍部からの出血が起こる。G4はグルタミン群では1人も見られなかった。また、G3は両群で見られたが、この時期の、医療用麻薬の使用期間はグルタミン投与群の方が有意に短く、また、疼痛のため、十分な経口摂

取ができず、経管栄養を余儀なくされる期間も、グルタミン群で短縮されている傾向が見られた。同じG3でも、グルタミン群は症状がより軽度であったことが示された。グルタミンはわが国でも胃炎や胃潰瘍の薬として保険適応を持ち、潰瘍形成を抑制する効果があるが[51]、口腔粘膜に対しても潰瘍形成を抑制する効果があることがわかった。最後に、粘膜再生期においてグルタミンは細胞のDNA合成に必要な窒素原子の供与体であり、創傷治癒や組織修復に必要な細胞外マトリックスを形成する上で必要なコラーゲンの合成に不可欠である。コラーゲンの前駆体であり、創傷治癒には欠かすことのできないヒドロキシプロリンはグルタミン由来のグルタミン酸から合成される[52,53]。しかし、ここに述べた作用機序はあくまでも推察の域を出ない。実際にグルタミンが口腔粘膜に働き、口腔粘膜炎の重症度を軽減する作用機序は不明である。今後、この作用機序を解明するためには、基礎的な研究が必要である。

以上のように、本研究においてグルタミンは、化学放射線療法を施行した頭頸部癌患者において、有害事象もなく安全に使用でき、口腔粘膜炎の重症度を軽減する効果がみとめられた。今後、グルタミンが医薬品として臨床現場で使用され、侵襲度の高い癌治療を余儀なくされている患者のQOLの向上や治療効果の向上のための一助となることを期待する。

## 5.　小括

・グルタミンは全例、安全に投与を完遂できた

・グルタミン群はプラセボ群と比べて口腔粘膜炎の重症度が低く、特に粘膜炎が最も重症化する5週目から6週目の重症度ならびに、同時期の患者の主観的疼痛スコアが有意に低かった

・グルタミン群はプラセボ群と比べて麻薬性鎮痛薬の使用期間と経管栄養の施行期間が短い傾向にあり、また、グルタミン群は粘膜炎による治療休止例も皆無であった

・グルタミンは癌治療にネガティブな影響を与えなかった

## 第2章　救命救急症例における予後予測因子としての血漿グルタミン値の意義

### 1.　研究の背景と目的

救命救急部門での治療は重度外傷、熱傷、敗血症など重篤な傷病、病態の患者が対象となる。高度な侵襲は、エネルギー代謝とタンパク代謝の亢進をもたらす。救急症例の原因疾患は多岐にわたるため、生体内で引き起こされる反応を一元的に論じることはできないが、急性に発症した重症病態であることと、侵襲により全身性の炎症反応が起こることに共通点がある。このような高度侵襲症例では、高サイトカイン血漿に伴い体タンパクの異化が亢進し、特徴的なタンパク、アミノ酸代謝を呈する[54-56]。しかしながら、侵襲下での十分な栄養療法を施行しても、タンパク異化が改善しない現実に直面することがある[56,57]。これは免疫細胞や炎症を起こしている組織へのアミノ酸の供給を増加させるための生体の適応反応によるものである。高度侵襲症例におけるタンパク異化の主なメカニズムは、炎症性サイトカインであるTNF-αによるユビキチン-プロテオソーム経路の活性化により引き起こされる[59]。特に合併症の増悪を伴う外傷や敗血症患者ではタンパク異化が遷延化し、除脂肪体重（lean body mass）の減少が進行する[60]。このような病態において、血漿アミノ酸値は、患者の病態把握や栄養管理法を決定する上で重要な意義を持つ[61,62]。

生体内の遊離アミノ酸の中で、グルタミンは最も豊富に存在するアミノ酸であるにも関らず、高度侵襲下では、その需要が増大し、生体内でのグルタミン合成が追い付かず、グルタミンは枯渇し、結果として、グルタミンの血中濃度は低下する。グルタミンは、腸管粘膜細胞、線維芽細胞、リンパ球、マクロファージなどの主要なエネルギー源であるため、このような環境下では、筋組織からのグル

タミンの供給が減少し、免疫系や腸管上皮細胞は強く影響を受ける。グルタミンの枯渇は患者の罹患率、死亡率と相関し[63,64]、また、低グルタミン血症は敗血症のICU患者の予後に影響を与えるという報告がある[65]。しかしながら、重症患者にアラニルグルタミンを経静脈的に投与したところ、6ヶ月後の死亡率が有意に低下したという報告もあるが[62,66]、救命救急症例におけるグルタミンの予後予測因子としての可能性は、未だ十分には解明されていない。

そこで、今回私は、高度救命救急センターに入室した患者を対象として、血漿アミノ酸値の測定結果から、アミノ酸の中で最も多く、最も濃度の高いグルタミンに注目しその予後予測因子としての意義を検討した。

## 2. 対象患者および方法

2004年7月より2012年3月までに大学病院高度救命救急センター（TACCC: Traumatology and Acute Critical Care Center）に入室し、グルタミンを含む血漿アミノ酸値が測定された症例214名を対象として、レトロスペクティブに診療録の調査を行った。20歳未満の患者ならびに入室後24時間以内に退院もしくは転院した患者は除外した。対象患者は、男性133名（62%）、女性81名（38%）、年齢は中央値で64歳（20-97歳）であった。原因疾患は、敗血症96名（45%）、外傷30名（14%）、循環器系疾患20名（9%）、劇症肝炎21名（10%）、熱傷9名（4%）、その他38名（18%）で、生存例は147名（69%）、死亡例は67名（31%）であった。生存群は一般病棟への転棟もしくは転院と定義した。すべての死亡例は、TACCCで死亡した。全患者はルーチンで早期経腸栄養もしくは経腸栄養と経静脈栄養の併用により栄養管理が行なわれた。静脈栄養輸液にはグルタミンは含まれず、また、研究期間中には、積極的なグルタミンの投与は行われていなかった。経腸栄

養剤はカゼインから作られた標準的半消化態の経腸栄養剤が用いられ、わずかな量のグルタミンが含まれている成分栄養剤が使用された場合があった。患者背景として、APACHE（Acute Physiology Chronic health evaluation） II スコア*、人口呼吸器の使用の有無、持続的人工透析実施の有無、中心静脈栄養の施行の有無を調査した。さらに、BMI、TACCC在室日数、アミノ酸分析が行われた同日の血液生化学的検査値を診療録より抽出した。本研究は、大学病院の倫理委員会の承認を得て行った。

統計解析については3群間における解析は一元配置分散分析法の後Tukey-Kramer Testを用いた。死亡率、性別、人口呼吸器の使用の有無、持続的人工透析実施の有無、中心静脈栄養の施行の有無の解析はFisher's exact Test、2群間の解析にはpaired T-testを用い、有意水準は0.05とした。さらに、多重比較はTukey-Kramer Test、Fisher's exact Test、paired T-test で検出されたp値を使用してHolmの方法で有意水準を補正した。また、グルタミンを含む複数の因子の組合せから予後を予測するモデルを構築するために多重ロジスティック回帰分析を行った。統計処理にはXLSTAT 2014（マインドウエア総研株式会社）を用いた。

*APACHE（Acute Physiology Chronic health evaluation） II スコア

集中治療室入室患者における病態の重症度を客観的に評価するための予後予測法であり、【A】集中治療室入室後24時間以内に得られた生理学的パラメータ（体温、平均血圧、心拍数、呼吸数、動脈血酸素化、pH、血清ナトリウム、 血清カリウム、血清クレアチニン、ヘマトクリット値、白血球数、意識レベル）の評価、【B】年齢の評価、【C】合併する慢性疾患（心臓、肺、腎臓、肝臓、免疫系）に対する点数の総和として求める。点数が高いほど重症度は高いと判定される。

## 3. 結果

### 血漿グルタミン濃度と死亡率の関係

血漿グルタミン濃度の中央値は486 nmol/mL（105-5369 nmol/mL）であった。Figure 2-1に血漿グルタミン濃度と死亡率の関係を示す。グルタミン濃度に着目し、その濃度を100 nmol/mL毎に分割し8つの群に分け、それぞれの死亡率を比較した。グルタミン濃度が200 nmol/mL未満の患者群の死亡率は43%（3/7）、以下同様に200–299 nmol/mLで38%（9/24）、300–399 nmol/mLで40%（16/40）、400–499 nmol/mLで26%（11/42）、500–599 nmol/mLで20%（8/41）、600–699 nmol/mLで17%（5/30）、700–799 nmol/mLで46%（5/11）、800 nmol/mL以上で53%（10/19）であった。

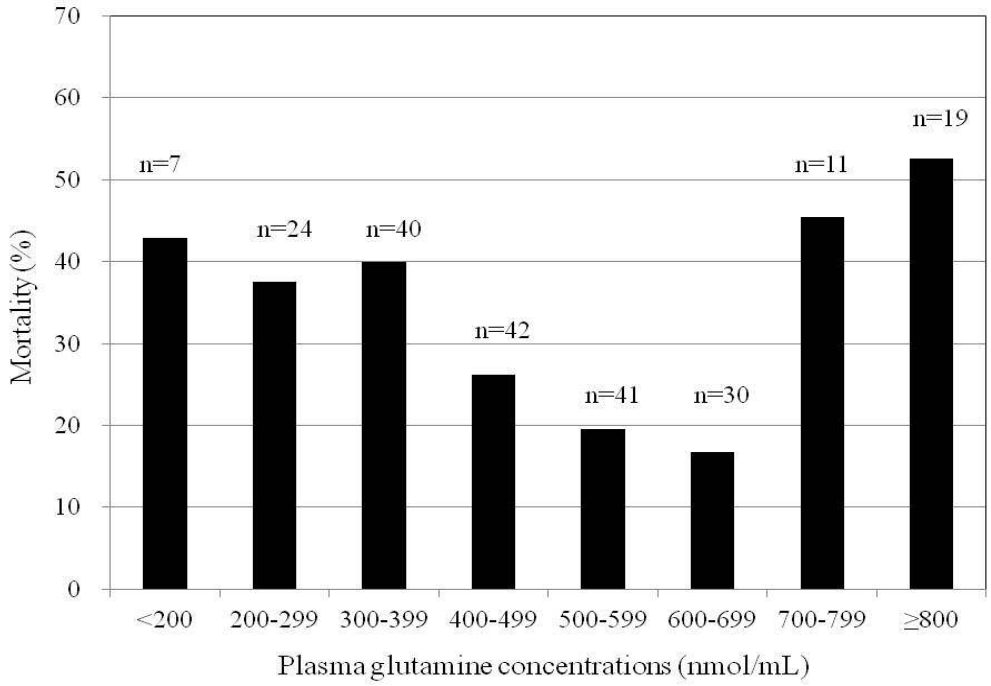

Figure 2-1 Relationship between Plasma Glutamine Concentrations and Mortality

死亡率は400 nmol/mL未満と700 nmol/mL以上で高い傾向を示した。そこで、グルタミン値が400 nmol/mL未満（L群：n=71）と400以上700 nmol/mL未満（M群：n=113）と700 nmol/mL以上（H群：n=30）の3群で死亡率を比較したところ、L群

とH群ではM群と比較して有意に高値であった（L群:p＜0.0333, H群:p＜0.0167）。死亡率は、L群で39%（28/71）、M群で21%（24/113）、H群で50%（15/30）であった（Table 2-1）。

Table 2-1 Plasma glutamine concentrations and mortality in the three groups

| Group | Number of Death | Mortality | p value |
|---|---|---|---|
| Group L (gln < 400 nmol/mL) n=71 | 28 | 39% | 0.0113* |
| Group M (400 ≤ gln < 700 nmol/mL) n=113 | 24 | 21% | - |
| Group H (gln ≥ 700 nmol/mL) n=30 | 15 | 50% | 0.0017** |

Variables are analyzed using Fisher's exact test. All p values were adjusted for multiple comparisons using by Holm-Bonferroni method. *, p < 0.0333 vs group M; **, p < 0.0167 vs group M. gln, glutamine

## 原因疾患と血液生化学的検査

Table 2-2に3つの群における原因疾患と血液生化学検査値を示す。いずれの群でも最も多い原因疾患は敗血症であった。外傷はL群で13%、M群で18%だったが、H群では3%であった。劇症肝炎は、H群で40%に対しL群、M群ではそれぞれ1%と7%だった。APACHE II スコア、BMI、白血球数、ヘモグロビン、血小板、尿素窒素、クレアチニンは3群間でほぼ同様であった。H群では血清ビリルビン値がM群に比べて高値であり、血清アスパラギン酸アミノ基転移酵素値（aspartate aminotransferase：AST）、血清アラニンアミノ基転移酵素値（alanine aminotransferase：ALT）もM群に比べて高かった。

Table 2-2 Diagnosis and Clinical Data of the Three Groups

| | Group L (gln<400 nmol/mL) (n=71) | Group M (400≤gln<700 nmol/mL) (n=113) | Group H (gln≥700 nmol/mL) (n=30) |
|---|---|---|---|
| Age, y. Median (range) | 63 (21-90) | 65 (20-91) | 62 (20-97) |
| Male/Female, No. | 51/20 | 67/46 | 15/15 |
| Diagnosis, No. (%) | | | |
| Sepsis | 41 (58) | 43 (38) | 12 (40) |
| Trauma | 9 (13) | 20 (18) | 1 (3) |
| Cardiovascular diseases | 6 (9) | 13 (12) | 1 (3) |
| Fulminant Hepatitis | 1 (1) | 8 (7) | 12 (40) |
| Burns | 3 (4) | 5 (4) | 1 (3) |
| Others | 11 (15) | 24 (21) | 3 (11) |
| APACHE Ⅱ | 19 ±9 | 19±9 | 17±8 |
| Body Mass Index, kg/m$^2$ | 24.6 ±5.5 | 22.8±5.9 | 23.0±6.3 |
| White blood cell count (×10$^3$/mm$^3$) | 12.2 ±6.2 | 10.7±9.6 | 11.2±4.0 |
| Hemoglobin, g/dL | 9.1 ±1.7 | 9.6±2.2 | 10.2±3.3 |
| Platelet count (×10$^3$/mm$^3$) | 186.6 ±170.0 | 222.1±182.3 | 152.8±121.5 |
| Blood urea nitrogen, mg/dL | 29.7 ±26.3 | 30.9±34.6 | 29.6±25.1 |
| Creatinine, mg/dL | 1.8 ±2.2 | 1.5±1.9 | 1.6±1.9 |
| Asparatate aminotransferase, U/L | 93 ±121 | 137±317 | 743±2184 |
| Alanine aminotransferase, U/L | 80 ±175 | 117±236 | 538±1068 |
| γ-glutamyl transpeptidase, U/L | 165 ±667 | 110±116 | 106±145 |
| Cholinesterase, U/L | 97 ±73 | 125±59 | 168±82 |
| Creatine phosphkinase, U/L | 784 ±2298 | 449±1166 | 225±262 |
| Total cholesterol, mg/dL | 94 ±41 | 120±40 | 144±43 |
| Total bilirubin, mg/dL | 3.4 ±6.4 | 1.8±3.6 | 5.0±7.1 |
| C-reactive protein, mg/dL | 13.6 ±7.5 | 7.6±7.2 | 3.3±5.4 |
| Albumin, g/dL | 1.9 ±0.8 | 2.2±0.7 | 2.7±0.7 |
| LOS, days | 54 ±56 | 46±37 | 37±38 |
| Hemodialysis, No.(%) | 25 (35) | 20 (18) | 14 (47) |
| Mechanical Ventilation, No.(%) | 60 (85) | 79 (70) | 22 (73) |
| TPN use, No.(%) | 28 (39) | 20 (18) | 7 (23) |

Values are means±SD. APACHE Ⅱ, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Ⅱ; LOS, length of stay; TPN, total parenteral nutrition. H; gln, glutamine.

## 多重ロジスティック回帰分析による予後に影響する因子の検出

目的変数を患者アウトカム（死亡：0、生存：1）、説明変数を入室時に測定した23種類の血漿アミノ酸濃度ならびに入室時に測定した血漿グルタミン濃度が「400 nmol/mL未満または700 nmol/mL以上」であることの有無（2値変数）として解析を行った。23種類の血漿アミノ酸値のうち、Figure 2-1のようなU型、すなわち低濃度と高濃度の双方で高い死亡率を示したのはグルタミンのみであったため、2値変数を含めて解析を行った。23種類のアミノ酸として、グルタミン、アラニン、バリン、グリシン、リジン、セリン、ロイシン、プロリン、トレオニン、

ヒスチジン、フェニルアラニン、チロシン、タウリン、アスパラギン、イソロイシン、オルニチン、トリプトファン、アルギニン、シトルリン、グルタミン酸、メチオニン、シスチン、アスパラギン酸を用いた。変数減少法を用いて、これらの説明変数の中から患者アウトカムと有意に関連するものを特定した。その結果、最終モデルで、「グルタミンが400 nmol/mL未満または700 nmol/mL以上」ならびに血漿グルタミン酸濃度が統計学的に、生死と有意な相関がある因子として検出された（Table 2-3, Table 2-4）。

Table 2-3 Multiple logistic regression model with 2 variables

| | regression coefficient | standard error | Wald $\chi^2$ | p value | Odds ratio | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | -0.590 | 0.329 | | | | |
| Glutamate | 0.023 | 0.007 | 10.288 | 0.001 | 1.023 | 1.009－1.038 |
| Gln < 400 or Gln ≥ 700 nmol/mL | 0.829 | 0.318 | 6.771 | 0.009 | 2.290 | 1.227－4.276 |

Table 2-4 Multiple logistic regression model with 2 variables

| | standard partial regression coefficient | standard error | Wald $\chi^2$ | p value | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | -0.590 | 0.329 | | | |
| Glutamate | 0.5318 | 0.166 | 10.2880 | 0.001 | 0.2069－0.8568 |
| Gln < 400 or Gln ≥ 700 nmol/mL | 0.2281 | 0.088 | 6.7714 | 0.009 | 0.0563－0.3999 |

さらに、同様の手法を用いて、目的変数を患者アウトカム、説明変数をTable 2-2で示した血液生化学検査値ならびに血漿グルタミン値として多重ロジスティック回帰分析の変数減少法にて解析を行った結果、血漿グルタミン値、血清アルブミン値、血清尿素窒素値、血小板数が生死と有意な相関がある因子として検出され

た（Table 2-5, Table 2-6）。両モデルともに、説明変数間の共線性ならびに交互作用はなかった。また、Table 2-3ならびにTable 2-4で報告した血漿グルタミン値と血漿グルタミン酸値を説明変数とした多重ロジスティック回帰モデルの予測的中の確率は70.07%であり、Table 2-5ならびにTable 2-6で報告した血漿グルタミン値、血小板数、血清尿素窒素値、血清アルブミン値を説明変数としたモデルの予測的中の確率は76.17%であり、データとの十分な適合性、予測性を有するモデルであると評価する。

Table 2-5 Multiple logistic regression model with 4 variables

| | regression coefficient | standard error | Wald $\chi^2$ | p value | Odds ratio | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | 1.198 | 0.205 | 34.003 | | | |
| Glutamine | 0.582 | 0.164 | 12.574 | <0.001 | 1.789 | 1.297－2.468 |
| Platelet | 1.139 | 0.225 | 25.606 | <0.0001 | 3.123 | 2.009－4.855 |
| Blood urea nitrogen | 0.499 | 0.227 | 4.857 | 0.028 | 1.648 | 1.057－2.569 |
| Albumin | -1.112 | 0.250 | 19.778 | <0.0001 | 0.329 | 0.202－0.537 |

Table 2-6 Multiple logistic regression model with 4 variables

| | standard partial regression coefficient | standard error | Wald $\chi^2$ | p value | 95%CI |
|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | -0.590 | 0.329 | | | |
| Glutamine | -0.499 | 0.180 | 7.713 | 0.005 | -0.851－-0.147 |
| Platelet | 1.036 | 0.261 | 15.736 | <0.0001 | 0.524－1.548 |
| Blood urea nitrogen | -0.635 | 0.187 | 11.576 | 0.001 | -1.001－-0.269 |
| Albumin | 1.181 | 0.237 | 24.875 | <0.0001 | 0.717－1.645 |

グルタミン濃度の経時的な変化

再評価のためのグルタミン濃度の測定は、92名の患者が、平均で29日後に、行われた。各群をさらに生存例と死亡例のサブグループに分け比較した。A点は、入室後1回目の測定ポイントであり、B点は2回目の測定ポイントである。L群では、A点に比べてB点では、生存例、死亡例ともにグルタミン濃度の平均値が有意に上昇した（生存：308±78 vs. 494±141 nmol/mL; $p<0.001$）（死亡：326±72 vs. 564±253 nmol/mL $p<0.001$；Fig 2-2）。L群でB点でのグルタミン濃度が400以上700 nmol/ml未満の範囲まで復帰した患者の割合は、生存群では71%、死亡群では47%であった。M群では生存例、死亡例ともにA点とB点でグルタミン濃度の平均値に有意差はなかった。H群の3名の生存者はいずれもグルタミン値が低下しているが（1253-761、2460-816、3894-828 nmol/mL）、死亡例ではグルタミン値はほとんどが高値のままであった。

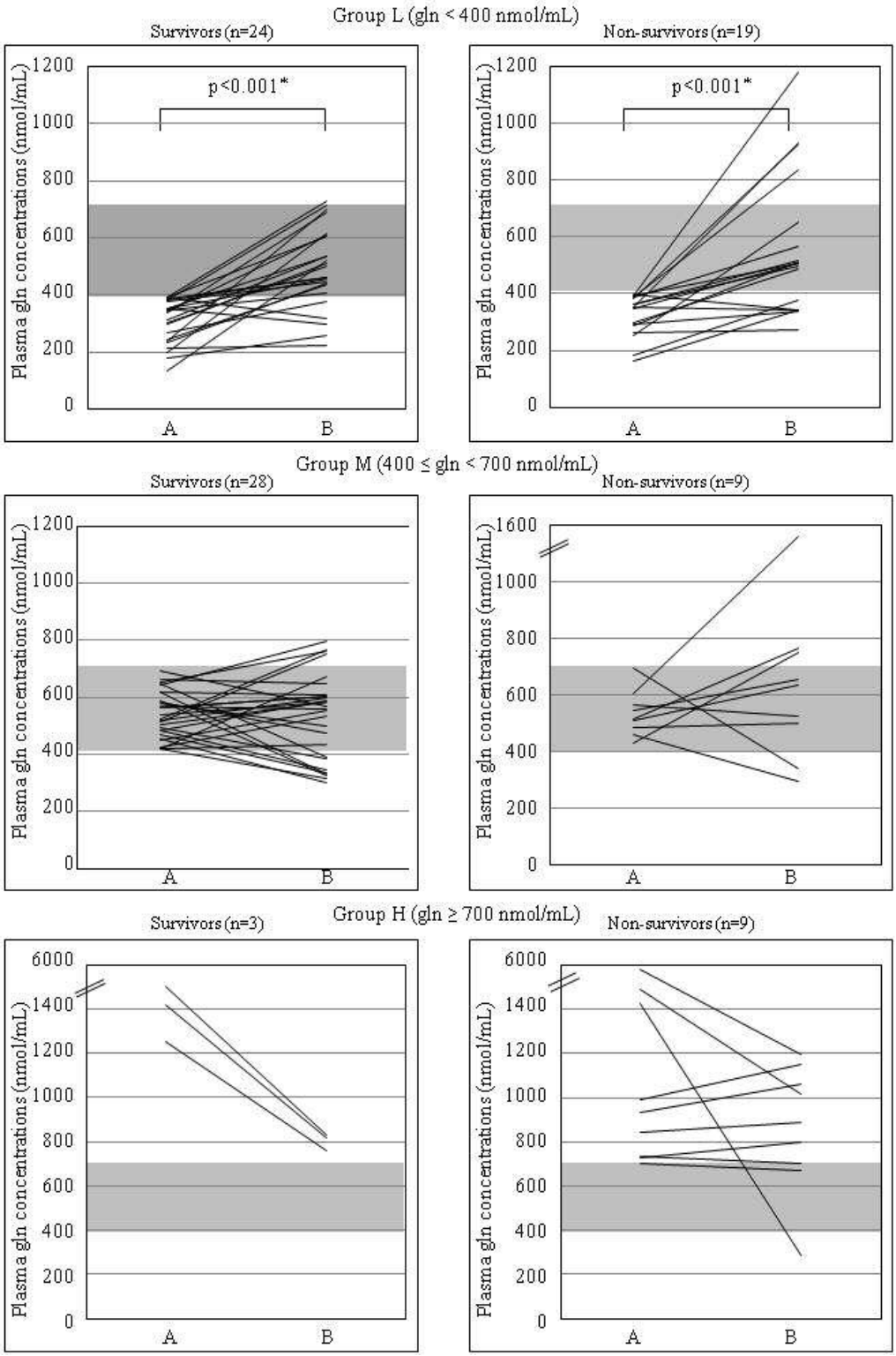


Fig 2-2 Time-dependent change in plasma glutamine concentrations in surviving and non-surviving patients

A, initial blood sampling; B, second blood sampling; Solid bars represent plasma glutamine levels in group M (400-700 nmol/mL); gln, glutamine.

## 4. 考察

本研究により、大学病院高度救命救急センターではグルタミン濃度が400 nmol/mL未満と700 nmol/mL以上の患者は400 nmol/mL以上700 nmol/mL未満の患者に比べて有意に死亡率が高いことが示された。先行研究により、低グルタミン濃度がICU患者のICU死亡率を高めることや[63]、ICU入室時に低グルタミン濃度であることが、退室後の死亡のリスクファクターとなるため、ICU入室中ならびに退室後において積極的なグルタミンの投与が必要である[61]などの報告があり、本研究でも同様の知見が得られた。しかし、入室時にグルタミン濃度が高い患者も死亡率が高いという報告は、非常に少ない[63]。

通常、TACCCやICUにおける重症患者の病態の重症度や予後を予測するためにAPACHE IIスコアが汎用されている。本研究では、APACHE IIスコアはL群で19±9、M群で19±9、H群で17±8と3群間で差は見られなかった。よって、グルタミン濃度とAPACHE IIスコアの相関性はないと考えられ、血漿グルタミンはAPACHE IIスコアとは関連のない独立した予後因子となると推察される。実際、今回のデータは、APACHE IIスコアは同等であっても、グルタミン値が400以上700 nmol/mL未満である患者群に比較し、L群では死亡率が1.9倍、H群では2.4倍となった。

本研究では、単変量解析のみならず、多変量解析においてもグルタミンは患者アウトカムの有意な予測因子であることが示された。多重ロジスティック回帰モデルでは、生体内で必要とされるアミノ酸23種類の内、TACCC入室時の血漿グルタミン値が400 nmol/mL未満もしくは700 nmol/mL以上であり、血漿グルタミン酸濃度が低いときにTACCCでの死亡率が高くなることを示しており、その的中率は70%であった。さらに、回帰モデルより、入室時の血漿グルタミン値が400 nmol/mL

未満もしくは700 nmol/mL以上である患者の死亡率は、血漿グルタミン値が400 nmol/mL以上700 nmol/mL未満の患者の2.3倍であることを示唆している。先に述べたように、グルタミンとグルタミン酸は生体内でグルタミナーゼとグルタミンシンセターゼの2つの酵素により互いに変換され密接な関係にある。Poezeらは急性肝不全を合併した終末期の敗血症ショックの病態は血漿グルタミン酸濃度の低下とグルタミン酸のグルタミンに対する比（グルタミン酸/グルタミン）によって予測できると報告している[67]。本研究の被験者のうち、H群患者の40%は原疾患が敗血症であることを考えると、血漿グルタミン値は、肝不全を合併した敗血症患者の予後予測に適していると考えられる。また、血液生化学検査値と血漿グルタミン値を説明変数としたモデルでは、血漿グルタミン値、血小板数、血清尿素窒素値、血清アルブミン値が患者アウトカムに対し有意な予測因子であることが検証された。また、同時に、血漿グルタミン値と血清尿素窒素値が高く、血小板数と血清アルブミン値が低い場合に死亡率が高くなることが示された。H群では劇症肝炎の患者が40%を占め、肝機能の指標となる血清ビリルビン値、血清アスパラギン酸アミノ基転移酵素値（aspartate aminotransferase：AST）、血清アラニンアミノ基転移酵素値（alanine aminotransferase：ALT）もM群に比べて高かったにもかかわらず、そのいずれも患者アウトカムに対して有意な予測因子とならなかった。実際、医療現場では発症10日以内の急性期の劇症肝炎では、AST、ALTが鋭敏なパラメータとならない症例も見られる。このような症例では、ASTやALTに代わってグルタミンが急性肝炎の劇症化をいち早く予測する因子となる可能性もある。しかし、この可能性を検証するためには、さらに多くの症例でプロスペクティブな臨床研究が必要である。救急症例では、播種性血管内凝固症候群（disseminated intravascular coagulation : DIC）を合併する患者が多い。本来、出血

箇所のみで生じるべき血液凝固反応が、全身の血管内で無秩序に起こる症候群である。 早期診断と早期治療が求められる重篤な状態である。全身血管内における持続性の著しい凝固活性化により微小血栓が多発し、進行すると微小循環障害による臓器障害をきたすとともに、凝固因子・血小板が使い果たされる。敗血症や外傷に合併することが多い。ロジスティック回帰モデルでは、血小板数が低いほど死亡率が高くなることが示されている。さらに、救急症例では、腎不全を合併する患者が多く、透析を余儀なくされる場合が発生し、本研究においても、L群患者の35%が、H群患者の47%が透析を施行されている。M群患者の18%に比較して高い透析率を示している。回帰モデルが示すように、腎機能の指標である血清尿素窒素値が高いほど死亡率が高くなることと一致している。血清アルブミン値は、M群、H群と比較するとL群で低くその平均が1.9であることから、極度の低栄養であることが予測される。回帰モデルでは、血清アルブミン値が低いほど死亡率が高くなることを示している。代謝性のストレス下に生体が置かれた時、血液中のグルタミンの臓器間の移動に変化が現れる[68]。重症症例では、骨格筋からグルタミンが放出され、その細胞活動にグルタミンが不可欠である免疫細胞や、腸管上皮細胞に供給されることが非常に重要である。しかし、急性膵炎、熱傷、敗血症、低栄養の患者の血漿グルタミン値は低下するとの報告がある[69]。本研究では、L群ではM群やH群に比べて、血清アルブミン値と血清コレステロール値が低く低栄養状態にあり、グルタミンが低値を示すことも低栄養が関係していると考えられる。グルタミンは非必須アミノ酸であるにも関わらず、枯渇し、グルタミンにエネルギー源を依存する細胞の障害を引き起こし、病態を悪化させる。実際、グルタミンの欠乏は、小腸粘膜を萎縮させ、消化管における免疫バリア機能を障害する。この現象はL群の示す高い死亡率に関与していると考える。

血漿グルタミン濃度が700 nmol/mL以上であった30名の患者群の死亡率は50%であった。血漿グルタミン濃度の増加は通常、筋肉からのグルタミンの放出増加もしくは肝臓でのグルタミンの取り込みの減少が考えられる[14]。H群では40%の患者が劇症肝炎でL群、M群に比して多く、また、血清アスパラギン酸アミノ基転移酵素値、血清アラニンアミノ基転移酵素値、血清ビリルビン値も高いという結果を得た。これは、劇症肝炎により広範囲にわたり肝細胞が障害され、グルタミンの肝臓での取り込みが減少し、血漿グルタミン値が上昇したと考えられる。血清クレアチンリン酸キナーゼ値（creatine phosphokinase : CPK）は骨格筋の損傷によるグルタミンの筋組織からの放出の指標となる[63]。H群における血清クレアチンリン酸キナーゼ値は平均225 U/Lであり、L群（784 U/L）とM群（449 U/L）に比べて低い傾向にある。しかしながら、グループ間の血清クレアチンリン酸キナーゼ値に有意差はなく、筋組織からのグルタミンの放出がH群での血漿グルタミン値が高値であることの大きな要因とはならないと考えられる。

重症症例で、低グルタミン値や高グルタミン値が可逆的に変動するかどうかについては未だ報告がない。L群の生存者のうち71%の患者の血漿グルタミン値は正常域まで回復した。しかし、死亡例で血漿グルタミン値が正常域まで回復した患者は47%であった。H群の生存例3名は、いずれもグルタミン値は顕著に低下しているが、死亡例では、そのほとんどが高値のままとどまっている。これらのデータはグルタミン値が高い患者のアウトカムは血漿グルタミン値が正常域まで戻るかどうかに影響される可能性を示している。実際に、劇症肝炎でグルタミンが高値であった症例でもグルタミン値が正常域近くまで回復した場合にはアウトカムの改善が見られた。したがって、特にグルタミン値が低値もしくは高値である症例では、グルタミン濃度を再評価することにより、アウトカムをより正確に予測

できる可能性が示された。ICUの重症患者にグルタミンを投与することは、ESPENでも推奨されているが[7]、本研究により、ICU入室時には血漿グルタミン値を測定してから、投与の必要性を決定することと、再評価を行うことの重要性が示唆された。

TACCCの重症患者にグルタミンを投与することにより、救命率が改善するかどうかは未だ不明である。ICUの多発性外傷症例にグルタミンを投与すると感染症の合併症が減少し[70]、重症患者の6カ月後のアウトカムを改善したという報告がある[66]。田附らは、ラットにおいてジペプチドのアラニルグルタミンを含有したTPNを投与したところ小腸の虚血再灌流障害後の粘膜障害を形態的、機能的に保護したと報告している[71]。栄養不良や急性期の代謝性ストレスに関係する血漿グルタミン濃度の低下は、十分なグルタミンが供給されないため、消化管のバリア機能や免疫機能を障害する。それゆえに、グルタミン濃度が低値を示す患者に対しては、グルタミン投与が免疫細胞や腸管上皮細胞の機能を維持し、ひいては患者のアウトカムを改善する可能性がある。しかし、TACCCの患者に対して、グルタミンを投与することの有用性を確かめるためにはプロスペクティブな臨床試験が必要である。本研究により、高度侵襲症例において、血漿グルタミン値が低値であることと高値であることの両方が患者アウトカムのリスクファクターとなることが確認された。血漿グルタミン濃度を再評価することが患者のアウトカムをより正確に予測することにつながる可能性を示唆した。今後、血漿グルタミン値がバイオマーカーとして高度侵襲下の患者の病態や予後予測に用いられ、救命率の向上に役立つことを期待する。

## 5. 小括

・高度救命救急センターでは、血漿グルタミン濃度が400 nmol/mL未満の患者群（L群）と、700 nmol/mL以上の患者群（H群）は、400 nmol/mL以上700 nmol/mL未満の患者（M群）に比べて有意に死亡率が高かった

・血漿グルタミン濃度が患者アウトカムの有意な予測因子であることが検証された

・L群では、最初の測定A点に比べて2回目の測定B点でグルタミン濃度が有意に上昇し、400以上700 nmol/mL未満まで回復した患者は、生存群では71%、死亡群では47%であった

・H群では、生存例3名は時間の経過とともにグルタミン濃度が低下したが、死亡例では多くの患者で高値のままであった

# 結論

グルタミンは、頭頸部癌患者の化学放射線療法による口腔粘膜炎の重症度を有意に軽減し、その有用性、ならびに安全性が確認された。また、救急症例において、グルタミンの血中濃度を測定することにより、患者の予後を予測しうる可能性が示唆され、その有用性が確認された。今後、さらに、グルタミンの臨床研究により、その有用性のエビデンスを構築し、安価で安全なグルタミンが、栄養素を越えた薬剤“Pharmaco-nutrient”として医療現場で使用されることにより、侵襲度の高い治療を余儀なくされている患者のQOLの改善や、治療効果、救命率の向上のための一助となることを期待する。

謝辞

本研究を行うにあたり、終始懇切なご指導ならびにご鞭撻を賜りました大阪大学大学院薬学研究科医療薬学分野教授　上島悦子先生に深甚なる謝意を表します。

本研究を行うにあたり、臨床試験にご参加いただいた患者さんとその家族の方々に心より厚く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、臨床試験薬の準備にご協力をいただき、終始懇切なご指導ご鞭撻を賜りました大阪大学大学院薬学研究科医療薬学分野　津金麻実子助教、仁木一順助教に深謝の意を表します。

本研究を行うにあたり、臨床試験の立案、割付、統計解析に関し多大なるご尽力をいただき終始懇切なご指導ご鞭撻を賜りました大阪大学大学院薬学研究科情報・計量薬学分野教授　高木達也先生に深甚なる謝意を表します。

本研究の機会を与えていただき、臨床試験の計画、実施、終了後のまとめ、論文執筆に至るまで全般にわたり終始懇切なご指導ならびにご鞭撻を賜りました大阪大学大学院医学系研究科生体機能補完医学講座教授　伊藤壽記先生に深甚なる謝意を表します。

本研究を行うにあたり、臨床試験の立案、実施、アミノ酸分析に関するご指導、論文執筆に至るまで全般にわたり終始懇切なご指導ならびにご鞭撻を賜りました大阪大学大学院医学系研究科小児成育外科学准教授　和佐勝史先生に深甚なる謝意を表します。

本研究の機会を与えていただき、アミノ酸分析に関するご指導、データ収集、論文執筆に至るまで全般にわたり終始懇切なご指導ご鞭撻を賜りましたハーバード大学医学部　清水健太郎先生に深甚なる謝意を表します。

本研究を行うにあたり、臨床試験にご協力をいただきました大阪大学大学院医

学系研究科耳鼻咽喉科頭頸部外科教授　猪原秀典先生をはじめとし、　山本佳史先生、竹中幸則先生、中原晋先生、多くの専攻医の先生方に深甚なる謝意を表します。

本研究を行うにあたり、臨床試験にご協力をいただきました大阪大学医学部附属病院東13階耳鼻咽喉科頭頸部外科病棟の三木佐登美看護師長，圓見千代看護師長をはじめとする看護師の皆様に深甚なる謝意を表します。

本研究を行うにあたり、臨床試験にご協力をいただき終始懇切なご指導を賜りました大阪大学大学院医学系研究科生体機能補完医学講座　前田和久先生、林紀行先生、講座スタッフの皆様に深甚なる謝意を表します。

本研究を行うにあたり、臨床試験にご協力をいただきました大阪大学医学部附属病院栄養サポートチームの皆様に心より厚く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、ご協力ご援助をいただきました大阪大学薬学部医療薬学分野の皆様に心より厚く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、臨床試験に用いたグルタミンをご提供いただきました米国エマウスメディカル株式会社様、CEO新原豊先生に厚く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、臨床試験に用いたプラセボをご提供いただきました松谷化学工業株式会社様に厚く御礼申し上げます。

本研究に際し、ご援助ご激励を賜りました神戸学院大学薬学部の先生方に心より厚く御礼申し上げます。

最後に、本研究を行うにあたり、多くの励ましの言葉をいただき、始終温かく見守り支え続けてくれた夫をはじめとする家族の皆様に心から厚く御礼を申し上げます。

参考文献


1. Cetinbas F, Yelken B, Gulbas Z: Role of glutamine administration on cellular immunity after total parenteral nutrition enriched with glutamine in patients with systemic inflammatory response syndrome. J Crit Care. 2010;25:661.e1-6.doi: 10.1016/j.jcrc.2010.03.011.
2. Duggan C, Gannon J, Walker WA: Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr. 2002;75:789-808.
3. Reeds PJ, Burrin DG: Glutamine and the bowel. J Nutr. 2001;131(9 Suppl): S2505-S2508.
4. Alpers DH: Glutamine: do the data support the cause for glutamine supplementation in humans? Gastroenterology. 2006;130(2 Suppl 1):S106-116.
5. Lacey JM, Wilmore DW: Is glutamine a conditionally essential amino acid? Nutr Rev. 1990;48:297-309.
6. Savarese DM, Savy G, Vahdat L, et al: Prevention of chemotherapy and radiation toxicity with glutamine. Cancer. 2003;29:501-513.
7. Singer P, Berger MN, Van den Berghe G, et al:ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition:Intensive Care. Clin Nutri. 2009;28:387-400.
8. Stumvoll M, Perriello G, Meyer C, Gerich J: Role of glutamine in human carbohydrate metabolism in kidney and other tissues. Kidney Int. 1999;55:778-792.
9. Hall JC, Heel K, McCauley R: Glutamine. Br J Surg. 1996;83:305-312.
10. Higashiguchi T, Hasselgren PO, Wagner K, et al: Effect of glutamine on protein synthesis in isolated intestinal epithelial cells. JPEN J Parenter enteral Nutr. 1993; 17:307-314.
11. Ziegler T, benfell K, Smith R, et al: Safety and metabolic effects of L-glutamine administration in humans. JPEN J Parenter enteral Nutr. 1990;14:S137-S146.
12. Pignon JP, Bourhis J, Domenge C, et al: Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: three meta-analyses of updated individual data. MACH-NC Collaborative group. Meta-Analysis of chemotherapy of head and Neck Cancer. Lancet. 2000;355:949-955.
13. Forastiere AA, Trotti A: Radiotherapy and concurrent chemotherapy: A strategy that improves locoregional control and survival in oropharyngeal cancer. J Nat Cancer

Inst. 1999;91:2065-2066.
14. Groome PA, O'Sulliva B, Mackillop WJ, et al: Compromised local control due to treatment interruptions and late treatment breaks in early glottis cancer: population-based outcomes study supporting need for intensified treatment schedules. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2006;64:1002-1012.
15. Urba SG: Concurrent chemotherapy in head and neck cancer. Curr Oncol Rep. 1999; 1:105-109.
16. Lee JH, Machtay M, Unger LD, et al: Prophylactic gastrostomy tubes in patients undergoing intensive irradiation for cancer of the head and neck. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1998;124:871-875.
17. Groome PA, O'Sulliva B, Mackillop WJ, et al: Compromised local control due to treatment interruptions and late treatment breaks in early glottis cancer: population-based outcomes study supporting need for intensified treatment schedules. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2006;64:1002-1012.
18. Rosenthal DI, Trotti A: Strategies for managing radiation-induced mucositis in head and neck cancer. Radiat Oncol. 2009;19:29-34.
19. Keefe DM, Schubert MM, Elting LS, et al: Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. Cancer. 2007;109:820-831.
20. Quinn B, Potting CM, Stone R, et al: Guideline for the assessment of oral mucositis in adult chemotherapy, radiotherapy and haematopoetic stem cell transplant patients. Eur J Cancer. 2008;44:61-72.
21. Le QT, Kim H, Schneider CJ, et al: Palifermin reduces Severe Mucositis in Definitive Chemoradiotherapy of Locally Advanced Head and Neck Cancer: A Randomized, placebo-controlled Study. J Clin Oncol. 2011;29:2808-2814.
22. Henke M, Alfonsi M, Foa P, et al: Palifermin decreases severe oral mucositis of patients undergoing postoperative Radiochemotherapy for head and neck cancer: A Randomized, placebo-controlled trial. J Clin Oncol. 2011;29:2815-2820.
23. Spielberger R, Stiff P, Bensinger W, et al: Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. N Engl J Med. 2004;351:2590-2598.
24. Huang EY, Leung SW, Wang CJ, et al: Oral glutamine to alleviate radiation-induced oral mucositis: a pilot randomized trial. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2000;46:535-539.

25. Skubitz KM, Anderson PM: Oral glutamine to prevent chemotherapy induced stomatitis: a pilot study. J Lab Clin Med. 1996;127:223-228.
26. Jebb SA, Marcus R, Elia M: A pilot study of oral glutamine supplementation in patients receiving bone marrow transplants. Clin Nutr. 1995;14:162-165.
27. Van Zaanen HC, Van der Lelie H, Timmer JG, et al: Parenteral glutamine dipeptide supplementation does not ameliorate chemotherapy-induced toxicity. Cancer. 1994; 74:2879-2884.
28. Jebb SA, Osborne RJ, Maughan TS, et al: 5-Fluorouracil and folinic acid-induced mucositis: no effect of oral glutamine supplementation. Br J Cancer. 1994; 70:732-735.
29. Anderson PM, Schroeder G, Skubitz KM: Oral glutamine reduces the duration and severity of stomatitis after cytotoxic cancer chemotherapy. Cancer. 1998; 83:1433-1439.
30. Cerchietti LC, Navigante AH, Lutteral MA, et al: Double-blinded, placebo-controlled trial on intravenous L-alanyl-l-glutamine in the incidence of oral mucositis following chemoradiotherapy in patients with head-and-neck cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2006;65:1330-1337.
31. Smith RJ: Glutamine metabolism and its physiologic importance. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 1990;14(4 Suppl):S40-S44.
32. Bellon G, Monboisse JC, Randoux A, et al: Effects on preformed proline and proline amino acid precursors (including glutamine) on collagen synthesis in human fibroblast cultures. Biochim Biophys Acta. 1987;930:39-47.
33. Bellon G, Chaqour B, Wegrowski Y, et al: Glutamine increases collagen gene transcription in cultured human fibroblasts. Biochem Biophys Acta. 1995;1268:311-323.
34. Alverdy JA, Aoys E, Weiss-Carrington P, et al: The effect of glutamine-enriched TPN on gut immune cellularity. J Surg Res. 1992;52:34-38.
35. Leitao RFC, Ribeiro RA, Lira AMS, et al: Glutamine and L-alanyl-glutamine accelerate the recovery from 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis in hamster. Cancer Chemother Pharmacol. 2008;61:215-222.
36. Nose S, Wasa M, Tazuke Y, et al: Cisplatin upregulates glutamine transport in human intestinal epithelial cells: The protective mechanism of glutamine on intestinal mucosa after chemotherapy. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2010;34:530-537.

37. Topkan E, Yavuz MN, Onal C, et al: Prevevtion of acute radiation-induced esophagitis with glutamine in non-small cell lung cancer patients treated with radiotherapy: Evaluation of clinical and dosimedric parameters. Lung Cancer. 2009;63:393-399.
38. Daniele B., Perrone F, Gallo C, et al: Oral glutamine in the prevention of fluorouracil induced intestinal toxicity a double blind, placebo controlled, randomized trial. Gut. 2001;48:28-33.
39. Aquino VM, Harvey AR, Garvin JH, et al: A double-blind randomized placebo-controlled study of oral glutamine in the prevention of mucositis in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation: A pediatric blood and marrow transplant consortium study. Bone Marrow Transplant. 2005;36:611-616.
40. Blijevens NM, Donnelly JP, Naber AH, et al: A randomized, double-blinded, placebo-controlled, pilot study of parenteral glutamine for allogeneic stem cell transplant patients. Support Care Cancer. 2005;13:790-796.
41. Piccirillo N, De Matteis S, Sora F, et al: Glutamine parenteral supplementation in stem cell transplant. Bone Marrow Transplant. 2004;33:455-457.
42. Sykorova A, Horacek J, Zak P, et al: A randomized double blind comparative study of prophylactic parenteral nutritional support with or without glutamine in autologous stem cell transplantation for hematological malignancies: Three years' follow-up. Neoplasm. 2005;52:476-482.
43. Ziegler TR, Young LS, Benfell K, et al: Clinical and metabolic efficacy of glutamine-supplemented parenteral nutrition after bone marrow transplantation: A randomized double-blind, controlled study. Ann Intern Med. 1992;116:821-828.
44. Young LS, Bye R, Scheltinga M, et al: Patients receiving glutamine-supplemented intravenous feedings report an improvement in mood. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 1993;17:422-427.
45. Schloerb PR, Amare M: Total parenteral nutrition with glutamine in bone marrow transplantation and other clinical applications: A randomized, double-blind study. JPEN J Pareter Enteral Nutr. 1993;17:407-413.
46. Coghlin Dickson TM, Womg RM, Offrin RS, et al: Effect of oral glutamine supplementation during bone marrow transplantation. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2002;24:61-66.
47. Peterson DE, Jones JB, Petit RG: Randomized, placebo-controlled trial of Saforis for

prevention and treatment of oral mucositis in breast cancer patients receiving anthracycline-based chemotherapy. Cancer. 2007;109:322-31.

48 Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, et al: Molecular mechanisms of glutamine action. J Cell Physiol. 2005;204:392-401.

49. Sonis ST, Elting LS, Keefe D, et al: Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury. Cancer. 2004;100(suppl 9):1995-2025.

50. Leitao RFC, Ribeiro RA, Lira AMS, et al: Glutamine and L-alanyl-glutamine accelerate the recovery from 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis in hamster. Cancer Chemother Pharmacol. 2008;61:215-222.

51. Okabe S. Takeuchi K, Nakamura K, et al: Inhibitory effect of L-glutamine on the aspirin-induced gastric lesions in the rat. Pharm Pharmacol. 1974;26:605-611.

52. Bellon G, Monboisse JC, Randoux A, et al: Effects on preformed proline and proline amino acid precursors (including glutamine) on collagen synthesis in human fibroblast cultures. Biochim Biophys Acta. 1987;930:39-47.

53. Bellon G, Chaqour B, Wegrowski Y, et al: Glutamine increases collagen gene transcription in cultured human fibroblasts. Biochem Biophys Acta. 1995;1268:311-323.

54. Turner P: Providing optimal nutritional support on the intensive care unit: key challenges and practical solutions. Proc Nutr Soc. 2010;69:571-581.

55. Giamarellos-Bourboulis EJ, Van de Veerdonk FL, Mouktaroudi M, Raftogiannis M, Antonopoulou A, Josten LA, Pickkers P, Savva A, Georgitsi M, van der Meer JW, Netea MG: Inhibition of caspase-1 activation in Gram-negative sepsis and experimental endotoxemia. Crit Care. 2011;15:R27:1-11.

56. Genton L, Pichard C: Protein catabolism and requirements in severe illness. Int J Vitam Nutr Res. 2011;81:143-52.

57. Stroud M: Protein and the critically ill; Do we know what to give? Proc Nutr Soc. 2007;66:378-83.

58. Rennie MJ: Anabolic resistance in critically ill patients. Crit Care Med. 2009;37: S398-S399.

59. Hasselgren P, Fischer J: Muscle cachexia:current concepts of intracellular mechanisms and molecular regulation. Ann Surg. 2001;233:9-17.

60. Streat S, Beddoe A, Hill G: Aggressive nutritional support does not prevent protein

loss despite fat gain in septic intensive care patients. J Trauma.1987;27:262-266.
61. Villet S, Chiolero RL, Bollmann MD, et al: Negative impact of hypocaloric feeding and energy balance on clinical outcome in ICU patients. Clin Nut. 2005;24:502-509.
62. Griffiths RD: Specialized nutrition support in critically ill patients. Curr Opin Crit Care. 2003;9:249-259.
63. Rodas PC, Rooyackers O, Hebert C, et al:Glutamine and glutathione at ICU admission in relation to outcome. Clin Sci. 2012;122:591-597.
64. Tjäder I, Rooyackers O, Forsberg AM, et al: Effects on skeletal muscle of intravenous glutamine supplementation to ICU patients. Intensive Care Med. 2004;30:266-275.
65. Oudemans-van Straaten HM, Bosman RJ, Treskes M, et al: Plasma glutamine depletion and patient outcome in acute ICU admissions. Intensive Care Med. 2001;27:84-90.
66. Goeters C, Wenn A, Mertes N, et al: Parenteral L-alanyl-L-glutamine improves 6-month outcome in critically ill patients. Crit Care Med. 2002;30:2032-2037.
67. Poeze M, Luiking YC, Breedveld P, et al: Decreased plasma glutamate in early phases of septic shock with acute liver dysfunction is an independent predictor of survival. Clin Nutr. 2008;27:523-530.
68. Vante JP, von Meyenfeldt MF, van Eijk HM, et al: Plasma amino acid profiles in sepsis and stress. Ann Surg.1989;209:57-62.
69. van der Hulst RR, von Meyenfeldt MF, Deutz NE, et al: Glutamine extraction by the gut is reduced in depleted patients with gastrointestinal cancer. Ann Surg.1997;225:112-121.
70. Houdijk AP, Rijnsburger ER, Jansen J, et al: Randomized trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. Lancet. 1998;352:772-776.
71. Tazuke Y, Wasa M, Shimizu Y, et al: Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition prevents intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. JPEN J Parenter Enteral Nutr.2003;27:110-115.