

令和元年6月18日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10037

研究課題名(和文) リゾリン脂質の外科侵襲後炎症性生体反応への関与とその治療応用

研究課題名(英文) The association of lysophospholipids and postoperative inflammatory host responses.

研究代表者

松田 明久 (Matsuda, Akihisa)

日本医科大学・医学部・病院講師

研究者番号：00366741

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：リゾリン脂質は新規脂質メディエーターとして、多彩な病態に関与することが報告されている。我々は、抗炎症作用を有するリゾフォスファチジルコリン(LPC)に注目し外科的侵襲後の生体反応への関与を検討してきた。手術侵襲を受けた生体ではIL-6産生などの過剰な炎症性生体反応が術後合併症の主要機序である。今回の検討から消化器手術後血中LPC値は低下するが、その低下程度が炎症性生体反応の多寡を制御していること、その機序として基質であるPCの細胞膜から血中への遊離抑制が関与していることを示した。また、術後合併症に関する検討で、LPCの術後低下率が有用な術後合併症の予測マーカーとなることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低侵襲手術の流布や周術期管理の進歩にあっても、術後合併症は一定頻度で発生し術後在院期間の延長、医療費の増大、患者QOLの低下につながる。近年、リゾリン脂質を中心とした脂質メディエーターの様々な疾患病態への関与が報告されており、その治療応用性が大きく期待されている。今後、外科手術対象となる患者の高齢化、poor riskは避けられず、有効な術後合併症の予測マーカーや予防効果が期待できるターゲット開発は非常に重要である。その点からも、本研究の意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Lysophosphatidylcholine (LPC), an abundant lysophospholipid, modulates immune responses via its anti-inflammatory property. We clarified the major role of LPC in the regulation of postoperative inflammatory host responses, which is an important mechanism of postoperative complications (POC). Surgical stress induces the dramatic reduction of circulating LPC levels in a degree-dependent manner, which could be an initiator of exaggerated inflammatory host responses. In the comparison of patients with/without POC, LPC levels were suppressed throughout the postoperative periods in the POC group. The postoperative alterations of LPC had an impact for the POC prediction. Decreased PC supply to circulation is a mechanism of postoperative LPC decrease.

研究分野：手術侵襲

キーワード：手術侵襲 術後合併症 リゾリン脂質 脂質メディエーター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

手術侵襲などによる組織障害や感染が生じた生体では、障害・感染を受けた部位のみならず全身から様々な外因性・内因性のメディエーターが放出され、炎症性生体反応が惹起される。炎症性生体反応は本来、外的障害に対する生体の生理的な応答反応であり組織修復、免疫賦活に重要な役割を担っている。しかし、その炎症性生体反応が各生体において相対的過剰となると、免疫抑制、細胞機能障害から術後合併症の要因となる。最近、全世界では年間420万人が術死しており、その頻度(7.7%)は、虚血性心疾患(17.3%)、脳血管疾患(10.1%)に次ぐ死亡原因第3位であるとの衝撃的なデータが報告された。また、多くの消化器癌手術において、術後合併症の発生が腫瘍学的予後の悪化を招くことが報告されており、根治性のみを重視するのではなく、術後合併症を起こさない外科的治療の重要性が再認識されている。

脂質は、エネルギー源や生体膜構成成分としてのみならず、生理活性物質(脂質メディエーター)としての重要な役割を持つ。脂質メディエーターの中で、近年、第2世代の脂質メディエーターと言われるリゾリン脂質が様々な免疫応答を司り、種々の疾患の病態形成に関与していることが報告されている。しかし、脂質はゲノムに直接コードされておらず、機能解析が進まなかったという背景もあり、このリゾリン脂質の手術侵襲後の炎症性生体反応への関与は明らかにされていない。

2. 研究の目的

リゾリン脂質の中でも、数百 μM 濃度と最も血中に豊富に存在するリゾフォスファチジルコリン(lysophosphatidylcholine:LPC)に注目し、手術侵襲後の炎症性生体反応にいかに関与しているか、さらに術後合併症の発生への関与について検討した。

3. 研究の方法

待機的消化器外科手術(63例)を対象とした。施行手術の内訳は、低手術侵襲群(腹腔鏡下胆嚢摘出術:7例)、中等度手術侵襲群(大腸癌切除術:43例)、高度手術侵襲群(食道・肝臓膵癌手術:13例)。さらに、中等度手術侵襲群を、術後30日以内の術後合併症(Clavien-Dindo 1)の有無(なし:33例、あり:10例)の2群に分けて検討した。20歳未満の症例、活動性の感染症を有する症例、肝、腎、心臓器不全を有する症例は除外した。術前、術直後、術後(postoperative day:POD)1,3,5,7に末梢静脈血を採取し、酵素法にてLPCを酵素法、IL-6、フォスファチジルコリン(phosphatidylcholine:PC)、オートタキシン(autotaxin)をELISA(enzyme-linked immune sorbent assay)法にて測定した。血中LPC値は、術前値を1とし、術後値は、術前値との変化率で表した。連続変数は、平均値 \pm 標準誤差で表し、連続変数は、two-tailed Student's *t*-test および Mann-Whitney U test、分割変数は、 χ^2 test および Fisher's exact test、相関関係は、Spearman's rank correlation test で統計解析し、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。単変量解析で有意差を認めた因子を用いて多変量解析(ロジスティクス回帰分析)を行った。術後合併症の予測能に関しては、ROC解析(receiver operating characteristic)を用いた。本研究は、日本医科大学千葉北総病院倫理委員会の承認および各症例にはインフォームドコンセント得て行った。

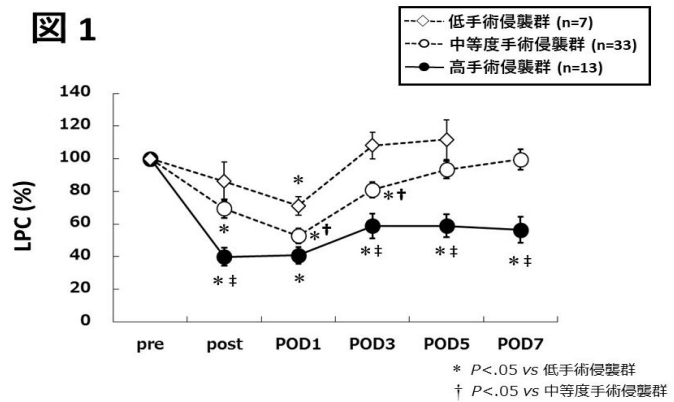
4. 研究成果

1) 血中LPC値の手術侵襲マーカーとしての意義

手術侵襲マーカーとしては、古典的に手術術式、手術時間、出血量、輸血量などの手術その

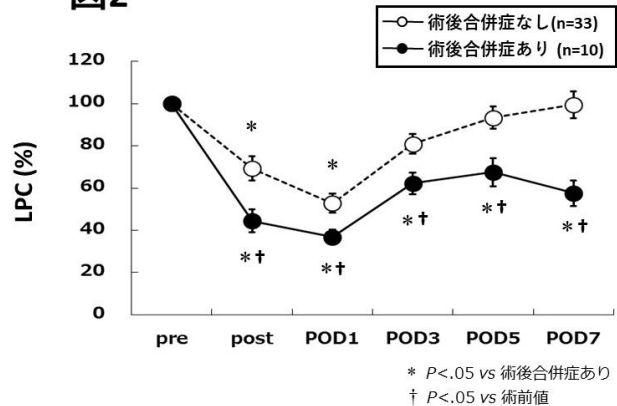
ものの定量と ,CRP などの急性相反応蛋白や(抗)炎症性サイトカインなどの手術侵襲に対する生体反応の定量化の2つがあるが,これまで有効,簡便なマーカーは存在しなかった。我々の検討においても,代表的な炎症性サイトカインである IL-6 は,ある程度の手術侵襲度を定量しうが,個体間の variation が大きく,評価が困難な面があった。そこで,今回,血中 LPC 値の手術侵襲マーカーとして意義を検討した。いずれの侵襲度群においても術後一過性の低下 (POD1 が最低) を認め,その低下の程度は侵襲度に依存し,その後経時的に回復していた。しかし,高度侵襲群では,POD7 においても術前値までの回復を認めなかった。したがって周術期における LPC 値は,生体が受けた侵襲度のバイオマーカーとなりうると考えられた (図 1)。

図 1



2) LPC 値と術後合併症の関係
消化器術後合併症の発生には,年齢,性別,栄養状態,免疫状態などの患者因子に加え,術式,手術時間,出血量などの手術侵襲因子との関連が報告されているが,これまで LPC に注目した検討はない。そこで,血中 LPC の変動が術後合併症の発生に関与しているかを検討するために,侵襲度を一定にすべく中等度手術侵襲群に限定し検討した。両群ともに POD1 まで低下し,その後経時的な回復傾向を示すが,合併症群では低下が深遠であり,全測定区間で術後合併症なし群に比べて有意に低値で推移した (図 2)。

図 2

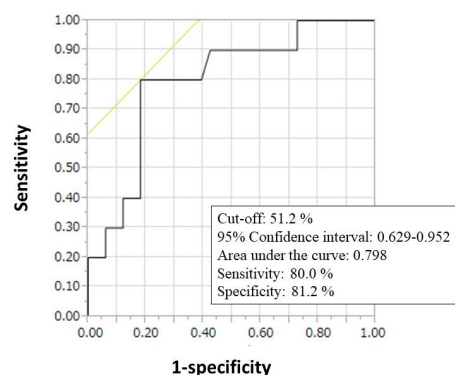


本結果から,術後の LPC 値の低下が術後合併症発生に関与していることが示唆された。次に,血中 LPC 値と炎症性生体反応との関係を検討するべく,中等度手術侵襲群において,術直後,術後 1 日目の血中 LPC 値と IL-6 値との関係を見ると,両者は有意な逆相関関係を示した。すなわち,手術侵襲後の炎症性生体反応誘導に抗炎症作用を有する LPC の低下が関与していることが示唆された。

3) 術後血中 LPC 値の術後合併症の予測マーカーとしての意義

前述の如く,術直後の LPC 値の低下が術後の過剰な炎症性生体反応に関与していることから,術後合併症の予測マーカーとなる可能性がある。ROC 解析では,術直後 LPC 値 / 術前値比 : 51.2% をカットオフとすると AUC = 0.795 と良好な術後合併症予測能を有していた。またロジスティック回帰解析においても有意差を認め,術直後の LPC 低下は合併症の独立

図 3



した危険因子であった (図 3)。

4) 手術侵襲による血中 LPC 値低下の機序

手術侵襲後の生体では,血中 LPC 値が低下すること,また,手術侵襲度,術後合併症高リスク患者ではより低下することが示された。次に低下機序を検討するべく LPC の基質である PC ならびに LPC の代謝酵素であるオートタキシンを検討すると,PC は術後低下し,術後合併症群ではより低下していた (図 4a)。また,術直後の PC は, LPC と有意な逆相関を示した (図 4b)。しかし,オートタキシン値は周術期に変化を認めなかった。以上の結果から,手術侵襲による血中 LPC 値低下は, LPC のオートタキシンによるリゾファチジン酸 (LPA) への代謝の亢進ではなく,細胞膜からの PC の血中への遊離がその主要因であることが示唆された。

また, LPC には 16:0, 18:0 をはじめとした多様な種 (species) が存在し,各種によって作用が異なることが報告されている。上記の手術侵襲後の血中 LPC 値の低下が種による違いがあるか検討するため,質量分析計 (LC/MS/MS) による解析を行った (図 5)。種による程度の違いはあるものの,いずれの LPC 種においても同様に術後の低下を認められた。

上記の結果から LPC は手術侵襲後の炎症性生体防御反応を制御し,術後合併症の発生に関与している可能性が示された。今後,リゾリン脂質に着目した手術侵襲後の生体防御反応の解明とその制御は,術後合併症抑制の有力なアプローチになるとと思われる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Matsuda A, Yamada M, Matsumoto S, Sakurazawa N, Yamada T, Matsutani T, Miyashita M, Uchida E. Lysophosphatidylcholine as a predictor of postoperative complications after colorectal cancer surgery. *Surg Today* 48:936-943, 2018.
2. 松田 明久, 宮下正夫, 山田真吏奈, 松本智司, 櫻澤信行, 川野陽一, 関口久美子, 松谷 毅, 山田岳史, 吉田 寛. 脂質メディエーターからみた外科侵襲学の新知見. *エンドトキシン・自然免疫研究* 21:12-17, 2018
3. 松田 明久, 宮下正夫, 山田真吏奈, 関口久美子, 松谷 毅, 内田 英二. 【集中治療医学領域における基礎研究最近のトピックス】 炎症と脂質メディエーター. *ICU と CCU* 42:9-16, 2018.

図4a

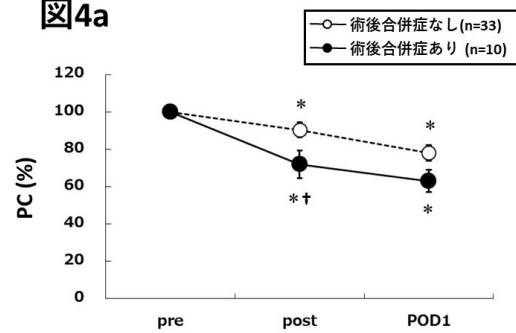


図4b

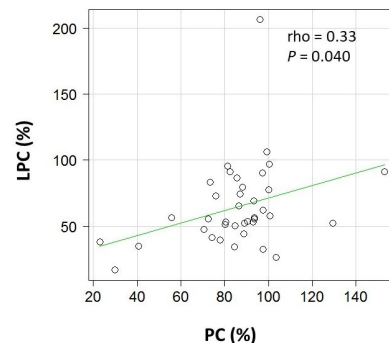
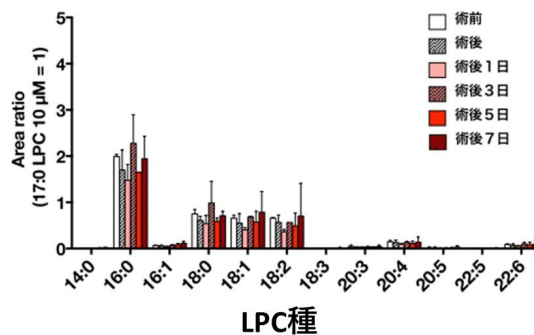


図 5



4. 松田明久, 宮下正夫, 山田真吏奈, 松本智司, 櫻澤信行, 川野陽一, 関口久美子, 松谷 毅, 山田岳史, 内田英二. 【侵襲時の生体反応を改善する新しい試み】 脂質メディエーターに着目した外科侵襲後の生体反応 リゾリン脂質に注目して. 外科と代謝・栄養 51:157-164, 2017

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Matsuda A, Yamada M, Miyashita M, Uchida E. The Predictive Role of Lipid Mediators for Postoperative Complications after Gastrointestinal Surgery. 8th Congress of the International Federation of Shock Societies, Tokyo, 2016.10.
2. Matsuda A, Miyashita M, Yamada M, Matsutani T, Takahashi G, Uchida E. THE PREDICTIVE IMPACT OF LY SOPHOSPHATIDYLCO LINE LEVEL FOR POSTOPERATIVE COMPLICATIONS AFTER GASTROINTESTINAL SURGERY ANNUAL CONFERENCE ON SHOCK (38th) Denver U.S.A 2015.6.
3. 松田明久. 侵襲後生体反応における脂質メディエーターの役割. 第 1 回日本集中治療医学会 東海北陸支部学術集会 教育講演, 愛知, 2017.6.
4. 松田明久, 山田真吏奈, 松本智司, 櫻澤信行, 川野陽一, 関口久美子, 山田岳史, 高橋吾郎, 宮下正夫. 脂質関連メディエーターに着目した消化器外科術後合併症の早期診断. 第 53 回日本外科代謝栄養学会学術集会, 東京, 2016.7.
5. 松田明久, 山田真吏奈, 松本智司, 櫻澤信行, 川野陽一, 関口久美子, 宮下正夫, 内田英二. 脂質関連メディエーターに着目した消化器外科術後合併症の早期診断. 第 23 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会, 兵庫, 2017.12.

〔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:

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：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：松谷 毅

ローマ字氏名：TAKESHI MATSUTANI

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：50366712

研究分担者氏名：山田真吏奈

ローマ字氏名：MARINA YAMADA

所属研究機関名：日本医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号（8桁）：70508621

(2)研究協力者

研究協力者氏名：田村和広

ローマ字氏名：KAZUHIRO TAMURA

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。