

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591891

研究課題名(和文) MFG-E8をターゲットとした手術侵襲後炎症性生体反応の制御

研究課題名(英文) The role of MFG-E8 for surgical stress-induced inflammatory host responses

## 研究代表者

松田 明久 (Matsuda, Akihisa)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：00366741

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：手術侵襲後の生体では、アポトーシス細胞に対する貪食能が低下することで過剰な炎症性生体反応が惹起され術後合併症の要因となる。消化器外科手術患者を対象とし、貪食調節因子であるMFG-E8とリソフォスファチジルコリン(LPC)の血中レベルと術後の炎症性生体反応および術後合併症との関連を検討した。MFG-E8値は、侵襲後に有意な変動を認めなかった。LPC値は術後低下し侵襲度に依存した。術後LPCとIL-6値は逆相関関係を認め、合併症群では非合併症群に比べ術後LPC値の有意な低下を認めた。術後のLPC低下は、過剰な炎症性生体反応を誘導し術後合併症の発生の要因となることが示された。

研究成果の概要(英文)：Decreased phagocytic activity against apoptotic cells is known as a cause of surgical stress-induced exaggerated postoperative inflammatory responses, which could result in the occurrence of postoperative complications (POCs). We investigated the associations between blood levels of milk fat globule-EGF factor VIII (MFG-E8) and lysophosphatidylcholine (LPC), which play a role for phagocytosis of apoptotic cells, and exaggerated postoperative inflammatory responses followed by POCs in patients with gastrointestinal surgery. Significant decreases of LPC levels were observed after surgery and the decrease is dependent on the magnitude of surgical stress. The decrease of LPC is inversely correlated with IL-6 levels. Patients with POCs showed a greater reduction of LPC than patients without POCs. The postoperative LPC levels have predictive impact for POCs. The postoperative decrease of LPC could be a mechanism of exaggerated postoperative inflammatory responses and POCs.

研究分野：外科系臨床医学

キーワード：手術侵襲 炎症性生体反応 アポトーシス 術後合併症

## 1. 研究開始当初の背景

手術侵襲後の生体は、恒常性を維持するために合目的な生体防御反応を起こす。しかし、過度な侵襲においては、免疫細胞から産生される過剰な炎症性サイトカインが SIRS(systemic inflammatory response syndrome) から免疫抑制状態(compensatory inflammatory response syndrome: CARS)を引き起こし、術後合併症の要因となる。術後合併症は、在院期間の延長、医療費の増大の原因となるのみならずときに致死的となるため、術後感染症に対する治療および予防には侵襲後生体防御反応(特に過剰な炎症性生体反応)機序のさらなる解明およびその制御が不可避である。これまで我々は、侵襲後の過剰な炎症性生体反応の機序として、侵襲により誘導されたアポトーシス細胞がマクロファージなどの貪食細胞に適切に貪食されることなく、2 次性のネクロシスに陥り各種炎症性メディエーターが過剰に産生されること、マクロファージなどから産生される Milk fat globule-EGF factor VIII (MFG-E8) がアポトーシス細胞と貪食細胞を橋渡しし貪食を促し抗炎症性作用を発揮することを報告してきた。また、近年、細胞膜の主要構成成分であるリン脂質の分解産物であるリゾリン脂質は脂質メディエーターと呼ばれ、その一つであるリゾフォスファチジルコリン(lysophosphatidylcholine: LPC)は、炎症性生体反応を制御し、動脈硬化、多発性硬化症、気管支喘息などの免疫/炎症性疾患の病態形成に深く関与していることが示唆されている。LPC はアポトーシス細胞から遊離され、マクロファージなどの貪食細胞がこれを認識することでアポトーシス細胞の適切な貪食に関与していることも報告されている。

## 2. 研究の目的

侵襲後における過剰な炎症性生体反応の制御が合併症抑制において重要な役割を担い、また、侵襲により誘導されるアポトーシ

ス細胞の増加および貪食細胞の機能異常が、侵襲後合併症の発症に関与しているとの仮説を立てた。これまで、動物実験での報告はあるものの、外科臨床における検討は皆無である。そこで、消化器外科手術患者を対象にこれらのアポトーシス細胞の貪食に関わる MFG-E8, LPC の術後炎症性生体反応および術後合併症発生への関与を検討した。

## 3. 研究の方法

日本医科大学千葉北総病院で待機的手術が施行された待機消化器外科周術期 63 症例(低侵襲群(胆嚢摘出術): 7 例, 中等度侵襲群(大腸癌手術): 43 例, 高度侵襲群(食道, 肝胆膵手術): 13 例)を対象とし、術前、術直後、術後(POD)第 1, 3, 5, 7 病日に末梢静脈血を採取し血清 MFG-E8, IL-6 値を ELISA 法, 血清 LPC 値を酵素法にて測定した。本研究は本学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を得て行った。 $P < 0.05$  を有意差ありと判定した。

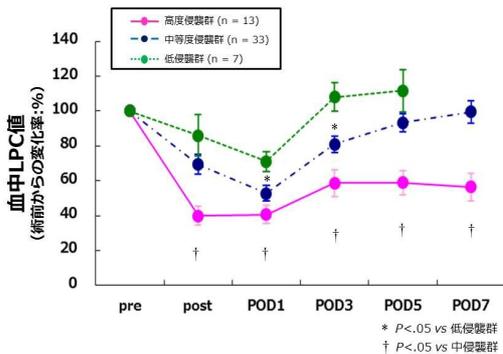
## 4. 研究成果

まず、手術侵襲度に依らない術後 MFG-E8 値の変動をみるために、大腸癌手術症例(12 例; 術後合併症なし: 6 例, あり: 6 例)のみを対象とし pilot study として検討した。血中 MFG-E8 値は、侵襲が加わっていない術前から比較的個体間の variation が大きく、手術侵襲後に有意な変動(POD5 にわずかに増加傾向を認めるも)を認めなかった。また、MFG-E8 値と炎症マーカーとの関連および合併症の有無に分けて検討したが、有意な相関関係を見いだせなかった。

そこで我々は、MFG-E8 と同様にアポトーシス細胞の貪食賦活作用および抗炎症性反応作用を有する LPC に着目して検討した。まず、侵襲度の差(高度, 中等度, 軽度)による術後の血中 LPC 値の変動を検討したと

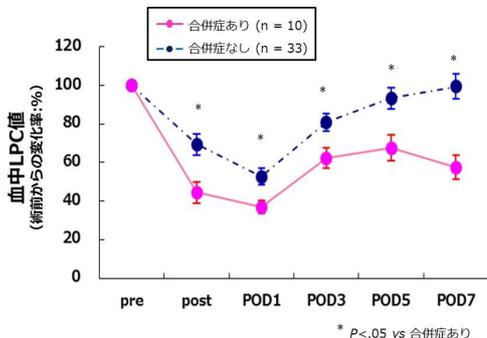
ころ、いずれの侵襲度群においても術後一過性の低下 (POD1 が最低) を認め、その低下の程度は侵襲度に依存し、その後経時的に回復していた。しかし、高度侵襲群では、POD7 においても術前値までの回復を認めなかった。したがって周術期における LPC 値は、生体が受けた侵襲度のバイオマーカーとなりうると考えられた (図 1)。

図1 手術侵襲度の違いによるLPCの変動



術後合併症の発生には、患者因子(年齢、性別、肥満、併存疾患、栄養状態など)や手術関連因子(手術時間、術式、輸血、術創汚染度、術者など)が複雑に関与しているため、その予測や予防は容易ではない。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侵襲群 (大腸癌手術) に限定し術後合併症あり群(10 症例)となし群(33 症例)で比較した。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、全測定区間でなし群に比べて有意に低値で推移した (図 2)。

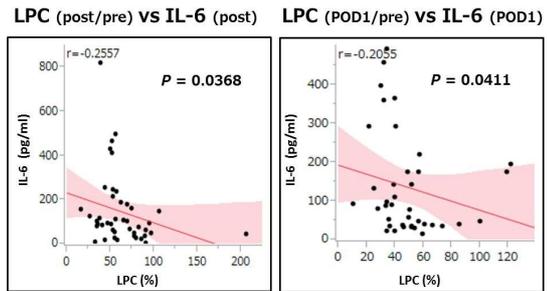
図2 術後合併症の有無によるLPCの変動



次に、この術後の LPC の低下が、合併症発生

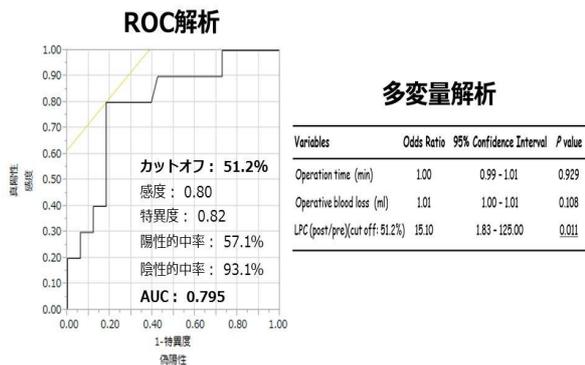
の主要因である術後の過剰な炎症性生体反応に関与しているかを検討したところ、術直後および POD1 の LPC 変化率と各 IL-6 値は有意な逆相関を示しており、術後 LPC の変動は、過剰な炎症性生体反応の制御に重要な役割を持つことが示唆された (図 3)。

図3 術後LPCの変動とIL-6値との相関



さらに、この術直後の LPC の変動が合併症の予測因子となりうるか検討するために、ROC 解析を行ったところ AUC = 0.795 と良好な予測能を有し、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した危険因子であった (図 4)。

図4 術直後LPC変動の術後合併症予測能



今回の検討結果から、細胞膜の主要構成成分であるリン脂質の分解産物である LPC は、手術侵襲後の炎症性生体防御反応を抑制し、特に術直後の重度の低下は過剰な炎症反応を惹起し、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

一チになると思われる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

(1) 松田明久, 宮下正夫, 松谷毅, 若林秀幸, Ping Wang, 内田英二. MFG-E8 に着目したショックにおける過剰な炎症反応制御の可能性. 日本 Shock 学会雑誌 2013; 28:63-68.

(2) Aziz M, Jacob A, Yang WL, Matsuda A, Wang P. Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. J Leukoc Biol 2013; 93:329-342.

〔学会発表〕(計 6 件)

(1) 松田明久, 宮下正夫, 松谷毅, 横室茂樹, 瀬谷知子, 松本智司, 鶴田宏之, 櫻澤信行, 横井公良, 内田英二. 肝虚血再灌流における MFG-E8 の臓器障害抑制効果新たな可能性. 第 68 回 日本消化器外科学会総会 2013 7 月, 宮崎

(2) 松田明久, 松谷毅, 横井公良, 宮下正夫, 松本智司, 佐々木順平, 内田英二. アポトーシス細胞に着目した肝虚血再灌流障害治療における新たな可能性. 第 113 回 日本外科学会学術集会 2013 4 月, 福岡

(3) 松田明久, 宮下正夫, 松谷毅, 横室茂樹, 瀬谷知子, 松本智司, 櫻澤信行, 勝野暁, 山初和也, 高橋吾郎, 若林秀幸, Ping Wang, 内田英二. 生体侵襲後の臓器障害における MFG-E8 の役割とその治療応用. 第 26 回 日本外科感染症学会学術集会 2013 11 月, 神戸

(4) 松田明久, 宮下正夫, 松谷毅, 横井公良, 内田英二. MFG-E8 に着目したショックにおける過剰な炎症反応制御の可能性. 第 28 回 日本外科感染症学会学術集会 2013 5 月, 東京

(5) A. Matsuda, M. Miyashita, M. Yamada, T. Matsutani, G. Takahashi, E. Uchida. The predictive impact of lysophosphatidylcholine level for postoperative complications after gastrointestinal surgery, 38<sup>th</sup> Annual Conference on Shock, 2015 6 月, Denver, 米国

(6) 松田明久, 宮下正夫, 山田真吏奈, 松谷毅, 内田英二. 消化器外科術後合併症における血中リゾフォスファチジルコリン (LPC) の関与, 第 30 回 日本ショック学

会, 2015 5 月, 八王子, 東京

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田明久 (MATSUDA AKIHISA)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号: 00366741

(2) 研究分担者

松谷毅 (MATSUTANI TAKESHI)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号: 50366741

(3) 連携研究者