

脂質メディエーターからみた外科侵襲学の新知見

松田 明久¹⁾, 宮下 正夫¹⁾, 山田真吏奈¹⁾, 松本 智司¹⁾, 櫻澤 信行¹⁾,
川野 陽一¹⁾, 関口久美子¹⁾, 松谷 毅²⁾, 山田 岳史²⁾, 吉田 寛²⁾

¹⁾日本医科大学千葉北総病院外科・消化器外科, ²⁾日本医科大学消化器外科

New insights of surgical host response in view of lipid mediators

Akihisa Matsuda¹⁾, Masao Miyashita¹⁾, Marina Yamada¹⁾, Satoshi Matsumoto¹⁾, Nobuyuki Sakurazawa¹⁾,
Youichi Kawano¹⁾, Kumiko Sekiguchi¹⁾, Takeshi Matsutani²⁾, Takeshi Yamada²⁾, Hiroshi Yoshida²⁾

¹⁾Department of Surgery, Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital

²⁾Department of Gastrointestinal and Hepatobiliary Pancreatic Surgery, Nippon Medical School

Abstract

Various extrinsic and endogenous mediators are produced and released not only in the local injured and infected foci, but in the systemic circulation after surgical stress and sepsis. Recent progress of lipid research has figured out that lipid mediators have pleiotropic immunological properties and are associated with various disease pathophysiology. Therefore, lipid mediators can play a major role of regulating host responses after surgical stress and sepsis. In this review, we focused on important lipid mediators, including specialized proresolving lipid mediators and lysophospholipids, and discuss the role for surgical host responses from perspectives of clinical application.

Endotoxin and Innate Immunity 21 : 12~17, 2018

Key words : 外科侵襲, 炎症収束, 脂質メディエーター, リゾリン脂質, PCSK9

はじめに

生体は手術, 外傷, 重症感染症などの侵襲を受けると, 障害, 感染を受けた部位のみならず全身からさまざまな生理活性物質(メディエーター)を放出し, 生体の内部環境を回復して生存するための生体反応を起こす。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, 免疫活性化に重要な役割を担っている。しかし, 炎症性生体反応が相対的過剰となると, その生体に有益な反応とは逆に免疫抑制, 臓器障害を惹起し, 病態を悪化させる。

手術侵襲によって惹起されるさまざまな生体反応には, 手術操作による直接的組織破壊による侵襲のみならず, 術中の出血, 循環動態・体温の変動, 麻酔, 輸血などのさまざまな要因が関与しており, 単に鏡視下手術の施行や手術時間といった外科医の目にとまりやすい要因だけで規定されるものではない。したがって, 真に患者に優しい手術(真の意味での低侵襲手術)を行

うためには, 先述の外科医側からみた要素のみではなく, 実際の患者に惹起されている生体反応を十分に知り, さらに理解を深めるための努力が不可欠である。

本稿では, 多彩な生理活性を有し, 数多くの疾患病態に関与することが報告されている脂質メディエーターに注目して, 外科侵襲後の生体反応および, その治療応用への可能性について最新知見も含めて概説する。

1. 脂質メディエーターによる能動的炎症収束機構

急性炎症期では, 血管透過性が亢進して局所に血漿成分が浸出し, 多数の好中球が遊走する。また, 炎症性サイトカインなどの蛋白成分とともに ω 6系多価不飽和脂肪酸であるアラキドン酸(Arachidonic acid: AA)が, シクロオキシゲナーゼによってプロスタグランジン(Prostaglandin: PG)やロイコトリエン(Leukotriene: LT)といった炎症性脂質メディエーターに変換され, 好中球の遊走を促進し, 炎症性変化を増強させる。

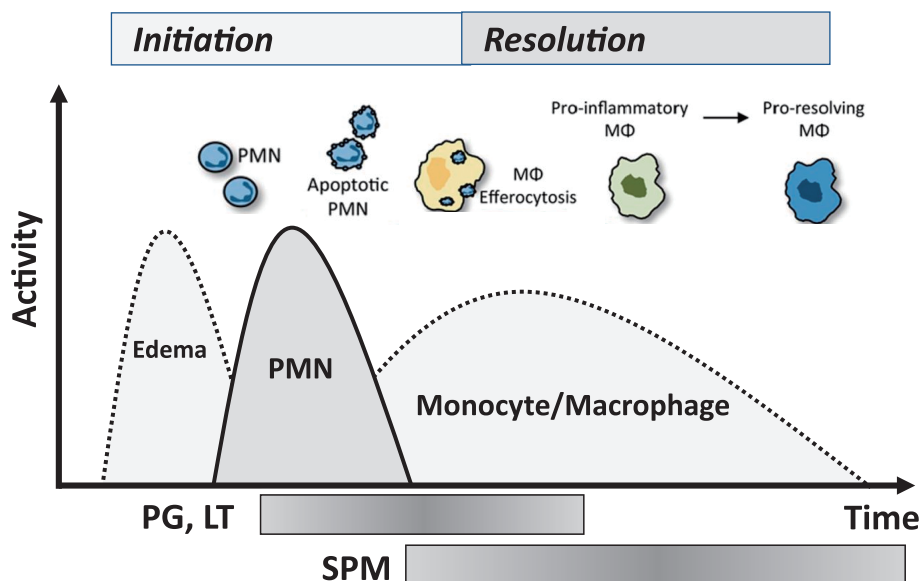


図1 脂質メディエータークラススイッチングによる炎症惹起と能動的炎症収束
 PG: Prostaglandin, LT: Leukotriene, SPM: Specialized proresolving lipid mediator, PMN: Polymorphonuclear neutrophil (文献²⁾を改変)

その後、マクロファージが局所に浸潤し、好中球を貪食し炎症は収束する。これまで、能動的な機序として詳細に解明されてきた炎症惹起に対して、炎症収束は炎症惹起に続く受動的なプロセスとして理解されてきた。

しかし、AAからリポキシゲナーゼを介して産生される代謝産物が、好中球遊走抑制作用を有することが報告され¹⁾、脂質メディエーターによる能動的炎症収束機序の存在が知られるようになった。さらに近年、網羅的リピドミクス解析技術の進歩に伴って ω 3系不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (Eicosapentaenoic acid: EPA) やドコサヘキサエン酸 (Docosahexaenoic acid: DHA) から代謝される分子にも、同様の好中球遊走阻止やマクロファージによる好中球の非炎症誘導性貪食 (エフェロサイトーシス) 作用を有することが報告された。近年、これら能動的炎症収束作用を有する遊離脂肪酸群は、Specialized proresolving lipid mediator (SPM) と総称されている²⁾。SPMは、炎症を惹起するPGやLTの濃度上昇を抑制することが知られており、これら一連の脂質メディエーター依存性の能動的炎症-炎症収束性プロセスはLipid mediator class-switchingと呼ばれている (図1)²⁾。

1-1. SPMの種類とその炎症収束作用

SPMにはAA由来のリポキシシン (Lipoxin: LX) やEPA由来のレゾルビンE系 (Resolvin E1: RvE1 など)、DHA由来のレゾルビンD系 (Resolvin D1: RvD1 など) やプロテクチンD1 (Protectin D1: PD1)、マレシン1 (Malesin1: MaR1) が同定されている (図2)。

マウス敗血症 (盲腸結紮穿孔 (Cecum ligation and

puncture: CLP)) モデルにおいて、レゾルビンD (D1, D2) の投与が、免疫抑制を起こさずに、細菌除去を増強させ死亡率を減少させること^{3,4)}や細菌感染に対するレゾルビンD1あるいはプロテクチンD1投与によって抗生物質の必要投与量の軽減し得たことが報告されている⁵⁾。最近の報告では、レゾルビンD2が持つマクロファージによる細菌貪食能亢進作用は、G蛋白共役受容体 (G protein-coupled receptor: GPCR) であるDRV2を介しProtein kinase AやSTAT3依存的に発現することが報告されている⁶⁾。さらに、ヒト敗血症患者におけるSPMの血中プロファイルが予後や急性肺障害のバイオマーカーとなることが報告されている⁷⁾。

SPMの炎症収束作用で特徴的なのは極めて低濃度で作用することである。同じDHAやEPAを基質とする抗炎症性核内受容体であるPeroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) が抗炎症作用を発揮するのに比較的高濃度 (EC50で10-100 nM) が必要となるのに対して、SPMは低濃度 (EC50でpM~nMレベル) であり、生体内で強力な炎症収束作用を担っていることが考えられる。

1-2. SPM研究の今後の展開と臨床応用

現在、慢性関節リウマチやクローン病などの炎症性腸疾患で臨床応用されている抗炎症作用薬 (ステロイドや抗炎症性サイトカイン抗体薬など) は病勢制御効果を有し頻用されているが、免疫抑制作用による感染症の惹起が問題となっている。SPMは単なる免疫抑制ではなく、むしろ感染症をも制御しうる機能を持つことは特筆すべきであろう。しかし、SPMは容易に酸化

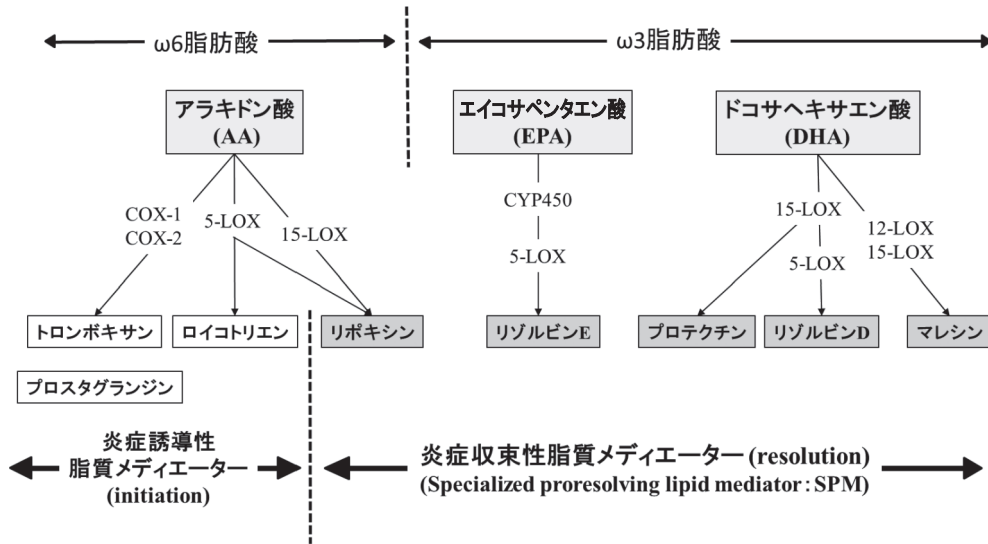


図 2 炎症収束性脂質メディエーター
Specialized proresolving lipid mediator (SPM) とその産生経路。

され他の代謝産物に転換されやすいなどの創薬に向けては乗り越えなければならない課題があるのが現状である。

2. リゾリン脂質メディエーター

リン脂質とは、構造中にリン酸エステル結合を有する脂質の総称である。生体膜を構成する主要な脂質であり、細胞や細胞内小器官を囲む役割を担っている。さらに、シグナル伝達物質としての役割を担うリン脂質をリン脂質メディエーターと呼ぶ。狭義には細胞膜上に存在する特異的受容体を介して生理活性を示すリン脂質を指す。

リン脂質メディエーターにはさまざまなものがあるが、なかでもリゾリン脂質は第2世代の脂質メディエーターと称され、ジアシルリン脂質の2本のアシル基のうち1本が除かれたリン脂質であり、ホスホリパーゼ (Phospholipase) A₂ (PLA₂) により触媒され産生される。これまで、リゾリン脂質はアラキドン酸代謝系の副産物に過ぎず、細胞レベルでみられる作用も界面活性作用によるものと考えられ、それほど注目されていなかった。しかし、近年の遺伝子工学の進歩によりリゾリン脂質の一群が脂質メディエーターとして種々の病態で重要な役割を担っていることが次々と明らかになってきた。リゾリン脂質は、前駆体であるリン脂質に比べ疎水性が低下しており、容易に細胞膜から遊離し受容体に作用しうる。作用後は速やかに脱リン酸化や脱アシル化を受けて除去される。このような性質はリゾリン脂質がメディエーター分子としての機能を獲得してきた大きな要因であると考えられる。

2-1. リゾリン脂質メディエーターの種類とその作用

生体内ではさまざまなリゾリン脂質が存在するが、リゾリン脂質は構造上、グリセロールを骨格とするリゾグリセロリン脂質 (リゾホスファチジルコリン (Lysophosphatidylcholine : LPC), リゾホスファチジン酸 (Lysophosphatidic acid : LPA) など) とスフィンゴシンを骨格とするリゾスフィンゴシン脂質 (スフィンゴシン-1-リン酸 (Sphingosine 1-phosphate : S1P) など) に大別される。これらは、細胞膜に存在する特異的な GPCR を介して作用している。

3. リゾホスファチジルコリン (LPC) とその産生経路

LPC は、グリセリン骨格にコリンリン酸と一つのアシル基が結合したリゾリン脂質であり、動脈硬化と深く関係するとされる酸化 LDL の主要成分の一つである。LPC は、血液中に約数百 μM 濃度で存在し、最も豊富なりゾリン脂質である。

血中に存在する LPC は、複数の構成脂肪酸種 (16 : 0 (40%), 18 : 2 (20%), 18 : 1/18 : 0 (10~15%), 20 : 4 (10%)) の混合体として存在している。LPC の産生・代謝経路としては、ホスファチジルコリン (Phosphatidylcholine : PC) から分泌型 PLA₂ やレシチンコレステロールアシル転移酵素 (Lecithin-cholesterol-acyltransferase : LCAT) による加水分解を受け LPC が産生されるとともに、リゾリン脂質アシル転移酵素 (Lysophosphatidylcholine acyltransferase : LPCAT) により PC に変換される (リモデリング経路 (Land's cycle) と呼ばれる)。また、LPC はリゾホスホリパーゼ D / オートタキシン (Autotaxin : ATX) によりリゾホスファチジン酸 (Lysophosphatidic acid : LPA) に変換される。

3-1. LPCの免疫学的作用

LPC 刺激は、血管内皮細胞、単球系細胞などの免疫担当細胞からの接着分子や COX-2 産生、MAPK や NF- κ B の活性化などの炎症性免疫反応を誘導すると報告されてきた⁸⁾。しかし、これらの報告においては、培養系における LPC の使用濃度、脂肪酸種、アルブミンなどの LPC 活性阻害物質、LPC 加水分解酵素などの併存が影響している可能性があり注意を要する。実際、LPC による NF- κ B の活性化は LPC 濃度依存性があり、低濃度の LPC は血管内皮細胞における NF- κ B の活性化を誘導するが、高濃度では逆に抑制することが報告されている⁹⁾。したがって、複雑な生体内では、LPC の生理作用も画一的なものではなく、さらに疾患病態ではその複雑性が増している可能性が高い。

3-2. LPCの侵襲下における作用

Yan ら¹⁰⁾は、マウス CLP モデルによる敗血症において、LPC (18:0) の投与が容量依存的に好中球の H₂O₂ 産生による殺細菌作用を活性化し、TNF- α 、IL-1 β の産生を抑制し、IFN- γ の産生を亢進させることで死亡率を改善させることを報告している。また、Chen ら¹¹⁾は、敗血症に対する LPC 投与による予後改善の機序として、LPC のマクロファージにおける能動的 HMGB1 (high-mobility group box 1) 産生抑制作用が関与していることを報告している。しかし、両報告においても 18:0 以外の LPC 種では、作用する免疫担当細胞に違いがあり、抗炎症ではなく、むしろ炎症性作用を惹起することも報告されており、生体内での LPC 作用の多様性がうかがえる。

これらの LPC による抗炎症作用を報告した検討において、LPC による免疫調節反応は GPCR である G2A を介するものであることが報告されている。

また、ヒト敗血症患者では、血中 LPC 濃度が低下しており、その濃度が細菌性敗血症と非細菌性敗血症との鑑別に有用であること¹²⁾、また、重症度や予後を反映することも報告されている^{13,14)}。すなわち、敗血症などの急性の炎症状態では、LPC は先述の炎症性作用ではなく、G2A を介した抗炎症による beneficial な作用を担っていることが示唆される。

3-3. LPCの消化器術後合併症の予測マーカーとしての意義

鏡視下手術の導入や麻酔法の進歩などの低侵襲治療の普及にもかかわらず、消化器外科術後合併症は依然として一定の頻度で発生し、その要因は前述のごとく多岐にわたる。また、消化器癌手術においては術後合併症の発生が腫瘍学的予後の悪化に関連することも数多くの癌種において報告されている¹⁵⁾。術後合併症発生およびその長期予後悪化を来す要因として、手術侵

襲自体および合併症発生により誘導される過剰な炎症性生体反応からの長期的免疫機能低下があげられている。

われわれは手術侵襲後の生体における過剰な炎症性生体反応および術後合併症発生における LPC の役割に関する検討を行ってきた。待機的消化器外科手術周術期 (全 63 症例) における血中 LPC およびその前駆体である PC、変換酵素である ATX を酵素法、ELISA 法にて測定した。腹腔鏡下胆嚢摘出術を低侵襲群、大腸癌手術を中低侵襲群、食道癌・肝胆膵癌手術を高侵襲群とし、血中 LPC 濃度 (術直後の術前値からの変化率) を見てみると、侵襲度の増加につれて血中 LPC の低下がより顕著となっていた。これは、血中 LPC 濃度が手術侵襲度を評価するバイオマーカーとしての可能性を示唆している。また、大腸癌手術において、術後合併症を認めなかった群と認めた群の比較では、術後合併症を認めた群で有意に術後の血中 LPC が低下していた (図 3A)。術直後の LPC と IL-6 との相関関係を検討したところ、LPC と IL-6 は有意な逆相関を示した (図 3B)。すなわち、非感染性侵襲である手術侵襲後の生体においても血中 LPC は、感染性侵襲である敗血症と同様に低下すること、また、LPC が抗炎症性の免疫調節因子として作用していることが明らかとなった。また、手術侵襲により LPC が低下する機序として、PC は LPC と有意な相関関係を持ち術後に低下すること、ATX は手術前後で変化がないことから、術後の LPC 低下は、PC の細胞膜から血中への遊離の減少が関与している可能性が示唆された¹⁶⁾。以上の結果は、酵素法にて比較的簡便に測定できる血中 LPC 値の術後合併症予測マーカーとしての将来性を期待させるものであった。

4. PCSK9 とは

前駆体タンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン 9 (Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9: PCSK9) は、LDL 受容体、アポリポ蛋白 B に続く家族性高コレステロール血症の原因遺伝子として、2003 年に新規に同定された。現在までに PCSK9 に関する解析が進み 10 年足らずで阻害薬が創薬され、2016 年 4 月から本邦でも臨床使用可能となっている。PCSK9 遺伝子の解析からこれまでに多くの遺伝子多型が報告され、そのなかには機能獲得型変異と機能喪失型変異があることが知られている。

細胞外に分泌された PCSK9 は、LDL 受容体の EGF-A ドメインに結合する。この PCSK9-LDL 受容体複合体は細胞内に移動し、最終的にリソソーム内で LDL 受容体が分解される。PCSK9 の機能獲得型変異や血中 PCSK9 濃度が高い場合、LDL 受容体の分解が亢進し高 LDL-C 血症をもたらす。したがって、PCSK9 阻害薬は LDL 受容体の分解を抑制することで治療効果を発揮する。

敗血症などの感染性侵襲下では、Lipopolysacchar-

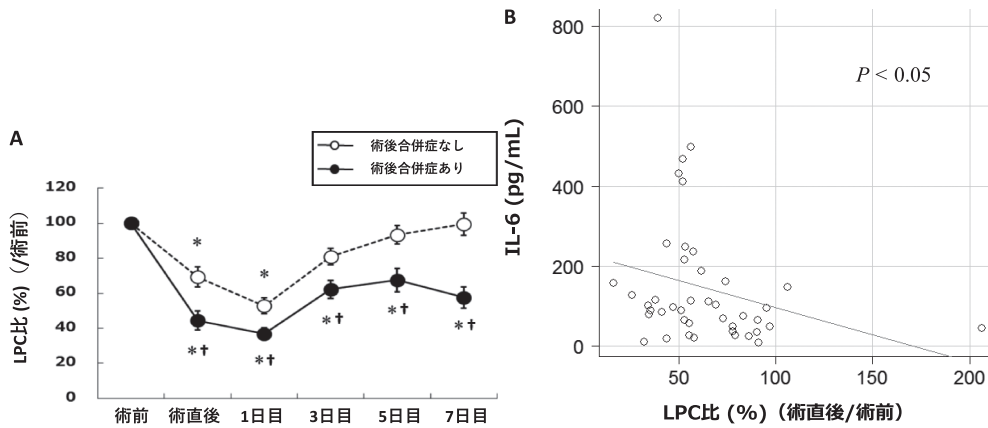


図 3 大腸癌手術症例における手術侵襲後の血中 LPC 値の変動 (A) と血中 IL-6 値との相関 (B)
 平均値 ± 標準誤差 (* $P < 0.05$ vs 術前値, † $P < 0.05$ vs 術後合併症なし群)。(文献¹⁶⁾を改変)

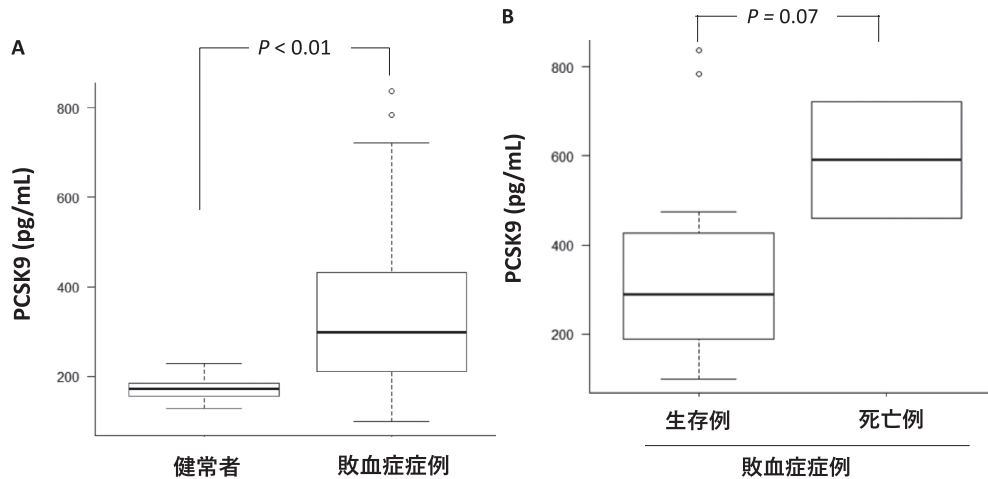


図 4 敗血症症例における血中 PCSK9 値
 A: 健常者との比較, B: 生存例と死亡例の比較
 中央値 ± 25-75 パーセントイル。
 PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

ide(LPS)や Lipoteichoic acid などの病原体由来脂質が、Toll-like receptors (TLRs) に認識され過剰な炎症性反応が惹起される。これらの病原体由来脂質は、最終的に LDL や VLDL に変換され、肝臓で除去される。この過程にも PCSK9 が関与していることが報告されており、Walley ら¹⁷⁾は、敗血症における PCSK9 の作用を検討している。LPS 投与および CLP モデルにおいて、ノックアウトマウスおよび PCSK9 抗体の投与は wild-type およびコントロールに比べて炎症反応の軽減、死亡率の低下を認めた。当科における敗血症症例の検討では、血中 PCSK9 濃度は健常者に比べて有意に高値であり(図 4A)、死亡例では生存例に比べて高い傾向を認めた(図 4B)。PCSK9 は脂質メディエーターではないが、脂質代謝という観点からの侵襲下の病態解明およ

び治療応用の可能性の大きさを示唆しており大変興味深い。

おわりに

近年、注目されている脂質メディエーターの侵襲時の免疫学的作用を中心に概説するとともに脂質異常症に対して臨床応用されている PCSK9 の侵襲時の生体反応制御の可能性を紹介した。手術侵襲後の生体では、これらの脂質メディエーターが大きく変動することで生体防御のみならず合併症発症、予後悪化にも関与している可能性があるが、本稿で述べてきたようにこれらを検討した研究は極めて少ない。今後、さらなる検討により真の低侵襲外科治療を達成すべく脂質メディエーターをターゲットとした研究が広く展開されるこ

とを期待する。

文 献

- 1) Serhan CN, Hamberg M, Samuelsson B : Lipoxins : novel series of biologically active compounds formed from arachidonic acid in human leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 81 : 5335-5339, 1984
- 2) Serhan CN, Chiang N, Dalli J, et al. : Lipid mediators in the resolution of inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7 : a016311, 2014
- 3) Spite M, Norling LV, Summers L, et al. : Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature* 461 : 1287-1291, 2009
- 4) Chen F, Fan XH, Wu YP, et al. : Resolvin D1 improves survival in experimental sepsis through reducing bacterial load and preventing excessive activation of inflammatory response. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33 : 457-464, 2014
- 5) Chiang N, Fredman G, Bäckhed F, et al. : Infection regulates pro-resolving mediators that lower antibiotic requirements. *Nature* 484 : 524-528, 2012
- 6) Chiang N, de la Rosa X, Libreros S, et al. : Novel Resolvin D2 Receptor Axis in Infectious Inflammation. *J Immunol* 198 : 842-851, 2017
- 7) Dalli J, Colas RA, Quintana C, et al. : Human Sepsis Eicosanoid and Proresolving Lipid Mediator Temporal Profiles : Correlations With Survival and Clinical Outcomes. *Crit Care Med* 45 : 58-68, 2017
- 8) Aoki J, Taira A, Takanezawa Y, et al. : Serum lysophosphatidic acid is produced through diverse phospholipase pathways. *J Biol Chem* 277 : 48737-48744, 2002
- 9) Sevastou I, Kaffe E, Mouratis MA, et al. : Lysoglycerophospholipids in chronic inflammatory disorders : the PLA₂/LPC and ATX/LPA axes. *Biochim Biophys Acta* 1831 : 42-60, 2013
- 10) Yan JJ, Jung JS, Lee JE, et al. : Therapeutic effects of lysophosphatidylcholine in experimental sepsis. *Nat Med* 10 : 161-167, 2004
- 11) Chen G, Li J, Qiang X, et al. : Suppression of HMGB1 release by stearyl lysophosphatidylcholine : an additional mechanism for its therapeutic effects in experimental sepsis. *J Lipid Res* 46 : 623-627, 2005
- 12) Cho WH, Park T, Park YY, et al. : Clinical significance of enzymatic lysophosphatidylcholine (LPC) assay data in patients with sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31 : 1805-1810, 2012
- 13) Park DW, Kwak DS, Park YY, et al. : Impact of serial measurements of lysophosphatidylcholine on 28-day mortality prediction in patients admitted to the intensive care unit with severe sepsis or septic shock. *J Crit Care* 29 : 882, e5-11, 2014
- 14) Drobnik W, Liebisch G, Audebert FX, et al. : Plasma ceramide and lysophosphatidylcholine inversely correlate with mortality in sepsis patients. *J Lipid Res* 44 : 754-761, 2003
- 15) Matsuda A, Matsumoto S, Seya T, et al. : Does postoperative complication have a negative impact on long-term outcomes following hepatic resection for colorectal liver metastasis? : a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 20 : 2485-2492, 2013
- 16) Matsuda A, Yamada M, Matsumoto S, et al. : Lysophosphatidylcholine as a predictor of postoperative complications after colorectal cancer surgery. *Surg Today*, 2018 (doi : 10.1007/s00595-018-1675-2)
- 17) Walley KR, Thain KR, Russell JA, et al. : PCSK9 is a critical regulator of the innate immune response and septic shock outcome. *Sci Transl Med* 6 : 258ra143, 2014