

術後腹腔内癒着形成機序の解明とその制御に基づく癒着予防法開発

関西医科大学 外科学講座

松島 英之

1. 諸言

開腹手術後の癒着による腸閉塞は最も頻度の高い術後合併症であり、しばしば術後長期にわたり繰り返し発症する難病である。申請者らのグループは、これまでに natural killer T (NKT) 細胞から産生される interferon (IFN) γ や好中球から産生される Reactive oxygen species (ROS) が癒着形成に関与する事を明らかにしてきたが¹⁾、本研究課題では癒着の初動段階における好中球遊走に関与するケモカインの動態に着目し、ケモカインから始まる癒着シグナル経路を系統的に解析して、既知の癒着形成シグナル経路との関係を明らかにする事で癒着形成機序のさらなる解明を目指す。

2. 方法

申請者らのグループは、定量的で再現性のある癒着形成マウスモデルを独自に樹立しており、同マウスモデルを用いて本研究を実施した¹⁾。ケモカインの癒着形成機序における重要性を確認する為に CXCR2 に対するアンタゴニスト (SB225002 800 μ g/mouse/day、Cayman chemical, USA) を皮下埋め込み式浸透圧ポンプ (2001D、ALZET 社) を用いて術直後から 24 時間持続投与し、術後 7 日目の癒着の程度を癒着スコアで定量化して評価した。さらに癒着関連ケモカインがすでに明らかになっている癒着関連因子 (IFN- γ および plasminogen activator inhibitor [PAI] -1) に及ぼす影響を評価すべく、癒着関連ケモカインのレセプターである CXCR2 に対するアンタゴニストを投与して術後、腸管傷害部における IFN- γ 及び PAI-1 の mRNA 発現を評価した。最後に、申請者らは、Substance P のレセプターに対するアンタゴニストである NK1RA が癒着を 50%抑制する事を報告しているが²⁾、ケモカインが既知の癒着関連因子 (NK1R、NKT 細胞、IFN- γ) のシグナル経路の下流に位置する場合も想定されるため、NK1RA の投与によりケモカインが抑制されるかどうかを確認した。

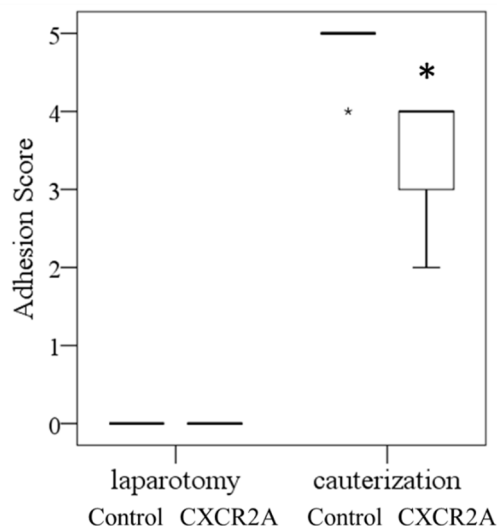
3. 結果

癒着形成マウスモデルを用いた予備実験で腸管傷害部への leukocyte 集積を確認し、myeloperoxidase (MPO) mRNA 発現 (好中球浸潤の指標) のピークは術後 18 時間であつ

た。また、好中球遊走に關与するケモカイン (CXCL1、CXCL2) と、そのレセプター (CXCR2) の mRNA 発現ピークが術後 3-6 時間である事を確認し、癒着形成の初期段階におけるケモカインの動態を確認した。

続いて、ケモカインの癒着形成機序における重要性を確認する為、CXCR2 のアンタゴニストである CXCR2A を投与したマウスにおける術後 7 日目の癒着形成状況を確認したところ、図 1 に示す如く、CXCR2A を投与したマウスにおいて、癒着の程度が 40%程度減弱した。

図1: CXCR2A投与後7日目の癒着形成状況



続いて、癒着関連ケモカインが癒着関連因子 (IFN- γ 及び PAI-1) に及ぼす影響を評価すべく、癒着関連ケモカインのレセプターである CXCR2 に対するアンタゴニストを投与して術後、腸管傷害部における IFN- γ 及び PAI-1 の mRNA 発現を評価したところ、図 2、図 3 に示す如く、CXCR2A は、IFN- γ mRNA 発現、及び PAI-1 mRNA 発現を抑制しえなかった。

図2: 腸管傷害部におけるIFN- γ のmRNA発現

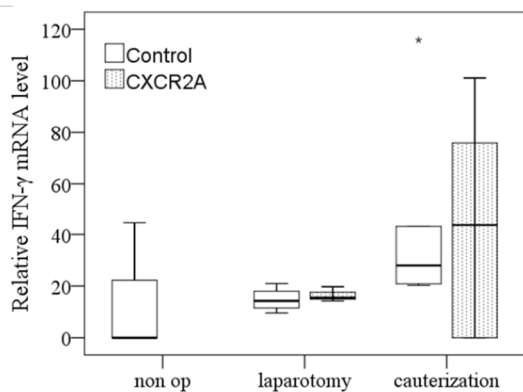
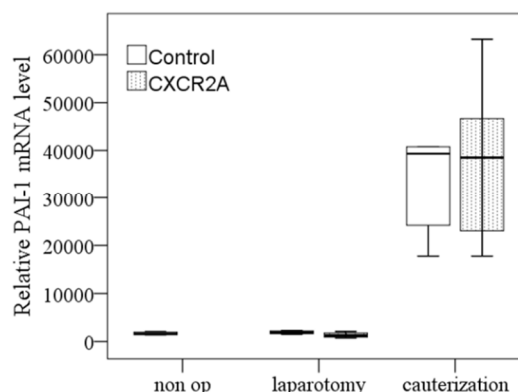


図3: 腸管傷害部におけるPAI-1のmRNA発現



ここで、ケモカインが既知の癒着関連因子 (SP/NK1R-NKT-IFN γ -PAI1) のシグナル経路の下流に位置する可能性が考えられたため、癒着形成機序の起点である Substance P のレセプターに対するアンタゴニストである NK1RA の投与 (癒着形成機序の起点のブロック) により、ケモカイン産生が抑制されるかどうかを確認した。その結果、図 4 に示すごとく、NK1RA 投与により、好中球遊走ケモカインである CXCL1、CXCL2、およびそのレセプタ

一である CXCR2 の mRNA 発現が有意に減少し、傷害腸管における MPO mRNA 発現（好中球浸潤の指標）の有意な減少を認めた。

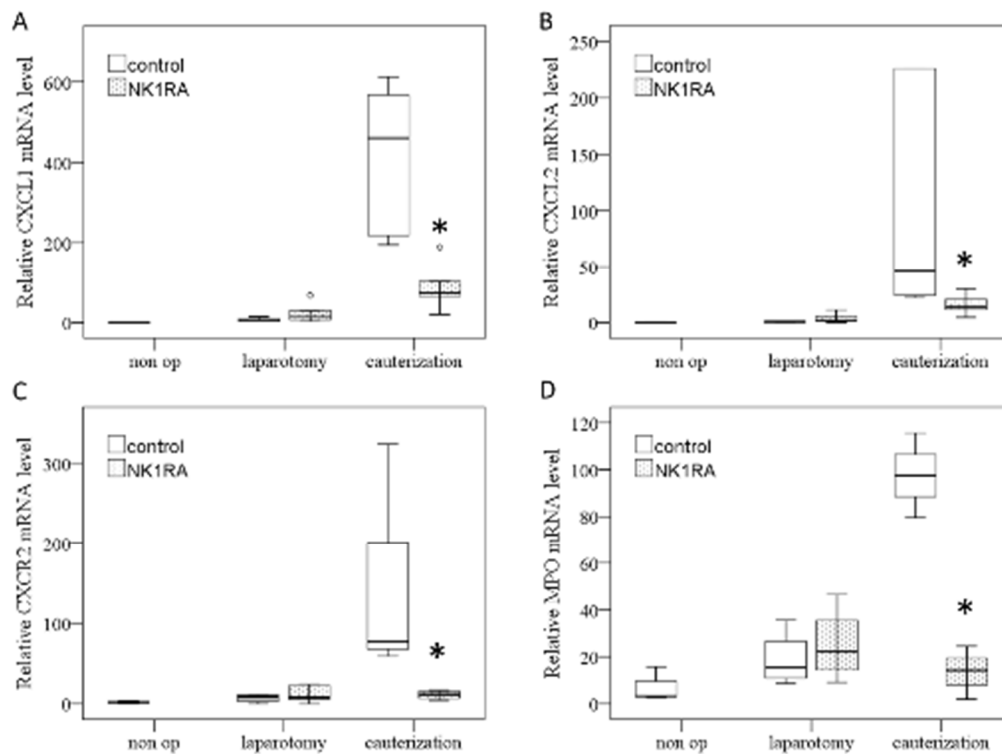


図4: NK1RA投与による癒着関連因子への影響

4. 考察

前述の研究結果から、ケモカインは癒着形成機序に部分的に関与する事が明らかとなった。しかしながら、ケモカインは癒着関連因子（IFN- γ 及び PAI-1）に影響を与えず、逆に既知の癒着形成機序の起点を NK1R でブロックする事で、ケモカインの産生が抑制された。

これらの結果から、図 5 に示すごとく、ケモカインを介した癒着形成機序は、既知の癒着形成機序（SP/NK1R-NKT-IFN γ -PAI1）とは別ルートのサブシグナル経路を形成している可能性が考えられ、既知の癒着形成機序（SP/NK1R-NKT-IFN γ -PAI1）に制御される下流シグナルである可能性が考えられた。

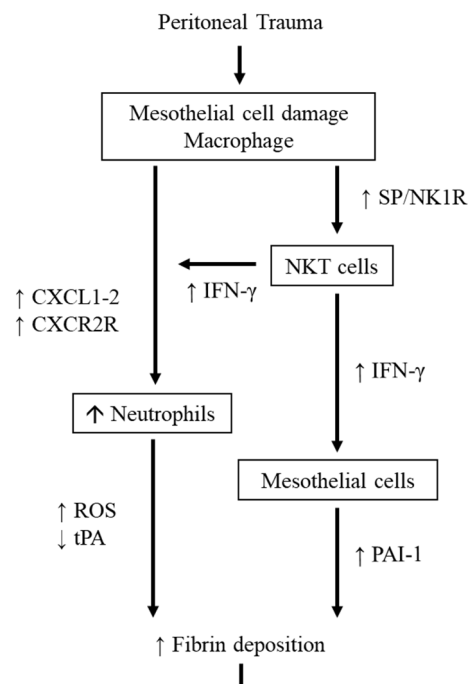


図5: 癒着形成機序におけるサブシグナル経路

5. 結語

本研究により、癒着形成機序におけるケモカインの役割の一端が明らかとなった。本研究成果は、今後の癒着形成機序研究の基盤となる可能性がある。

6. 文献

- 1) Kosaka H, Yoshimoto T, Yoshimoto T, Fujimoto J, Nakanishi K. Interferon-gamma is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. *Nat Med.* United States; 2008 Apr; **14**: 437–441.
- 2) Cassidy MR, Sheldon HK, Gainsbury ML, Gillespie E, Kosaka H, Heydrick S, *et al.* The neurokinin1 receptor regulates peritoneal fibrinolytic activity and postoperative adhesion formation. *J Surg Res.* United States; 2014 Sep; **191**: 12–18.

7. 成果発表

現在、Journal of Surgical Research に投稿中、in press の状態である。