

[Nat Med. 著者の論文;PMC 2017 Mar 28 より入手可能。](#)

最終編集版として以下の通り公表された:

[Nat Med. 2014 May;20\(5\):518-523.](#)

オンライン公開 2014 年 4 月 13 日。doi:10.1038/nm.3516

PMCID:PMC5369639

EMSID:EMS72000

PMID:24728410

1 プロスタグランジン E2 は急性非代償性肝硬変における免疫抑制を媒介する

アラステア J.O'Brien,1 James N.Fullerton,1 Karen A.Massey,2 Grace Auld,1 Gavin Sewell,3 Sarah James,1 Justine ニューソン、1 エフィーKarra,1 Alison Winstanley,4 William Alazawi,5 リタ・ガルシア-Marquez,6 Juan コルドバ、7 Anna Nicolaou,2 and Derek W.ギルロイ 1

著者情報著作権および使用許諾情報免責事項

この記事の最終編集版は Nat Med から入手できる。

公開された論文を引用している PMC の他の記事を参照すること。

2 関連データ

[補足資料](#)

[以下にアクセスする:](#)

3 抄録

進行した肝硬変患者は頻繁に感染を経験し、高い死亡率をもたらす敗血症に至る。急性非代償性(AD)患者では免疫抑制レベルでプロスタグランジン(PGE2)が上昇していることが判明した。AD および末

期肝疾患(ESLD)患者の血漿は PGE2 受容体依存的にマクロファージのサイトカイン分泌と殺菌作用を抑制したが、その作用は安定した肝硬変では認められなかった。マウスモデル(胆管結紮および CCL 4-肝損傷)でも PGE2 の上昇が認められ、これを阻害すると感染後の免疫能および生存が完全に回復した。重要なことに、アルブミンは PGE2 に結合/不活化して PGE2 の生物学的利用能を上昇させるため、アルブミン低値の患者では AD 血漿の免疫抑制作用が増強される。AD 患者にアルブミンを投与すると血漿の免疫抑制作用が逆転した。AD 患者にアルブミンを投与したところ、血漿中の免疫抑制作用が逆転した。げっ歯類の生存試験では保護作用が再現された。したがって、PGE2 の上昇と低アルブミン血症が併発すると、AD および ESLD 患者の免疫抑制作用が媒介され、これはアルブミンにより回復

キーワード:アルブミン、マクロファージ、脂質メディエーター、急性代償不全

肝硬変は高所得国では 6 番目に多く、低所得国では 9 番目に多い
1。肝硬変患者は感染の素因と感染による死亡率が高い 2。肝硬変

患者の 50%で感染が入院の原因となっており、さらに 15~35%で院内感染が発生しているのに対し、一般的な医療入院では 5~7%である 3。敗血症および臓器機能不全を発症した患者のうち、80~90%が死亡する 4。自然免疫応答における多様な欠陥は長い間認識されてきたが(5-7)、根本的な原因は依然として解明されていない。効果的な免疫回復療法は存在しない。上部消化管出血を伴う肝硬変患者に対する抗菌薬の予防投与は細菌感染と全死亡率を低下させるが(8)、非出血患者における抗菌薬の使用は実証されておらず、抗菌薬耐性の発生が大きな懸念事項である 9。

肝硬変患者は極めて多様であり、病因と病期の両方に大きなばらつきがみられる。臨床像と管理方針は主に後者によって決定され、安定型/早期型(チャイルズスコア A)、末期肝疾患(ESLD)、急性代償不全(AD)に分類される。基礎にある免疫機能不全を反映する感染への感受性は AD 患者で最も高く、安定型肝硬変(AD)で最も低い 10。非代償性肝硬変患者は典型的に肝性脳症、腹水、静脈瘤出血、アルコール性肝炎、高ビリルビン血症を呈する。AD とは、慢性肝不全を初めて発症する患者と急性肝炎(AoCLF、既存の慢性肝疾

患の急性悪化であり、通常は誘発イベントに関連し、多臓器不全による3カ月時点での死亡率上昇に関連する11)のいずれかを呈する患者のことである。

シクロオキシゲナーゼ(COX)由来の脂質メディエーターには幅広い免疫抑制作用があり12-15,肝硬変患者における易感染性の病因を説明できる可能性があることから、本研究では、臨床試験で得られたADおよびESLD患者の血漿を用いたin vitroおよびin vivoのいくつかのアッセイ法を用いて、免疫抑制における生理活性脂質メディエーターの役割を検討するとともに、肝損傷の動物モデルを用いて生存解析を行った。


[以下にアクセスする:](#)

4 結果

5 プロスタグランジン E2(PGE2)は2(PGE2)がEP2/3受容体への作用を介して免疫抑制作用を示す濃度で上昇する

急性非代償性の患者血漿(入院1~2日目)のESI/LC-MS/MS分析では、PGE2、PGF2 α 、5-および15-HETEがHVよりも有意に高値

であった(図 1A および補足図 1E-G)が、AD 患者で観察された平均濃度(0.1ng/ml)で前処理した場合には、LPS 刺激ヒト単球由来マクロファージからの TNF α 放出が減衰したのは PGE2 のみであった(図 1B)。



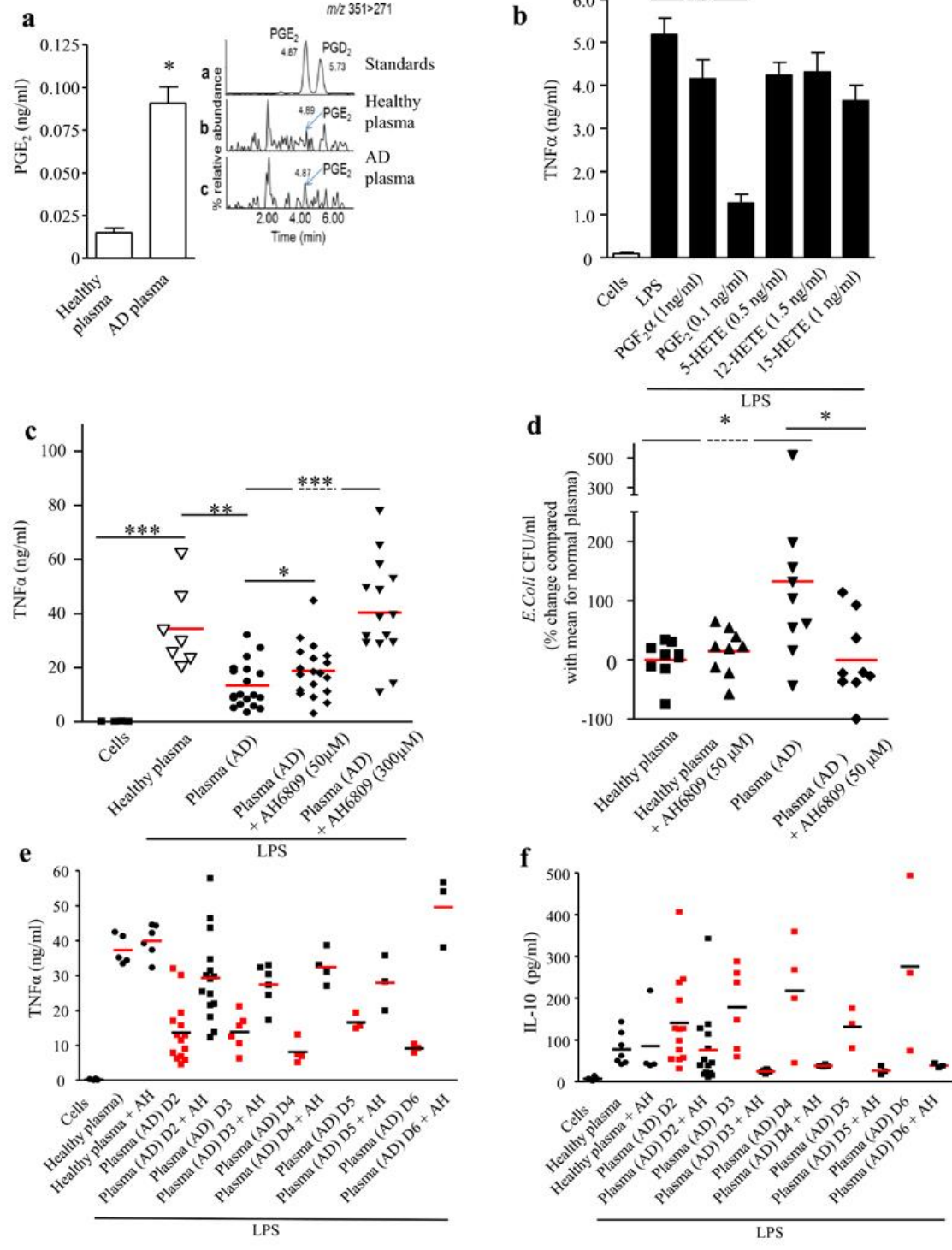


図 1

急性代償不全(AD)で入院した患者の血漿中の免疫抑制作用のある PGE₂ の上昇。(A)LC/ESI-MS/MS を用いて、他の脂質メディエーター1 の中でも PGE₂ が AD 患者の血漿中で上昇していることを同定した(補足の図、健康志願者で 8 例、AD 患者で

14 例、3 回の技術的複製を実施)。AD 患者から採取した血漿は、LPS 刺激ヒト単球由来マクロファージからの(B)TNF α 合成の阻害によって測定した免疫抑制的なレベルで(B)LPS 刺激ヒト単球由来マクロファージ(200ng/ml)からの TNF α 放出を阻害するとともに、これらの細胞による(D)殺菌作用を PGE2 受容体依存的に阻害した(AH6809[EP1-3 アンタゴニスト]50 μ M);n=35 の患者から採取した血漿を用いて 2 回の実験を行った)。AD の免疫抑制作用は入院後少なくとも 6 日間持続したが、これは AD の EP 受容体依存的な(E)TNF の抑制および(F)抗炎症性 IL-10 の上昇を(n=3~15 人の患者から採取した血漿を用いて判定した。データは平均 \pm SEM で表した。*P<0.05**P<0.01***P<0.001,ANOVA。

ヒト単球由来マクロファージを AD 患者由来の 25%(vol./vol.)血漿を添加した培地とインキュベートしたところ、HV 血漿を添加した培地で処理したマクロファージと比較して、AD 血漿では LPS 刺激性 TNF α の有意な減少が認められたが、これは E-プロスタノイド(EP)1-3/D-プロスタノイド(DP)1 受容体拮抗薬である AH6809 でマクロファージを前培養することで回復した(図 1C)。さらに、HV 血漿または AD 血漿の有無にかかわらず、マクロファージを大腸菌とともに培養したところ、HV 血漿で処理したマクロファージと比較して殺菌作用の低下が認められたが、AH6809(50 μ M)で前処置することで回復した(図 1D)。AH6809 には直接的な殺菌作用は認められなかったが、細胞生存率は血漿の影響を受けなかった。AD 血漿内のベスラインの TNF α 値は細胞培養時より 1000 分の 1 を超えて低かった。

6 表 1

DASIMAR 試験における患者の臨床的特徴

	ADMIS n=22(中央値、IQR)	ADLIS n=13(中央値、IQR)	P 値	全体 n=35(中央値、IQR)
%	63 例	27		
年齢	49.5 人(46.5～64.5 人)	54(48～70)	0.56	52(47～65)
性別(男性)	16(73%)	6(46%)		22(63%)
アルブミン	28(24～30)	30(28～31.5)	0.0012	29(27～31)
国際標準率 (INR)	1.7 人(1.4～2.04 人)	1.6(1.23-2)	0.93	1.7(1.4-2)
クレアチニン	62(47～109)	62(47.5～122 年)	0.54	62(49-108)
MELD スコア	19.4 人(15.6～21.8 人)	18.39 人(12.1～21.4 人)	0.93	19(14.2～23 年)
微生物検査陽性	6 回	3		9
入院中の死亡	2 個	1 回		3
6 カ月以内に死亡	7.	4 回		11.
入院期間(日数)	11.5(8～28)	10(5.5～19)	0.22	11(7～25)
CRP	28(115～50.5 年)	23(5～43.5)	0.24	26(13～49)
ビリルビン	78(34～119)	53(19～73)	0.87	67.5(24～104)
肝硬変の原因	15 アルコール (68%)	6 アルコール (46%)		21 アルコール(60%)
	3 NASH	3 NASH		6 NASH(17%)
	1 PBC	1 PBC		2 PBC
	1 個のサルコイド	1 潜因性		2 HCV
	1 先天性肝線維症	1 HBV		1 HBV
	1 HCV	1 HCV		1 先天性肝線維症

	ADMIS n=22(中央値、IQR)	ADLIS n=13(中央値、IQR)	P 値	全体 n=35(中央値、IQR)
PGE2	0.12(0.09~0.16);7例	0.065(0.035~0.085);n=6	0.005	0.09(0.065~0.13);13例
PGE 2/アルブミン	0.0041(0.0036~0.0058);7例	0.002(0.001~0.0028);n=6	0.001	0.003571(0.0022~0.0049);13例
NH3	208(128~260.5);5例	151;1例		204(133~236);n=6
虚血修正アルブミン比(IMAR)	0.025(0.014~0.06);n=10	0.011(0.005~0.02);n=5	0.075	0.017(0.01~0.04);n=15

[別のウィンドウで開く](#)

AD 患者の血漿では、TNF α の減少と IL-10 の上昇によって定義される入院 6 日後までの AH 6809 を介した持続的な免疫抑制が認められた(図 1E-F)。重要な点として、入院 1 日目の AD 患者の血漿検体の約 60%で PGE 2 依存的な免疫抑制が誘導されたが(図 1C)、2~6 日目に採取された全患者の血漿検体では PGE 2 依存的な免疫抑制が誘導された(図 1E-F)。

7 PGE2 は ESLD 患者の免疫抑制を媒介するが、安定した肝硬変または非肝硬変患者では媒介しない

フォローアップの 1 週目および 24 週目に採取した ESLD 患者の血漿ではマクロファージの TNF α 合成が有意に障害されたが、AH6809 によって再び逆転した(図 2A)。一方、安定型肝硬変(Child

スコア A) または非肝硬変患者から採取した検体では、マクロファージの機能に対する影響は認められなかった(図 2B)。安定型肝硬変患者の PGE2 濃度は健常ボランティアの 2 倍であったのに対し、AD 患者では 7 倍上昇していた(図 1A および補足の表 1)。



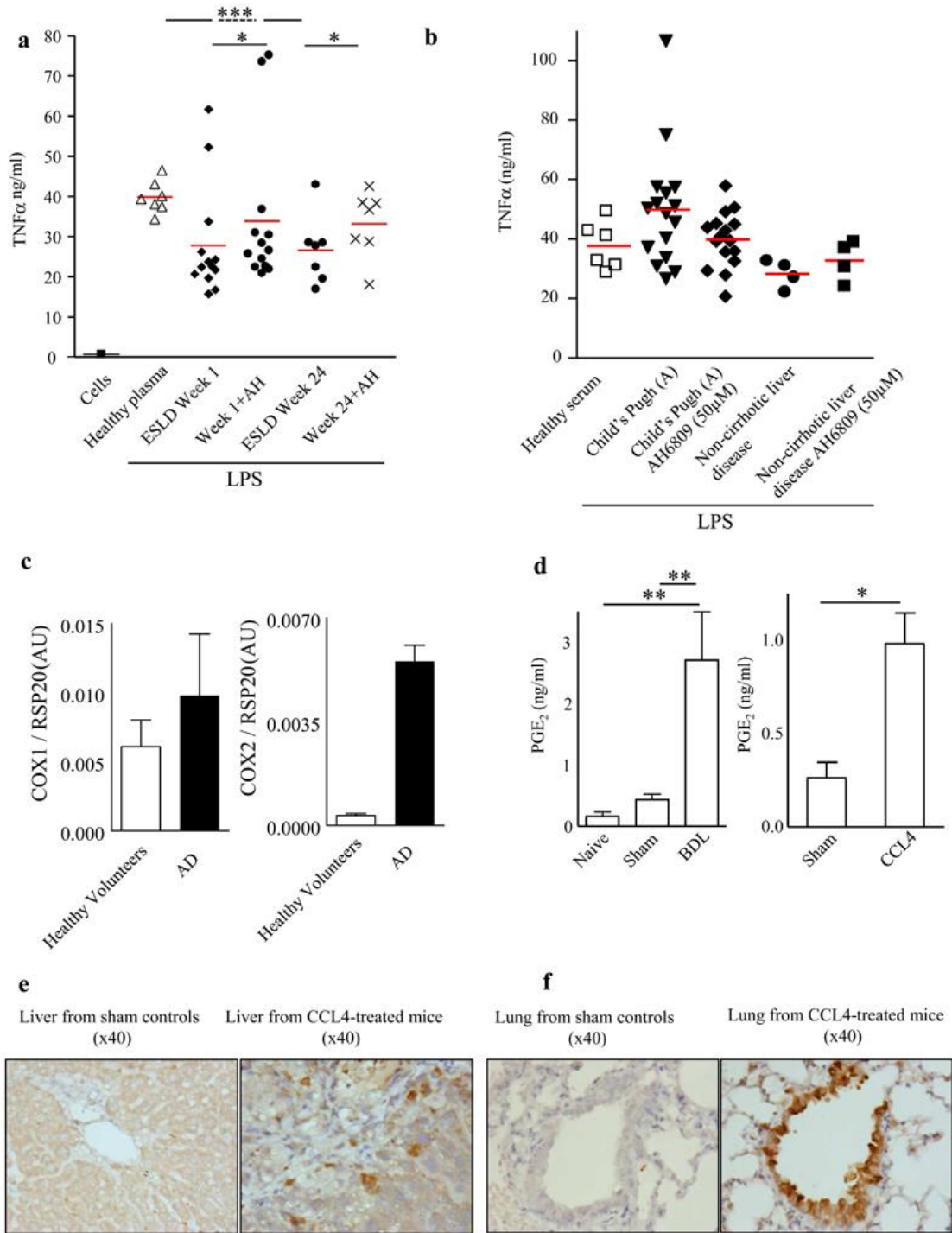


図 2

PGE₂ は、肝移植待機中の肝硬変患者では免疫抑制作用を示すが、安定した末期肝疾患や非肝硬変性肝疾患では免疫抑制作用を示さない。

(A)肝移植待機中の患者 13 名から採取した血漿を 24 週間投与したところ、AH6809(EP1-3 拮抗薬、50μM)を用いて LPS 刺激マクロファージの TNFα 合成が

EP 受容体依存的に有意に阻害され、(B)16 例の安定肝硬変(Child スコア A)または非肝硬変の外来患者 5 例から採取した血漿ではそのような免疫抑制は認められなかった。(C)rtPCR では、AD 患者から分離した末梢血単核細胞では健常ボランティア(1 群 5 例)と比較して、COX-2 の有意な上昇(2-tail t 検定、 $p < 0.00001$)が認められたが、COX-1 の上昇は認められなかった。(D)胆管結紮(BDL)および四塩化炭素(CCL4)肝損傷モデルでは、いずれも血漿中 PGE2 の上昇が認められ(1 群 6 例以上)、COX 2 は肺胞マクロファージのみならず肝臓のクッパー細胞にも認められた($n=3$)。* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 、ANOVA。

8 COX 2 は単球、肝臓のクッパー細胞、肺胞マクロファージで上昇しており、これらの細胞が PGE2 の供給源である可能性を示唆している。

rtPCR により、AD 患者の末梢血単核細胞では COX 2 の発現レベルが健常ボランティア(各群 5 例、図 2C)と比較して上昇していることが明らかにされたが($p < 0.00001$)、COX 1 の発現レベルは上昇していなかった。CCL4 マウス(PGE2 が上昇している、図 2D)の全臓器を免疫組織化学的に解析したところ、Kupffer 細胞および肺胞マクロファージではシャム組織と比較して COX 2 のアップレギュレーションが認められたが、腸管、大動脈、心臓または腎臓では認められなかった(図 2E および F)。

9 肝損傷の動物モデルにおいて、PGE2 を阻害することで殺菌作用が亢進し、生存率が回復した

BDL マウスは AD 患者と類似した表現型を示し(高ビリルビンおよび低アルブミン、補足表 3),PGE2 濃度が 5 倍を超えて上昇している(図 2D)。ヒトでの研究(図 1)と同様に、BDL 血漿はマクロファージの TNF α および IL-6 放出を抑制したが、マクロファージの生存力に影響を及ぼすことなく IL-10 を増加させた(図 3A および補足図 2A および B)。これは非選択的 COX 阻害薬であるインドメタシンでマウスを前処理することで逆転したが、バイカレイン(リポキシゲナーゼ阻害薬)、SKF525A(p450 阻害薬)または熱処理(タンパク質変性)した血漿を投与したマウスでは逆転はみられなかった。CCL4 肝硬変の 2 番目のモデルを用いた実験でも同様の所見が認められた(図 3B)。

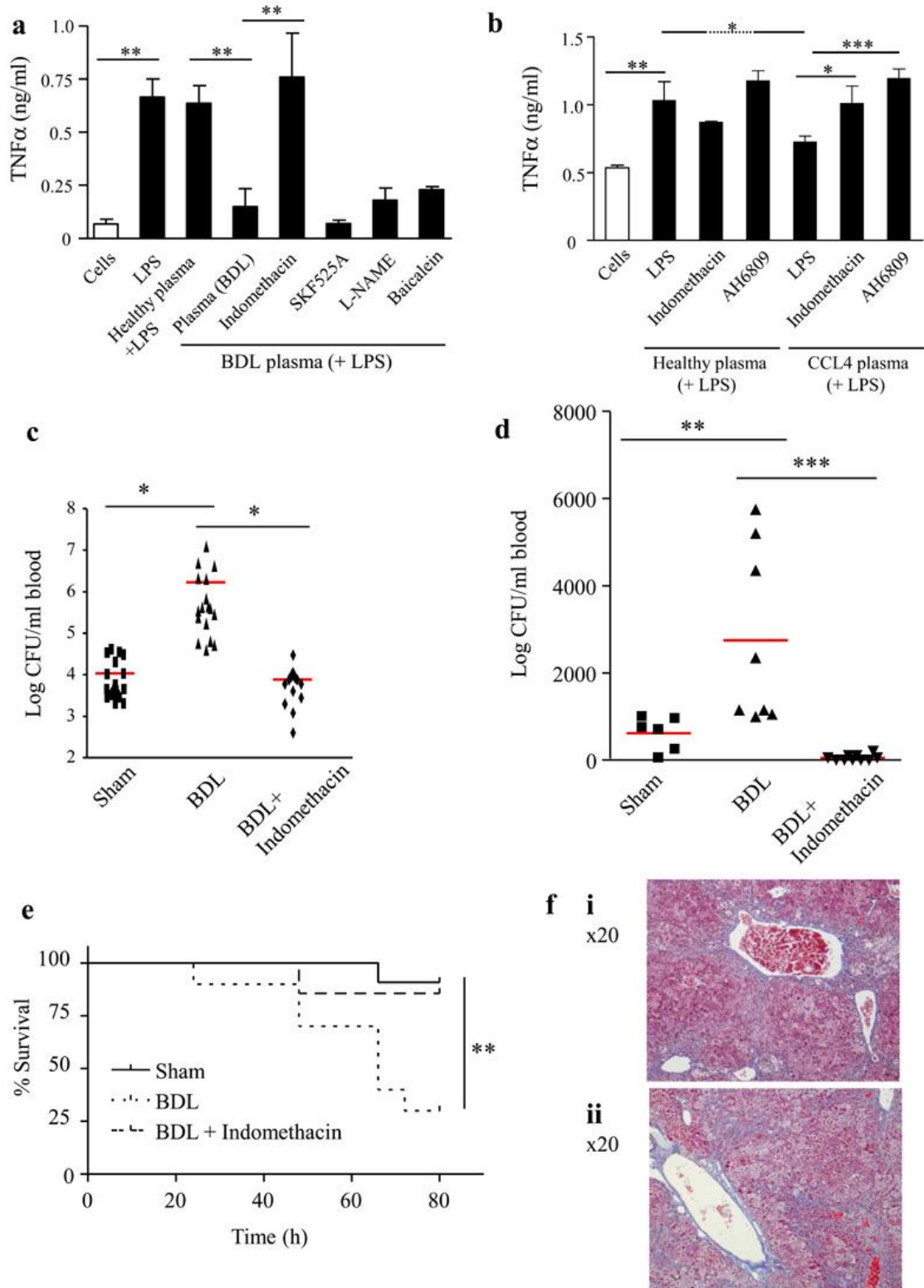


図 3

PGE2 を阻害すると、細菌殺菌の障害が回復し、細菌感染後の生存率が回復した。

BDL(A)又は CCL4(B)マウスに非選択的シクロオキシゲナーゼ阻害薬(血中 PGE2 を抑制するためにインドメタシン 3mg/kg を経口投与[各群 6 匹以上])を投与した場合と投与しなかった場合の血漿中 PGE2 濃度を比較したところ、BDL(A)又は CCL4(B)マウスにインドメタシン投与 1 時間後に(C)i.p.又は(D)i.v.B 群レンサ球菌を投与し、PGE2 の in vivo 殺菌作用(各群 8 匹以上)及びシクロオキシゲナーゼ阻害が動物の生存期間に及ぼす影響を経時的に(E)に示しとともに、肝硬変マウスの肝臓に対する慢性 PGE2 阻害の結果を(F)に示し、n=3 の実験で得られた顕微鏡写真を示す。データは平均±SEM で表した。*P<0.05**P<0.01***P<0.001,ANOVA.

BDL マウスに B 群レンサ球菌(GBS,NCTC10/84,血清型 V)v)を注射したところ、免疫抑制と一致して、3 時間後の BDL 血液中の細菌数がシャムと比較して有意に上昇した(図 3C および D)。しかし、GBS 投与 1 時間前にインドメタシン(PGE2 濃度を 80%以上阻害)を BDL マウスに投与すると、細菌を腹腔内(図 3C)または静脈内(図 3 D)に注射した場合、殺細菌数はシャムのレベルまで回復した(図 3E)。

BDL マウスに GBS を投与した後に観察された生存率の低下は、インドメタシンによってシャムのレベルまで回復した(図 3E)。肺では PGE2 が線維化 16 を防ぐため、PGE2 濃度を低下させることは感染に有益であるが、肝線維化を悪化させる。しかし、肝臓の H&E および Masson トリクローム染色による組織学的分析では、セレコキシブ(選択的 COX 2 阻害薬)と非セレコキシブ処理 CCL4 マウスとの間に差は認められなかった(図 3F)。

10 アルブミンは PGE2 の免疫抑制作用を逆転させる

AD 血漿の存在下で培養したマクロファージから採取した TNF α のレベルと対応する血漿 PGE2 のレベルとを相関させると、 r^2 は 0.41($p=0.085$)と控えめな値となった。アルブミンはサブドメイン 2A17 のリガンド結合部位 I に結合することによって A 型および E 型 PG に結合する。質量分析では遊離 PGE2 とアルブミン結合 PGE2 の両方を測定するため、免疫抑制は血中アルブミン濃度によって測定される PGE2 の生物学的利用能の結果であると仮定した。AD 血漿の PGE2 レベルを対応するアルブミンレベルの関数として表し、これらの値をマクロファージの TNF α 合成と相関させると、 r^2 値は 0.72($p=0.0076$)となった(図 4A)。AD 血漿にアルブミンを添加して HV 血漿に相当する 40mg/dl に回復させると、AD 血漿による TNF α 生成の抑制が逆転した(図 4A)。培地にアルブミンを 40mg/dl 補充すると、PGE2 による TNF α 合成の抑制が損なわれた(図 4C)。

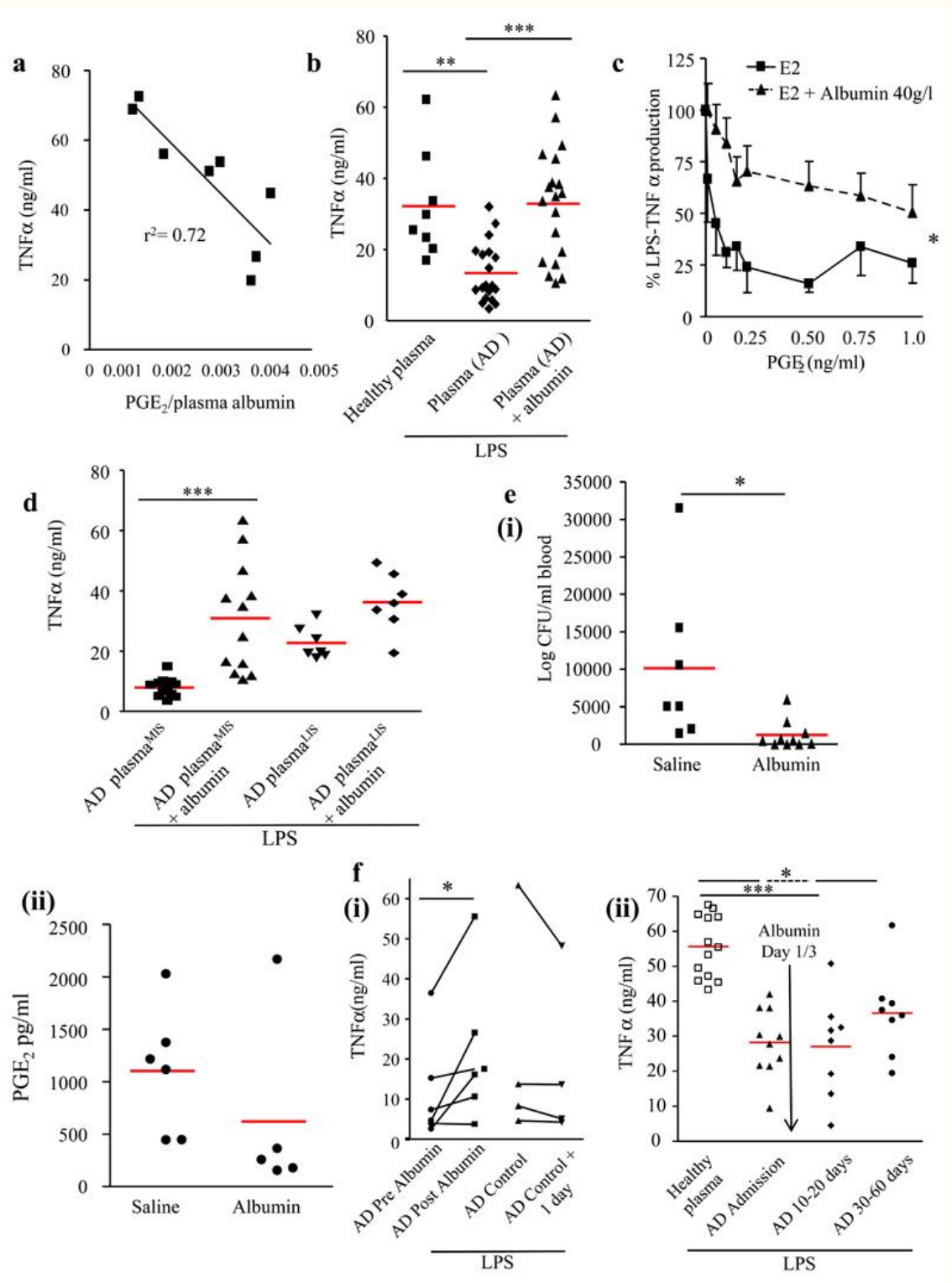


図 4

AD 血漿による PGE₂ を介した免疫抑制は、アルブミンによって回復する。

(A)AD の血漿中 PGE₂ 濃度を対応するアルブミン濃度に対して補正したところ、アルブミン濃度は LPS 刺激ヒト単球由来マクロファージの TNFα 合成に対する AD 検体

の作用と有意に相関していた。(B)AD 検体にはヒトアルブミンを補充して平均濃度を 40 g/L(AD 血漿中の平均アルブミン濃度=25.4g/l)に戻した後、LPS 刺激 (200ng/ml)ヒト単球由来マクロファージとともに培養したところ、19 名の患者から採取した検体で 2 回の試験が実施された。(C)アルブミンを含まない培養環境で PGE2 濃度を上昇させること抑制されたヒト単球由来マクロファージの TNF α 産生は、99% 以上の精製ヒト血清アルブミン 40mg/dl で拮抗された。健常対照(図 1C)から採取した TNF α の最低値よりも TNF α を減衰させた全ての(D)AD 検体を任意に ADMIS(最も免疫抑制された AD 検体)にグループ分けし、残りを ADLIS(最も免疫抑制されていない AD 検体)とした。アルブミンは AD plasmaMIS 検体で最も免疫抑制を逆転させた。20%HAS(HAS)または生理食塩水(0.9%)0.5 mL を、(E,パネル i)菌を有する B 群レンサ球菌の 1 時間前に BDL マウス(n=10)に投与し、1 時間後に測定した(E,パネル ii)PGE2 の血漿濃度(n=5)に投与した。(F)パネル(i)では、20%HAS を AD 患者(n=6)に投与し、LPS 刺激ヒト単球由来マクロファージとともに 1 日後の PGE2 の血漿濃度(n=5)に投与した。(F)パネル(i)では、20%HAS を AD 患者(n=6)に投与し、AD 患者の退院前および退院後(1 日)のアルブミン検体を LPS 刺激ヒト単球由来マクロファージとともに投与した。パネル F(ii)では、20%HAS を AD 患者(n=6)に投与し

11 血清アルブミン値が 30mg/ml 未満であれば、易感染性が予測される。

TNF α を健康な血漿中の TNF α の最低値よりも低下させた AD 血漿中のサンプル(図 4A)を任意に ADMIS(最も免疫抑制された AD 血漿中)と残りの ADLIS(最も免疫抑制されていない AD 血漿中)に分類した(図 4D)。アルブミンと AH6809 は ADMIS による免疫抑制を回復させたが、ADLIS は抵抗性であった(図 4D および補足の図 5 A-C)。AH6809 が LIS/MIS 検体に及ぼす影響の差は、ESLD 患者でも観察された(補足の図 5D)。

AD 患者データの解析(表 1)では、アルブミンが MIS と LIS の血漿検体を識別する唯一の特徴であることが実証された(P=0.0012)。35名の患者から成るこのコホートの受信者動作特性(ROC)解析では、カットオフ値 30mg/dl 未満のアルブミンで免疫抑制が予測され、感度は 70%(CI 47~87),特異度は 67%(CI 35~90)であった。

12 20%HAS がマウス細菌性腹膜炎の殺菌作用を増強する

GBS 負荷の 2 時間前に 20%HAS または生理食塩水(0.5 mL,i.p.)を投与された BDL マウスでは、アルブミン投与マウスの平均アルブミン濃度が 24mg/dl から 32mg/dl に上昇した。GBS 負荷の 3 時間後には、アルブミン投与マウスの方が生理食塩水投与マウスよりも有意に低い血中細菌濃度を示したが(図 4E(i))、同時に血漿 PGE2 濃度も低かった(図 4E(ii))。アルブミンには直接的な殺菌作用はないため、PGE2 拮抗作用を介して BDL マウスの免疫能を回復させると考えられる。

13 20%HAS の注入は AD で入院した患者の免疫抑制を回復させる

血清アルブミン濃度が 30 mg/dl 未満であった AD 患者(中央値 200 mL)に 20%の HAS が投与され、アルブミン値が 23.7 ± 1.7 から 30.1 ± 3.1 mg/mL に上昇し、免疫抑制が回復した(図 4F(i), $P < 0.05$, $n = 6$)。アルブミンを投与されなかった患者から連日採取された検体では、免疫抑制の持続が証明された($P < 0.05$, $n = 6$)。

急性肝性脳症で入院した患者では、血漿によって誘発された免疫抑制が退院後 60 日まで持続し($P < 0.001$ 、図 4F(ii))、1 日目と 3 日目に 20%HAS 200 mL を投与しても長期免疫抑制には影響がみられなかった(アルブミン投与後 8~60 日に採取した検体)。生理食塩水の投与も影響がなかった(補足の図 5E)。

[以下にアクセスする:](#)

14 討論

この研究では、AD および ESLD 患者における免疫抑制の主な原因が初めて明らかにされた。産生増加に続発する循環血中 PGE2 濃度の上昇は、低アルブミン血症と相まって先天性免疫不全を引き起こし、感染に対する脆弱性をもたらす。この現象は入院 2 日目以降

のすべての AD 患者でみられ、退院後少なくとも 60 日間持続した。血清アルブミン濃度 30mg/dl 未満は免疫抑制の予測因子であり、30mg/dl 以上の濃度を達成するための 20%HAS 注入はヒト血漿中 ex vivo および in vivo マウスモデルにおいて免疫抑制を逆転させることが示された。そこで我々は、AD を呈する患者に対する感染の予防および治療の新しいパラダイムを提案する。全ての患者に対して、入院中の血清中濃度を 30mg/dl 以上に維持するための層別 HAS 療法を行うべきである。HAS は ESLD 患者においても効果的な免疫回復戦略となる可能性がある 18。

我々の研究の大きな強みは、マウスとヒトを用いた一連の in vitro/in vivo 実験を仮説に基づいて実施したことである。移植待機リストに記載された AD または ESLD のいずれかを有する 75 名以上の患者において PGE2 を介した強力な免疫抑制されたが、2 カ国の 5 つの病院から提供された 15 名以上のチャイルズ A/非肝硬変性肝臓疾患患者患者では示されなかった。LPS 刺激後の炎症性サイトカインの産生低下は敗血症 19、外傷患者 20 および小児人工心肺後の有害な転帰と関連するため、TNF α のマクロファージ産生を免

疫能の主要アッセイとして選択した 19。我々は、細菌感染/生存のマウスモデルに加えて、他のいくつかの免疫機能不全-マクロファージ IL10 産生および殺細菌モデルのモデルを用いて、PGE2 が AD および ESLD における免疫抑制を引き起こすという結論に達した。当然ながら、我々が提案する AD の管理パラダイムには、大規模な臨床試験による検証が必要である。

PGE2 は、cAMP24 のアップレギュレーションを介した NADPH オキシダーゼ媒介性の殺菌作用 2223 の阻害および FcγR 媒介性の貪食作用 2526 の阻害により、先天性免疫機能不全の重要なメディエーターであることが示されている。PGE2 産生の増加は、肝損傷に続発する炎症性細胞浸潤と腸管バクテリアルトランスロケーションの組合せにより引き起こされる可能性が高く、その結果、末梢単球およびクッパー細胞 27 の COX 活性が上昇した。重要なこととして、AD 患者ではアルブミン 28 と結合することで生物学的利用能が上昇することが知られており、循環アルブミン濃度の低下により PGE2 の免疫抑制作用が亢進していた。安定した肝硬変患者ではアルブミン濃度が正常であったことから、PGE2 濃度が上昇していても(AD 患者

では 7 倍の上昇に対して対照値の 2 倍),安定した肝硬変患者から採取した血漿では免疫抑制作用が認められなかった理由は、このことで説明できる可能性がある。我々の研究では、PGE2 の供給源は末梢血単核球、肝臓のクッパー細胞および肺胞マクロファージである可能性が明らかにされたが、PGE2 の明らかな抗線維化特性にもかかわらず、慢性 COX 2 阻害(セレコキシブ 10mg/kg を 5 日間

世界的に肝疾患が増加しており、敗血症が肝硬変 3 の罹病/死亡の主な原因であることを考えると、これらの患者における感染症の治療と予防は、医療上の大きな課題となるであろう。免疫抑制は肝硬変でよく知られているが、我々の研究以前には基礎となる機序が確立されていなかったため、免疫回復療法は存在しない。

非ステロイド系抗炎症薬(NSAID)は実験的には効果的であるが、腎障害および消化管出血の発生率が上昇するため、非代償性肝硬変患者では禁忌である³⁰。アルブミンは、他の組織における防御的な役割を損なうことなく、自然免疫細胞に対する PGE2 の作用に拮抗するようである。アルブミンは、腹水、I 型肝腎症候群、特発性細菌性腹膜炎(SBP)などの肝硬変関連合併症の治療にすでに使用され

ており、その安全は十分に確立されている³¹。SBPでは、大量のアルブミン輸液(入院1日目と3日目に最大160g)により、対照群と比較して死亡率が低下した³²。この状況では輸液蘇生術が間違いなく有益であった一方で、アルブミンの免疫回復作用を軽視することはできない³³³⁴。このレジメンは現在SBP²⁷で推奨されているが、PGE2による免疫抑制は入院中持続するため、1日目と3日目のアルブミンのわずかなベネフィットしかもたらさない可能性がある。アルブミンの免疫回復作用は、血清アルブミンが30mg/dlを超える間のみ持続する可能性が高いため、反復投与が必要になると予測されている。

結論として、これはPGE2の上昇がADおよびESLD患者における免疫抑制の根底にある原因であることを示した最初の研究である。ADを呈する患者の免疫抑制を回復させるための新たな管理戦略を提案する。入院中の血清アルブミン値を30mg/dl以上にすることを目標としてアルブミンを免疫回復薬として再利用することで、免疫能が回復し、感染症治療が強化され、院内感染が予防される。これに

より、死亡率の改善、ICU 入室率の低下、入院期間の短縮、抗生物質使用の削減につながる可能性がある。

[以下にアクセスする:](#)

15 方法

16 ヒトモデル

肝硬変患者の感染に対する脆弱性が異なる複数の情報源から検体が採取され、対照として非肝硬変患者が用いられ、全ての被験者からインフォームドコンセントが得られた。肝臓疾患患者

- (i)急性非代償性患者:

○ a

AoCLF 検体-AoCLF における予後バイオマーカーとしての DASIMAR の予測有用性
(ClinicalTrials.gov:NCT01071746)。

○ b

急性脳症-ALFAE(Efficacy of Albumin for Cirrhosis in patients with cirrhosis,Hospital Clinic of

Barcelona;ClinicalTrials.gov:NCT00886925)(Efficacy of Albumin for Cirrhosis in patients with cirrhosis in cirrhosis in cirrh 急性脳症

○ C

University College London Hospital(UC RH)からのアルコール性肝疾患に続発する代償不全の最初の報告。

- (ii)ESLD を代表する合併症予防待機リストに登録された患者について、24 週間にわたる MACHT(Effect of midodrine and albumin in the liver transplantation in cirrhosis patients awaiting liver transplantation,Hospital Clinic of Barcelona;ClinicalTrials.gov:NCT00839358)により追跡調査が行われた。
- (iii)王立ロンドン病院外来の安定した肝硬変(Child's Pugh A)。
- (iv)王立ロンドン病院外来からの非肝硬変性肝疾患(非アルコール性脂肪肝疾患)。

すべての試験について倫理上の承認が与えられた(補足的方法を参照)。

LC/ESI-MS/MS(エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析)は公表されたプロトコル 35 に基づいて行われた。ヒト単球由来マクロファージ 36 を 200ng/ml の LPS(*Salmonella Abortus*, Enzo Biochem, Inc)±血漿中/血清中(25%)又は目的のエイコサノイド ±AH6809(50~300µM, Sigma Aldrich, Dorset, U.K.)又はアルブミンで 24 時間刺激した後、複数のメディエータ又は血漿中試料を同時に評価し、上清を採取してサイトカイン分析を行った。殺細菌試験では、マクロファージ(100:1)±AD 又は健康ボランティア(HV)血漿中 ±AH6809/アルブミンに大腸菌(臨床分離株)を添加し、AD 患者及び健康ボランティアから採取した多形核白血球を用いて、標準的なリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(rtPCR)法が実施された。

17 動物

マウスは 22±1°Cの 12 時間/12 時間明/暗サイクルで飼育され、英国 Charles River UK(Margate, UK)の雄 C57Bl6/J マウス(20~25 g)を用いて試験が実施された。肝障害の 2 つのモデルが用いられた:

胆管結紮(BDL,2 週間)³⁷ または四塩化炭素

(CCL₄,Merck,Darmstadt,Germany,8 週間)を週 2 回皮下投与(1 mL/kg)と 300mg/L フェノバルビタール水溶液³⁸ を用いて、PGE₂ 阻害薬が *in vivo* の感染モデルにおける殺細菌および生存に影響を及ぼすか否かを検討した。

18 統計解析

動物数の計算には、マウスの腹膜炎試験から得られた細胞プロファイル、炎症性たん白質の発現及び脂質メディエーターの産生について極めて再現性がある。各群に動物をランダムに割り付けることにより、動物間の生物学的変動よりも動物内の反復変動の方がはるかに小さいことが明らかにされた。パラメータ平均の約 40%の効果の大きさは生物学的に適切であると考えられる。この人口統計を用いて、ANOVA による一次検定で $P < 0.05 < 0.05$ で統計学的に決定した後、検出力 90%で事後 Bonferroni 補正 T 検定を行うために、5 匹の動物の群サイズが必要である。この方法をヒトに適用するには、ヒト肝硬変患者の血漿を用いて、殺細菌作用及び TNF α 作用を有するヒト細胞を用いて、一元配置の ANOVA を行い、次に

Bonferroni post-test を行い、免疫機能の有意な変化を識別するためには、各群 10 例以上の数が必要であった。統計解析は GraphPad Prism 4(GraphPad Software)を用いて実施した。複数群間の比較には、反復測定を含む一元配置の ANOVA を行い、次に Bonferroni post-test を行い、両側対検定を用いて 2 群間の比較を行った。時間-反応曲線の差は二元配置の ANOVA を用いて評価した。変数間の相関は、Pearson 統計量を用いた直線回帰を用いて計算した。正規分布しないデータ(表 1 の臨床データ)については、Mann-Whitney 検定を用いて統計学的に有意と

19 ランダム化

ケージに入れた動物(5 匹/ケージ)を手術または化学薬品による肝損傷にランダムに割り付け、その後、マウス群に薬剤介入群、感染刺激群、またはその両方を投与する群が割り付けられた。さらに、必要に応じて、ex vivo バイオアッセイのための血漿抽出用として、肝疾患マウス群と偽対照群が選択された。ヒトでの試験では、ヒト単球由来マクロファージに健康ボランティアまたは肝臓疾患患者からの血漿が投与されたため、ランダム化は不可能であった。

20 盲検化

すべてのマウス及びヒトの細胞培養、細菌試験及びマウスの生存試験において、試験責任者には試験中及びデータ解析中の試料源について盲検化が行われた。

[以下にアクセスする:](#)

21 補足資料

22 補足データおよび凡例

ここをクリックすると表示される(448K,pptx)。

[以下にアクセスする:](#)

23 謝辞

DASMIAR(NCT01071746)から採取した検体の使用を許可して下さった Raj Mookerjee 医師、検体収集を行って下さった Nainah Shah 医師、技術協力をいただいた Nathan Davies 医師に深く感謝するとともに、ブラッドフォード大学(英国ロイヤルフリー病院)の Liver Failure Group のメンバーである Andrew Healey 医師にも、技術協力をいただいた Andrew Healey 医師にも感謝する。さらに、

検体の入手を促進して下さった Harry Antoniadou 医師(Imperial College,London)、MACHT(NCT00839358)および ALFAE 試験(NCT00886925)からの検体を提供して下さったリタ・ガルシア-Marquez 医師(Hospital Clinic Barcelona,Spain)および Juan コルドバ医師(Instituto de Salud Carlos III,Madrid,Spain)にも感謝する。

経済的支援

DWG は Wellcome Trust の上級研究員であり、ここで提示した研究への支援は Wellcome Trust から提供された。

[以下にアクセスする:](#)

24 表

AD 型 急性代償不全
ESLD 末期肝疾患
AoCLF 慢性肝不全の急性期
PG プロスタグランジン
CCL4 四塩化炭素
BDL 胆管結紮

[以下にアクセスする:](#)

25 脚注

投稿者

著者の貢献

DWG/AO'Bがこのアイデアを思いつき、AO'Bが作業を実施した。DWGとAO'Bは論文を共同執筆し、JNFが編集した。JNF/GS/JN/SJ/EK/GAは生化学検査、WA/RGは臨床検体を提供し、KM/ANはエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析、AWは組織学的分析をそれぞれ実施した。

[以下にアクセスする:](#)

26 参考文献

- 1.Lim YS,Kim WR.The global impact of hepatic fibrosis and end-stage liver disease.Clin Liver Dis 2008;12:733-746.vii.[PubMed][Google Scholar]
- 2.Fernandez J,et al.Bacterial infections in cirrhosis:epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis.Hepatology,2002;35:140-148.[PubMed][Google Scholar]
- 3.Navasa M,Fernandez J,Rodes J.Bacterial infections in liver cirrhosis.Italian journal of gastroenterology and hepatology.1999;31:616-625.[PubMed][Google Scholar]
- 4.O'Brien AJ,Welch CA,Singer M,Harrison DA.Prevalence and outcome of cirrhosis patients hospitalized to UK intensive care:a comparison against dialysis-dependent chronic renal failure patients.一次救命処置。2012;38:991-1000.[PubMed][Google Scholar]
- 5.Fierer J,フィンリーF.Deficient serum bacteriogenic activity in patients with cirrhosis of the liver.The Journal of clinical investigation.1979;63:912-921.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 6.Hassner A,et al.Impaired monocyte function in liver cirrhosis.British medical journal,1981;282:1262-1263.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 7.Rajkovic IA,Williams R.Abnormalities of neutrophil phagocytosis,intracellular killing and metabolic activity in alcoholic cirrhosis and hepatitis.Hepatology,1986;6:252-262.[PubMed][Google Scholar]
- 8.Chavez-タピア NC,Barrientos-Gutierrez T,Tellez-アビラ FI,Soares-Weiser K,Urbe M.Antibiotic prophylaxis for cirrhosis with cirrhosis.The Cochrane

- Database of systematic reviews.2010:CD002907.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]上部消化管出血
- 9.Cohen MJ et al.,Antibiotic prophylaxis for cirrhosis in an cirrhosis with ascites with cardiac with gastrointestinal bleeding がない肝硬変患者における特発性細菌性腹膜炎の予防。The Cochrane Database of systematic reviews.2009:CD004791.[PubMed][Google Scholar]
- 10.Faggioli S,et al.Management of infections in cirrhosis patients:Report of a Consensus Conference.Dig Liver Dis.2013[PubMed][Google Scholar]
- 11.Laleman W,et al.,Acute-on-Neuropathy:current concepts on definition pathogenesis,clinical symptoms and potential therapeutic interventions.Expert Rev Gastroenterol Hepatol.2011;5:523-537.quiz 537.[PubMed][Google Scholar]慢性肝不全
- 12.Scher JU,Pillinger MH.The anti-inflammatory effects of prostaglands.J Wicked Med.2009;57:703-708.[PubMed][Google Scholar]
- 13.Stables MJ,ギルロイ DW.Old and new generation lipid mediator in acute inflammation and resolution.Prog Lipid Res.2011;50:35-51.[PubMed][Google Scholar]
- 14.Kalinski P.Regulation of immune responses by prostaglandin E2.Journal of Immunology,2012;188:21-28.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 15.Fullerton JN,O'Brien AJ,ギルロイ DW.Pathways mediating resolution of inflammation:when enough is too.J Pathol.2013;231:8-20.[PubMed][Google Scholar]
- 16.Bozyk PD,Moore BB.Prostaglandin E2 and the pathogenesis of pulmonary fibrosis.Am J Respir Cell Mol Biol.2011;45:445-452.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 17.Yang J,Petersen CE,Ha CE,Bhagavan NV.Structural insights into human serum albumin-mediated prostatin catalysis.Protein science:an publication of the Protein Society.2002;11:538-545.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 18.Romanelli RG,et al.,Long-term albumin infusion improvement in patients with cirrhosis and ascites:an unblinded randomized trial.World J Gastroenterol.2006;12:1403-1407.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 19.Hall MW,et al.,Immunoparalysis and nominal infection in children with multiple organ dysfunction syndrome.Intensive Care Med.2011;37:525-532.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

- 20.Ploder M et al.,Polysaccharide-induced tumor necrosis factor α の産生は認められるが単球ヒト白血球抗原-DR の発現は認められないことから、敗血症性ショックの患者における生存率との相関が認められている。
Shock.2006;25:129-134.[PubMed][Google Scholar]
- 21.Allen ML,et al.,Interleukin-10 and its role in clinical immunoparesis after pediatric cardiac surgery.Crit Care Med.2006;34:2658-2665.[PubMed][Google Scholar]
- 22.Serezani CH,et al.プロスタグランジン E2 は、NADPH オキシダーゼを阻害することにより肺胞マクロファージの殺菌作用を抑制する。American journal of respiratory cell and molecular biology,2007;37:562-570.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 23.Bourdonnay E,Serezani CH,Aronoff DM,Peters-Golden M.Regulation of alveolar macrophage p40phox:hierarchy of activating kinase and its inhibition by PGE2.J Leukoc Biol.2012;92:219-231.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 24.Serezani CH,Ballinger MN,Aronoff DM,Peters-Golden M.Cyclic AMP:master regulator of natural immune cell function.Am J Respir Cell Mol Biol.2008;39:127-132.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 25.Aronoff DM,Canetti C,Peters-Golden M.プロスタグランジン E2 は、E-プロスタノイド 2 受容体を介した細胞内サイクリック AMP の増加を介して肺胞マクロファージの貪食を阻害する。J Immunol.2004;173:559-565.[PubMed][Google Scholar]
- 26.メデイロス AI,Serezani CH,Lee SP,Peters-Golden M.エフェロサイトーシスは、PGE2/EP2 シグナル伝達を介して肺マクロファージおよび肺の抗菌機能を障害する。The Journal of experimental medicine,2009;206:61-68.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 27.Goss JA,Mangino MJ,Flye MW.肝再生時のプロスタグランジン E2 産生は星細胞の IL-6 産生を抑制する。Ann Surg.1992;215:553-559.discussion 559-560.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 28.Yang J,Petersen CE,Ha CE,Bhagavan NV.Structural insights into human serum albumin-mediated prostatic catalysis.Protein Sci.2002;11:538-545.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 29.MCaNulty RJ,Hernandez-Rodriguez NA,Mutsaers SE,Coker RK,Laurent GJ.Biochem J.1997;321(Pt 3):639-643.[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

30. Runyon BA. Introduction to the revised 米国肝臓学会議 Practice Guideline management of adult patients with ascites due to cirrhosis 2012. *Hepatology*. 2013;57:1651-1653. [PubMed][Google Scholar]
31. Alves de Mattos A. Current Indication for the Use of Albumin in the treatment of cirrhosis. *Annals of Hepatology*, 2011;10(Suppl 1):S15-20. [PubMed][Google Scholar]
32. Sort P, et al. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and 特発性細菌性腹膜炎. *N Engl J Med*. 1999;341:403-409. [PubMed][Google Scholar]
33. Jaisson S, et al. カルバミル化アルブミンは多形核好中球の呼吸バーストを強力に阻害する. *FEBS Lett*. 2007;581:1509-1513. [PubMed][Google Scholar]
34. Moocrejee RP, et al. *Hepatology*, 46:831-840, 2007;46:. [PubMed][Google Scholar] 好中球機能不全症
35. Masoodi M, Mir AA, Petasis NA, Serhan CN, Nicolaou A. Simultaneous lipidomic analysis of three family of bioactive lipid mediators leukotriene, resolvins, protectins 及び関連するヒドロキシ脂肪酸の液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析法による同時リポミクス解析. *Rapid Commun Mass Spectrum*. 2008;22:75-83. [PMC free article][PubMed][Google Scholar]
36. Smith AM, et al. Disorder macrophage cytokine secretion は、クローン病における急性炎症障害および細菌クリアランスの基礎となる. *The Journal of experimental medicine*, 2009;206:1883-1897. [PMC free article][PubMed][Google Scholar]
37. Georghiou P, et al. Characterization of time-related changes after experimental biliary duct ligation. *Br J Surg*, 2008;95:646-656. [PubMed][Google Scholar]
38. Domenicali M, et al. A new model of CCl4-induced cirrhosis with ascites in the mouse. *J Hepatol*. 2009;51:991-999. [PubMed][Google Scholar]