

氏名(本籍)	まる やま つね ひこ 丸山常彦(東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第3219号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Systemic inflammatory response syndrome における臓器障害発生の機序の解明
主査	筑波大学教授 医学博士 金子道夫
副査	筑波大学助教授 医学博士 松崎靖司
副査	筑波大学講師 医学博士 範江林
副査	筑波大学講師 博士(医学) 福島敬

論文の内容の要旨

(目的)

消化器外科の術後において大部分の症例が systemic inflammatory response syndrome (SIRS) を呈する。SIRS において問題になるのは、それに続発する臓器障害である。研究1では、臨床例において術後早期の好中球および炎症性サイトカインの推移を調べ、臓器障害発症との関連を検討した。また近年、肥満細胞由来の TNF α が生体防御反応において重要な役割をしていて、肥満細胞が好中球活性化に必要な存在であることが報告されている。研究2では、動物実験モデルにおいて腹部重症感染症における肥満細胞の重要性と臓器障害発症との関連性について検討した。

研究1

(対象と方法)

消化器外科手術症例36例。術前、術直後、術後2, 6時間, 1, 3, 7日に末梢血好中球数, 血中 TNF α , IL-6, 好中球エラスターゼ (PMNE) を測定した。同時に腎臓, 肝臓, 肺, 血液凝固系の臓器障害の指標として血清クレアチニン値 (Cre), 血清総ビリルビン値 (Bil), oxygenation index (OI), 末梢血血小板数 (PLT) を術前, 術後1, 3, 7日に測定した。臓器障害の判定基準を sequential organ failure assessment (SOFA) の多臓器障害と判定されるスコア2を基準とし Cre \geq 2.0mg/dl, Bil \geq 2.0mg/dl, OI $<$ 300mmHg, PLT $<$ 100,000/ μ l とし1臓器でも臓器障害が認められた群 (+群: N=22), 臓器障害が認められなかった群 (-群: N=14) の2群に分け, 各測定値を比較検討した。また, 多重ロジスティック解析を用いて, 各測定値, 背景因子を解析し, また各測定値の相関関係を検討した。

(結果)

末梢血好中球数は, +群は-群に比較して術直後, 2, 6時間で有意に低値を推移していた。血中 TNF α 値および血中 PMNE 値は両群間に有意差を認めなかった。血中 IL-6 値は, 2時間から7日まで+群で高い値を示したが, 有意差を認めなかった。多重ロジスティック解析にて臓器障害発症に有意性を認めたのは手術時間, 出血量, 術直後, 術後2時間, 術後6時間の末梢血好中球数であった。出血量と術直後および術後2時間の末梢血好中球

数に有意な負の相関を認め、血中 IL-6 最高値と手術時間および出血量とに有意な正の相関を認めた。また、術後 2 時間の末梢血好中球数と血中 IL-6 最高値とに有意な負の相関を認めた。

研究 2

(対象と方法)

週齢 6 - 8 週, 雄の肥満細胞欠損マウス (WBB6F1-W/W^Vmice : W/W^V マウス) と正常マウス (WBB6F1 +/+ mice : +/+ マウス) を用いて, 盲腸全体の約 40% の遠位端を結紮後, 21G (0.9mm) 針で 1 回穿刺し, 閉腹する盲腸結紮穿刺 (cecum ligation and puncture : CLP) モデルを作成し, 1. 生存率, 2. CLP 後 1, 2, 4 時間の血中 TNF α 値, 3. CLP 後 1, 2, 4 時間の腹腔洗浄液, 肝臓, 肺のミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性, 4. CLP 後 4 時間の肝臓, 肺の組織内好中球数 (naphthol AS-D chloroacetate esterase 法) を測定し両群間を比較検討した。

(結果)

CLP 後の死亡率は有意に W/W^V マウスが高率であった。血中の TNF α 値は +/+ マウスは 2 時間にピークを認めた。4 時間では有意に W/W^V マウスが高値を示した。腹腔洗浄液内の MPO 活性は, 4 時間で +/+ マウスが W/W^V マウスに比較して有意に高値を示した。肝臓内の MPO 活性も 4 時間で有意に +/+ マウスが高値を示した。肺内の MPO 活性は 1 時間, 4 時間で +/+ マウスが有意に高かった。4 時間の肝臓組織内好中球数には有意差を認めなかったが, 肺は有意に W/W^V マウスが高値を示した。また, W/W^V マウスの肺組織では間質への細胞が浸潤像が見られ, 肺組織障害像が認められた。

(考察)

+ 群と - 群で有意差が認められたのは術直後, 術後 2, 6 時間の末梢血好中球数のみで, + 群が有意に低値を示した。術後早期に末梢血好中球数の上昇が遅延する症例は臓器障害が発症する可能性が高いことが示唆された。血中 TNF α 値, PMNE 値は両群間に有意差を認めず, 血中 TNF α 値, PMNE 値で臓器障害発症を予測するのは困難と考えられた。血中 IL-6 値は手術侵襲の指標に用いられ, また, 敗血症時における臓器障害発症症例において高値が遷延すると報告されている。今回の検討では + 群が高い値を推移したが, 有意差は認められなかった。手術時間, 出血量, 術直後および術後 2 時間の末梢血好中球数に臓器障害発症との有意性が認められ, また, 術後 2 時間の末梢血好中球数が血中 IL-6 最高値と負の相関を示すことから, 術後早期の末梢血好中球数を測定することにより, 高サイトカイン血症の状態を, ある程度把握できることが可能であると思われた。

W/W^V マウスの急性腹膜炎に対する生存率は有意に低く, 肥満細胞が腹部重症感染症の生体防御反応に重要であることが確認された。肥満細胞は刺激に対して極めて早く TNF α を分泌することが報告されており, +/+ マウスのみに見られた 2 時間のピークは肥満細胞に由来するものと考えられ, この TNF α が腹膜炎を局限化し, 炎症反応の拡大を抑制していると考えられた。W/W^V マウスは 4 時間で +/+ マウスに比較して有意に高値を示した。これは, 浸潤した好中球による肺障害を反映したものか, 腹膜炎の進展により活性化したマクロファージや単球によるものと推察された。+/+ マウスの腹腔洗浄液内, 肝臓および肺の MPO 活性は 4 時間に上昇を認め, TNF α により活性化した好中球が感染部位, 肝, 肺に集積したと考えられた。W/W^V マウスにおける急性腹膜炎モデルの遠隔臓器の MPO 活性の推移についての報告は今までにはなく, 4 時間で腹腔内, 肝臓, 肺ともに +/+ マウスに比較して有意に MPO 活性が低下していた。この結果は, 組織内好中球数や肺組織像と相反していた。naphthol AS-D chloroacetate esterase 法は未熟な骨髄系の細胞で陽性となるため, MPO 活性を持たない未熟な好中球が組織に集積したための結果と考えられた。MPO の変動より +/+ マウスで 4 時間に好中球の活性化がおきたと考えられるが, 肺の組織学的変化は軽微であった。W/W^V マウスは, この時点で肺組織障害像を認めることより, さらに急激

な好中球の活性化が起きていると考えられ、W/W^Vマウスでの好中球活性化はTNF α に引き続くものでなく、サイトカインネットワークの制御機構を逸脱したものと考えられる。臨床においてもSIRSに感染を併発すると臓器不全を起しやすといわれているが、これも細菌による直接的な好中球活性化の起きている可能性があると考えられた。

(総括)

消化器外科手術では、術後24時間以内の末梢血好中球数の経時的変動を調べることにより、臓器障害発症の背景にあるサイトカインの活性度を推定しうると考えられる。肥満細胞より放出されるTNF α は、生体防御反応の早期の活性の上昇を認め、それに引き続く肺、肝でのMPO活性の上昇が認められた。しかしながら、肥満細胞欠損マウスに認められる好中球活性化による臓器障害は、TNF α に関連したサイトカインネットワークから逸脱した急激な好中球活性化の存在を示唆するもので、SIRS状態での感染併発が臓器障害の誘因となる機序の1つと考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

systemic inflammatory response syndrome SIRS は比較的最近導入された概念で、救急医療や術前術後の評価に外科領域では特に有用とされる。丸山氏は比較的大きな外科手術の手術侵襲や手術の安全性の向上を考慮した評価法としてこれに着目した。消化器外科の症例で、手術侵襲からくる臓器障害とSIRSの各種パラメーターの関係を検討した。その結果、臓器障害発症に有意性を認めたのは手術時間、出血量、術直後、術後2時間、術後6時間の末梢血好中球数であった。さらに、SIRS発症と肥満細胞の関係を得るため、肥満細胞欠損マウスに腹膜炎を起こさせる実験を行い、肥満細胞欠損マウスで有意に生存率が低下し、欠損マウスで、好中球浸潤を伴う肺の臓器障害が認められた。術後臓器障害の発生予測に術後数日の好中球数が予測パラメータになること、SIRSから臓器障害発生に肥満細胞の寄与があることをみいだしたことは有意義である。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。