

消化器疾患多臓器不全における免疫学的検討

岡山大学第1外科

(*現・東京医科大学八王子医療センター臓器移植外科)

松野 直徒* 淵本 定儀 高倉 範尚

上川 康明 折田 薫三

IMMUNOLOGICAL STUDY ON MULTIPLE ORGAN FAILURE OF DIGESTIVE DISEASE

Naoto MATSUNO*, Sadanori FUCHIMOTO, Noriaki TAKAKURA,
Yasuaki KAMIKAWA and Kunzou ORITA

First Department of Surgery, Okayama University, School of Medicine

*Department of Transplantation Surgery, Tokyo Medical College,

Hachioji Medical Center

術後多臓器不全 (multiple organ failure 以下 MOF) 患者の免疫不全状態を把握することを目的として MOF 10例非 MOF 10例を比較検討した。MOF 例では血清補体 CH₅₀が20.8±4.8U/ml, C₃が41.6±19.5U/ml と低く, リンパ球幼若化反応も MOF で PHA 6,035±688cpm, ConA 3,635±297cpm と, MOF 例における細胞性免疫の著しい低下を認めた。リンパ球サブセットにおいては OKT3, OKT4/8, HLA-DR-Leu4+, HLA-DR-Leu2+, Leu15-Leu2+ は MOF 例で46.4±12.3%, 1.8±0.8, 39.7±11.6%, 12.3±5.7%, 19.4±5.6%と非 MOF 例より低値を示した。エンドトキシン値は MOF 例では92.7±76.2pg/ml と高値を認めた。

以上より多臓器不全患者では, 重症免疫不全状態にあり, 免疫療法の必要性が示唆された。

索引用語: 多臓器不全, 免疫療法, エンドトキシン, 免疫不全

はじめに

多臓器不全 (multiple organ failure 以下 MOF と略す) は, 重症患者管理に各種重要臓器が同時にあるいは連続的に機能不全に陥る重篤な病態である。外科領域における MOF は主として, 術後合併症が最も重症化した場合であり, これらの患者の基礎的疾患としては悪性腫瘍, 肝硬変, 糖尿病などを有するものが多く, 病態は極めて複雑であり, 集中管理にもかかわらず高い死亡率を呈することが指摘されている¹⁾²⁾。一方, MOF 発症時の機序として, 重症感染症が重要な役割を持つことは多くが認めることであり^{3)~5)}。したがって, 感染症の宿主側の自己防御機構の低下をつき進めることは MOF の病態生理を考えるうえで重要である。今回, MOF の病態生理のうち, 自己防御機構低下

を免疫系の不全という側面から考え, いくつかの検査を施行した。また, 感染症においてエンドトキシンを定量した。これらの結果により, 自己防御機構低下を検討し, MOF における免疫療法の理論的根拠を明らかにすることを試みたのでこれを報告する。

対象および検討項目

(1) 対象および MOF 診断基準

岡山大学第1外科において, 1986年4月より1988年4月までに経験した MOF 症例10例 (他施設にて外科手術を施行後, 当教室にて管理となった症例を含む) 非 MOF 症例10例 (すなわち, 1臓器不全に重症感染症併発を認めたもの) を表1に示した。

MOF 診断基準は文献的に⁶⁾⁷⁾代表的なものを選択し (表2), disseminated intravascular coagulation (以下 DIC と略す) の診断基準については1981年厚生省 DIC 研究班の資料を用いた⁸⁾。MOF 例については免疫学的背景を統一するために, できるだけ年齢を統一し

<1989年4月12日受理> 別刷請求先: 松野 直徒
〒193 八王子市館町1163 東京医科大学八王子医療
センター臓器移植外科

表 1

患者	原疾患	臓器障害
MOF	I, F 肝癌術後	肺不全, 肝不全, 腎不全
	H, M 肝癌術後	肺不全, 腎不全, DIC
	M, H 胃癌, 肝転移	肺不全, 肝不全, 腎不全 DIC
	M, F 食道癌	肺不全, 消化管出血, 中枢神経障害
	M, H 胃癌術後	肺不全, 中枢神経障害
	T, S 十二指腸潰瘍穿孔術後	肺不全, 腎不全, DIC
	A, K 肝癌	肝不全, 腎不全
	S, O 胃癌	肺不全, 腎不全
	M, A 十二指腸潰瘍穿孔術後	肝不全, 腎不全
	M, T 総胆管結石術後肺炎	肺不全, 腎不全 DIC
非MOF	H, N 食道癌術後	肺不全
	K, N 肝癌	肺不全
	K, S 胃癌術後	肺不全
	M, K 直腸癌術後	肺不全
	N, F 甲状腺癌術後	心不全
	S, K 小腸平滑筋肉腫術後	肺不全
	M, F 胆管癌術後	肺不全
	K, M 乳頭部癌, 肝転移	肺不全
H, M 胃癌術後	肺不全 下部は初発臓器	
S, K 甲状腺癌術後	肺不全	

表2 MOFの臓器機能不全診断基準(安藤・相川および望月・玉熊らによる)

- 肺不全:人工呼吸器による補助を要するもの
- 肝不全: s-GOT, s-GPT > 200 U
血清総ビリルビン > 5 mg/dl
- 腎不全: BUN > 50mg/dl s-Cr > 2 mg/dl
- 心不全: 心筋梗塞 or 心停止 or CVP > 20 cmH₂O
- 消化管出血: 内視鏡, 手術による出血の確認
輸血を必要とするもの
- 中枢神経障害: 痛み刺激にのみ反応するもの
見当識障害を有するもの

た。

また、悪性腫瘍の末期的状況がMOF的状态に陥るため、可能なかぎりこのような症例あるいは時期を排除した。非MOF症例に関しては変化する状況の中で最も感染症の併発の明らかな時期を白血球数、熱型、CRP、白血球像を参考に診断した。

(2) MOFにおける液性、細胞性免疫能の測定

早朝空腹時に採血し、補体(C₃, C₄, CH₅₀)および免疫グロブリン(IgG, IgM, IgA)は一元免疫拡散法で測定した。リンパ球幼若化反応は非特異的刺激物質として、phytohemagglutinin(PHA)concanavalin A(Con A)を用い、³Hチミジン取り込みをシンチレーションカウンターで測定した。

(3) MOF患者における末梢血リンパ球サブセットの解析

Ortho-mune社製のモノクローナル抗体OKT3,

OKT4, OKT8, OKT1a-1 OKM1, OKT9を用い、flouescien isothiocynate (FITC)を標識抗体として使用した。

(4) fluorescence activated cell sorter (FACS)を用いたMOF患者末梢血リンパ球のtwo color parameter analysis

Becton Dickinson社製のモノクローナル抗体すなわち抗HLA-DR抗体, 抗Leu2抗体, 抗Leu3抗体, 抗Leu4抗体, 抗Leu7抗体, 抗Leu8抗体, 抗Leu15抗体を使用, Becton Dickinson社製FACSを用い、リンパ球サブセットの解析を行った。

(5) MOF患者末梢血中エンドトキシンの測定

エンドトキシンはクエン酸加採血500G 10'で得たplatelet rich plasmaを検体とし、合成基質S-222を添加する測定方法を行った。エンドトキシンは経過中、同じ患者に対して何度か測定した。統計学的検討にはt検定を用い、P valueは0.05以下を有意とした。

結 果

(1) MOFにおける初発臓器

今回、われわれが経験したMOF症例, 非MOF症例ともすべて臨床的に肺を中心とする重症感染症を認め、MOFの初発臓器として肺不全が多かった。

(2) MOFにおける液性、細胞性免疫の検討

MOF, 非MOFを補体について比較すると、CH₅₀, C₃ともMOF例は低値を示すものが多く有意差を認

図1 MOF・非MOFと補体

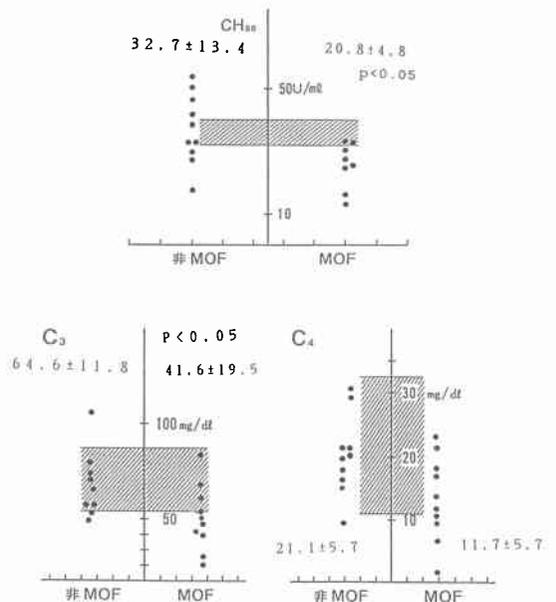


図2 MOF, 非MOFと免疫グロブリン

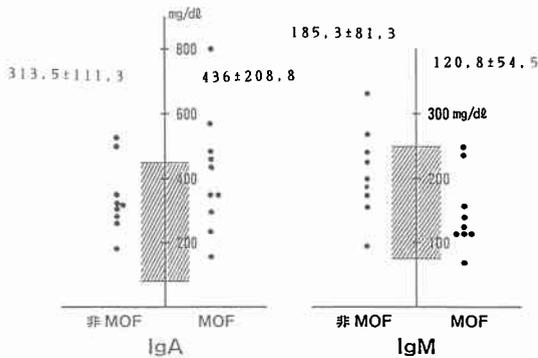
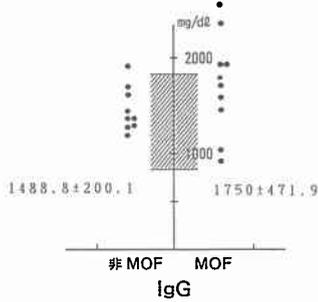
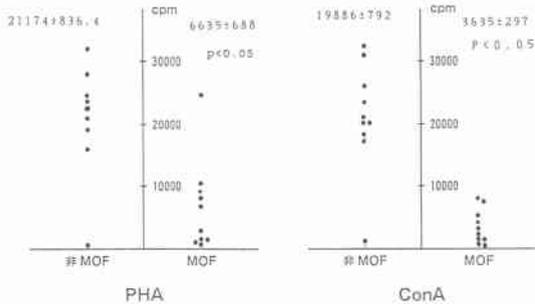


図3 MOF・非MOFとリンパ球幼若化反応



めた(図1)。なお、以降の図表においても斜線部は正常範囲を示す。同じ溶性障害因子として免疫グロブリンを測定してみたところ有意差は認めなかった(図2)。細胞性免疫検査としてPHA, Con Aによりリンパ球幼若化反応をみると、MOF症例に明らかに低値を示し、細胞性免疫の強い低下状態にあることが示唆された(図3)(統計学的有意差あり)。

(3) MOFにおける末梢血リンパ球サブセットの解析

OKT3, OKT4/8に低値を示すMOF例を多く認めた(図4)。ただしOKT4, OKT8のそれぞれについては一定の傾向は得られなかった。

(4) FACSを用いたMOFにおけるリンパ球サブ

図4 MOF・非MOFにおける末梢血リンパ球サブセット(1)

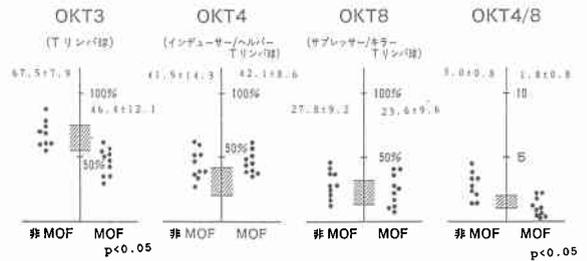


図5 MOF・非MOFにおける末梢血リンパ球サブセット(2)

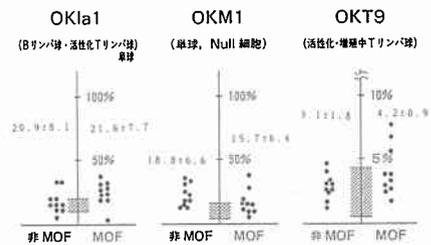
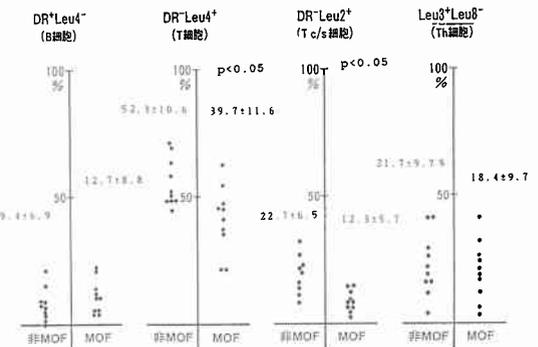


図6 Two color分析を用いた末梢血リンパ球サブセット(1)



セットの解析

MOFにおけるリンパ球の動態をさらに解析するためにFACSを用いたtwo color analysisを試みた(図6, 7)。その結果HLA-DR⁺Leu⁴, HLA-DR⁺Leu²Leu¹⁵-Leu²+の低下している症例に多く認めた(統計学的有意差あり)。

(5) MOFにおけるエンドトキシン測定

感染症に関し、エンドトキシンをトキシカラートで定量した。MOF, 非MOF例ともに全例に高値を示し、特にMOF例では40pg/ml以上の異常高値をとる例が多かった(図8)。これをDICとの関連でみてみ

図7 Two color 分析を用いた末梢血リンパ球サブセット (2)

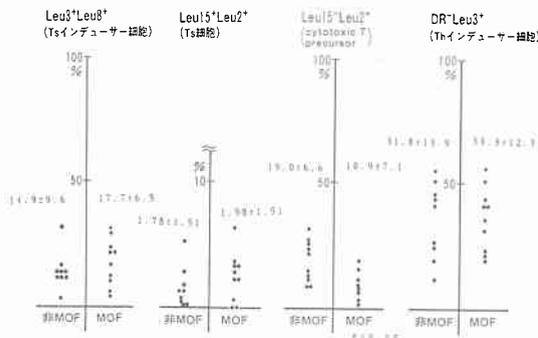


図8 エンドトキシン値と MOF, 非 MOF との関連

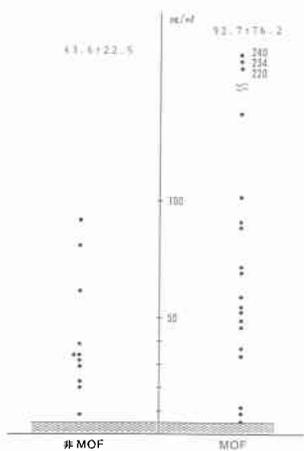
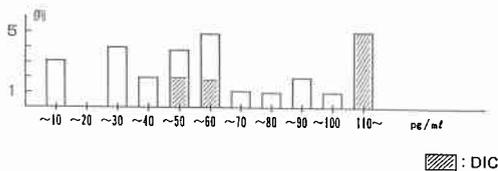


図9 エンドトキシン値と DIC の合併



ると、エンドトキシン45pg/ml以上でDIC発症例を認め始め、100pg/ml以上は全例に発症した(図9)。

考 察

近年、重症外傷、熱傷、大きな侵襲の加わった術後などの患者の経過中に急性腎不全、呼吸不全、肝不全などが次々と発症する病態が出現し、MOFという概念が定着しつつある。この背景には人工呼吸器、人工透析など管理機器の発達のみならず、循環、栄養などの集中管理システムの向上によるところが多い。しか

し、その死亡率は極めて高く¹⁾²⁾、発症誘因、増悪因子の検討を含め、MOFの予防と対策は重要な意義をもつものと考えられる⁶⁾が、決定的手段はまだ無い。MOFの報告は、Tilneyら³⁾が経験した大動脈瘤破裂に対する術後合併症に生じた18例の報告が最初であるが、Fryら¹⁾は、腹腔内膿瘍患者術後のMOF発生率は他の術後患者群に比べ極めて高率であったことなどから、MOF発生に感染の果たす役割は重要である^{3)~5)}。同時に、重症感染症を併発した患者では、感染に対する抵抗力が減弱し、自己防御機構の低下を示している。すなわち、感染症に続発するMOFは予後不良であり^{9)~11)}この感染症対策が、MOF予防の重要な要素となると考える。今回、われわれは感染症併発MOF例を自己防御機構の破綻としてとらえ、これを免疫系という側面で対照群と比較してみた。その結果、補体価の低下、細胞免疫能の著しい低下がMOF例に認められ、risk factorの1つとして挙げられた。補体は感染細胞の排除処理に働く抗体と並ぶ液性免疫因子であり、抗体の結合した異物だけでなく、独自でも微生物の糖脂質を識別して攻撃する多彩な生物活性を有する⁹⁾。特にC₃は補体系の中でも中核的な物質であり、C₃の活性化はオプソニン化、細胞障害に直接的、間接的に関与している。今回みられた補体の低下は必ずしもMOFだけに特徴的ではなく、熱傷、DIC、sepsisなどの際にもおこる⁹⁾。この病態としては、消費亢進(consumptive opsoniopathy)と肝障害や低栄養状態などに起因する産生低下の2つが考えられる。MOFの場合、おそらく、同時に進行し、細菌に対するopsonin効果を低下させひいては生体防御機構の障害へつながるものと考えられる。この意味でも、MOFへつながるような術後合併症の管理の中で、補体価の測定は意義深いものと考えられる。免疫応答は前述した補体、あるいは抗体をはじめとする各種液性因子の他に、好中球、マクロファージ、リンパ球などの細胞性因子がそれぞれ特異的、非特異的に反応しあっている。今回MOF例においてリンパ球幼若化反応における著しい低応答がみられたが、平沢ら¹²⁾もskin testを用い、MOF例の細胞性免疫能低下を報告している。細胞性免疫に影響を与えるものとして、悪性腫瘍、年齢、低栄養、外傷などの因子があり、今回の症例でも背景因子をできるだけ統一するように試みたが、感染症の影響もあり、細胞性免疫低下状態が必ずしもMOF本来の病態生理を真に反映しているとは考えにくい。しかし、MOFに陥る宿主側自己防禦機構破綻の1つの指標として、リンパ球幼

若化反応は有用であると考え。近年、モノクローナル抗体の開発向上および、その特異性が高くなるにつれ、細胞膜表面抗原をより詳細に検討することが可能となった。特に、T細胞ではT細胞亜群(サブセット)のそれぞれの機能を、モノクローナル抗体を用いて知ることが可能となった。今回われわれは低下している細胞性免疫がどのサブセットによるのかを検討してみたところ、OKT3の減少、OKT4/8の減少がみられた。OKT4/8の極端な低下あるいは上昇は細胞性免疫不全を反映していると考えられており¹²⁾、今回の場合、先のリンパ球幼若化反応の結果を裏づけている。しかし非MOF例が感染症を併発しているのにもかかわらず、OKT4/8の低下がみられなかった理由は不明である。OKT1a-1の増加している例がMOF例に多くみられたが、OKT9や次に述べるDR⁺Leu4⁻の結果を統合すると、B細胞ないしは単球が全体に上昇しているかもしれない。最近ではtwo-color flowcytometryが普及しつつありリンパ球をさらに細かいサブセットに分けて解析することが可能となった。すなわち、蛍光発色物質を用い、それぞれ別な抗体をラベルし細胞を2重染色し、細胞表面の別々のエピトープを同時に観察しようとする方法である。

今回MOF症例において相関性のあったのはDR⁻Leu4⁺(T細胞)DR⁻Leu2⁺(Tc/s細胞)および、Leu15⁻Leu2⁺であったMaclean¹³⁾、Hakinら¹⁴⁾は、sepsisあるいは熱傷患者血清中にリンパ球機能抑制因子が、出現していると報告し、この抑制に血中の抑制Tリンパ球が、重要な役割を果たしているとしている。MOF例ではT細胞が、極端に減少している例が多く、その中でのサブセット間の相違はあまり意味を持たないかもしれないが、細胞障害性に働くT細胞はより強く抑制されているようである。重症感染症における起因菌として、グラム陰性桿菌が大きな役割を果たしている。このグラム陰性桿菌の細胞壁外膜を構成するリポ多糖が、エンドトキシン(Et)である。Etを測定する方法としては一般にリムスゲル法が¹⁵⁾行われてきたが、近年、岩永ら¹⁶⁾はEt定量法の方法として合成基質法を開発した。Etは補体法、キニン系を活性化し、また、血小板、白血球、食細胞の活性化を促進するものとされているが血小板の活性化は凝固亢進を促し、白血球の活性化は種々の活性物質を分泌し、血管透過性の亢進外因性の凝固亢進、白血球凝集をおこす。キニン系の活性化も、血管透過性を亢進させる¹⁷⁾。このような多彩な働きを持つEtが異常高値をとれば、連鎖反動的

に臓器不全を併発し、MOFに陥ると考えても不思議ではない。相川ら⁴⁾はMOFの直接原因は細菌あるいは細菌由来のエンドトキシンが循環血液中に侵入し、全身の臓器障内を発生させるとしてsystemic toxic organ failureの考えを提唱している。今回の結果からも、MOF例のEt高値例に補体低値例が多く、MOFにおけるEtの影響を強くうかがわせた。Etは代謝経路として網内系が挙げられるが、このように自己防御機構の中でも網内系食能低下や細胞性免疫能低下を示す患者は、内因性のエンドトキシンがいわゆるspill over現象を起こし、循環臓器障害を引き起こす一方、感染症が増悪し各種のchemical mediatorが、多量に産生されそれによって臓器相関が生じ、MOFへ発展するものと考えられた。勿論、重症感染症の起因菌のすべてがグラム陰性桿菌だけではないが、これら臓器障害の背景にはEtの測定が重要であると考えられた。したがって、今回の結果から、MOFに陥る過程のモニタリングとして補体価、細胞性免疫反応、Et値は意義深いものと考えた。一方、平沢ら¹⁸⁾は機能不全に陥る細胞の量的表現としてcellular injury scoreという概念を導入し、osmolality gap(OG)という指標を用いている。今回の結果を踏まえたうえでのMOFの治療となるとやはり感染症に対する抜本的治療(外科的ドレナージも含め)が成功しない限り、救命できないものとする。また、感染症にせよ細胞性免疫能の低下にせよ、危険因子として無視できないのは低栄養であり、低栄養の回避はMOFの予防につながる。その上で、免疫不全に即した生体防御機構の改善ということになるが現在のところ明らかな有効手段は見当たらない。

非特異的免疫療法として、免疫賦活剤であるOK432などの有効性も報告されているが¹⁹⁾、われわれも今回の数例に使用したものの効果は無かった。また、網内系賦活を目的としたATP-MgCl₂の投与の有効性なども報告されている²⁰⁾。しかし、MOFの刻々と変化する臨床経過を考えると、免疫賦活剤の投与量、時期など解決すべき問題も多い。特異的免疫療法として広範囲のグラム陰性桿菌に対し、交叉反応を示す単クローン抗体の作製も試みられている²¹⁾。近年の細胞工学的発達をみると、臨床応用も遠い未来ではないと考える。

今回、MOF発症に患者の生体防御機構の障害が大きく関与していることが明らかになり、免疫不全に即した生体防御機構を改善、賦活する免疫療法の理論的

根拠が確認された。近い将来、免疫系を患者自身の病態に応じ、賦活、あるいは抑制し、感染症やMOFを予防、治療しようとする biological response modification がなされるものとする。しかし一方、生体内で産生される各種 chemical mediator は複雑に絡み合っており、防御機構とはこれらの因子の共調によって成り立っているともいえるため、今後さらにきめ細かな検討を行い、有効な治療法を確立することが必要だと思われる。

結 語

1) MOF 例における初発臓器としては、肺不全が多かった。

2) MOF 例において感染症は密接な関連を示しかつ予後不良であった。

3) 免疫系からみた MOF については低補体血症、リンパ球幼若化反応低値および高エンドトキシン血症が特徴的であった。

4) モノクローナル抗体を用いた検索では MOF 例に OKT3, OKT4/8, DR⁻Leu4⁺, DR⁻Leu2⁺, Leu15⁻Leu2⁺ に異常値を認めた。

5) MOF 例における免疫療法の理論的根拠が示唆された。

本要旨は第1回岡山多臓器不全研究会、第3回日本ショック学会、第32回日本消化器外科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Fry DE, PEARLSTERN I, fulton RL et al: Multiple system organ failure. Arch Surg 15: 136-140, 1980
- 2) 望月英隆, 斎藤英昭, 玉熊正悦: Multiple organ failure の病態. 臨外 36: 753-758, 1981
- 3) 馬場英昭, 野池博文, 斎藤 徹: 重症感染症と multiple organ failure. 臨床 36: 785-790, 1981
- 4) 相川直樹, 今野弘之, 藤崎真人ほか: MOF の病態生理—Systemic toxic organ failure の考え方—. 救急医 6: 253-263, 1982
- 5) 玉熊正悦, 石山 賢, 望月英隆ほか: 術後感染症と MOF. 外科診療 25: 21-28, 1983
- 6) 望月英隆, 初瀬一夫, 玉熊正悦: 消化器外科手術後に合併した multiple organ failure の検討—発症誘因の分析を中心に—. 日消外会誌 18: 2476-2482, 1985
- 7) 安藤暢敏, 篠沢洋太郎, 相川直樹: ショックと multiple organ failure. 臨外 36: 779-784, 1981
- 8) 前川 正, 小林紀夫, 権守日出海: DIC の診断基準に対する検討. 厚生省特定疾患汎発性血管内血液凝固症調査研究班, 昭和55年度業績集報告. 1981, p4-16
- 9) Hugli TE, Muller Eberhard HJ: Anaphylatoxins. Adv Immunol 26: 1, 1978
- 10) Sacks T: Oxygen radicals mediate endothelial cell damage by complement stimulated granulocytes; an in vitro model of immune vascular damage. J Clin Invest 61: 1161-1167, 1986
- 11) 平沢博之, 菅井 雄, 小林 弘ほか: 外科領域における感染に対する自己防禦機構の検討と免疫不全に対する対策. 外科 44: 1125-1132, 1982
- 12) 谷内 昭, 高橋 徹, 今井浩三: 細胞免疫能. 現代医療 19: 2313-2319, 1987
- 13) Maclean LD, Meakins JD, Taguchi K et al: Host resistance in sepsis and trauma. Ann Surg 182: 207-217, 1975
- 14) Hakin AA: An immunoruppressive factor from serum of thermally traumatized patients. J Trauma 17: 908-919, 1977
- 15) Levin J, Tomasulo PA, Oser RS: Detection of endotoxin in human blood and demonstration of an inhibition. J Lab Clin Med 75: 903, 1970
- 16) Iwanaga S, Morita T, Harada T et al: Chromogenic substances for horseshoe crab bacterial endotoxins. Haemostasis 7: 183-188, 1978
- 17) Morisson DC, Ulevitch RJ: The effect of bacterial endotoxin on the host mediation system. Am J Pathol 93: 527-618, 1978
- 18) 稲葉英夫, 平沢博之, 佐藤二郎ほか: 重症患者における osmoiality gap の意義. ICU と CCU 10: 503-511, 1986
- 19) 及川 巖, 江端英隆, 水戸迪郎: 実験的急性肝不全における網内系賦活剤の予防効果に関する研究. 肝臓 26: 172-181, 1986
- 20) Hirasawa H, Okawa M, Odaka K et al: Improved survival RES function and ICG test with ATP-Mgcl₂ following hepatic ischemia. Surg Forum 30: 158-160, 1979
- 21) Dunn DL, Ewald DC, Chadson N et al: Immunotherapy of gram-negative bacterial sepsis: A single murine monoclonal antibody provides cross-genera detection. Arch Surg 121: 58-62, 1986