

手術侵襲後の血中 IL-6の上昇とその影響因子

熊本大学第2外科

酒本喜与志 荒川 博文 箕田 誠司
 石河 隆敏 杉田 裕樹 鮫島 浩文
 江上 寛 池井 聡 小川 道雄

サイトカインは手術侵襲後に生じる種々の生体防御反応において重要な役割を果たしている。今回、外科手術後の血中サイトカインの上昇機序と、それが、どのような因子の影響を受けるかを検討した。対象は合併症を有しない、各種の予定手術を受けた38例である。サイトカインの定量はELISA法、メッセンジャーRNA(mRNA)の測定はNorthern blotting法にて行った。その結果、1. 血中 interleukin 6 (IL-6) 値は術後1日目に最高値を示すこと、2. ドレーン浸出液中の IL-6, interleukin 8 (IL-8) 値は末梢血に比べ著明に高いこと、3. 胸腔、腹腔ドレーン浸出液中の細胞内に手術当日、1, 2日目に IL-6, IL-8の mRNA の発現を強く認めるが、末梢血細胞内には極めて微量であること、4. 食道癌1期的根治術、肺葉切除術はおのおの、同程度の手術侵襲を有す膵頭十二指腸切除術、結腸・直腸切除術よりも高い IL-6値を示すこと、5. IL-6値は手術時間あるいは出血量との間に有意の相関が有ること、が明らかになった。以上より、サイトカインは主として手術局所にて誘導、分泌され、次いで血中に移行して高サイトカイン血症を来すこと、また、手術時間、出血量とともにサイトカイン産生の大きな影響因子であることが示唆された。

Key words: cytokine, surgical stress, interleukin 6, interleukin 8

はじめに

生体に手術侵襲が加わると内分泌、代謝、免疫機能上に広範な病態が引き起こされる。この生体防御反応には炎症性サイトカインである IL-6, IL-8, interleukin 1 (IL-1), tumor necrosis factor (TNF) などのサイトカインの情報伝達が重要な役割を果たしている。これらのサイトカインは単独あるいはネットワークを形成してシグナル伝達をすることにより作用を発揮している。特に、IL-6は免疫機能、ホルモン分泌の亢進および肝細胞より合成される急性相反応物質の主たる誘導因子として重要な因子である。すでにわれわれは手術後に例外なく一過性の高 IL-6血症が見られることを報告している。今回は外科手術後の血中サイトカインを IL-6を中心として、その上昇機序と、それが、どのような因子の影響を受けるかを検討した。

I. 対象および方法

対象は熊本大学第2外科およびその関連施設において予定手術を受けた患者のうち、合併症を有しない症例を対象とした。内訳は食道癌1期的根治術6例、膵頭十二指腸切除術3例、肺葉切除術4例、胃切除術14例、結腸・直腸切除術6例、ヘルニア、胆摘等の小侵襲手術5例の計38例で、6群に分けた (Table 1)。手術は小侵襲例を除く癌疾患に対しR2の手術がなされた。手術侵襲の指標として手術時間、出血量を用いた。

Table 1 Characterization of patients

Group	N	Sex		Age
		M	F	
Esophagectomy	6	5	1	61.0±3.8
Pancreaticoduodenectomy	3	3	0	63.3±7.1
Lobectomy of the lung	4	3	1	67.0±6.6
Gastrectomy	14	9	5	66.5±3.4
Colorectal resection	6	4	2	62.3±3.3
Minor surgery	5	2	3	63.2±7.5

Data are Mean±SEM, N: number of cases, M: male, F: female

*第39回日消外会総会シンポ1・手術侵襲と生体反応
 <1992年7月6日受理>別刷請求先: 酒本喜与志
 〒860 熊本市本荘1-1-1 熊本大学医学部第2外科

Table 2 Correlation between surgical intervention and peak serum IL-6 value in 6 operative groups

Group	Operation Time(min)	Volume of Blood Loss(ml)	IL-6(pg/ml)
Esophagectomy	497.5±24.7	973.8± 77.8	1,401±383
Pancreaticoduodenectomy	527.3±57.4	1,566.7±190.5	432±82
Lobectomy of the lung	149.8±24.3	192.5± 64.6	337±102
Gastrectomy	204.1±37.9	449.0± 78.0	224±67
Colorectal resection	151.8±28.3	396.7±127.5	106±48
Minor surgery	64.6±22.6	44.0± 12.5	30±4

Data are Mean±SEM

(Table 2).

患者末梢血を術前、術後に経時的に採血した。ドレーン浸出液は術後に末梢血と同時に採取した。これらを3,000回転、10分間、遠心分離した後、血清、上澄みを採取し-80度に保存した。サイトカインの測定はモノクローナル抗体を用いたELISA法によって行った。使用したキットはIL-6 (Tore-Fuji Bionics, Inc., Tokyo), IL-8 (R & D System, Inc., MN, USA), IL-1 beta (Medgenics Diagnostics, Brussels, Belgium), TNF-alpha (Medgenics Diagnostics, Brussels, Belgium)である。おのおのの測定感度は4pg/ml, 96pg/ml, 3pg/ml, 2pg/mlである。

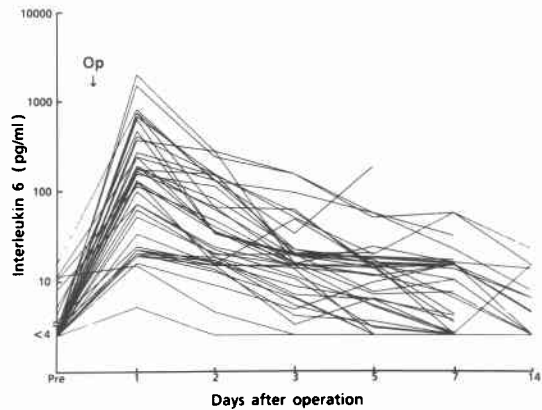
IL-6, IL-8のmRNAの測定は、12mlの末梢血およびドレーン排液をヘパリン加採取後、直ちにFicoll-Hypaqueを用いた比重遠心法(1,650回転、20分間)により赤血球を除去しリンパ球を含む全白血球を採取、次いでguanidinium thyocyanate法によりtotal RNAを抽出した後、³²PをラベルしたcDNAを用いたNorthern blotting法により行った。なお、各レーンには10μgのRNAを使用した。

II. 結 果

1. 血中 IL-6の経時的変化

Fig. 1に各手術症例の末梢血IL-6値よ術後推移を示す。全例術後に一過性の高IL-6血症が見られた。各症例の検討では、感染症の合併症をおこした場合にIL-6の再上昇を認めた。各群の最高値を比較すると食道癌1期的根治術(mean±SEM: 1,400.8±383.4pg/ml)、膵頭十二指腸切除術(431.7±82.4pg/ml)、肺葉切除術(337.1±102.3pg/ml)、胃切除術(224±66.6pg/ml)、大腸・直腸切除術(105.8±48pg/ml)、小侵襲手術(29.8±3.8pg/ml)の順に低かった(**Table 2**)。各群とも術後1日目に最高値を示し、以後漸減した。最高値の高い群ほど正常値復帰に時間を要した。

Fig. 1 Serial changes of serum IL-6 level in 38 patients after various surgeries



2. 末梢血とドレーン排液中のサイトカイン濃度の比較

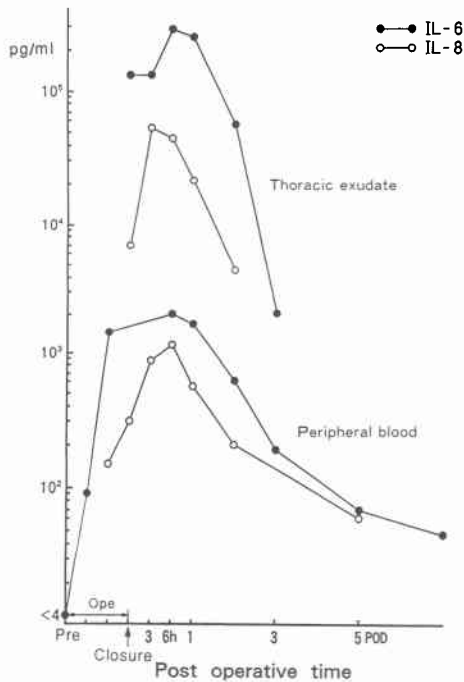
食道癌1期的根治術症例にて検討した(**Fig. 2**)。上段が胸腔ドレーン浸出液、下段が末梢血中のサイトカイン値の術後推移である。両液内のIL-6, IL-8の推移は、ほぼ同様のパターンをとり、術後3~6時間の早期に最高値を示し、その後、速やかに下降した。IL-6最高値はドレーン内で約30万pg/ml、末梢血で2,000pg/ml、また、IL-8はドレーン内5万pg/ml、末梢血で1,000pg/mlであり、両者ともドレーン浸出液の方が100倍以上の高濃度であった。

データは示さないがIL-1 beta, TNF-alpha値はドレーン浸出液内にて術後早期の3~6時間におおの、最高値200pg/ml, 600pg/mlを示した。一方、末梢血中には両者とも検出できなかった。

以上より、ドレーン浸出液中のサイトカイン濃度は末梢血に比べ著明に高いことが分かった。

3. 胸腔、腹腔浸出液および末梢血細胞内のサイトカ

Fig. 2 Comparison of concentrations of IL-6 and IL-8 in the thoracic exudate and peripheral blood after esophagectomy



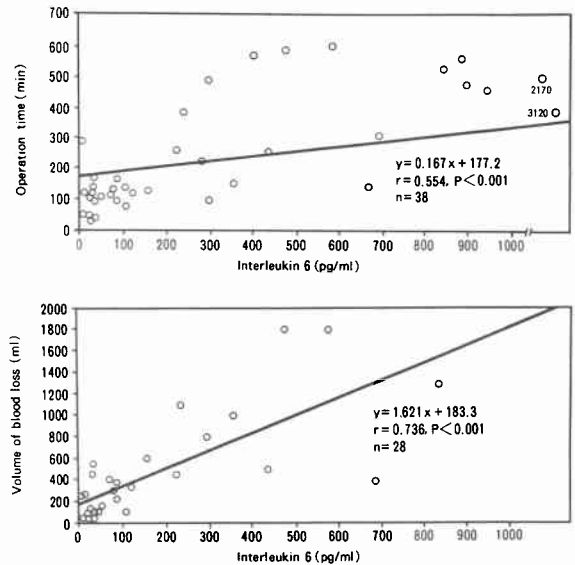
インの mRNA の検討

食道癌 1 期的根治術患者の胸腔、腹腔浸出液内細胞および末梢血細胞を検索した。おのおのの全白血球細胞内の IL-6 および IL-8 の mRNA の発現を術後 6 時間、24 時間、48 時間と経時的に解析した。胸腔および腹腔ドレーン中の細胞においては術後 6 時間の時点で、すでに強い IL-6、IL-8 の mRNA の発現を認めた。24 時間後、48 時間後においても 6 時間後に比べ、発現の減少する傾向はあるものの、明らかに IL-6、IL-8 mRNA の強い発現を認めた。一方、末梢血中の細胞においては、ほとんど IL-6、IL-8 の RNA の発現は認められなかった。

4. 手術侵襲と血中 IL-6 最高値との関係

同程度の手術侵襲（手術時間、出血量）を有す手術群間において血中 IL-6 最高値の比較検討を行った。手術時間においては食道癌 1 期的根治術（mean \pm SEM: 497.5 ± 24.7 分）と臍頭十二指腸切除術（ 527.3 ± 57.4 分）が同程度、肺葉切除（ 149.8 ± 24.3 分）は結腸・直腸切除術（ 151.8 ± 28.3 分）とほぼ同程度である。出血量の点においては、臍頭十二指腸切除術（ $1,566.7 \pm 190.5$ ml）は食道癌 1 期的根治術（ $973.8 \pm$

Fig. 3 Correlation of peak serum levels of IL-6 and surgical interventions (operation time and volume of blood loss)



77.8ml) より多く、肺葉切除術（ 192.5 ± 64.6 ml）は結腸・直腸切除術（ 396.7 ± 127.5 ml）より少ない。しかし、IL-6 最高値を比較すると食道癌 1 期的根治術（ $1,400.8 \pm 383.4$ pg/ml vs 431.7 ± 82.4 pg/ml）および肺葉切除術（ 337.1 ± 102.3 pg/ml vs 105.8 ± 48 pg/ml）の方が高い。全症例において血中 IL-6 最高値と手術時間、出血量との相関性を検討した（Fig. 3）。上段が手術時間と IL-6 値を、下段が出血量と IL-6 値の相関性である。前者については $r = 0.554$, $p < 0.001$ 、後者については $r = 0.427$, $p < 0.01$ と有意な相関を認めた。

III. 考 察

最近、サイトカインの多彩な生理活性が明らかになるに連れて、侵襲時における生体防御反応のコントロールは IL-6、IL-8、IL-1、TNF などのサイトカインが単独あるいはネットワークを形成して情報伝達を行うことが明らかにされている。これらのサイトカインは主に病巣局所において合目的に働いているが、ネットワーク機構の破綻により ARDS、DIC などの種々の全身的な重篤な病態がおきると考えられている。

今回の研究では、末梢血中 IL-6 は外科手術後例外なく術後 1 日目に最高値を示すこと、ドレーン排液および末梢血中 IL-6、IL-8 濃度は術後ほぼ同様の経時的推移を示すが、ドレーン排液内の値は末梢血中に比較して約 100 倍の高値を示すこと、胸・腹腔ドレーン排液中

細胞内に術後早期より、IL-6、IL-8の mRNA の発現を認めること、その発現量は末梢血細胞に比べ有意に多量であること、が明らかになった。同程度の手術侵襲を有す食道癌 1 期的根治術、肺葉切除術はおのおの、臍頭十二指腸切除術、結腸・直腸切除術に比べ高い IL-6 値を示すことが示された。今回の対象には IL-6 の上昇が報告されている遠隔転移や肝転移などを有す症例を除いた。実際に術前 IL-6 値は 38 例中 4 例（食道癌、17.9pg/ml；肺癌、11.9pg/ml；胃癌、11.2pg/ml；大腸癌、9.3pg/ml）にて軽度の上昇を示すのみで、他はすべて正常範囲内であった。また、術後の重篤合併症例を除外した。従って、今回の検討では手術侵襲のサイトカイン産生への直接的な影響を純粋に評価できたと考えられる。

手術侵襲により高 IL-6 血症が誘導される機序としては、まず、手術野局所にて細胞、組織の破壊によりマクロファージなどの免疫担当細胞や繊維芽細胞が活性化され、サイトカインが誘導、分泌される。次いで、多くの IL-6 が循環血流中に入り高 IL-6 血症を作ると考えられる。したがって、血中の上昇機序を知るためには、手術野局所における IL-6 産生状況および血中 IL-6 値との関連性を知ることが必要である。この解析を目的として IL-6 および好中球走化・活性化因子であり ARDS などの病態発生との関与が考えられている IL-8、さらに、サイトカイン誘導の initial mediator である IL-1 beta、TNF-alpha について検討した。その結果、IL-6、IL-8 はドレーン排液、末梢血中に術後早期の、ほぼ同時期に最高値をとること、そしてドレーン排液中のサイトカイン濃度が極めて高いことが分かった。IL-1 beta、TNF-alpha を術後早期のドレーン排液内のみにおのおの、200pg/ml、600pg/ml を認め、これら両サイトカインも IL-6、IL-8 と同様にドレーン排液中と末梢血との間に濃度差があった。このことは手術野局所でまずサイトカインが産生され、次いでサイトカインが局所から流出することにより血中に移行し、高サイトカイン血症を招来することを示唆している。さらに、この観点から食道癌症例において手術野局所（ドレーン排液）および末梢血中細胞内におけるサイトカイン産生状況を検索したところ、胸腔・腹腔ドレーンより得られた細胞内に術後 6 時間の時点ですでに強い IL-6、IL-8 の mRNA の発現を認めた。24、48 時間においても明らかに IL-6、IL-8 の mRNA の発現があった。一方、末梢血中の細胞においては、IL-8、IL-8 の mRNA の発現はほとんど認められなかった。この結

果は、IL-6、IL-8 が主に手術野において産生されていることを示している。このことは ELISA 測定法により得られたドレーン排液中と末梢血中のサイトカインの濃度差からも裏付けられる。

各手術において手術時間、出血量を基準にした手術侵襲と血清 IL-6 最高値との関係を見ると食道癌 1 期的根治術と肺葉切除術はおのおの、臍頭十二指腸切除術、結腸・直腸切除術に比べ高い血清 IL-6 値を示した。このように、同じ程度の手術時間、出血量の群同士でも IL-6 の上昇に差が見られた。この 2 群は食道癌 1 期的根治術と肺葉切除術の両者は開胸肺操作を伴うこと、一方、臍頭十二指腸切除術、結腸・直腸切除術は腹腔内操作のみの手術であるという特徴を有している。このことは、開胸、肺操作は手術時間、出血量に現われない大きな侵襲となっている可能性を示唆している。

今回の研究で、手術野局所で産生されるサイトカインが血中 IL-6 濃度に強く関連していること、また、手術時間、出血量がサイトカイン産生の大きい影響因子であることが判明した。さらに、開胸肺手術という操作が手術時間、出血量ともにサイトカイン産生の大きな影響因子になりうるということが示唆された。

文 献

- 1) 小川道雄：手術侵襲による生体防御能の変動と感染。日本外科学教育委員会編。外科卒後教育セミナー-37。外科と感染。中外医学社、東京、1990、p14-26
- 2) Hirano T, Akira S, Taga T et al: Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol. Today* 11: 443-449, 1990
- 3) 酒本喜与志、池井 聰、荒川博文ほか：手術侵襲と血中サイトカインの変動。腫瘍と感染 4: 271-276, 1991
- 4) Fearon KCH, MacMillan DC, Preston T et al: Elevated circulating interleukin-6 is associated with an acute-phase response but reduced fixed hepatic protein synthesis in patients with cancer. *Ann Surg* 213: 26-31, 1991
- 5) Shenkin A, Fraser WD, Series J et al: The serum interleukin-6 responses to elective surgery. *Lymphokine Res* 8: 123-127, 1989
- 6) Murata A, Ogawa M, Yasuda J et al: Serum interleukin 6, C-reactive protein and pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) as acute phase reactants after major thoracoabdominal surgery. *Immunol Invest* 19: 271-278, 1990

Factors Influencing the Increase of Serum IL-6 Concentration in Surgical Patients

Kiyoshi Sakamoto, Hirofumi Arakawa, Seiji Mita, Takaaki Ishiko, Hiroki Sugita, Hirofumi Samejima,
Hiroshi Egami, Satoshi Ikei and Michio Ogawa
Department of Surgery II, Kumamoto University Medical School

To determine the role of cytokines in the host defense in surgical patients, we investigated the kinetics of post-operative elevation of cytokines and factors influencing the increase in serum IL-6 concentration in 38 patients who underwent elective surgery. Serum IL-6 levels reached the maximum on the 1st post-operative day in all patients. Concentrations of IL-6 and IL-8 in the drain exudate were significantly higher than those in the peripheral blood. Strong expression of m RNAs of IL-6 and IL-8 was observed in the leukocytes in the exudate of the thorax and abdomen during the operative and 1st and 2nd post-operative days. On the other hand, there was little expression of these mRNAs in the peripheral leukocytes. Significant correlations were observed between peak serum values of IL-6 and operation time or volume of blood loss during surgery. These results suggest that (1) cytokines are mainly induced and produced in the operative field and subsequently spill over into the blood, inducing hypercytokinemia, and (2) operation time and volume of blood loss during surgery are factors influencing the production of cytokines.

Reprint requests: Kiyoshi Sakamoto Department of Surgery II, Kumamoto University Medical School
1-1-1 Honjo, Kumamoto, 860 JAPAN
