

Critical Care における体液・栄養管理 Dysregulated Immune Reaction と臓器障害

北海道大学免疫科学研究所免疫病能部門
上 出 利 光

1. はじめに

近年臨床上の大きな問題の1つとして、進行性の臓器機能の悪化をきたす Multiple organ dysfunction syndrome (MODS)がある。これは原因疾患それ自体ではなく、合併症が死因となる事を意味しており、米国においては、集中治療室(冠動脈疾患は除く)の患者の死因の第1位をしめ、死亡率も50%をこえている。原因疾患は、外傷、熱傷、感染症、肺炎等様々である。重要な点は敗血症、の有無、あるいは感染の原因(細菌、ウイルス)にかかわらずMODSの状態を生ずることである。その病態は充分解明されてはいないが、現在のところ以下のごとく説明されている。腸管内には細菌叢が存在しており消化吸收および病的細菌制御に重要な機能を担っている。生体に外傷、熱傷等のストレスが加わると、腸内の細菌、その産物であるエンドトキシン、抗原が持続的に血流やリンパ内に侵入し、宿主の免疫系を刺激し、TNF-2, IL-1, IL-6やPAF等の炎症性メディエーターの産生をうながす。これらの炎症性メディエーターは基本的には生体防御に重要で、適量産生されるとマラリア、リステリア等の感染に対して防御的作用を有する。しかし大量に産生されるとMODSを惹起する。つまりMODSを引き起こす宿主の反応はそれ自体特殊なものではなく、生体の防御反応としてとらえることができ、その反応が正常の範囲をいっ脱して制御不能におちいることが、MODS発症にむすびつくと考えられる。この様な考えに基づき現在ではMODSとその関連疾患をSIRS(Systemic inflammatory response syndrome)という概念で理解しようとしている¹⁾。その定義と概念を表1と図1に示した。

表1 SIRS及び関連疾患の定義

感染	：微生物及び他の生物の生体内侵入に対して宿主が炎症反応を惹起した状態
Bacteremia	：宿主の血液中に生きた細菌が存在する状態(同様に viremia, fungemia, parasitemiaも定義する)
SIRS	：感染、肝炎、虚血、多発性外傷や組織障害、出血性ショック、免疫反応によって解された臓器障害やTNF等の炎症性メディエーターの投与によって引き起こされる全身性炎症反応である。他の明らかな原因なくして急性に以下の項目のうち2つ以上の条件を満たすとSIRSと定義する 体温：38度C以上あるいは36度C以下 心拍数：1分間90以上 呼吸数：1分間120以上又はPao2が32torr以下 白血球数：12000/mm3以上、あるいは4000/mm3以下又は幼稚型白血球が10%以上
Sepsis	：感染に対する宿主の全身(非局所的)反応。この反応は感染に引きつづいて起こるという事を除きSIRSと同 である
Severe Sepsis	：低血圧、かん流異常や臓器機能不全を伴った Sepsis
MODS	：急性の臓器の機能障害を示し適切な医療行為なくして宿主の恒常性が保たれない状態

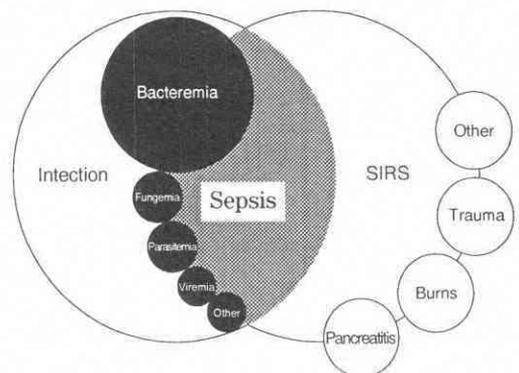


図1 SIRSの概念

II. SIRSの病態

免疫反応の結果として産生されたTNF- α 等の炎症性メディエーターの主な標的細胞は好中球に代表される白血球と血管内皮細胞である。その作用を要約すると①凝固系の亢進。TNF- α は血管内皮に作用し組織因子、PAF、フォン・ビレブランド因子の産生を促進し、又トロンボモジュリンの発現を低下させる。微小血栓は感染巣となりやすく、全身性に凝固が亢進すればDICとなる。②細胞接着の亢進。血管内皮上のICAM-1の発現を増強し、白血球の血管内皮への接着増強、血小板と血管内皮の接着を促進する。同時に白血球のICAM-1リガンドである β_2 インテグリン分子の構造変化による活性化を惹起する。③白血球遊走/transmigrationの促進。TNF- α は内皮に作用しIL-8等の白血球遊走因子の産生を促す。さらに白血球のL-セレクチンのsheddingやコラゲナーゼ産生促進を惹起し白血球の血管外への移動を促進する。④その他の作用。TNF- α は内皮に作用し血管拡張作用を有するプロスタグランジンE₂、プロスタサイクリンI₂、トロンボキサンA₂やNO、又、強力な血管収縮作用を有するエンドセリン産生を促進する。相反する作用を有するが、血管拡張作用が前面に出ると、血流がゆるやかとなり①～③のメカニズムで炎症細胞の組織内侵潤、血管内凝固の亢進に都合のよい状況を作り出す。又、TNF- α 自体に血管内皮に対する細胞障害作用がある。

III. Septic Shockの分子機序

前述の様にSIRSそしてSeptic shockの病態には白血球、血管内皮、炎症性メディエーターが深く関与している。Septic shockはグラム陰性及び陽性細菌によって引き起こされるが、グラム陰性細菌が75%をしめ、endotoxinが産生され宿主のマクロファージを活性化する。一方グラム陽性細菌からはスーパー抗原としての性格を有するexotoxinが産生され、T細胞を活性化する。したがってここでは、Septic shockの分子機序について種々の動物モデルを用いて検討した報告を紹介する。

① ICAM-1分子のhigh dose endotoxin shockにお

ける意義。

野性型マウスとICAM-1ノックアウトマウスを用い、40mg/kgのLPSを腹腔内投与した（high dose endotoxin shock model）。野性型では79%の死亡率であったが、ICAM-1ノックアウトマウスでは23匹中1匹死亡したのみである。血中の炎症性メディエーターを測定するとTNF- α 、IL-1、やIL-6がLPS投与後1～4時間でピークを認め両マウス間に差は認めなかった。両方のマウスでshivering、lethargy、watery eyesの症状が認められ、これらはサイトカインによる症状である。末梢血中の白血球数を検討すると図2のごとく、

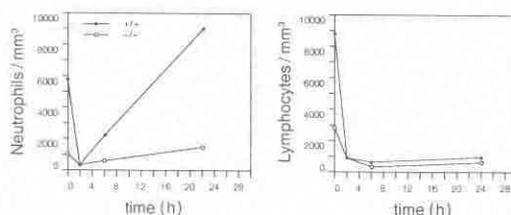


図2 High Dose Endotoxin Shockでの白血球数の変動（文献2より引用）

好中球はノックアウトマウス（—●—）で野性型マウス（—○—）に比して数倍高値を示している。LPS投与（矢印）後、両者共に24時間で白血球数の著明な減少がみられる。その後、野性型では好中球は減少したままであるが、ノックアウトマウスでは徐々に好中球が増加してくる。一方リンパ球はLPS投与後、両者ともに減少したままである。臓器障害の有無を検討してみると、肝臓ではLPS投与後24時間で著変があり、野性型では肝小葉内に好中球が集団で侵潤しており肝細胞の変性が認められる。ノックアウトマウスでは肝類洞内に好中球の増加を認めるが、小葉内への侵潤、肝細胞の変性は軽度である。この結果はhigh dose endotoxin shockにおいては血管内皮上のICAM-1分子が好中球の血管外遊走と、それに引き続く好中球依存性臓器障害に関与していることと示している。これを図3に示した。

② low dose endotoxin 及び exotoxin shock。

このモデルではLPSを10又は50 μ g、exotoxinであ

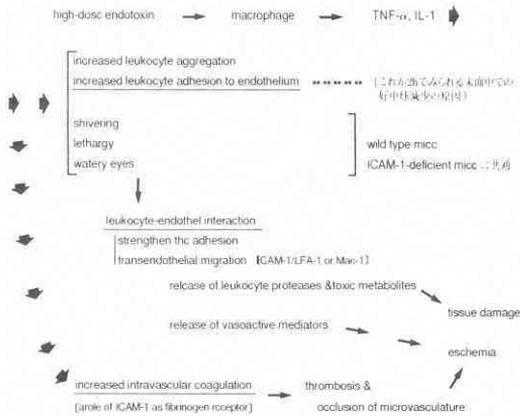


図3 High Dose Endotoxin Shock の分子機構

るSEB(staphylococcus enterotoxin B)を50 μg腹腔内投与した。低濃度のtoxinで肝細胞障害が認められる様に20mg D-galactosamine(D-Gal)を同時に投与した。野性型ではLPS又はSEB投与によりほぼ100%の死亡率であった。SEB投与では肝細胞のsingle cell renosis あるいは小集団の壊死と好中球浸潤がみられ、出血はまれであった。LPS投与では high dose endotoxin shock の組織像と異なり広汎な肝細胞壊死と実質内出血を認めた。ノックアウトマウスでは、SEB投与では87%の生存率で、肝細胞内の好中球浸潤、肝細胞変性、壊死はごく軽度であった。

しかしLPS投与では野性型と同様の死亡率、組織像であった。shockのメディエーターであるTNF-αとIL-1を検討すると、図4に示すごとくlow dose endotoxin 投与では両マウス間で差は認められなかった。したがってlow dose endotoxin shock では、high dose endotoxin shock と異なりICAM-1分子の関与する好中球依存性の組織障害ではなく、サイトカインによる組織障害が主体である。この違いが、肝臓の組織像に反影されている。一方low dose exotoxin shock ではICAM-1分子が欠損すると、SEBのT細胞による認識過程が障害され、T細胞からのサイトカインの産生が不充分とな

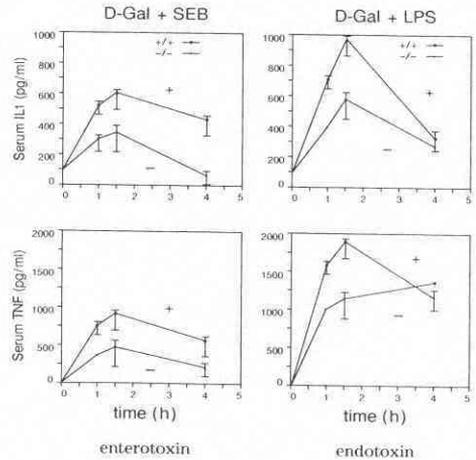


図2 High Dose Endotoxin Shockでの白血球数の変動 (文献2より引用)

表2 Low Dose Endotoxin Shock and Exotoxin (Superantigen) Septic ShockにおけるTNFR1の役割 (文献3より引用)

Endotoxin and Superantigen Injection of TNFRp55 ^{+/+} , TNFRp55 ^{-/-} , and C3H/HeJ Mice				
D-Gal (mg per mouse)	LPS (μg per mouse)	TNFRp55 ^{+/+} (dead/group)	TNFRp55 ^{-/-} (dead/group)	C3H/HeJ (dead/group)
20	-	0/4	0/4	
-	100	0/4	0/4	
20	0.1	2/6	0/6	
20	1	6/6	1/6	
20	10	3/3	0/3	1/5
20	100	6/6	0/6	
D-Gal (mg per mouse)	SEB (μg per mouse)	TNFRp55 ^{+/+} (dead/group)	TNFRp55 ^{-/-} (dead/group)	C3H/HeJ (dead/group)
-	200	0/3		
20	200	3/3	1/8	5/5

Mice received indicated dosages of D-gal, Escherichia coli LPS, or SEB intraperitoneally in 0.1 ml of sterile phosphate-buffered saline. The final result of the experiment (survival) was scored after 72 hr. Surviving mice were monitored for one full week; however, none of the mice surviving for 72 hr died later.

る。したがってlow dose exotoxin shockもサイトカインによる組織障害が主体である。low dose toxin shockにおけるサイトカイン、特にTNF- α の重要性が示されたが、その受容体にはTNF受容体P55(TNF-R1)とTNF受容体P75(TNF-R2)の2つが知られている。Endotoxin、TNFによる組織障害にどちらの受容体が主に関与しているかをTNF-R1をノックアウトしたマウスを用いて検討した報告がある。その結果を表2に示した。野性型マウスでは肝臓の機能不全によるSeptic shockで死亡する量のLPS及びSEB (super antigen, exotoxin) 投与で、ノックアウトマウスでは顕著な死亡率の低下が認められる。この低下は肝細胞の変性・壊死の軽減と並行している。この結果はlow dose endotoxin及びextotoxin shockでは、TNF- α が重要で、これがTNF-R1と結合して組織障害を惹起していることを示している。しかしhigh dose endotoxin投与では野性型マウス、ノックアウトマウス共に高い死亡率を示した (表3)。しかもLPS投与後の血中のTNF- α およびIL-6を測定しているが、TNF- α は両者間に明らかな差はなく、IL-

表4 Endotoxin Shock におけるTNF受容体の役割 (文献5より引用)

Effects of LPS and TNF- α on TNF-R2 ^{-/-} mice				
Dose			Lethality	
D-galactosamine				
LPS (μ g)	(mg)*	TNF- α (μ g)	TNF-R2 ^{-/-}	TNF-R2 ^{+/+}
800	-	-	5/5	5/5
600	-	-	9/10	4/10
500	-	-	5/5	2/5
300	-	-	3/4	1/4
100	-	-	0/4	0/4
100	20	-	5/5	5/5
10	20	-	5/5	5/5
1.0	20	-	5/5	5/5
0.1	20	-	9/10	9/10
0.01	20	-	6/7	6/7
0.001	20	-	1/5	2/5
		10	10/10	1/11
		15	4/4	4/4

6値がノックアウトマウスで1/3に低下していた。これはhigh dose endotoxin shockにおける致死組織障害はTNF- α /TNF-R1以外の経路が重要であることを示している。さらにTNF-R2ノックアウトマウスを用いた検討がなされている (表4)。high dose endotoxin shockでは野性型マウスとTNF-R2ノックアウトマウス間に致死率に差はない。しかしmedium dose endotoxin(300~600mg/匹LPS)投与では、TNF-R2ノックアウトマウスで死亡率が低下していた。一方D-Galとの併用によるlow dose endotoxin shockでは両マウス間に死亡率の差は認められなかった。TNF- α 直接投与にても死亡率を検討している。10 μ gTNF- α 投与では野性型マウスでは100%の死亡率であるが、TNF-R2ノックアウトマウスでは、11匹中1匹しか死亡しなかった。しかしTNF- α を15 μ gに増量すると野性型と同様に100%の死亡率を示した。さらにTNF- α を皮下に直接接種して、皮下組織の障害を検討している。野性型マウスでは炎症細胞浸潤と真皮にまで達する潰瘍を形成したが、TNF-R2ノックアウトマウスでは、組織の壊死は軽度であった。TNF-R2はLPSやTNF- α の組織障害には直接関与しないが、TNF- α に対する感受性の増強に関与しているらしい。この機序は充分解明されてはいないが、TNF-R2はTNF- α をTNF-R1と結合しやすくする、あるいはTNF-R1の信号伝達に必要なTNF量を低下させている可能性や

表3 Low and High Dose Endotoxin ShockにおけるTNF-R1の役割 (文献4より引用)

(a) Mice treated with LPS plus α -GalN				
Genotype	α -Galactosamine (mg)	LPS Salmonella enteritidis (μ g)	Lethality (deaths/total)	
Wild-type	8	0.001	2/6	
	8	0.010	9/9	
	8	0.030	5/5	
	8	0.100	5/5	
Tnfr1 ^{-/-} / Tnfr1 ⁺	8	0.010	0/5	
	8	0.100	0/5	
	8	1.000	0/5	
	8	1.000	0/5	

(b) Mice treated with LPS alone				
Genotype	LPS S. enteritidis		LPS S. abortus equi	
	(μ g)	Lethality (deaths/total)	(μ g)	Lethality (deaths/total)
wild-type	100	0/3	100	0/5
	300	0/3	300	3/10
	600	1/4	600	4/10
	1,200	5/7	1,000	7/8
Tnfr1 ^{+/+} /Tnfr1 ^{-/-}	50	0/5	300	0/5
	1,200	5/5	600	2/5
			1,000	4/5

(c) Mice treated with recombinant mouse TNF α (rmTNF α) plus recombinant human IL1 α (rhIL1 α)			
Genotype	TNF α plus IL1 α (μ g)	Lethality (deaths/total)	
wild-type	1.0+1.0	3/5	
Tnfr1 ^{+/+} /Tnfr1 ^{-/-}	1.0+1.0	0/5	

TNF-R2はTNF-R1を介する信号と共役的に作用する信号を伝達して組織障害をおこしている可能性がある。TNF-R1およびTNF-R2ノックアウトマウスのどちらでも、high dose endotoxin shockに対して抵抗性を獲得しないこと、しかしながら両ノックアウトマウスではTNFに対する感受性の低下を示していた。したがって① high dose endotoxin shock ではTNF-R1、TNF-R2の両者が組織障害に関与している可能性とともに、②他のサイトカインがTNFとは独立にseptic shockでの組織障害に関与している可能性が示された。

IV. まとめ

septic shockの分子機序に関する最近5年間の論文のレビューを中心に、shockと宿主側のdysregulated immune responseとする最近の考え方を紹介した。もちろんこれは動物モデルを用いた研究のみを紹介したわけで、ヒトseptic shockの病態をどの程度説明しうるかという問題をさけている。septic shockの機序解明、治療法の確立には分野をこえた共同研究を具体化する時期にきているように思える。

文 献

- 1) Beal, A.L. and Cerra, F.B. Multiple organ failure syndrome in the 1990s. systemic inflammatory response and organ dysfunction. JAMA 271: 226-233, 1994.
- 2) Xu, H., Gonzalo, J.A., St. Peirre, Y., Williams, I.R., Kupper, T.S., Cortran, R.S., Springer, T.A., and Gutierrez-Ramos, J.-C. Leukocytosis and resistance to septic shock in intercellular adhesion molecule 1-deficient mice. J. Exp. Med. 180: 95-109, 1994.
- 3) Pfeffer, K., Matsuyama, T., Kundig, T.M., Wakeham, K., Kishihara, K., Shahinian, A., Wiegmann, K., Ohashi, P.S., Kronke, M., and Mak, T.W. Mice deficient for the 55kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to L. monocytogenes infection. Cell 73: 457-467, 1993.
- 4) Rothe, J., Lesslauer, W., Lotscher, H., Lang, Y., Koebel, P., Kontgen, F., Althage, A., Zinkernagel, R., Steinmetz, M., and Bluethmann, H. Mice lacking the tumor necrosis factor receptor 1 are resistant to TNF-mediated toxicity but highly susceptible to infection by Listeria monocytogenes. Nature 364: 798-802, 1993.
- 5) Erickson, S.L., de Sauvage, F.J., Kikly, K., Carver-Moore, K., Pitts-Meek, S., Gillett, N., Sheehan, K.C.F., Schreiber, R.D., Goeddel, D.V., and Moore, M.W. Decreased sensitivity to tumour-necrosis factor but normal T-cell development in TNF receptor-2-deficient mice. Nature 372: 560-563, 1994.