

総説

敗血症性多臓器不全の病態とサイトカイン, 内因性大麻

小林 誠人*¹・中山 伸一*¹・小澤 修一*¹・藤井 千穂*²・丸山 征郎*³*¹兵庫県災害医療センター, *²大阪府立千里救命救急センター,*³鹿児島大学大学院医歯学総合研究科血管代謝病態解析学

Endogenous Cannabinoid and Cytokines in the Pathophysiology of Septic Multiple Organ Failure

Makoto Kobayashi*¹, Shin-ichi Nakayama*¹, Shuichi Kozawa*¹, Chiiho Fujii*² and Ikuro Maruyama*³*¹Hyogo Emergency Medical Center, *²Osaka Prefectural Senri Critical Care Medical Center and*³Department of Laboratory and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University

Summary It is recognized that various humoral mediators are involved in the pathophysiology of septic shock and septic multiple organ failure (MOF) following severe sepsis. An immediate mediator, endogenous cannabinoid generated by activated monocytes/macrophages during septic shock, causes septic shock and adjusts production of other early mediators. Early mediators, especially cytokines, play a key role in the pathophysiology of septic MOF. Cytokine balance, the ratio of inflammatory cytokines and anti-inflammatory cytokines, reflects the biological response to severe sepsis. Direct hemoperfusion with polymyxin B immobilized fiber (PMX-DHP) brings about an improvement of circulation and a correction of cytokine balance with adsorption of endogenous cannabinoid. Hence PMX-DHP is an efficient therapy for patients with septic shock and septic MOF by providing a suitable humoral mediator modulation.

Key words: septic shock, septic MOF, endogenous cannabinoid, cytokine, PMX-DHP

1. はじめに

重症感染症患者はしばしば臓器不全を合併する。集中治療の進歩にも関わらず、一旦敗血症性多臓器不全に進行し、循環不全を呈した症例の救命率は十分とはいえない¹⁾。重症感染症の治療においては、感染症に対する治療と共に、臓器不全対策が重要となる。

敗血症 (sepsis) は感染によって引き起こされた全身性炎症反応症候群 (SIRS; systemic inflammatory response syndrome) と定義され²⁾、この概念は広く認められている。SIRS, 敗血症の病態には各種のメディエータが関与し、続発する臓器障害の発症と関連が認められている³⁾。本稿では、メディエータの中でもサイトカインと敗血症性ショックを惹起することが発見された内因性大麻⁴⁾を中心に、敗血症性多臓器不全の病態と治療面より我々の知見を中心に概説する。

2. 内因性大麻と敗血症

単球/マクロファージ (Mφ) 系の細胞において、

グラム陽性菌は主に CD 14 と toll-like receptor (TLR)-2 を介して、グラム陰性菌は主に CD 14 と TLR-4 を介して細胞内にシグナルが伝達され、共通の細胞活性化経路を辿り nuclear factor (NF)- κ B の活性化から生体防御に必要な種々の遺伝子の発現が惹起される^{5,6)}。

その細胞活性化経路の上流で、サイトカイン、凝固線溶系因子、細胞接着因子などの遺伝子発現より前に放出される即時メディエータが内因性大麻である。内因性大麻は分子量 400 ダルトン以下の脂質メディエータであり、単球/Mφ から放出される anandamide (ANA) と、血小板から放出される 2-arachidonyl glycerol (2-AG) で、敗血症性ショックの主因であると考えられている⁷⁾。内因性大麻は頻脈、意識変容、免疫不全など多彩な症状を発現する。また、血圧低下などの循環不全は血管内皮や血管平滑筋などに存在する cannabinoid 1 (CB₁) 受容体を介した NO_x の産生、知覚神経末端に存在する vallinoid 受容体を介したカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の産生

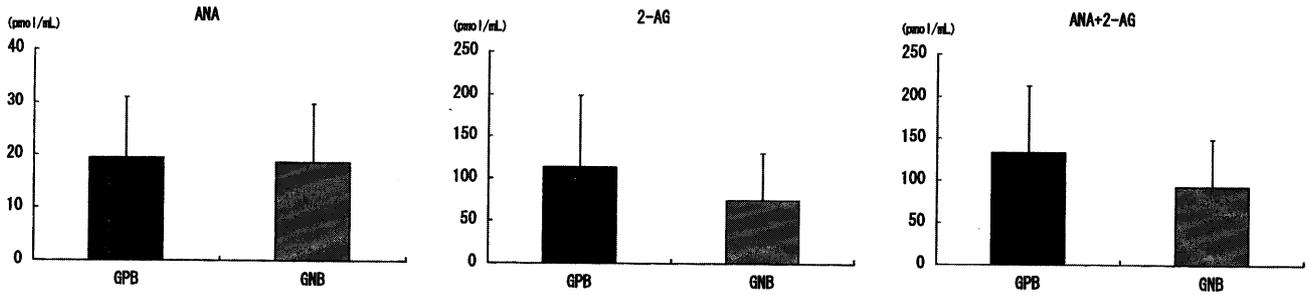


図1 グラム陽性菌と陰性菌による敗血症性ショック時の内因性大麻の血中濃度

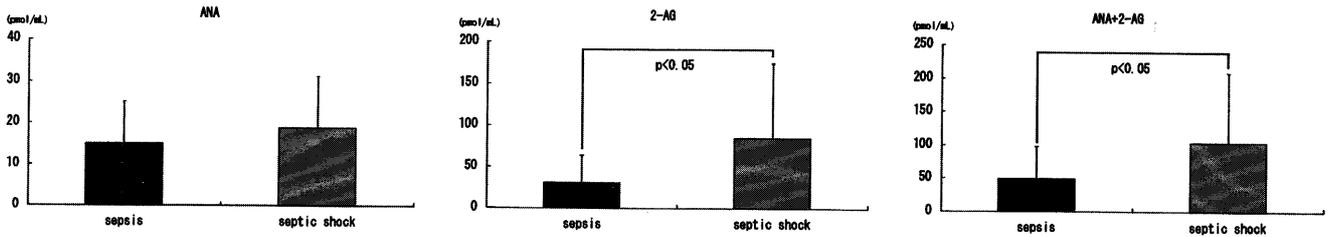


図2 重症度と内因性大麻の血中濃度

が関与していると報告されている^{8,9)}。

敗血症性ショックを呈した症例を起因菌別にANA, 2-AG, 内因性大麻の総和としてANA+2-AGの濃度を検討したところ, グラム陰性菌 (GNB) とメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) などのグラム陽性菌 (GPB) との間に差を認めなかった (図1)。また健常者の血液からはANAや2-AGは検出されないが¹⁰⁾, 敗血症性ショック症例では内因性大麻は高値をとった (図2)。臨床例においても, 内因性大麻はグラム陽性菌, 陰性菌といった起因菌の如何に関わらず同様に放出され, 敗血症性ショック発症における重要かつ中心的な役割を果たしているメディエータの1つである。

3. サイトカインと敗血症性臓器不全

免疫担当細胞をはじめとする種々の細胞からNF- κ Bの活性化を介して, tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8などの炎症性サイトカインやIL-10などの抗炎症性サイトカインが産生される。

敗血症などの過剰侵襲によって過剰に産生されたサイトカインは様々な病態形成に関与していることが明らかにされている^{11,12)}。過剰に産生されたTNF- α , IL-1 β , IL-6などの炎症性サイトカインは, 血管内皮細胞や好中球を過剰に活性化する。さらに, 凝固系や各種メディエータ・カスケードを活性化し種々のhumoral mediator (液性因子) 産生を惹起する。過

剰に活性化された好中球は血管内皮細胞や重要臓器細胞を直接障害する。一方, 脂質メディエータや血管作動性メディエータは, 重要臓器における組織灌流障害の原因となり, 組織酸素代謝の失調を惹起し臓器障害の原因となる。また, 凝固系の過剰な活性化は血管内に微小血栓を形成し, 組織の血流障害から臓器障害の原因となる^{3,12)}。

炎症性サイトカインは敗血症に続発する臓器障害において中心的な役割を果たしている。しかし, 炎症性サイトカインに対するモノクローナル抗体や受容体拮抗物質を用いた抗サイトカイン免疫療法の臨床的効果は認められなかった¹³⁾。理由として, 複雑なメディエータ・カスケードの中で1つのサイトカインのみをブロックしても, すべてのメディエータ作用を制御できないこと, 本来生体防御に必要なサイトカインの機能を完全に止めることで, 生体にさらなる不利益を及ぼしている可能性が指摘される¹⁴⁾。

本来サイトカインは免疫応答や増殖分化などを調節する生理活性物質である¹⁵⁾。生体内に炎症性反応が生じれば, それに相反する抗炎症性反応も惹起される。すなわち, TNF- α , IL-1 β , IL-6などの炎症性サイトカインが産生されれば, IL-10などの抗炎症性サイトカインも産生され, 生体防御反応として両者のバランスが保たれることで生体の恒常性が維持される。敗血症性多臓器不全は生体の恒常性の破綻である。我々は, 敗血症から敗血症性多臓器不全に陥る病態に, 個々の炎症性および抗炎症性サイトカインだけでなく,

炎症性サイトカインと抗炎症性サイトカインのバランス，すなわちサイトカインバランスが重要であると考えている。サイトカインバランスが崩れることにより，本来は生体反応である好中球の活性化とそれに続く血管内皮細胞との相互作用が正常に機能しなくなる。その結果，敗血症性多臓器不全の病態が形成されていくと考えられる^{16,17)}。

我々はサイトカインバランスとして IL-6/IL-10 および (IL-6+IL-8)/IL-10 を用いている。敗血症性ショック症例において，多臓器不全の評価スコアである sequential organ failure assessment (SOFA) score¹⁸⁾ とサイトカインバランスは正の相関関係を認め¹⁹⁾ (図3)，敗血症性多臓器不全における生体反応の評価指標として，サイトカインバランスの有用性が示唆された。

4. ショックを伴う敗血症性多臓器不全に対する PMX-DHP の有用性

我々は敗血症性ショック，敗血症性多臓器不全に対するポリミキシン B 固定化ファイバーを用いた直接血液灌流療法 (PMX-DHP) の有用性を報告してきた^{16,17,19)}。

図4に PMX-DHP 施行前後における循環動態，肺酸素化能の変化を示した。循環動態はカテコラミン総投与量 (CV: catecholamine volume) (CV = dopamine + dobutamine + 100 × noradrenaline + 100 × adrenaline, 投与量の単位は $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) に対する平均血圧 (MAP: mean arterial pressure), MAP/CV で，肺酸素化能は $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ 比 (P/F ratio) で評価した。MAP/CV は PMX-DHP により，速やかに上昇した。この効果は末梢血管抵抗と組織酸素代謝の改善，すなわち hyperdynamic state の代償機転の改善によるものである^{16,17)}。また，P/F ratio も PMX-DHP により速やかに改善を認め，血管内皮細胞障害や肺血管透過性の改善に伴う肺シャント率の改善が関与していると考えられた^{16,17)}。図5に PMX-DHP 施行前後における SOFA score の改善を示した。PMX-DHP は循環動態および肺酸素化能の改善から組織酸素代謝を改善し，敗血症性多臓器不全からの早期離脱に有用な治療手段である。

では，PMX-DHP の有効機序は何なのであろうか。

PMX-DHP 自体はサイトカインを除去しないことが明らかにされている²⁰⁾。しかし臨床例では，PMX-DHP により炎症性，抗炎症性サイトカインは低下し

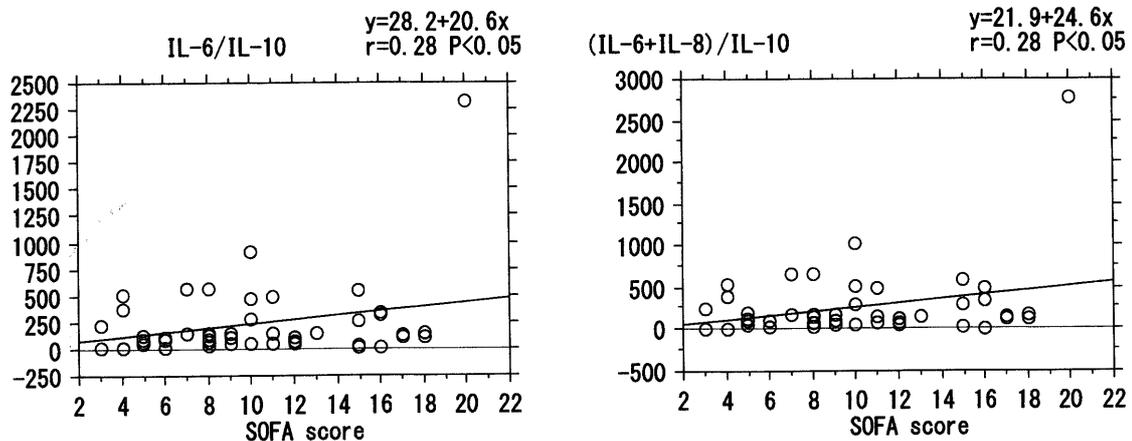


図3 サイトカインバランスと SOFA score の関係

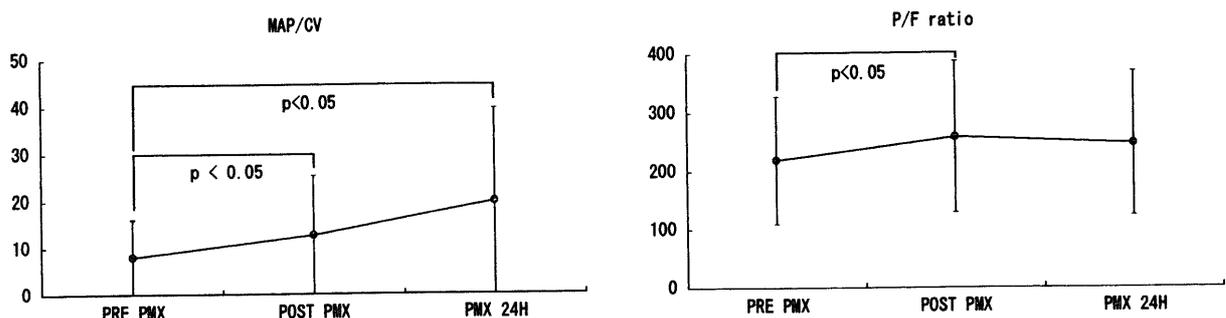


図4 PMX-DHP による循環動態，肺酸素化能の推移

(図6), サイトカインバランスは施行前の高値で炎症性・臓器障害性の状態から, 施行後は臓器障害性の是正がもたらされ正常化した(図7). また, 敗血症性ショックの key mediator の1つと考えられている

ANA, 2-AGであるが, Wangらにより PMX-DHP で吸着・除去されることが見いだされた²¹⁾. 図8は PMX-DHP による ANA, 2-AG の敗血症性ショック症例における変化である. ANA は有意な変化を示さず, 2-AG および内因性大麻の総和, ANA+2-AG が有意に減少し循環動態の改善とその変化がほぼ一致していた. 臨床においては様々な疾患に伴う敗血症性ショックがみられ, ANA 優位, 2-AG 優位, ANA+2-AG 優位の病態が存在している可能性が推察される. また, 内因性大麻の代謝産物の生理活性も考慮しなければならないであろう.

内因性大麻は血圧低下を惹起するのみならず, サイトカイン産生の調節も行っていることが明らかにされた²²⁾. 図9は敗血症性ショック症例における PMX-DHP 施行前後での内因性大麻の変化率とサイトカイン

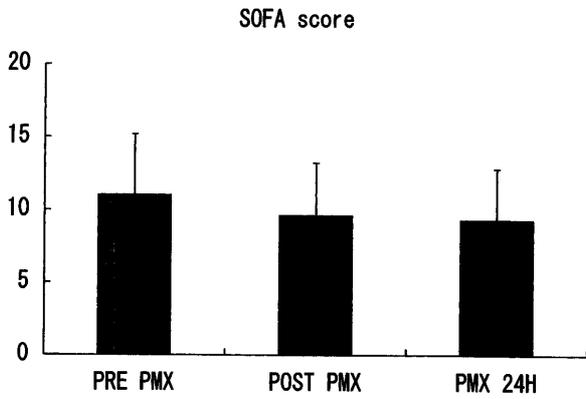


図5 PMX-DHP による SOFA score の推移

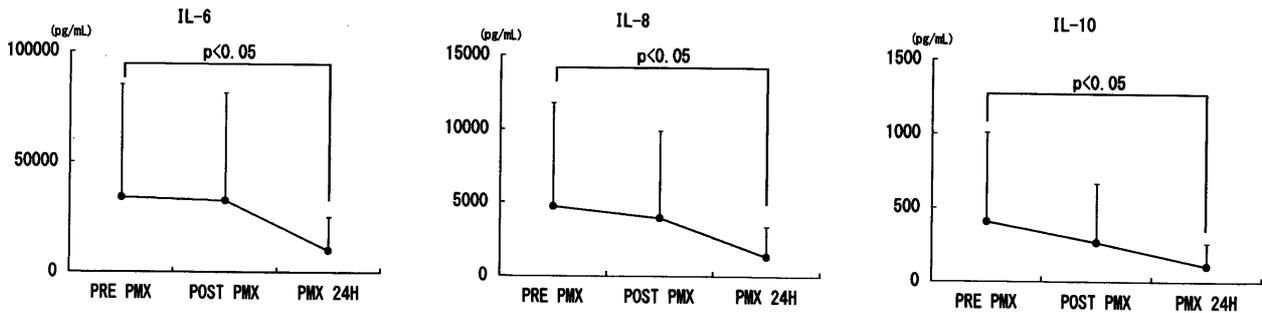


図6 PMX-DHP によるサイトカインの推移

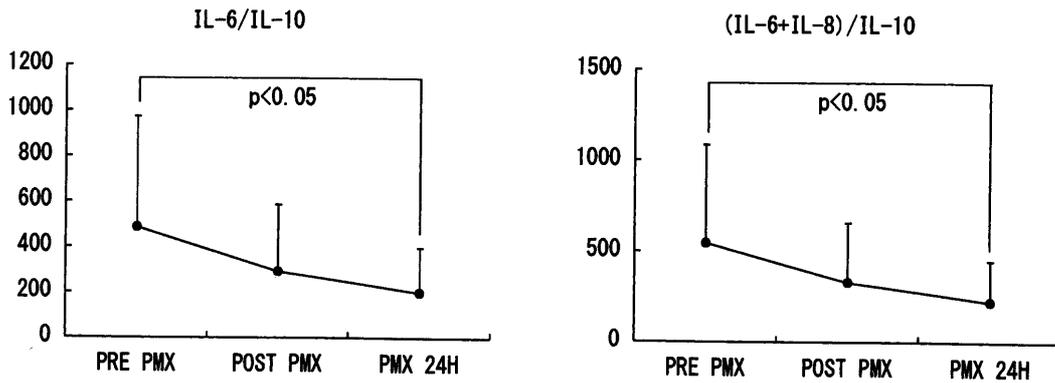


図7 PMX-DHP によるサイトカインバランスの推移

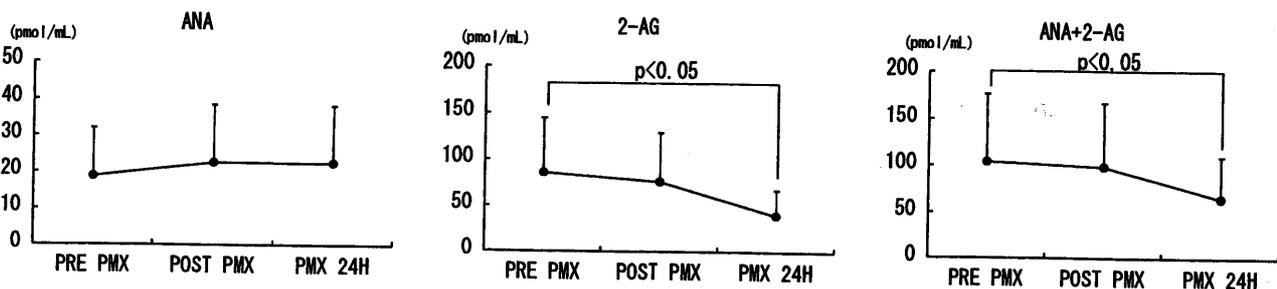


図8 PMX-DHP による内因性大麻の推移

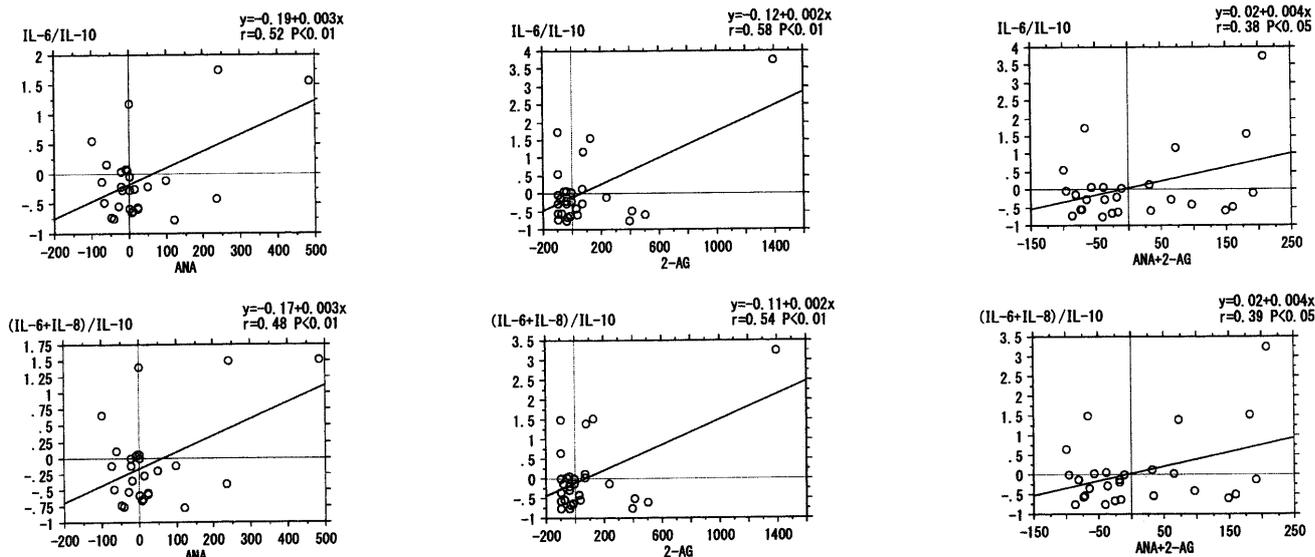


図9 サイトカインバランスと内因性大麻の関係

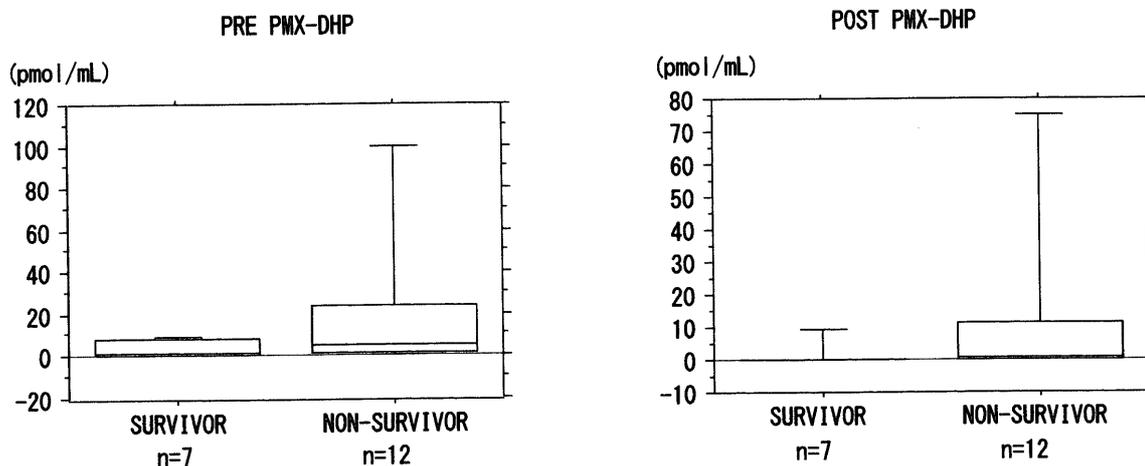


図10 救命群, 死亡群における HMGB1 の関係と PMX-DHP による推移

ンバランスの変化率の相関関係を示したものである。両者に有意な正の相関関係を認めた。

以上のことから、PMX-DHP の有効機序は内因性大麻を生体内より吸着・除去することで、循環動態の速やかな改善およびサイトカイン産生の調整とサイトカインバランスの是正により、敗血症性ショック患者の生体内環境の正常化をもたらすことであると考えられた。

5. HMGB1 の役割

High mobility group protein 1 (HMGB1) はエンドトキシン刺激後8時間以上経過して単球/Mφから産生される。HMGB1 そのものに致死作用があり、血中濃度が高値を示す症例ほど予後不良なことから、敗血症性ショックの晩期メディエータとして注目されている²³⁾。

臨床例で血中 HMGB1 を測定したところ、敗血症性ショック発症時 (PMX-DHP 施行前)、死亡群は救命群に比べ有意に血中 HMGB1 は高値であった (図10)。また、PMX-DHP により救命群, 死亡群ともに血中 HMGB1 は低下し、特に救命群では施行後血中濃度は全例 0 pmol/mL となった (図10)。

今後、血中 HMGB1 の測定が迅速で簡便になれば、敗血症の予後あるいは重症度の指標になる可能性がある。また、血中 HMGB1 を低下させ、敗血症性ショック症例の予後改善をもたらす治療手段として、PMX-DHP の新たな有用性が示唆された。

6. おわりに

以上、重症感染症に続発する臓器不全とサイトカインおよび内因性大麻の関与について、また、ショックを伴う敗血症性多臓器不全に対する PMX-DHP の有

効性機序について概説した。重症感染症の治療においては、病態、生体反応を理解し、続発する臓器不全対策が重要である。今後、メディエータ・カスケードを効率よく制御できる血液浄化法や治療方法が見いだされれば、重症感染症の救命率向上に寄与することが期待される。

文 献

- 1) Rangel-Frausto MS, Piter D, Costigen M, et al: The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *JAMA* **273**: 117-123, 1995
- 2) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* **20**: 864-874, 1992
- 3) Hotchkiss RS, Karl IE: The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*, **348**: 138-150, 2003
- 4) Varga K, Wagner JA, Bridgen DT, et al: Platelet- and macrophage-derived endogenous cannabinoids are involved in endotoxin-induced hypotension. *FASEB J* **12**: 1035-1044, 1998
- 5) Thomas JA: Toll genes and responsiveness to bacterial endotoxins. *N Engl J Med* **342**: 664-665, 2000
- 6) Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, et al: Differential roles of TLR 2 and TLR 4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* **11**: 443-451, 1999
- 7) Varga K, Wagner JA, Bridgen DT, et al: Platelet- and macrophage-derived endogenous cannabinoids are involved in endotoxin-induced hypotension. *FASEB J* **12**: 1035-1044, 1998
- 8) Jarai Z, Wagner JA, Goparaju SK, et al: Cardiovascular effects of 2-arachidonoyl glycerol in anesthetized mice. *Hypertension* **35**: 679-684, 2000
- 9) Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, et al: Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* **400**: 452-457, 1999
- 10) Wang Y, Liu Y, Ito Y, et al: Simultaneous measurement of anandamide and 2-arachidonoylglycerol by polymyxin B-selective adsorption and subsequent high-performance liquid chromatography analysis: Increase in endogenous cannabinoids in the sera of patients with endotoxin shock. *Anal Biochem* **294**: 73-82, 2001
- 11) Cain BS, Meldrum DR, Harken AH, et al: The physiologic basis for anticytokine clinical trials in the treatment of sepsis. *J Am Coll Surg* **186**: 337-350, 1998
- 12) Balk RA: Pathogenesis and management of multiple organ dysfunction or failure in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Clin* **16**: 337-352, 2000
- 13) Natanson C: Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: A reassessment. *Crit Care Med* **25**: 1095-1100, 1997
- 14) O'Reilly M, Newcomb DE, Remick D: Endotoxin, sepsis, and the primrose path. *Shock* **12**: 411-420, 1999
- 15) Forg Y, Moldawer LL, Shires GT, Lowry SF: The biologic characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* **170**: 363-378, 1990
- 16) 小林誠人, 藤井千穂: 消化器外科周術期敗血症性ショックに対するポリミキシン B 固定化ファイバーを用いた直接血液灌流 (PMX-DHP) の有用性. *日腹部救急医学会誌* **22**: 783-789, 2002
- 17) 小林誠人, 藤井千穂, 齋藤憲輝, 他: エンドトキシン吸着療法 (PMX-DHP) における生体反応の検討—循環動態, サイトカイン, 内因性 cannabinoid の推移—. *エンドトキシン血症救命治療研究会雑誌* **6**: 91-100, 2002
- 18) Vincent JL, Mendonca A, Camtraome F, et al: Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. *Crit Care Med* **26**: 1793-1800, 1998
- 19) 小林誠人, 藤井千穂, 丸山征郎: 病態からみた敗血症性ショックを伴う多臓器不全の治療戦略. *ICU と CCU* **27** (別冊号): S 28-S 30, 2003
- 20) Tani T: Review of endotoxin-adsorbing direct hemoperfusion therapy using a column containing polymyxin B immobilized fiber. *Curr Opin Crit Care* **6**: 416-420, 2000
- 21) Wang Y, Liu Y, Sarker KP, et al: Polymyxin B binds to anandamide and inhibits its cytotoxic effect. *FABS Lett* **470**: 151-155, 2000
- 22) Klein TW, Lane B, Newton CA, et al: The cannabinoid system and cytokine network. *Proc Soc Exp Biol Med* **225**: 1-8, 2000
- 23) Wang H, Bloom O, Zhang M, et al: HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* **285**: 248-251, 1999