

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	川瀬 愛
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大博 (医) 第 1790 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
博士論文名	腹膜炎に対する緊急手術後の合併症予測における Endotoxin Activity Assay (EAA) の有用性
論文審査委員	主査 教授 遠藤 裕 副査 准教授 横山 純二 副査 教授 若井 俊文

博士論文の要旨

【背景と目的】消化管由来の腹膜炎は診断や治療が遅れると容易に敗血症に移行する緊急度の高い病態であり、重症度や適切な治療法を早期に判断することは非常に重要である。腹膜炎重症化の一因としてグラム陰性桿菌から放出されるエンドトキシンの関与が知られている。近年、エンドトキシンの新しい測定法として全血で測定可能な化学発光法による Endotoxin Activity Assay (EAA) が臨床応用されている。腹膜炎に対する緊急手術後の合併症予測における急性期の EAA による血中エンドトキシン測定の有用性を検証した。

【方法】2014 年 6 月から 2015 年 5 月までに腹膜炎の診断で当科に入院し緊急手術が施行された 46 例を対象とした。入院後 24 時間以内に採取した血液検体を用いて EAA によって得られる Endotoxin Activity Level (EA 値) を測定した。本法の測定原理は、試薬の抗 lipopolysaccharide (LPS) モノクローナル抗体を検体に加えてエンドトキシン-抗エンドトキシン抗体-補体免疫複合体を形成させ、その免疫複合体と患者由来の好中球が反応することで生じる活性酸素を試薬に含まれるルミノールとの化学発光として検出し、血中エンドトキシンレベルを求めるものである。試薬に含まれるザイモザンも好中球にとりこまれ、活性酸素の産生を増強する。チューブ 1 は、ネガティブコントロールでルミノール、ザイモザンのみ、チューブ 2 は、検体、チューブ 3 はポジティブコントロールであり、チューブ 2, 3 は、各々抗エンドトキシン抗体、ルミノール、ザイモザンを含む。チューブ 1, 2 には全血を加え、チューブ 3 には過剰の LPS を添加した血液を加え反応を行う。各々のチューブにおける活性酸素量を Smart Line TL (Berthold Detection Systems, Germany) を用いて化学発光量を自動計測することにより測定した。EA 値は好中球が産生する活性酸素量を、活性酸素産生能の最大値に対する比として計算しベースライン値で補正した。すなわち EA 値はチューブ 2 の化学発光量 - チューブ 1 の化学発光量 / チューブ 3 の化学発光量 - チューブ 1 の化学発光量として計算した。対象を Low-EA 値群 (EA 値 < 0.4) と High-EA 値群 (EA 値 ≥ 0.4) に分け、2 群間における臨床因子を比較検討した。同時に入院時の WBC, CRP, プロカルシトニンなどの炎症マーカー、Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) score, Sequential Organ Failure Assessment score などの重症度判定スコアを測定し、EA 値との関連を検討した。2 群間における臨床因子の比較は、Fisher の直接確率検定を用いて検討した。単変量解析で有意であった因子について、Logistic 回帰分析を用いて多変量解析を行った。2 種類の因子

の相関は Spearman の順位相関係数を用いて検討した。

【結果】腹膜炎の原因疾患の内訳は、下部消化管穿孔が 18 例 (39%) と最も多かった。EA 値の中央値は 0.34 (範囲: 0.01 – 0.83) であり、Low-EA 値群は 27 例 (59%)、High-EA 値群は 19 例 (41%) であった。術後合併症は 46 症例中 22 例 (48%) で認められた。合併症なし群では High-EA 値症例が 24 例中 6 例 (25%) であったのに対し、合併症あり群では High-EA 値症例が 22 例中 13 例 (59%) であり、合併症あり群では合併症なし群と比較して High-EA 値症例の占める割合が有意に高かった ($P=0.02$)。また、合併症なし群では lactate (LAC) 高値症例が 24 例中 7 例 (29%) であったのに対し、合併症あり群では LAC 高値症例が 22 例中 13 例 (59%) であり、合併症あり群では合併症なし群と比較して LAC 高値症例の占める割合が有意に高かった ($P=0.04$)。多変量解析では、EA 値 (≥ 0.4) が独立した合併症発生予測因子であった (オッズ比 4.04, 95%CI 1.10–14.9, $P=0.036$)。EA 値と WBC, CRP など既存の炎症マーカーや重症度判定スコアとの相関は認めなかった。

【考察】血中のエンドトキシン測定は従来、カプトガニ血液抽出液由来のリムルス試薬を用いたリムルステストが使用されてきた。これはカプトガニ血液の細菌に対する凝集反応を元に開発されたものであるが、血中にはエンドトキシン阻害物質が多数存在すること、多段階の生物学的カスケードを経由した測定値であること、このカスケードは β -D-グルカンによっても惹起されることなどから、精度に限界があった。EAA で用いる主な試薬は LPS を構成する 3 種類の構造物のうちのリピド A に対するモノクローナル抗体であり、エンドトキシンに特化した測定ができることが特徴である。EAA の測定時間は約 30 分で操作も簡便であり、リアルタイムの評価が可能であることから有用な測定法と言われている。これまでの報告では、急性期の EA 値は、APACHE II score などの重症度スコアや、CRP などの既存の炎症マーカーと相関関係を持つとされてきた。しかしながら、本研究では、いずれのスコア、マーカーとも有意な相関関係は認めなかった。過去の多くの研究が、すでに敗血症を呈した重症患者において EA 値を測定しているのに対し、今回対象とした腹膜炎症例は早期の段階での測定であったことが一因と考えられる。一方で、術後の合併症の有無において EA 値は有意な因子であった。入院時 EA 値が高い症例は、術後合併症の発生に対して、特に注意した管理が必要である。術後合併症の 33% を surgical site infection (SSI) が占めており、EA 値は SSI 対策強化の指標として利用できる可能性がある。また、EA 値を指標として術後の集中治療の必要性を早期に判断することが可能になると考えられる。

【結論】エンドトキシンの新しい測定法である EAA は、独立した新規バイオマーカーとして腹膜炎に対する緊急手術後の合併症発生予測に有用である。

審査結果の要旨

急性腹膜炎は敗血症に移行し易く、重症度や治療法の早期判断が必要な緊急性が高い病態である。申請者は、血中エンドトキシンの迅速かつ高精度の新しい測定法である Endotoxin Activity Assay (EA 値) により、術後合併症発生予測が可能であるかを検討した。EA 値は入院 24 時間以内に採血、EA 値 < 0.4 と EA 値 ≥ 0.4 に分けて検討した。緊急手術となった 46 例において、EA 値 < 0.4 は 27 例、EA 値 ≥ 0.4 は 19 例で認められた。術後合併症は 22/46 例で認められ、合併症発生の有無で比較すると、合併症有では乳酸値及び EA 値 ≥ 0.4 の割合が有意に高かった (各々 $P=0.04$ 及び $P=0.02$)。その他、患者背景、検査値、重症度スコア等には、合併症発生の有無で違いを認めな

った。乳酸値と EA 値を説明変数とした多変量解析では、EA 値 (≥ 0.4) が独立した合併症発生予測因子であった (OR=4.04, 95%CI:1.10-14.9, P=0.036)。以上、腹膜炎緊急手術の術後合併症発生予測における EAA の有用性を明らかにした点に学位論文としての価値を認める。