

- ◆スタンダードプレコーションと感染経路別予防処置を実施する。
- ◆抗菌薬使用のチェックシステムを整備し、職員教育を行う。
- ◆人工呼吸器関連肺炎はICU内での最も多い院内感染である。

表4 感染対策の基本(文献2:国立大学病院集中治療部協議会より引用)

感染予防策		<ul style="list-style-type: none"> ・手洗い：血液や体液に触れた場合、患者ごと、手袋装着前後に行う ・手袋の使用：血液・体液に触れる場合や触れる可能性が高い場合 ・ガウンやエプロンの着用：血液や体液への接触・飛散による衣服の汚染の危険性がある場合 ・目の保護：血液・体液が飛散する可能性がある場合 ・血液・体液に汚染された器材・リネンの適切な処理 ・針などの鋭利な器具の安全な取り扱い
感染経路別 予防措置*	空気予防策	個室収容、独立した換気系統、吸気保護用マスクの使用など
	飛沫予防策	個室収容か飛沫が到達しない距離(1m)の確保、手袋・マスクの装着と目の保護
	接触予防策	個室収容か厳密な対策、手袋の装着、必要に応じてマスクや目の保護

*：すべての患者に標準予防策を講じたうえで、個々の患者に必要な感染経路別予防策を加える

● 抗菌薬の使用

不適切な抗菌薬使用への対策として、抗菌薬の使用に関する院内の指針を作成し、それに従った処方推奨(A-I)、不適切な場合には処方医にフィードバックするチェックシステムを作る(A-I)。研修医、職員教育の一環として継続的に抗菌薬使用を指導する(A-II)。前述の院内サーベイランスによって感染症の原因菌や感受性パターンを明らかにし、抗菌薬の選択に活かす(B-II)ことなどが推奨されている。

● 部位別感染対策

1. 人工呼吸器関連肺炎(ventilator associated pneumonia ; VAP)対策

病院内で人工呼吸器を装着したことによって新たに罹患した肺炎を指す。ICUにおけるVAPはICU入室患者の3~4%を占め、ICU内の院内感染で最も多い。人工呼吸管理下の患者では1日あたり1%の割合で肺炎となる危険性が増加する。

VAPの予防や管理に関する器具の消毒、人工鼻、周辺機器や手技操作の衛生管理、気管内吸引、

気管切開についてはガイドラインを参照のこと。

咽頭や口腔の清拭がVAPを予防するという明らかなエビデンスは無いが、口腔咽頭細菌叢の誤嚥による場合が多く、口腔や咽頭の清拭を十分に行う(A-III)。栄養管理は、可能な限り、静脈栄養よりも経鼻胃管などを用いた経腸栄養を行う(A-I)。経腸栄養施行の際には、チューブの先端の位置や腸管運動を確認し、できれば上体を挙上(ガイドラインでは30~40°)する(A-I)。

挿管チューブ横からの唾液などのたれ込みに伴う肺炎防止にカフ上部の貯留物を吸引するためのカフ上に側孔付きの気管内チューブを使用することは有用である(A-I)。

選択的消化管内殺菌(Selective Decontamination of Digestive Tract)によってメタアナリシスではVAPの発生率が低下すると報告され、そのうちいくつかでは死亡率の低下も確認されているが、投与群は抗菌薬の全身投与を行うも、非投与群は抗菌薬がSDDも全身投与もされない場合があり、日本のように抗菌薬が全身投与されている状況でSDDを追加する意義は、現時点では明らかではない(B-I)。

- ◆人工呼吸器関連肺炎予防に、下記記載の方策の実施を検討するが、すべてが有効とは限らない。
- ◆感染性合併症の予防に、可能であれば、静脈栄養よりも経腸栄養を実施する。
- ◆中心静脈カテーテル挿入時には高度のバリアプレコーションを行う。

人工呼吸器装着患者に対する予防的抗菌薬の全身投与は、有効性が確認されていない(B-III)。しかしながら、2~3日以上長期人工呼吸を要する患者では、抗菌薬の全身投与と局所投与を行った群では、行わなかった群に比較して、メタアナリシスで肺炎合併率や死亡率を有意に軽減させた。

ストレス潰瘍予防薬とVAPの発生に関しては、多数のRCTとメタアナリシスがあるが、少数例での検討が多いこともあり、結果に一定の見解をみえない。人工呼吸管理が必要な1,200例でスクラルフェートとH₂ブロッカーの比較をしたRCTでは、臨床的に対処が必要な消化管出血は前者で1.7%、後者で3.8%、VAPは前者で19.1%、後者で16.2%であったが、ICUでの死亡率は23.5%と22.8%で差は無かった³⁾。以上より、明確な結論は導き出せないが、前述のガイドラインでは、ストレス潰瘍の危険性が少ない患者ではH₂ブロッカーを投与しない(A-I)。ストレス潰瘍の危険性の高い患者にはスクラルフェートなど、胃のpHを上げない薬剤を使用する(B-II)。明らかな上部消化管出血が存在する患者や既往のある患者、内服中の患者、その危険が極めて高い患者では、H₂ブロッカーを投与する(A-I)としている。院内肺炎を防ぐための経管栄養のルーチンの酸性化は行わないほうがよい(B-II)。

また、術後肺炎の予防のためには、最適な除痛および早期離床を行う(A-I)。術後肺炎のリスクの高い患者では、術前にインセンティブスパイロメトリまたは深呼吸訓練を行う(A-I)。しかし、術後の肺理学療法による酸素化や無気肺の改善の報告はあるが、肺炎の予防に関する有効性は証明されていない(C-III)。

2. 血管留置カテーテルに関連した血流感染(catheter related infection ; CRI)対策

a) 高カロリー輸液施行時の原則

外傷患者をはじめ重症患者では中心静脈栄養は経腸栄養に比較し、有意に感染性合併症が多いことが報告されており、栄養管理が必要な場合には極力経腸栄養とする(A-I)。

b) カテーテル挿入時の注意点

中心静脈カテーテル挿入時には高度のバリアプレコーション(清潔手袋、長袖の滅菌ガウン、マスク、帽子と大きな清潔覆布)を行う(A-I)。

鎖骨下静脈、内頸静脈、大腿静脈へのカテーテル挿入に関連した感染に関するRCTは行われていない。多変量解析などにより、鎖骨下静脈よりも内頸静脈や大腿静脈のほうがコロニー形成の頻度が高いと報告されている。大腿静脈では上大静脈系への挿入に比し、深部静脈血栓症の頻度も高い。感染の点からは鎖骨下静脈が第一選択である(A-I)が、内頸静脈に比し、気胸、血胸、カテーテル位置異常などの合併症が多いことを留意し、穿刺部位を決定する必要がある。

カテーテルの内腔数(シングル、ダブル、トリプル)が少ないほうが感染の機会は少ないため、必要最小限の内腔数のカテーテルを選択する(A-I)。

一方、カテーテルの血栓形成はCRIに関連するため、カテーテル留置期間が2週間ほどの場合にはヘパリンやワーファリンの短期間の使用が海外の研究結果からは推奨されている(A-I)。ヘパリンは3単位/mlの輸液内混入、あるいは、6~12時間ごとにフラッシュ溶液として5,000単位を用いる、あるいは2,500単位の低分子ヘパリンを1回/day皮下注するとされ、長期間の場合の効果については不

- ◆中心静脈カテーテル挿入部位は症例において最も適切な部位を選択する。
- ◆中心静脈カテーテルの内腔数が少ないほど感染の危険性は少ない。
- ◆尿路感染対策でもエビデンスは低いが無菌的挿入と維持、職員教育が肝要である。

明とされている。また、ワーファリンはカテーテル挿入時から1 mg/dayを投与する研究で有用とされている。しかし、これらの海外での結果が日本でもあてはまるか否かは定かではないし、血栓形成防止には有効であるが、CRIを減少させうるかは明らかではない。

カテーテル挿入部の皮膚の管理は、ポビドンヨードよりもクロルヘキシジンアルコールまたはヨードチンキのほうが感染の頻度は少ない(A-I)。カテーテル挿入部の抗菌薬含有軟膏の使用では感染症の減少は認められず、真菌症が多くなったことが報告されており、推奨されない(B-III)。

c) カテーテルの管理

中心静脈カテーテルからは血液製剤や種々の薬剤投与、血液採取など、多目的に使用することは感染の危険を高める(A-I)。

また、中心静脈カテーテルを定期的に交換する有益性は無く必要はない(A-II)。カテーテル交換時には、刺入部の感染が疑われない場合にはガイドワイヤを用いて交換してよい(B-II)。

輸液ラインの管理、末梢動静脈カテーテル、血液浄化用カテーテルに関しては、ガイドラインを参照のこと²⁾。

3. 尿路感染対策

尿路感染は最も一般的な院内感染であり、その多くはカテーテル留置に伴う。尿培養による細菌数の変化を対象にした研究は多いが、顕性感染に対する有効性を検討した報告は無く、日本における顕性感染の頻度も明らかではない。以下、ガイドラインでの推奨の一部を抜粋し、紹介する。

膀胱留置カテーテルの無菌的な挿入と維持に関する正しい技術をもった医療従事者だけが膀胱留置カ

テーテルを取り扱う(A-III)。医療従事者はその教育を定期的にする(A-III)。膀胱留置カテーテルは清潔器具を用いて無菌的操作で挿入する(A-III)。また、必要時に必要な期間だけ留置されるべきである(A-III)。閉鎖式採尿システムを使用することによって尿路感染を減少するので、清潔な閉鎖式採尿システムを維持する(A-III)。

感染コントロールとしての、導尿管の定期的な細菌培養検査は行わないほうがよい(B-II)。予防的な抗菌薬投与が尿路感染を減少させたとする明確な証拠が無いため、行わないほうがよい(B-III)。

膀胱洗浄は、閉塞が予測される場合以外は避ける(A-III)。抗菌薬による膀胱の持続洗浄には有用性が認められておらず、ルーチンの感染予防として行わないほうがよい(B-I)。

4. 創部感染対策

手術部位感染症(surgical site infection; SSI)はCDCのNational Nosocomial Infections Surveillanceのレポートによると、SSIは手術患者の院内感染の38%と最も多く、SSIのうち2/3は創部感染であり、残りの1/3は手術に関連した臓器あるいは体腔感染である。

SSSIの成立には、術前の患者の状態、手術準備の方法、消毒の方法、手術操作、術中抗菌薬投与の方法などが関与している。

手術前日の除毛は、切開部あるいは周辺の毛が邪魔にならない限り行わない(B-II)。除毛する場合はカミソリより電動バリカンを使用して手術の直前に除毛するほうがよい(B-I)。除毛クリームまたはバリカンによる除毛のほうが、カミソリによる剃毛よりSSIの発生頻度が少ない(A-I)。

少なくとも手術前夜は消毒薬(クロルヘキサジン)

- ◆創部感染対策では比較的質の高い研究によって有効性が示されている処置があり、確実に実施する。
- ◆褥創対策も院内感染対策の一環としての確に行う。
- ◆ICU入室患者は院内感染に被りやすく、感染対策をICUのみならず病院全体として取り組む必要がある。

を使用してシャワーか入浴をさせる(A-I)。喫煙はSSIを含む感染のリスクファクターであり、常に禁煙を勧める(A-I)。一般的術後合併症と禁煙に関しては、2週間の禁煙で呼吸機能の回復を認め、8週間の禁煙で合併症が非喫煙者と同等になるとされている。

術後の創部処置では、しっかり閉鎖された創については24~48時間清潔なドレッシングで被覆するのが良く、48時間を過ぎると必ずしも覆う必要は無い(A-I)。ガーゼ交換には清潔な手袋と器具を使用すべきであり(B-II)、その前後には手洗いをする(A-II)。

術後3日以上ドレーン留置はSSIの発生率を増加させるので、望ましくない(B-II)。予防的抗菌薬の投与方法は、皮膚切開2時間前から皮膚切開までに血液と組織で有効な濃度が得られるタイミングで、一般的にSSIをひき起こすと考えられる細菌に対する感受性を有する抗菌薬を投与する(A-I)。また、血液および組織中の濃度は術後数時間まで維持する(A-I)。手術時間が長時間に及ぶ際には、術中の追加投与を考慮する。

5. 褥瘡対策

ICUでは、鎮静などに伴う長期臥床から褥瘡を生じ、この感染から敗血症に陥ることもある。

褥瘡の予防が第一で、褥瘡発生の予測(A-III)や定期的な体位交換によって骨突起部や褥瘡部の除圧をはかる(A-III)。クッションなどの用具を用いて褥瘡部に体重をかけない(A-III)、などを心がける。

治療では、摂食状態を把握し、低栄養を避ける(A-II)、湿った壊死組織の存在は感染の原因となりうる細菌の培地となり治癒を変遷させる。壊死組織の除去は瘡治療に必須である(A-I)。

褥瘡の管理や詳細については、ガイドラインを参照のこと²⁾。

● おわりに

病院には多数の患者が一定空間内に入院し、種々の感染症も多数存在し、高齢者や高度の手術侵襲などに伴う免疫不全の患者も多いため、院内感染は必発ともいえる。しかしながら、院内感染が生じると在院日数や医療費が増えるため、包括医療では、有効な感染対策を生じさせることは患者だけではなく、医療施設にとっても必要不可欠で収支にも直結する重要懸案である。

ここでは、ガイドラインに記載のある部分を抜粋して紹介したが、実際の患者への適応の判断に際してはガイドラインを参照されたい。

近年、多数のエビデンスが集積されつつあり、ガイドラインも策定されてきたが、それらを参照した各々の施設での最も適切な指針(マニュアル)を策定することが必要である。前述のように、院内感染対策は病院全体として取り組むべき問題であり、一定の権限をもつ病院感染対策組織を設置し、院内の感染対策マニュアルや病院感染症発生報告システムを整備し、サーベイランスを行い、職員教育を継続して行っていくことが必要である。

文 献

- 1) 国立大学医学部附属病院感染対策協議会：病院感染対策ガイドライン。じほう、2004
- 2) 国立大学病院集中治療部協議会：ICU感染制御CPG策定委員会。ICU感染防止ガイドライン。じほう、2003
- 3) Cook D, Guyatt G, Marshall J et al : A comparison of sucralfate and ranitidine for the prevention of upper gastrointestinal bleeding in patients requiring mechanical ventilation. N Engl J Med 338 : 791-797, 1998

トピックス

遺伝子多型と感染

名古屋大学医学部救急部・集中治療部

真弓俊彦, 有嶋拓郎, 武澤 純

要旨: 近年, 感染やその生体反応に関する遺伝子多型も多数明らかになった。今まで同じ手術や侵襲でも人によって反応性に差があることが知られていたが, その原因の一つとして, これらの遺伝子多型が考えられる。多型の型によって, 薬剤代謝や侵襲に対する反応性が異なる場合, 種々の疾患の罹患率や罹患した場合の予後に差が認められるという報告も増えてきている。しかしながら, サイトカインの mRNA や蛋白量などの機能に影響を与えない部位での遺伝子多型でも臨床的に差が認められるという報告もあり, 連鎖不均衡の関与も否定できない。また, 肺炎や敗血症のような common disease では単一の遺伝子多型のみで罹患率や予後が決定される可能性は低いと考えられる。現在までの報告では感染と遺伝子多型の関連について十分な症例数を重ねた研究は少ない。また, 多型の頻度到人種差があるため, 今後, 日本人での大規模な研究による感染と多数の遺伝子多型との関連の解明が待たれる。

【索引用語】 敗血症, 遺伝子多型, 敗血症性ショック, single nucleotide polymorphism (SNP)

はじめに

今まで同じ手術や侵襲でも人によってサイトカインの産生量など, 反応性に差があることが知られていた。近年, 遺伝子のうちの一部の変異が一定の頻度で存在する遺伝子多型が明らかになり, 感染やその生体反応に関する遺伝子多型も多数存在することが報告されている。ここでは遺伝子多型についての概説と, 感染と遺伝子多型についての関連と現状での問題点, 今後の展望について解説を行う。

I. 遺伝子多型とは

顔貌や体型が個人で異なるように, 遺伝暗号である塩基配列も人により多くの部位で異なっている。遺伝子多型とは核酸であるアデニン (A), グアニン (G), シトシン (C), チミン (T) が本来のものとは異なる核酸になっていることで, これが一定以上の頻度 (遺伝学的には, 通常, 人口の 1% 以上の頻度で存在するものと定義されており, 1% 未満のものはバリエーションと呼ばれている) で存在することをいう。

遺伝子多型の種類は下記のように分類される (表 1)¹⁾。

① 1 から数十塩基 (数千塩基のこともある) が欠損や挿入をしているもの (挿入/欠損型)。

② 1 個の塩基が他の塩基に置き換わっているもの (single nucleotide polymorphism : SNP)。

③ 2 塩基から数十塩基を 1 単位とする配列が繰り返し存在する部位において, その繰り返し回数が個人間で異なるもの。

②の SNP は数百塩基対から 1000 塩基対に 1 ヶ所程度の割合で存在し, ゲノムのなかには 300 万から 1000 万の SNP が存在すると考えられる。また, DNA の特定の制限酵素認識配列に SNP があるものを RFLP (restriction fragment length polymorphism : 制限酵素切断断片長多型) と呼ぶ。

さらに, ③の繰り返し単位が 2 ~ 4 塩基のものをマイクロサテライト多型, 数塩基から数十塩基のものを VNTR (variable number of tandem repeat) という。

これらの特徴については表 1 を参照されたい¹⁾。

II. 感染微生物の疫学, 検査での応用

微生物にも遺伝子多型が存在することが知られており, これらの多型情報が臨床で利用されている。Real-time PCR 法を用いた微生物の検索が, 感染源や起炎菌の同定に応用されている。また, パルスフィールド・ゲル電気泳動法による MRSA や, PCR-RFLP 分析法による結核菌, コクサキウイルスなど, 同一種のかなかの鑑別を行い, 院内感染や集団

表1 主な遺伝子多型の種類とその特徴 (文献¹⁾より引用)

	RFLP	VNTR	マイクロサテライト	SNP
必要なサンプル量	数 μ g	数 μ g	10ng	10ng
多様性	+	++	++	+
判定法	サザンブロット法	サザンブロット法	PCR	PCR
判定の容易さ*	2	3	4	1
ゲノム上に存在するコピー数	数万	数千	数万	300万~1,000万

*容易な順に1~4, RFLP: restriction fragment length polymorphism, VNTR: variable number of tandem repeat
SNP: single nucleotide polymorphism

感染などの疫学的状況の診断や評価に利用されている。

これらによって細菌培養よりも早期の起炎菌の同定や、感染経路の解明、疫学的調査内容の支持が可能となっている。

III. 薬剤代謝における遺伝子多型

感染制御として種々の抗菌薬などが使用されている。しかし、それらの薬剤も代謝酵素の遺伝子多型によってその代謝速度が大きく異なり、薬剤血中濃度が数倍から数百倍の差が生じることが報告されている。

例えば、薬物代謝酵素として知られているチトクローム p450 (CYP) は複数の酵素から成る酵素群であり、それらの酵素である 1A2, 2A6, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6 などいくつかの多型が報告されており、とくに、2C19 の遺伝子多型はよく研究されている。胃食道逆流疾患症例におけるオメプラゾール長期投与の酸分泌抑制効果は、CYP2C19 遺伝子多型性に依存することなどが報告されている²⁾。

また、N-アセチル化酵素 (N-acetyltransferase: NAT) は遺伝的多型が最初に発見された薬物代謝酵素として有名である。抗結核薬イソニアジド (INH) の臨床使用例で、末梢神経炎、精神症状、肝障害などの副作用が発現し、それらが特定の家系に限られていたことがきっかけとなり、薬効、毒性の個人差における遺伝的素因の関与が話題となった。その後、INH 投与後の血中濃度の推移、ならびに尿中排泄パターンから、特定のヒトにおいて INH の代謝効率が著しく低いことが見いだされ、多形性 NAT が発見された。この NAT2 は INH, プロカインアミド, サラゾスルファピリジン, スルファメタジン, ヒドララジン, カフェインなどのアセチル化を触媒し、また、多形性を示さない NAT1 とともに、セロトニンやヒスタミンなどの活性物質や 2-アミノフロレン, 4-アミノピフェニルなどの発癌性物質のアセチル化も担っている。

その他、5-FU 代謝の律速酵素であるジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼなどにも遺伝子多型の存在とその薬物動態に対する関与が明らかになっている。

今後、薬物療法を行う際にはこのような薬物代謝に関連する遺伝子多型情報が活用されるようになるであろう。

IV. 感染、炎症に対する反応に関連する遺伝子多型

すでに、サイトカインなど感染に関与する多数の遺伝子において、各々多数の遺伝子多型が報告され、データベース化する試みもはじめられている (<http://www.bris.ac.uk/pathandmicro/services/>)³⁾⁴⁾。さらに近年、表2のようなサイトカイン、(可溶性)受容体分子、toll like receptor (TLR), NF κ B, plasminogen-activator-inhibitor-1 (PAI-1), heat shock protein (HSP) などの遺伝子多型において種々の感染症や敗血症との関連が検討されつつある。

V. 多型によるメディエーター産生や細胞内の反応性の相違

それでは、遺伝子多型によってサイトカインなどのケミカルメディエーターの反応性に差異は生じるのであろうか？。

種々のサイトカインの遺伝子多型のなかにはそれらの多型によってサイトカインの産生量の変化が生じることが報告されている。例えば、tumor necrosis factor (TNF) の遺伝子の promoter の-308 位にある多型のように、-308 位の G が A に変化する SNP (TNF2) では、DNA から mRNA への転写活性が高いことが報告されている⁵⁾⁶⁾。また、57 例の健康人の献血ドナーの遺伝子多型解析によって、全血の LPS による刺激での TNF 産生量は 16 例の TNF1/TNF2 の患者で、41 例の TNF1 homozygotes (TNF1/ TNF1) の患者よりも高いことが示されて

表 2 感染に関連するものとして検討されている遺伝子多型の例

TNF α : -376 位 (G/A), -308 位 (G/A), -238 位 (G/A), <i>NcoI</i> による RFLP, CG repeats
TNF β : +250 位 (G/A)
INF γ : + 874 位 (T/A),
IL-1 : -511 位 (C/T), -31 位 (C/T), 3953 位 (C/T)
IL-6 : -597 位, -572 位, -373 位, -174 位 (G/C)
IL-10 : -1082 位 (G/A), -819 位 (C/T), -592 位 (C/A)
INF γ R1 : 88 位 (G/A), R2:839 位 (A/G)
IL-1ra : 86 bp の VNTR
PAI-1 : 4G/5G
CD14 : -260 位 (C/T), -159 位 (C/T)
TLR2 : Arg753Gln
TLR4 : Asp299Gly, Thr399Ile, CA repeats (A1-18)
Fc γ Receptor III, CD16 (Fc γ Receptor III b) : NA1/NA2
CD32 (Fc γ Receptor IIa) : H/H 131 - R/R 131
ICAM-1 : Gly241ArgR
HSP-70 : <i>NcoI</i> による HOM (C/T), <i>PstI</i> による G/A
Casepase12:

PAI-1:plasminogen-activator-inhibitor-1, HSP:heat shock protein,TLR: toll like receptor

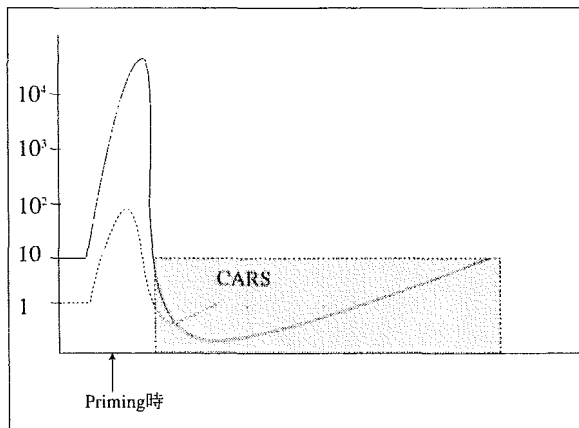


図 1 単球のメディエーター産生量の推移

単球が priming を受けていない時に、大きな侵襲(実線)や、小さな侵襲(破線)を受けた場合のメディエーター産生量を各々 10, 1 と想定して各々の侵襲後のメディエーター産生量を示す。

なんらかの刺激により単球が priming された後に同じ侵襲を受けると、通常よりも過剰なメディエーターを産生する。しかし、侵襲を受けた後は compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) 状態となり、この時期に新たな侵襲を受けてもメディエーターの産生はほとんど認められない。

侵襲が小さい場合には侵襲後の CARS の期間や程度が軽度である。

このため、遺伝子多型とメディエーター産生量の関係を検討する際には、刺激の程度と単球の状態を一定にする必要がある。

いる。

しかしながら、このような遺伝子多型とサイトカイン値との関係は、細胞によって、また、サイトカインを産生させる刺激によっても異なるという報

告もある³⁾。単球の反応性は図 1 のように侵襲の程度や時期によって反応性が大きく異なると類推されるため、これらの産生能と遺伝子多型の関連をヒトで評価する場合には非常に難しいと思われる。

さらに、LPS に対する IL-6 の産生量は、IL-6 そのものの遺伝子多型よりも、性や、IL-6 よりもサイトカインネットワークで上流にある TNF α や IL-1 β の反応性に左右される (TNF α , IL-1 β の産生量が多いときには IL-6 が高い) ことが報告されている⁸⁾。そのためか、サイトカインの遺伝子多型とサイトカインの産生量や機能の変化との関連は報告によって一定していないことも多い (表 3)³⁾⁴⁾。

VI. 多型に伴う易罹患性や予後に関連する遺伝子多型

遺伝子多型の種類によって、反応性が異なれば、疾患の罹患率や、罹患した後の予後に差が生じる可能性がある。

実際、敗血症をはじめ、肺炎、髄膜炎、マラリアなどの発症率と種々の遺伝子多型の関連が報告されつつある。表 2, 4 のごとく TNF, IL-1ra, PAI-1 など種々の遺伝子多型との関連が研究されているが、ここでは紙面の都合上、敗血症と関連があると報告されたことのあるもののみを紹介する。

最も数多くの研究が行われてきたものは、TNF で、表 4 に示すような関連が示唆されている。-308 位の G が A に変化した多型では、敗血症の罹患率が高い²⁰⁾、あるいは敗血症性ショックで死亡率が 3.7 倍となるという報告がある一方⁹⁾、腹部に由来

表3 TNF 遺伝子座の多型による TNF α または β 産生量の変化

遺伝子多型	TNF の発現や産生	文献
-1031	Increased	[Higuchi, 1998]
	No difference	[Kaijzel, 2001]
-863A	Increased	[Hohjoh, 2001]
	Decreased	[Skoog, 1999]
-862 (*-863)	Increased	[Higuchi, 1998]
	No Effect	[Ugialoro, 1998][Kaijzel, 2001]
-857T	Increased	[Hohjoh, 2001]
	No difference	[Kaijzel, 2001]
-856 (*-857)	Increased	[Higuchi, 1998]
	No Effect	[Ugialoro, 1998] [Kaijzel, 2001]
-574	No Effect	[Ugialoro, 1998]
-376 G/A	No Effect	[Huizinga, 1997][Kaijzel, 1998][Bayley, 2001]
-308 G/A	No effect	[Bayley, 2001][Pociot, 1993][Turner, 1995][Huizinga, 1997][Ugialoro, 1998] [Sotgiu, 1999][Kaijzel, 2001]
(A:T/NF2)	Increased	[Huang, 1999][Kroeger, 2000][Maurer, 1999][Wilson, 1997][Galbraith, 1998]
-244, -238	Increase (in certain cell lines)	[Bayley, 2001]
-238 A	Increased	[Grove, 1997]
	Decreased	[Kaluzs, 2000]
	No Effect	[Pociot, 1995][Huizinga, 1997][Kaijzel, 1998][Ugialoro, 1998]
+70 G/A	No Effect	[Ugialoro, 1998]
+489	No difference	[Kaijzel, 2001]
TNF α , b, c, d, e microsatellite		
a	No Effect (TNF β)	[Pociot, 1993]
a2	Decreased	[Derkx, 1995]
a2 and a9	Increased	[Obayashi, 1999]
a13	Decreased	[Obayashi, 1999]
c	No Effect (TNF β)	[Pociot, 1993]
d3	Increased	[Turner, 1995]
LT α (TNF β) Intron 1, NcoI RFLP		
	No Effect (TNF β)	[Pociot, 1993]
TNFB1 (Asn26)	Increased	[Messer, 1991]
TNFB2 (Thr26)	Decreased	[Messer, 1991]

(各文献は <http://www.bris.ac.uk/pathandmicro/services/GAI/cytokine4.htm> を参照)

する敗血症や肺炎とは相関がないという報告もある¹⁰⁾²¹⁾。

また、IL-1ra には 2 番目の intron に存在する、86 base pair の VNTR が存在し、repeats の数により 5 種類に分かれ、最も短い A2 遺伝子型では敗血症に陥りやすいという報告がある¹¹⁾。

IL-6 の-174 位の G/C の遺伝子多型では、敗血症例での血中 IL-6 値は差がなく、また、生存例でも、死亡例でも各遺伝子多型間に差がないことが示された。しかしながら、生存例では有意に GG 型が多かった¹²⁾。

さらには、PAI-1 では promoter に存在する 1 塩基の有無で 4G または 5G と分類される多型があり、

4G/4G では髄膜菌による敗血症の予後が悪化するという報告がある一方¹³⁾、外傷患者での敗血症罹患率や予後には差がないという報告もある¹⁴⁾。

一方、エンドトキシンのレセプターである CD14 では、-159 位の C から T への多型で、TT 型は敗血症性ショック例に多く、多重ロジスティック解析で、TT 型は独立危険因子であるという報告がある (odds ratio: 5.30, 95% 信頼区間 (CI) : 1.20-22.50)¹⁵⁾。

TLR4 の 299 番目のアミノ酸が Asp から Gly に変化している多型では、敗血症性ショックやグラム陰性菌感染である頻度が高いことが示されている (表 4)¹⁶⁾。

しかしながら、これらの報告のなかには既報に

表4 敗血症と種々の遺伝子多型の関連

サイトカイン多型	疾患	関連 (症例数)	文献
LTa (TNF β)	外傷後重症敗血症	あり (n=110)	17)
intron 1, NcoI RFLP	重症敗血症	あり (n=40)	10)
	敗血症の進行 (新生児)	あり (生存率は関連なし) (n=93)	11)
		なし (n=23)	18)
TNFa-308 (TNF2)	敗血症性ショック	あり (死亡率 3.7 倍 (n=176))	9)
	重症敗血症	なし (n=223)	10)
	敗血症性ショックの死亡率	あり (n=112)	19)
	外傷後の重症敗血症罹患率	あり (OR 4.6) (n=152)	20)
	外傷後の死亡率	あり (OR 2.1) (n=152)	20)
TNFa-308 (TNF2) かつ LTa G allele	敗血症性ショック	あり (n=280)	21)
IL-1Ra intron 2, 86bp VNTR (A2 allele)	重症敗血症	あり (n=354)	11)
IL-1b +3953 C/T (TaqI)	敗血症の罹患率や敗血症の予後	なし (n=354)	11)
IL-6 -174 (G/G)	敗血症生存率	あり (n=326)	12)
PAI-1 promoter (4G/4G)	髄膜菌による敗血症の予後	あり (n=401)	13)
	外傷患者での敗血症罹患率や予後	なし (n=61)	14)
CD14 -159 (T/T)	敗血症性ショック	あり独立危険因子 (OR 5.3) (n=90)	15)
(C/T)	敗血症の発生率や死亡率	なし (n=451)	22)
TLR4 Asp299Gly allele	敗血症性ショック	あり (n=164)	16)

LTa: lymphotoxin a, つまり TNF β の遺伝子 (TNFb), IL-1Ra: IL-1 receptor antagonist, PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1, OR: odds ratio, 95 % CI: 95 %信頼区間

て指摘したように1例の変化で有意差が消失してしまうような報告や関連の有無が相反する報告も多数あり、現段階では結果の解釈には十分注意を要する必要がある²³⁾。

VII. 今後の課題

遺伝子多型情報の臨床応用は大いに期待されるが、まだ解決しなければならない下記のような問題点も多い。

1) 連鎖不平等

連鎖不均衡 (linkage disequilibrium) は2つ (以上) の遺伝子の変異が連鎖して存在していて、メンデルの独立法則に従わず、ある遺伝子多型と他の遺伝子多型が連鎖して遺伝してしまうことである。同じ染色体でアレル間の距離が短いほど、また、新しいものであるほど連鎖不均衡が強いといわれる。このため、ある遺伝子多型がある疾患と関連しているようにみえても、実際には、その近傍の連鎖不均衡の他の遺伝子多型が疾患と関連している可能性は否定できない。

実際、今まで疾患と関連すると報告されている

TNF の遺伝子多型でも、その後のスプライシングで除かれるプライマーやイントロンの部位の場合も多い。TNF 遺伝子は第6染色体に存在し、そこには免疫に関連する多数の他の遺伝子も存在しており、連鎖不均衡による他の遺伝子が実際は疾患と関連している可能性もある。

すでに、TNF の多型と HLA 型とは非常に強い相関があることが示されている²⁴⁾。また、TNFa-308 位の遺伝子多型と TNFb+250 位の遺伝子多型にも有意な連鎖不均衡があることが示されている²¹⁾。このような点から、疾患とある遺伝子多型が直接関連していることの証明は難しく、その判断は慎重にする必要がある。

2) 大規模な多施設研究の必要性

前述のごとく、現段階では敗血症と関連が確立した遺伝子多型はない。一般的な疾患 (common disease) に関連する SNP の研究では多数の遺伝子多型が関連している可能性があり、対象は数千人が必要と考えられる。また、多数の多型情報を組み合わせることにより、より正確な予測が可能と思われるので、多数の遺伝子多型についても検討されるべ

きである。

3) 人種差, 海外でのエビデンスの適応

TLR4 の Asp299Gly の多型のように海外では報告されている遺伝子多型が日本人では存在しないなど²⁵⁾, 遺伝子多型も人種差が存在する⁹⁾¹⁹⁾²¹⁾。連鎖不均衡の点からも日本人特有な遺伝子多型分布が考えられ, 外人と日本人の間で, 侵襲に対する生体反応も異なっている可能性もあり, 海外で得られたエビデンスがそのまま日本でもすべて通じるとは限らない。

このような点で, 遺伝子多型情報を日本人に適応するには, 従来の研究にも増して遺伝子多型の頻度ならびに疾患との関連を日本人を対象に, 多数の遺伝子多型に関して大規模な研究を行う必要がある。

VIII. 感染症における遺伝子多型情報の臨床応用の今後の展望

感染症の罹患率や予後との関連が明らかな遺伝子多型情報が信頼に足るものとなれば, その情報は臨床において以下のように非常に有益なものとなる。

1) 罹患率や予後の予測が可能となる

遺伝子多型情報によって感染症に罹患しやすい患者, 罹患した場合に重篤化や死亡など予後の悪い患者などが鑑別できる。

感染症では発症してから遺伝子多型を解析しては遅いかもしれないが, あらかじめ, 発症前に遺伝子多型情報を解析しておくことによって, 感染症のリスク判定が可能となり, 予防, 発症の遅延, 早期発見, 早期治療が可能となる。

一方, 重症化しやすい患者には, あらかじめ手術などの侵襲が少ないものやより安全な治療法を選択することが可能となる。感染症を罹患しやすい患者では, 術後の予防的治療や入念な管理によって予防や早期発見が可能となろう。

また, 重症化しやすい患者には, 発症時にはより早期から集学的な治療を行うことも可能となる。一方, 重症化しにくい患者には一般病床での管理で済み, 多型情報により, 人的, 資金的な効率化が図られる可能性がある。

2) 適切な薬物投与方法が可能になる

前述のように薬物代謝に関連する遺伝子多型も多数判明してきており, 患者ごとに治療薬やその投与量を変えることも可能となってくる。

これらの情報により, 既存の治療法や種々の抗サイトカイン療法など, 今までは患者の不均一性の

ために治療効果を示せなかったものが, 遺伝子多型解析によって, 侵襲に対する反応性や薬物動態のより均一な適切な患者群を対象にすることによって有効性を示すことができるかもしれない²⁶⁾。

3) 個々の患者ごとのより細かな適切な医療

以上のように, 各々の患者ごとに遺伝子多型情報を得ることによって個々の患者ごとの治療選択をより詳細に行うことができる。

また, 罹患率や重篤化の予測や, 個人の侵襲に対する反応性の相違(過剰や過少など)を明らかにすることによって, それらの情報に基づき, 同じ疾患や状態でも個々の患者ごとに治療法を選択することになる。例えば, 同じ侵襲でもサイトカインなどのメディエーターを過剰に産生する患者では抗メディエーター療法を行ったり, 過少にしか産生しない患者では, 逆に不足するメディエーターの補充療法を行うことになるかもしれない。

4) 将来は遺伝子操作による感染症の予防や発症時の軽症化が可能になる

さらに, 将来的には, 遺伝子多型の部位を遺伝子導入によって操作することによって感染症に罹患しにくくしたり, 発症時に重篤化しないようにすることも可能かもしれない。

おわりに

以上のように遺伝子多型情報は臨床での非常に有用な情報である。一般市民の理解と協力のもと, 日本人での信頼できる遺伝子多型情報を得るべく, 多施設での多数の症例による共同研究が必要である。患者のプライバシー保護のもとに, 個々の患者ごとに信頼し得る遺伝子多型情報に基づいたより適切な医療が行われることが望まれる。

文 献

- 1) 真弓俊彦, 山田浩二郎, 高橋英夫, ほか: 遺伝子多型の解析による対侵襲ハイリスク症例の分子生物学的診断. 日腹部救急医学会誌 2001; 21:87-94
- 2) 秋山純一, 藤澤智雄, 大和 滋, ほか: 胃食道逆流症患者における Omeprazole 長期投与中の酸分泌抑制効果の検討. Therapeutic Research 2003; 24: 785-788
- 3) Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al: Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. Genes Immunity 1999; 1: 3-19
- 4) Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al: Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 1. Genes Immunity 2001; 2: 61-70
- 5) Kroeger KM, Steer JH, Joyce DA, et al: Effects of stimulus and cell type on the expression of the -

- 308 tumour necrosis factor promoter polymorphism. *Cytokine* 2000 ; 12: 110-119
- 6) Wilson A, Symons J, McDowell T, et al: Effects of a Polymorphism in the Human Tumor Necrosis Factor a Promoter on Transcriptional Activation. *Proceed Nati Acade Sci USA* 1997 ; 94 : 3195-3199
 - 7) Louis E, Franchimont D, Piron A, et al : Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS) -stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clinic Experimental Immunol* 1998 ; 113 : 401-406
 - 8) Heesen M, Blomeke B Schluter BH, et al : Lack of association between the -260 C-->T promoter polymorphism of the endotoxin receptor CD14 gene and the CD14 density of unstimulated human monocytes and soluble CD14 plasma levels. *Inten Car Med* 2001 ; 27 : 1770-1775
 - 9) Mira JP, Cariou A, Grall F, et al : Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality : a multicenter study. *JAMA* 1999 ; 282 : 561-568
 - 10) Stuber F, Udalova IA, Book M, et al: -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter. *J Inflamm* 1995 ; 46 : 42-50
 - 11) Fang XM, Schroder S, Hoeft A, et al: Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: interleukin-1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Criti Car Med* 1999 ; 27 : 1330-1334
 - 12) Schluter B, Raufhake C, Erren M, et al : Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Criti Car Med* 2002 ; 30 : 32-37
 - 13) Hermans PW, Hibberd ML, Booy R, et al : 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. *Meningococcal Research Group. Lancet* 1999 ; 354 : 556-560
 - 14) Menges T, Hermans PW, Little SG, et al : Plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and prognosis of severely injured patients. *Lancet* 2001 ; 357 : 1096-1097
 - 15) Gibot S, Cariou A, Drouet L, et al: Association between a genomic polymorphism within the CD14 locus and septic shock susceptibility and mortality rate. *Criti Car Med* 2002 ; 30 : 969-973
 - 16) Lorenz E, Mira JP, Frees KL, et al : Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med* 1028 ; 162 : 1028-1032
 - 17) Majetschak M, Flohe S, Obertacke U, et al : Relation of a TNF gene polymorphism to severe sepsis in trauma patients. *Annal Surg* 1999 ; 230 : 207-214
 - 18) Weitkamp JH, Stuber F, Bartmann P : Pilot study assessing TNF gene polymorphism as a prognostic marker for disease progression in neonates with sepsis. *Infection* 2000 ; 28 : 92-96
 - 19) Tang GJ, Huang SL, Yien HW, et al : Tumor necrosis factor gene polymorphism and septic shock in surgical infection. *Criti Car Med* 2000 ; 28 : 2733-2736
 - 20) O'Keefe GE, Hybki DL, Munford RS : The G-->A single nucleotide polymorphism at the -308 position in the tumor necrosis factor-alpha promoter increases the risk for severe sepsis after trauma. *J Trauma Injury Infection Criti Car* 2002 ; 52: 817-825
 - 21) Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM, et al : Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am J Respir Criti Car Med* 2001 ; 163 : 1599-1604
 - 22) Hubacek JA, Stuber F, Frohlich D, et al : The common functional C (-159) T polymorphism within the promoter region of the lipopolysaccharide receptor CD14 is not associated with sepsis development or mortality. *Genes Immunity* 2000 ; 1 : 405-407
 - 23) 真弓俊彦, 有嶋拓郎, 伊藤亜抄子, ほか: サイトカインの遺伝子多型. *救急医* 2002 ; 26 : 1885-1891
 - 24) Jongeneel CV, Briant L, Udalova IA, et al : Extensive genetic polymorphism in the human tumor necrosis factor region and relation to extended HLA haplotypes. *Proce Nat Acade Sci USA* 1991 ; 88 : 9717-9721
 - 25) Okayama N, Fujimura K, Suehiro Y, et al : Simple genotype analysis of the Asp299Gly polymorphism of the Toll-like receptor-4 gene that is associated with lipopolysaccharide hyporesponsiveness. *J Clinic Laborat Analysis* 2002 ; 16 : 56-58
 - 26) Cariou A, Chiche JD, Charpentier J, et al : The era of genomics: impact on sepsis clinical trial design. *Criti Car Med* 2002 ; 30 : S341-348

Sepsis and gene polymorphisms

Toshihiko Mayumi, Takuro Arishima, Jun Takezawa

Department of Emergency Medicine and Intensive Care, Nagoya University School of Medicine

Recently, susceptibility and outcome of disease, and response to drug are proved to depend on some gene polymorphisms. Here, we review of gene polymorphisms and its contributions to infection. Gene polymorphisms of some cytokines are reported to increase expression and production of these cytokines. The relationships of many polymorphisms, such as TNF, IL-1, PAI-1, TLR, etc. and infections have been studied. Changes in prevalence rate, morbidity and mortality were also reported in some polymorphisms. These polymorphism informations will be very useful for the prevention and therapy in infected diseases. Using the analysis of gene polymorphisms, patients that need intensive therapy will be strictly defined. Therefore, conventional therapies will increase their efficacy. Also new therapies will be developed from the knowledge of polymorphisms. From analysis of each patient's gene polymorphism, therapy will be changed case by case (made-to-order therapy). Judging from the difference of races and polymorphisms, Japanese need multi-center large scaled studies that conducted by academic societies. Promotion of popular understanding and support including informed consent is necessary.

3. SIRS から DIC への移行

真 弓 俊 彦*¹ 有 嶋 拓 郎*²

高 橋 英 夫*³ 武 澤 純*⁴

要 旨

SIRS は近年その概念が浸透し, sepsis, severe sepsis, septic shock への一連の病態であることが示された。DIC はこれらの重症化に伴いその頻度が増加し, SIRS など炎症に伴うDIC は過凝固状態が臨床上的の特徴である。Severe sepsis や septic shock に対する抗凝固療法が生存率を有意に向上させ, 今後, これらの病態に対する治療法として DIC 対策や抗凝固療法がさらに開発される可能性が期待される。

Summary

Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) was defined by the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) consensus conference in 1991. Patients with SIRS occasionally develop DIC. When the number of criterion factors of SIRS increases, the incidence of DIC increases. Also, SIRS sometimes progresses to sepsis, severe sepsis and septic shock. SIRS-related DIC is characterized by coagulation disorder. Anticoagulation therapy (activated Protein C) has shown significant improvement of mortality in severe sepsis/septic shock patients, and its efficacy may be due to the prevention of DIC.

Key words DIC, SIRS, sepsis, septic shock

はじめに

1991 年の American College of Chest Physicians と Society of Critical Care Medicine の合同のコン

センサス会議において systemic inflammatory response syndrome (SIRS) の概念が提唱されてから, その診断基準は種々の臨床研究や診療で使用されるようになってきた。また, 近年, SIRS

SIRS' associated DIC

*¹⁻⁴ Toshihiko MAYUMI, MD, Takuroh ARISHIMA, MD, Hideo TAKAHASHI, MD and Jun TAKEZAWA MD
Department of Emergency Medicine & Intensive Care Unit (ICU), Nagoya University, School of Medicine
名古屋大学医学部 救急部, 集中治療部 (〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65)

と DIC の関連も報告されてきており、ここでは、SIRS から DIC への移行の病態、頻度、その臨床的意義について解説する。

I. SIRS

前述のごとく、1991年にアメリカで行われた会議の内容が1992年に発表された¹⁾。その診断基準は表1のように2項目以上陽性の場合にSIRSと定義された。また、同時にこの時に、bacteremia, sepsis, severe sepsisなどの概念についても定義された(表2)。これは、それまで sepsis の定義が曖昧であり、臨床研究の対象が均一でなかったこと、また、sepsis となつてからの症例を登録した臨床研究では思うような結果を示せなかったために、より早期の症例を登録することによって、治療の有効性を示し得るのではないかと考えられたからである。

最近では SIRS の有無やその期間、あるいは陽性項目数を指標にした研究や、SIRS やこれらの定義による症例登録による臨床研究が多数認められるようになってきた²⁾³⁾。

SIRS を示す疾患は図1のように示されている。感染に伴う SIRS を sepsis とし、非感染性の外傷、熱傷、肺炎、その他の原因でも sepsis 同様の全身炎症を呈する病態が認識され、SIRS になりうるとされている。SIRS が侵襲に伴う生体の反応と考えれば、ほとんど全ての侵襲でその程度がある度合い以上であれば生体は SIRS を呈すると考えられる。また、極端な話、健常人でも 100m を全力疾走すれば、誰でも SIRS となる。一方、SIRS のなかには septic shock を呈した非常に重篤な患者群も含まれ、SIRS を呈するのは非常に幅の広い患者群と考えられる。

表1 SIRS の診断基準(文献¹⁾より引用)

1. 体温	>38℃あるいは<36℃
2. 脈拍	>90回/分
3. 呼吸数	>20回/分あるいは PaCO ₂ <32 torr
4. 白血球数	>12,000/mm ³ か <4,000/mm ³ または >10%幼若球出現

上記の項目のうち2つ以上を満たす場合を SIRS と定義する。

筆者らの解説：1日のうち、いずれかの時点で2項目が満たされた場合に SIRS とされ、多くの場合、それらが必ずしも同時に認められなくても、1日のうちで異なった時間に各々のいずれかが認められた場合でも SIRS とされる。

表2 Bacteremia, sepsis, severe sepsis などの定義(文献¹⁾より引用)

Infection	: 微生物の存在や通常は無菌の宿主組織への微生物の侵入に伴う微生物の反応
Bacteremia	: 生きた微生物が血液中に存在すること
Sepsis	: infection に伴う全身反応で、SIRS の基準を満たすもの
Severe sepsis	: 臓器障害、低灌流、低血圧を伴う SIRS。低灌流や灌流不全は乳酸アシドーシス、乏尿、急性の意識障害を含むが、必ずしもこれらに限らない。
Septic shock	: 適切な輸液を行っても severe sepsis の症状、所見を伴う(必ずしもこれらに限らない)血圧低下を伴う sepsis。収縮力増加や血管収縮薬を使用している場合には低血圧ではないかもしれないが、灌流異常を認めるかもしれない。
Hypotension	: 収縮期血圧が 90mmHg 未満または他の血圧低下要因がない場合に 40mmHg より大きな血圧低下を認めるもの
Multiple Organ Dysfunction Syndrome	: 介入をしなければ止血できないなどの急性疾患に伴う臓器機能障害の存在 (筆者注：機能障害臓器が2臓器以上存在すること)

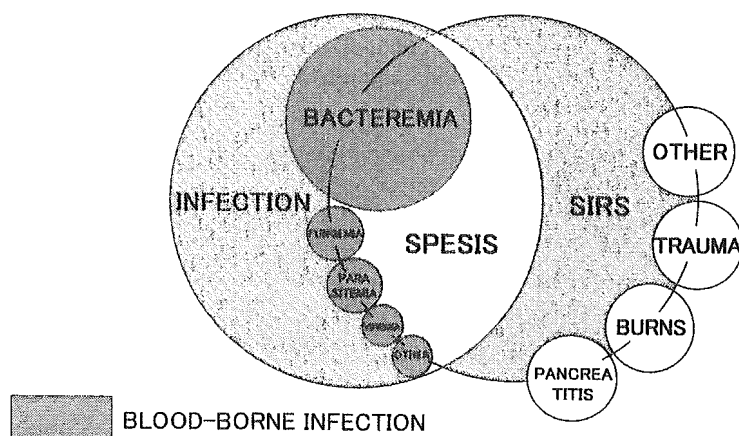


図1 SIRS の概念 (文献¹⁾より引用)

SIRS を呈する疾患と感染などとの関連を示す。SIRS のうち感染に起因したものを sepsis と定義している。

II. SIRS の病態

侵襲に伴い、種々のサイトカインをはじめとするケミカルメディエーターが多数産生される。その産生程度は侵襲の種類や程度によって異なるが、その発現パターンはほぼ類似している。最もよく研究されてきているエンドトキシンについてみると、エンドトキシンの刺激が単球や好中球表面のレセプターから細胞内に刺激が伝達され、細胞内刺激伝達系により核内でまず、TNF や IL-1 などの pro-inflammatory なサイトカイン遺伝子が増幅される。これらのサイトカインが産生され、血中に流出し、局所を中心に作用するが、一部は全身に流出する。これらのサイトカインによって単球やリンパ球などの種々の細胞や血管内皮が活性化され、さらなるメディエーターの産生やレセプターの発現などを生じる。

エンドトキシンやサイトカインは好中球を活性化し、活性化好中球と血管内皮細胞との相互作用、組織へ浸潤した好中球から放出されるエラスターゼや活性酸素などによって血管内皮細胞障害が惹起される。血管内皮細胞に存在するトロンボモジュリンやヘパリン様物質などの過剰凝固に対する制御物質は、これらの侵襲によって発現が低下し、血栓形成が促進される。また、サイトカインは単球や血管内皮細胞での組織因子の発現を亢進させ、DIC 発症の引き金に

なる。さらにサイトカインは血管内皮細胞からの線溶を抑制するプラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI-1) の産生を亢進させ、肝細胞の α_2 -プラスミノゲンインヒビターの産生を促進し、血栓溶解を抑制する。その結果、微小血栓形成と活性化好中球による組織破壊によって臓器障害が惹起され、凝固亢進、線溶抑制型 DIC が生じる。

III. SIRS に伴う DIC の頻度

SIRS/sepsis の概念の敷衍とともに 1990 年代には炎症反応と凝固線溶系が強く関連していることが知られるようになってきた。

前述の severe sepsis/septic shock を対象にした活性化プロテイン C の無作為化比較対照試験 (RCT) では、対象症例の 94% が DIC 様病態を合併していることが報告されている⁴⁾。

外科侵襲に伴う病態でも SIRS は頻繁に生じ、そのうち、汎発性腹膜炎、特に大腸穿孔では臓器障害や DIC を呈する場合が非常に多い (表3)⁵⁾。また、急性膵炎でも入院時の重症度 (Stage) が上昇するにつれ DIC の発生頻度も上昇し、Stage 2 以下では DIC の発症例はなく、Stage 3 では 8 例中 4 例、Stage 4 では 10 例中 10 例に DIC の発生を認めたことが報告されている (表3)⁵⁾。

また、アメリカの ICU 入室患者をプロスペクティブに経過観察した研究では、入室患者 3,708 例中、SIRS 症例は 2,527 例 (68%) で、これ

表3 手術侵襲による SIRS, 臓器障害, および DIC の発生頻度 (文献⁵⁾より改変引用)

疾患・病態	総数	SIRS	臓器障害	DIC
消化器外科待機手術 (熊本大学第2外科)	199	149(75%)	14(7%)	5(3%)
TACE (熊本大学第2外科)	55	21(38%)	4(7%)	0(0%)
汎発性腹膜炎手術	27	23(85%)	15(56%)	9(33%)
胃十二指腸穿孔	9	8(89%)	2(22%)	0(0%)
大腸穿孔(荒尾市民病院)	10	10(100%)	10(100%)	7(70%)

TACE : transcatheter arterial chemo-embolization

表4 SIRS, sepsis, severe sepsis, septic shock の転帰 (%) (文献⁶⁾より改変引用)

Syndrome		ARDS	DIC	急性腎不全	ショック
SIRS	2項目	2	8	9	11
	3項目	3	15	13	21
	4項目	6	19	19	27
Sepsis	培養陽性	6*	16*	19*	20*
	培養陰性	3	20	5	27
Severe sepsis	培養陽性	8	18	23*	28*
	培養陰性	4	17	16	22
Septic shock	培養陽性	18	38	51	100
	培養陰性	18	38	38	100

* p<0.05, ARDS : acute respiratory distress syndrome

らの症例のうち 649 例 (26%) が sepsis に, 467 例 (18%) が severe sepsis に, 110 例 (4%) が septic shock に罹患し, これらの順で acute respiratory distress syndrome (ARDS), DIC, 腎不全の頻度, 血液培養陽性率や死亡率の上昇を認めていた (表4)。また, SIRS 陽性項目数の増加に伴い敗血症の罹患率の上昇を認めており, これらは連続した疾患概念であることが示されている⁶⁾。また, SIRS の項目の陽性数が 2 項目, 3 項目, 4 項目と増加するに従い, DIC の頻度も 8%, 15%, 19% と増加することが示されている (表4)⁶⁾。

また, 日本からの報告でも, ICU に入室した患者で SIRS の基準を 3 日間以上満たした 35 症例のうち, 厚生省基準での DIC は 29 例 (82.9%) に認め, 生存例では DIC は 13 例中 10 例であったのに対し, 死亡例では 22 例中 19 例であった⁷⁾。また, 生存例では DIC スコアが有意に減少し, 5 日後には DIC を呈したものはなかったのに対して, 死亡群では DIC スコアは 5 日目ま

で変わらなかった⁷⁾。

このように, SIRS 状態を遷延する症例や sepsis/severe sepsis/septic shock を呈する症例では DIC をより生じやすいことがわかる。つまり, 侵襲が高度であったり, 持続する際にはこのような過凝固状態から DIC, 臓器障害, ショックを生じると考えられる。

このような事実から, 救急疾患における DIC を対象とした「救急領域の DIC 診断基準案」では, DIC の早期診断を目指して SIRS の項目 3 項目以上陽性で 1 点を付加している⁸⁾。

IV. SIRS に伴う DIC の特徴

SIRS に起因する DIC は, 急性全骨髄性白血病などの血液疾患に伴う DIC と臨床像が大きく異なる。後者に伴う DIC は線溶系が活性化されたり, 腫瘍細胞から線溶活性物質が遊離することによってプラスミンが形成される。大量のプラスミンが生成されることによってフィブリン

血栓が溶解され、フィブリン血栓の産生のために凝固因子が消費される。そのため、出血症状は強くなり、線溶優位型DICと呼ばれる。

一方、SIRS、特に感染に起因するDICは出血を呈することは非常に稀で、微小血栓の形成に伴う臓器障害・臓器不全症状が主体である。そのため、これらの病態をDICとは認識していない臨床家も多数存在する。これらのDICではフィブリノゲンが正常値を示す場合も少なくなく、フィブリン分解産物(D-dimer, FDPなど)や組織因子抗原の上昇が軽度であることが特徴である。

V. SIRS, sepsis/severe sepsis の治療としての抗凝固療法

一方、severe sepsisを対象としたAT IIIの投与の有無によるRCTでは生存率で全体では有意差がなかったものの、ヘパリンを併用しなかった症例群でのsub-group分析では、AT IIIの投与の有無で比較すると、AT III使用によって予後改善の可能性が示された。また、前述のsevere sepsis/septic shockを対象にした活性化プロテインCのRCTでは、30.8%(259/840例)の死亡率が投与によって24.7%(210/850例)に改善した²⁾。このように、DIC症例が多く含まれているものの、DICそのものに対してではなく、sepsis/severe sepsisの治療として、抗凝固療法が効果を示す(可能性がある)ということは、sepsis/severe sepsisのような病態においては、侵襲そのものだけではなく、それに伴う凝固亢進、微小血管の閉塞、その結果としての臓器障害が大きなウェイトを占めることを意味している。今後も、このような病態に対する治療法としての抗凝固療法が開発されていくことが期待される。

おわりに

近年、SIRSの概念が普及し、sepsisにおける病態が解明され、種々の治療法が開発され、臨床試験が行われた。しかしながら、多数の抗エンドトキシンや抗サイトカイン療法のRCTのほ

とんどは生存率の改善を示すことができなかった。

SIRSなど炎症に伴うDICは過凝固状態が臨床上的特徴である。SIRSからのsepsis, severe sepsis, septic shockは一連の病態であり、これらの治療法として活性化プロテインCの投与によって生存率の改善がもたらされたことは、今までほとんど有効な治療法を示せなかったこれらの病態に対する治療法として抗凝固療法が有効である可能性があり、今後さらなる治療法が開発されることを期待する。

文 献

- 1) RC Bone, RA Balk, FB Cerra, RP Dellinger, AM Fein, WA Knaus, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest 1992; 101: 1644-55, Crit Car Med 1992; 20: 864-74.
- 2) Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 2001; 344: 699-709.
- 3) Warren BL, Eid A, Singer P, et al. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. JAMA 2001; 286: 1869-78.
- 4) FDA briefing document: Anti-infective committee Drotrecogin alfa (activated) [recombinant human activated protein C (rhAPC)] Xigris TM BLA #125029/0 September 12, 2001, p.18.
- 5) 広田昌彦 木村 有, 大嶋寿海, 他. 外科病態とDIC. 総合臨床 2003; 52: 1728-34.
- 6) Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. JAMA 1995; 273: 117-23.
- 7) Gando S, Kameue T, Nanzaki S, Nakanishi Y. Disseminated intravascular coagulation is a frequent complication of systemic inflammatory response syndrome. Thromb Haemost 1996; 75: 224-8.
- 8) 丸藤 哲, 和田英夫, 長谷川友紀, 他. 救急領域のDIC診断基準(案). 日本救急医学会雑誌 2003; 14: 280-7.

基礎研究

SIRSと炎症反応に関連する遺伝子多型

真弓俊彦 有嶋拓郎 高橋英夫 武澤 純

Polymorphisms related to SIRS and inflammatory response

Toshihiko Mayumi, Takuro Arishima, Hideo Takahashi, Jun Takezawa

Department of Emergency Medicine and Intensive Care,
Nagoya University School of Medicine

Abstract

Recently, susceptibility and outcome of disease are proved to depend on some gene polymorphisms. Here, we review of gene polymorphisms and its contributions to systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and inflammation. The relationships of many polymorphisms, such as TNF, IL-1, PAI-1, TLR, etc. and infections have been studied. Gene polymorphisms of some cytokines are reported to increase expression and production of these cytokines, prevalence rate, morbidity and mortality.

These polymorphism informations will be very useful for the prevention and therapy in infected diseases, and recognition of patients that need intensive therapy. From analysis of each patient's gene polymorphism, therapy will be changed case by case.

Judging from the difference of races and polymorphisms, Japanese need multi-center large scaled studies in Japan.

Key words: polymorphism, systemic inflammatory response syndrome (SIRS), sepsis, septic shock, single nucleotide polymorphism (SNP)

はじめに

今まで同じ手術や侵襲でも人によってサイトカインの産生量など、反応性に差があることが知られていた。近年、遺伝子のうちの一部の変異が一定の頻度で存在する遺伝子多型が明らかになり、感染やその生体反応に関する遺伝子多型も多数存在することが報告され、これが個々の人での反応性の差の一因ではないかと考えられつつある。そこで、本稿では遺伝子多型についての概説と、遺伝子多型と全身性炎症反応

症候群 (systemic inflammatory response syndrome: SIRS) や炎症反応との関連と、これらの研究における現状での問題点、今後の展望について解説を行う。

I. 遺伝子多型とは

顔貌や体型が個人で異なるように、遺伝暗号である塩基配列も人により多くの部位で異なっている。遺伝子多型とは核酸であるアデニン (A), グアニン (G), シトシン (C), チミン (T) が本来のものとは異なる核酸になっていることで、

表 1 主な遺伝子多型の種類とその特徴¹⁾

	RFLP	VNTR	マイクロサテライト	SNP
必要なサンプル量	数 μ g	数 μ g	10 ng	10 ng
多様性	+	++	++	+
判定法	サザンブロット法	サザンブロット法	PCR	PCR
判定の容易さ*	2	3	4	1
ゲノム上に存在するコピー数	数万	数千	数万	300 万-1,000 万

*容易な順に 1-4, RFLP: restriction fragment length polymorphism, VNTR: variable number of tandem repeat, SNP: single nucleotide polymorphism.

これが一定以上の頻度(遺伝学的には、通常、人口の 1% 以上の頻度で存在するものと定義されており、1% 未満のものはバリエーションと呼ばれている)で存在することをいう。

遺伝子多型の種類は下記のように分類される(表 1)¹⁾。

(1) 1 から数十塩基(数千塩基のこともある)が欠損や挿入をしているもの(挿入/欠損型)。

(2) 1 個の塩基が他の塩基に置き換わっているもの(single nucleotide polymorphism: SNP)。

(3) 2 塩基から数十塩基を 1 単位とする配列が繰り返し存在する部位において、その繰り返し回数が個人間で異なるもの。

(2) の SNP は数百塩基対から 1,000 塩基対に 1 カ所程度の割合で存在し、ゲノムの中には 300 万-1,000 万の SNP が存在すると考えられる。また、DNA の特定の制限酵素認識配列に SNP があるものを RFLP(restriction fragment length polymorphism: 制限酵素切断断片長多型)と呼ぶ。

更に、(3) の繰り返し単位が 2-4 塩基のものをマイクロサテライト多型、数塩基から数十塩基のものを VNTR(variable number of tandem repeat)という。

これらの特徴については表 1 を参照されたい¹⁾。

II. 感染症と関連が検討されている遺伝子多型

既に、サイトカインなど感染に関与する多数の遺伝子において、各々多数の遺伝子多型が報告され、表 2 のようなサイトカイン、(可溶性)

受容体分子、toll like receptor(TLR), NF κ B, plasminogen-activator-inhibitor-1(PAI-1), heat shock protein(HSP)などの遺伝子多型において種々の感染症や敗血症との関連が検討されつつある。

本稿では、SIRS や感染に関連する主なメディエータの遺伝子多型について解説する。

III. サイトカイン

1. Tumor necrosis factor(TNF)

TNF 遺伝子の多型と感染症の関連に関してはサイトカインの中で最も多くの研究が行われてきた。

TNF の遺伝子の promoter の -308 位にある多型のように、-308 位の G(TNF1) が A に変化する SNP(TNF2) では、DNA から mRNA への転写活性が高いことが報告されている^{2,3)}。また、57 例の健常人の献血ドナーの遺伝子多型解析によって、全血の LPS による刺激での TNF 産生量は 16 例の TNF1/TNF2 の患者で、41 例の TNF1 homozygotes(TNF1/TNF1) の患者よりも高いことが示されている⁴⁾。

しかしながら、TNF をはじめ種々のサイトカイン遺伝子多型とその産生量の関連に関しては、表 3 のように結果は必ずしも一定しないことが多い。

一方、TNF 遺伝子多型と感染の罹患しやすさや予後に関しても多数の研究が行われてきた(表 4)。

-308 位の G が A に変化した多型では、敗血症性ショックで死亡率が 3.7 倍となるという報告があり⁵⁾、また、手術や外傷患者でもそのよう

表2 敗血症に関連するものとして検討されている遺伝子多型

TNF α : -376位(G/A), -308位(G/A) (TNF1/2), -238位(G/A), NcoIによるRFLP(TNFB1/2), CG repeats
TNF β : +250位(G/A)
TNF γ : +874位(T/A)
IL-1: -511位(C/T), -31位(C/T), 3953位(C/T)
IL-6: -597位, -572位, -373位, -174位(G/C)
IL-10: -1082位(G/A), -819位(C/T), -592位(C/A)
IL-18: -607位(C/A), -137位(G/C)
IFN γ R1: 88位(G/A), R2: 839位(A/G)
IL-1ra: 86bpのVNTR, +2018位
PAI-1: 4G/5G
CD14: -260位(C/T), -159位(C/T)
TLR2: Arg753Gln
TLR4: Asp299Gly, Thr399Ile, CA repeats(A1-18)
Fc γ receptor III, CD16(Fc γ receptor IIIb): NA1/NA2
CD32(Fc γ receptor IIa): H/H 131-R/R 131
ICAM-1: Gly241ArgR
HSP-70: NcoIによるHOM(C/T), PstIによるG/A
Caspase12: Csp 12-SとCsp 12-L

PAI-1: plasminogen-activator-inhibitor-1, TLR: toll like receptor,
HSP: heat shock protein.

な傾向は示されている^{6,7)}。しかし、腹部に由来する敗血症とは相関がないという報告もある⁸⁾。

市中肺炎患者での敗血症性ショックの罹患率では-308位の遺伝子多型との関係はないが、lymphotoxin α (TNF β) (LT α) 遺伝子の+250位がAAの場合、TNFの産生量が増加し、LT α +250位がAAの場合には敗血症性ショックや敗血症性ショックによる死亡率が高いことが報告されている。しかし、反対のGGの場合にはショックを伴わない呼吸不全が多いと報告されている⁹⁾。

このLT α 遺伝子はTNF 遺伝子の近傍に存在し、LT α +250位とTNF -308位の両者の間にlinkage disequilibrium(連鎖不均衡)が認められ⁹⁾、また、LT α 遺伝子とheat shock protein 70 (HSP-70) 遺伝子との間にも連鎖不均衡が認められている¹⁰⁾。

連鎖不均衡とは2つ(以上)の遺伝子の変異が連鎖して存在していて、Mendelの独立法則に従わないもので、ある遺伝子多型と他の遺伝子多型が連鎖して遺伝してしまうことである。同じ染色体でアレル間の距離が短いほど、また、

新しいものであるほど連鎖不均衡が強いといわれる。このため、ある遺伝子多型がある疾患と相関しているようにみえても、実際には、その近傍の連鎖不均衡の他の遺伝子多型が疾患と関連している可能性は否定できない。特に、TNF 遺伝子が存在する第6染色体には、近傍に他の免疫に関連する遺伝子が多数存在する。そのため、上記のTNF -308位、LT α +250位の炎症反応との関連も実は、これらと連鎖不均衡である未知の遺伝子多型が関連しているのかもしれない。

このような点から、疾患とある遺伝子多型が直接関連していることの証明は難しく、その判断は慎重にする必要がある。

2. Interleukin-1 (IL-1)

IL-1 familyとしては、IL-1A, IL-1B, およびレセプター拮抗作用のあるIL-1 receptor antagonist (IL-1ra)の存在が知られている。

Readらによると、IL-1B(-511位)とIL-1ra(+2018位)を1,106例の髄膜炎症例で検討したところ、死亡には、年齢、起炎菌の種類、両者の遺伝子多型が独立して関連していたと報告し