

Fig. 2. Kinetics of serum GPT levels in Jα281-knockout, *gld/gld* (*gld*), and C57BL/6 mice after *Escherichia coli* infection. Jα281-knockout, *gld*, and C57BL/6 mice were inoculated IP with 1.0×10^8 CFU of *E. coli*. Sera were collected 3, 8, and 12 h after *E. coli* challenge, and GPT activities in the sera were measured. Data are representative of three separate experiments and are expressed as the mean \pm SD for ten mice in an experiment. *, **Significantly different from the value for B6 mice; $p < 0.05$.

2.2 Similar levels of bacterial burden in livers and cytokines in serum of Jα281^{-/-} mice and control mice after *E. coli* infection

It is possible that the difference in susceptibilities of the liver to *E. coli*-induced injury is due to a difference in bacterial burdens in Jα281^{-/-}, *gld/gld*, and +/+ mice. To test this possibility, we examined the numbers of bacteria in organs after infection with a sublethal dose (1×10^8 CFU: $1/5LD_{50}$) of *E. coli*. The bacteria in organs were eliminated in the similar kinetics in the liver, spleen and peritoneal cavity of Jα281^{-/-} and *gld/gld* mice after infection with 1×10^8 CFU of *E. coli*. The numbers of bacteria in organs were similar in each group of mice 12 h after *E. coli* infection (Fig. 4). These results suggest that the degree of liver injury may not be due to a difference in bacterial loads in Jα281^{-/-}, *gld/gld*, and +/+ mice.

Inflammatory cytokines are known to be involved in liver injury induced by LPS or Gram-negative bacterial infec-

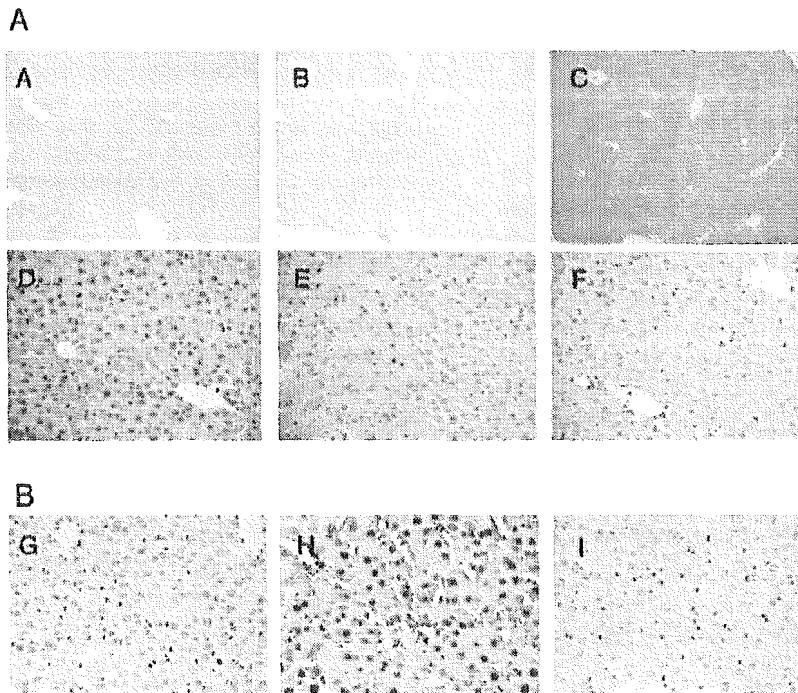


Fig. 3. Comparison of histological findings in liver specimens from Jα281-knockout, C57BL/6, and *gld/gld* (*gld*) mice 12 h after infection with *E. coli*. (A) Formalin-fixed, paraffin-embedded thin specimens were stained with hematoxylin and eosin, and microscopical analyses were performed. Necroinflammatory foci and apoptotic hepatocytes, characterized by cell shrinkage and chromatin condensation, were clearly seen in specimens from B6 mice. (B) Apoptotic cells *in situ* in the liver after *E. coli* infection. Detection of DNA fragmentation in liver of *E. coli*-infected mice was performed using in situ terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling (TUNEL) method as described in Sect. 4. TUNEL-positive cells are dark brown. TUNEL staining revealed increased numbers of apoptotic cells in the liver of control mice compared with Jα281^{-/-} or *gld/gld* mice. Data shown are representative of three independent experiments. (A), (D), and (G), liver specimens from Jα281-knockout mice; (B), (E), and (H), liver specimens from B6 mice; (C), (F), and (I), liver specimens from *gld* mice. Original magnification (A, B, C) $\times 100$; (D, E, F, G, H, I) $\times 400$.

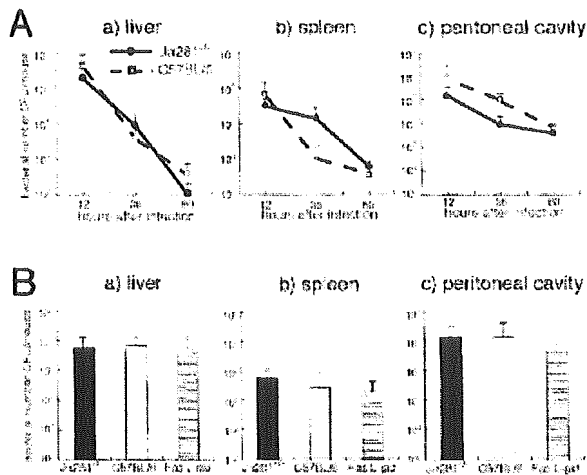


Fig. 4. Bacterial growth in organs. (A) Kinetics of bacterial counts in the livers, spleens, and peritoneal cavities of $\text{Ja}281^{-/-}$ and control mice infected IP with 1.0×10^8 CFU/mouse of *E. coli*. Bacterial counts were measured at indicated times after infection. (B) Bacterial counts in organs of $\text{Ja}281^{-/-}$, C57BL/6, and *gld/gld* (*gld*) mice infected IP with 1.0×10^8 CFU/mouse of *E. coli*. Bacterial counts were measured 12 h after infection. Data are representative of three separate experiments and are expressed as the mean \pm SD for ten mice in each experiment.

tion [3, 5]. Thus, we next examined kinetics of serum cytokines (TNF- α , IL-10, IL-12, and IL-1 β) after *E. coli* infection. $\text{Ja}281^{-/-}$ and C57BL/6 mice were inoculated with *E. coli* at a dose of 1.0×10^8 CFU/mouse. Cytokine levels in the serum were determined by ELISA. As shown in Fig. 5, there were no significant differences in kinetics and peak levels of serum TNF- α , IL-10, and IL-1 β concentrations between $\text{Ja}281^{-/-}$ mice and those in C57BL/6 mice, but the serum level of IL-12 in $\text{Ja}281^{-/-}$ mice was significantly lower than that in B6 mice at 3 h after *E. coli* infection ($p < 0.05$). Serum IL-4 or IFN- γ was not detected in either $\text{Ja}281^{-/-}$ or B6 mice at any stage after *E. coli* infection (data not shown).

2.3 Expression of functional TLR2 by NK T cells in the liver

We previously reported that intrahepatic NK T cells freshly isolated from naive mice expressed significant levels of TLR2 messenger RNA (mRNA) and TLR2 signaling is suggested to contribute to liver injury induced by *Salmonella* infection via Fas L induction on NK T cells [23]. To determine whether NK T cells express functional TLR on their surface, we studied the *in vitro* responses of intrahepatic lymphocytes to a ligand for TLR2 (lipoprotein) or for TLR4 (lipid A) by assessing induction of Fas L on the cell surface. Intrahepatic lymphocytes of naive

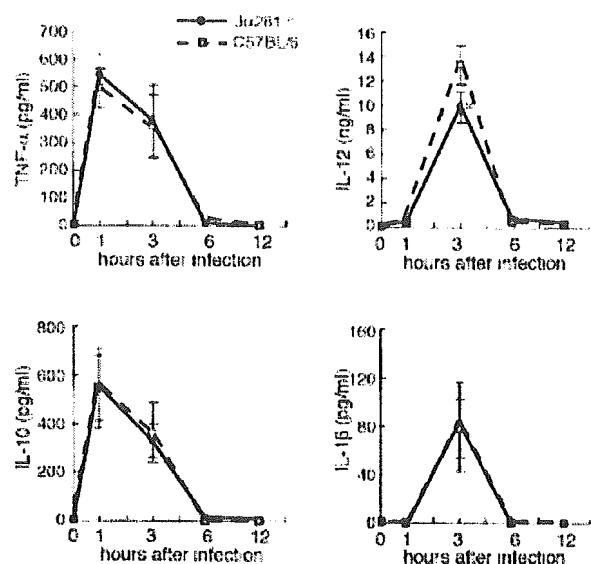


Fig. 5. Kinetics of cytokine production in serum of $\text{Ja}281^{-/-}$ knockout and control mice after *E. coli* infection at a dose of 1.0×10^8 CFU/mouse. Sera were collected at indicated times after *E. coli* infection and TNF- α , IL-12p40, IL-10, and IL-1 β levels in the serum were determined by ELISA. Data are representative of three separate experiments and are expressed as the mean \pm SD for five mice in each experiment. IL-4 and IFN- γ were not detected in the serum (data not shown). * $p < 0.05$ vs. the control group.

C57BL/6 mice were treated with 10 $\mu\text{g/ml}$ of synthetic lipoprotein or lipid A for 12 h, and the expression of Fas L on intrahepatic lymphocytes was analyzed using a flow cytometer. As shown in Fig. 6, the Fas L expression on NK T cells apparently increased after stimulation with a ligand for TLR2 (lipoprotein), whereas the levels of Fas L on NK T cells increased to a lesser extent after lipid A stimulation. In contrast, Fas L expression on NK and NK1.1⁺ T cells did not increase in response to either lipid A or lipoprotein. Thus, TLR2 expressed on NK T cells may function to induce Fas L expression on the cell surface in response to its ligand.

2.4 Lipoprotein and LPS act additively in inducing liver injury

To investigate whether *in vivo* administration of LP could induce liver injury via a Fas/Fas L-dependent manner in mice, C57BL/6 and *gld/gld* mice were given an i.p. injection of saline, 10 μg of LP, 10 μg of LPS, or 10 μg of LP plus 10 μg of LPS in 200 μl PBS. Twelve hours after injection, sera were collected and serum GPT activities were determined (Fig. 7A). The serum GPT levels were moderately increased at 12 h after inoculation of LP or

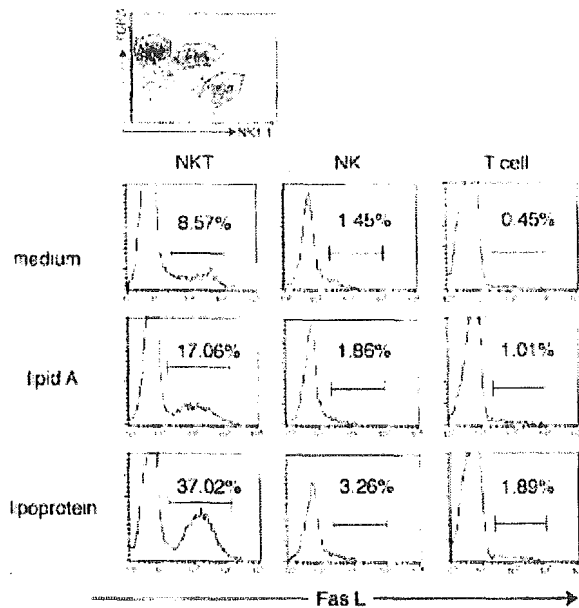


Fig. 6. Expression of Fas L on intrahepatic lymphocytes after stimulation with lipoprotein or lipid A. Intrahepatic lymphocytes were isolated from the livers of naive C57BL/6 mice and were treated either with medium, lipoprotein (10 µg/ml), or lipid A (10 µg/ml). After incubation for 12 h, the cells were collected and stained with anti-TCRβ, anti-NK1.1 and anti-Fas L mAb and analyzed with a flow cytometer. Analysis gates were set on lymphocytes using forward and side scatter and on NKT, NK, or T cells. Data are representative of three separate experiments.

LPS alone. Notably, LP in combination with LPS synergistically elevated serum GPT levels. This effect of LP and LPS on induction of liver injury was not seen in *gld/gld* mice. Interestingly, the synergistic effects of LP and LPS on the serum TNF-α level was not seen at any stage after injection (data not shown). These results indicate that LP and LPS act additively in inducing liver injury *in vivo* in a Fas/Fas L-dependent manner.

We next investigated whether administration of LP and/or LPS act in Fas L expression on liver NK T cells. The expression of Fas L on intrahepatic lymphocytes was analyzed using a flow cytometer 12 h after stimulation with 10 µg/ml of synthetic lipoprotein, LPS, or LP plus LPS. Analysis gates were set on NK T cells. As shown in Fig. 7B, the Fas L expression on NK T cells apparently increased after stimulation with LP and further increased after LP plus LPS. In contrast, Fas L expression on NK and NK1.1⁺ T cells did not increase in response to any stimulation (data not shown).

We have previously reported that TLR2 gene transcription was up-regulated by TLR4 signaling via NFκB acti-

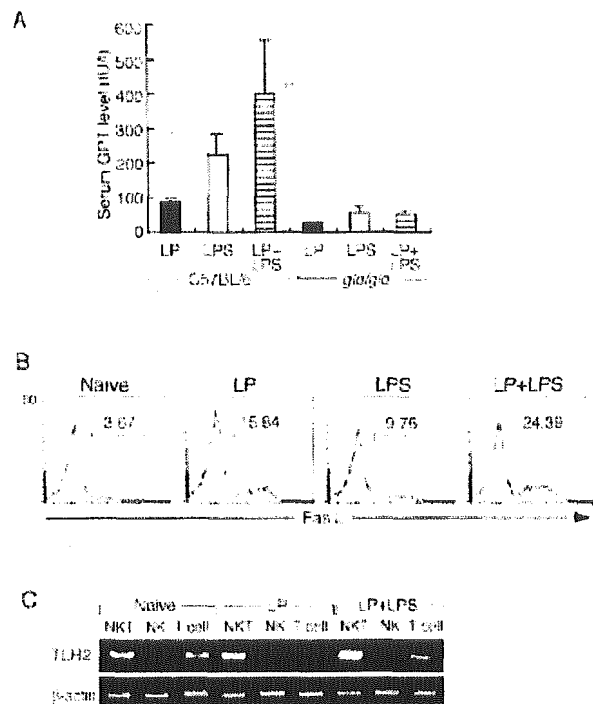


Fig. 7. The serum GPT activities, expression of Fas L, and expression profiles of TLR genes on intrahepatic lymphocytes. (A) C57BL/6 and *gld/gld* mice were inoculated intraperitoneally with LP (10 µg), LPS (10 µg), or LP (10 µg) plus LPS (10 µg) in 200 µl PBS. Sera and livers were collected at 12 h after inoculation, and GPT activities in the sera were measured. Each point and vertical bar indicate the mean ± SD of ten mice for each group. Data are representative of three separate experiments. *Significantly different from the value for other groups; $p < 0.05$. (B) Expression of Fas L on intrahepatic NK T cells after stimulation with lipoprotein and LPS. Intrahepatic lymphocytes were isolated from the livers of naive C57BL/6 mice and were treated either with medium, lipoprotein (10 µg/ml), LPS (10 µg/ml), or lipoprotein (10 µg/ml) and LPS (10 µg/ml). After incubation for 12 h, the cells were collected and stained similarly and analyzed with a flow cytometer. Analysis gates were set on NK T cells. Data are representative of three separate experiments. (C) Expression of TLR2 in intrahepatic lymphocyte subsets of mice inoculated with LP, LPS, or LP plus LPS. NK, NKT, and T cells were purified by cell sorting (1×10^5 – 5×10^5 cells; purity >97%) 12 h after inoculation. Total RNA was extracted, and TLR2, or β-actin gene expression was examined by semi-quantitative RT-PCR. The numbers of PCR cycles were 36 for TLR2 and 26 for β-actin. Data are representative of three separate experiments.

vation [24, 25]. To address the mechanisms for additive effect of LP and LPS on induction of liver injury in Fas/Fas L-dependent manner, we examined the expression of TLR2 mRNA in intrahepatic lymphocyte subsets, including NK, NK T, and T cells. Intrahepatic lymphocyte

subsets were purified from these mice 12 h after inoculation with LP, or LP plus LPS by cell sorting. Total RNA was extracted from each population, and the expression of TLR2 mRNA was analyzed by semiquantitative RT-PCR. As shown in Fig. 7C, TLR2 mRNA was expressed more abundantly in NK T cells of mice challenged with combination of LP and LPS than in NK T cells with LP, whereas TLR4 mRNA level remained constant in each subset (data not shown). These results indicate that LP and LPS additively induce enhanced liver injury with increased Fas L expression on NK T cells via up-regulation of TLR2 genes.

3 Discussion

In this study, we showed that Fas L expression on NK T cells was markedly elevated *in vivo* after *E. coli* infection and after *in vitro* stimulation with lipoprotein, a ligand for TLR2. $J\alpha 281^{-/-}$ and Fas L-deficient *gld/gld* mice were resistant to liver damage caused by *E. coli* infection or by lipoprotein in combination of a suboptimal dose of LPS. These results suggest that Fas L expression on NK T cells induced by TLR2 signaling is responsible for liver injury caused by *E. coli* infection. This is consistent with our recent finding that NK T cells contribute to liver injury induced by intracellular bacteria, *Salmonella choleraesuis* [13, 23]. In case of *Salmonella* infection, liver injury was detected 7 days after infection at which Th1 type cell-mediated acquired immunity was simultaneously induced [23]. On the other hand, liver injury occurred at innate immunity phase shortly after infection with *E. coli*, an extracellular bacterium. Therefore, NK T cells could contribute to liver injury by the same mechanisms at innate or acquired immunity phase during the courses of infection with extracellular or intracellular gram-negative bacteria. Therefore, NK T cells could contribute to liver injury by the same mechanisms during the courses of infection with intracellular or extracellular gram-negative bacteria.

We have recently found that freshly isolated NK T cells from the livers of naive mice expressed relatively high levels of TLR2 and TLR4 mRNA [23] and that Fas L expression on liver NK T cells was up-regulated by *Salmonella* infection in TLR4-mutated mice but not in TLR2-deficient mice. These finding suggest that TLR2 but not TLR4 is involved in the enhanced Fas L expression on NK T cells after *Salmonella* infection. In the present study, we showed that freshly isolated NK T cells respond to synthetic lipoprotein, a ligand for TLR2, but not to synthetic lipid A, a ligand for TLR4, by inducing Fas L on their surface, confirming our earlier hypothesis that TLR2 on NK T cells can function to induce Fas L expression on NK T cells.

It should be noted that ligands for TLR2 and TLR4 act additively in inducing liver injury in a manner analogous to *E. coli*. Zhang et al. [26] reported that LP and LPS can act synergistically in the induction of lethal shock and *in vivo* cytokine production in LPS-responsive and LPS-nonresponsive mice, but how LPS functions *in vivo* to enhance LP activity is not clear yet. In this study, we showed that LP in synergy with LPS induced liver injury in B6 mice but not in *gld/gld* mice. Furthermore, Fas L expression on NK T cells was apparently increased after stimulation with LP plus LPS. Moreover, TLR2 mRNA level was highly up-regulated in response to combination with LP plus LPS. We have previously reported that TLR2 gene expression is rapidly induced by LPS or inflammatory cytokines in macrophages, and by TCR engagement or IL-2/IL-15 stimulation in T cells [22, 24, 25]. Taken together, these findings led us to hypothesize that TLR4 signaling by LPS up-regulated TLR2 expression and lead to enhancement of Fas L expression on NK T cells, resulting in liver injury. Besides TNF- α and IL-1 β , IL-12 and IL-18 are also known to play important roles in LPS-induced liver injury via stimulation of liver lymphocytes to produce IFN- γ [4, 5], which potentiates the Fas/Fas-L-mediated apoptosis in hepatocytes [4, 5]. We have previously reported that a dominant Th2-like response of liver NK T cells induced by prostaglandin E series protects against liver injury induced by *Escherichia coli* infection [1]. Thus, Th1/Th2 balance of NK1.1 $\alpha\beta$ T (NK T) cells is important in modulation of liver injury caused by *E. coli* infection. Therefore, it is alternatively possible that LPS may induce IL-12 and IL-18, leading to IFN- γ production by liver NK T cells and accelerate NK T cell-mediated liver injury in Fas/Fas L-dependent manner. Although IFN- γ was not detected in serum after *E. coli* infection, IFN- γ may be secreted in a very low amount, thus acting in a narrow intracellular range in the infected sites. Leite-de-Moraes et al. [27] reported that IL-12 and IL-18 induced directly both Fas L and Fas expressions on NK T cells, which consequently elicited activation-induced cell death in NK T cells. Therefore, it can not be excluded that LPS may induce IL-12 and IL-18, leading to expression of Fas L on liver NK T cells and accelerate NK T cell-mediated liver injury in Fas/Fas L-dependent manner. Further experiments are needed to clarify these possibilities.

With respect to protection against *E. coli* infection, $J\alpha 281^{-/-}$ and *gld* mice equally cleared bacteria after *E. coli* infection as compared with control mice, suggesting that protection against *E. coli* infection may be compensated in these knockout mice. We previously reported that $\gamma\delta$ T cells contribute to protection against *E. coli* infection [28]. It is conceivable that liver injury may be mainly mediated by NK1.1 $^{+}$ T cells expressing V α 14/ $J\alpha$ 281, whereas protection against *E. coli* infection may

be compensated by various cells, including NK and $\gamma\delta$ T cells, in mice lacking NK1.1⁺ T cells via a Fas/Fas L-independent pathway. In conclusion, NK T cells directly respond to bacterial products by expressing Fas L and induce liver injury following *E. coli* infection through a Fas/Fas L-dependent pathway. Both ligands for TLR2 and TLR4 are important for the NK T cell-mediated liver injury in a Fas/Fas L-dependent pathway. Our results should be useful for the development of a prophylactic approach to control liver injury associated with infection with gram-negative bacteria such as *E. coli*.

4 Materials and methods

4.1 Animals and microorganisms

$J\alpha 281^{-/-}$ mice with the C57BL/6 (B6) background were kindly provided by Dr. Taniguchi (Chiba University). Age- and sex-matched B6 wild-type mice (as normal controls) and *gld/gld* (*gld*) mice with non-functional Fas L expression with the B6 background were purchased from Japan SLC (Hamamatsu, Japan). These mice were bred in our institute under specific pathogen-free conditions. Six-to-eight-week-old female mice were used for the experiments. All experiments were carried out according to the criteria in the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals prepared by the National Academy of Science. *E. coli* (American Type Culture Collection No.26; Manassas, VA) was inoculated intraperitoneally in all experiments.

4.2 Antibodies and reagents

PE-conjugated anti-NK1.1 mAb, biotin-conjugated anti-TCR $\alpha\beta$ mAb and Cy-chrome-conjugated streptavidin were purchased from PharMingen (San Diego, CA). Anti-Fas L hamster IgG mAb was purchased from Medical & Biological Laboratories (Nagoya, Japan). FITC-conjugated mAb to hamster IgG was purchased from ICN Pharmaceuticals (Aurora, Ohio). Synthetic *E. coli*-type lipid A, ONO4007, was kindly provided by Ono Pharmaceutical (Tokyo, Japan) and has been described [29]. Synthetic lipoprotein, Palmitoyl-Cys((RS)2,3-di(palmitoyloxy)-propyl)-Ala-Gly-OH, was purchased from Bachem (Bubendorf, Switzerland). LPS (purified from *E. coli* 055:B5) was purchased from Sigma (St. Louis, MO).

4.3 Preparation of liver lymphocytes

Fresh liver was immediately perfused with sterile HBSS through the portal vein to wash out all remaining peripheral blood and then passed through stainless-steel mesh. After the coarse pieces had been removed by centrifugation at 50 g for 1 min, the cell suspensions were again centrifuged, resuspended in 8 ml of 45% Percoll (Sigma Chemical Co.,

St. Louis MO), and layered on 5 ml of 67.5% Percoll. The gradients were centrifuged at 600 g for 20 min at 20°C. Lymphocytes at the interface were harvested and washed twice with HBSS.

4.4 Flow cytometry analysis

For Fas L-staining, liver mononuclear cells isolated from C57BL/6 mice were first stained with hamster IgG anti-Fas L mAb and successively stained with FITC-conjugated mAb to detect hamster IgG. The cells that had been stained with anti-Fas L mAb were stained with PE-conjugated anti-NK1.1 mAb and biotin-conjugated anti-TCR β mAb. To detect biotin-conjugated mAb, cells were stained with Cy-Chrome-conjugated streptavidin. To block Fc receptor (FcR)-mediated binding of the mAb, 2.4G2 (anti-FcR mAb) was added. All incubation steps were performed at 4°C for 30 min. The stained cells were analyzed with a FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, San Jose, CA). The cells were carefully gated by forward and side light scattering for the live lymphocytes. The data were analyzed using FACS-Calibur research software (Becton Dickinson).

4.5 Assay for GPT activity

Blood samples were collected at the time of sacrifice. Serum GPT activity was determined using a serum transaminase C II test kit (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) according to the manufacturer's instructions. GPT activities (international units per liter) were calculated from the standard curve.

4.6 Histological studies

Liver specimens were removed and fixed with 10% buffered formalin, paraffin-embedded, and stained with hematoxylin and eosin for light microscopic examination. *In situ* terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling (TUNEL) assay was performed using an *in situ* apoptosis detection kit (Apoptag, Intergen, Purchase, NY). All steps were performed according to the instructions of the manufacturer. Briefly, paraffin-embedded sections were deparaffinized and rehydrated and then permeabilized by incubation with 20 mg/ml proteinase K (Sigma, St. Louis, MO) for 15 min at 37°C. Inactivation of endogenous peroxidases was accomplished by immersing the tissue sections in 3% hydrogen peroxide diluted in methanol for 10 min at room temperature. Then, the sections were incubated in equilibration buffer for 5 min. The sections were then incubated with the labeling solution containing terminal deoxynucleotidyl transferase in a humidified chamber for 1 h at 37°C. The reactions were terminated by rinsing the sections in a stop/wash buffer. The incorporated digoxigenin-dUTP was detected by incubation with anti-digoxigenin peroxidase at room temperature for 30 min and positive reactions were

revealed using 3,3' diaminobenzidine. Methyl green was used for counterstaining for nuclei.

4.7 Bacterial growth in organs

Peritoneal exudates were obtained from the peritoneal cavity by lavage with 5 ml of HBSS at various times after *E. coli* infection. The liver was then perfused with 8 ml of sterile HBSS to wash out bacteria in the blood vessels. The bacterial counts in the homogenates of the liver and spleen or peritoneal exudates were established by plating serial 10-fold dilutions in sterile distilled water on tryptic soy agar (Nissui Laboratories, Detroit, MI). Colonies were counted 24 h later, after incubation at 37°C.

4.8 Cytokine assays

Serum was collected at various times after *E. coli* infection and TNF- α , IL-10, IL-12, IL-1 β , IFN- γ , and IL-4 levels in serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using Genzyme mAb according to the manufacturer's instructions (Genzyme, Cambridge, MA).

4.9 Sorting of intrahepatic lymphocyte subsets

The intermediate intensities of TCR (TCR^{int}) NK1.1⁺ T cells, TCR⁺ NK1.1⁺ cells and TCR⁺ NK1.1⁻ T cells were purified as NK T cells, NK cells and T cells, respectively, in the B6 strain from isolated intrahepatic lymphocytes by cell sorting using a FACSVantage (Becton Dickinson) electric cell sorter. The purity of sorted cells was more than 97% in all experiments.

4.10 Expression of TLR genes

Messenger RNA of liver tissue, purified NK cells, NK1.1⁺ T cells, NK1.1⁻ T cells, and J774A.1 cells (a macrophage cell line as a positive control for TLR2) was extracted by using TRIZOL reagent (Gibco BRL, Rockville, MD), and cDNA synthesis was performed as described [22]. Synthesized cDNA was amplified by polymerase chain reaction (PCR) using 20 pmol of each of the primers specific for TLR2 or β -actin. The primers were as follows: TLR2 sense, 5'-AAAGTCT-AAAGTCGATCCGC-3'; antisense, 5'-ATATGCAACCTCC-GGATAGT-3'; β -actin sense, 5'-TGGAATCCTGTGGCATCC-ATGAAAC-3'; antisense, 5'-TAAAACGCAGCTCAGTAAC-AGTCCG-3'. The PCR cycles were run for 1 min at 94°C followed by 1 min at 54°C and 1 min at 72°C. A denaturing step for 5 min at 94°C was included before the first cycle. The PCR product was subjected to electrophoresis on a 1.8% agarose gel (Life Technologies Laboratories, Grand Island, NY) and visualized by ethidium bromide staining.

4.11 Statistical analysis

Data were analyzed by Student's *t*-test, and a Bonferroni correction was applied for multiple comparison. The value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

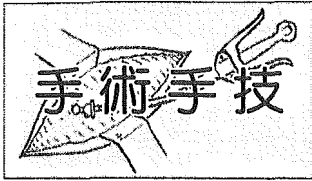
Acknowledgements: We thank Ono Pharmaceutical for providing synthetic lipid A, Dr. M. Taniguchi (Chiba University) for providing J α 281 KO mice, and Mrs. K. Itano and Miss. A. Nishikawa for providing excellent technical assistance. This work was supported in part by Grant-in-Aid from Scientific Research on Priority Areas Japan Society for the Promotion of Science, grant from the Japanese Ministry of Education, Science and Culture, and Yakult Bioscience Foundation.

References

- 1 Mokuno, Y., Takano, M., Matsuguchi, T., Nishimura, H., Washizu, J., Naiki, Y., Nimura, Y. and Yoshikai, Y., Prostaglandin E(1) protects against liver injury induced by *Escherichia coli* infection via a dominant Th2-like response of liver T cells in mice. *Hepatology* 1999. **30**: 1464–1472.
- 2 Vassalli, P., The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu. Rev. Immunol.* 1992. **10**: 411–452.
- 3 Leist, M., Gantner, F., Böhlinger, I., Tiegs, G., Germann, P. G. and Wendel, A., Tumor necrosis factor-induced hepatocyte apoptosis precedes liver failure in experimental murine shock models. *Am. J. Pathol.* 1995. **146**: 1220–1234.
- 4 Ogasawara, K., Takeda, K., Hashimoto, W., Satoh, M., Okuyama, R., Yanai, N., Obinata, M., Kumagai, K., Takada, H., Hiraike, H. and Seki, S., Involvement of NK1⁺ T cells and their IFN- γ production in the generalized Shwartzman reaction. *J. Immunol.* 1998. **160**: 3522–3527.
- 5 Tsutsui, H., Matsui, K., Kawada, N., Hyodo, Y., Hayashi, N., Okamura, H., Higashino, K. and Nakanishi, K., IL-18 accounts for both TNF- α - and Fas ligand-mediated hepatotoxic pathways in endotoxin-induced liver injury in mice. *J. Immunol.* 1997. **159**: 3961–3967.
- 6 Koseki, H., Asano, H., Inaba, T., Miyashita, N., Moriwaki, K., Lindahl, K. F., Mizutani, Y., Imai, K. and Taniguchi, M., Dominant expression of a distinctive V α 14⁺ T cell antigen receptor alpha chain in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991. **88**: 7518–7522.
- 7 Makino, Y., Kanno, R., Ito, T., Higashino, K. and Taniguchi, M., Predominant expression of invariant V α 14⁺ TCR alpha chain in NK1.1⁺ T cell populations. *Int. Immunol.* 1995. **7**: 1157–1161.
- 8 Prigozy, T. I., Naidenko, O., Qasba, P., Elewaut, D., Brossay, L., Khurana, A., Natori, T., Koezuka, Y., Kulkarni, A. and Kronenberg, M., Glycolipid antigen processing for presentation by CD1d molecules. *Science* 2001. **291**: 664–667.
- 9 Bendelac, A., Killeen, N., Littman, D. R. and Schwartz, R. H., A subset of CD4⁺ thymocytes selected by MHC class I molecules. *Science* 1994. **263**: 1774–1778.
- 10 Kawano, T., Cui, J., Koezuka, Y., Taura, I., Kaneko, Y., Motoki, K., Ueno, H., Nakagawa, R., Sato, H., Kondo, E., Koseki, H. and Taniguchi, M., CD1d-restricted and TCR-mediated activation of V α 14 NKT cells by glycosylceramides. *Science* 1997. **278**: 1626–1629.

- 11 Arase, H., Arase, N., Kobayashi, Y., Nishimura, Y., Yonehara, S. and Onoe, K., Cytotoxicity of fresh NK1.1⁺ T cell receptor alpha/beta⁺ thymocytes against a CD4⁺8⁺ thymocyte population associated with intact Fas antigen expression on the target. *J. Exp. Med.* 1994. **180**: 423–432.
- 12 Hashimoto, W., Takeda, K., Anzai, R., Ogasawara, K., Sakihara, H., Sugiura, K., Seki, S. and Kumagai, K., Cytotoxic NK1.1 Ag⁺ alpha beta T cells with intermediate TCR induced in the liver of mice by IL-12. *J. Immunol.* 1995. **154**: 4333–4340.
- 13 Ishigami, M., Nishimura, H., Naiki, Y., Yoshioka, K., Kawano, T., Tanaka, Y., Taniguchi, M., Kakumu, S. and Yoshikai, Y., The roles of intrahepatic Valpha14⁺ NK1.1⁺ T cells for liver injury induced by Salmonella infection in mice. *Hepatology* 1999. **29**: 1799–1808.
- 14 Kaneko, Y., Harada, M., Kawano, T., Yamashita, M., Shibata, Y., Gejyo, F., Nakayama, T. and Taniguchi, M., Augmentation of Valpha14 NKT cell-mediated cytotoxicity by interleukin 4 in an autocrine mechanism resulting in the development of concanavalin A-induced hepatitis. *J. Exp. Med.* 2000. **191**: 105–114.
- 15 Belvin, M. P. and Anderson, K. V., A conserved signaling pathway: the *Drosophila* Toll-dorsal pathway. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1996. **12**: 393–416.
- 16 Lemaitre, B., Nicolas, E., Michaut, L., Reichhart, J. M. and Hoffmann, J. A., The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 1996. **86**: 973–983.
- 17 Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P. and Janeway, C. A., Jr., A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997. **388**: 394–397.
- 18 Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T., Sanjo, H., Takada, H., Ogawa, T., Takeda, K. and Akira, S., Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 1999. **11**: 443–451.
- 19 Hemmi, H., Takeuchi, O., Kawai, T., Kaisho, T., Sato, S., Sanjo, H., Matsumoto, M., Hoshino, K., Wagner, H., Takeda, K. and Akira, S., A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000. **408**: 740–745.
- 20 Sebastiani, G., Leveque, G., Lariviere, L., Laroche, L., Skamene, E., Gros, P. and Malo, D., Cloning and characterization of the murine Toll-like receptor 5 (Tlr5) gene: sequence and mRNA expression studies in *Salmonella*-susceptible MOLF/Ei mice. *Genomics* 2000. **64**: 230–240.
- 21 Hayashi, F., Smith, K. D., Ozinsky, A., Hawn, T. R., Yi, E. C., Goodlett, D. R., Eng, J. K., Akira, S., Underhill, D. M. and Aderem, A., The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001. **410**: 1099–1103.
- 22 Matsuguchi, T., Takagi, K., Musikacharoen, T. and Yoshikai, Y., Gene expressions of lipopolysaccharide receptors, Toll-like receptors 2 and 4, are differentially regulated in mouse T lymphocytes. *Blood* 2000. **95**: 1378–1385.
- 23 Shimizu, H., Matsuguchi, T., Fukuda, Y., Nakano, I., Hayakawa, T., Takeuchi, O., Akira, S., Umemura, M., Suda, T. and Yoshikai, Y., Toll-like receptor 2 contributes to liver injury by *Salmonella* infection through Fas ligand expression on NKT cells in mice. *Gastroenterology* 2002. **123**: 1265–1277.
- 24 Matsuguchi, T., Musikacharoen, T., Ogawa, T. and Yoshikai, Y., Gene expressions of Toll-like receptor 2, but not Toll-like receptor 4, is induced by LPS and inflammatory cytokines in mouse macrophages. *J. Immunol.* 2000. **165**: 5767–5772.
- 25 Musikacharoen, T., Matsuguchi, T., Kikuchi, T. and Yoshikai, Y., NF-kappa B and STAT5 play important roles in the regulation of mouse Toll-like receptor 2 gene expression. *J. Immunol.* 2001. **166**: 4516–4524.
- 26 Zhang, H., Peterson, J. W., Niesel, D. W. and Klimpel, G. R., Bacterial lipoprotein and lipopolysaccharide act synergistically to induce lethal shock and proinflammatory cytokine production. *J. Immunol.* 1997. **159**: 4868–4878.
- 27 Leite-de-Moraes, M. C., Herbelin, A., Gouarin, C., Kozuka, Y., Schneider, E. and Dy, M., Fas/Fas ligand interactions promote activation-induced cell death of NK T lymphocytes. *J. Immunol.* 2000. **165**: 4367–4371.
- 28 Mokuno, Y., Matsuguchi, T., Takano, M., Nishimura, H., Washizu, J., Ogawa, T., Takeuchi, O., Akira, S., Nimura, Y. and Yoshikai, Y., Expression of Toll-like receptor 2 on gamma delta T cells bearing invariant V gamma 6/V delta 1 induced by *Escherichia coli* infection in mice. *J. Immunol.* 2000. **165**: 931–940.
- 29 Yang, D., Satoh, M., Ueda, H., Tsukagoshi, S. and Yamazaki, M., Activation of tumor-infiltrating macrophages by a synthetic lipid A analog (ONO-4007) and its implication in antitumor effects. *Cancer Immunol. Immunother.* 1994. **38**: 287–293.

Correspondence: Takashi Hiromatsu, Division of Surgical Oncology, Department of Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan
 Fax: +81-52-744-2230
 e-mail: takasi-h@med.nagoya-u.ac.jp



嚥下障害に対する輪状 咽頭筋切断術・喉頭挙上術

高齢者への手術適応の拡大

安井章裕* 森岡 淳* 横山幸浩*

はじめに

21世紀を迎えて我が国の平均寿命は世界一となり、高齢者人口は全人口の20%にも達しようとしている。高齢者人口の増加は、従来までともすれば見逃されがちであった疾患の増加をもたらした。高齢者の嚥下障害はさまざまな原因によるが、なかには長期間に及ぶ嚥下リハビリテーション（約60～70%に効果的と報告¹⁾されている）にもかかわらず嚥下性肺炎を反復したり、嚥下機能の回復しない重症例も多く存在し、これらのうちには外科的治療によってその障害を改善することのできる症例が存在することが判明した²⁾。

輪状咽頭筋切断術は1951年にKaplanが脊髄型灰白髄炎による嚥下障害に対して試行し、著明な改善を得られたことを報告³⁾して以来、嚥下障害に対する外科的治療として多くの報告⁴⁾がみられている。一方、喉頭挙上術もGoodeによる報告⁵⁾以来さまざまな手技に関する試みが報告⁶⁾されており、本法も誤嚥に対する手術療法として一般的に認識されている。しかし、これらの治療法は、嚥下障害の治療体系のなかではあまり高い評価を得ていないのが現状である。これは嚥下障害自体が、原疾患の予後や症例ごとの全身状態などにより状況が変化する疾患であることと、症例ごとに障害の部位と程度が異なるため、手術の適応が不明確となり、術式の正確な評価がなされていないためと思われる。さらに、嚥下障害の治療は一度誤ると場合により、大量誤嚥による窒息死もひき起こしかねない疾患であり、良性疾患でありながら常に手術後の死亡を意識せざるをえない疾患であるため、本邦では悪性疾患の治療に

忙殺される一般外科医にとっては二の足を踏ませているのが現状である。

1. 適 応

このように嚥下障害の外科的治療法は、現状では一般外科医にとって厄介なものとわれがちであるが、嚥下に対する生理学的な知識と診断方法が確立している現在では、少々の勉強時間とやる気があれば多くの患者を救済できうるものと確信している。

1. 従来の手術適応

嚥下障害の患者を診た場合、まず原疾患や全身状態、患者や家族の希望などにより、「嚥下機能改善手術」を施行するか、「誤嚥防止手術」を行うかを決定する。「誤嚥防止手術」としては、喉頭閉鎖術、気管切開術などがある。

嚥下機能改善手術を施行する場合、嚥下造影（videofluorography：VF）や嚥下内視鏡（videoendoscopy：VE）を施行する。VFにより、「喉頭挙上期」に誤嚥が認められた場合は、喉頭挙上術を施行し、場合によって声帯への手術を付加する。「喉頭下降期」の誤嚥は、輪状咽頭筋切断術を施行し、場合によって、鼻咽頭閉鎖不全手術を付加する⁷⁾。

2. 我々の手術適応

嚥下障害の患者を診た場合、まず原疾患や全身状態、患者や家族の希望を聞いたあと、可能な限り（手技や体位、設備の工夫により、ほとんどの例で可能であるが）VFを施行する。そこで誤嚥を認めた場合、まず、嚥下リハビリテーション専門医にコンサルトし、嚥下リハビリテーションを3カ月間施行する。定期的なVFの結果、嚥下障害の改善が認められず、かつ、重症の場合は内視鏡下胃瘻造設術を勧め、場合により去痰用の小気管瘻造設キットにより気管瘻を造設する。VFで輪状咽頭筋弛緩不全

* Akihiro YASUI et al. 愛知県済生会病院外科 (☎ 451-0052 愛知県名古屋市西区栄生 1-1-18)

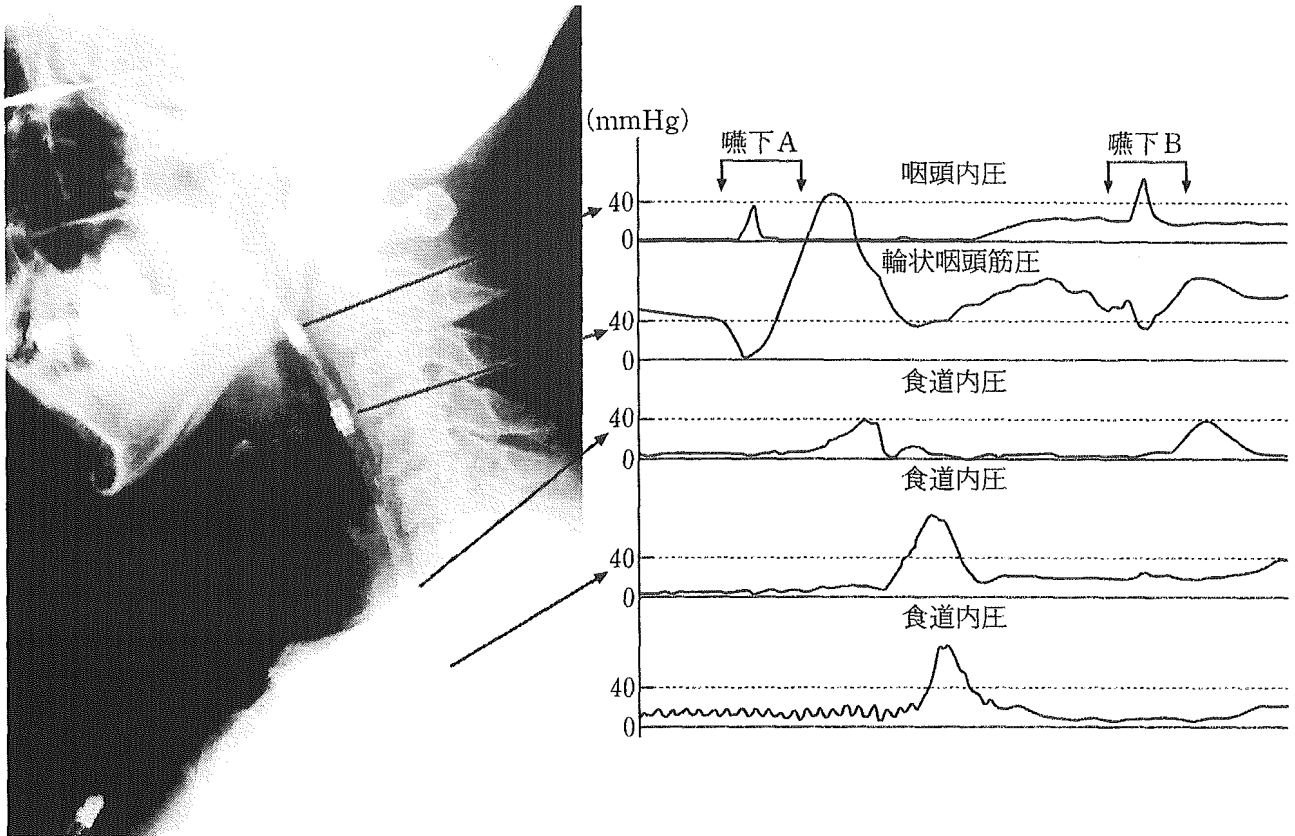


図1 咽頭内圧，輪状咽頭筋内圧，食道内圧
嚥下Aは正常嚥下に伴う輪状咽頭筋の弛緩反射，嚥下Bは弛緩不全を示す。

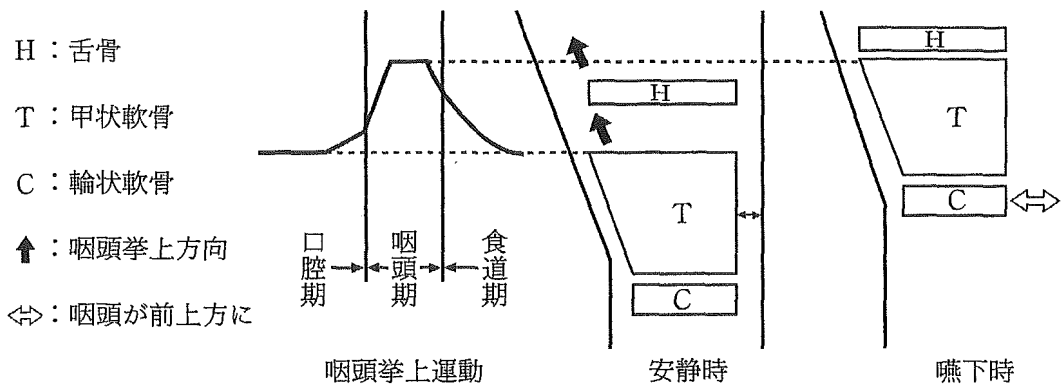


図2 喉頭挙上による食道入口部の開大 (文献9より改変)

が疑われた患者に対しては，咽頭・食道内圧測定を施行し（これもほとんどの患者で可能である），輪状咽頭筋弛緩不全を内圧的に確認する（図1）。これらの患者に対しては手術療法を勧めるが，もし患者が望むなら1カ月ほど，バルーンを利用した輪状咽頭筋拡張のリハビリテーションを自分で施行させる場合もある。患者が全身麻酔下で耐術できない場

合は，嚥下機能の回復が期待される例では局所麻酔下で輪状咽頭筋切断術のみを施行するときもあるが，おおむね全身麻酔下で喉頭挙上術も付加している。

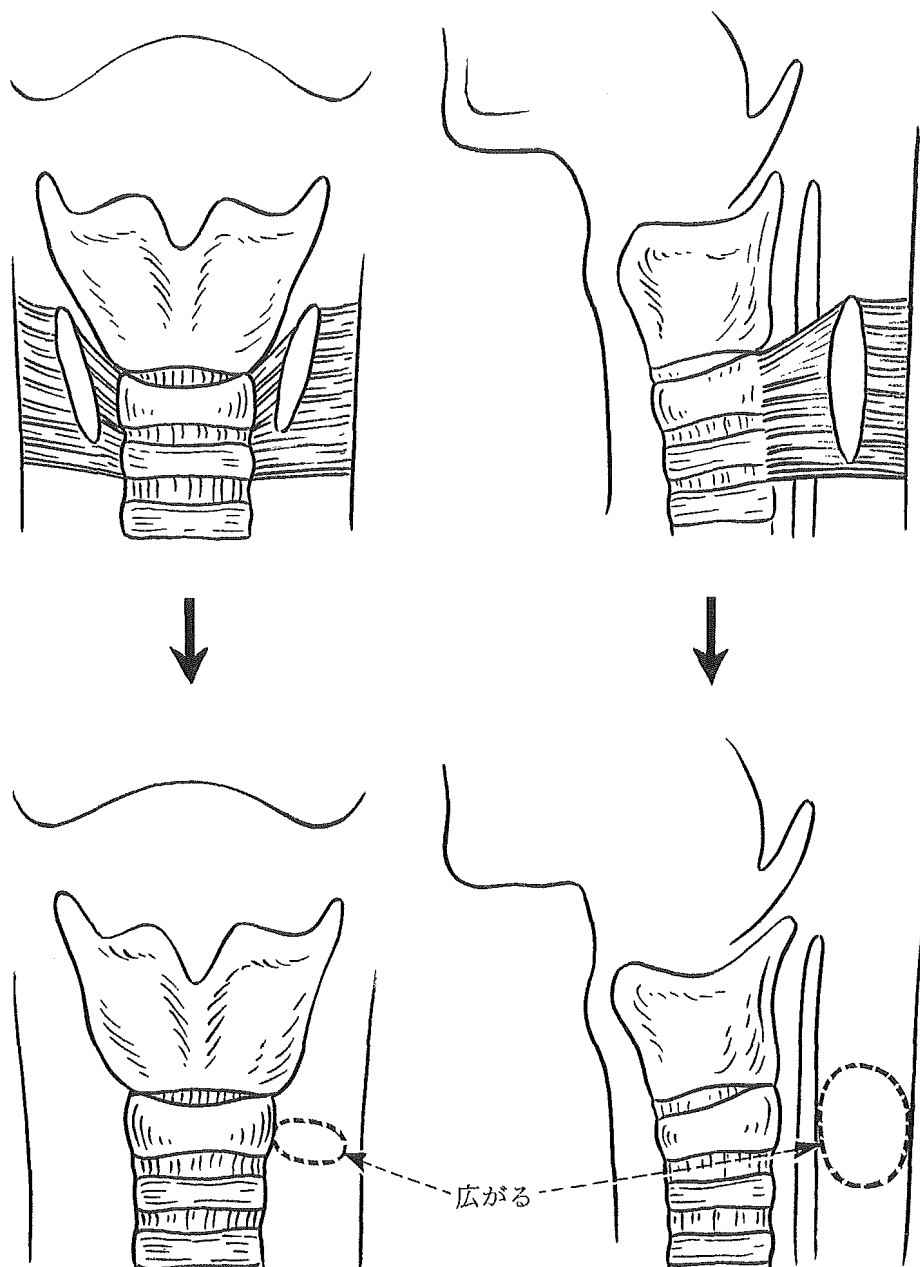


図3 両側の輪状咽頭筋切断術

II. 手術手技

1. 生理

喉頭は、嚥下時において正常では約1椎体半前上方に挙上するが、嚥下障害例ではこの運動が不十分なため、不足する種々の喉頭挙上筋を補う目的で喉頭挙上術が試行された。しかし実際には、輪状咽頭筋切断術と同様に本術式においては、術後の食道入口部の開口が生理学的には重要である(図2)。輪

状咽頭筋は通常は閉鎖し、咽頭(陽圧)と食道(陰圧)の境界を形成しているが、食塊の通過により反射的に弛緩する。この弛緩反射が不完全なとき、これを切断することによって通過を良好なものとすることができる(図3)。

2. 方法⁸⁾

全身麻酔下に肩枕を挿入して、頸部を伸展位とする。前頸部にやや傾きの少ないU字状の皮膚切開を加え、広頸筋を切離してこれを頭側に十分に剝離

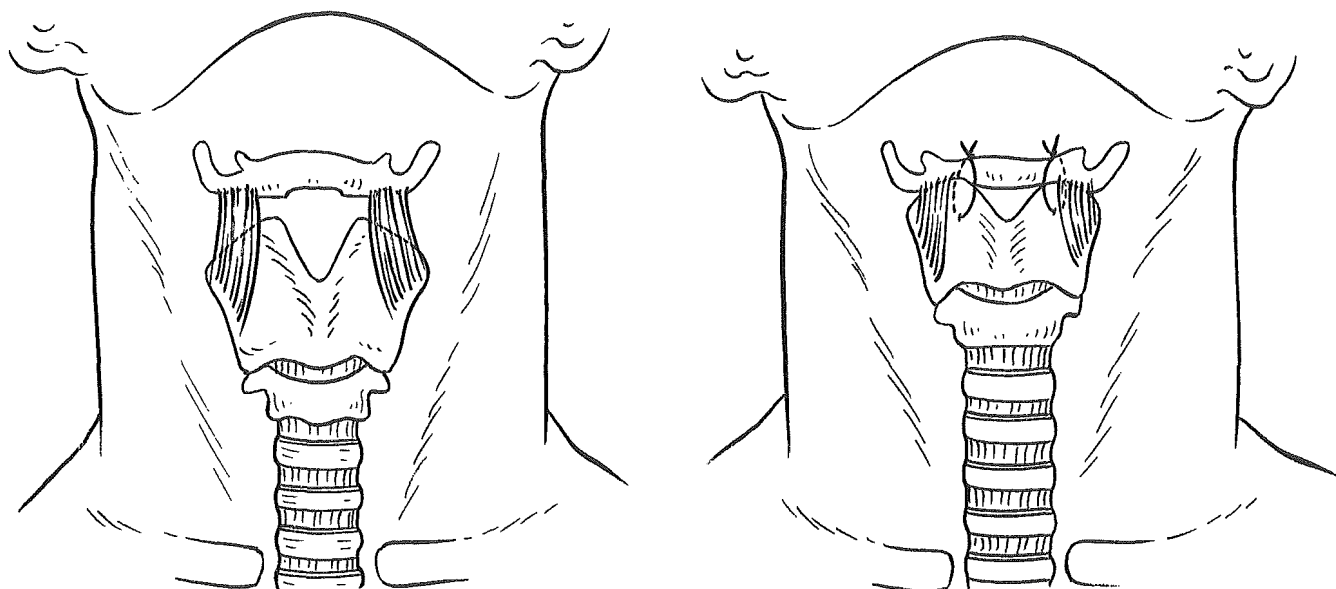


図 4 舌骨と甲状軟骨の縫合による喉頭挙上術

し、舌骨を露出する。胸鎖乳突筋前縁に沿って浅頸筋膜を切開し深部に剝離を進め、椎体を目安にして椎前筋膜の腹側に位置する食道を剝離する。両側の輪状咽頭筋をそれぞれ左右からアプローチしたのち、頭側は下咽頭粘膜が確認できるまで十分に切離し、足側は甲状咽頭筋の一部まで及ぶ広い範囲で切離を行う。この際、食道・咽頭粘膜を損傷しないように注意を要する。また、初心者で食道のオリエンテーションが不十分の場合には、口からバルーンを食道内に挿入してこれを目安に切離を行ってもよい。

次いで、前頸筋群を正中で切開し、甲状軟骨と舌骨を十分に露出したのち、甲状軟骨と舌骨を2-0ナイロン糸で左右1本ずつかけて縫縮し、喉頭を挙上する(図4)。この際も咽頭・食道粘膜まで糸をかけないように注意する。前頸筋群を縫合閉鎖し、広頸筋を縫合、皮膚創を閉鎖し手術を終了する。ドレーンは念のため輪状咽頭筋切断部においてもよいが、ドレーンを留置しない場合もある。

3. 術後ケア

術後は抜糸までは絶飲食としVFを施行したのち、嚥下リハビリテーション専門医と相談して摂食指導をしている。症例によっては嚥下リハビリテーションを追加する例もある。嚥下障害の症例は一度誤ると、大量誤嚥による窒息死も引き起こしかねな

いため、摂食指導は慎重に行うように心掛けている。

III. 考 察

嚥下はさまざまな、脳、神経、筋肉が関与する総合運動であり、その障害のパターンもきわめて複雑である。そのためその治療法の選択がむずかしく、手術療法に関しても現在までは術式の適応が不明確のため、手術療法そのものの正確な評価がなされていないと思われる。

輪状咽頭筋切断術に関しては、その成功の可否はひとえに症例の正確な選択にあると思われる。すなわち、VFで輪状咽頭筋弛緩不全が疑われた患者でも咽頭・食道内圧測定で輪状咽頭筋弛緩不全を内圧的に確認できない場合も存在し、このような症例に輪状咽頭筋切断術を施行してもその効果は薄いと想像される。したがって、本法の手術適応のためには、ほとんどすべての患者において正確に咽頭・食道内圧が測定できることが肝要である。輪状咽頭筋弛緩不全の診断が正確になされたなら、手術そのものは局所麻酔下でも十分可能なため、本術式の応用例は今後は増加するものと思われる。

一方、輪状咽頭筋切断の部位については議論の多いところである。現在までの報告によれば、両側、片側または背側を切断する術式が報告されている⁴⁾。

我々はより確実性を求め、また、喉頭挙上術も付加する目的でU字状の皮膚切開を加え、両側の輪状咽頭筋切断術を施行している。

喉頭挙上術も、その挙上部位に関して多くの報告⁶⁾がみられている。舌骨甲状軟骨接近術（本症例で施行）、下顎骨舌骨接近術、下顎骨舌骨甲状軟骨接近術、下顎骨甲状軟骨接近術（棚橋法）などに舌骨下筋群切断術を併用すると、嚥下時の喉頭の下方への牽引力が軽減し、相対的に喉頭挙上効果が高まる。

一方、喉頭挙上術では喉頭の挙上程度にも注意を要することが肝要である。つまり、あまりに喉頭を挙上しすぎると、喉頭蓋が倒れて気管入口に被いかぶさることになり、呼吸障害を引き起こす可能性がある。U字状の皮膚切開から得る手術野に加え、このことから我々は現在のところ両側の輪状咽頭筋切断術と舌骨甲状軟骨接近術を選択している。

おわりに

高齢者の嚥下障害のうち、嚥下機能の回復しない重症例に対する外科的治療として、輪状咽頭筋切断術と喉頭挙上術の併用する手術手技を紹介した。本術式に関しては症例の適応が重要であり、嚥下造影や咽頭・食道内圧測定による症例の選択が必須であることを強調した。

文 献

- 1) 藤島一郎：脳卒中の摂食・嚥下障害，第2版，医歯薬出版，12—14，1998
- 2) 藤島一郎 編著：よくわかる嚥下障害，永井出版，187—203，2000
- 3) Kaplan S：Paralysis of deglutition：A postpoliomyelitis complication treated by section of the cricopharyngeus muscle. *Ann Surg* 133：572—573，1951
- 4) Duranceau A：Pharyngeal and cricopharyngeal disorders. *Eophageal Surgery*, Churchill Livingstone, New York, 389—416, 1995
- 5) Goode RL et al：Laryngeal suspension in head and neck surgery. *Laryngoscope* 86：349—355，1976
- 6) 津田豪太：重度摂食・嚥下障害に対する外科的治療. *日獨医報* 46：59—65，2001
- 7) 堀口利之：嚥下障害の外科的治療. *日本呼吸管理学会誌* 9：266—271，2000
- 8) 安井章裕ほか：重度嚥下障害に対する輪状咽頭筋切断・喉頭挙上術. *日臨外会誌* 62：319，2001
- 9) 丘村 熙：嚥下のしくみと臨床，金原出版，18，1993

研究成果の刊行に関する一覧表(平成16年度)

1. 深田伸二:根拠から学ぶ 高齢者の外科手術と術前・術後ケア 第1回 高齢者の消化器疾患における検査・診断・治療・ケアの留意点 総合消化器ケア 9(1):31-36, 2004.
2. 深田伸二:根拠から学ぶ 高齢者の外科手術と術前・術後ケア 第2回 高齢者の外科手術における適応と治療法の選択 総合消化器ケア 9(2):70-77, 2004.
3. 深田伸二:根拠から学ぶ 高齢者の外科手術と術前・術後ケア 第3回 高齢者外科手術における術前評価と術前ケア 総合消化器ケア 9(3):51-57, 2004.
4. 深田伸二、安井章裕:根拠から学ぶ 高齢者の外科手術と術前・術後ケア 第4回 高齢者外科手術の周術期ケア 総合消化器ケア 9(4):49-55, 2004.
5. 横山 恵、錦見尚道:疑問に答える深部静脈血栓症予防ハンドブック 6.名古屋大学医学部附属病院外科病棟におけるDVT予防の実際 172-176, 2004. 医歯薬出版
6. Masataka haneda, Henghi Xiao, Tadao Hasegawa, Yuko Kimura, Izumi Nakashima, Ken-ichi Isobe: Regulation of mouse GADD34 gene transcription after DNA damaging agent methylmethane sulfonate. Gene 336:139-146, 2004.
7. Masataka Haneda, Eiji Kojima, Akihiko Nishikimi, Tadao Hasegawa, Izumi Nakashima, Ken-ichi Isobe: Protein phosphatase 1, but not protein phosphatase 2A, dephosphorylates DNA-damaging stress-induced phosphor-serine 15 of p53. FEBS Letters 567: 171-174, 2004.
8. Mamoru Satoh, Motoyuki Nakamura, Tomonari Akatsu, Yudai Shimoda, Ikuo Segawa and Katsuhiko Hiramori: Toll-like receptor 4 is expressed with enteroviral replication in myocardium from patients with dilated cardiomyopathy. Laboratory Investigation 84: 173-181, 2004.
9. 瀬川郁夫、平盛勝彦、金子能人、佐藤 譲、鈴木一幸:岩手県での脂質定価両方の全県実態調査—ガイドライン目標値についての考察— 日循予防誌 39(2):111-119, 2004.
10. 真弓俊彦:抗菌薬治療、感染叢のコントロール. 救急医学 28(11) 1247-1249, 2004
11. 真弓俊彦、有嶋拓郎、福岡敏雄、榊原陽子、高橋英夫、武澤 純:院内感染対策—とくに ICU 特有の院内感染対策について—救急・集中治療 16 :569-574, 2004
12. 真弓俊彦、有嶋拓郎、武澤 純:遺伝子多型と感染. 外科感染症学会雑誌 1(1): 25-32, 2004
13. 真弓俊彦、有嶋拓郎、高橋英夫、武澤 純:SIRS から DIC への移行 臨床病理レビュー.130:36-40, 2004.
14. 真弓俊彦、有嶋拓郎、高橋英夫、武澤 純: SIRS と炎症反応に関連する遺伝子多型. 日本臨床 62(12):2221-2228, 2004
15. 真弓俊彦、深田伸二:高齢者の集中治療 総合消化器ケア.9(6): 40-43, 2004.
16. Tetsuya Abe, Toshiyuki Arai, Atsushi Ogawa, Takashi Hiromatsu, Akio Masuda, Tetsuya Matsuguchi, Yuji Nimura, Yasunobu Yoshikai: Kupffer cell- derived interleukin-10 is responsible for impaired bacterial clearance in bile duct-ligated mice. Hepatology 2004;40: 414-423
17. Ohkubo M, Nagino M, Kamiya J, Yuasa N, Oda K, Arai T, Nishio H, Nimura Y.:Surgical anatomy of the bile ducts at the hepatic hilum as applied to living donor liver transplantation. Ann Surg. 2004 Jan;239(1):82-6.
18. Ando H, Nagino M, Arai T, Nishio H, Nimura Y.: Changes in splenic volume during liver regeneration.

World J Surg. 2004 Oct;28 (10):977-81.

19. 新井利幸、椰野正人、二村雄次: 肝切除後肝不全の病態と対策—黄疸肝—: 日本外科学会雑誌 105: 664-668, 2004
20. 小林聡、椰野正人、湯浅典博、小田高司、新井利幸、西尾秀樹、江畑智希、二村雄次: 広範囲肝切除術に対する経皮経肝門脈枝塞栓術(PTPE)の有用性: 日外会誌 105(6):354-358, 2004
21. 菅原元、椰野正人、渡邊哲也、湯浅典博、新井利幸、小田高司、西尾秀樹、江畑智希、二村雄次: 胆道癌術後感染性合併症に対するシンバイオティクス療法の予防作用: 細胞 37(1), 6-9, 2005
22. 小林聡、椰野正人、湯浅典博、小田高司、新井利幸、西尾秀樹、江畑智希、二村雄: 胆道癌に対する経皮経肝門脈枝塞栓術(PTPE)後の広範囲肝切除術: 臨床外科 60(1):31-37, 2005
23. 安井章裕、深田伸二: 根拠から学ぶ・高齢者の外科手術と術前・術後ケア 第5回 術後せん妄の予防とケア 総合消化器ケア 9(5):63-72, 2004.

根拠から学ぶ

高齢者の外科手術と 術前・術後ケア

第1回 高齢者の消化器疾患における 検査・診断・治療・ケアの留意点

国立長寿医療センター病院 手術・集中医療部手術室 医長 深田伸二

はじめに

21世紀を迎えて、わが国の高齢者人口は飛躍的に増加し、全人口の20%に達するといわれている。高齢者は、外科手術が必要となる疾患に罹患する確率が高く、高齢者外科手術例は加速度的に増加することが推測される。したがって、以前は特定の病院でしか施行されなかった高齢者外科手術は、現在ではどの病院でも行われ、高齢者診療における外科療法役割は、今後ますます重要なものとなるであろう。

一方、高齢者の手術療法は、多くの問題点を孕んでいる。高齢患者では、併存する多臓器にわたる疾病や重要臓器の機能低下、栄養不良、免疫機能の低下などの外科手術危険因子を持っていることが多く、疾患にも高齢者の特徴があり、術後管理も若年者に比べて特別な配慮が必要である。

ところで、「高齢者」とはいったい何歳以上を指すのであろうか。生理的老化は70代から80代にかけて急速に進行し、体の予備能は80歳を境に急激に低下する。また、脳血管障害、悪性新生物、心疾患などによる死亡率も、80歳から著明に増加する¹⁾。並木²⁾は、65～74歳を老年者、75～84歳を高齢者、85歳以上を超高齢者とするのが妥当と述べている。

本連載を読むにあたっては、「高齢者」は主として80歳以上を意味していると考えていただければ、内容により実感を持っていただけると思う。

1. 高齢者疾患の一般的特徴

高齢者疾患の特徴として、折茂³⁾は次のものを挙げている。

- ① 多臓器の疾患が多い。
- ② 個人差が大きい。
- ③ 症候が非典型的である。
- ④ 臓器の機能不全が潜在的に存在している。
- ⑤ 慢性の疾患が多い。
- ⑥ 薬剤に対する反応が若年者とは異なる。
- ⑦ 生体防御能が低下しており治りにくい。

並木²⁾は、臨床像の特徴と注意点として、次のものを挙げている。

- ① 症状・経過が非定型的である。
- ② 疾患の併存や合併症をよくみる。
- ③ 精神症状を現しやすい。

また、実際の診療における注意点として、次のものを挙げている。

- ① 高齢者の心理の理解が大切である（高齢者は常

に喪失することとの闘いを強いられている)。

- ② 全身を注意深く診察する。
- ③ 癌の存在に一層注意を払う。
- ④ 症状の修飾性に注意する。
- ⑤ 諸検査には慎重さと積極性が必要である。
- ⑥ 検査結果の解釈・判断は慎重に行う。
- ⑦ 全人的アプローチが殊さらに重要である。

高齢者の診療・看護に関しては、臓器のみでなく、身体諸器官の統合状態や心身の相関、さらに生活・環境と健康との関係も重視しなければならない。高齢者の診療・看護においては、Disease (病気)のみならず、寝たきり状態などのDisability (自立生活障害)に対する考慮も必要であり、退院後の高齢者福祉を含めたチーム医療が重要となってくる(図1)。

また、いろいろな原因による精神機能の低下のために、質問に対する理解が悪く、重要な病歴を思い出せないことがある。そのため、検査や手技に非協力的な場合や、治療のレジメの遂行が患者一人では困難な場合もある。さらに、日常生活(家族関係など)に由来したストレスが、うつ状態や不安状態を引き起こすことがあり、心身医学的アプローチも考

慮する必要がある。

そのキュアとケアのために、医師、看護師、臨床心理士、リハビリテーションセラピスト、ソーシャルワーカーなどによるチーム医療が必要となってくるのである。

2. 高齢者消化器疾患の留意点

表1のように、消化器やそのほかの臓器にはいろいろな生理的老化が起こってくる⁴⁾。消化器の予備能も低下し、局所における加齢変化が病的状態を惹起することもある。

高齢者消化器疾患の診療・看護において、留意すべき特徴を次に示す。

1) 悪性疾患の多発

高齢者では、悪性疾患が高頻度に出現し、しかも進行した状態で発見されることが多い。また、多発する傾向もある。胆石症などに隠れて存在することもあり、注意を要する。人口の高齢化に伴い、悪性新生物による死亡率も上昇してきた(図2)。

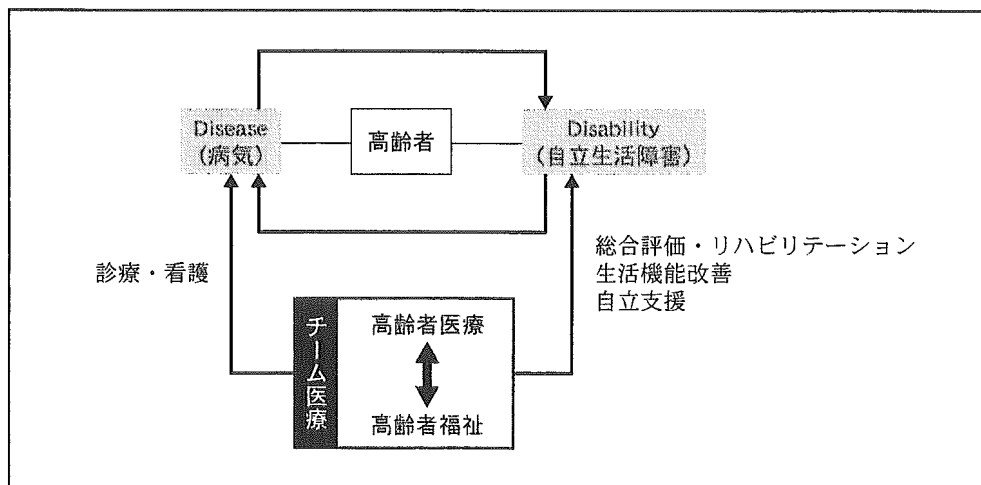


図1 高齢者の看護

表1 生理的老化

口腔	咀嚼能の低下, 唾液流量の低下など
咽頭・食道	咽頭筋の低下, 嚥下異常, 胃食道逆流防止機能の低下など
胃・小腸	胃腸管血流量の低下, 胃内pHの上昇, 胃腸管吸収面積の減少, 胃腸管運動の低下など
大腸・肛門	粘膜・筋層の低下, 通過時間の延長, 排便間隔の延長, 肛門括約筋の筋力低下, 直腸筋性弾力の低下など
肝臓	肝重量・肝細胞の減少, 肝薬物代謝酵素活性の低下, 肝血流量の低下など
胆道	胆管拡張, 胆嚢収縮感受性の低下, 胆汁中コレステロール濃度の上昇など
膵臓	膵実質の萎縮, 膵管拡張, 脂肪浸潤, 耐糖能の低下など
そのほか	腎血流量の減少, 腎糸球体濾過値の低下, 尿細管分泌の低下 心拍出量・体内水分量・血中アルブミンの減少 体内脂肪の増加など

厚生労働省ホームページより引用

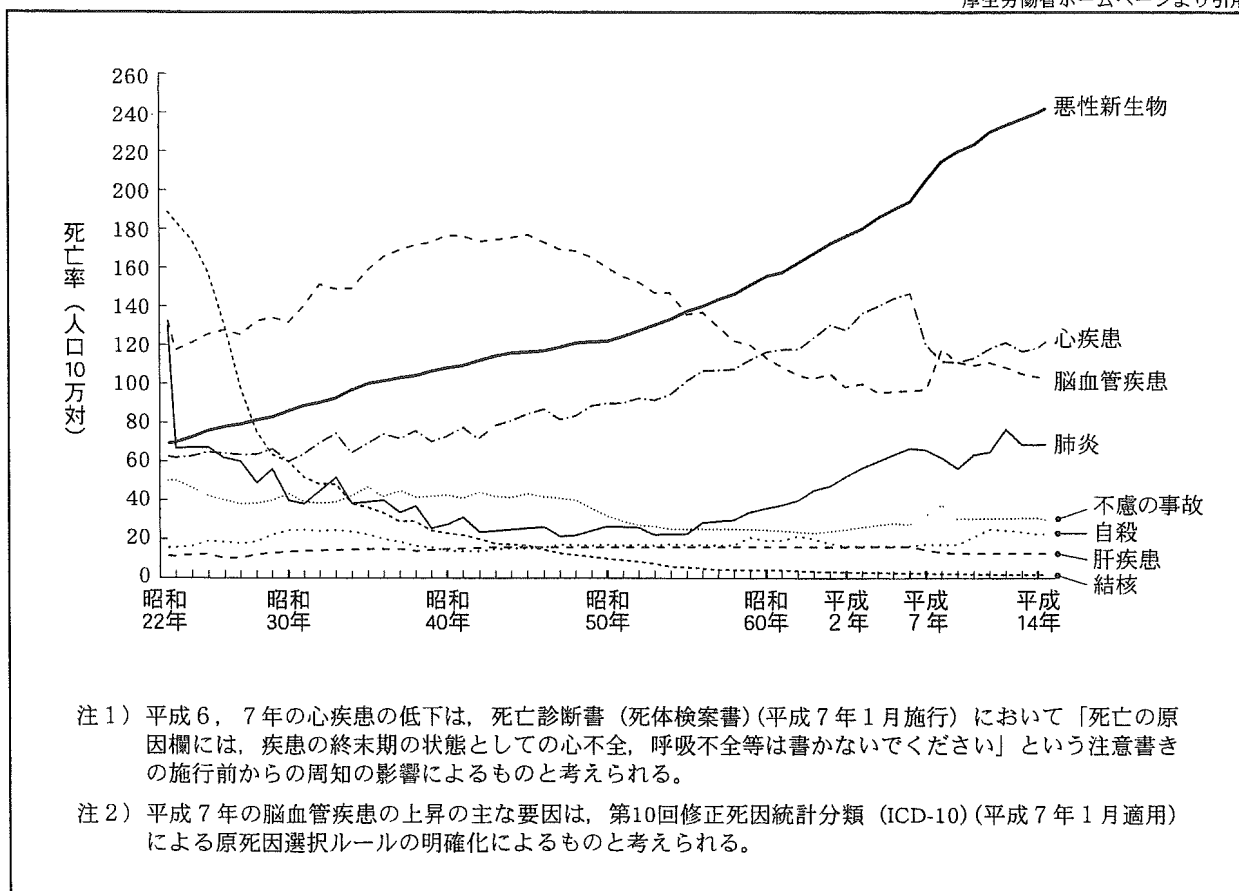


図2 主要死因別死亡率の年次推移

2) 急性腹症

高齢者に好発する病変のなかには、急性腹症を呈し、緊急手術の対象となるものが多い。症状が非定型的であることや、疾患によっては当初症状が軽く、その後に急速進展するものが多いこと、家族もしくは隣人へ遠慮したり、うまく伝えられなかったりすることなどにより、受診が遅れ、病状がかなり悪化してから発見されることが稀ではない。①腸管の癒着や絞扼および悪性腫瘍やヘルニア嵌頓によるイレウス、②胆石による胆道疾患、③胃十二指腸潰瘍および小腸・大腸の穿孔や出血、④虫垂炎などが多い。また、⑤急性出血性直腸潰瘍および虚血性腸炎などの血管性疾患も、念頭に置く必要がある。

3) 全身状態の反映

動脈硬化症など的高齢者に頻発する病態により、消化器病変が続発することがある。また、病態に対する薬剤由来の病変も多く、NSAIDsなどの消炎鎮痛剤やステロイドによる潰瘍、抗生物質による偽膜性腸炎や出血性腸炎、抗うつ剤による便秘などがある。高齢者は生理的腎機能低下の状態にあるため、腎臓が主排出ルートとなる薬剤では、投与に極めて慎重でなければならない。

3. 高齢者に多い消化器疾患

高齢者で注意を要する消化器疾患を表2に示す。

表2 高齢者で注意を要する消化器疾患

食道	食道癌 食道裂孔ヘルニア・逆流性食道炎
胃	胃癌 萎縮性胃炎 胃十二指腸潰瘍・急性胃粘膜病変 (AGML)
小腸・大腸	大腸癌 腸閉塞 閉塞性大腸炎 虚血性腸炎 上腸間膜動脈閉塞症・慢性腸管膜動脈性虚血 偽膜性腸炎・出血性腸炎, MRSA腸炎 放射線照射性腸炎 潰瘍性大腸炎・クローン病・腸結核症, 腸放線菌症 大腸憩室症 急性虫垂炎 S状結腸捻転症
直腸・肛門	急性出血性直腸潰瘍 直腸粘膜脱症候群 (孤立性直腸潰瘍症候群) 直腸脱 排便障害 (便失禁・便秘)
胆道	胆嚢癌・胆管癌 胆石症 (胆嚢内, 胆管内, 肝内)
膵	膵癌 粘液産生性腫瘍・膵管内乳頭腫瘍 慢性膵炎・急性膵炎
肝	原発性肝癌 急性肝炎・慢性肝炎・肝硬変 薬剤性肝障害
ヘルニア	閉鎖孔ヘルニアなどの内ヘルニア 鼠径ヘルニア 腹壁瘢痕ヘルニアなど

次に、代表的な疾患に対する留意点を述べる。

1) 逆流性食道炎

逆流防止機構が破壊されて起こる。食道側にびらん・潰瘍が出現し、胸やけ、食後の狭窄感、胸骨下の疼痛を生ずる。食道裂孔ヘルニアの合併頻度が高い。高齢者では無症状のことも多く、重症かつ難治になり、吐・下血で発見されることも多い。

2) 胃十二指腸潰瘍

胃体部高位の頻度が多く、しばしば巨大潰瘍となる。萎縮性胃炎の合併も多く、癌の合併に注意を要する。無症候に経過し、顕出血で発見される例が稀でない。穿孔例も多い。合併症（糖尿病・心肺疾患・中枢性疾患・リウマチ・うつ病）を持つものが多く、その合併症治療（NSAIDsなどの消炎鎮痛剤、ステロイド、抗血小板・抗凝固剤など）に起因する潰瘍や出血がみられる。ヘリコバクターピロリ（*H. pylori*）感染があれば、除菌が必要である。

3) 腸閉塞

癒着性以外では、癌によるものが多い。閉鎖孔ヘルニア、S状結腸捻転も考慮する。

4) 虚血性腸炎

急性突発性の腹痛・下血・発熱が三主徴である。60～70%で、動脈硬化・糖尿病・不整脈・心疾患などの基礎疾患があり、壊死型は重症で緊急手術の適応だが、予後不良である。

5) 急性出血性直腸潰瘍

脳血管障害などの重症な基礎疾患を有する寝たきりの高齢者で、突然に発症する無痛性の大量下血を主徴とする疾患である。高率に高血圧と糖尿病の併

存をみる。自然止血する場合もあるが、半数以上は経肛門的結紮や内視鏡的止血が必要となる。

6) 偽膜性腸炎・出血性腸炎 (薬剤関連性腸炎)

抗生物質投与により腸内細菌のバランスが崩れたため、高齢者は若年者に比べて薬剤関連性腸炎のリスクが高く、重症化するものもある。

7) 大腸憩室症

大腸の筋層の萎縮や運動機能の低下を反映して、高齢者では特に左側に発症する頻度が高くなる。憩室炎や出血、穿孔などにより、外科手術が必要となることは稀ではない。

8) 排便障害（便失禁・便秘）(表3)

糞便嵌頓によることもあり、寝たきりの高齢者で

表3 排便障害

<p>1. 便失禁の原因</p> <p>①痴呆：中枢神経障害か、単に排便に注意を払わなくなったことによる</p> <p>②神経障害 直腸肛門の感覚低下 直腸肛門反射障害 恥骨直腸筋・外括約筋の萎縮 消化管の神経障害（糖尿病患者）</p> <p>③直腸肛門障害 直腸脱 痔疾患 肛門手術の既往、分娩の既往 直腸癌</p> <p>④糞便嵌頓</p> <p>⑤下痢</p> <p>⑥下剤乱用</p> <p>2. 便秘の原因</p> <p>①食事が少ないこと</p> <p>②運動不足</p> <p>③薬剤 パーキンソン病薬 三環系抗うつ剤 カルシウム拮抗薬 など</p> <p>④大腸癌</p>
--

日本医師会編、橋本肇他編：介護保険と高齢者医療、高齢者の病態と治療・ケア、P.162、グロビュー社、1997より引用、改変

は時々肛門診を行い、予防することも必要である。
大腸癌による便秘も考慮する。

9) 胆石症

コレステロール比率低下による催胆石性胆汁も一因である。胆嚢排泄能や十二指腸乳頭括約筋機能の低下により、逆行性感染を起こしやすい。総胆管結石の頻度が高い。急性化膿性胆管炎は高齢者に多いが、典型症状（右上腹部痛・発熱・黄疸：Charcot三徴）は示さず、食欲低下、元気がないなどの漠然とした症状で発症することがしばしばである。

10) 急性膵炎・慢性膵炎

アルコール性が少なく、総胆管結石によるものや特発性が多い。見かけ上軽症でも、常に重篤化を考え、細やかにかつ頻回の観察・管理が必要である。高齢者では多臓器不全を合併することが多く、重症例が多い。

11) 急性肝炎

黄疸で発症することが多い。遷延・慢性化しやすく、時に劇症化して致命率が高い。

12) 慢性肝炎・肝硬変

症状や検査所見の異常が乏しく、臨床的に診断されない潜在性肝硬変が多いとされる。高齢者肝硬変の40%以上は、肝癌を合併するといわれている。

13) 薬剤性肝障害

高齢者では頻度が高く、肝障害高齢患者はまず薬剤性の可能性を考慮すべきである。

おわりに

以上、高齢者の診療・看護上の留意点や高齢者に多い消化器疾患に関して総論的に述べた。次回からは、高齢者の外科手術に関してより具体的に説明していく予定である。

引用・参考文献

- 1) 中澤三郎：老年者に対する特性と適正治療のガイドライン，老年消化器病，Vol.6，No.2，P.99～105，1994.
- 2) 並木正義：吐血・下血，日老医誌，Vol.27，No.6，P.675～679，1990.
- 3) 折茂肇：老年医学の現状と将来の展望，日老医誌，Vol.29，No.1，P.1～9，1992.
- 4) 日本老年医学会編：老年医学テキスト，P.224～226，メジカルビュー社，1999.
- 5) 厚生労働省ホームページ
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai02/deth.html#3-2> (2004年2月27日閲覧)
- 6) 日本医師会編，橋本肇他編：介護保険と高齢者医療，高齢者の病態と治療・ケア，P.161～165，グロビュー社，1997.

日総研消化器外科看護セミナーのご案内

栄養サポートチーム(NST)による介入で、
早期回復を目指す看護師・(管理)栄養士対象セミナー

「食道がん」「胃がん」手術の 術後管理とNST

指導講師：山中英治氏 市立岸和田市民病院 外科医長

福岡 平成16年6月19日(土)

10:00～16:00

会場：福岡JJホール (第7岡部ビル10階
日総研専用研修室)

福岡市博多区博多駅前2-20-15
☎<092>414-9311

参加料(税込) 一般 17,000円

本誌年間購読者(個人会員) 14,000円

★ 詳しくは www.nissoken.com ★ お申し込みは ☎ 0120-054977 cs@nissoken.com