

that transforming growth factor β (TGF- β), a potent cytokine which facilitates fibrosis, is produced from cells such as fibroblasts and macrophages,¹⁵⁾ and that the production of inducible nitric oxide synthetase (iNOS) is suppressed by TGF- β ^{16~18)}.

In this study, the serum levels of the final metabolites of NO, i.e., the nitrite/nitrate balance (NOx), and TGF- β_1 were determined, and their correlations with the severity of sepsis associated with diffuse peritonitis were investigated.

Materials and Methods

The study was conducted after obtaining the consent of each of the participants and their family members and with the approval of the Ethics Committee of Iwate Medical University School of Medicine.

Thirty-eight sepsis patients associated with diffuse peritonitis were enrolled for the study. The patients consisted of 27 men (aged 58 ± 14 years) and 11 women (aged 61 ± 13 years). There was no significant difference in the mean age of the patients between the male and the female group. The diagnosis of sepsis and MODS was conducted according to the criteria for the diagnoses established by the College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine¹⁹⁾.

Out of the total number of patients enrolled in the study, 22 patients survived (surviving group) and 16 patients eventually died (deceased group); 21 patients had complicating MODS and 17 patients did not have this complication.

Blood samples for the NOx determination were collected in endotoxin-free blood sampling tubes. The tubes were centrifuged immediately after the collection at 3000 rpm for 15 minutes, and serum specimens were prepared. Blood samples for the TGF- β determination were collected in blood sampling tubes containing ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA). The

tubes were centrifuged at 3000 rpm for 30 minutes at 4°C, and serum specimens were prepared. All specimens were stored at -80°C until the analysis.

NOx was determined with an autoanalyzer (TCI-NOx 1000; Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., Tokyo, Japan), based on the Griess method after deproteinization of the plasma. The normal NOx was 38.3 ± 19.1 mmol/L.

TGF- β_1 was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MA, USA), and the detection limit was 7 pg/mL. The normal TGF β_1 was 1.56-3.24 ng/mL. TNF- α was determined by ELISA (Medgenix Diagnostics, Fleurus, Belgium), and the detection limit was 3 pg/mL. TNF- α is normally not detected in the serum (below the detection limit).

All the data were expressed as mean \pm standard deviation (SD). Significant differences were analyzed by non-matched Wilcoxon test, and the correlation coefficients were obtained using Pearson's formula. Differences at $p < 0.05$ were considered significant.

Results

While the maximum NOx in the deceased group was significantly higher than that in the surviving group (251.4 ± 253.4 mmol/L vs. 77.1 ± 25.9 mmol/L, $p < 0.0001$) (**Figure 1**), the maximum TGF- β_1 was significantly higher in the surviving group than that in the deceased group (18.3 ± 6.5 ng/mL vs. 13.8 ± 4.5 ng/mL, $p = 0.00237$) (**Figure 2**). The maximum TNF- α in the deceased group was significantly higher than that in the surviving group (87.0 ± 44.2 pg/mL vs. 174.9 ± 11936 , $p = 0.0187$).

There was a significantly positive correlation between the TNF- α and NOx ($r = 0.3623$, $p = 0.0254$), and a significantly negative correlation between the NOx and TGF- β_1 ($r = -0.4816$, $p = 0.0022$). No significant correlation was detected between TNF- α and TGF- β_1 .

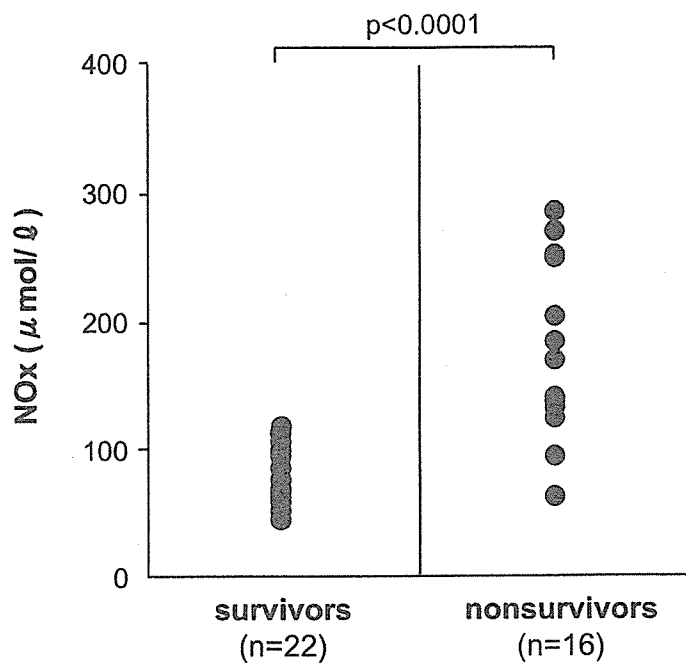


Fig. 1 NOx was significantly higher in the deceased group than in the surviving group.

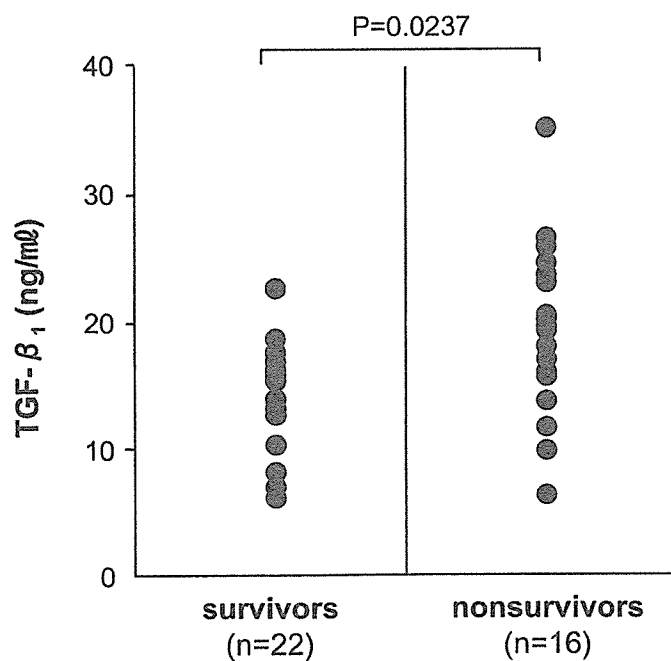


Fig. 2 TGF- β_1 was significantly higher in the surviving group than in the deceased group.

The NOx in the group with MODS was significantly higher than that in the group without MODS (216.3 ± 229.0 mmol/L vs. 69.3 ± 21.1 mmol/L, $p < 0.0001$). TGF- β_1 in the group

with MODS was significantly lower than that in the group without MODS (14.3 ± 5.4 ng/mL vs. 19.0 ± 6.0 ng/mL, $p = 0.0174$). TNF- α in the group with MODS was significantly higher than

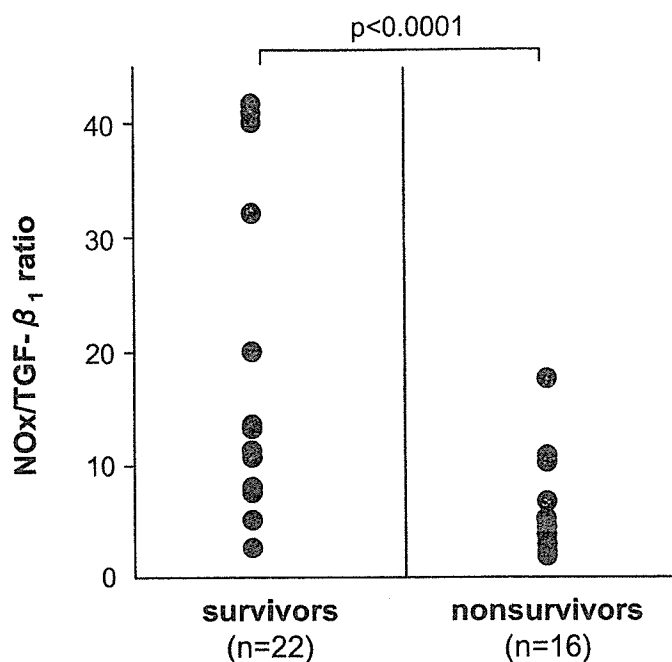


Fig. 3 The NOx/TGF- β_1 ratio was significantly higher in the deceased group than in the surviving group.

that in the group without MODS (161.5 ± 106.6 pg/mL vs. 77.7 ± 46.1 pg/mL, $p = 0.0025$).

The NOx/TGF- β_1 ratio in the deceased group was significantly higher than that in the surviving group (17.3 ± 13.7 vs. 5.3 ± 4.0 , $p = 0.0001$) (Figure 3).

Discussion

We have reported previously that numerous factors are involved in the severity of the morbid condition in cases of diffuse peritonitis^{20, 21}. In particular, it has been reported that the complication of sepsis has considerable influence on the morbidity and prognosis in a patient with diffuse peritonitis. Many humoral factors are produced in the presence of sepsis. Significantly, the production of NO has been reported to be strongly correlated with the severity of the morbid condition in sepsis^{22~26}.

It was demonstrated in a recent study that the fatality rate among mice administered endotoxin was reduced by the administration of TGF- β , which suppresses NO production. TGF-

β has an inhibitory action on the production of iNOS mRNA by interferon- γ ^{16~18}.

In the present study, while the NOx was high, TGF- β_1 was low in the deceased group and in the group with MODS. These observations suggest that production of TGF- β_1 from various cells is suppressed by excessive stimulation of inflammation, which is associated with unabated NO production; accordingly, the severity of the morbid condition also worsens.

Our results thus suggest that the severity of the morbid condition in cases of sepsis is significantly influenced by the NOx and TGF- β_1 . The reasons for the changes in the serum levels of TGF- β remain unknown. Future studies must be conducted to investigate the mechanisms underlying the changes in TGF- β , including investigation of the differences among TGF- β -producing cells and the different substances inducing its production, and the host factors associated with the onset of the morbid condition in cases of sepsis.

Acknowledgement

This paper received the special research grants for development of characteristic education by The Promo-

tion and Mutual Aid Corporation for Private Schools of Japan, and Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

References

- 1) Takakuwa, T., Endo, S., Hakae, H. et al.: Plasma levels of TNF- α , endothelin-1 and thrombomodulin in patients with sepsis. *Res Commun Chem Pathol Pharm* **84** : 261 - 269, 1994.
- 2) Endo, S., Inada, K., Ceska, M. et al.: Plasma interleukin 8 and polymorphonuclear leukocyte elastase concentrations in patients with septic shock. *J Inflamm* **45** : 136 - 142, 1995.
- 3) Endo, S., Inada, K., Hakae, H. et al.: Blood levels of endothelin-1 and thrombomodulin in patients with disseminated intravascular coagulation and sepsis. *Res Commun Molecul Pahol Pharmacol* **90** : 277 - 288, 1995.
- 4) Endo, S., Inada, K., Kasai, T. et al.: Levels of soluble adhesion molecules and cytokines in patients with septic multiple organ failure. *J Inflamm* **46** : 212 - 219, 1996.
- 5) Beutler, B., Milsark, I.W., Cerami, A.: Cachectin/tumor necrosis factor: production, distribution, and metabolic fate in vivo. *J Immunol* **35** : 3972 - 3977, 1985.
- 6) Tracey, K.J., Beutler, B., Lowry, S.F. et al.: Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* **234** : 470 - 474, 1985.
- 7) Michie, H.R., Maogue, K.R., Spriggs, D.R. et al.: Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med* **318** : 1482 - 1486, 1988.
- 8) Waage, A., Brandtzaeg, P., Halstensen, A. et al.: The complex pattern of cytokine in serum from patients with meningococcal septic shock. *J Exp Med* **169** : 333 - 338, 1989.
- 9) Wakabayashi, G., Gelfand, J.A., Burke, J.F. et al.: A specific receptor antagonist for interleukin-1 prevents *Escherichia coli*-induced shock in rabbits. *FASEB J* **5** : 338 - 343, 1991.
- 10) Endo, S., Inada, K., Inoue, Y. et al.: Two types of septic shock classified by the plasma levels of cytokines and endotoxin. *Circ Shock* **38** : 264 - 274, 1992.
- 11) Endo, S., Inada, K., Ceska, M. et al.: Plasma interleukin 8 and polymorphonuclear leukocyte elastase concentrations in patients with septic shock. *J Inflamm* **45** : 136 - 142, 1995.
- 12) Furgott, R.F.: Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrate: the basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. In "Vasodilatation" (Vanhoutte PM, ed), Raven Press, New York, 1988, pp 401 - 414.
- 13) Palmer, R.M.J., Ferrige, A.G., Moncada, S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* **327** : 524 - 526, 1987.
- 14) Ignarro, L.J., Ferrige, A.G., Buga, G.M. et al.: Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* **60** : 82 - 92, 1987.
- 15) Border, W.A. and Noble, N.A.: Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* **331** : 1286 - 1292, 1994.
- 16) Schini, V.B., Durante, W., Elizondo, E. et al.: The induction of nitric oxide synthase activity is inhibited by TGF- β_1 , PDGFAB and PDGFBB in vascular smooth muscle cells. *Euro J Pharmacol* **216** : 379 - 383, 1992.
- 17) Gilbert, R.S. and Herschman, H.R.: Transforming growth factor β differentially modulates the inducible nitric oxide synthase gene in distinct cell types. *Biochem Biophys Res Commun* **195** : 380 - 384, 1993.
- 18) Vodovotz, Y., Bogdan, C., Paik, J. et al.: Mechanisms of suppression of macrophage nitric oxide release by transforming growth factor β . *J Exp Med* **178** : 605 - 613, 1993.
- 19) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: Definitions for sepsis and

- organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* **101** : 1644 - 1655, 1992. / *Crit Care Med* **20** : 864 - 874, 1992.
- 20) Kitamura, M., Endo, S., Sato, N. et al.: Evaluation of interleukin 18 and sFas levels in multiple organ dysfunction syndrome associated with diffuse peritonitis. *Crit Care & Shock* **42** : 154 - 158, 2004.
- 21) Kitamura M, Endo S, Sato N, et al. Increase in the plasma nuclear matrix protein (NMP) level in patients with septic multiple organ dysfunction syndrome associated with generalized peritonitis. *Medical Postgraduates* **42** : 279 - 283, 2004.
- 22) Endo, S., Inada, K., Yamada, Y. et al.: Functional modification of vascular endothelial cells by cytokines during septic shock. *Res Commun Molecul Pathol Pharmacol* **91** : 23 - 38, 1996.
- 23) Endo, S., Inada, K., Nakae, H. et al.: Nitrite/nitrate oxide (NOX) and cytokine levels in patients with septic shock. *Res Commun Molecul Pathol Pharmacol* **91** : 347 - 356, 1996.
- 24) Nakae, H., Endo, S., Inada, K. et al.: Nitrite / nitrate (NOx) and type II phospholipase A2, Leukotrienes B, and platelet - activating factor levels in patients with septic shock. *Res Commun Molecul Pathol Pharmacol* **92** : 131 - 139, 1996.
- 25) Takakuwa, T., Endo, S., Inada, K. et al.: Assessment of inflammatory cytokines, nitrate/nitrite, type II phospholipase A2, and soluble adhesion molecules in systemic inflammatory response syndrome. *Res Commun Molecul Pathol Pharmacol* **98** : 43 - 52, 1997.
- 26) Nakae, H., Endo, S., Kikuchi, M. et al.: Nitrite/nitrate (NOx) levels and myocardial function during septic shock. *Surgery Today* **30** : 683 - 688, 2000.
-

敗血症と生体反応(11)

遠藤 重厚*
Shigeatsu Endo

佐藤 信博*
Nobuhiro Sato

八重樫泰法*
Yasunori Yaegashi

伊藤 頼子*
Yoriko Ito

北村 道彦**
Michihiko Kitamura

要 旨

敗血症の心機能に及ぼす影響は多くの研究で対象とされてきたが、未だ十分には理解されていない。実験的研究により、心機能不全の菌種や菌量への依存性に関するエビデンスが示されている。ヒトにおける敗血症に関する心機能不全は、関与する細菌とは無関係であると思われる。

敗血症における心機能不全に関する病態生理を理解することについては、それらの知識がより有効な治療に役立つことから、近年多くの進展がみられた。本項の目的は、敗血症における心機能変化についての複雑な問題に関して、新たな重要な洞察が得られた、最近の実験的および臨床的研究を分析することである。

Key words : 敗血症, 心機能, 治療

11. 敗血症と循環

1. はじめに

敗血症は、ますます重要性が増している臨床問題の一つであり、抗菌療法の著しい進歩にも関わらず、重症疾患における死亡の主要な原因の一つである¹⁾。

重症敗血症や敗血症性ショックの管理には、速やかで徹底した早期の診断と、敗血症の原因に対する治療と適切な抗菌療法を行うとともに集中治療管理が必要とされる。初期救急蘇生が完了し、診断が確立すると、引き続き臓器機能不全に十分注意を払いながら、感染症問題における根本的な治療が施行される。

集中治療が一般に行われるようになる以前は、グラム陰性菌が原因の敗血症性ショック患者の

90%以上が死亡していた。心調律、血圧、心機能、酸素供給を継続的にモニターすることができるようになり、現在ではそれらの症例の生存率は約50%まで低下したといわれる¹⁾。

敗血症の心機能に及ぼす影響は多くの研究が行われてきたが、未だ十分には理解されているとはいえない²⁾。実験的研究により、心機能不全の菌種や菌量への依存性に関するエビデンスが示されているが^{3, 4)}、ヒトにおける敗血症に関する心機能不全は、関与する細菌とは無関係であると思われる^{1, 2)}。

敗血症における心機能不全に関する病態生理を理解することは、それらの知識がより有効な治療に役立つことから、近年多くの進展がみられた。ここでは、敗血症における心機能変化についての複雑な問題に関しての知見を述べたい。

Shigeatsu Endo et al.: Sepsis and pathophysiology.

*岩手医科大学医学部 救急医学 **岩手県立胆沢病院 外科

2. 心機能不全について

a. 左室収縮機能

敗血症の血行動態は、頻脈、心拍出量の増加、および全身血管抵抗の低下により特徴付けられることが広く認識されている。心臓は敗血症患者において最後に機能しなくなる臓器系の一つで、究極的に死に結び付くと伝統的に信じられている。実際には、ヒト敗血症における心機能不全の初期の徴候の一つとして、死亡例において見かけ上の適切な中心静脈圧にも関わらず心拍出量が死亡前に低下することからも明らかとなっている。心機能不全が敗血症の症候の一部であるかどうかに関わらず、心拍出量の低下は心機能不全を鋭敏に反映するものではない^{1,2)}。

ヒトの敗血症において心拍出量が増加した場合でも、一回拍出仕事量に反映される心機能は血压低下と一回拍出量の減少のため通常低下している。敗血症患者の左心室機能曲線（肺動脈楔入圧または輸液投与時の容積に対する一回拍出仕事量）は右下方に移動していることが、多くの研究により明らかにされている。通常、左心室機能曲線は、生存例では正常状態に戻るが、死亡例では強心薬治療にも関わらず下方に移動したままである¹⁾。例えば、血管造影法を用いて左心室一回拍出仕事量と拡張末期容積の関係をプロットした場合、敗血症患者では対照例に比べて勾配が小さいことが、Ognibeneら⁵⁾により確認された。正常血压の敗血症患者においても早期心機能不全がみられる可能性がある。エンドトキシン負荷ヒトボランティアにおいても、左心室一回拍出仕事量とその拡張末期容積との関連性は低下している⁶⁾。

放射線および心エコー検査法で認められる左心室駆出分画の低下は^{7,8)}、主に敗血症における心機能不全に関連していると考えられる。健常ボランティアのエンドトキシン血症においても左心室駆出分画は低下する⁶⁾。また、死亡例における収縮機能低下の影響は左心室後負荷が低下することで相殺されていると考えられることから、非生存例より生存例の駆出分画が低値であることが説明されると考えられる。敗血症早期の左心室駆出分画の低下は、生存例では可逆性であることが明らかになっている^{7,8)}。

負荷状態による影響が最も少ないことから収縮

性の変化に最も特異的であると考えられる収縮機能の係数は、収縮末期圧－容積関係曲線の勾配である。この変化は可逆性である。左心室収縮機能の変化は早期にみられる現象であり、ショックの前にも発生する。既に発生してしまった敗血症性ショックも、左心室収縮末期圧－容積の関係曲線が著明に下方に移動することにより特徴付けられる⁹⁾。

b. 左心室拡張の特性

左心室収縮機能が大きく低下した場合でも心拍出量が比較的高値で維持されているのは、敗血症における全身性血管拡張（後負荷減少）と左心室拡張（前負荷増加）の両方に起因すると考えられる⁵⁻⁹⁾。拡張は、コンプライアンスの上昇、即ち所定の圧に対する拡張末期容積の増加の結果と考えられている。ヒトボランティアにおいてエンドトキシンを注入投与すると左心室コンプライアンスが上昇し、そのため左心室収縮機能が低下しても心拍出量は左心室が拡張することにより増加し得る⁶⁾。逆に言うと、左心室コンプライアンスの上昇は、体液負荷時に最大心拍出量に達するために必要な肺動脈楔入圧は、心臓患者における最大心拍出量に必要と考えられる値の18mmHgより低いということを示唆していると考えられる。敗血症における至適肺動脈楔入圧は12～16mmHgであることが明らかにされているが、特に冠動脈疾患が併存する場合には、より高い楔入圧を報告されている¹⁰⁾。前負荷増加に対する心拍出量の反応は、左心室の収縮および拡張特性のレベルにより敗血症患者それぞれで異なると考えられる。

しかし、特に既に冠動脈疾患を有していた症例では、左心室コンプライアンスは上昇せず低下するというドップラー心エコー検査による充満速度測定の根拠についても議論がなされている⁸⁾。拡張末期の容積と圧には有意な関連性はないという点から、左心室コンプライアンスは横断的研究における個々の患者で正常以上から正常以下まで変動すると考えられる^{8,11)}。これらのことから、左心室コンプライアンスと拡張末期容積は敗血症においては正常と考えられ、初期相では増加し末期相前に再び減少すると考えられる⁸⁾。

3. 右心室機能

敗血症では肺動脈圧上昇と右心室駆出分画低下との間の関連性は比較的少ないと考えられるが、内在性心収縮能の低下の他に右心室後負荷の上昇のために心機能が低下する可能性がある^{6, 8, 12~14)}。

生存症例において、右心室駆出分画は肺高血圧や呼吸不全のない患者の方がそれらの症候を有する患者よりも改善されることが多いことが明らかになった。一方、臨床状態の悪化は駆出分画の著明な変化を伴わない著しい右心室拡張と関連している。後負荷上昇に基づく右心室機能障害が敗血症誘発性の心収縮性低下に重ね合わさると考えられる^{13, 14)}。事実、右心室機能障害は肺高血圧や右心室後負荷上昇よりも、左心室機能障害やその結果生じる敗血症誘発性心収縮性低下に関連していることが認められている。

さらに、右心室拡張により壁張力と酸素要求量も増強される^{6, 8, 12~14)}。右心室冠動脈灌流は左心室のように拡張期に限定されず、生理的条件下では収縮期および拡張期の両方で起こり、動脈血圧が低下した場合には特に収縮期に制限されるようになると考えられる。従って、酸素供給量と要求量のアンバランスが結果として起こり、酸素要求量が肺動脈圧の上昇を伴わない場合は、全身性動脈圧の上昇により転換されと考えられる¹²⁾。このことにより、右心室駆出分画の低下が正常血圧状態の敗血症よりも敗血症性ショックで大きい理由が説明されと考えられる¹⁴⁾。

肺高血圧症や右心機能低下のいずれかがある場合の激しい容積拡大は、右心室過剰拡張および左心室前負荷低下と心拍出量低下を伴う心室中隔の左方への移動の原因となる可能性が示唆されることから、これらの所見は治療上重要である。*Schneider*ら¹²⁾は、肺高血圧を伴う敗血症性ショック患者の多くでは、急速容積注入は右心室で適応され両心室機能が増強されることを明らかにした。しかし右心室拡張と冠動脈灌流圧低下を伴う患者では、容積負荷により左右の充満圧は上昇するが前方流量は増加しない。それらの敗血症患者の蘇生法の第一段階は容積負荷ではなく冠灌流圧を上昇させるための昇圧カ

テコールアミンの注入と考えられる。

敗血症の心機能不全は、心疾患が存在する場合にはより重篤となる可能性がある¹¹⁾。つまり、心拍出量の上昇が動脈血管拡張に直面した血圧維持に不十分である場合、心機能不全は血圧低下の原因になると考えられる。身体の酸素取り込み量が正常状態より非常に広範囲にわたって酸素供給量に依存しているとすると、心機能不全は組織虚血の原因にもなると考えられ、心拍出量が比較的大きくても組織酸素要求量に対応するには不十分である可能性がある。

4. 敗血症誘発心機能不全の機序

敗血症において心機能不全をもたらす機序に関しては、多くの推測がなされており、関与する主要機序については未だ意見の分かれるところである。

a. ヒトにおける冠灌流と心筋代謝

冠灌流量低下と心筋代謝異常が心機能低下の原因であるという仮説を検討するために、持続注入熱希釈法を用いてヒト敗血症および敗血症性ショックにおける冠血流量の研究が行われている^{15, 16)}。*Cunnion*ら¹⁵⁾により検討された敗血症患者全7例において特に心拍数が高値の場合、また、*Dhainaut*ら¹⁶⁾により報告された敗血症患者40例のほとんどで特に死亡例において、冠状静脈洞の血流量が対照に比較して増加していた。冠血流量は、労作負荷時の対照例より敗血症例においてより多いと考えられる¹⁶⁾。さらに、動脈-冠状静脈洞の酸素含有量の差および心筋酸素摂取量はほとんどの患者で低かった。心筋酸素消費量は通常は正常であるが、問題は心臓の代謝的要求を満たすために適切かどうかということである。事実、心筋は所定の基質酸化や仕事負荷のために正常より多くの酸素を消費すると考えられる。代謝および収縮性の効率が悪いと考えられ、従って心臓の脆弱性が増している¹⁶⁾。

しかし、これらの研究では乳酸の正味の生成量は観察されておらず、総体的な心筋虚血を論じている¹⁴⁾。しかし、これは血流の不均衡分布に続く限局性虚血を無視することにはならない。実際、心筋による乳酸摂取量は比較的少ない。

重症の動脈圧低下、心拍出量低下、および酸素摂取量に対する冠血流量の代償性増加がみられないことで特徴付けられる敗血症性ショック患者のサブセットでは、一部研究者により、心臓で乳酸が生成され、従って総体的冠血流量が代謝的要求を満足させるには不十分であったことが、認められている。

in vitroモデルにおいて報告されたエンドトキシンに関連した心筋の遊離脂肪酸および乳酸摂取量の変化は、敗血症性ショック患者のものと全く同様である。敗血症性ショックにより誘発される心筋の基質摂取量の変化は、脂質および乳酸の代謝に限定されなかった。グルコースおよびケトン体の心筋による取り込み量も特に非生存例では少なかった。さらに、敗血症患者、特に死亡例において実測した心筋酸素消費量と、一般に入手可能な外因性基質より化学的に算出した量との間には差異が認められた。別の外因性基質からの未確認の反応というあまり見込みのない可能性を除くと、この差異は心筋による内因性基質の使用が著明に増加していることを示唆している。心筋の糖質エネルギー貯蔵量は骨格筋に比べ著明に少ない。さらに外因性基質非存在下での灌流単離心臓は、衰弱や著明な内因性脂質枯渇なしでは長時間の収縮性を維持できないことが明らかにされている。心筋が内因性貯蔵物質をそのように使用することが進行性の心機能低下の根底にあると考えられる。代謝異常と敗血症性心機能不全の可能な関連性を明確にするには更なる研究が必要である。

b. 強心性刺激に対する心臓の反応性低下

心機能不全の徴候である、敗血症により誘発される交感神経系の活性化に続くカテコールアミン循環血液中濃度の上昇は知られているが、内因性および外因性の強心性カテコールアミンに対する感受性の低下が報告されている。敗血症性ショックの非生存例は生存例と同様の心拍出量の経過を示すが、これは高用量のカテコールアミンをもってのみ達成される。ドブタミン投与時の所定の肺動脈楔入圧での左心室一回拍出量の増加は敗血症患者では正常値以下であり、敗血症性ショック時には更に減少し、また循環リンパ球における β -アドレナリン受容体刺激に対するcAMPの反応低

下と関連している²⁾。Böhmら¹⁷⁾により敗血症におけるカテコールアミン抵抗性の心臓はアドレナリン受容体刺激のセカンドメッセンジャーであるcAMPの合成を制御する抑制性G-タンパクの発現増加と関連していることが認められた。敗血症で放出されることが知られている幾つかの体液性メディエーターが、カテコールアミン反応性を低下させると考えられ、それにはTNF, IL-1, NOが含まれる¹⁸⁾。

c. 液性因子の役割

敗血症時に放出される心機能に悪影響を及ぼすと考えられる幾つかの体液性因子があるが、ある因子の他の因子に対する相対的な重要性や産生に関するそれらの相互関係は不明なままであり、論議が行われている問題である^{1, 2)}。

多くの研究者により、敗血症患者由来の血漿にはラット心臓やin vitroにおける心筋細胞の自発収縮に陰性強心作用があることが明らかにされている^{1, 19)}。不確かではあるが、この陰性強心作用は心筋への酸素供給の潜在性変化とは無関係であり、左心室駆出分画の低下は添加された敗血症患者由来血漿中に存在する“心筋機能抑制物質”の量に対応する¹⁹⁾。

無処理左心室および分離心筋細胞において、TNFは、情報伝達におけるG-タンパクを介する異常やc-AMPの減少を引き起こし、これによりカテコールアミン非感受性と濃度依存性の陰性強心作用の両方が説明される²⁰⁾。抗TNFモノクローナル抗体は敗血症患者の心機能を増強する可能性があり、敗血症誘発心筋機能低下におけるTNFの役割に支持をするものであろう。最後に、内皮細胞と心筋細胞の両方で、エンドトキシン、前炎症性サイトカイン、活性化マクロファージに反応して放出される神経終末-器官メディエーターであるNOも、分離心筋細胞の機能障害やアドレナリン性作用薬に対する感受性の低下を部分的に介すると考えられる¹⁸⁾。しかし、NO産生のための一酸化窒素シンターゼ (NOS) に対して天然L-アルギニンと拮抗するL-アルギニン類似物質のin vivo投与では敗血症誘発心機能低下は通常改善されず²¹⁾、NOはin vivoにおけるこの臓器機能不全に役割を果たさないと考えられることが示

されている。更に、サイトカインの陰性強心作用が、心筋中NOおよびcGMPの増加によりある程度決定されるかについては、意見の分かれるところである²⁰⁾。

5. 敗血症における心機能不全の治療

敗血症性ショックの血行動態変化は、心機能不全、循環血液量減少、末梢血管拡張、および局所血流分布の変化の併発を招き、組織灌流の異常につながる¹⁾。敗血症治療の第一は大量輸液療法である。容積拡大により全身的（および局所的）酸素供給が修復できない場合のみ、心機能を適切な働きに修復するためだけでなく敗血症誘発高酸素要求量を考慮して臓器灌流圧あるいは局所血流を修復するために強心性および血管作用性薬剤を適用する²²⁾。

a. 治療目標

1) 酸素供給、乳酸およびpHi

適正な酸素供給を維持することが敗血症患者管理における重要な治療目標であることは、一般に認められている。敗血症における適正すなわち最適レベルの酸素供給量とは、代謝的必要量の増大と効果的酸素摂取が恐らく低下しているために、正常な生理学的状況下で必要とされる量よりも高いと推測される²⁾。

しかし、敗血症性ショックにおける酸素供給の適正性の意味を明確にしモニターするための適切な方法については、大いに議論があるところである。敗血症における臓器機能不全は、細胞エネルギーの枯渇の結果として発生するという概念は興味をそそるが、これは未だに実証不十分な仮説である。従って、敗血症患者において酸素供給量を高レベルまで高めることで死亡率が抑制されるとするのは時期尚早と思われる²³⁾。

全身酸素供給量を600mL/分/M²以上に維持することを目的とした静脈内輸液と強心性薬剤の適用の観点から心拍出量と動静脈酸素含有量をモニターすることは必要であると思われる。乳酸濃度、動静脈CO₂含有量の差などの組織低酸素症の全体的指標は、血行動態的蘇生法の有効性を判断するためのその後の根拠に使用することができる。内圧測定法による胃粘膜内pH測定などの局

所組織酸素化の指標は、治療指針として役立つと考えられる²⁴⁾。

2) 心充満圧および容積

肺動脈楔入圧は、通常左心室前負荷を評価するために測定される。最適充満圧は、それ以上では左室一回拍出仕事量が更に増大しない肺動脈楔入圧と規定されることが多い。この充満圧のレベルは12~15mmHgの範囲にあると思われるが、個体差が大きい。更に、左右心室の充満圧はそれぞれ左右心室の拡張末期容積と相関していない^{2, 22)}。肺動脈楔入圧は最適左心室前負荷の評価においてそれほど価値がなく、実際には誤りを招く可能性があることは明白である。一方、現在のところは肺動脈楔入圧が臨床診療における唯一の実行可能な測定法であり、未だ肺における微小血管濾過作用の重要な決定因子である。

心エコー検査は、ベッドサイドの血行動態評価を容易にするための有用な手段である。心エコー検査により、心室機能および最適心室充満の評価が可能になる。実際には、心エコー検査による心室腔サイズと拡張末期容積の測定により、実際の心室負荷の状態と心室機能に関する信頼できる情報が提供される²⁵⁾。多くの研究者が、侵襲的モニタリングとベッドサイドにおける2次元心エコー検査との併用は、敗血症誘発性の重症心機能不全患者における血行動態モニタリングのより信頼性の高い方法であることを強く示している²⁾。

3) 適正前負荷に関する修復

敗血症患者の治療の第一段階は循環血液量減少の治療である。静脈還流の修復により適正な心室前負荷が得られ、心拍出量と酸素供給量が改善される。循環血液量減少の早期治療により局所血流と微小循環も促進され、従って組織酸素供給が改善される²⁶⁾。臨床試験では、敗血症性ショックにおける輸液としてのクリスタロイドとコロイドの優位性については、不確かな域を超えて明らかにすることはできなかった。コロイド溶液は、血行動態の安定性修復においてクリスタロイドより速やかに作用し、これを達成するのに必要とされる量は実質的に少量である。同様の肺動脈楔入圧では、コロイド投与患者よりもクリスタロイド投与患者で肺浮腫の発生率が高いという指摘もある。どちらかの輸液の適用が転帰に有意な影響を

及ばすかに関する確証はない。

b. 強心性薬および血管作用薬による治療

敗血症性ショックの治療におけるカテコールアミンや他の血管作用薬の適用は、それらの心機能および様々な血管床に及ぼす作用に主に基づいて行われている^{1, 2, 22)}。

1) カテコールアミン類

心循環器系機能や局所血流に及ぼすカテコールアミン類の効果は、様々なカテコールアミン受容体に及ぼすその特異的作用により決定される。

2) ドパミン

ドパミンは、用量依存的に全てのカテコールアミン受容体タイプに作用する。低用量 ($<3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$) では内臓および腎循環の脈管構造を拡張し、ドパミン受容体 DA_1 および DA_2 の刺激により尿量を増加する。 $2\sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ のドパミン (中用量) 適用により、 β_1 受容体刺激による強心作用の増強がもたらされる。より高用量 ($>10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$) では、血管収縮がさらに明白になり、 DA_1 および DA_2 誘発血管拡張が覆され则认为られる。しかし危篤状態の敗血症患者に用いた場合、ドパミンには低用量でも予測不能の強心性および/または血管収縮作用がある可能性を考慮しなければならない。

重症敗血症や敗血症性ショックには心筋収縮性の低下と全身血管拡張があることから、中用量および高用量のドパミンがこのような状態管理のための最適カテコールアミンとして普及している。

ドパミンの有益な特性にも関わらず、敗血症患者の治療薬としての信頼性に関する幾つかの疑いが示されている。第一に、動脈酸素含有量の低下につながる肺内シャントの増大を伴う肺動脈楔入圧の著明な上昇がドパミン投与後しばしば認められている。第二に、全身酸素供給量の増加にも関わらず、 α 受容体を介する血管収縮により実際には、一部の領域への酸素利用能が低下する可能性がある²⁷⁾。

3) ドブタミン

ドブタミンは、弱い α -アドレナリン性刺激により部分的に打ち消される、 β_1 -アドレナリン性作用による心筋収縮性の増強、および β_2 -アドレナリン性刺激による血管拡張を引き起こす。

ドブタミンは、組織灌流障害につながる心室機能不全の症例において、心筋収縮性増強のための最適薬である。心拍出量低下を伴う敗血症性ショック患者においては、強心効果により、心拍出量、および酸素取り込みへの変動的効果と関連した酸素供給量を増加する^{28, 29)}。ドブタミンは、前述のように過剰レベルまで酸素供給量を増加させるために投与することが可能で、ドブタミンを最大 $200 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ までの用量で適用し、過剰な酸素供給を達成した Hayes ら³⁰⁾ が報告したように、妥当な用量 ($<25 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$) を適用することにより心臓への重篤な副作用を避けることが可能である。このような用量では、時には治療不応性の重症頻脈性不整脈が認められる。

ドブタミンはドパミンとは異なり、患者に適切な人工呼吸が行われた場合には肺シャント率は不変であり、 PaO_2 の著明な低下は引き起こさない²²⁾。

4) ノルエピネフリン

ノルエピネフリンは、本来その強力な α_1 -アドレナリン性作用に起因する強力な昇圧薬であるが、 β_1 -および α -受容体刺激により心筋収縮性も増強する。従って、ノルエピネフリンの注入により灌流圧が大幅に低下している場合、敗血症患者における尿量およびクレアチニンクリアランスを増加することができる。

ドブタミンとノルエピネフリンの併用は組織酸素化の点では優れていると認められるが、臓器機能に及ぼす有益な効果を確認しなければならない。

従って、ノルエピネフリンは、通常ドパミンやドブタミンのような他の薬剤により血圧の修復ができなかった場合の二次的追加カテコールアミンであると考えられている。このような場面においてノルエピネフリンは、平均動脈圧、心拍出量、尿量を増大する²²⁾。

5) エピネフリン

エピネフリンは、強力な α -および β -拮抗薬である。低用量エピネフリンは主として β_1 -および β_2 -様作用を有し、血管拡張、心拍出量増加を引き起こす；一方、高用量では、著明な昇圧作用が現れ、脾臓血流量の減少に結びつく²²⁾。

エピネフリンは、カテコールアミンおよび輸液と併用した場合、酸素供給量を増加し、動脈血乳

酸値を低下することも認められている。エピネフリン注入により、全体的な酸素供給や酸素取り込みに及ぼす望ましい作用にも関わらず、肝臓の血流や組織酸素化に障害を招くことより、敗血症におけるエピネフリンの適用は、現在のところ推奨することはできないとの報告もある²²⁾。

6) ドベキサミン

ドベキサミンは、 β_2 -およびドパミン受容体作用を有する新規合成カテコールアミンである。低用量ドパミンと同様に、ドベキサミンは腎および内臓領域への血流を増加することができる。ドパミンとは対照的に、 β_2 -介在性の血管拡張が α_1 -様血管収縮により妨げられない。敗血症性ショック患者では全身血管抵抗を低下させ、心拍出量³¹⁾および肝脾血流量²²⁾を増加させる。

c. 非アドレナリン性物質

最近の研究により、血管拡張性プロスタグランジン (PE) -プロスタサイクリン、 PGI_2 および PGE_1 には、組織灌流だけでなく肺動脈高血圧および心機能にも有益な効果があるというエビデンスが示されている²²⁾。敗血症患者において PGI_2 をドブタミンと比較した場合、酸素供給量の同様の増加が両群で認められ、一方、全身 VO_2 はドブタミン注入時のみ有意に上昇し、血圧低下の点でドブタミンは PGI_2 より良好に忍容された³²⁾。血管拡張性プロスタグランジンの有用性の明確な評価はまだ明らかではなく、重症敗血症における更なる検討が必要である。

1) N-アセチルシステイン

N-アセチルシステインは抗酸化作用を有し、スルフヒドリル基供与体としてNOおよびグルタチオンの再生に寄与すると考えられる。エンドトキシン処理動物および敗血症患者において、心機能および酸素摂取能が改善されると考えられる²²⁾。

2) NO阻害剤

生死に関わる敗血症ショックや、大量輸液およびカテコールアミン治療に無反応な重症難治性低血圧を有する患者では、NOS阻害剤、NG-モノメチル-L-アルギニンによる治療で血圧の用量依存的な上昇が引き起こされることが明らかにされている³³⁾。NOS促進剤および阻害剤の有益および有害作用は、用量および時間依存性であると考えられる²²⁾。しかし、敗血症管理におけるそのような薬剤の正確な役割に関しては多くの未解決の難問がある。

3) ホスホジエステラーゼ阻害剤

ホスホジエステラーゼⅢは心筋中cAMPを分解する。本酵素の阻害（例えばエノキシモンやアムリノンによる）は心臓細胞のcAMPレベルの上昇を招く。アムリノンをノルエピネフリンと併用した場合、エンドトキシン血症ショックモデルにおいて心機能のさらなる増強も認められる³⁴⁾。ホスホジエステラーゼ阻害剤の副作用には、肺シャントの増加と著明な血管拡張がみられる。このような強心性と特に血管拡張性の物質の半減期が長いために、このような薬物の取り扱いが困難になり、従って現時点で推奨することはできない。

文 献

- 1) Parrillo, J.E.: Pathogenic mechanisms of septic shock. *N Engl Med* **328** : 1471 - 1477, 1993.
- 2) Dhainaut, J.F., Le Tulzo, Y., Brunet, F.: Heart failure in septic shock. In: Perret C, Vincent JL, eds., *Acute heart failure*. Berlin: Springer-Verlag 108 - 123, 1988.
- 3) Natanson, C., Danner, R.L., Fink, M.P. et al.: Cardiovascular performance with E. coli challenges in a canine model of human sepsis. *Am J Physiol* **254** : H558 - 569, 1988. 1988
- 4) Natanson, C., Danner, R.L., Elin, R.J. et al.: Role of endotoxemia in cardiovascular dysfunction and mortality. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* challenges in a canine model of human septic shock. *J Clin Invest* **82** : 243 - 251, 1989.
- 5) Ognibene, F.P., Parker, M.M., Natanson, C. et al.: Depressed left ventricular performance. Response to volume infusion in patients with sepsis and septic shock. *Chest* **93** : 903 - 910, 1988.
- 6) Suffredini, A.F., Fromm, R.E., Parker, M.M. et al.: The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med* **321** : 280 - 286, 1989.
- 7) Parker, M.P., Shelhamer, J.H., Bacharach, S.L. et al.: Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med* **100** : 483 - 490, 1984.
- 8) Jardin, F., Brun-Ney, D., Auvers, B. et al.: Sepsis-related cardiogenic shock. *Crit Care Med* **18** : 1055 -

- 1060, 1990.
- 9) Parker, M.M., Ognibierne, F.P., Parrillo, J.E.: Peak systolic pressure/end-systolic volume ratio, a load-independent measure of ventricular function, is reversibly decreased in human septic shock. *Crit Care Med* **22** : 1955 - 1959, 1994.
 - 10) Croeneveld, A.B.J., Bronsveld, W., Thijs, L.G.: Hemodynamic determinants of mortality in human septic shock. *Surgery* **99** : 140 - 152, 1986.
 - 11) Raper, R., Sibbald, W.J.: The effects of coronary artery disease on cardiac dysfunction in monohypotensive sepsis. *Chest* **94** : 507 - 511, 1988.
 - 12) Schneider, A.J., Teule, G.J.J., Groeneveld, A.B.J.: et al.: Biven-tricular performance during volume loading in patients with early septic shock, with emphasis on the right ventricle: a combined hemodynamic and radionuclide study. *Am Heart J* **116** : 103 - 112, 1988.
 - 13) Dhainaut, J.F., Lanore, J.J., De Gournay, J.M. et al.: Right ventricular dysfunction in human septic shock, In: Bond RF, ed. *Perspectives in shock research*. New York: Liss 343 - 348, 1988.
 - 14) Vincent, J.L., Reuse, C., Frank, N. et al.: Right ventricular dysfunction in septic shock: assessment by measurements of right ventricular ejection fraction using the thermodilution technique. *Acta Anaesth Scand* **33** : 34 - 38, 1989.
 - 15) Cunnion, R.E., Schaer, G.L., Parker, M.M. et al.: The coronary circulation in human septic shock. *Circulation* **73** : 637 - 644, 1986.
 - 16) Dhainaut, J.F., Huyghebaert, M.F., Monsallier, J.F. et al.: Coronary hemodynamics and myocardial metabolism of lactate, free fatty acids, glucose, and ketones in human septic shock. *Circulation* **75** : 533 - 541, 1987.
 - 17) Bohm, M., Kirchmayr, R., Gierschik, P., Erdmann, E.: Increase of myocardial inhibitory G-proteins in catechol-amine-refractory septic shock or in septic multiorgan failure. *Am J Med* **98** : 183 - 186, 1995.
 - 18) Balligand, J.L., Ungareanu-Longrois, D., Simmons, W.W. et al.: Cytokine-inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in cardiac myocytes. *J Biol Chem* **269** : 27580 - 27588, 1994.
 - 19) Reilly, J.M., Cunnion, R.E., Bruch-Whitman, C. et al.: A circulating myocardial depressant substance is associated with cardiac dysfunction and peripheral hypoperfusion (lactic acidemia) in patients with septic shock. *Chest* **95** : 1072 - 1080, 1989.
 - 20) Yokoyama, T., Vaca, L., Rossen, R.D. et al.: Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor- α in the adult mammalian heart. *J Clin Invest* **92** : 2303 - 2312, 1994.
 - 21) Petros, A., Lamb, G., Leane, A. et al.: Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock. *Cardiovasc Res* **28** : 34 - 39, 1994.
 - 22) Reinhart, K., Bloos, F., Spies, C.: Vasoactive drug therapy in sepsis. In: Sibbald WJ, Vincent JL, eds. *Clinical trials for the treatment of sepsis*. Berlin: Springer-Verlag 207 - 224, 1995.
 - 23) Fink, M.P.: Whole body and organ measures of oxygen availability. In: Sibbald WJ, Vincent JL, eds. *Clinical trials for the treatment of sepsis*. Berlin: Springer-Verlag 167 - 190, 1995.
 - 24) Gutierrez, G., Palizas, F., Doglio, G. et al.: Gastric intramucosal pH as a therapeutic index of tissue oxygenation in critically ill patients. *Lancet* **339** : 195 - 199, 1992.
 - 25) Jardin, F., Valtier, B., Beauchet, A. et al.: Invasive monitoring combined with 2-D echocardiographic study in septic shock. *Int Care Med* **20** : 550 - 554, 1994.
 - 26) Thijs, L.G.: Fluid therapy in septic shock. In: Sibbald WJ, Vincent JL, eds. *Clinical trials for the treatment of sepsis*. Berlin: Springer-Verlag 167 - 190, 1995.
 - 27) Ruokonen, E., Takala, J., Kari, A. et al.: Regional blood flow and oxygen transport in septic shock. *Crit Care Med* **21** : 296 - 303, 1993.
 - 28) Vincent, J.L., Roman, A., Kahn, R.J.: Dobutamine administration in septic shock: addition to a standard protocol. *Crit Care Med* **18** : 689 - 693, 1990.
 - 29) Mira, J.P., Fabre, J.E., Baigorri, F. et al.: Lack of oxygen supply dependency in patients with severe sepsis. *Chest* **106** : 1524 - 1531, 1994.
 - 30) Hayes, M.A.: Timmins AC, Yau EHS, et al. Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients. *N engl J Med* **330** : 1717 - 1722, 1994.
 - 31) Colardyn, F.C., Vandenbogaerde, J.F., Vogalares, D.P., Berbeke, J.H.: Use of dopexamine hydrochloride in patients with septic shock. *Crit Care Med* **17** : 999 - 1003, 1989.
 - 32) De Backer, D., Berre, J., Zhang, H. et al.: Relationship between oxygen uptake and oxygen delivery in septic patients: effects of prostacyclin versus dobutamine. *Crit Care Med* **21** : 1659 - 1664, 1993.
 - 33) Petros, A., Bennett, D., Vallance, P.: Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet* **338** : 1557 - 1558, 1991.
 - 34) De Boelpape, C., Vincent, J.L., Contempre, B.: Combination of norepinephrine and amrinone in the treatment of endotoxin shock. *J Crit Care* **4** : 202 - 207, 1989.

A study of interleukin 18 and sFas in septic multiple organ dysfunction syndrome

Satoko IMAI, Nobuhiro SATO,

Yoshihiro INOUE and Shigeatsu ENDO

Department of Critical Care Medicine, School of Medicine,
Iwate Medical University, Uchimaru, Morioka, Japan

敗血症性多臓器不全症候群における インターロイキン18と可溶性 Fas の検討

今井聡子, 佐藤信博, 井上義博, 遠藤重厚

岩手医科大学医学部, 救急医学講座

(Received on August 1, 2005 & Accepted on September 20, 2005)

Abstract

The association of IL-18 and sFas with the severity of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) complicating sepsis was investigated. The present study was conducted as a prospective study, and 36 patients were examined. The mean MODS score was 10.2. Twenty patients survived and 16 died during the study period. The IL-18, sFas and TNF- α levels in the serum were determined, and their association with the severity of MODS was investigated. The maximum IL-18 level in the patients who survived was 970 pg/ml, and that in those who died was 2705 pg/ml, the latter being significantly higher than the former. A significant correlation was observed between the IL-18 level and the MODS score ($r=0.77$, $p<0.0001$). The maximum sFas level was 2.2 ng/ml in the patients who

survived and 7.3 ng/ml in those who died, the latter being significantly higher than the former. The maximum TNF- α level was 78 pg/ml in the patients who survived and 200 pg/ml in those who died, the latter again being significantly higher than the former. Significant correlations were observed between the IL-18 and sFas levels, IL-18 and TNF- α levels, and TNF- α and sFas levels. A significant correlation was also observed between the total bilirubin level and the IL-18 level. The IL-18 and sFas levels reliably reflected the severity of multiple organ dysfunction syndrome occurring as a complication of sepsis. It was suggested that IL-18 and TNF- α probably induce apoptosis, and that IL-18 may also cause liver dysfunction.

Key words : IL-18, sFas, TNF- α , sepsis, MODS

I. Introduction

When a small amount of lipopolysaccharide (LPS) was administered to mice already inoculated in advance with heat-inactivated *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), an interferon γ (IFN- γ)-production-inducing substance different from interleukin 12 (IL-12) was released into the blood. This

substance came to be called interleukin 18 (IL-18)¹⁾.

IL-18 is generated by macrophages, in particular, the Kupffer cells of the liver²⁾. According to one report, necrosis of hepatic tissues was no longer observed when an anti-IL-18 antibody was administered to mice prior to the administration of LPS one week after

treatment with *P. acnes*, and the AST and ALT levels did not increase either³⁾.

Previously, we reported that the serum IL-18 level was increased in patients with sepsis, and that a significant correlation was observed between the severity of sepsis and the serum IL-18 level¹⁴⁾. Furthermore, we determined the serum IL-18 levels in patients with acute pancreatitis, and demonstrated that the levels were correlated with the severity of acute pancreatitis as well as with the serum total bilirubin level¹⁵⁾.

The Fas ligand (FasL) is a type-II membrane protein belonging to the tumor necrosis factor family (TNF family). Fas-FasL binding induces apoptosis of cells^{6,7)}. It has been hypothesized that when the binding of Fas with its ligand on the cellular surface is inhibited by soluble Fas (sFas), cells that would otherwise have been eliminated by apoptosis survive, which is associated with progression of disease⁸⁾. We demonstrated in a previous study that the serum sFas level was increased in patients with multiple organ failure⁹⁾.

IL-18 is considered to enhance the functions of the Fas ligand in lymphocytes and induce apoptosis of Fas-positive cells, while IFN- γ , which is induced by IL-18, is believed to increase the expression level of the Fas antigen¹⁰⁾.

In this study, we determined the IL-18, sFas and TNF- α levels in the blood of patients with multiple organ failure dysfunction syndrome (MODS) associated with sepsis, and examined the correlation between the serum levels of these cytokines the severity of MODS.

II. Subjects and methods

The subjects were 36 patients with multiple organ dysfunction syndrome associated with sepsis (septic MODS) from 2001 to 2003. The median age of the patients, consisting of 21 males (61.1 ± 19.7 years) and 15 females (60.1 ± 19.3 years), was 60.7 ± 19.3 years (19 to 87 years).

The underlying condition was peritonitis in 20 patients, burns in 6 patients, multiple injuries in 6 patients, and pneumonia in 4 patients.

Sepsis and septic MODS were diagnosed according to the criteria of the ACCP-SCCM Consensus Conference¹¹⁾. As for the MODS score, the standards of Marshall et al. were adopted¹²⁾.

Blood samples were collected regularly from the time of diagnosis of sepsis. The separated serum samples were stored at -80°C until determination.

The IL-18 level was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (MBL, Nagoya, Japan); detection limit, 12.5 pg/ml; normal value, under 259.4 pg/ml. The sFas level was determined by ELISA (MBL, Nagoya, Japan); detection limit, 0.1 ng/ml; normal level, below the detection limit. The tumor necrosis factor α (TNF- α) level was determined by ELISA (Medogenix Diagnostics, Fleurus, Belgium); detection limit, 3 pg/ml; normal level, below the detection limit.

Unpaired Wilcoxon's test was used to determine the significance of differences, and Pearson's test was used for the determination of correlations. In both cases, the level of significance was defined as $p < 0.05$.

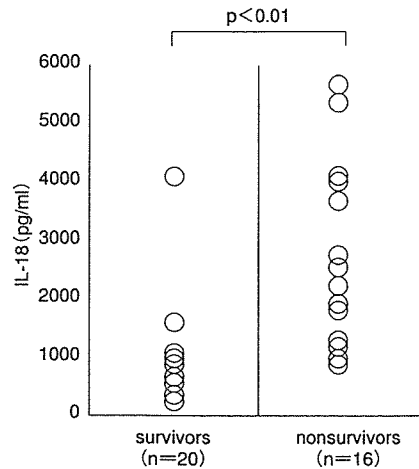


Fig. 1 . The maximum IL-18 level was significantly higher in the patients who died than in those who survived ($p < 0.0001$).

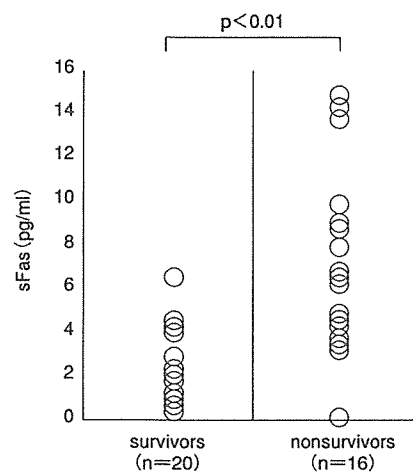


Fig. 2 . The maximum sFas level was significantly higher in the patients who died than in those who survived ($p < 0.0001$).

III. Results

Twenty patients survived and 16 died during the study period, the mortality rate thus being 44.4%. The median age of the patients who survived was 60.2 ± 20.0 years, and that of the patients who died was 61.4 ± 19.1 years. There was no significant difference in the mean age between the two groups.

The mean MODS score in patients who survived and in those who died were 7.5 ± 2.5 and 14.8 ± 4.1 , respectively. The score was significantly higher in the latter group ($p < 0.0001$).

The maximum IL-18 level in the serum was

970 ± 796 pg/ml in the patients who survived and 2705 ± 1501 pg/ml in those who died during the clinical course. The level in the patients who died was significantly higher ($p < 0.0001$) (Fig. 1). The maximum sFas level in the serum was 2.2 ± 1.5 ng/ml in the patients who survived and 7.3 ± 4.3 ng/ml in the patients who died, the latter being significantly higher than the former ($p < 0.0001$) (Fig. 2). The maximum TNF- α level in the serum was 78 ± 50 pg/ml in the patients who survived and 201 ± 82 pg/ml in those died, the latter again being significantly higher than the former ($p < 0.0001$).

Significant correlations were observed

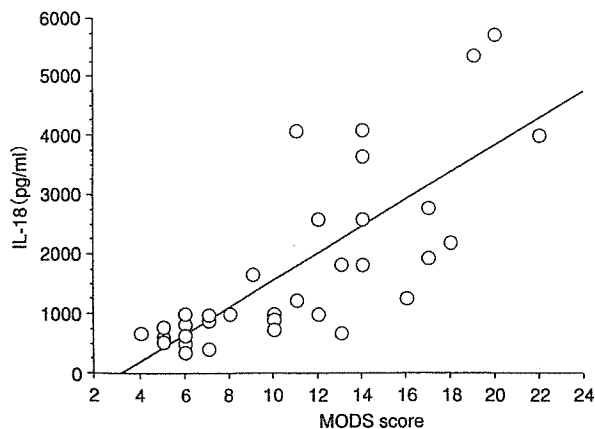


Fig. 3. A significant correlation was observed between the maximum IL-18 level and the maximum MODS score ($r=0.8169$, $p<0.0001$).

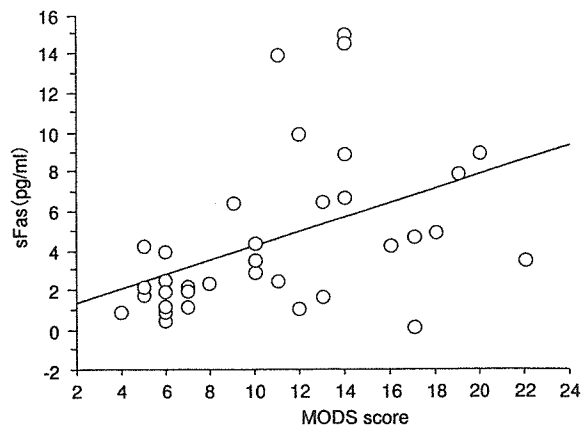


Fig. 4. A significant correlation was also observed between the maximum sFas level and the maximum MODS score ($r=0.4416$, $p=0.0070$).

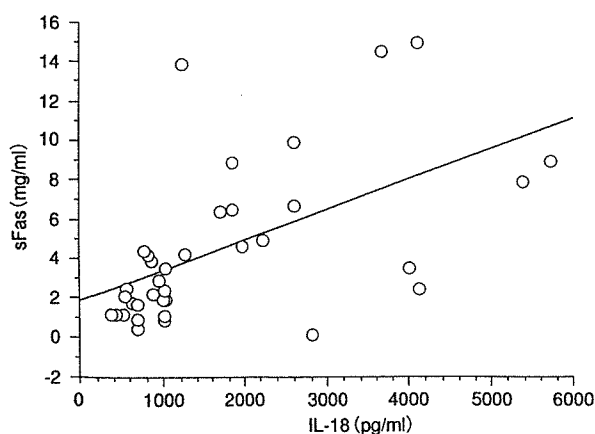


Fig. 5. A significant correlation was observed between the maximum IL-18 level and the maximum sFas level ($r=0.6093$, $p<0.0001$).

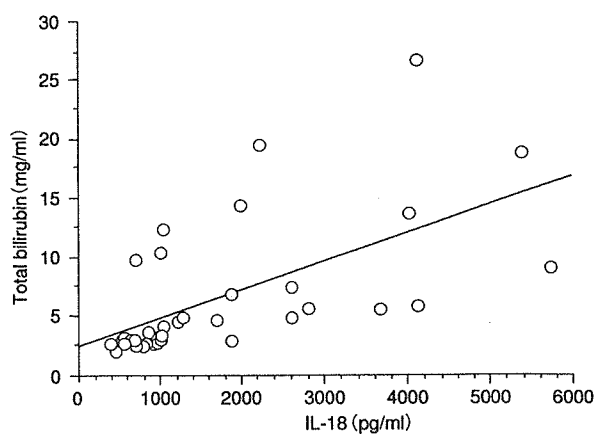


Fig. 6. A significant correlation was observed between the maximum total bilirubin level and the maximum IL-18 level ($r=0.6052$, $p<0.0001$).

between the maximum serum IL-18 level and the maximum MODS score ($r=0.8169$, $p<0.0001$) (Fig. 3), maximum serum sFas level and the maximum MODS score ($r=0.4416$, $p=0.0070$) (Fig. 4), and maximum TNF- α level and the maximum MODS score ($r=0.7474$, $p<0.0001$).

Significant correlations were also seen between the maximum serum IL-18 levels and maximum serum sFas levels ($r=0.6093$, $p<0.0001$) (Fig. 5), serum IL-18 levels and

TNF- α levels ($r=0.6336$, $p<0.0001$), and serum TNF- α levels and serum sFas levels ($r=0.5341$, $p=0.0008$).

The maximum serum total bilirubin level was 3.9 ± 2.3 mg/dL in the patients who survived, and 101 ± 6.9 mg/mL in those who died, being significantly higher in the latter group ($p<0.0001$). A significant correlation was observed between the maximum serum total bilirubin level and the maximum serum IL-18 level ($r=0.6052$, $p<0.0001$) (Fig. 6).

IV. Discussion

IL-18 is produced in macrophages and other cells, but is usually present as a biologically inactive precursor. It requires to be first processed by such proteases as the IL-1 β -converting enzyme before it is released from the cells in the active form¹³⁾. Stimulation of macrophages via FasL-Fas binding is known to lead to processing of IL-1 β ¹⁴⁾. Similarly, processing of IL-18 also occurs via this route¹⁵⁾. Thus, IL-18 can be converted into its active form via a variety of mechanisms. Unlike many other cytokines that are produced as a result of gene expression, IL-18 appears to play the role of an initiating cytokine that is produced immediately in response to infection or other invasion, as a result of activation of proteases.

While it has been suggested that IL-18 induces such cytokines and chemokines as GM-CSF, TNF, and IL-8, the exact mechanism of the induction, i.e., whether it induces these substances by directly acting on the cells producing them, or indirectly via the production of other cytokines, has not yet been clearly elucidated¹⁶⁾. Other notable actions of IL-18, such as induction of iNOS and induction of cyclooxygenase-2 (COX-2), have also been observed¹⁷⁾.

Although macrophages produce IL-18, activation of proteases, such as caspase-1, is necessary for the release of mature IL-18 outside of the cells. Accordingly, activation of caspase-1 is also expected in states in which IL-18 is detected in the blood. Considering its numerous actions, such as induction of IFN- γ production, induction of NO production, and induction of FasL, IL-18 is assumed to play important roles in infection, and to be also involved in the

pathogenesis of various conditions. The finding in our present study, that the serum IL-18, sFas and TNF- α levels were higher in more severe cases of sepsis whom verified this hypothesis. In this study, the IL-18, sFas and TNF- α levels were all significantly higher in the patients who died than in those who survived. These findings are consistent with our previous reports^{4,5,9)}. Sablozki et al. also reported finding increased serum IL-18 levels in cases of MODS developing as a complication of open heart surgery, and that the level reflected the prognosis¹⁸⁾.

IL-18 has been revealed to promote the production of IL-13, which is one of the Th 2 cytokines¹⁹⁾. This finding suggests that IL-18 not only inhibits the highly histotoxic Th 1 reactions, but also Th 1 reactions via the induction of Th 2 reactions. This indicates the complexity of the cytokine network involved in disease processes²⁰⁾.

The high correlation between the serum IL-18 levels and those of the inflammatory cytokine TNF- α suggests that TNF- α may be a stimulator of IL-18 production.

Administration of anti-IL-18 antibody attenuated the manifestation of fulminant hepatitis-like symptoms in mice that exhibited these symptoms following endotoxin administration²¹⁾. Inhibition of endotoxic shock in mice following administration of anti-IL-18 antibody has also been reported. Nakae et al. reported increased IL-18 levels in cases of post-operative hepatic failure²²⁾. The significant correlation between the total bilirubin level and the IL-18 levels observed in our present study suggests that IL-18 may be closely involved in the induction of liver dysfunction.

In another word the serum IL-18 level

faithfully reflected the severity of liver dysfunction.

We conclude that further examination of the relationship between IL-18 and the onset of organ failure associated with sepsis is required in the future.

Acknowledgement

This paper received special research grants for the development of characteristic education from The Promotion and Mutual Aid Corporation for Private Schools of Japan, and the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

内容自抄

敗血症性多臓器不全症候群 (septic multiple organ dysfunction syndrome; septic MOD) の重症度におけるinterleukin 18 (IL-18) と soluble Fas (sFas) との関わりについて検討した。対象症例は36例でMODSスコアの平均は10.2であった。生存群が20例、死亡群が16

例であった。血中のIL-18, sFas, TNF- α を測定し重症度との関わりについて検討した。生存群のIL-18の最大値は970 pg/ml, 死亡群のIL-18の最大値は2,705pg/mlと死亡群で有意に高値であった。IL-18値とMODS scスコア間には有意の相関関係がみられた ($r=0.77$, $p<0.0001$)。sFasの最大値は生存群で2.2 ng/ml, 死亡群で7.3 ng/mlと死亡群で有意に高値であった。TNF- α の最大値も生存群78 pg/ml, 死亡群200 pg/mlと死亡群で有意に高値を示した。IL-18値とsFas値間, IL18値とTNF- α 値間, およびTNF- α 値とsFas間にはいずれも有意の相関関係がみられた。また, 総ビリルビン値とIL-18値間にも有意の相関関係が認められた。IL-18, sFasは敗血症性多臓器不全時の重症度を良く反映した。IL-18, TNF- α がアポトーシスを誘導し, またIL-18が肝機能障害を惹起している可能性が示唆された。

References

- 1) Nakamura K, Okamura H, Nagata K, et al. : Purification of a factor which provides a costimulatory signal for gamma interferon production. *Infect Immunol* **61**, 64-70, 1993.
- 2) Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, et al. : Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cells. *Nature* **378**, 88-91, 1995.
- 3) Tsutsui H, Matsui K, Kawada N, et al. : IL-18 accounts for both TNF- α and Fas ligand-mediated hepatotoxic pathway in endotoxin-induced liver injury in mice. *J Immunol* **59**, 3961-3967, 1997.
- 4) Endo S, Inada K, Yamada Y, et al. : Interleukin 18 (IL-18) levels in patients with sepsis. *J Medicine* **31**, 15-20, 2000.
- 5) Endo S, Inoue Y, Fujino Y, et al. : Interleukin 18 levels reflect the severity of acute pancreatitis. *Res Mol Pathol Pharmacol* **110**, 285-291, 2001.
- 6) Yonehara S, Ishii A and Yonehara M : A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-down-regulated with the receptor for tumor necrosis factor. *J Exp Med* **169**, 1747-1756, 1989.
- 7) Suda T and Nagata S : Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis. *J Exp Med* **179**, 873-878, 1994.
- 8) Cheng J, Zhou T, Liu C, et al. : Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* **263**, 1759-1762, 1994.
- 9) Endo S, Inada K, Takakuwa T, et al. : Nitrite/nitrate (NO $_x$) and sFas levels in patients with multiple organ failure. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* **92**, 253-256, 1996.
- 10) Tsutsui H, Nakanishi K, Matsui K, et al. : IFN- γ - inducing factor up-regulates Fas ligand-mediated cytotoxic activity of murine natural killer cell clones. *J Immunol* **157**, 3967-3973, 1996.
- 11) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* **101**, 1644-1655, 1992/ *Crit Care Med* **20**, 864-874, 1992.
- 12) Marshall JC, Cook DJ and Christou NV : Multiple organ dysfunction score: A reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit*

- Care Med **23**, 1638-1652, 1995.
- 13) **Gu Y, Kuida K, Tsutsui H, et al.** : Harding MW, Livingston DJ, Su MS. Activation of interferon- γ inducing factor mediated by interleukin-1 β converting enzyme. *Science* **275**, 206-209, 1997.
 - 14) **Miwa K, Asano M, Horai R, et al.** : Caspase 1 independent IL-1 β release and inflammation induced by the apoptosis inducer Fas ligand. *Nature Med* **4**, 1287-1292, 1998.
 - 15) **Tsutsui H, Kayagaki N, Kuida K, et al.** : Caspase-1-independent, Fas/Fasligand-mediated IL-18 secretion from macrophages causes acute liver injury in mice. *Immunity* **11**, 359-367, 1999.
 - 16) **Puren AJ, Fantuzzi G, Gu Y, et al.** : Interleukin 18 (IFN- γ -inducing factor) induces IL-8 and IL-1 β via TNF- α production from non-CD14+ human blood mononuclear cells. *J Clin Invest* **101**, 711-721, 1998a.
 - 17) **Olee T, Hashimoto S, Quach J, et al.** : IL-18 is produced by articular chondrocytes and induces proinflammatory and catabolic responses. *J Immunol* **162**, 1096-1100, 1999.
 - 18) **Sablitzki A, Dehne MG, Friedrich I, et al.** : Different expression of cytokines in survivors and non-survivors from MODS following cardiovascular surgery. *Eur J Med Res* **8**, 71-76, 2003.
 - 19) **Hoshino T, Wiltout RH and Young HA** : IL-18 is a potent coinducer of IL-13 in NK and T cells: a new potential role for IL-18 in modulating the immune response. *J Immunol* **162**, 5070-5077, 1999.
 - 20) **Yoshimoto T, Tsutsui H, Tominaga K, et al.** : IL-18, although antiallergic when administered with IL-12, stimulates IL-4 and histamine release by basophils. *Proc Ncab Sci* **96**, 13962-13966, 1999.
 - 21) **Okamura H, Tsutsui H, Kashiwamura S, et al.** : A novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. *Adv Immunol* **70**, 281-312, 1998b.
 - 22) **Nakae H, Zheng Y-J, Wada H, et al.** : Involvement of IL-18 and soluble Fas in patients with postoperative hepatic failure. *Eur Surg Res* **35**, 61-66, 2003.