

nitrate (NO_x), which is a metabolite of NO, and sFas antigen are high in the presence of MODS and that these substances may be involved in the pathological conditions underlying MODS²⁰.

Nuclear matrix protein (NMP) is released from human cells under conditions, including apoptosis, in which these cells die. Although NMP is not specific to apoptosis, the measurement of NMP allows quantification of the number of dying cells^{18, 19}.

We have demonstrated NMP in the presence of MODS²⁰. Blood NMP levels were measured in septic ALI/ARDS patients in the present study, and the involvement of NMP in the associated pathological conditions was investigated.

Patients and Methods

Consent to participate in this investigation was obtained from the patients or their family members, and the study was approved by the Ethics Committee of Iwate Medical University.

The subjects were 46 sepsis patients consisting of 30 males and 16 females. Their ages ranged from 18 to 84 years, with a mean age of 61 ± 19 years.

The diagnosis of sepsis conformed to the criteria reported by Bone et al.²¹. The diagnosis of ALI/ARDS conformed to the criteria reported by Bernard et al.²².

NMP was measured by enzyme-linked absorbent assay (ELISA) (Advanced Magnetics Inc., MA, USA). The measurement detection limit was 10 U/mL, i.e. below the lower limit of normal.

TNF- α was measured by ELISA (Medogenix, Fleurus, Belgium). The measurement detection limit was 3 pg/mL.

All data were expressed as means $\pm$ standard deviation (SD). Statistical analyses to detect significant differences were conducted using the unpaired Wilcoxon test. Pearson's tests were calculated for the determination of correlations

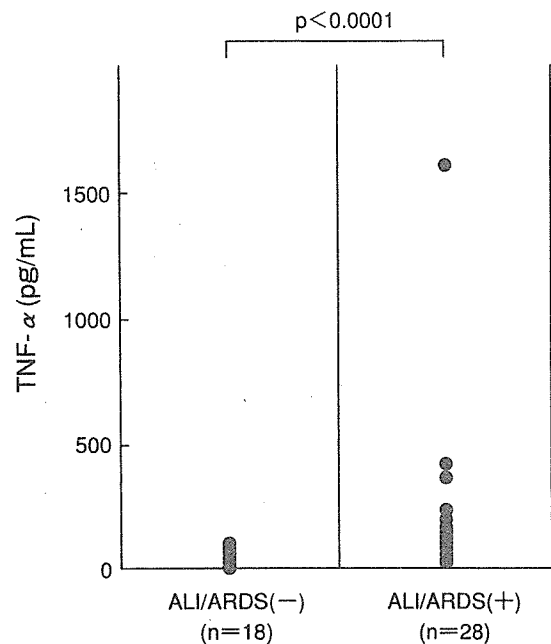


Fig. 1 Comparison of the blood level of TNF- α between patients with and those without ALI/ARDS

between variables, and a p value lower than 0.05 was accepted as being statistically significant.

Results

The NMP level was 822 ± 881 U/mL in septic ALI/ARDS patients, which was significantly higher than the 198 ± 171 U/mL in the patients without ALI/ARDS (Fig. 1).

The TNF- α level was 190 ± 294 pg/mL in septic ALI/ARDS patients, which was significantly higher than the 40 ± 27 pg/mL in those without ALI/ARDS (Fig. 2).

There was thus a significant ($p = 0.0001$) correlation between NMP and TNF- α levels ($r = 0.5349$) (Fig. 3).

Discussion

As described above, NMP may be detected in the plasma of cancer patients as a protein released from dying cells, and the determination of NMP may be useful for making the diagnoses of malignancies and for monitoring pathological

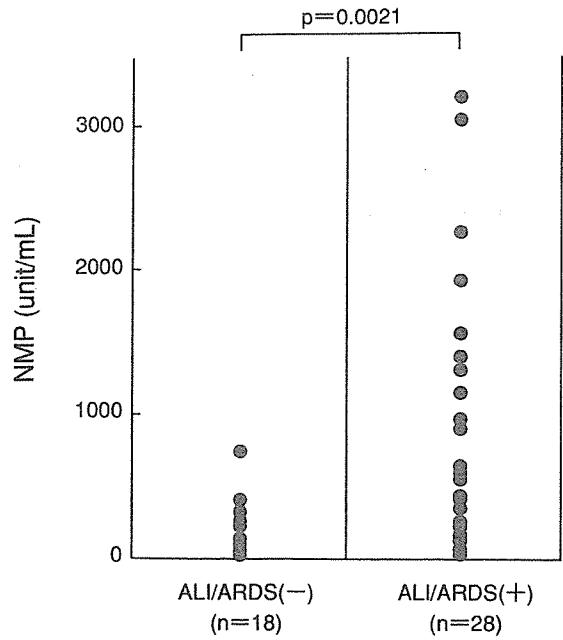


Fig. 2 Comparison of the blood level of NMP between patients with and those without ALI/ARDS

conditions²⁰. NMP is reportedly released early due to fragmentation of DNA, and it is currently regarded as an indicator of apoptosis²¹. There have been no reports on NMP in the presence of ALI/ARDS.

One of the important roles of apoptosis in

inflammatory lung diseases is to rapidly bring inflammation under control by eliminating inflammatory cells, destroying irreparable cells due to severe injury, and destroying fibroblasts, hemangioendothelial cells and pulmonary epithelial cells which proliferate excessively during the repair processes of normal tissue. It is important for normal repair processes to eliminate inflammatory cells and proliferating hemangioendothelial cells and fibroblasts, via apoptosis, during the tissue repair stage of ALI²³. It has also been reported that alveolar epithelial cells proliferate in the acute stage of ARDS and subsequently induce apoptosis during the ARDS repair stage²⁴.

Our septic ALI/ARDS patients had high NMP levels, suggesting that NMP levels reflect the severity of cell damage or the severity of apoptosis.

Apoptosis is induced by various extra- or intracellular physiological or morbid signals. It is also well known that TNF- α and NO induce apoptosis^{16, 17, 25~28}. There was a significant correlation between TNF- α and NMP levels in the present study as well, suggesting TNF- α to be involved in NMP production.

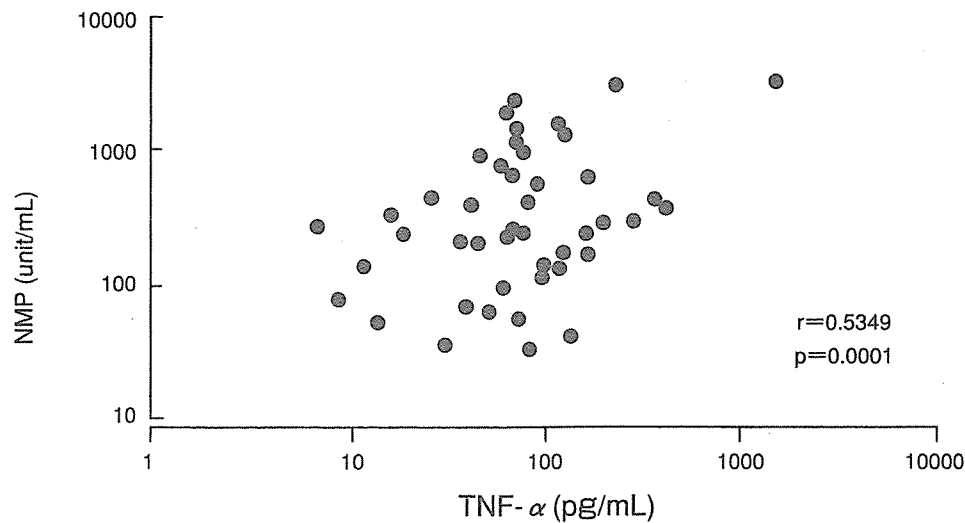


Fig. 3 Correlation between TNF- α and NMP levels

The results of the present study raise the possibility of apoptosis developing in the presence of ALI/ARDS. Further confirmation, using specific methods for identifying apoptosis, is needed to determine whether NMP truly reflects apoptosis.

Under conditions such as ALI/ARDS the body may activate its own apoptotic program in response to various stimuli, such that a cell triggers its own death and elimination as a

defensive action which protects the living organism.

Acknowledgement

This paper received the special research grants for development of characteristic education by the Promotion 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 Infalmm* **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., Hakae, H. et al.: Nitrite/nitrate oxide (NOx) and cytokine levels in patietns with septic shock. *Res Commun Molecul Pathol Pharmacol* **94** : 23 - 38, 1996.
- 5) Endo, S., Inada, K., Kasai, T. et al.: Levels of soluble adhesion molecules and cytokines in patients with septic multiple organ failure. *J Inflammation* **46** : 212 - 219, 1996.
- 6) Nakae, H., Endo, S., Inada, K. et al.: Changes in adhesion molecules levels in sepsis. *Res Commun Molecule Pathol Pharmacol* **91** : 329 - 338, 1996.
- 7) Nakae, H., Endo, S., Inada, K. et al.: Plasma levels of endothelin-1 and thrombomodulin in burn patients. *Burns* **22** : 594 - 597, 1996.
- 8) Goris, R.J.A., te Boekhorst, T.P.A., Nuytinck, K.S. et al.: Multiple-organ failure: Generalized autodestructive inflammation ? *Arch Surg* **120** : 1109 - 1115, 1985.
- 9) Beutler, B., Milsark, I.W., Cerami, A.: Cachectin/tumor necrosis factor: production, distribution, and metabolic fate in vivo. *J Immunol* **35** : 3972 - 3977, 1985.
- 10) Tracey, K.J., Beutler, B., Lowry, S.F. et al.: Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* **234** : 470 - 474, 1985.
- 11) Okusawa, S., Gelfand, J.A., Ikejima, T. et al.: Interleukin-1 induces shock-like state in rabbits: Synergism with tumor necrosis factors and effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest* **81** : 1162 - 1172, 1988.
- 12) Calanda, T., Baumgartner, J.-D., Grau, G.E. et al.: Prognostic values of tumor necrosis factor/cachectin, interleukin-1, and interferon- α , and interferon- γ in the serum of patients with septic shock. *J Infect Dis* **16** : 982 - 987, 1990.
- 13) 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.
- 14) Ochoa, J., Curti, B., Peitzman. et al.: Increased circulating oxides after human tumor immunotherapy with toxic hemodynamic changes. *J Natl Cancer Inst* **84** : 964 - 967, 1992.
- 15) Kilbourn, R., Jubran, A., Gross, S.S. et al.: Reversa of endotoxin-mediated shock by N-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Biochem Biophys Res commun* **172** : 1132 - 1138, 1990.
- 16) Tanaka, M., Suda, T., Takahashi, T. et al.: Expression of the functional soluble form of human fas ligand in activated lymphocytes. et al. *EMBO J* **14** : 1129 - 1135, 1995 TNF.
- 17) Lei, S.Z., Pan, Z.H., Aggarwal, S.K. et al.: Effect of nitric oxide production on the redox modulatory site

- of the NMDA receptor-channel complex et al. *Neuron* **14** : 1087 - 1099, 1992.
- 18) Miller, T.E., Beausang, L.A., Winchell, L.F. et al.: Lidgard GP. Detection of nuclear matrix proteins in serum from cancer patients. *CANCER* **52** : 422 - 427, 1992.
- 19) Miller, T.E., Beausang, L.A., Meneghini, M. et al.: Death-induced changes to the nuclear matrix: the use of anti-nuclear matrix antibodies to study agents of apoptosis. *Bio Techniques* **15** : 1042 - 1047, 1993.
- 20) Yamada, Y., Endo, S., Kasai, T. et al.: Nuclear matrix protein, tumor necrosis factor- α , and nitrite/nitrate levels in patients with multiple organ dysfunction syndrome. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* **100** : 92 - 104, 1998.
- 21) 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.
- 22) Bernard, G.R., Artigas, A., Brigham, K.L. et al.: The American-European Consensus Conference on ARDS. Definition, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* **149** : 818 - 924, 1994.
- 23) Polunovsky, V.A., Chen, B., Snover, D. et al.: Role of mesenchymal cell death in lung remodeling after injury. *J Clin Invest* **92** : 388 - 397, 1993.
- 24) Bardales, R.H., Xie, S.S., Schaefer, R.F. et al.: Apoptosis is a major pathway responsible for the resolution of type II pneumocytes in acute lung injury. *Am J Pathol* **149** : 845 - 852, 1996.
- 25) Parchment, R.: Programmed cell death (apoptosis) in murine blastocytes: Extracellular free-radicals, polyamines, and other cytotoxic agents. *In vitro* **5** : 493 - 500, 1991.
- 26) Yamashita, K., Niwa, M., Kataoka, Y. et al.: Microglia with an endothelin ETB receptor aggregate in rat hippocampus CA1 subfields following transient forebrain ischemia. *J Neurochem* **63** : 1042 - 1051, 1994.
- 27) Sarih, M., Souvannavong, V., Adam, A.: Nitric oxide synthase induces macrophage death by apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* **191** : 503 - 508, 1993.
- 28) Krown, K.A., Page, M.T., Nguyen, C. et al.: Tumor necrosis factor α -induced apoptosis in cardiac myocytes: involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death. *J Clin Invest* **98** : 2854 - 2865, 1996.
-

敗血症における可溶性CD14と可溶性CD14サブタイプの比較検討

遠藤重厚^{*1} 八重樫泰法^{*1} 佐藤信博^{*1} 鈴木 泰^{*1}
 小川雅彰^{*1} 小鹿雅博^{*1} 高橋 学^{*1} 箱崎将規^{*1}
 宮田美智子^{*1} 菊池 哲^{*1} 小池 薫^{*2} 真弓俊彦^{*3}
 若林 剛^{*4} 白川嘉門^{*5} 古迫正司^{*5}

要 旨：敗血症患者と感染を合併しないSIRS患者の血中の可溶性CD14 (sCD14) と可溶性CD14サブタイプ (sCD14-ST) について検討した。敗血症患者においてsCD14は、感染を合併しないSIRS患者に対して有意に上昇しなかった。sCD14-STは、敗血症患者では感染を合併しないSIRS患者に対して有意に上昇した。sCD14は敗血症の診断には有用ではなかった。一方、sCD14-STを測定することは敗血症の診断法として有用であった。

Key words：敗血症，敗血症性多臓器不全症候群，可溶性CD14，可溶性CD14サブタイプ

はじめに

分子量55kDaでグリコシルホスファチジル-イノシトール (GPI) アンカー型の骨髄性糖蛋白であるCD14は、1990年にLPS-LBP複合体と結合する重要な細胞表面受容体として同定された¹⁾。in vitro, in vivoでの両研究において、エンドトキシンに対する免疫反応の調節におけるCD14の重要な役割が明らかとなっている²⁻⁵⁾。その後、CD14はグラム陽性ペプチドグリカン、リポタイコ酸、リポ蛋白、ミコバクテリアのリポアラビノマンナンなど、他のいくつかの保存された表面細菌リガンドとの反応において、これらと結合して細胞活性化を仲介することが示された⁶⁾。CD14は“パターン認識受容体”の典型例を示していることが提示された⁶⁾。可溶性CD14 (sCD14) はマイクロモル濃度でヒトを含む哺乳類の血清中に認められる。その役割はLPSや他の細菌リガンドと結合し、内皮、上皮細胞などCD14を有さない細

胞を活性化させることである⁷⁾。

sCD14はエンドトキシンとLBP複合体の細胞膜上のレセプターであり、低濃度エンドトキシンの細胞内シグナル伝達を担うとされています。そして、血漿中にはその可溶分画が存在し、それが49kDと55kDの2つの形態に分けられることがBasilらによって報告されている⁸⁾。われわれは、これまで55kDのsCD14が多臓器不全症で上昇することを報告した⁹⁾。一方、49kD形態のものの由来は、感染症などの刺激で膜表面上のCD14が切り離されて出てくるものと考えられている。今回、われわれは49kD形態のものをsCD14サブタイプ (sCD14-ST) と呼び、これを特異的に測定するenzyme-linked absorbent assay (ELISA) 測定キットを新たに作成し、敗血症の診断法としての有用性について報告した^{10, 11)}。今回、sCD14-STとsCD140STを測定し、敗血症の診断法としての有用性について比較検討した。

Shigeatsu Endo et al.: Department of Critical Care Medicine, Iwate Medical University 19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan.

^{*1}岩手医科大学医学部 救急医学 ^{*2}京都大学大学院医学研究科 初期診療・救急医学

^{*3}名古屋大学医学部附属病院 救急・集中治療部 ^{*4}岩手医科大学医学部 外科学 ^{*5}持田製薬株式会社・創薬第三研究所

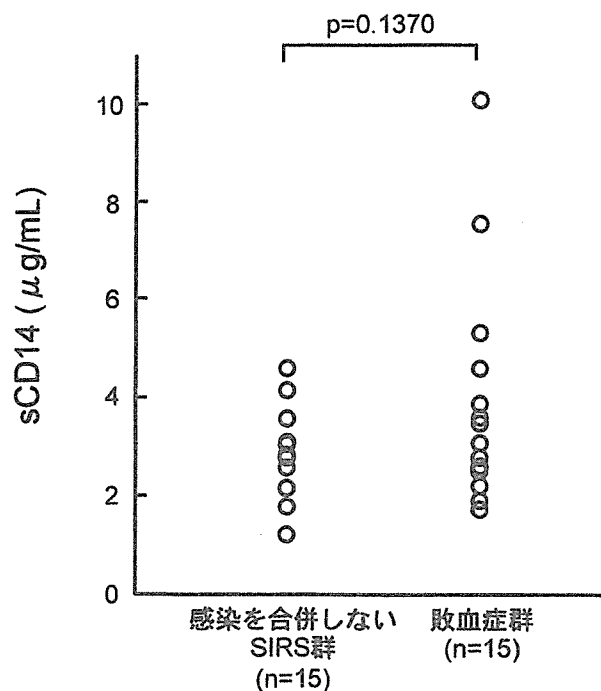


図1 敗血症患者、感染を伴わないSIRS患者のsCD14値の比較

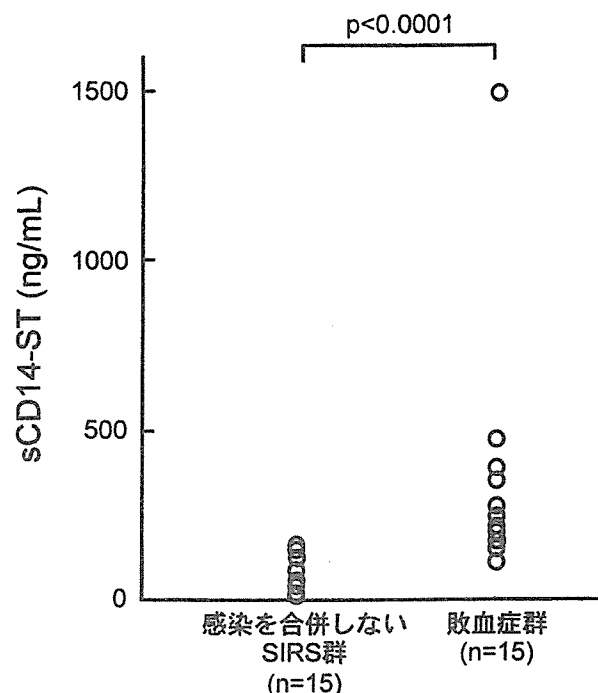


図2 敗血症患者、感染を伴わないSIRS患者のsCD14-ST値の比較

対象と方法

対象は敗血症患者20名である。敗血症の診断はACCP/SCCM Consensus Conferenceに拠った¹²⁾。対照としては感染を合併しない全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome; 以下SIRSと略す) (非感染性SIRS) 患者20名である。

sCD14はenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (IBL, Hamburg, Germany) で測定した。その正常値は1 - 6 $\mu\text{g/mL}$ である。

SCD14-STもELISA (持田製薬株式会社, 東京) で測定した。敗血症患者の中央値は220.7ng/mL, 感染を合併しないSIRS患者の中央値は, 81.3 ng/mLである¹⁰⁾。

有意差は, 対応のないWilcoxonの式を用い, $p<0.05$ で有意差有りとした。

結 果

敗血症群のsCD14値は $3.9 \pm 2.3 \mu\text{g/mL}$, 非感染性SIRS群のsCD14値は $2.7 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$ と両群間には有意の差は認められなかった ($p=0.1370$) (図1)。

一方, 敗血症群のsCD14-ST値は $343.1 \pm 336.7 \text{ ng/mL}$, 非感染性SIRS群のsCD14-ST値は $69.6 \pm 43.8 \text{ ng/mL}$ と敗血症群で有意に高値を示した ($p<0.0001$) (図2)。

代表的症例のsCD14値とsCD14-ST値の経時的推移を示す。

症例1: 46歳男性。大腸穿孔による汎発性腹膜炎で来院し, 緊急手術を施行した。sCD14は2 - 3 $\mu\text{g/mL}$ の正常範囲で推移しているが, sCD14-ST値は敗血症性ショックの時には600ng/mLを超え, 症状の改善に伴いsCD14-ST値は速やかに低下した (図3)。

症例2: 66歳男性。大腸穿孔による汎発性腹膜炎に多臓器不全症候群 (multiple organ dysfunction syndrome; MODS) を合併した。敗血症性ショック後のMODS時にはsCD14-STは1,500ng/mLと高値を示した。このときsCD14も10 $\mu\text{g/mL}$ 位まで上昇した。症状の改善に伴い, sCD14値およびsCD14-ST値は低下した (図4)。

症例3: 78歳女性。肺炎から敗血症およびMODSを合併した。MODS時にsCD14-STは1,000 ng/mLを超える値まで上昇したが, sCD14値は約

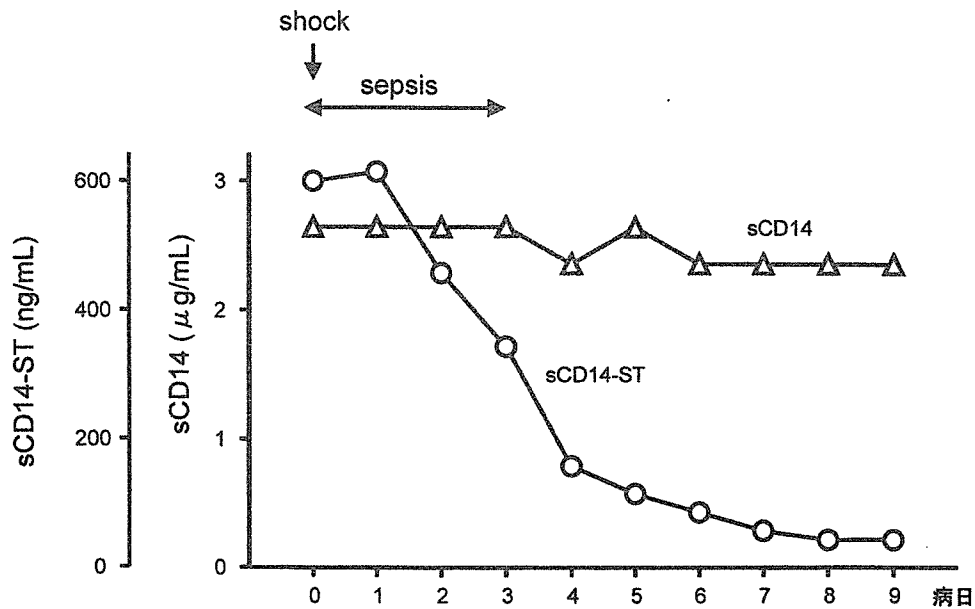


図3 症例1のsCD14値およびsCD14-ST値の推移

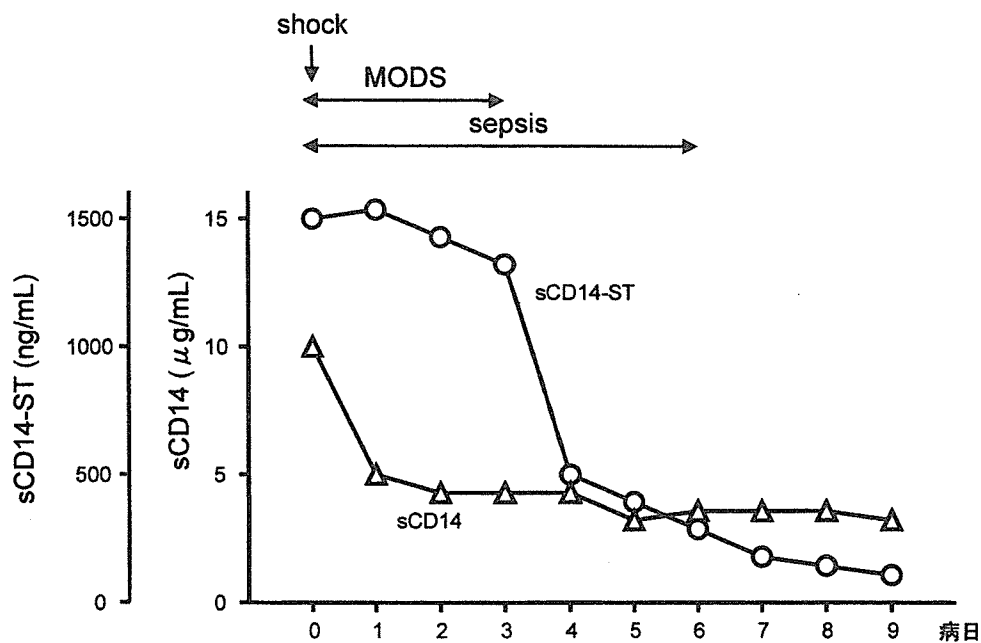


図4 症例2のsCD14値およびsCD14-ST値の推移

6 mg/mLまでしか上昇しなかった (図5)。

考 察

今回、われわれは敗血症患者および感染を合併しないSIRS患者のsCD14とsCD14-STについて検討したが、sCD14値は敗血症患者においても殆ど上昇しなかった。一方、sCD14-ST値は敗血症患

者においては感染症を合併しないSIRS患者に対して有意に上昇し、敗血症の診断としての有用であるとともに重症度も評価出来る可能性が示唆された。また、これまでの報告⁹⁾のようにsCD14-ST値は、MODS時には上昇する傾向がみられたが、敗血症の診断としては有用でない結果が得られた。

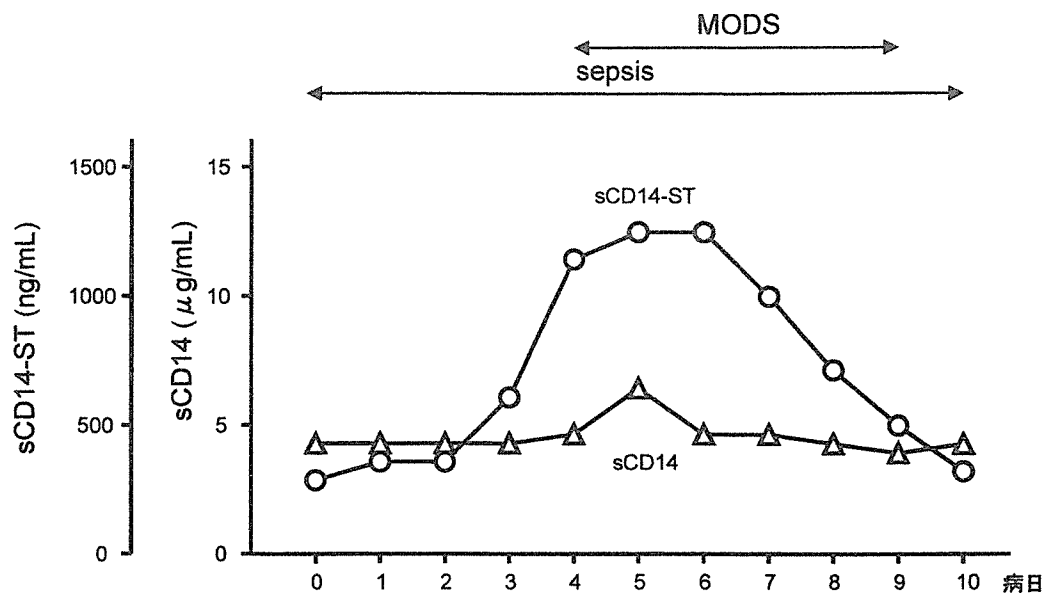


図5 症例3のsCD14値およびsCD14-ST値の推移

敗血症において、sCD-14の生理学的役割と、産生機構は不明である。BuflerらはsCD14はヒトの単球から産生されると二つのメカニズムがあると報告している¹³⁾。一つは放出されるもので、もう一つは分泌される経路である。

Bazilらも放出されると報告している¹⁴⁾。sCD14-STは敗血症を合併すると2～3時間で上昇することから、われわれは、sCD14-STは分泌されるよりも放出されると考えるのが妥当と思っている。

sCD14とsCD14-STが敗血症において、このような異なる推移を示すことは非常に興味深いもの

がある。今後この差異を詳細に検討する必要があるであろう。

sCD14-STを測定することで敗血症の診断早期が確実に可能となった。今後、さらに多くの患者、様々感染症のsCD14-STを測定し、多くの病態とsCD14-STとの関わりについて検討する必要がある。

謝 辞

本研究の一部は、文部科学省の科学研究費、厚生労働科学研究費、および日本私立学校振興・共済事業団の共同研究助成費によった。

文 献

- 1) Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S. et al: CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* **249**: 1431 - 1433, 1990.
- 2) Leturcq, D.J., Moriarty, A.M., Talbott, G. et al: Antibodies against CD14 protect primates from endotoxin-induced shock. *J Clin Invest* **98**: 1533 - 1538, 1996.
- 3) Pugin, J., Ulevitch, R.J., Tobias, P.S.: Activation of endothelial cells by endotoxin: direct versus indirect pathways and the role of CD14. *prog Clin Biol Res* **392**: 369 - 372, 1995.
- 4) Schimke, J., Mathison, J., Morgiewicz, J. et al: Anti-CD14 m Ab treatment provides therapeutic benefit after in vivo exposure to endotoxin. *Proc Acad Sci USA* **95**: 13875 - 13880, 1998.
- 5) Ulevitch, R.J., Dunn, D.L., Fink, M.P. et al: Endotoxin-related intracellular pathways: implications for therapeutic intervention. *Shock* **6**: 1 - 2, 1996.
- 6) Pugin, J., Heumann, L.D., Tomasz, A. et al: CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* **1**: 509 - 516, 1994.

- 7) Pugin, J., Schurer-Maly, C.C., Leturcq, D. et al.: Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Proc Natl Aca Sci USA* **90** : 2744 - 2748, 1993.
 - 8) Basil, V. and Strominger, J.L.: Shedding as a mechanism of down modulation of CD14 on stimulated human monocytes. *J Immunol* **147** : 1567 - 1574, 1991.
 - 9) Endo, S., Inada, K., Kasai, T. et al.: Soluble CD14 (sCD14) levels in patients with multiple organ failure (MOF). *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* **84** : 17 - 25, 1994.
 - 10) Yaegashi, Y., Shirakawa, K., Sato, N. et al.: Evaluation of a newly soluble CD14 subtype as a marker for sepsis. *J Infect Chemo.* **11** : 234 - 238, 2005
 - 11) 遠藤重厚, 八重樫泰法, 佐藤信博ほか: 新しい敗血症の診断マーカーである可溶性CD14サブタイプの有用性について. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* **9** : 46 - 50, 2005.
 - 12) 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.
 - 13) Bufler, P., Stieger, G., Schuchamann, M. et al.: Soluble lipopolysaccharide receptor (CD14) released via two different mechanisms from human monocytes and CD14 transfectants. *Eur J Immunol* **25** : 604 - 610, 1995.
 - 14) Basil, V. and Strminger, J.L.: Shedding as a mechanism of down-modulation of CD14 on stimulated human monocytes. *J Immunol* **147** : 1567 - 1574, 1991.
-

The procalcitonin level does not elevate in the serum in deep mycosis

Nobuhiro Sato* Yasunori Yaegashi* Masaaki Ogawa*
Masahiro Kojika* Michiko Miyata* Gaku Takahashi*
Masanori Hakozaki* Satoshi Kikuchi* Takeshi Kasai*
Shigeatsu Endo*

Abstract : Purpose : Procalcitonin (PCT) is a calcitonin precursor, and there are as yet no detailed data regarding the significance of serum PCT levels in cases with deep mycotic infections. We determined the serum PCT, endotoxin (Et), and (1→3)- β -D-glucan (β -glucan) levels

Material and Methods : Number of patients were 15 with deep mycosis. The PCT level was determined by the chemoluminescence immunoassay. β -glucan was determined using the β -Glucan Test WAKO. Endotoxin was determined by the endotoxin-specific Endospesy test

Results : All the patients tested positive for β -glucan in the serum. The PCT level exceeded 0.2 ng/mL in 7 of the 15 patients. All of these seven patients with deep mycotic infections, except one, also had mixed bacterial infection; three had mixed infection with Gram-positive bacteria and the other three had mixed infection with Gram-negative bacteria. All of the patients who had mixed infection with Gram-negative bacteria tested positive for Et in the serum.

Conclusions : These results suggest that the PCT level in the serum is not increased in cases with deep mycotic infections, and that when the PCT level does exceed 0.2 ng/mL in cases with deep mycosis, mixed bacterial infection should be suspected.

Key words : procalcitonin, deep mycosis, β -glucan

Introduction

Procalcitonin (PCT) is a precursor of the peptide hormone, calcitonin, and has a molecular weight of about 13 kD.¹⁾ Measurement of the serum PCT level has been reported to be useful for the diagnosis of infection and sepsis.^{2~9)} We had also reported from a previous study that determination of the PCT level in the serum is

useful for the diagnosis of infection and assessment of its severity^{10, 11)}.

High levels of PCT in the serum have been reported in cases with deep mycotic infections caused by *Candida* species after liver transplantation,^{12, 13)} and elevation of the serum PCT level has also been shown in the presence of mycotic infection associated with rejection after

Nobuhiro Sato et al.: *Department of Critical Care Medicine, Iwate Medical University School of Medicine, 19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan.

Table 1 Clinical characteristics of patients

Case	Age	Gender	Diagnosis	Culture	Et (pg/mL)	β -glucan (pg/mL)	PCT (ng/mL)
1	64	F	colon cancer	<i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i>	12.5	84.4	2.2
2	82	M	colon cancer	<i>C. albicans</i>	1.2	1911	<0.1
3	71	F	pneumonia	<i>C. tropicalis</i>	2.2	35.7	<0.1
4	68	M	pneumonia	<i>C. parapsilosis</i>	0.9	694	<0.1
5	88	F	acute pancreatitis	<i>C. glabrata</i>	3.2	587	<0.1
6	68	F	peritonitis	<i>C. glabrata</i> , MRSA	4.4	149.3	0.9
7	70	M	pneumonia	<i>C. glabrata</i> , <i>E. faecalis</i>	1.6	173.1	0.4
8	73	M	peritonitis	<i>C. albicans</i>	0	162	<0.1
9	63	M	pneumonia	<i>C. albicans</i> , <i>K. faecalis</i>	13.9	46.2	6.2
10	88	F	cholecystitis	<i>C. albicans</i>	1.9	317.7	0.2
11	70	F	peritonitis	<i>C. albicans</i> , <i>K. pneumoniae</i>	14.2	136.6	1.8
12	70	F	multiple trauma	<i>C. albicans</i> , MRSA	3.8	110.2	<0.1
13	77	M	pancreatitis	<i>C. parapsilosis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	1.1	27.4	<0.1
14	29	M	burn	<i>C. albicans</i>	4.4	64.3	<0.1
15	40	M	multiple trauma	<i>C. albicans</i>	3.1	121.3	0.2

Et, endotoxin; β -glucan, (1 $\rightarrow$ 3)-D- β -glucan; PCT, procalcitonin

heart transplantation¹⁴. On the other hand, two case reports have suggested that the PCT level in the serum does not increase in cases with serious mycosis¹⁵. We also failed, in one previous study, to detect any increase in the serum PCT level in 5 patients with deep mycosis¹⁶.

In this study, we examined the levels of PCT, endotoxin, a component of Gram-negative bacteria, and β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan (β -glucan), a component of fungi, in the blood of patients with deep mycosis, and determined whether the serum level of PCT is indeed increased in cases with deep mycotic infections.

Subjects and methods

The study was conducted with the informed consent of the patients or their family members, and the approval of the Ethical Committee of Iwate Medical University.

The subjects were 15 patients with suspected deep mycosis (8 men and 7 women), with a mean age of 68 years (age range, 29 to 88 years) (Table 1).

In all patients, treatment of the infections was continued by the conventional approach.

Blood specimens were collected in heparinized endotoxin-free syringes and immediately centrifuged at 3,000 rpm for 40 seconds; the platelet-rich plasma (PRP) specimens thus obtained were stored at -80°C until determination.

The PCT level was determined by the chemoluminescence immunoassay (LUMitest PCTTM, BRAHMS-Diagnostica GmbH, Berlin, Germany; LUMICO ANALYZER SA-3000, Nichion, Tokyo, Japan). The limit of determination was 0.1 ng/mL.

β -glucan was determined using the β -Glucan Test WAKO (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan). The cutoff level in this method was 11 pg/mL¹⁷.

Endotoxin was determined by the endotoxin-specific Endospesy test (Seikagaku Corporation)¹⁹ after pretreatment of the plasma by the new perchloric acid (PCA) method¹⁸. The upper limit of the normal range was 9.8 pg/mL.

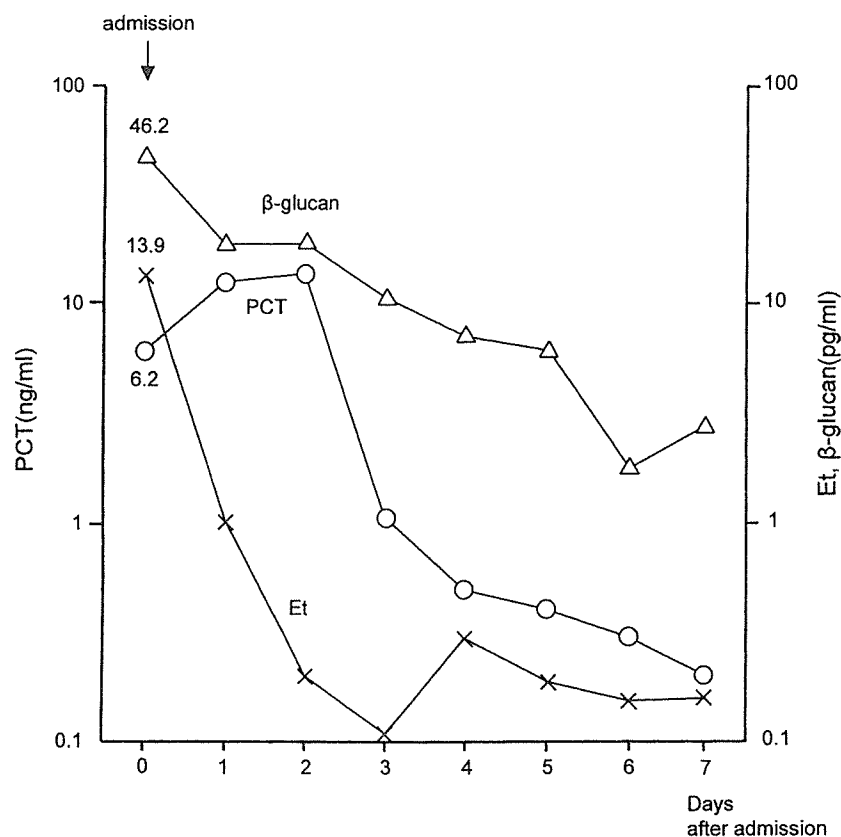


Fig. 1

Case 9. A 63-year-old man developed pneumonia while undergoing treatment for cerebral infarction. The patient was referred to us due to worsening of his respiratory condition. The serum PCT level was 6.2 ng/mL, b-glucan level was 46.2 pg/mL, and the Et level was 13.9 pg/mL, all showing increase. *C. albicans* and *Klebsiella pneumoniae* were grown in cultures of a sputum specimen obtained at admission.

Results

Fungus was detected in cultures of specimens obtained from all patients (Table 1).

The β -glucan level exceeded 11 pg/mL in all patients.

The PCT level was below the detection limit in 8 of the 15 patients, but was greater than 0.5 ng/mL in 4 patients.

Three of these patients had mixed infection with Gram-negative bacteria and 1 had mixed infection with Gram-positive bacteria. All of the 3 patients with mixed Gram-negative bacterial infection tested positive for Et in the serum. The patient with mixed Gram-positive bacterial infection had infection with MRSA, and tested negative for Et. The PCT level in this patient

was 0.9 ng/mL.

The PCT level was in the range of 0.1 ng/mL to 0.5 ng/mL in 3 patients. One of these patients had mixed infection with *E. faecalis* and one had mixed infection with MRSA. The remaining patient did not have mixed bacterial infection and was infected with *C. albicans* alone. Among the 9 patients in whom the serum PCT exceeded 0.1 ng/mL, the aforementioned patient was the only one with fungus infection alone.

Two typical cases are presented (Figs. 1 and 2).

Discussion

In general, measurement of the serum levels of interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein

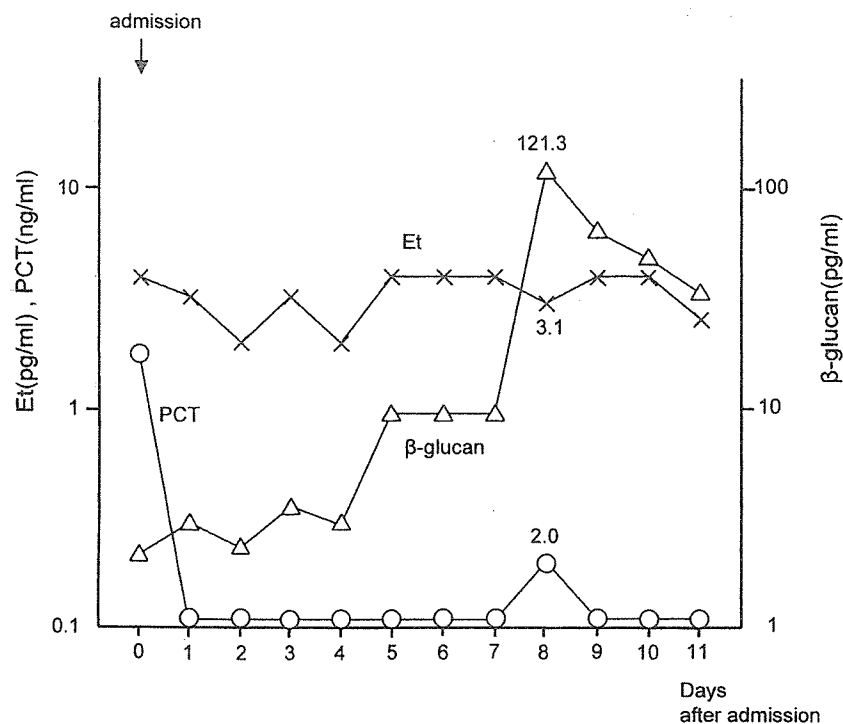


Fig. 2

Case 15. A 40-year-old man sustained injuries in a traffic accident. He had multiple fractures and pancreatic and duodenal rupture, and was operated upon immediately after arrival at the hospital. High fever developed on the 8th hospital day. Suture failure was diagnosed based on various examinations, and the patient was operated upon again. *C. albicans* was detected in wound cultures and cultures of arterial blood.

(CRP) as markers of infection is considered useful, but these marker levels have been shown to be increased even in cases of trauma with severe tissue invasion, who have no signs of infection. Thus, these markers are not highly specific for infection, and it is difficult to diagnose the presence of infection based on serum IL-6 and CRP levels alone.

Under such circumstances, measurement of PCT in the serum appears to be more useful than that of CRP, TNF- α and IL-6 for diagnosing bacterial infection and assessing its severity, although even this parameter is not entirely specific for the diagnosis of bacterial infection. According to the results of our study of sepsis, measurement of the serum PCT level exhibited a sensitivity of 75% and specificity of 83.3% when the cutoff level was defined as 2 ng/mL¹¹. Fleischhack et al. recommended that a serum

level of PCT of 0.5 ng/mL or greater be included as a criterion for the diagnosis of Gram-negative bacteremia²⁰.

Concerning the PCT level in mycotic infections, elevation of the PCT level has been reported in many studies¹². Fleischhack et al. reported that the PCT levels were increased in 9 neutropenic children with systemic fungal infection, and that the level decreased as the condition responded to treatment. However, they suggested that further examination is necessary to clarify this issue, because the sample size in this study was rather small²⁰.

Huber et al. reported two immunodeficient patients with severe fungal infection who did not exhibit high serum PCT levels¹⁵. One of them had mixed infection with *Aspergillus* and *Legionella*, in whom the PCT level exceeded 1.0 ng/mL. Therefore, PCT levels appeared not to

be necessarily low in mixed infections. The other patient had mixed infection with *Candida albicans* (*C. albicans*) and *Staphylococcus aureus*, in whom the serum PCT level was increased to around 0.3 pg/mL

No definite cutoff levels for PCT have been described for the diagnosis of deep mycosis. According to our present study, among the 9 patients with deep mycosis who showed a serum PCT level exceeding the detection limit, only one had fungal infection alone, and the PCT level in this patient was very low (0.2 ng/mL). Among the 7 patients who had a PCT level of 0.2 ng/mL or higher, 6 had mixed bacterial and fungal infection.

All of the 15 patients with deep mycosis examined in this study tested positive for β -glucan in the serum, supporting the significance of determination of the serum β -glucan level for the diagnosis of deep mycotic infections. Furthermore, all of the patients with mixed Gram-negative bacterial infection also tested positive for Et by the endotoxin-specific method.

These results indicate that the PCT level in the serum scarcely increases in cases with deep

mycosis, and the cutoff level can be defined as around 0.2 ng/mL.

Elevation of the serum PCT level in cases of deep mycotic infections appears to be attributable to stimulation of various cells, including macrophages, by Gram-negative or Gram-positive bacteria. These findings suggest that in cases of suspected infection, combined determination of the serum PCT, Et and β -glucan levels would enable differentiation of bacterial infection from mycotic infection.

In the future, the relationship between the serum PCT level and the presence of different types of infections should be examined using a larger sample size. The sensitivity and specificity of PCT determination for the diagnosis of infection, and the cells producing PCT must be examined in greater detail.

Acknowledgement

This study was supported by grants from the Mutual Aid Corporation for Private School of Japan, and the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan.

References

- 1) Zajac, J.D., Martin, T.J., Hudson, P. et al.: Biosynthesis of calcitonin by human lung cancer cells. *Endocrinol* **116** : 749 - 755, 1985.
- 2) Assicot, M., Gendrel, D., Carsin, H. et al.: High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* **341** : 515 - 518, 1993.
- 3) Davis, T.M.E., Assicot, M., Bohuon, C. et al.: Serum procalcitonin concentrations in acute malaria. *Trans R Soc Med Hyg* **88** : 670 - 671, 1994.
- 4) Smith, M.D., Suputtamongkol, Y., Chaowagul, W. et al.: Elevated serum procalcitonin levels in patients with melioidosis. *Clin Infect Dis* **20** : 641 - 645, 1995.
- 5) Reith, H.B., Lehmkuhl, R., Beier, W. et al.: die Studiengruppe Peritonitis : Procalcitonin - ein prognostischer Infektionsparameter bei der Peritonitis. *Chir Gastroenterol* **7** (Suppl 2) : 47 - 50, 1995.
- 6) Gramm, H-J., Dollinger, P., Beier, W.: Procalcitonin - ein neuer Marker der inflammatorischen Wirtsantwort Longitudinalstudien bei Patienten mit Sepsis und Peritonitis. *Chir Gastroenterol* **11** (Suppl 2) : 51 - 54, 1995.
- 7) Gendrel, D., Assicot, M., Raymond, J. et al.: Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatr* **128** : 570 - 573, 1996.
- 8) Nylen, E.S., Snider, R.H., Thompson, K.A. et al.: Pneumonitis-associated hyperprocalcitoninemia. *Am J Med Sci* **312** : 12 - 18, 1996.
- 9) Werra, I., Jaccard, C., Corradin, S.B. et al.: Cytokine, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock, and bacterial pneumonia. *Crit Care Med* **25** : 607 - 613,

- 1997.
- 10) Endo, S., Kasai, T., Takakwa, T. et al.: Examination of procalcitonin levels in SIRS as a marker of infectious diagnosis. *Jpn J Surg Infect* **10** : 179 - 183, 1998 (in Japanese).
 - 11) Endo, S., Kasai, T., Inada, K.: Evaluation of procalcitonin levels in patients with systemic inflammatory response syndrome as the diagnosis of infection and the severity of illness. *J Jpn Asso Infect Dis* **73** : 197 - 204, 1999 (in Japanese).
 - 12) Gerard, Y., Hober, D., Petitjean, S. et al.: High serum procalcitonin level in a 4-year-old liver transplant recipient with a disseminated candidiasis. *Infection* **3** : 310 - 311, 1995.
 - 13) Kuse, E.R., Langefeld, I., Jaeger, K. et al.: Procalcitonin-a new diagnostic tool in complications following liver transplantation. *Intens Care Med* suppl. **2** : 187 - 192, 2000.
 - 14) Staehler, M., Hammer, C., Meiser, B. et al.: Procalcitonin: a new marker for differential diagnosis of acute rejection and bacterial infection in heart transplantation. *Transplant Proc* **29** : 584 - 585, 1997.
 - 15) Huber, W., Schwegart, U., Bottermann, P.: Failure of PCT to indicate severe fungal infection in two immunodeficient patients. *Infection* **25** : 377 - 378, 1997.
 - 16) Endo, S., Inada, K., Okamoto, K. et al.: Procalcitonin level was not elevated in patients with deep-seated mycosis. *Jpn J Surg Infect* **12** : 141 - 145, 2000 (in Japanese).
 - 17) Mori, T., Ikeuchi, H., Matsuura, M. et al.: Evaluation of plasma (1→3)- β -D-glucan measurement by the kinetic turbidimetric limulus test for the clinical diagnosis. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* **35** : 553 - 560, 1997.
 - 18) Inada, K., Endo, S., Takahashi, K. et al.: Establishment of a new perchoric acid treatment method to allow determination of the total endotoxin in human plasma by the limulus test and clinical application. *Microbiol Immunol* **35** : 303 - 314, 1991.
 - 19) Obayashi, T., Tamura, H., Tanaka, S. et al.: New chromogenic endotoxin-specific assay recombined limulus coagulation enzymes and its clinical application. *Clin Chim Acta* **149** : 55 - 65, 1985.
 - 20) Fleicchhack, G., Cipic, D., Juettner, J. et al.: Procalcitonin - a sensitive inflammation marker of febrile episodes in neutropenic children with cancer. *Intens Care Med* **26** : S202 - S211, 2000.
-

敗血症性多臓器不全症候群に対する エンドトキシン吸着療法施行時のMMP-1値と 重症度を検討した1例

遠藤重厚, 佐藤信博, 鈴木 泰,
小川雅彰, 小鹿雅博, 箱崎将規, 高橋 学,
宮田美智子, 菊池 哲, 柴田繁吾
岩手医科大学医学部, 救急医学講座

(Received on September 4, 2006 & Accepted on September 20, 2006)

要旨

エンドトキシン血症を呈した敗血症性多臓器不全症候群の1例に対してPolymyxin-B immobilized fiber-direct hemoperfusion (PMX-DHP) を施行し, matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) について検討した.

症例は50歳代の男性で胃癌の術後の縫合不全による敗血症性ショックを合併した. PMX-DHP施行前後のエンドトキシン, tumor necrosis factor α (TNF-

α), MMP-1, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) 値を経時的に測定し, 病態との関わりについて検討した.

PMX-DHP施行により, 血中からエンドトキシンが除去され, さらに種々の液性因子の産生が抑制され, 病態の改善が見られた症例と思われた. 特に, TIMP-1/MMP-1比とPaO₂/FiO₂比の関係よりMMP-1が呼吸障害発症に関与している可能性も示唆された.

Key words : endotoxemia, MODS, MMP-1, TIMP-1, PMX-DHP

I. はじめに

細胞外マトリックス (extracellular matrix; ECM) は組織の細胞を取り巻く環境物質で, コラーゲン, エラスチンなどの繊維性タンパク, プロテオグリカンなどの複合糖質, 細胞接着などのフィブロネクチン, ラミニンなどの糖タンパクなどから構成されている. 組織支持機能とともに細胞の増殖, 分化, 接着などの細胞機能保持にも強く関与しているといわれる^{1, 2)}. 細胞外マトリックスの合成と分解は厳密に制御されており, 質的および量的な異常は各種疾患に結びつく.

ECMの分解に関与する酵素群がマトリックスメタロプロテナーゼ (matrix metalloproteinases; MMPs) で, 最近多くのMMPが発見されてきている³⁾. MMPsの内因

性のインヒビターも存在し, tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) と呼ばれている. TIMP-1, TIMP-2など数種類が同定されており, いずれもMMPの活性を強く阻害する. 生体におけるMMPとTIMPのバランスが, 炎症や癌などの病態における組織破壊と密接に関連していると考えられる⁴⁾.

我々は, これまで敗血症性acute respiratory distress syndrome (ARDS) 発症とMMP-1との関係について報告してきたが^{5, 6)}, 今回は, 敗血症性多臓器不全症候群の1例に対して, PMX-DHPを施行し, 病態の変化と細胞外マトリックスの一つであるMMP-1について検討したので報告する.

表1. SIRS, DICスコア, SOFAスコアの変化

	7月	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31日
体温 (°C)		35.4	37.2	37.8	38	38.1	38.4	37.8	37.7	36.9	37
心拍数 (/分)		122	114	102	100	92	90	84	88	84	86
呼吸数 (/分)		26	22	21	20	20	18	19	20	18	18
白血球数 (/mm ³)		3200	4600	5700	10300	12400	11700	12400	10800	11300	10200
血小板数 ($\times 10^3/\text{mm}^3$)		32	46	58	98	144	136	178	201	222	220
FDP ($\mu\text{g/mL}$)		26.3	18.2	12.4	8.6	7.2	6.6		3.1		3.2
PT比		1.78	1.63	1.39	1.13	1.07	1.02		1.01		1.02
P/F比		123	156	268	292	302	280	342	356	340	366
ビリルビン (mg/dL)		9.7	7.2	5.5	5	4.2	3.1	2.8	3.2	3.3	2.6
ドーパミン ($\mu\text{g/kg} \cdot \text{min}$)		12	12	10	7	7	7	5	5	5	3
GCS		8	10	13	15	15	15	15	15	15	15
クレアチニン (mg/dL)		6.7	7.7	6.8	6.3	7.3	4.6	3.8	3.3	2.8	3.1
SIRS項目数		4	2	2	1	3	1	1	0	0	0
DICスコア		8	5	5	2	1	0		0		0
SOFAスコア		19	18	14	13	11	10	7	6	6	4

GCS : Glasgow Coma Score

II. 方 法

採血は、ヘパリン加のエンドトキシンフリーのシリンジで経時的に行った。検体は直ちに3,000 rpm, 40秒にて遠心して、血漿を得て測定まで-80度で保存した。

エンドトキシンはエンドトキシン特異的高感度法にて測定し、エンドトキシン血症は1.1 pg/ml以上とした⁷⁾。

MMP-1, TIMP-1はいずれもenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Amersham, Buckinghamshire, UK) で測定した。MMP-1の測定限界は1.7ng/mlであり、健常者は測定限界以下であった。TIMP-1の測定限界は1.25ng/mlであり、正常値は137±33ng/mlであった。

tumor necrosis factor α (TNF- α) もELISA (Medogenix, Fleurus, Belgium) で測定した。その測定限界は3 pg/mlであった。肺の酸素化能の指標としては、PaO₂/FIO₂比 (P/F比) を用いた。Disseminated intravascular coagulation (DIC) は急性期DIC診断基準⁸⁾を、重症度の指標としてはSOFAスコア⁹⁾を用いた。

相関関係はPearsonの式を用い、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。

III. 症 例

症例：50歳台、男性。

既往歴：特記すべきものなし。

臨床経過：7月18日、胃癌に対して胃全摘出術、胆嚢摘出術、脾摘出術を施行した。22日に汎発性腹膜炎からショック状態となり紹介となった。ドレーンから大量の出血を認めた。腹腔内出血に対して再手術を施行した。十二指腸断端部の縫合不全があり動脈性の出血を認め、縫合止血を行った。

経過中の血液・凝固・SIRS項目数、DICスコア値、およびSOFAスコアの推移は表1に示す。22日の時点のDICスコアは8点、SOFAスコアは19であり、敗血症性多臓器不全症候群の状態であった。

術前の血漿中のエンドトキシン値が12.4 pg/mlと上昇していたので、術後直ちにPMX-DHPを施行した。11, 12日に、2時間のPMX-DHPを二回施行し、24日には血漿エンドトキシン値は0.8 pg/mlまで低下した。

PMX-DHPによる血漿中のエンドトキシン値の低下とともに、TNF- α , MMP-1値の著明な低下もみられた (図1)。一方、TIMP-1値には大きな変化はみられなかった。エンドトキシンをはじめとする種々の液性因子の低

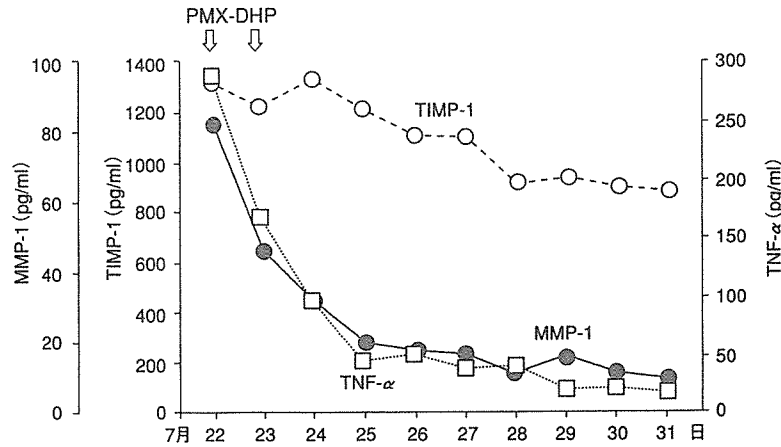
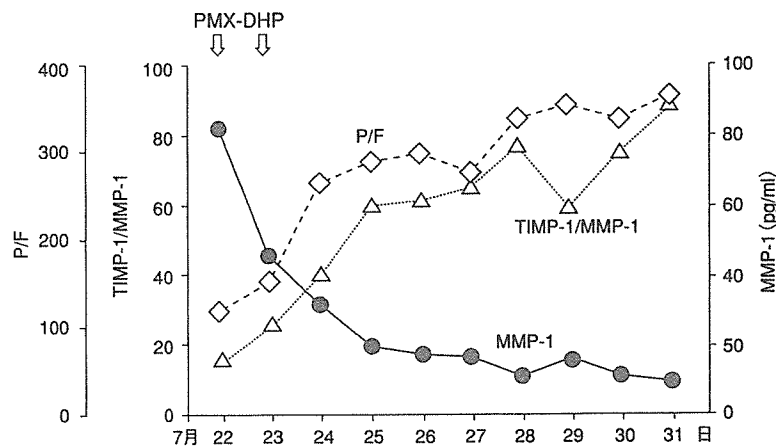
図1. 経過中のMMP-1, TIMP-1, およびTNF- α 値の推移

図2. 経過中のMMP-1, TIMP-1/MMP-1比とP/F比の推移

下に伴い、SOFAスコアの改善がみられ、25日にはDICからも離脱した(表1)。

図2には、7月22日から31日までのMMP-1値、TIMP-1/MMP-1比とP/F比の推移を示す。この期間中のMMP-1値とP/F比間には負の有意な相関関係がみられた($r=-0.8462$, $p<0.0087$)。また、TIMP-1/MMP-1比とP/F比間には有意な正の相関関係がみられた($r=0.8825$, $p<0.0002$)。

MMP-1値とTNF- α 値間には有意の相関関係が見られた($r=0.8967$, $p<0.0001$)。MMP-1値とTIMP-1値間には有意な相関関係はみられなかった($r=0.1064$, $p=0.6440$)。

IV. 考 察

我々は、これまでPMX-DHPを施行することにより臨床症状の改善が得られることを、エンドトキシン以外の様々な液性因子の変化の観点から検討してきた¹⁰⁻¹⁵⁾。

ECMはコラーゲン、プロテオグリカンなど多くの蛋白成分から構成されるが、これらの分解に関与するメタロプロテアーゼを総称してMMPと呼ばれている。MMP-1には間質コラゲナーゼ(MMP-1)、72kDaタイプIVコラゲナーゼ(ゼラチナーゼA, MMP-2)、92KdaタイプIVコラゲナーゼ(コラゲナーゼB, MMP-9)、ストロメライシン(MMP-3)などがある。最近、膜型MMP(MT1-MMP,

MT2-MMP) などが発見されている³⁾。

ECMが細胞膜表面ノインテグリンと結合することによって情報が核内に伝わりMMP-1などのタンパク質合成が行われるが、その情報伝達機構はほとんどわかっていない。MMPの酵素学的特性はある程度解明されてきているが、生体内における役割についてはまだ不明な点が多い。生体内での酵素活性の調節は、遺伝子レベルでの生成調節、細胞外での活性化、さらに酵素阻害因子による直接的な酵素活性の規制があり、極めて複雑である。

遺伝子レベルでの生成は、各種のサイトカインによる促進的、抑制的規制を遺伝子転写レベルで受けている^{16, 17)}。サイトカインが細胞膜受容体に結合すると、膜結合型フォスホリパーゼCが活性化されリン脂質が水解される。生じたジアシルグリセロールがカルシウムイオンとともにプロテインキナーゼCを賦活化し、これにより転写因子であるc-fosとc-junの発現が増強される。これにより生じたc-fosとc-junの結合体(AP-1)が生成促進プロモーター領域の規制部位に結合し、コラゲナーゼ遺伝子の転写を促進する。

組織中での細胞外分解酵素は、血中および組織中の酵素阻害蛋白によってその活性が規制されている^{18, 19)}。血中の阻害因子としては血漿タンパクの α_2 -Mがよく知られている。

一方、組織由来の阻害タンパクであるTIMPは、コラゲナーゼ、ゼラチナーゼ、ストロムライシンなどのMMPと1:1で非共有結合し、その活性を阻害する。

TIMPは繊維芽細胞を含めた多くのMMP産生細胞で生成される。このようにTIMPはMMPと同じ細胞で生成されること、MMPと親和性が高いことから、組織中でのMMP活性の調節に重要な役割を演じているものと思われる。

これまで我々は、敗血症性ARDS^{5, 6)}、虚

血再灌流傷害時²⁰⁾の病態と血中のMMP-1との関係について報告してきた。ARDS患者の気管支洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid; BAL)中のMMP-1値については、重症度を反映するとの報告があるが²¹⁾、ARDSと血中のMMP-1との関係についての報告は未だない。一方、肺のECMの分解には肺局所で産生されたプロテアーゼと肺へ遊走してくる好中球由来のエラスターゼなどの両者が関係しているといわれている²²⁾。

本症例においてはP/F比とMMP-1間には負の相関関係が、P/F比とTIMP-1/MMP-1比には正の相関関係がみられた。すなわち、MMP-1は呼吸障害が強いほど高値を示し、また、TIMP-1/MMP-1比は呼吸障害が強いほど低値を示しており、このことは敗血症性ARDS発症にMMP-1が関与している可能性が、またMMP-1とTIMP-1のバランスがARDS発症に強く関わっている可能性が示唆された。

TNF- α は血管内皮細胞に対してコラーゲンやプロテオグリカン産生を転写レベルで抑制し、そしてMMPの産生を刺激することが知られている^{16, 23)}。今回の検討では、TNF- α とMMP-1との間には正の相関関係が認められことより、MMP-1産生にTNF- α が関与していることが窺える。

今回、2回のPMX-DHP施行により、DICからの離脱、肺酸素化能の改善をはじめとする全身状態の改善もみられた。

このようにPMX-DHP施行によりエンドトキシンを吸着することは、様々な液性因子の産生を抑制することにより病態の改善をもたらすことが示唆された。

本研究の一部は、厚生労働科学研究補助金、日本私学振興・共済事業財団、および文部科学省科学研究費によった。

文 献

- 1) **Koivunen E, Saksela O, Itkonen O, et al.** : Human colon carcinoma, fibrosarcoma and leukemia cell lines produce tumor-associated trypsinogen. *Int J Cancer* **47**, 592-596, 1991.
- 2) **Nagase H and Okada Y** : Proteinases and matrix degradation. In "Textbook of Rheumatology", eds by Kelley WN, Harris ED Jr., Ruddy S, et al., pp. 323-324, Saunders Company, Philadelphia, PA, 1997.
- 3) **Domotor E, Bartha K, Machovich R, et al.** : Protease-activated receptor-2 (PAR-2) in brain microvascular endothelium and its regulation by plasmin and elastase. *J Neurochem* **80**, 746-754, 2002.
- 4) **Hiyakawa T** : Tissue inhibitor of metalloproteinases and their cell growth promoting activity. *Cell Struct Funct* **19**, 109-114, 1994.
- 5) **Nakae H, Endo S, Yamada Y, et al.** : Assessment of matrix metaroproteinase-1 in septic acute respiratory distress syndrome: A report of two cases. *Crit Care Shock* **6**, 260-264, 2003.
- 6) **今井聡子, 佐藤信博, 八重樫泰法, 他** : 敗血症性ショック後のARDSに対するシベレスタットナトリウム投与時の好中球エラストラーゼ, サーファクタント-D, およびサイトカイン値の検討. *Pharma Medica* **21**, 137-140, 2003.
- 7) **八重樫泰法, 稲田榎也, 佐藤信博, 他** : 血漿高感度エンドトキシン測定法について. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 **7**, 25-28, 2003.
- 8) **丸藤 哲, 射場敏明, 江口 豊, 他** : 急性期DIC診断基準. *日救急医学会誌* **16**, 188-202, 2005.
- 9) **Vincent JL, Moreno R and Takala J** : The SOFA (sepsis-related organ failure assessment) score to describe organ dysfunction/ failure. *Intensive Care Med* **22**, 707-710, 1996.
- 10) **遠藤重厚, 佐藤信博, 八重樫泰法, 他** : 高感度エンドトキシン測定法によるPMX-DHPの効果判定について. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 **9**, 118-121, 2005.
- 11) **遠藤重厚, 八重樫泰法, 佐藤信博, 他** : 新しい敗血症の診断マーカーである可溶性CD14サブタイプの有用性について. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 **9**, 46-50, 2005.
- 12) **遠藤重厚, 佐藤信博, 小鹿雅博, 他** : 高エンドトキシン血症に対するエンドトキシン吸着療法施行時のHigh mobility group box 1値と肺酸素化能の検討：症例報告. *岩手医誌* **58**, 57-61, 2006.
- 13) **小鹿雅博, 佐藤信博, 鈴木 泰, 他** : PMX-DHP施行時の HMGB1値の検討. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 **10**, 2006 (掲載予定).
- 14) **今井聡子, 佐藤信博, 小鹿雅博, 他** : PMX-DHP施行時の IL-18とsFasの検討. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 **10**, 2006 (掲載予定).
- 15) **遠藤重厚, 佐藤信博, 鈴木 泰, 他** : PMX-DHPが有効と思われた敗血症性多臓器不全症候群におけるIL-18, IL-12の検討—1 症例報告. エンドトキシン血症救命治療研究会誌 **10**, 2006 (掲載予定).
- 16) **O'connor CM and Fitz-Gerald MX** : Matrix metalloproteinases and lung disease. *Thorax* **49**, 602-609, 1994.
- 17) **Birkedal-Hansen H** : Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res* **28**, 500-510, 1993.
- 18) **Woessner JF Jr** : Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J* **5**, 2145-2154, 1991.
- 19) **Murphy G and Docherty G** : The matrix metalloproteinase family and the inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* **7**, 120-125, 1992.
- 20) **Ueshima K, Shibata M, Suzuki T, et al.** : Extracellular matrix disturbances in acute myocardial infarction: relation between disease severity and matrix metalloproteinase-1, and effects of magnesium pretreatment on reperfusion injury. *Magnesium Res* **16**, 120-126, 2003.
- 21) **Fligiel SE, Standiford T, Fligiel HM, et al.** : Matrix metalloproteinases and matrix metalloproteinases inhibitors in acute lung injury. *Human Pathol* **37**, 422-430, 2006.
- 22) **Hanemaaijer R, Koolwijk P, le-Clerc L, et al.** : Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vein and microvascular endothelial cells. Effects of tumour necrosis factor alpha, interleukin 1 and phorbol ester. *Biochem J* **296**, 803-809, 1993.
- 23) **Kaji T, Hiraga S, Yamamoto C, et al.** : Tumor necrosis factor alpha-induced alteration of glycosaminoglycans in cultured vascular smooth-muscle cells. *Biochim Biophys Acta* **1176**, 20-26, 1993.