

論文内容に関する要旨

Interleukin-8 Induces an Elevation in the Endotoxin Activity Assay (EAA)
Level:

Does the EAA Truly Measure the Endotoxin Level?

(エンドトキシン活性測定法 (EAA) の値はインターロイキン 8 でも上昇する ;

EAA は真にエンドトキシンを測定しているのか?)

(Journal of Infection and Chemotherapy 平成 25 年 8 月掲載 (予定))

松本 尚也

I. 研究目的

エンドトキシンは敗血症の診断において非常に重要な役割を果たしている。測定方法は、保険適応されている比濁時間分析法 (以下、比濁法) に加えて、Endotoxin Activity Assay (EAA) がある。しかし EAA の値は、比濁法や血液培養の結果と解離していることや、ステロイドの影響を受けるといったことを経験しており、エンドトキシンの値ではなく、白血球の活性度をみている可能性がある。

本研究では、臨床における測定結果の検討を行い、LPS、白血球を活性化させる IL-8、白血球の活性を抑制するステロイドを用い実験を行った。

II. 研究対象および方法

2008 年 4 月から 2009 年 11 月の間に当施設に搬送となった症例、または当施設で新たに発症した 44 症例で、その内訳は、グラム陰性菌感染 7 例、グラム陽性菌感染 11 例、原因菌不明感染 5 例、SIRS 16 例 (急性膵炎 3 例、広範囲熱傷 4 例、外傷 4 例、その他 5 例)、non-SIRS 5 例である。検体は診断した時点のものであり、感染症と診断した症例のうち、敗血症の診断基準を満たさないものは除外した。敗血症の診断は Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Committee の基準に従った。

ステロイド添加実験では、メチルプレドニゾロン添加後 2 時間反応させた健常人の全血に LPS を添加したものと、健常人の全血に LPS を添加したものでエンドトキシンの値を比較した。

LPS 添加実験では、健常人の全血に LPS (*E. coli* 0111:B4) を添加し、添加量と測定値の関係について検討した。

IL-8 添加実験では、健常人の全血に IL-8 を添加し、添加量と測定値の関係について検討した。

EAA 測定試薬などを含む反応試験管には、LPS MAX Tube, Aliquot Tube, Tube1 (Negative control), Tube2 (Sample tube), Tube3 (Positive control) の 5 本あり、本来 Aliquot Tube, Tube1, Tube2, Tube3 にはエンドトキシンは含まれていないとされているが、これらの Tube にエンドトキシンが含まれていないかを比濁法を用いて調べた。

統計は、Student' s *t* test と Bonferroni test を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

III. 研究結果

エンドトキシンを EAA で測定した場合、起因为菌別による測定値で有意差は認めなかった。一方、比濁法で測定した場合、グラム陰性菌感染で有意に高値であった。また、SIRS 症例を疾患別にみた場合、EAA では、急性膵炎は広範囲熱傷、外傷よりも有意に高値であった。しかし、比濁法ではすべてカットオフ値以下であった。LPS 添加実験では、比濁法で測定した場合、添加 LPS 濃度に依存した量が回収されたが、EAA ではそのようなことはなく、LPS 10 ng/ml 添加で初めて High EAA Level となった。ステロイド添加実験では、比濁法ではメチルプレドニゾロン添加による影響は認めなかったが、EAA ではメチルプレドニゾロン添加により、その値は大きく低下した。IL-8 添加実験では、IL-8 添加により、EAA の値が上昇した。EAA 測定試験管内はエンドトキシンで汚染されていることが確認された。

IV. 結語

EAA はグラム陰性菌感染に特異的ではなく、ステロイド、IL-8 にも影響を受けていた。また、本来エンドトキシンが含まれない反応試験管内にもエンドトキシンが混入しており、エンドトキシン測定法としては問題点が多い。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 諏訪部 章 (臨床検査医学講座)

副査 教授 若林 剛 (外科学講座)

副査 教授 遠藤 重厚 (救急医学講座)

Endotoxin Activity Assay (EAA) はグラム陰性菌感染で有意に上昇しているわけではなく、感染症ではない SIRS 症例、特に肺炎でも上昇している。

また、*in vitro* でも、LPS 添加実験では添加量と回収量が異なる、ステロイド添加により EAA の値が低下する、IL-8 添加により EAA の値が上昇する、といったことから、EAA の値はエンドトキシンではなく、WBC の活性度を反映している可能性がある。さらに EAA で使用されている試験管には、エンドトキシンで汚染されていることが判明し、精度管理の面での問題があることが示された。

以上より、本論文では、エンドトキシン測定における EAA の種々の問題点が浮き彫りにされた。これらの問題点を今後解決してゆくことで、敗血症の診断や治療がさらに向上することが期待される。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

本論文の内容に関する質疑に対して、いずれも明確な回答を得た。学位に値する十分な学識を有することを認めた。また、英語試験に合格した。

参考論文

- 1) ステロイド投与による Endotoxin Activity Assay (EAA) 値に関する検討 (松本尚也, 他 7 名と共著).

エンドトキシン血症救命治療研究開始第 14 巻第 1 号 (2010 年)

- 2) エンドトキシン散乱測光法を用いたエンドトキシン測定法の臨床応用における課題 (高橋学, 他 7 名と共著).

エンドトキシン血症救命治療研究開始第 14 巻第 1 号 (2010 年)

- 3) Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome (重症敗血症診断に対するプレセプシンの有用性) (小豆嶋立頼, 他 5 名と共著).

Journal of Infection and Chemotherapy (2011) 17 (2011 年)