

免疫学的治療法

関西医科大学 小児科学教室

岩瀬 師子, 平林 洋一
谷内 昇一郎

はじめに

新生児細菌感染症に対する免疫学的治療法を評価する一つの指標として、顆粒球過酸化水素産生能をフローサイトメトリーを用いて測定し、臨床経過との相関について検討した。また、新生児血漿フィブネクチン(FN)を測定し、在胎週とFNの相関、新生児敗血症におけるFNの動態、ならびに交換輸血症例のFNの推移について検討した。

1) 新生児細菌感染症における顆粒球過酸化水素産生能の検討

研究目的

微生物に対する感染防御には、特異的な細胞性および液性免疫系と、非特異的な食細胞系、特に顆粒球の関与が重要である。その機能は感染病巣への遊走、細菌の付着、貪食、そして殺菌分解に分けられる。この殺菌分解のうち、活性酸素の関与した機構が細菌感染の防御に重要な役割を演じていることが最近明らかになった。そこで、新生児細菌感染症を中心に、異物貪食に伴って顆粒球内に生成する過酸化水素を、微量の全血でフローサイトメトリーを用いて測定し、ストレス下における新生児の免疫学的動態について検討することを目的とした。

対象

昭和59年10月から60年1月までに、関西医科大学未熟児センター(NICU)に入院した患児のうち、血液培養で細菌が証明された敗血症2名、菌は証明できなかったが明らかに敗血症を疑わせた患児2名、化膿性髄膜炎2名、および非感染症児5名を対象とした。在胎週数は27週から39週、出生体重は1,100gから2,958gで、平均体重は1,854gであった。

方法

ヘパリン化全血0.1 mlに無蛍光物質である2', 7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA)と、顆粒球膜刺激剤であるphorbol myristate acetate (PMA)を加え、一定時間振盪加温した。PMAで刺激された顆粒球は異物貪食時と同様に酸素代謝が活性化され、顆粒球内に過酸化水素が生成される。それにより、細胞内に拡散したDCFH-DAはただちに酸化され蛍光を発する物質に変化する。この蛍光量をフローサイトメトリーを用いて顆粒球についてのみ測定し、顆粒球1個の平均DCF fluorescence/cellを求め、健康成人と比較した。

結果

重症細菌感染症児は、非細菌感染症児に比較して過酸化水素産生量は高値を示し、特に病初期に最も高かった。また、呼吸窮迫症候群(RDS)でもやや高値を示していた。

図1の(☆印)は、生後19日目に発症した成熟児化膿性髄膜炎の症例である。治療開始とともに顆粒球過酸化水素産生量は急激に低下した。(☆☆印)は敗血症と難治性の大腿部化膿性骨髄炎の合併例で、生後16日目に発症した在胎27週1,100gの極小未熟児の症例である。治療開始とともに全身状態の改善が認められたが、化膿性骨髄炎は遷延化し、顆粒球の過酸化水素産生量も他に比較して高値が持続する傾向にあった。非感染症では、頭蓋内出血1例を含む3例が低値をとり、呼吸窮迫症候群(RDS)2例がそれよりもやや高値であった。なお、グラフ横軸の日数は、感染症児は病日、非感染症児は生後日数とした。

考 察

顆粒球は、生体内に侵入した細菌などの微生物に対する感染防御機構に重要な役割を果たしている。なかでも、異物貪食に伴う酸素代謝促進 (respiratory burst) 時に顆粒球内に生成する活性酸素 (スーパーオキシド, 過酸化水素, ハイドロキシルラジカル, 一重項酸素) は、殺菌機構に非常に重要である。

これらの活性酸素産生能の評価には、酸素消費能, 酸化還元反応, 化学発光等の方法が使用されている。しかし、これらは比較的多量の血液を必要とすることが多く、新生児においては実施困難である。今回我々は、0.1mlの全血で重症細菌感染症をはじめ、ストレス下における新生児顆粒球の過酸化水素産生を経過を追って定量することができた。その結果、顆粒球の過酸化水素産生能は重症細菌感染症の病初期に極めて高く、病状の改善とともに低下した。感染症の遷延例では、高値が持続する傾向にあった。

これらのことは、顆粒球の殺菌能を直接反映しているとは言えないが、細菌感染症が顆粒球の酸素代謝に大きな影響を与えていることを証明するもので、一般細菌感染における諸家の成績と一致するところである。いずれにせよ、微量の全血で実施できるため、新生児感染症の日常臨床において、その経過や治療効果判定のひとつの指標になると期待される。

2) 新生児細菌感染症における Fibronectin (FN) の測定

研究目的

Fibronectin (FNと略す) は、2つの subunit からなる分子量約45万の α_2 -glyc-
oprotein であり、cold insoluble globulin (CIG) と呼ばれている。最近各分野で FN は注目されており、とくに血中の FN の低下が網内系機能の低下とよく相関することが明らかにされ、FN が貪食作用に深くかかわっていることが示唆されている。新生児期では、敗血症はとくに重篤な経過をとりやすく、その致命率も高い。本研究は新生児における FN を測定し、とくに敗血症における FN の推移と免疫学的治療法との相

関を検討することを目的とした。

対 象

本院NICUに入院した新生児26名を対象とした。採血は動脈血より行い、EDTAを混和し、直ちに分離し血漿1mlにアプロチニンを1トリプシン-インヒビター/1mlの割合で加え、血漿10 μ l で-20℃以下で凍結し、1カ月以内に測定した。

方 法

FNの測定はベーリンガー・マンハイム山之内製のフィブロネクチン測定キットを用い、分光光度計(日立社製)にて測定した。

結 果

図2は在胎週とFNの関係を示したもので、検体はすべて生後24時間以内に採血したものとした。×は呼吸窮迫症候群(RDS)や仮死を伴わないもの、○はRDSを伴うもの、△は仮死 Apgar score 7点以下のものとした。図2は合併症を伴わないFN値と在胎週の相関を示したもので、 $r = 0.7012$ で $P < 0.01$ と有意に正の相関を示していた。仮死を伴うものは伴わないものに比べ、明らかに低値を示した。

次に敗血症におけるFNの推移を検討した。

図3は敗血症3例におけるFN値を示したもので、3例とも発症時には低値を示し、経過とともに上昇傾向が認められた。

図4は重篤な経過をとり交換輸血を施行して救命しえた敗血症例で、病初期のFN値は0に近く著減していた。交換輸血によって、FN値の急激な上昇が認められた。

考 察

新生児では網内系機能の低下がしばしば認められ、血中フィブロネクチンの低下が関連していると考えられる。我々は在胎週とFN値が正の相関を示すことを認め、在胎週が少ないほどFN値が低く、網内系機能が低下していることが推測された。呼吸窮迫症候群や仮死でもFNが低値を示すことが報告されている。呼吸窮迫症候群や仮死で

FNが低下するのは、低酸素症による組織障害により、FNの消費が高まるためと考えられる。重篤な敗血症ではmultiple organ failure (MOF)をきたすことが知られているが、今回対象となった3例の敗血症のFN値は著明に減少しており、MOFをきしていると推測された。

このような理由からも、免疫学的治療の一つである交換輸血は、敗血症の治療として有効な手段であったと結論された。交換輸血後、全身状態は改善され、FNの上昇に比例して、臨床所見も軽快した。一方、緩徐な経過をとった敗血症ではFNは低値を示したものの、 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であ

り、臨床経過の改善に伴ってFN値も上昇した。

今後さらに症例を追加し、新生児細菌感染症におけるFNの動態と免疫学的治療法との相関性について追究していきたいと考えている。

ま と め

以上、新生児細菌感染症における顆粒球過酸化水素産生能の検討ならびに血漿FNの測定成績より、これらの検査法は新生児細菌感染症の臨床像を十分反映するものであり、免疫学的治療法の評価として有効な指標となりうると結論された。

新生児果粒球の過酸化水素産生能

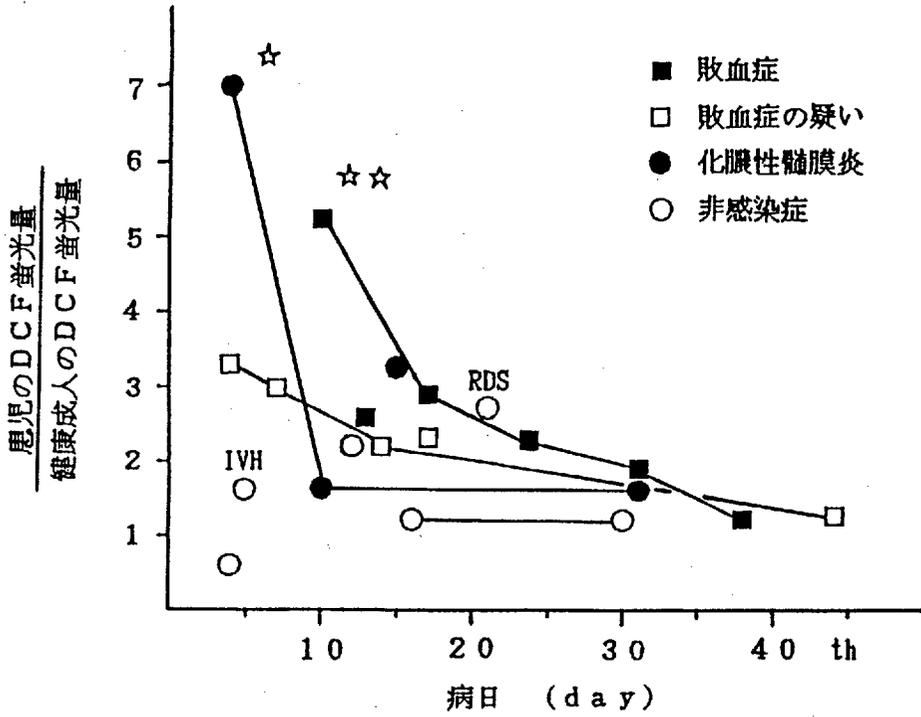


図1

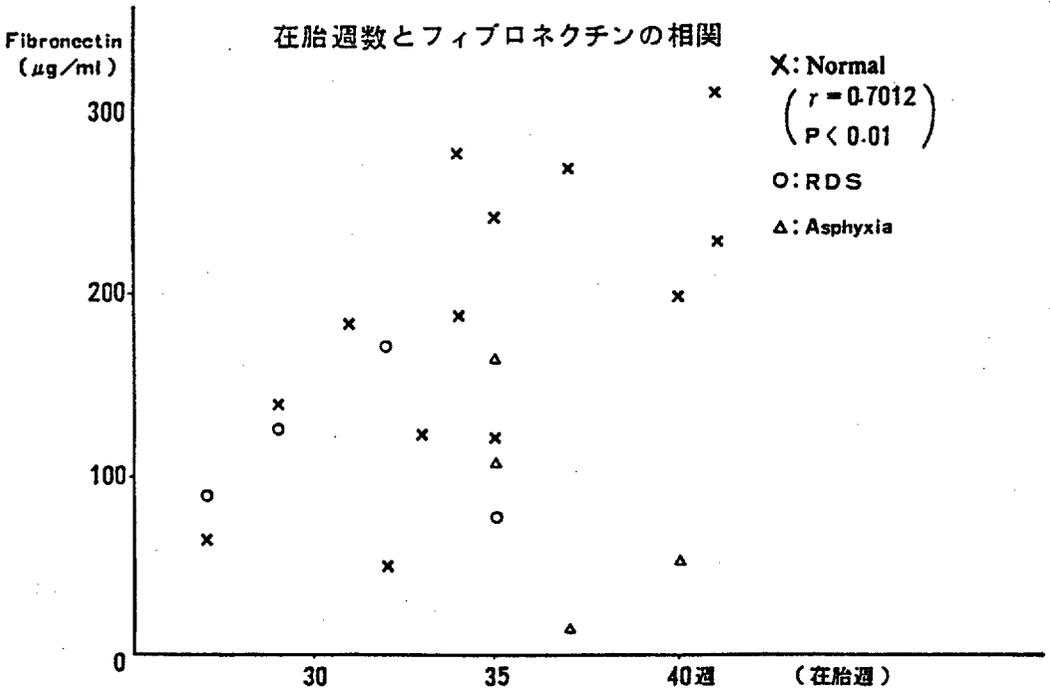


図2

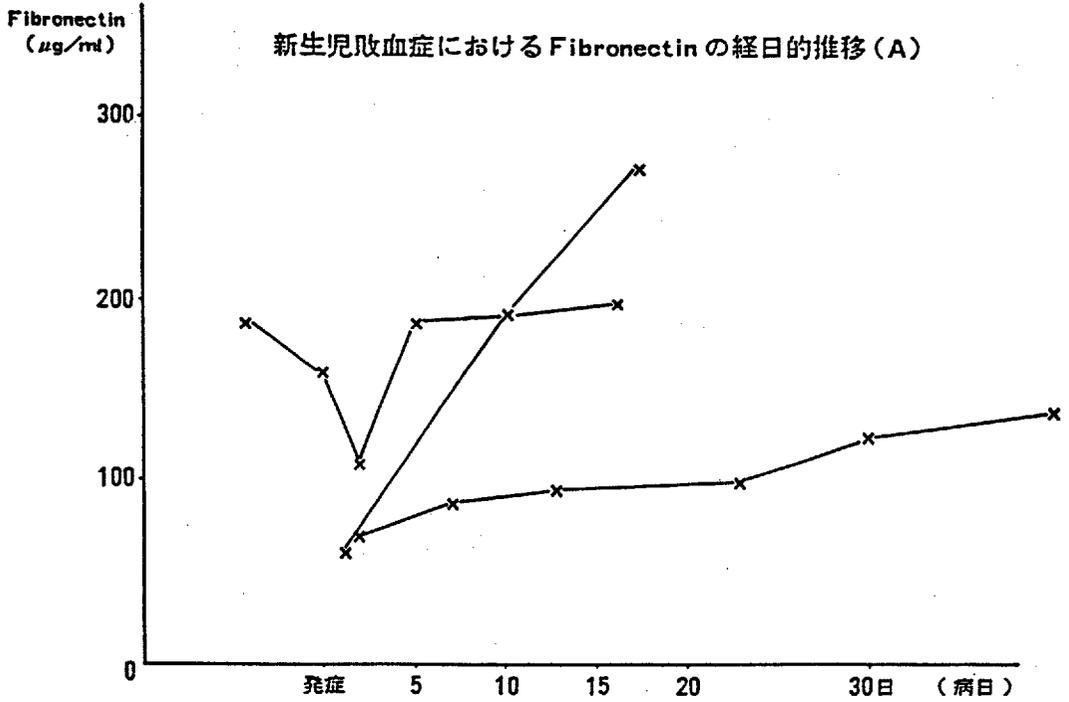


図 3

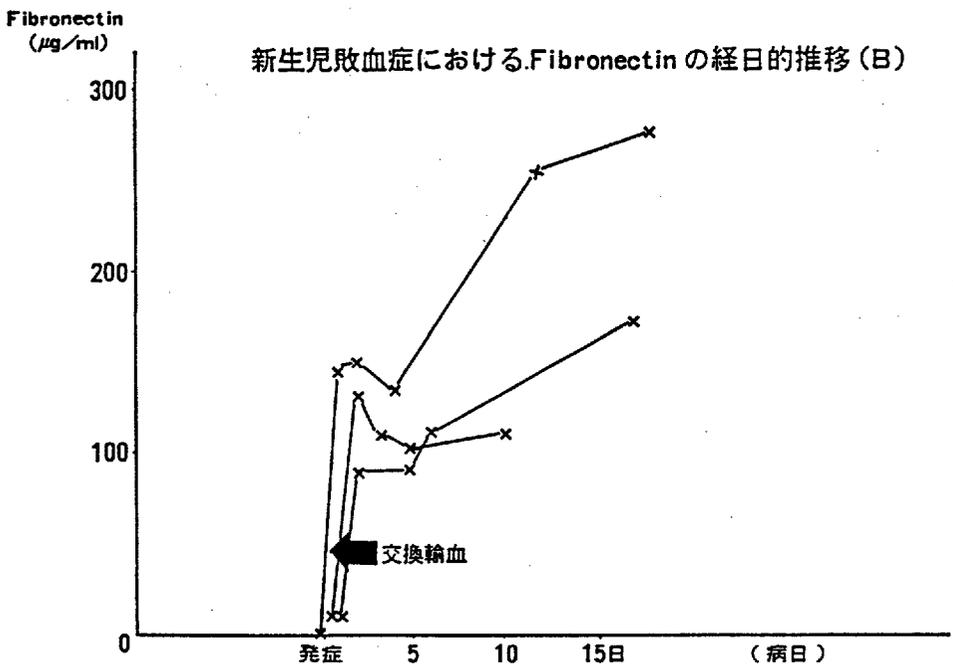
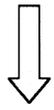
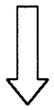


図 4



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



はじめに

新生児細菌感染症に対する免疫学的治療法を評価する一つの指標として、顆粒球過酸化水素産生能をフローサイトメトリーを用いて測定し、臨床経過との相関について検討した。また、新生児血漿フィブロネクチン(FN)を測定し、在胎週とFNの相関、新生児敗血症におけるFNの動態、ならびに交換輸血症例のFNの推移について検討した。