体外循環中の肺機能障害に対する好中球の関与

郷 良 秀 典 加 藤 智 栄 小 林 俊 郎 西 田 真 彦
平 田 健 美 甘 章 仁 岡 田 治 彦 浜 野 公 一
善 甫 宣 哉 江 里 健 輔

体外循環中の肺障害に好中球が関与しているか否かを知る目的で、体外循環前後で肺循環での顆粒球エラスターゼ、ミエロパーオキシダーゼ産生量および respiratory index を測定した。体外循環後、肺循環での顆粒球エラスターゼ、ミエロパーオキシダーゼ産生量および respiratory index 値は有意に上昇した。さらに体外循環後の肺循環での顆粒球エラスターゼ、ミエロパーオキシダーゼ産生量は術前肺動脈圧および respiratory index の変化率と正の相関を示した。これらの結果から、体外循環中の肺機能障害に好中球が強く関与しており、肺高血圧症例でそれがより顕著であることが示された。日心外会誌 29 巻 6 号：363-367 (2000)

Keywords：体外循環，肺機能障害，顆粒球エラスターゼ，ミエロパーオキシダーゼ

Role of Neutrophils in Pulmonary Dysfunction during Cardiopulmonary Bypass

Hidenori Gohra, Tomoe Katoh, Toshiro Kobayashi, Masahiko Nishida, Ken Hirata, Akihito Mikamo, Haruhiko Okada, Kimikazu Hamano, Nobuya Zempo and Kensuke Esato (First Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, Ube, Japan)

To test the hypothesis that neutrophils play a role in lung injury during cardiopulmonary bypass, granulocyte elastase and myeloperoxidase release from pulmonary circulation were measured, as well as the respiratory index, before and after cardiopulmonary bypass. The production of granulocyte elastase and myeloperoxidase in the pulmonary circulation, and the respiratory index also elevated significantly after cardiopulmonary bypass. Furthermore, the level of granulocyte elastase and myeloperoxidase released from pulmonary circulation correlated with the changes of the respiratory index and preoperative pulmonary artery pressure. These data indicate that neutrophils play a major role in pulmonary dysfunction occurring after cardiopulmonary bypass, which is accentuated in patients with pulmonary hypertension. Jpn. J. Cardiovasc. Surg. 29: 363-367 (2000)

心臓手術の補助手段として、人工心肺を用いた体外循環が広く使用される。体外循環後、肺機能障害が生じることが知られており^{1,2)}、これに好中球が関与していると考えられている。好中球は体外循環中、人工物（回路など）との接触、サイトカインなどにより活性化される。活性化された好中球は顆粒球エラスターゼ (GEL)、ミエロパーオキシダーゼ (MPO) を放出し、これが組織障害、とくに内皮細胞障害を引き起こすと考えられる^{3,4)}。とくに術前肺高血圧を呈する症例では体外循環により肺動脈内皮細胞障害をきたしやすい可能性がある⁵⁾。

本研究では術前肺高血圧を呈す可能性のある

左-右シャント疾患および僧帽弁疾患症例について、体外循環中の肺循環での GEL, MPO の産生量を測定し、好中球が体外循環中の肺障害に関与しているか否かを知ることが目的とした。

対象と方法

開心手術症例 8 例を対象とした。手術の内訳は僧帽弁置換術 5 例、心室中隔欠損閉鎖術 3 例であった。男性 4 例、女性 4 例で、平均年齢は 39.3 ± 17.0 歳であった。

手術は全例、フェンタニールを用いた全身麻酔下に、胸骨正中切開で行われた。体外循環は、上下大静脈脱血、上行大動脈送血により確立され、Biopump (Bio-Console; Bio-Medics Inc., Eden Prairie, USA) および膜型肺 (Mera Excelunga

HPO-25 RHF; Senko Medical Instrument Co. Ltd., Tokyo, Japan) が用いられた。人工心肺回路の充填には 2.0~2.2 l の乳酸リンゲル液が用いられた。手術は完全体外循環下に行われ、心筋保護には間欠的微温血液心筋保護液が用いられた。体外循環時間 140.2 ± 78.0 分、大動脈遮断時間 89.0 ± 59.9 分、最低食道温 $33.3 \pm 1.7^\circ\text{C}$ 、最低直腸温 $33.9 \pm 1.5^\circ\text{C}$ であった。

体外循環前および終了直後に肺動脈血および左房血を採取し、GEL、MPO 濃度を測定した。GEL 濃度は enzyme-linked immunosorbent assay 法により、MPO は enzyme-antigen immunoassay 法により測定された。左房血と肺動脈血の GEL または MPO 濃度の差をそれぞれ体外循環中の肺循環での GEL または MPO 産生量とした。体外循環前後で肺循環での GEL、MPO 産生量を比較した。

肺機能の変化を評価するため、体外循環前後で 100%酸素吸入下に血液ガス分析を行い、次式により respiratory index (RI) を求めた。

$$\text{RI} = \text{AaDO}_2 / \text{PaO}_2$$

$$= (713 - \text{PaO}_2 - \text{PaCO}_2) / \text{PaO}_2$$

体外循環前後の RI の変化は次式で求めた値で評価された。

$$(\text{post. RI} - \text{pre. RI}) / \text{pre. RI}$$

pre. RI: 体外循環前 RI 値

post. RI: 体外循環後 RI 値

肺循環での GEL または MPO 産生量および RI の、体外循環前後の変化は paired *t*-test で評価され、GEL または MPO 産生量と RI の変化、体外循環時間および大動脈遮断時間との相関は Pearson correlation test で評価された。本文および図中の値は平均±標準偏差で示され、 $p < 0.05$ で統計学的有意とした。

結 果

Respiratory index は体外循環前 0.41 ± 0.24 、後 0.79 ± 0.34 で、体外循環後有意に上昇しており ($p < 0.01$) (図 1)、体外循環中肺障害が生じたことが示された。

肺循環での GEL 産生量は体外循環前 $12.7 \pm 5.8 \mu\text{g/l}$ 、後 $88.1 \pm 65.6 \mu\text{g/l}$ で、体外循環後有

図 1 体外循環前後の respiratory index の変化
respiratory index (RI) は体外循環 (CPB) 後、体外循環前に比べ有意に上昇した。

表 1 顆粒球エラスターゼ (GEL) およびミエロペルオキシダーゼ (MPO) の左房、肺動脈血内濃度および肺循環産生量

	GEL ($\mu\text{g/l}$)		MPO ($\mu\text{g/l}$)	
	前	後	前	後
左 房	76.4 ± 20.2	760.6 ± 82.2	348.0 ± 25.9	784.6 ± 52.7
肺動脈	63.2 ± 21.0	673.5 ± 92.9	314.2 ± 15.2	582.6 ± 62.7
産生量	12.7 ± 5.8	88.1 ± 65.6	34.9 ± 8.5	203.3 ± 60.6

図 2 体外循環前後の肺循環での顆粒球エラスターゼ産生量の変化

肺循環での顆粒球エラスターゼ産生量 (GEL) は体外循環 (CPB) 後、体外循環前に比べ有意に上昇した。

意に上昇した ($p < 0.01$) (表 1, 図 2)。

肺循環での MPO 産生量は体外循環前 $34.9 \pm 8.5 \mu\text{g/l}$ 、後 $203.3 \pm 60.6 \mu\text{g/l}$ で、体外循環後有意に上昇した ($p < 0.05$) (表 1, 図 3)。

図3 体外循環前後の肺循環でのミエロパーオキシダーゼ産生量の変化

肺循環でのミエロパーオキシダーゼ産生量 (MPO) は体外循環 (CPB) 後、体外循環前に比べ有意に上昇した。

図4 体外循環後の肺循環での顆粒球エラスターゼ産生量と respiratory index の変化との関係

体外循環後の肺循環での顆粒球エラスターゼ産生量 (GEL) は, respiratory index (RI) の変化と有意な相関を示した ($r=0.94$; $p<0.001$; $y=0.012x-0.233$)。

体外循環後の肺循環での GEL 産生量は, RI の変化と有意な相関を示した ($r=0.94$; $p<0.001$) (図4)。また, 体外循環後の肺循環での MPO 産生量は, RI の変化と相関傾向を示した ($r=0.66$; $p<0.1$) (図5)。

体外循環後の肺循環での GEL 産生量は, 体外循環時間および大動脈遮断時間と相関を示さなかった (それぞれ $r=0.26$; $p=0.54$, $r=0.31$; $p=0.46$)。また, 体外循環後の肺循環での MPO 産生量も, 体外循環時間および大動脈遮断時間と相関を示さなかった (それぞれ $r=0.44$; $p=0.27$, $r=0.40$; $p=0.33$)。

図5 体外循環後の肺循環でのミエロパーオキシダーゼ産生量と respiratory index の変化との関係
体外循環後の肺循環でのミエロパーオキシダーゼ産生量 (MPO) は, respiratory index (RI) の変化と相関傾向を示した ($r=0.66$; $p<0.1$; $y=0.006x-0.463$)。

図6 体外循環後の肺循環での顆粒球エラスターゼ産生量と術前肺動脈圧との関係

体外循環後の肺循環での顆粒球エラスターゼ産生量 (GEL) は, 術前肺動脈圧 (sPA) と正の相関を示した ($r=0.97$; $p=0.001$; $y=5.64x-19.7$)。

体外循環後の肺循環での GEL 産生量は, 術前肺動脈圧と正の相関傾向を示した ($r=0.97$; $p=0.001$) (図6) が, 全肺血管抵抗と相関を示さなかった ($r=0.15$; $p=0.78$)。また, 体外循環後の肺循環での MPO 産生量は, 術前肺動脈圧と正の相関傾向を示した ($r=0.65$; $p=0.08$) (図7) が, 全肺血管抵抗と相関を示さなかった ($r=0.47$; $p=0.35$)。

考 察

本研究では, 体外循環中の肺障害に好中球が関

図7 体外循環後の肺循環でのミエロパーオキシダーゼ産生量と術前肺動脈圧との関係

体外循環後の肺循環でのミエロパーオキシダーゼ産生量 (MPO) は、術前肺動脈圧 (sPA) と正の相関傾向を示した ($r=0.65$; $p=0.08$; $y=4.72x+112.9$)。

与しているか否かを知る目的で、体外循環前後で肺循環での GEL, MPO 産生量および RI を測定し、次の結果を得た。(1) 体外循環後 RI は有意に上昇した。(2) GEL, MPO 値は体外循環後有意に上昇し、術前肺動脈圧と正の相関を示した。(3) 体外循環後の GEL, MPO 値は RI の変化率と相関を示した。

GEL, MPO は好中球のアズール顆粒中に存在する serine protease で、体外循環などにより活性化された好中球から、インターロイキン 6, 8 などのメディエーターを介して放出される^{6,7)}。放出された GEL, MPO は内皮細胞、細胞外器質および基底膜を構成するコラーゲン、エラスチン、プロテオグリカンやファイブロンネクチンを破壊することにより、内皮細胞の機能的、器質的障害をきたす⁸⁾。GEL あるいは MPO による肺内皮細胞障害は *in vitro* および *in vivo* で証明されている^{9,10)}。

GEL は α_1 -proteinase inhibitor や α_2 -macroglobulin などの antiproteinase により不活化されやすく、これらの酵素が多く存在する脱顆粒直後には過小評価される可能性がある¹¹⁾。いっぽう MPO はこれらの代謝的影響は少なく、より敏感ではあるが、ヘパリン投与により上昇するとの報告もあり¹²⁾、この点から過大評価となる可能性がある。GEL, MPO はともに好中球による組織障

害のマーカーとして頻用されるが、上記のごとくそれぞれ特性があり、本研究のような臨床研究では、代謝、ヘパリンなどの影響を除外することは困難である。そこで本研究では、他の多くの報告と同様、両者を併せて測定、評価した。

肺循環での GEL, MPO 産生量はともに体外循環後有意に上昇した。また、RI も体外循環後有意に上昇した。RI は肺内シャントを反映しており¹²⁾、肺機能、とくに肺内酸素輸送の指標として広く用いられる¹³⁾。以上の結果から、体外循環中好中球による肺障害が生じたことが示唆された。

さらに、体外循環後の肺循環での GEL, MPO 産生量と RI の変化率が正の相関を示したことは、体外循環による肺障害に好中球が大きな役割を果たしていることを強く示唆する所見である。

しかし、体外循環後の肺循環での GEL および MPO 産生量は体外循環時間や大動脈遮断時間と相関を示さなかった。これは、体外循環あるいは大動脈遮断以外に好中球の脱顆粒、すなわち GEL, MPO 産生に影響を及ぼす因子が存在することを示す所見である。その一つとして術前からの肺高血圧が考えられる^{5,14,15)}。図 6, 7 から術前肺高血圧がある症例では体外循環後肺機能障害が生じやすいことが示唆された。

結 語

体外循環前後の肺循環での顆粒球エラストーゼ、ミエロパーオキシダーゼ産生量および呼吸機能の変化の検討から、体外循環中の肺機能障害に好中球が強く関与しており、術前肺高血圧を呈する症例でその障害がより顕著であることが示された。

文 献

- 1) Ratfil, N. B., Young, W. G., Hacket, D. G. et al.: Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation: an ultrastructural study. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **65**: 425-432, 1973.
- 2) Braude, S., Nolop, K. B., Fleming, J. S. et al.: Increased pulmonary transvascular protein flux after canine cardiopulmonary bypass. Association with lung neutrophil sequestration and tissue peroxidation. *Am. Rev. Respir. Dis.* **134**: 867-872, 1986.

- 3) Fountain, S. W., Martin, B. A., Musclow, C. E. et al. : Pulmonary leukostasis and its relationship to pulmonary dysfunction in sheep and rabbits. *Circ. Res.* **46** : 175-180, 1980.
- 4) Finn, A., Naik, S., Kein, N. et al. : Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **105** : 234-241, 1993.
- 5) Rabinovitch, M., Bothwell, T., Hayakawa, B. N. et al. : Pulmonary artery endothelial abnormalities in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension. A correlation of light with scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. *Lab. Invest.* **55** : 632-653, 1986.
- 6) Bank, U., Reinhold, D., Kunz, D. et al. : Effects of interleukin-6 and transforming growth factor-beta on neutrophil elastase release. *Inflammation* **19** : 83-99, 1995.
- 7) Baggiolini, M., Walz, A. and Kunkel, S. L. : Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J. Clin. Invest.* **84** : 1045-1049, 1989.
- 8) Cruickshank, A. M., Fraser, W. D., Burns, H. J. G. et al. : Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin. Sci.* **79** : 161-165, 1990.
- 9) Smedley, L. A., Tonnesen, M. G., Sandhaus, R. A. et al. : Neutrophil-mediated endothelial injury : enhancement by endotoxin and essential role of neutrophil elastase. *J. Clin. Invest.* **77** : 1233-1243, 1986.
- 10) Rocker, G. M., Wiseman, M. S., Pearson, D. et al. : Diagnostic criteria for adult respiratory distress syndrome : time for reappraisal. *Lancet* **1** : 120-123, 1989.
- 11) Faymonville, M. E., Pincemail, J., Duchateau, J. et al. : Myeloperoxidase and elastase as markers of leukocyte activation during cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **102** : 309-317, 1991.
- 12) Goldfarb, M. A., Ciurej, T. F., McAslan, T. C. et al. : Tracking respiratory therapy in the trauma patients. *Am. J. Surg.* **129** : 255-258, 1975.
- 13) Sganga, G., Siegel, J. H., Coleman, B. et al. : The physiologic meaning of the respiratory index in various types of critical illness. *Circ. Shock* **17** : 179-193, 1985.
- 14) Komai, H., Yamamoto, F., Tanaka, K. et al. : Increased lung injury in pulmonary hypertensive patients during open heart operations. *Ann. Thorac. Surg.* **55** : 1147-1152, 1993.
- 15) Komai, H., Yamamoto, F., Tanaka, K. et al. : Prevention of lung injury during open heart operations for congenital heart defects. *Ann. Thorac. Surg.* **57** : 134-140, 1994.