◆原 著◆

腸管出血性大腸菌O-157感染による溶血性尿毒症
症候群発症とサイトカイン

山本 威久^{*1*2}・村田 厚夫^{*3}・島津 岳士^{*4}・永山 憲市^{*5}
 妙中 信之^{*6}・今井 圓裕^{*7}・島 雅昭^{*1}・中村 可奈^{*1}
 志水 信彦^{*1}・平井 治彦^{*1}・松本小百合^{*1}・門田 守人^{*8}
 杉本 壽^{*4}・本田 武司^{*5}・岡田伸太郎^{*1}

要 旨

1996年大阪で発生した、腸管出血性大腸菌O-157感染のアウトブレイクのため、大阪大学医学部で治療した小児8例の血中サイトカインと溶血性尿毒症症候群(HUS)との関係について検討した。急性腎不全を呈した症例は5例、腎不全を呈さなかった症例は3例であった。血中白血球数、血小板数およびLDH値は、急性腎不全を呈した症例と腎不全を呈さなかった症例で有意差はなかった。血中サイトカイン値では、IL-6およびTNF α 値は、腎不全の有無で有意差を認めなかったが、IL-10値は腎不全を呈した症例では腎不全を呈さなかった症例と比較して有意に上昇していた。また、血中IL-10値は、血中クレアチニン値と有意な正の相関を示した。血中IL-6値は、血中白血球数および血中CRP値

と有意な正の相関を示した。血中IL-6およびTNF α 値は、血漿交換あるいは、交換輸血療法により低下したが、血中IL-10値はこれらの治療により変化しなかった。以上の結果より、IL-10は腸管出血性大腸菌O-157感染後のHUS発症と関係する因子の1つであり、また、IL-10の産生部位は流血中の単球、マクロファージ、Tリンパ球などが存在する血管内ではなく、腸管あるいは腎臓である可能性が示唆される。

序 言

腸管出血性大腸菌O-157感染症によるHUSは、O-157感染の重要な合併症の1つであり、HUS患者の約2~7%に認められると報告されている¹⁾。HUSの発症機序としては、腸管出血性大腸菌O-157が産生するペロ毒素²⁾あるいは、大腸菌が産生する lipopolysac-

^{*2}箕面市立病院 小児科(〒562-0014 箕面市萱野5-7-1) ^{*1}大阪大学医学部 小児科, ^{*2}箕面市立病院 小児科, ^{*3}兵庫県立西宮病院 外科, ^{*4}大阪大学医学部 救急医学, ^{*5}大阪大学微生物病研究所, ^{*6}大阪大学医学部 集中治療部, ^{*7}大阪大学医学部 第1内科, ^{*8}大阪大学医学部 第2外科

The Role of Cytokines for the Pathogenesis of Hemolytic Uremic Syndrome Caused by *Escherichia coli* O 157 : H7 Infections

Takehisa Yamamoto^{*1*2}, Atsuo Murata^{*3}, Takeshi Shimazu^{*4}, Kenichi Nagayama^{*5}, Nobuyuki Taenaka^{*6}, Enyu Imai^{*7}, Masaaki Shima^{*1}, Kana Nakamura^{*1}, Nobuhiko Shimizu^{*1}, Haruhiko Hirai^{*1}, Sayuri Matsumoto^{*1}, Morito Monden^{*8}, Hisashi Sugimoto^{*4}, Takeshi Honda^{*5}, Shintaro Okada^{*1}

^{*2}Department of Pediatrics, Minoh City Hospital, ^{*1}Department of Pediatrics, Osaka University, Faculty of Medicine, ^{*3}Department of Surgery, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital, ^{*4}Department of emergency, ^{*5}Laboratory of microbiology, ^{*6}Intensive care unit, ^{*7}the 1st Department of internal medicine and ^{*8}the 2nd Department of internal medicine, Osaka University Faculty of medicine

Key Words : 腸管出血性大腸菌 O-157, 溶血性尿毒症症候群, サイトカイン, ペロ毒素, 腎不全

charide (LPS) とペロ毒素との相互作用^{3)~5)}が重要であると報告されている。一方, LPS はヒトにおいて, 血中 IL-6 および TNF α 値を上昇させる⁶⁾と報告されている。腸管出血性大腸菌 O-157 感染症患者における血中サイトカインに関する報告では, TNF α 値が上昇するというもの⁷⁾, 中枢神経症状を合併したもので血中 IL-6 値が上昇するというものがある⁸⁾が, 血中サイトカインと HUS 発症の関連について検討したものはみられない。今回, 我々は1996年の大阪における腸管出血性大腸菌 O-157 感染のアウトブレイクによる患者の中で, 大阪大学医学部で治療した8例の小児の血中サイトカインについて検討し, 血中 IL-10 値と急性腎不全発症との間に有意な関係を見いだしたので報告する。

対象および方法

対象は, 1996年の大阪における腸管出血性大腸菌 O-157 感染症のアウトブレイクで大阪大学医学部で治療した小児例8名。急性腎不全を呈した患者は5名(男2名, 女3名)で年齢は 7.6 ± 2.1 歳, 当院を受診したときの病日は, 下痢発症日を1日目として, 5~7日であった。一方, 腎不全を呈さなかった患者は3名(男1名, 女2名)で, 年齢は 9.0 ± 0.58 歳, 当院を受診したときの病日は5~7日であった。急性腎不全群と非腎不全群の年齢に有意差はない。また, 急性腎不全群の定義は, その後の臨床経過での血中クレアチニンの最高値が, 同年齢の正常値の1.5倍以上になったものとした。完全型 HUS は, 急性腎不全, 血小板減少 ($8 \times 10^4/\mu\text{l}$ 以下), 溶血性貧血 (ヘモグロビン 10g/dl 以下) をすべて呈したものであり, 不完全型 HUS では急性腎不全以外の血小板減少および溶血性貧血を呈していた。完全型 HUS 群には, 中枢神経症状を呈したものが2名あり, 症状は脳出血と幻覚幻視であった。これらの患者はすべて血中の腸管出血性大腸菌 O-157 の LPS に対する IgM 抗体が上昇しており, 最近の O-157 感染が確認されている。

方法は, 大阪大学へ紹介入院時の血液で, 血中白血球数, 血小板数, クレアチニン値, LDH 値, CRP 値について検討し, 血中サイトカインについては, IL-6, TNF α , および IL-10 値について検討した。サイトカインは Amersham 社製の EIA 法で検討した。各サイトカインの検出限界は, TNF α : 5 pg/ml , IL-6: 1 pg/ml , IL-10: 3 pg/ml である。交換輸血は 150 ml/kg の新鮮血を, また血漿交換は 1 単位/kg の新鮮凍結血漿を用いて行い, 治療前後のサイトカインについて検討した。論文中的数値は, 平均値 $\pm$ SE で示し, 有意差検定は Student t test を用いた。

IL-10 (pg/ml)

図1

成績

1) 従来のパラメーターを用いた検討

血中白血球数, 血中血小板数, 血中 LDH 値はそれぞれ, 腎不全を呈した患者群と呈さなかった患者群で有意差はなかった (血中白血球数: $15,640 \pm 5,866$ vs $8,300 \pm 1644/\mu\text{l}$: $p=0.389$, 血中血小板数: 3.9 ± 1.8 vs $6.7 \pm 2.3 \times 10^4/\mu\text{l}$: $p=0.375$, 血中 LDH 値: $1,545 \pm 126$ vs $980 \pm 292\text{ IU/L}$: $p=0.083$)。血中クレアチニン値, 血中 CRP 値も腎不全を呈した患者群と呈さなかった患者群で有意差はなかった (血中クレアチニン値: 3.0 ± 1.2 vs $0.53 \pm 0.067\text{ mg/dl}$: $p=0.166$, 血中 CRP 値: 4.7 ± 3.4 vs $0.9 \pm 0.8\text{ mg/dl}$: $p=0.441$)。

2) 新しいパラメーターを用いた検討

血中 IL-6 および TNF α 値は, 腎不全群と非腎不全群との間で有意差はなかった (IL-6: 58.9 ± 30.0 vs $10.6 \pm 5.6\text{ pg/ml}$, $p=0.274$, TNF α : 3.9 ± 3.7 vs $1.3 \pm 0.67\text{ pg/ml}$: $p=0.595$)。血中 IL-10 値は, 腎不全群では, 非腎不全群と比較して有意に上昇していた (IL-10: 278 ± 54 vs $34 \pm 18\text{ pg/ml}$: $p=0.015$) (図1)。また, preliminary な結果ではあるが, 出血性腸炎のみを呈した1症例では, IL-6: 3 pg/ml , IL-10: 11 pg/ml , TNF α : 感度以下であった。

3) サイトカインと他のパラメーターとの相関

これらの患者の血中 IL-10 値は, 血中クレアチニン値と有意な正の相関を示した ($r=0.869$: $p=0.0051$) (図2)。血中 IL-6 値は, 血中白血球数および血中 CRP 値と有意な正の相関を示した (IL-6 vs 血中白血球数: $r=0.981$: $p<0.0001$) (図3), IL-6 vs 血中 CRP: $r=$

図 2

図 3

0.986: $p < 0.0001$ (図 4)。

4) 血漿交換あるいは交換輸血療法の血中サイトカイン除去効果

血中 IL-6 および $\text{TNF}\alpha$ 値は、血漿交換あるいは交換輸血により低下したが、血中 IL-10 値は、血漿交換あるいは交換輸血により変化しなかった (表 1)。

考 察

血小板減少症、溶血性貧血、急性腎不全を呈する溶血性尿毒症症候群 (HUS) は、腸管出血性大腸菌 O-157 感染症の重要な合併症の 1 つである。HUS は、小児腎臓病学会の分類により、上記症状をすべて呈する完全型 HUS といずれか 1 つの症状を呈する不完全型 HUS に分類される。今回検討した症例において腎不全を呈した群は完全型 HUS であり、腎不全を呈さなかった群は不

図 4

表 1 血漿交換あるいは交換輸血療法の血中サイトカイン除去効果
A) 血漿交換療法 (PE) B) 交換輸血療法 (BT)

	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	$\text{TNF-}\alpha$ (pg/ml)
PE 前	612	15	568
PE 後	13	22	0

B)

	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	$\text{TNF-}\alpha$ (pg/ml)
1 回目 BT 前	186	175	45
1 回目 BT 後	115	185	0
2 回目 BT 前	267	261	15
2 回目 BT 後	202	265	0
3 回目 BT 前	230	63	0
3 回目 BT 後	39	62	0

完全型 HUS に分類される。また、今回サイトカインを検討した病期は HUS 発症期に相当する。

血中サイトカイン値について検討した結果、腎不全を呈した群の血中 IL-10 値は、腎不全を呈さなかった群と比較して高値を示すことが明らかとなった。また、血中 IL-10 値は血中クレアチニン値と有意な正の相関を示した。以上 2 つの結果は、血中 IL-10 値が、腸管出血性大腸菌 O-157 感染による急性腎不全発症に関係することを示唆している。IL-10 は、単球、マクロファージ、 $\text{CD4}^+\text{T}$ 細胞、 $\text{CD5}^+\text{B}$ 細胞などにより産生されるサイトカインであり⁹⁾、インターフェロン γ ($\text{IFN-}\gamma$) の分泌を

抑制するサイトカインとして報告された¹⁰⁾。今回の我々の結果は、IL-10が腸管出血性大腸菌 O-157感染症の HUS の病態と関係することを示唆しているが、その詳細なメカニズムについては不明である。IL-10と HUS の病態との関係についての仮説として以下のようなものが考えられる。

第1の仮説は、IL-10が O-157感染によるエンドトキシン作用の指標になるのではないかという考え方である。実際、ヒトに lipopolysaccharide (LPS) を静脈内投与すると、血中 IL-10値が上昇すると報告されている¹¹⁾。さらに、O-157感染による HUS 発症には腸管出血性大腸菌 O-157が産生するペロ毒素²⁾と LPS との相互作用が重要であるとされる^{3)~5)}。以上2つの報告より、血中 IL-10値の上昇は O-157感染の重症度の指標となるため、HUS のパラメーターになる可能性がある。

第2の仮説は、IL-10自体が腎に直接作用を及ぼし、腎不全を発症させるという考え方である。実際、今回の検討で測定した血中 IL-10値は正常の約30倍であり、川崎病患者の血中 IL-10値の平均値¹²⁾の約7倍である。また、IL-10はヒト線維芽細胞のメタロプロテアーゼを誘導しI型コラーゲン産生を減少させると報告されている¹³⁾。しかし、ヒト線維芽細胞で報告されている IL-10 の作用は、腎臓の細胞では証明されておらず、今後の検討が必要であると考えられる。

第3の仮説は、血中 IL-10値の上昇が IFN- γ の上昇を抑えるため生体の感染防御能力が低下し、その結果として、腸管出血性大腸菌 O-157の持続感染がおり、生体がペロ毒素および LPS に長時間さらされるため HUS が発症するという仮説である。実際、IFN- γ の誘導因子である IFN- γ regulating factor 1 のノックアウトマウスでは、感染に対する抵抗力が低下することが知られている¹⁴⁾。今後、腸管出血性大腸菌 O-157感染により HUS を発症した患者と発症しなかった患者の血中 IL-10値および血中 IFN- γ 値を併せて検討することが望まれる。

腸管出血性大腸菌 O-157感染と関係があると報告されているサイトカインとしては、IL-6 と TNF α があげられる。TNF α は腸管出血性大腸菌 O-157感染で上昇すると報告されており⁷⁾、また、IL-6 は中枢神経症状を合併する O-157患者で高値を示すと報告されている⁸⁾。今回の我々の検討では、血中 IL-6 および TNF α 値は完全型 HUS と不完全型 HUS との間で有意差を認めなかった。しかし、血中 IL-6 値は、血中白血球数および血中 CRP 値と正の相関を示し、血中 IL-6 値は O-157感染患者の炎症の指標となると考えられる。また、

中枢神経症状を合併する HUS 患者の血中白血球数が、中枢神経症状を合併しない HUS 患者と比較して増加していること（山本威久：大阪府腸管出血性大腸菌感染症調査研究会：未発表 data）から、血中 IL-6 値は腸管出血性大腸菌 O-157感染による中枢神経合併症の指標となる可能性が示唆される。

現在までのところ、サイトカインの除去が、HUS 発症を防止できるか否かについての検討はみられない。今回、我々は、血漿交換あるいは交換輸血による血中サイトカイン値の変化について検討した。その結果、血中 IL-6 および TNF α 値はこれらの治療により減少するが、血中 IL-10値は変化しないことが明らかとなった。治療結果は、血漿交換を行った1例では、血中クレアチニン値は正常範囲に維持できたが、軽度の尿量減少と軽度の血中 BUN 値の上昇を認め、また、交換輸血を行った1例では急性腎不全を発症した。したがって、血中 IL-6 および TNF α の除去は、腸管出血性大腸菌 O-157感染による腎機能低下を防ぐ治療として必ずしも有用とはいえないと考えられる。さらに、これら2つの治療法は、腸管出血性大腸菌 O-157感染による HUS 患者の水分過剰の原因となるため、治療の適応については注意を要すると思われる。

今回の検討で注目すべき結果は、血漿交換あるいは交換輸血治療により血中 IL-10値が変化しなかったことである。この結果は、完全型 HUS を呈した O-157感染症患者の血中で増加する IL-10が、急性腎不全による糸球体濾過率の低下によるものではないこと、また、IL-10 は流血中の単球、マクロファージ、リンパ球などではなく、腸管あるいは腎臓における IL-10産生細胞により産生されている可能性があることを示唆しており、今後の HUS 発症のメカニズムを考えるうえで重要な知見であると考えられる。

結 論

腸管出血性大腸菌 O-157感染による HUS 発症に IL-10が関係することを報告した。さらに、この IL-10の産生部位は体循環に関係する血管内ではなく、腸管出血性大腸菌 O-157感染の標的臓器である腸管あるいは腎臓である可能性が示唆された。腸管出血性大腸菌 O-157感染による HUS 発症の病態生理における IL-10の役割については現在のところ不明であり、今後の検討が待たれる。

文 献

- 1) Griffin, P. M., Tauxe, R. V., : The epidemiology of infec-

- bloody diarrhea in Argentina. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 14: 201-203, 1995.