原著

肝切除周手術期の IL-6 と凝固・線溶系マーカー との関連性について

武田 成彰^{*1}, 日暮 愛一郎^{*2}, 岡本 好司^{*2}
加藤 秀典^{*2}, 大里 敬一^{*2}

Peroperative Relationship Between Plasma Levels of Interleukin-6 (IL-6) and Markers of Coagulation and Fibrinolysis Regarding Hepatectomy

Shigeaki TAKEDA, Aiichiro HIGURE, Kohji OKAMOTO,
Hidenori KATOH, Keiichi OHSATO

Key words : IL-6, hepatectomy, TAT acute phase protein

We investigated the relationship between IL-6 and hemostatic markers regarding surgery in two groups of abdominal surgery: Group I, hepatectomy (20 cases); Group II, gastrectomy (10 cases) and colectomy (10 cases). IL-6 increased during operation and early postoperative period. There is no significant difference between two groups during these periods. But IL-6 increased late postoperatively in 5 patients with complications in Group I. Thrombin-antithrombin III complex (TAT) in both groups increased similarly during operation and continued until early postoperative period. In the fibrinolytic system, tissue plasminogen activator (tPA) and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) increased, but not plasmin α 2 plasmin inhibitor complex (PIC) in both groups during operation. Significant correlation was noted between the levels of IL-6 and TAT ($r=0.482$), PAI-1 ($r=0.405$) in all patients during operation. Following the peak levels of IL-6, Fibrinogen, α 1 antitrypsin and α 2 plasmin inhibitor increased significantly on the 3rd or 5th postoperative day. These increases were prominent and tended to correlate with IL-6 levels in Group II, but not in Group I. In a hepatectomy patient with severe septic complication and disseminated intravascular coagulation, marked increase of IL-6 was seen and suggested a poor prognosis.

^{*1} 北九州市立医療センター外科〔〒807 北九州市小倉北区馬借2-1-1〕: Department of Surgery, Kitakyushu Municipal Medical Center

^{*2} 産業医科大学第一外科〔〒807 北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1〕: Department of surgery I, University of Occupational and Environmental Health, School of Medicine, Kitakyusyu, Japan.

受付: 1993.5.27, 受理: 1993.7.28

I. はじめに

侵襲時に作動する生体反応のメディエータとして、近年、単球、マクロファージ、白血球、血管内皮などの細胞活性化を介し放出される IL-1, TNF, IL-6 などのサイトカインの作用の解明が進んでいるが^{1)~4)}、これらのサイトカインと周手術期の凝固・線溶系活性化との関係についてはまだ不明の点が多い。サイトカインのうち IL-6 は侵襲時 T, B 細胞、単球、マクロファージ、白血球、血管内皮細胞などより分泌され、種々の生理活性を有し、なかでも肝細胞に対し急性相増殖性蛋白 (acute phase protein: APP) 合成を誘導することが知られる¹⁾⁵⁾。しかし、凝固・線溶系活性化との関連性についての検討は十分ではない。今回、消化器外科手術の周手術期の IL-6 を測定し、凝固・線溶系活性化を示すマーカーおよび凝固・線溶関連 APP: fibrinogen (Fbg), α 1-antitrypsin (α 1AT), α 2-plasmin inhibitor (α 2 PI) の変化との関連を検討し、とくに比較的侵襲が大きく術後に一過性の肝障害の増強や腹腔内感染などの合併症が見られる肝切除時の IL-6 の意義を追及した。

II. 対象および方法

消化器外科手術症例 40 例を対象とした。その内訳は I 群: 肝切除 (肝細胞癌) 20 例と術後肝機能に異常がない II 群: 胃切除 (胃癌) 10 例と大腸切除 (大腸癌) 10 例であり、男女比、年齢、手術時間、術中出血量および輸血症例数を Table 1 に示した。I 群 20 例の indocyanine

green (ICG) 15 分停滞率は平均 20.6 ± 11.3 (SD) % (3~35) であり、16 例に肝硬変、3 例に慢性肝炎を合併した。また肝切除術式では 2 区域 5 例、1 区域 6 例、亜区域 4 例および部分切除 5 例であった。II 群 20 例は術前・術後に肝障害は見られなかった。

採血は術前、術中 (開腹時、閉腹時)、術後第 1, 3, 5, 7, 14 日目に行った。

検査項目: IL-6 は ELISA キット (トーレ・フジバイオニクス) を用いて測定し、thrombin-antithrombin III complex (TAT) は Enzygnost-TAT (Behringwerke, AG), plasmin- α 2 plasmin inhibitor complex (PIC) は ELISA キット (テイジン) を用いた。また tissue plasminogen activator (tPA) および plasminogen activator Inhibitor-1 (PAI-1) は ELISA キット (IMULYSE tPA および PAI-I, Biopool) で測定した。Fbg はチロジン法、 α 2PI および α 1AT は SRID 法で測定した。

成績は mean $\pm$ SEM で表示し、有意差検定には t-検定およびカイ 2 乗検定、また相関の検討には r 表を用いた。

III. 成 績

1) 周手術期の IL-6 と凝固・線溶系パラメータとの関係

i) 周手術期の IL-6 の推移

Fig. 1 に示した IL-6 の血中レベルは I 群および II 群とも術前値に比べ開腹時に軽度上昇、閉腹時および術後 1 日目には著しく上昇し、3 日目以降は肝切除例の一部を除き術前値に復した。術後 5 日目までに各時期における両群の値

Table 1 Patients' profile and intraoperative data, Results were expressed as mean $\pm$ SD

	I. Hepatectomy (hepatic cancer)	II. Gastrectomy & Colectomy (gastric cancer & colorectal cancer)
No. of patients	20	20
Male/female ratio	15/5	17/3
mean age (yrs)	58 $\pm$ 9	57 $\pm$ 15
Operating time (hr)	6.4 $\pm$ 1.6	4.6 $\pm$ 1.5***
Blood loss during operation (g)	2826 $\pm$ 2234	760 $\pm$ 753***
No. of patients who received blood transfusion	15	6*

*: P < 0.05 ***: P < 0.001

Fig. 1 Peroperative levels of IL-6 in 2 groups of abdominal surgery. I: 20 patients (hepatectomy). II: 20 patients (gastrectomy & colectomy).
O: peritoneal opening
C: peritoneal closure

の間に有意差はなかった。しかし、肝切除群 (I 群) では術後後半に IL-6 の再上昇が 5 例に見られ、いずれも腹水、腹腔内感染症などの術後合併症症例であった。

ii) 周手術期の凝固・線溶系マーカーと IL-6 との関係

凝固・線溶系活性化を示すマーカーのうち TAT, tPA, PAI-1 の血中レベルは I, II 両群とも IL-6 値の推移と同様に閉腹時にピークが見られた (Table 2)。TAT の値は術後に漸次正常化したが、PIC は TAT と異なり両群とも術中および術後早期の増加は見られず、術後 3 日以降は II 群で術前値に比べ有意の増加が見られた。tPA 値は術後両群とも漸次正常化したが PAI-1 の値は術後 7 日目にも軽度の増加が見られ 14 日目に正常化した (Table 2)。

術中における IL-6 とこれらのパラメータとの相関の検討では Table 3 に示す相関関係が見られた。total で示した肝切除、胃切除、大腸切除、全症例についての検討では TAT および PAI-1 との間に有意の正の相関関係がみられた。

2) 周手術期の APP (Fbg, α 1AT, α 2PI) の推移と IL-6 値との関係

I 群の Fbg, α 1-AT および α 2PI は II 群に比べ術前より低値を示した。両群とも術中ほぼ同様の変化率で減少し閉腹時に最低値を示した。術後は IL-6 増加のピークより遅れて、術後 3 日目から 5 日目にかけこれらの APP 増加のピークが見られた (Fig. 2)。この中で I 群の Fbg と α 2PI の増加の程度は II 群に比べ軽度であり、とくに α 2PI は術後に有意の増加は見られ

Table 2 Peroperative levels (mean±SEM) of markers of coagulation and fibrinolysis (TAT, PIC, tPA, PAI-1) in 2 groups of abdominal surgery. I: 20 patients (hepatectomy). II: 20 patients (gastrectomy & colectomy).

		Pre-op	Intra-op		Postoperative day				
			(1)	(2)	1 st	3 rd	5 th	7 th	14 th
TAT	(I)	3.0	4.9	29.5**	22.2***	14.4***	11.3***	9.6***	6.3***
		± 0.3	± 1.3	± 3.5	± 2.6	± 1.9	± 1.4	± 1.4	± 0.8
<0.1~2.5>	(II)	2.4	3.2	19.9***	14.4***	8.7***	6.8***	5.1**	3.9*
ng/ml		± 0.2	± 0.5	± 1.6	± 2.1	± 1.3	± 0.6	± 0.6	± 0.6
PIC	(I)	0.9	0.4	0.6	0.9	1.3	1.9	1.7	1.6
		± 1.1	± 0.5	± 1.1	± 1.2	± 1.2	± 2.0	± 1.9	± 1.7
<0~0.5>	(II)	0.6	0.6	0.9	1.1	2.8**	3.2***	3.1***	2.4**
μg/ml		± 0.3	± 0.2	± 0.2	± 0.3	± 0.6	± 0.4	± 0.6	± 0.6
tPA	(I)	12.4	10.1	30.6***	21.3**	18.5**	17.5	18.2	11.1
		± 1.7	± 1.9	± 3.9	± 2.0	± 1.8	± 2.5	± 2.5	± 2.2
<2~10>	(II)	11.9	11.1	22.2*	19.5*	13.3	15.8	14.9	12.8
ng/ml		± 1.8	± 1.6	± 3.7	± 2.3	± 2.0	± 2.3	± 2.1	± 2.2
PAI-1	(I)	12.9	7.0	38.2***	32.3***	18.1	18.4*	22.2***	13.8
		± 1.5	± 0.8	± 5.5	± 3.4	± 2.3	± 2.1	± 2.2	± 0.6
<0~10>	(II)	15.5	13.3	41.8***	35.0***	23.9*	21.6	24.1*	17.1
ng/ml		± 2.3	± 2.0	± 3.9	± 3.8	± 3.2	± 2.8	± 3.1	± 1.6

< >: normal range (1): peritoneal opening (2): peritoneal closure

*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001

Table 3 Correlation coefficient (r) between intra-operative levels of IL-6 and markers of coagulation and fibrinolysis in 2 groups of abdominal surgery.

I: 20 patients (hepatectomy)

II: 20 patients (gastrectomy & colectomy)

	TAT	PIC	PAI-1	tPA
(I)	0.635**	-0.078	0.560**	0.577**
(II)	0.427**	0.196	0.240	-0.072
Total	0.482**	0.162	0.405**	0.134

** : P<0.01

なかった。

術中 IL-6 のピーク値と術後3~5日目の APP の各ピーク値との相関の検討では (Table 4), I 群ではいずれも相関はなかったが II 群では Fbg と有意の正の相関関係が見られ, α 1AT および α 2PI とも正相関の傾向が見られた。

3) 症 例 (Fig. 3)

68歳男性, 肝硬変合併肝細胞癌に対し肝右葉の部分切除を行った。術前の ICG 15分停滞率は32%であった。術後4日目に腹腔内ドレーンおよび中心静脈カテーテルの自己抜去による汚染事故を起こし, 39°Cの高熱が見られ, その後に敗血症性ショックを併発した。ショックを

離脱したが白血球数が著増し, PT 延長, FDP 増加, 血小板減少が見られ厚生省 DIC 調査研究班診断基準の DIC スコア (10点) より DIC と判定した。抗生剤投与による感染症対策および合成蛋白分解酵素阻止剤を用いた抗凝固療法を行ったが血清ビリルビンおよびクレアチニンが漸次上昇し, 呼吸不全, 肝不全および腎不全を合併し術後16病日に死亡した。IL-6 は術後発熱およびショックを契機に急上昇し死亡前最高値を示した。一方, Fbg は逆に低下し, TAT は測定し得た死亡5日前までの成績では10~15 μg/l の増加であった。

IV. 考 察

IL-6 の血中レベルは手術侵襲が加わると速やかに増加し, 侵襲の程度とほぼ相関すること指摘されている^{5)~8)}。今回の検討でも肝切除, 胃, 大腸切除の閉腹時にピークが見られ手術侵襲を反映したが, 両術式の間の血中レベルに有意差は見られなかった。一方, 凝固・線溶系活性化を反映する TAT, tPA および PAI-1 も術中に増加し侵襲に呼応して両系が鋭敏に作動していることを示したが各マーカーで I, II 群間

Fig. 2 Peroperative levels (mean±SEM) of IL-6 and APP (Fbg, α_1 AT, α_2 PI) in 2 groups of abdominal surgery.
I <○—○>: 20 patients (hepatectomy),
II <●—●>: 20 patients (gastrectomy & colectomy).
O: peritoneal opening
C: peritoneal closure

Table 4 Correlation coefficient (r) between intra-operative peak levels of IL-6 and postoperative peak levels (3rd or 5th postoperative day) of APP (Fbg, α_1 AT, α_2 PI) in groups of abdominal surgery.

I: 20 patients (hepatectomy).

II: 20 patients (gastrectomy & colectomy).

	Fbg	α_1 AT	α_2 PI
(I)	-0.208	-0.165	-0.310
(II)	0.543*	0.304	0.403

*: $P < 0.05$

に差がなかった。また、これらマーカーのうち TAT は IL-6 と正の相関関係を示して増加し

たが、PIC との間には相関はなく、術中の PIC の有意の増加はなかった。したがって、線溶系では術中・術後早期の tPA の放出は引き続き増加した PAI-1 によって阻止されるため術中・術後早期のプラスミン産生はわずかであると考えられる。

IL-1 や TNF などのサイトカインは IL-6 産生を促進させ、また血管内皮細胞や単球・マクロファージに作用して組織因子を発現させ、凝固促進に働くことが知られる⁹⁾¹⁰⁾。しかし、IL-6 自体にこのような組織因子放出作用はわずかで¹⁰⁾¹¹⁾、また tPA PAI-1 の放出作用もごく軽

Fig. 3 Clinical course of a hepatectomy patient: K. I. 68 yrs

度であることから¹¹⁾¹²⁾,手術侵襲時のIL-6は凝固・線溶系活性化の直接的誘因とはなっていないと思われる。

IL-6による肝細胞の急性相増殖性蛋白質(APP)合成誘導の機序として、肝細胞表面上のIL-6レセプターを介して各APPのmRNA増殖の過程が明らかにされている¹³⁾¹⁴⁾。APPには多くの凝固・線溶系関連因子が含まれ¹⁵⁾,今回検討したFbg, $\alpha 2PI$, $\alpha 1AT$ は術後3日目頃に増加のピークが見られた。これらの因子の術後の増加は侵襲時の生態防御機構として本反応系の重要性を示しており,また術後の凝固亢進状態の背景をなしていると考えられる。APPの中で蛋白の種類によって増加の程度に差があり,数百倍に増加するC-反応性蛋白(CRP)や腫瘍壊死因子(TNF)などの蛋白はIL-6と有意の正相関を示して増加することが知られているが⁸⁾,Fbgや $\alpha 1AT$,第VIII因子の増加は数倍が限度であり,他の凝固・線溶関連の蛋白は50~100%の増加にとどまっている¹⁵⁾¹⁶⁾。術中のIL-6のピーク値と術後のFbg, $\alpha 1AT$, $\alpha 2PI$ のピーク値の間には,

II群に示した胃・大腸切除ではFbgで有意の正の相関があり $\alpha 1AT$ および $\alpha 2PI$ でも正相関の傾向が見られたが,I群で示した肝切除群では全く相関は見られなかった。I群の術後に見られたIL-6の増加は術後合併症併発が原因であったが,術後のFbgの増加は軽度であり,また $\alpha 2PI$ の増加も見られなかった。MOF・DICを合併した肝切除の1例ではIL-6とFbgの間に鏡像の関係が見られた(Fig. 3)。肝切除例に見られるこれらのAPPの低値は従来,単に肝障害に基づく肝細胞の蛋白合成障害とされてきたが,その機序としてAPP蛋白合成を誘導するIL-6の血中レベルは肝切除例も胃・大腸切除とほぼ同等であり,先に述べたレセプターを介してAPP合成に至るまでの過程における肝障害の影響が推定される。近年,サイトカインによる細胞内の詳細なシグナル伝達機構およびそれぞれの蛋白の遺伝子転写機序の解明が進んでおり,今後肝障害時の明確なAPP合成障害の機序が明らかになるとと思われる¹⁷⁾¹⁸⁾。

最近,敗血症症例でIL-6の著しい増加はむしろ病態増悪に寄与し予後推定のマーカーとな

ると報告されている¹⁹⁾。呈示した予後不良の術後合併症例で病態の憎悪とともに IL-6 は著しく増加したが, *in vitro* で IL-6 は TNF の作用を増強することが知られ²⁰⁾, IL-6 が TNF の作用を介して病態憎悪に寄与している可能性も考えられる。DIC や MOF などの発生原因となる過大な手術侵襲や重症感染症のような重篤な病態におけるサイトカインの意義は肝障害を合併すれば更に複雑であり今後の検討の余地を残している。

V. 結 語

消化器外科手術 (I 群: 肝, II 群: 胃および大腸切除) 症例について周手術期の IL-6 と凝固・線溶系因子との関係を検討した。

1) IL-6 値は手術閉腹時にピークが見られ, 両群の術中・術後早期の IL-6 値に差はなかった。しかし, 肝切除群中術後合併症例では再び上昇した。

2) 術中凝固・線溶系活性化を示す TAT, PAI-1 および tPA の血中レベルも閉腹時にピークが見られ IL-6 との間に正の相関関係を示したが両群間に差はなく, また IL-6 と PIC との間に相関は見られなかった。

3) APP (Fbg, α 2PI α 1AT) のピークは術後 3~5 日目に見られ, II 群では Fbg は閉腹時の IL-6 との間に正の相関を示したが I 群では相関は見られなかった。

4) 肝切除群中手術死亡の 1 例では, 病態増悪と平行して IL-6 が著しく増加し MOF・DIC を合併した。IL-6 の異常高値の持続は予後不良を示唆した。

以上肝切除例では手術侵襲に基づく IL-6 の放出および凝固・線溶系活性化機序は胃や大腸の手術と変わらないが術後の APP の産生は低下した。また術後合併症例では IL-6 が増加した。

文 献

- 1) Nijisten, M.W.N., de Groof, E.R., ten Duis, H.J., Klasten, H.J. et al. Serum levels of the interleukin-6 and acute phase responses. *Lancet*, **ii**: 921, 1987.
- 2) Series, J.J., Shapiro, D., Cameron, L. et al. Plasma IL-1 response to surgery using a new sensitive bioassay. In: *The control of tissue damage* (Glauer, A. M., ed.) ARC for Reseach. Cambridge, 1987, P. 109~114.
- 3) Hirano, T., Yasukawa, K., Nakajima, K. et al: Complementary DNA for a novel interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* **324**: 73~76, 1986.
- 4) Ikebuchi K. et al: Interleukin 6 enhancement of interleukin 3-dependent proliferation of multipotential hemopoietic progenitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **84**: 9035~9, 1987
- 5) Murata, A., Ogawa, M., Yasuda, T. et al: Serum interleukin 6, C-reactive protein and pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) as acute phase reactants after major thoraco-abdominal surgery. *Immunol. Invest.* **19**: 271~278, 1990.
- 6) Wong, G.G., Clark, S.C.: Multiple actions of interleukin 6 within a cytokine network. *Immunol. Today.* **9**: 137~139, 1988.
- 7) Castell J.V., Andus T., Kunz D. et al: Interleukin-6: The major regulator of acute-phase protein synthesis in man and rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **557**: 87~101, 1989.
- 8) Van Damme, J., Opdenakker, G., Simpson, R.J. et al: Identification of the human 26-kD protein, interferon β_2 (INF β_2), as a B cell hybridoma/plasmacytoma growth factor induced by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.*, **165**: 914~919, 1987.
- 9) Bevilacqua, M.P., Pober, J.S. Majeau, G.R. et al: Interleukin 1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J. Exp. Med.* **160**: 618~623, 1984.
- 10) Bevilacqua, M.P., Pober, J.S., Majeau, G.R., Fiers, W. et al: Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterization and comparison with the actions of interleukins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 4533~4537, 1986.
- 11) Podor, T.J., Jirik, F.R., Loskutoff, D.J. et al: Human endothelial cells produce IL-6. Lack of responses to exogenous IL-6. *Ann. N. Y. Acad.*

- Sci. **557**: 374~387. 1989.
- 12) 新井賢一, 西田淳二, 林田一洋, ほか: サイトカインによる免疫反応と炎症反応の調節. 臨床病理 **38**: 347~353. 1990.
- 13) Pepys, M.B., Baltz, M.L.: Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and serum amyloid A protein. *Adr. Immunol.* **34**: 141~212, 1983.
- 14) Andus, T., Geiger, T., Hirano, T. et al: Recombinant human B cell stimulatory factor (BSF-2/INF β 2) regulates β -fibrinogen and albumin mRNA levels in Fao-9 cells. *FEBS Lett.*, **221**: 18~22, 1987.
- 15) Baumann H., Onorato V., Gauldie J. et al: Distinct sets of acute phase plasma proteins are stimulated by separate human hepatocyte-stimulating factors and monokines in rat hepatoma cells. *J. Biol. Chem.* **262**: 9756~9758, 1987.
- 16) Kushner I.: The phenomenon of the acute phase response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **389**: 39~48, 1982.
- 17) Yamasaki, K., Taga, T., Hirata, Y. et al: Cloning and expression of human interleukin 6 (BSF-2/INF- β 2) receptor. *Science* **241**: 825~828, 1988.
- 18) Kishimoto, T.: The biology of Inter-leukin-6. *Blood* **74**: 1~10, 1989.
- 19) Hack, C.E., De Groof, E.R., Felt-Bersma, R.J.F. et al.: Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood* **74**: 1704~1710, 1989.
- 20) Cairns, J.A., Guy, G.R. Tan, Y.H.: Interleukin-6 regulates the cytotoxic effect of tumour necrosis factor on U937 cells. *Immunology* **75**: 669~673, 1992.
-