



肝疾患患者における末梢血多形核白血球貪食能および血清opsonin活性 —chemiluminescence法による測定とその意義—

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐野, 佳彦 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1331

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 54号	学位授与年月日	昭和63年12月9日
氏名	佐野佳彦		
論文題目	肝疾患患者における末梢血多形核白血球貪食能および血清 opsonin 活性—chemiluminescence 法による測定とその意義—		

肝疾患患者における末梢血多形核白血球貪食能および血清 opsonin 活性
— chemiluminescence 法による測定とその意義 —

論文の内容の要旨

肝障害時には網内系機能が低下することが知られており、網内系機能は血清オプソニン活性により左右される。末梢血多形核白血球 (PMN) は異物を貪食すると化学発光を起こし、これは貪食能およびオプソニン化を表わす指標とされている。そこで我々は chemiluminescence (CL) 法を用いて肝疾患患者の PMN 貪食能を測定し、肝切除術前後の血清オプソニン活性およびオプソニン因子の変動を検討した。

対象および方法：肝疾患患者 39 例を対象とし正常成人 40 名をコントロールとした。末梢血 PMN は比重遠心法にて分離し、 $PMN 1 \times 10^7$ 個/ml の浮遊液を作成した。zymosan 浮遊液は Wardlaw & Pillemer の方法に準じて作成し、これに正常プール血清を混和してオプソニン化 zymosan 1.25mg/ml の浮遊液を作成した。CL 測定には浜松ホトニクス社製光電子増倍管 R 208、photon counter C 1230 を用いた。オプソニン化 zymosan 浮遊液 4.5ml に PMN 浮遊液 1.0 ml を加えてピーク発光量を測定し、これを PMN 貪食能として評価した。正常人より分離した PMN 浮遊液に、正常人プール血清あるいは患者血清でオプソニン化した zymosan を加えてそれぞれのピーク発光量を測定し、正常人血清による発光量に対する患者血清による発光量の比を患者血清オプソニン活性 (%) とした。肝切除例については血漿フィブロネクチン (pFN)、IgG、 C_3 、 CH_{50} などのオプソニン因子を術前後経時的に測定した。

結果：1) 正常成人の PMN 貪食能：ピーク発光量は $1,356 \pm 337$ cps で、これを正常の PMN 貪食能とした。2) 肝疾患患者の PMN 貪食能：肝硬変の 5 例は正常群に比べ有意 ($P < 0.05$) に上昇したが、硬変合併肝細胞癌、転移性肝癌では有意差はなかった。3) トロトラスト (「ト」) 症：「ト」症 5 例の PMN 貪食能は正常群に比べ有意 ($P < 0.05$) に低下し、全身「ト」沈着量と PMN 貪食能との間に有意な負の相関 $r = -0.882$ ($P < 0.005$) を認めた。4) 肝切除後の血清オプソニン活性：肝硬変合併群 ($n = 10$) は非合併群 ($n = 13$) に比べ低下傾向を示したが有意差はなかった。血漿投与群 ($n = 9$) は非投与群 ($n = 10$) に比べオプソニン活性は上昇し第 5 病日に両群間に有意差 ($P < 0.05$) が認められた。予後不良例 ($n = 4$) は血漿投与にもかかわらず術後急激にオプソニン活性が低下し、第 3 病日に血漿投与群より有意 ($P < 0.05$) に低下した。術後第 1 病日のオプソニン活性変動率と術中出血量との関係を見ると、肝硬変合併群では負の相関 $r = -0.7375$ ($P < 0.05$) を認めたが、非合併群では相関はなかった。オプソニン因子の術後変動をみると pFN は血漿投与の有無については有意差はなかったが、IgG、 C_3 、 CH_{50} については血漿投与例が非投与例に比べ有意 ($P < 0.05$) に上昇し、オプソニン活性の変動と同様の経過を示した。

考察：肝硬変患者の PMN 貪食能上昇は、PMN の superoxide anion 産生能と血中 endotoxin 量との関連性が指摘され、「ト」症患者の PMN 貪食能低下は、「ト」による長期被曝が PMN の質的障害を引き起こしたと考えられる。肝切除後の血漿投与でオプソニン活性は有意に上昇し、血漿投与の有効性が証明された。予後不良例は血漿投与してもオプソニン活性は低値を示したことから、この徴候は危険なものと考えられる。術中出血量は肝硬変合併群がオプソニン活性と有意の逆相関を認めたことから、大量出血時は術後出血、血漿の投与を充分に行う必要がある。CL 法を用いた肝切除後のオプソニン活性についての研究はなく、本法により術後血漿投与の有効性が裏づけられた。IgG、 C_3 、 CH_{50} の術後変動はオプソニン活性と同様な経過を示したが、各病日で比較すると相関関係はなく、他の因子の存在が示唆される。

結論：肝疾患患者の PMN 貪食能と血清オプソニン活性を CL 法により測定した。本法は PMN 機能の評価および肝切除術後管理の上で有用である。

論文審査の結果の要旨

近年、肝細胞障害の患者の生体防御機構、とくに網内系の変化が、予後に密接な関連を持つことが指摘されている。しかし、その詳細は明らかではない。そこで、申請者は末梢血多形核白血球 (PMN) が異物を貪食する際に生ずる化学発光を、光電子増倍管で検出し、これを定量する chemiluminescence (CL) 法を用いて肝疾患患者を中心に PMN 貪食能を測定した。また、この方法を応用して血清オプソニン活性を測定し、同時に血清オプソニン因子 (フィブロンectin、補体第 3 因子、免疫グロブリン) を測定し、その変動と肝疾患の予後との関連を研究した。とくに、肝硬変症患者および肝硬変を合併する患者について肝切除術前・術後の管理とオプソニン活性の関連を追求し、オプソニン活性の維持が、患者の予後に密接な関連のあることを見いだした。

はじめに、基礎的な測定法の検討を行っている。まず、Zymosan 量や、PMN 数などを変化させ PMN 貪食能の、ついで Zymosan 量、PMN 数などを一定とし、オプソニン化血清量を変化させオプソニン活性の至適な測定条件がそれぞれ定められた。

対象は肝疾患患者は 39 例であり、正常成人 40 名をコントロールとした。末梢血 PMN は比重遠心法にて分離し、PMN を 1×10^7 個/ml の浮遊液とし、オプソニン化 zymosan 浮遊液は Wardlaw & Pillemer の方法に準じて作成している。CL 測定には浜松ホトニクス社製光電子増倍管 R 208、photon counter C 1230 を用いた。オプソニン化 zymosan 浮遊液 4.5 ml に PMN 浮遊液 1.0 ml を加えてピーク発光量を測定し、これを PMN 貪食能として評価した。一方、正常人より分離した PMN 浮遊液に、正常人のプール血清あるいは患者血清でオプソニン化した zymosan を加えてそれぞれのピーク発光量を測定し、正常人血清による発光量に対する患者血清による発光量の比を患者血清オプソニン活性 (%) としている。肝切除例については血漿フィブロンectin (pFN)、IgG、C₃、CH₅₀ などのオプソニン因子を術前・術後経時的に測定した。

本研究で明らかにされた点は以下のごとくである。

- 1) 正常成人の PMN 貪食能はピーク発光量として 1.356 ± 337 cps であった。これを肝疾患患者の貪食能と比べると、肝硬変の 5 例では正常群に比べ有意 ($P < 0.05$) に上昇したが、肝硬変合併肝細胞癌、転移性肝癌では有意差は認められなかった。また、5 例のトロトラスト (「T」) 症の PMN 貪食能は正常群に比べ有意に ($P < 0.05$) 低下し、全身「T」沈着量と PMN 貪食能との間に有意な負の相関が認められた。
- 2) 肝切除後の血清オプソニン活性では、肝硬変合併群 ($n = 10$) は非合併群 ($n = 13$) に比べ低下傾向を示したが有意差は認められなかった。予後良好例では、血漿投与群 ($n = 9$) は非投与群 ($n = 10$) に比べオプソニン活性は上昇し、第 5 病日に両群間に有意差が ($P < 0.05$) 認められた。予後不良例 ($n = 4$) では血漿投与にもかかわらず、術後急激にオプソニン活性が低下した。第 3 病日においては予後良好な血漿投与群より有意 ($P < 0.05$) に低下した。これらの所見から、申請者はオプソニン活性の維持が予後に密接な関わりを持つと推定している。
- 3) オプソニン因子の術後変動をみると pFN は血漿投与の有無については有意差は認めなかったが、IgG、C₃、CH₅₀ については血漿投与例が非投与例と比べ有意 ($P < 0.05$) に上昇し、オプソニン活性の変動と IgG、C₃、CH₅₀ とが同様の経過を示したことから、オプソニン活性の変動はこれらの因子の変動によるものと推定している。

以上の結果に対して、CL 法が PMN 貪食能を反映する測定法であるかどうか。また、オプソニン活性を測定するに十分なものであるか。感度は従来の測定法に比して高感度なものであるかどうか、などの討論がなされた。さらに、問題点としては、Kupffer cell の問題、骨髄機能の問題などが討論された。この結果、これまで述べられた所見は、CL 法を用いることによって高感度に PMN 貪食能、およびオプソニン活性を測定できたことによって得られたものであると判断された。この研究を基にして今後さらに容易なオプソニン活性の測定法の開発など新たな研究の進展することが期待された。以上のような審査の結果、本審査委員会では全員一致でこの研究が学位授与にふさわしいものと判定した。

論文審査担当者	主査	教授	菅野	剛史			
	副査	教授	山崎	昇	副査	教授	山下 昭
	副査	助教授	馬場	正三	副査	講師	池田 靖