

研究課題：侵襲(手術・感染)に惹起される分子マーカーに関する探索的研究

Ver1.0 2010.06.03

Ver1.1 2013.10.01

研究実施責任者

埼玉医科大学総合医療センター 消化管・一般外科

鈴木 興秀

【背景・目的】

侵襲が生体に加わるとさまざまな反応が惹起され、侵襲を軽減するように生体は反応する。侵襲に対する生体反応は、従来、神経-内分泌系による制御を中心に循環動態・腎機能などの臓器機能、代謝の点から論じられてきた。これらの古典的な生体反応に加え、サイトカインを中心としたメディエーターによる反応が分子生物学の進歩に伴い明らかになり、今日では、神経系・内分泌系はサイトカインネットワークを中心とした免疫系と相互に作用して (immuno-neuro-endocrine system¹⁾)、恒常性を保っていることがわかってきた。その一方で、これらの反応が過剰になると重要臓器障害を招く結果となる。すなわち、生体防御反応と臓器障害は表裏一体の関係にある。したがって、侵襲に対する生体防御反応機構を明らかにすることは、そのまま臓器障害発生の予防ないし治療に直結する。外科的侵襲により生体に組織損傷やストレスが加わると IL-1 β , TNF α , IFN, IL-6, IL-8, G-CSF などの炎症性サイトカインが産生される。このうち IL-6 の動態が多数研究されているが、血清中 IL-6 の上昇は手術侵襲が大きいほど高い傾向にあり、術後臓器不全ではとくに IL-6 が高値であるといわれている^{2~4)}。近年普及している腹腔鏡下手術や小切開手術などの低侵襲手術は術後の IL-6 の上昇が低値に抑えられる利点が考えられる。このように、これら侵襲に関与する分子マーカーの研究が深まってきた。しかしながら、実臨床の場において、これら侵襲に関与する分子マーカーの検討は少なく、その有用性にはまだまだ検討の余地がある。

臨床的には病的生体反応は SIRS/DIC(systemic inflammatory response syndrome/disseminated intravascular coagulation)として認識可能である⁵⁾。SIRSはその病態として過大な侵襲により過剰に産生された炎症性サイトカインが全身性に炎症波及をもたらしたものであり、炎症性サイトカインが持続的に産生され病的な凝固線溶反応として DIC がおこる。救急・外科領域であつかう SIRS/DIC は、頻度や重症度の高さからいえば、治療の対象として最も重要なのは感染症に伴う SIRS(sepsis)/DIC である。SIRS/DIC の両病態の早期認識と治療がそれらの結果として起こる臓器不全の治療に有用である。

今回、感染症に伴う SIRS(sepsis)/DIC に関与する分子マーカーも含めて、手術侵襲の分子マーカーを探索し、その有用性を検討することを目的に、本研究を計画した。

【方法】

1)対象

埼玉医科大学総合医療センター消化管・一般外科において、診療を受けた全患者で、患者

の同意が得られた症例を対象とする。

当科では、包括同意書(192,192-II)を用い、同意の得られた患者より血清・血漿を冷凍保存しており、これらを研究に使用する同意を得ている。今回とくに大腸癌穿孔のように感染症を伴った症例を中心に、冷凍保存している血清・血漿・体液を使用し、侵襲に関与する新たな因子追加する。さらに血液検体の中から、白血球の DNA・RNA の抽出および保存に同意が得られている場合には、血清・血漿分離後にこれらもあわせて対象とする。

倫理委員会で承認後は、承認が得られた本同意書で、対象患者の承認を得た後、これらの患者の血清・血漿・体液を使用する。

2)測定項目

カルシトニン, HMGB-1, PAI-1, 炎症性サイトカイン(IL-1,TNF α , IFN, IL-6, IL-8, G-CSF), 抑制性サイトカイン(IL-1Ra, IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , PGE2), VEGFなどを血清・血漿・体液を用いて測定する。

3) 検体の採取

- 1) 同意の得られた患者より、入院時、手術前、術翌日、術後4日目、術後7日目に末梢血より採血を行い、検体を採取する。検体は、すぐに連結可能匿名化を行い冷凍保存を行う。ただし、一般診療で検査を行った残血清が存在する場合は、原則患者から改めて検体の採取はしない。退院までの一般診療で採血を行う残血清を、検査部よりもらい受け、これらもすぐに連結可能匿名化を行い冷凍保存を行う。ICU管理を行っている重症例で診療上頻回に採血している場合には、これらすべての残血清も対象とする。

体液は、病棟でドレーンパックから採取する。診療上でドレーンを抜去されれば、終了とする。すぐに連結可能匿名化を行い冷凍保存を行う。

- 2) 包括同意を得て冷凍保存している検体は、すべて、疾患、臨床所見、検体の採取時期などは匿名化され研究室に蓄積されており、とくに大腸癌穿孔など感染症を伴った症例を中心に、同様な検体が保存されており、これらを使用する。
- 3) 消化管穿孔など過大侵襲の症例は、重症化している場合が多いため、その場合には原則は診療で必要な血液検査の残血清を使用する。
- 4) 血液検体の中から、白血球の DNA・RNA を抽出・保存に同意が得られている場合は、血清・血漿分離後、これらもあわせて行う。

4) 検体の破棄

- ・ 研究期間満了時もしくは、提供者からの破棄の依頼があった場合、該当検体を医療廃棄物容器に入れ、専門業者に委託廃棄する。

【検討項目】

- 1) 上記測定を行った患者の臨床診断、術式、術前 ASA スコア、SIRS の有無、sepsis 分類、DIC スコア、予後などの検討を行う。また、臨床的な侵襲や重症化などの指標である SOFA スコア、APACHE-II、POSSUM スコアなどと予後との相関を統計学的に検討する。
- 2) これら臨床的所見と白血球数および CRP 値などの血液生化学検査とともに、上記測定値との相関を統計学的に検討する。
- 3) 消化管穿孔など感染症を伴った症例と待機手術で非感染手術を行った症例を比較検討し、感染症に起因する SIRS(sepsis)/DIC に有用な分子マーカーを同定する。
- 4) 1), 2), 3)の結果を総合的に解析し、臨床所見や現在頻用されている重症度スコアとともに、多変量解析を行い、侵襲に関与する分子マーカーを同定する。さらに予後との関係を解析することで、侵襲による予後規定因子を同定する。ROC 解析を用い侵襲や予後との関係を検討し分子マーカー測定値の cut-off 値を明らかにする。
- 5) 将来的に、有用な分子マーカーと遺伝子多型・遺伝子変異等との関係を検討する必要性が生じた場合は、新たに倫理委員会に申請を行う。

【サンプルサイズ・研究期間】

本研究は探索的研究であり、当科で診療をうけた全症例を対象としており、同意が得られた全症例を対象とする。

研究期間は、倫理委員会承認後、2018年10月30日までとする。目標症例数を1500例とする。

【臨床研究に関する同意・プライバシーの保護】

(1)研究などの対象となる個人の人権の擁護

ヘルシンキ宣言に従って人権擁護の配慮に努める。本研究計画への参加を承諾するか否かについては、提出した研究計画書にのっとり、文書および口頭による説明を行い、十分理解を得た上で、被験者本人の自由意志で決定される。この決定は、臨床上の取り扱いになんら影響を与えるものではないことも文書により説明する。また同意後であっても、被験者本人の意思によりいつでも中止が可能であることを説明し文書にも明記・保存する。本研究の結果は個人が同定できる形では、いかなる状況においても公表せず、消化管・一般外科で本研究に直接関与しない芳賀紀裕准教授のもとで連結可能匿名化された後、当院個人情報管理責任者である病理部 田丸 淳教授のもとで厳重に管理・保存される(2010年4月以降)。

(2)対象者に理解を求め同意を得る方法

対象者に対し説明者(研究実施責任者およびその他の消化管・一般外科共同研究者)は研究計画書にのっとり、以下の内容を明記した書類を用い、外来あるいは病棟のプライバシーの保たれた場所で説明する。説明時期は外来診療時、入院時、手術前など。本研究の目的及び方法、予想される利益と不利益、研究的側面の説明、本研究に同意しなくても不利益を受けないこと、同意した場合でも随時撤回できることなどの事項について説明し承諾を得た場合、本人より署名を得る。患者死亡症例は保存資料を使用する旨の同意を家族から得る。

(3)本臨床研究によって生ずる個人への不利益及び危険性

本研究における血液は、通常の診療で採取する血液生化学検査よりやや多い量である末梢血約 10ml を対象とする。体液の採取は、患者が実臨床でうけるドレーン排液より不要となったものを対象とする。そのため、本研究における対象症例に対する不利益および危険性は少ないものとする。

【予想される結果と意義】

- 1) 本研究は探索的研究であり、手術侵襲の程度と相関するような分子マーカーを見出せる可能性がある。それらの分子マーカーは、実臨床の場において、侵襲の程度を反映する有用な指標になることが期待される。
- 2) 感染症に起因する SIRS(sepsis)/DIC の分子マーカーを同定することで、実臨床でこれらを測定することで早期に SIRS(sepsis)/DIC の診断・治療を開始することが可能となる点で臨床的意義がある。
- 3) 測定した分子マーカーで予後予測が可能であれば、これらの病態を明らかにすることで予後を改善する治療法につながることを期待される。

【研究実施者】

所属	役職	氏名
消化管・一般外科	教授	石田 秀行
消化管・一般外科	教授	持木 彫人
消化管・一般外科	准教授	石橋敬一郎
消化管・一般外科	非常勤	隈元 謙介
消化管・一般外科	講師	福地 稔
消化管・一般外科	助教	桑原 公亀
消化管・一般外科	助教	石畝 亨
消化管・一般外科	助教	松澤 岳晃
消化管・一般外科	助教	○鈴木 興秀 (実施責任者)
消化管・一般外科	助教	幡野 哲
消化管・一般外科	非常勤	天野 邦彦
消化管・一般外科	助教	田島 雄介

消化管・一般外科	助教	近 範泰
消化管・一般外科	助教	牟田 優
消化管・一般外科	助教	村田 知洋
消化管・一般外科	助教	柴田 和恵

【文献】

- 1) Blalock JE: A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine system. *Physiol Rev* 69:1-32, 1989
- 2) 有賀 淳, 山本 雅一. 外科的侵襲に対する生体反応の最新情報 3.免疫系生体反応. *外科*69(7):773-777, 2007
- 3) 加藤正人, 黒澤伸. 手術侵襲, 麻酔と炎症反応・免疫応答. *日臨麻会誌*26(1):1-8, 2006
- 4) 佐治重豊, 松橋延壽. 手術侵襲と生体反応 *外科治療*93(3):308-314,2005
- 5) 丸藤哲. 急性期DIC診断基準作成の意義 *日外感会誌*7(2):109-113,2010