

研究計画書

研究課題：消化器外科周術期合併症例の病態解析とその対策に関する検討

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

桑原 公亀

【背景・意義・目的】

我々はこれまでに消化器外科周術期の病態を各種免疫担当細胞の機能解析を行うことにより検討してきた。その結果、食道癌のように侵襲の大きな手術においては術後の免疫機能低下状態が長期間継続し術後感染症を併発した場合には致死的病態に陥ることが判った^{1)~3)}。また消化器外科手術症例の大半は担癌状態であること、最近では術前に化学療法を施行する症例が増加しているため、術前から既に免疫機能低下状態にあることが推察される。このような状態下においてさらに手術侵襲が加わることによる生体へのダメージは非常に大きいことが想像される。

そこで本研究では、手術侵襲が大きい肝胆膵手術症例を中心に周術期における免疫担当細胞機能を解析し術後合併症発生との関連を検討する。また、術前の免疫機能を前もって評価することにより、術後合併症の発症をある程度予測することが可能であるか否かについても明らかにしたい。さらに術後感染性合併症を来した症例では、感染制御はもちろんであるが、生体の免疫機能を回復させるような対策が重要である。以前我々は重症感染症対策としてのエンドトキシン吸着療法が、免疫担当細胞の機能を改善させる可能性について報告した^{4),5)}。加えて本研究では外科的感染症例を対象に、エンドトキシン吸着療法の作用機序を明らかにするため各種免疫担当細胞の機能解析について検討する。

本研究における肝胆膵外科周術期及び外科的感染症時の病態を解析し新たな治療戦略を講じることは、外科周術期患者に一定の頻度で起こりうる合併症の予防や周術期管理を発展させる上で極めて意義のある研究である。

【対象】

被検者および対象

倫理委員会承認後に、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、同意を得られた患者を被検者とし、それらの患者から得られた血液・体腔液を対象とする。

対象症例

- 1) 消化器外科感染症緊急手術症例(消化管穿孔、腸閉塞、胆道感染症等)
- 2) 術後感染性合併症症例(腹腔内膿瘍、縫合不全、創感染等)
- 3) エンドトキシン吸着療法施行症例

本研究は防衛大学校との共同研究であり、防衛大学校の対象から消化器外科感染症緊急手術、術後感染性合併症、エンドトキシン吸着療法を行った症例のみを当センターは、被験者とし、血液および体腔液のみを対象とする。

【サンプルサイズ・研究期間】

研究期間は承認日より3年間、平成27年6月までを予定

- | | |
|------------------|-----|
| 1)消化器外科感染症緊急手術症例 | 30例 |
| 2)術後感染性合併症症例 | 30例 |
| 3)エンドトキシン吸着療法症例 | 30例 |

【方法】

末梢血採血および体腔液・手術検体の採取

患者の受ける苦痛が最小限となるよう、診療上の目的によって行われる採血時に合わせ末梢血採取（約10ml）を行う。（通常、術前、術中、術後、1 POD、3 POD、5 POD、7 POD。エンドトキシン吸着療法前後、また全身状態により追加する。）体腔液は術中に挿入されたドレーンからの排液を採取（約5ml）する。

得られた検体の研究手技、検討項目

① 血清・体腔液中各種メディエーター濃度の測定

患者の状態の推移とともに推移する血中・体腔液中の種々のメディエーターをELISA法で測定する。主たる測定項目は、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α などのサイトカインや、HMGB-1など侵襲時に変動する炎症・抗炎症メディエーターである。

② 細胞膜表面抗原、各種レセプターの解析

末梢血単核球系細胞のうち、主にIFN- γ を産生し、細胞免疫に関与するNK細胞のほか、主たるリンパ球であるT細胞やNKT細胞などの割合について検討する。さらにこれらの細胞の自然免疫応答に関与する

toll-like receptor (TLRs)発現の程度・割合をフローサイトメトリーにて解析する。体腔液中の細胞についても同様に解析を行う。

③ 末梢血単球系細胞のサイトカイン産生能の解析

分離された末梢血単球系細胞を lipopolysaccharides(LPS)や抗 CD3 抗体、サイトカイン等で刺激した際の培養上清中に含まれるサイトカイン濃度を ELISA 法で測定することによって解析する。また細胞内シグナル伝達系物質についても PCR 法を用いて解析する。

④ 細菌 DNA の検出

周術期およびその他感染症に伴う重症敗血症時、上記における血中・体腔液中でのメディエーターの推移による検討に加え、従来臨床で施行される血液培養検査と同時に PCR 法を用いて原因菌の細菌 DNA を検出する。菌検出までの時間、検出率等を比較し、PCR 法の臨床における有用性を検討する。

⑤ PMX 小カラムによるメディエーター濃度の測定

エンドトキシン血症あるいは重症敗血症患者から得られた血液を、エンドトキシン吸着療法用小カラム（小動物用）を用いて濾過循環することによって、変化するメディエーターや免疫担当細胞でのサイトカイン産生能、表面抗原やレセプター発現を解析する。

【予想される結果と意義】

- 1) 本研究により、重症感染症を中心に周術期における免疫担当細胞機能を解析し術後合併症発生と予後との関連が明らかになる可能性がある。
- 2) エンドトキシン吸着療法における各種免疫担当細胞の機能解析が明らかになり、エンドトキシン吸着療法の作用機序が明らかになる可能性がある。
- 3) これらによって、新たな対策が検討でき、術後合併症発生率の低下と予後の改善が期待できる。

【有害事象への対応】

採血自体が生命を脅かしかうる状況は考えにくいですが採血量や回数が多くなることが望ましくない場合や、患者の苦痛が過度となる場合については研究目的の採血は行わない。

【試料の取り扱い】

サンプルの採取が行われた後すぐに、連結可能匿名化が行われる。検体はすぐに防衛大学校の外科研究室に運ばれ、測定が行われる。検査後の残検体は、すみやかに防衛大学校の外科研究室にて破棄される。

【実施場所】

総合医療センター消化管・一般外科 外来，研究室、共同研究室
防衛大学校外科研究室

【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、被験候補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。

(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、化学療法導入前などに行う。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。

(3) 研究等によって生じる個人への不利益及び危険性

患者の受ける苦痛が最小限となるよう、診療上の目的によって行われる採血時に合わせ末梢血採取を行う。採血自体が生命を脅かしかうる状況は考えにくい。採血量や回数が多くなることが望ましくない場合や、患者の苦痛が過度となる場合については研究目的の採血は行わない。体腔液および手術検体はドレーン排液を用いるため本人の苦痛のない時期・方法で採取可能である。

【利益相反】

本研究に利益相反(COI)はない。

【知的財産権】

本研究の知的財産権については、本件研究 Group に属する。

【研究代表者・実施者】

研究実施責任者:消化管一般外科 助教 桑原公亀

研究実施者:

消化管・一般外科	教授	石田秀行
消化管・一般外科	准教授	石橋敬一郎
消化管・一般外科	講師	馬場裕之
消化管・一般外科	講師	熊谷洋一
消化管・一般外科	講師	隈元謙介
消化管・一般外科	助教	傍島 潤
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	天野邦彦
消化管・一般外科	助教	幡野 哲

【文献】

- 1) Ono S, Tsujimoto H, Hiraki S, et al: Effects of Neutrophil Elastase Inhibitor on Progression of Acute Lung Injury Following Esophagectomy. World J Surg 31:1996-2001, 2007
- 2) Hiraki S, Ono S, Kinoshita M, et al: Interleukin-18 restores immune suppression in patients with nonseptic surgery, but not with sepsis. Am J Surg 193:676-680, 2007
- 3) Takahata R, Ono S, Tsujimoto H, et al: Postoperative Serum Concentration of High Mobility Group Box Chromosomal Protein-1 Correlates to the Duration of SIRS and Pulmonary Dysfunction Following Gastrointestinal Surgery. J Surg Res 170:e135-e140, 2011
- 4) Ono S, Tsujimoto H, Matsumoto A, et al: Modulation of human leukocyte antigen-DR on monocytes and CD156 on granulocytes in patients with septic shock using hemoperfusion with polymyxin B-immobilized fiber. Am J Surg 188:150-156, 2004
- 5) Tsujimoto H, Ono S, Mochizuki H, et al: Role of Macrophage inflammatory Protein 2 in Acute Lung Injury in Murine Peritonitis. J Surg Res 103: 61-67, 2002