

小児開心術体外循環における血中補体活性と炎症性サイトカインに関する検討

小 澤 司

東邦大学医学部胸部心臓血管外科学講座

要約：開心術の体外循環中に、血液が人工心肺回路に接触することで種々の過剰な生体反応が惹起され、自己の循環血液量に比較して回路充填量の大きい小児や長時間の体外循環でその影響はさらに問題となる。本研究では120分以上の体外循環を要した小児開心術症例22例を対象とし、血中補体活性、炎症性サイトカイン値の変動、それらの体外循環中の上昇度と離脱後の肺泡気-動脈血酸素分圧較差（A-aDO₂）の相関性について検討した。体外循環前、体外循環開始後5、60、120分、体外循環離脱・プロタミン投与後20分、体外循環離脱後24時間の6時点で動脈ラインより採血し、血中C3a、C4a、interleukin（IL）-6、IL-8値を測定した。C4a値は体外循環開始後5分とプロタミン投与後に急激な上昇をきたし、2峰性の変動を呈した。一方、C3a、IL-6、IL-8値は体外循環開始後、有意な上昇を示し（ $p<0.0001$ ）、各測定物質の体外循環中の上昇度（ Δ C3a、 Δ IL-6、 Δ IL-8）と体外循環時間はそれぞれ有意な正の相関を示した（ $r=0.73$ 、 $=0.89$ 、 $=0.87$ 、 $p<0.01$ ）。さらに体外循環中のC3a、IL-6値の上昇度と体外循環離脱後のA-aDO₂は有意な正の相関を示し（ $r=0.53$ 、 $=0.57$ 、 $p<0.05$ ）、特にIL-8値の上昇度と離脱後のA-aDO₂において高い相関を呈した（ $r=0.79$ 、 $p<0.01$ ）。

以上より血中C3a、IL-6、IL-8値は体外循環により有意に漸増し、それらの体外循環中のレベル上昇度と体外循環離脱後のA-aDO₂が有意な相関を示したことから、血中補体活性、炎症性サイトカイン値の上昇が長時間体外循環下手術後の呼吸機能低下の一因となっている可能性が示唆された。

東邦医会誌 47(1)：65-73, 2000

索引用語：小児体外循環、心臓手術、補体、サイトカイン、IL-6、IL-8、A-aDO₂

人工肺の改良と体外循環技術の進歩により、心臓外科は大きく発展してきた。しかしながら、体外循環自体が血球の破壊、凝固線溶系の亢進、白血球の活性化等の様々な反応を惹起し、生体に不利益な影響を及ぼすことも知られている^{1,2)}。最近、血液と人工膜面の接触が補体系を活性化し、体外循環中から術後にかけて全身の炎症反応を引き起こし^{1,3,4)}、炎症に深く関与する好中球や炎症性サイトカインが肺等の臓器障害を惹起することが示唆されている^{3,5,6)}。これら一連の反応は、不可避的な人工膜と血液の接触の他に、術野での吸引操作⁷⁾、肺の虚血再灌流⁸⁾、ヘパリン、プロタミン投与⁹⁾など体外循環中の多くの因子により修飾される。小児体外循環では、自己の循環血液量に比して人工膜接触面積が相対的に大きく、また人工心肺

回路内に回収される心内吸引血量が多いという特殊性があり、先天性心疾患開心術において、体外循環が及ぼす生体反応はより重大な問題となる¹⁰⁾。これまで小児開心術領域において補体系、炎症性サイトカインの動態を評価し、術後の臓器障害、特に呼吸機能との関連性について述べた研究は少ない。今回、2時間以上の体外循環時間を要した先天性心疾患手術症例を対象に、体外循環前、中、後における血中の活性化補体と炎症性サイトカインの変動および体外循環離脱後の肺泡気-動脈血酸素分圧較差（A-aDO₂）について検討したので報告する。

対象および方法

1. 対象

〒143-8541 東京都大田区大森西 6-11-1
受付：1999年9月13日、受理：1999年12月7日

東邦医学雑誌 第47巻第1号、2000年1月
ISSN 0040-8670, CODEN: TOIZAG

1996年2月から1997年8月までに施行した小児開心術のうち、120分以上の体外循環時間を要した22例を対象とした (Table 1)。対象例の術前背景として、患児疾患は、心室中隔欠損症 (VSD) 4例、房室中隔欠損症 (AVSD) 3例、ファロー四徴症 (T/F) 7例、両大血管右室起始症 (DORV) 4例、完全大血管転位症 (d-TGA) 4例で、平均年齢は 3.9 ± 3.7 歳、平均体重は 15.9 ± 11.3 kgであった。なお、手術当日以前に循環、呼吸状態、全身状態悪化等の理由により気管内挿管、人工呼吸管理を要した症例はなく、白血球数、血小板数が異常値を示した症例はなかった。

2. 麻酔と手術

麻酔はフェンタニール ($30 \mu\text{g}/\text{kg}$)、ミダゾラム ($0.2 \text{ mg}/\text{kg}$) の経静脈投与と笑気ガスの吸入を主体とした modified neurolepto-anesthesia を用い、筋弛緩剤はヴェクロナウムを使用し、導入時に $0.1 \text{ mg}/\text{kg}$ 投与、維持として適宜 $0.02 \text{ mg}/\text{kg}$ 追加投与した。またメチルプレドニソロン $20 \text{ mg}/\text{kg}$ を人工心肺開始前に静脈内投与した。

胸部正中切開にてアプローチし、ヘパリン $300 \text{ IU}/\text{kg}$ 投与後、上行大動脈送血、上・下大静脈脱血にて人工心肺を確立し、activated clotting time (ACT) 400秒以上を維持するように、ヘパリンを適時追加投与した。

体外循環は、最低直腸温 28°C 前後の中等度低体温、拍動流、高流量 ($2.6 \text{ l}/\text{min}/\text{m}^2$) にて施行した。人工肺は MENOX-AL2000 あるいは 4000 (クラレ社製)、貯血槽は CX-SR30 (テルモ社製)、心肺回路は S 型回路 (テルモ社製) を使用した。また駆動装置は Stöckert-Shiley roller pump (Shiley 社製) を用いた。20% マニトール $5 \text{ ml}/\text{kg}$ 、25% アルブミン液 $50\text{--}100 \text{ ml}$ 、7% 重炭酸ナトリウム液 $1 \text{ ml}/\text{kg}$ 、メチルプレドニソロン $10 \text{ mg}/\text{kg}$ 、乳酸加リンゲル液により充填量 $450\text{--}550 \text{ ml}$ の無血充填とした。体外循環中、ヘマトクリット値が 20% を下回った場合のみ保存濃厚赤血球液の同種血輸血を行った。

手術は全例、大動脈遮断、心筋保護下に施行した。心筋保護法は初回 4°C の冷却 Young 氏心停止液を $3 \text{ ml}/\text{kg}$ 、

GIK 液 (KCL 10 mEq , regular insulin 10 単位, 7% 重炭酸ナトリウム液 $10 \text{ ml}/5\%$ 糖液 500 ml) を $15 \text{ ml}/\text{kg}$ 大動脈基部から順行性に注入、その後は体外循環血と GIK 液を 1 対 1 で混合した blood GIK 液を 30 分ごとに順行性、間欠的に注入した。また ice slush による topical cooling を併用した。体外循環終了後は、ヘパリン 100 IU に対し、 1.3 mg のプロタミンを投与し、ヘパリンを中和した。平均体外循環時間は 208.9 ± 59.4 分、大動脈遮断時間は 104.0 ± 68.5 分であった。

施行した術式は、VSD パッチ閉鎖術 4 例、two patch 法による AVSD 心内修復術 3 例、VSD パッチ閉鎖および 1 弁付きパッチによる右室流出路再建術 8 例、Rastelli 手術 6 例、Jatene 手術 1 例であり、術後早期に再手術を要した症例や、手術死亡例はなかった。

3. 活性化補体とサイトカイン測定

体外循環前、体外循環開始後 5, 60, 120 分、体外循環離脱・プロタミン投与後 20 分、体外循環離脱後 24 時間の 6 つの時点において、動脈ラインより採血した。採血検体は一般血液検査にて白血球数、血小板数を測定し、一部検体を ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 含有のスπιッツに移し、直ちに 4°C にて 3000 回転/分、10 分の遠心分離を行い、 -70°C にて血漿を補体、サイトカイン測定用に凍結保存した。活性化補体である C3a、および C4a は radioimmunoassay 法により、また炎症性サイトカインである interleukin-6 (IL-6)、interleukin-8 (IL-8) を enzyme-linked immunosorbent assay 法により測定し、それらの経時的変化を評価した。

4. 肺胞気-動脈血酸素分圧較差 (A-aDO₂)

体外循環離脱後 3 時間で人工呼吸器の吸気酸素濃度 (FiO₂) を 0.5 に設定し、そこで得られた動脈血液ガス分析のデータから、以下の計算式を用いて A-aDO₂ を求めた。

$$\text{A-aDO}_2 = 713 \times \text{FiO}_2 - \text{PaCO}_2 / 0.8 - \text{PaO}_2$$

(FiO₂: 吸気酸素濃度 = 0.5, PaCO₂ (mmHg): 動脈血 CO₂ 分圧, PaO₂ (mmHg): 動脈血 O₂ 分圧)

Table 1 Preoperative characteristics of 22 patients

Diagnosis	VSD	(4)	DORV・PS/PA	(4)
	AVSD	(3)	TGA	(4)
	T/F	(7)		
Age (years old)	3.9 ± 3.7			
Body weight (kg)	15.9 ± 11.3			
Hematocrit (%)	37.4 ± 7.2			
Leukocytes ($/\mu\text{l}$)	5850 ± 2687			
Platelets ($10^3/\mu\text{l}$)	222 ± 83			

VSD: Ventricular septal defect, AVSD: Atrioventricular septal defect, T/F: Tetralogy of Fallot, DORV: Double-outlet right ventricle, PS: Pulmonary stenosis, PA: Pulmonary atresia, TGA: Transposition of great arteries

この算出された A-aDO₂ 値と血中補体活性化物質、あるいは炎症性サイトカイン値の体外循環中の上昇度との相関性について検討を行った。

5. 統計学的処理

結果は mean±SD で表し、血中補体活性化物質、サイトカインレベルの経時変化については反復測定分散分析法 (repeated measures ANOVA ; ANOVA) によりその変動の有意性を調べ、さらに体外循環開始前の値とその後の各時点の値は paired Student's *t*-test (*t*-test) を用いて比較検討した。なお、体外循環中の白血球数と血小板数に関しては希釈の影響を除くため、ヘマトクリット値で補正した値を用い、活性化補体値、サイトカイン値については補正せず、測定値のまま用いた。それぞれ $p < 0.05$ をもって統計学的に有意とした。

結 果

1. 白血球数の変化 (Fig. 1)

体外循環中から離脱後にかけて白血球数は有意な上昇傾向を示した (ANOVA, $p < 0.0001$)。また体外循環前の白血球数は $5850 \pm 2687 / \mu\text{l}$ であったが、離脱後・プロタミン投与後においては $13287 \pm 6709 / \mu\text{l}$ 、離脱後 24 時間においては $15643 \pm 4881 / \mu\text{l}$ と、いずれも有意に増加していた (*t*-test, $p < 0.01$)。

2. 血小板数の変化 (Fig. 2)

血小板数は体外循環開始後、有意な漸減傾向を認めた (ANOVA, $p < 0.0001$)。体外循環前では $222 \pm 83 \times 10^3 / \mu\text{l}$ であり、体外循環開始後 60 分では $150 \pm 62 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、120 分では $119 \pm 50 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、プロタミン投与後は $88 \pm 38 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、離脱後 24 時間では $79 \pm 27 \times 10^3 / \mu\text{l}$ であり、60 分以後のいずれの時点においても人工心肺前値と比較して減少した (*t*-test, $p < 0.01$)。

3. 活性化補体の変化

血中 C3a 値は、体外循環開始後、その終了時まで有意に漸増した (ANOVA, $p < 0.0001$)。C3a の体外循環前値は $615 \pm 313 \text{ ng/ml}$ であり、60、120 分、プロタミン投与後の各時点ではそれぞれ 1573 ± 647 、 2073 ± 1335 、 $2566 \pm 1924 \text{ ng/ml}$ と前値と比較し、有意な増加をきたした (*t*-test, $p < 0.01$)。なお離脱後 24 時間では体外循環前のレベルに復した (Fig. 3(a))。

また、血中 C3a 値の体外循環中の上昇度、つまり体外循環離脱後と体外循環前値の差 (ΔC3a) と体外循環時間は相関係数 $r = 0.73$ と有意な正の相関を認めた ($p < 0.01$) (Fig. 3(b))。

血中 C4a 値は、体外循環開始後 5 分とプロタミン投与後に著明に上昇し、2 峰性の変動パターンを呈した (ANOVA, $p < 0.0001$)。体外循環前の血中 C4a 値は $250 \pm 141 \text{ ng/ml}$ で、体外循環開始 5、60、120 分、プロタミン投

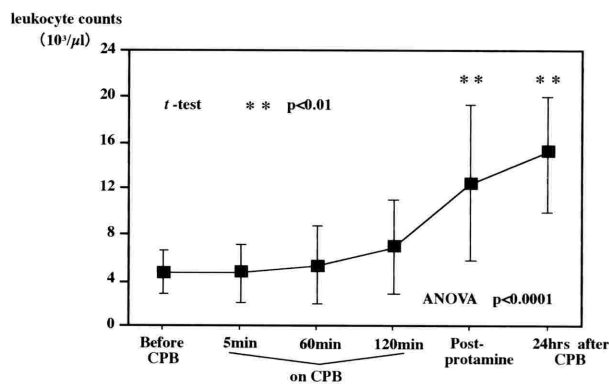


Fig. 1 Changes in leukocyte counts during and after cardiopulmonary bypass (CPB).

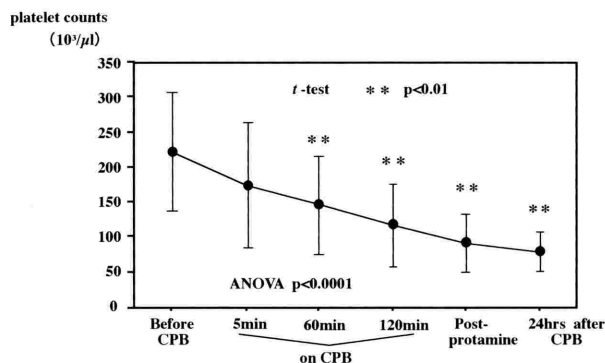


Fig. 2 Changes in platelet counts during and after cardiopulmonary bypass (CPB).

与後における血中 C4a 値はそれぞれ 1416 ± 597 、 954 ± 504 、 888 ± 405 、 $1330 \pm 1535 \text{ ng/ml}$ と前値に比べ、有意な増加をきたし (*t*-test, $p < 0.01$)、また離脱後 24 時間においても $362 \pm 220 \text{ ng/ml}$ と依然、高値を呈した (*t*-test, $p < 0.05$) (Fig. 4)。なお血中 C4a 値の体外循環中の上昇度と体外循環時間については有意な相関を認めなかった。

4. 炎症性サイトカインの変化

血中 IL-6 値は、体外循環開始以後、ゆるやかな上昇をきたし (ANOVA, $p < 0.0001$)、体外循環離脱直後で、著明な上昇を呈した。また血中 IL-6 値の体外循環前値: $4.3 \pm 9.3 \text{ pg/ml}$ と比較し、5 分: $22.6 \pm 17.8 \text{ pg/ml}$ 、60 分: $30.7 \pm 30.6 \text{ pg/ml}$ 、120 分: $39.4 \pm 28.6 \text{ pg/ml}$ 、プロタミン投与後: $115.3 \pm 85.2 \text{ pg/ml}$ 、24 時間後: $38.3 \pm 20.0 \text{ pg/ml}$ と、体外循環開始後、いずれの時点でも有意に高値であった (*t*-test, $p < 0.01$) (Fig. 5(a))。

なお、血中 IL-6 値の体外循環中の上昇度 ($\Delta\text{IL-6}$) と体外循環時間は相関係数 $r = 0.89$ と有意な正の相関を示した ($p < 0.01$) (Fig. 5(b))。

血中 IL-8 値の経時変化 (Fig. 6(a)) は、血中 IL-6 値と類似した変動パターンを示し、体外循環離脱直後の時点をピークとする有意な上昇 (ANOVA, $p < 0.0001$) を呈

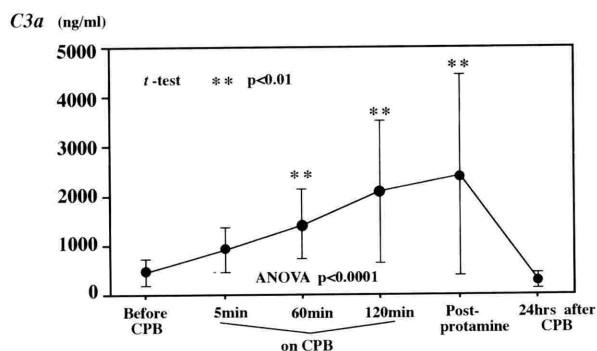


Fig. 3(a) Changes in C3a levels during and after cardiopulmonary bypass (CPB).

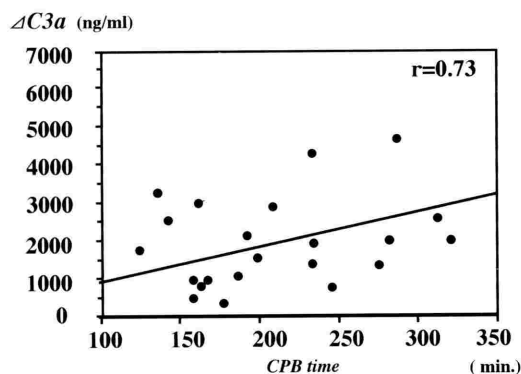


Fig. 3(b) Correlation between Δ C3a and cardiopulmonary bypass (CPB) time.

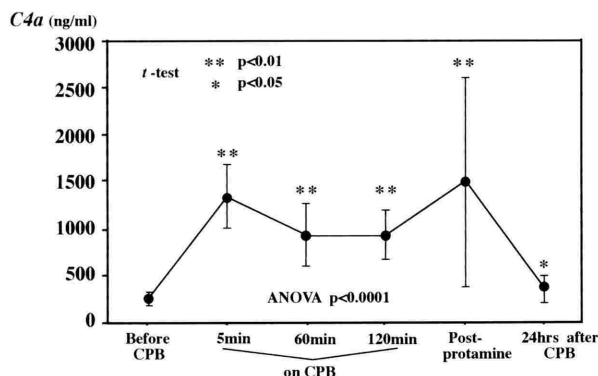


Fig. 4 Changes in C4a levels during and after cardiopulmonary bypass (CPB).

した。また体外循環開始前値は 11.0 ± 2.7 pg/ml であり、60, 120 分、プロタミン投与後、離脱 24 時間後では、それぞれ 12.9 ± 5.1 , 15.2 ± 6.6 , 32.3 ± 24.9 , 15.8 ± 9.6 pg/ml であり、前値と比較し、有意に高値であった (t -test, $p < 0.05$, 0.01 , 0.01 , 0.05 , respectively)。なお体外循環中の血中 IL-8 値の上昇度 (Δ IL-8) と体外循環時間について有意な正の相関を認めた ($r = 0.87$, $p < 0.01$) (Fig. 6(b))。

5. A-aDO₂ と活性化補体, サイトカイン

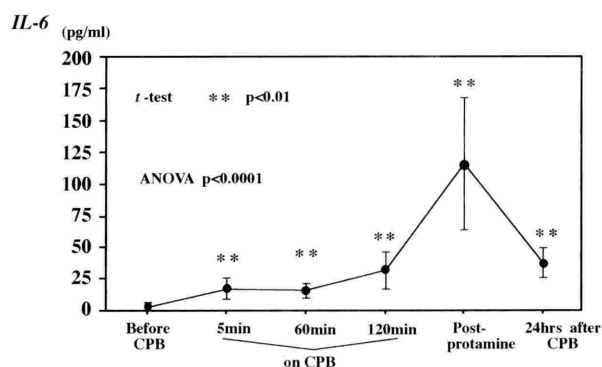


Fig. 5(a) Changes in IL-6 levels during and after cardiopulmonary bypass (CPB).

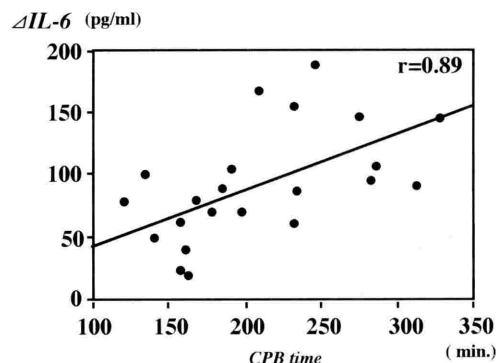


Fig. 5(b) Correlation between Δ IL-6 and cardiopulmonary bypass (CPB) time.

血中 C3a 値の体外循環中の上昇度 (Δ C3a) と体外循環離脱後 3 時間の A-aDO₂ 値は、相関係数 $r = 0.53$ と有意な相関を呈した ($p < 0.05$) (Fig. 7)。また Δ IL-6 と A-aDO₂ は $r = 0.57$ と同様に有意な相関を示した ($p < 0.05$) (Fig. 8)。

一方、 Δ IL-8 と A-aDO₂ 値に関して、相関係数は $r = 0.79$ であり、 Δ C3a、 Δ IL-6 と A-aDO₂ との相関係数に比べ高い値をもって、有意な相関関係を認めた ($p < 0.01$) (Fig. 9)。

考 察

本研究では白血球分画を算定できなかったが、白血球数は体外循環中に有意に増加した。体外循環開始後の白血球数の漸増は顆粒球、特に好中球の増加と報告されている^{2, 11)}。宮本の報告²⁾においても、体外循環中の白血球数は、本研究と同様に有意な漸増傾向を示し、その増加の主体は好中球であった。体外循環中に起こる好中球増加の直接的な機序は明確にされていないが、末田ほか¹¹⁾、体外循環終了 24~48 時間後の好中球増加には主として、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) が関与するが、体外循環中および直後の増加には C3a などの活性化補体に関与すると報告している。

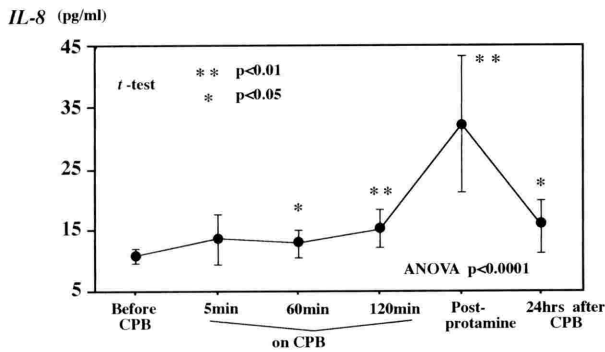


Fig. 6(a) Changes in IL-8 levels during and after cardiopulmonary bypass (CPB).

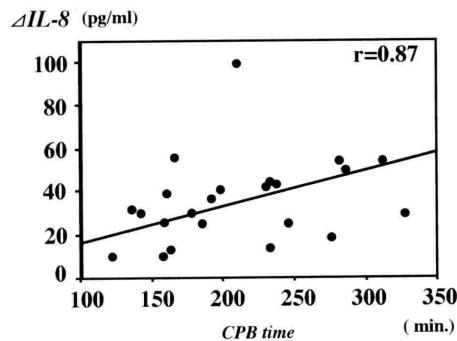


Fig. 6(b) Correlation between Δ IL-8 and cardiopulmonary bypass (CPB) time.

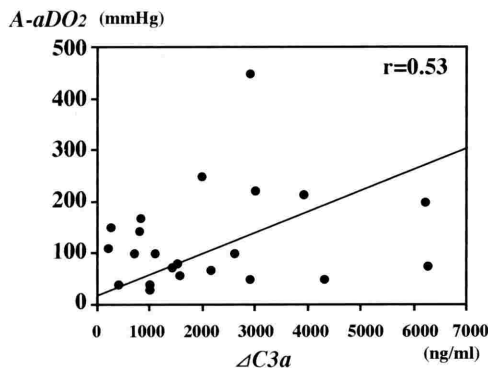


Fig. 7 Correlation between Δ C3a and A-aDO₂.

一方、血小板数に関しては体外循環開始 60 分以降、離脱後 24 時間に至るまで、体外循環前値と比べ、有意な減少を認めた。これは諸家の報告にみられるように、体外循環自体の異物接触という刺激によって、血小板の凝集、脱顆粒が起こること¹²⁾、また硫酸プロタミンによるヘパリン中和後のヘパリン・プロタミン結合体 (heparin-protamine complex) の生成を介した血小板の活性化と消費¹³⁾もその原因と考えられる。

体外循環中の補体活性については、classical pathway, alternative pathway 双方の関与が考えられている¹⁴⁾。本

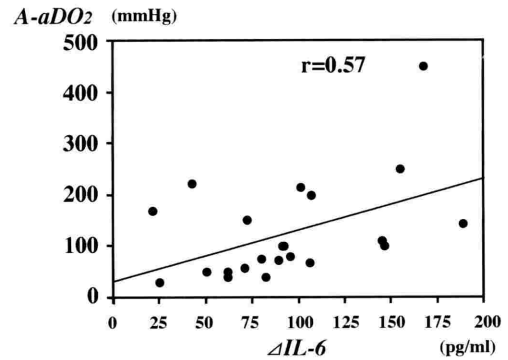


Fig. 8 Correlation between Δ IL-6 and A-aDO₂.

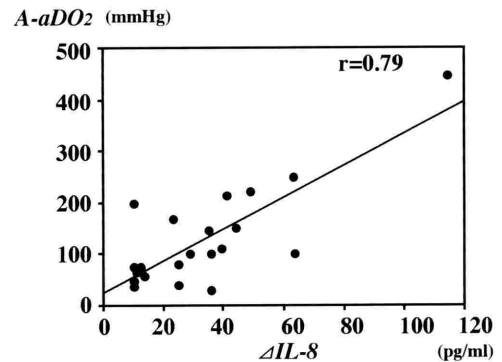


Fig. 9 Correlation between Δ IL-8 and A-aDO₂.

研究でも C3a, C4a の動態より検討したが、体外循環前と比較すると有意な補体活性が認められた。その活性亢進の機序としては、人工心肺装置と血液の直接接触により、血液凝固の接触相が刺激され、ハーゲマン因子 (第 XII 凝固因子) がキニン-カリクレイン系を活性化し、カリクレインが線溶系に作用する結果、プラスミンが補体系を活性化すると考えられている^{10, 15, 16)}。手術自体の侵襲によっても補体系は活性化されるが¹⁷⁾、中でも C3a の血中レベルは体外循環開始に伴って著しく上昇し、さらに血中 C3a 値の上昇度は体外循環時間と密接に関与すると報告されている¹⁾。本研究においても血中 C3a 値は、諸家の報告^{4, 18-20)}と一致して、体外循環開始と同時に上昇し (Fig. 3(a)), 血中 C3a 値の上昇度と体外循環時間は有意な正の相関関係を示した (Fig. 3(b))。一方、C4a は classical pathway の活性化に特異的である。今回の研究では C4a 値は体外循環開始後、有意に急増し、その後は定常に移り、肺への再灌流開始、プロタミン投与後、再上昇するという二峰性の動態を呈した (Fig. 4)。この C4a の体外循環開始直後とプロタミン投与後の増加は、それぞれ相対的に広い膜面積による微小な残留空気、酸素による blood oxygen interface による一過性の plasma denaturation⁴⁾と heparin-protamine complex^{9, 21)}が要因となり、classical pathway が活性化されたと考えられた。しかし体外

循環中の血中 C4a 値の上昇度は体外循環時間と相関しなかったのに対し、血中 C3a 値は体外循環時間と有意な相関をもって増加した。つまり、体外循環中、C4a の変動と異なり、漸増を示した C3a の動態から、体外循環中の補体活性は、C4a に特異的な classical pathway よりも、持続的な血液と人工膜面の接触、すなわち blood material interface による alternative pathway の活性化^{3, 4, 22, 23)}が優位であり、またそれが両者の動態の差異につながったと考えられる。

補体活性化により産生される C3, C4, C5 の小フラグメント、すなわち前述した C3a, C4a および C5a は anaphylatoxin と呼ばれ、血管透過性増大や好中球、単球の血管外遊走、顆粒球凝集・集積をもたらす、生体に対し強い生物活性を有している²²⁾。

Kirklin et al.¹⁾ は C3a の遷延性高値が、開心術後の循環動態不全、呼吸機能不全、腎機能不全に反映し、特に乳幼児になるほど血中 C3a の高値が認められると報告している。

一般的に感染等による補体系から炎症性サイトカイン産生に至る機序として、補体活性化による C3a 発現後、C5a および C3b がマクロファージや単球に結合し、IL-1 β , TNF- α , IL-6 の合成分泌が促される^{18, 22, 24)}。これらサイトカインが血管内皮細胞上に好中球に対する接着分子を発現させ²⁵⁾、内皮への好中球の接着が促進されると血管内皮細胞より IL-8 が分泌される。さらに IL-8 により好中球が活性化され、血管外組織への浸潤を開始し²⁶⁾、さらに好中球が triggering を受ければ、組織障害、ひいては臓器障害に至る²⁷⁾と考えられている。

一方、体外循環症例を対象として、炎症性サイトカイン産生と心、肺等の臓器障害との関連について論じた報告は少なく^{18, 28, 29)}、特に小児例を対象とした検討は、Seghaye et al.³⁰⁾ の報告などが散見されるにすぎない。

Ito et al.²⁸⁾ は 26 例の成人心臓手術症例を対象とし、第 1 病日の oxygenation index (PaO₂/FiO₂) が 250 以上と 250 未満の群に分け、250 未満だった群は 250 以上の群に比べ体外循環直後の IL-6, IL-8 が有意に高値であったと報告し、IL-6, IL-8 産生と術後呼吸障害の関連について述べている。

本研究では術後呼吸機能の指標として、A-aDO₂ を用いたが、根治手術後解剖学的短絡が消失し、なおかつ体外循環による微小な無気肺等の影響を除外し、また人工呼吸器による調節呼吸下にあるという各種条件の統一性を図るため、体外循環離脱後 3 時間の時点で計測した。その結果、血中 C3a 値、IL-6 値、IL-8 値の体外循環中の上昇度と体外循環離脱後 3 時間の A-aDO₂ は、いずれも有意な正の相関を示した (Fig. 7~9)。これらの要因として、補体活性化により、多核白血球の肺血管への凝集、集積、血管外へ

の遊出が起こり、フリーラジカルやプロテアーゼが産生されて局所炎症が惹起されたこと、C3a をはじめとする anaphylatoxin の生物活性により血管透過性が亢進し、血漿成分の漏出を招いたこと、さらに補体系から炎症性サイトカイン産生が誘導され、組織障害に至ったことが、肺胞レベルの拡散障害やガス交換能の低下をもたらしたと考えられる。

本研究における血中 IL-6 値、IL-8 値の変動は体外循環離脱直後に著明な上昇をきたした (Fig. 5(a), 6(a))。この結果は、開心術後の A-aDO₂ 開大の要因として、肺の虚血再灌流障害の関与も示唆すると考えられる。すなわち肺の再灌流により、IL-8 を主とするサイトカイン産生増加によって、活性化された好中球が肺胞組織に障害を及ぼしたと推測される。IL-8 の単離、生成に初めて成功した松島ほか³¹⁾ のグループは、肺の虚血再灌流モデルを作製し、肺胞洗浄液中に好中球が著明に増加しており、しかも大量の IL-8 産生が証明され、肺胞マクロファージや纖毛上皮細胞においても IL-8 が産生されたと報告している。同報告は、本研究において血中 C3a, IL-6 の上昇度と比較し、血中 IL-8 の上昇度が呼吸機能増悪と最も強く相関したことを裏付ける実験結果と思われる。

近年、全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome: SIRS) という概念³²⁾ が提唱され注目されている。SIRS の発生過程には生体侵襲の原因のいかに関わらず、炎症性サイトカインの誘導が必ず存在する²⁶⁾。本研究では、諸家の報告と一致して^{28, 33-36)}、IL-6, IL-8 は体外循環時間と有意な相関をもって増加した (Fig. 5(a), (b), 6(a) (b))。小児における SIRS の定義は確立されていないものの、本研究において体外循環により高サイトカイン血症、いわゆる SIRS が誘導され、体外循環時間がその重症度を決定する一因子と考えられた。

近年、体外循環による補体活性化や炎症性サイトカイン産生を抑制、あるいは濾過するために、Nafamostat Mesilate³⁵⁾、ウリナスタチン³³⁾ などの薬物療法や ultra-filtration³⁷⁾、そして以前われわれも報告したヘパリン被覆人工心肺回路^{19, 36, 38)} の使用など、多くの試みがなされつつある。今後、体外循環をより生体適合性の高いものとし、SIRS への対策を講じることが術後合併症や臓器障害を軽減する上で重要である。

結 語

- 1) 体外循環中の血中 C3a, IL-6, IL-8 値は、それぞれ有意な上昇を示し、体外循環時間とそれらの上昇度は、いずれも有意な正の相関を示した。
- 2) IL-8 値の上昇度と体外循環離脱後の A-aDO₂ は強い正の相関関係を呈した。
- 3) 補体活性化、炎症性サイトカイン産生上昇が長時間体

外循環後の呼吸機能障害の一因となっている可能性が示唆された。

- 4) 小児における体外循環による生体侵襲は、SIRS の概念に一致しており、人工心肺などの生体適合性向上が今後も必要であると考えられた。

本論文の一部は、The Second World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery, および第 50 回日本胸部外科学会総会において、またその要旨は、第 34 回日本小児循環器学会総会、および第 52 回東邦医学会総会において発表した。

稿を終えるに当たり、御指導ならびに御校閲を賜った小山信彌教授に深甚なる謝意を捧げます。また、直接御指導下さいました東邦大学医学部胸部心臓血管外科講師 吉原克則先生、横浜市立大学第 1 外科教授 高梨吉則先生に御礼申し上げるとともに、御協力を頂いた胸部心臓血管外科学教室の各位に感謝の意を表します。

文 献

- Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD: Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **86**: 845-857, 1983
- 宮本裕治: 人工心肺下体外循環中の血中補体活性化に関する検討. 日胸外会誌 **34**: 2055-2061, 1986
- Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH, Kirklin JW: Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* **304**: 497-503, 1981
- 山崎元成: 開心術体外循環における補体活性; その実験及び臨床的検討. 日胸外会誌 **37**: 234-241, 1989
- Hammerschmidt DE, Stroncek DF, Bowers TK, Lammi-Keefe CJ, Kurth DM, Ozalins A, Nicoloff DM, Lillehei RC, Craddock PR, Jacob HS: Complement activation and neutropenia occurring during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **81**: 370-377, 1981
- Howard RJ, Crain C, Franzini DA, Hood CI, Hugli TE: Effects of cardiopulmonary bypass on pulmonary leukostasis and complement activation. *Arch Surg* **123**: 1496-1501, 1988
- Boonstra PW, Gu YJ, Akkerman C, Haan J, Huyzen R, van Oeveren W: Heparin coating of an extracorporeal circuit partly improves hemostasis after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **107**: 289-292, 1994
- Kuratani T, Matsuda H, Sawa Y, Kaneko M, Nakano S, Kawashima Y: Experimental study in a rabbit model of ischemia-reperfusion lung injury during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **103**: 564-568, 1992
- Cavarocchi NC, Schaff HV, Orszulak TA, Homburger HA, Schnell WA Jr, Pluth JR: Evidence for complement activation by protamine-heparin interaction after cardiopulmonary bypass. *Surgery* **98**: 525-531, 1985
- 石山雅邦, 青木 満, 今井康晴, 高梨吉則, 星野修一, 瀬尾和宏, 寺田正次, 長津正芳, 杉山喜崇, 太田 淳, 久保英三, 浜脇正好, 萩野生男, 森島重弘, 森嶋克昌: 共有結合型ヘパリン被覆を施した小児用膜型人工肺の生体適合性に関する検討. 人工臓器 **25**: 645-648, 1996
- 末田泰二郎, 永田裕之, 三井法真, 季白雅文, 渡橋和政, 四方裕夫, 松浦雄一郎: 体外循環による各種サイトカインの変動と顆粒球増加の検討. 日胸外会誌 **43**: 946-950, 1995
- 山口敦司, 井野隆史, 安達英雄, 水原章浩, 村田聖一郎, 紙尾 均, 百瀬直樹: ヘパリン化抗血栓性材料の生体適合性に関する臨床的検討; 人工心肺中のサイトカイン, 血小板, 好中球活性の変動について. 人工臓器 **24**: 886-889, 1995
- 芳賀佳之: 人工心肺下における白血球, 補体系の変動, 体外循環技術 **22**: 1-9, 1996
- Fosse E, Mollness TE, Invalden B: Complement activation during major operations with or without cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **93**: 860-866, 1987
- Burman JF, Chung HI, Lane DA, Philippou H, Ademi A, Lincoln JC: Role of factor XII in thrombin generation and fibrinolysis during cardiopulmonary bypass. *Lancet* **344**: 1192-1193, 1994
- Boisclair MD, Lane DA, Philippou H, Esnouf MP, Sheikh S, Hunt B, Smith KJ: Mechanisms of thrombin generation during surgery and cardiopulmonary bypass. *Blood* **82**: 3350-3357, 1993
- Hahn-Pederson J, Sorenson H, Kehlet H: Complement activation during surgical procedures. *Surg Gynecol Obstet* **146**: 66-68, 1978
- Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD, Weiler JM: Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **106**: 1008-1016, 1993
- Kagisaki K, Masai T, Kadoba K, Sawa Y, Nomura F, Fukushima N, Ichikawa H, Ohata T, Suzuki K, Taketani S, Matsuda H: Biocompatibility of heparin-coated circuits in pediatric cardiopulmonary bypass. *Artif Organs* **21**: 836-840, 1997
- Fukutomi M, Kobayashi S, Niwaya K, Hamada Y, Kitamura S: Changes in platelet, granulocyte, and complement activation during cardiopulmonary bypass using heparin-coated equipment. *Artif Organs* **20**: 767-776, 1996
- Kirklin JK, Chenoweth DE, Naftel DC: Effects of protamine administration after cardiopulmonary bypass on complement, blood elements, and hemodynamic state. *Ann Thorac Surg* **41**: 193-199, 1986
- 菊地浩吉: 補体, 医科免疫学 (4 版) p 171-188. 南江堂, 東京, 1996
- Chenoweth DE: Complement activation during cardiopulmonary bypass. Utley JR (Ed) *Pathophysiology and techniques of cardiopulmonary bypass* vol. 2 p 49-60. Williams and Wilkins, Baltimore, 1983
- Scholz W, McClurg MR, Cardenas GJ, Smith M, Noonan DJ, Hugli TE, Morgan EL: C5a-mediated

- release of interleukin 6 by human monocytes. *Clin Immunol Immunopathol* **57** : 297-307, 1990
- 25) McMillen MA, Huribal M, Sumpio B: Common pathway of endothelial-leukocyte interaction in shock, ischemia, and reperfusion. *Am J Surg* **166** : 557-562, 1993
 - 26) 広田昌彦, 小川道雄: 外科的侵襲と全身反応, 免疫応答. 日外会誌 **97** : 721-725, 1996
 - 27) Simms HH, D'Amico R: Polymorphonuclear leukocyte dysregulation during the systemic inflammatory response syndrome. *Blood* **83** : 1398-1407, 1994
 - 28) Ito H, Hamano K, Gohra H, Katoh T, Fujimura Y, Tsuboi H, Esato K: Relationship between respiratory distress and cytokine response after cardiopulmonary bypass. *Surg Today* **27** : 220-225, 1997
 - 29) Kawamura T, Wakusawa R, Okada K, Inada S: Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass; Participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury. *Can J Anaesth* **40** : 1016-1021, 1993
 - 30) Seghaye M, Duchateau J, Bruniaux J, Demontoux S, Bosson C, Serraf A, Lecronier G, Mokhfi E, Planche C: Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* **111** : 545-553, 1996
 - 31) 松島綱治: 急性炎症モデルにおける IL-8 の役割と抗 IL-8 抗体の影響, インターロイキン 8 と外科; 白血球走化性活性化インターロイキン 8 ファミリー, ケモカインの病態生理作用 p 28-34. 医科学出版社, 東京, 1995
 - 32) Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* **101** : 1644-1655, 1992/
Crit Care Med **20** : 864-874, 1992
 - 33) 大石衆一, 奥田千秋: 人工心肺下開心術におけるサイトカインの急性相反応に関する研究, ウリナスタチンの効果. 日臨生理会誌 **25** : 51-56, 1995
 - 34) Finn A, Naik S, Klein N, Levinsky RJ, Strobel S, Elliott M: Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after paediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* **105** : 234-241, 1993
 - 35) 澤 芳樹, 島崎靖久, 門場啓司, 正井崇史, 福田宏嗣, 大畑俊裕, 松田 暉: 開心術における炎症性サイトカインの変動と心筋再灌流障害への関与; Protease inhibitor (Nafamostat Mesilate) の心筋保護効果. 薬理と治療 **23** : 1587-1592, 1995
 - 36) Ashraf S, Tian Y, Cowan D, Entress A, Martin PG, Watterson KG: Release of proinflammatory cytokines during pediatric cardiopulmonary bypass; Heparin-bonded versus nonbonded oxygenators. *Ann Thorac Surg* **64** : 1790-1794, 1997
 - 37) Wang MJ, Chiu IS, Hsu CM, Wang CM, Lin PL, Chang CI, Huang CH, Chu SH: Efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators during pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg* **61** : 651-656, 1996
 - 38) Ozawa T, Yoshihara K, Koyama N, Yamazaki S, Takanashi Y: Superior biocompatibility of heparin-bonded circuits in pediatric cardiopulmonary bypass. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* **47** : 592-599, 1999

Inflammatory Responses to Cardiopulmonary Bypass Circuits in Pediatric Cardiac Surgery

Tsukasa Ozawa

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery,
Toho University School of Medicine

Abstract : The contact of blood components with the artificial surfaces of cardiopulmonary bypass (CPB) circuits triggers various systemic responses. In pediatric cardiac surgery, blood components are exposed to a larger area of foreign surface in the CPB circuits, and a greater proportion of the patient's blood is drawn from the operative field, possibly resulting in even more pronounced deleterious reactions. Therefore, I assessed alterations in plasma complement and cytokine levels during and after CPB and the correlation between those levels and respiratory function after bypass in pediatric cardiac surgery cases which required lengthy CPB.

Twenty-two infants who required cardiac surgery with CPB longer than 120 minutes were selected as subjects for this study. Arterial blood samples were taken just before CPB, at 5, 60, and 120 minutes into CPB, at 20 minutes after protamine neutralization, and at 24 hours after CPB. Changes in plasma levels of C3- and C4- activation products (C3a and C4a), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-8 (IL-8) were evaluated. Furthermore, alveolar-arterial oxygen difference (A-aDO₂) 3 hours after CPB was calculated. The C4a levels were significantly higher during and after CPB compared to baseline levels before CPB, with two peak points: one 5 minutes after bypass initiation and the second 20 minutes after protamine administration ($p < 0.01$, respectively).

However, the increased C4a levels during bypass did not correlate significantly with CPB time, though concentrations of C3a, IL-6, and IL-8 increased significantly during CPB ($p < 0.0001$, respectively). Moreover, these levels during bypass significantly correlated with CPB time ($r = 0.73$, $r = 0.89$, $r = 0.87$, $p < 0.01$, respectively). In addition, the A-aDO₂ 3 hours after bypass significantly correlated with C3a ($r = 0.53$, $p < 0.05$), IL-6 ($r = 0.57$, $p < 0.05$) and in particular with IL-8 levels ($r = 0.79$, $p < 0.01$) increased during CPB.

This study suggests that deterioration of pulmonary function after prolonged cardiopulmonary bypass might be caused by elevated inflammatory cytokine and complement levels in pediatric cardiac surgery.

J Med Soc Toho 47(1) : 65-73, 2000

Keywords : cardiopulmonary bypass, pediatric cardiac surgery, complement, cytokine, inflammatory response, alveolar-arterial oxygen difference (A-aDO₂)