

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791955

研究課題名(和文)重症脳損傷における脳低温療法後の免疫機能

研究課題名(英文)Immune response after therapeutic brain hypothermia for severe brain injury

研究代表者

松本 学(Matsumoto, Gaku)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：30409213

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：重症脳損傷に対する脳低温療法中及び施行後の免疫機能について調査した。34℃の低体温下ではリンパ球の低下を認め、CD8陽性T細胞の減少が著明であった。脳低温療法が終了した後は、リンパ球数は正常化した。CD8陽性T細胞の低値は遷延した。

脳障害の重症度で分類して調査を行った所、重症脳障害患者ではCD4陽性T細胞が有意に低下していた。Th1細胞とTh2細胞の割合に差はなかったが、重症脳障害群ではIL-4の低値、IL-10の高値を示していた。IL-4はTh2の誘導、IL-10はTh1の抑制に働くため、Th1細胞とTh2細胞の割合は変化しないが細胞性免疫と液性免疫の両者が抑制されていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We analyzed immune function of patients, who got severe brain injury due to post-cardiac arrest syndrome and received therapeutic brain hypothermia. Under the condition of 34 degrees Celsius, lymphocytes were decreased. Especially decrease of CD8 positive T cell was significant. After therapeutic brain hypothermia, the number of lymphocyte was normalized. But decrease of CD8 positive T cell was prolonged.

Next we analyzed immune response with classification based on severity of brain injury. The patients with severe brain injury showed significant decrease of CD4 positive T cell. Though we could not observe significant difference of proportion of Th1 cell to Th2 cell, low Interleukin-4 (IL-4) and high Interleukin-10 (IL-10) were revealed in severely brain injured patients. IL-4 activates Th2 and IL-10 suppresses Th1, therefore both cellular immunity and humoral immunity were suppressed in spite of no difference of proportion of Th1 cell to Th2 cell.

研究分野：神経救急

キーワード：脳低温療法 重症脳損傷 心停止後症候群 免疫不全

1. 研究開始当初の背景

脳低温療法には脳神経保護・脳圧低下・脳浮腫軽減作用がある。蘇生後脳症においては特にその有効性が認められており、心停止後症候群患者に対し、12-24 時間の 32-34 脳低温療法を施行することで機能・生命予後の改善が得られることが示され、ガイドラインにおいても推奨されている。脳低温療法はその他の中枢疾患に対しても導入され、数多くの検討が成されてきた。しかしながら、無作為比較試験ではその有効性を示すことが出来ず、その理由は脳低温療法における合併症にあると考えられる。その代表的なものとして感染率の増加が挙げられる。脳低温療法中には、肺炎や血流感染を代表とした感染症が増加することが知られており、その理由には低体温による免疫抑制作用が関わっていると考えられる。また、脳低温療法を施行する患者は中枢神経に障害を受けている場合が多く、中枢神経障害による免疫異常も合併症の増加に影響を及ぼしていることが推測される。以上の通り、脳低温療法を施行する状況では易感染性を呈しうるが、これら患者において免疫機能がどの様に変化しているのかは実際には明らかとなっていない。

2. 研究の目的

- 1)脳低温療法施行患者における免疫機能の変化を明らかとする。
- 2)神経障害により脳低温療法施行患者の免疫機能に変化があるか明らかにする。

3. 研究の方法

救命救急センターに搬送された心停止後症候群患者で脳低温療法の適応となる患者を対象とする。脳低温療法施行中及び施行後の免疫機能について調査する。

脳低温療法の適応

- 1)蘇生後 Glasgow Coma Scale 8
- 2)蘇生後循環維持可能

除外基準

- 1)15 歳未満の患者
- 2)免疫機能に影響を与える薬物を常用している患者
- 3)治療同意を得る代諾者の存在しない患者

研究項目

- 1)免疫担当細胞
白血球、リンパ球、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、T helper1 細胞、T helper2 細胞、及びそれらの割合
- 2)サイトカイン
IL-4, IL-6、IL-10、TNF-

脳低温療法施行方法

入院直後より 24 時間に渡り深部体温 34 を

維持する。24 時間後より 1 日 1 の割合で復温を行い、48 時間で 36 度まで復温する。36 度に復温するまでの計 72 時間を脳低温療法期間と考える。脳低温療法期間中は、鎮静剤としてミダゾラム 0.1-0.2mg/kg/h、筋弛緩薬としてベクロニウム 1mg/kg/h を持続投与し、72 時間で終了する。

免疫機能調査時期

入院 24 時間後(深部体温 34 維持期)、入院 3 日目(36 復温期)、入院 7 日目(脳低温療法終了後亜急性期)

4. 研究成果

11 症例が本研究に参加した。患者背景は、男性 8 例/女性 3 例、平均年齢 58 歳、退院時 CPC (Cerebral Performance Category) 中央値 4(1-5)であった。CPC 1-2 を転帰良好、CPC 3-5 を転帰不良と定義すると、5 例(45%)が敵ん良好であった。(表 1)

患者背景

性別	女	3 (27%)
年齢 (歳)		58 ± 12
退院時 CPC		4 (1-5)
転帰	良好	5 (45%)
循環停止時間 (分)		21 ± 6.2

表 1. 研究対象 11 症例の背景

1)脳低温療法中及び終了後の免疫機能の変化について分析した。免疫担当細胞についての調査結果を表 2 にまとめる。脳低温療法施行 24 時間後を Day 1、脳低温療法終了時を Day 3、脳低温療法施行後亜急性期の 7 日目を Day 7 とする。

	Day 1	Day 3	Day 7
白血球数 (/uL)	14563 ± 5926	11989 ± 4977	13117 ± 8128
リンパ球 (%)	6.8 ± 4.7	10 ± 3.9	12 ± 11
リンパ球数(/uL)	697 ± 656	901 ± 491	978 ± 284
CD4 陽性 T 細胞 (%)	41 ± 14	46 ± 8.9	48 ± 12
CD8 陽性 T 細胞 (%)	16 ± 4.7	17 ± 7.4	20 ± 8.5
CD11b 陽性リンパ球 (%)	29 ± 16	19 ± 6.1	27 ± 10
CD4 陽性 T 細胞数(/uL)	229 ± 251	380 ± 268	401 ± 238
CD8 陽性 T 細胞数(/uL)	113 ± 165	128 ± 86	163 ± 114
CD4/CD8 比	3.0 ± 1.9	3.2 ± 1.6	3.0 ± 1.9
Th1 細胞(%)	18 ± 14	14 ± 14	19 ± 16
Th2 細胞(%)	2.0 ± 1.2	2 ± 1.6	2.2 ± 1.1
Th1/Th2 比	12 ± 9.7	10 ± 10	11 ± 11

表 2. 観察時期における免疫担当細胞

脳低温療法開始直後よりリンパ球は割合及び絶対数ともに低値を示していた。CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞については、CD4 陽性 T 細胞に比べ CD8 陽性 T 細胞がより減少していた。リンパ球、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞全てにおいて、Day1、Day3、Day7 と体温を正常化し時期が進むに従って正常化していた。ただし、CD4/CD8 比は Day 7 においても高値を示しており、免疫学的変化が遷延していることが示唆された。Th1 細胞、Th2 細胞の両者については絶対値の指標は無いが、Th1/Th2 比で大きな変化を認めず、液性免疫、細胞性免疫への偏りは検出できなかった。

次に、サイトカインの推移について表 3 に示す。

	Day 1	Day 3	Day 7	
IL-4 (pg/mL)	7.6 ± 5.8	7.3 ± 4.5	8.6 ± 5.9	6
IL-6 (pg/mL)	253 ± 520	111 ± 35	67 ± 63	4
IL-10 (pg/mL)	15 ± 25	4.3 ± 4.8	2.8 ± 1.9	5
TNF- (pg/mL)	3.3 ± 2.6	2.5 ± 1.5	2.3 ± 1.0	0.6-2.8

表 3. 観察時期におけるサイトカインの推移

炎症性サイトカインである IL-6、TNF- は Day1 において高値をしめしており、Day 3、Day 7 へと移行するに従い低下を示した。液性免疫活性化サイトカインである IL-4 と IL-10 についてだが、IL-4 は Day 1、Day 3、Day 7 すべての時期においてやや高値を推移していた。その反面 IL-10 は Day 1 において高値を示していたが、Day 3、Day 7 と治療時期が進むと正常化していた。

上記結果をまとめると、脳低温療法 34 維持期においてはリンパ球の抑制があり、特に CD8 において顕著である。脳低温療法施行中及び終了後において Th1 細胞、Th2 細胞の割合に大きな変化はなく、液性免疫と細胞性免疫の優位性について特殊な変化はない。炎症性サイトカインと抑制系サイトカインは 34 維持期に共に高値を示すが、IL-4 を除き全てが治療終了時に低下を示していた。

2) 次に神経障害が脳低温療法中の免疫機能にたいする影響について調査した。前述のとおり、CPC 1-2 を神経学的転帰良好群（以下転帰良好群）CPC 3-5 を神経学的転帰不良群（以下転帰不良群）と定義して、脳低温療法施行中（Day 1）の免疫機能について調査した。

転帰良好群は転帰不良群に比べ、CD4 陽性 T 細胞数割合が有意に高かった。その他の免疫担当細胞の割合に差はなかった（表 4）。サイトカインについてはいずれも統計学的に有

意な差では無かったが、転帰良好群で IL-4 が高く、IL-6、IL-10、TNF- が低い傾向を示していた。（表 5）

	転帰良好	転帰不良	p value
CD4 陽性 T 細胞 (%)	51 ± 12	31 ± 9.4	0.042
CD8 陽性 T 細胞 (%)	15 ± 6.9	17 ± 1.1	0.64
CD4/8	4.1 ± 2.2	1.9 ± 0.6	0.107
CD11b 陽性 T 細胞 (%)	20 ± 7.3	37 ± 18	0.127
Th1 細胞 (%)	17 ± 20	19 ± 1.9	0.843
Th2 細胞 (%)	2.3 ± 1.6	1.7 ± 0.7	0.503

表 4. 神経学的転帰と免疫担当細胞

	転帰良好	転帰不良	p value
IL-4 (pg/mL)	9.5 ± 4.9	5.3 ± 6.6	0.304
IL-6 (pg/mL)	35 ± 4.8	435 ± 673	0.222
IL-10 (pg/mL)	4.1 ± 2.4	27 ± 33	0.169
TNF- (pg/mL)	1.7 ± 0.7	4.6 ± 2.9	0.06

表 5. 神経学的転帰とサイトカイン

上記結果をまとめると、脳低温療法中の免疫機能において、神経学的重症度の高い症例では免疫賦活細胞である CD4 陽性 T 細胞の割合が減少しており、炎症性サイトカインは高値を示していた。液性免疫を有意とする IL-4 と IL-10 は異なった反応を示しており、神経学的重症度の高い症例で IL-4 は低値、IL-10 は高値を示していた。

3) 既存の研究では、脳低温療法中の免疫機能は、細胞性免疫が抑制され液性免疫へと偏ると考えられていた。しかし本研究では、脳低温療法単独よりも、脳低温療法が必要となる神経障害が重篤な例においてより免疫異常が認められるという結果であった。転帰不良群では免疫担当の CD4 陽性 T 細胞の割合が低下している。更に、CD4 陽性 T 細胞の中で細胞性免疫担当の Th1 細胞と液性免疫担当の Th2 細胞の比率に異常は認めなかったものの、液性免疫誘導サイトカインである IL-4 と IL-10 において大きな差が認められた。両者共に液性免疫に関わるサイトカインだが、IL-4 は Th2 誘導サイトカインであり、IL-10 は Th1 抑制サイトカインである。転帰不良群では IL-4 が低下し、IL-10 が上昇している。つまり、細胞性免疫液性免疫両者が抑制されており、これが易感染性につながると言うことが示唆される。

脳低温療法が易感染性を示唆する事はかつてより示されているが、特に神経障害性免疫不全が合併する場合に、予防的抗菌薬投与を

含めた感染対策を強化する必要があると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計3件)

松本 学 他、院外心肺停止患者に対する脳低温療法、2013年、第41回日本救急医学会総会・学術集会

松本 学 他、院外心肺停止患者に対する体外式心肺補助使用下における脳低温療法における治療脱落の予測因子、2014年、第41回日本集中治療学会・学術集会

松本 学 他、院外心肺停止患者に対する体外式心肺補助使用下における脳低温療法における治療脱落の予測因子、2014年、第42回日本救急医学会総会・学術集会

〔図書〕(計1件)

松本 学 他、総合医学社、Post-Cardiac Arrest Syndrome、2014、257

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

松本 学 (MATSUMOTO, Gaku)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：30409213