

尿路感染症治療における Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) の 有用性に関する基礎的検討

岡山大学医学部泌尿器科学教室 (指導: 大森弘之教授)

畠 和 宏

(平成7年11月30日受稿)

Key words : urinary tract infection, G-CSF,
chemiluminescence, neutrophil function

緒 言

感染症に対する生体防御の主役のひとつが好中球であることは論を持たない。この好中球の機能を増強することは、ヒトの重症感染症の治療において有用であると考えられるものの、客観的に評価することは必ずしも容易ではない。一般的に、尿路性器感染症は、その主たる感染の場が尿路の内腔に限局するものと、実質に波及するものとに大別される。筆者らの施設では以前に、好中球が細菌の処理の中心となる緑膿菌性尿路感染症を対象として、抗生物質と Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) (filgrastim) を併用投与し、その相乗的作用の有無について検討を加えた。しかし、併用投与の有用性を見出しえなかった。

今回、慢性緑膿菌性尿路感染症において、G-CSF による好中球機能増強作用がなぜ有効に作用しえなかったのかを基礎的に検討することとした。また、その局所病態から、経尿道的前立腺切除術 (TUR-P) 後の感染予防に対する G-CSF の効果が、感染症治療全般における G-CSF のサイトカイン療法としての意義を評価しうる新たなモデル系となり得るか否かについても基礎的に検討を加えた。

材 料 と 方 法

1. 高浸透圧条件下における好中球化学発光能の検討

1) 好中球の分離

健常成人から末梢血 4 ml をヘパリン採血後ヒトリンパ球、単球・好中球分離溶液 (モノ・ポリ分離溶液, Flow Laboratories 社) 3 ml に静かに重層し、室温にて 2,000 回転、30 分間遠心した。分離された好中球層を Hanks balanced Salt Solution (HBSS) に浮遊させ使用した。

2) 試薬の調製

(1) 刺激剤 Oposonized zymosan

Zymosan A (Sigma) 20mg/ml を生理食塩水で溶解後 20 分煮沸した後 3,000 回転、5 分間遠心後、生理食塩水で 2 回洗浄して、HBSS 中に懸濁した (50mg/ml)。Zymoosan 1 容に新鮮ヒト血清 3 容を加えて、37°C、30 分間転倒混和しながら incubation した。HBSS で 2 回洗浄後 40mg/ml に調製し、化学発光測定時にはその 50 μ l を刺激剤として用いた。

(2) 発光剤

luminol をジメチルスルホキシド (DMSO) で 20mg/ml に溶解して分注後凍結保存した。使用時には融解後、0.1% Gelatin を含む HBSS で 50 μ g/ml に調製しその 400 μ l を用いた。

3) 好中球の preincubation の条件

分離好中球を10% plasma を含む HBSS (浸透圧280mOsm) に浮遊し下記の条件下で37°C, 30分間 preincubation した後, 化学発光の測定を行った。

(1) G-CSF (lenograstim) を25, 50, 125, 250 ng/mlの濃度で添加した HBSS (浸透圧280mOsm) 中で preincubation.

(2) NaCl, または Urea 添加して400mOsm, 及び800mOsm に調整した HBSS 中で preincubation. G-CSF 作用群では, 50 ng/mlの G-CSF を同時に加えた。

(3) ヒト保存尿(300mOsm, 600mOsm, 900mOsm) 中で, preincubation. G-CSF 作用群では, 50 ng/mlの G-CSF を同時に加えた。

4) 化学発光測定

化学発光の測定は, 上記 medium 中で preincubation した好中球 1×10^5 個 (100 μ l) を前記の luminol 溶液400 μ l に浮遊させ, opsonized

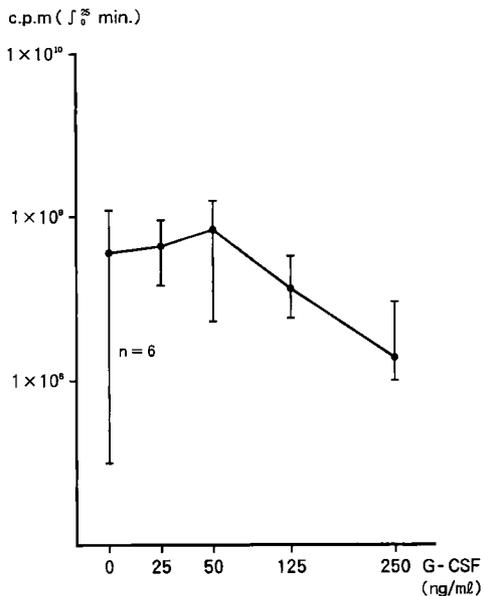


Fig. 1 Relationship between neutrophil chemiluminescence and G-CSF concentration

Neutrophil was preincubated (37°C, 30 min.) in HBSS (280mOsm.) with various concentration of G-CSF (0, 25, 50, 125, 250 ng/ml).

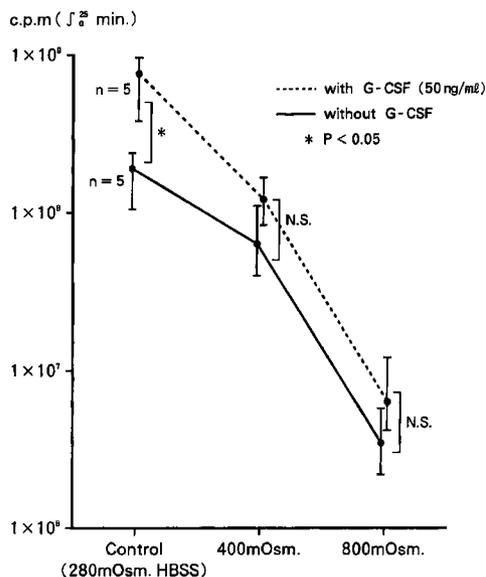


Fig. 2 Neutrophil chemiluminescence in hyperosmotic conditions

Neutrophil was preincubated (37°C, 30 min.) in HBSS (400mOsm., 800mOsm. added with Urea) with or without G-CSF (50 ng/ml). * : χ^2 -test

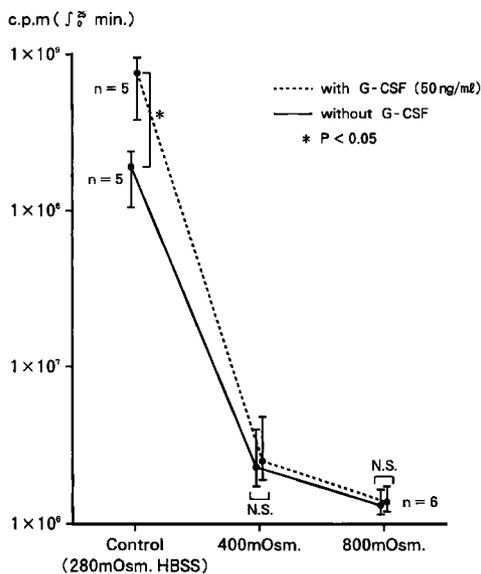


Fig. 3 Neutrophil chemiluminescence in hyperosmotic conditions

Neutrophil was preincubated (37°C, 30 min.) in HBSS (400mOsm., 800mOsm. added with NaCl) with or without G-CSF (50 ng/ml). * : χ^2 -test

zymosan 50 μ l を刺激剤として添加後, 6 channel Biolumat LB 9505 (Berthold 社製) を用いて 37°C で行った. 好中球化学発光能の評価には測定開始から 25 分間の積算値を用いた.

2. 高浸透圧下での好中球の緑膿菌に対する食食, 殺菌能の検討

高浸透圧下での好中球の緑膿菌に対する食食, 殺菌能を評価するために以下の実験を G-CSF の非存在下と存在下で行った.

前述の如く分離した健常ヒト末梢血好中球 1×10^5 個を下記の medium 各 200 μ l に浮遊させ, 37°C, 30 分間 preincubation した.

- ① 5% のヒトプラズマを含む HBSS (280 mOsm).
 - ② NaCl を添加し 400 mOsm に調製した 5% のヒトプラズマを含む高浸透圧 HBSS.
 - ③ ① に 50 ng/ml の G-CSF を添加したもの.
 - ④ ② に 50 ng/ml の G-CSF を添加したもの.
- preincubation は, 丸底 microtiter plate 内で行い, その後に緑膿菌 (14-210 株) 1×10^5 個 (5 μ l) を各々のウェルに添加し 37°C で振盪培

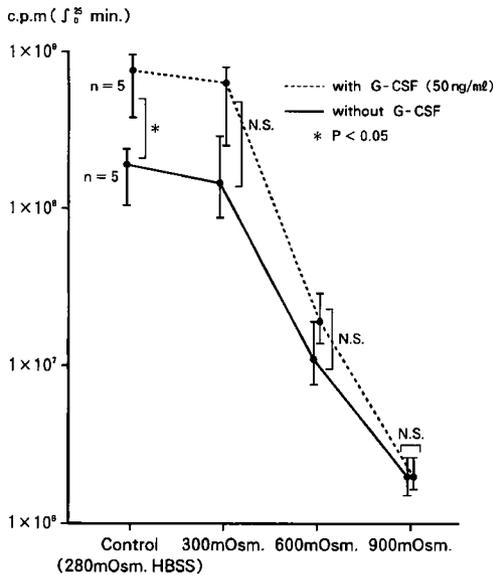


Fig. 4 Neutrophil chemiluminescence in hyperosmotic conditions
Neutrophil was preincubated (37°C, 30 min.) in human urine (300 mOsm., 600 mOsm., 900 mOsm.) with or without G-CSF (50 ng/ml). * : χ^2 -test

養した. 培養液のサンプリングを 20, 40, 60, 90 分後に行い, ソフトアガーに接種して, 生菌数を測定した. コントロールとしては好中球を添加しない各 medium を用いて同様に菌数を測定した. また, ①~④の条件下で preincubation した好中球のルミノール依存性化学発光を $1 \times$

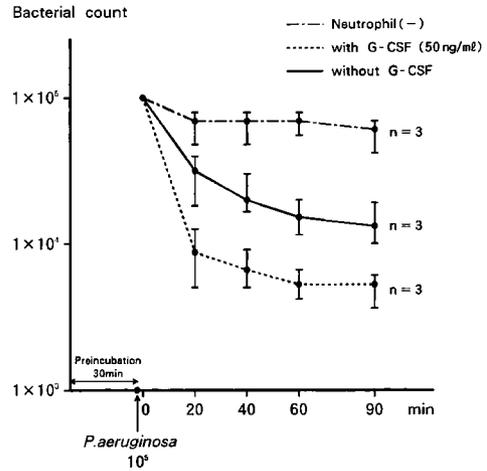


Fig. 5 Killing of *P.aeruginosa* by neutrophil in a physiological osmotic condition
Neutrophil was preincubated (37°C, 30 min.) with or without G-CSF (50 ng/ml) in 280 mOsm. HBSS.

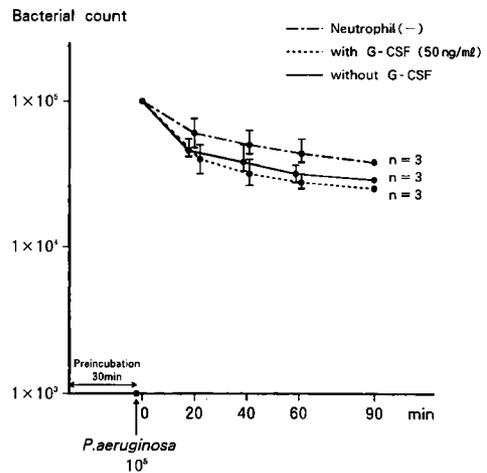


Fig. 6 Killing of *P.aeruginosa* by neutrophil in a hyperosmotic condition
Neutrophil was preincubated (37°C, 30 min.) with or without G-CSF (50 ng/ml) in 400 mOsm. HBSS added with NaCl.

10⁵個の緑膿菌を刺激剤として、LB 9505を用いて60分間測定した。

3. G-CSF のヒト全血化学発光 (全血 CL) に及ぼす効果

経尿道的前立腺切除術 (TUR-P) 施行患者と全身抗癌化学療法施行患者を対象として、G-CSF の好中球機能に及ぼす影響を全血 CL 法で評価した。

1) 対 象

TUR-P 施行患者は、TUR-P 開始と同時に Flomoxef 2 g の静脈内単回投与を行い、術後 2 日目から Lenograstim 125 μg の 5 日間連続皮下投与を行った。好中球数、好中球機能の評価は術後 3、4、6、9 日に行った。なお好中球機能の評価は後述する全血 CL 法を用いて行った。また、Flomoxef 2 g の単回投与のみを行い G-CSF を投与しなかった TUR-P 施行患者 5 例でも同時期に好中球数と全血 CL を行い比較した。また、泌尿器科病棟に入院中の抗癌化学療法施行患者で、その骨髓抑制に対して G-CSF が投与されたものを対象として、全血 CL 法を用いて好中球機能を同様に評価した。患者の内訳は BEP 療法¹⁾を施行中の進行精巣腫患者 2 例、M-VAC 療法²⁾を施行中の進行膀胱癌患者 2 例

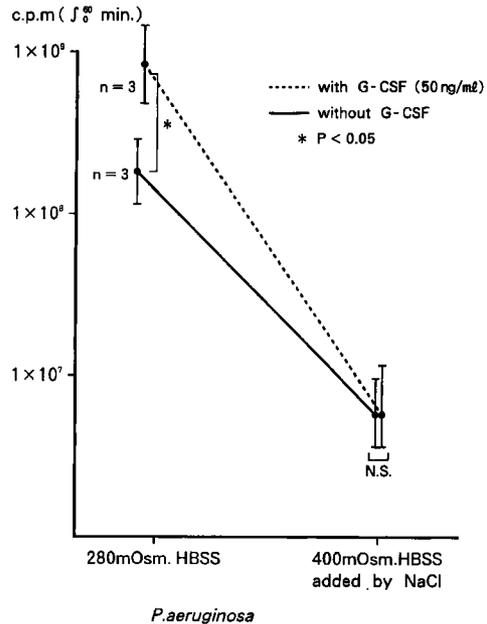
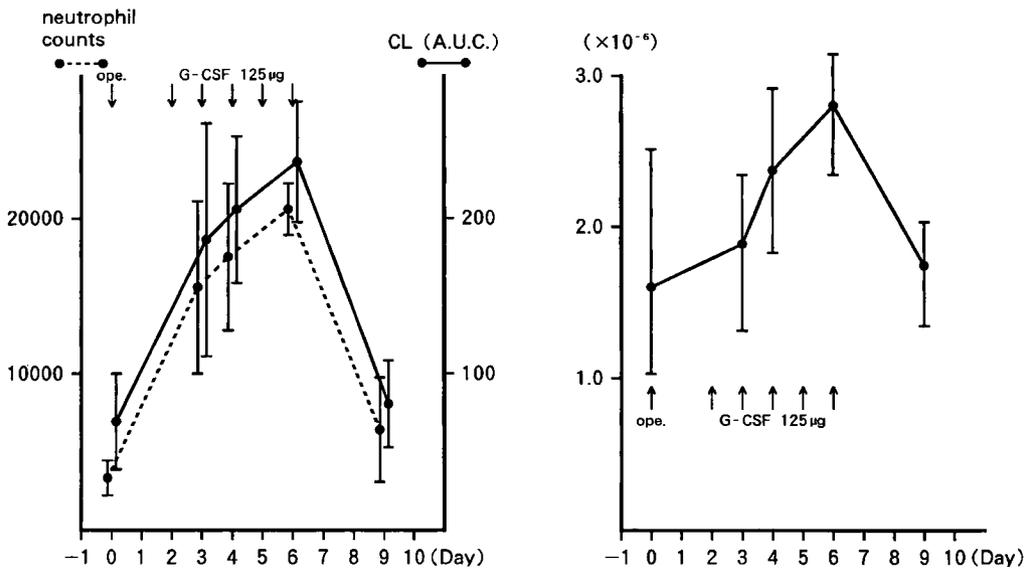


Fig. 7 Neutrophil chemiluminescence stimulated by *P.aeruginosa* (14-210) Neutrophil was preincubated (37°C, 30 min.) with or without G-CSF (50 ng/ml) in normo-, or hyperosmotic condition. * : χ^2 -test



1. Correlation of Neutrophil counts & Whole Blood Chemiluminescence (n = 5)

2. CL Index (peak value/peak time) /Neutrophil (n = 5)

Fig. 8 Changes of neutrophil counts and function in TUR-P patients treated with G-CSF

であり、3例では lenograstim 125 μ g、1例では filgrastim 75 μ g を 5~10日間使用した。

2) 全血 CL の測定法

末梢血 1 ml を採血後へパリンナトリウム 1 ml と混和しその 50 μ l を用いた。刺激剤として Opsonized zymosan、発光剤として Luminol 溶液を用い、ラボサイエンス社製ルミフォトメーター TD4000 で 40 分間の測定を行った³⁾。全血 CL の評価は、40 分間測定による積算値、またピーク値をピーク時間で除した値を化学発光能指数 (CL index) を用いて行った。

4. 経尿道的手術における内因性 G-CSF と好中球数の変動

経尿道的膀胱腫瘍切除術施行患者 2 例、TUR-P 施行患者 2 例において術直前、術開始 1、2、3、6 時間後、翌朝、術後 2、4 日目

に採血を行い好中球数と内因性 G-CSF の測定を行った。内因性 G-CSF の測定は ELISA 法⁴⁾を用いて行った。

結 果

1. 高浸透圧条件下における好中球化学発光能の検討

生理的条件下における G-CSF の濃度と好中球化学発光能の増強効果との関係を Fig. 1 に示した。50 ng/ml の G-CSF で最も強い化学発光増強効果が観察され、125 ng/ml 以上の G-CSF では逆に化学発光能は抑制された。

Urea, NaCl による高浸透圧下での好中球化学発光能抑制作用と G-CSF の効果を Fig. 2, 3 に示した。Urea による 400 mOsm, 800 mOsm の高浸透圧下において化学発光能は著明に抑制

Table 9. Postoperative findings after TUR-P (G-CSF administered Pts)

	Pyuria (/n.p.f.)			Bacteriuria			Fever 38°C <
	Day 4	Day 7	Day 14	Day 4	Day 7	Day 14	
Case 1	15-20	5-8	0-1	(-)	(-)	(-)	(-)
Case 2	(-)	(#)	(#)	<i>Enterobacter aerogenes</i> 10 ⁶ /ml	(-)	(-)	(-)
Case 3	7-8	(-)	10-29	(-)	(-)	(-)	(-)
Case 4	3-4	(-)	(-)	(-)	<i>E. faecalis</i> 10 ⁷ /ml	(-)	(-)
Case 5	(-)	2-4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Neutrophil counts & integral CL

		Day 0	Day 3	Day 4	Day 6	Day 9
Case 1	neutrophil	2,028	10,000	12,264	18,542	7,500
	integral CL	34.7	164.1	184.7	191.7	105.9
Case 2	neutrophil	4,260	17,982	17,538	22,000	8,385
	integral CL	87.9	263.4	221.9	247.9	57.8
Case 3	neutrophil	3,584	21,018	21,465	20,306	8,820
	integral CL	43.49	227.81	241.7	259.0	115.0
Case 4	neutrophil	2,700	13,500	16,600	20,000	2,300
	integral CL	73.4	147.4	243.7	268.1	61.4
Case 5	neutrophil	4,400	16,300	18,000	20,600	3,300
	integral CL	96.8	117.8	150.0	212.0	59.0
Average	neutrophil	3,400	15,800	17,200	20,300	6,100
	integral CL	67.2	184.1	208.4	235.7	79.7

neutrophil (μ l), integral CL (C.L.U)

された。G-CSF 50ng/mlの preincubation により化学発光能は増強されたが、その効果は浸透圧の上昇とともに減弱していた。

NaCl による400, 800 mOsmの高浸透圧下でも化学発光能は著明に抑制され、その抑制効果は Urea の場合よりも強く、G-CSF の化学発光能増強効果はほとんど認められなかった。

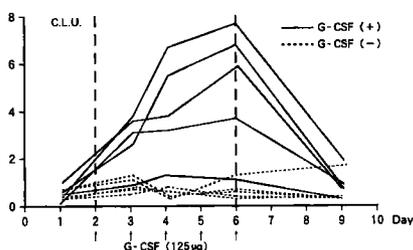


Fig. 10-1 CL index after TUR-P

一方、ヒト尿中における好中球化学発光と G-CSF の効果の検討では、尿浸透圧が600 mOsm 以上で化学発光能の抑制は顕著となっていた。

すなわち、G-CSF による化学発光増強効果は認められるものの、600 mOsm 以上ではその効果は低下した (Fig. 4)。

2. 高浸透圧下での好中球の緑膿菌に対する貪食、殺菌能の検討

Fig. 5, 6 に280mOsmの生理的浸透圧下と NaCl 添加による高浸透圧下 (400mOsm) における緑膿菌と好中球との incubation による菌数の変化を示した。生理的浸透圧下においては G-CSF による好中球の貪食、殺菌能増強効果を認めたが、高浸透圧下ではその効果は明らかではなかった。また緑膿菌を刺激剤とした好中球化学発光の検討においても、Fig. 7のごとく生

10-2 Neutrophil count & CL index after TUR-P

		Day 0	Day 3	Day 4	Day 6	Day 9	
G I C S F (+)	Case 1	neutrophil CL index	2,000 0.2	10,000 3.1	12,300 3.2	18,500 3.7	7,500 1.0
	Case 2	neutrophil CL index	4,200 1.0	18,000 3.6	17,500 3.8	22,000 5.9	8,400 0.7
	Case 3	neutrophil CL index	3,600 0.5	21,000 3.8	21,500 6.7	20,300 7.8	8,800 2.0
	Case 4	neutrophil CL index	2,700 0.6	13,500 2.6	16,600 5.5	2,000 6.8	2,300 0.8
	Case 5	neutrophil CL index	4,400 0.5	16,300 0.9	18,000 1.3	20,600 1.1	3,300 0.4
	Average	neutrophil CL index	3,400 0.56	15,800 2.8	17,200 4.1	20,300 5.1	6,100 1.0
G I C S F (-)	Case 6	neutrophil CL index	2,400 0.3	3,000 0.8	2,500 0.5	2,500 0.7	3,300 0.2
	Case 7	neutrophil CL index	2,700 0.7	5,800 1.1	4,400 0.4	4,900 1.3	5,000 1.7
	Case 8	neutrophil CL index	4,400 0.3	4,700 0.6	3,300 0.6	3,100 0.3	2,600 0.5
	Case 9	neutrophil CL index	3,800 0.5	4,300 0.6	2,200 0.8	3,700 0.3	2,800 0.5
	Case 10	neutrophil CL index	2,900 0.7	3,600 1.3	2,600 0.5	2,600 0.7	2,600 0.3
	Average	neutrophil CL index	3,200 0.5	4,300 1.0	3,000 0.6	3,400 0.6	3,300 0.6
Wilcoxon's analysis	neutrophil CL index	P=0.841 P=0.841	P<0.0001 P=0.016	P<0.001 P<0.001	P<0.001 P=0.008	P=0.222 P=0.151	

neutrophil (μ l)

理的浸透圧下では G-CSF の化学発光能の増強作用を認めたが、高浸透圧下では化学発光能は抑制され、G-CSF による回復効果は認められなかった。

3. G-CSF のヒト全血 CL に及ぼす効果

TUR-P 後に G-CSF を投与した患者 5 例における好中球数と化学発光能の推移を Fig. 8 に示す。G-CSF 投与症例全例で好中球数と化学発光 40 分間積算値の有意な上昇を認めた (Fig. 8-1)。同様に単位好中球数あたりの化学発光指数も上昇していた (Fig. 8-2)。投与患者における臨床成績を Table 9 に示す。膿尿を伴わない 10^4 /ml 以上の一過性の細菌尿の出現を 2 例に認めたが、いずれも抗菌剤の投与なしに細菌尿は消失していた。なお、発熱をきたした症例は認めなかった。好中球数のピークは投与 5 日目で平均 $20,300/\text{mm}^3$ となっていた。また自、他覚的副作用や好中球数増多以外の臨床検査値異常は認められなかった。

TUR-P 後の G-CSF 投与患者と非投与患者の化学発光指数の比較を Fig. 10 に示した。G-CSF 投与群では投与最終日をピークとする化学発光指数の有意の上昇を認めた。また投与終了後に

は速やかに前値に復していた。これに比し G-CSF 非投与群では化学発光指数の変動はほとんど認められなかった。

TUR-P 後の G-CSF 投与患者と抗癌化学療法後の G-CSF 投与患者における化学発光指数の比較を Fig. 11 に示した。化学発光指数は TUR-P 後の投与例において有意に上昇していた。

4. 経尿道的手術における内因性 G-CSF と好中球の変動

TUR-P 後の生体防御反応として、経尿道的手術そのものが内因性 G-CSF を介して好中球数ならびに好中球機能に影響しうる可能性を否定し得ないため検討を行った。各採血ポイントにおける内因性 G-CSF は全例において 30 pg/ml の検出感度以下であり (Fig. 12)、好中球数の有意

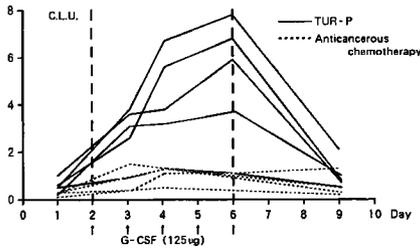


Fig. 11-1 CL index after G-CSF administration

11-2 Neutrophil count & CL index — anticancerous chemotherapy —

		G-CSF administration			
		pre treatment	G-CSF administration		after treatment
Case 1	neutrophil	1,000	6,400	2,200	1,700
	CL index	0.3	1.4	0.8	0.3
Case 2	neutrophil	8,700	—	13,600	6,100
	CL index	0.3	—	1.2	0.3
Case 3	neutrophil	1,400	1,500	600	3,400
	CL index	0.3	0.3	1.0	1.2
Case 4	neutrophil	400	100	1,000	1,000
	CL index	0.1	0.3	0.4	0.2
Average	neutrophil	2,900	2,700	4,400	3,100
	CL index	0.25	0.7	0.9	0.5

neutrophil (/ μ l)

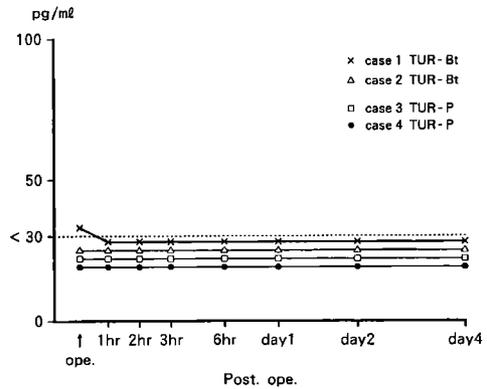


Fig. 12 Endogenous G-CSF after transurethral operation (n = 4)

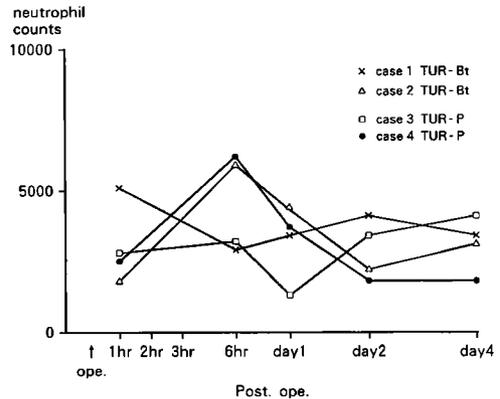


Fig. 13 Neutrophil counts after transurethral operation (n = 4)

な変動も認められなかった (Fig. 13).

考 察

尿路感染症の発症は、細菌の尿路への侵入に端を発し、尿路粘膜への付着、定着後に粘膜下への侵入へと進む。生体側の感染防御機構としては、尿路上皮そのものの粘膜バリアーとしての作用、ならびに尿中での好中球による細菌の貪食、殺菌作用が挙げられる。さらに、細菌が尿路粘膜バリアーを越え、粘膜下へ侵入すると抗原認識によるサイトカインネットワークの働きが活発化されると考えられている。その結果、好中球、マクロファージの粘膜下への浸潤に続き、抗体産生細胞による分泌型 Ig A を中心とした液性免疫も活発化する⁹⁾。したがって、尿路感染症防御機構としての好中球の働きは尿路内腔と、尿路粘膜下の二箇所で大別される。

尿中での好中球機能を検討した報告によると、好中球は末梢血由来であり、当然ながら貪食能、殺菌能を有している。鈴木ら⁶⁾の高浸透圧下でのイースト貪食実験によると、浸透圧が300~500 mOsm/kgの間であれば5時間の停滞でも貪食能は保たれるとされている。しかしながら、それ以上の浸透圧では短時間で貪食能は失われると報告している。また活性酸素産生能の検討^{7,8)}では、高浸透圧 medium 中や尿中におけるより強い抑制作用が報告されており、その抑制作用は浸透圧の上昇に比例している。尿中での好中球機能抑制因子としては、尿素や NaCl による高浸透圧に加えて、血中に比し低いオプソニン作用などが考えられている⁸⁾。

今回、尿路感染症に対するサイトカイン療法としての G-CSF の有用性を検討する目的で、尿中ならびに高浸透圧 medium 中における好中球プライミング効果を化学発光能を用いて評価した。その結果、高浸透圧下では、明らかな好中球化学発光能の抑制作用が認められた。また G-CSF の好中球プライミング効果も高浸透圧下では減弱しており、難治性尿路感染症に対しての biological response modifier (BRM) としての効果をしめすまでには至らないものと考えられる。したがって、以前に行った緑膿菌による慢性複雑性尿路感染症に対する臨床試験⁹⁾で

抗菌効果の持続性を示し得なかった大きな要因と思われた。

in vitro における緑膿菌に対する貪食、殺菌実験の結果からも、生理的条件下では G-CSF による細菌増殖抑制効果を認めるものの、NaCl による400 mOsmの高浸透圧下では、G-CSF のプライミングの有無にかかわらず化学発光能は著明に抑制され、細菌増殖抑制効果も明らかでなく、臨床治験の成績を裏付けるものであった。

G-CSF の好中球プライミング効果は、スーパーオキシドの放出において通常必要とされる好中球細胞膜での Ca^{2+} の上昇¹⁰⁾ を来すことなく脱分極を引き起こし、その放出を増強させること、ならびに好中球表面の C_3b receptor を増加させることによるものと考えられている^{11,12)}。また細菌感染症に対する検討として *in vitro* における *Staphylococcus aureus* に対する貪食、殺菌能の増強効果¹³⁾や、腹膜内緑膿菌感染マウスの Survival rate を上昇させること¹⁴⁾が報告されている。しかし、今回の検討で明らかになったように、高浸透圧下では好中球プライミング効果の発現が抑制され、尿路腔での感染防御効果を発揮しえないものと考えられた。

一方、骨髓機能や好中球機能に障害を持たない臨床患者における G-CSF 投与時の好中球機能を評価した報告はいまだなされていない。今回の臨床例での好中球機能の評価は迅速かつ簡便性を重視して末梢血全血 CL 法で行った。ルミノールにより測定化学発光値は著しく増強されるとされており^{15,16)}、手術時の出血による軽度のヘモグロビン値の低下による CL 値の変動はほぼ無視できると考えられ¹⁷⁾、今回の臨床的検討に適した方法であると考えた。

辻ら¹⁸⁾は免疫グロブリン製剤や抗緑膿菌モノクローナル抗体の全血 CL におよぼす効果を検討し、それらの BRM としての好中球機能増強効果を報告している。今回の検討における G-CSF の TUR-P 後の患者での健康人全血 CL の増強効果は、免疫グロブリン製剤やモノクローナル抗体での成績と比較し明らかに優れるものであった。また G-CSF 投与による TUR-P 後の患者での末梢血全血 CL 増強作用は、抗癌化学療法により骨髓抑制を来たした患者に投与された

場合に比し著しく強いものであった。すなわち、明らかな骨髓機能障害や好中球機能障害を持たない患者において発症する感染症において、G-CSF による好中球機能の増強作用が感染症治療上有効に作用しうる可能性は高いものと考えられた。

そこで、我々は G-CSF の効果を検討するための感染症モデルとして、その focus に尿という高浸透圧溶液の影響が比較的少ない TUR-P 後の状態に着目した。すなわち、手術により前立腺部の尿路粘膜は切除されて、Fig. 14 に示すごとく細菌は尿路上皮バリアを失った粘膜下に直接侵入、付着し、この部で増殖して術後感染症を発症する。好中球による感染防御の場も尿路内腔ではなく粘膜下となる。したがって、TUR-P 後の感染症は前立腺床炎という実質臓器に近い感染症と考えられ、G-CSF によりプライミングされた好中球が機能を抑制されることなく作用し得るものと考えた。TUR-P 後の感染症は諸家¹⁹⁾²⁰⁾により、術後抗菌薬の投与方法のいかんにかかわらず 10～40% 程度の頻度で報告されている。術後感染症の症状として発熱などの全身的

症状を呈するものは少なく、膿尿、細菌尿がその主体となっており、切除前立腺床局所における感染症であると言える。更に、膿尿、細菌尿をみることで客観的に感染症発症の有無が評価可能であり、感染症治療における G-CSF の評価モデルに適していると考えられる。

まず、生体内における手術刺激によるサイトカインネットワークを介した内因性 G-CSF の誘導の有無に検討を加えたが、経尿道的手術後における内因性 G-CSF と好中球数の変動は有意なものではなかった。したがって、炎症急性期では内因性 G-CSF の上昇が認められるという報告²¹⁾があるが、経尿道的手術は比較的侵襲が少なく、生体防御反応も穏やかなものと思われた。実際、TUR-P 後患者での全血 CL の経日的な変動の検討結果も好中球機能が術後に賦活化されているという事実を示すものではなかった。

経尿道的前立腺切除後に G-CSF を 5 日間連続投与した場合、全血 CL は投与開始とともに速やかに増強され、連日投与にもかかわらず投与 2 日目以降はほぼプラトーになり、投与終了と

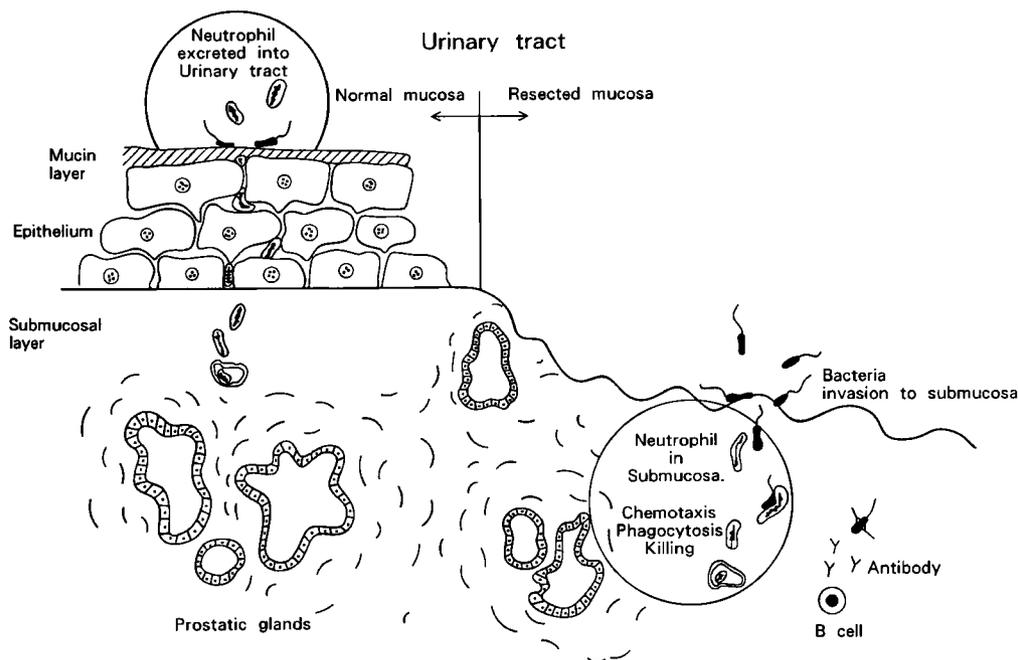


Fig. 14 Local Immunity after Transurethral Resection of Prostate

ともに速やかに投与前値に復すことが明らかとなった。また末梢血好中球数も全血 CL とほぼ平行した変動を示しており、そのピークは約 20,000/mm³となっていた。

実際の感染症予防効果については G-CSF の投与を行った 5 例では術後感染症の発症が抑制されており、G-CSF の好中球プライミング作用により期待される効果が示された。今回 G-CSF は術後 2 日目から 5 日間連続投与したが、これは術後のカテーテル留置により感染のリスクが経日的に高まることを考えて、カテーテル抜去日を中心とした投与を行うこととしたためである。安全性の面から見ても投与患者において好中球増多やスーパーオキシド過剰産生による副作用は認められなかった。以上の結果より G-CSF は BRM として比較的使用し易い薬剤であると考えられた。

以上の成績に加えて、TUR-P の患者は症例数も多く、かつ背景因子が比較的均一であり、prospective randomized trial に適していると考え

られた。そこで、関連病院の協力も得て trial を実施したが、尿路粘膜下において G-CSF でプライミングされた好中球が有効に作用するという成績であった。なお、この成績については別に報告した²²⁾。

結 語

尿路感染症治療における G-CSF のサイトカイン療法の意義とその適応を検討する目的で、種々の条件下における G-CSF のヒト好中球機能におよぼす効果を検討した。また、感染症治療における G-CSF の解析モデルとしての TUR-P 術後感染症予防についても検討を加えた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を頂いた大森弘之教授ならびに直接御指導を頂いた公文裕巳助教授に深く感謝の意を表します。また、研究の遂行にあたり、御協力いただいた当教室の光畑律子技術員、的野由夏技術員に感謝します。

文 献

- 1) Pizzocaro G, Pasi M, Salvioni R, Zanoni F, Milani A and Piva L : Cisplatin, etoposide, bleomycin firstline therapy and early resection of residual tumor in far-advanced germinal testicular cancer. *Cancer* (1985) **56**, 2411-2415.
- 2) Sternberg CN, Yagoda A, Scher HI, Watson RC, Ahmed T, Weiselberg LR, Geller N, Hollander PS, Herr HW, Sogani PC, Morse MJ and Whitmore WF : Preliminary results of M-VAC (methotrexate, Vinblastine, doxorubicin and cisplatin) for transitional cell carcinoma of the urothelium. *J Urol* (1985) **133**, 403-407.
- 3) 松井俊和, 清水鈴昭, 重村はるひ, 小野芳孝, 齊藤 稔, 中村康一, 井野晶夫, 平野正美 : opsonized zymosan 貪食好中球の luminol 増強化学発光に関する基礎的検討, *炎症* (1984) **2**, 101-105.
- 4) Motojima H, Kobayasi T, Shimane M, Kamachi S and Fukushima M : Quantitative enzyme immunoassay for human granulocyte colony stimulating factor (G-CSF). *J Immunol Methods* (1989) **118**, 187.
- 5) 廣瀬崇興, 熊本悦明, 松川雅則, 横尾彰文, 佐藤隆志, 松浦晃洋 : 実験的尿路感染症の局所免疫応答の検討 — 特に Ia 陽性細胞, マクロファージ, 好中球, T細胞, B細胞の浸潤について —, *感染症誌* (1993) **66**, 964-972.
- 6) 鈴木康義, 豊田精一, 真嶋 光, 福士泰夫, 折笠精一 : 膀胱の感染防御機構の研究 — 添梢血多核球の尿中における貪食能と急性膀胱炎時尿中に浸出する多核球の貪食能について —, *日泌尿会誌* (1986) **77**, 574-580.
- 7) 片岡真一, 藤田幸利 : 尿中遊出多形核白血球の活性酸素生成能の基礎的検討, *日泌尿会誌* (1991) **82**, 16-23.

- 8) 松本哲郎, 熊澤淨一, Philippe van der Auwera : 高浸透圧下での白血球機能抑制について. 化学療法の領域 (1988) **4**, 879—883.
- 9) 栗山 学, 伊藤雅康, 河田幸道 : 緑膿菌性泌尿器感染症に対する抗菌剤と G-CSF 併用の意義; 感染症における BRM 療法の意義. 第38回日本化学療法学会西日本支部総会 (岐阜) シンポジウム (III).
- 10) 竹重公一朗, 水上茂樹 : 白血球の食食・殺菌作用とスーパーオキシド. 代謝 (1980) **17**, 1719—1730.
- 11) Kitagawa S, Yuo A, Souza LM, Saito M, Miula Y and Takaku F : Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor enhances superoxide release id human granulocytes stimulated by the chemotactic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* (1987) **144**, 1143—1146.
- 12) Yuo A, Kitagawa S, Ohsaka A, Ohta M, Miyazono K, Okabe T, Urabe A, Saito M and Takaku F : Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor as an activator of human granulocytes ; Potentiation of Responses triggered by recept-or-mediated agonists and stimulation of C3bi receptor expression and adhereence. *Blood* (1989) **74**, 2144—2149.
- 13) Roilides E, Walsh TJ, Pizzo PA and Rubin M : Granulocyte colony-stimulating factor enhances the phagocytic and bacterial activity of normal and defective human neutrophills. *J Infect Dis* (1991) **163**, 579.
- 14) Matumoto M, Tamura M, Mastubara S, Matuno T, Ono M and Yokota T : Mechanism of protective effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rG-CSF) on pseudomonas infection. *Microbiol Immunol* (1991) **35**, 461—474.
- 15) 上野範博 : 全血化学発光 — non-opsonized zymosan 誘導ルミノール依存性化学発光曲線の解析とその臨床応用 一. 北海道医学雑誌 (1986) **61**, 947—960.
- 16) 小橋 修, 小橋悠紀子, 豊島静枝, 重松信昭 : ルミノール依存性化学発光測定による迅速簡便な白血球機能検査の基礎的条件. 炎症 (1985) **5**, 205—210.
- 17) Ristola M and Repo H : Whole blood luminol-enhanced chemiluminescence ; Statistical analysis of the responses of different subjects. *J Biolumin Chemilumin* (1990) **5**, 155—160.
- 18) 辻 明良, 麻原教憲, 青木泰子, 北矢 進, 大野 章, 五島瑳智子, 金子晴生 : 全血液 chemiluminescence respons におよぼすヒト免疫グロブリン製剤, モノクローナル抗体の影響. 感染症誌 (1987) **61**, 1015—1022.
- 19) Gibbons RP, Stark R, Correa RJ, Cummings KB and Mason TJ : The prophylactic use or misuse-of antibiotics id transurethral prostatectomy. *The Journal of Urology*. (1978) **119**, 381—383.
- 20) 松本哲郎, 尾形信雄, 田中正利, 水之江義充, 高橋康一, 内藤誠二, 熊澤淨一, 吉峰一博, 森田一喜朗, 平田耕造 : 経尿道的前立腺切除術に対する抗生剤予防投与方の検討 — 術前一回投与法と術後 4 日間投与法の比較 一. 西日泌尿 (1991) **53**, 357—360.
- 21) Kawakami M, Tsutsumi H, Abe H, Hirai M, Kurosawa S, Mori M and Fukushima M : Levels of serum granulocyte colony-stimulating factor in patients with infections. *Blood* (1990) **76**, 1962—1964.
- 22) 畠 和宏, 公文裕巳, 大森弘之, 朝日俊彦, 片山泰弘, 赤枝輝明, 近藤捷嘉 : 尿路感染症領域における glanutocyte colony-stimulating factor の臨床応用 一 経尿道的前立腺切除術後尿路感染症予防効果の検討 一. 日本化学療法学会雑誌 (1995) **43**, 457—461.

**Potential role of granulocyte colony
stimulating factor in treating urinary
tract infection**

Kazuhiro HATA

**Department of Urology,
Okayama University Medical School,**

Okayama 700, Japan

(Director: Prof. H. Oomori)

The priming effects of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) on neutrophil function and anti-pseudomonal activity were examined under various osmotic conditions created with urea and NaCl (280mOsm., 400mOsm., 800mOsm.) *in vitro*. Consequently, the prophylactic effect of G-CSF on post-operative urinary tract infection after transurethral resection of the prostate were examined experimentally. As a result, neutrophil chemiluminescence was significantly enhanced by G-CSF under physiological osmotic conditions. However, enhancement was not observed under hyperosmotic conditions as in the urine. Similarly, the anti-pseudomonal activity of human neutrophils was not enhanced by G-CSF under hyperosmotic condition. However, whole blood chemiluminescence in patients after transurethral resection of the prostate was significantly enhanced by the administration of G-CSF. Moreover, postoperative urinary tract infection, considered an infection of the submucosal layer, was not observed, suggesting that the neutrophil priming effect occurred in the submucosal layer not in the urinary tract.