

氏名	原 嘉 孝
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙第528号
学位授与の日付	平成29年3月12日
学位論文題名	Novel Blood Purification System for Regulating Excessive Immune Reactions in Severe Sepsis and Septic Shock: An Ex Vivo Pilot Study 「重症敗血症、敗血症性ショックにおける新しい血液浄化療法の構築」 Therapeutic Apheresis and Dialysis Vol.19 No.4 pp.308-315.2015.8
指導教授	西 田 修
論文審査委員	主査 教授 湯 澤 由紀夫 副査 教授 尾 崎 行 男 教授 長 崎 弘

論文内容の要旨

【緒言】 敗血症は、感染症に対する制御不能な宿主反応に起因する生命を脅かす臓器障害と定義されている。敗血症、外傷、大手術など高度侵襲に続発する臓器障害の進展には、活性化顆粒球が深く関与している。我々は、活性化顆粒球の標的の場を生体外に設け、過剰な炎症反応を生体外に移動させることで臓器障害を阻止できないかと考えた。この「逆転の発想」の新システムは、血液浄化回路内に組み込まれた、活性化顆粒球捕捉のための1次カラムと、捕捉時に放出されるメディエータを除去するための2次カラムからなる。

【目的】 ブタ新鮮血を使用したex vivoの実験系において、免疫制御血液浄化システムの臨床使用に向けて基礎データを収集する。

【方法】 1次カラムには、潰瘍性大腸炎などで保険適応のある顆粒球・単球を吸着除去するアダカラム[®](Ada)、2次カラムにはメディエータ吸着特性を備えたポリエチレンイミンで表面処理したポリアクリロニトリル製ヘモフィルター(AN69)を使用した。半閉鎖式循環回路を用い、血液流量33ml/分、濾過液流量330ml/時の条件下で行った。1次カラムとしてAdaとビーズ充填無しの空カラム(Blank)、2次カラムとしてAN69とメディエータ吸着特性の少ないFX100[®](FX)を用いた。Lipopolysaccharide (LPS) 刺激した①Blank+FX、②Blank+AN69、③Ada+FX、④Ada+AN69に加え、LPS刺激をしない⑤Blank+FXの計5群で、それぞれ6頭のブタ新鮮血を用いた。IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10、IL-4を1次カラム前(IN)、1次と2次カラムの間(MID)、2次カラム後(OUT)の3箇所を経時的に測定した。

【結果】 Ada通過により、経時的に顆粒球と単球が減少し、リンパ球はほとんど変化がなかった。回路内サイトカイン濃度は、①で上昇を認め、③でさらに上昇することが確認された。しかし④

では⑤のサイトカイン濃度と同等まで低下した。顆粒球貪食能は経時的に低下した。一方、接着能は増強したが、CD11b陽性細胞数はAda通過前後で減少し、さらに経時的に著明に減少していた。④において、各種サイトカインのカラム入口と出口側濃度の比較では、INを100(%)として、MID、OUTは、それぞれIL-1 β (123 \pm 33, 67 \pm 30)、IL-6(108 \pm 33, 97 \pm 26)、IL-8(138 \pm 46, 64 \pm 21)、IL-10(145 \pm 67, 79 \pm 37)であった。IL-1 β 、IL-8、IL-10において、MIDはINと比較して有意に上昇した(p<0.05)が、OUTはMIDと比較して有意に低下した(p<0.05)。IL-1 β 、IL-8では、OUTはINと比較して有意に低下した(p<0.05)。

【考察】 今回の研究では顆粒球、単球が経時的に減少した。生体ではmarginal granulocyte poolや骨髄から誘導されるため過度な低下は起こらないと考えられる。LPS刺激ブタ新鮮血がAdaを通過すると、サイトカイン濃度のさらなる上昇が認められた。生体において高度侵襲時に臓器障害をもたらす活性化白血球が肺や腎ではなく、Adaに遊走された可能性を示唆する。生体外にAdaという炎症の場を提供することで、肺、腎などの臓器障害を阻止できる可能性がある。本システムにおいて、経時的に顆粒球貪食能が低下し、CD11b陽性細胞数が減少した。実験系全体で考えると顆粒球の貪食能、接着能が低下することが確認された。本システムは、顆粒球の機能変化にも関与する可能性がある。

今回検討した貪食能、接着能はともに顆粒球の重要な自然免疫機構であり、どの程度制御するかについては不明である。Adaの顆粒球以外の標的である単球については絶対数が少ないため検討していない。単球が本システムに与える影響については今後の課題である。

【結語】 LPS刺激したブタ新鮮血を用いて、アダカラム[®]は経時的に顆粒球を除去し続けることを確認した。顆粒球の貪食能、接着能はシステム全体として低下し、AN69は炎症性サイトカインのみならず、IL-10などの抗炎症性サイトカインも除去していた。本システムは免疫制御血液浄化システムとして期待できる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

敗血症は、感染症に対する制御不能な宿主反応に起因する生命を脅かす臓器障害と定義されている。敗血症、外傷、大手術など高度侵襲に続発する臓器障害の進展には、活性化顆粒球が深く関与している。活性化顆粒球による過剰な炎症反応を抑制し臓器障害を阻止するため、血液浄化回路内に組み込まれた、活性化顆粒球捕捉のための1次カラムと、捕捉時に放出されるメディエータを除去するための2次カラムからなる新システムを考案した。

本研究では、ブタ新鮮血を使用した免疫制御血液浄化システムのex vivoの実験系において、活性化顆粒球による過剰な炎症反応の抑制効果について検討した。

LPS刺激ブタ新鮮血が、1次カラムアダカラム[®](Ada)を通過すると、経時的に顆粒球と単球が減少したが、リンパ球はほとんど変化がなかった。1次カラム通過後の回路内サイトカイン濃度の上昇は、2次カラム：ポリアクリロニトリル製ヘモフィルター(AN69)により前値まで低下した。顆粒球貪食能は経時的に低下した。一方、接着能は増強したが、CD11b陽性細胞数はAda通過前後で減少し、さらに経時的に著明に減少していた。

LPS刺激したブタ新鮮血を用いて、アダカラム[®]は経時的に顆粒球を除去し続けることを確認した。顆粒球の貪食能、接着能はシステム全体として低下し、AN69は炎症性サイトカインのみならず、IL-10などの抗炎症性サイトカインも除去していた。本システムは、顆粒球の機能変化にも関与する可能性があり免疫制御血液浄化システムとして期待できる可能性が示唆された。

本研究は、致死率の高い敗血症治療における新たな治療法を開発する上で重要な基礎研究であり、新たな知見が得られた。研究の倫理性・適格性についても問題ないと評価された。臨床応用に向けて重要な研究であり、学位論文として十分に評価できると判断した。