

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09605

研究課題名(和文)急速進行性間質性肺疾患に対するポリミキシンB吸着カラム療法の作用機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of polymyxin B column therapy for rapidly progressive interstitial lung disease

研究代表者

大橋 和政 (Ohashi, Kazumasa)

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：50463998

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：われわれはステロイドパルス療法第一日目にPMX-DHP療法を行った急速進行性間質性肺疾患(ILD)はそれ以外の群に比べて予後が有意に良いことを見出した。そこで当院でPMX-DHP療法とステロイドパルス療法を行った14例を対象にPMX前後、ステロイドパルス療法後の3点で、38種類の血清サイトカイン濃度を測定し急速進行性ILDの増悪因子を明らかにすることが目的とした。いくつかのサイトカインはPMX後に有意に低下し、パルス療法後はさらに減少がみられた。しかし、血清EotaxinのみPMX療法により有意に低下した($p<0.05$)がステロイドパルス療法後は再び増加していた($p<0.05$)ことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急速進行性間質性肺疾患(ILD)は難治性で致死的となる症例が多いが、PMX-DHP療法を併用することにより急速進行性ILDの予後が改善する報告があった。そこでPMX-DHP療法とステロイド治療を施行した14例を対象にPMX前後、ステロイドパルス療法後の3時点で、38種類の血清サイトカイン濃度を測定し急速進行性ILDの増悪因子を明らかにすることが目的とした。その中で血清Eotaxin濃度はPMX療法後に有意に低下したがステロイドパルス療法後は再び増加していたことが判明した。上記よりEotaxinがPMX-DHP治療によっても増悪する急速進行性ILDの病態に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Some patients with rapid progressive interstitial lung disease (ILD) are resistant and fatal to steroids as well as immunosuppressants. We found that rapid progressive ILD treated with polymyxin B column therapy (PMX-DHP) on the first day of steroid pulse therapy had a significantly better prognosis than the other patients. The purpose of this study was to clarify the exacerbating factors of rapidly progressive ILD by comprehensively measuring the serum concentrations of 38 cytokines before PMX-DHP, after PMX-DHP, and after steroid pulse therapy. 14 patients treated with PMX-DHP and steroid pulse therapy for rapidly progressive ILD at our hospital were enrolled. Five cytokines were significantly decreased after PMX-DHP, and more decreased after steroid pulse therapy. However, only eotaxin was decreased after PMX-DHP ($p<0.05$), but increased after steroid pulse therapy ($p<0.05$).

研究分野：呼吸器

キーワード：PMX ILD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

【国内・国外の研究動向及び位置づけ】

急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) は、敗血症、重症肺炎、胸部外傷、肺塞栓、急性膵炎などにより引き起こされる重症炎症性肺疾患である。ARDS は呼吸器だけでなく腎や血液など多臓器の障害が合併するため、致死率は 26~58% に達する。しかし、現在まで ARDS を直接改善できる治療法は見出されていない。特発性肺線維症 (IPF) は、特発性間質性肺炎の代表的な疾患である。通常、IPF は慢性経過で徐々に呼吸機能障害が進行するが、感染症などをきっかけに急激に病態が悪化し致命的となる場合があり急性増悪と言われる。IPF 急性増悪の致死率は 80% と極めて予後が悪く、やはり有効な治療法はない (AJRCCM 2011)。

ポリミキシン B 吸着カラムを用いた血液浄化療法 (PMX-DHP) は、細菌の産生するエンドトキシンをカラムが吸着することにより、敗血症やそれにともなう臓器不全に使用されてきた。近年、PMX-DHP は、ARDS や IPF の急性増悪を含む急速進行性間質性肺疾患 (ILD) に対して有効であると報告されてきた。しかし、それらの報告は症例報告やケーススタディレベルにとどまっている (TherApherDial 2007、IntMed 2006, 2012)。PMX-DHP の作用機序の研究により、MCP-1, MMP-9, TIMP-1, 好中球エラスターゼ、IL-8, 9, 12, 17, PDGF, VEGF、およびこれらのメディエーターを産生する活性化単球が血液中から除去される (BloodPurif 2004, Respiration 2011, Cytokine 2013, AmJSurg 2004)。しかし、これらのうち、どのメディエーターあるいはどの細胞がもっとも病態と予後に関わっているかは明らかでない。

【着想に至った経緯】

IPF 急性増悪を含む急速進行性 ILD に対する PMX-DHP 療法の効果を調べるため、新潟大学医歯学総合病院において治療された 26 例を対象に、PMX-DHP 治療群と従来治療群との予後を後ろ向きに比較した。それによれば、ステロイドパルス療法第一日目に PMX-DHP 治療を行った群は、二日目以降に PMX 治療を追加した群に比べて有意に予後が良かった (図 1, 申請者ら, IntMed 2014)。この結果から、パルス療法初日に PMX-DHP 療法を実施することにより、ILD の進展に関わる血清中のメディエーターを効率的に除去して予後を改善している可能性がある。

2. 研究の目的

前述の学術的背景から、以下の様な仮説を立てた。

- 1) IPF 急性増悪を含む急速進行性 ILD では、血清中にサイトカインなどの炎症性メディエーターとそれを産生する細胞が大量に存在する。
- 2) ステロイドパルス療法だけでは、急速進行性 ILD の進展 (増悪) に関わる炎症性メディエーターを十分に減らすことができない。
- 3) ステロイドパルス療法初日に PMX-DHP 療法を行うことにより、ILD の進展 (増悪) に関わる炎症性メディエーターを血液中から効率的に除去し、予後を改善することができる。

上述の仮説のもと、以下の 2 つの点を明らかにする。

- 1) 急速進行性 ILD において、治療前の血清中で増加している炎症性メディエーター (サイトカイン/成長因子) は何か。
- 2) 1) で検出された炎症性メディエーターは、PMX-DHP 療法により減少するか。また、PMX-DHP 療法をステロイドパルス療法の一日目に施行した場合、それ以降に施行した症例と比べてより顕著に減少しているか。

3. 研究の方法

【対象】

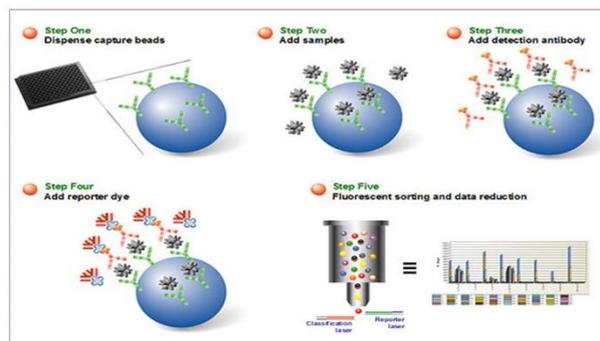
当院で 2015 年度から 2019 年度に経験した IPF の急性増悪、および ARDS (基礎疾患を問わない) を含む P/F 比 300 以下を呈した急速進行性肺障害症例を対象とした。PMX 開始直前、PMX 終了直後、ステロイドパルス終了翌日 (ステロイドパルス開始後 4 日目) の 3

点で血清を採取し、サイトカインを網羅的に測定した。

【測定方法】

PMX-DHP 療法前後の保存血清を対象として、サイトカインパネル解析を行った。解析には Luminex/マルチプレックス[®] サスペンションアレイを用いて、38 種類のサイトカイン/成長因子を同時に測定した。すべてのサンプルは同量の生理食塩水で希釈され、希釈した 1.5 cc の試料をアッセイに使用した。解析方法は、蛍光色素を異なる比率で組み込んだマイクスフェアに結合した抗サイトカイン抗体を利用する Luminex システム (Luminex Corporation, Austin, TX, USA)

Multiplex immunoassay system



と命名された新規多重化、粒子ベースのフローサイトメトリーアッセイである。測定するサイトカイン/成長因子は以下のとおり ; EGF, eotaxin 1, FGF-2, Flt-3 ligand, CX3CL1, G-CSF, GM-CSF, GRO, IFN- α 2, IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p40), IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17A, IP-10, MCP-1, MCP-3, MDC, MIP-1 α , MIP-1 β , sCD40L, TGF- α , TNF- α , TNF- β , VEGF。なお精度の高い解析を行うため、本工程は株式会社ジェネティックラボ <http://www.genelab.com> に委託した。

【解析方法】

対応のある t 検定により、PMX-DHP 実施前後で有意差を認めたサイトカインを抽出した。

4 . 研究成果

1) 2015 年 ~ 2018 年までの対象症例 11 例の詳細を表 1 に提示する。

表 1 : 対象症例				
Case	age	sex	Diagnosis	PMX-DHP 療法後の転帰
1	80	F	Amyopathic DM/IP	62 日後に死亡
2	69	F	MCTD/IP acute exacerbation	2 年以上生存
3	65	M	NSIP acute exacerbation	2 年後に死亡
4	75	M	CPFE acute exacerbation	1 年半以上生存
5	73	F	SjS/IP acute exacerbation	1 年半後悪性腫瘍で死亡
6	73	M	NSIP acute exacerbation	1 年以上生存
7	73	F	ARDS	14 日後に死亡
8	80	M	AIP	7 日後に死亡
9	70	70F	NSIP acute exacerbation	1 年以上生存
10	55	F	ARDS	1 年以上生存
11	70	M	IPF acute exacerbation	1 年以上生存

これ以外にさらに 3 例の症例が加わり、全 14 例を対象とした。14 例すべてで、ソルメドロール 1 g を 3 日間のパルス療法を施行した。1 症例を除き、ステロイドパルス 1 日目に PMX-DHP 療法を施行、また 1 症例のみステロイドパルス 2 日目に PMX-DHP 療法を実施した。すべての症例で、PMX-DHP 療法は 12 時間以上 24 時間以内で終了した。

2) 上記の 11 例について PMX-前後、ステロイドパルス後の 38 種類のサイトカイン濃度の測定を行った。

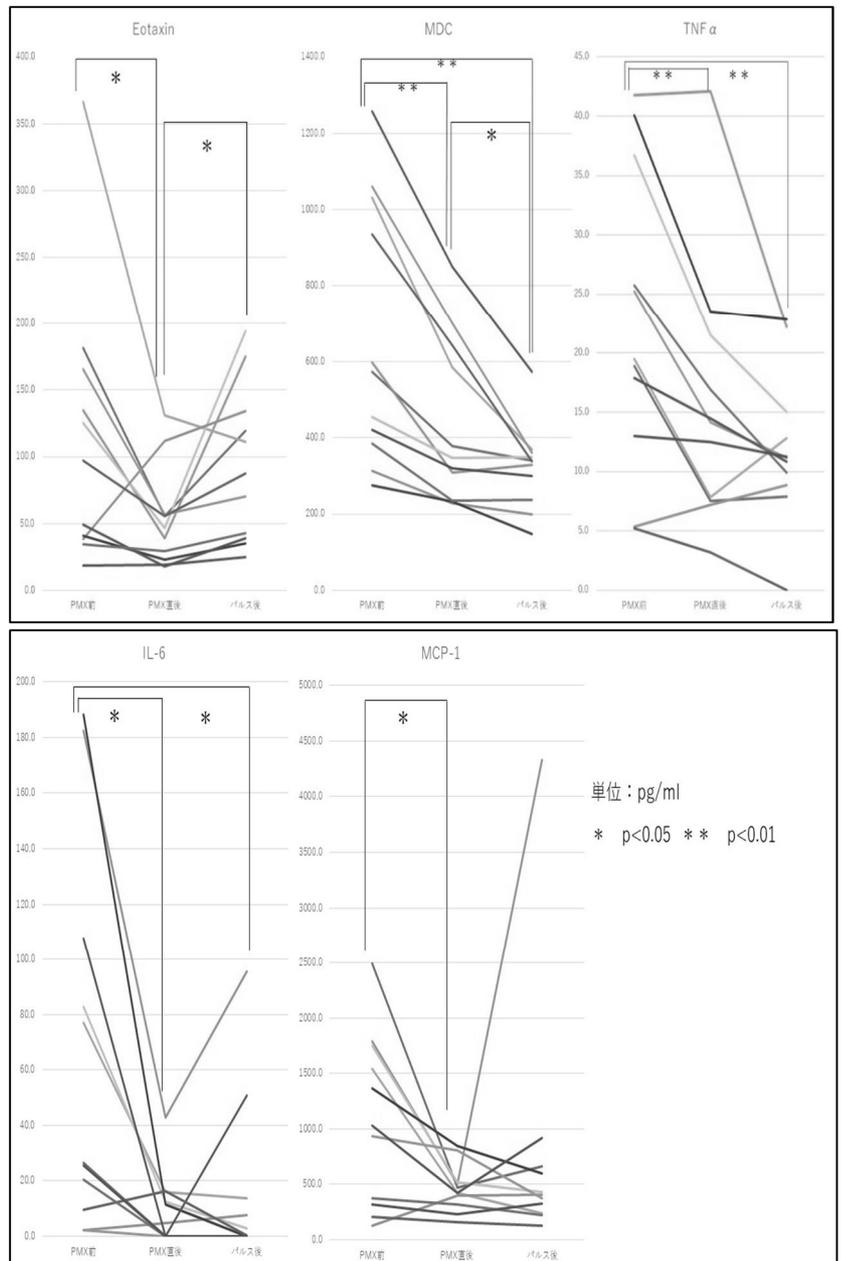
eotaxin 1 は PMX-DHP 療法後に低下を認めた ($p < 0.05$) が、PMX-DHP 療法後と比較しステロイドパルス後には再上昇を認めた ($p < 0.05$)。MDC は PMX-DHP 療法後に低下を認め ($p < 0.01$) PMX-DHP 療法後からステロイドパルス後にさらなる低下をみとめた ($p < 0.05$)。TNF は PMX-DHP 療法後に低下を認め ($p < 0.01$) ステロイドパルス後も低下を維持していた ($p < 0.01$)。IP は PMX-DHP 療法後に低下を認め ($p < 0.05$) ステロイドパルス後も低下を維持していた ($p < 0.05$)。MCP-1 は PMX-DHP 療法後に低下を認めた ($p < 0.01$)。

上記 5 種類のサイトカインのうち、eotaxin 1 のみが PMX-DHP 終了後に再上昇しており、エオタキシンが急速進行性 ILD の増悪因子である可能性が示された。上記 5 種類以外の 33 種類のサイトカインでは、PMX-DHP 療法前後及びステロイドパルス後に有意なサイトカイン濃度変化を認めなかった。

過去の肺障害と eotaxin の関与

についての報告をみると、ラットにおいて eotaxin は好中球の肺への動員を制御する (The Journal of Immunology, 2001, 166: 5208-5218) またマウスのブレオマイシン誘発肺線維症モデルにおいて、eotaxin は肺内に顆粒球を動員する (Am J Pathol 2005, 167:1485-1496) などがある。このことから、Eotaxin は PMX-DHP 治療によっても増悪するびまん性疾患の病態に関与している可能性が示唆された。

なお、上記検体に 2019 年度に PMX-DHP 療法を施行された 3 症例を加えた計 14 例で行われた解析でも、Eotaxin は同様の傾向を認めた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hayashi M, Aoki A, Asakawa K, Sakagami T, Kikuchi T, Takada T.	4. 巻 5(4)
2. 論文標題 Cytokine profiles of amyopathic dermatomyositis with interstitial lung diseases treated with mycophenolate.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Respirol Case Rep	6. 最初と最後の頁 e00235
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/rcr2.235	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 T Takada, K Ohashi et al	4. 巻 141
2. 論文標題 Role of IL-15 in Interstitial Lung Diseases in Amyopathic Dermatomyositis with anti-MDA-5 Antibody	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Respir Med	6. 最初と最後の頁 7-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.rmed.2018.06.012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 大橋和政、高田俊範ら	4. 巻 5(1)
2. 論文標題 急速進行性間質性肺疾患に対するエンドトキシン吸着療法に伴う血清サイトカイン濃度の変化	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 エンドトキシン血症救命治療研究会誌	6. 最初と最後の頁 60-63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大橋和政
2. 発表標題 急性呼吸不全に対するエンドトキシン吸着（PMX-DHP）療法に伴う血清サイトカイン濃度の変化
3. 学会等名 第59回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大橋和政
2. 発表標題 急性呼吸不全に対するエンドトキシン吸着 (PMX-DHP) 療法に伴う血清サイトカイン濃度の変化
3. 学会等名 第57回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大橋和政
2. 発表標題 急性呼吸不全に対するエンドトキシン吸着 (PMX-DHP) 療法に伴う血清サイトカイン濃度の変化
3. 学会等名 第58回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Takada, A. Aoki, K. Ohashi et al
2. 発表標題 Differences in Cytokine Profiles Between Antisynthetase Syndrome and MDA-5-Associated Dermatomyositis
3. 学会等名 ATS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Ohashi, T. Takada, R. Ito, N. Iino.
2. 発表標題 Analysis of Serum Cytokine Changes Caused by PMX-DHP Therapy for Acute Respiratory Failure
3. 学会等名 ATS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	坂上 拓郎 (Sakagami Takuro) (00444159)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授 (17401)	
研究分担者	高田 俊範 (Takada Toshinori) (40361919)	新潟大学・医歯学総合病院・特任教授 (13101)	
研究分担者	林 正周 (Hayashi Maschika) (40463997)	新潟大学・医歯学総合病院・助教 (13101)	
研究分担者	朝川 勝明 (Asakawa Katsuaki) (60599158)	新潟大学・医歯学総合病院・医員 (13101)	