

機関番号：17501

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591836

研究課題名 (和文) HMGB1 を標的とした血液浄化による新たな敗血症治療法の開発

研究課題名 (英文) Development of new therapeutic strategies for severe sepsis by blood purification therapy targeting at elimination of HMGB1.

研究代表者

日高 正剛 (HIDAKA SEIGO)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：00404385

研究成果の概要 (和文)：

重症敗血症で多臓器不全，死へと病態が悪化する過程において，致死的メディエーターである HMGB1 (high mobility group box 1) が重要な役割を持つことが示されている。そのため HMGB1 を標的とした治療法が模索されているが，臨床的に有用な HMGB1 制御方法は未だ確立していない。我々は今回の研究で，HMGB1 制御手段として血液浄化療法に着目し，ラット敗血症モデルにおいてその有効性を検討した。結果，血液浄化療法（血液透析ろ過，白血球除去療法）により，血中 HMGB1 濃度は有意に抑制され，組織傷害は軽減，生存率の改善を認めた。

研究成果の概要 (英文)：

Severe sepsis can result in multiple organ dysfunction syndrome (MODS), a potentially life-threatening condition. In the process, high mobility group box 1 protein (HMGB1) was found to be a key mediator of exacerbating organ injury. Although sepsis is the common cause of mortality in intensive care units, few therapies have established sufficient evidence. In the present study, we evaluated the effects of blood purification therapy targeting at elimination of HMGB1 in a LPS-induced systemic inflammatory rat model. As a result, we showed that blood purification therapy (hemodiafiltration, leukocytapheresis) reduced serum HMGB1 levels and prevented organ injury, and increased survival in our model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：麻酔学，集中治療医学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：感染症，敗血症

1. 研究開始当初の背景

最近の研究で、重症敗血症においてショックから多臓器不全、死へと病態が悪化する過程で、致死性のメディエーターとしてHMGB1 (high mobility group box 1) が重要な役割を持つことが示されている。HMGB1 はDNAの構造を維持する上で重要な核内蛋白であるが、LPS (lipopolysaccharide) 刺激や細胞障害により細胞外に放出されると、炎症性メディエーターとして作用し、更なる炎症増悪を引き起こす。さらに、病期が進むにつれ比較的晩期に血中濃度が上昇するHMGB1 は、生体の死に直結する可能性が高い。そこで近年の研究では、HMGB1 を標的とした新たな治療法の開発が模索されているが、臨床的に有用なHMGB1 制御方法は未だ確立していない。

2. 研究の目的

今回の研究では、HMGB1 制御手段として血液浄化療法によるHMGB1 除去に着目し、その有効性、安全性を検討し、臨床応用へ展開していくことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 血液透析濾過カラムによるHMGB1 制御

Wistar系雄性ラット(体重250-300g)にLPS 7.5mg/kg を静注して、エンドトキシンショックモデルを作成した。

ラット用に小型の透析膜(ポリスルホン膜、膜面積0.0053 m², ポアサイズ 220 μm, 膜厚20-75 μm)を作成し、LPS 投与6時間後に大腿動脈より脱血、透析カラムを通過させた後、大腿静脈に返血する体外循環回路を作成し、蠕動ポンプを用いて約1mL/分の流量で30分間の血液透析ろ過を実施した。

- C group; 透析(-), ろ過(-)
- CHF group; 透析(-), ろ過(+)
- CHDF group; 透析(+), ろ過(+)

の3群において、血中HMGB1, サイトカイン濃度, 生存率, 肺肝組織標本を比較し、治療効果を検討した。

(2) 白血球除去カラムによるHMGB1 制御

Wistar系雄性ラット(体重250-300g)にLPS 7.5mg/kg を静注して、エンドトキシンショックモデルを作成した。

除去効率の異なる2種類の白血球除去カラムを作成し、LPS 投与6時間後に大腿動脈より脱血、白血球除去カラムを通過させた後、大腿静脈に返血する体外循環回路を作成し、蠕動ポンプを用いて約1mL/分の流量で30分間の白血球除去療法を実施した。

● mock leukocytapheresis column (MC) group; 白血球除去(-)

● low efficiency leukocytapheresis column (LE-LC) group; シングルパスで約50%の白血球を除去

● high efficiency leukocytapheresis column (HE-LC) group; シングルパスで約90%の白血球を除去

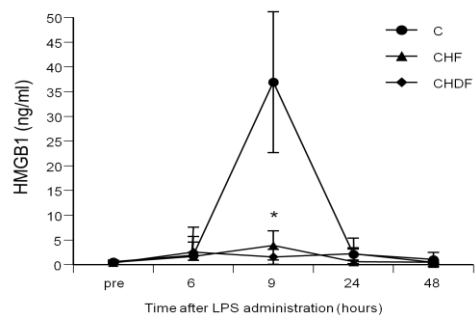
の3群において、血中HMGB1, サイトカイン濃度, 生存率, 肺肝組織標本を比較し、治療効果を検討した。

4. 研究成果

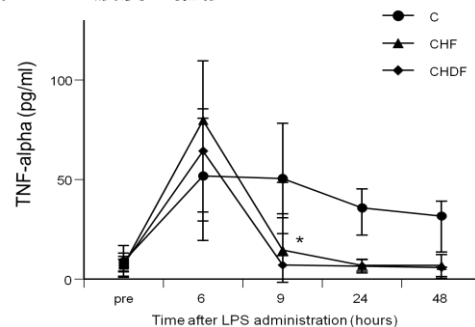
(1) 血液透析濾過カラムによるHMGB1 制御

① 血液透析濾過は炎症反応を軽減-

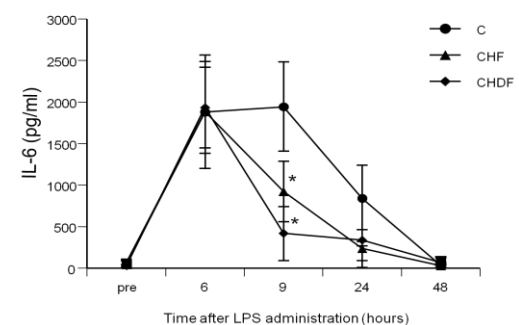
血中HMGB1濃度の推移



血中TNF-α濃度の推移

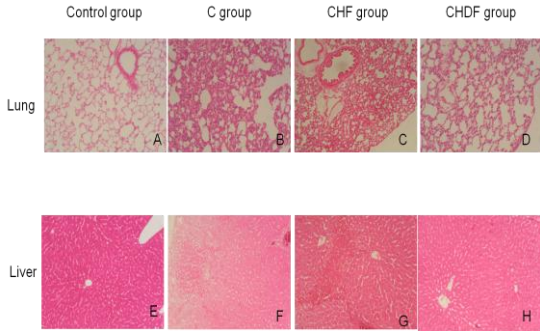


血中IL-6濃度の推移



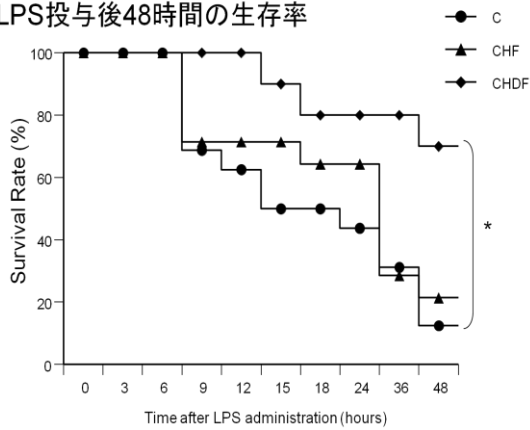
②血液透析濾過は組織傷害を軽減

LPS投与後24時間の肺肝組織標本



③血液透析濾過は生存率を改善

LPS投与後48時間の生存率



(2) 白血球除去カラムによる HMGB1 制御

low efficiency leukocytapheresis column (LE-LC) と high efficiency leukocytapheresis column (HE-LC) の除去性能測定結果は以下のとおり。

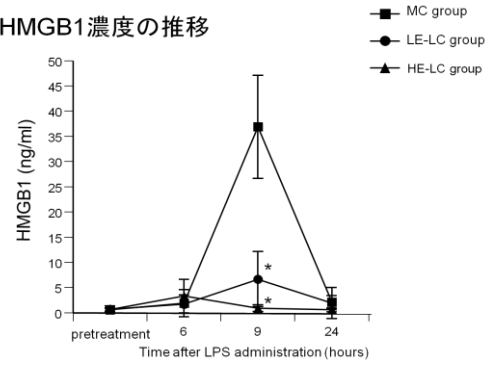
Effects of Leukocytapheresis on White Blood Cell, Red Blood Cell, and Platelet Counts

	LE-LC	HE-LC
Elimination rate of white blood cells (%)	28 ± 14	71 ± 18
Elimination rate of red blood cells (%)	2 ± 1	3 ± 2
Elimination rate of platelets (%)	20 ± 5	28 ± 6

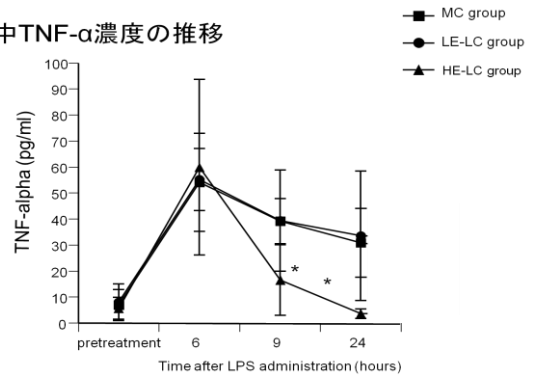
Data are expressed as mean ± standard deviation (SD).

①白血球除去療法は炎症反応を軽減

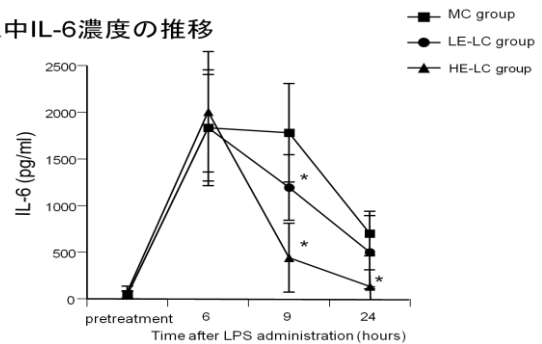
血中HMGB1濃度の推移



血中TNF-α濃度の推移

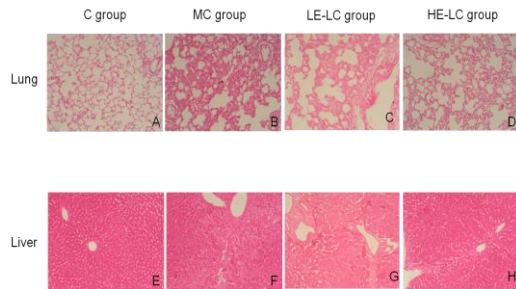


血中IL-6濃度の推移



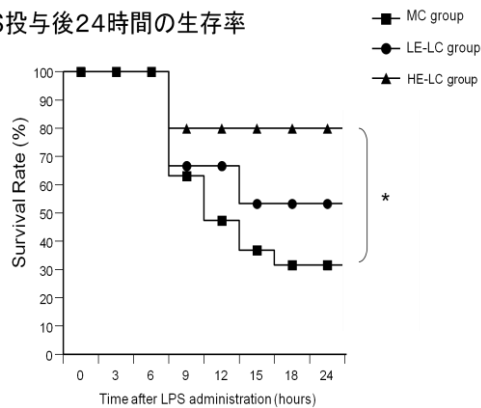
②白血球除去療法は組織傷害を軽減

LPS投与後24時間の肺肝組織標本



③白血球除去療法は生存率を改善

LPS投与後24時間の生存率



以上の結果から、ラット敗血症モデルにおいて、血液浄化療法（血液透析ろ過，白血球除去療法）は、血中 HMGB1 濃度を有意に抑制，組織傷害を軽減，生存率を改善することが認められ，敗血症の治療手段として有効となる可能性が示された。

この研究の limitation は、今回のモデルは LPS 単回投与でありヒト敗血症の病態と同一とは言い難い，血液浄化療法に対する反応性がラットとヒトで異なる可能性がある，ということである。

今後，ヒトへの臨床応用に向けて，最適な施行方法などに関して，さらなる研究を考えている。

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 2 件）

①Satoshi Hagiwara, Hideo Iwasaka, Akira Hasegawa, Seigo Hidaka, Aya Uno, Ueo Kaori, Tomohisa Uchida, Takayuki Noguchi. Continuous Hemodiafiltration Therapy Ameliorates LPS-Induced Systemic Inflammation in a Rat Model. : J Surg Res. 査読有, 29, 2010.

②Satoshi Hagiwara, Hideo Iwasaka, Akira Hasegawa, Seigo Hidaka, Aya Uno, Kaori Ueo, Tomohisa Uchida, Takayuki Noguchi. Filtration leukocytapheresis therapy ameliorates LPS-induced systemic inflammation in a rat model. : J Surg Res. 査読有, 8, 2010.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日高 正剛 (HIDAKA SEIGO)
大分大学・医学部・助教
研究者番号：00404385

(2) 研究分担者

岩坂 日出男 (IWASAKA HIDEO)
大分大学・医学部・准教授
研究者番号：90175216