

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462771

研究課題名(和文)敗血症下における免疫異常と成体幹細胞動態解析:骨髄移植による再生治療の試み

研究課題名(英文)Immunoparalysis and analysis of hematopoietic stem cell in sepsis:a trial of regenerative immunoactivity by bone-marrow transplantation

研究代表者

服部 友紀(Hattori, Tomonori)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90363936

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文):敗血症性ショックの患者の血液から取り出した免疫担当細胞であるリンパ球及び単球の機能は、敗血症性ショックと診断された1日目から異常を認めた。この異常は3日目も続いていたが、病態が改善してきた7日目には回復を認めた。治療の甲斐なく死亡した症例では7日目でも回復していなかった。この結果は敗血症性ショックでは早期から免疫担当細胞の量的・質的低下が起こっており、免疫不全状態の回復の有無が重症化の鍵となっていることを示している。骨髄移植による免疫不全状態からの「再生」は敗血症に対する有効な治療法になりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文):In septic shock patients, serial blood samples were obtained on days 1, 3, and 7 after the onset of shock, and immune cell subsets and receptor expression were characterized. A decrease of immunoactivity of T cells and monocyte were observed in the early stage of septic shock. Significant lymphopenia persisted for at least 7 days following the onset of septic shock. Normalization of immunodysfunctions was observed by day 7, except in patients who died. Our findings emphasize the importance of normal lymphocyte function for recovery from septic shock. These results indicate that the regeneration of the immunoparalytic state by bone-marrow transplantation, can be potentially effective therapy for recovery from septic shock.

研究分野：救急医療、集中治療

キーワード：敗血症 免疫不全 骨髄移植

1. 研究開始当初の背景

敗血症病態は単純な抗炎症療法もしくは免疫賦活療法のみでは対処できず治療は困難を極めている。敗血症は骨髄から造血幹細胞、間葉系細胞(mesenchymal stem cells; MSC)を動員し傷害を受けた炎症部分に集積させ傷害組織の修復ならびに機能不全に陥った炎症担当細胞の保管を行なっている可能性が示されていた。造血幹細胞、特に CD34+細胞は、末梢血中で単球、リンパ球、樹状細胞へと分化増殖するため、その輸注移植が炎症担当細胞の補充になり得ると考えられていた。

MSC は細胞保護因子の産生を施し、臓器保護作用を発揮すると推察されていた。MSC 移植により敗血症モデル(盲腸結紮腹膜炎)ラットに対して治療効果を示すことが報告されていた。

敗血症時のリンパ球はアポトーシス亢進による量的低下のみならず機能障害に陥っている事も明らかになりつつあった。正常な T 細胞は極めて多様な T 細胞受容体 (T cell receptor; TCR) を発現する能力を有しており、この TCR 多様性を基盤とした T 細胞レパトア形成は正常な獲得免疫に必須である。また抗原情報を TCR に提示する際、補助抑制因子として働く CTLA4、PD-1 はリンパ球に対し負のシグナルを送る重要な役割を担っている。TCR 多様性低下と PD-1 発現亢進は、重症敗血症、担癌状態で検討が進められており、敗血症時の immunoparalysis(免疫不全状態)との関連が注目されていた。

2. 研究の目的

重症敗血症における免疫異常、とりわけ免疫担当細胞の質的障害、量的減少の病態を明らかにし、骨髄由来造血幹細胞移植による新しい敗血症治療法を開発する。

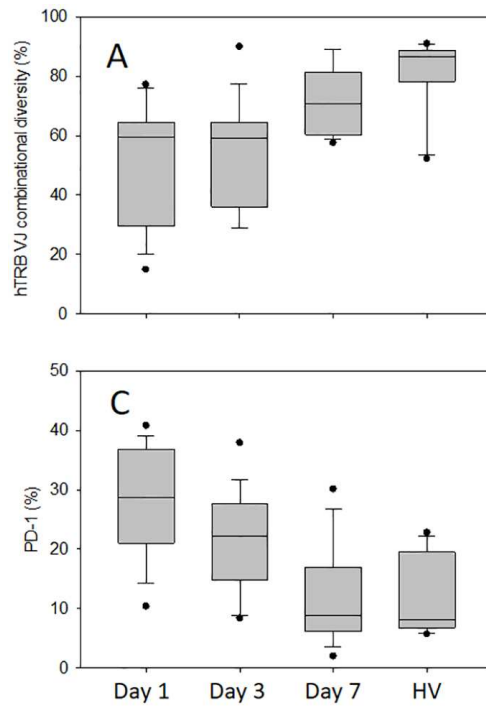
3. 研究の方法

重症敗血症患者検体を用いて、1)TCR 多様性、2)PD-1, PD-L1, PD-L2, HLA-DR の発現、3) CD34+, VEGFR-2+および CD133+リンパ球動員率、4) 血中 VEGF, CXCL12 を測定する。これらの検討により免疫担当細胞の質的障害、量的減少の病態と骨髄由来造血幹細胞、MSC 誘導率を明らかにする。

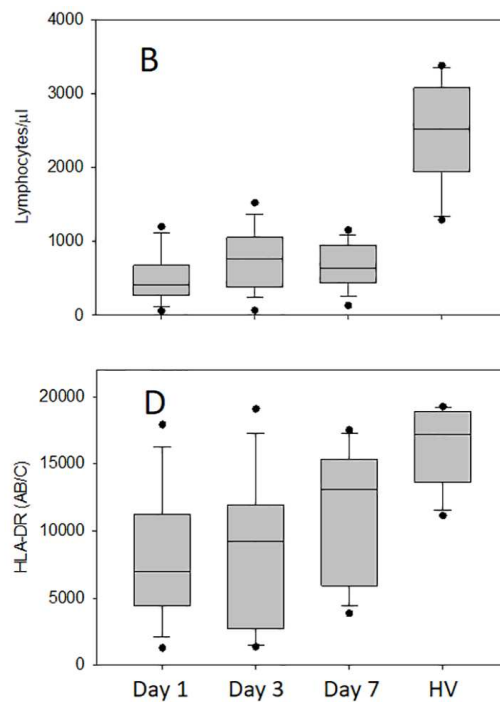
その後、骨髄由来造血幹細胞、MSC の輸注移植を進めるため動物を用いて 1)CD34+, MSC の採取、2)移植細胞の継時的追跡、3)移植が免疫能に及ぼす影響、4)移植が敗血症病態に及ぼす効果を測定し、移植が免疫担当細胞の補充、敗血症治療として有効化を確認する。

4. 研究成果

1)敗血症患者における免疫担当細胞の量的・質的異常について。  
ICU 管理となった敗血症患者 18 名の TCR 多様性と PD-1 発現および単球 HLA-DR 発現について示す。



敗血症性ショック患者の T リンパ球 CD4+の PD-1 発現率は健康成人(HV)と比較して高く、1-3日目で高く7日目では正常化していた。TCR 多様性も同様に 1-3日目では低く7日目に正常化した。一方 18 例のうち 3 例は死亡したが死亡例では TCR 多様性 PD-1 発現率共に 7日目でも正常化しなかった。



リンパ球数および単球 HLA-DR 発現は 1, 3, 7日目とも HV と比較し低下していた。これらの結果から、探求の抗原提示に必須である HLA-DR の低下、TCR の多様性障害、さらには PD-1 の発現亢進が相まって抗原情報の T 細胞

胞への伝達障害が敗血症患者で認められることがわかる。

敗血症性ショックではリンパ球は量的減少に加え質的障害も生じていることが明らかになった。Immunoparalysisは敗血症末期の合併症ではなく早期から認められ重症化の原因である可能性がある。

2)敗血症性ショックの治療としての血液浄化療法(吸着療法;PMX-DHPと血液濾過透析;HDFを組み合わせたcombination therapy)の可能性について。

PMX-DHPはエンドトキシン吸着法として広く普及しているが活性化した好中球や血小板をも吸着する作用があると報告されている。また血液濾過透析は種々のサイトカインを強力に除去する効果が期待されており、我々はサイトカイン除去及び免疫細胞除去効果を目的にこれらを組み合わせたcombination therapyを敗血症性ショックの患者に行ってきた。その治療の有効性を報告する。

従来の治療に加えcombination therapyを適応した敗血症性ショック患者28例の成績を示す。28例の平均APACHE II/SOFA score;22.4±7.1/12.6±3.7点でICU入室期間9.4±5.6日であった。予測死亡率は、約40%であり、同程度の重症度で報告されている死亡率でも30%程度であるが、我々は2例の死亡のみであり(救命率93%)非常に良好な成績であった。血液浄化法にはサイトカイン除去による免疫賦活効果も期待されており、combination therapyと免疫不全の改善について現在解析・検討中である。

3)骨髄造血幹細胞の輸注による免疫賦活効果については、現在進行形で検討中であり結果は得ていないが、1)の結果で示したように免疫不全状態が敗血症重症化の原因である可能性があり、重症化する敗血症への治療法として移植療法は新しい免疫賦活療法として有効となると期待している。

## 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 7 件)

1. Increased PD-1 Expression and Altered T Cell Repertoire Diversity Predict Mortality in Patients with Septic Shock: A Preliminary Study.

Tomino A, Tsuda M, Aoki R, Kajita Y, Hashiba M, Terajima T, Kano H, Takeyama N.

PLoS One. 2017 Jan 10;12(1):e0169653. doi: 10.1371/journal.pone.0169653.

eCollection 2017.

PMID: 28072859 査読あり

2. Clostridium Perfringens Infection in a Febrile Patient with Severe Hemolytic Anemia.

Hashiba M, Tomino A, Takenaka N, Hattori T, Kano H, Tsuda M, Takeyama N.

Am J Case Rep. 2016 Apr 6;17:219-23.

PMID: 27049736 査読あり

3. 超高齢者に対する救命救急医療・集中治療の現状

服部 友紀, 宮部 浩道, 富野 敦稔, 波柴 尉充, 加納 秀紀, 平川 昭彦, 武山 直志

日本救命医療学会雑誌 29巻

p19-25(2015.09) 査読あり

4. 敗血症性ショック患者におけるT細胞機能障害

武山 直志, 富野 敦稔, 波柴 尉充, 安藤 雅規, 後長 孝佳, 宮部 浩道, 津田 雅庸, 服部 友紀, 加納 秀記, 平川 昭彦

Shock: 日本Shock学会雑誌 29巻2号

p9-12(2015.02) 査読あり

5. Neutrophil extracellular traps in patients with sepsis.

Hashiba M, Huq A, Tomino A, Hirakawa A, Hattori T, Miyabe H, Tsuda M, Takeyama N.

J Surg Res. 2015 Mar;194(1):248-54. doi: 10.1016/j.jss.2014.09.033. Epub 2014 Sep 30.

PMID: 25438956 査読あり

6. Successful treatment of septic shock due to New Delhi metallo-β

-lactamase-1-producing Klebsiella pneumoniae in a patient transferred from India to Japan.

Kano H, Hirakawa A, Miyabe H, Hattori T, Mikamo H, Yoshida S, Takeyama N.

Acute Med Surg. 2014 Apr 23;1(3):181-185. doi: 10.1002/ams2.36. eCollection 2014 Jul.

PMID: 29930844 査読あり

7. ASIC2 subunits facilitate expression at the cell surface and confer regulation by PSD-95.

Harding AM, Kusama N, Hattori T, Gautam M, Benson CJ.

PLoS One. 2014 Apr 3;9(4):e93797. doi: 10.1371/journal.pone.0093797.

eCollection 2014.

PMID: 24699665 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

1. Plasma myeloperoxidase conjugated-DNA level as predictors of outcome and organ dysfunction in septic shock patients:

possible therapeutic effect of hemoperfusion with a polymyxin B immobilized fiber column

Naoshi Takeyama

38th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine 2018

2. Five cases of caffeine intoxication due to taking more than the lethal dose

Tomonori Hattori

9th Asian Conference on emergency Medicine 2017

3. The novel therapeutic strategy for

septic shock, to remove activated immunocytes simultaneously with excessive inflammatory mediators, by performing Direct Hemoperfusion with Polymyxin B-immobilized fiber column (PMX-DHP) combined with High-flow Hemodiafiltration (hf-HDF)

Tomonori Hattori

European Society of Intensive Care Medicine in EUROASIA 2017 2017

4. A fatal case of septic shock with liver abscess and intravascular hemolysis caused by Clostridium perfringens type A

Tomonori Hattori

8th Asian Conference on emergency Medicine 2015

5. 当院救命ICUにおける血液浄化療法の現状  
服部友紀

第42回日本集中治療医学会総会・学術集会 2015

6. PMMA-HDFとPMX-DHPを併用施行した敗血症性ショックの治療戦略

服部友紀

第42回日本救急医学会総会・学術集会 2014  
〔図書〕(計1件)

1. 高齢者の救急医療は適正に行われているか  
救命救急センターにおける超高齢患者の重症例に対する治療現状と予後改善

服部友紀

メディカル朝日 45巻3号 p30-31 (2016.03)

〔産業財産権〕

なし

○出願状況 (計 0 件)

なし

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

服部 友紀 ( HATTORI, Tomonori )

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90363936

### (2) 研究分担者

武山 直志 ( TAKEYAMA, Naoshi )

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：00155053

秦 龍二 ( HATA, Ryuji )

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号：90258153

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

なし