

令和元年6月13日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17071

研究課題名(和文)敗血症をはじめとする重症患者に対する免疫制御血液浄化システムの開発

研究課題名(英文)Immunomodulating blood purification system for sepsis

研究代表者

原 嘉孝 (HARA, Yoshitaka)

藤田医科大学・医学部・助教

研究者番号：30596812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：敗血症など活性化顆粒球が深く関わる病態に対する新しい治療法として、我々は顆粒球除去カラムであるアダカラムとサイトカイン吸着膜を組み合わせた免疫制御血液浄化システムの構築に取り組んでいる。本研究において、ブタ敗血症モデルを用いて次の結果を得ることができた。アダカラム通過によるサイトカイン産生は認められなかった。ブタにLPSを投与すると好中球の貪食能、接着能は亢進したが好中球数は減少した。その後動員される好中球は貪食能、接着能が低いことが判明した。以上のことから、敗血症に対するアダカラムの臨床使用は、サイトカイン産生をそれほど惹起することなく施行できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、生体ブタを用いたin vivoにおける免疫制御血液浄化システムの安全性を確認することができた。本邦においては、これまで「感染症を合併した患者及び合併が疑われる患者」並びに「顆粒球数2000/mm³以下の患者」に対してのアダカラムの使用は禁忌であったが、2018年5月、上記患者に対する使用が禁忌の項から外された。以上のことより、敗血症を初めとする重症病態の治療法として、免疫制御血液浄化システムの臨床応用への可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：We are working on the development of the immunomodulating blood purification system which combined the Adacolumn which is a granulocyte removal column and the cytokine adsorption membrane, as a novel treatment for the pathological condition in which activated granulocytes are deeply involved such as sepsis. In this study, we were able to obtain the following results using a pig sepsis model. Cytokine production by passage through the Adacolumn was not observed. Administration of LPS to pigs enhanced the phagocytic ability and adhesion ability of neutrophils and decreased the number of neutrophils. It was found that neutrophils subsequently mobilized had poor phagocytic ability and adhesion ability. In conclusion, it was suggested that clinical use of Adacolumn for sepsis can be performed without causing much cytokine production.

研究分野：集中治療医学

キーワード：活性化顆粒球 敗血症 臓器障害 免疫制御血液浄化システム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

敗血症、外傷、大手術などの重症病態では、炎症と凝固・線溶のクロストークが生じる。これまで、過剰な炎症のコントロールを目的とした治療法は国内外において広く行われてきた。われわれもサイトカインをはじめとするメディエータ制御を目的に血液浄化療法を施行し、有効性を報告してきた。しかしながら、この血液浄化療法では限界があるため、活性化顆粒球をターゲットとした新しい血液浄化システム（免疫制御血液浄化システム）の開発に取り組むに至った。この新システムが開発されれば、敗血症だけでなく、外傷、大手術など高度侵襲を伴うさまざまな重症病態に応用できる可能性がある。

<引用文献>

1) Nishida O, Nakamura T, Kuriyama N, Hara Y, Yumoto M, Shimomura Y, Moriyama K. Sustained high-efficiency daily diafiltration using a mediator-adsorbing membrane in the treatment of patients with severe sepsis. *Contrib Nephrol.* 2011;173:172-181.

2) Hara Y, Yamashita C, Shimomura Y, Kato Y, Moriyama K, Nakamura T, Miyasho T, Kuriyama N, Sakai T, Nishida O The Novel Blood Purification System for Regulating Excessive Immune Reactions in Severe Sepsis and Septic Shock: an ex vivo pilot study. *Ther Apher Dial.* 2015;19(4):308-315

2. 研究の目的

われわれは活性化した顆粒球や単球を制御するデバイスとして、顆粒球・単球吸着カラムであるアダカラム（JIMRO 株式会社、群馬）に注目した。アダカラムは潰瘍性大腸炎やクローン病などの慢性炎症性腸疾患に対し保険適応がある。急性か慢性かの違いはあるものの、その病態は類似しており、敗血症など高度侵襲時においても効果を期待できるのではないかと考えた。われわれは、ブタ新鮮血を用いた ex vivo の研究を行い基礎的な結果を報告している。一次カラムとしてアダカラム、二次カラムとしてメディエータ吸着膜である AN69ST を用いた。アダカラム通過後には IL-6 などサイトカインの上昇が認められたが、AN69ST 通過後にはサイトカインの上昇を抑えることができた。顆粒球の貪食能、接着能について検討したが、いずれも時間経過とともに低下を認めた。ex vivo での結果を受け、臨床応用に向けて生体ブタを用いて in vivo におけるシステムを確立することを目標とする。

3. 研究の方法

最終的には敗血症だけでなく、外傷、大手術など高度侵襲を伴うさまざまな重症病態に応用できると考えられるが、本研究の目標は、敗血症モデルブタにおける免疫制御血液浄化システムを確立することである。われわれは、これまでにブタ新鮮血を用いた ex vivo の研究を行い基礎的な結果を報告している。その成果を踏まえ、本研究では、生体ブタを用いた敗血症モデルで免疫制御血液浄化システムの確立に向けて以下の4つの方法で検証する。

(1) 敗血症モデルブタの確立

Lipopolysaccharide (LPS) をブタに投与し、敗血症モデルブタを作成する。

(2) 免疫制御血液浄化システム施行中の血液流量の違いによる血球吸着能の変化

異なる血液流量で、好中球の除去効率が最大化する血液流量を検討する。

(3) LPS 投与敗血症モデルブタでのアダカラム通過後のサイトカイン濃度変化の検討

アダカラム入口、アダカラム出口、空カラム出口の3か所から血液サンプルを採取し、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-10、IL-1 β を時間経過毎に評価する。

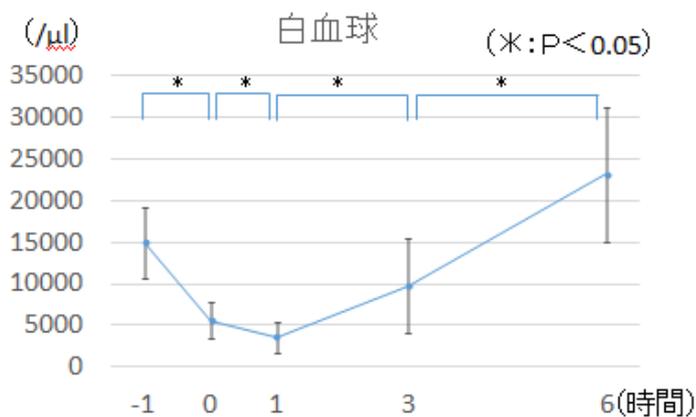
(4) 免疫制御血液浄化システムの顆粒球貪食能と接着能の評価

回路内の、アダカラム通過前から血液サンプルを採取し、フローサイトメトリーにより時間経過毎に評価する。

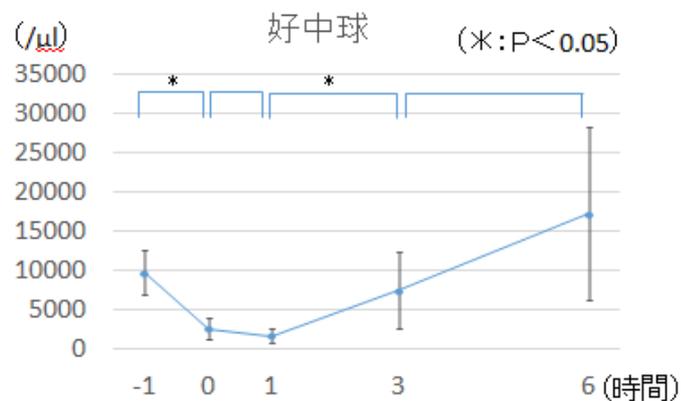
4. 研究成果

(1) Lipopolysaccharide (LPS) を前日に筋注し当日麻酔下で静脈投与を行った。LPS 投与により白血球数・好中球数は減少したのち、増加した（図1、図2）。好中球の減少はLPSによる末梢への遊走、その後の好中球の増加は末梢プールからの動員と考えられる。

(図 1)



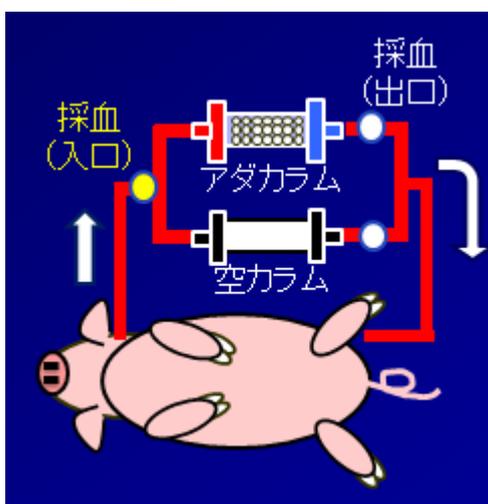
(図 2)



(2) 免疫制御血液浄化システムにおいて、異なる血液流量(Qb)で、好中球の除去効率が最大化する Qb を検討した。結果は、好中球の吸着率は Qb 増加で低下し、クリアランスは Qb が 60ml/min の時に最大となった。Qb が大きいと吸着反応が低下すると考えられた。単球のクリアランスは Qb 増加につれて増大した。個体数が少なく白血球数のばらつきが大きいいため、解釈には慎重を要するが、好中球の除去効率が最大化する Qb は 30-60ml/min 程度であると考えられた。

(3) 血液浄化開始 30、60、90、120 分後にアダカラム入口、アダカラム出口、空カラム出口の 3 か所から採血し (図 3)、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-10、IL-1 を ELISA で測定した。

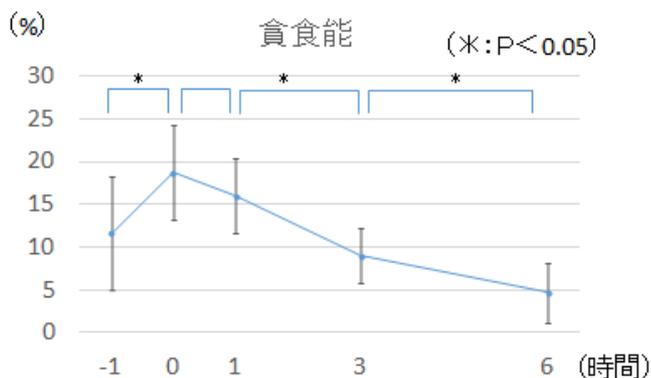
【 図 3 】



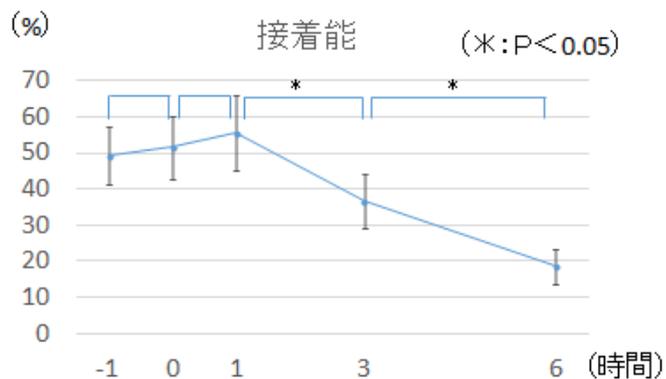
アダカラムと空カラムでの変化率はそれぞれ、TNF- α : 92(80-99)% vs 101(94-110)%、IL-6 : 91(86-97)% vs 95(87-106)%、IL-8 : 83(55-95)% vs 73(63-103)%、IL-10 : 99(95-102)% vs 98(92-100)%であった。IL-1 はほとんど検出限界以下であった。n数が少なく評価には慎重を要するが、アダカラム通過によるサイトカイン産生は認めなかった。

(4) 免疫制御血液浄化システムにおける顆粒球の貪食能と接着能をフローサイトで測定した。採血は、血液浄化開始-1、0、1、3、6 時間に行った。LPS 投与開始 1 時間後 (0 時間) に血液浄化を開始した。

【 図 4 】



【 図 5 】



LPS 刺激により、好中球の貪食能が増加した(図4)。同様に、接着能の活性も増加した(図5)。白血球数・好中球数と貪食能・接着能の経時的な推移は逆相関を示した。これは新たに動員された好中球の活性が低かったためと考えられる。以上より、活性化好中球が消費された後、新たに動員される好中球は活性化されていない可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 20 件)

- 1) Kondo Y, Umemura Y, Hayashida K, Hara Y, Aihara M and Yamakawa K. Diagnostic value of procalcitonin and presepsin for sepsis in critically ill adult patients: a systematic review and meta-analysis. J Intensive Care, 2019;7:22 Doi.org/10.1186/s40560-019-0374-4
- 2) Nishida O, Ogura H, Egi M et al. (Hara Y, 21st author, and Yamashita C, 69th author among 73 authors) The Japanese Clinical Practice Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2016 (J-SSCG 2016). J Intensive Care 2018; 6:7. DOI 10.1186/s40560-017-0270-8
- 3) Nishida O, Ogura H, Egi M et al. (Hara Y, 21st author, and Yamashita C, 69th author among 73 authors) The Japanese Clinical Practice Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2016 (J-SSCG 2016). Acute Med Surg 2018;5:3-89. DOI: 10.1002/ams2.322
- 4) Kawaji T, Sakai T, Moriyama K, Hara Y, Nakamura T, Kuriyama N, Shimomura Y, Kato Y, Komura H, Yamashita C, Kurimoto Y, Hasegawa D, Nishida O. Influence of Blood Purification and Differential Injection Sites of Cold Saline on Transpulmonary Thermodilution Values. Ther Apher Dial 2018;22:290-4 DOI 10.1111/1744-9987.12696
- 5) Muramatsu K, Matsuo K, Kawai Y, Yamamoto T, Hara Y, Shimomura Y, Yamashita C, Nishida O. Comparison of wiping and rinsing techniques after oral care procedures in critically ill patients during endotracheal intubation and after extubation: A prospective cross-over trial. Jpn J Nurs Sci. 2018 DOI:10.1111/jjns.12217.
- 6) Yamashita C, Moriyama K, Hasegawa D, Hara Y, Kuriyama N, Nakamura T, Shibata J, Komura K, Nishida O. Evidence and perspectives on the use of polymyxin B-immobilized fiber column hemoperfusion among critically III patients Contrib Nephrol 2018;196:215-22. DOI 10.1159/000485725
- 7) Hayashida K, Kondo Y, Hara Y, et al. Head-to-head comparison of procalcitonin and presepsin for the diagnosis of sepsis in critically ill adult patients: a protocol for a systematic review and meta-analysis. BMJ Open 2017;7: e014305.
- 8) Nagata M, Shimomura Y, Hara Y, Nakamura T, Hayakawa S, Komura H, Shibata J, Yamashita C, Nishida O. A devised strategy for tracheal extubation for predicted difficult airway child with unilateral vocal cord paralysis: a case report. JA Clinical Reports 2017;3:21. DOI 10.1186/s40981-017-0091-8.
- 9) Hara Y, Nishida O, Tsubouchi H, Nakamura T, Kuriyama N, Niimi D, Yamashita C, Shibata J, Komura H. Veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation using the open lung approach for ventilatory support in a case of severe acute respiratory distress syndrome: case report. M J Anes 2017; 1 : 008.
- 10) Inokuchi R, Hara Y, Yasuda H, Itami N, Terada Y, Doi K. Differences in characteristics and outcomes between community- and hospital-acquired acute kidney injury: A systematic review and meta-analysis. Clin Nephrol. 2017. DOI 10.5414/CN109011.
- 11) 山下千鶴, 森山和広, 長谷川大祐, 原嘉孝, 西田修. 腹部感染症に対する PMX-DHP 長時間施行の安全性の検討. 日外感染症会誌 2018;15:216-20.
- 12) 柴田純平, 山下千鶴, 幸村英文, 下村泰代, 中村智之, 栗山直英, 原嘉孝, 新居憲, 早川聖子, 河田耕太郎, 内山壮太, 前田舞, 小松聖史, 柳明男, 福島美奈子, 川治崇泰, 勝田賢, 古賀恵里, 竹田彩香, 山添泰佳, 若子尚子, 中村藍, 栗本恭好, 笠井美奈, 樋上拓哉, 鷲見弘文, 小川慧, 永田麻里子, 長谷川大祐, 塩沢剣, 西田修. 酸素投与は“敵”か“味方”か. 臨麻, 2018;42:593-600
- 13) 栗本恭好, 原嘉孝, 川治崇泰, 早川聖子, 中村智之, 幸村英文, 山下千鶴, 柴田純平, 西田修. Nafamostat mesilate 投与方法の違いにより AN69ST 膜ヘモフィルターを用いた持続血液濾過のライフタイムは異なるか. 日急性血浄化会誌 2017;8:48-53
- 14) 原嘉孝, 西田修. 集中治療における血液浄化のあらたな知見. 医のあゆみ 2017;261:729-33.
- 15) 原嘉孝, 西田修. 感染症の診断・バイオマーカーについて. 救急医 2017;41:1449-55.
- 16) 原嘉孝, 西田修. 日本版敗血症診療ガイドライン 2016; ダイジェスト「感染に対する初期治療」. 日臨麻会誌 2017;37:811-20.

- 17) 山下千鶴, 西田修, 原嘉孝, 栗山直英, 中村智之, 柴田純平, 幸村英文, 森山和広. エンドトキシン吸着療法のエビデンスと最新の知見日急性血浄化会誌 2017;8:113-7.
- 18) 新美太祐, 秋山正慶, 原嘉孝, 中村智之, 栗山直英, 山下千鶴, 柴田純平, 西田修. 異なる脱血管の口径と留置部位でVV-ECMO(veno venous extracorporeal membrane oxygenation)管理した肺腎同時移植後のARDS(acute respiratory distress syndrome)の2症例. 日集中医誌 2017;24:37-8.
- 19) 柳明男, 原嘉孝, 内山壮太, 前田隆求, 小松聖史, 早川聖子, 柴田純平, 西田修. 小児溶血性尿毒症症候群の3例: 血漿交換療法の有無による検討. 日集中医誌 2017;24:412-6.
- 20) 永田麻里子, 原嘉孝, 柴田純平, 栗山直英, 中村智之, 幸村英文, 内山壮太, 西田修. 超長時間肝臓手術における術後肝不全予測因子の後ろ向き検討. 体液代謝管理 2017;33:21-6.

〔学会発表〕(計 22 件)

- 1) Hasegawa D, Kuriyama N, Hara Y, Shimomura Y, Nakamura T, Shibata J, Moriyama K, Komura H, Nishida O. The Impact of Blood Type O on Mortality of Septic Patients: A Retrospective Observational Study. Society of Critical Care Medicine 48th Critical Care Congress, February 18, 2019, San Diego Convention Center, San Diego, California, USA
- 2) Hara Y, Shimizu K, Kuriyama N, Nakamura T, Kurimoto Y, Yamashita C, Shibata J, Komura H, Nishida O. The selection criteria for blood purification as a mediator modulator in critical care: a single-center case-control study. 31th European Society of Intensive Care Medicine Annual Congress, October 23, 2018, Palais Des Congress
- 3) Nagata M, Hara Y, Kuriyama N, Nakamura T, Kawaji T, Hasegawa D, Yamashita C, Shibata J, Komura H, Nishida O. Operation time of 15 hours or more increases postoperative complications: a retrospective study on extra-long hepatectomy. 31th European Society of Intensive Care Medicine Annual Congress, October 24, 2018, Palais Des Congress, Paris
- 4) Hasegawa D, Hara Y, Nakamura T, Kuriyama N, Yamashita C, Shibata J, Komura H, Nishida O. Evaluation of the Sepsis Severity Classifications on ICU Admission as a Predictor of Mortality. Society of Critical Care Medicine 47th Critical Care Congress San Antonio Convention Center, USA, 2018
- 5) Katsuta K, Komura H, Hara Y, Kuriyama N, Nakamura T, Yamashita C, Shibata J, Nishida O. The use of fluoroscopy may contribute to safe pulmonary artery catheter insertion without prolonging general anesthesia induction time. 30th European Society of Intensive Care Medicine, Austria Center Vienna, Austria, 2017
- 6) Kawaji T, Hara Y, Kasai M, Ogawa A, Nakamura A, Hasegawa D, Kuriyama N, Shibata J, Komura H, Nishida O. Hematological Malignancy in Patients with Persistent Hyperlactatemia :A Report of Two Cases. The 17th Joint Scientific Congress of the KSCCM and JSICM. Sejong University Convention Center B2F, KOREA, 2017
- 7) Hinoue T, Kawaji T, Yoshitaka Hara, Ken Katsuta, Yasuyoshi Kurimoto, Akio Yanagi, Satoshi Komatsu, Seiko Hayakawa, Chizuru Yamashita, Osamu Nishida Successful Chemotherapy for Tumor Lysis Syndrome in 2 Cases with High-Efficiency Daily Diafiltration The 17th Joint Scientific Congress of the KSCCM and JSICM, 2017
- 8) Kurimoto Y, Hara Y, Kawaji T, Hinoue T, Komatsu S, Hayakawa S, Uchiyama S, Kuriyama N, Yamashita C, Nishida O. Influence of Nafamostat Mesilate Administration on the Lifetime of AN69ST-Continuous Hemofiltration The 17th Joint Scientific Congress of the KSCCM and JSICM, 2017
- 9) 原嘉孝, 幸村英文, 樋上拓哉, 鷲見弘文, 勝田賢, 秋山正慶, 早川聖子, 内山壮太, 森山和広, 西田修 ミオグロビン除去を目的とした血液浄化療法モダリティの評価 第46回日本集中治療医学会学術集会、一般演題(血液浄化 症例01)、2019年3月1日、国立京都国際会館、京都
- 10) 清水弘太, 原嘉孝, 勝田賢, 柳明男, 早川聖子, 河田耕太郎, 内山壮太, 中村智之, 石川隆志, 西田修 当院 ICU におけるメディエータ制御を目的とした血液浄化療法のモダリティ選択の後方視的検討 第45回日本集中治療医学会学術集会、一般演題(血液浄化3(敗血症))、2018年2月21日、ホテル ザ・マンハッタン、東京
- 11) 原嘉孝, 西田修 日本版敗血症診療ガイドライン 2016(J-SSCG2016)の作成過程と SSCG2016との比較 日本麻酔科学会第65回学術集会、シンポジウム13、2018年5月18日、パシフィコ横浜、横浜
- 12) 原嘉孝, 西田修 ECMO の中に open lung strategy は必要でない 第40回日本呼吸療法医学会学術集会、Pro-Con1、2018年8月4日、東京ドームホテル、東京
- 13) 原嘉孝, 小川慧, 柳明男, 笠井美奈, 永田麻里子, 中村智之, 幸村英文, 西田修 極度の低栄養を伴う Anorexia nervosa 患者の Septic shock・ARDS に対する ECMO と全身管理 第40回日本呼吸療法医学会学術集会、シンポジウム3、2018年8月4日、東京ドームホテル、

東京

- 14) 原嘉孝、森山和広、加藤由布、栗本恭好、長谷川大祐、下村泰代、西田修 免疫制御血液浄化システムの臨床応用に向けての取り組み 第29回日本急性血液浄化学会学術集会、シンポジウム2、2018年10月19日、ウインク愛知、名古屋
 - 15) 川治崇泰、原嘉孝、加藤由布、原田達彦、栗本恭好、長谷川大祐、下村泰代、西田修 血液浄化施行時の心拍出量測定値(経肺熱希釈法)低下は返血温度の低下が原因であった! 第29回日本急性血液浄化学会学術集会、Best Presentation Award、2018年10月19日、ウインクあいち、名古屋
- Best Presentation Award 受賞**
- 16) 樋上拓哉、原嘉孝、小川慧、長谷川大祐、堤啓彰、永田麻里子、栗山直英、幸村英文、森山和広、西田修 間歇的高効率血液浄化療法によるミオグロビンクリアランス 第29回日本急性血液浄化学会学術集会、Best Presentation Award、2018年10月19日、ウインクあいち、名古屋
 - 17) 原嘉孝、栗山直英、中村智之、山下千鶴、柴田純平、幸村英文、森山和広、西田修 AN69STヘモフィルターの可能性を探る 第39回日本アフェレシス学会学術集会、シンポジウム3、2018年10月26日、岡山コンベンションセンター、岡山
 - 18) 原嘉孝、小川慧、柳明男、中村智之、早川聖子、栗山直英、幸村英文、西田修病態およびリハビリテーションに応じた栄養療法～ECMO管理を要した極度低栄養症例～ 第33回日本救命医療学会総会・学術集会、一般演題(ECMO)、2018年9月22日、山梨大学甲府キャンパス、山梨
 - 19) 原嘉孝、森山和広、酒井俊和、加藤由布、勝田賢、磯部恵里、竹田彩香、山添泰佳、中村藍、柳明男、小松聖史、河田耕太郎、下村泰代、西田修 重症病態における顆粒球除去カラムの可能性～我々の知見および海外の動向を含めて～ 第28回日本急性血液浄化学会学術集会、ワークショップ2、2017年9月23日、ラフレさいたま、埼玉
 - 20) 原嘉孝、西田修 日本版敗血症診療ガイドライン2016はSSCG2016よりも実用的である 第45回日本救急医学会総会・学術集会、Pros&Cons9、2017年10月25日、リーガロイヤルホテル大阪、大阪
 - 21) 酒井俊和、森山和広、原嘉孝、下村泰代、加藤由布、川治崇泰、栗本恭好、長谷川大祐、西田修敗血症モデルブタにおける顆粒球除去カラム通過時のサイトカイン濃度の変化 第55回日本人工臓器学会大会、一般演題(その他2)、2017年9月2日、法政大学、東京
 - 22) 原嘉孝、西田修、小倉裕司、井上茂亮、射場敏明、今泉均、江木盛時、垣花泰之、久志本茂樹、小谷穰治、貞広智仁、志馬伸朗、中川聡、中田孝明、布宮伸、林淑朗、藤島清太郎、升田好樹、松田直之、松嶋麻子、織田成人、田中裕 J-SSCG vs SSCG(定義、感染の診断、画像診断、感染巣のコントロール、抗菌薬療法、IVIIG、ステロイド、人工呼吸) 日本集中治療医学会第1回東海北陸支部学術集会、ガイドラインを読み解く3(シンポジウム)、2017年6月24日、ウインクあいち、名古屋

〔図書〕(計 4 件)

- 1) 原嘉孝、西田修．長期予後の改善を見据えて．Intensivist2018;10:129-40.
河合佑亮、中村智之、西田修．Awake ECMO．飯田有輝編．早期リハビリテーションの実践．東京：メジカルビュー社；2018．p. 176-195.
- 2) 原嘉孝、西田修.日本版敗血症診療ガイドライン 2016. 佐藤枢編. 診療ガイドライン選集 2018.東京：株式会社へるす出版； 2018. p. 1243-1250.
- 3) 原嘉孝、西田修．急性肝不全．高崎真弓他編．麻酔偶発症例 AtoZ．東京：文光堂；2017．p. 128-130.
- 4) 原嘉孝(ワーキンググループ)西田修編．日本版敗血症診療ガイドライン 2016(J-SSCG2016)ダイジェスト版．東京：真興交易株式会社；2017.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://fujita-accm.jp/>