

論文の内容の要旨

1. 目的

敗血症は、感染を伴った全身性炎症反応症候群と定義される。敗血症の急性期では、過剰炎症反応からの循環不全と多臓器不全が死亡の原因となる。一方、急性期以降における死亡例の病態には、適切な免疫応答を惹起しえない免疫機能不全状態(immunoparalysis)や不可逆性の臓器機能不全状態が関与している。重症敗血症患者の救命率改善には、この免疫不全の病態解析とその対策が肝要となる。

グラム陰性菌の外膜であるエンドトキシンと強固に結合する特性をもつ抗菌薬であるポリミキシン B を、不溶性の繊維に結合させた血液吸着カラムを用いた血液浄化法として、エンドトキシン吸着療法(polymyxin B-immobilized fiber column direct hemoperfusion therapy: PMX-DHP)が臨床では行われている。PMX-DHP は、グラム陽性菌やインフルエンザ、間質性肺炎などにも効果があり、エンドトキシンを吸着する機序では説明できない作用を有するとされる。

本研究では、敗血症の免疫機能不全の評価、および敗血症症例に対する PMX-DHP の有用性について、敗血症症例の末梢血単核球(PBMCs)に着目し、基礎的・臨床的に検討し、さらにラット敗血症モデルに対し PMX-DHP を施行し、血中免疫担当細胞の免疫機能の評価を行うとともに、PMX-DHP による臓器障害の改善やアポトーシスとの関連について検証する。

2. 対象並びに方法

- (1) 敗血症症例における CD4⁺T 細胞や抑制性 T 細胞(Treg)、血中サイトカインを測定し、immunoparalysis の状態を評価した。また、PBMCs のサイトカイン産生能を重症度別に比較した。
- (2) PMX-DHP を施行し、その前後での臨床的效果に加え、血中のサイトカイン濃度や末梢血免疫担当細胞のサイトカイン産生能を測定し、PMX-DHP の臨床的有効性を検討した。
- (3) 小動物用 PMX-DHP ミニカラム膜を用いて、敗血症症例の PBMCs をポリミキシン B と接触させることによる効果について検討した。
- (4) PMX-DHP による immunoparalysis の改善効果が生体に及ぼす効果について明らかにするため、ラットの敗血症モデルを用いて末梢血、肝臓・肺での細菌のクリアランス、アポトーシス細胞への影響を検討した。

3. 成績

- (1) 敗血症における免疫能は、CD4⁺T 細胞における Treg の割合の増加や、NK 細胞の Interferon(IFN)- γ 産生能の低下から、敗血症の重症度が増すにつれ、immunoparalysis が進行することが示唆された。
- (2) 重症敗血症症例に対して PMX-DHP を施行すると、PBMCs のサイトカイン産生能が回復し、循環動態や呼吸状態が有意に改善した。特に、NK 細胞の IFN- γ 産生能改善は、PMX-DHP 直後に回復した。

- (3) PMX 膜に固定化されたポリミキシン B 自体が、NK 細胞の IFN- γ 産生能改善に寄与している可能性が示された。
- (4) ラット敗血症モデル実験により、PMX-DHP を施行すると、血液中の菌クリアランスや PBMCs の IFN- γ 産生能の改善を認めた。肝臓での大腸菌クリアランスは有意に改善し、肝組織中の IFN- γ 濃度は有意に上昇した。また、肝単核球のアポトーシス抑制の可能性が示唆された。

4. 考察

重症敗血症では、CD4+T 細胞における Treg の割合の増加や、NK 細胞の IFN- γ 産生能の低下を認め、細胞性・液性免疫の低下が示唆された。また、血中 Interleukin(IL)-6 および IL-10 濃度の高値から、immunoparalysisにあることが示された。よって、immunoparalysis の病態は免疫機能に重要な CD4+T 細胞数や IFN- γ 産生能の著明な減少、さらには免疫抑制に働く Treg や抗炎症性サイトカインである IL-10 の著明な増加によるものと考えられた。重症敗血症治療の一つである PMX-DHP は、臨床的に循環動態や肺酸素化能を改善し、末梢血 Treg 細胞、血中 IL-10 濃度を減少させ、NK 細胞の IFN- γ 産生能を改善した。このことから、PMX-DHP は immunoparalysis からの回復に大きく寄与していることが推定された。

その機序に関しては、PMX-DHP の膜に固定化されている抗生剤であるポリミキシン B 自体が NK 細胞と直接接することにより、IFN- γ 産生能の改善に寄与していることが明らかになった。したがって、PMX-DHP は免疫不全対策として極めて合目的的で重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

さらにラット敗血症モデル実験により、大腸菌のクリアランスは血液中のみならず、肝臓でも有意に改善した。また、肝組織中および肺組織中の IFN- γ 濃度の増加や肝単核球のアポトーシス抑制作用を認めた。IFN- γ は NK 細胞や CD4+T 細胞から産生され、また、マクロファージは IFN- γ 受容体を発現し、IFN- γ の刺激で細菌感染時の殺菌活性やウイルス感染時の抗ウイルス効果などを発揮することから、PMX-DHP は肝臓の免疫機能の改善に寄与している可能性が示唆された。

5. 結論

敗血症患者では重症度に合わせ、immunoparalysis の状態悪化が示唆されたが、PMX-DHP は、臨床的に循環動態や肺酸素化能を改善するだけでなく、immunoparalysis からの回復に大きく寄与していることが推定された。その機序は、PMX-DHP の膜に固定化されているポリミキシン B 自体が NK 細胞と直接接することによるが明らかになった。さらにラット敗血症モデル実験により、大腸菌のクリアランスは血液中のみならず、肝臓でも有意に改善した。肝組織中の IFN- γ 濃度の増加や肝単核球のアポトーシス抑制作用を認め、PMX-DHP は肝臓の免疫機能の改善にも寄与している可能性が示唆された。