

Effects of treatment with direct hemoperfusion using a new cytokine adsorbent to septic shock

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-04-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Taniguchi, Takumi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00050622

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



開発したサイトカイン吸着カラムを利用した 敗血症性ショックの制御

(研究課題番号：18591980)

平成18年度～平成19年度科学研究費補助金(基盤研究(C))
研究成果報告書

平成20年3月

金沢大学附属図書館



1300-04684-8

著者 谷口 巧
学院医学系研究科 准教授)

研究課題名

開発したサイトカイン吸着カラムを利用した敗血症性ショックの制御

平成 18 年度～平成 19 年度科学研究費補助金、基盤研究(C)

研究課題番号 18591980

研究組織

研究代表者 谷口 巧 (金沢大学大学院医学系研究科 准教授)

協力研究者 竹本安宏 (東大和病院 医師)

津田和信 (共済組合横浜栄病院 医師)

金倉寛子 (金沢大学大学院医学系研究科 研究員)

交付決定額 (配分額)

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 18 年度	1,700 千円	0 千円	1,700 千円
平成 19 年度	1,800 千円	540 千円	2,340 千円
総計	3,500 千円	540 千円	4,040 千円

金沢大学附属図書館



1300-04684-8

研究発表

1) 雑誌論文

1. Takumi Taniguchi, F Hirai, Y Takemoto, K Tsuda, K Yamamoto, H Sakurai, S Furuyoshi, N Tani: A novel adsorbent of circulating bacterial toxins and cytokines; the effect of direct hemoperfusion with CTR column for the treatment of experimental endotoxemia. Crit Care Med, 2006; 34: 800-806
2. Takumi Taniguchi, Y Takemoto, K Tsuda, H Inaba, K Yamamoto: Effects of posttreatment with direct hemoperfusion using a CTR column on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. Blood Purif 2006; 24:460-464
3. Takumi Taniguchi, A Kurita, C Mukawa, K Yamamoto, H Inaba: Dose-related effects of direct hemoperfusion using a cytokine adsorbent column for the treatment of experimental endotoxemia. Intensive Care Med 2007;33:539-544
4. H Kanakura, Takumi Taniguchi: The antiinflammatory effects of propofol in endotoxemic rats during moderate and mild hypothermia. J Anesth 2007; 21: 354-360

2) 学会発表

1. 谷口 巧、稲葉英夫、竹本安宏、津田和信、山本 健: エンドトキシンショックモデルに対するサイトカイン吸着カラム(CTR-001)の効果—第2報. 第33回日本集中治療医学会総会. 2006年3月3日

2. Takumi Taniguchi, H Inaba: Effects of a novel adsorbent, CTR, on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. The 6th World Congress of International Society for Apheresis (シンポジスト). March 4, 2007
3. 谷口 巧、稲葉英夫: エンドトキシンショックモデルに対するサイトカイン吸着カラム (CTR-001) の量的効果. 第 22 回日本ショック学会総会 (シンポジスト). 2007 年 5 月 11 日
4. 谷口 巧、稲葉英夫: エンドトキシンショックモデルに対するサイトカイン吸着カラム (CTR-001) の効果. 第 18 回日本血液浄化学会総会 (シンポジスト). 2007 年 10 月 5 日

研究成果として

A novel adsorbent of circulating bacterial toxins and cytokines; the effect of direct hemoperfusion with CTR column for the treatment of experimental endotoxemia. (Crit Care Med) の論文に対し、

第 34 回日本集中治療医学会 優秀論文賞受賞 (2007 年 3 月 2 日)

研究の目的と概要

救急, 集中治療医学領域において、敗血症、特に敗血症性ショックは未だに確固たる治療がなく、救命率も高くない現状である。また近年、敗血症の際に血液浄化療法(持続的血液濾過透析やエンドトキシン吸着療法など)の使用が注目され、血液浄化により敗血症が改善するという報告も散見されるようになった。しかしながら敗血症性ショックに対する種々のカラムを用いた血液浄化療法の有用性は未だに乏しく、生命予後を改善するまでに至っていない。

研究代表者は、炎症性サイトカイン等の mediator を吸着、除去できるカラムを開発した。そこで今回、ラットを用いたエンドトキシンショックモデルに対して新しいカラムを用いた血液浄化療法を行い、生命予後の改善を検討するとともに、サイトカイン等の mediator を指標として新しいカラムの有用性を検討する。

研究成果

本研究において以下の研究を行い、成果を得た。

- I. エンドトキシンショックモデルにおけるサイトカイン吸着カラムの有用性
- II. エンドトキシンショックモデルにおけるサイトカイン吸着カラムの時間的効果
- III. エンドトキシンショックモデルにおけるサイトカイン吸着カラムの量的効果
- IV. 低体温下でのエンドトキシンショックモデルにおけるプロポフォルの効果

一新しく開発したサイトカイン吸着カラムに関して一

サイトカイン吸着カラムは、(株)カネカが開発した新しいカラムであり、CTR-001 と呼んでいる。以後 CTR と呼ぶ。

CTRは表面にリガンドとして疎水性のアルキル鎖を持った、直径約460 μm の多孔性セルロースビーズを充填させたものである。Fig. 1 に電子顕微鏡写真を示す。

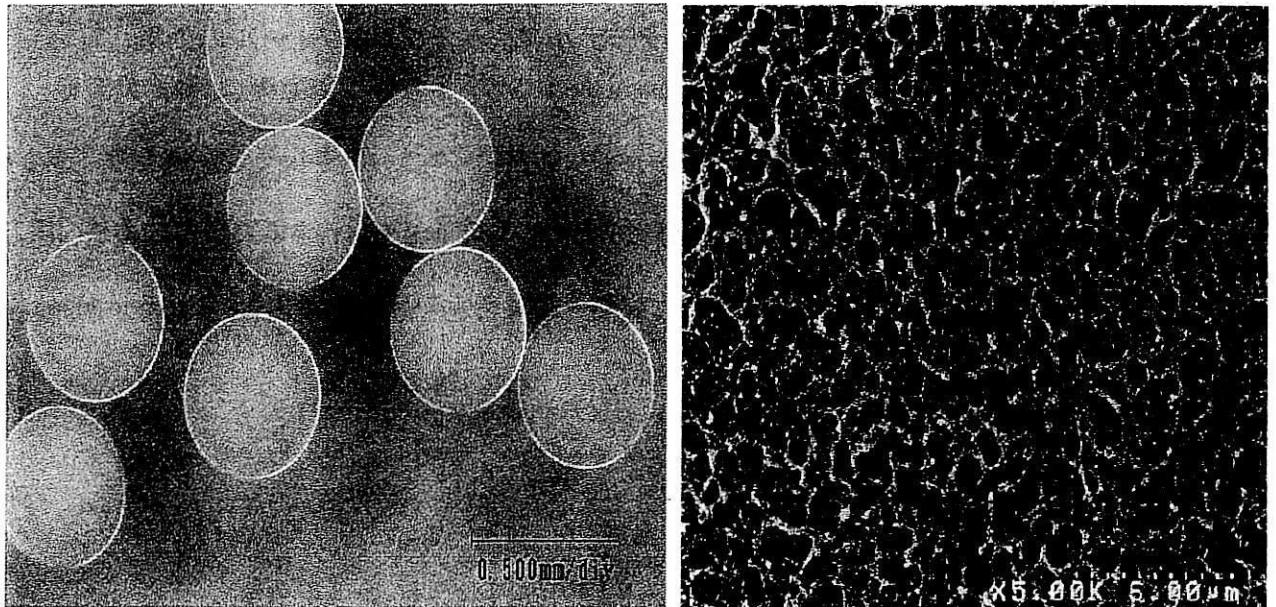


Fig. 1. CTR adsorbent as observed using digital microscopy and FE-SEM. The adsorbent beads were approximately 460 μm in diameter, and were highly porous.

CTR の *in vitro* でのサイトカイン吸着の性能は、Table1に示すごとく、分子量 15,000 から 50,000 のサイトカインを 53%から 98%吸着することが可能である。

Table 1. Adsorption characteristics of the CTR for cytokines.

Cytokines	Molecular weight	Concentration (pg/ml);N=3		Adsorption ratio (%)	P value
		CTR	Control		
IL-1beta	17,000	3.2 ± 1.6	137.6 ± 3.4	98	<0.001
IL-4	19,000	9.1 ± 1.0	249.4 ± 9.4	96	<0.001
IL-6	26,000	101.8 ± 8.8	520.5 ± 40.7	80	<0.001
IL-8	8,000 x 2	109.5 ± 19.6	555.4 ± 22.8	80	<0.001
IL-10	35,000	64.5 ± 5.5	404.5 ± 11.4	84	<0.001
TNF-alpha	17,400 x 3	340.7 ± 6.0	719.0 ± 25.1	53	<0.001

All data express mean ± SD.

さらに、CTR の in vitro でのアルブミン等の他の物質の吸着性能を Fig. 2 に示す。インスリン、ライソゾームが吸着されるほかは、ほとんど吸着しないことがわかる。

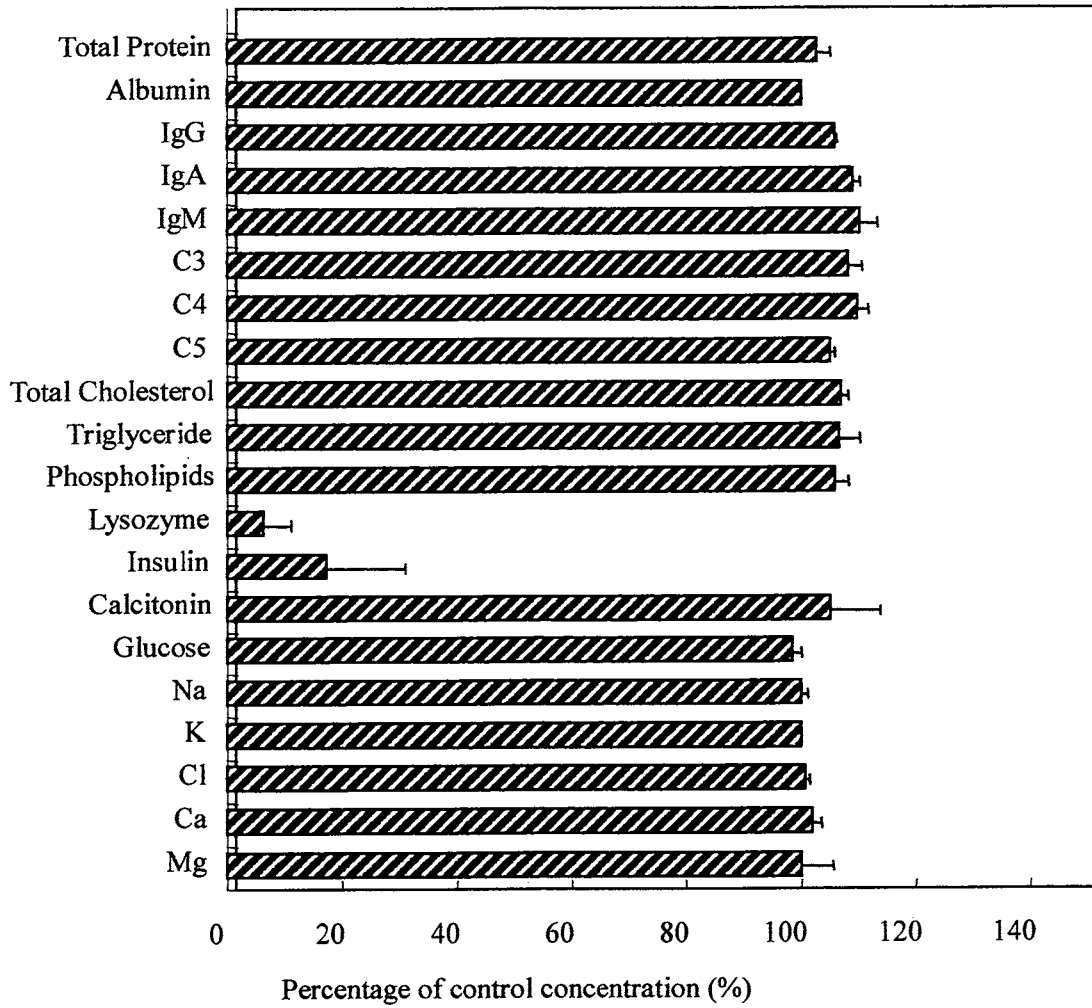


Fig. 2. Non-specific adsorption of human serum. The concentrations of major proteins, lipids and ions in the supernatant after incubation at 37°C for 2 hours were measured. Data are shown as the mean \pm SD, N=3.

I. エンドトキシンショックモデルにおけるサイトカイン吸着カラム(CTR)

の有用性

論文番号;1

研究目的

ラットのエンドトキシンショックモデルに対して新しく開発したサイトカイン吸着カラム(CTR)を用いた血液浄化療法の効果を検討する。

方法

42匹のWistar系ラットを用いた。ペントバルビタール 30mg/kgを腹腔内投与して全身麻酔を施行し、気管切開を行った。そのあと、大腿動、静脈にカテーテルを挿入し、大腿動脈からは実験中の循環動態の観察と採血を行い、大腿静脈からは輸液を施行した。さらに、もう一方の大腿動、静脈にもカテーテルを挿入し、血液浄化を行うルートとした。

循環、呼吸状態を安定させた後、無作為に以下の3群に分けた。(各群14匹)

1) エンドトキシン単独群 (Endotoxemic 群)

エンドトキシン 15mg/kg を 2 分間かけて投与した。

2) 空カラム治療群 (DHP alone 群)

エンドトキシン 15mg/kg を 2 分間かけて投与したのち、サイトカイン吸着体を充填させずに、空カラムだけで血液浄化を 2 時間施行した。

3) サイトカイン吸着カラム治療群 (CTR Treatment 群)。

エンドトキシン 15mg/kg を 2 分間かけて投与したのち、CTR を用いた血液浄化を 2 時間施行した。

血液浄化法は、流速 1.5ml/min、抗凝固として低分子ヘパリンを 200 単位/kg/hrを投与し

た。

エンドトキシン投与後の循環、呼吸状態の変動、血中サイトカイン(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10)濃度の変動、およびエンドトキシン投与後 8 時間での生存率を3群間で比較検討した。

さらに、エンドトキシン投与後 8 時間の時点で、ラットを犠牲死しさせ、両肺を組織学的検討するためにホルマリンで固定した。固定完了後、HE 染色にて肺組織標本を作製し、専門の病理学者に評価してもらった。なお、病理学者は実験内容に関しては一切説明していない。

すべての結果は平均±標準偏差で示し、統計に関しては、3群間の比較検討に関しては繰返しのある分散分析法を用いた。さらに、生存曲線に関しては、Kaplan Meier and the Mantel-Cox methods を用いた。p<0.05 で有意差ありと判定した。

結果

1. 循環動態および生存率に関して

循環動態の変化に関しては、エンドトキシン投与後、エンドトキシン単独群、空カラム治療群で血圧が低下し、エンドトキシン投与後6時間でショック状態に陥ったが、サイトカイン吸着カラム治療群では、血圧は安定しており、他の 2 群と比較して有意に高かった (Fig. 3)。

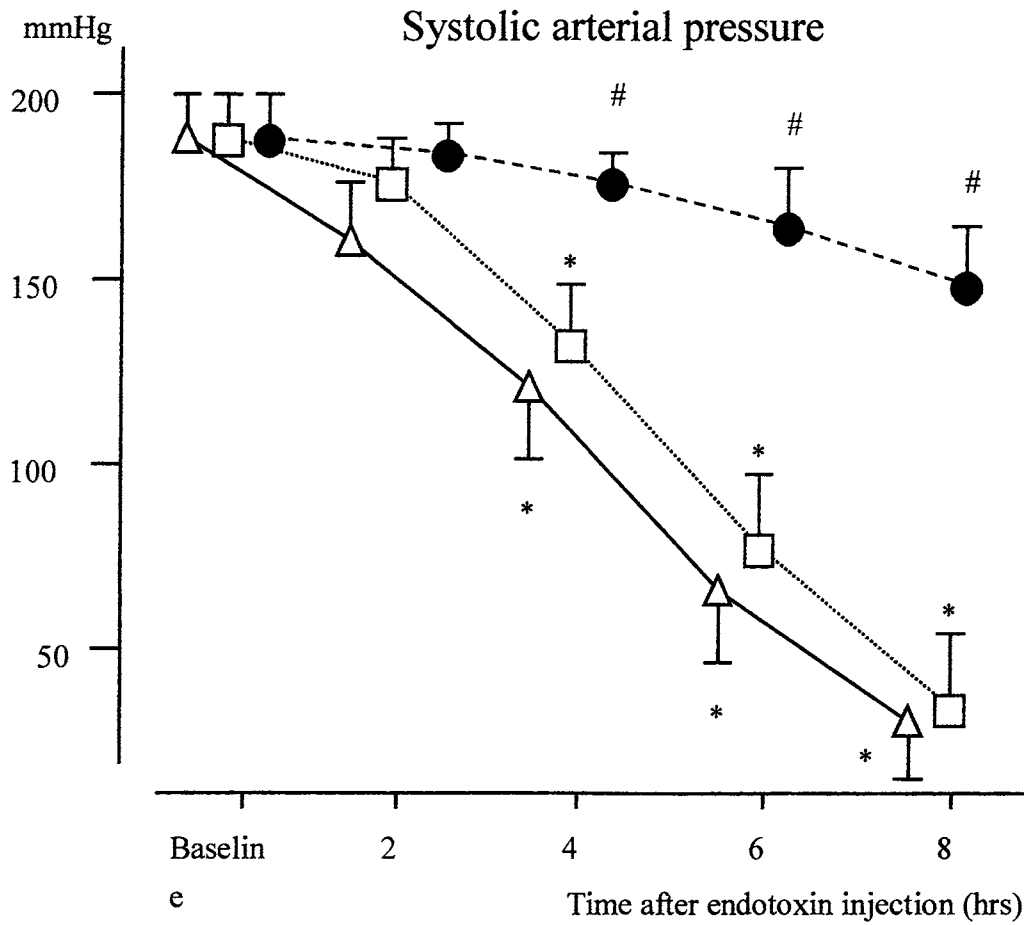


Fig. 3. Systolic arterial pressure at baseline and after endotoxin injection (mean \pm SD). Open triangle, endotoxemic group; open squares, control column group; closed circle, CTR treatment group. * $p < 0.05$ vs. baseline value (within-group); # $p < 0.05$ vs. endotoxemic group.

エンドトキシン投与後の生存曲線を Fig. 4 に示す。エンドトキシン投与後 8 時間の時点で生存率は、エンドトキシン単独群で 8%、空カラム治療群で 8%であったが、サイトカイン吸着カラム治療群は 86%で、サイトカイン吸着カラム治療群は他の 2 群より有意に生存率が高かった。

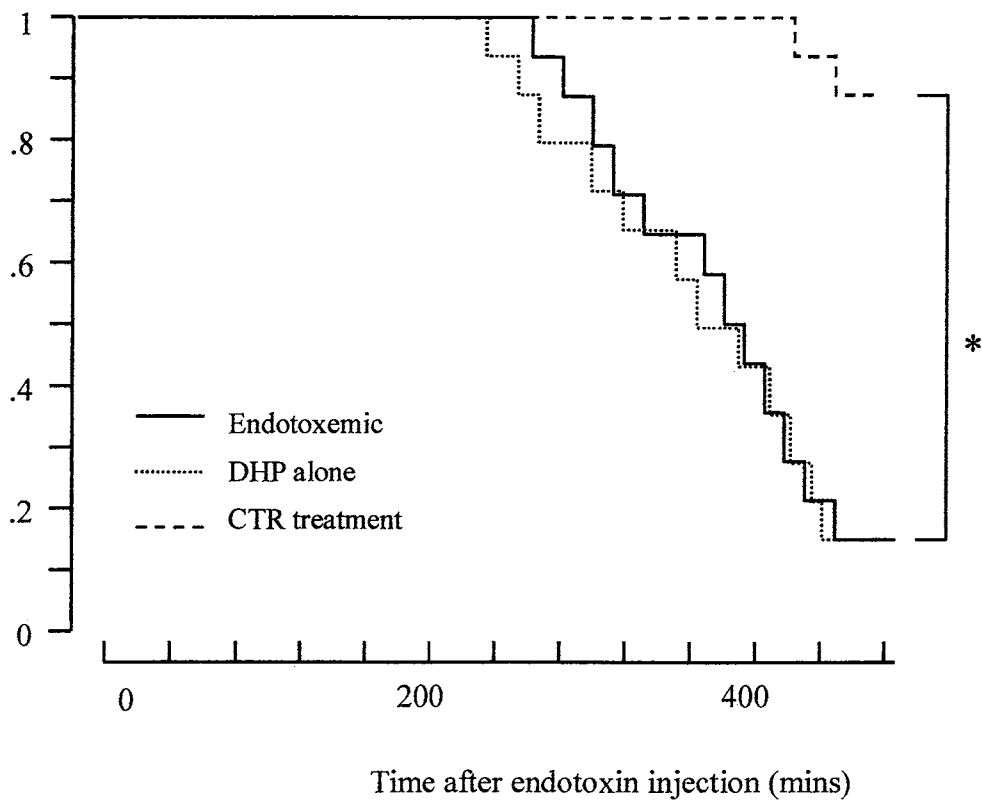


Fig. 4 Survival curves for the endotoxemic, control column, and CTR treatment groups.

2. 血中サイトカイン濃度の変動に関して

Fig. 5、Fig. 6 にエンドトキシン投与後の血中サイトカイン濃度の変動に関して示す。エンドトキシン投与前において、サイトカインは炎症性サイトカイン、抗炎症性サイトカイン両方とも低値であり、3群間で有意差を認めなかった。TNF- α に関しては、エンドトキシン投与後2時間でピークを形成し、以後減少するが、サイトカイン吸着カラム治療群では、2時間後のピークを抑制することができた (Fig. 5)。さらに、IL-1 β 、IL-6 においては、サイトカイン吸着カラム治療群は他の2群と比較して、有意に上昇を抑制した (Fig. 5, Fig. 6)。抗炎症性サイトカインであるIL-10 についても、サイトカイン吸着カラム治療群は、その上昇を有意に抑制した (Fig. 6)。

Fig. 5

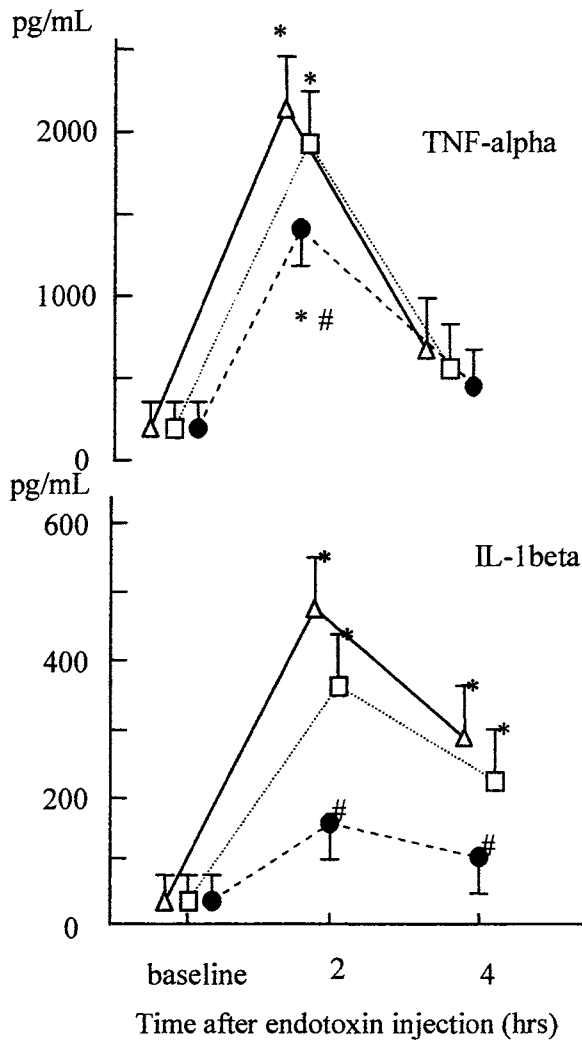


Fig. 5. Changes in plasma tumor necrosis factor-alpha (TNF) (*top*) and interleukin (IL)-1beta (*bottom*) at baseline and after endotoxin injection (mean \pm SD). Open triangle, endotoxemic group; open squares, control column group; closed circle, CTR treatment group. * $p < 0.05$ vs. baseline value (within-group); # $p < 0.05$ vs. endotoxemic group.

Fig. 6

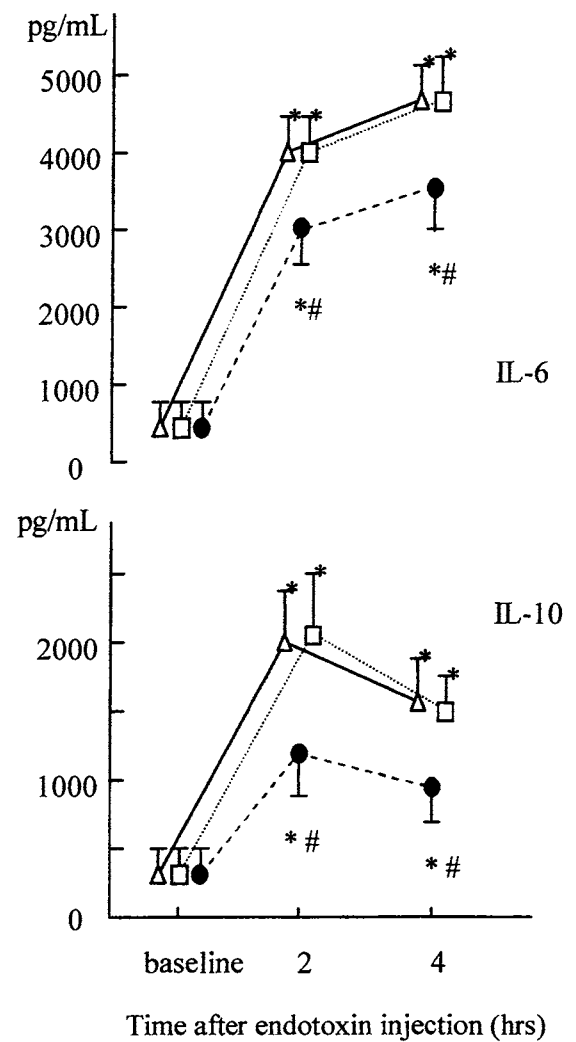


Fig. 6. Changes in plasma IL-6 (*top*) and IL-10 (*bottom*) at baseline and after endotoxin injection (mean \pm SD). Open triangle, endotoxemic group; open squares, control column group; closed circle, CTR treatment group. * $p < 0.05$ vs. baseline value (within-group); # $p < 0.05$ vs. endotoxemic group.

3. 肺の組織学的変化に関して

Fig. 6 にエンドトキシン投与後 8 時間の時点での肺の組織標本を示す。エンドトキシン単独群では、血管内および肺組織への好中球の浸潤が著明であり、肺の間質への水分の漏出も認められるが (Fig. 7A)、サイトカイン吸着カラム治療群では、好中球の浸潤は少なく、肺の間質の浮腫も認めなかった (Fig. 7B)。

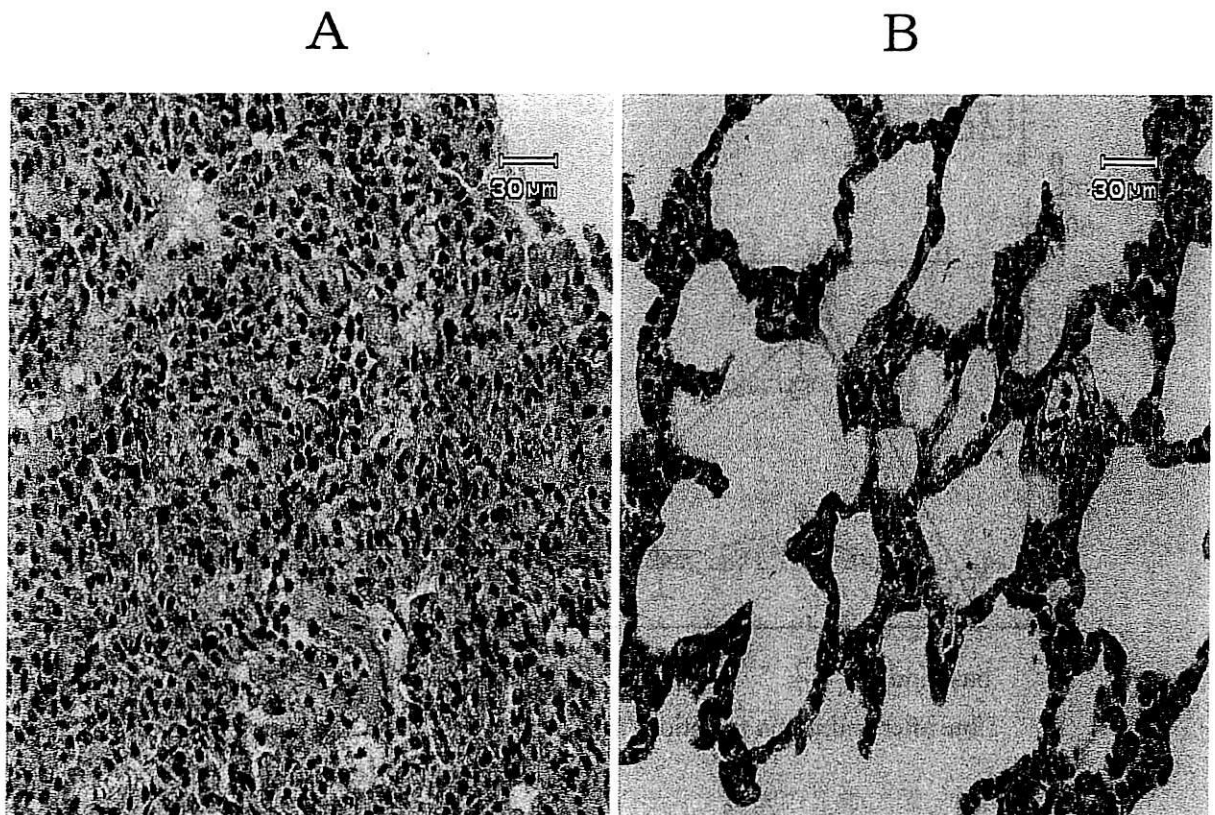


Fig. 7. Histology of representative lung sections from rats belonging to the endotoxemic group (Panel A) and in the CTR treatment group (Panel B). Sections were stained with hematoxylin and eosin. Original magnification: $\times 200$.

コメント

新しいサイトカイン吸着カラムによる血液浄化療法はエンドトキシンショックモデルにおいてその生存率を改善し、抗炎症効果を認めることが判明した。

今回の検討は、ラットにエンドトキシンを投与した直後からサイトカイン吸着カラムによる血液浄化療法を開始する実験であったが、今後、エンドトキシン投与後しばらく経過した後でも効果があるか、また、サイトカイン吸着カラムのサイズの検討も加えなければいけないと考える。

II. エンドトキシンショックモデルにおけるサイトカイン吸着カラムの

時間的効果

論文番号;2、学会発表番号;1、2

研究目的

Iの実験結果により、エンドトキシンショックモデルに対してサイトカイン吸着カラム(CTR)を用いた血液浄化療法が効果があることが判明した。しかしながら、それは、エンドトキシン投与直後から血液浄化療法を開始したのであり、いまだ臨床とはかけ離れている。今回、時間経過を考慮して、エンドトキシン投与2時間後にサイトカイン吸着カラムによる血液浄化療法を行い、その効果を検討する。

方法

実験方法は、Iと同様の実験方法を用いた。36匹のWistar系ラットを用い、ペントバルビタール 30mg/kg を腹腔内投与して全身麻酔を施行し、気管切開を行った。そのあと、大腿動、静脈にカテーテルを挿入し、大腿動脈からは実験中の循環動態の観察と採血を行い、大腿静脈からは輸液を施行した。さらに、もう一方の大腿動、静脈にもカテーテルを挿入し、血液浄化を行うルートとした。

循環、呼吸状態を安定させた後、無作為に以下の3群に分けた。(各群12匹)

1) エンドトキシン単独群(Endotoxic 群)

エンドトキシン 15mg/kg を2分間かけて投与した。

2) 空カラム治療群(Control column 群)

エンドトキシン 15mg/kg を2分間かけて投与した2時間後に、サイトカイン吸着体を充填せず、空カラムだけで血液浄化を2時間施行した。

3) サイトカイン吸着カラム治療群(CTR posttreatment 群)。

エンドトキシン 15mg/kg を 2 分間かけて投与した 2 時間後に、CTR を用いた血液浄化を 2 時間施行した。

血液浄化法は、流速 1.5ml/min、抗凝固として低分子ヘパリンを 200 単位/kg/hrを投与した。

エンドトキシン投与後の循環、呼吸状態の変動、血中サイトカイン (TNF- α 、IL-6) 濃度の変動、およびエンドトキシン投与後 8 時間での生存率を 3 群間で比較検討した。

結果

1. 循環動態および生存率に関して

循環動態の変化に関しては、エンドトキシン投与後、エンドトキシン単独群、空カラム治療群で血圧が低下し、エンドトキシン投与後 6 時間でショック状態に陥ったが、サイトカイン吸着カラム治療群では、血圧は安定しており、他の 2 群と比較して有意に高かった (Fig. 8)。

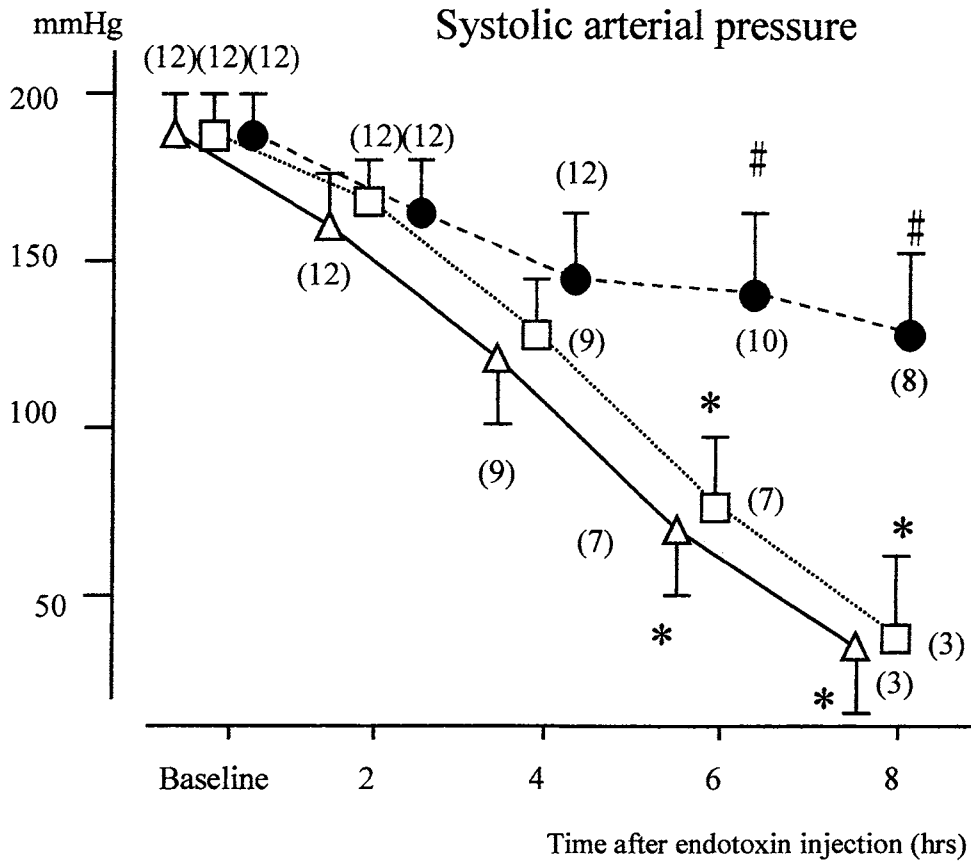


Fig. 8. The systolic arterial pressure at baseline and after endotoxin injection (mean \pm SD). Open triangle, endotoxemic group; open squares, control column group; closed circle, CTR-posttreatment group. * $p < 0.05$ vs. baseline value (within-group); # $p < 0.05$ vs. endotoxemic group. () is the number of surviving animals.

エンドトキシン投与後の生存曲線を Fig. 9 に示す。エンドトキシン投与後 8 時間の時点で生存率は、エンドトキシン単独群で 17%、空カラム治療群で 17%であったが、サイトカイン吸着カラム治療群は 67%で、サイトカイン吸着カラム治療群は他の 2 群より有意に生存率が高かった。

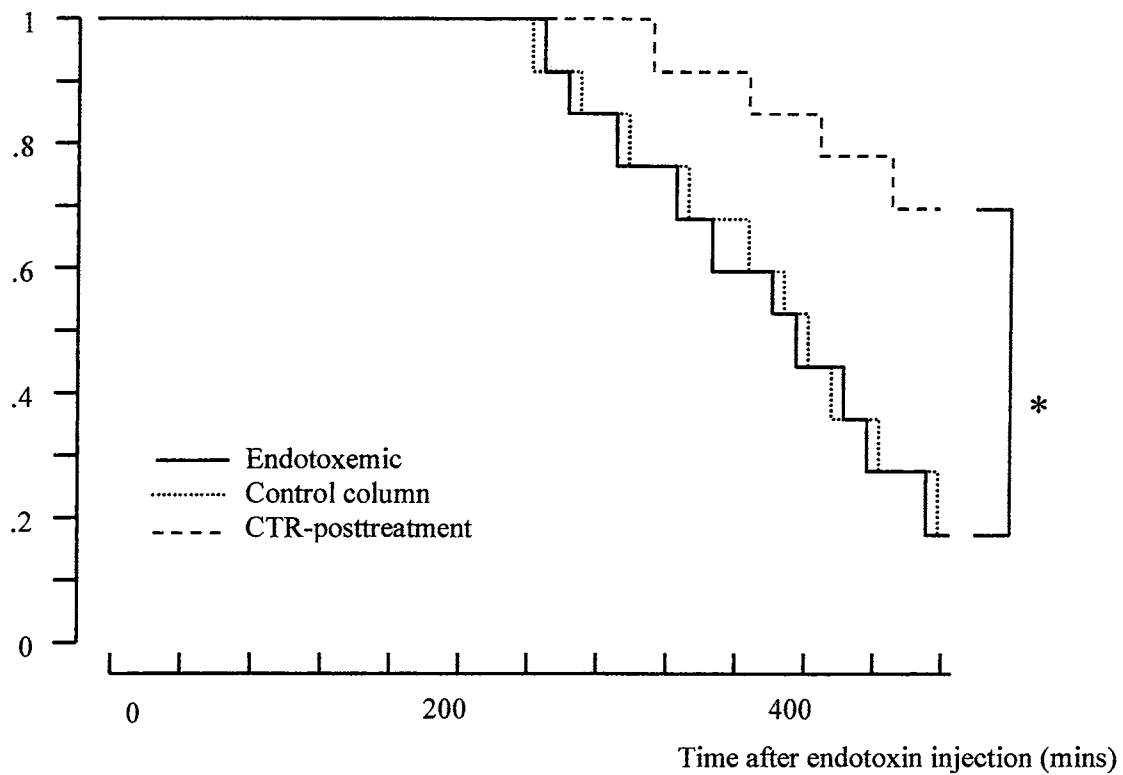


Fig. 9. Survival curves for endotoxic, control column, and CTR-posttreatment group. *, $p < 0.05$.

2. 血中サイトカイン濃度の変動に関して

Fig. 10 にエンドトキシン投与後の血中サイトカイン濃度の変動に関して示す。エンドトキシン投与前において、サイトカインは低値であり、3 群間で有意差を認めなかった。TNF- α に関しては、エンドトキシン投与後 2 時間でピークを形成し、以後減少するが、3 群間に有意差は認めなかった。しかし、IL-6 においては、エンドトキシン投与後 2 時間までは 3 群とも同様の変化を認めたが、その後、サイトカイン吸着カラム治療群は他の 2 群と比較して有意に上昇を抑制した。

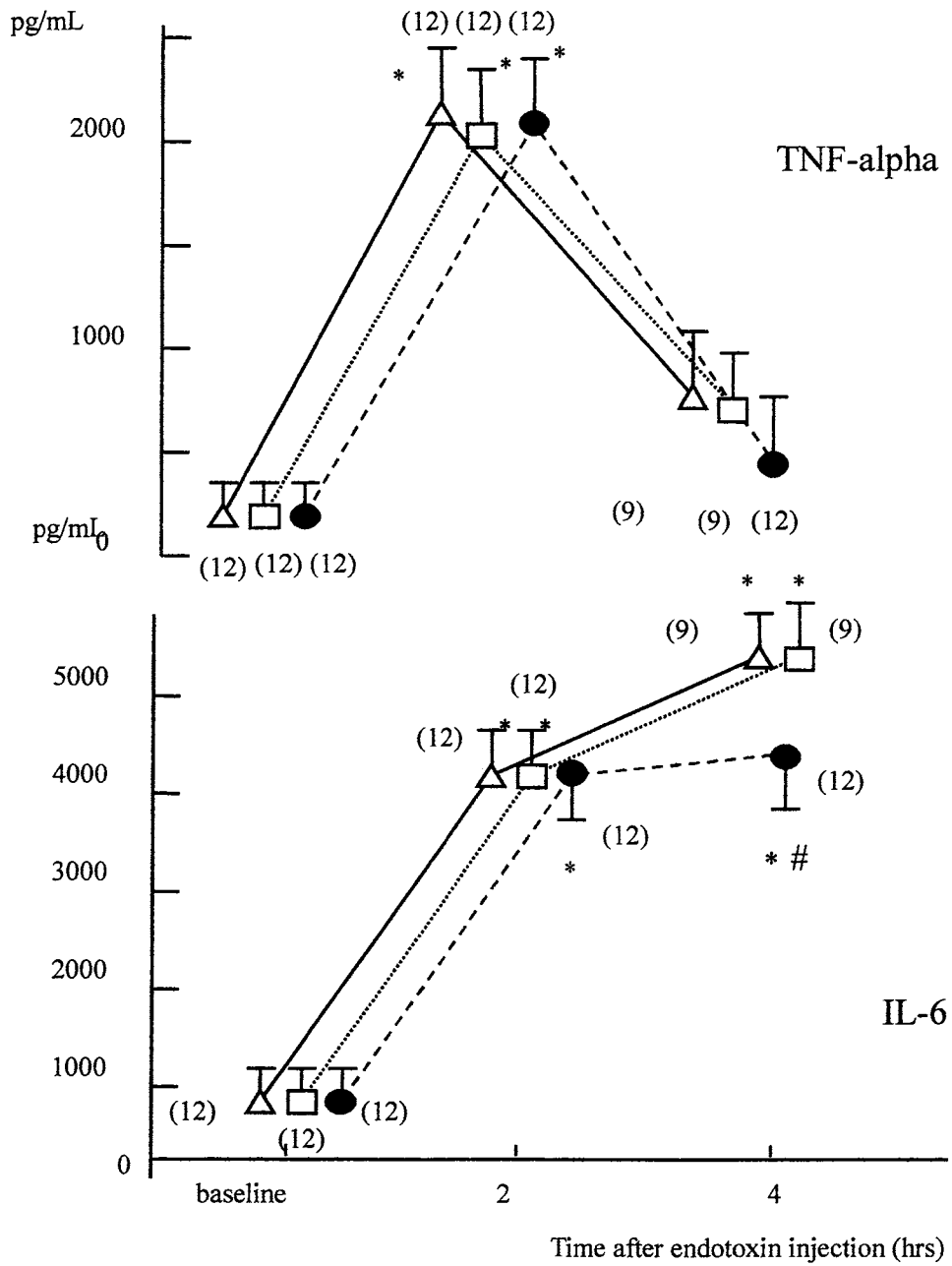


Fig. 10 Changes of plasma tumor necrosis factor α (TNF) (*top*) and interleukin (IL)-6 (*bottom*) at baseline and after endotoxin injection (mean \pm SD). Open triangle, endotoxic group; open squares, control column group; closed circle, CTR-posttreatment group. * $p < 0.05$ vs. baseline value (within-group); # $p < 0.05$ vs. endotoxemic group. () is the number of surviving animals.

コメント

サイトカイン吸着カラムは、エンドトキシンショックモデルにおいてエンドトキシン投与後 2 時間経過しても生存率を改善し、抗炎症効果を認めることを再確認した。また、サイトカイン除去に関しては、TNF が上昇した後でも、その後引き続き生じるサイトカイン反応を抑制することも確認できた。

以上の結果より、サイトカイン吸着カラムは臨床上、敗血症性ショック状態で有用性を発揮できると考えられる。

今後は、サイトカイン吸着カラムのサイズに関して検討を考える。

Ⅲ. エンドトキシンショックモデルにおけるサイトカイン吸着カラムの

量的効果

論文番号;3、学会発表番号;3

研究目的

いままでの実験にて、ラットのエンドトキシンショックモデルに対してサイトカイン吸着カラム CTR を用いた血液浄化療法が有用性を示し、エンドトキシン投与後時間を経過しても CTR を用いた血液浄化療法が効果を示すことが判明した。今回、CTR の量的効果に関して検討する。

方法

実験方法は、Iと同様の実験方法を用いた。48匹のWistar系ラットを用い、ペントバルビタール 30mg/kg を腹腔内投与して全身麻酔を施行し、気管切開を行った。そのあと、大腿動、静脈にカテーテルを挿入し、大腿動脈からは実験中の循環動態の観察と採血を行い、大腿静脈からは輸液を施行した。さらに、もう一方の大腿動、静脈にもカテーテルを挿入し、血液浄化を行うルートとした。

循環、呼吸状態を安定させた後、エンドトキシン 15mg/kg を2分間かけて投与した。その後無作為に以下の4群に分けた。(各群12匹)

1) 空カラム治療群(Control column 群) (Group C)

サイトカイン吸着体を充填させずに、空カラムだけで血液浄化を2時間施行した。

2) 1/4量 CTR 群(Quarter dose of CTR treatment 群) (Group Q)

サイトカイン吸着体をI、IIの実験の際に使用した量の1/4(0.25 mL)を充填させ、血液浄化を2時間施行した。

3) 1/2量 CTR 群(Half dose of CTR treatment 群) (Group H)

サイトカイン吸着体を I、II の実験の際に使用した量の 1/2 (0.5 mL) を充填させ、血液浄化を 2 時間施行した。

4) CTR 群 (Full dose of CTR treatment 群) (Group F)

サイトカイン吸着体を I、II の実験の際に使用した量 (1.0 mL) を充填させ、血液浄化を 2 時間施行した。

血液浄化法は、流速 1.5ml/min、抗凝固として低分子ヘパリンを 200 単位/kg/hr を投与した。

エンドトキシン投与後の循環、呼吸状態の変動、血中サイトカイン (TNF- α 、IL-6) 濃度の変動、およびエンドトキシン投与後 8 時間での生存率を 4 群間で比較検討した。

結果

1. 循環動態および生存率に関して

循環動態の変化に関しては、エンドトキシン投与後 4 時間で Group C は血圧が低下していたが、CTR を充填した群では血圧の低下を認めなかった (Fig. 11)。

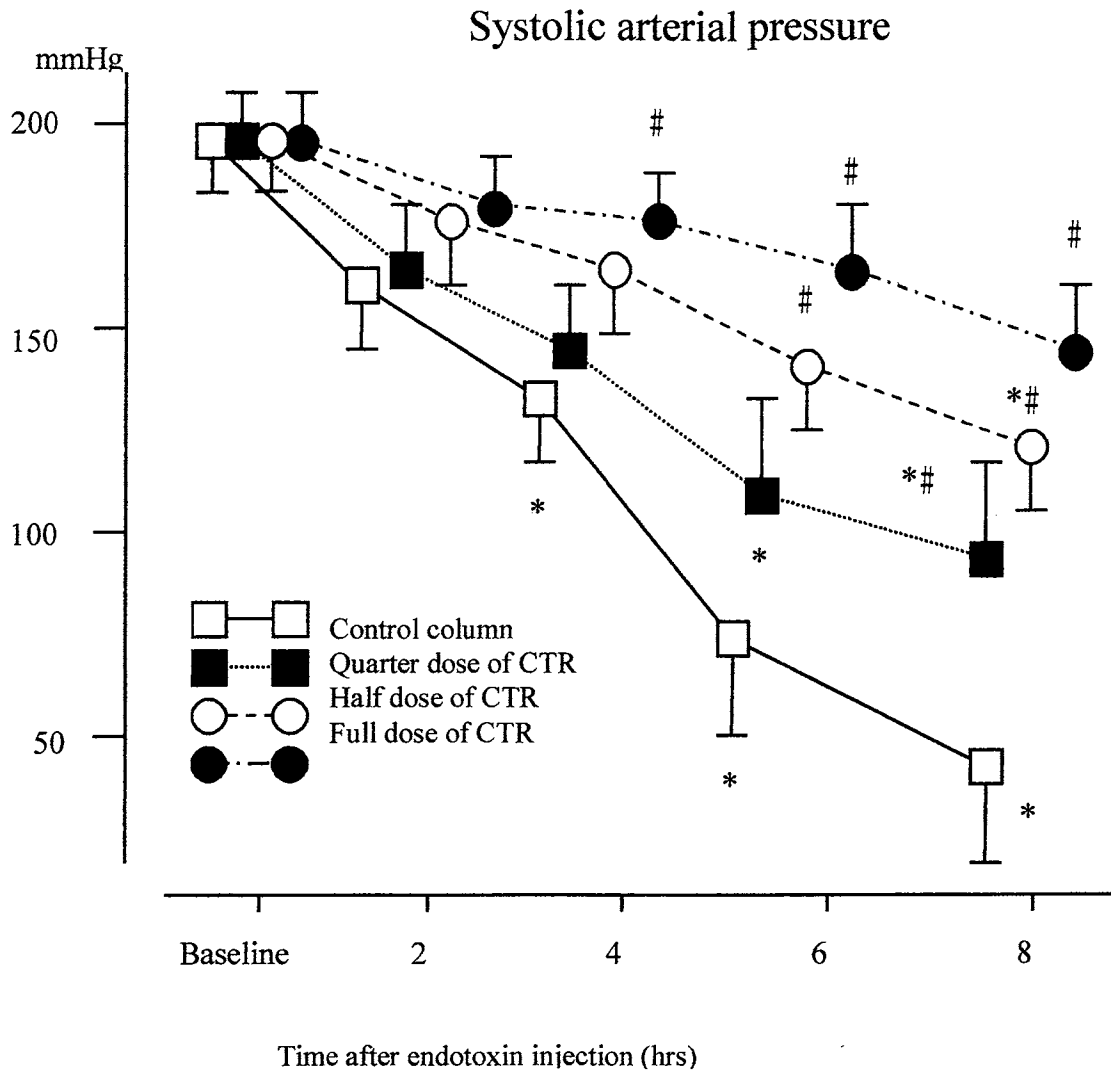


Figure 11. The systolic arterial pressure at baseline and after endotoxin injection (mean \pm SD). Open squares, control column group; closed squares, quarter dose of CTR treatment group; open circle, half dose of CTR treatment group; closed circle, full dose of CTR treatment group. * $p < 0.05$ versus baseline value (within-group); # $p < 0.05$ versus control column group.

エンドトキシン投与後の生存曲線を Fig. 12 に示す。エンドトキシン投与後 8 時間の時点で生存率は、Group C で 8%、Group Q で 42%、Group H で 58%、Group F で 83%であり、サイトカイン吸着カラム治療の 3 群が、Group C より有意に生存率が高かった。

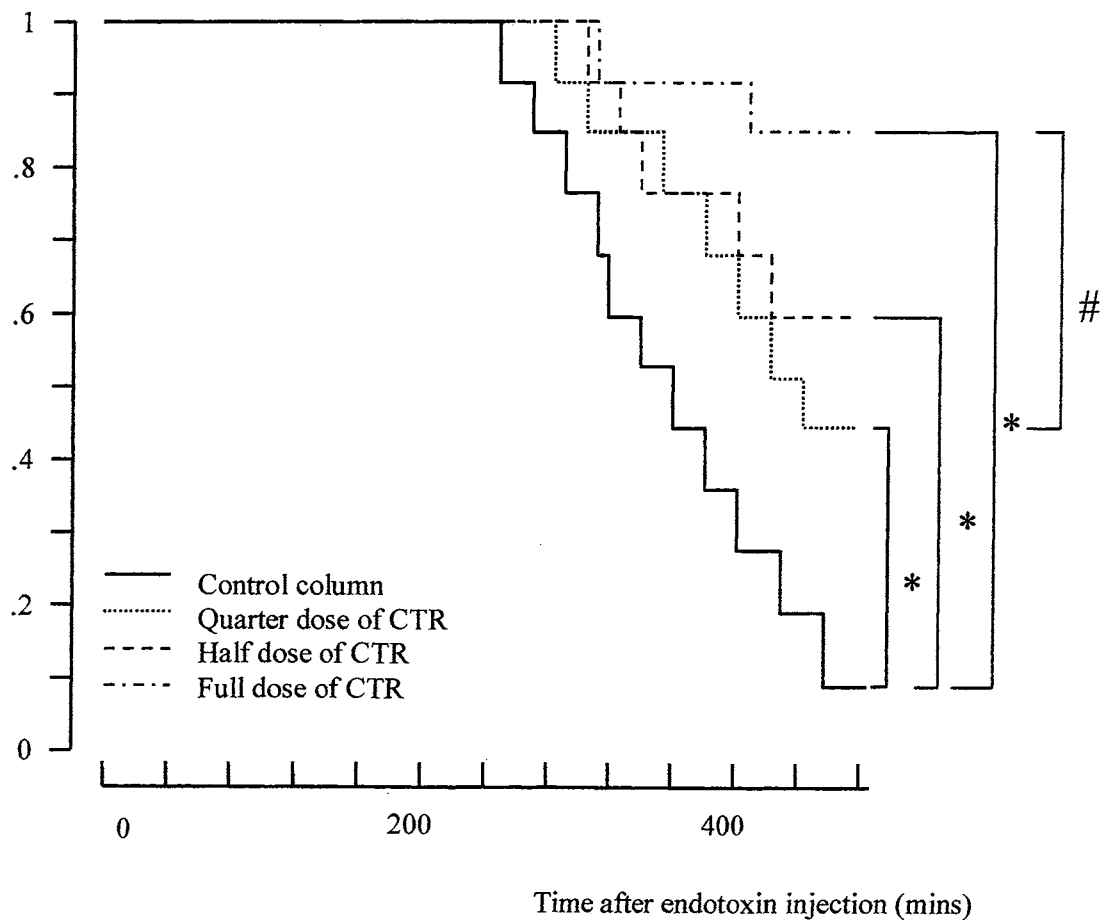


Figure 12. Survival curves for control column, quarter dose of CTR treatment, half dose of CTR treatment, full dose of CTR treatment group. * and #, $p < 0.05$.

2. 血中サイトカイン濃度の変動に関して

Fig. 13 にエンドトキシン投与後の血中サイトカイン濃度の変動に関して示す。エンドトキシン投与前において、サイトカインは低値であり、4 群間で有意差を認めなかった。TNF- α に関しては、エンドトキシン投与後 2 時間でピークを形成し、以後減少するが、Group H と Group F は Group C と比較して有意に抑制することが判明した。なお、CTR 治療群の中では有意差を認めなかった。また、IL-6 においても、エンドトキシン投与後 4 群とも有意に上昇するが、Group F ではエンドトキシン投与後 2 時間より、Group Q と Group H ではエンドトキシン投与後 4 時間で Group C と比較して有意に抑制することが判明した。なお、IL-6 でも CTR 治療群の

中では有意差を認めなかった。

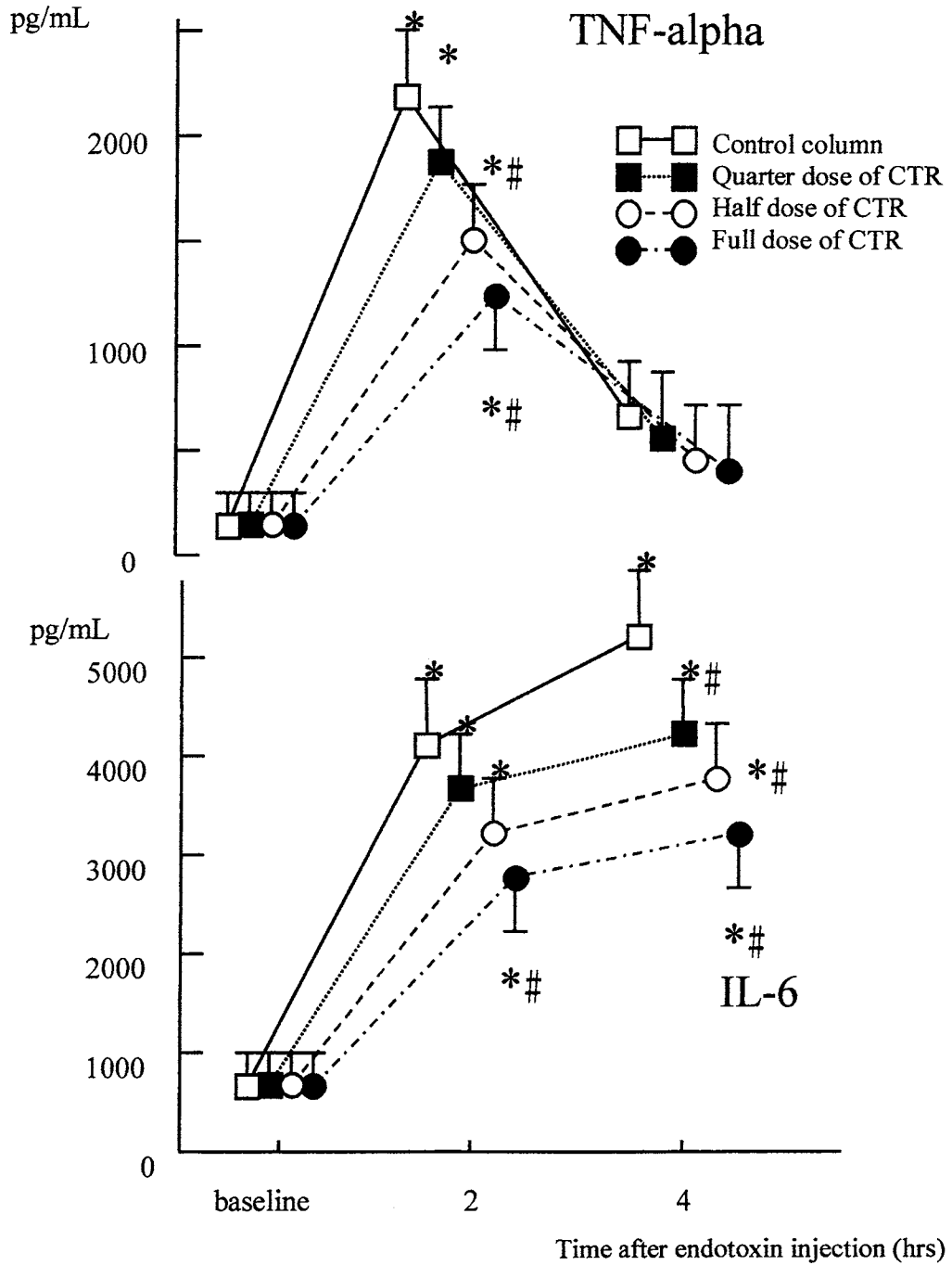


Figure 13. Changes of plasma tumor necrosis factor- α (TNF) (*top*) and interleukin (IL)-6 (*bottom*) at baseline and after endotoxin injection (mean \pm SD). Open squares, control column group; closed squares, quarter dose of CTR treatment group; open circle, half dose of CTR treatment group; closed

circle, full dose of CTR treatment group. * $p < 0.05$ versus baseline value (within-group); # $p < 0.05$ versus control column group.

コメント

サイトカイン吸着カラムは、エンドトキシンショックモデルにおいてCTRの充填量の量依存的に生存率を改善し、抗炎症効果を認めることを確認した。

以上の結果より、サイトカイン吸着カラムは臨床上、血液浄化が施行できる範囲内であればカラムの充填量を大きくすることにより有用性を最大限に発揮できることが予想された。

IV. 低体温下でのエンドトキシンショックモデルにおける

プロポフォールの効果

論文番号;4

研究目的

集中治療領域において、低体温療法は心肺蘇生後の患者、あるいは頭部外傷患者の治療として見直され、行われている方法である。その際、静脈麻酔薬を用いて鎮静を行うわけであるが、最適な麻酔薬がどれなのか明らかにした報告はない。以前、われわれは静脈麻酔薬の一つであるプロポフォールがエンドトキシンショックに対して効果を有することを報告している。そこで、今回低体温下でのプロポフォールの抗炎症効果に関して、ラットを用いたエンドトキシンショックモデルで判定しようと試みた。

方法

88匹のWistar系ラットを用いた。ペントバルビタール 30mg/kg を腹腔内投与して全身麻酔を施行し、気管切開を行った。そのあと、大腿動、静脈にカテーテルを挿入し、大腿動脈からは実験中の循環動態の観察と採血を行い、大腿静脈からは輸液を施行した。動物の循環、呼吸状態が安定した後に、以下の2プロトコールを行った。

1) 中等度低体温下におけるプロポフォールの効果

40匹のラットを無作為に以下の4群(各群10匹)にわけて、中等度低体温下(30から32°C)におけるプロポフォールの効果を検討した。

(1) エンドトキシン対照群

エンドトキシン 15mg/kg を2分間かけて投与し、体温は正常体温(36から38°C)を維持した。

(2) プロポフォール対照群

プロポフォールを 10mg/kg/hr 持続投与とともに、エンドトキシン 15mg/kg を 2 分間かけて投与し、体温は正常体温 (36 から 38℃) を維持した。

(3) エンドトキシン低体温群

エンドトキシン 15mg/kg を 2 分間かけて投与し、体温は 1 時間かけて中等度低体温まで下げ、そのまま維持した。

(4) プロポフォール低体温群

プロポフォールを 10mg/kg/hr 持続投与とともに、エンドトキシン 15mg/kg を 2 分間かけて投与し、体温は 1 時間かけて中等度低体温まで下げ、そのまま維持した。

エンドトキシン投与後の循環、呼吸状態の変動、血中サイトカイン (TNF- α 、IL-6) 濃度の変動、およびエンドトキシン投与後 6 時間での生存率を 4 群間で比較検討した

2) 軽度低体温下におけるプロポフォールの効果

48 匹のラットを無作為に 4 群 (各群 12 匹) にわけて、軽度低体温下 (33 から 35℃) におけるプロポフォールの効果を検討した。4 群は中等度低体温と同様にわけた。

評価項目も中等度低体温と同様で、エンドトキシン投与後の循環、呼吸状態の変動、血中サイトカイン (TNF- α 、IL-6) 濃度の変動、およびエンドトキシン投与後 6 時間での生存率を 4 群間で比較検討した。

結果

1) 中等度低体温下におけるプロポフォールの効果

循環動態および生存率に関して

循環動態の変化に関しては、エンドトキシン投与後 4 時間でエンドトキシン対照群は血圧が低下していったが、そのほかの群では血圧の低下を認めなかった。エンドトキシン投与後 6 時間で、エンドトキシン対照群の血圧は他の群と比較して有意に低下した。しかしながら、低体

温群の両者の血圧の変動には有意差を認めなかった。(Fig. 14)

脈拍の変動に関しては、すべての群で有意差を認めなかった。

エンドトキシン投与後の生存曲線を Fig. 15 に示す。エンドトキシン投与後 6 時間の時点で生存率は、エンドトキシン対照群で 30%、プロポフォール対照群で 60%、エンドトキシン低体温群で 90%、プロポフォール低体温群で 100% であり、プロポフォール対照群、エンドトキシン低体温群、プロポフォール低体温群の 3 群は、エンドトキシン対照群と比較して有意に上昇した。しかしながら、低体温群の両者の生存率には有意差を認めなかった。

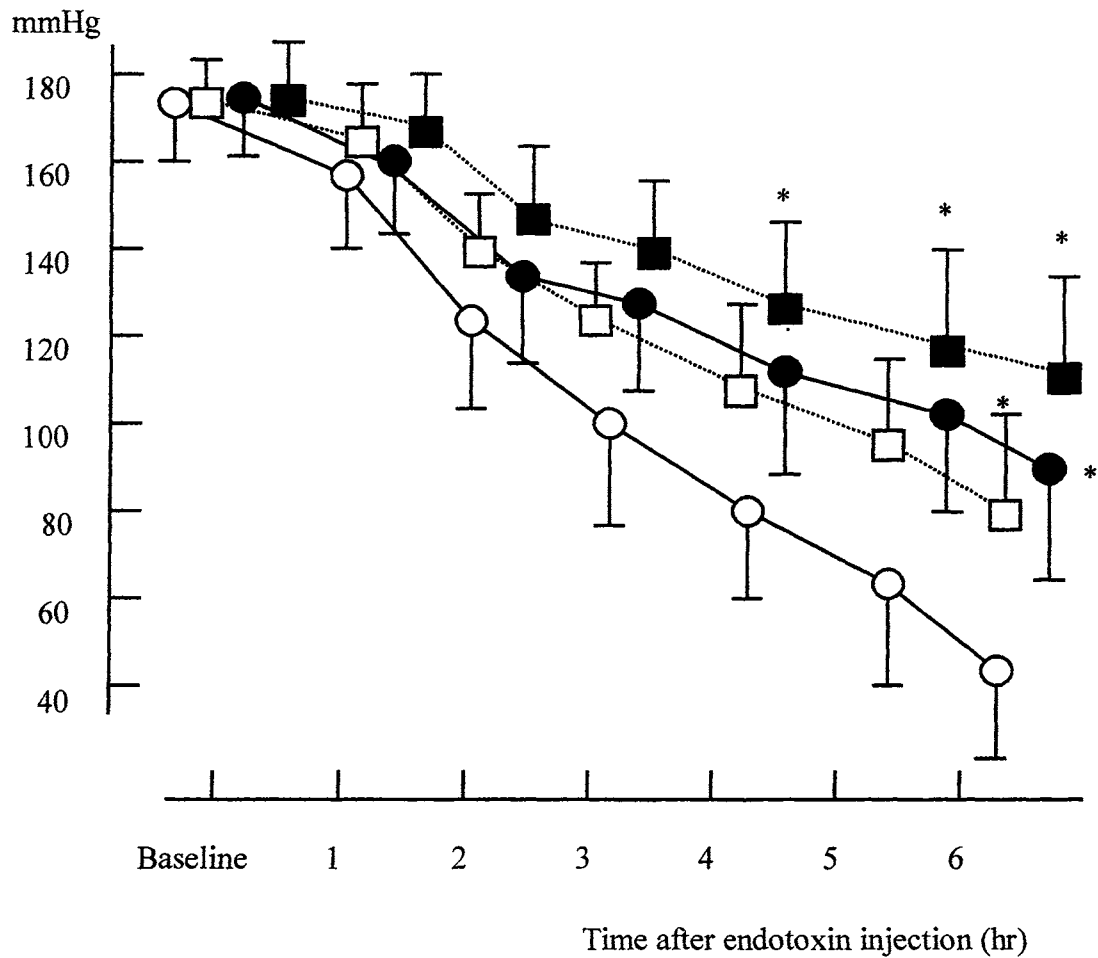


Figure 14. Systolic arterial pressure at baseline and after endotoxin or saline injection during normothermia or moderate hypothermia (mean \pm SD). Open circles, saline/normothermia group; open square, propofol/normothermia group; closed circle, saline/moderate hypothermia group; closed square, propofol/moderate hypothermia group.

closed square, propofol/moderate hypothermia group. *p < 0.05 vs. saline/normothermia group.

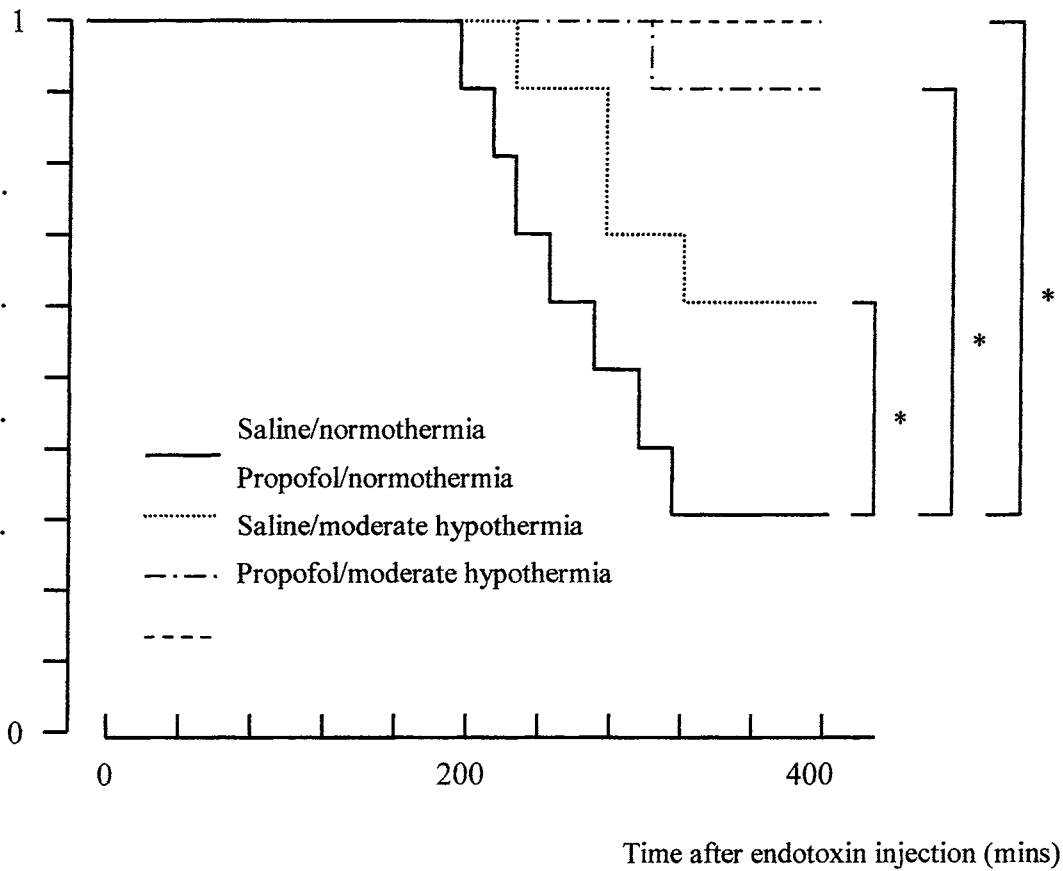


Figure 15. Survival curves for saline/normothermia, propofol/normothermia, saline/moderate hypothermia, and propofol/moderate hypothermia group. *p < 0.05 vs. saline/normothermia group.

血中サイトカイン濃度の変動に関して

Fig. 16 にエンドトキシン投与後の血中サイトカイン濃度の変動に関して示す。エンドトキシン投与前において、サイトカインは低値であり、4 群間で有意差を認めなかった。TNF- α に関しては、エンドトキシン投与後2時間でピークを形成し、以後減少するが、プロポフォール対照群、エンドトキシン低体温群、プロポフォール低体温群の3群は、エンドトキシン対照群と比較して有意に抑制することが判明した。なお、低体温群の両者には有意差を認めなかった。また、

IL-6 においても、エンドトキシン投与後すべての群で有意に上昇するが、プロポフォール対照群、エンドトキシン低体温群、プロポフォール低体温群の 3 群はエンドトキシン投与後 4 時間でエンドトキシン対照群と比較して有意に抑制することが判明した。なお、IL-6 でも低体温群の両者には有意差を認めなかった。

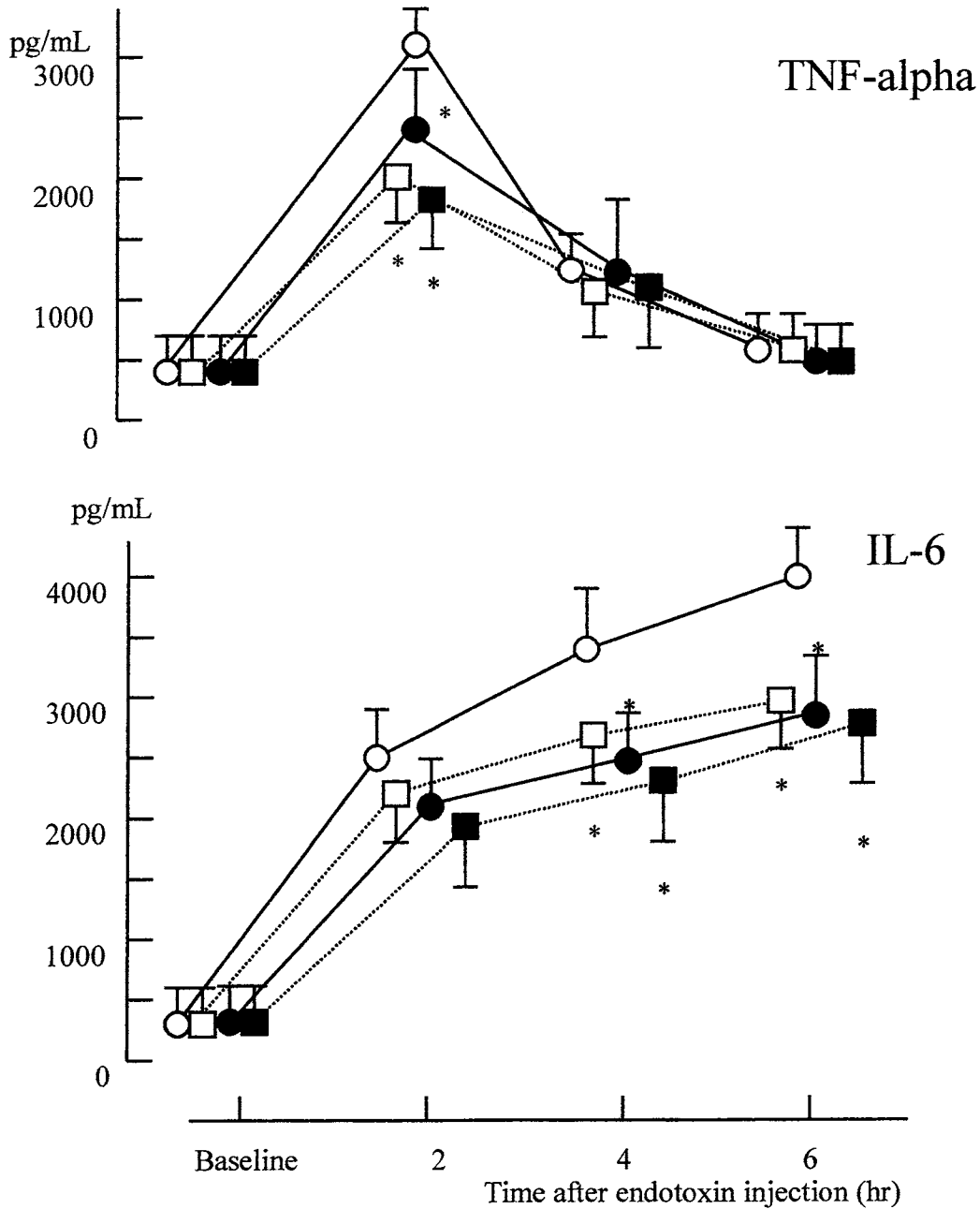


Figure 16. Changes of plasma tumor necrosis factor-alpha (TNF) (top) and interleukin (IL)-6

(bottom) at baseline and after endotoxin or saline injection during normothermia or moderate hypothermia (mean \pm SD). Open circles, saline/normothermia group; open square, propofol/normothermia group; closed circle, saline/moderate hypothermia group; closed square, propofol/moderate hypothermia group. * $p < 0.05$ vs. saline/normothermia group.

2) 軽度低体温下におけるプロポフォールの効果

中等度低体温下での結果と同様であった。

エンドトキシン投与後の生存率のを Fig.17 に示す。エンドトキシン投与後 6 時間の時点で生存率は、エンドトキシン対照群で 30%、プロポフォール対照群で 60%、エンドトキシン低体温群で 90%、プロポフォール低体温群で 100%であり、プロポフォール対照群、エンドトキシン低体温群、プロポフォール低体温群の 3 群は、エンドトキシン対照群と比較して有意に上昇した。しかしながら、低体温群の両者の生存率には有意差を認めなかった。

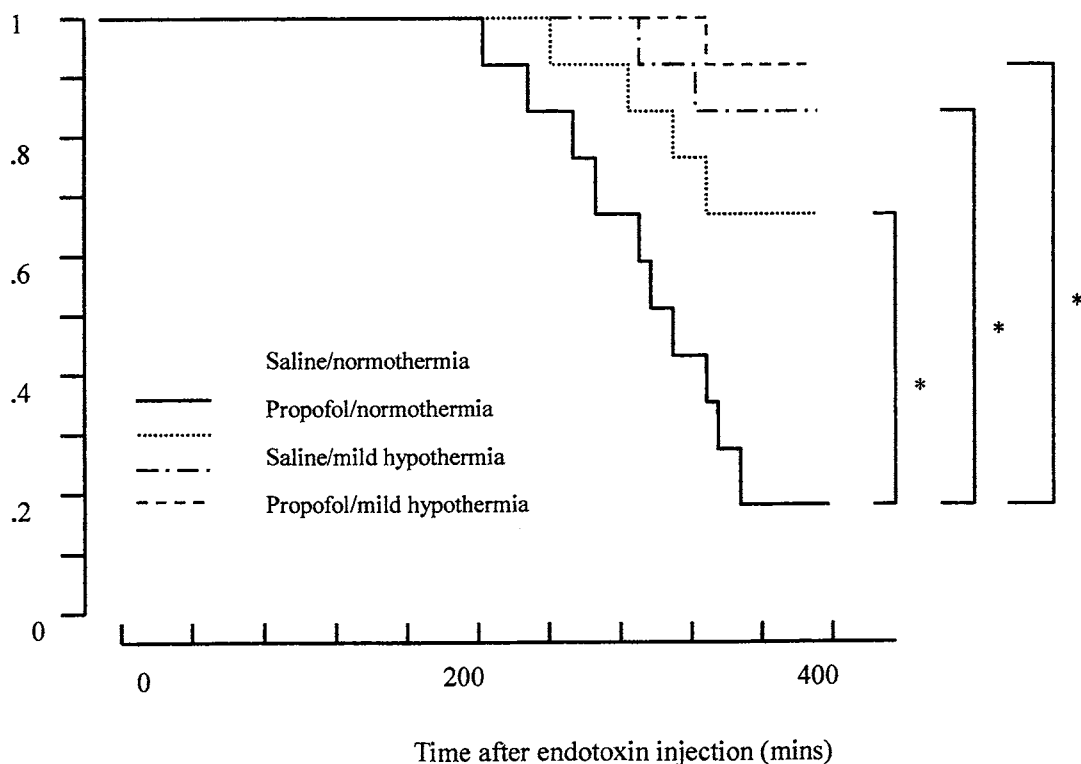


Figure 17. Survival curves for saline/normothermia, propofol/normothermia, saline/mild

hypothermia, and propofol/mild hypothermia group. *p < 0.05 vs. saline/normothermia group.

コメント

今回の検討では、エンドトキシンショックモデルにおいてプロポフォールおよび低体温(中等度、軽度の両者とも)は、血圧の低下を抑制し、生存率を改善し、サイトカインの上昇を抑制することが判明した。しかしながら、プロポフォールと低体温を組み合わせた治療法は、プロポフォール単独、低体温単独と比較して有意差は認められず、また、低体温の程度による変化も判明せず、今後の検討課題となった。

まとめと今後の課題

今回の検討では、In vitro において炎症性サイトカイン等の mediator を吸着、除去できるカラム(CTR-001)を用いた血液浄化療法は、ラットを用いたエンドトキシンショックモデルにおいて循環動態を安定させ、生存率を改善させ、抗炎症効果をもたらすことが判明した。さらに、エンドトキシン投与後、時間を経過した状態でも抗炎症効果を発揮し、カラムの充填量を増加することによりさらにその効果を増すことが判明した。今回の研究成果により、新しく開発したカラムを用いた血液浄化療法の動物における効果を解明でき、臨床応用への道を切り開くことができたと確信する。

しかしながら今回の検討では、ラットにエンドトキシンを直接静脈内投与して作成したモデルに対して有用性を示しただけで、すぐに臨床応用に結び付けるには至らず、より臨床に即した基礎実験が必要といえる。今後、さらに動物実験の成果と臨床応用への間を埋めるべく、より臨床に近い動物実験モデルで研究を行い、また、敗血症性ショックにとらわれず、高サイトカイン血症を引き起こす病態に対してこのカラムの有用性を追求し、解明することで、さらなる臨床応用への道を切り開きたいと考える