





学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・ 	第315号	氏名	安田 則久
審査委員会委員	主査氏名	三股 浩光 	
	副査氏名	穴井 博文 	
	副査氏名	徳丸 治 	
<p>論文題目 Removal of 17 cytokines, HMGB1, and albumin by continuous hemofiltration using a cellulose triacetate membrane: an ex-vivo study. (CTA膜を用いた持続血液濾過による17種類のサイトカイン、HMGB1およびアルブミンの除去能の検討) 論文掲載誌名 Journal of Surgical Research 1-6, 2011.</p>			
<p>要旨 緒言 重症敗血症および敗血症性ショックは今なお集中治療部で高頻度にみられ、死亡率も高い疾患である。その病因は不明であるが、サイトカインなどの液性メディエーターが重要な役割を果たしているように考えられている。近年、持続血液濾過 (CHF) が敗血症患者の血行動態を改善することが示されており、CHFが液性メディエーターを調節することがその機序として考えられている。CHFによってサイトカインがどの程度除去されるかはこれまでに報告があるものの、SIRSや敗血症に関するサイトカインについてはほとんど検討されておらず、また濾過膜面積のサイトカイン除去に関してはほとんど検討されていない。 対象および方法 6名の健常ボランティアを対象とした。ボランティアより血液400 mlを血液バッグ内に採取し、LPSを添加して39℃、12時間培養した。血液バッグを血液濾過回路に接続し、回路内を血液で充填した、CHFの濾過流量は1.0 L/hrまたは2.0 L/hrで行った。ポンプ作動後60分と240分に回路内の脱血側と返血側、さらに濾過液からサンプルを採取し、各種サイトカイン濃度をBio-Plexにて測定した。HMGB1、血清アルブミンおよび濾過液中アルブミンはそれぞれELISA法、multi-channel biochemical analyzerおよびimmunoturbidimetryにて測定した。 結果 すべての検体にて各種サイトカイン、HMGB1およびアルブミンが検出可能であった。測定したサイトカインの多くは濾過流量の増加によりクリアランスは有意に増加した。ヘモフィルターの膜面積の増加によって、サイトカインのふるい係数の有意な増加はIL-1β、IL-6、MCP-1、MIP-1βおよびHMGB1において認められた。240分後のサイトカインのふるい係数はIL-17、HMGB1およびアルブミンで有意に低下したが、IL-8とIL-10では増加し、その他のサイトカインでは時間経過に伴うふるい係数の変化はみられなかった。 考察 今回検討した17種類のサイトカインのうち15種類(IL-2, -4, -5, -7, -12, -13, -17, -γ, GCSF, GMCSF, MCP1, MIP1β) およびHMGB1はSIRSや敗血症にて増加するが、CHFでどの程度除去されるかはこれまで検討されておらず、本研究にて初めて明らかとなった。濾過係数はサイトカインの種類によって大きく異なっていたが、濾過流量の増加によってサイトカインの多くは有意なクリアランスの増加を示した。CHFは血中サイトカインを除去することによって敗血症などの重症臓器障害時に治療に有用である可能性が示され、今後は臨床例における検討が必要である。</p> <p>本研究は、敗血症や重症臓器障害時の体外モデルを作成し、CHFによって各種サイトカインとHMGB1、アルブミンの除去能について詳細に検討し、濾過流量の増加によってサイトカインのクリアランスが有意に増加することを明らかにしたものである。またヘモフィルターの膜面積の違いによってふるい係数が異なるのは5種類のサイトカインのみであること、さらに時間経過によるふるい係数は多くのサイトカインで低下することも本研究にて初めて明らかにされた。 以上より、審査員の合議にて本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 安田 則久

論 文 題 目

Removal of 17 Cytokines, HMGB1, and Albumin by Continuous Hemofiltration Using

a Cellulose Triacetate Membrane: An Ex-Vivo Study

(CTA膜を用いた持続血液ろ過による17種類のサイトカイン、HMGB1、およびアルブミンの除去能の検討)

要 旨

緒言：重症敗血症および敗血症性ショックは今なおICUでの罹患率と死亡率が高い疾患である。その原因はいまだ不明な点もあるが、サイトカインなどのメディエーターが重要な役割を果たしていると考えられている。近年、敗血症患者の血行動態改善に持続血液浄化療法（CRRT）の有効性が示されており、その機序としてCRRTが過剰な種々のメディエーターを制御していると言われている。これまで、CRRTでどの程度サイトカインが除去されているのかを調査した研究は認めるものの、測定されたサイトカインの種類は限定的であり、敗血症の病態に関与すると考えられる多種類のサイトカインを同時に調べた報告はほとんどない。今回われわれはLPSによりサイトカインを誘発した人血を用いたCRRTによる17種類のサイトカイン、HMGB1、アルブミンの除去能を調査した。

研究対象及び方法：対象は6人の健常ボランティア。ドナーから採取された血液400mlをLPSを加えた後、血液バッグを39°Cで12時間培養した。血液バッグに血液ろ過（HF）回路を接続し、回路内に血液を充てんした。持続血液ろ過（CHF）のろ過流量は1.0L/hrまたは2.0L/hrで行った。血液回路

作動後 60 分、240 分の時点で回路内の脱血側・返血側、ろ液からサンプルを採取した。サンプルのサイトカイン濃度測定は、Bio-Plex を用いて行った。また、HMGB1 の測定は ELISA 法を用いて行い、アルブミンの測定は multi-channel biochemical analyzer、immunoturbidimetry を使用した。

結果： 全てのドナーの検体から測定した全てのサイトカイン、HMGB1 およびアルブミンが検出された。多くのサイトカインでろ過流量の増加によりクリアランスは有意に増加した。ヘモフィルターの膜面積の違いによるふるい係数 (SC) の有意な変化は 5 種類のサイトカインでのみ認められた。多くのサイトカインでは時間経過による SC の低下を認めなかった。

考察： 今回の研究では、CTA 膜ヘモフィルターを使用した CHF によって多くのサイトカインが除去できることが示された。しかし、SC はサイトカインの種類により大きな差を認めた。一般的にろ過流量が増加すれば SC は低下すると言われているが、われわれの結果では有意な SC の低下を認めたのは 5 種類のみであった。一方、クリアランスはろ過流量に比例するため、多くにサイトカイン、HMGB1 において有意なクリアランスの増加を認めた。

今回測定した多くのサイトカイン (IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17, IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, MCP1, MIP1 β) および HMGB1 については SIRS、敗血症の病態で上昇すると言われているが、CHF でどの程度除去されるのかという報告はなく、今回の研究で初めて明らかになった。

Ronco らは CRRT の敗血症病態改善のメカニズムとして、非選択的に種々の過剰なメディエーターをある程度除去することで生体の homeostasis を保つ peak concentration theory により説明しているが、今回の結果からも多種類のメディエーターが実際に CHF により除去できることが示された。このような効果が臨床での CHF の有効性に関係あるかもしれない。

結語： 今回の研究で、17 種類のサイトカイン、HMGB1、アルブミンが CTA 膜ヘモフィルターによりどの程度除去されるのかを検討し、測定した全てのサイトカインがろ液中に検出されたが、SC は種類により大きな差が見られた。多くのサイトカインではろ過流量の増加により、有意なクリアランスの増加を認めた。CRRT は敗血症などの重症臓器障害時の治療として、血液中のサイトカイン濃度を減少できる可能性が示唆された。今後、臨床の現場で CRRT による多種類のメディエーターの除去についての検討が必要である。