

細胞吸着・除去の定義と適応病態

澤田康史

はじめに

悪いものを体外に除くという治療概念は、ヒポクラテスの時代より瀉血療法 (bloodletting)¹⁾ が apheresis の一つとして施行されてきたことよりその存在が知られている。その後、遠心分離により細胞成分と血漿成分に分離できることがわかり、遠心分離による細胞除去が治療・研究に利用されるようになった。鎌状赤血球貧血 (sickle cell anemia) 患者の局所的低酸素状態のため鎌状に変化した HbS の赤血球は血液粘稠度を増し、微小血管閉塞や骨頭壊死を起こすことが知られている。その鎌状赤血球を遠心分離法により除去し、HbA の赤血球を輸血する交換輸血が本疾患の細胞 (赤血球) 除去療法²⁾として施行された。また、白血球系細胞の除去療法は、遠心分離により白血病の crisis 時の治療³⁾として使用された。しかし、遠心分離法手技の煩雑さ、遠心機器の値段が高価なこと、また、疾患を持つ患者の延命効果が期待できなかったことなどにより白血病の global standard 治療とはならなかった。炎症性腸疾患においては、米国の Bicks 等がクローン病に対する遠心分離を用いた白血球除去療法の有効性を報告⁴⁾したが、あまり効果が無いという報告⁵⁾も入り乱れ、米国国内でも注目される治療とはならなかった。また、クローン病と並ぶもう一つの炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎に対する有効性は報告されていなかった。

遠心分離法ではなく、いかに簡単に効率良く、高価な機器を使用せず、目的とする細胞群を吸着・除去できるかという研究が、医療用具を研究していた日本企業を中心に、膜やビーズ⁶⁻⁸⁾を用いた細胞吸着・除去

の形で行われた。また、そのすばらしい技術の臨床応用に貢献したのは、それら企業と共同研究してきた医師らであった。免疫が関与する疾患群を持つ患者血中や病変局所で、活性化白血球が多いことに目をつけ、白血球除去療法や顆粒球吸着療法による白血球除去を慢性関節リウマチ⁹⁻¹¹⁾、全身性エリテマトーデス¹²⁾、癌^{13, 14)}、潰瘍性大腸炎^{15), 16)}などに行いその有効性を報告した。

その甲斐あって筆者の分野、消化器内科では潰瘍性大腸炎に対する顆粒球吸着療法が平成 12 年 4 月 1 日、白血球除去療法が平成 13 年 10 月 1 日に健康保険適応治療となった。

1 細胞吸着・除去の定義

細胞吸着・除去とは、細胞吸着素材の中を血液または細胞成分を含む体液が通過する際、細胞成分が素材と接触することにより、物理的、化学的または接着因子等を介する免疫学的な結合性質を利用し、細胞を吸着・除去することを意味する。

これが治療用細胞吸着・除去になると、体外循環技術を用いて体外循環用医療素材の中を抗凝固させた血液 (体外では血液は凝固するので) を通過させる必要がある。

2 細胞吸着・除去の方法

現在、細胞吸着・除去に用いる体外循環治療法には、①膜吸着分離法、②ビーズ吸着分離法、③ステンレス吸着分離法、がある。今後もっと違った原理を持つ細胞吸着・除去療法が考案・実現されるものと思われるが、現在はまだこの 3 種類だけである。

① 膜吸着分離法

繊維に白血球が吸着する性質を利用し細胞を除去。

旭メディカル社製セルソーバ⁶⁾は、直径 3 μm 以下のポリエステル繊維に顆粒球と単球がほぼ 100%，リンパ球と血小板はその活性化状態により異なるが 30～60% 吸着・除去される性質を利用し、種々の疾患の臨床治療に用いた。図 1 に実際の白血球除去療法施行時の写真を示す。

米国 Pall 社製 Pall LG6 leukocyte depleting arterial line filter¹⁷⁾は、セルソーバ同様、ポリエステル繊維に白血球が吸着する性質を利用している。人工心肺時の活性化白血球の除去が主であったので、処理血流量を多くする流体力学的工夫がされている。また、テルモ社はエジプト綿¹⁸⁾を用いた白血球除去器を臨床応用している。

② ビーズ吸着分離法

ビーズに顆粒球や単球が吸着されることを利用し細胞を除去。

日本抗体研究所は、直径 3 mm のセルロースアセテートビーズに顆粒球や単球が吸着されることを治療^{7,8)}に利用した。本療法は顆粒球・単球とも 30～40% しか吸着・除去されないが、リンパ球や血小板はほとんど除去されないのが特徴である。図 2

に実際の顆粒球吸着療法施行時の写真を示す。

③ ステンレス膜吸着分離法

ステンレス繊維に白血球が吸着されることを利用し細胞を除去。

直径 4 μm 以下のステンレス繊維に白血球が吸着されることを利用し、顆粒球と単球は約 100%，リンパ球と血小板はその活性化状態により異なるが 30～60% 以上吸着・除去する。

このステンレス繊維を用いた白血球吸着・除去はわれわれの施設でもまだ *ex vivo* の実験段階であり、臨床応用にはもう少し期間がかかると思われるが、ほかの白血球吸着・除去器と違う所は本治療素材が金属であり、金属アレルギーの心配はあるが、未来的には同時に温熱や磁場を使用することにより、より効果的に目的とする細胞吸着が可能となることであろう。

また、単に白血球を除去するだけでなく、もう一つの modulator (調節因子) である温熱や磁場を併用することにより、細胞の質的变化を積極的に行える可能性が魅力的である。次世代の白血球吸着・除去としての期待がかかる製品と言えよう。

3 細胞吸着・除去の適応病態

その病態や症状増悪に白血球が深く関与していると

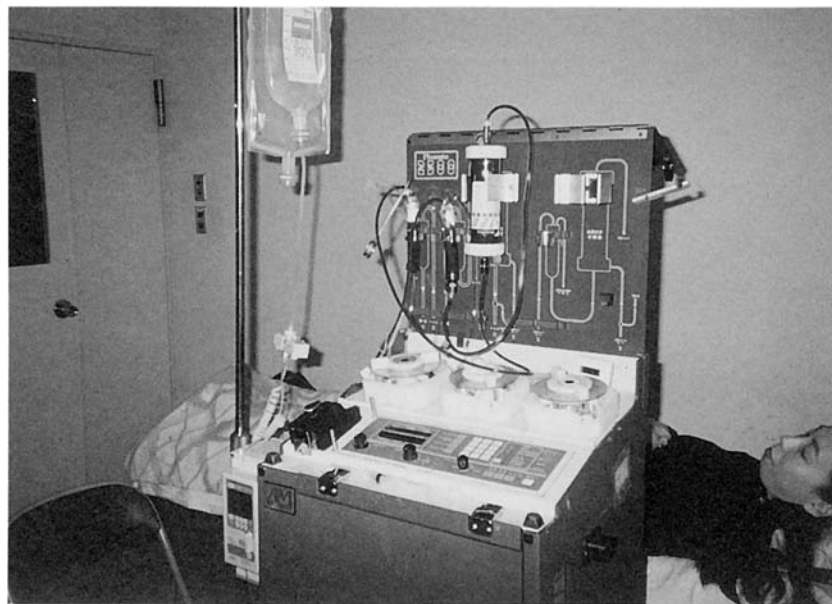


図 1 潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis : UC) に対する白血球除去療法 (leukocytapheresis : LCAP)

体外循環治療機器である旭メディカル社製の Plasoto 2000 で LCAP を行っている写真である。患者からポンプで脱血された全血は、ナフエモスタットメシレイトで抗凝固化され、白血球除去器を通り白血球が除去された後患者に戻される。

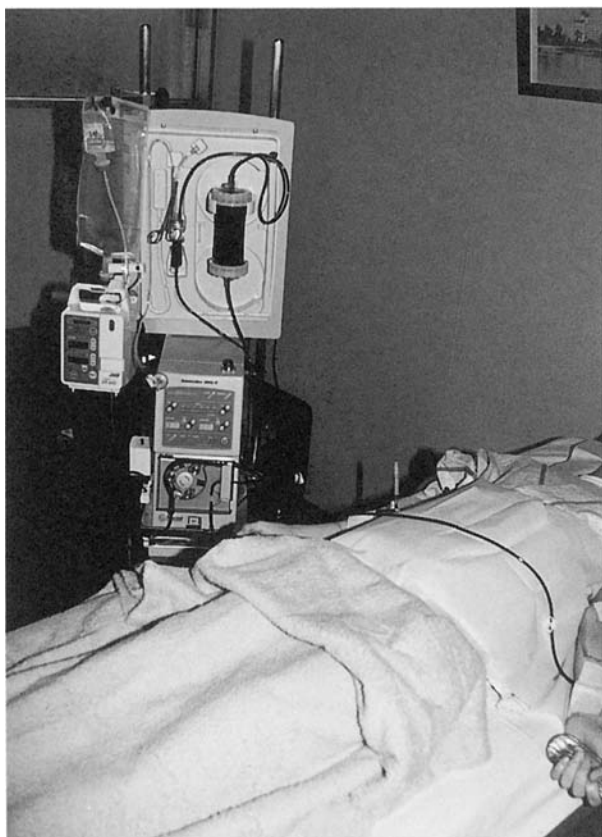


図2 潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) に対する顆粒球吸着療法 (granulocytapheresis: GCAP)

体外循環治療機器である大塚電子社製のアダモニターでGCAPを行っている写真である。患者からポンプで脱血された全血は、ナファモスタットメシレイトまたはヘパリンで抗凝固化され、G-1 カラムを通り顆粒球・単球が除去された後患者に戻される。

考えられ、主にステロイドや免疫抑制薬が治療効果のある疾患群に細胞吸着・除去療法も有効と考える。

すでにその効果が論文等で報告されているものには、

- ① 慢性関節リウマチ¹⁷⁾、全身性エリテマトーデス等¹²⁾の膠原病疾患
- ② 潰瘍性大腸炎^{15, 16)}やクローン病^{4, 16)}などの炎症性腸疾患
- ③ 自己免疫性肝炎¹⁹⁾等の肝疾患

がある。

筆者は、今後、臓器移植後の拒絶反応抑制やある種のウイルス疾患にも有効性が認められ、新たな免疫調節治療の一つになると考えている。

4 細胞吸着・除去が保険適応となるまで

潰瘍性大腸炎に対する白血球除去療法と顆粒球吸着療法の臨床治療は、筆者が能勢之彦教授（現ベラー医科大学外科学教授，テキサス）のおられたクリーブ

ランドクリニックより帰国した約1年後の平成4年から、preliminary studyとして天野國幹博士のご協力のもと開始した。その後、厚生省（当時）の難治性炎症性腸管障害調査研究班班長でおられた武藤徹一郎先生（当時東京大学第一外科教授）と、その後班長になった私の恩師である下山孝教授（兵庫医科大学消化器内科教授，同病院長）のご采配と班の諸先生方のご協力で多施設共同研究を行うことができた。

これら白血球系細胞吸着・除去療法が保険適応になったのは、まず、on-goingな従来の治療が無効であった患者に本治療を加えた後、症状の改善が早期に出現し本治療の効果が患者・医師とも実感できたこと、本疾患が大腸内視鏡という検査を行うことにより、その改善が客観的に誰が見ても比較的簡単に把握できたことにあると言える。また、顆粒球吸着療法や白血球除去療法は、潰瘍性大腸炎に対する多施設共同研究無作為割付試験で有効性が確認され、さらに白血球除去療法のほうは、多施設共同二重盲検シャムコントロールスタディでシャムカラムを用いた治験を行いその有効性を高いレベルで示したことにあると考える。

このように、アフレスシス治療も可能なら健康保険申請に多施設共同二重盲検シャムコントロールの治験を行い結果を出すことが必要で、それが無理な疾患であれば、多施設共同無作為割付試験で結果を出す必要があると考える。

5 考 察

今まで、消化器内科医がじだんだ踏んで治療に難渋していた消化管の難病である潰瘍性大腸炎を、われわれ若い消化器内科医がどうかしてその病状をコントロールしたいと思う心が、この大腸の難病、潰瘍性大腸炎の新しい治療に結びついたのだと思う。また、潰瘍性大腸炎の組織中に浸潤している顆粒球系白血球と単核球系白血球の混在するacute on chronicな炎症所見にその治療のヒントがあったと考える。これら細胞は組織に浸潤するまで体の中をぐるぐる回っていて、炎症の強い部位に来た時にサイトカイン濃度や接着因子の表出程度によって炎症組織に浸潤して行くと考え、組織へ浸潤する前に白血球系細胞吸着・除去療法で取り除けば炎症は沈静化するものと考えたのである。

私がクリーブランドクリニックで遠心分離法を用いたリンパ球除去療法で潰瘍性大腸炎を治療した際、6

例外全例にその効果は認められなかった。当時、それは顆粒球の除去が不十分であるためと考え、帰国した後に顆粒球も除去できる白血球系細胞吸着・除去療法を行いその効果を示した。旭川医科大学の綾部先生、高後教授は遠心分離法でもリンパ球だけでなく、顆粒球をリンパ球と同時除去すれば、膜による白血球除去療法と同等な効果²⁰⁾があることを示され、本疾患の治療に関して顆粒球とリンパ球の同時除去が重要であることがわかった。

大腸よりの出血・下痢を起こしている潰瘍性大腸炎患者に対して体外循環治療で最も危惧されたことは、体外循環に不可欠な抗凝固薬を使用することで、かえって腸管よりの出血を増悪させるのではないかということであった。幸いにも日本には半減期の短いナファモスタットメシレイト（フサン[®]）²¹⁾があり、すでに出血傾向のある腎不全患者の人工透析に臨床応用され、その安全性が認められていたため、潰瘍性大腸炎治療にもフサン[®]を使用できた。このフサン[®]の存在が潰瘍性大腸炎に体外循環治療を比較的心配少なく施行させてくれたもう一つの立役者なのである。

結 語

日本の企業がつくり上げた細胞吸着・除去療法技術と日本の企業が開発した新しい抗凝固薬の両者の存在、そして数多くの消化器内科・外科医の熱意により日本発の本療法が成り立ったと言っても過言ではない。

文 献

- 1) Kambic HE, Nose Y: Historical perspective on plasmapheresis. *Ther Apher*, 1; 83, 1997.
- 2) Klein HG, Garner RJ, Miller DM, et al: Automated partial exchange transfusion in sickle cell anemia. *Transfusion*, 20(5); 578, 1980.
- 3) Taft EG: Therapeutic apheresis. *Human Pathology* 14; 235, 1983.
- 4) Bicks RO, Groshart KD (ed.): The current status of T-lymphocyte apheresis (TLA) treatment of Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol*, 11; 136, 1989.
- 5) Lerebours E, Bussel A, Modigliani R, et al: Treatment of Crohn's disease by lymphocyte apheresis: A randomized controlled trial. *Grouped Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires Digestives. Gastroenterology*, 107; 357, 1994.
- 6) Takenaka Y: Lymphocytapheresis. *Artif Organs*, 20; 914, 1996.
- 7) 柏木伸仁, 朝倉昭子郎, 井出達夫, 他: 家兔の感作関節炎に対する顆粒球体外吸着療法の効果. *炎症*, 14; 313, 1994.
- 8) 柏木伸仁, 平田一郎, 柏川禮司: 顆粒球・活性酸素と炎症反応の調節. *活性酸素・フリーラジカル*, 16; 77, 1995.
- 9) Hidaka T, Suzuki K, Matsuki Y, et al: Change in the ratio of activated T lymphocytes in the circulating blood following filtration leukocytapheresis therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Jpn J Apheresis*, 15; 98, 1996.
- 10) Hidaka T, Suzuki K, Matsuki Y, et al: Filtration leukocytapheresis therapy in rheumatoid arthritis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*, 42; 431, 1999.
- 11) Kashiwagi N, Hirata I, Kasukawa R: A role for granulocyte and monocyte apheresis in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ther Apher*, 2; 134, 1998.
- 12) Amano K, Ezaki H, Fujimoto K, et al: Leukapheresis for autoimmune disease. *Therapeutic Plasmapheresis IX*; Oda, ed, ISAO Press, Cleveland, 423, 1991.
- 13) Yonekawa M, Kawamura A, Komai T, et al: Extracorporeal granulocytapheresis for cancer and rheumatoid arthritis. *Transfus Sci*, 17; 463, 1996.
- 14) Tabuchi T, Ubukata H, Sato S, et al: Granulocytapheresis as a possible cancer treatment. *Anticancer Res*, 15; 985, 1995.
- 15) Sawada K, Ohnishi K, Fukui S, et al: Leucocytapheresis therapy, performed with leukocyte removal filter, for inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*, 30; 322, 1995.
- 16) Shimoyama T, Sawada K, Hiwatashi N, et al: Safety and efficacy of granulocyte and monocyte adsorption apheresis in patients with active ulcerative colitis: A multicenter study. *J of Clin Apheresis*, 16; 1, 2001.
- 17) Gourlay T, Fleming J, Taylor KM: Laboratory evaluation of the LG6 leukocyte depleting arterial line filter. *Perfusion*, 7; 131, 1992.
- 18) Amano K, Amano K: Filter leukapheresis for patients with ulcerative colitis: clinical results and the possible mechanism. *Ther Apher*, 2; 97, 1998.
- 19) Sawada K, Ohnishi K, Kosaka T, et al: Exacerbated autoimmune hepatitis successfully treated with leukocytapheresis and bilirubin adsorption therapy. *J of Gastroenterol*, 32; 689, 1997.
- 20) Ayabe T, Ashida T, Taniguchi M, et al: A pilot study of centrifugal leukocyte apheresis corticosteroid-resistant active ulcerative colitis. *Int Med*, 36; 322, 1997.
- 21) Aoyama T, Ino Y, Ozeki M, et al: Pharmacological

studies of FUT-175, nafamstat mesilate. Inhibition of protease activity in in vitro and in vivo experiments.

Japan J Pharmacol, 35; 203, 1984.