

敗血症と生体反応(18)

遠藤 重厚*
Shigeatsu Endo

要 旨

医療の進歩にもかかわらず敗血症の死亡率は依然として高い。また、敗血症の発生数は増加の傾向にある。過去20年の敗血症に対する主流の考え方は、敗血症の罹患・死亡の多くは細菌や細菌産生物質に対する宿主の過剰な炎症反応によるものであるというものであった。これまで前臨床試験において、この宿主の炎症性反応を制限するようにデザインされた薬物が有望な効果を示し、多数の臨床試験が行われるようになった。しかし、大規模臨床試験においてはほとんどすべてが失敗に終わっている。本シリーズの最終項の目的は、過去20年間の敗血症の大規模臨床試験から学んだ知識を概説し、敗血症早期および後期における先天免疫の調節を目的とした現在および将来の治療を評価することである。

Key words : 敗血症, 治療, 炎症

18. 敗血症における抗炎症療法についての展望

1. はじめに

敗血症は細菌感染による代表的な全身性反応である。その反応は細菌毒素や微生物細胞壁断片の成分により惹起される。病原菌確認のためのgerm-lineがコードされた受容体による先天免疫は、系統発生的に古来からの微生物防御機構の代表である。獲得免疫は以前遭遇した病原菌の記憶を呼び起こし、抗原認識受容体のレパートリーを拡大させる。

重度の敗血症は、先天免疫反応の過剰刺激が炎症性メディエータの過剰な放出と、多様で複雑な蛋白分解カスケードの活性化をもたらす場合に発

症する。このような防御反応は細菌毒素と感染を除去するが、自身が組織障害や死亡をもたらす可能性がある¹⁾。米国では毎年50万人以上が重度の敗血症を発症し約40%が死亡する^{2,3)}。さらに敗血症の処置はICU入院期間の延長や資源使用増加により、重大な経済的影響をもたらす。この結果、敗血症による治療効果改善のための戦略決定には多大な注意が払われてきた。

従来の敗血症治療は、迅速な蘇生と生理学的支援、感染源の根絶、適切な抗菌治療から成っている³⁾。敗血症による臓器障害や、死亡における宿主の過剰な防御反応の重要な役割に関する理解が進歩してきたことにより、最近の研究は免疫調節療法の適応にも向いていた³⁾。しかし免疫調節薬は当初実験動物やいくつかの第II相試験の結果より推奨されたが、大規模臨床試験において生存を

Shigeatsu Endo et al.: Sepsis and pathophysiology.

*岩手医科大学医学部 救急医学

有意に改善することが必ずしも明らかになっていない。この敗血症の免疫療法による失望経験は、慢性関節リウマチやクローン病のような慢性疾患における炎症性サイトカイン (TNF, IL-1など) を標的とした同様の薬剤によるものとは対照的である¹⁾。

敗血症の転帰改善における免疫調節療法の失敗により、この分野の薬剤開発と臨床試験計画について重要な疑問が提起される。敗血症の免疫調節療法の主な臨床試験を検討すると失敗の原因が見えてきて、今後の敗血症試験で理論上免疫調節療法が最も有益な患者の選択に役立つ可能性がある²⁾。

2. これまでに学んだ知識

敗血症治療の新たな治療ターゲットを同定するため、過去20年間に、少なくとも35件の免疫調節療法の効果を検討する第II, III相試験に17,000人が登録された。これらには、大量コルチコステロイド、内毒素に対する抗体、特異的な宿主メディエータを選択的に阻害するようにデザインされた薬剤が含まれている。

大量コルチコステロイド：内毒素血症あるいは菌血症動物における前処置としての適応成功に基づき、早期臨床試験は敗血症性ショック患者における大量コルチコステロイドの効果を検討した。しかし大規模二重盲検試験では、敗血症性ショックの発症初期に投与した場合でもコルチコステロイドの有益性はみられなかった⁴⁾。最近の試験は、持続的敗血症性ショック患者あるいは消退しない敗血症誘発性臓器障害患者において、より少量のコルチコステロイド使用が生存を改善することを報告している⁴⁾。

抗内毒素抗体：特異的抗内毒素治療、例えば加熱殺菌 *E.coli* J5に対する超免疫性ポリクローナルヒト免疫グロブリンG、内毒素のlipid Aに対するネズミ (E5) およびhumanized (HA1A) モノクローナル抗体が、重度のグラム陰性菌感染症患者を対象として検討されてた⁵⁾。第II相の臨床成績は有望であったが、大規模試験では有益性はみられず、内毒素の影響を効果的に遮断できないためと思われた。現在、殺菌性透過性亢進蛋白質 (BPI) のようなより特異的な抗内毒素薬につい

て検討中である⁶⁾。

メディエータ特異的免疫調節薬、抗TNF治療：非グルココルチコイドメディエータ特異的抗炎症薬のうち、抗TNF治療は最初に使用された薬剤であり、抗TNFモノクローナル抗体 (MAb) と可溶性TNF受容体を含んでいた。TNFは敗血症の病態生理に関与する炎症性メディエータである。動物モデルの多くでTNF投与により敗血症が発症することはよく知られている。またTNFに対するMAbによる治療も多くの敗血症モデルにおいて生存を改善する。抗TNF MAbによる臨床試験は9件報告されており、5件は二重盲検試験である。個々の試験はラットにおける死亡率の有意な減少を示さなかった。試験結果をプールした場合、若干の有意でない死亡率減少傾向を示すことができた：42% vs. 39%, $p=0.14$ ²⁾。しかし抗TNF MAbを用いた第III相試験の予備成績では有望であった。循環中の細胞から自然にshedされ生物工学的技術による産生が可能な可溶性TNF受容体 (sTNFr) は、第2の抗TNFアプローチに使用された。3件の二重盲検試験では有益性は示されず、小規模試験では大分子量sTNFrによる死亡率増加さえみられた²⁾。

IL-1受容体拮抗薬 (IL-1ra)：サイトカインであるIL-1も敗血症の多くの病態を惹起する。これらの影響は、マクロファージを含む様々なタイプの細胞で産生される天然のIL-1受容体拮抗物質IL-1raにより遮断することができる。重度敗血症患者を対象として施行された試験3件 (二重盲検2件) は、治療群とプラセボ群に生存率の差がないことを示した。まとめて分析した場合には、IL-1ra治療患者において若干の死亡率減少傾向を認めた：36% vs. 31%, $p=0.10$ ²⁾。

PAF受容体拮抗薬 (PAFra)：血小板凝集因子 (PAF) は、ARDSや敗血症中のサイトカイン放出に関与するリン脂質である。2件の二重盲検試験は、PAF受容体拮抗薬 (BN 52021) は生存を有意に改善しないことを示した。しかしメディエータ特異的抗炎症薬では、これまでで最大の有効性傾向が観察された：死亡率50 vs. 45%²⁾。最近、他の化合物 (BB-882) を用いた第II相試験において、重度敗血症患者の生存を有意に改善しないことが再度示された。他のPAF拮抗薬、PAFアセ

チルヒドロラーゼは第Ⅱ相敗血症試験において有望な早期結果を示している。

非ステロイド性抗炎症薬：抗プロスタグランジン薬イブプロフェンは、二重盲検試験3件で検討された。イブプロフェンの有益性はいずれにおいても示されなかった。試験データ3件をプールした場合でも、2治療群間で死亡率に有意差はみられなかった：40 vs. 37%, $p=0.14^{2)}$ 。

ブラジキニン拮抗薬：ブラジキニンは敗血症におけるサイトカイン放出と血管の変化に関与する生物活性ペプチドである。二重盲検試験2件ではブラジキニン拮抗薬による死亡率改善はみられなかった²⁾。

全体として個々の試験はメディエータ特異的免疫調節薬による有意な有効性を示さなかった。しかし6種類の薬剤によるデータをプールした場合、生存率において比較的軽度(<10%)ではあるが有意な治療効果が観察された(39 vs. 36%, $p=0.023$)。6種類の薬剤が同一の薬剤クラスを代表すると仮定できる場合、この成績は敗血症に対する抗炎症薬の使用にいくらかの正当性があることを示唆する。

どの抗炎症薬においても生存率の有益性を示すための敗血症試験には非常に多数の登録者(6,000~7,000人)が必要であることがNatansonらにより算出されている。したがって、これら試験が敗血症に失敗した理由を理解することは、より効果的な薬剤の検索へのより良い方向性を示すとともに、治療アプローチのための患者集団のより良い選択に役立つ可能性がある。

3. なぜ敗血症の臨床試験は失敗したか？

敗血症の臨床試験はいくつかの理由のため失敗した可能性がある。

- 1) 試験薬剤が無効であったかもしれない。
- 2) 選ばれたターゲットが間違っていたかもしれない。
- 3) 臨床試験デザインが適切でなかったかもしれない。

しかしこれら試験の失敗は、前臨床試験に使用した動物モデルや特殊なタイプの治療に反応する敗血症患者の、同定基準を明確に特徴づける能力といった点に関して他の疑問を提起する。

検討した一部の薬剤は臨床的に不十分な活性を有していた可能性がある。これは絶対的生物活性が欠如していたか、他のメディエータにより*in vivo*で不活性化されたためである。あるいはまたサイトカイン(TNFあるいはIL-1)のような媒介となる特異的宿主メディエータに対する薬剤の活性にもかかわらず、敗血症中の他の有害な宿主システム(凝固あるいは補体カスケードなど)の独立した活性化が無効にした可能性がある。敗血症患者、例えば心不全のような重度の基礎疾患を有した患者の死亡も、炎症反応そのものとは別の因子に関係する可能性がある。そのような患者において、炎症性メディエータの抑制は臨床転帰にほとんど関与しないかもしれない。宿主のTNFのような炎症性メディエータの発現レベルにおける遺伝的変動も、一部の患者ではその薬剤を有益に、他では有害にする可能性がある⁷⁾。

前臨床モデルにおける抗炎症薬の有効性と失望させられた臨床経験との相違は、モデルの適切性について重要な疑問を提起する。敗血症と臨床診断された患者と既知の細菌感染症あるいは内毒素血症を呈した動物との、生化学的および免疫学的反応の差によって、実験研究と臨床試験を比較した場合の成績の相違は説明できる。動物モデルにおいて、初期の刺激開始から死亡までの病態の経過は予測可能で、通常迅速な時間経過をたどる。そのようなモデルにおいてもたらされたサイトカイン産生は認知されたパターンで起こり、コントロールできる⁸⁾。したがって、動物モデルにおいて活性化されたカスケードの一つあるいは他のサイトカインを遮断して転帰に影響を及ぼすことは比較的容易である。ヒトを敗血症性ショックおよび敗血症性臓器障害に導くイベントの連鎖はより複雑である。我々は多くの敗血症患者が動物モデルの場合とは似ていない長く複雑な病態の経過を示すことを以前から良く知っている。例えば、初めは回復に向かっている汎発性腹膜炎の入院患者は、その後続発性合併症(ベンチレーター関連肺炎や腹腔内膿瘍形成など)の結果として再発する可能性がある。動物実験からの一般化を妨げる2つの他の問題点がある。炎症性サイトカインの活

性を遮断することは、チャレンジ前に投与された場合通常は成功する。サイトカインの遮断は何10億という*E.coli*や大量の内毒素のボラス静注により示されるように、毒性チャレンジが超急性である場合特に有効である。実際、動物モデルでも腹膜炎（盲腸結紮および穿刺モデル）や肺炎のようにチャレンジが亜急性の場合には、サイトカイン遮断はほとんど不成功か有害である^{1,8,9)}。ヒトにおいて細菌感染症の部位とタイプは非常に様々であり、また患者は多様な基礎疾患を有している。

敗血症における抗炎症薬についての我々のこれまでの乏しい経験は、炎症性組織障害により明確に特徴づけられる良く確定された疾患（クローン病と慢性関節リウマチなど）においてこれら薬剤（抗TNF Mabsなど）が示す有効性とは対照的である。この差は敗血症と同定された大規模集団において病因機序の不均一性の存在の可能性があることを強調したい。したがって慢性関節リウマチとクローン病は病態が、特殊な免疫学的、放射線医学的、病態生理学的診断基準で良好に述べられるのに対し、敗血症の明らかな特徴は主に適切な臨床状況で発症する臓器障害に基づいている¹⁾。敗血症の甚だしく広範な定義は、より厳しく同定された患者集団においてのみみられる抗炎症薬の有効性の証拠を全て否定する可能性がある。

多くの敗血症試験で使用された評価基準は、ACCP/SCCMにより開発された敗血症の定義を基本とした。これらの基準は概念的に有用であるが非特異的である。非特異性についての理解が乏しいと、敗血症試験において研究者が不適切な非敗血症患者を登録する可能性がある。またACCP/SCCM基準はあまりにも限定されているため、発熱のようなエントリーに必要な基準を満たすことができない重度の感染症患者を除外する可能性がある。このように、これら基準は非特異的であるだけでなく、敗血症性ショック患者の同定に対する感受性が低い¹⁰⁾。

敗血症の臨床試験に登録された患者における実際の感染症の存在の有無とタイプも、抗炎症薬の効果に影響する可能性がある。これら試験のエントリー基準は、主に臓器障害に関連した最近の感染症発症という臨床症状を有した患者を含むようにデザインされている。さらに、臨床経過早期に

登録する必要性が認められたため、多くの試験で最近培養陽性は要求されなかった。しかし多くの試験において、最終的に登録された患者のうち血液培養陽性であるのは少数（すなわち30%）のみであることが明らかになった¹¹⁾。実際この数は観察研究で測定された集団における血液培養陽性率の期待値（すなわち50~60%）よりも低い。したがって感染症患者登録の必要条件の欠如は、敗血症における免疫調節薬の有益性を検討する試験において転帰に悪影響を及ぼす可能性がある。この可能性は抗炎症療法（抗TNF Mabなど）の効果改善により支持され、盲検データ安全性モニタリング委員会が試験において感染症の明らかなエビデンスのない患者を除外した場合注目される¹²⁾。大部分の臨床試験で使用された敗血症の定義は感染症罹病期間やその解剖学的部位も含まなかった。先に強調したように、動物実験において一次血管内菌血症のより迅速な発症に比べ腹腔内あるいは肺内感染症のより緩徐な発症では、抗サイトカイン治療に対し様々な反応パターンがみられる^{1,8,9)} ため、そのような分類は特に重要である。さらに抗炎症療法への反応は感染状況下でより明らかになるだけでなくグラム陽性菌感染症とグラム陰性菌感染症とで異なる可能性があるにもかかわらず、微生物学的分類は免疫調節薬のプロスペクティブな臨床試験において使用されなかった¹⁰⁾。

内毒素、TNF、IL-1およびPAFが敗血症の病態生理における重要なメディエータとして同定され、最近の臨床試験でターゲットになっているのに実際の過剰濃度の存在は試験へのエントリーに必要なではなかった。むしろショックを伴う、あるいは伴わない1種類以上の臓器障害の存在のような臨床基準が使用された。敗血症患者では興味深いメディエータの上昇が臓器障害を伴うための前提条件であったが、IL-1raおよび抗TNFによる臨床転帰より集められた試験データは少数でのみ相関がみられることを示唆した。例えば、NORASEPT II試験（敗血症性ショック患者における抗TNF MAbの試験）では、40%のみが登録時に検出可能な循環TNF濃度を示した¹⁾。このように試験薬剤が直接関与するメディエータの血漿中濃度上昇がみられる患者を集めるための必要条件の欠如は、敗血症試験における免疫調節薬の有

益性に悪影響を及ぼす可能性がある。これを支持するものとして、NORASEPT II試験において登録時に検出可能な循環TNF濃度を示した患者は、MAb投与によりプラセボに比し死亡率が18%減少した¹⁾。一方循環TNF濃度が上昇していない患者では抗TNF治療が無効であった。先に述べたように、抗TNF MAbによる新たな第Ⅲ相試験の予備的成績は有望である。この第Ⅲ相試験において、IL-6のベッドサイドでの測定は治療に反応する患者選択に有用である (*E. Panacek*, 個人的情報)。しかし興味深いことに、同様のアプローチ(登録基準としてのベッドサイドでのIL-6測定)は他の抗TNF MAbを検討した第Ⅲ相試験では失敗した(MAK 195, Knoll)。

敗血症試験における実際的なエンドポイントは死亡率であろうか? 転帰の疑問は議論の余地がある。現在、28日全死因死亡率は有効性のゴールドスタンダードとなっている: 薬剤は28日死亡率が有意に減少した場合のみ価値があると考えられる。*Cohen*らは次のような疑問を提起した⁸⁾: 「専門家委員会と規制当局は厳格な要求により有効性を見逃すという、タイプ2のエラーを起こす危険はないか?」。我々は複合疾患を扱っており必ずしも単一の回答を期待するべきではない。多くの専門家は、将来の臨床試験では臓器障害フリーの日数、ベンチレーターフリーの日数、透析の必要性などの病的状態エンドポイントが死亡率の代わりになると信じている。さらに全生存率の改善のない生存期間延長は、単にQOLの改善がみられず重症管理資源の利用が増加するICU内入院期間の延長と解釈される可能性がある。

試験薬剤失敗理由に関する他の説明は最近のレビューで発表されている。抗炎症薬投与のタイミング(例, 早期あるいは後期)や方法(例, 至適用量あるいは期間)の変化が臨床試験における効果を変化させる可能性がある¹¹⁾。また試験集団が外科的感染源コントロール, 抗菌薬, 併用したICU支持ケアの妥当性を含む併用治療の有無に関して非常に不均一であった可能性がある。そのような問題の特殊なエビデンスは、臨床評価委員会が敗血症試験における処置を詳細にレビューした時に明らかになった¹²⁾。

4. 今後の試験のための新たな提言

敗血症の臨床試験による経験から多くのことを学んだことは疑いが無い。15年前に行われた大量コルチコステロイドによる敗血症試験のデザインと、メディエータ特異的薬剤による最近の試験の一つとの単純な比較は非常に良く示す。現在リスク評価、基礎疾患の重症度、抗菌治療の適切性、手術の妥当性などのような転帰に重大な影響を及ぼす可能性のある因子について非常に注意深く考慮している。我々の経験は今後の試験に対する勧告の基礎となるものである。

感染症により発症する臓器障害のリスクで患者集団を同定するACCPg/SCCM基準の使用¹⁾は、より特異的で理解でき再現性のある定義に改良するか代えるべきである。感染部位による^{1,8,9)}のと同様、グラム陰性菌感染症とグラム陽性菌感染症により開始される細胞内情報伝達カスケードにはかなりの相違がある¹⁰⁾ ため、将来の免疫調節薬の試験に登録される患者において、感染症の性質と部位を限定することは理にかなっていると思われる¹⁾。例えば免疫調節療法は最初に髄膜炎菌血症あるいは肺炎球菌肺炎の患者においてのみ検討された可能性がある。Jarisch-Herxheimer反応の予防のための抗TNF治療¹⁾や髄膜炎菌血症に対する内毒素遮断⁶⁾における陽性の結果は、感染症患者の特定グループが一部の免疫調節薬の有効性に感受性が高い可能性を示唆する。

ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)のような迅速な微生物学的診断法は、細菌検査を加速し感受性を高める可能性がある。検査は試験における感染症患者の早期での正確な登録をより確実にする。

免疫学、炎症あるいは生化学的経路における明らかな異常に基づいた感染症患者の分類は、臓器障害が不可逆性になる前の臨床経過のより早期により均一の集団を含める可能性がある。これらの検査は試験薬剤が阻害あるいは置換するようデザインされた特異的メディエータに焦点をあてた。血漿中内毒素濃度は内毒素遮断を目的とした試験で測定し、血漿中TNFあるいはIL-6濃度は抗TNF MAbの試験で測定した。血漿中ATⅢあるいは活性化プロテインC濃度は、これら因子が治療で使用された場合に測定した¹³⁾。視床下部-副腎系はコルチコステロイド試験において動力学的

に評価した¹⁴⁾。炎症の免疫学的マーカーと宿主防御反応のモニタリング技術の改善は、敗血症における臓器障害に関与する中心機序に対する将来の治療効果の評価に重要である¹⁵⁾。

転帰に関しては、エンドポイントとして14および28日生存の使用を再度検討するべきである。QOLや使用資源、費用に関する長期転帰（例、3か月以上）の情報は、将来の敗血症試験において重大である。

確かに「臨床評価委員会」は試験の質を著明に改善する¹²⁾。これらの委員会は、死因とともにエントリーおよび除外基準、基礎疾患の重症度、微生物学的データ、抗菌治療および手術の適切性についての妥当性を分析する。委員会の設置は試験において標準とすべきである。

最後に今後の臨床試験において抗菌薬、血行力学および換気支持のような併用治療の一定した管理を確実にするプロトコルの実行は有益と思われる。確実な均一性はできる限り常に標準とするべきである。

5. 先天免疫調節における将来の方向性

メディエータ特異的抗炎症薬の比較的小さな治療効果が示されたならば、より効果的な薬剤を検索し続けなければならない。先に述べたように失望させられた結果は感染症における炎症反応の治療的調節の価値を否定しない。実際、微生物細胞壁成分はサイトカイン放出を介した間接的な作用だけでなく、一酸化窒素や凝固／線溶、補体等の経路を直接刺激することによって炎症および毒性反応を刺激する。サイトカイン活性の遮断は前者の過程を調節できるが、直接活性化されているカスケードを妨害しない。この点については他の重要な経路（例、一酸化窒素、凝固および補体）の直接調節とともに、微生物毒素（例、Toll様受容体の拮抗薬）の直接効果を阻害するようにデザインされた治療が検討されることを示唆する。宿主受容体（Toll様受容体）における微生物生成物の早期効果か、重要な宿主経路（例、一酸化窒素、凝固、補体）におけるより遅発性効果のどちらかを遮断するようにデザインされた治療法を、別々に検討することが重要であると信じる。さらにマクロファージ遊走阻止因子（MIF）や高可動性グ

ループ-1（HMG-1）蛋白質のような他の宿主メディエータが、炎症反応の後期に起こる組織障害と死亡の病因として重要であるらしいことが最近明らかになっている。これらメディエータの血漿中濃度は、敗血症発症後「古典的な」前炎症性サイトカインよりゆっくり最大になる。したがって将来の治療介入のための他の魅力的なターゲットとなる。

a) 敗血症の早期段階

1) Toll様受容体

炎症反応の惹起に関与する分子および細胞などが関与する過程は、最近良く明らかにされている。グラム陰性菌内毒素は特殊な血漿急性期蛋白質（リポ多糖類結合蛋白質、LBP）と結合し、複合体はマクロファージ膜CD14受容体と結合する。その後内毒素は、最近Toll様受容体（TLR）4として同定された膜経由の情報伝達を促進させる他の受容体に結合する¹⁶⁾。グラム陽性菌はスーパー抗原により、より高頻度にTLRファミリーの他のメンバー、TLR2に結合する細胞壁成分により敗血症を惹起できる。TLRおよびCD14のカスケードを遮断することはグラム陰性およびグラム陽性菌による反応としてのサイトカイン放出を抑制する可能性があるため、魅力的な治療ターゲットである。

2) メディエータの濾過

機械的濾過による血液精製も敗血症の治療法として提案されている。過剰な炎症反応は血液濾過、特に高流量および多孔性血液フィルタを用いることにより中和できると仮定されている。しかし炎症性メディエータの臨床的に効果的な除去のエビデンスは、転帰に対する血液濾過の有効性のエビデンスと同様少ない¹⁷⁾。一方、吸着技術と組み合わせた血漿濾過は内毒素とサイトカインの除去により効果的である可能性がある。しかしこの方法の臨床経験はこれまで限られている¹⁸⁾。

3) iNOS阻害薬

一酸化窒素（NO）は多くの細胞タイプにより産生されるフリーラジカルガスであり、病態形成に広範に関与して細胞および血管レベルで有害お

よび有益な影響を及ぼす。NOは細胞内で一酸化窒素シンターゼ (NOS) により触媒されるL-アルギニンの酸化により合成される。これらの酵素には構成成分として含まれているカルシウム依存型 (cNOS) と誘導性のカルシウム非依存型 (iNOS) が存在する。iNOSの発現は多くのタイプの細胞で様々な刺激で誘導される。いったん生成されたNOは、スーパーオキシドアニオンと反応して核酸、脂質、蛋白質を含む多くの分子に毒性効果を示す強力な酸化薬である亜硝酸過酸化物 ($\text{ONOO}\cdot$) を形成できる。様々な動物モデルにおいて、敗血症は内皮およびiNOS酵素活性によりNOの基本的放出を増加させる¹⁹⁾。そのような状況においてNOの間接効果の制限は、組織障害を軽減し生存を改善する実行可能な治療オプションの一つとなる可能性がある。同時にNOの直接効果の維持あるいは亢進は酸化薬による臓器損傷の軽減、組織灌流の改善、白血球粘着と血小板凝集の抑制に適している可能性がある。

一部の動物モデルにおいてNO産生を遮断することは死亡率を増加させるため、アプローチの前臨床試験データは他の戦略よりもあいまいである。さらにNOSの非特異的な競合阻害薬 (L-N-モノメチルアルギニン, L-NMMA) による小規模第II相試験の成績は有望であったにもかかわらず、大規模第III相試験は治療群で死亡率が増加したため早期に中止された^{15, 20)}。

NOの効果を調節するための実現可能な戦略は、その有害効果を根絶する一方で有効性を保護するべきである。選択的iNOS阻害薬は非選択的阻害薬よりも良好に達成する可能性があるが、これらの化合物は未だに臨床試験を施行されていない。敗血症過程中的様々な時期で様々な薬剤が必要かもしれないしNO阻害薬とNOドナーとの併用が必要かもしれない²⁰⁾。他のアプローチは亜硝酸過酸化物産生の制限 (スカベンジャーなど) を目的とした治療を含む。そのような薬剤は過剰なNO、スーパーオキシドアニオン、亜硝酸過酸化物の除去に有効と思われる。特異的亜硝酸過酸化物スカベンジャーは開発の比較的早期段階であるが、選択的iNOS阻害と亜硝酸過酸化物スカベンジングの特徴を併せ持つ、最近開発された化合物メルカプトエチルグアニジンが炎症およびショッ

クの実験モデルにおいて有意な有益性を示すことが明らかになっていることは注目に値する²¹⁾。

4) 酸素フリーラジカルスカベンジャー

酸素フリーラジカルの過剰産生は敗血症性ショック中の内皮細胞障害と多臓器不全に関連する。N-アセチルシステインは最も重要な内因性抗酸化薬の一つである。敗血症性ショック患者における有望な成績を期待して使用されている¹⁵⁾。しかし大規模臨床試験はこれまで施行されていない。

5) 凝固／線溶系

敗血症中、細菌成分の炎症性サイトカインは単核球および内皮細胞において組織因子 (TF) の発現を誘導する。これは外因性凝固系の活性化と凝固因子および内因性阻害物質の消費を促進し、播種性血管内凝固 (DIC) に導く。DICに関連した微小血管血栓は、現在敗血症による臓器障害において重要な役割を演じていると信じられている。正常状況下でみられる凝固防止の調節機序には、組織因子経路阻害物質 (TFPI)、アンチトロンビン III (AT III)、プロテインCが関与する。これら各阻害機序は重度敗血症の転帰を改善するための治療ターゲットとして現在検討されている。

TFPIは、第Xa因子の直接阻害作用と第VIIa／TF触媒性複合体の阻害作用を有する外因系凝固経路の内因性拮抗物質である。敗血症性腹膜炎を呈したウサギと*E.coli*を注入されたヒヒにTFPIを投与した場合、生存と臓器不全が改善した。有意な抗凝固効果の欠如した用量を発作数時間後に投与した場合でも有効であった。TFPIは治療動物においてIL-6、IL-8の血漿中濃度を減少させることにより抗炎症活性を示すことも明らかになった。ヒトボランティアでは大量投与によりトロンボプラスチン時間が延長したが、耐容性は良好である。大量投与のパイロット試験とは対照的に、少量投与を用いた新たな第II相試験では出血性合併症がみられず生存の改善傾向を示した²²⁾。

AT IIIは第IXa因子、第Xa因子、トロンビンを含む活性化蛋白分解酵素を阻害する凝固系の重要な阻害物質である。AT IIIの血漿中濃度は敗血症の動物およびヒトで減少し生存と逆相関する。超生理学的濃度のAT III注入はDICおよび関連する

病的状態を予防する可能性がある。重要なことは、この戦略は敗血症を呈した多くの動物種において生存に有益であったが、この症候群に関連したATⅢ消費増加の代償として大量投与が必要であったということである。いくつかの希望を与える第Ⅱ相試験²³⁾にもかかわらず、大規模第Ⅲ相試験は最近重度敗血症患者において死亡率は改善しないことを明らかにした。

プロテインCはビタミンK依存性蛋白質であり、内皮細胞表面でトロンビン-トロンボモジュリン複合体により活性化される。活性化プロテインC (APC) は、補因子プロテインSとともに第VaおよびVⅢa因子を不活化してトロンビン生成を阻害する抗凝固薬として機能する。組換えヒトAPC (rhAPC) と血漿由来APCは、敗血症性ショックの動物モデルにおいて臓器不全と生存を有意に改善することが明らかになっている。プロテインC濃度減少は、敗血症中の持続的前凝固状態、敗血症による急性肺障害、外傷、髄膜炎菌血症と関連する。プロテインC濃度は生存と逆相関するため、ヒト敗血症における転帰の強力な予測因子となる。大量APCを検討する第Ⅱ相試験は、有望な成績を示した²⁴⁾。そのような戦略が重度敗血症患者における死亡率を減少させることができたというのは初めてであり、現在この分野でFDAに認可されているのは本剤のみである²⁵⁾。

6) 補体

補体系が食作用と細胞内殺菌作用を促進するオプソニン因子、C3bの生成を通して重要な細菌防御作用を示すということは、一般的に容認されている。低分子量アナフィラトキシンC5aは好中球と内皮細胞に対する強力な作用薬であり血管拡張と血管透過性を亢進する。ラットの腹膜炎モデルにおいて抗C5a治療は菌血症、血液好中球の過酸化水素反応、死亡率を低下させる²⁶⁾。

b) 敗血症の後期段階

1) 少量グルココルチコイド

小規模無作為化試験は敗血症後期における少量グルココルチコイドの使用について理論的根拠を提供したが⁴⁾、今後さらなる検討が必要であろう。(副腎皮質ホルモンについては前項で詳述してい

る)。

2) マクロファージ遊走阻止因子 (MIF)

マクロファージ、T細胞および下垂体より放出される多形質発現性サイトカインMIFは、先天免疫系および炎症反応のコントロールにおいて非常に重要なサイトカインであることが明らかになっている。それはグルココルチコイドの「抗炎症」効果を最優先させることができる。MIFは、いったん放出されるとマクロファージと活性化T細胞による前炎症性メディエータの発現を誘導し、炎症と免疫反応を促進させる。実際に炎症性サイトカインとして働き、エンドトキシンショックと腹膜炎においても重要な役割を演じている。MIFの中和は治療が腹膜炎発症から8時間後に開始された場合でも、このモデルにおける死亡を予防した。腹腔液および血中のMIFの進行性発現は、抗MIF抗体による治療が感染後投与された場合でも有効性を維持している理由の説明となるかもしれない²⁷⁾。治療はほとんど常に感染症発症後開始されるため、マウスを死亡から防ぐ抗MIF抗体の遅延投与能力は抗敗血症薬としての必要条件を満たしているが、本剤についてもさらなる検討が必要である。

3) HMG-1

HMG-1は、内毒素、TNFあるいはIL-1による刺激から8時間以上後に培養マクロファージにより放出されることが明らかになった。抗HMG-1抗体の遅延性投与はマウスにおける内毒素死亡率を減少させた。感染症のため死亡した敗血症患者は血清中HMG-1濃度が上昇していたことより、この蛋白質を治療ターゲットとした検討は妥当であることが示唆された²⁸⁾。

6. おわりに

前臨床試験では、過剰な炎症反応が敗血症関連の罹患・死亡の原因であることが示唆されている。しかし、メディエータ特異的抗炎症薬を全体として解析した結果では、この療法にはある種の多少の利益が存在するようである。抗炎症薬の動物試験でみられた大きな利益がヒトの臨床試験でなぜ再現されないのか、その理由はまだはっきり

していない。この不成功が、試験薬物の生物学的効果の欠如と関係しているのか、このようなアプローチが不適切なためなのかははっきりしていない。

分子遺伝学と細胞生物学における画期的変化は、将来の医療における劇的な変化を約束するであろう。基礎科学における最近の進歩を敗血症患

者の治療改善のために適応可能な診断用器具と治療に応用することは、きわめて重要であろう。しかし、そのような進歩はどれも注意深く臨床的検討を行わなければならない。基礎科学者と医師はベンチとベッドサイドをつなぐのに必要な橋を提供するために協力して研究しなければならない。

文 献

- 1) Abraham, E.: Why immunomodulatory therapies have not worked in sepsis? *Intensive Care Med* **25** : 556 - 566, 1999.
- 2) Severansky, J.E., Natanson, C.: An analysis of clinical trials of mediator-sepecific anti-inflammatory agents. *Sepaia* **3** : 11 - 19, 1999.
- 3) Wheeler, A.P., Bernard, G.R.: Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* **340** : 207 - 214, 1999.
- 4) Meduri, G.U.: An historical review of glucocorticoids treatment in sepsis. *Sepsis* **3** : 21 - 38, 1999.
- 5) Llewelyn, M., Cohen, J.: Anti-endotoxin antibodies in sepsis: a critical evaluation. *Sepsis* **3** : 39-45, 1999.
- 6) Goroir, B.P., Quint, P.A., Barton, P. et al.: Preliminary evaluation of recombinant amino-terminal fragment /permeability-increasing protein in children with severe meningococcal sepsis. *Lancet* **350** : 1439 - 1443, 1997.
- 7) Mira, J.P., Cariou, A., Grall, F. et al.: Association of TNF2, a TNF- α promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality. *JAMA* **282** : 561 - 568, 1999.
- 8) Cohen, J., Heumann, D., Glauser, M.P.: Do monoclonal antibodies and anticytokines still have a future in infectious disease. *Am J Med* **99** : 45S - 51S, 1995.
- 9) Chaudry, I.H.: Sepsis: lessons learned in the last century and future directions. *Arch Surg* **351** : 922 - 923, 1999.
- 10) Opal, S.M., Cohen, J.: Are there fundamental differences of clinical relevance between gram-positive and gram-negative bacterial sepsis? *Crit Care Med* **27** : 1608 - 1616, 1999.
- 11) Vincent, J-L.: Search for effective immunomodulating strategies against sepsis. *Lancet* **351** : 922 - 923, 1999.
- 12) Sprung, C., Finch, R.G., Thijs, L.G., Glauser, M.P.: International sepsis trial (INTERSEPT): role and impact of a clinical evaluation committee. *Crit Care Med* **24** : 1441 - 1447, 1996.
- 13) Esmon, C.T.: New potential therapeutic modalities: aPC. *Sepsis* **3** : 161 - 172, 1999.
- 14) Nnane, D., Seville, V., Troche, G. et al.: A 3-level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA* **283** : 1038 - 1045, 2000.
- 15) Ohen, J.: Adjunctive therapy in sepsis; a critical analysis of the clinical programme. *Br Med Bull* **55** : 212 - 225, 1999.
- 16) Modlin, R.L., Brightbill, H.D., Godowski, P.J.: The toll of innate immunity on microbial pathogens. *N Engl J Med* **340** : 1834 - 1835, 1999.
- 17) Rogiers, P.: Hemofiltration treatment for sepsis: is it time for a controlled trial? *Kidney Inter* **56** : S99 - S103, 1999.
- 18) Tetta, C., Bellome, R., Brendolan, A., Piccinni, P. et al.: Use of adsorptive mechanisms in continuous renal replacement therapies in the critically ill. *Kidney Inter* **56** : S15 - S19, 1999.
- 19) Liaudet, L., Soriano, F.G., Szabo, C.: Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med* **28** : H37 - N52, 2000.
- 20) Thiememann, C.: The use of selective inhibitors of inducible nitric oxide synthase in septic shock. *Sepsis* **1** : 123 - 130, 1998.
- 21) Fischer, S.R., Bone, H.G., Harada, M. et al.: Nitric oxide scavengers in sepsis. *Sepsis* **1** : 137 - 144, 1998.
- 22) Ceasey, A.A.: New potential therapeutics; antithrombin III. *Sepsis* **3** : 173 - 182, 1999.
- 23) Opal, S.M., Thijs, L.G.: New potential therapeutic

- modalities ; antithrombin III. Sepsis **3** : 153 - 172, 1999.
- 24) Esmon, C.T.: New potential therapeutic modalities; aPC. Sepsis **3** : 161 - 172, 1999.
- 25) Bernard, G.R., Vincent, J-L., Laterre, P.F. et al.: Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med **344** : 699 - 709, 2001.
- 26) Czermak, B.J., Sarma, V., Pierson, CL. et al.: Protective effects of C5a blockade in sepsis. Nature Med **5** : 788 - 792, 1999.
- 27) Calandra, T., Echtenacher, B., Le Roy, D. et al.: Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. Nature **6** : 164 - 170, 2000.
- 28) Wang, H., Bloom, O., Zhang, M. et al.: HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. Science **285** : 248 - 251, 1999.
-

重症敗血症に対する長時間エンドトキシン吸着療法

遠藤 重厚・鈴木 泰・佐藤 信博・小鹿 雅博・高橋 学
菊池 哲・松本 尚也・笹生亜紀子・八重樫泰法

岩手医科大学医学部救急医学

Long-Term PMX-DHP Method for Severe Sepsis

Shigeatsu Endo, Yasushi Suzuki, Nobuhiro Sato, Masahiro Kojika, Gaku Takahashi, Satoshi Kikuchi, Naoya Matsumoto, Akiko Saso and Yasunori Yaegashi

Department of Critical Care Medicine, School of Medicine, Iwate Medical University

Summary Two-hour PMX-DHP treatment is taken for endotoxemia. However, long-term PMX-DHP is useful, when the effectiveness is not recognized after a two-hour PMX-DHP treatment. Most of the side effects from the long-term PMX-DHP treatment are not shown in our study. In addition, the long-term PMX-DHP treatment may be useful for Gram-positive bacterium infectious disease.

Key words: endotoxemia, PMX-DHP, long-term method, MRSA

1. はじめに

エンドトキシンはグラム陰性菌の細胞壁に存在する複合リポ多糖類 (LPS) で、先天免疫の強力な刺激因子である¹⁾。in vitro において先天性免疫系細胞をエンドトキシンに曝露すると 300 超の遺伝子発現に変化がみられた^{2,3)}。一方、実験動物に全身投与するとマクロファージ、好中球、内皮細胞、凝固カスケードが活性化され、宿主由来炎症メディエータの複合カスケードが放出される⁴⁾。実際、臓器不全や急性死亡などの含む敗血症性ショックの生理学的および生化学的障害は、実験動物に極微量のエンドトキシンを全身投与することにより再現可能である^{5,6)}。ナノグラム単位のエンドトキシンをヒト志願者に投与すると、確実に急性全身性炎症の臨床的および生化学的特徴が惹起され⁷⁾、高用量では敗血症性ショックと多臓器不全が誘発される⁸⁾。さらに、エンドトキシン単独投与によりグラム陰性生菌感染の症状が広範に現れる⁹⁾。

このエンドトキシン血症に対する治療は種々試みられてきたが、polymyxin-B immobilized fiber (PMX) が開発され¹⁰⁾、本邦においては臨床において広く用いられるようになってきた。

我々もこれまで、エンドトキシン血症に対する PMX を用いたエンドトキシン吸着療法 (PMX-direct hemoperfusion: PMX-DHP) について報告

してきた^{11~13)}。

PMX-DHP は 2 時間施行により効果が得られることが多いが、症例によっては 2 時間の施行で効果発現が不十分であることもみられ、そのような症例においては 2 時間以上の PMX-DHP を施行することも試みられている^{14,15)}。

2. PMX-DHP 長時間施行の成績

我々は PMX-DHP 施行時間検討研究会を組織し、2005 年 10 月から 2006 年 2 月の 5 ヶ月間で PMX-DHP 長時間施行法について検討した¹⁶⁾。

対象症例は敗血症、敗血症性ショック患者であった。

検討方法は、2 時間の通常施行群と 6 時間以上を目安とした長時間施行群に分類し比較検討した (図 1)。症例の重症度は APACHE II スコアで 27.7 ± 7.0 であった。

安全性の指標の一つとして、血小板数推移について検討した。PMX-DHP 開始から 2 時間で血小板数は優に低下し、16% の減少率であった、2 時間以降は有意な減少はみられなかった (図 2)。

安全性の指標の 2 点目としては血清カリウムについて検討した。抗凝固剤にメシル酸ナファモスタットを使用した場合、特に電解質補正作用のない PMX-DHP 単独施行において高カリウム血症が危惧されているが、今回の検討では正常値を大きく外れて、カリ

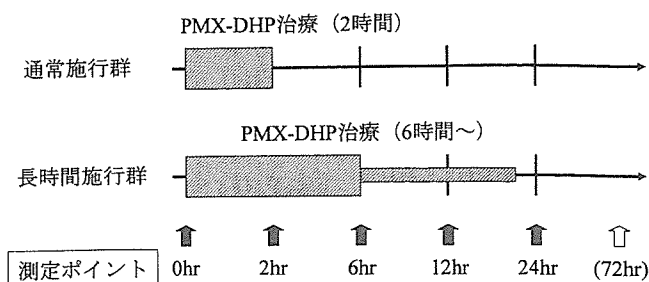


図1 PMX-DHP 施行方法

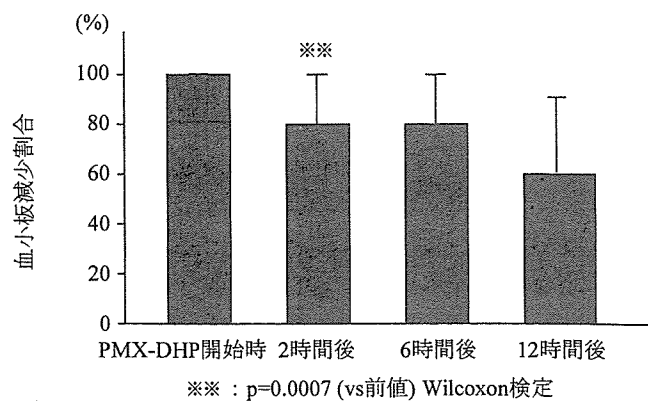


図2 PMX-DHP 施行中の血小板数の減少率

ウムが上昇する症例はほとんどみられなかった（図3）。

PMX-DHP の臨床効果としては、PMX-DHP 施行開始時にショックであった20症例中、2時間施行の症例と6時間以上施行した症例の収縮期血圧と昇圧剤の使用量を検討すると、6時間より長時間施行群では、

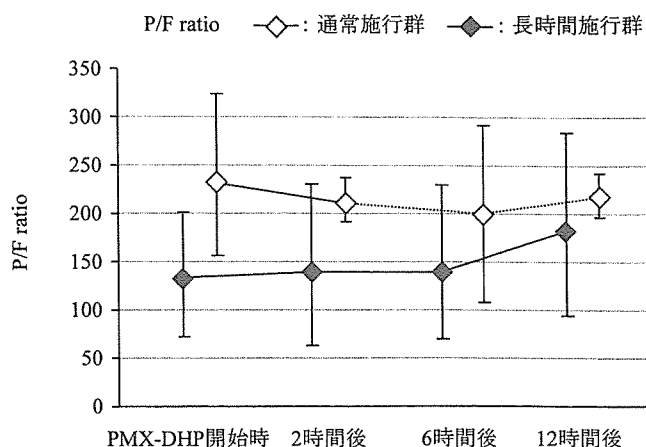


図5 PMX-DHP 施行開始から12時間までのP/F ratioの推移

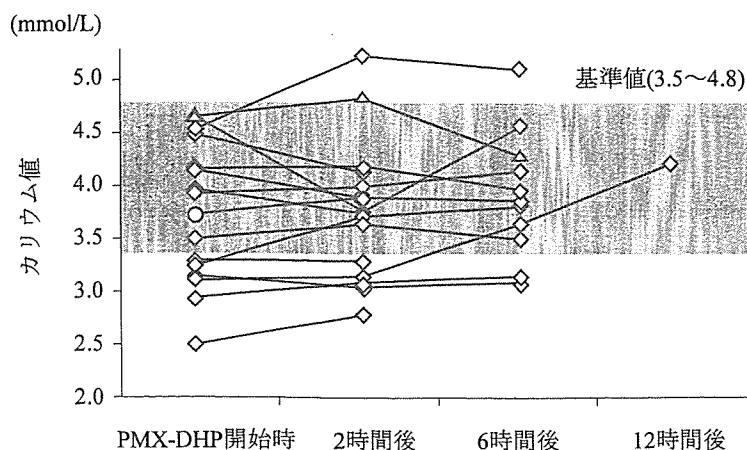


図3 PMX-DHP 施行中のカリウム値の推移

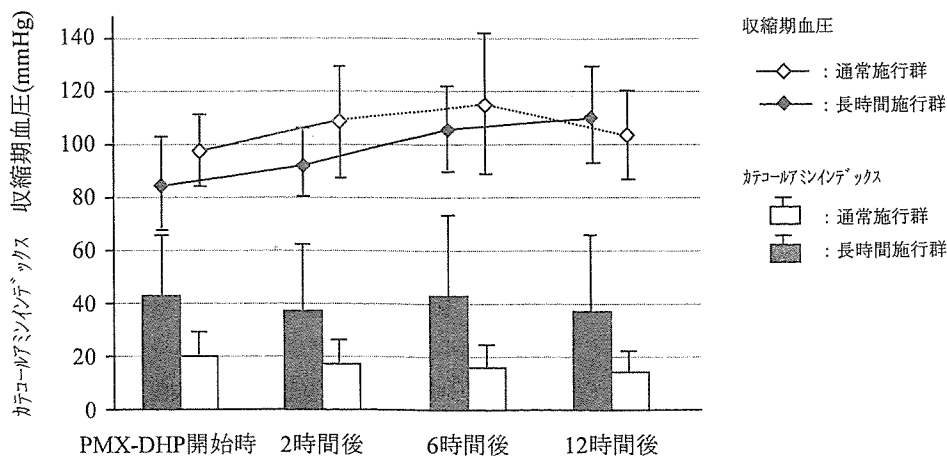


図4 PMX-DHP 施行開始から12時間後までの循環動態の推移

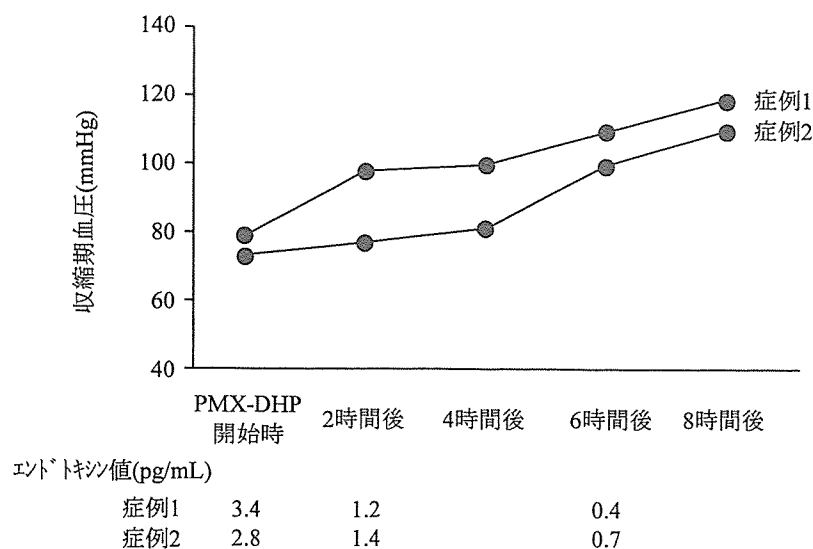


図6 グラム陰性菌による敗血症性ショックに対するPMX-DHP施行時の収縮期血圧の推移

6時間から12時間にかけても血圧の上昇がみられた(図4)。

この検討においてはP/F比は、2時間施行群においては横ばいであったのに対して、長時間施行群においては6時間経過後からP/F比の上昇がみられた(図5)。このように長時間施行により、2時間施行では効果の得られない症例において循環・呼吸状態の改善がみられる場合もある。

また、PMX-DHPを長時間施行することによる不具合はほとんどみられないようである。

3. PMX-DHP 長時間施行の今後の課題

グラム陰性菌感染症に対するPMX-DHP施行時の収縮期血圧をみると、図6の症例1においては2時間のPMX-DHPにより著明な収縮期血圧の上昇がみられている。一方、症例2においてはPMX-DHP 2時間では昇圧効果が得られず、4時間目頃より血圧の上昇がみられている。このように2時間のPMX-DHP施行で臨床効果が得られなければ、さらに時間を延長してPMX-DHPを行うことも考慮する必要があるであろう。一般的には2時間で昇圧効果が得られることが多くみられる。また、PMX-DHPを何時間まで可能なのかについては今後さらなる検討が必要であろう。

図7には、MRSA単独感染症から敗血症性ショックに陥った症例に対するPMX-DHP施行時の収縮期血圧の経過を示している。症例3、4いずれも、PMX-DHP施行6時間後頃より昇圧効果がみられている。このように、グラム陽性菌による敗血症におい

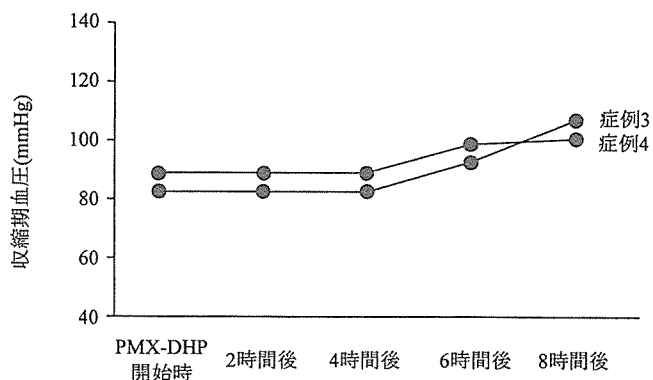


図7 グラム陽性菌による敗血症性ショックに対するPMX-DHP施行時の収縮期血圧の推移

ては、グラム陰性菌による敗血症時より昇圧効果が遅延するようであり、2時間よりは長時間のPMX-DHPが有用であるように思われる。

本来、グラム陽性菌であるMRSAに対するPMX-DHPの効果についての報告は散見されるが¹⁷⁻¹⁹⁾、その機序については未だ解明されてはいないが、ペプチドグリカンがtoll like receptor 2を介してアナンダマイドを産生しエンドトキシンと似たような病態を形成するとも言われている²⁰⁾。アナンダマイドはポリミキシンBと結合することによりその効果が減弱するとの報告もある²¹⁾。この点についても今後の大きな検討課題である。

4. おわりに

2時間で効果が得られないような敗血症症例に対しては、長時間PMX-DHPを試みることの有用性につ

いて、また、グラム陽性菌による敗血症に対する PMX-DHP 長時間施行の有用性について概説した。

文 献

- 1) Ulevitch RJ, Tobias PS: Recognition of gram-negative bacteria and endotoxin by the innate immune system. *Curr Opin Immunol* 11: 19-22, 1999
- 2) Zhao B, Bowden TAS, Stavchansky SA, et al: Human endothelial cell response to gram-negative lipopolysaccharide assessed with cDNA microarrays. *Am J Physiol Cell Physiol* 281: C 1587-1595, 2001
- 3) Fessler MB, Malcolm KC, Duncan MW, et al: A genomic and proteomic analysis of activation of the human neutrophil by lipopolysaccharide and its mediation by p 38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 277: 1291-1302, 2002
- 4) Rietschel ET, Brade H, Holst O, et al: Bacterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Curr Top Microbiol Immunol* 216: 39-81, 1996
- 5) Natanson C, Eichenholz PW, Danner RI, et al: Endotoxin and tumor necrosis factor challenges in dogs simulate the cardiovascular profile of human septic shock. *J Exp Med* 169: 823-832, 1989
- 6) Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, et al: The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med* 321: 280-287, 1989
- 7) Lin E, Lowry SF: The human response to endotoxin. *Sepsis* 2: 255-262, 1998
- 8) Taveira Da Silva AM, Kaulach HC, Chuidians PS, et al: Brief report: Shock and multiple organ dysfunction after self administration of salmonella endotoxin. *N Engl J Med* 328: 1457-1460, 1993
- 9) Raetz CRH, Ulevitch RJ, Wright SD, et al: Gram-negative endotoxin: An extraordinary lipid with profound effects on eukaryotic signal transduction. *FASEB* 5: 2652-2660, 1991
- 10) Hanasawa K, Tani T, Kodama M, et al: New approach to endotoxic and septic by means of polymyxin B immobilized fiber. *Surg Gynecol Obstet* 168: 323-331, 1989
- 11) 遠藤重厚, 八重樫泰法, 佐藤信博, 他: PMX-DHP 治療効果の検討—高感度エンドトキシン測定法を用いた検討—. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 8: 79-83, 2004
- 12) 遠藤重厚, 佐藤信博, 八重樫泰法, 他: 高感度エンドトキシン測定法による PMX 吸着治療法の効果判定について. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 9: 118-121, 2005
- 13) 遠藤重厚, 佐藤信博, 小鹿雅博, 他: 高エンドトキシン血症に対するエンドトキシン吸着療法施行時の High mobility group box 1 値と肺酸素化能の検討: 症例報告. *岩手医誌* 58: 57-61, 2006
- 14) 山下千鶴, 藤川宝紀, 武智健一, 他: PMX-DHP 長時間施行の可能性と問題点. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 9: 50-53, 2004
- 15) 鈴木 泰, 小鹿雅博, 八重樫泰法, 他: 長時間 PMX-DHP 療法が奏功した重症 *Klebsiella pneumoniae* 敗血症患者の 1 例. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 9: 143-145, 2005
- 16) 山下千鶴, 鈴木 忠, 杉山 貢, 他: PMX-DHP 施行時間検討多施設臨床研究について. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 10: 75-78, 2006
- 17) 賀来隆治, 森松博史, 溝淵知司, 他: グラム陽性菌感染症によるショックに対して血行動態の改善に PMX-DHP が有効であった 2 症例. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 5: 114-117, 2001
- 18) 豊田暢彦, 野坂仁愛, 若月俊朗, 他: PMX-DHP 早期導入が奏功したグラム陽性球菌由来の敗血症 3 例の検討. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 9: 101-106, 2005
- 19) 大石一成, 古賀聡子, 河辺 聡, 他: PMX-DHP が奏功した MRSA 大葉性肺炎に発症した敗血症性ショックの 1 例. *エンドトキシン血症救命治療研究会誌* 10: 283-288, 2006
- 20) 丸山征朗: エンドトキシンショックにおけるパラダイムシフト—早期メディエーター: アナンドグマイドと後期メディエーター: HMGB-1. *臨床麻酔* 24: 1477-1485, 2000
- 21) Wang Y, Starker KP, Nakashima, et al: Polymyxin B binds to anandamide and inhibits its cytotoxic effect. *FEBS Lett* 470: 151-155, 2000

総 説

敗血症診断法としてのプロカルシトニン値測定の意義

岩手医科大学医学部救急医学講座

遠藤重厚, 佐藤信博, 鈴木 泰, 小鹿雅博, 高橋 学, 山田裕彦, 井上義博, 葛西 健, 八重樫泰法

要旨：重症感染症・敗血症において，死亡率や罹患率を減少させるための早期治療を可能にする感染マーカーを必要とされる。理想的な診断法あるいはマーカーは，安価で測定が容易で，高度に鋭敏であり，敗血症の早期診断を可能にし，感染重症度と相関する治療法に役立つものであるべきである。プロカルシトニンはカルシトニンの前駆たんぱく質であり，通常甲状腺のC-細胞で生成される。プロカルシトニンは通常循環血中には放出されないため，健常時の血漿中濃度は極めて低い。プロカルシトニンが重症全身感染症で，劇的に増加することが発見され，重症感染症あるいは炎症マーカーとして用いられるようになった。プロカルシトニン濃度を上昇させるのは，感染自体ではなく，重症全身反応や臓器灌流不全を伴う感染である。ここでは，敗血症，および感染症を伴わない種々の病態におけるプロカルシトニンとの関わりについて述べる。

【索引用語】 プロカルシトニン，敗血症，重症度，鑑別診断

はじめに

重症度がさまざまに異なる敗血症の早期診断は，特異的治療の早期実施のため重要である。敗血症と重症敗血症では全身性炎症の臨床的および検査的徴候が伴って起こるが，非感染性炎症の症例においても類似した徴候と症状を示すことがあり，臨床所見のみに基づいて感染を診断することは難しい。敗血症の細菌学的エビデンスは，明確で特異的であるとはいえず，容易に得られるわけではなく，結果が得られるまで時間がかかり，また敗血症の臨床徴候と同時に現れないこともある。したがって，敗血症と臓器機能障害の早期診断を可能とする，早期の特異的治療介入が可能となるようなマーカーを同定することが重要である。理想的な診断法あるいは診断マーカーは，安価で測定が容易で，高度に鋭敏でかつ迅速性があり，敗血症の早期診断を可能にし，感染の重症度と相関し，治療に役立つものであるべきである。その点，プロカルシトニン（procalcitonin：以下，PCT）は，重症敗血症と敗血症性ショック症例の診断と治療モニタリングに有効なパラメータであるように思われる。

1. プロカルシトニン開発の歴史

1980 年台後半からフランスの Gustave-Roussy 研究所の Bohuon らは，腫瘍マーカーの研究，特に甲

状腺髄様癌（medullary thyroid cancer：以下，MTC）の優れた診断マーカーであるカルシトニン（calcitonin：以下，CT）について研究していた。彼らは CT 分子部に対するモノクローナル抗体（以下，Mab）を作成することで CT に対する高度かつ鋭敏な測定法を開発することに成功した。また，CT だけでなく，PCT およびカルシトニン前駆体分子の N-末端カルシトニングリシン（calcitonin glycine：CTG）と C-末端のカタカルシン（katakalcin：KC）を認識する Mab も作成した。さらに，彼らは PCT の代わりに，アミノ酸 47 個のペプチド PTN47 を標準品として使用できることを発見した。この新しく標準化されたラジオイムノアッセイ法を用いて MTC 患者だけでなく，その他悪性および非悪性疾患患者を調べると，PCT 濃度が肺の小細胞癌患者において特に上昇することが認められた。これは，肺の神経内分泌細胞が PCT 生成の場である可能性を示唆した。

この時点では PCT の臨床的活用はずっと先になると考えられ，PCT の臨床試験は数年間凍結された。ところが，1980 年代のイラン・イラク戦争においてマスタードガスが使用され，重篤な呼吸障害患者が多数発生したことが報告された。それをうけて，1991 年の湾岸戦争の数ヵ月前に，マスタードガス吸入による重症肺傷害の診断マーカーとして PCT 値を測定することの有用性について，Bohuon

らとフランス軍医グループが共同研究を開始した。マスタードガス吸入による肺障害の人における臨床モデルとして、気道熱傷を有する熱傷患者を用いた。数ヵ月の研究後、数名の患者においてこれまで種々の癌患者の研究で観察されたものよりはるかに高濃度の PCT 値を示すことを発見した。これらの熱傷患者の病歴を詳細に検討したところ、彼らが重症敗血症および敗血症ショックに罹患していたことが判明したことから、Bohuon らは PCT と敗血症との関係について強い興味を持ち、さらに研究を進めた (BRAHMS 社との私信)。

敗血症を合併するような熱傷患者においては多数の因子が複雑に介入してくるので、本仮説の明確な実証を得るために、Gendrel ら¹⁾は小児の髄膜炎およびその他の重症感染症の若年患者で検討した。小児患者における PCT 値は細菌感染症では顕著な上昇を示すが、ウイルス感染や、非感染患者では上昇しないことが確認された。

その後、Bohuon らはさらに多くの共同研究を行ったが、主だったものは3つあった。

最初の研究は、1994年に発表された Dandonna ら²⁾のものであった。健常者にエンドトキシン (4ng/kg) のボーラス投与を行い、均一間隔で PCT 値およびサイトカイン値を測定した。本試験では、3時間後に血中に PCT が現れ、6時間後にプラトーに達し、24時間後までその血中濃度が維持された。

2番目の研究は1995年に発表された Smith ら³⁾との、バンコクにおける類鼻疽患者についてのものであった。この疾患は、その重症度と約50%の死亡率から、研究上非常に興味深い示唆をもたらした。この研究において、PCT 濃度が100ng/mlを超える患者はすべて死亡することを明らかにした。重症度の低い患者は PCT 濃度が100ng/mlより低く、最終的に PCT が低下する患者の予後は良好であることが判った。

3番目の研究は、1994年に発表されたオーストラリアの Dabis ら⁴⁾のものであった。PCT 値の上昇が重症マラリア患者で観察される Ca^{++} 低値に関連する可能性を示唆した。しかしながら、これらの患者において Ca^{++} と PCT 濃度には何の関連性も見出せなかった。

その後、数多くの研究がなされ、PCT 値は重症細菌感染の診断のみならず、その重症度指標ともなり得る初の興味深いマーカーであることが判った。

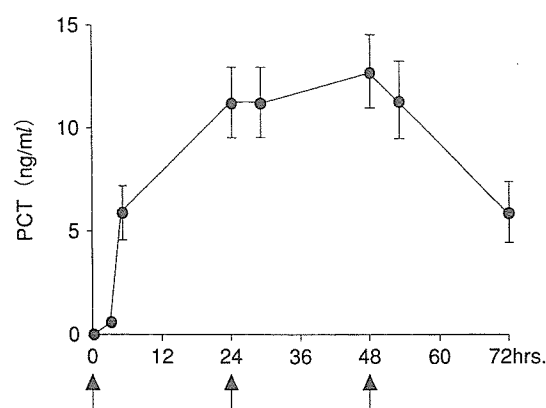


図1 エンドトキシン投与時の PCT 値の変動

II. プロカルシトニンの性状

PCT は 13kD のカルシトニンであり、通常甲状腺の C 細胞で産生される。ホルモンであるカルシトニンはエンドペプチダーゼによる切断後血流に分泌される。健常者では PCT 値は 0.1ng/ml 以下である。敗血症例では PCT 値は 5,000 ~ 10,000 倍まで上昇するが^{5) 6)}、カルシトニン値は正常値を示している¹⁾。カルシトニンの半減期が 10 分と短いことと対照的に、PCT の半減期はおおよそ 24 時間である⁷⁾。

PCT の生理学的役割と産生部位はいまだ完全には理解されていない。敗血症時には、PCT はほとんど全ての甲状腺外組織で産生されることが証明されている。内毒素による刺激後、単球では PCT mRNA が 100 倍に増加した⁸⁾。しかし最近、敗血症のハムスターモデルのほとんど全ての甲状腺外組織における PCT mRNA の発現が報告されている⁹⁾。リコンビナント PCT を注入するとハムスターの生存率が低下したが、健常ハムスターでは作用は認められなかった。注入した PCT は抗血清により拮抗されると思われる¹⁰⁾。PCT がメディエータとして作用するかどうかは依然として不明である。

内毒素は PCT 誘導にとって大きな刺激となるが (図 1)⁷⁾、グラム陽性菌感染も PCT 放出を誘導すると思われる (後述)。重症真菌感染症における PCT 誘導が数例の症例で報告されたが、ある症例報告では PCT 上昇がみられなかった¹¹⁾。細菌感染以外のさまざまな刺激は、大手術や生体に大きな侵襲が加わるようなある種の臨床状況下で PCT 増加を導くことがある。しかし、この条件下で観察される血中濃度は重症敗血症または敗血症性ショック症例ほどは高くない。PCT 上昇は微生物による刺激後 2 時間で認められ、これは CRP より迅速であるが

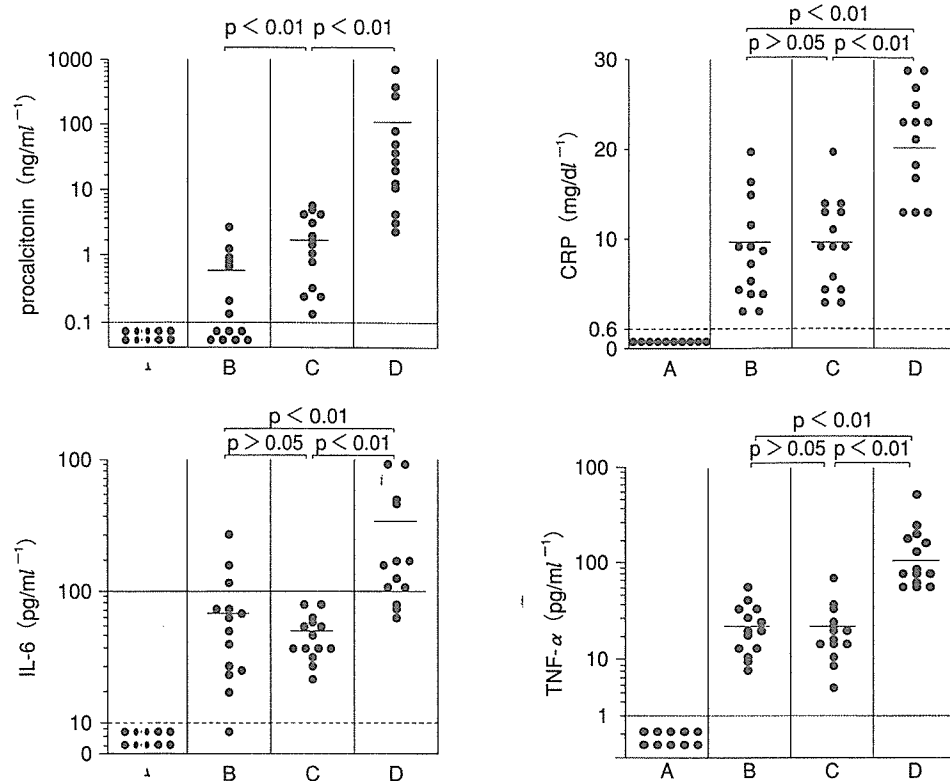


図2 PCTはCRP、IL-6、TNF- α などより重症度を良く反映する(文献22一部改変)

A: 健常者, B: 感染を合併しないSIRS患者, C: 敗血症患者, D: 重症敗血症および敗血症性ショック患者

サイトカインより緩慢である^{8) 12)}。PCTは生体外で極めて安定性が高く、濃度の90%が室温保存12時間後に検出できる¹³⁾。PCTを敗血症・重症感染症の診断マーカーとして有用であるとの多くの報告がある¹⁴⁾。PCT値が 0.5 ng/ml 以下である症例は重症敗血症または敗血症性ショックとは考え難いが、 5.0 ng/ml 以上であればその症例はハイリスクと認められる^{15) 16)}。 10 ng/ml を超えるPCT値は一般に敗血症性多臓器不全症候群にみられる。全身性炎症がない局所的な細菌感染巣ではPCT上昇はほとんどみられないが、CRPの上昇がみられる¹⁷⁾。同様に、重症感染症の場合、適切な治療によりPCTは感染が完全に撲滅されなくても極めて低値にまで低下することがある。このような症例では、PCT値が正常または低い場合でも抗生物質療法または外科的な感染巣制御が新たに必要と思われる^{18) 19)}。大手術または重篤な病態のためにPCTが非特異的に放出される場合、敗血症合併症の早期発見のためには連日のモニタリングが有効であろう²⁰⁾。

Ⅲ. 敗血症とプロカルシトニン値

敗血症時にPCT値が上昇し、そして敗血症の重

症度を良く反映していることについては多くの報告がある^{1) 21) ~ 22)}。敗血症、重症敗血症および敗血症性ショック症例においてPCT値と、CRP、interleukin 6 (以下、IL-6)、tumor necrosis factor α (以下、TNF- α) 値間には必ずしも有意な相関を認めるわけではないが、全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome: 以下、SIRS) においてPCTを測定することは、感染症の迅速な診断と重症度判定に有用であることが示唆されている。また、重症度についてみるとPCT値はTNF- α やIL-6、およびCRPより優れている(図2)²²⁾。

一般に感染症のマーカーとしてIL-6やCRPが有用であると言われているが、感染徴候がなくとも侵襲が強い外傷患者においてSIRSになると、TNF- α 、IL-6、CRPは上昇し、特にCRPの上昇が著明であり、SIRSを呈する感染症患者(敗血症)との差が認められず、TNF- α 、IL-6、CRPから感染症を診断することは困難であるが、感染性SIRS(敗血症)におけるPCT値のカットオフ値を 2 ng/ml とすると(BRAHMS社との私信)、われわれの検討では、感受性が75%、特異性が83.3%である²²⁾。カットオフ値については今後さらに検討する必要がある。

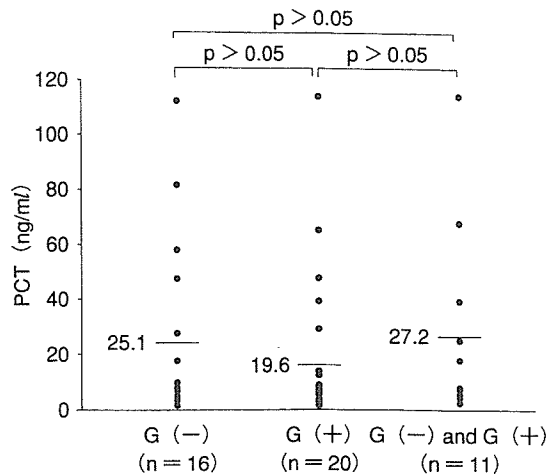


図3 G (-) 感染, G (+) 感染, および G (-) と G (+) の混合感染症による敗血症, 重症敗血症, 敗血症性ショック患者の PCT 値の検討。
G (-): グラム陰性菌, G (+): グラム陽性菌

表1 深在性真菌症における β -D-グルカン値と PCT 値 (文献 32 一部改変)

症例	原疾患	β -D-グルカン値(pg/ml)	PCT 値(ng/ml)
1	大腸癌	200	0.1
2	大腸癌	3,368	< 0.1
3	前立腺癌	36	< 0.1
4	直腸癌	694	< 0.1
5	肺炎	102	< 0.1
6	肺炎	236	< 0.1

敗血症, 重症敗血症, 敗血症性ショック, いずれにおいても PCT 値の上昇はグラム陰性菌, グラム陽性菌の種類を問わず上昇し, また重症であるほど PCT 値が有意に高くなる。このことは, 敗血症の迅速診断法として, PCT 値を用いることの重要性は示されたが PCT 値によりグラム陰性菌感染か, グラム陽性菌感染か, あるいは両者の混合感染による敗血症かを鑑別診断することは困難である (図 3)²⁷⁾。

肝移植後のカンジダによる深在性真菌症では PCT が高値を示すとの報告^{28) 29)}, また, 心移植後の拒絶時の真菌感染時に PCT 値が上昇するとの報告がある³⁰⁾。一方で, 2 例の症例報告で重症真菌症では PCT 値は上昇しないとの報告もある³¹⁾。われわれも深在性真菌症の検討で真菌単独感染であれば, β -D-グルカン値が極端な高値を示す場合においても PCT 値はほとんど上昇しないことを報告している (表 1)^{32) 33)}。深在性真菌症真菌症で PCT 値が上昇していれば, 混合感染症を疑って深在性真菌症と同時に真菌以外の細菌への治療が必要である。

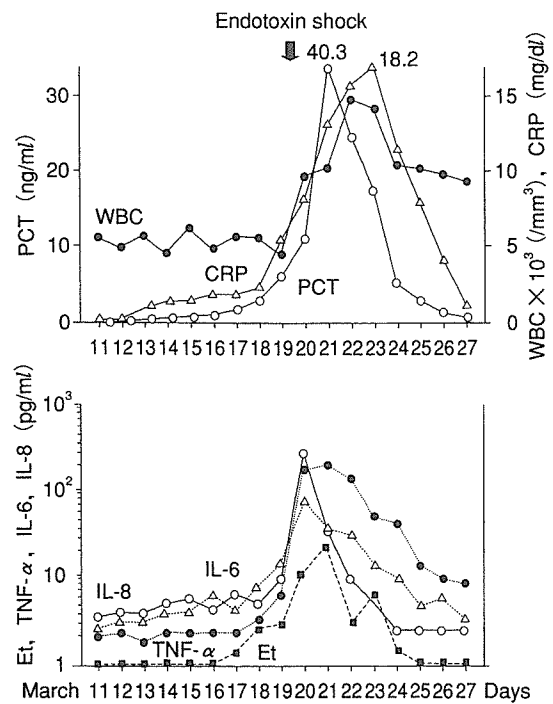


図4 ヘルペス脳炎治療中にグラム陰性菌感染症を合併し敗血症性ショックに陥った症例の PCT 値の推移

また, ウイルス性の炎症では PCT はほとんど誘導されないと報告されているが³⁴⁾, PCT 値が上昇するのはウイルス感染症になんらかの細菌感染症を併発する場合である (図 4)³⁵⁾。

このように PCT 値を測定することは, 細菌感染症と深在性真菌症およびウイルス感染症との鑑別に有用である。

IV. 種々の病態におけるプロカルシトニン値

1. 周術期

開心術, 食道癌の周術期における PCT については, 手術という生体に対する侵襲でも血中 PCT 値は測定感度以上に上昇するが, 約 3 病日以降は感染症を伴わない限り 1.0ng/ml 以下に低下する, 術後早期は血中のサイトカインレベル, CRP, 白血球は生体反応として一過性に上昇し, 感染症診断の補助マーカーとして有用ではない。術後に PCT が高値で持続するような症例においては, 感染症を合併していることを示唆する。(図 5)^{36) 37)}。

手術などの非感染性侵襲で PCT 値が上昇する場合は, 感染性合併症の早期発見のためには経時的な測定が有効と思われる。術後 3 病日以降も PCT 高値が持続している場合は感染症合併の可能性が高い。開心術, 食道癌のような高度侵襲手術においても感染性合併症がなければ, 血中 PCT 値上昇は軽

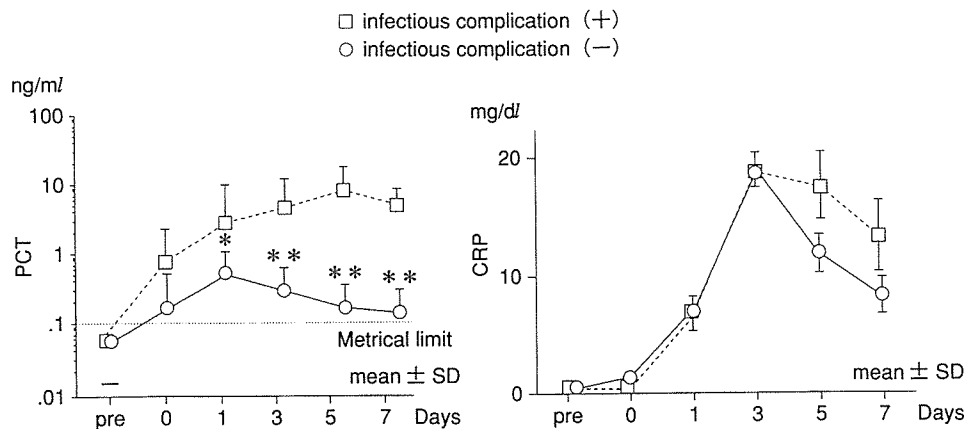


図5 食道癌術後のPCT値, CRP値の推移

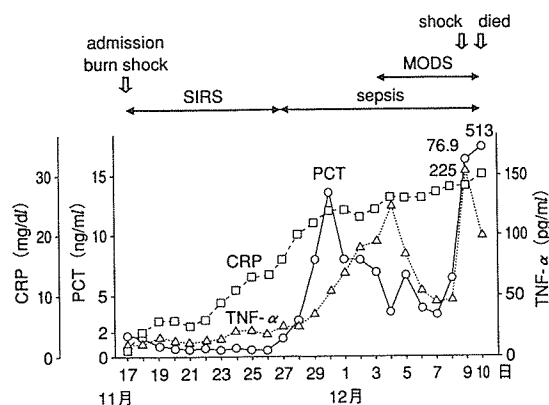
* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ 

図6 熱傷症例の経過中のPCT値の推移 (文献38より)

度である。

2. 熱傷

熱傷においては、受傷直後の感染を合併しない熱傷ショック時期にPCT値が 2ng/ml を超えることがある。そして、一旦熱傷ショックを乗り越え、症状が安定するとPCT値は低下することがしばしばみられる。植皮などの侵襲が加わるとPCT値は軽度上昇する。感染を合併し敗血症の状態になるとPCTは上昇し、そしてMODSを併発するとPCT値はさらに上昇する(図6)^{38) 39)}。われわれも熱傷の緑膿菌感染モデルにおいてPCTが上昇することを認めている⁴⁰⁾。敗血症時のPCT値は、熱傷の受傷直後より高値を示すことが多い。Carsinら⁴¹⁾は、熱傷の受傷早期にエンドトキシンやTNF- α やIL-6と同様にPCTはあまり上昇しないと報告している。Heimbürgら⁴²⁾は重症熱傷時の感染症合併の診断マーカーとしてPCTが重要であると報告している。

一方、CRPはPCTより遅れて上昇する。また、感染を合併していない時期でも生体に対する侵襲への反応として上昇することが示され、CRPは必ず

しも感染症を反映していないことが示された。

熱傷においては、感染徴候のない初期であればPCT値は熱傷に対する生体反応の重症度を反映して上昇し、感染を合併した時期であればPCT値の上昇は敗血症傾向、あるいは敗血症であることを、さらに敗血症の重症度を反映しているものと思われる。

3. 肺炎

急性肺炎では 1.8ng/ml 以上のPCT値の上昇が2日以上続くと感染性壊死の可能性が高いとの報告もある^{43) 44)}。今回のわれわれの検討では急性肺炎において、発症直後のPCT値は重症度を良く反映していた。急性肺炎発症直後のPCT値は、MODS群合併群、死亡群で有意に上昇しており、肺炎発症直後のPCTが合併症、予後の予測因子として非常に重要である(図7)⁴⁵⁾。当然、急性肺炎においても敗血症を合併すると、PCT値は敗血症の重症度に応じて上昇することが知られている。

4. 急性肺障害 (acute lung injury : ALI)

感染性ALIと非感染性ALIにおいて、PCT値、IL-6値、CRP値、好中球エラスターゼ値を比較すると、前者においては、PCT値と好中球エラスターゼ値は後者に対して有意に高値を示した。しかし、IL-6値とCRP値は両者間に有意の差はみられない。

非感染性ALIにおいては、経過中にIL-6値とCRP値は高値を示すことがしばしば認められるが、PCT値が 2ng/ml を超えることはあまりみられない⁴⁶⁾。これらのことからPCT値により感染性ALIと非感染性ALIの鑑別も可能である。

V. プロカルシトニンの定量法と半定量法の関係

PCTを測定することは、感染症あるいは敗血症の迅速診断に有用である。しかし、従来のルミノメ

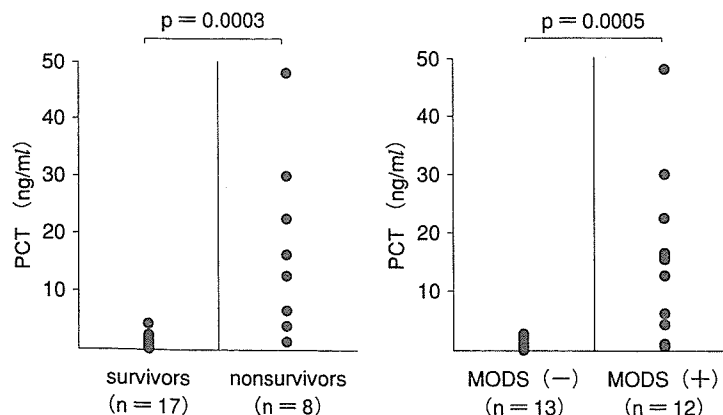


図7 急性肺炎における生存群と死亡群、およびMODS合併群、非合併群のPCT値の比較

MODS: multiple organ dysfunction syndrome

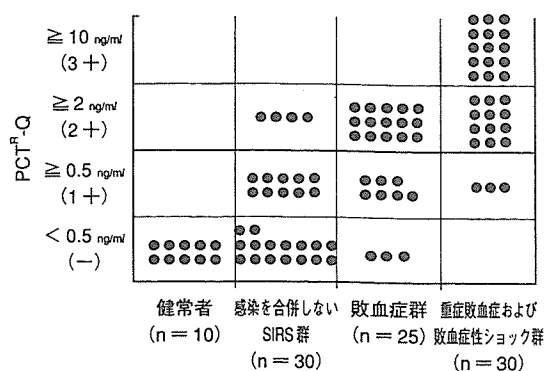


図8 健常者、非感染性SIRS患者、敗血症患者、重症敗血症および敗血症性ショック患者におけるPCT^R-Q値の比較

ーターを用いてPCTを化学発光免疫測定法での測定には、測定結果が得られるまで数時間を要する。一方、イムノクロマトグラフィーによる測定法（以下、PCT^R-Q）は半定量法ではあるが、特殊な機器を必要とせず、約30分で測定結果が得られるので臨床場においては敗血症迅速診断法として非常に有用なツールの1つである^{47) 48)}。

以前、われわれは敗血症におけるPCT値のカットオフ値を2ng/mlとすると、感受性が75%、特異性が83.3%であると報告したが²²⁾、PCT^R-Qで(2+)以上を敗血症と診断すると感度は76.4%とほぼ同様な結果が得られる（図8）⁴⁹⁾。しかし、感染症を合併していないと思われるSIRS患者においても約10%の症例においてPCT^R-Qが(2+)以上となる事には十分留意しなければならない。一般的にはPCT^R-Qで(1+)であれば、感染症を合併している可能性が高いと考えてさらなる感染症の検索あるいは治療を開始する必要があるであろう。

また、重症敗血症および敗血症性ショックではほとんどの症例でPCT^R-Qが(2+)以上となり、敗血症の重症度をも良く反映している。このことはsequential organ failure assessment (SOFA) スコア⁵⁰⁾ などとの関連からも窺える。同様に、外傷においてもPCT値は低値ではあるもの、重症度の指標としてのacute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) スコア⁵¹⁾ と比較的パラレルな動きを示し、外傷刺激に対する生体反応の度合をPCT^R-Qにおいても反映していることが窺われる。

また、PCT^R-Qで(1+)と(2+)の間にも敗血症あるいは敗血症準備段階にある病態の症例が隠されている可能性がある。これらをさらに的確に捉えることができるようになるとベットのサイドにおいて敗血症の診断精度が上昇し、治療上さらに期待がもたれるであろう。

VI. プロカルシトニンの感染の指標としての限界

感染症が全身性炎症症状を呈さず、ある組織や臓器に局限している場合にはPCTは上昇しなかったり、あるいはわずかしこ上昇しなかったりする場合がある。たとえば市中肺炎のような病態においてはPCTはせいぜい1~2ng/ml程度しか上昇しない（未発表データ）。全身性炎症症状の兆候がみられない局所的感染症患者の場合、PCT値が正常であっても、抗生物質投与や外科的処置が必要となることもある。重症感染症において上昇したPCT値が適当な治療を受けると極めて低値にまで低下することがあるが、これは必ずしも感染症が根治されたことを示しているとは限らず、単に感染症や敗血症性反応の全身性炎症症状が抑制されたことを意味している