

アフエレシス

*¹独立行政法人国立病院機構金沢医療センター腎・膠原病内科,

*²金沢大学附属病院腎臓内科, 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科血液情報統御学

北川 清樹*¹, 和田 隆志*²

Kiyoki KITAGAWA, Takashi WADA



1. はじめに

アフエレシス(apheresis)の語源はギリシャ語の「 $\alpha\psi\alpha\iota\nu\pi\epsilon\iota\nu$ (take away by force)」であり、「分離」を意味する。このアフエレシス治療の原点は「瀉血」とされることが多い¹⁾。B.C.400年頃の古代ギリシャにおけるヒポクラテス、ガレノス学派の体液病理学的理論(四体液学説)では、病気は血液、胆汁、黒胆汁、粘液の不均衡から生じると考えられており、その不均衡を取り戻す方法として瀉血が行われた。中世のヨーロッパでは瀉血は頻回に応用され、瀉血により病因物質を含むと想定された全血成分を体外へ排泄することが出来ると考えられていた。1914年には、イヌ尿毒症モデルにおいて、遠心分離した血球成分は体内に戻し、血漿をLocke氏液と置換することで尿毒症を軽減させることに成功した。その後、分離装置の開発や安定した体外循環技術の進歩によりアフエレシス治療は大きく発展した。

現在のアフエレシスは、血漿中に存在する液性因子(病因関連物質)を除去する「plasmapheresis」と細胞成分を除去する「cytapheresis」に分類されており、様々な疾患で臨床応用されている(図1)。さらに近年では病因関連物質を吸着する薬剤(吸着体)を投与し、病因関連物質と吸着体の複合体をアフエレシス療法により除去する治療も試みられている。本稿では、それぞれの治療法における最近の進歩について紹介する。

2. Plasmapheresisについて

単純血漿交換(plasma exchange: PE)は、血漿分離膜を用いて血球成分や血小板などの細胞系と血漿蛋白などを分離することにより行われる。血漿蛋白中に存在する病因関連物質の除去に加えて、置換液として新鮮凍結血漿を使用することにより凝固因子や血漿因子など諸因子を補充することを目的としている。PEに使用する血漿分離膜は、血球成分や血小板などの細胞系と血漿蛋白を分離する。その素材はポリエチレンであり、ポリエチレン・ビニルアルコールにより親水化している。平均膜孔径 $0.3\ \mu\text{m}$ 、膜面積 $0.2\sim 0.8\ \text{m}^2$ で、均一な膜孔径を有する。アルブミン、IgM、コレステロールなどに95%以上の透過率を示し、安定した血漿分離が可能である²⁾。

また分離した血漿を、さらに細かい孔径を有する二次膜により「病因関連物質を多く含むグロブリン分画」と「アルブミン分画や電解質などの成分」に分離し、前者を廃棄するのが二重膜濾過血漿交換(double filtration plasmapheresis: DFPP)である。二次膜の素材はポリエチレン・ビニルアルコール共重合体で、平均膜孔径 $0.01\sim 0.03\ \mu\text{m}$ 、膜面積 $1.0\sim 2.0\ \text{m}^2$ である。二次膜の種類により分画特性が異なるため、除去目的とする病因関連物質の分子サイズを考慮して適切な二次膜を選択する必要がある³⁾。

さらにDFPPの二次膜を血漿分離膜として使用する選択的血漿交換(selective PE: sPE)も行われている。sPEはDFPPより回路が簡便であり、凝固因子を保持しながら免疫グロブリン分画に含まれる病因関連物質を除去することが可能である。sPEは自己免疫疾患に対する有用性が注目されている。Ohkuboらは⁴⁾、免疫性神経疾患に対してsPEを行い、病因関連物質である自己抗体を良好に除去できる

■ 著者連絡先

独立行政法人国立病院機構金沢医療センター腎・膠原病内科
(〒920-8650 石川県金沢市下石引町1-1)

E-mail. kiyoki-knz@umin.org

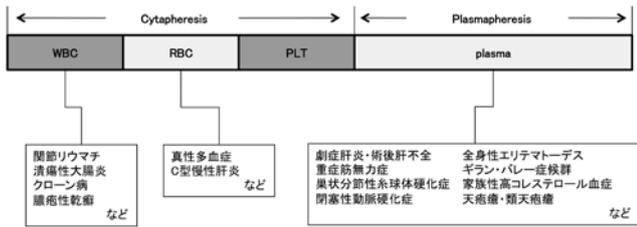


図1 アフェレシスの臨床応用

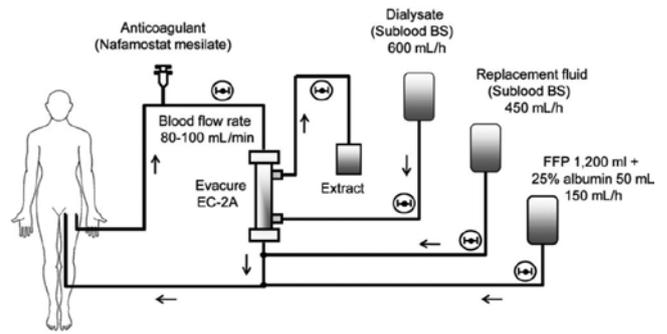


図2 PDFのフロー図

Nakae H, Eguchi Y, Yoshioka T, et al: Plasma diafiltration therapy in patients with postoperative liver failure. Ther Apher Dial 15: 406-10, 2011 より転載。

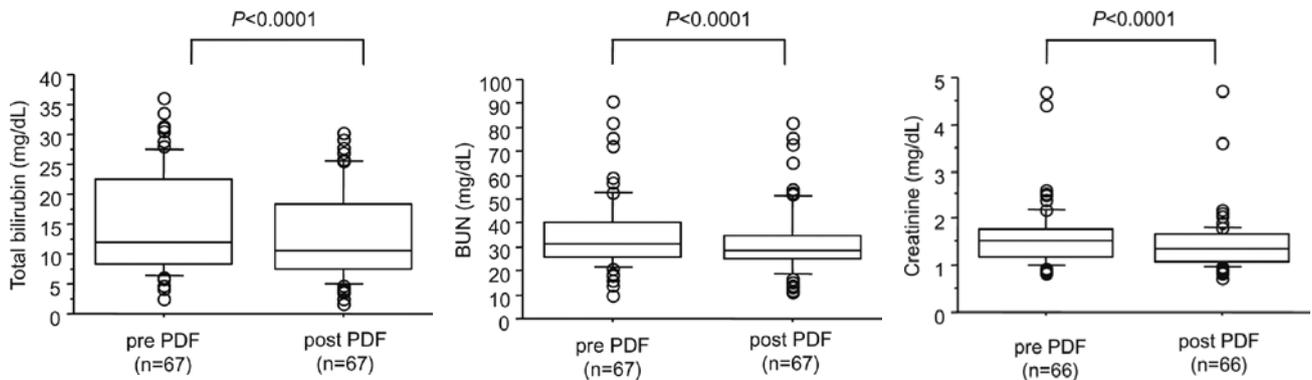


図3 PDFに伴うパラメーターの推移

Nakae H, Eguchi Y, Yoshioka T, et al: Plasma diafiltration therapy in patients with postoperative liver failure. Ther Apher Dial 15: 406-10, 2011 より転載。

ことを報告している。また近年では、この二次膜を用いて plasma diafiltration (PDF) 法が行われている。このPDF法は、血漿分離器エバキュアー®EC-2Aを用いて持続的血液濾過透析とPEの両者を行う技術であり(図2)、劇症肝炎や敗血症に対する有効性が報告されている。Nakaeらは⁵⁾、術後肝不全11例に対して合計98回のPDFを行い、尿素窒素やクレアチニン値に加えて血清ビリルビン値などのコントロールが可能であったことを報告している(図3)。

3. Cytopheresisについて

白血球(広義)や顆粒球・単球(狭義)を除去する白血球・顆粒球除去療法は、cytopheresisに含まれる。吸着材として、白血球除去療法(leukocytapheresis: LCAP)では繊維吸着剤を、顆粒球・単球吸着療法(granulocyte and monocyte apheresis: GMA)ではビーズ吸着剤を用いる。LCAPで用いる繊維吸着剤はポリエステル不織布が使用されており、顆粒球・単球はほぼ100%、リンパ球は約60%の吸着除去が可能である⁶⁾。リンパ球は非接着性細胞であ

るため本来は材料への粘着性は低いが、繊維径を小さくすることで吸着除去が可能となっている。GMAで用いるビーズ吸着材は、直径2 mmの酢酸セルロース製のビーズが使用されている。酢酸セルロースは血液との接触により補体系を活性化し、補体活性化産物のC3bやIgGがビーズ表面に吸着する。さらにC3bやIgGに対する受容体をもつ顆粒球や単球がビーズ表面に結合し吸着除去される。一方、リンパ球は同受容体をもっていないため除去されない。GMAにより約60%の顆粒球・単球が選択的に除去される⁶⁾。

LCAPは潰瘍性大腸炎および関節リウマチで、GMAは潰瘍性大腸炎、クローン病および膿疱性乾癬で保険適用となっている。さらに免疫異常が関与する様々な難治性疾患において白血球・顆粒球除去療法が試みられており、最近ではネフローゼ症候群における有効性が注目されている⁷⁾。ネフローゼ症候群は腎糸球体係蹄障害により蛋白透過性が亢進し大量の蛋白尿と低蛋白血症をきたす臨床症候群であり、一次性糸球体疾患と全身疾患に由来する二次性(続発性)に大別される。一次性としては、微小変化型ネフ

ローゼ症候群 (minimal change nephritic syndrome: MCNS), 巣状分節性糸球体硬化症 (focal segmental glomerulosclerosis: FSGS), 膜性腎症, 膜性増殖性糸球体腎炎が主な疾患である。ネフローゼ症候群における蛋白尿の出現には, 糸球体上皮細胞 (podocyte), 糸球体基底膜および糸球体血管内皮細胞からなる glomerular filtration barrier (GFB) の破綻が関与する。MCNSやFSGSにおけるGFB破綻には, リンパ球の機能異常が関与することが示されている^{8)~11)}。従って, これらの疾患に対するリンパ球除去が治療戦略となりうるということが推測される。

我々は, これまでMCNSに10回, FSGSに10回, 膜性腎症に2回, 計22回のLCAPを施行している。このうち当初の6例をまとめてその有効性を報告した¹²⁾。6例中4例

(MCNS 2例, FSGS 1例, 巣状分節性糸球体硬化性病変を伴った膜性腎症1例)はLCAPおよび後療法が有効であり, 治療後に尿蛋白の減少を認めた(図4)。さらに本治療法の特徴的な所見として, LCAPで蛋白尿減少効果を認めた症例は, その後の免疫抑制療法にも良好な反応を示した。一方, LCAPが無効であった膜性腎症およびFSGSの計2例では, その後の免疫抑制療法にも抵抗性を示し, 腎死あるいは感染症による個体死に陥った。

そこで, この治療機序を解明するためにLCAP前後で採血検査を行ったところ, 有効例では末梢血中リンパ球数, とくにB細胞数および活性化T細胞数が有意に減少していた(表1)。一方, 無効例ではこれらの細胞数には有意な変化を認めなかった。従って, これまでの検討結果から, LCAPの有効性はB細胞および活性化T細胞数の減少を介する機序が推測される¹²⁾。

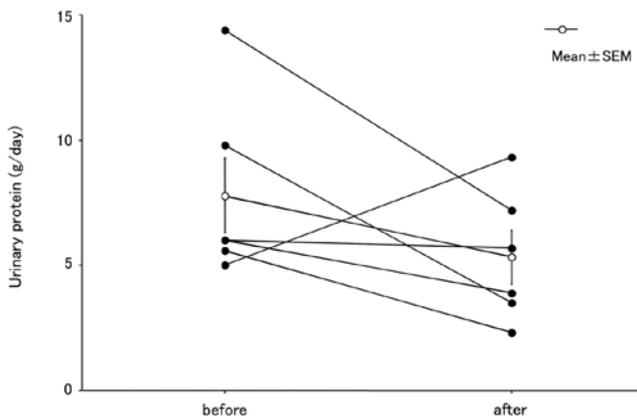


図4 リンパ球除去療法に伴う蛋白尿減少効果

Yokoyama H, Shimizu M, Wada T, et al: The beneficial effects of lymphocytapheresis for treatment of nephrotic syndrome. Ther Apher 6: 167-73, 2002より転載。

4. 病因関連物質を吸着する薬剤(吸着体)を用いたアフエレシスについて

近年では病因関連物質を吸着する薬剤(吸着体)を投与し, その複合体をアフエレシス療法により除去する治療も試みられている。アフエレシスは血液を体外循環することで行う治療であるため, 血液中に病因関連物質が移動しなければ除去することが出来ない。またアフエレシスは間欠的な治療であるため, 治療と治療の間で産生される病因関連物質を限られた時間で除去する必要がある。吸着体を用いたアフエレシスでは, 血管外にも分布する吸着体を用いることで除去効率が向上する可能性がある。また, 吸着体が病因関連物質と複合体を形成することにより毒性を軽

表1 リンパ球除去療法に伴う血中パラメーターの推移

	Total		Response group		Non response group	
	Before n = 12	After n = 12	Before n = 8	After n = 8	Before n = 4	After n = 4
WBC (/ml)	6,858 ± 1,365	6,458 ± 1,602	4,650 ± 454	3,425 ± 766	11,275 ± 3,128 **	12,525 ± 2,663 **
Neu (/ml)	5,143 ± 1,390	4,944 ± 1,525	2,784 ± 386	2,098 ± 634	9,860 ± 3,073 **	10,635 ± 2,739 **
Lym (/ml)	1,074 ± 189	879 ± 194	1,244 ± 197	585 ± 126 *	734 ± 393	1,465 ± 410 **
T cell (/ml)	942 ± 169	659 ± 138 *	874 ± 169	494 ± 97 *	1,043 ± 369	907 ± 290
B cell (/ml)	125 ± 29	69 ± 19	147 ± 45	48 ± 14 *	91 ± 25	102 ± 40
CD4/CD8	1.25 ± 0.17	1.31 ± 0.27	1.44 ± 0.22	1.56 ± 0.35	0.85 ± 0.07	0.82 ± 0.31
Activated T (/ml)	221 ± 27	143 ± 28 *	218 ± 19	111 ± 23 *	228 ± 80	208 ± 63
IgG (mg/dl)	684 ± 101	766 ± 107	780 ± 129	747 ± 144	515 ± 140	821 ± 5
C3c (mg/dl)	70 ± 4	64 ± 2 *	70 ± 5	62 ± 4 *	69 ± 2	70 ± 1
C4 (mg/dl)	33 ± 2	34 ± 4 *	33 ± 2	29 ± 3 *	33 ± 7	51 ± 4 **
CH50 (U/ml)	30 ± 3	30 ± 3	30 ± 5	27 ± 2	32 ± 2	40 ± 1 **

*: before vs. after, $P < 0.05$ by paired t-test, **: response vs. unresponse, $P < 0.05$ by unpaired t-test.

This table is summary of 12 times of lymphocytapheresis for 6 cases, each received 2 times of apheresis.

Yokoyama H, Shimizu M, Wada T, et al: The beneficial effects of lymphocytapheresis for treatment of nephrotic syndrome. Ther Apher 6: 167-73, 2002より転載。

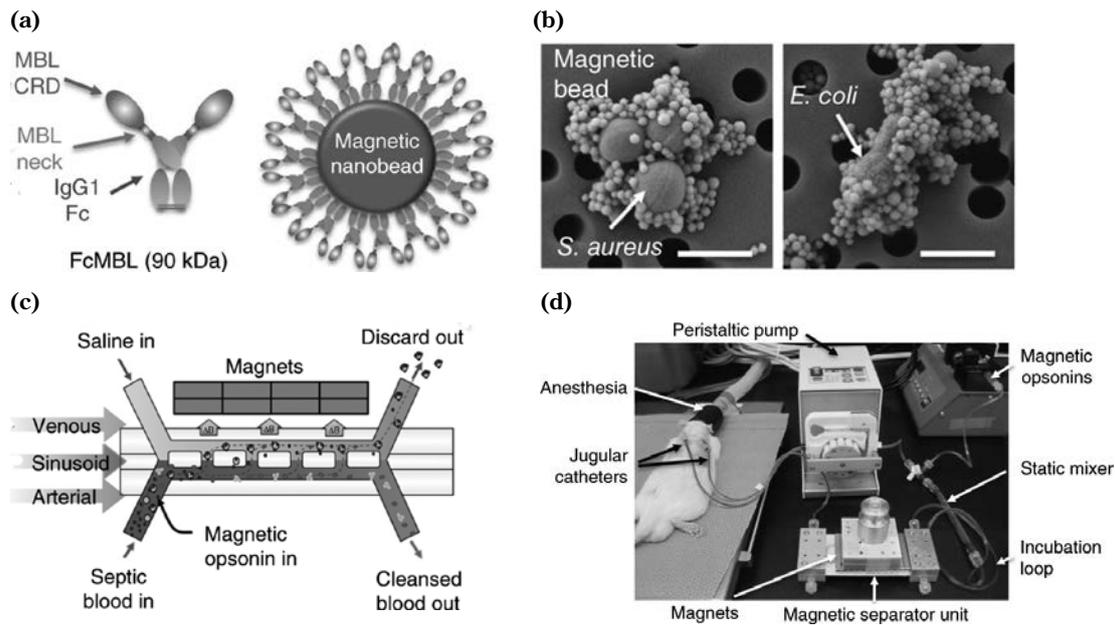


図5 Nanobeadsを吸着体として用いたアフエリス療法

CRD: carbohydrate recognition domain.

Kang JH, Super M, Yung CW, et al: An extracorporeal blood-cleansing device for sepsis therapy. Nat Med 20: 1211-6, 2014. Permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature Medicine¹⁴⁾, copyright 2014.

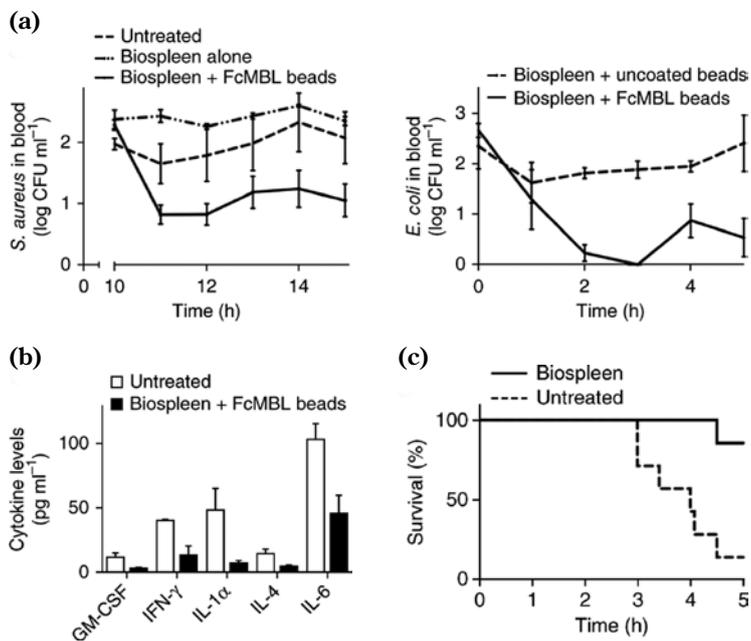


図6 Nanobeadsを吸着体として用いたアフエリス療法に伴うパラメーターの推移

Kang JH, Super M, Yung CW, et al: An extracorporeal blood-cleansing device for sepsis therapy. Nat Med 20: 1211-6, 2014. Permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature Medicine¹⁴⁾, copyright 2014.

滅・消失させるのであれば、間欠的な治療であるアフエリスの弱点を補う可能性がある¹³⁾。

Kangらは¹⁴⁾、マンノース結合レクチン(MBL)を結合させた磁性体のnanobeads(図5a)を吸着体として使用した治療について報告している。ラットの敗血症モデルにおいて、吸着体として投与されたマンノース結合レクチンが血液中のグラム陽性球菌(*Staphylococcus aureus*)やグラム陰

性桿菌(*Escherichia coli*)と結合する(図5b)。さらに体外循環の際に磁力を利用してnanobeadsを分離し(図5c, d)、吸着体に付着した細菌を除去する(図6a)。それに伴って血中の炎症性サイトカインが低下し(図6b)、生存率が改善する(図6c)ことを示しており、敗血症に対する応用が期待される。

5. おわりに

アフエレシスの対象疾患は非常に幅広く、様々な領域の難治性疾患が適応となる。しかしこのような疾患は希少疾患が多いため、知見を蓄積するためには多施設による横断的な症例の蓄積が必要となる。臨床研究を積み重ねていくことで、アフエレシスが難治性疾患に対する治療の福音となることが期待される。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) 津田 裕士：アフエレシス治療の新しい展開と今後の方向性. アフエレシスマニュアル改訂第3版, 日本アフエレシス学会編, 学研メディカル秀潤社, 東京, 2010, 29-32
- 2) 松金 隆夫：単純血漿交換法. アフエレシスマニュアル改訂第3版, 日本アフエレシス学会編, 学研メディカル秀潤社, 東京, 2010, 69-73
- 3) 山路 健：二重膜濾過法. アフエレシスマニュアル改訂第3版, 日本アフエレシス学会編, 学研メディカル秀潤社, 東京, 2010, 74-7
- 4) Ohkubo A, Okado T, Kurashima N, et al: Removal kinetics of antibodies against glutamic acid decarboxylase by various plasmapheresis modalities in the treatment of neurological disorders. *Ther Apher Dial* **18**: 231-7, 2014
- 5) Nakae H, Eguchi Y, Yoshioka T, et al: Plasma diafiltration therapy in patients with postoperative liver failure. *Ther Apher Dial* **15**: 406-10, 2011
- 6) 長瀬 和子, 福永 健：白血球・顆粒球除去療法. アフエレシスマニュアル改訂第3版, 日本アフエレシス学会編, 学研メディカル秀潤社, 東京, 2010, 139-48
- 7) 北川 清樹, 古市 賢吾, 和田 隆志：腎臓病におけるアフエレシス療法の進歩. *日アフエレシス会誌* **33**: 117-22, 2014
- 8) Koyama A, Fujisaki M, Kobayashi M, et al: A glomerular permeability factor produced by human T cell hybridomas. *Kidney Int* **40**: 453-60, 1991
- 9) Savin VJ, Sharma R, Sharma M, et al: Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* **334**: 878-83, 1996
- 10) Dantal J, Bigot E, Bogers W, et al: Effect of plasma protein adsorption on protein excretion in kidney-transplant recipients with recurrent nephrotic syndrome. *N Engl J Med* **330**: 7-14, 1994
- 11) Wei C, El Hindi S, Li J, et al: Circulating urokinase receptor as a cause of focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Med* **17**: 952-60, 2011
- 12) Yokoyama H, Shimizu M, Wada T, et al: The beneficial effects of lymphocytapheresis for treatment of nephrotic syndrome. *Ther Apher* **6**: 167-73, 2002
- 13) 花房 規男：期待されるアフエレシス療法の新しい方向性. *日アフエレシス会誌* **34**: 19-26, 2015
- 14) Kang JH, Super M, Yung CW, et al: An extracorporeal blood-cleansing device for sepsis therapy. *Nat Med* **20**: 1211-6, 2014