

氏名・(本籍) 花沢 一 芳 (滋賀県)  
学位の種類 医学博士  
学位記番号 論医博第44号  
学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当  
学位授与年月日 昭和63年9月29日  
学位論文題目 NEW APPROACH TO ENDOTOXIN AND SEPTIC SHOCK BY  
MEANS OF POLYMYXIN B IMMOBILIZED FIBER

(ポリミキシンB固定化繊維によるエンドトキシン及び敗血症性ショック治療への新しいアプローチ)

審査委員 主査 教授 瀬戸 昭  
副査 教授 小玉 正 智  
副査 教授 戸田 昇

#### 論文内容の要旨

##### 〔目的〕

エンドトキシン (ET) 血症生体において、重篤なショックが高率に発生し、あらゆる方面からの治療法が試みられているが、この救命率は低く絶望的な場合が多い。著者らは、ETと特異的に結合するとされる抗生物質ポリミキシンBに注目し、これを不溶性担体 (ポリスチレン系繊維) に化学的に固定した材料 (PMX-F) を開発した。本研究ではET解毒吸着材として新しく開発したPMX-Fの生体使用 (特に血液を介しての使用) に際しての安全性及び効果につき基礎的検討を行った。

##### 〔方法〕

###### 1) ポリミキシンBの溶出の有無 (安全性)

PMX-FはポリミキシンBを高い密度で固定化しているため、溶液中のETを解毒吸着するとともに、ポリミキシンが溶液中に溶出していないことを確認するため以下の実験を行った。生食及び人血清中にPMX-Fを混合し、溶液中のポリミキシンBの濃度を測定した。測定方法は Bordetella bronchiseptica ATCC 4617 を検定菌とし、日本抗生物質医薬基準、力価試験法によった。

###### 2) PMX-Fのエンドトキシン解毒吸着能

PMX-Fは原理的にはポリミキシンBを繊維に固定することができたが、ポリミキシンBの機能を温存して固定化できたか否かを、検討した。

lipopolysaccharide (E. coli, 0111 : B4, Difco社製) を牛血清、および生理食塩水中のET溶液を各種濃度に設定し等温平衡吸着曲線を求めた。

### 3) マウスにおける PMX - F の効果

ICR 系雄性マウス (生後 4 週) を用い、実際に生食中の ET を PMX - F が解毒吸着することを検討した。対照群には前記と同様の ET (0.5mg/匹) を投与し、治療群には PMX - F 2g を ET(0.5mg/ml)溶液 30ml に混合し 1 時間攪拌した後投与し、48 時間後の死亡率を検討した。

### 4) エンドトキシン血症犬に対する PMX - F の効果

雑種成犬に前記と同様の ET を 0.5mg/kg 総量を投与し、ET 血症犬を作成した。これらに PMX - F 5g を充填したカラムを用い、直接血液灌流 (DHP) を 2 時間施行し、救命率を検討した。更に大腸菌 (ATCC 25922) を  $1 - 5 \times 10^9$  CFU/kg を投与し、敗血症犬を作成した。PMX - F 50mg を充填した 200ml 容量カラムを用い敗血症犬モデルに DHP を施行し、同様に救命率を求めた。

#### 〔結果〕

1) 生食及び人血清中、更に ET 溶液中いずれの場合も、固定化されたポリミキシン B の溶出は認めなかった。したがって、ポリミキシン B のもつ腎毒性、神経毒性を惹起することなく、生体の血中での使用が可能と判断された。

2) ET のもつリムラス活性を指標に PMX - F が、生食中、および人血清中でも、充分に解毒吸着することが確認できた。

3) ET のもつ致死活性を指標に、PMX - F が溶液中の ET を解毒吸着することを確認した。対照群は 100% (21/21) の死亡率であったが、治療群は 24% (5/21) と有意に死亡率が低下した。

4) ET 血症犬に PMX - F による DHP を施行した群は、1 週間の生存率が 83% (10/12) であり、対照群は 12.8% (1/8) であった。敗血症犬に対する PMX - F の治療群でも有意にその生存率が上昇した。

#### 〔考察〕

ET の除去を目的として開発した PMX - F は血中 ET の解毒吸着が可能で、かつ生体使用に際し、安全であることを確認した。近年、ET 血症や敗血症生体において、血液交換や血漿交換が導入され、その効果が報告されている。しかし、これらの方法は、大量の血液製剤を必要とし、更に製剤に伴う感染症、血清肝炎、エイズなどの可能性があり社会的に大きな問題となっている。これらの疾患に対して理想的な血液浄化法を求めるとすれば、より特異的な吸着法が開発されなければならない。PMX - F はこの期待に応えられるべき人工材料として最初のものであり、その臨床応用に向けて、安全性、効果、血液適合性の面で良好な材料と思われる。

#### 〔結論〕

1) 血中の ET に対する解毒吸着材料として開発した PMX - F はポリミキシン B のもつ抗 ET 作用が温存され、かつポリミキシン B が遊離することなくその作用を発揮することが確認できた。

2) ET および敗血症モデル犬を作成し、これらに対して PMX - F カラムを用いた DHP を施行した。両モデル犬の PMX - F 治療群は有意にその生存率が上昇した。

## 学位論文審査の結果の要旨

エンドトキシンは、グラム陰性桿菌の細胞壁成分をなすリポ多糖体であり、重症感染症において病因論的に重要な役割を果たしている。エンドトキシンショックは、一旦発生すると重篤で死亡率が高率であるため、現在でもその治療成績の向上を目指しあらゆる方面から努力されているが、決定的な治療法はいまだ確立されていない。本研究は、抗エンドトキシン作用を有するが副作用の強いポリミキシンBを、不溶性担体（ポリスチレン系繊維）に化学的に固定化して開発した新素材ポリミキシンB固定化繊維（PMX-F）について、生体内での安全性および治療効果を検討した。

得られた結果は次の通りである。

1. PMX-Fに固定化されたポリミキシンBは、生理食塩水およびヒト血清での溶出実験においても、ポリミキシンBを溶出することなく、安全性が確認された。
2. エンドトキシンのもつリムラス活性、致死活性、発熱活性を指標にPMX-Fの効果を検討し、PMX-Fが十分にエンドトキシンを吸着することが確認された。
3. 精製エンドトキシン投与によるエンドトキシンショックモデル犬、あるいは大腸菌投与による敗血症モデル犬に対し、PMX-Fによる体外循環を施行した結果、その生存率を有意に高めることができた。

本研究により、従来血中投与が禁忌であったポリミキシンBを、PMX-Fのカラムとして体外循環回路に組み入れることにより、血中エンドトキシンを直接中和する新しい方法が樹立された。この方法は、エンドトキシンショックと敗血症ショックの新しい治療法として臨床応用が可能であり、また、内毒素学の研究の進展に寄与するものと考えられる。

以上により本研究は、医学博士を授与するにふさわしいものと認められる。