

新しい顆粒球体外吸着カラムによる心筋梗塞再灌流傷害の抑制：その臨床応用をめざして

Novel Extracorporeal Granulocyte Apheresis Column Inhibits Myocardial Reperfusion Injury: Future Clinical Applications

胡内 一郎
岩瀬 知行^{*1}
柏木 伸仁^{*2, *3}
平石 勝也^{*2}
村上 知行

Ichiro KOUCHI, MD
Tomoyuki IWASE, MD^{*1}
Nobuhito KASHIWAGI^{*2, *3}
Katsuya HIRAISHI^{*2}
Tomoyuki MURAKAMI, MD

Abstract

Objectives. Leukocyte infiltration is very important in myocardial ischemia/reperfusion injury. A new extracorporeal circulation therapy using a granulocyte-apheresis column (G-1) has recently been proved to be effective and safe in patients with rheumatoid arthritis and with ulcerative colitis. This study investigated whether this therapy would reduce myocardial ischemia/reperfusion injury.

Methods. Rabbits were subjected to 30 min ischemia followed by 180 min reperfusion with no treatment (control group: $n = 12$); or treated with extracorporeal blood circulation (2 ml/min) passing through the G-1 (G-1 group: $n = 12$) or sham column (sham group: $n = 12$). Infarct size was determined by tetrazolium staining and expressed as a percentage of the area at risk.

Results. Infarct size in the G-1 group ($15.9 \pm 3.4\%$) was significantly ($p < 0.01$) smaller than in the control ($34.7 \pm 3.9\%$) and sham ($35.2 \pm 4.1\%$) groups. Granulocyte emigration into the ischemic myocardium assessed by histopathological score was significantly ($p < 0.01$) less in the G-1 group (0.58 ± 0.17) than in the sham group (1.42 ± 0.26). There was a significant ($r = 0.78, p < 0.0001$) positive correlation between this score and infarct size. Flow cytometry showed alterations in the adhesion molecule expression on granulocytes during the passage through the G-1, but not sham, columns as a low L-selectin and high Mac-1 form, which is associated with the inability to home to the inflamed site.

Conclusions. Extracorporeal circulation with the G-1 column, a newly-developed clinically applicable therapy, appears to reduce infarct size at least in part by limiting the emigration capacity of granulocytes into the ischemic myocardium.

J Cardiol 2000; 36(5): 321 - 329

Key Words

Myocardial infarction, treatment (extracorporeal circulation) Infarct size
Ischemia Reperfusion (cell adhesion molecules)

はじめに

冠動脈の完全閉塞により心筋が虚血にさらされ再灌流が起こると、虚血心筋部位では虚血による細胞壊死

ばかりでなく、再灌流そのものによっても壊死が拡大する。この障害は再灌流傷害と呼ばれ、臨床上、急性心筋梗塞における再灌流療法の梗塞縮小効果に限界をもたらす重大な一因となっている。再灌流傷害の発生

京都大学大学院医学研究科 循環病態学：〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54；^{*1}武田病院 循環器内科，京都；^{*2}(株)日本抗体研究所，群馬；^{*3}京都府立医科大学 第一内科，京都

Cardiovascular Division, Postgraduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto；^{*1}Cardiovascular Division, Takeda Hospital, Kyoto；^{*2}Japan Immunoresearch Laboratories Co., Ltd., Gumma；^{*3}The First Department of Internal Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto

Address for reprints: MURAKAMI T, MD, Cardiovascular Division, Postgraduate School of Medicine, Kyoto University, Shogoin Kawahara-cho 54, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507

Manuscript received May 2, 2000; revised June 29, 2000; accepted July 14, 2000

機序には、再灌流直後のCa過剰負荷と、これに続く白血球の心筋組織浸潤によって惹起される炎症機転が重要な役割を演じると考えられている¹⁾。このような炎症機転の発現には、白血球と冠動脈内皮細胞の接着が必須であり、この接着過程には双方の細胞表面で活性化される一連の細胞接着分子群が介在する。

最近、我々は新しい顆粒球体外吸着カラム(G-1)を開発した²⁾。G-1は、表面を特殊加工した酢酸セルロースビーズを充填したカラムである。この吸着カラムは循環血液のカラム通過中に白血球、とくに顆粒球を吸着処理し、その細胞表面の接着分子の発現動態を修飾する特性を持つことが判明した³⁾。そこで、この吸着カラムを用いた体外循環療法を慢性炎症疾患である慢性関節リウマチや潰瘍性大腸炎治療に臨床応用したところ、患者の臨床症状を軽減し、おのおのの疾患に特異的な炎症所見を改善することが確認された^{4,6)}。

本研究では、この顆粒球吸着療法が心筋虚血再灌流における炎症機転を抑制することによって、梗塞サイズ縮小効果を示す可能性を家兔の心筋梗塞モデルにおいて実験的に検討した。

対象と方法

1. 対象と実験手技

雌日本白色家兔(週齢: 10-12週)をペントバルビタール麻酔下に挿管開胸、左第4肋間を切開し、左冠動脈回旋枝結紮による急性心筋梗塞モデルを作成した。右大腿動脈に留置針を挿入し圧トランスデューサーに接続して動脈圧を、また双極誘導を用いて心電図を記録した。Fig. 1にG-1カラムを用いた体外循環回路を図示する。上述したように、G-1は長さ6cm、直径1.8cmのポリカーボネート管腔内に表面を特殊加工した酢酸セルロースビーズ11gを充填したカラムである。本研究では家兔頸動脈より2ml/minで動脈血を脱血し、吸着カラムを通過後、耳静脈に返血した。回路全体の死腔は約6mlである。G-1カラムの対照として吸着ビーズを充填せず同一の死腔を持つカラム(shamカラム)も作成した。両カラム入口部より、ヘパリンを50U/kg/hrで持続注入した。36匹の家兔を無作為に3群に分割し、いずれも手術手技終了後30分の休止期を置いたのち、30分間虚血、3時間再灌流を施した。対照群(12例)は体外循環を使用しない群、sham群(12例)、G-1群(12例)は、それぞれshamカ

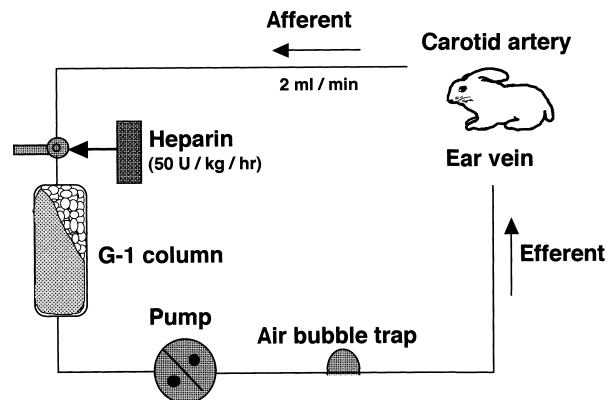


Fig. 1 Extracorporeal circuit including a newly developed column(G-1) which contains beads coated with cellulose acetate to interact with granulocytes

Rabbit blood was drawn into the column at a flow rate of 2 ml/min from the carotid artery and was returned to the ear vein.

ラム、G-1吸着カラムを用いた体外循環施行群である。体外循環は左冠動脈結紮直後より開始し、30分間虚血、3時間再灌流の全経過を通して持続した。本研究の実験プロトコルは京都大学動物実験取り扱い基準に従って行った。

2. 循環白血球数

実験手技終了時、虚血前、再灌流1時間後、2時間後、3時間後でEDTA入容器に採血し、血球カウンター(THMSH 1; Technicon製)で白血球分画を計測した。

3. フローサイトメトリー

再灌流1時間後、sham群(11例)、G-1群(11例)のカラム入口部、出口部で血液を200μlのヘパリン入り容器に採取、抗LAM1-3抗体(Coulter Healeah製)または抗CD11b抗体(Serotec製)を加え染色し、それぞれ顆粒球接着分子LセレクトリンおよびMac-1の抗原発現量の変化をフローサイトメトリー(Profile; Coulter Healeah製)により解析して平均蛍光強度を求めた。

4. 心筋梗塞サイズの測定

3時間の再灌流終了後、心臓を摘出し、上行大動脈をLangendorff灌流装置に装着した。灌流液の滴下後、心拍動の開始を確認して、冠動脈を再結紮した。虚血

Table 1 Hemodynamic data

	Control group (n = 12)	Sham group (n = 12)	G-1 group (n = 12)
Preischemia			
Mean arterial pressure(mmHg)	97 ± 4	103 ± 5	103 ± 5
Heart rate(beats/min)	258 ± 25	263 ± 10	263 ± 10
End of ischemia			
Mean arterial pressure(mmHg)	99 ± 4	103 ± 5	103 ± 5
Heart rate(beats/min)	250 ± 18	228 ± 13	228 ± 13
End of reperfusion			
Mean arterial pressure(mmHg)	89 ± 6	95 ± 4	95 ± 4
Heart rate(beats/min)	248 ± 20	228 ± 11	228 ± 11

Values are mean ± SEM.

領域，非虚血領域の色別のため0.5% フタロシアニンブルー粒子を灌流液中に注入したのち，心臓を装置から取り外した．右室心筋を切除し，左室心筋を短軸方向に沿って切り分け，2mm厚ごとの切片を作成した．各スライスの虚血領域(ブルー非染色領域)を分離して，重量を測定，pH7.4リン酸バッファーに溶解した1%トリフェニル塩化テトラゾリウム液(TTC染色液)に漬け，37℃で15分間インキュベートした．10%ホルマリンで各切片を固定後CCDカメラでそのデジタル画像をApple製コンピューターに取り込んだ．虚血領域(TTC染色部)と梗塞領域(TTC非染色部)を画像解析ソフト(NIH Image V1.57)で計測，各切片の重量を乗じて梗塞量を求めた．梗塞サイズは虚血領域に対する百分率(%)で表現した．

5. 病理組織学的検討

TTC染色で梗塞サイズを決定した心筋切片(sham群10例，G-1群12例)で，梗塞サイズを測定したのち，各心筋切片をパラフィンで固定し，ヘマトキシリン・エオジン染色を施した．すべての組織切片を5×5mm画の観察視野に分けた．各視野における顆粒球の血管腔から心筋組織への遊走能の程度を下記の基準でスコア化した．

- 0: 血管内集積(-)，血管外遊走(-)，心筋内浸潤(-)
- 1: 血管内集積(+)，血管外遊走(-)，心筋内浸潤(-)
- 2: 血管内集積(+)，血管外遊走(+)，心筋内浸

潤(-)

3: 血管内集積(+)，血管外遊走(+)，心筋内浸潤(+)

5: スコア3+周囲の組織障害所見を伴う顆粒球心筋内集積(+).

各心臓の最終スコアは，観察視野の平均スコアとして求めた(合計スコア/観察分野数)．病理組織学的所見判定と梗塞サイズ解析はそれぞれ別個の験者が担当し盲検法で行った．

6. 統計処理

すべての結果は平均±標準誤差で表した．対照群，sham群，G-1群の3群間比較は一元配置分散分析を用い，有意であればScheffeのpost-hoc検定を行った．Sham群とG-1群における循環血液中白血球分画の時間経過の比較は二元配置分散分析を用いた．他のsham群とG-1群の2群間の比較はMann-Whitney U検定を行った．Sham群とG-1群における細胞接着分子発現の変化はWilcoxonの符号順位検定に拠った．また相関は単回帰分析を用いて検討した．統計処理は $p < 0.05$ を有意差の判定とした．

結 果

1. 血行動態

Table 1に血行動態の変化を示す．虚血前，再灌流直前，3時間再灌流後の平均動脈圧，心拍数は対照群，sham群，G-1群の3群間で有意差を認めなかった．

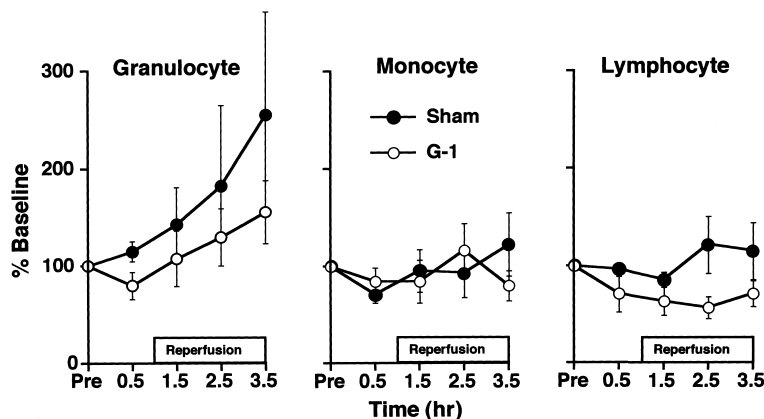


Fig. 2 Time course of changes in circulating granulocyte, monocyte and lymphocyte counts in the sham and G-1 groups
Values are expressed as the percentage of the baseline condition(Pre)after the end of the surgical procedure.

Table 2 Body and heart mass, and infarct size data

	Control group (n = 12)	Sham group (n = 12)	G-1 group (n = 12)
Body mass(kg)	2.7 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.6 ± 0.1
Left ventricle mass(g)	4.7 ± 0.1	4.7 ± 0.2	4.5 ± 0.2
Area at risk(g)	1.25 ± 0.10	1.14 ± 0.11	1.25 ± 0.11
Infarct size(g)	0.51 ± 0.08	0.50 ± 0.07	0.19 ± 0.03*†

Values are mean ± SEM.

*p < 0.05 vs control group, †p < 0.05 vs sham group.

2. 末梢白血球数

実験手技終了時の顆粒球，単球，リンパ球の絶対値はそれぞれsham群で 0.80 ± 0.10 ， 0.06 ± 0.01 ， $1.82 \pm 0.26 \times 10^3/\mu l$ ，G-1群で 0.89 ± 0.14 ， 0.05 ± 0.01 ， $2.18 \pm 0.18 \times 10^3/\mu l$ であり，両群間に有意差を認めなかった．Fig. 2にsham群，G-1群の顆粒球，単球，リンパ球それぞれの白血球分画の時間経過を実験手技終了時の値に対する%で表示したが，各分画とも両群間に有意差はなかった．体外循環開始1時間後のG-1カラム入口部と出口部の各白血球細胞数の変化から求めたビーズへの吸着率は顆粒球 $9.9 \pm 1.3\%$ ，単球 $6.4 \pm 1.5\%$ ，リンパ球 $1.3 \pm 0.3\%$ でいずれも軽度であったが，顆粒球，単球の吸着率はリンパ球に比べて有意に($p < 0.01$)高かった．

3. 梗塞サイズ

Table 2に3群の梗塞サイズを要約した．家兔の体重，左室重量は，対照群，sham群，G-1群の3群間で有意差を認めなかった．虚血領域の重量も3群間に差

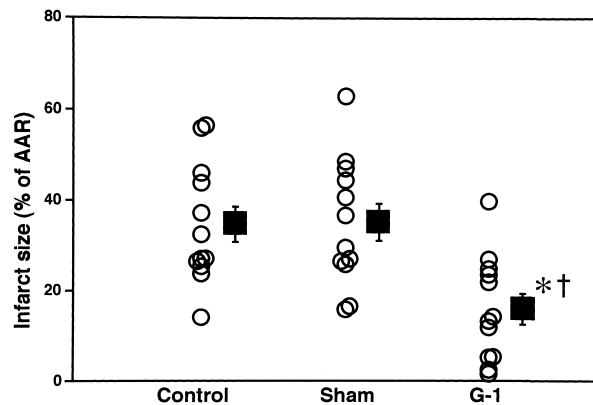


Fig. 3 Infarct size expressed as a percentage of the area at risk in control animals, animals treated with the sham column and those treated with the G-1 column
*p < 0.01 vs control group, †p < 0.01 vs sham group.
AAR = area at risk.

を認めなかったが，梗塞領域重量は対照群，sham群に比べてG-1群では有意($p < 0.05$)に小さかった．Fig. 3は3群の個体ごとの梗塞サイズを示す．梗塞サイズも対照群($34.7 \pm 3.9\%$)，sham群($35.2 \pm 4.1\%$)に比べ

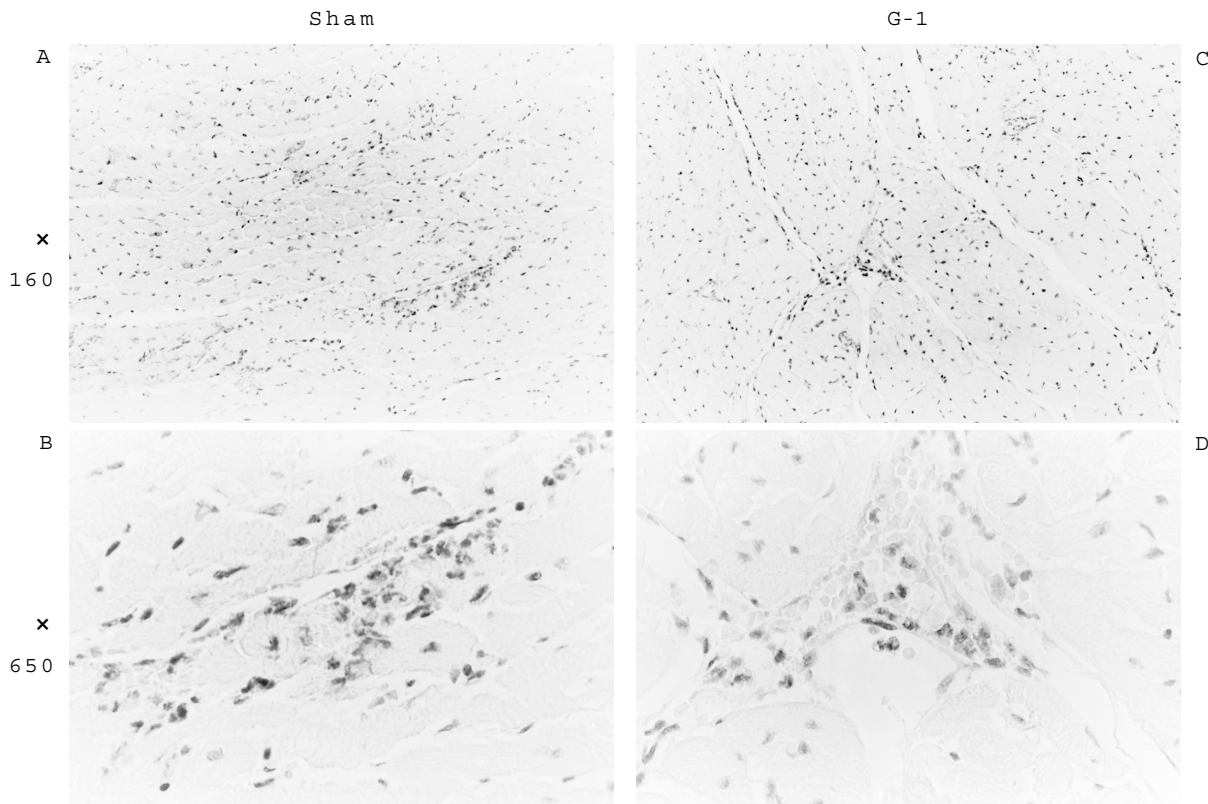


Fig. 4 Photomicrographs of ischemic myocardium with hematoxylin and eosin staining
Myocardial specimens A and B were taken from the heart treated with a sham column at the end of experiments and specimens C and D from the heart treated with a G-1 column.
Original magnification $\times 160$ for A and C; $\times 650$ for B and D.

てG-1群($15.9 \pm 3.4\%$)では有意($p < 0.01$)に縮小していた。G-1群の12匹中1匹で39.2%と大きな梗塞サイズを示したが、本例では虚血領域の重量も1.57gと他例に比べて大であった。

4. 病理組織学的検討

再灌流3時間後の虚血部心筋部における顆粒球の心筋組織浸潤はsham群では著しく(Figs. 4 - A, B), G-1群ではその程度が抑制された(Figs. 4 - C, D)。Fig. 5は病理組織学的に検討した虚血領域への顆粒球遊走能スコアを示す。Sham群(10例, 1.42 ± 0.26)に比べてG-1群(12例, 0.58 ± 0.17)では浸潤スコアの有意な($p < 0.05$)減少が認められた。さらに、梗塞サイズと顆粒球浸潤スコアの間には統計学的に有意な正の相関関係($r = 0.78, p < 0.0001$)がみられた。

5. 顆粒球の接着分子発現

Fig. 6はフローサイトメトリーで解析した再灌流1時間後のshamカラム, G-1カラム入口部, 出口部より採取した顆粒球表面上のLセレクトインとMac-1の平均蛍光強度である。Sham群(11例)では、入口部, 出口部の平均蛍光強度の差はLセレクトイン(9.10 ± 0.83 から 8.37 ± 0.80), Mac-1(2.13 ± 0.38 から 2.22 ± 0.35)の両接着分子とも認められなかった。一方, G-1群(11例)では入口部に比べて出口部でLセレクトインの平均蛍光強度は有意に低下し(9.85 ± 1.34 から $4.55 \pm 1.22, p < 0.01$), 逆にMac-1の平均蛍光強度は増加(2.28 ± 0.56 から $3.67 \pm 0.53, p < 0.01$)していた。

考 察

1. 心筋虚血再灌流傷害と抗白血球療法

急性心筋梗塞症において、可能な限り早期に虚血心筋への血流再建を図る再灌流療法は、心筋の虚血傷害

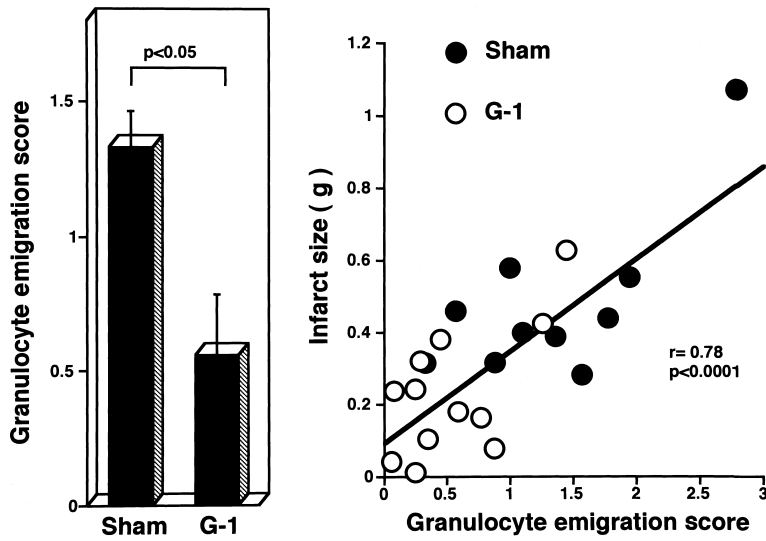


Fig. 5 Histopathological score of granulocyte emigration from vascular beds into the ischemic myocardium in the sham and G-1 group (left) and scatterplots showing the correlation between the infarct size and this emigration score (right)

を軽減する最も有効な治療法である。再灌流後の虚血心筋には多数の白血球浸潤による炎症反応が亢進しており、慢性期における梗塞心筋の癒着に重要な役割を演じる^{7,8)}。しかし、再灌流後数時間の炎症反応は、逆に虚血心筋、とくにその辺縁部位における心筋壊死をさらに拡大させる⁹⁾。Entmanらのグループ¹⁰⁻¹³⁾は、再灌流傷害における腫瘍壊死因子 やインターロイキン6などのサイトカインの役割に注目し、虚血によって心筋のマスト細胞から腫瘍壊死因子 が遊離し、組織浸潤した単球からのインターロイキン6産生を促すこと、さらにこのインターロイキン6が心筋細胞膜の細胞接着分子intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)の合成を促し、ICAM-1の発現が浸潤顆粒球との接着を介して心筋細胞傷害を引き起こすという仮説を提唱している。種々の動物モデルで、白血球の完全除去¹⁴⁾、補体の抑制¹⁵⁾、さらに種々の抗細胞接着分子抗体の前投与¹⁶⁻¹⁸⁾が梗塞サイズを縮小させることが明らかにされ、白血球が主体の急性炎症反応が再灌流傷害に重要な役割を演じることが示唆されている。したがって、この炎症機転を抑制して再灌流傷害を軽減することは、再灌流療法の有効性をさらに高める治療戦略であると考えられる。しかし、実際の急性心筋梗塞の再灌流療法において、血中から白血球を完全除去することは治療法として非現実的であり、抗細胞接着分子抗体投与などによる治療も種々の副作用発現の可能性があるため、臨床応用には至っていない。

本研究では、家兔の心筋梗塞モデルにおいて顆粒球

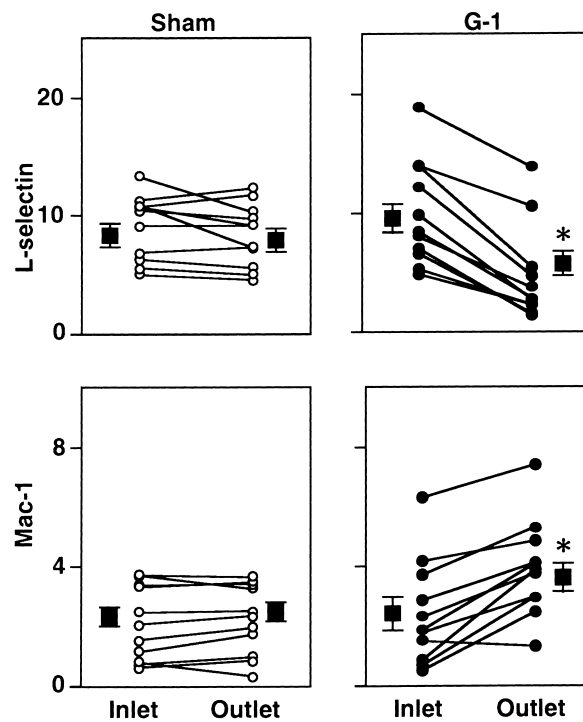


Fig. 6 Mean fluorescence intensity of L-selectin and Mac-1 on granulocytes in the circulating blood taken from the inlet and outlet, respectively, of sham and G-1 columns 1 hr after reperfusion
* $p < 0.01$ vs inlet.

吸着カラムG-1の梗塞縮小効果を検討した。Sham群に比べてG-1群では有意の梗塞サイズの減少がみられた。Sham群の梗塞サイズは体外循環を施行しなかった対照群と同等であり、G-1群の梗塞サイズ減少は、

明らかに顆粒球吸着カラム G-1 を用いた体外循環療法の効果によるものと考えられる。病理組織学的検討では、G-1 群は sham 群に比べて虚血心筋領域の顆粒球遊走能が抑制されていた。さらに G-1 群, sham 群において、梗塞サイズと顆粒球遊走能の間に有意の正の相関関係がみられた。これらの事実は、G-1 を用いた体外循環療法の梗塞サイズ縮小効果が、血管から心筋組織への顆粒球遊走能の抑制、すなわち炎症機転の抑制による再灌流傷害軽減に依存することを示唆している。

2. 接着分子発現と顆粒球遊走能

一般に炎症反応においては、顆粒球、単球、リンパ球などの白血球が組織に滲出し、直接的あるいは炎症メディエーターを遊離、放出して間接的に組織を傷害する。この一連のカスケードを決定付ける最初のイベントは、白血球成分と血管内皮細胞の接着である。この接着は4つのステップから成り立つと考えられている。ステップ1は回転(rolling)と呼ばれ、血管内を速い速度で流れる白血球成分を血管内皮細胞に繋ぎ止める。ステップ2は活性化(activation)と呼ばれ、ケモアトラクトントの遊離による白血球、血管内皮細胞の活性化を促す。ステップ3は白血球と血管内皮細胞の接着過程で、強固な接着(strong adhesion)と呼ばれる。さらに、ステップ4は遊走(transmigration)と呼ばれ、白血球が血管内皮細胞間をすり抜け組織へ遊出する過程である。接着分子群におけるセレクトリンファミリーの一つLセレクトリンは、好中球と血管内皮細胞接着の最初の回転過程で、一方、インテグリンファミリーに属するMac-1は、引き続いて起こる強固な接着過程で、それぞれ重要な役割を演じるとされる。本研究で用いたG-1吸着カラムは、体外循環による血液のカラム通過過程で、カラム内に活性酸素が産生され炎症様の反応が惹起されることがわかっている¹⁹⁾。したがって、この過程で好中球の細胞接着分子発現動態の変化することが予想される。実際、本研究ではカラム通過後の顆粒球細胞接着分子Lセレクトリンの発現が抑制され、逆にMac-1の発現が亢進していた。Shamカラムでは、これらの発現動態の変化はまったくみられなかった。Jutilaら²⁰⁾は、ホルポールミリスレートアセテートあるいはロイコトリエンB₄により好中球を前処置すると、容量依存性に低Lセレクトリン/高Mac-1の発現形式

を示すこと、さらにこの発現形式を示す好中球は、炎症部位への遊走能が低いことを *in vivo* の実験で明らかにしている。またMaら¹⁸⁾は、ネコの心筋梗塞モデルにおいて抗Lセレクトリンモノクローナル抗体の投与が心筋梗塞サイズを有意に減少させたと報告している。これらの事実は、G-1カラムを用いた顆粒球吸着療法の心筋梗塞サイズ縮小効果が、カラム内を通過する顆粒球細胞接着分子発現動態を低Lセレクトリン/高Mac-1パターンに修飾し、再灌流心筋部位への遊走能を抑制することによって、炎症機転を軽減することによるものであることを強く示唆している。

3. 臨床応用と課題

本研究で使用した顆粒球吸着カラム G-1 による体外循環療法は、慢性関節リウマチ患者に最初に試みられた。本療法は、顆粒球の接着分子発現を修飾して関節腔への浸潤能を抑え、その関節症状を減少させた^{3,5)}。さらに、最近では重症潰瘍性大腸炎への臨床適応が承認され、臨床症状ばかりでなく大腸炎内視鏡所見を有意に改善することがわかった⁶⁾。これら慢性疾患の臨床使用においては本研究と同様に抗凝固剤を用い、全血を直接カラムに流して血液灌流する。流速は30 ml/min で60分の循環を週1回で5週間行うが、静脈-静脈灌流であり、シャントの作成は不要である。したがって、急性心筋梗塞患者の再灌流療法と併行して本体外循環療法を施行することは、手技的に十分可能であると考えられる。

一方、実際の応用にあたっては検討すべき課題も残されている。第1に、本研究では虚血と同時に体外循環を開始しているが、実際の臨床応用では再灌流後に体外循環を開始しても同様の梗塞サイズ縮小効果があるか否か、興味深い検討課題である。第2に、本研究では体重約2.7kgの家兎に2 ml/minの流速で体外循環を行っており、これは臨床的に30 ml/minの循環を体重約44kgの患者に施行する量に匹敵する。したがって、本体外循環療法を30 ml/min以上の流速で使用した場合の臨床的安全性を確認する必要がある。

結 論

本研究により、家兎の心筋虚血再灌流モデルにおいて新しく開発された顆粒球吸着カラムを用いた体外循環療法が、明らかな心筋梗塞サイズ縮小効果をもたら

すことがわかった。さらに、この吸着カラムによる体外循環療法は、少なくとも実験段階において血行動態の変動や循環血液中の白血球数減少など重篤な副作用をもたらすことはなかった。したがって、急性心筋梗

塞の再灌流療法における再灌流傷害を克服する現実的手段として、本体外循環療法の臨床応用が期待される。

要 約

目 的: 虚血再灌流傷害発生に顆粒球活性化による炎症が中心的役割を担っているが、臨床的に有効な治療法は確立されていない。慢性関節リウマチや潰瘍性大腸炎に臨床的有効性が証明されている顆粒球吸着カラム(G-1)を用いた体外循環療法の心筋梗塞縮小効果を実験的に検討した。

方 法: 家兔の冠動脈回旋枝30分間結紮後3時間再灌流の急性心筋梗塞モデルを作成、対照虚血群(対照群: 12例)、G-1カラム治療群(G-1群: 12例)、shamカラム治療群(sham群: 11例)に分けた。梗塞サイズは塩化テトラゾリウム染色により測定した。

結 果: 対照群、G-1群、sham群の梗塞サイズ(虚血域に対する%)はそれぞれ $34.7 \pm 3.9\%$ 、 $15.9 \pm 3.4\%$ 、 $35.2 \pm 4.1\%$ で、G-1群で有意($p < 0.01$)の縮小をみた。病理組織学的に検討した顆粒球遊走能スコアはsham群(1.42 ± 0.26)に比べてG-1群(0.58 ± 0.17)で有意($p < 0.05$)低下を認め、さらに梗塞サイズとスコアに有意($r = 0.78$, $p < 0.0001$)の正相関が認められた。G-1群(11例)ではカラム入口部に比べて出口部の顆粒球は低Lセレクトイン/高Mac-1の細胞接着分子発現型を示し、sham群(11例)では接着分子発現型に変化はみられなかった。

結 論: 家兔の急性心筋梗塞モデルにおいてG-1を用いた顆粒球吸着体外循環療法は、顆粒球遊走能の抑制により炎症に基づく再灌流傷害を軽減し、梗塞サイズ縮小をもたらすことがわかった。本療法の臨床応用が期待される。

J Cardiol 2000; 36(5): 321 - 329

文 献

- 1) Hawkins HK, Entman ML, Zhu JY, Youker KA, Berens K, Dore M, Smith CW: Acute inflammatory reaction after myocardial ischemic injury and reperfusion: Development and use of a neutrophil-specific antibody. *Am J Pathol* 1996; **148**: 1957 - 1969
- 2) 米川元樹, 久木田和丘, 目黒順一, 川村明夫, 高橋晶宏, 小野寺一彦, 井上直樹, 駒井 喬, 中村崇人, 宮本啓一, 浦野敬治, 水田敏信, 足立正一: 癌治療を目的とする Extracorporeal Granulocyte/Lymphocyte Regulation System の開発. *人工臓器* 1992; **21**: 1163 - 1167
- 3) 柏木伸仁, 朝倉昭子朗, 井出達夫, 渋谷弘武, 平石勝也, 足立正一, 阿岸鉄三, 吉野慎一, 粕川禮司: 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* 1994; **14**: 313 - 322
- 4) Kashiwagi N, Hirata I, Kasukawa R: A role for granulocyte and monocyte apheresis in the treatment of rheumatoid arthritis. *Therapeutic Apheresis* 1998; **2**: 134 - 141
- 5) 粕川禮司, 東 威, 橋本博史, 吉野慎一, 斎藤輝信, 村澤 章, 狩野庄吾, 柏崎禎夫, 水島 裕, 近藤啓文, 入交昭一郎, 腰野富久, 長屋郁郎, 松本美富士, 居村茂明, 江澤英光: 顆粒球除去器(G-1)の慢性関節リウマチに対する臨床的検討: 多施設共同による臨床試験. *炎症* 1997; **17**: 57 - 80
- 6) 下山 孝, 澤田康史, 田中隆夫, 斎藤吉春, 棟方昭博, 豊田隆謙, 樋渡信夫, 粕川禮司, 大原守弘, 朝倉 均,

- 本間 照, 木村 健, 小祝宏文, 斎藤 康, 鈴木康夫, 長町幸雄, 小坂橋 宏, 武藤徹一郎, 名川弘一, 梅田典嗣, 松枝 啓, 林 直諒, 飯塚文瑛, 馬場正三, 中村利夫, 那須 勝, 村上和成, 澤田俊夫, 片岡達治: 潰瘍性大腸炎の活動期における顆粒球吸着療法: 多施設共同無作為割付比較試験. *日アフエシス会誌* 1999; **18**: 117 - 131
- 7) Morita M, Kawashima S, Ueno M, Kubota A, Iwasaki T: Effects of late reperfusion on infarct expansion and infarct healing in conscious rats. *Am J Pathol* 1993; **143**: 419 - 430
 - 8) Mehta J, Dinerman J, Mehta P, Saldeen TG, Lawson D, Donnelly WH, Wallin R: Neutrophil function in ischemic heart disease. *Circulation* 1989; **79**: 549 - 556
 - 9) Entman ML, Smith CW: Postreperfusion inflammation: A model for reaction to injury in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 1994; **28**: 1301 - 1311
 - 10) Frangogiannis NG, Lindsey ML, Michael LH, Youker KA, Bressler RB, Mendoza LH, Spengler RN, Smith CW, Entman ML: Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF-alpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation* 1998; **98**: 699 - 710
 - 11) Entman ML, Youker KA, Shappell SB, Siegel C, Rothlein R, Dreyer WJ, Schmalstieg FC, Smith CW: Neutrophil adherence to isolated adult canine myocytes: Evidence for a CD18-dependent mechanism. *J Clin Invest* 1990; **85**: 1497 - 1506

J Cardiol 2000; 36: 321-329

- 12) Smith CW, Entman ML, Lane CL, Beaudet AL, Ty TI, Youker KA, Hawkins HK, Anderson DC: Adherence of neutrophils to canine cardiac myocytes in vitro is dependent on intercellular adhesion molecule-1. *J Clin Invest* 1991; **88**: 1216 - 1223
- 13) Entman ML, Youker KA, Shoji T, Kukielka GL, Shappell SB, Taylor AA, Smith CW: Neutrophil induced oxidative injury of cardiac myocytes: A compartmented system requiring CD11b/CD18-ICAM-1 adherence. *J Clin Invest* 1992; **90**: 1335 - 1345
- 14) Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR: Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; **67**: 1016 - 1023
- 15) Weisman HF, Bartow T, Leppo MK, Marsh HC Jr, Carson GR, Concino MF, Boyle MP, Roux KH, Weisfeldt ML, Fearon DT: Soluble human complement receptor type 1: In vivo inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation and necrosis. *Science* 1990; **249**: 146 - 151
- 16) Simpson PJ, Todd RF, Fantone JC, Mickelson JK, Griffin JD, Lucchesi BR: Reduction of experimental canine myocardial reperfusion injury by a monoclonal antibody(anti-Mo1, anti-CD11b)that inhibits leukocyte adhesion. *J Clin Invest* 1988; **81**: 624 - 629
- 17) Ma XL, Lefer DJ, Lefer AM, Rothlein R: Coronary endothelial and cardiac protective effects of a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1992; **86**: 937 - 946
- 18) Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Buerke M, Albertine KH, Kishimoto TK, Lefer AM: Monoclonal antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation and protects ischemic reperfused cat myocardium. *Circulation* 1993; **88**: 649 - 658
- 19) 柏木伸仁, 平田一郎, 粕川禮司: 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* 1995; **6**: 77 - 92
- 20) Jutila MA, Rott L, Berg EL, Butcher EC: Function and regulation of the neutrophil MEL-14 antigen in vivo: Comparison with LFA-1 and MAC-1. *J Immunol* 1989; **143**: 3318 - 3324