

総 説

治療用白血球除去器セルソーバ

吉 田 一

旭メディカル(株)第二開発研究所機能製品開発グループ

Leukocyte Removal Filter "Cellsorba®" for Extracorporeal Treatment

Makoto Yoshida

Research & Development Laboratory 2, Asahi Medical Co., Ltd.

Summary "Cellsorba" is a leukocyte removal filter for extracorporeal treatment of patients diagnosed with ulcerative colitis. It is a direct hemoperfusion column that is sterilized by Gamma-ray irradiation. The column is 160 mm in length, has a diameter of 45 mm and is filled with non-woven fibrics (i.e. polyethyleneterephthalate). Leukocyte removal capability is more than 1×10^{10} cells per treatment. It has been reported to be effective for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases such as ulcerative colitis and rheumatoid arthritis. This report introduces the concept behind design, structure and function of Cellsorba.

Key words: leukocyte, filter, non-woven, polyethyleneterephthalate

1. はじめに

体外循環治療は、まず慢性腎不全患者に対する血液透析として普及した。次いで、単純血漿交換療法、二重膜濾過法による血漿成分分離療法、更には吸着器による治療が広く行われるようになってきた。工業技術的には、血液透析膜、血漿分離膜、血漿分画膜等の中空糸膜技術と、血漿成分に対する吸着材技術に関して、新しい技術が生み出されてきた。体外循環治療は、血漿成分の浄化治療として中空糸膜技術とともに発展してきたといえる。近年、不織布を用いて血液中の白血球を効率よく捕捉する技術が生み出された。赤血球製剤、血小板製剤などの輸血用血液製剤中の白血球除去の用途に、ポリエステル不織布を充填した輸血用白血球除去フィルターが実用化されている。現在では年間およそ2,000万個の輸血用白血球除去フィルターが輸血副作用防止を目的に使用され、その有効性と安全性が認められている。

1985年に津田らは慢性関節リウマチを対象に白血球除去フィルター(旭メディカル社製)を用いて、体外循環による白血球除去治療について報告した¹⁾。このような背景のもとで、旭メディカル(株)では体外循環治療用白血球除去器(セルソーバ®)の実用化を目指した開発を開始した。セルソーバは直接血液灌流によって末梢血液中の白血球を除去する医療用具である

(図1)。本稿では、セルソーバの構造とその機能を紹介し、あわせてその設計思想について述べる。

2. セルソーバの開発経緯

旭メディカルは、不織布が綿などの繊維塊に比してはるかに効率よく白血球を捕捉でき、血液中の白血球を効率よく除去できることを見出し、世界ではじめて輸血用白血球除去フィルター(セパセル)として実用化した。その後体外循環治療用白血球除去器(セルソーバ)として実用化した。セルソーバは、セパセル技術で培った不織布技術を基礎に、多量の血液をより高速に灌流でき且つより多くの白血球を除去できるように設計したものである。

セルソーバは、当初慢性関節リウマチ等の自己免疫疾患で多数の治療報告が成され、その後澤田らにより潰瘍性大腸炎に対する治療効果がはじめて報告された²⁾。更に、潰瘍性大腸炎に対して、ステロイドホルモンによるスタンダードな療法よりも優れた治療効果を有することが、比較試験によって証明され、2001年10月より潰瘍性大腸炎に対して販売を開始するに至った(表1)。

3. セルソーバの構造と設計思想

セルソーバの外観図、及び臨床で使用する際に用いる装置例(Plasauto LC)を図2に、構造を図3に示

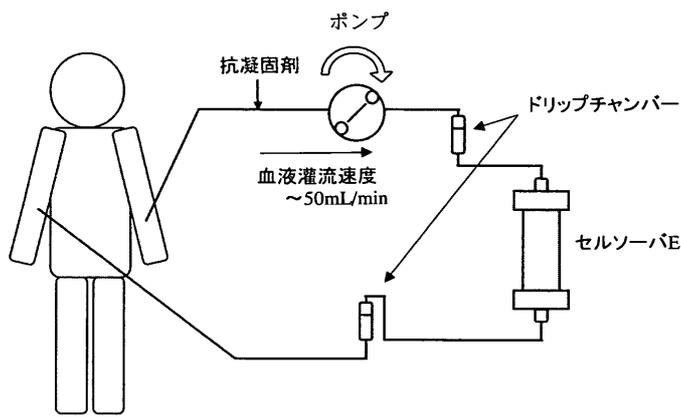


図1 セルソーバEの臨床施行方法

す。セルソーバはポリエチレンテレフタレート (PET) 製不織布をスパイラル状に巻き両端を封じた円筒状のフィルターを、長さ 160 mm、直径 45 mm の容器に蒸留水とともに充填し、 γ 線滅菌したものである (表 2)。

不織布フィルターは繊維径が 10~40 μm のプレフィルター層と、繊維径が 1~3 μm のメインフィルター層の 2 層からなる。血液は円筒の外側より内側に向かって流れる。濾過 (サイズセパレーション) による分離膜では膜の表層のみで分離されるのに対して、不織布は濾過の流れ方向に分散して捕捉できる特徴を有

表1 特定保険医療材料価格及び処置料

1. 材料価格：白血球吸着用材料	125,000 円/本
(1)白血球吸着用材料は、血球成分除去に用いる白血球のうち、特に顆粒球・単球を吸着除去する材料をいい、その材料価格には回路に係る費用が含まれる。	
(2)白血球吸着用材料は、1日につき1個を限度として算定できる。	
2. 処置料：J 041-2 血球成分除去療法 2,000 点	
(1)血球成分除去療法は、潰瘍性大腸炎の重症・劇症患者及び難治性患者 (厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班の診断基準) に対して、活動期の病態の改善および緩解導入を目的として行った場合に限り、1患者につき2クールを限度として算定できる。	
(2)当該医療法の実施回数は、1クールにつき週1回を限度として、5週間に限って算定する。ただし、劇症患者については、第1週目に限り週2回を限度として算定できる。	
(3)本療法を実施した場合は、診療報酬明細書の摘要欄に一連の当該療法の初回実施日及び初回からの通算実施回数 (当該月に実施されたものを含む) を記載する。	

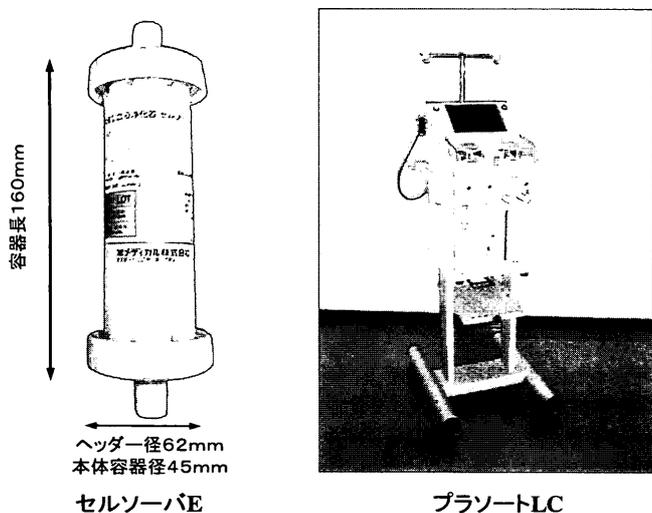


図2 セルソーバE及びプラソートLCの外観図

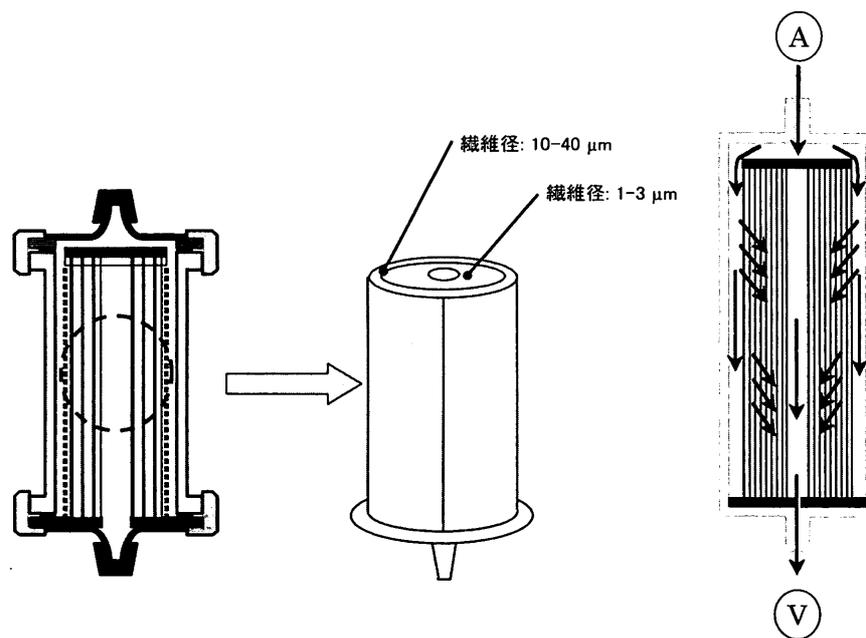


図3 セルソーバEの構造

している。これは不織布が白血球の粘着による捕捉機能を有していることによる。そのため表層への過剰な負荷を軽減でき、より多量の白血球を捕捉できる。一方、綿などの繊維塊は、不織布に比してはるかに白血球の捕捉効率が低い。これは綿などの繊維塊では繊維への白血球の粘着による捕捉が主で、サイズセパレーションの要素が不織布に比してはるかに小さいためと考えられる。不織布の優れた白血球除去性能は、繊維への白血球の粘着と、サイズセパレーション（濾過）の両者の機序によると考えられる。

不織布は繊維でできた多孔質体といえ、単位容積あたりの白血球除去能力の支配因子には、繊維径、孔径、及び有効表面積をあげることができる。これら因子は、例えば密度一定のとき、繊維径が細いほど孔径は小さくでき、且つ表面積も大きくなるなど相互に関連がある。そのため繊維径を代表的指標として取り扱うことができる。

不織布にヒト新鮮血液を灌流し、灌流前の白血球数に対する不織布通過後の白血球数の減少率を除去率として示すとき、不織布の繊維径と白血球の除去率とは

表2 セルソーバEの仕様

		セルソーバE
プレフィルター	繊維径 (μm)	10~40
	材質	ポリエチレンテレフタレート
メインフィルター	繊維径 (μm)	1~3
	材質	ポリエチレンテレフタレート
不織布総充填量 (g)		21~29
プライミングボリューム (mL)		160~220
容器耐圧強度		500 mmHg (66.7 kPa)
本体容器材質		ポリカーボネート
滅菌方法		γ線
充填液		蒸留水

負の相関を示す (図4(a))。特に平均繊維直径が3 μm以下のとき、100%近い白血球除去率が得られている。

一方、繊維径を細くして細孔径を小さくすることは、血液などの固体成分を含む粘性の高い液体の流れやすさに対しては一般に好ましくない。そこで一定圧力のもとで得られる血液の濾過流量と白血球除去率の関係を、繊維塊と比較評価した (図4(b))。不織布及び繊維塊共に白血球除去率と濾過流量とは負の相関関係にあるが、同様の白血球除去率を得るにおいて、不織布ではより大きな濾過流量が得られる。

セルソーバの不織布ではメルトブロー法による製法を採用している。不織布の製造方法は、紡糸については湿式或いは乾式、繊維の接合方法には接着剤を用いる方法やニードルパンチ法などの機械的接合方法など、種々の方法が実用化されている。メルトブロー法は、溶融したPETをダイと呼ぶ口金より高速高温のクリーンな空気とともに押し出して製造する方法である (図5)。メルトブロー法は、高い白血球除去能力を得るために必要な極細繊維化が可能であること、バインダーを使用しないため紡糸工程でのPET以外の化学物質の混入を実質的になくせること、空隙率の高い不織布が得られるため高い血液濾過流量が得られるという特長を有するため、白血球除去フィルターに適した製法といえる。

不織布による白血球除去には粘着とサイズセパレーションの二つの機序があるため、白血球の除去率及び除去量は濾過の細孔の大きさ (細孔径)、と粘着のための有効表面積に依存する。セルソーバは、限られた容積の中に十分な量の濾材を充填して有効表面積を確保すること、その際濾過の上流側の濾過面積を大きく確保するため円筒構造として、円筒の外側から内側に

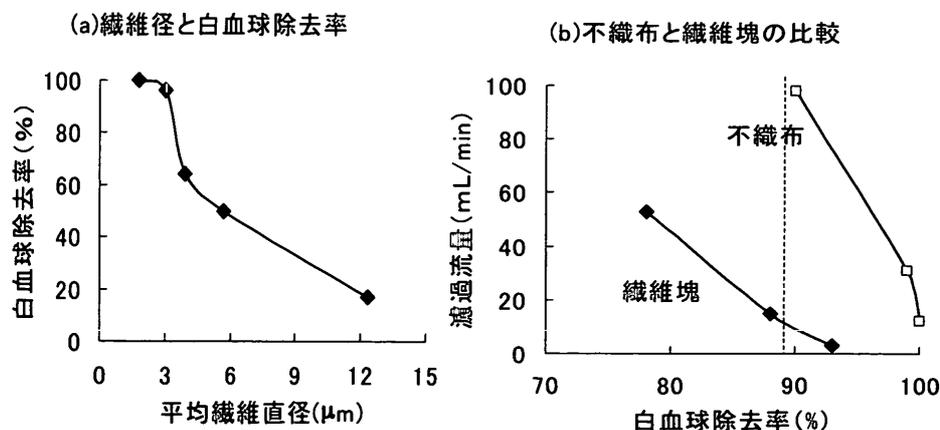


図4 不織布による白血球除去

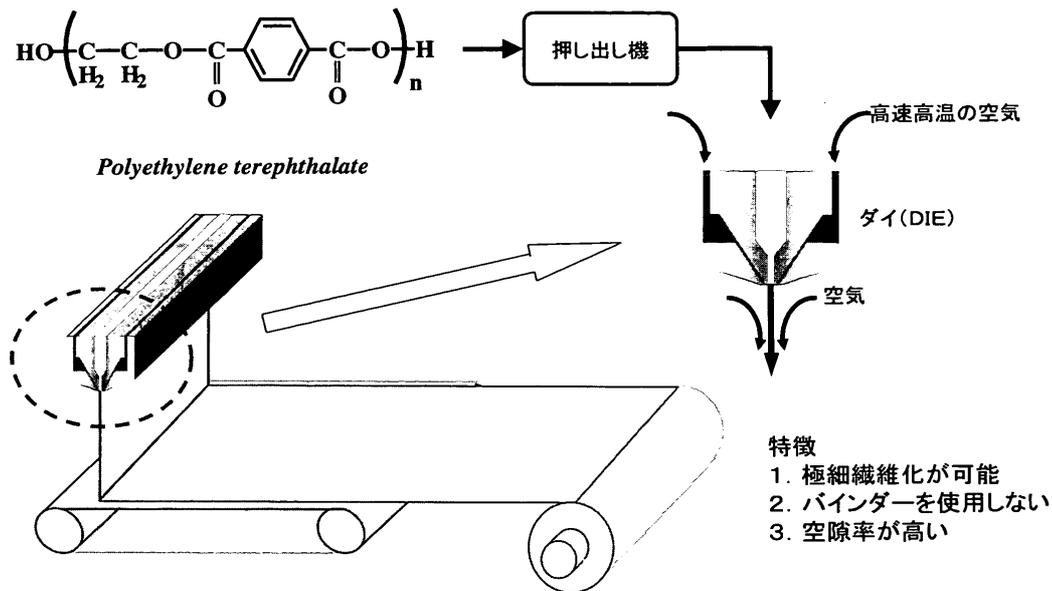


図5 メルトブロー法による不織布製造概略図

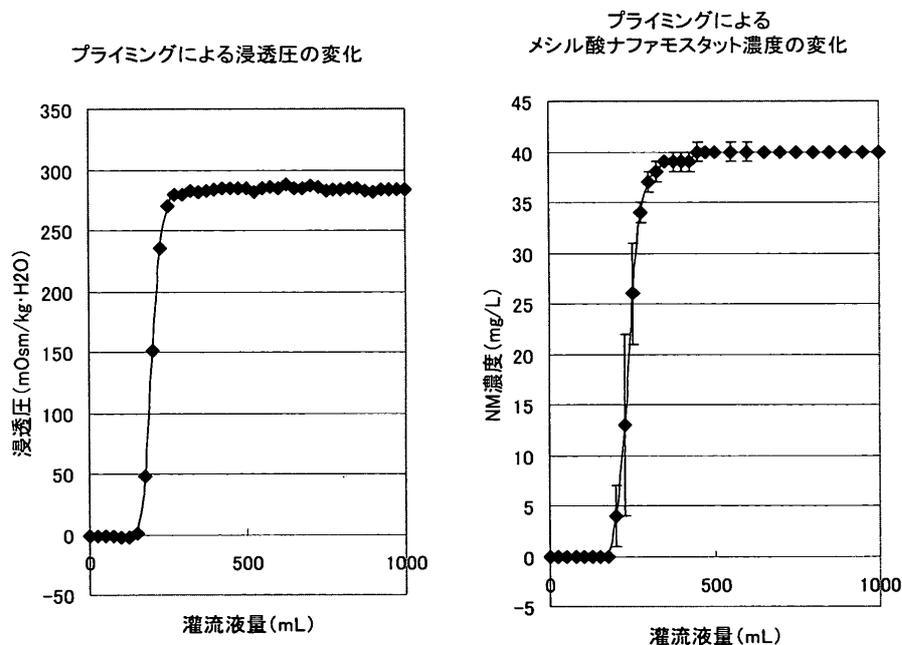


図6 プライミングによる置換法

血液を灌流する。濾過の負荷を分散させることを目的に、濾過上流のプレフィルター層と下流のメインフィルター層によって、不織布の細孔径が濾過方向に対して徐々に小さくなるカスケード構造としている。

プレフィルター層は、単球や顆粒球に対する弱い捕捉力を有し、メインフィルター層第1層への過剰な白血球の捕捉を抑制している。

以上のようにセルソーバは不織布技術をベースに、限られた体外循環時間の中で多量の白血球を除去する目的に適した設計となっている。

4. セルソーバの機能

世界初の濾布型の治療用白血球除去器セルソーバは、免疫機能を担う末梢血液中の成熟した白血球を直接血液灌流によって除去し、免疫調節しようとする治療器である。使用にあたっては生理食塩液、抗凝固剤としてメシル酸ナファモスタット(NM)、及び体外循環治療用の装置が必要である。

我々はセルソーバの性能を最大限に引き出すために、血液浄化装置プラソートLC(図2右)を同時に開発した。プラソートLCは回路のオートローディング機

構やオートプライミング機構を有し短時間で簡単に治療の準備を行うことができる。また、例えば治療中、回路内圧を監視しながら至適な血液流量に自動調整できるなど、種々の安全機構を備えた、操作の簡便性に優れた装置である。

セルソーバ容器内には蒸留水が充填されているため、使用にあたってはまず容器内の蒸留水をプライミングによって抗凝固剤を含む生理食塩液に置換する必要がある。まず生理食塩液 1,000 mL を灌流した後、メシル酸ナファモスタット 20 mg を加えた生理食塩液 500 mL で置換する。図 6 にプライミング時の生理食塩液とメシル酸ナファモスタット加生理食塩液それぞれの置換試験の結果を示す。セルソーバに灌流したとき、流出液の浸透圧を測定することで生理食塩液への置換性を、紫外吸収によりメシル酸ナファモスタット濃度を測定した。いずれにおいても灌流液量 300 mL 時に

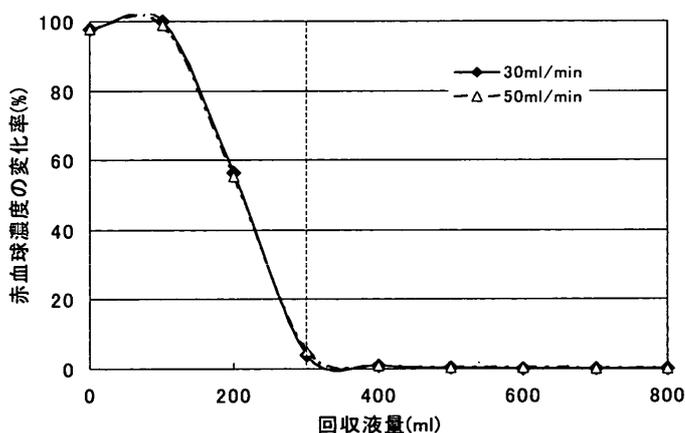


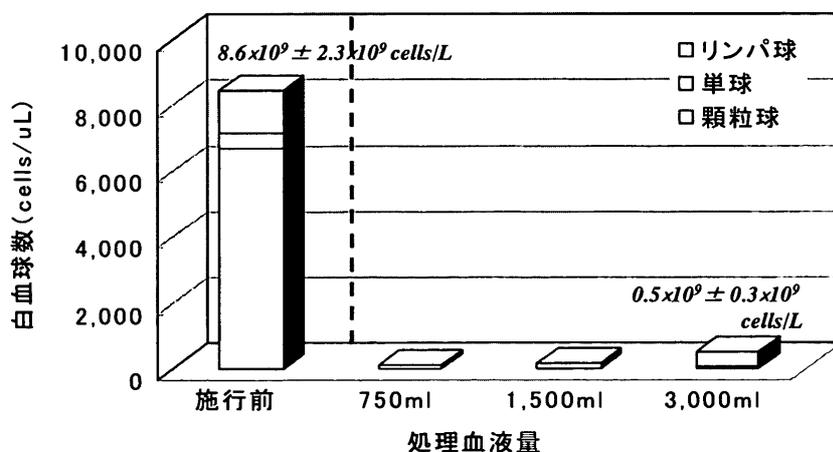
図 7 セルソーバ E の赤血球回収試験

は置換されていることがわかった。このとき浸透圧に対してメシル酸ナファモスタット濃度の立ち上がり若干遅いようにも見え、不織布への吸着が疑われるが、今回の試験では明確ではなかった。

返血操作は通常、生理食塩液約 300 mL を灌流することで行う。ウシ血液 3,000 mL を灌流した後、生理食塩液を流してセルソーバ出口の赤血球数の変化を測定した。ウシ血液の抗凝固剤にはクエン酸 (ACD-A 液) を用いた。元の赤血球数を 100 としたときの測定結果を図 7 に示す。灌流速度 30 mL/分及び 50 mL/分のいずれにおいても 200 mL 時ではまだ赤血球は残存しており、300 mL 灌流時にはほとんど消失していた。血液の損失を最小にするには、返血に 300 mL 以上の生理食塩液を灌流することが望ましいことがわかった。

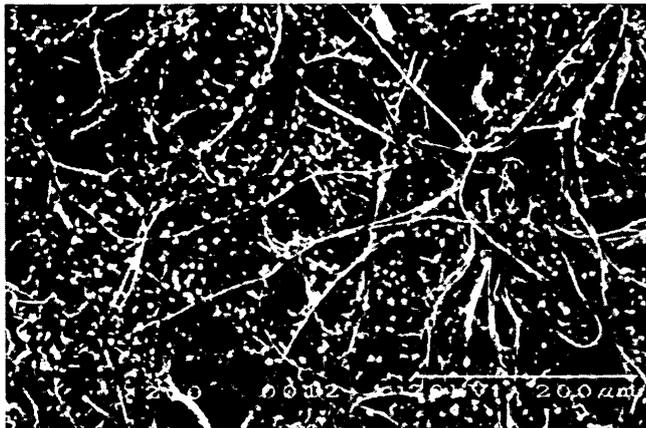
セルソーバは、およそ 2,000 mL から 3,000 mL の血液中の白血球を灌流速度 30 mL~60 mL で除去することを意図して設計している。慢性関節リウマチ患者におけるセルソーバ CS-100 の出口での白血球数の変化を図 8 に示す。治療前の平均白血球数が $8.6 \times 10^9 \pm 2.3 \times 10^9$ 細胞/L に対して、血液灌流量 3,000 mL 時点のセルソーバカラム出口の白血球数は $0.5 \times 10^9 \pm 0.3 \times 10^9$ 細胞/L であり、リンパ球の漏出が認められるものの顆粒球、単球の漏出はほとんど認めなかった。

カラム前後でほとんどの白血球を除去できており、且つ 3,000 mL 時にも維持していたことより、高い白血球除去率と 3,000 mL の血液浄化が可能な除去容量

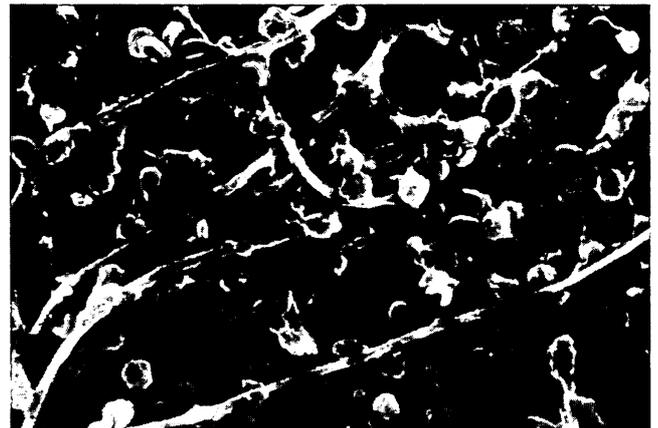


除去白血球の総数 : $13.0 \times 10^9 \pm 5.1 \times 10^9$ 細胞
 対象 : 慢性関節リウマチ (n=19)
 佐世保中央病院 植本幸孝先生

図 8 セルソーバ CS-100 の白血球除去性能試験 (各血液処理量でのカラム出口白血球除去数)



×200



×800

図9 セルソーバ付着細胞の走査型電子顕微鏡像

を有していることが確認できた。3,000 mL の滲流でセルソーバに捕捉された総白血球数は、セルソーバ入り口細胞数と出口細胞数とから $13.0 \times 10^9 \pm 5.1 \times 10^9$ 細胞ともとめられた。1回の治療でおよそ 10^{10} 細胞の除去が可能であるといえる。

治療後のセルソーバを解体して得た不織布の走査型電子顕微鏡写真を図9に示す。不織布繊維上に白血球が高密度に付着していることがわかる。

以上より、セルソーバは3,000 mLの血液浄化に十分な白血球除去率と除去容量を有しているといえる。

5. おわりに

澤田らにより、セルソーバの活動期の潰瘍性大腸炎に対する多施設ランダム比較試験が実施された。比較試験の結果、LCAP群（セルソーバ群）の有効率が74%であったのに対して、コントロール群（Prednisolone群）の有効率は38%であり、有意にLCAP群が高値であった ($p=0.005$)³⁾。副作用もLCAP群が有意に低値であった ($p<0.001$)。この比較試験により潰瘍性大腸炎に対する白血球除去治療器セルソーバの有効性が医学的に証明され、実用化されるに至った。

慢性関節リウマチに対するセルソーバの治療効果についても多くの報告が成されており、最近では日高らがシャムカラムを用いたダブルブラインド試験により、腫脹関節数や疼痛関節数が有意に改善することを報告している⁴⁾。植木らも同様に腫脹関節数や疼痛関節数が有意に改善することを報告している⁵⁾。

この様にセルソーバの治療効果は、潰瘍性大腸炎、慢性関節リウマチに対して証明されており、その他全

身性エリテマトーデス等の自己免疫を伴う疾患から急速進行性糸球体腎炎や開心術時の再灌流障害まで、その症状に免疫細胞が関与するとされる多くの疾患での検討が報告されている。

セルソーバによる白血球除去治療は、自己免疫を伴う疾患や炎症性の多くの疾患に対する治療法となりうることを期待できる。しかしその治療機序は未だ明らかではない。潰瘍性大腸炎に対するセルソーバの治療機序に対しては、血中に存在する組織障害に関わる活性化細胞の予備軍（好中球、単球）を除去することで炎症を鎮静化するという、細胞間の情報伝達遮断⁶⁾、CD4+DR+ が除去されやすく CD4+DR- は通過しやすいことより、CD4+DR- が炎症抑制性サイトカイン IL-4 を産生して炎症を鎮静化するという細胞の選択的除去⁷⁾、多核白血球の活性酸素産生能に関与する活性化血小板の除去⁸⁾などが考えられている。

実際の治療では3,000 mLの血液浄化でおよそ 10^{10} 個程度の白血球が除去される。この白血球数は、 10^{12} 個ともいわれる体内の総白血球数からみるとごく僅かの数である。白血球除去治療の治療機序は未だ定かではないが、末梢血中の成熟した白血球を短時間に効率よく除去することが、未熟な免疫細胞の動員を促し、免疫の沈静化に結び付けている可能性がある。即ち、セルソーバはその高い白血球除去率によって、末梢血白血球数の単なる減少による免疫抑制効果だけではなく、末梢の免疫細胞を置換することによって積極的に免疫系に働きかける免疫調節機能も有すると考えている。

今後、種々の疾患でセルソーバの有用性が証明されてより多くの臨床の場で利用されることで、少しでも

医療のお役に立てることを期待する。

慢性関節リウマチにおけるセルソーバの白血球除去性能は、佐世保中央病院植木幸孝先生のデータを使用させていただきました。植木幸孝先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Tsuda H, Yokoyama M, Sato M, et al: New trial of lymphocytapheresis combined with double-filtration by using of "sepacell" (leukocyte removal filter) in the treatment of rheumatoid arthritis. *Ther Plasmapheresis* 5: 369-372, 1985
- 2) 澤田康史: 特発性炎症性腸疾患に対する白血球除去器を用いた体外循環治療の有効性について. *日本臨床免疫学会誌* 17(6): 883-885, 1994
- 3) Sawada K, Mutou T, Shimoyama T, et al: Multicenter randomized controlled trial for the treatment of ulcerative colitis with a leukocytapheresis column. *Curr Pharm Des* (in press)
- 4) Hidaka T, Suzuki K, Matsuki Y, et al: Filtration leukocytapheresis therapy in rheumatoid arthritis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis and Rheum* 42(3): 431-437, 1999
- 5) Ueki S, Yamasaki S, Kanamoto Y, et al: Evaluation of filtration leukocytapheresis for use in the treatment of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 39: 165-171, 2000
- 6) 澤田康史, 大西国夫, 小坂 正, 他: 大腸疾患の治療—炎症性腸疾患の白血球除去療法. *内科* 77(2): 287-292, 1996
- 7) Noguchi M, Hiwatashi N, Hayakawa T, Toyota T: Leukocyte removal filter-passed lymphocytes produce large amounts of interleukin-4 in immunotherapy for inflammatory bowel disease: Role of bystander suppression. *Ther Apheresis* 2(2): 109-114, 1998
- 8) 本間 照: 厚生省特定疾患難治性炎症性腸管障害調査研究班平成10年度研究報告書-1-