

Mini Review

白血球機能制御による新たな抗炎症治療戦略: Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)療法

田中 裕¹⁾, 石川和男²⁾, 西野正人³⁾, 小倉裕司¹⁾, 杉本 壽¹⁾

¹⁾大阪大学大学院医学系研究科生体機能調節医学

²⁾大阪府立泉州救命救急センター

³⁾国立病院大阪医療センター救命救急センター

Regulation of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in patients with inflammation

Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is a naturally occurring glycosylated protein that was originally identified as a granulopoietic growth factor. It has been shown that G-CSF stimulates the proliferation and maturation of neutrophil precursor cells as well as increases such neutrophil functions as chemotaxis, phagocytosis, and bactericidal activity. G-CSF has drawn recent attention as a therapeutic drug for sepsis, because studies show that G-CSF not only selectively stimulates the proliferation of neutrophils but also plays an important role as a multipotent modulator of acute inflammation.

We previously reported an increased serum G-CSF concentration concomitant with an elevated absolute neutrophil count showing a left shift toward more immature forms, and that neutrophil phagocytic and bactericidal activity is maintained in patients with trauma or sepsis. We suggested that G-CSF plays an important role in neutrophil maturation and the maintenance of neutrophil function in inflammatory response associated with trauma and sepsis.

We also investigated the clinical effects of recombinant human G-CSF (rhG-CSF) administration in patients with sepsis who lack appropriate neutrophilia. We concluded that rhG-CSF administration attenuates inflammatory responses without inducing tissue injury. In addition, we found the difference in responses after rhG-CSF in each patients with sepsis. In the good response group, rhG-CSF administration markedly improved the severity of illness and produced a good outcome. The endogenous G-CSF level in blood showed lower than that in the poor response patients before rhG-CSF administration. Immature neutrophils was significantly higher in poor response group than those in good response group. Those results suggest that rhG-CSF was effective in septic patients with a low percentage of immature neutrophils and insufficient endogenous G-CSF.

Some recent reports, however, have suggested that rhG-CSF treatment in patients receiving cytotoxins can be associated with pulmonary toxicity. However, we revealed that rhG-CSF causes leukocyte stiffness but attenuates inflammatory response without inducing lung injury in septic patients.

This review will provide an overview of our current understanding of the role of G-CSF as an anti-inflammatory modulator in patients with sepsis.

Rec.3/10/2004, Acc.7/23/2004, pp619-628

Hiroshi Tanaka¹⁾, Kazuo Ishikawa²⁾, Masato Nishino³⁾, Hiroshi Ogura¹⁾ and Hisashi Sugimoto¹⁾

¹⁾ Department of Traumatology and Acute Critical Medicine, Osaka University Medical School

²⁾ Senshu Critical Care Medical Center

³⁾ Osaka National Hospital, Emergency Department

Key words granulocyte colony-stimulating factor, sepsis, leukocyte, tissue injury

はじめに

G-CSFは多能性幹細胞を増殖させ、好中球系幹細胞には造血刺激因子として特異的に働き、その分化と増殖を促す¹⁻³⁾。さらに好中球の多様な機能を亢進させることが報告されており⁴⁻¹⁴⁾、免疫能の低下した病態下での感染防御効果が期待されている¹⁵⁻¹⁷⁾。実際、動物を用いた敗血症モデルではG-CSFの効果が数多く報告されている^{2,18-20)}。しかし、最近の敗血症患者に対するG-CSF療法の多施設研究結果では、予想に反してG-CSFの効果は認められなかった²¹⁾。どうしてなのだろうか？

我々の施設では敗血症病態に対して、G-CSFを用いて好中球の組織障害作用を引き起こすことなく、生体にとって善い作用のみを増強させることができるか否かを検討してきた。本総説では、今まで当施設で行ってきた重症敗血症患者に対するG-CSF療法について解説し、今後の抗炎症治療戦略としての展望を述べる。

G-CSFの機能(抗炎症効果を中心に)

G-CSFは多能性幹細胞を増殖させ、好中球系幹細胞には造血刺激因子として特異的に働き、その分化と増殖を促す¹⁻³⁾。G-CSFは成熟好中球に対する作用として、脱顆粒反応の亢進、接着作用の増強、貪食作用の亢進、活性酸素産生能の増強、アポトーシスの抑制など様々な機能を持つことが報告されている⁴⁻¹⁴⁾。これらG-CSFの作用は、一方で白血球機能を高め生体防御作用を発揮するが、他方、組織障害性を増強する可能性も考慮する必要がある。

G-CSFの好中球接着の亢進については、今までに多くの議論がされている。YongらはG-CSFが接着作用に影響を与えずに、好中球の内皮細胞へのmigrationを増強することを報告している⁷⁾。一方、G-CSFがCD11b/CD18の動員を誘発し、その結果、細胞表面の発現を増強させることが報告されている⁸⁾。OkadaらやYuoらはG-CSFが合成繊維上での白血球の接着を増強させることを報告した^{9,10)}。Chakrabortyらの検討でもG-CSFはMac-1やleukocyte function-associated antigen-1に依存してICAM-1に対する接着を亢進させる¹¹⁾。活性酸素産生に関する最近の報告では、G-CSFやIL-8はそれ単独では活性酸素産生を刺激しない。しかし、Mannheimia haemolyticaの活性酸素産生に対するpriming作用や、Staphylococcus aureusに対する貪食作用を高める。また両者を併用するとその作用が増強される¹²⁾。

最近G-CSFが抗炎症作用や免疫反応にも関与することが明らかとなってきた。Hartungらは、24人の健康者に対してG-CSF(Filgrastim)を12日間投与し、単球とリンパ球に対する効果を検討した。その結果、G-CSF投与でLPS刺

激に対する単球からのTNF α 、IL-12、インターフェロン γ (IFN γ)の産生が抑制された。In vitroでLPSにIL-12を加えておくとTNF α 、IFN γ の産生は保たれた。これらの結果は、G-CSFの抗炎症作用がIL-12の抑制によることが示唆された²²⁾。リンパ球幼若化反応はIL-2の産生と平行して短期的(2日間)に増加したあとは、5～15日の間で約60%抑制された。さらにG-CSFはT細胞のポピュレーションを8日まで倍増させた。一方、G-CSFは炎症性サイトカインの産生やリンパ球の分化を抑えた。以上の結果より、G-CSFには炎症性サイトカインカスケードの制御効果があり、慢性炎症病態での応用が期待される²²⁾。

G-CSFのT細胞に及ぼす研究は、末梢血幹細胞移植で急性のGVHDが生じにくいという現象から発展した。Sloandらは、CD4+リンパ球上のIFN γ とIL-4の発現におけるG-CSFの作用について検討した。G-CSFとCD4+リンパ球を培養しPHAなどで刺激すると、IFN γ が減少しIL-4の発現が増加することを明らかにした。G-CSFはin vitroでもin vivoでもIFN γ の産生を減少させ、IL-4産生を増加させる。そして1型ヘルパーT細胞(Th1)と2型ヘルパーT細胞(Th2)バランスの調節をしている。この結果は、G-CSF処理したドナー血による末梢血幹細胞移植で急性のGVHDが起こりにくい理由として考えられている²³⁾。ArpinatiらもG-CSFのT細胞に与える影響について、Naive T細胞をそれぞれTh1とTh2に分化させることのできる樹状細胞(DC)を用いて検討した。この場合も、Th2に分化可能なDC2細胞数は著増した。一方、DC1細胞数は変化しなかった。TNF α でDC1細胞を刺激すると同細胞からIFN γ が産生される(Th1)。しかるにTNF α でDC2を刺激するとIL-4とIL-10が産生される(Th2)。末梢血幹細胞移植では骨髓よりも高いDC2を含むため、G-CSF処理した末梢血幹細胞移植では急性のGVHDは生じにくいと考えられる²⁴⁾。

敗血症に対するG-CSF投与の多施設間の検討結果について

1996年から1998年にかけて、96の施設(米国、カナダ、オーストラリア、ヨーロッパ)を中心に肺炎を併発した敗血症患者を対象に、G-CSFと抗生剤の併用療法が安全で効果があるか否かのmulticenter, double-blind, randomized trialが行われた²¹⁾。患者701例を2群に分け、G-CSF投与群(348例)はG-CSFを300 μ g経静脈的に5日間投与、あるいは白血球数が75,000/mm³を超えるまで投与した。29日間の死亡率、臓器障害の有無、ICU退室までの期間、人工呼吸器装着の期間、死亡までの期間を比較検討した。

その結果、G-CSF投与群では白血球数が12,300/mm³から31,700/mm³まで増加した。しかし、2群間の死亡率は

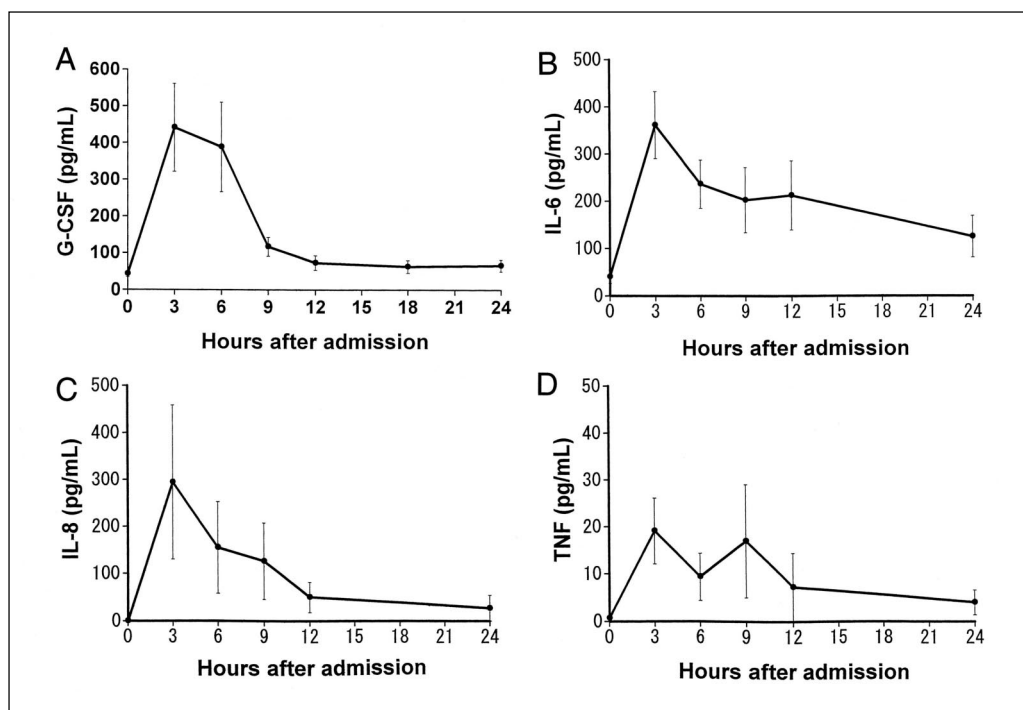


図1 重度外傷時の内因性G-CSF濃度の経時的変化

A: 血中G-CSF濃度の推移, B: 血中IL-6濃度の推移, C: 血中IL-8濃度の推移, D: 血中TNF α 濃度の推移.

rhG-CSF投与群で29.0%, 非投与群で25.5%と差がなく, 死亡までの期間や臓器障害の有無, 人工呼吸器装着期間, ICU入院期間等にも差を認めなかった. 以上より, 肺炎を併発した敗血症患者に対するG-CSF投与効果は認められなかった.

この大規模な臨床研究でG-CSFの効果が認められなかった原因としては, 第一にstudy designが適正に設定されていなかったことが考えられる. すなわち, 対象となった患者の予後が両群ともに比較的良好で(生存率がrhG-CSF投与群で71%, 非投与群で約75%), G-CSF非投与群においても予後が良好なため, 両群で有意差を出すにはさらに大多数の症例による検討が必要となる. また, 後述するようにG-CSFに対する白血球の反応性の違いにより, G-CSF投与による反応良好例と不良例が混在している可能性も考えられる²⁵⁾. さらに, G-CSF投与時の白血球数が $12,300/\text{mm}^3$ と高値であった.

この状況は我々が以前に報告した結果からみると²⁶⁾, 重度外傷や敗血症などの侵襲下では血中のG-CSF濃度が増加し, 白血球数や機能といった白血球動態がきちんと調節されている可能性が考えられる. このような症例に対して, 外からG-CSFを投与しても効果は期待できないのではないだろうか.

侵襲時の血清G-CSF濃度の変化と白血球機能について

まず最初に我々は重度外傷や敗血症時における血清のG-CSF濃度の変化を経時的に追跡した. 対象は, 当センターに入院した重度外傷19例(平均年齢 41 ± 19 歳, 男性14例, 女性5例, 重症度の指標であるInjury Severity Score, ISS 22.3 ± 8.6)と, 敗血症15例(平均年齢 51 ± 18 歳, 男性11例, 女性4例, 生存11例, 死亡4例)である. 外傷患者では来院時から経時的に, 敗血症患者では診断した時より経日的に血清のG-CSF濃度をELISAを用いて測定した. なお敗血症の診断は, 米国胸部疾患学会と集中治療学会の合同会議で決められた基準に従った²⁷⁾. また, 他の炎症性サイトカイン(TNF α , IL-6, IL-8)との関連や, 殺菌・貪食能といった白血球機能との関連について検討した.

その結果, 外傷や敗血症時には血清G-CSF濃度が増加した. 外傷時では受傷3~6時間でピークとなり, この動きはTNF α を除く他の炎症性サイトカインと同じであった(図1). また, 外傷の重症度の指標(ISS)や急性期の総輸血量と正の相関を認め, 侵襲の程度に対応してG-CSF濃度が増加することが明らかとなった(図2). 一方, G-CSF濃度は敗血症時には高値となり($4578 \pm 1761 \text{ pg/mL}$), 生

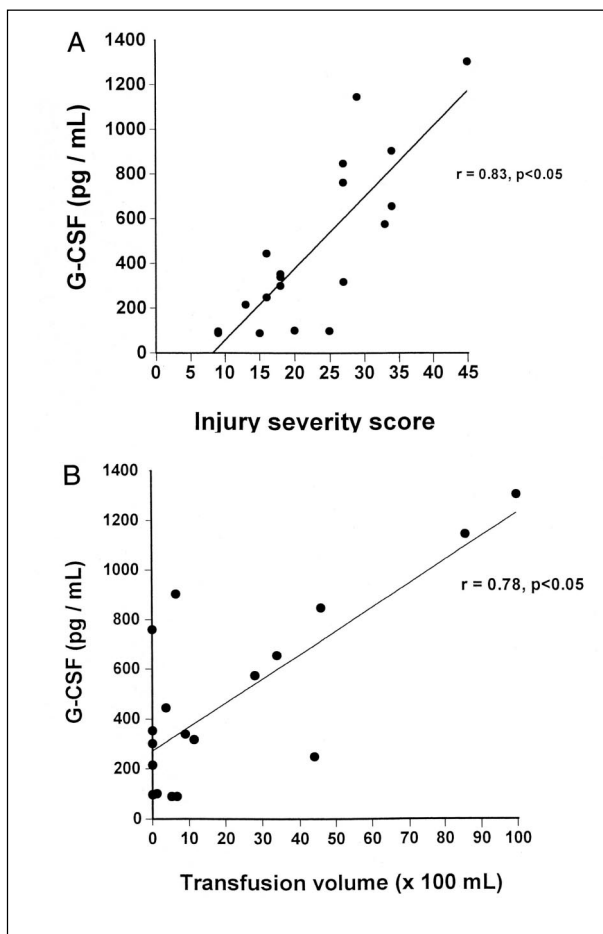


図2 侵襲の強さと内因性G-CSF濃度の相関

A: 外傷の重症度の指標(Injury severity score, ISS)と内因性 G-CSF 濃度との相関($r=0.83$, $p<0.05$) . B: 受傷 24 時間以内の総輸血量と内因性 G-CSF 濃度の相関($r=0.78$, $p < 0.05$) .

存例ではその後減少するが死亡例では高値が持続した。白血球数や貪食・殺菌機能は外傷時も敗血症時も正常に維持されており,白血球分画は左方移動が著明であった。以上より,侵襲時には血清の G-CSF 濃度が増加し,白血球数や機能といった白血球動態の調節に重要な役割を果たしていることが確認された²⁶⁾。

白血球減少敗血症患者に対するG-CSF投与の効果について

前述したように侵襲時には血清の G-CSF が増加し,白血球数や機能は維持されている²⁶⁾。しかし,感染が持続しているにもかかわらず白血球数が低下し,感染が重篤化する症例が存在する。このような症例に対して我々は rhG-CSF(Lenograstim)を $2\mu\text{g/kg}$, 1日1回5日間皮下投与し,炎症反応に対する効果について検討した。白血球数が $5,000/\text{mm}^3$ 未満の敗血症 34 例中, 20 例に rhG-CSF($2\mu\text{g/kg}$)を5日間皮下注した。他の 14 例を非投与群とした。敗血症の内訳は外傷後の敗血症 8 例, ガス壊疽 7 例, 腹膜炎 7 例, 熱傷後の敗血症 6 例, その他 6 例であった。rhG-CSF 投与群と非投与群に, 年齢, 性別, 敗血症の起因菌に差を

認めなかった。白血球数ならびに白血球の貪食, 殺菌能を投与前後で評価した。また, 炎症の指標として血中 CRP, IL-6, IL-8 濃度を, 組織障害の指標として顆粒球エラストラーゼ(GE)濃度および肺酸素化能, MOF index, APACHE II スコア(APS)を評価した。

その結果, rhG-CSF 投与群では白血球数は $3,863/\text{mm}^3$ から $20,234/\text{mm}^3$ へ著増し, 貪食, 殺菌能も改善した(図3)。CRP 値は 17.2mg/dl から 9.4mg/dl へ低下し(図4), IL-6 濃度も 4884pg/ml から 119pg/ml へ, IL-8 濃度も 2059pg/ml から 249pg/ml へ有意に低下した(図5)。また, MOF index, APS も低下し, 12 例(60%)が敗血症より離脱した。一方, 肺酸素化能, GE 値は変化せず組織障害は認めなかった。これに対して非投与群では白血球数は $3,929/\text{mm}^3$ から $9,128/\text{mm}^3$ と増加したが, CRP 値は 18.0mg/dl から 15.0mg/dl と変化せず, MOF index, APS も改善しなかった。敗血症からの離脱も 4 例(29%)であった。

本研究結果より, 好中球減少敗血症患者に G-CSF を投与した結果 組織障害を生じることなく炎症反応が改善することが明らかとなった²⁸⁾。本効果は重症頭部外傷患者で中等度脳低温療法施行中に白血球数が減少し, 感染症を引

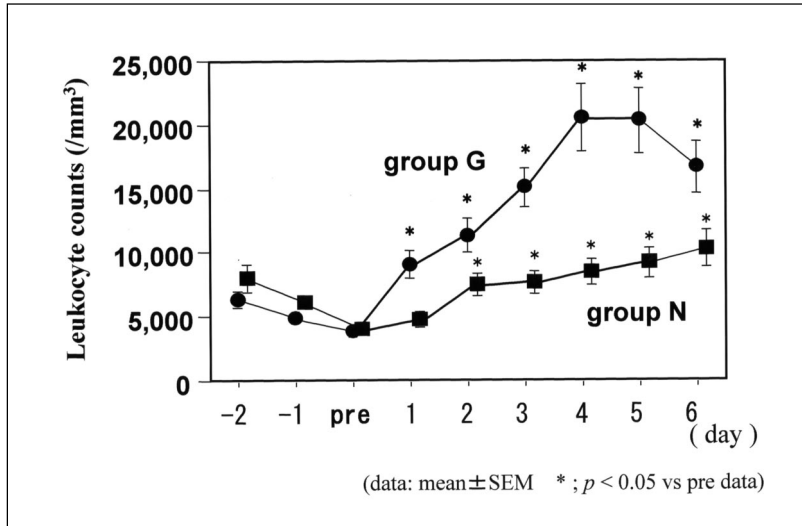


図3 rhG-CSF投与後の白血球数の経日的変化
group G: rhG-CSF(2 µg/kg)を5日間投与した。group N: 非投与群

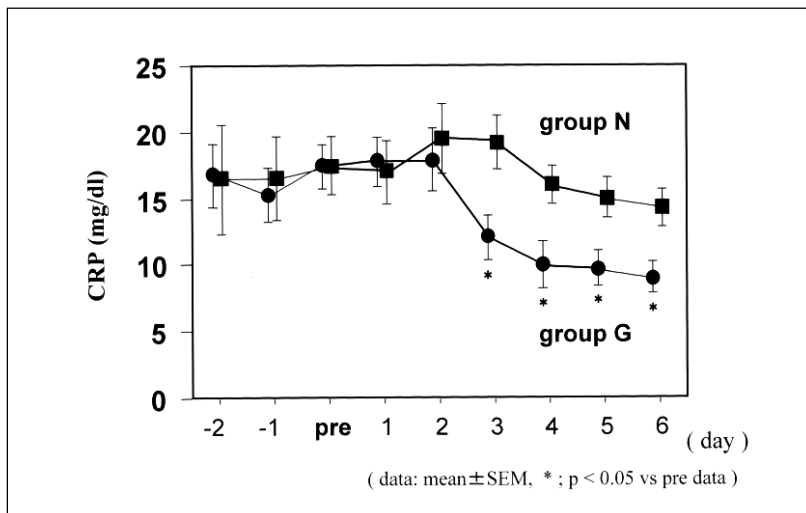


図4 rhG-CSF投与後のCRP値の経日的変化
group G: rhG-CSF(2 µg/kg)を5日間投与した。group N: 非投与群

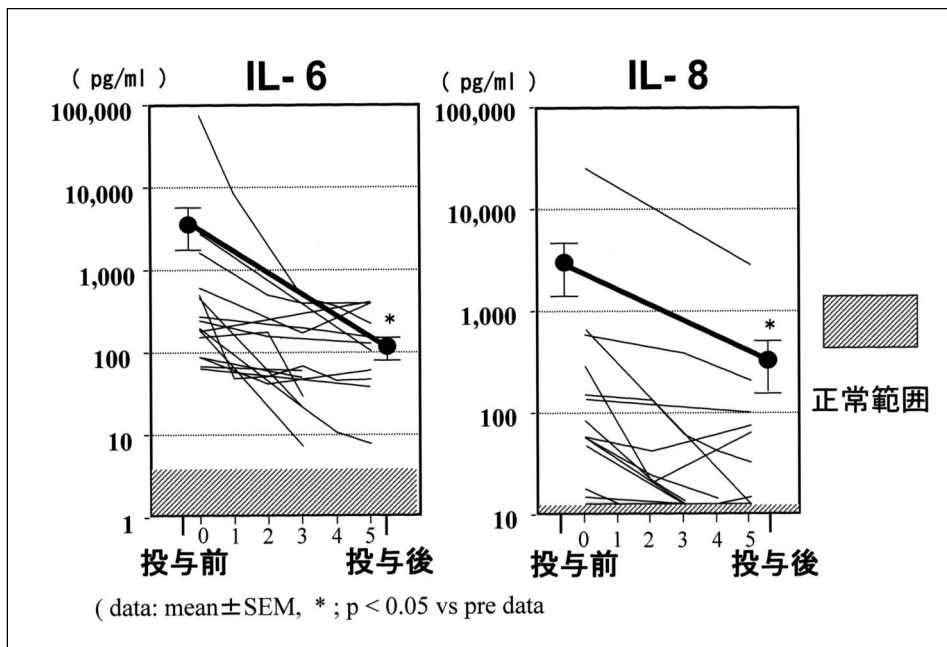


図5 rhG-CSF投与後のgroup GにおけるIL-6, IL-8濃度の経日的変化
group G: rhG-CSF(2 µg/kg)を5日間投与した。

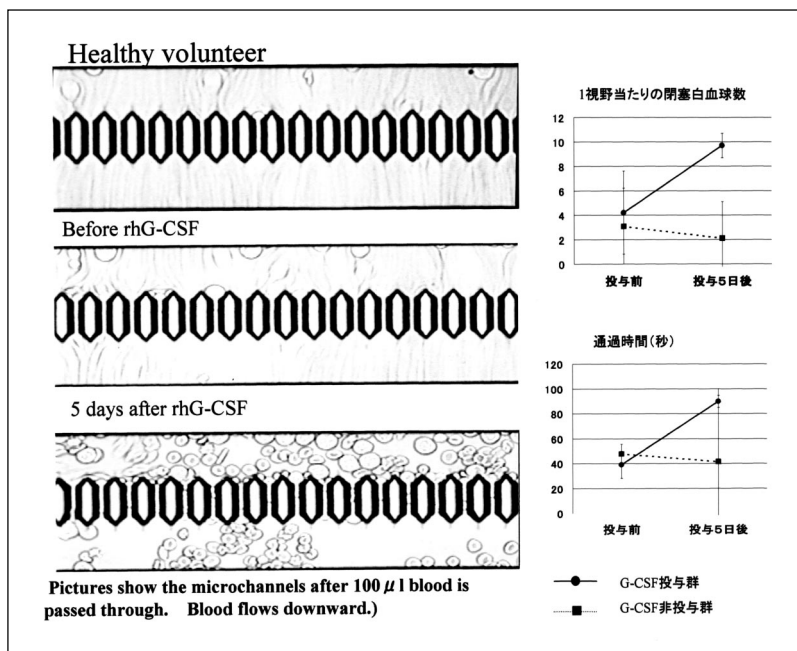


図6 健康人ならびにsepsis患者におけるrhG-CSF投与前後のマイクロチャンネル像(図左). rhG-CSF投与群ならびに非投与群における一視野あたりの閉塞白血球数(図右上)とマイクロチャンネル通過時間(図右下)

A: 健康人のマイクロチャンネル像. マイクロチャンネルを閉塞している白血球は中央に一つ認めるだけである.

B: sepsis患者にrhG-CSFを投与する前のマイクロチャンネル像. 4つのマイクロチャンネルが白血球で閉塞している.

C: sepsis患者にrhG-CSFを5日間投与後のマイクロチャンネル像. ほぼすべてのマイクロチャンネルが白血球で閉塞している.

き起こす症例に対してもその有用性が確認された^{29,30)}.

G-CSF投与による組織障害性の検討(肺障害は起こるのか?)

我々は白血球減少敗血症患者にrhG-CSFを投与し, 炎症反応が改善することを報告した²⁸⁾. しかし, 同時に白血球数が増加し, さらに活性化されると, 肺障害などの組織障害が発生する可能性が常に議論されている³¹⁻³³⁾. 一方, 白血球の組織への集積には接着分子の発現の亢進と, 白血球の変形能の低下が重要な役割を果たすと考えられている³⁴⁻³⁶⁾. そこで白血球減少敗血症患者にG-CSFを投与した時, 白血球の変形能がどのように変化するのか検討した.

白血球数が低下した25例の敗血症患者の内, 無作為に12例にrhG-CSFを2 μ g/kg, 1日1回5日間皮下投与した. 他の13例には投与せず対照群とした. 投与前後の白血球の変形能はMicrochannel flow array analyzerを用い, 7 μ m幅のマイクロチャンネルを通過する時に閉塞する白血球数を, 一視野あたりの閉塞白血球数として計測した. また, 全血100 μ lが同チャンネルを通過する時間(通過時間)を測定した.

その結果, rhG-CSF投与群ではG-CSF投与後一視野当たりの閉塞白血球数は著増し, 通過時間も有意に延長した(図6). この結果より, G-CSF投与によって白血球の変形能が低下することが明らかとなった. しかるにCRP値は有意に低下し炎症反応が軽減するとともに, APACHE IIスコアやMOF indexは改善した. また, 肺酸素化能には変化がなく肺障害は認めなかった.

以上の結果より, G-CSFの投与によって白血球の変形能は低下し, 微小循環系に集積しやすい状況にあると考えられた. しかし, 組織(肺)傷害を引き起こすことなく, 炎症反応は改善することが証明された³⁷⁾.

G-CSF投与による白血球の反応性の違いに関する検討

白血球減少を伴う重症感染症にG-CSFを投与した場合, 肺障害等の組織障害を引き起こすことなく生体防御能が高まることが明らかとなり, 重症感染症に対する新たな治療効果が期待される. しかし, 各症例を詳細に検討すると, G-CSF投与後の白血球数や炎症反応の変化は症例により異なることが判明した. そこで引き続いて, G-CSFを投与した敗血症患者26例について, G-CSF投与による反応性について検討した²⁵⁾.

30例中20例は5日間のG-CSF投与で好中球数が10,000/ mm^3 を超えた(反応良好群, G群)(図7). 一方, 5例は5日間の投与で好中球数は増加したが10,000/ mm^3 を超えなかった(反応中間群, M群). そして, 5例は経過中好中球数がさらに減少した(反応不良群, P群). 各群の病態についてみると(表1), 傷病構造や敗血症の起病菌に各群で差を認めなかった. 年齢はP群で有意に高く, G-CSF投与前に敗血症性ショックを合併していたのは, G群では5例に過ぎないが, M群, P群では全例が合併していた. また, 重症度の生理学的指標であるAPACHE IIスコアもM群, P群で有意に高い. 生存率では, G-CSF投与5日後までにP群では5例中4例が死亡し, 4週間後には生存例は

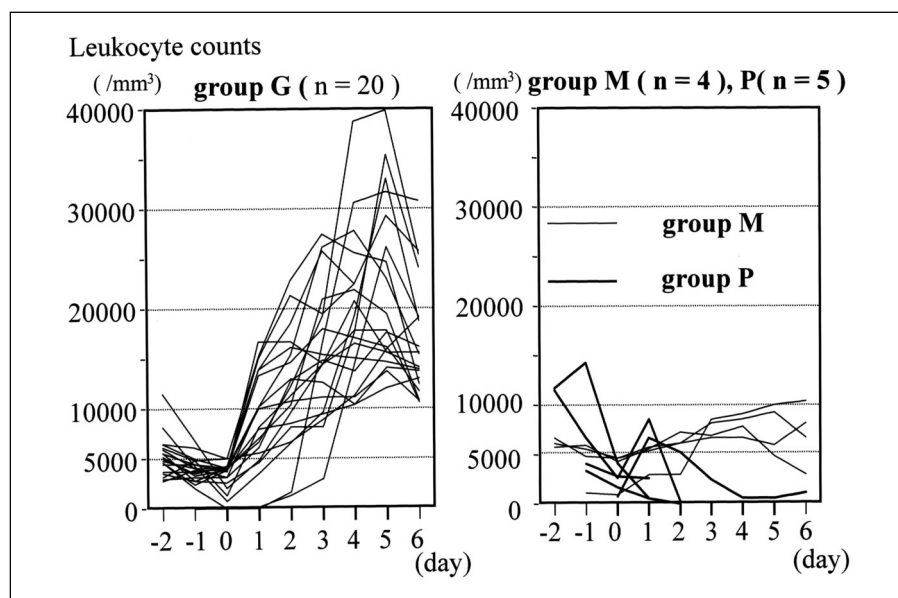


図7 rhG-CSF投与前後の白血球数の変化

group G : rhG-CSF 投与に白血球数は著明に増加している . group M : rhG-CSF 投与後に白血球数は増加するが , 10,000/mm³を超えない . group P : rhG-CSF を投与後も白血球数は増加しない .

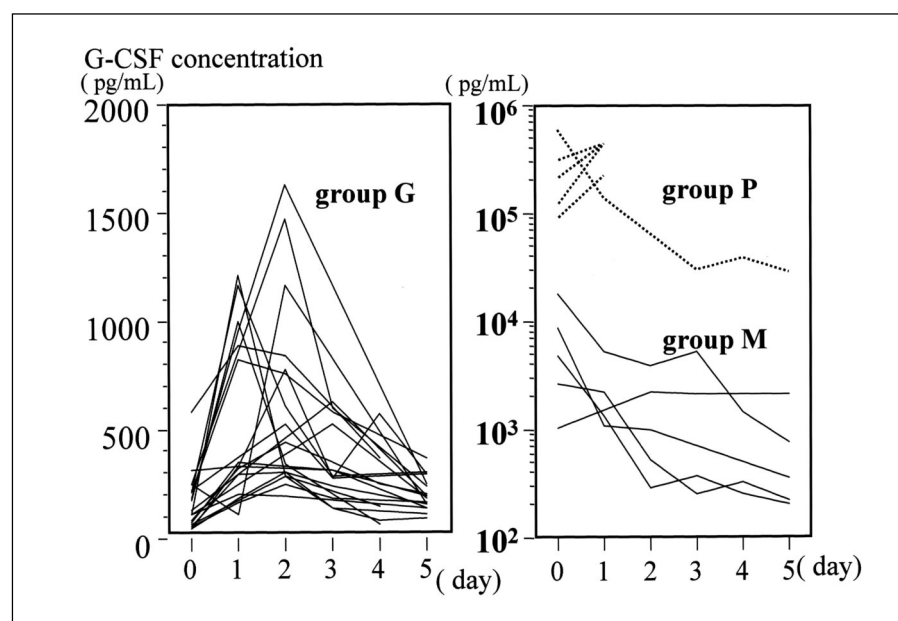


図8 各群におけるrhG-CSF投与前後の内因性G-CSF濃度の経日的変化

各 group は図 7 参照 .

ない . 一方 , G 群 , M 群では投与5日後にはCRP 濃度は低下し , 炎症反応が改善した (表 1) .

以上各群の違いとして , M 群 , P 群ほど重症度が高いと考えられる . この違いについてさらに詳細な検討を行った . まず各群の血清 G-CSF 濃度の変化を検討した結果 , G

群では血清のG-CSF濃度は投与前100pg/ml程度であった . この濃度は我々が以前に報告した敗血症時の血中濃度(平均 4500pg/ml) に比べて明らかに低い²⁰⁾ . そしてG-CSF を投与後はすみやかに上昇した . 一方 , M 群では血清G-CSF 濃度は数千 pg/ml と高く G-CSF を投与しても変化しない .

表1 各群のrhG-CSF投与前後の変化について

	group G	group M	group P
Number	20	5	5
Male	13	3	2
Female	7	2	3
Age	50 ± 5	66 ± 5	75 ± 5*
Cause of sepsis			
Trauma	7	0	1
Gas gangrene	5	0	1
Peritonitis	2	2	2
Burn	4	0	1
Others	2	3	0
Severity before and after rhG-CSF			
CRP			
before	19.0 ± 2.2	23.4 ± 2.6	15.6 ± 3.0
after	7.9 ± 1.4#	13.5 ± 3.1#	15.6 ± 2.4
APACHE II			
before	16.8 ± 1.0	23.2 ± 2.3*	24.6 ± 2.2*
after	11.4 ± 1.0#	13.2 ± 2.4#	31.2 ± 3.8#
MOF index			
before	3.9 ± 0.6	6.6 ± 1.3*	8.6 ± 0.7*
after	2.9 ± 0.5#	3.4 ± 1.0#	10.4 ± 1.2#
Prognosis			
Severe sepsis	5 → 0	5 → 0	5 → 5
MOF	5 → 1	5 → 1	5 → 5
Survival rate (%)			
5 days	100	100	20\$
28 days	90	100	0\$
Overall	85	80	0\$

* p < 0.05, significant difference from the data in group G.

p < 0.05, significant difference from the pretreatment data.

\$ p < 0.05, significant difference from the data in other groups.

さらに、P群では投与前よりすでに数万から数十万 pg/ml と異常高値を示した（図8）。すなわち、好中球数の反応が不良な群ほど、血清のG-CSF濃度が高く、投与前にすでにG-CSFのup regulationがかかっており、このような状態では、G-CSFを投与しても効果がないことが示唆された。末梢血中の幼若好中球の割合をみると、G群では10%以下であったが、M群、P群では20%以上が幼若好中球であった（図9）。

この結果より、反応良好群では、好中球の核左方移動が投与前は軽度であり、G-CSFの投与に反応する可能性が高いと考えられる。これに対して、反応不良群ではすでに多数の幼若好中球が血中に動員されており、G-CSFを投与しても反応できない状態であることが示唆された。

以上より反応良好群では投与前、血清G-CSF濃度の上昇や白血球の左方移動は軽度で、G-CSFの投与により炎症は改善した。これに対して反応不良群ではG-CSF濃度は投与前よりすでに著明に増加しており、骨髄からの好中球の動員も強く、G-CSFの投与効果は期待できないと考えられた²⁵⁾。

おわりに

先に述べたように、敗血症時にはG-CSFを投与して白血球の善い面だけを引き出し、悪い作用を出さない治療法が理想的である。このためには、G-CSFの白血球に対する作用を十分に検討していくことがさらに必要と考えられる。また、G-CSFの使用のタイミングとしては、反応性からの検討より、反応良好群での好中球の核左方移動は投与前は軽度であり、G-CSFの投与に反応する可能性が高いと考えられる。これに対して、反応不良群ではすでに多数の幼若好中球が血中に動員されており、G-CSFを投与しても

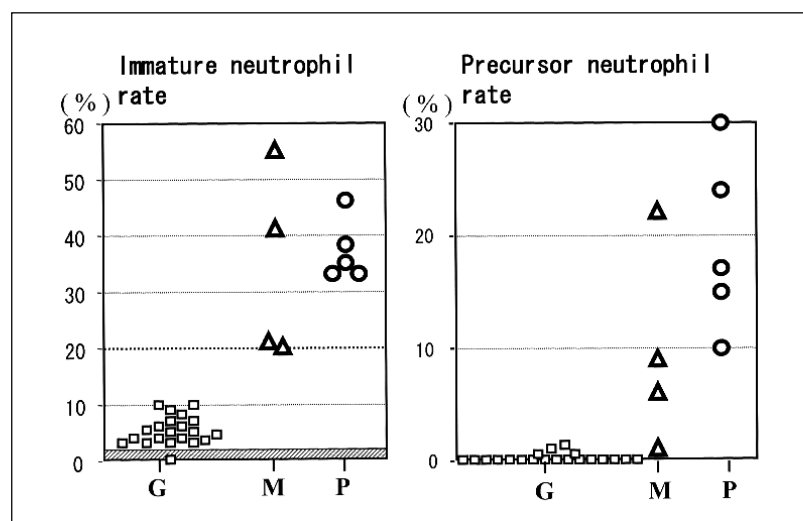


図9 各群におけるrhG-CSF投与前の末梢血中幼若好中球の変化

左図：Immature neutrophil(myelocyte, metamyelocyte, stab neutrophil)の全好中球に対する割合。右図：Precursor neutrophil(myelocyte, metamyelocyte)の全好中球に対する割合。
各groupは図7参照。

反応できない状態であることが示唆された。したがって、敗血症患者に対するG-CSFの投与は、炎症が高度となり、幼若な細胞が血中に動員される前に早期から行うことが望ましいと考えられる。今後は、G-CSFの持つ好中球細胞に対する作用以外(特に免疫機能に対する作用)をも含めた機能を生かし、敗血症時の新たな治療戦略として考えていく予定である。

文 献

- 1) Liescke GJ, Burgess AW: Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *N Engl J Med*, 327: 99-106, 1992.
- 2) Dale DC, Liles WC, Summer WR, Nelson S: Review: Granulocyte colony-stimulating factor. Role and relationships in infectious diseases. *J Infect Dis*, 172: 1061-1075, 1995.
- 3) Metcalf D: Control of granulocyte and macrophages: molecular, cellular and clinical aspect. *Science*, 254: 529-533, 1991.
- 4) Xu S, Hoglund M, Venge P: The effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on the degranulation of secondary granule proteins from human neutrophils in vivo may be indirect. *Br J Haematol*, 93: 558-568, 1996.
- 5) Villalta F, Kierszenbaum F: Effects of human colony-stimulating factor on the uptake and destruction of a pathogenic parasite (*Trypanosoma cruzi*) by human neutrophils. *J Immunol*, 137: 1703-1707, 1986.
- 6) Avalos BR, Gasson JC, Hedvat C, Quan SG, Baldwin GC, Weisbart RH, Williams RE, Golde DW, DiPersio JF: Human granulocyte colony-stimulating factor: biologic activities and receptor characterization on hematopoietic cells and small cell lung cancer cell lines. *Blood*, 75: 851-857, 1990.
- 7) Yong KL: Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) increases neutrophil migration across vascular endothelium independent of an effect on adhesion: comparison with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Br J Haematol*, 94: 40-47, 1996.
- 8) Deshpande RV, Peterson RH, Moore MA: Granulocyte colony-stimulating factor-induced activation of protein kinase-C in myeloid cells. *J Cell Biochem*, 66: 286-296, 1997.
- 9) Okada Y, Kawagishi M, Kusaka M: Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on human neutrophil adherence in vitro. *Experientia*, 46: 1050-1053, 1990.
- 10) Yuo A, Kitagawa S, Ohsaka A, Ohta M, Miyazono K, Okabe T, Urabe A, Saito M, Takaku F: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor as an activator of human granulocytes: potentiation of responses triggered by receptor-mediated agonists and stimulation of C3bi receptor expression and adherence. *Blood*, 74: 2144-2149, 1989.
- 11) Chakraborty A, Hentzen ER, Seo SM, Smith CW: Granulocyte colony-stimulating factor promotes adhesion of neutrophils. *Am J Physiol Cell Physiol*, 284: C103-C110, 2003.
- 12) Mitchell GB, Albright BN, Caswell JL: Effect of interleukin-8 and granulocyte colony-stimulating factor on priming and activation of bovine neutrophils. *Infection and Immunity*, 71: 1643-1649, 2003.
- 13) Sullivan R, Griffin JD, Simons ER, Schafer AI, Meshulam T, Fredette JP, Maas AK, Gadenne AS, Leavitt JL, Melnick DA: Effects of recombinant human granulocyte and macrophage colony-stimulating factors on signal transduction pathways in human granulocytes. *J Immunol*, 139: 3422-3430, 1987.
- 14) Begley CG, Lopez AF, Nicola NA, Warren DJ, Vadas MA, Sanderson CJ, Metcalf D: Purified colony-stimulating factors enhance the survival of human neutrophils and eosinophils in vitro: a rapid and sensitive microassay for colony-stimulating factors. *Blood*, 68: 162-166, 1986.
- 15) Hartung T: Anti-inflammatory effects of granulocyte colony-stimulating factor. *Curr Opin Haematol*, 5: 221-225, 1998.
- 16) Weiss M, Moldawer LL, Schneider M: Granulocyte colony-stimulating factor to prevent the progression of systemic nonresponsiveness in systemic response syndrome and sepsis. *Blood*, 93: 425-439, 1999.
- 17) Hartung T, Docke WD, Gantner F, Krieger G, Sauer A, Stevens P, Volk HD, Wendel A: Effect of granulocyte colony-stimulating factor treatment on ex vivo blood cytokine response in human volunteers. *Blood*, 85: 2482-2489, 1995.
- 18) Gorgen I, Hartung T, Leist M, Niehorster M, Tlegs G, Uhlig S, Weitzel F, Wendel A: Granulocyte colony-stimulating factor treatment protects rodents against lipopolysaccharide-induced toxicity via suppression of systemic tumor necrosis factor- α . *J Immunol*, 149: 918-924, 1992.
- 19) Mooney DP, Gamelli RL, O'Reilly M, Hebert JC: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and *Pseudomonas* burn wound sepsis. *Arch Surg*, 123: 1353-

- 1357, 1988.
- 20) O'Reilly M, Silver GM, Greenhalgh DG, Gamelli RL, Davis JH, Hebert JC: Treatment of intra-abdominal infection with granulocyte colony-stimulating factor. *J Trauma*, 33: 679-682, 1992.
- 21) Root RK, Lodato RF, Patrick W, Cade JF, Fotheringham N, PharmD SM, Vincent JL, Torres A, Rello J, Nelson S: Multicenter, double-blind, placebo-controlled study of the use of filgrastim in patients hospitalized with pneumonia and severe sepsis. *Crit Care Med*, 31: 367-373, 2003.
- 22) Hartung T, Doecke WD, Bundschuh D, Foote MA, Gantner F, Hermann C, Lenz A, Milwee S, Rich B, Simon B, Volk HD, von Aulock S, Wendel A: Effect of filgrastim treatment on inflammatory cytokines and lymphocyte functions. *Clin Pharmacol Ther*, 66: 415-424, 1999.
- 23) Sloan EM, Kim S, Maciejewski JP, Rhee FV, Chaudhuri A, Barrett J, Young NS: Pharmacologic doses of granulocyte colony-stimulating factor affect cytokine production by lymphocytes in vitro and in vivo. *Blood*, 95: 2269-2274, 2000.
- 24) Arpinati M, Geen CL, Heimfeld S, Heuser JE, Anasetti C: Granulocyte-colony stimulating factor mobilizes T helper 2-inducing dendritic cells. *Blood*, 95: 2484-2490, 2000.
- 25) Ishikawa K, Tanaka H, Nakamori Y, Hosotsubo H, Ogura H, Nishino M, Shimazu T, Sugimoto H: Difference in the responses after administration of granulocyte colony-stimulating factor in septic patients with relative neutropenia. *J Trauma*, 48: 814-825, 2000.
- 26) Tanaka H, Ishikawa K, Nishino M, Shimazu T, Yoshioka T: Changes in granulocyte colony-stimulating factor concentration in patients with trauma and sepsis. *J Trauma*, 40: 718-726, 1996.
- 27) Members of the American College of Chest Physicians/Society Critical Care Medicine Consensus Committee: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions of sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*, 20: 864-874, 1992.
- 28) Ishikawa K, Tanaka H, Matsuoka T, Shimazu T, Yoshioka T, Sugimoto H: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor attenuates inflammatory responses in septic patients with neutropenia. *J Trauma*, 44: 1047-1055, 1998.
- 29) Ishikawa K, Tanaka H, Takaoka M, Ogura H, Shiozaki T, Hosotsubo H, Shimazu T, Yoshioka T, Sugimoto H: Granulocyte colony-stimulating factor ameliorates life-threatening infections after combined therapy with barbiturates and mild hypothermia in patients with severe head injuries. *J Trauma*, 46: 999-1008, 1999.
- 30) Ishikawa K, Tanaka H, Shiozaki T, Takaoka M, Ogura H, Kishi M, Shimazu T, Sugimoto H: Characteristics of infection and leukocyte count in severely head-injured patients treated with mild hypothermia. *J Trauma*, 49: 912-922, 2000.
- 31) Matthews JH: Pulmonary toxicity of ARDS chemotherapy and G-CSF in Hodgkin's disease: possible synergy. *Lancet*, 342: 988-990, 1994.
- 32) Iki S, Yoshinaga K, Ohbayashi Y, Urabe A: Cytotoxic drug-induced pneumonia and possible augmentation of G-CSF-clinical attention. *Ann Hematol*, 66: 217-218, 1993.
- 33) Van Woensel JBM, Knoeste H, Leeuw JA, van Aalderen WMC: Acute respiratory insufficiency during doxorubicin, cyclophosphamide, and G-CSF therapy. *Lancet*, 344: 759-760, 1994.
- 34) Erzurum SC, Downey GP, Doherty DE, Schwab B III, Elson EL, Worthen GS: Mechanisms of lipopolysaccharide-induced neutrophil retention: relative contributions of adhesive and cellular mechanical properties. *J Immunol*, 149: 154-162, 1992.
- 35) Inano H, English D, Doerschuk CM: Effect of zymosan-activated plasma on the deformability of rabbit polymorphonuclear leukocytes. *J Appl Physiol*, 73: 1370-1376, 1992.
- 36) Worthen GS, Schwab B III, Elson EL, Downey GP: Mechanics of stimulated neutrophils: cell stiffening induces retention in capillaries. *Science*, 245, 183-186, 1989.
- 37) Tanaka H, Nishino M, Nakamori Y, Ogura H, Ishikawa K, Shimazu T, Sugimoto H: Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) stiffens leukocytes but attenuates inflammatory response without lung injury in septic patients. *J Trauma*, 51: 1110-1116, 2001.