

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

新規敗血症バイオマーカーの開発

研究分担者 森 松 博 史 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・教授
樋之津 史 郎 岡山大学病院新医療研究開発センター・教授

研究要旨

今回、SIRS 患者において HRG 値を測定し、新規バイオマーカーとしての HRG を評価した。SIRS 患者では血中 HRG 濃度が健常人に比べて有意に低かった。SIRS 患者のうち感染を伴う敗血症群と伴わない群と比較すると、敗血症群でより低値であり、SIRS 患者のうち死亡群と生存群と比較すると死亡群で低かった。また、HRG 値と死亡とに有意な関連を認め、HRG 値の死亡に関する ROC 分析では死亡予測の感度特異度が共に高いと示唆された。HRG は新規重症度マーカーとなり得る。

A. 研究目的

動物実験で示された敗血症における HRG 補充療法の有効性に関し、ヒトにおいても HRG 値の変動の有無やその意義を評価する必要がある。その目的のために、患者にて HRG 値を測定し、患者の病態や病勢、他の検査結果などと比較検討を行い、敗血症マーカーならびに重篤度・予後判定マーカーとしての HRG を検証する。また同時に、血漿 HRG を簡便に測定する方法を確立することは不可欠であり、測定法として ELISA を開発、確立する。

B. 研究方法

岡山大学病院内の倫理審査委員会にあらかじめ研究内容に関する審査書式を提出し、承認を得たのち本研究を開始した。

岡山大学病院 ICU に新規入室した患者のうち全身性の炎症を認める患者を対象とした。すなわち、入室 24 時間以内に Systemic

Inflammatory Response Syndrome (SIRS) に陥り、そのクライテリアを満たした成人患者を対象とした。文書による同意を得たのちに採血を行い、速やかに処理を行って血漿を保存した。保存検体を用いて HRG 値を測定した。その他の臨床情報はカルテより得た。また比較検討のため健常人ボランティアからも採血を行い、本研究における HRG 標準値とした。

測定は ELISA 法を新たに開発して行った。抗ヒト HRG モノクローナル抗体と、HRG に親和性の高い Ni-NTA を組み合わせること、サンドイッチ ELISA 法を確立した。

（倫理面への配慮）

上記のとおり、倫理審査委員会の承認を得たのち研究を開始した。同意書様式も審査を受けた。患者の同意を得る場合には、患者あるいはその家族に対し、研究内容の詳細な説明と危険、不利益、個人情報保護に関する

説明を十分尽くしている。その際、研究への不参加は治療にいかなる変化ももたらさないことをよく説明している。

C . 研究結果

SIRS 患者 70 名から同意が得られ、採血を行った。そのうち 20 例は、SIRS に感染を伴った病態であり、敗血症の状態であった。また、70 例中 8 例は ICU 死亡症例であった。健常人ボランティアとしては、16 名から採血を行った。

健常人(n=16)に対して SIRS 患者(n=70)では HRG 値が有意に低下していた (60.18 ± 8.30 vs $28.10 \pm 14.45 \mu\text{g/ml}$; $p < 0.01$)。SIRS 患者のうち非敗血症群 (n=50) と敗血症群 (n=20) とで比較すると、敗血症群で HRG 値は有意に低かった (34.85 ± 10.75 vs $11.21 \pm 6.35 \mu\text{g/ml}$; $p < 0.01$)。また、SIRS 患者の生存群 (n=62) と死亡群 (n=8) とで比較すると、死亡群で HRG 値は有意に低かった (30.25 ± 13.65 vs $11.40 \pm 8.70 \mu\text{g/ml}$; $p < 0.01$)。単変量解析では、HRG 値と死亡とに有意な関連を認めたと (死亡対生存オッズ比 0.86 ($p < 0.01$))。多変量解析を行い APACHE

スコアで調整したところ、HRG 値および APACHE スコアの両者が独立因子として有意に死亡と関連するとの結果が得られた。HRG 値の死亡に関しての ROC 分析では AUC 値 0.88 となり、APACHE スコア (AUC 値 0.93) と同等で、死亡予測の感度特異度が共に高いと示唆された。更に、SIRS 患者を ROC 分析での cut off 値 $16.01 \mu\text{g/ml}$ を用いて HRG 高値群と低値群に分け解析すると、低値群の生存率は有意に低かった (HR 9.18; $p < 0.01$)。

D . 考察

ヒトでの HRG 測定の報告は多くあるが、

炎症に注目し SIRS 患者や敗血症患者にて測定した報告は存在せず、本研究が初の検討である。今回、健常人と比較して SIRS 患者では HRG 値が有意に低く、敗血症患者ではより低いという結果が得られた。この結果は、先のマウス敗血症モデルにおける結果と同様であり、ヒトにおいても HRG の変動があることが示唆された。

今回は ICU 入室時に採血を行っており、SIRS に陥った初期の HRG 値を測定したことになるが、その ICU 入室時 HRG 値と、炎症の指標である CRP や重症度スコアである SOFA スコア、死亡予測因子である APACHE スコアには有意な逆相関があり、患者の重症度が高いほど HRG 値は低いことが考えられ、HRG を重症度の指標とできる可能性が示唆された。

ICU 入室時の HRG 値は死亡と関連を認め、また APACHE スコアと独立した因子であるとの結果が得られた。さらに、ROC 分析において HRG 値は感度特異度ともに高く死亡予測ができるとの結果であった。これらの結果は、確立された死亡予測因子である APACHE スコアと独立した因子として HRG 値は死亡に関連を認め、しかも APACHE スコアと同等の死亡予測因子として HRG 値を捉えることができるとの結果であり、HRG を新たな単一の死亡予測因子として用いることができる可能性が示唆された。

今回は、単回採血で HRG 値を測定しており、HRG 値の時間的な変動をみておらず、病態の変動とともに HRG 値がどう動くのかについては不明である。重症度マーカーとしての HRG を考える上では、刻々と変化する患者の重症度に応じて HRG 値がいかに変化するのを知ることは大変重要であり、今後の課題である。しかし、患者のある時点での

死亡の危険性がどの程度あるのかを予測する予後予測マーカーとしては、ある程度の評価ができたのではないかと考える。

E．結論

健常人と比較して SIRS 患者では HRG 値が有意に低く、敗血症患者ではより低いという結果が得られた。また、HRG 値と死亡とに有意な関連を認め、HRG 値の死亡予測に関する感度特異度が共に高いことも示された。HRG は新規重症度マーカーとなり得ることが示唆された。

F．研究発表

1．論文発表

該当なし

2．学会発表

1) 国際学会

Kuroda K, Morimatsu H, Wake H, Mori S, Nishibori M.

Plasma levels of Histidine-Rich Glycoprotein in Critically Ill Patients.

IARS 2015 Annual Meeting and International Science Symposium, Honolulu, Hawaii, 2015.

2) 国内学会

黒田浩佐、森松博史、和氣秀徳、森秀治、西堀正洋.

SIRS 患者における Histidine-Rich Glycoprotein について

第 42 回日本集中治療医学会学術大会, 東京, 2015.

G．知的財産権の出願・登録状況

1．特許取得

該当なし

2．実用新案登録

該当なし

3．その他

該当なし

Fig 1-a HRG值 (ICU Day1) 健康人 vs SIRS患者

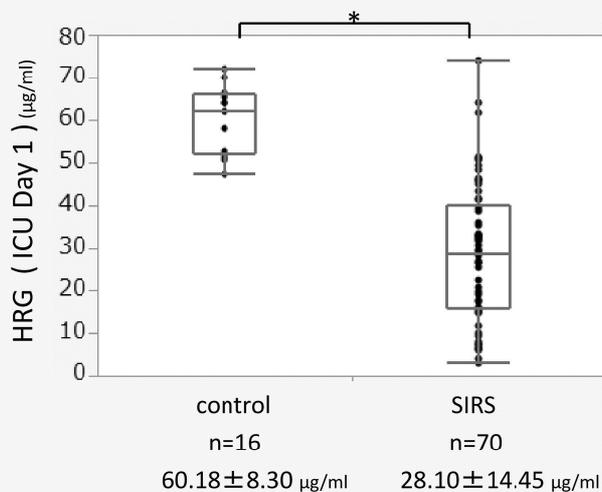


Fig 1-b HRG值(ICU Day1)

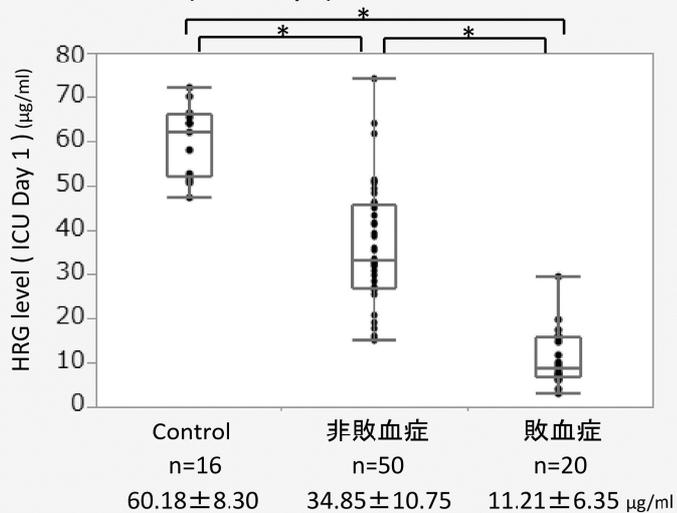


Fig 1-c HRG值(ICU Day1)

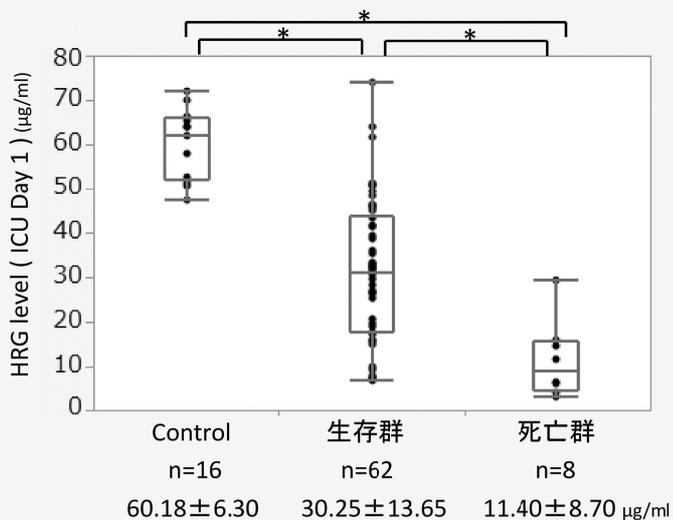


Table 1 A correlation between the HRG level and other markers

	相関係数	P value
HRG level vs		
APACHE II score	− 0.41	< 0.01*
SOFA score	− 0.56	< 0.01*
CRP	− 0.43	< 0.01*
WBC	− 0.06	0.59
Plt	0.36	< 0.01*
Fbg	− 0.08	0.52
Lac	− 0.30	< 0.05*
ALB	− 0.00	0.98
T-Bil	− 0.29	< 0.05*

Table 2 Correlations with mortality

	Odd Ratio	95% C.I.	P value
HRG level	0.86	0.76 – 0.94	< 0.01*
APACHE II score	1.22	1.09 – 1.41	< 0.01*
SOFA score	1.41	1.17 – 1.78	< 0.01*
CRP	1.11	1.00 – 1.23	0.034*
Cr	2.05	1.13 – 4.92	0.013*
WBC	0.91	0.75 – 1.05	0.27
Plt	0.97	0.94 – 0.98	< 0.01*
Fbg	1.00	1.00 – 1.01	0.019*
Lac	1.43	1.04 – 2.14	0.043*
ALB	0.62	0.12 – 2.63	0.53
T-Bil	1.21	0.92 – 1.62	0.12

Table 3 Correlations with mortality
(Multivariate analysis)

	Odd Ratio (Adjusted)	95% C.I.	P value
HRG level	0.90	0.78 – 0.98	0.021*
APACHE II score	1.14	1.01 – 1.31	0.021*

Fig 2 ROC curves for detecting non-survivor

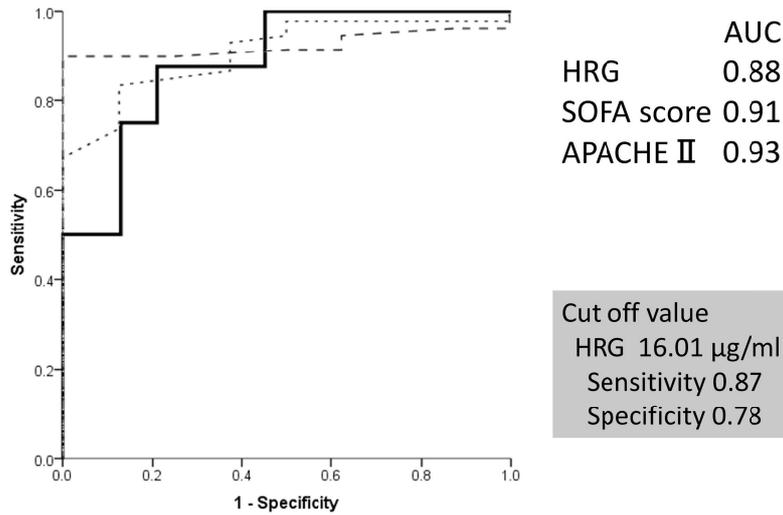
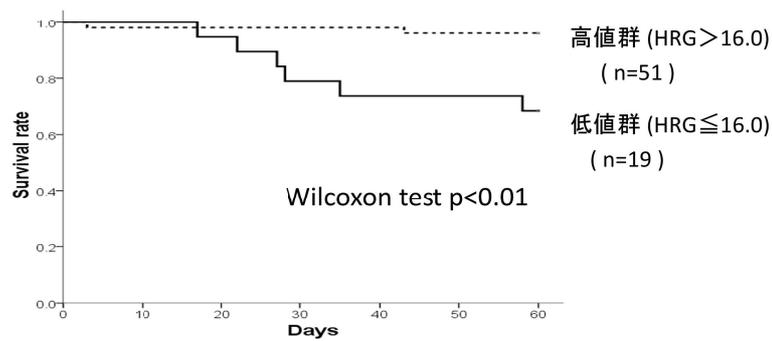


Fig 3 生存時間分析

▪ Kaplan-Meier curve



▪ Cox proportional hazard model

Hazard Ratio (低値群 vs 高値群) : 9.18(1.85 – 45.5) (p < 0.01)