

# 主論文

## Decrease in histidine-rich glycoprotein as a novel biomarker to predict sepsis among systemic inflammatory response syndrome

(高ヒスチジン糖タンパクの減少は SIRS 患者において敗血症診断予測の新規バイオマーカーとなる)

### 【緒言】

敗血症は集中治療室 (ICU) で遭遇する最も重篤な病態の一つである。敗血症の検査法として数多くのものが用いられているが、確立されたものは少なく、プロカルシトニン (Procalcitonin, PCT) やプレセプシンなどが認められている程度である。

高ヒスチジン糖タンパク (Histidine-Rich Glycoprotein, HRG) は肝臓で産生される糖タンパクであり、凝固線溶系や免疫系などへの関与が示唆されている物質である。我々は、敗血症モデルマウスにおいて HRG が著明に低下し、HRG 補充療法を行うことで死亡率が改善するとの結果を得ている。本研究では、全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) に陥った患者を対象として HRG の変動の有無を調べ、その意義を検討した。

### 【対象と方法】

#### 患者およびデータ収集

新規 ICU 入室患者のうち、SIRS 基準を満たした患者を対象とした。除外基準は、20 歳未満、妊婦、ICU 一泊入室と想定される患者とした。また、比較対照群として、SIRS に陥っていない ICU 患者と健常人ボランティアからも採血を行った。

患者が ICU 入室中は、臨床データおよび検査データを毎日記録した。敗血症、SIRS の診断基準は、2003 年の米国胸部疾患学会/米国集中治療医学会による基準 (Sepsis-2) を用いた。

#### 検査法

対象患者から同意を得たのち、ICU 入室後 24 時間以内に採血を行った。

HRG 値は、自家製の Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定した。この ELISA 法には、自家製のラット抗ヒト HRG モノクローナル抗体 1 種と、Qiagen 社の Ni-NTA を用いた。PCT 値は岡山大学病院中央検査室にて測定し、プレセプシン値は LSI 社の PATHFAST Presepsin を用いて測定した。

## 評価項目

本研究の主評価項目は、健常人ボランティアおよび Non-SIRS 患者と SIRS 患者において、HRG 値に差を認めるかどうかである。副次評価項目は、SIRS 患者のうち、敗血症群と非敗血症群において、また死亡群と生存群において、HRG 値に差があるかどうかである。

## 統計分析

データは、中央値と四分位範囲（第 1 四分位点および第 3 四分位点）で表した。P 値<0.05 を有意とみなした。各群の比較には、Mann-Whitney 法もしくは Kruskal-Wallis 法を用いた。診断能の比較には、Receiver-operating characteristic (ROC) 曲線分析を用いた。生存分析には、Cox 比例ハザードモデルと Kaplan-Meier 法を使用し、90 日死亡のデータを用いた。解析ソフトウェアには、JMP Pro11 と STATA 12 を用いた。

## **【結果】**

### 患者

2012 年 11 月より 2014 年 11 月までの期間で前向きに患者登録を行い、70 症例の SIRS 患者から採血を行った。70 例中 20 例は敗血症と診断された。90 日死亡率は 11%（8 症例）であった。

### HRG 値およびその他のバイオマーカー値

健常人ボランティア（16 例）の HRG 値は 63.00 (IQR, 51.53–66.21)  $\mu\text{g/ml}$  であった。これに対して、Non-SIRS 患者（9 例）では HRG 値は有意に低く、38.64 (IQR, 30.26–51.81)  $\mu\text{g/ml}$  ( $P = 0.0017$ ) であった。さらに、SIRS 患者 70 例の HRG 値は 28.72 (IQR, 15.74–41.46)  $\mu\text{g/ml}$  であり、Non-SIRS 患者よりも低かった ( $P = 0.049$ )。

SIRS 患者を、敗血症群 ( $n=20$ ) と非感染性 SIRS 群 ( $n=50$ ) とに分けて比較すると、HRG は敗血症群で有意に低値であった (8.71 [IQR, 6.72–15.74] vs 33.27 [IQR, 26.57–44.99]  $\mu\text{g/ml}$ ;  $P < 0.001$ )。また、PCT とプレセプシンは敗血症群で有意に高値であった。次に、SIRS 患者を死亡群 ( $n=8$ ) と生存群 ( $n=62$ ) とに分けて比較すると、HRG は死亡群で有意に低値であった (9.06 [IQR, 4.49–15.70] vs 31.78 [IQR, 18.57–42.11]  $\mu\text{g/ml}$ ;  $P < 0.001$ )。プレセプシンは死亡群で有意に高値であったが、PCT は両群で有意差を認めなかった。

### 敗血症診断能

SIRS 患者群内での敗血症診断能を評価したところ、HRG の Area under the curve (AUC) 値は 0.97 と高値であり、敗血症診断の感度特異度がともに高いことが示された。これは PCT : 0.82, プレセプシン : 0.77 よりも有意に高値であった。 ( $P = 0.0018$ ,  $P = 0.0012$ )

## 予後予測能

単変量解析では、HRG は有意に予後（死亡）と関連を認めた。これは、APACHE II スコアによって調整を行っても、有意であった。プレセプシンも単変量解析では有意な関連を認めたものの、多変量解析では関連を認めなかった。PCT は、死亡との関連を認めなかった。予測能を表す Harrell C-index は、HRG 0.85; PCT 0.65; プレセプシン 0.87; APACHE II score 0.90; SOFA score 0.88; C-reactive protein (CRP) 0.61 であった。

HRG 値 16.0  $\mu\text{g/ml}$  をカットオフ値とした時、死亡予測の感度特異度はそれぞれ 0.87 と 0.79 であった。この値を用いて SIRS 患者を HRG 高値群と HRG 低値群とに分け Kaplan-Meier 分析を行ったところ、HRG 低値群では有意に死亡率が高かった。

### 【考察】

本研究で我々は HRG 値を測定し検討したが、Non-SIRS 患者に比べて SIRS 患者では低値であり、さらに、SIRS 患者の中でも敗血症患者でより低いとの結果であった。また、HRG は予後と関連を認め、SIRS 患者群における敗血症マーカーとして十分な診断能や予後予測能を示した。

今回、ICU 内の SIRS 患者において HRG 値が低値との結果を得たが、我々の知る限りでは、救急集中治療領域で HRG を評価したのは初である。HRG 値は肝不全状態や妊娠中に下がると報告されており、CRP 値が上昇している外来患者では HRG 値が低いとの報告もある。今回の結果においても、HRG 値と CRP 値とは逆相関の関係にあり、炎症に関係して HRG が低くなると考えられる。

我々は、既存マーカーである PCT やプレセプシンと比較し、敗血症バイオマーカーとしての HRG を評価した。SIRS 患者を敗血症群と非感染性 SIRS 群とに分け敗血症診断能を検討したところ、ROC 曲線分析での AUC は HRG で最も高値であり、SIRS 患者群での敗血症診断マーカーとしては HRG が最も良いとの結果であった。

さらに我々は、予後予測能を評価した。HRG の Harrell C-index は 0.85 であり、APACHE II スコア (0.90) に匹敵するものであった。APACHE II スコアは世界中で用いられているが、数多くのパラメータから計算する複雑なスコアリングシステムであることを考慮すると、HRG はとても使いやすい予後予測マーカーとなり得る。

本研究で我々は、独自の ELISA 法を確立した。1 種類のモノクローナル抗体と Ni-NTA を用いた方法であるが、準備する抗体が一つですむという利点がある。今回、健常人ボランティアの HRG 値は中央値 63.00  $\mu\text{g/ml}$  であった。文献的には、標準値は 100  $\mu\text{g/ml}$  程度でばらつきがとても大きいとされており、我々の ELISA 法は許容されると考える。

今回の研究にはいくつかの限界点がある。第 1 に、本研究は症例数 70 例の小さな単施設研究である。我々はこの対して、HRG の診断能や予後予測能を確認するための多施設前向き研究を開

始している。第2に、我々は敗血症に焦点を当てているが、対象症例はSIRS患者70例であり、敗血症は20症例のみである。したがって、敗血症の予後にHRGが本当に関連するのかどうかは不明であると言え、敗血症に絞ったより大きな研究を行う必要がある。第3に、この研究では敗血症の古い定義が用いられている。2016年に敗血症の新定義（Sepsis-3）が示されたが、これに対応した新たな研究をする必要がある。第4に、本研究ではICU入室当初のHRG値しか測定していない。HRG値の時間経過を評価することがより有益であろう。第5に、非感染性SIRS患者群には多くの術後患者が含まれる。術後の状態は、手術や麻酔に関連した多くの要因に影響され、非常に複雑である。それらの因子が今回の結果にも影響した可能性がある。第6に、非感染性SIRS患者群には多くの癌患者が含まれる。最近、HRGは抗腫瘍作用を持つとの報告があり、乳癌患者ではHRGが高値との報告もある。このことが今回の結果にも影響した可能性がある。

#### 【結論】

本研究では、非感染性SIRS患者に比べて敗血症患者でHRG値が有意に低いとの結果であった。さらに、SIRS患者群ではHRGは予後と有意な関連を認めた。今回の結果より、HRGは、敗血症を診断し、患者の重症度を判定し、予後予測を行うことができる新しいバイオマーカーになり得ると示唆された。これらの結果を確認するために更なる研究が必要である。