

授与番号	甲第 1858 号
------	-----------

論文内容の要旨

Antibody-mediated soluble CD14 stabilization prevent agitation-induced increases in presepsin levels in blood component specimens

(可溶性 CD14 の安定化による, 血中プレセプシン値の攪拌増加の抑制)

(森野豪太, 高橋学, 菅重典, 井上義博, 佐藤光太郎, 白川嘉門)

(BioTechniques 令和3年1月電子掲載)

I. 研究目的

血中プレセプシン (以下: PSEP) は可溶性 CD14 (sCD14) サブタイプで, 敗血症診断マーカーとして保険収載されている. 近年, 検体の攪拌により測定値が上昇すると報告されているが, その機序は不明である. そこで我々は, PSEP 値が攪拌で上昇する機序を検討した.

II. 研究対象ならび方法

1) 研究対象

当院職員で, 18 歳以上の感染兆候のない 10 名を採用した. 感染兆候がない基準は, 発熱や感冒症状を認めないとした.

2) 方法

- (I) 採取した検体を攪拌前と, 5 分間ボルテックスで攪拌したものをサイズクロマトグラフィーで検体の分子量で篩い分けた. 分子量ごとに PSEP の値を測定した.
- (II) 攪拌前, 5 分間ボルテックスで攪拌したもの, 攪拌後抗 CD14 抗体を添加したものに分け, Western blot 法を用いて解析を行った.
- (III) 添加する抗 CD14 抗体 (F1024-1-3) の濃度による変化を検討した. (0, 1.28, 12.8, 128 μ g/ml の 10 倍間隔)

III. 研究結果

- (I) サイズクロマトグラフィーの結果では PSEP と似た分子量とより大きな分子量に 2 つのピークを認めた.
- (II) Western blot 法では, 攪拌した検体において様々な分子量析出物を認めものの, 抗 CD14 抗体を添加した検体では, これらの析出物は殆ど消失していた.

- (Ⅲ) 抗 CD14 抗体を添加した後に攪拌した場合，抗 CD14 抗体を添加しないで攪拌した検体で認められたピークは出現しなかった。

IV. 結 語

検体の攪拌により PSEP が上昇する原因を検討した。抗 CD14 抗体 (F1024-1-3) を添加することにより sCD14 の変性や凝集を抑制することで，PSEP の上昇を改善することが可能であった。

現時点では，臨床の現場で採取した検体を振盪しないことで対応しているが，エアシェーターが使用できないなど不都合な点もあり，抗 CD14 抗体 (F1024-1-3) を用いた検体の採取法の改善に今後取り組みたい。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 西塚 哲 (医療開発研究部門)

副査 教授 眞瀬 智彦 (救急・災害・総合医学講座災害医学研究分野)

副査 教授 鈴木 健二 (麻酔学講座)

プレセプシンはヒト CD14 抗原の N 末端から切断され生じる 13kDa の糖タンパクである。血液中でのプレセプシン上昇は敗血症の診断マーカーとして有用であることが示唆されているが、その機序の詳細は明らかになっていない。本研究では、攪拌により血漿プレセプシン濃度が上昇するという現象に注目し、血漿検体での抗 CD14 抗体添加および凝集した CD14 の除去により、攪拌によるプレセプシン濃度上昇の機序を検討した。攪拌後の血漿検体をサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) で分離するとプレセプシンおよび凝集した分画にピークが出現した。攪拌前血漿に抗 CD14 抗体 (F1024-1-3) を添加した場合、抗 CD14 抗体濃度を 12.8 $\mu\text{g/ml}$ 以上にするとプレセプシン濃度上昇が抑制され、凝集した CD14 濃度は低下した。攪拌後の血漿中から凝集した CD14 を除去すると、プレセプシン濃度も減少した。この結果から、血漿検体に 12.8 $\mu\text{g/ml}$ 以上の抗 CD14 抗体を添加することで、攪拌によるアーチファクトが最小化されることが示唆された。

本論文は、攪拌によるプレセプシン濃度上昇を観察し、その抑制方法を提示した。プレセプシンによる敗血症病態予測へ向けた基盤となる研究であり、学位に値する。

試験・試問の結果の要旨

敗血症に対する知識、CD14 の分子生物学的位置づけ、SEC の技術特性について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) Polymyxin-B immobilized fiber-direct hemoperfusion 施行時の病態と presepsin, procalcitonin, interleukin 6 および C-reactive protein の推移 (高橋学, 他 19 名と共著)
エンドトキシン血症救命治療研究会誌, 22 巻, 1 号 (2018) : p206 - 214
- 2) Disseminated intravascular coagulation を合併した敗血症性ショック症例に対する polymyxin-B immobilized fiber-direct hemoperfusion 施行時の可用性接着分子の推移 (高橋学, 他 20 名と共著)
エンドトキシン血症救命治療研究会誌, 22 巻, 1 号 (2018) : p215 - 222