

論文内容の要旨

敗血症診断における血漿を用いたプレセプシンの半定量的イムノクロマトグラフィー法の有用性

(佐藤正幸, 高橋学, 柴田繁啓, 小野寺誠, 鈴木泰, 井上義博, 遠藤重厚)
(岩手医学雑誌 67 巻, 2 号 平成 27 年 6 月掲載 (予定))

I. 研究目的

敗血症は感染に対する全身の有害な反応であり, 臓器障害を伴った重症敗血症や敗血症性ショックに進行し, 死亡率は約 25%にもなると報告されている. プレセプシンpresepsinは顆粒球などが持つ膜蛋白CD14 のN末端に由来する 64 個のアミノ酸から成るペプチドである. 我々はenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) でプレセプシンを定量し, プレセプシンの血漿濃度が敗血症で特異的に上昇することを報告した. また化学発光酵素免疫測定法 (chemiluminescent enzyme immunoassay ; CLEIA) を用いたより簡便な定量法を報告した. さらに我々は, 15 分で測定可能な希釈血漿を用いたイムノクロマト法 (immunochromatographic test ; ICT) を開発し, ICTによるプレセプシンの半定量値がELISAによる定量値と相関し, かつ敗血症の診断に有用であると報告した (カットオフ値は 2+ (感度 73%, 特異度 84%)). しかし, ICTによる半定量値とacute physiology and chronic health evaluation (APACHE) II及びsequential organ failure assessment (SOFA) スコアなどの重症度スコアとの関連性についての詳細な検討はなされていない. また, 測定時には得られた血漿を 4 倍に希釈するという煩雑さも指摘されている. それゆえ本研究では, 血漿の分離後に希釈が不要なICTを開発し, ICTによる半定量値がCLEIAによる定量値及び重症度と相関するか, 敗血症及び重症敗血症/敗血症性ショックの診断に有用であるかを検討した.

II. 研究対象ならび方法

2013 年 10 月から 2014 年 4 月までに岩手医科大学救命救急センターに搬送され, systemic inflammatory response syndrome (SIRS) の基準を 2 項目以上満たし, もしくは surviving sepsis campaign guideline 2012 (SSCG2012) に従って敗血症, 重症敗血症/敗血症性ショックと診断されて集中治療室もしくは一般病棟に入院した患者をとした. 岩手医科大学の倫理委員会より承諾を受け (H25-86), インフォームドコンセントは患者本人もしくはその家族から得た. また, 対象からの除外基準としては 18 歳未満, 本人もしくは家族からの対象同意が得られないものとした.

第 0 病日 (入院時) と第 7 病日に採血し, 3 時間以内に以下のように測定した. 全血 100 μ l をPATHFAST[®]Presepsin (株式会社LSIメディエンス, 東京) を用いたCLEIAで解析し, プレセプシンを定量した. 3,000 回転/分, 室温で 1 分間遠心し血漿を分離し, 血漿 100 μ l をPOC Rapid Test[®] (持田製薬株式会社, 東京) を用いたICTで解析し, プレセプシンの半定量を行った.

第 0 病日と第 7 病日に APACHE II スコア, SOFA スコア, mortality in emergency department sepsis (MEDS) スコアを算出した. 多重比較は Tukey-Kramer の HSD 検定もしくは Steel-Dwass

法で行った。半定量法での敗血症及び重症敗血症／敗血症性ショックのカットオフ値はFisherの正確確率検定を行った。相関関係はSpearmanの順位相関係数(ρ)により比較した。

III. 研究結果

1. CLEIAによる定量値とICTで求めた半定量値(-, 1+, 2+, 3+)との間には全てのポイントで有意差を認めた。
2. ICTによる半定量値でコントロール, SIRS, 敗血症, 重症敗血症／敗血症性ショックを分類し, 各群間で多重比較を行った。コントロール群とSIRS群間を除く全ての二群間で有意差を認めた。
3. 敗血症のカットオフ値としては1+が至適であった(感度77.3%, 特異度85.3%, 正確度80.8%, $p < 0.0001$)。重症敗血症／敗血症性ショックのカットオフ値としては2+が至適であった(感度86.3%, 特異度82.1%, 正確度83.3%, $p < 0.0001$)。
4. ICTによる半定量値とAPACHE IIスコアとの間の順位相関係数は $\rho = 0.5962$ ($p < 0.0001$), SOFAスコアの間では $\rho = 0.5777$ ($p < 0.0001$), MEDSスコアの間では $\rho = 0.5696$ ($p < 0.0001$)であり, いずれも有意な相関関係を認めた。

IV. 結 語

ICTによる半定量値がCLEIAによる定量値及び重症度と相関し, また敗血症及び重症敗血症／敗血症性ショックの診断に有用であった。血漿を用いたICTによる敗血症の診断は, ベッドサイドで簡便かつ迅速になるだけでなく, 保存性や経済性に優れているためより多くの施設で可能になると考えられた。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 村木 靖 (微生物学講座 感染症学・免疫学分野)

副査 教授 井上 義博 (救急医学講座)

副査 講師 柴田 繁啓 (岩手県高度救命救急センター)

感染に対する全身の有害な反応である敗血症は、臓器障害を伴った重症敗血症や敗血症性ショックに進行する。したがって敗血症を早期に診断することは重要である。血漿プレセプシンは敗血症診断のための有用なマーカーであるが、検査手技が煩雑なことが問題である。本研究では、血漿を直接用いた簡便なイムクロマト (ICT) 法によるプレセプシンの半定量法を開発し、その有用性を検討した。健常人または患者の血漿中のプレセプシンの半定量値 (-, 1+, 2+, 3+) は、全血を用いた化学発光酵素免疫測定法による定量値とよく相関した。半定量により、SIRS と敗血症や重症敗血症/敗血症性ショックを鑑別することが可能であり、敗血症および重症敗血症/敗血症性ショックの診断のためのカットオフ値がそれぞれ 1+, 2+ と求められた。また半定量値は重症度スコアと相関していた。このように本法は敗血症の診断に有用であることが明らかになった。

本論文は、血漿を用いた簡便な ICT 法によるプレセプシンの半定量が敗血症の診断に有用であるという有益な知見を示した研究といえる。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

ICT によるプレセプシンの測定原理、プレセプシンの生化学的性状や病態との関連性、プレセプシンの半定量値とスコアとの相関性、など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える。

参考論文

- 1) PMX-DHP 施行時にプレセプシンを POC test で評価した 1 例 (佐藤正幸 他 21 名と共著)
エンドトキシン血症救命治療研究会誌, 16 巻, 1 号 (2012) : p189-195.
- 2) プレセプシン値は PMX-DHP 施行時の敗血症性 DIC の重症度をよく反映する (佐藤正幸 他 14 名と共著)
エンドトキシン血症救命治療研究会誌, 18 巻, 1 号 (2014) : p79-84.