

氏名	小 山 寛 介
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第 476 号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 18 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学位論文名	敗血症性凝固障害の早期診断における凝固・線溶系マーカーの有用性と幼弱血小板比率による血小板数の評価
論文審査委員	(委員長) 教授 神 田 善 伸 (委員) 教授 山 田 俊 幸 准教授 永 井 正

論文内容の要旨

1 研究目的

敗血症性凝固障害は、敗血症の病態形成および臓器不全の発症に寄与しており、治療介入により敗血症の予後を改善できる可能性がある。現在の敗血症に対する標準的管理では、発症後数時間以内の早期診断、及び早期治療介入が推奨されており、敗血症性凝固障害に対してもそれに準じた迅速な治療戦略が必要と考えられる。

しかし、敗血症における重症凝固障害の早期診断は未だ確立されていない。現在の DIC 診断基準はいずれも敗血症性 DIC を早期に診断するには限界があると指摘されている。

本研究の第一の目的は、重症の敗血症性凝固障害（敗血症性 DIC）の早期診断に有用な分子マーカーを探ることである。我々は、凝固障害は敗血症初期より発症しており、重症例では血小板・凝固因子消費の進行により、遅れて DIC が顕性化すると仮説を立て、敗血症初期の凝固・線溶系マーカーとその後の overt DIC 発症との関連を調査した（研究①）。

また本研究の第二の目的として、敗血症性凝固障害の診断における血小板数の解釈を明確にするため、敗血症初期の凝固・線溶系マーカーとその後の血小板減少との関連（研究②）を調査し、血小板減少の病態に関して幼弱血小板比率による評価（研究③）を行った。

2 研究方法

自治医科大学附属病院の集中治療室（ICU）で管理した 18 歳以上の敗血症患者を対象とした単施設観察研究を行った。

研究①： ICU 入室時に、一般血液凝固検査：血小板数（PLT）、PT-INR、APTT、fibrinogen、fibrinogen and fibrin degradation products（FDP）、トロンビン生成の指標：thrombin-antithrombin complex（TAT）、soluble fibrin（SF）、凝固抑制因子：protein C（PC）、antithrombin（AT）、線溶系の指標：plasminogen、 α_2 -plasmin inhibitor（PI）、plasmin- α_2 -PI complex（PIC）、plasminogen activator inhibitor（PAI）-1、そして血管内皮活性化の指標：可溶性 E-selectin の 14 のバイオマーカーを測定した。ICU 入室時すでに overt DIC を合併する敗血症患者を除外し、対象となった患者を前向きにフォローして、入室後 5 日間における overt DIC の発症、28 日間における死亡率を調査した。

研究②： ICU入室時 $PLT > 80 \times 10^3/\mu L$ の敗血症患者を対象とした。ICU入室時の PLT , $PT-INR$, $APTT$, $fibrinogen$, FDP , TAT , PC , AT , $plasminogen$, $\alpha_2\text{-PI}$, PIC と、入室後 5 日間における 30 %以上の血小板減少との関連を評価した。

研究③： ICU入室時 $PLT > 80 \times 10^3/\mu L$ の敗血症患者を対象とし、入室後 5 日間の PLT と幼稚血小板比率 ($immature\ platelet\ fraction, IPF$) をフォローした。入室後 5 日間における血小板減少の重症度 (正常～軽度, 中等度, 重度) と、 $IPF \cdot$ 幼稚血小板絶対数 ($absolute\ immature\ platelet\ count, AIPC$) との関連を評価した。

3 研究成果

研究①： 77 症例が対象となり、そのうち 37 例 (48.1%) が overt DIC を発症した。ICU入室時すでに 90 %以上の症例において FDP , TAT の異常, 80 %以上に PC , AT , $plasminogen$, $PAI-1$ の異常を認めた。入室時における大部分の凝固・線溶系マーカーは、その後の overt DIC 発症と有意に関連していた。Overt DIC 発症に関する ROC 分析の結果, 特に TAT ($area\ under\ the\ curve [AUC], 0.77 [95\% confidence\ interval, 0.64 - 0.86]$), PC ($AUC\ 0.85 [0.76 - 0.91]$), AT ($AUC\ 0.76 [0.63 - 0.85]$), $plasminogen$ ($AUC\ 0.76 [0.63 - 0.85]$), $\alpha_2\text{-PI}$ ($AUC\ 0.79 [0.67 - 0.88]$), $PAI-1$ ($AUC\ 0.87 [0.78 - 0.92]$) の AUC が高く、陽性的中率も高値であった。相関分析と多変量解析では TAT , $PAI-1$, PC が overt DIC の予測に有用であり、この 3 つを組合せた AUC は 0.95 と高値であった。更に生存分析では ICU入室時の TAT , $PAI-1$ が 28 日死亡率と有意に関連していた ($p = 0.0024$)。

研究②： 対象とした 75 症例のうち、42 例 (56.0 %) が血小板減少を合併した。入室時における大部分の凝固・線溶系マーカーは、その後の血小板減少と有意に関連していた。なかでも TAT ($AUC\ 0.85$), PC ($AUC\ 0.87$), $plasminogen$ ($AUC\ 0.85$), $\alpha_2\text{-PI}$ ($AUC\ 0.89$) が、敗血症患者における ICU入室後の血小板減少の予測因子として有用であった。

研究③： 対象となった 81 症例のうち、17 例 (21.0 %) が入室後 5 日間に $50 \times 10^3/\mu L$ 未満 (重度血小板減少群), 13 例 (16.1 %) が $50 \times 10^3/\mu L$ 以上 $80 \times 10^3/\mu L$ 未満 (中等度減少群) の血小板減少をきたし、51 例 (62.9 %) は PLT が $80 \times 10^3/\mu L$ 以上に保たれていた (正常～軽度減少群)。ICU入室時の PLT は、正常～軽度血小板減少群と比較して、中等度減少群, 重度減少群は有意に低下していた ($p = 0.0031$, $p = 0.0008$, respectively)。入室時の IPF は、正常～軽度減少群と比較して、中等度減少群, 重度減少群は有意に上昇していた ($p < 0.0001$, $p = 0.0012$, respectively)。しかし入室時の $AIPC$ は 3 群間に有意差はなかった。ICU入室後 5 日間における IPF 最大値は、正常～軽度減少群と比較して、中等度減少群, 重度減少群で有意に上昇しており ($p < 0.0001$, $p < 0.0001$, respectively), 入室後の上昇傾向が認められた。しかし ICU入室後 5 日間における $AIPC$ 最低値は、正常～軽度減少群, 中等度減少群と比較して、重度減少群で有意に低下していた ($p = 0.0008$, $p = 0.0002$, respectively)。

4 考察

本研究により、敗血症患者は初期より凝固障害を合併しており、ICU入室時の凝固・線溶系マーカーの異常は、その後の overt DIC 発症と関連することが明らかになった。測定した凝固・線溶系マーカーの中では、 TAT , $PAI-1$, PC の 3 つが独立して overt DIC 発症の予測因子として有

用であり、TAT、PAI-1は生命予後とも有意に関連していた(研究①)。同様に、ICU入室時の凝固・線溶系マーカーの異常は、その後の血小板減少とも強く関連しており、血小板減少の原因として敗血症初期より合併する凝固障害があることが示唆された(研究②)。またICU入室時のIPFは中等度・重度の血小板減少群で上昇しており、消費性血小板減少の病態が示唆された。重度減少群では、その後有意なAIPCの低下が認められ、重症の血小板減少の病態には産生低下も加わる可能性が示された(研究③)。

敗血症性凝固障害では、凝固の亢進、線溶系の抑制、凝固抑制系の低下の3つの機序が病態を形成している。本研究では、トロンビン産生を反映するTAT、線溶系の抑制を反映するPAI-1、凝固の抑制を反映するPCが独立して敗血症性DICの発症と関連していることを明らかにした。TAT、PAI-1はICU入室時すでに著増しており、これは敗血症では重篤な凝固障害が病初期より発症していることを示すと同時に、病態に即したマーカーを用いることにより凝固障害を早期に診断できる可能性を示唆する。

過去の研究と同様に、本研究においても、多くのDIC診断基準で用いられているPLT、PTなどの一般血液凝固検査は、敗血症発症後遅れて異常を呈する傾向が認められ、敗血症性凝固障害の早期診断としての有用性は乏しかった。特にPLTに関しては、凝固障害に伴う消費性の低下に対し、中等症までは血小板産生が亢進するが、重症例では骨髄での産生低下も合併することを明らかにした。血小板減少は敗血症の重症度や予後と密接に関連することが示されており、今後、敗血症性凝固障害における診断項目としてのPLTの位置付けを更に検討する必要があると考えられた。

5 結論

敗血症患者は病初期から凝固障害を合併しており、ICU入室時の凝固・線溶異常はovert DIC発症と強く関連していた。特にTAT、PAI-1、PCのDIC発症に関する予測能は高く、これら3つのバイオマーカーを入室時に単回測定することで、重篤な凝固障害を早期に診断できる可能性が示された。また敗血症における中等度以上の血小板減少は凝固障害と関連しており、更に重度の血小板減少では消費性の低下に加えて、産生低下の病態が存在することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

小山氏は敗血症患者における凝固障害について3編の研究について報告している。一編は播種性血管内凝固症候群発症を予測する因子の解析、一編は相対的血小板減少を予測する因子の解析、そして残りの一編は絶対的血小板減少と網状血小板数との関連の解析である。

小山氏はこれらの研究を通じて、敗血症患者における凝固障害の機序を推測するとともに、今後の診療上の対応策について考察を加えた。いずれも統一されたコンセプトに基づく研究であり、その成果は博士(医学)の学位論文に値するものである。統計解析などの不備について修正の指示を行い、速やかに適切な修正が行われたので合格と判定した。

最終試験の結果の要旨

小山氏は敗血症患者における凝固障害に関する 3 編の研究の学位論文に沿って発表を行った。一編は播種性血管内凝固症候群発症を予測する因子の解析、一編は相対的血小板減少を予測する因子の解析、そして残りの一編は絶対的血小板減少と網状血小板数との関連の解析であり、その発表は明確で要領よくまとめられていた。審査委員からの質問に対しても適格に回答したため、小山氏は研究者として十分な資質・能力を有することが確認され、医学博士号を受けるに値すると審査員全員が判断し、最終試験に合格とした。