

氏名	ととき たかあき 十時 崇彰		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	甲第 1842 号		
学位授与の日付	令和 2 年 9 月 13 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当（課程博士）		
学位論文題目	Serum histone H3 levels and platelet counts are potential markers for coagulopathy with high risk of death in septic patients: a single-center observational study （血清ヒストン H3 レベルと血小板数は、敗血症患者の死亡リスクが高い凝固障害の潜在的なマーカーである：単一施設の観察研究）		
論文審査委員	（主査） 福岡大学	教授	石倉 宏恭
	（副査） 福岡大学	教授	高田 徹
	福岡大学	講師	根本 隆行

## 内容の要旨

### 【目的】

敗血症は感染に対する宿主応答の調節不全による生命を脅かす疾患である。宿主応答の調節不全には、過剰な補体系、凝固系、および自然免疫系の活性化が微小循環不全に関与していると考えられている。

これらの過剰な炎症誘発や凝固促進反応は、臨床的な治療介入の標的とされてきたが、今日まで有効であるものは見つかっていない。敗血症は画一化された症候でないため、特定の治療介入によって効果を得ることのできる患者の選択が必要であると考えられる。

近年、抗凝固療法は敗血症の予後改善に寄与しないが、敗血症性播種性血管内凝固症候群（DIC）では有益である可能性があることを示唆されている。特に SOFA スコアが高い患者は、抗凝固療法の良い治療対象になる可能性がある。しかし、急性期 DIC 診断基準と SOFA スコアを算出するには多数の測定項目が必要である。

臓器不全と凝固活性化の指標として、ヒストン H3 を用いた簡易基準の開発および評価を行う。

### 【対象と方法】

2015 年 7 月～2016 年 6 月に鹿児島大学集中治療室に入室した敗血症患者 85 例における集中治療室入室から 24 時間以内の血清ヒストン H3 値とその他の凝固マーカー値を測

定し、相関をスピアマンの順位相関検定を使用して解析した。

DIC の診断には、日本救急医学会の急性期 DIC スコアを使用して、入室 1, 3, 5, 7 日目に評価を行なった。

次に、ヒストン H3 値とその他の凝固マーカー値の有用性と比較して、急性期 DIC 診断基準に基づく DIC 状態と 28 日死亡を予測した。

最後に血小板数と血清ヒストン H3 値の 2 項目で構成される新しい基準を提案し、予後予測の有用性を評価した。

### 【結果】

血清ヒストン H3 と他の凝固マーカーとの相関を分析することにより、敗血症関連 DIC におけるヒストン H3 値の特性を評価した。血清ヒストン H3 値は、TAT 値 ( $\rho = 0.46$ ,  $P < 0.001$ ) および FDP 値 ( $\rho = 0.46$ ,  $P < 0.001$ ) と有意に相関し、血小板数と弱い関連があった。 ( $\rho = -0.26$ ,  $P < 0.05$ )。

次に、従来の DIC 状態または 28 日間の死亡率を予測するために、ヒストン H3 値と他の凝固マーカーの診断の有用性を比較しました。従来の DIC 状態を予測するための血清ヒストン H3 値の ROC 曲線 (AUC) の下の面積は 0.75 であり、血小板 (0.79)、PT

(0.60)、FDP (0.76) などの急性期 DIC スコアの因子の値にほぼ等しかった。また、ヒストン H3 は、TAT (0.70)、および high mobility group box 1 よりも DIC 診断に優れた因子である。

28 日死亡率を予測するための血清ヒストン H3 レベルの AUC は 0.73 であり、血小板 (0.72)、PT (0.68)、FDP (0.57)、および TAT (0.58) などの他の凝固マーカーよりも優れていた。

血小板数と血清ヒストン H3 値の 2 項目を用いた新しい基準は、4 因子 (SIRS、血小板数、PT-INR、FDP) で構成される急性期 DIC 診断基準と 69% の一致率を示した。新基準および急性期 DIC 診断基準で DIC と診断された患者の 28 日間の死亡率は、それぞれ 43% および 21% であった。

### 【結論】

敗血症患者における血清ヒストン H3 値は、FDP 値および TAT 値と相関していた。血清ヒストン H3 値と血小板数を組み合わせた新しいスコアリングシステムは、簡便で死亡リスクの高い凝固障害を把握するのに有用であった。凝固障害/ DIC の診断における血清ヒストン H3 値の有用性を明らかにするために、さらなる研究が必要である。

## 審査の結果の要旨

本論文は、DNA を核内に収納する塩基性タンパクの一つである Histone の測定が、死亡リスクの高い敗血症性凝固障害患者の同定に有用である可能性を示唆した、初めての論文である。

敗血症は、感染に対する宿主応答の調節不全により生命が脅かされる疾患である。敗血症に続発する播種性血管内凝固 (disseminated intravascular coagulation, DIC) の治療としては抗凝固療法が有効であり、特に臓器障害の重症度スコアである Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) スコアが高い重症患者に対して有効性が高いことが報告されている。

本研究では、集中治療室に入室した 85 名の敗血症患者を後ろ向きに解析し、HistoneH3 が、臓器障害の指標として、さらに予後予測因子として有用である可能性を示唆している。また、申請者らは、本研究結果から Histone H3 と血小板数を用い、従来の急性期 DIC 診断基準に準拠した新たな診断基準を提示している。この新たな診断基準は、予後予測に対する精度が高い可能性があり、今後の臨床応用の可能性を示した、極めて興味深い論文である。

### 1. 斬新さ

申請者らは、敗血症患者の Histone H3 を測定し、臓器障害の指標としての有効性に関して検討を行っている。これまで敗血症における凝固障害や予後予測因子として、様々なマーカーが提唱されてきたが、未だ確立されたものはない。本論文は、Histone H3 が臓器障害や凝固障害を示唆する既知のマーカーと関連があるだけでなく、より正確に予後を予測する可能性を明らかにした初めての論文であり、斬新な内容と言える。

### 2. 重要性

高齢者における敗血症の致死率は非常に高い。特に敗血症に DIC を併発すると死亡リスクが約 2 倍に上昇し、致命的であると報告されている。日本は既に高齢社会であるが、今後更に高齢化が進み、敗血症に罹患する患者が増加していく可能性が高い。Histone H3 はこうした患者の予後予測や治療効果の判定に有用である可能性があり、本検討の重要性は高いと判断できる。

### 3. 研究方法の正確性

本論文は、Journal of Intensive Care に掲載されており、研究目的、対象と方法、結論及び考察など、研究方法の正確性に関して、国際的認知が得られているものと判断できる。

### 4. 表現の明瞭性

既存の手法を用いた評価で明確な論文として完成させ、定評のある学術誌である

Journal of Intensive Care に原著論文として採用された。  
以上より本論文は明瞭に表現されている。

## 5. 主な質疑応答

学位申請論文の内容の発表の後、審査員から申請者に対し以下の質疑応答が行われた。

Q: 本論文の敗血症の原因の内訳はどうか。

A: 腹部疾患(腸管穿孔など)が約 5 割、呼吸器疾患(肺炎など)が 2-3 割、術後感染が 1-2 割であった。

Q: 抗凝固療法は行なっているか。

A: ほぼ全例で抗凝固療法を行った。投与薬剤はアンチトロンビン 3 製剤と遺伝子組換え型可溶性ヒトトロンボモジュリン製剤であった。

Q: SOFA と比較して new score の強みは何か。

A: SOFA よりも簡便に測定ができる。SOFA>11 + DIC と new score を比較した場合、SOFA は数日後にスコアが上昇してくるが、new score は測定項目が少なく、入室 1 日目の段階で重症度を判定できる強みがある。

Q: new score でスコアの重み付けを行わなかったのはなぜか。

A: 様々なパターンを試した結果、今回は重み付けを行わない組み合わせが最も精度が高かった為である。しかし、今後の追加研究で重み付けを行うことを再度検討したい。

Q: Histone はどのようにして血管内に入るのか。

A: 好中球細胞外トラップを構成する物質の一つとして、細胞内から細胞外に放出され、遊離 Histone として血中へ入ると考えられている。

Q: 障害されて Histone が上昇するのか、それとも Histone が先に上昇するのか。

A: 感染に対する細胞障害や好中球細胞外トラップによって、Histone が上昇するため、障害や感染が先であると考えている。

Q: Histone に対する治療薬の可能性は？

A: 動物実験で Histone の中和抗体を使用し、予後が改善することを報告した。また Histone H3 は強く陽性荷電しており、強く陰性荷電しているヘパリンが電氣的に中和することが分かっている。未だ動物実験レベルではあるが、今後治療目標として治療薬が確立されてくるものと期待される。

- Q: 今回、除外基準の設定はどのようにしたのか？  
A: 除外基準はデータに不備があったもののみである。適格基準を満たしたものは全て解析対象とした。
- Q: 肝疾患・腎疾患(透析患者含む)患者も含んでいるのか？  
A: 全て含めている。
- Q: 大腸穿孔で白血球数が減少するにも関わらず、HistoneH3が増加するのはなぜか？  
A: 白血球だけでなく障害された細胞からも Histone が放出される。最初の Histone は白血球由来であるが、その後は全身循環に乗った Histone が血管内皮細胞などを障害し、細胞壊死を惹起する。その壊死細胞からさらに Histone が放出されるため、白血球数に依存していないものと考えている。
- Q: Histone の半減期はどれくらいか？  
A: 遊離 Histone の半減期は数分程度と考えられているが、蛋白に結合した Histone は数時間程度まで半減期が延長する可能性が示唆されている。
- Q: APACHE II スコアは使用したのか？  
A: データの検討を行ったが、死亡群と生存群の間の APACHE II スコアに有意差を認めなかった。
- Q: Histone は炎症、凝固、感染のどのマーカーと考えているか？  
A: 炎症と凝固の間にはクロストークがあると言われており密接に関連しているため、炎症と凝固、両方のマーカーと考えている。

以上の内容の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確さ、および質疑応答の結果を踏まえ、審査員で協議した結果、本論文は学位審査に値すると評価された。