

敗血症マーカー「プレセプシン」—生化学と臨床診断—

白川 嘉門

株式会社 LSI メディエンス 診断薬事業本部学術部

Sepsis marker “PRESEPSIN” —biochemistry and clinical diagnosis—

Kamon Shirakawa

LSI Medience Corporation

Abstract

Presepsin (P-SEP), an approximately 70-amino-acid fragment of CD14 : a lipopolysaccharide (LPS) receptor that transmits signals through CD14-MD-2/TLR4 to cells, was first discovered as a sepsis marker in 2002 when high concentrations of a protein with soluble CD14-like immunoreactivity were detected in the blood of sepsis patients. We used an immunoassay to measure the serum concentrations of the new peptide, which was initially named soluble CD14-subtype (sCD14-ST) and later renamed presepsin.

Rabbit sepsis models revealed that presepsin is induced by the cecal ligation and punctual (CLP) sepsis model but not by the LPS injection model. In vitro experiments using human monocytes and neutrophils suggested that presepsin is produced when bacteria are phagocytosed by immune cells. The first clinical study was initiated by Professor Shigeatsu Endo (Iwate Medical University, Japan) ; it demonstrated that sepsis patients have higher presepsin levels compared with Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) patients, indicating that presepsin could be useful for sepsis diagnosis. This interesting marker is not only helpful for the diagnosis of sepsis but is also indicative of disease severity, as measured by the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score.

More research remains necessary, as understanding of the fundamental aspects of presepsin is still limited. Presepsin is elevated in high mortality elective cardiac surgery and in severe COVID-19 patients, but the mechanism by which presepsin production is increased during severe COVID-19 disease is unknown. In this article, presepsin biochemistry is described, then the application of presepsin in clinical diagnosis is discussed.

Endotoxin and Innate Immunity 23 : 77~82, 2020

Key words : Presepsin, Sepsis, Severity, CD14, Diagnostic marker

はじめに

敗血症は年間約 2,700 万人が罹患する世界的なヘルスケア上の問題である。敗血症は感染症に対する制御不能な宿主反応に起因した生命を脅かす臓器障害と定義され、熱傷、免疫不全患者、外傷患者、入院患者における主な合併症である。敗血症治療は早期診断と早期治療が最も効果的な方法とされるが、病原菌を検出するための血液培養は陽性率が低く、結果が出るまでに時間がかかることから、新しい診断方法が望まれている。

近年、血液培養方法の改良や質量分析装置を用いて菌の同定方法が実用化され、結果が出るまでの時間は短くなってきている。しかし、敗血症の重症度や予後予測な

どの情報を得られない。従来のマーカー（C 反応性タンパク質、白血球数、インターロイキンなど）は敗血症でも上昇するが、敗血症特異的ではない。プロカルシトニン (PCT) は甲状腺 C 細胞から産生されるカルシトニンの前駆体であり、細菌感染では体全体の細胞から産生され、敗血症の診断マーカーとして利用されている。しかし、PCT も炎症の影響を受けやすく、感染初期には上がりにくいなど、理想的な敗血症バイオマーカーではない。

プレセプシンは単球や好中球、マクロファージの膜上に存在する CD14 分子の N 末断片として同定された。血中には可溶性 CD14 (sCD14) が存在し、敗血症でも上昇するが、各種疾患でも上昇するため敗血症の診断薬にはならなかった。一方、プレセプシンは敗血症で特異的

に上昇することが遠藤らにより確認され、敗血症診断薬として臨床応用されることになった。その後の臨床評価において、敗血症早期に上昇し、炎症の影響を受けにくく、患者の状態を反映しやすいことが明らかになった。最近では、待機的心臓手術患者の高死亡率群や重症のCOVID-19患者でも上昇することが報告され、新たな有用性も見出されるようになってきている。しかしながら、これら疾患でのプレセプシンの上昇がどのような機序に基づいているのかについては明らかではない。

本稿では、プレセプシンの生化学をはじめに紹介し、その後最近のデータを踏まえ、プレセプシンの臨床診断への応用について考察する。

1. プレセプシンの発見

CD14は、自然免疫を司る単球や好中球、マクロファージの細胞膜上に存在する糖タンパク質であり、細菌の膜表面に存在するエンドトキシンに代表されるリポポリサッカライド (LPS) のレセプターである。LPSはCD14を介して細胞膜上のTLR4/MD-2に結合し、細胞を活性化する。また、血中にはsCD14が数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で存在し、細胞膜上にCD14を持たない血管内皮細胞の活性化にも関与している。このようにCD14は細菌の感染を認識する機構の一部であり、生体防御における重要な分子である。そこで、CD14に関連して敗血症で特異的に上昇するマーカーを探索した結果、分子量の小さい可溶性CD14 (sCD14-ST) を敗血症患者の血中に発見した。sCD14-STはその後、pre-sepsis-protein「敗血症の前に増えるタンパク質」の意味を込めてPRESEPSIN (プレセプシン) と命名された。

2. プレセプシンの構造

プレセプシンは、CD14のN末ペプチドで約70個のアミノ酸からなる分子量約13 kDaの糖タンパク質である。プレセプシンはLPSとの結合能を持たず、また抗CD14抗体である3C10やMEM18抗体では認識されないことから、CD14とは異なった新規のタンパク質である。現在利用されている標準品は組換え体としてCOS-1細胞で生産された1~64アミノ酸の配列を有するポリペプチドである (図1, 2)。

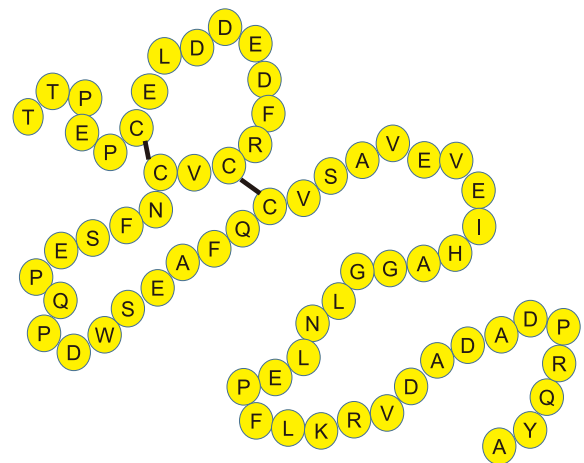


図1 プレセプシンのアミノ酸配列模式図
C末は決定されていないため、標準品として使用されている1~64アミノ酸配列を示した。

項目	プレセプシン	sCD14
アミノ酸数	約70アミノ酸	356アミノ酸
分子量	13 kDa	56 kDa
産生臓器	単球、顆粒球	単球、好中球、肝臓
産生刺激	細菌感染、真菌感染	細菌感染, サイトカイン, LPSなど
LPS結合能	なし	あり
抗CD14抗体	結合せず	結合
抗プレセプシン抗体	結合	結合せず
健常人血中濃度	50~150 pg/mL	2~5 $\mu\text{g}/\text{mL}$

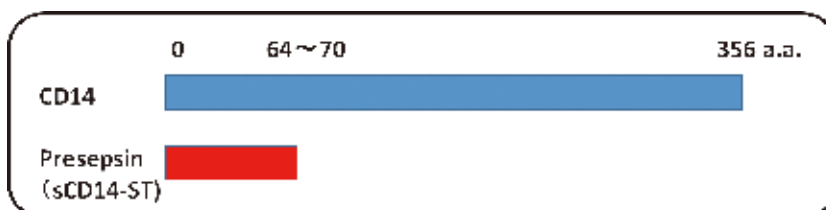
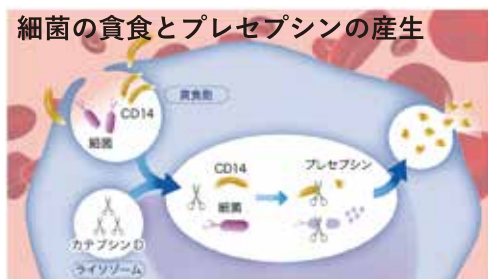
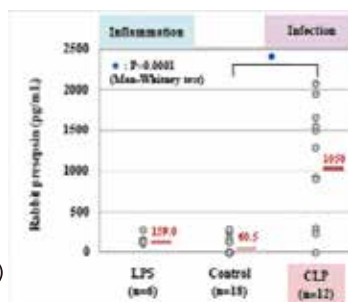


図2 プレセプシンとsCD14の比較

LPSモデルとCLPモデルによるプレセプシンの産生

	LPSモデル	CLPモデル
刺激剤	LPS(エンドトキシン)	腸内細菌
モデル	炎症	感染
菌血症	No	Yes
体温	上昇	上昇
白血球数	上昇	上昇
サイトカイン	上昇	上昇

CLP(cecal ligation and puncture: 盲腸結紮穿刺)



細菌が血中の顆粒球に貪食された時にCD14も取り込まれ、顆粒球内で酵素消化される際にプレセプシンがCD14より産生され、血中に放出される

図3 ウサギの敗血症モデルとプレセプシンの産生

(出典: Naitoh K, Shirakawa K, Hirose J, et al.: SEPSIS 2010: Poster: P-19 より作図)

3. プレセプシンの産生

プレセプシンがなぜ敗血症特異的に上昇するのかを明らかにするため、ウサギ敗血症モデルを用いて検討した。まず、LPSを投与したウサギ敗血症モデル(LPSモデル)および腹膜炎を起こす盲腸結紮穿刺Cecal Ligation and Puncture (CLP)モデルの2種類の敗血症モデルを作製した。興味深いことに、LPSモデルではプレセプシンは上昇せず、CLPモデルでのみプレセプシンの産生が確認された。また、プレセプシンはインターロイキン(IL)-6よりも早期に上昇した。さらに、顆粒球を用いて作製した*in vitro*の系に大腸菌を添加したところプレセプシンの産生が確認されたが、LPS添加では産生が認められなかった。そこで、この系に貪食阻害薬であるワルトマンニンとサイトカラシンDを別々に添加したところ、プレセプシンの産生が抑制され、プレセプシンの産生は「CD14を持つ細胞が細菌を貪食する際にCD14が切断され、プレセプシンが産生される」ものと推定された(図3)。ウサギモデル系に引き続き、Araiらにより、ヒトの血中から分離した単球、好中球、リンパ球を用いた*in vitro*系によるプレセプシンの産生機序が研究され、LPSなどの細胞活性化剤ではプレセプシンは産生されず、大腸菌の添加でプレセプシンの産生を確認し、とくに単球で強く産生された¹⁾。

4. プレセプシンの測定法

プレセプシンの測定には、免疫学的測定法が利用される。プレセプシンはCD14のN末断片であり、CD14と

全く同じアミノ酸配列を有していることから、CD14のN末断片を認識する抗体はプレセプシンを認識する可能性がある。KimらはCD14のC末領域がLPSの結合領域であるN末側の構造を維持するのに重要であり、また、Juanらは152アミノ酸より短いCD14はLPS結合能力がないことを報告した^{2,3)}。このことからプレセプシンのような短いCD14断片は本来の立体構造を維持していないと考えられ、立体構造を認識しない抗体がプレセプシンを特異的に認識すると考えられた。この仮説に基づき抗体の作製を試みたところ、プレセプシンに特異的な抗体の作製に成功し、2種類の抗体を用いてプレセプシン特異的測定法を完成した。この測定法を用いることで、血中に存在するsCD14の影響を受けず、プレセプシンのみを特異的に測定することが可能となり、2011年に化学発光酵素免疫測定法を用いた高感度測定試薬(PATHFAST-Presepsin)を開発し、17分という短時間で血中のプレセプシンを測定可能とした。

5. プレセプシンの正常値と基準範囲

Giavarinaらは18歳から75歳までの健常人200例におけるプレセプシン濃度が55~184 pg/mL (90%CI)の範囲にあることを報告し、また男女差はみられなかった⁴⁾。一方、本邦の臨床試験において敗血症患者103例とSystemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) 47例の測定より算出された、有病正診率(94.2%)、無病正診率(68.1%)により算出した診断効率(86.0%)より敗血症のカットオフ値が設定され、敗血症カットオフ値500 pg/mLが採用されている。

6. プレセプシンの安定性と血中動態

臨床検体は全血では室温で採血後4時間以内、血清では2~8℃で8時間、血漿では2~8℃で3日間、-20℃以下で1年間安定である。Hamらは検体を自動血球計測機で振とうさせるとプレセプシン値が上昇することを報告した⁵⁾。また、血漿をVortexで強力的に振とうさせることでプレセプシン値が上昇することから、物理的刺激によりプレセプシン値が上昇する。坂本らは血液を凝固させた状態でエアシュータにより搬送しても、プレセプシン値が上昇しないことを報告した⁶⁾。これらの結果は、プレセプシンは比較的安定したタンパク質であるが、血液中に存在するsCD14の影響を受ける可能性があることを示している。

血中プレセプシンの代謝については、イヌへの組換えプレセプシンの投与による検討において、プレセプシンが尿へ速やかに代謝され、その血中の半減期は約0.5~1時間と推定されている。また、プレセプシンの臨床的半減期は約4~8時間と報告されている。ウサギ敗血症モデルから、CLP手術後約2時間でプレセプシンは上昇し、感染早期に上昇することが示唆された。また、Ebisawらは血液腫瘍患者の解析から、プレセプシンは発熱後の1~18時間以内に上昇しプロカルシトニンよりも早く感染を診断できることを報告した⁷⁾。

7. プレセプシンの臨床応用

臨床現場でプレセプシンを用いる場合は、次に示すプレセプシンの特性を生かした運用が望まれる。

7-1. 敗血症の診断に際し、より早期に上昇する

遠藤らは、広範囲熱傷、尿路感染症、大腸穿孔による敗血症などの症例を提示し、プレセプシンはIL-6、プロカルシトニン、CRP、白血球より先行して上昇すると報告した⁸⁾。

7-2. 侵襲の大きい外傷・熱傷・外科手術など 影響を受けにくい

重症熱傷の入院初期はIL-6、CRPやPCTが上昇するため、感染との鑑別が困難である。高橋らは、重症熱傷患者を経時的に観察することで炎症に影響されず、プレセプシンが敗血症性ショック前に上昇することを報告した⁹⁾。また、Takeuchiらは食道がんにおける食道切除術でプレセプシンが他のマーカーに先駆けて手術後5日目に感染を検出できることを示した¹⁰⁾。

7-3. 臨床経過（重症度）をよりよく反映する

Yuらは敗血症患者の90日死亡率における生存者と死亡者におけるプレセプシンおよびPCT濃度を入院日、3、5、7および12日後で比較したところ、プレセプシン

は生存例で日ごとに低下し、死亡例では維持または上昇したのに対してPCTは生存例、死亡例ともに一過性に低下し、プレセプシンが患者の経過をよく反映したことを報告した¹¹⁾。また、FujiiらはICU入院日のプレセプシン値が6日目に50%低下しない患者では死亡率が56% (10/18)であったのに対して50%以上低下する患者では死亡率が0%であったことを報告した¹²⁾。

8. 敗血症（細菌性）の診断マーカーとしてのプレセプシン

理想的なバイオマーカーは、早期かつ迅速な診断のために、高い診断精度を備えている必要がある。プレセプシンは、敗血症を含むさまざまな感染症に対して優れた診断精度を有している。敗血症では病原菌の貪食により早期にプレセプシンが上昇し、微生物の侵入の程度と重症度を関連付けることが示されている。また、プレセプシンは、敗血症の転帰の予測に使用できる。Kloucheらは、市中肺炎患者を対象に研究を実施し、血清プレセプシン濃度は、敗血症と非感染性呼吸不全を区別することを報告している¹³⁾。Bambaらは、深在性真菌症においてもプレセプシンは高値を示し、Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) スコアとの相関性が良好であったと報告し、さらに*in vitro*系を使用し、プレセプシンが真菌による刺激で上昇すると報告している¹⁴⁾。Apiratwarakulらは細菌感染とウイルス感染（インフルエンザおよびデング）についてプレセプシンレベルを比較したところ、中央値は細菌感染 (n=22) で2,904 (1,334~4,474) pg/mL、ウイルス感染 (n=66) で204 (164~245) pg/mLであった¹⁵⁾。このように、プレセプシンは細菌感染、真菌感染で上昇し、一般的なウイルス感染では上昇しない。

Tamboらは、閉塞性急性腎盂腎炎患者における敗血症 (Sepsis-3により定義) の早期診断としてのプレセプシンとPCTの能力を評価した。彼らは61人の患者を敗血症に該当する患者 (11人, 18%) と非該当の2つのグループに分け、解析した。敗血症患者におけるプレセプシンとPCT濃度はそれぞれ1,080 (696~1,550) pg/mL (中央値, IQR), 31.57 (1.83~134.40) ng/mLであり、非敗血症387 (313~558) pg/mL, 0.54 (0.14~4.86) ng/mLに比較して有意に高値であった (p<0.001)。また、多変量解析において、プレセプシンのカットオフ値515 pg/mL (オッズ比=13.13, p=0.044) は敗血症の独立した予測因子であることを報告した¹⁶⁾。

9. 重症化因子、予後予測因子としてのプレセプシン

Bombergらは、待機的心臓手術患者 (856例) の手術前プレセプシン、PCT、NT-proBNP、シスタチンC濃度を測定し、手術後の30日、6カ月、2年後の死亡率を

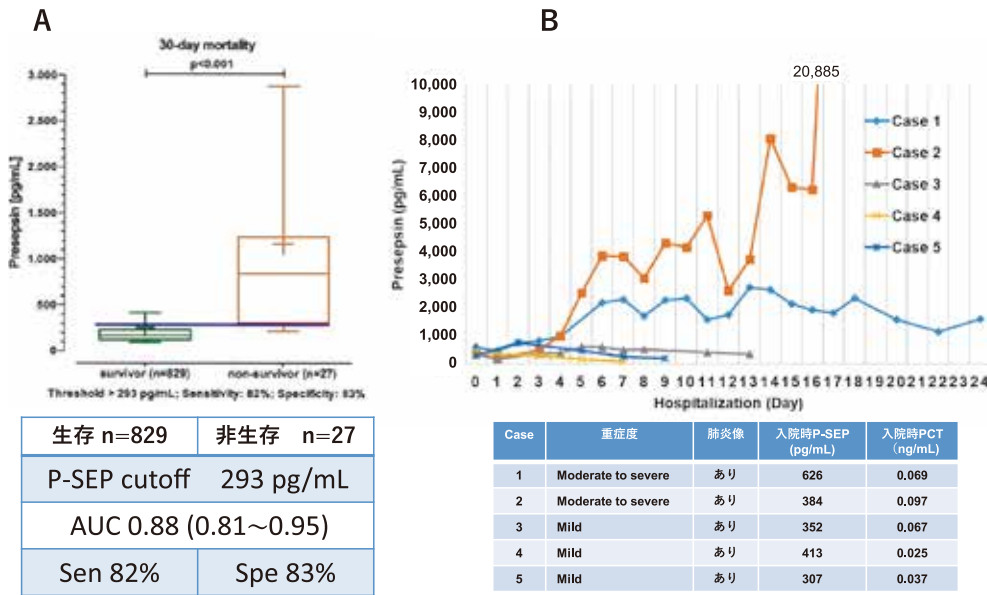


図4 重症化、予後予測とプレセプシン濃度

A：心臓手術前のプレセプシン値によるリスク評価（30日死亡率比較）（出典：文献¹⁷より作図）

B：COVID-19の重症化とプレセプシン濃度（出典：文献¹⁸より作図）

調査した。その結果、手術前のプレセプシン濃度が高い患者では30日後の合併症による死亡率（27例、3.15%）が高いことを明らかにした（カットオフ値293 pg/mL、感度82%、特異度83%、AUC 0.88）。この結果より、手術前のプレセプシン濃度の上昇が心臓手術患者のリスク層別解析のための独立した予後予測因子であると報告している（図4A）¹⁷。深田らはCOVID-19患者（5例）において発症から経時的にプレセプシン濃度を測定した。その結果、重症化した2例ではプレセプシン濃度が上昇し、死亡した患者では20,885 pg/mLまで上昇した。一方、軽症例3例はプレセプシン濃度が一時的に500 pg/mLを超えることもあったが、その後低下した¹⁸（図4B）。

本結果は、プレセプシンが敗血症患者の重症度予測だけでなく、待機的な心臓手術患者やCOVID-19などの重症化予測因子としても有用である可能性を示している。

おわりに

プレセプシンは、従来の敗血症マーカーと比較して、医療分野で幅広い用途を持つユニークなバイオマーカーである。感染症を診断し、患者の重症度診断や予後予測の推定に役立つ可能性がある。しかしながら、プレセプシンを評価するだけでは不十分な場合がある。したがって、実際の臨床現場では、各種バイオマーカーを組み合わせることで総合的に診断することが重要である。プレセプシンは敗血症の診断マーカーであると同時に重症化や予後予測のリスク因子として期待される。今後、その産生機序が明らかになり測定意義の確立が望まれる。

文献

- 1) Arai Y, Mizugishi K, Nonomura K, et al. : Phagocytosis by human monocytes is required for the secretion of presepsin. *J Infect Chemother* 21 : 564-569, 2015
- 2) Kim JI, Lee CJ, Jin MS, et al. : Crystal Structure of CD14 and Its Implications for Lipopolysaccharide Signaling. *J Biol Chem* 280 : 11347-11351, 2005
- 3) Juan TS, Kelley MJ, Johnson DA, et al. : Soluble CD14 Truncated at Amino Acid 152 Binds Lipopolysaccharide (LPS) and Enables Cellular Response to LPS. *J Biol Chem* 270 : 1382-1387, 1995
- 4) Giavarina D, Carta M : Determination of Reference Interval for Presepsin, an Early Marker for Sepsis. *Biochem Med (Zagreb)* 25 : 64-68, 2015
- 5) Ham JY, Song KE : Impact of specimen mixing methods on presepsin point-of-care test results using whole blood. *Clin Chem Lab Med* 54 : e151-154, 2016
- 6) 坂本大典, 小山田崇, 宮城博幸, 他 : エアシュータ[®] 搬送による物理的衝撃がプレセプシン値に及ぼす影響. 医療検査と自動化 (投稿中)
- 7) Ebisawa K, Koya J, Nakazaki K, et al. : Usefulness of presepsin for early detection of infections in patients with hematologic disorders. *Clin Chim Acta* 486 : 374-380, 2018
- 8) 遠藤重厚, 小豆嶋立頼, 高橋学, 他 : 敗血症バイオマーカー「プレセプシン」の特徴と有用性. *感染症* 46 : 10-15, 2016
- 9) 高橋学, 遠藤重厚, 小豆嶋立頼, 他 : 「プレセプシン」—症例を通して学んできたこと—. 岩手医科大学医学部教

- 急・災害医学講座, 2016, p10
- 10) Takeuchi M, Yokose T, Kawakubo H, et al. : The Perioperative Presepsin as an Accurate Diagnostic Marker of Postoperative Infectious Complications After Esophagectomy : A Prospective Cohort Study. *Esophagus* 2020. doi : 10.1007/s10388-020-00736-7
 - 11) Yu H, Qi Z, Hang C, et al. : Evaluating the value of dynamic procalcitonin and presepsin measurements for patients with severe sepsis. *Am J Emerg Med* 35 : 835-841, 2017
 - 12) Fujii E, Fujino K, Eguchi Y : An Evaluation of Clinical Inflammatory and Coagulation Markers in Patients With Sepsis : A Pilot Study. *Acute Med Surg* 6 : 158-164, 2019
 - 13) Klouche K, Cristol JP, Devin J, et al. : Diagnostic and Prognostic Value of Soluble CD14 Subtype (Presepsin) for Sepsis and Community-Acquired Pneumonia in ICU Patients. *Ann Intensive Care* 6 : 59, 2016
 - 14) Bamba Y, Moro H, Aoki N, et al. : Increased presepsin levels are associated with the severity of fungal bloodstream infections. *PLoS One* 13 : e0206089, 2018
 - 15) Apiratwarakul K, Srimookda N, Phungoen P, et al. : Presepsin Levels in Emergency Patients with Bacterial and Viral Infection. *Open Access Maced J Med Sci* 8 : 20-23, 2020
 - 16) Tambo M, Taguchi S, Nakamura Y, et al. : Presepsin and procalcitonin as predictors of sepsis based on the new Sepsis-3 definitions in obstructive acute pyelonephritis. *BMC Urol* 20 : 23, 2020
 - 17) Bomberg H, Klingele M, Wagenpfeil S, et al. : Presepsin (sCD14-ST) Is a Novel Marker for Risk Stratification in Cardiac Surgery Patients. *Anesthesiology* 126 : 631-642, 2017
 - 18) 深田愛, 中別府奈穂子, 松岡優, 他 : COVID-19 におけるプレセプシンの有用性. 感染症学会 COVID-19 症例報告集. 2020 年 4 月 23 日公開