

エビデンスの一步先を見据えた敗血症診療 ～基礎と臨床のクロストーク～

赤塚 正幸

札幌医科大学医学部 集中治療医学

Sepsis treatment that looks one step ahead of evidence - Crosstalk between basics and clinical practice -

Masayuki Akatsuka

Department of Intensive Care Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine

Abstract

The evidence regarding the pathology and treatment of sepsis is insufficient, and there are many treatments that require further investigation. Based on this background, we conducted basic and clinical research conducted to control PAMPs (pathogen-associated molecular patterns), typified by endotoxin, and DAMPs (damage-associated molecular patterns), which are produced as a result of excessive innate immune responses associated with infectious diseases.

First, we focused on the anti-inflammatory effects of recombinant thrombomodulin (rhTM), which has an anticoagulant effect, and investigated the relationship between histone H3, a DAMPs, and organ damage using a rat peritonitis sepsis model. The results revealed that rhTM neutralizes histone H3 and reduces renal damage. Then, using clinical data to examine the relationship between rhTM administration and renal damage, it was shown that rhTM significantly lowers blood purification dependence rate and improves renal prognosis. This was a corroborating result.

Next, we focused on the fact that sepsis may be accompanied by hypogammaglobulinemia due to consumption or increased vascular permeability.

There is still no unified opinion regarding the management of sepsis associated with hypogammaglobulinemia. Intravenous immunoglobulin therapy (IVIG) is one of the treatment options, but it is not recommended in the guidelines due to insufficient evidence level. Therefore, when we conducted the study about the prognosis of hypogammaglobulinemia using data on patients with sepsis in the ICU, we found that the 28-day mortality rate increased. Furthermore, when we investigated the effectiveness of IVIG therapy for sepsis patients with low IgG level, we found that it improved the prognosis and was associated with an increase in renal replacement therapy-free days.

Endotoxin and Innate Immunity 24 : 24 ~ 27, 2024

Key words : 敗血症, ヒストンH3, リコンビナントトロンボモジュリン, 腎障害, 低IgG血症, IVIG療法

はじめに

敗血症の定義である2016年のSepsis-3¹⁾, これに準じた日本版敗血症診療ガイドライン2020では「感染症によって重篤な臓器障害が引き起こされる状態」として定義されている²⁾。つまり, 感染症に伴って生じる生体反応が制御不能となり臓器障害に至るという過程が敗血症の病態であり, この複雑な病態に対して多方面からのアプローチが必要となる。敗血症では播種性血管内凝固症

候群 (disseminated intravascular coagulation: DIC) が高頻度に合併するが, DICの合併は臓器不全を増悪させる一因ともされている。また, 急性腎障害 (acute kidney injury: AKI) は敗血症患者の30 - 40%に生じると言われており³⁻⁶⁾, 近年の報告では凝固障害がAKIを増悪させることが知られている⁷⁾。したがって, 敗血症性DICに合併した腎障害に対するアプローチは, 予後改善を期待する上での一つの鍵となる。

また, 敗血症では血清IgG値の低下が報告されている

が、低IgG値の定義や低IgG血症に対する補充療法が有効か否かに関しては統一した見解が得られていないのが現状である。

これらの視点から本稿では、基礎実験と臨床データを用いて敗血症診療の今後の可能性について解説していく。

敗血症における damage-associated molecular patterns (DAMPs)

敗血症では生体に侵襲が加わると自然免疫細胞が活性化し、好中球やマクロファージからDAMPsが放出され、内皮や上皮の組織損傷を引き起こし、これがさらにDAMPsを放出させることで臓器障害へと進展することが明らかとなってきた。こうしたDAMPsによる負のサイクルが敗血症の重症化に寄与すると考えられる。近年、DAMPsの中でも細胞外ヒストンが敗血症の予後と関与するメディエーターとして注目されている⁸⁾。

敗血症におけるDAMPsと腎障害との関連を検討するため、自施設で行った結果⁹⁾をもとに、DAMPsの中でも特にヒストンH3に注目し腎の組織学的評価に与える影響について考察する。

1. ヒストンH3と腎障害との関連

雄性Wistarラットを用いてCLP腹膜炎モデルを作製し、ヒストンH3の濃度を測定した結果、経時的に上昇し、コントロールと比較してCLP作製後16時間後に有意な上昇が見られた。また、CLP作製16時間後の腎組織を採取し、HE染色、PAS染色、抗ヒストンH3抗体を用いた免疫染色を用いて組織学的評価を行った。HE染色では尿細管上皮細胞に広範囲な変性領域が認められ、PAS染色では尿細管の刷子縁の構造が認められず、免疫染色では陽性細胞数が著しく減少していた。これらは、細胞外ヒストンH3濃度上昇と腎障害との関連を示唆しており、組織の損傷がさらに細胞外へのヒストンH3放出を促している可能性を示している。

2. ヒストンH3制御の可能性をもつリコンビナントトロンボモジュリン

トロンボモジュリンは血管内皮細胞表面に発現している抗血栓分子で、血管内での血液凝固を防いでおり、5つのドメインから成り立っている(図1)。リコンビナントトロンボモジュリン(rhTM)は、この構造のうちレクチン様領域であるD1、EGF様領域であるD2、そしてO型糖鎖結合領域であるD3の3つの領域からなる。このうち、D1には抗炎症作用があり、DAMPsの中和や分解作用、補体の活性制御に寄与しており、D2には抗凝固作用があり、トロンビンと結合しプロテインCを活性化する。この抗凝固作用を利用してrhTMはDICの治療薬として主に用いられている。一方、D1の抗炎症作

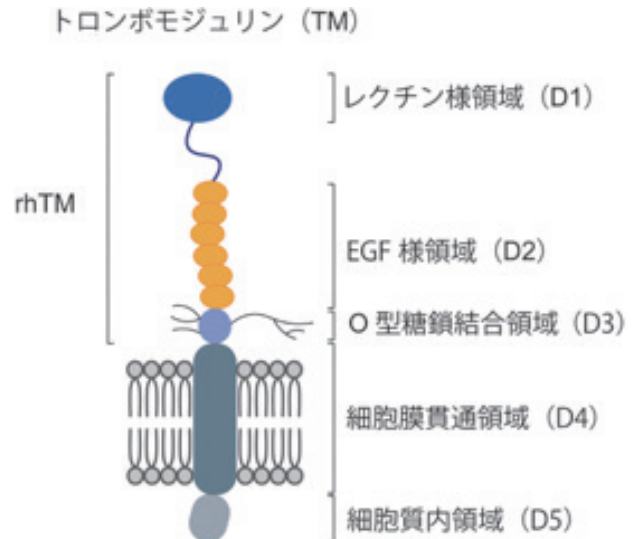


図1 トロンボモジュリンの構造
文献18より改変。

用に関して、DAMPsであるヒストンH3を抑制することで、DAMPsによる組織損傷から臓器障害に進展する過程を制御できるのではないかと考えられる。

3. ヒストンH3制御と腎障害軽減効果の可能性をもつrhTM

ラットCLP腹膜炎モデルを作製後にrhTMを投与し、ヒストンH3濃度測定と腎の組織学的評価を行った。その結果、rhTM投与群のヒストンH3濃度はrhTM非投与群と比較すると、有意に低下しており、腎の組織的评价を行ってみると、rhTM投与群ではrhTM非投与群と比較して変性領域は有意に軽減していた。また、腎の免疫染色ではrhTMを投与することでヒストンH3陽性細胞数の減少を有意に抑制した。以上より、細胞外ヒストンH3濃度上昇をrhTMが抑制し、細胞外ヒストンH3濃度上昇によって引き起こされていた腎の組織損傷を軽減したことを示唆している。

敗血症性DICへのアプローチ

1. 敗血症と Neutrophil extracellular traps (NETs)

敗血症では多くの炎症性メディエーターが産生され、血小板と結合して活性化した好中球は、NETsと呼ばれる網状の構造物を細胞外へ放出する。NETsはDNA骨格にヒストン、好中球エラスターゼなどが散りばめられた構造となっており、細胞外で微生物を捕獲して殺菌するのに重要な役割を果たしている。一方、NETsの放出により単球表面には活性側の組織因子が発現し、血管内には血栓が形成され、これらの血栓形成により血栓内に微生物を封じ込め、血栓でバリエードを築くことによって血管内から組織への拡散や組織から血管内への拡散を妨ぎ¹⁰⁾、生体防御機構である Immunothrombosis として

機能を果たしている。しかし、このImmunothrombosisが局所での封じ込めに留まらず、全身へ拡散してしまうと制御不能となり、血栓による血流不全で臓器障害に陥り、DICや多臓器不全へと進展する¹⁰。このようにNETsによる微生物の捕獲・殺菌や血栓形成による生体防御機構が暴走し、ある一線を超えてしまうと生体にとって有害となってしまいます。凝固障害を合併した多臓器障害は予後が悪い¹¹という報告もあることから、凝固障害の予防とそれに対する介入が重症患者の生命予後改善の一つの鍵になる。

2. 敗血症における細胞外ヒストン

過剰なNETsの産生が引き起こす生体防御機構の破綻の過程では、NETsの成分でありDAMPsとしてのヒストン蛋白が血中に放出されることが臓器障害と関連するという可能性がある¹²⁻¹⁴。敗血症性DIC患者では血漿ヒストンH3濃度は健常人と比較して上昇しており、死亡例ではさらに上昇しているという報告もある¹⁵。ヒストンが細胞外に放出されると、血小板の活性化、好中球の活性化によりNETsが放出され、腎の血管内皮や尿管上皮に直接的に細胞毒性をもたらす腎障害へと進展する。また、Toll-like receptor (TLR) 2/4を介して活性化したNF- κ Bがサイトカインやケモカインを放出させてさらに腎障害を進行させ、アポトーシスやネクローシスに陥った細胞からさらにヒストンが放出されるという臓器傷害の負のサイクルとなる¹⁶。

3. 敗血症性DICに対するrhTM

敗血症患者で凝固障害としてDICを、臓器障害として腎障害を生じた症例に注目し、自施設でのデータを用いて、敗血症性DICに急性腎障害(acute kidney disease: AKI)を合併した症例に対するrhTM投与の効果を検討した¹⁷。後方視的観察研究で、rhTM投与群とrhTM非投与群で患者背景に有意差はなく、propensity scoreを用いて交絡因子を調整して解析した結果、rhTM投与群ではrhTM非投与群と比較してICU退室時の血液浄化依存率を有意に低下させ、28日死亡率は有意に低かった。また、ICU退室時の血清クレアチニン濃度はrhTM投与群ではrhTM非投与群と比較して有意に低下していた。これらのことから、rhTMは腎保護作用がある可能性が示唆された。

敗血症における血清IgG値と免疫グロブリン(IVIG)療法

敗血症および敗血症性ショック患者の血清IgG値が低いことが多い一方で、これらの患者の死亡率が高いと報告されている¹⁹。しかしながら、死亡率が低下する血清IgG値とはどの程度の低IgG血症を示すのか、また予後悪化に寄与する低IgG血症に対するIVIG療法は有効な

のか、に関する検討は十分に行われていない。こうした背景も踏まえSSCG2021ではIVIGの投与は「推奨しない」²⁰とされており、日本版敗血症診療ガイドライン²では「IVIG投与を行わないことを弱く推奨」とされている。ガイドライン通りの診療にとどまらず、エビデンスが明らかとはなっていない敗血症と低IgG血症、そしてIVIG療法に関する検討を行った。

1. 敗血症における血清IgG値と生命予後

札幌医科大学附属病院で行った単施設の後方視的観察研究で、敗血症患者を対象とした²¹。28日死亡率をアウトカムとして、予後予測因子としての単変量解析、多変量解析による検討を行ったところ、血清IgG値と生命予後との関連が示された(OR: 0.999, 95%CI: 0.998-0.999, $P = 0.015$)。

次に、低IgG血症のカットオフ値をYouden Indexを用いて算出したところ、670 mg/dLであった。この血清IgG値670 mg/dLを用いて、低IgG群(<670 mg/dL)と非低IgG群(670 mg/dL \leq)で28日死亡率を比較したところ、低IgG群(<670 mg/dL)の死亡率が有意に上昇した($P < 0.001$)。本研究から、敗血症患者で、血清IgG値が670 mg/dL未満の場合は28日死亡率と関連があることが示された。

2. 敗血症における低IgG血症に対するIVIG療法

先に述べたように敗血症に対するIVIG投与に関して、ガイドラインでは投与の推奨には至っていない。では、「低IgG血症を呈した敗血症に対するIVIGの有効性はどうか」というクリニカルクエスチョンを挙げて検討した。血清IgG値670 mg/dL未満の敗血症患者の予後は悪化することが示唆されたことから、IVIGの投与対象を低IgG血症を呈した敗血症患者に限定することで予後改善効果が期待できる可能性がある。

札幌医科大学附属病院で行った単施設の後方視的観察研究で、血清IgG値670 mg/dL未満の敗血症患者を対象とした²²。IVIG投与群($n = 47$)、IVIG非投与群($n = 40$)で、交絡因子を調整するため、年齢、SOFA score、免疫抑制の有無、血清IgG濃度を共変量としてPropensity Score (PS)を求め、PSを調整変数として用いてロジスティック回帰分析を行った。その結果、IVIG投与群は、primary outcomeとして28日死亡率を改善した(OR: 0.15, 95%CI: 0.04-0.54, $P = 0.004$)。また、secondary outcomeとして、Renal Replacement Therapy (RRT)-free daysの増加(OR: 1.06, 95%CI: 1.01-1.11, $P = 0.025$)と90日死亡率の減少(OR: 0.31, 95%CI: 0.11-0.83, $P = 0.020$)と関連があった。

また、ログランク検定を用いた生存曲線では、IVIG投与群で28日予後($P = 0.004$)と90日予後($P = 0.023$)の改善をそれぞれ認めた。

これまで低IgG血症を呈する敗血症に対するIVIIG療法の有用性を検討した報告はない。本研究からは、血清IgG値670 mg/dL未満の敗血症に対するIVIIG投与が、生命予後(28日、90日死亡率)の改善とRRT-free daysの増加と関連することが示唆された。ただし、本研究が単施設による後方視的観察研究の結果であることを念頭に置いた上で、今後のさらなる研究結果が待たれる。

おわりに

感染による過剰な凝固や炎症によってDAMPsが誘導され敗血症に至るが、敗血症では、凝固異常を併発した多臓器不全の予後は悪化する。ラット敗血症モデルでは、rhTMのDAMPs抑制と腎障害軽減効果がみられた。抗炎症作用を有する抗凝固薬であるrhTMは、敗血症性DICに関連した臓器障害への治療戦略の一つとして有効である可能性がある。

また、敗血症患者における低IgG血症(<670 mg/dL)は、生命予後と関連し、低IgG血症を呈した敗血症患者に対するIVIIG療法の有効性が発揮できるphenotypeを明らかとして、個別化医療を実践する試みも我々に課された課題と考える。

文 献

- 1) Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. : The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315 : 801-810, 2016
- 2) 江木盛時, 小倉裕司, 矢田部智昭, 他 : 日本版敗血症診療ガイドライン2020. *日集中医誌* 28(Supplement), 2021
- 3) Bagshaw SM, George C, Bellomo R, et al. : A comparison of the RIFLE and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol Dial Transplant* 23 : 1569-1574, 2008
- 4) Doi K, Negishi K, Ishizu T, et al. : Evaluation of new acute kidney injury biomarkers in a mixed intensive care unit. *Crit Care Med* 39 : 2464-2469, 2011
- 5) Joannidis M, Metnitz B, Bauer P, et al. : Acute kidney injury in critically ill patients classified by AKIN versus RIFLE using the SAPS 3 database. *Intensive Care Med* 35 : 1692-1702, 2009
- 6) Ostermann M, Chang RW : Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. *Crit Care Med* 35 : 1837-1843, 2007
- 7) Ferencz SE, Davidson AJ, Howard JT, et al. : Coagulopathy and mortality in combat casualties: do the kidneys play a role? *Mil Med* 183 : 34-39, 2018
- 8) Xu J, Zhang X, Pelayo R, et al. : Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nature medicine* 15 : 1318-1321, 2009
- 9) Akatsuka M, Masuda Y, Tatsumi H, et al. : Recombinant human soluble thrombomodulin is associated with attenuation of sepsis-induced renal impairment by inhibition of extracellular histone release. *PLoS One* 15 : e0228093, 2020
- 10) Engelmann B, Massberg S : Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 13 : 34-45, 2013
- 11) Sakr Y, Lobo SM, Moreno RP, et al. : Patterns and early evolution of organ failure in the intensive care unit and their relation to outcome. *Crit Care* 16 : R222, 2012
- 12) Chaput C, Zychlinsky A. : Sepsis: the dark side of histones. *Nat Med* 15 : 1245-1246, 2009
- 13) Xu J, Zhang X, Pelayo R, et al. : Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med* 15 : 1318-1321, 2009
- 14) Abrams ST, Zhang N, Manson J, et al. : Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 187 : 160-169, 2013
- 15) Nakahara M, Ito T, Kawahara K, et al. : Recombinant thrombomodulin protects mice against histone-induced lethal thromboembolism. *PLoS One* 8 : e75961, 2013
- 16) Silk E, Zhao H, Weng H, et al. : The role of extracellular histone in organ injury. *Cell Death Dis* 8 : e2812, 2017
- 17) Akatsuka M, Masuda Y, Tatsumi H, et al. : The effect of recombinant human soluble thrombomodulin on renal function and mortality in septic disseminated intravascular coagulation patients with acute kidney injury: a retrospective study. *J Intensive Care* 8 : 94, 2020
- 18) Loghmani H, Conway EM : Exploring traditional and nontraditional roles for thrombomodulin. *Blood* 132 : 148-158, 2018
- 19) Taccone FS, Stordeur P, De Backer D, et al. : Gamma-globulin levels in patients with community-acquired septic shock. *Shock* 32 : 379-385, 2009
- 20) Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. : Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 47 : 1181-1247, 2021
- 21) Akatsuka M, Tatsumi H, Sonoda T, et al. : Low immunoglobulin G level is associated with poor outcomes in patients with sepsis and septic shock. *J Microbiol Immunol Infect* 54 : 728-732, 2021
- 22) Akatsuka M, Masuda Y, Tatsumi H, et al. : Efficacy of Intravenous Immunoglobulin Therapy for Patients With Sepsis and Low Immunoglobulin G Levels: A Single-Center Retrospective Study. *Clin Ther* 44 : 295-303, 2022