

氏 名 みやじま ゆうき
宮嶋 友希

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 富医薬博甲第 386 号

学位授与年月日 令和 4 年 3 月 23 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教 育 部 名 富山大学大学院医学薬学教育部 博士課程
生命・臨床医学 専攻

学 位 論 文 題 目
Usefulness of parameters of the XN-Series hematology analyzer
for patients with suggested bacteremia
(菌血症疑い患者における多項目自動血球分析装置XNシリーズの
有用性の検討)

論 文 審 査 委 員

(主査)	教 授	森永 芳智
(副査)	教 授	芳村 直樹
(副査)	教 授	安田 一朗
(副査)	教 授	高岡 裕
(指導教員)	教 授	山本 善裕

論 文 要 旨

論 文 題 目

Usefulness of parameters of the XN-Series hematology
analyzer for patients with suggested bacteremia
(菌血症疑い患者における多項目自動血球分析装置
XNシリーズの有用性の検討)

氏 名 宮嶋 友希

備考 ① 論文要旨は、2,000 字程度とする。

② A4 判とする。

〔目的〕 菌血症は感染症の中でも重症化することが多く、死亡率も高い疾患である。菌血症の診断は一般的には血液培養を用いられるが、検体を採取してから結果が出るまでに時間を要するために、より迅速に検査可能なバイオマーカーが期待される。フローサイトメトリー法を用いたシスメックス社多項目自動血球分析装置から得られる白血球関連パラメーターが敗血症患者で変化を認めたことが報告されている。白血球関連パラメーターは白血球分画測定時に解析でき、簡便に利用可能な検査であることから、菌血症の早期診断に有用である可能性が考えられた。今回、菌血症診療における白血球パラメーターの有用性を検討した。

〔方法〕 富山大学附属病院にて2017年7月1日から2018年1月31日にかけて院内で菌血症が疑われた患者および健常ボランティア37名を対象とした。菌血症が疑われた患者を血液培養とリアルタイムPCR法を利用した微生物検査であるTm mapping法(Sci Rep. 2015; 5: 12543)を用いていずれかの検査にて微生物が検出された症例を菌血症群、検出されなかった症例を非菌血症群に群分けを行った。カルテベースに年齢、性別などの臨床背景、シスメックス製多項目自動血球分析装置(XN-2000, Sysmex)を用いた白血球関連パラメーター、各種検査結果などを調査し、白血球関連パラメーターの有用性を検討した。さらにTm mapping法で微生物が検出された症例に関しては菌数を交えた検討も行った。統計解析はEZRを用いMann-WhitneyのU検定、Kruskal-Wallis検定にて検定を行い、2変量の相関に関してはSpearmanの順位相関係数rにより評価した。有意水準は $p < 0.05$ とした。

〔成績〕 122症例が菌血症疑い症例となり、血液培養、Tm mapping法により菌血症群45症例、非菌血症群77症例に群分けられた。血液培養では28例、Tm mapping法では32例の微生物が検出された(重複症例を含む)。血液培養、Tm mapping法ともにEscherichia coliが最も多く検出された。菌血症群、非菌血症群、健常者群で白血球パラメーターを比較したところ、好中球の側方蛍光の平均強度を示し、好中球内の核酸や細胞小器官の多寡を意味するNE-SFL(SFL; side fluorescence light)と好中球の側方蛍光のばらつきを示すNE-WY(WY; fluorescence distribution width)が菌血症群で有意に高値を示した。リンパ球、単球では白血球関連パラメーターに有意差は認めなかった。菌血症診断におけるROC曲線を作成し比較を行ったところ、Area Under the Curve(AUC)はNE-SFLで0.704(感度 0.605, 特異度 0.800, カットオフ値 51.600)と比較的高い正確性であったが、NE-WYは0.641(感度 0.419, 特異度 0.840, カットオフ値 771.000)と高い正確性ではなかった。Tm mapping法で微生物が検出できた32症例に関して1mLあたりの菌数と好中球関連パラメーターとの相関の確認を行ったところ、NE-SFLと菌数との相関係数は $r=0.197$ 、NE-WYと菌数との相関係数は $r=0.36$ と強い相関は認めなかった。また、炎症性サイトカインとの関連を調べるためにInterleukin-6(IL-6)とNE-SFL、NE-WYとの相関を確認したところ相関係数はそれぞれ $r=0.197$ 、 $r=0.614$ と比較的強い相


関を認めた.

〔総括〕 菌血症群と非菌血症群間でNE-SFLとNE-WYが有意に高値を示した. 核酸量の多い幼弱白血球が末梢血へ動員されることにより好中球内の核酸量が増加し, 好中球内の核酸や細胞小器官の多寡を意味するNE-SFLが高値となったと考えられた. また, 自然免疫により応答し, アポトーシスやネクローシス, NETosisなどの機序により細胞死に向かう好中球も存在し, そのため, 末梢血へ動員される幼弱白血球と細胞死する好中球の両方が混在することにより好中球の側方蛍光のばらつきを示すNE-WYが高値となったと考える. 特に菌血症ではその影響が顕著に現れたと考えられた. 今回は通常の血液培養での微生物の検討に加えて, Tm mapping法も用いることで定量的な解析も行った. 菌血症症例で有意な高値を示したNE-SFLとNE-WYについて, NE-SFLと菌数では相関は認めなかったが, NE-WYと菌量での相関を認めた. 他に白血球パラメーターに影響を与える可能性のある因子としてIL-6等のサイトカインによる影響も検討し, IL-6とNE-SFL, NE-WYでの相関を確認したところ, ともに相関を認め, NE-WYでより強い相関を認めた. Tm mapping法はバツフィーコートを含む血漿を用いて検査を行っており, 菌数は血漿中に浮遊する菌数と好中球による貪食を受けた菌数を反映している. 貪食に関与している好中球とサイトカインによる影響を受けた好中球が混在しバラツキが生じてNE-WYが高値となった可能性が考えられた. 今回の検討では白血球関連パラメーターのうち好中球関連パラメーターのNE-WYがより菌血症の病態を鋭敏に反映している可能性が示唆された. ただし今回の検討ではサイトカインの産生のタイミングや貪食のタイミングの検討ができておらず今後時系列データを含む検討が必要と考えられる.

菌血症は重篤な転帰となることが少なくなく, 重要な疾患である. 菌血症における特異的なバイオマーカーは存在せず, 血液培養で微生物を検出・同定することがGolden standardとなっているが, 結果判明までには時間を要するためにより迅速な検査が望まれる. 白血球パラメーターのみを用いて菌血症を特異的に診断することは難しいが, 迅速性, 簡便性, 経済性の面からは菌血症診断の一助となる可能性がある. 菌血症診断の精度を高めるために, 複数のパラメーターを組み合わせた診断アルゴリズムの構築などが今後必要であると考えられた.

様式 8

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

報 告 番 号	富医薬博甲第 号 富医薬博乙第 号	氏 名	宮嶋 友希
論文審査委員	職 名 (主査) 教 授 (副査) 教 授 (副査) 教 授 (副査) 教 授	氏 名 森永 芳智 芳村 直樹 安田 一朗 高岡 裕	
指導（紹介）教員	教 授	山本 善裕	
(論文題目 英文の場合は和訳、日本語の場合は英訳を付記すること) Usefulness of parameters of the XN-Series hematology analyzer for patients with suggested bacteremia (菌血症疑い患者における多項目自動血球分析装置XNシリーズの有用性の検討)			(判定) 合格
(論文審査の要旨) (目的) 菌血症は感染症の中でも重症化することが多く、死亡率も高い疾患である。菌血症の診断は一般的には血液培養が用いられるが、検体を採取してから結果が出るまでに時間を要するために、より迅速に検査可能なバイオマーカーが期待される。フローサイトメトリー法を用いたシスメックス社多項目自動血球分析装置から得られる白血球関連パラメーターに、敗血症患者で変化がみられることが報告されている。白血球関連パラメーターは白血球分画測定時に解析でき、簡単に利用可能な検査であることから、菌血症の早期診断に有用である可能性が考えられる。そこで今回、宮嶋友希氏は菌血症診療における白血球パラメーターの有用性について検討した。 (方法) 富山大学附属病院にて2017年7月1日から2018年1月31日にかけて院内で菌血症が疑われた122症例を対象とし、血液培養とリアルタイムPCR法を利用した微生物検査であるTm mapping法を用いていずれかの検査にて微生物が検出された症例を菌血症群、検出されなかった症例を非菌血症群に群分けを行った。カルテベースに年齢、性別などの臨床背景、シスメックス製多項目自動血球分析装置(XN-2000、Sysmex)を用いた白血球関連パラメーター、各種検査結果などを調査し、白血球関連パラメーターの有用性を検討した。さらにTm mapping法で微生物が検出された症例に関しては菌数を交えた検討も行った。統計解析はEZRを用いMann WhitneyのU検定、Kruskal-Wallis検定にて検定を行い、			

2変量の相関に関してはSpearmanの順位相関係数 r により評価した。有意水準は $p < 0.05$ とした。

(結果)

菌血症が疑われた122症例は、血液培養、Tm mapping法により菌血症群45症例、非菌血症群77症例に群分けされた。血液培養では28例、Tm mapping法では32例の微生物が検出された（重複症例を含む）。血液培養、Tm mapping法ともに*Escherichia coli*が最も多く検出された。菌血症群、非菌血症群、健常者群で白血球パラメーターを比較したところ、好中球の側方蛍光の平均強度を示し、好中球内の核酸や細胞小器官の多寡を意味するNE-SFL (NE; neutrophil, SFL; side fluorescence light) と好中球の側方蛍光のばらつきを示すNE-WY (WY; fluorescence distribution width) が菌血症群で有意に高値を示した。リンパ球、単球では白血球関連パラメーターに有意差は認めなかった。菌血症診断におけるROC曲線を作成し比較を行ったところ、Area Under the Curve (AUC) はNE-SFLで0.704 (感度 0.605、特異度 0.800、カットオフ値 51.600) と比較的高い正確性であったが、NE-WYは0.641 (感度 0.419、特異度 0.840、カットオフ値 771.000) と高い正確性ではなかった。Tm mapping法で微生物が検出された32症例に関して1mLあたりの菌数と好中球関連パラメーターとの相関の確認を行ったところ、NE-SFLと菌数との相関係数は $r=0.197$ 、NE-WYと菌数との相関係数は $r=0.36$ と強い相関は認めなかった。また、炎症性サイトカインとの関連を調べるためにInterleukin-6 (IL-6) とNE-SFL、NE-WYとの相関を確認したところ相関係数はそれぞれ $r=0.197$ 、 $r=0.614$ と比較的強い相関を認めた。

(総括)

宮嶋友希氏は、血液培養検査を必要とした122例の血液検体を利用して、血球自動分析装置から得られる白血球パラメーターの菌血症診断における有用性について検討した。フローサイトメトリー法を測定原理として得られる好中球の側方蛍光値であるNE-SFLと、側方蛍光値のばらつきを示すNE-WYは、微生物が検出された菌血症群で高値であり、検出されなかった非菌血症群ならびに健常者と比較して有意に差があることを確かめた。一方、リンパ球ならびに単球のパラメーターではこのような差は確かめられず、好中球に特異的なことが明らかとなかった。また、両パラメーターは、炎症所見とも相関を認めた。

以上のことから、重篤な転帰となることがある菌血症診療において、白血球パラメーターが診断指標となる可能性が明らかとなり、測定手法自体が迅速、安価、簡便でもあることから、臨床的発展性の面で高く評価できる。以上より本審査会は本論文を博士(医学)の学位に十分値すると判断した。