

日本医療研究開発機構 臨床研究・治験推進研究事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 敗血症治療の基礎的臨床研究とコンパニオン診断法開発
(英語) Clinical study on sepsis pathophysiology and development of companion
diagnosis for sepsis method

研究開発実施期間: 平成30年10月1日～令和5年12月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 森松 博史
(英語) MORIMATSU Hiroshi

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立大学法人岡山大学・学術研究院医歯薬学域・教授
(英語) Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University・Professor

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

和文: 2ページ以上

英文: 1ページ程度

【研究の背景】

敗血症は、世界的な死亡原因の第一位を占め続けており、2012 年以来 Surviving Sepsis Campaign が世界的に展開されている。さらに2017 年には、世界保健機構が優先して取り組むべき世界の医学上の課題として、「Sepsis」を取り上げると宣言した。このような世界的な取り組みの背景として、敗血症の発症を早期に知ることができるよいバイオマーカーが未だ見出されていないことを挙げることができる。

【これまでの研究経過】

研究開発代表者の森松らの研究グループは、ICU 内の敗血症患者と敗血症モデルマウスの血中で特異的に低下する血漿タンパク Histidine-rich glycoprotein (HRG) を同定した (EBioMedicine, 2016; Crit Care Med, 2018;

Crit Care, 2018)。HRG の機能解析研究の結果、HRG は循環血中の好中球の正球形態維持と活性酸素分子種 (ROS) 産生抑制、さらに血管内皮細胞保護効果 (EBioMedicine, 2016) と赤血球の凝集反応防止 (JPS, 2018) に恒常的に働いていることを明らかにした。敗血症時には上記の HRG の働きが低下し、好中球の血管内皮細胞接着により血管内免疫血栓形成がスタートすると、随伴炎症による ARDS 発症、内皮障害によるショック、さらに DIC へと反応は続き、最悪の場合死に至ることを解明した。

以上の研究実績のもとに森松らは、敗血症発症の早期発見を可能にする検査法の確立を目指すことを着想した。第1回臨床研究において、血漿 HRG の測定が、現行の血中プロカルシトニンやプレセプシンの定量より優れた敗血症診断と重症度評価のバイオマーカーとなることを示した (Crit Care Med, 2018; Crit Care, 2018)。さらに第2回臨床研究において、血漿 HRG 値によって層別化された患者群は、最も低い HRG 群において最低の生存率を示すことを明らかにした (Sci Rep, 2021)。この前向き観察研究は、約 90 名と比較的少数例の患者で得られた結果である。

【研究の目的・計画】

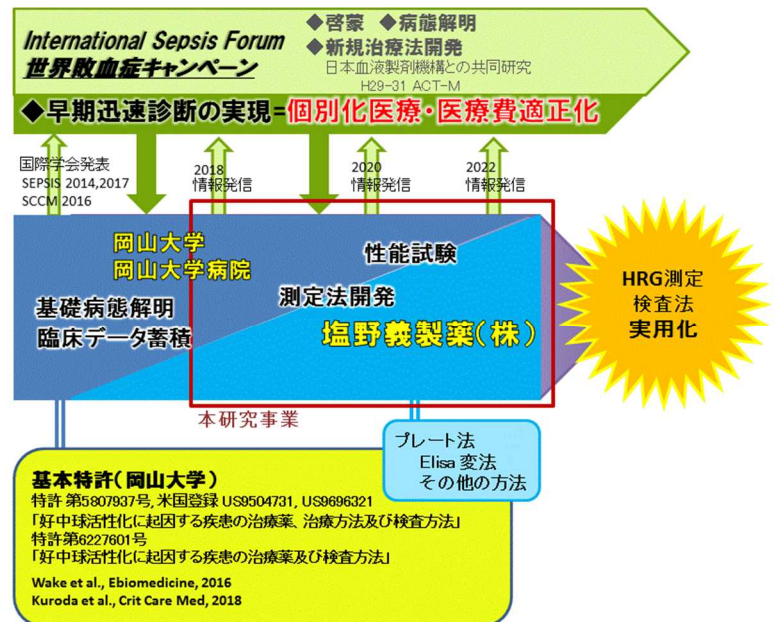
本研究の目的は、塩野義製薬株式会社と連携し、敗血症診断と敗血症の重症度把握・予後予測のための迅速・簡便な HRG 測定法を開発することである。

迅速・簡便な血漿 HRG の測定法の開発は、岡山大学の本研究グループ内で用いている変法 ELISA による測定法をベースに、一般的な施設でも簡便に利用可能な検査法へと改良し、さらにベッドサイドで使用可能な測定法を構築することで、世界の敗血症診断法の新しい基準を提案しようとするものである。検査法開発の基礎となる測定法に関する特許は、岡山大学を出願人として権利化済みである (特許第 6227601 号, 米国登録 US9696321)。

本研究期間の前半で第3回臨床研究として、2016 年に発表された敗血症診断における新基準に基づき、敗血症に関する体外診断バイオマーカーとしての HRG 測定の意義と特性を見極めるため、症例数を増やして HRG 測定の多施設共同前向き臨床研究を行う。その結果に基づき、後半で敗血症診断能に関する第4回臨床研究を計画・実施し、本研究事業内で開発する上記商用測定系による HRG 測定を行う。その結果を解析し、薬事承認申請の目途をつける。

【研究の意義】

本課題で取り組む HRG 診断薬は敗血症の診断のみならず、その重症度、ひいては予後の予測能力が高い可能性がすでに示されている (Crit Care Med, 2018; Crit Care, 2018)。既存の検査や重症度スコアのみでははつきり病態把握できない症例に対し、反応性や経過、予後の予測ができることによって、より重症 (治療抵抗性) の患者に、早期により手厚い治療を施し、さらなる重症化を防ぎ、軽症 (治療反応性の高い) の患者には無駄な治療を省くことにより、敗血症治療の個別化治療につながり、医療費の適正化に貢献できる。先述したように、開



発品は世界の病院内 ICU で広範囲に使用される検査診断法となる可能性を持っている。より積極的な治療介入が必要な患者を効率的に選び出し、早期の集中治療開始を可能にすることは、患者死亡率の低下、患者 QOL の改善、ひいては医療費の適正化（医療コストの低減）に大きく寄与すると期待される。併せて、世界の Surviving Sepsis Campaign に対する日本からの貢献ともなる。

【研究の結果・成果】

(1) 商用 HRG 測定キットの設計・開発

HRG を臨床応用可能なマーカーとして確立することを目標に、体外診断用医薬品として商用可能な HRG 測定キットの設計開発を実施した。

商用可能な HRG 測定キットに使用する抗体を取得し、最適な組み合わせを確定した。当該抗体にて測定系を構築し、種々の検討により堅牢性の高いキットに改良の上、性能評価を実施し、塩野義製薬と岡山大学で共同出願を完了させた（特願 2022-058771, PCT/JP2023/013531）。

また、測定キットに使用する抗体と HRG タンパク質の複合体の立体構造図を作成し、構造解析上も高い相互作用を有することを確認した。実験的に得られた抗原エпитープマッピングのデータを補強する結果が得られ抗体の特性を明らかにした。

設計開発した HRG 測定キットを使用して、敗血症リスクの高い疾患群（高血圧、消化器系疾患、腎疾患、自己免疫疾患、糖尿病、肝疾患、消化器癌、消化器癌以外の癌）と高齢健常者（65 歳以上）の市販検体を購入して検討した。高齢健常者と各疾患群患者の HRG 値に大きな差がないことを確認し、敗血症リスクの高い疾患は、HRG 値に影響を与えないことを明らかにした。加えて、高齢健常者の HRG 値の範囲を確認した。敗血症診断能の検証及び HRG 値の基準範囲を設定する上で基本となるデータを取得した。

(2) 第 3 回臨床研究

岡山大学病院を含む 19 施設で集中治療中の敗血症患者 200 名を対象として実施した。2019 年 9 月に 201 症例の登録を完了し、「研究の目的・計画」欄に記載した変法 ELISA による測定を実施し、その結果を論文報告した（PLoS One, 2023）。加えて（1）で構築した商用測定系による測定も実施し、両測定系の相関性を確認後、HRG 測定データと臨床データの統合解析を行い、第 4 回臨床研究の計画に反映させた。

(3) 第 4 回臨床研究

岡山大学病院、岡山市市民病院、倉敷中央病院の 3 施設において、敗血症および非敗血症の入院患者（quick SOFA の基準を 2 つ以上満たした患者）を対象に 150 症例の登録を目指して第 4 回臨床研究を実施した。COVID-19 の影響が想定以上に大きかったため目標数には至らなかったが、2023 年 6 月末（症例登録期間終了）までに登録を得た 126 症例について商用測定系による測定を行った。その統計解析結果の概要は以下のとおりである。

- ・非敗血症例と比較して、敗血症例は HRG が有意に低かった。
- ・PCT や P-SEP との相関は低かった。
- ・HRG 単独の敗血症診断性能はプレセプシンや APACHE II score、SOFA score より高く、プロカルシトニンより低かった。
- ・該当症例が少ないこともあり、HRG の重症度（敗血症性ショック）予測性能や予後（28 日後転帰）予測性能は示されなかった。なお、予後予測性能は敗血症例に限定するとやや改善された。

【今後の展開・展望】

これまでの研究により、HRG が一定の敗血症診断能を有することが明らかになった。本臨床研究の結果は、国際学会発表や論文を予定している。

HRG を体外診断用医薬品として製品化するには、解析結果を更に精査して総合的に評価する必要があると判断し、岡山大学と塩野義製薬で引き続き協議を行いながら、HRG の臨床的意義の検証を進め、体外診断用医薬品の承認申請を目指して継続して取り組む予定である。

[Research background]

Sepsis continues to be the leading cause of death worldwide, and the Surviving Sepsis Campaign has been rolled out globally since 2012. Furthermore, in 2017, the World Health Organization declared that Sepsis would be a priority global medical issue. The background to such global efforts is that good biomarkers that can detect the onset of sepsis at an early stage have not yet been discovered.

[Research purpose]

The purpose of this research is to collaborate with Shionogi & Co., Ltd. and to develop a quick and simple HRG measurement method for diagnosing sepsis, understanding the severity of sepsis, and predicting prognosis.

The development of a quick and simple plasma HRG measurement method was based on a modified ELISA measurement method used within this research group at Okayama University, and was improved to a test method that can be easily used in general facilities. Furthermore, by creating a measurement method that can be used at the bedside, we aim to propose a new standard for sepsis diagnosis around the world.

[Significance of the research]

It has already been shown that the HRG diagnostic drug used in this project has a high ability to not only diagnose sepsis but also predict its severity and prognosis (Crit Care Med, 2018; Crit Care, 2018). By being able to predict the response, course, and prognosis for treatments that are not clear with existing tests and severity scores, we can provide early and more generous treatment to more severely ill (treatment-resistant) patients and prevent further progression of the disease. By eliminating unnecessary treatment for patients with mild symptoms (highly responsive to treatment), this will lead to personalized sepsis treatment and contribute to the optimization of medical costs. The developed product has the potential to become a testing and diagnostic method that will be widely used in hospital ICUs around the world. Efficiently selecting patients who require more aggressive treatment intervention and enabling early initiation of intensive treatment will reduce patient mortality, improve patient QOL, and ultimately optimize medical costs (reduce medical costs). It is expected to make a significant contribution of Japan to the global Surviving Sepsis Campaign.

[Research results]

(1) Design and development of commercial HRG measurement kit

With the goal of establishing HRG as a clinically applicable marker, we designed and developed an HRG measurement kit that can be commercially used as an in vitro diagnostic drug.

We obtained antibodies for use in a commercially available HRG measurement kit and determined the optimal combination. We constructed a measurement system using the antibodies, improved it to a highly robust kit through various studies, conducted performance evaluations, and completed a joint application with Shionogi & Co., Ltd. and Okayama University (Patent Application No. JP2022-058771, PCT/JP2023/013531).

In addition, we created a three-dimensional structural diagram of the complex of the antibody and HRG protein used in the measurement kit, and confirmed that it has a high degree of interaction based on structural analysis. The results corroborate the experimentally obtained antigen epitope mapping data and clarify the properties of the antibody.

Using the designed and developed HRG measurement kit, we measured disease groups with a high risk of sepsis (hypertension, digestive system diseases, kidney diseases, autoimmune diseases, diabetes, liver diseases, gastrointestinal cancers, cancers other than gastrointestinal cancers) and the elderly. Commercially available specimens from healthy individuals (65 years of age or older) were purchased and examined. It was confirmed that there were no major differences in HRG values between healthy elderly subjects and patients in each disease group, and it was revealed that diseases with a high risk of sepsis do not affect HRG values. In addition, we confirmed the range of HRG values in healthy elderly subjects. We obtained basic data for verifying sepsis diagnostic ability and setting reference ranges for HRG values.

(2) Third clinical study

The study was conducted on 200 sepsis patients receiving intensive care at 19 facilities including Okayama University Hospital. Registration of 201 cases was completed in September 2019, and measurements were performed using the modified ELISA described in the "Research purpose and plan" section (PLoS One, 2023). In addition, we conducted measurements using the commercial measurement system constructed in (1), and after confirming the correlation between both measurement systems, we conducted an integrated analysis of HRG measurement data and clinical data, and reflected this in the plan for the 4th clinical study.

(3) 4th clinical study

The 4th clinical trial was held at three facilities: Okayama University Hospital, Okayama Municipal Hospital, and Kurashiki Central Hospital, with the aim of enrolling 150 cases of sepsis and non-sepsis inpatients (patients who met two or more quick SOFA criteria), conducted research. Although the target number was not reached because the impact of COVID-19 was greater than expected, measurements were taken using the designed and developed HRG measurement kit for the 126 cases that were registered by the end of June 2023 (the end of the case registration period). The summary of the statistical analysis results is as follows.

- HRG was significantly lower in septic cases compared to non-septic cases.
- Correlation with PCT and P-SEP was low.
- The sepsis diagnostic performance of HRG alone was higher than presepsin, APACHE II score, and SOFA score, but lower than procalcitonin.
- Due to the small number of applicable cases, HRG's ability to predict severity (septic shock) and prognosis (28-day outcome) was not demonstrated. The prognosis prediction performance was slightly improved when limited to septic cases.

[Future developments/prospects]

The present research has revealed that HRG has a certain ability to diagnose sepsis. The results of this clinical research are scheduled to be presented at international conferences and published in papers.

In order to commercialize HRG as an in vitro diagnostic drug, it was concluded that the analysis results needed to be further scrutinized and comprehensively evaluated, and Okayama University and Shionogi & Co., Ltd. continued to hold discussions to determine the clinical significance of HRG. We plan to proceed with the verification of this and continue our efforts with the aim of applying for approval as an in vitro diagnostic drug.