

<研究の名称>

敗血症の重症度評価を可能とする新規バイオマーカー
HRG (Histidine-Rich Glycoprotein) : 敗血症早期治療への応用

研究実施計画書

研究実施体制

本研究は以下の体制で実施する。

【研究責任者】

研究機関の名称	岡山大学
所属：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻生体機能制御学講座 麻酔・蘇生学分野	職名：教授 氏名：森松 博史

【本学における研究分担者】

所属	職名	氏名
岡山大学病院 手術部	助教	清水 一好
岡山大学病院 集中治療部	助教	鈴木 聡
岡山大学病院 集中治療部	医員	黒田 浩佐
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻生体機能制御学講座 麻酔・蘇生学分野	大学院生 (医師)	川上 直哉
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻生体薬物制御学講座 薬理学分野	教授	西堀 正洋
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻生体薬物制御学講座 薬理学分野	助教	和氣 秀徳
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻生体薬物制御学講座 薬理学分野	助教	勅使川原 匡
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻生体薬物制御学講座 薬理学分野	非常勤研究員	劉 克約
岡山大学病院 新医療研究開発センター	教授	樋之津 史郎

【外部解析もしくは測定機関】

外部検査機関などへ試料解析を委託する。

解析を委託する試料の種類：血液

外部委託機関名：株式会社エスアールエル

外部委託所属：岡山営業所

外部委託氏名：柴田 章秀

外部委託所在地：〒700-0975 岡山市北区今 4-14-5

外部委託時の匿名化の方法：氏名・生年月日など個人を直ちに特定できる情報を削除する

【共同研究機関】

国内の機関

共同研究機関の名称：別添参照

共同研究者の所属・職名・氏名：別添参照

主管となる機関の名称：岡山大学

本研究における岡山大学の役割：研究総括，諸検査，検体保管，試料採取

本研究における共同研究機関の役割：試料採取

作成日 2017年12月22日

計画書案 第1.1版作成

1. 研究の目的及び意義

(1) 研究の背景及び目的

敗血症は重篤な病態であり、依然として死亡率は非常に高い。その検査法や治療法に関して様々な研究が行われているが、確立されたものはごく一部である。

Histidine-Rich Glycoprotein (HRG)は主に肝臓で産生される糖タンパク質で、様々なリガンド（ヘパリン、ヘパラン硫酸、プラスミノゲン、プラスミン、フィブリノーゲン、フィブリン、トロンボスポンジン、IgG、補体、亜鉛、ヘムなど）と結合することが知られている。その結合性から、凝固・線溶系、免疫系、血管新生の制御などへの関与が示唆されているが、体内での機能や動態についての詳細は不明な物質である。

我々は、マウスの敗血症モデルを用いて敗血症時の臓器障害発生機序を詳細解析して、その病態生理の起点となる血漿HRG値の低下を突きとめた¹⁾。HRG値の低下は敗血症に特徴的な呼吸不全、DIC、ショックの全ての原因となり、補充的にHRGをマウスに静注すると臓器障害ならびに生存率が著明に改善することを明らかにした。さらに臨床研究として、岡山大学病院ICUにおいてヒトSIRS患者のHRG値の測定・分析も行った。その結果、①全身性の炎症を認めるSIRS患者ではHRG値が健常人に比べて有意に低い、②SIRS患者のうち敗血症群と非敗血症群を比較すると、敗血症群でより低値である、③SIRS患者のうち死亡群と生存群を比較すると、死亡群でより低値であることを見出した。さらに④HRG値と予後（死亡）とに有意な関連を認めた。HRGによる死亡予測の感度および特異度は共に高く、世界的に広く用いられている重症度・予後予測マーカーであるSequential Organ Failure Assessment (SOFA) scoreやAcute Physiology and Chronic Evaluation (APACHE) II scoreと比較しても同等であることが示唆された。またHRGの敗血症診断の性能は、臨床使用されている既存のマーカーであるプロカルシトニンやプレセプシンよりも優れているという結果も得られた。以上の結果より、ICU患者の感染の有無、重症度、生死を含む予後判定にHRGを使用することができ、既存の検査と比較して優れたバイオマーカーとなり得ることが示唆された（論文投稿中）。

この度、2016年に敗血症診断における新基準²⁾が発表された。本研究では、この敗血症診断の新基準に基づき、敗血症患者におけるHRG値とその他の検査項目や症状などの臨床データを比較してHRGの臨床的意義を考察する。主評価項目は、敗血症患者におけるHRG値の時間的な変動を確認して、その推移と臨床経過および予後との関連を調べる。副評価項目は、敗血症の原因（病原体）別でのHRG値の推移と、HRG値と一般的な検査値との関連を調べる。

(2) 予想される医学上の貢献及び意義

HRGが敗血症の診断・重症度マーカーとして確立すれば、急激に変化する敗血症患者の状態予測が可能となる。HRGを用いて重症敗血症患者を選別することでより迅速かつ効率的な集中治療が可能となり、生存率の改善や更には医療コストの削減に大きく寄与できる。また、将来的に敗血症治療法としてHRGを補充することで、抗炎症薬やステロイドとは全く異なる作用機序により敗血症誘発多臓器不全の発生を抑えて、死亡率を低下させる可能性がある。敗血症の新規治療薬としても、国民の保健・医療・福祉の向上に大きく貢献できる可能性がある。

2. 研究の科学的合理性の根拠

本研究の目的は、敗血症患者におけるHRG値を測定して臨床的意義を考察することであり、前向き観察研究が妥当であると考えられる。また、本研究の対象疾患は敗血症であるため、意識障害や鎮静管理などで合理的な判断を行うことが難しい患者も対象とする必要がある。本研究は、通常診療通りの検査や臨床状態の評価に加えて、敗血症診断からDay 1, Day 3, Day 5, Day 7にHRGを測定することにより、敗血症患者のHRGの時間的な推移と臨床経過との関連を調べる。以前に同様の患者群を対象とした多施設研究において、約2年間で99人の対象患者が登録されているため、5年間の研究対象登録期間をおくことで200人の研究を行えると考えられる。以上より、本計画で本研究を実施できる。

3. 研究の方法及び期間

(1) 研究方法の概要

新規に敗血症と診断された患者を対象として、同意書を取得後に日常的に行う検査に加えて、研究のために敗血症の診断から24時間以内 (Day 1), Day 3, Day 5, Day 7 に追加で約10mLの採血を行う (合計4回, 約40mL)。採血後は速やかに処理した後、血漿および血清を分離して冷凍保存する。保存した検体は、株式会社エスアールエルによって一部を解析後に岡山大学 (麻酔・蘇生学教室) に輸送する。輸送した検体は、岡山大学 (薬理学教室, 麻酔・蘇生学教室) でELISA法やウェスタンブロット法を用いて血漿HRG値を測定して、プロカルシトニンやプレセプシンなど既存の敗血症マーカーと比較検討する。

その他の検査や治療は通常診療通りに行い、臨床状態は毎日評価して経過観察する。身体所見や血液検査データなどの臨床情報は患者カルテから抽出してSOFA scoreやAPACHE II scoreを計算し、臨床経過や一般的な検査値などもあわせて評価を行う。岡山大学病院・共同研究機関から得られた患者データはREDCapを用いて管理する。ICU退室後も患者を追跡して、28日目・90日目の転帰を生存分析に用いる。

(2) 研究のデザイン

岡山大学主管・多施設共同・前向き観察研究 (コホート研究)

(3) 研究対象者の選定方針

1) 選択基準

選択基準を全て満たす患者を対象とする。

- ① 2018年1月開催の倫理委員会承認後から2023年3月31日の間に岡山大学病院あるいは共同研究機関にて新規に敗血症と診断された入院患者
- ② 敗血症の診断は2016年に発表された新基準²⁾を用いて行い、感染症により生命を脅かす臓器障害を示すものでSOFA scoreが2点以上増加した患者
- ③ 自由意思による研究参加の同意を本人もしくは代諾者から文書で取得可能な患者

2) 除外基準

除外基準の1項目以上を満たす場合は除外する。

- ① 集中治療期間が2日以内と想定される患者
- ② 20歳未満
- ③ 妊婦

(4) 予定する研究対象者数

全体で200人 (内訳: 岡山大学病院40人, 共同研究機関160人)

(5) 対象者数の設定根拠

今回の研究はHRGと死亡との関連を調べることを目的として、Cox比例ハザードモデルを用いて3から5の因子を含めた多変量解析を行う予定としている。そのためには少なくとも25例程度の死亡症例が必要である。我々は先行研究において敗血症99症例を集めて、生存群と死亡群でHRG値に差があるかどうかを調べた。その28日死亡の症例数は16例で、死亡率は16.2%だった。大学病院症例の死亡率は20.6% (7/34例) で、市中病院症例の死亡率は13.8%

(9/65例)だった。本研究では同様の患者群を対象としているが、参加施設に市中病院が増えて全体の死亡率が下がることが予想される。以上より、イベント数を25、イベント発生率を

14%と想定すると、180 症例が必要となる。脱落症例を考慮すると、合計 200 症例が必要となると考えられる。

(6) 評価の項目及び方法

1) 主要評価項目

敗血症患者における HRG 値の時間的な推移と臨床経過および予後との関連

2) 副次的評価項目

敗血症の原因（病原体）別での HRG 値の推移

HRG 値と一般的な検査値との関連

(7) 統計解析方法

二元配置反復測定分散分析および一般化線形混合モデルを用いて、主評価項目である HRG 値の推移と臨床経過および予後との関連を調べる。その他、Cox 比例ハザードモデルおよび Kaplan-Meier 法により生存時間分析を行う。中止・脱落例は除外する。

(8) 観察の対象となる治療方法

該当なし。

(9) 観察および検査項目（用いる試料・情報）とその実施方法

研究に用いる試料・情報は、いずれも研究のために採取したものを使用する。使用する試料は、研究対象者自身の疾病の診断・治療に必要な検査を実施する際に、研究のために敗血症の診断より 24 時間以内（Day 1）、Day 3、Day 5、Day 7 に追加で約 10mL の採血を行う（合計 4 回、約 40mL）。使用する情報は全て日常診療で実施される項目であり、その頻度も日常診療と同等である。

以下の項目について観察および検査を実施して、そのデータを本研究に利用する：病歴書（医師用・看護師用）、手術記録（術者用・麻酔医用）、臨床データ（血圧・脈拍数・呼吸数・尿量・体温・Glasgow Coma Scale など）、血液生化学検査（白血球・赤血球・ヘモグロビン・ヘマトクリット・血小板・ナトリウム・カリウム・クレアチニン・ビリルビン・CRP など）、尿検査（白血球数・細胞数など）、感染症検査（細菌、ウイルス、真菌など）、感染症マーカー（プロカルシトニン・プレセプシンなど）、 β -D グルカン、血液ガス分析（pH・PaO₂・PaCO₂・BE・HCO₃⁻・ナトリウム・カリウム・ヘマトクリット・ヘモグロビン・乳酸など）、画像診断（X 線・CT・MRI など）

観察、検査スケジュール（○：実施日・検査日）

日程	ICU 入室 24 時間以内	3 日目	5 日目	7 日目	28 日目	90 日目
同意取得	○					
検査項目	○	○	○	○		
データ収集時期	○	○	○	○	○	○

(10) 研究対象者の研究参加予定期間

各研究対象者は同意後、90 日間の観察期間に参加する。

(1 1) 研究参加者に対する研究終了（観察期間終了）後の対応

本研究は観察研究であり、通常診療内の医療行為を行うため対応は必要としない。

(1 2) 研究参加の中止基準

1) 研究中止時の対応

研究責任者または研究分担者は、次に挙げる理由で個々の研究対象者について研究継続が不可能と判断した場合には、当該研究対象者についての研究を中止する。

その際は、必要に応じて中止の理由を研究対象者に説明する。また、中止後の研究対象者の治療については、研究対象者の不利益とならないよう、誠意を持って対応する。

2) 中止基準

- ① 研究対象者から同意の撤回があった場合
- ② 下記（1 3）により本研究全体が中止された場合
- ③ その他の理由により、研究責任者が研究の中止が適当と判断した場合

(1 3) 研究の変更，中断・中止，終了

1) 研究の変更

本研究の研究実施計画書や同意説明文書等の変更または改訂を行う場合は、あらかじめ研究倫理審査専門委員会（以下、委員会）の承認を必要とする。

2) 研究の中断・中止

研究責任者は、以下の事項に該当する場合は、研究実施継続の可否を検討する。

- ① 研究対象者の組み入れが困難で、予定症例数に達することが極めて困難であると判断されたとき。
- ② 委員会により、研究実施計画などの変更の指示があり、これを受入れることが困難と判断されたとき。研究責任者は、委員会により停止又は中止の勧告あるいは指示があった場合は、研究を中止する。

また、研究の中断または中止を決定した時は、遅滞なく病院長及び研究科長にその理由とともに文書で報告する。

3) 研究の終了

研究の終了時には、研究責任者は遅滞なく研究終了報告書を病院長及び研究科長に提出する。

(1 4) 研究実施期間

2018年1月開催の倫理委員会承認後から2024年3月31日
（研究対象者登録締切日：2023年3月31日）

(1 5) 他機関への試料・情報の提供

試料・情報を提供しない。

4. インフォームド・コンセントを受ける手続き

(1) 手続き方法

文書を用いて説明して、同意書を取得する。

(2) 同意取得の具体的方法

選択基準を満たした患者に対して、（各施設の）倫理審査専門委員会で承認の得られた同意説明文書を渡して、文書および口頭による十分な説明を行って参加承諾と同意書を取得する。

患者に意識障害がある場合や鎮静管理を行っている場合には、代諾者から同意を得る。

（説明書・同意書・同意撤回書は別添参照）

5. 個人情報等の取扱いと匿名化の方法

(1) 個人情報の取扱い

本研究に係るすべての研究者は、「ヘルシンキ宣言」および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守して実施する。

研究実施に係る試料・情報を取扱う際は、研究独自の番号を付して管理し、研究対象者の秘密保護に十分配慮する。研究の結果を公表する際は、氏名、生年月日などの直ちに研究対象者を特定できる情報を含まないようにする。また、研究の目的以外に、研究で得られた研究対象者の試料・情報を使用しない。

(2) 匿名化の方法

研究対象者には研究用 ID を割振り、氏名と研究用 ID との対応表を作成する。元データからは、氏名を削除して研究に用いる。対応表ファイルはパスワードをかけ、漏洩しないように厳重に保管する。90 日間の観察期間中を拒否機会期限とし、拒否機会期限終了後には対応表ファイルを完全削除する。

当初、対応表を作成する理由：研究対象者に拒否機会を設け、拒否した研究参加者の試料・情報を特定できるようにするため、当初は対応表を作成する。

6. 研究対象者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益、これらの総合的評価並びに当該負担及びリスクを最小化する対策

(1) 研究対象者に生じる負担

日常的に行う検査に加えて、研究のために 1 回あたりの採血量が約 10mL 増加する。

(2) 予測されるリスク

本研究は日常診療による観察研究であるが、HRG 値の測定は研究目的で実施する。1 回あたりの採血量が約 10mL 増加するが（合計 4 回、約 40mL）、これらは研究対象者の症状や治療経過に影響を与えないものと考えられる。採血時には血管迷走神経反射のリスクがあるが頻度は低い。

(3) 予測される利益

本研究は日常診療による観察研究であり、研究対象者に直接の利益は生じない。

(4) 総合的評価並びに当該負担及びリスクを最小化する対策

研究対象者への負担・リスクは採血時のみである。採血時には、研究対象者の体調に配慮する。過去に血管迷走神経反射を起こしたことがある研究対象者は、臥位で採血する。

7. 試料・情報等の保管及び廃棄の方法

(1) 本研究で得られた試料・情報

本研究で収集した試料・情報は、研究の中止または研究終了後 10 年が経過した日までの間、研究対象者の同意を得て施錠可能な場所（岡山大学大学院 麻酔・蘇生学教室および薬理学教室の冷蔵庫・冷凍庫）で保管し、その後は個人情報に十分注意して廃棄する。保管する試料・情報からは、氏名・生年月日などの直ちに個人を特定できる情報を削除する。保管している試料・情報を他の研究に用いる場合は委員会にて承認を得る。個人を特定できる情報を削除した後は、新たに研究対象者の同意は得ずに使用する。

保管が必要な理由：研究終了後も論文作成やデータ解析を行う事が想定されるため。

(2) 研究に用いられる情報に係る資料

研究責任者は、研究などの実施に係わる重要な文書（申請書類の控え、病院長・研究科長からの通知文書、各種申請書・報告書の控え、同意書、その他、データ修正履歴、実験ノートなど研究に用いられる情報の裏付けとなる資料または記録など）を、研究の中止または研究終了後 10 年が経過した日までの間、施錠可能な場所で保管し、その後は個人情報に十分注意して廃棄する。

8. 研究機関の長への報告内容及び方法

研究責任者は以下について文書により研究機関の長に報告する。なお、①については、年 1 回の報告を行い、②以降の項目は、適宜報告するものとする。

- ① 研究の進捗状況及び研究の実施に伴う有害事象の発生状況
- ② 研究の倫理的妥当性もしくは科学的合理性を損なう事実もしくは情報又は損なうおそれのある情報であって研究の継続に影響を与えると考えられるものを得た場合
- ③ 研究の実施の適正性もしくは研究結果の信頼を損なう事実もしくは情報又は損なうおそれのある情報を得た場合
- ④ 研究が終了(停止・中止)した場合
- ⑤ 重篤な有害事象が発生した場合
- ⑥ 研究に関連する情報の漏えいなど、研究対象者らの人権を尊重する観点又は研究の実施上の観点から重大な懸念が生じた場合

9. 研究の資金源等，研究機関の研究に係る利益相反及び個人の収益等，研究者等の研究に係る利益相反に関する状況

本研究は、AMED：医療分野研究成果展開事業 産学連携医療イノベーション創出プログラム (ACT-M) で実施する。また、利益相反はなく、その点を利益相反マネジメント委員会に申告する。

10. 公的データベースへの登録

大学病院医療情報ネットワーク (University Hospital Medical Information Network: UMIN) が設置している公開データベースに登録した。登録番号は UMIN000030037 である。

11. 研究結果の発表・公開

研究結果は、学会発表・論文発表などで公開する。公開する際には統計的な処理を行い、研究対象者を特定できる個人情報などは開示しない。個人を特定できる情報を削除しているため、研究対象者個人に結果開示は行わない。

1 2. 研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応方法

以下の相談窓口にて平日（夜間を除く）に対応する。

所属：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

生体制御科学専攻生体機能制御学講座 麻酔・蘇生学分野

職名：教授

氏名：森松 博史

電話番号：086-235-7327

1 3. 代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける場合の手続き

(1) 代諾者による同意が必要な研究対象者とその理由

意識障害あるいは鎮静管理を行っている患者が代諾者による同意が必要な研究対象者である。研究対象者に正しく研究内容を説明しても研究対象者が合理的な判断を行うことは難しいと考えられる。

(2) 代諾者等の選定方針

代諾者は、研究対象者の配偶者、父母、兄弟姉妹、子・孫、祖父母、同居の親族又はそれら近親者に準ずると考えられる者（未成年者を除く）、後見人とする。

(3) 代諾者等への説明事項

別紙「説明文書」を参照。

(4) 当該者を研究対象者とする必要がある理由

敗血症患者を対象とする研究であるため、上記患者を研究対象から外すことができないため。

1 4. インフォームド・アセントを受ける場合の手続き

該当なし。

1 5. 緊急かつ明白な生命の危機が生じている状況での研究に関する要件の全てを満たしていることについて判断する方法

該当なし。

1 6. 研究対象者等への経済的負担又は謝礼

本研究で実施する検査などの中で、HRG 値の測定はAMED：医療分野研究成果展開事業 産学連携医療イノベーション創出プログラム(ACT-M)で賄う。それ以外は通常の保険診療内で行われるため、研究に参加することによる研究対象者の費用負担は発生しない。

17. 重篤な有害事象が発生した際の対応

本研究は観察研究であり、日常診療を行って研究対象者の試料・情報を利用するものである。また、試料の採取は日常的に行う採血に加えて行うため、軽微な侵襲しか伴わない。従って、本研究に伴う研究対象者への重篤な有害事象は発生しないと考えられる。

18. 健康被害に対する補償の有無及びその内容

本研究は観察研究であり、日常診療を行って研究対象者の試料・情報を利用するものである。また、試料の採取は日常的に行う採血に加えて行うため、軽微な侵襲しか伴わない。従って、本研究に伴う研究対象者への健康被害は発生しないと考えられるため、補償は準備しない。

19. 研究対象者への研究実施後における医療の提供に関する対応

本研究は観察研究であり、研究実施後も通常診療内の医療行為を継続する。

20. 研究実施に伴う重要な知見が得られる場合に関する研究結果の取扱い

本研究で行なう検査や解析の結果はあくまでも研究として行い、臨床検査としての意義や精度が保障されているものではないため、原則、本研究に参加した患者本人に検査や解析の結果は通知しないこととする。研究参加の同意取得の際に、「開示しない」旨を説明して同意を得ておく。

21. 委託業務内容及び委託先の監督方法

株式会社エスアールエルに試料解析を委託する。委託時には個人を特定できる情報を削除して、個人情報の保護に努める。

22. 本研究で得られた試料・情報を将来の研究に用いる可能性

保管している試料・情報を他の研究に用いる場合は委員会にて承認を得る。個人を特定できる情報を削除した後は、新たに研究対象者の同意は得ずに使用する。以上の点をあらかじめ研究対象者に説明して、同意を得ることとする。

23. モニタリング及び監査の実施体制及び実施手順

該当なし。

24. 参考資料・文献リスト

- 1) Wake H, et al. Histidine-Rich Glycoprotein Prevents Septic Lethality through Regulation of Immunothrombosis and Inflammation. EBioMedicine 2016;9:180-94.
- 2) Singer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA 2016;315(8):801-10.