

博士論文

重症患者における多臓器連関

浅田 敏文

重症患者における多臓器連関

外科学専攻

指導教員 森村 尚登

氏名 浅田 敏文

目次

要旨	2
第1章 序文	3
第2章 方法	
1) ネットワーク解析を用いた臓器連関の検証.....	6
2) 主成分分析を用いた臓器連関の検証.....	12
第3章 結果	
1) ネットワーク解析を用いた臓器連関の検証.....	16
2) 主成分分析を用いた臓器連関の検証.....	21
第4章 考察.....	30
第5章 結論.....	38
謝辞	
参考文献	

要旨

身体を構成する臓器は、生命を維持し身体の安定性を保つため相互関連している。本研究の目的は、臓器関連の役割を定量的に検証することである。ICU患者を対象とし、各臓器機能を反映する臨床医学的指標を用いたネットワーク解析と主成分分析を行った。ネットワーク解析の結果、死亡者では生存者と比較して有意に臓器関連の数が少なく、各臓器が孤立しており、臓器関連の強さも弱かった。主成分分析によってクラスター化された臓器群において、死亡者でのみ臓器が孤立しており、主成分得点のばらつきによって評価した多臓器クラスターの不安定を認めた。本研究により臓器関連破綻が生命維持や身体の不安定と関連していることが定量的に示唆された。

第1章 序文

身体は特有の機能を有する様々な臓器から構成されている。すべての臓器の共通した目的は、生命を維持し生物学的な安定性を保つことである[1]。複数の臓器が同時に障害された多臓器不全は、集中治療室 (ICU) 内死亡の最大の原因である[2, 3]。多臓器不全の治療は、障害された各臓器の機能維持や改善に焦点があてられるが、人工臓器などの臓器障害に対する治療的進歩に反して、その死亡率は依然として非常に高い。臨床現場で多臓器不全の程度や治療効果を評価する際には、SOFA スコアなどのスコアリングシステムを用いて、まず単臓器の評価を行った後にそれらを合計することで行われる[4-6]。全身の重症度は各臓器障害の程度やその合計値、不全臓器の数で推定され、それらは死亡率と関連していることが知られている[3, 5, 7]。しかし、全身を各臓器の単純な集合として扱う従来の方法は、全身性の疾患の病態を十分に反映していない可能性が示唆されている[4, 8]。

一方、臓器は独立して機能するのではなく、互いに協調することで身体の安定を維持していることが知られている[9, 10]。ある臓器が障害されたとき、周囲の臓器が代償的に機能することで安定性は保たれる。この臓器間の協調的な関係性の破綻は、単臓器障害の場合と同様に、医療介入をしなければ生命維持が困難な不安定な状態、場合によっては死の原因にもなりうる[9, 10]。このため、従来の各臓器障害に焦点をおく医療に加えて、この臓器連関に対する評価や介入は、多臓器不全に対する新たなアプローチ方法を与え、重症患者治療を飛躍的に前進させることが期待される。

しかし、多くの臓器を包括した臓器連関に関する我々の知識は限られている。

身体を構成しているあらゆるレベル(分子、細胞、組織、臓器など)において、それらを構成する各因子の自律性とネットワークが生命の安定性を構築するという概念がある[1]。身体において分子の集合が細胞であり、細胞の集合が組織であり、臓器の集合が身体である。そして、これらの構成因子は巢状構造をなしている[1, 11, 12]。実際にこの巢状構造において、上位レベルの安定性は下位レベルにおける自律性とネットワークのバランスに依存していることが様々な文献から示唆される。酵素など細胞内の個々の分子の機能とそれらの協調的な関係は細胞のホメオスタシスを規定している[13-15]。また組織のホメオスタシスにおいては、構成因子である細胞の機能と細胞間のシグナルが重要な役割を担っている[13, 16, 17]。ある臓器における組織の障害に対して、臓器内の他の組織が代償的に機能することで臓器の安定性は保たれる[18-20]。このように、構成因子の個々の機能とネットワークが、それらの構成因子の集合である上位レベルの生物学的な安定性を規定するという関係性が、多臓器を包括したさらに上位のレベルにおいても存在することが予測される。しかし私の知る限り、臓器機能と臓器連関、そして多臓器を包括した臓器より上位レベルの安定性の関係に関するエビデンスはない。

臓器連関、臓器障害とより上位レベルの安定性の関係を調査することが、臓器連関の概念を臨床応用する第一段階であると私は考えた。多臓器を包括した集合としての安定性を評価するには、生物学的な死は明確で、全身の不安定を示す簡便な指

標である。そこで私は ICU 患者の生存者と死亡者の間にある臓器連関の相違をネットワーク解析と主成分分析の 2 つの方法を用いて検証し、臓器連関が身体の安定性に及ぼす影響について調査した。ネットワーク解析による検証では、ICU 患者における生存者と死亡者の臓器連関の相違を定量的に比較することを目的とした。また、主成分分析を用いた検証では、主成分分析を用いて多臓器をクラスター化したうえで、クラスター内での臓器連関の相違を生存者と死亡者で比較し、クラスターの安定性を主成分得点により評価することで、臓器連関とより上位レベルの安定性の関連を調査することを目的とした。

第2章 方法

本研究は前向き観察研究である。すべての研究内容について東京大学倫理委員会の承認（審査番号 2810）を得た。インフォームドコンセントは患者本人または親族から得た。下記の解析はすべて R ver.3.1.1 (<http://www.R-project.org>)を用いた。

1) ネットワーク解析を用いた臓器連関の検証

1)–1 対象患者

後述する D ダイマーおよび NT-proBNP が測定可能であった 2012 年 10 月から 2013 年 3 月および 2014 年 9 月から 2015 年 2 月に東京大学医学部附属病院 ICU に入室した 18 歳以上の患者を対象とし、以下の患者を除外した。

- ① 動脈圧ライン未挿入の患者
- ② 心肺蘇生後の患者
- ③ 積極的治療を望まない患者

研究対象となった患者のうち、院内死亡した患者を死亡者、生存退院または転院した患者を生存者と定義した。

1)–2 測定項目

各患者の情報として、年齢、性別、SOFA スコア、APACHE II スコア[21]、病因（手術患者/非手術患者）を記録した。また、ICU 入室時に挿入された動脈圧ラインから血液を採取し、以下の9つの臨床検査指標を測定した。

PaO₂/FIO₂、NT-proBNP、血清クレアチニン値、総ビリルビン値、D ダイマー、CRP、血清ナトリウム濃度、血清ヘモグロビン値、血糖値

過去の文献に従い、図1に示すようにこれらの臨床検査指標をそれぞれ、肺[4, 5, 22]、心血管系[23]、腎臓[4, 5, 24]、肝臓[4, 5]、凝固系[25]、炎症系[26, 27]、内分泌系[28]、血球系[26]、代謝系[26]の機能を反映する指標として割り当てた。NT-proBNP は Alere Medical 社の Triage®を用いて測定した。その他すべての測定項目は東京大学医学部附属病院検査部において測定した。

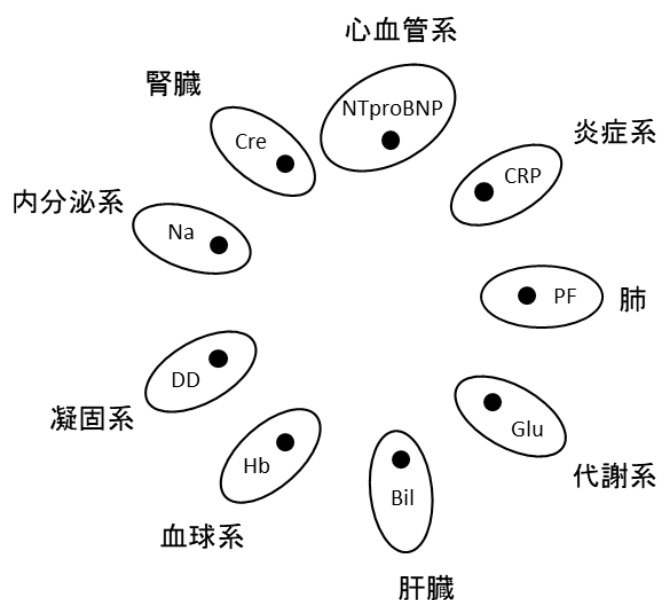


図1 臓器システムと対応する臨床検査指標

PF : PaO₂/FIO₂, Cre : 血清クレアチニン, Bil : 総ビリルビン, DD : D ダイマー, Na : 血清ナトリウム, Hb : 血清ヘモグロビン, Glu : 血糖

1)–3 生存者と死亡者の重症度マッチング

各臓器障害や全身の重症度の違いの影響を極力除外するため、上記測定項目が死亡者と同等となるような同数の生存者を全生存者から抽出することとした (matched 生存者)。マッチングにはプロペンシティマッチングの原理を利用した[29]。

まず、院内死亡を従属変数とし、年齢、性別、SOFA スコア、APACHE II スコア、病因、臓器機能評価のための9つの臨床検査指標を独立変数として、多変量ロジスティック回帰分析を行い、死亡予測式を算出した。予測式をもとに各患者の予測死亡率を計算し、プロペンシティスコアとした。次に、各死亡者に対して選択された生存者との予測死亡率の差を合計したものが最小となるように **Optimal matching** を行った[30, 31]。マッチング後に抽出された生存者と死亡者で、各項目に有意な差がないかを P 値、同等かどうかを標準化平均差の指標として Cohen's d 値を用いて評価した [32]。

1)–4 ネットワークマップ作成

本研究では臓器関連の違いを評価するため、臓器のネットワークマップを作成し、ネットワーク解析を用いて構造的な相違を定量的に評価した。ネットワーク解析とは、遺伝子や細胞、分子、ヒト同士などのつながりを評価する際に用いられる手法で、ネットワークのトポロジカルな違いを定量的に評価することができる。

ネットワークマップを作成するため、各臓器を点で表現し、単臓器同士の連

関を線(edge)で表現した。2臓器間の連関は、対応する各指標の相関で評価し、その相関が統計学的に有意な場合に edge を作成した。相関は Spearman の順位相関係数を使用し、有意な相関の閾値として本研究では $P < 0.05$ を採用、多重比較補正の有無で 2通りのネットワークマップを作成した。

各臨床検査指標同士の交絡の影響を考え、1つの指標を従属変数、残りの8つの指標を独立変数として多重線形回帰分析を行い、偏回帰係数が統計学的に有意だった場合 ($P < 0.05$) に、2臓器間に edge を描き、上記とは別のネットワークマップとして作成した。

1)–5 ネットワークマップの比較

ネットワークマップの比較を以下の3通りの方法で行った。

① Edge の数

Edge の数はネットワーク解析において、ネットワーク構造の違いを比較するスタンダードな方法である[33, 34]。

② Edge の重みの平均

1)–4 の方法で作成した edge はいずれも P 値を閾値としており、2分法で臓器連関を評価している。実際の臓器連関は連続的なものであると考えられ、各臓器間の連関の強さを評価するため、各相関係数を2乗した決定係数を用いた。すべての2臓器のペアに対する決定係数を加算し平均したものをネットワーク全体の強

固さとして解釈し、比較した。

③ クラスタ数

文献的に特定の臓器群は強固なつながりをもっており[35, 36]、この臓器群はクラスタとしてネットワークマップ上で表現されることが予測される[33, 37]。臓器連関が破綻している場合、ネットワークマップは寸断されより多くのクラスタに分割されると考えられた。ネットワークマップ上のクラスタを検出するために従来の階層クラスタリングより優れているとされる、辺の媒介中心性(edge betweenness)の概念を用いた手法を採用した[37, 38]。Edge betweenness とは、すべての 2 node のペアをつなぐ最短経路を考えた際、各 edge を通過する経路数のことである。ネットワークマップで Edge betweenness の高い edge から順に除去していったときに、Modularity Q と呼ばれる指標が最高値となる場合のクラスタ数を採用した[39, 40]。Modularity Q は Newman と Girvan らによって提唱された指標であり、

$$Q = \sum_i (e_{ii} - a_i^2)$$

と定義される。クラスタ数 k の場合、 $k \times k$ の対称な行列を考える。すべての edge のうち（上記のように edge betweenness による edge 除去を行う前のオリジナルのネットワークマップ上の edge 数を考える）、集合 i と集合 j をつなぐ edge 数の割合が e_{ij} である。高い e_{ii} はクラスタ内に edge が集約され、クラスタ間の edge 数は少ないことを示す。 a_i は $\sum_j e_{ij}$ で表され、ランダムにリンクが行われた場合の

期待値であり、 e_{ii} から a_i^2 を除することで Modularity Q はクラスター分割のよい指標となる。

1)–6 Permutation test

1)–5 の指標によりネットワークを定量化した値で群間比較をするため permutation test を行った (図 2)。まず、比較する群間の edge 数、edge の重みの平均、クラスター数の差を計算しておく。1 回の permutation test ではまず、群 A ($N=i$) と群 B ($N=j$) を統合したのち ($N=i+j$)、あらたに $N=i$ と $N=j$ の 2 群にランダムに分割する。そして、あらたな 2 群間の edge 数、edge の重みの平均、クラスター数の差を計算する。1000 回の permutation test を行い、permutation test によって計算された差がオリジナルの差以上となる割合を P 値とした[41]。

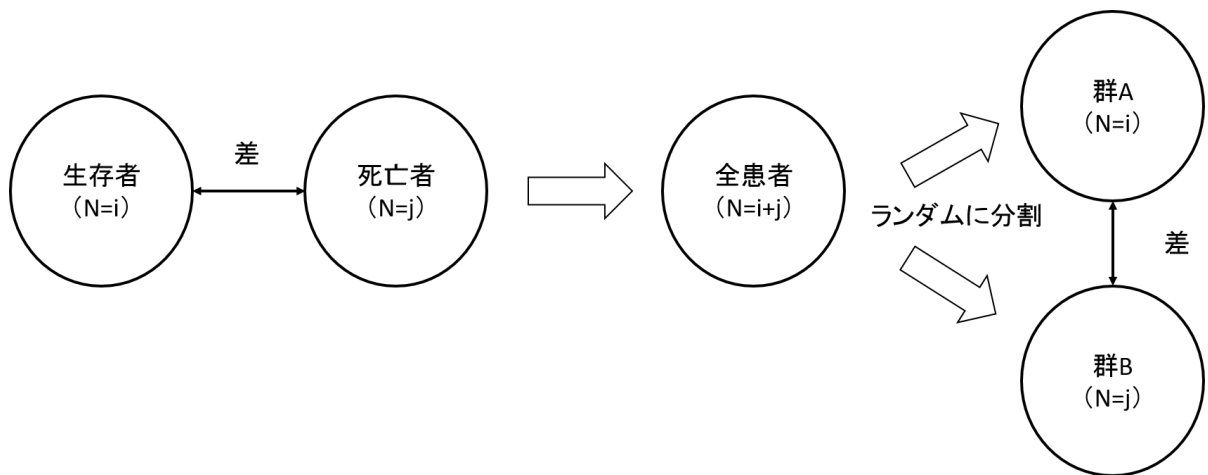


図 2 Permutation test

1)ー7 統計学的手法

各群の患者背景の比較において、正規分布する連続変数は Student の t 検定、サンプル数に応じてカテゴリカル変数は χ^2 二乗検定または Fisher の正確確率検定、非正規分布する連続変数は Mann-Whitney の U 検定を用いた。正規分布の検定には Shapiro Wilk 検定を用いた。ノンパラメトリック変数を多重線形回帰分析に用いる際には log 変換を行った。統計学的有意の閾値は $P < 0.05$ とした。

2) 主成分分析を用いた臓器連関の検証

2)ー1 対象患者

後述する血清 NGAL 値を測定可能であった、2010 年 4 月から 2011 年 3 月、2012 年 10 月から 2013 年 3 月、2014 年 9 月から 2015 年 3 月に東京大学医学部附属病院 ICU に入室した 18 歳以上の患者を対象とし、以下の患者を除外した。

- ① 動脈圧ライン未挿入の患者
- ② 心肺蘇生後の患者
- ③ 積極的治療を望まない患者

2)ー2 測定項目

各患者の情報として年齢、性別、SOFA スコア、APACHE II スコア、病因（手

術患者/非手術患者)を記録した。ICU入室時に挿入された動脈圧ラインから血液を採取し、以下の6つの臨床検査指標を測定した。

PaO₂/FIO₂、血清乳酸値、血清 NGAL 値、総ビリルビン値、血小板数、CRP

過去の文献に従いこれらの臨床検査指標をそれぞれ、肺[4, 5]、心血管系[42-44]、腎臓[45]、肝臓[4, 5]、凝固系[4, 5]、炎症系[26, 27]の機能を反映する指標として割り当てた。

血清 NGAL 値は Alere Medical 社の Triage NGAL Device®を用いて測定した。

その他すべての測定項目は東京大学医学部附属病院検査部において測定した。

2)–3 対象患者の群分け

研究対象となった患者のうち、院内死亡した患者を死亡者、生存退院または転院した患者を生存者と定義したのち、1)–3 と同様の手法により死亡者と各臓器障害の程度が同等の生存者を全生存者から抽出した (matched 生存者)。死亡予測式の算出は、死亡を従属変数、6つの臨床検査指標を独立変数として死亡予測式を算出した。

2)–4 臓器障害、臓器連関、多臓器クラスターの評価方法

各臓器の障害の程度は、それぞれ割り当てた臨床検査指標によって評価した。選択した6臓器をクラスター化し、各クラスターの安定性を定量的に評価するため主成分分析を行った。主成分分析は R の `prcomp` コマンドを用いて行った。各臓器クラスターの状態は主成分得点 (標準化された各臓器指標の値と固有ベクトルの積の総和)

によって評価した。各主成分において臨床検査指標の固有ベクトルが 0.1 未満の場合、該当する臓器は多臓器クラスターの状態への寄与が少ないものと解釈し、主成分得点の計算から除外した。

血清 pH 値や体温に代表されるように、身体の安定性の指標はある特定の値の付近に厳密にコントロールされ、その範囲からの逸脱は生物学的不安定を意味する[1, 13]。これに倣い、主成分得点のばらつきを 2 通りの方法で評価し、多臓器クラスターの安定性を評価、比較した。1 つめは統計学的なばらつきの評価であり、Ansari-Bradley 検定を使用した[46]。2 つめはある特定の値からの得点の逸脱の程度であり、基準となる値には全患者の主成分得点の平均値に設定した。

各クラスター内の臓器連関を 2 つの方法で評価した。まず、臨床検査指標同士の Spearman の順位相関係数を調べた。次に多重線形回帰分析を行い、1 つの指標を従属変数、クラスター内の他の臓器指標を独立変数として解析した。2 つの指標間で、順位相関係数および多重線形回帰分析の偏回帰変数がいずれも統計学的に有意だった場合、該当する 2 臓器は連関しているものと解釈した。本解析方法を図 3 にまとめた。

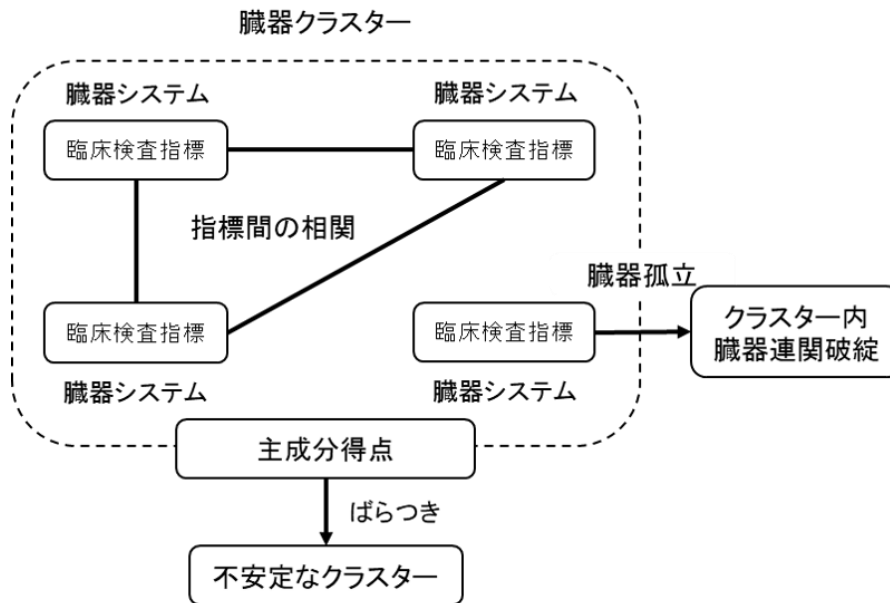


図3 方法論のまとめ

2)–5 統計学的手法

連続変数の比較には Wilcoxon の順位和検定を用いた。カテゴリカル変数の比較には χ 二乗検定または Fisher の正確確率検定を用いた。正規分布の検定には Shapiro Wilk 検定を用いた。ノンパラメトリック変数を多重線形回帰分析に用いる際には log 変換を行った。統計学的有意の閾値は $P < 0.05$ とし、指標同士の相関の検証で多重比較補正する場合には Bonferroni 補正を用いた。Cohen's d 値が 0.2 以下の場合、2 群間の差は有意でないと解釈した。

第3章 結果

1) ネットワーク解析を用いた臓器連関の検証

1)–1 患者背景

282名のICU患者が解析対象となった(図4)。うち40名が死亡退院し242名が生存退院した。患者背景は表1に記載した。ICU入室の理由となった病因、SOFAスコア、APACHE IIスコアそして9つの臨床検査指標のうち5指標で、死亡者と全生存者で有意に差があった。死亡者とmatched生存者ではすべての項目について有意な差はなく同等であった(Cohen's $d \leq 0.2$)。

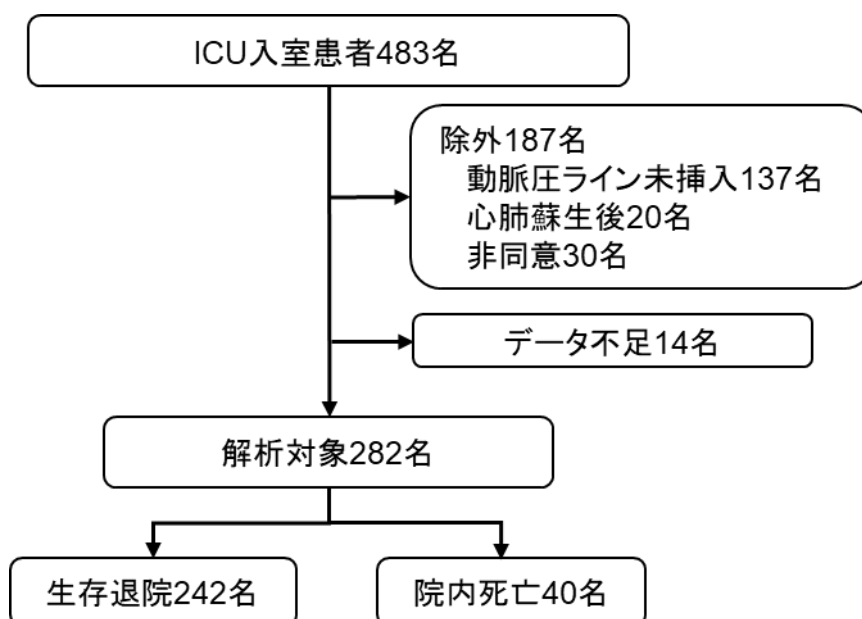


図4 研究フローチャート1

	死亡者	全生存者		Matched 生存者		Cohen's d [‡]	Cohen's d [‡]
			p value [†]	Cohen's d [†]	p value [‡]		
N	40	242			40		
年齢 (歳)	67 (53–78)*	64 (53–73)	0.35	0.14	64 (59–73)	0.53	0.14
性別 (男), no. (%)	28 (70)	148 (61)	0.28	-	28 (70)	1.00	-
手術患者, no. (%)	9 (23)	100 (41)	0.02	-	9 (23)	1.00	-
APACHE II スコア	22 (18–28)	17 (13–22)	<0.01	0.59	25 (19–27)	0.59	0.07
SOFA スコア	9 (6–13)	6 (3–8)	<0.01	0.87	9 (6–13)	0.88	0.10
PaO ₂ /F _i O ₂	237 (127–375)	321 (207–441)	<0.01	0.57	208 (130–305)	0.55	0.14
NT-proBNP (pg/mL)	1315 (235–5650)	290 (82–1550)	<0.01	0.54	530 (186–2670)	0.41	0.16
血清クレアチニン値 (mg/dL)	1.47 (0.93–2.43)	0.82 (0.60–1.25)	<0.01	0.64	1.1 (0.70–2.96)	0.44	0.07
D ダイマー (μg/mL)	4.8 (2.3–14.6)	4.6 (1.4–9.2)	0.29	0.22	8.6 (1.2–24.1)	0.45	0.15
CRP (mg/dL)	5.2 (0.7–17.9)	1.3 (0.2–8.6)	0.03	0.35	7.8 (0.6–23.6)	0.58	0.05
血清ヘモグロビン値 (g/dL)	10.2 (7.8–12.7)	10.8 (8.9–13.2)	0.11	0.29	10.3 (8.6–12.4)	0.40	0.17
総ビリルビン値 (mg/dL)	1.1 (0.7–2.1)	0.7 (0.5–1.2)	0.01	0.43	0.9 (0.5–2.1)	0.40	0.11
血清 Na 濃度 (mEq/L)	139 (134–142)	139 (136–142)	0.76	0.12	138 (133–141)	0.54	0.09
血糖値 (mg/dL)	144 (105–184)	148 (118–185)	0.56	0.17	140 (122–181)	0.59	0.12

表 1 患者背景 1

*表中の値は N(%)または中央値(四分位点)で表記した

†全生存者 vs 死亡者

‡Matched 生存者 vs 死亡者

1)–2 Edge 数とクラスター数の比較

ネットワークマップ上に Spearman の順位相関係数によって評価した edge を描き、閾値として多重比較補正なしの P 値を用いた場合、edge の数は matched 生存者では 12 本、死亡者では 3 本と有意な差があった (図 5A、B、P = 0.035)。9 つの臓器 (システム) は matched 生存者で 2 つのクラスターに大別されたが、死亡者では 7 つのクラスターに分割された (P = 0.001)。図 5C、D に示すように、Bonferroni 補正を用

いて edge を描いた場合、matched 生存者では 7 本の edge が存在したが、死亡者では edge は存在しなかった ($P < 0.001$)。死亡者ではすべての臓器が離散したが、matched 生存者では 9 つの臓器は 4 つのクラスターにまとまった ($P < 0.001$)。多重線形回帰分析を用いて edge を描いた場合、生存者では 10 本、死亡者では 2 本であった ($P = 0.023$)。

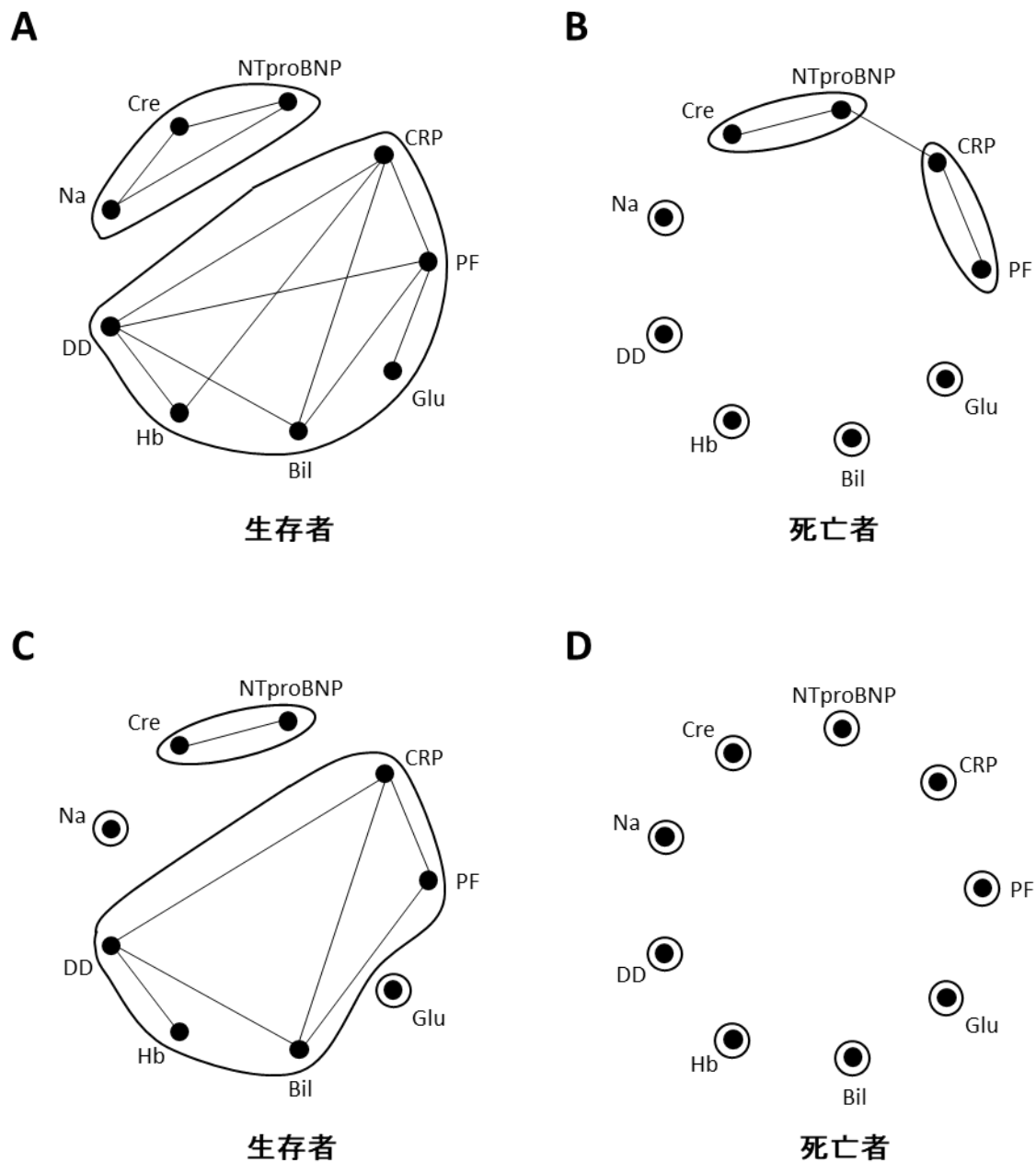


図5 生存者と死亡者のネットワークマップ比較

A、B のネットワークマップでは多重比較補正しない $P=0.05$ を閾値として、臨床検査指標同士が有意に相関している場合に edge を作成。C、D では多重比較補正した P 値を閾値とした ($P = 0.05/36 = 0.00139$)。

PF : PaO_2/FIO_2 , Cre : 血清クレアチニン値, Bil : 総ビリルビン値, DD : D ダイマー, Na : 血清ナトリウム濃度, Hb : 血清ヘモグロビン値, Glu : 血糖値

1)–3 edge の重みの平均

すべての臓器同士の連関を決定係数で評価した場合、matched 生存者での平均値は 0.119、死亡者では 0.055 と有意な差があった (図 6、 $P = 0.007$)。

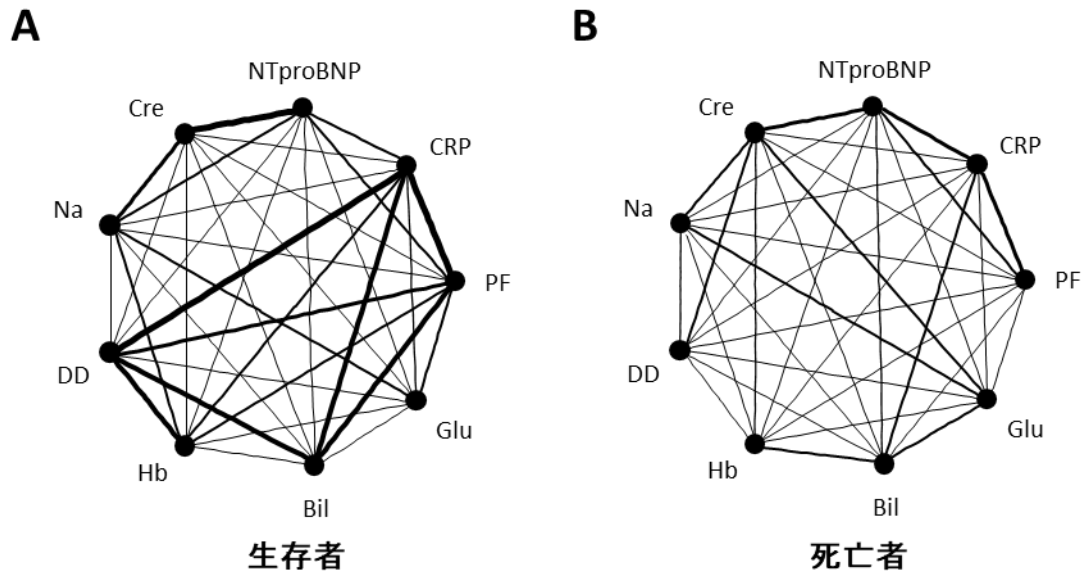


図 6 臓器連関の強さの比較

Edge 作成の閾値を設定せず、臨床検査指標同士のすべての組み合わせについて相関係数² (決定係数) を計算した。線の太さは決定係数の大きさを表している。決定係数の平均値によりネットワークの強固さを比較した。

1)–4 死亡者と全生存者の比較

40 名の死亡者と 242 名の全生存者を比較した場合、表 2 に示すように、edge 数、クラスター数は多重比較補正の有無に関わらず有意に差があった。Edge の重みの平均値の比較は患者数に相違があるため行わなかった。

	全生存者 (N = 242)	死亡者 (N = 40)	p value
Edge 数			
P value < 0.05(多重比較補正なし)*	27	3	0.005
Bonferroni 補正あり*	16	0	0.006
クラスター数			
P value < 0.05(多重比較補正なし)*	2	7	0.005
Bonferroni 補正あり*	1	9	< 0.001

表 2 全生存者と死亡者のネットワーク比較

*edge 作成の閾値

2) 主成分分析を用いた臓器連関の検証

2)–1 患者背景

570 名の ICU 患者が解析対象となった (図 7)。91 名が死亡退院し、479 名の患者が生存退院した。患者背景を表 3 に示した。Matched 生存者と死亡者の比較では SOFA スコアと 6 つの臨床検査指標の値に有意差はなかったが、死亡者と全生存者の比較では、6 つの臨床検査指標と SOFA スコアは有意に差があった。

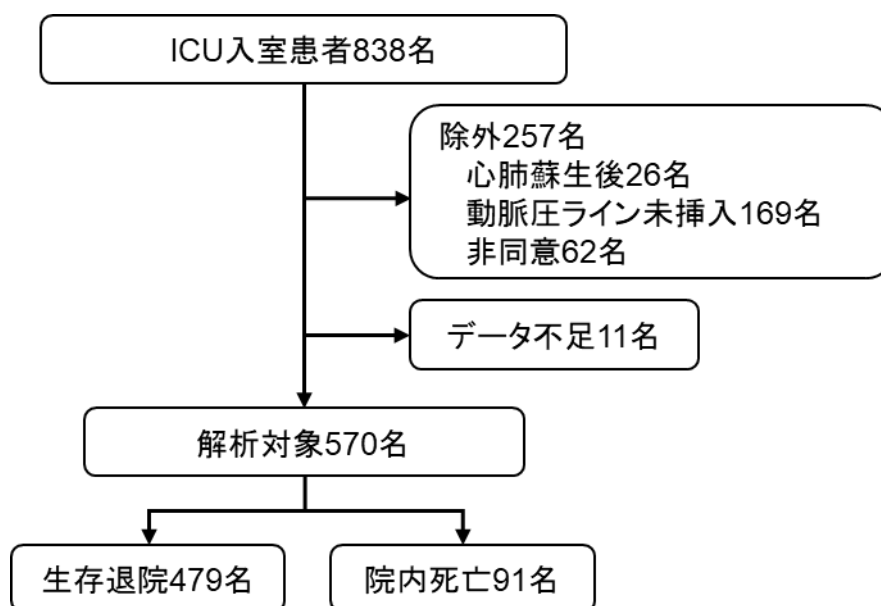


図7 研究フローチャート2

	死亡者 (N = 91)	全生存者 (N = 479)	<i>P</i> value ^b	Matched 生存者 (N = 91)	<i>P</i> value ^c
年齢 (歳)	66 (54–77) ^a	64 (52–73)	0.12	68 (58–76)	0.88
性別 (男性), no. (%)	59 (65)	295 (62)	0.56	63 (69)	0.53
手術患者, no. (%)	10 (11)	206 (43)	<0.001	30 (33)	<0.001
APACHE II スコア	24 (20–30)	17 (13–22)	<0.001	19 (14–25)	<0.001
SOFA スコア	9 (6–13)	6 (4–9)	<0.001	8 (6–12)	0.12
PaO ₂ /F _i O ₂	206 (130–331)	324 (217–440)	<0.001	214 (134–353)	0.51
乳酸値 (mmol/L)	2.3 (1.3–4.9)	1.7 (1.0–2.8)	<0.001	2.3 (1.2–3.9)	0.44
血清 NGAL (ng/mL)	231 (110–518)	114 (60–309)	<0.001	188 (84–439)	0.43
総ビリルビン値 (mg/dL)	0.9 (0.6–2.0)	0.7 (0.5–1.3)	0.02	0.9 (0.6–1.8)	0.95
血小板数 (×10 ⁴ /μL)	11.0 (4.7–23.1)	18.3 (11.9–24.5)	<0.001	14.1 (8.2–18.8)	0.60
CRP (mg/dL)	6.4 (0.9–18.5)	1.6 (0.3–8.9)	<0.001	3.2 (0.6–12.6)	0.15

表3 患者背景2

^a 表中の値は N(%) または中央値(四分位点) で表記した

^b 全生存者 vs 死亡者

^c Matched 生存者 vs 死亡者

2)–2 臓器クラスタリング

6つの臓器を対象とし主成分分析によるクラスタリングを行った。結果、それぞれ3つの臓器を含む2つの多臓器クラスターが検出された。図8に示すように、肺、腎臓、炎症系の臨床検査指標と心血管系、肝臓、凝固系の臨床検査指標が互いに直交し、それぞれ第1主成分軸と第2主成分軸に平行に分布した。各主成分の固有ベクトルを表4に示す。

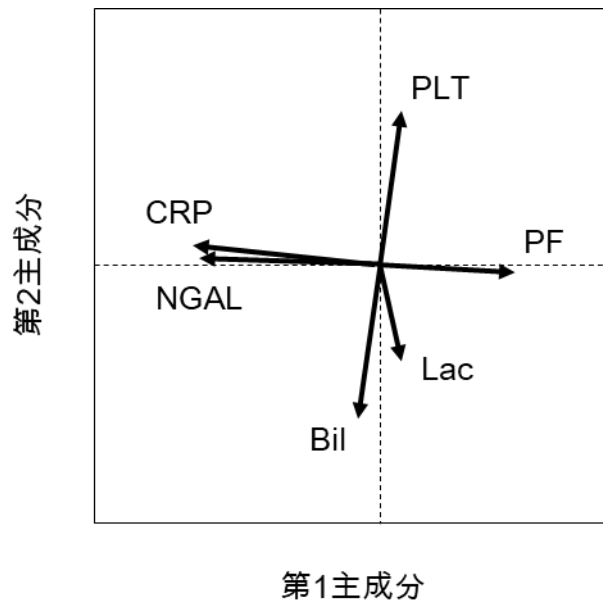


図8 臓器クラスタリング

PF : PaO₂/FIO₂, Lac : 血清乳酸値, Bil : 総ビリルビン値, PLT : 血小板数

	第1主成分	第2主成分
PaO ₂ /F _I O ₂	0.47736915 ^a	-0.03236429
NGAL	-0.60429977	0.01048927
CRP	-0.62410438	0.06696707
乳酸値	0.07943143	-0.40440938
総ビリルビン値	-0.06756784	-0.64763819
血小板数	0.08099043	0.64138582
固有値	1.8402	1.3327
寄与率(%)	30.7	22.2

表 4 各主成分の固有ベクトル

^a 固有ベクトルの絶対値が 0.1 未満の場合、多臓器クラスターの安定性評価として主成分得点を計算する際に計算から除外した。

2)–3 多臓器クラスターの安定性

表 4 に示した各主成分の固有ベクトルを用いて、2 つの多臓器クラスターの状態を定量的に評価した (図 9)。肺、腎臓、炎症系からなる多臓器クラスターの主成分得点は、全生存者で 0.45 (四分位点 (IQR) : -0.37 – 1.04)、matched 生存者で -0.04 (IQR : -1.27 – 0.55)、死亡者で -0.32 (IQR : -1.65 – 0.46) であった (図 9A)。心血管系、肝臓、凝固系からなる多臓器クラスターの主成分得点は、全生存者で 0.25 (IQR : -0.30 – 0.71)、matched 生存者で -0.21 (IQR : -0.91 – 0.25)、死亡者で -0.30 (IQR : -1.27 – 0.39) であった (図 9B)。いずれの多臓器クラスターにおいても、主成分得点自体は全生存者では死亡者と比較して有意に高く (P<0.001)、matched 生存者と死亡者では有意差はなかった (Cohen d ≤ 0.20)。

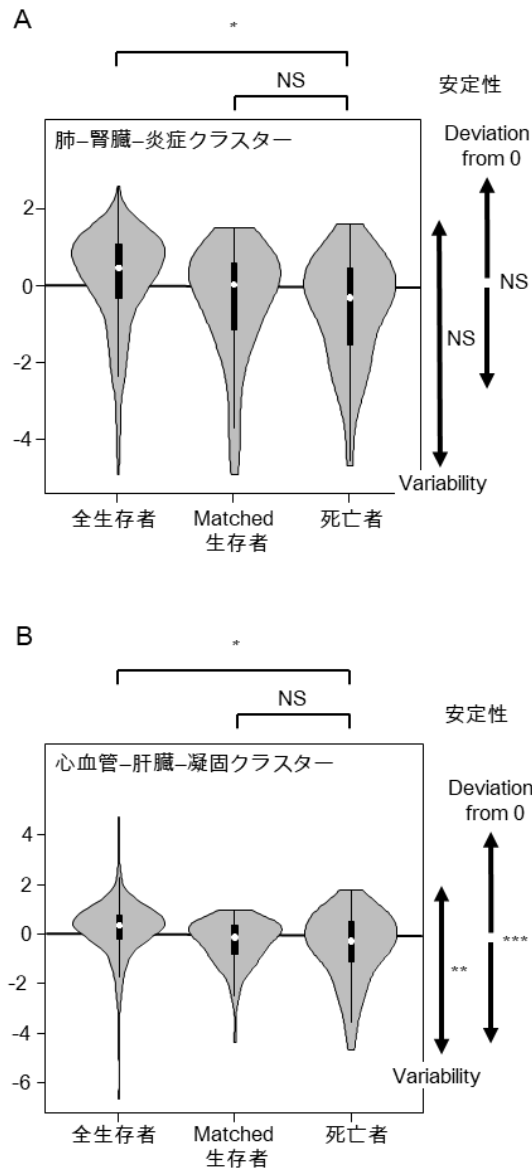


図9 多臓器クラスターの比較

各多臓器クラスターの主成分得点の中央値を白丸(○)、四分位範囲を四角(■)で示した。カーネル密度推定を各■の側方に表示した(灰色)。肺-腎臓-炎症系クラスターの主成分得点のばらつきは生存者と死亡者と同等であった(A)。一方、心血管系-肝臓-凝固系クラスターでは、死亡者では生存者と比較して有意に得点がばらついていた(B)。

NS : $P \geq 0.05$ 、かつ Cohen's $d \leq 0.2$ (Ansari-Bradley 検定では対応する値なし)

* 主成分得点の中央値に有意差あり ($P < 0.001$)

** Ansari-Bradley 検定による統計学的なばらつきは死亡者で有意に大きい (vs 全生存者、 $P = 0.002$ 、vs matched 生存者、 $P = 0.004$)

*** 基準値(0)からの逸脱は死亡者で有意に大きい (vs 全生存者、 $P = 0.003$ 、vs matched 生存者、 $P = 0.003$)

Ansari-Bradley 検定を用いた主成分得点の統計学的なばらつきの評価では、肺一腎臓一炎症系クラスターでは、生存者と死亡者で有意差はなかった (図 9A)。一方、死亡者では、心血管系一肝臓一凝固系クラスターの主成分得点が、全生存者 ($P=0.002$) および matched 生存者 ($P=0.004$) と比較して有意にばらついていた (図 9B)。

多臓器クラスターの安定性評価のため、主成分得点に基準値 (本研究では 0) を設定し、その値からの逸脱の程度も調べた。肺一腎臓一炎症系クラスターでは、主成分得点の逸脱の程度は死亡者で 0.77 (IQR : 0.32–1.65) であり、全生存者では 0.91 (IQR : 0.42–1.37、 $P=0.91$ 、Cohen's $d=0.14$) および matched 生存者では 0.85 (IQR : 0.35–1.27、 $P=0.64$ 、Cohen's $d=0.04$) と有意な差はなかった (図 9A)。一方、心血管系一肝臓一凝固系クラスターでは、死亡者での主成分得点の逸脱の程度は 0.78 (IQR : 0.36–1.37) であり、全生存者では 0.57 (IQR : 0.27–1.02、 $P=0.003$)、matched 生存者では 0.42 (IQR : 0.25–0.91、 $P=0.003$) と、いずれと比較しても有意に大きかった。

2)–4 臓器連関の評価

2 つの多臓器クラスターごとに各臨床検査指標同士の相関係数を表 5~10 に示した。

指標	PaO ₂ /F ₁ O ₂	NGAL	CRP
PaO ₂ /F ₁ O ₂		-0.4041 ^a	-0.3017 ^a
NGAL			0.5855 ^a
CRP			

表 5 全生存者における肺、腎臓、炎症系の相関

^a Spearman の順位相関係数が Bonferroni 補正後に有意

指標	乳酸値	総ビリルビン	血小板数
乳酸値		0.2124 ^a	-0.1558 ^a
総ビリルビン			-0.4065 ^a
血小板数			

表 6 全生存者における心血管系、肝臓、凝固系の相関

^a Spearman の順位相関係数が Bonferroni 補正後に有意

指標	PaO ₂ /F ₁ O ₂	NGAL	CRP
PaO ₂ /F ₁ O ₂		-0.3676 ^a	-0.3301 ^a
NGAL			0.5860 ^a
CRP			

表 7 Matched 生存者における肺、腎臓、炎症系の相関

^a Spearman の順位相関係数が Bonferroni 補正後に有意

指標	乳酸値	総ビリルビン	血小板数
乳酸値		0.3109 ^a	-0.2071 ^b
総ビリルビン			-0.3704 ^a
血小板数			

表 8 Matched 生存者における心血管系、肝臓、凝固系の相関

^a Spearman の順位相関係数が Bonferroni 補正後に有意

^b 多重比較補正しない Spearman の順位相関係数が有意

指標	PaO ₂ /F _i O ₂	NGAL	CRP
PaO ₂ /F _i O ₂		-0.2585 ^a	-0.4207 ^b
NGAL			0.4841 ^b
CRP			

表 9 死亡者における肺、腎臓、炎症系の相関

^a 多重比較補正しない Spearman の順位相関係数が有意

^b Spearman の順位相関係数が Bonferroni 補正後に有意

指標	乳酸値	総ビリルビン	血小板数
乳酸値		0.0959	-0.0534
総ビリルビン			-0.5169 ^a
血小板数			

表 10 死亡者における心血管系、肝臓、凝固系の相関

^a Spearman の順位相関係数が Bonferroni 補正後に有意

さらに、多重回帰分析の結果を加えて各クラスター内の臓器連関を評価すると、全生存者、matched 生存者、死亡者のいずれにおいても肺、腎臓、炎症系の臨床検査指標は有意に相関していた。一方、生存者では心血管系、肝臓、凝固系の臨床検査指標は

有意に相関していたが、死亡者群では心血管系の臨床検査指標である血清乳酸値が他の指標と相関がなく孤立していた。

臓器障害、臓器連関、多臓器クラスターの安定性の関係をまとめたものが図10である。死亡者では、心血管系の指標である乳酸値が心血管系－肝臓－凝固系クラスターの中で他臓器から孤立しており、主成分得点のばらつきによって評価された多臓器クラスターの状態は生存者と比較して不安定であった。

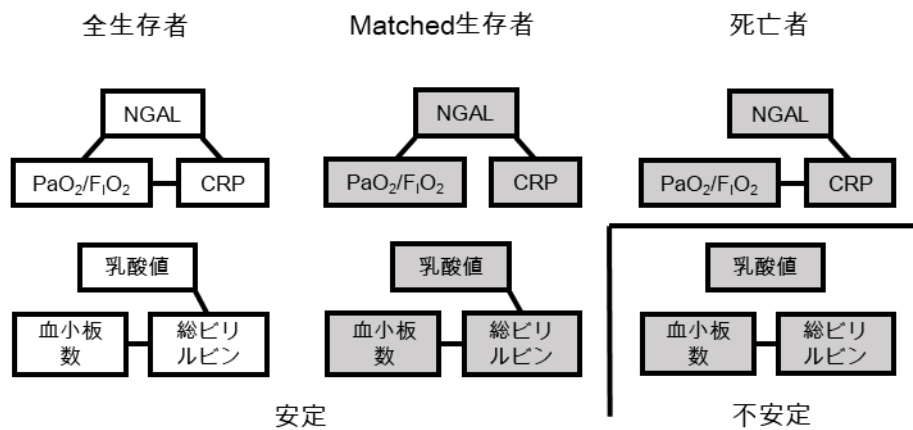


図10 臓器障害、臓器連関、安定性の関係

各臨床学的指標は1つの臓器またはシステムを表す。指標同士の相関が有意な場合に線によって結合している。全生存者と比較して死亡者と matched 生存者では指標の値が有意に悪かった (灰色)。死亡者ではクラスター内で臓器が孤立しており、主成分得点のばらつきが有意に大きく、クラスターは不安定であった。

第4章 考察

本研究では、臓器連関と身体における臓器より上位レベルの安定性の関連について調査した。まず、ネットワーク解析を用いて死亡者と生存者で多臓器連関の違いを定量的に評価し、各臓器障害の程度とは独立して死亡者では臓器連関が破綻していることを示した。次に主成分分析を用いて複数の臓器をクラスター化し、クラスター内での臓器孤立が死亡者でのみ示された。さらに、主成分得点のばらつきにより多臓器のクラスターとしての安定性を評価すると、臓器がクラスター内で孤立している場合は臓器の孤立がない場合と比較して、臓器障害の程度によらず多臓器クラスターは不安定であることが示された。これらの結果から、臓器障害の程度とは独立して臓器連関が死を含む全身の安定性と関連があることが示唆された。

本研究では、臓器間の連関を定量的に検証するため、臓器機能の指標同士の相関を使用した。なぜなら2つの指標の有意な相関は、ストレスに対して2つの異なる臓器が協調的に機能していることを反映していると考えられるからである[47]。有意に相関しない2つの臓器機能は、各臓器のストレスに対して協調的に機能する能力の低下を意味し、身体の安定性を維持できていないことを示唆する[48]。死亡者において指標同士の有意な相関が少なかった結果から、死亡者では臓器同士が協調的に連関できていないことが示唆された。この結果は、多臓器の協調が必要であるホメオスタシス機能の破綻が死と関連しているという報告に一致した[10]。

ネットワーク解析による臓器連関の比較では、3つの指標を用いて生存者と

死亡者の臓器連関の構造を比較した。死亡者において単臓器—単臓器連関の数が少ないという結果のみでは、死亡者での臓器連関破綻を示すには不十分であると考えた。なぜなら、指標同士の相関が有意かどうかの閾値に特定の P 値を設定し、二分法で臓器間の関係性を評価しているからである。そのため全臓器間の連関を連続的に定量評価するべく、相関係数² (決定係数) を採用した[49]。さらに edge betweenness を用いたネットワーク解析では、より連関の強い臓器が形成するクラスターの数が死亡者で有意に少なく、この結果もまた死亡者における臓器連関破綻を示すものであった。

ネットワーク解析を用いた検証において、対象とする臓器を以下のように決定した。まず、確立したスコアリングシステムである SOFA スコアなどを参考に 6 つの臓器、すなわち肺、心血管系、腎臓、肝臓、凝固系、そして中枢神経の評価を試みた[4, 5]。これらの臓器以外にも侵襲に対して生体の安定を維持するために機能する臓器システムが知られており、炎症系、内分泌系、血球系そして代謝系がこれに含まれる[26]。肺、腎臓、肝臓については慣習的に使用されている PaO₂/FIO₂、血清クレアチニン値、総ビリルビン値を選択した[4, 5]。心血管系の機能不全は低還流、溢水、不整脈など様々な側面があるが、本解析では心不全のよい指標として確立されつつある NT-proBNP を採用した[23]。血小板は凝固系の評価に慣習的に使用されているが、肝機能、血球系、炎症系などの影響を受けるため、より他臓器から影響を受けない凝固の指標である D ダイマーを使用した[25]。中枢神経については、多臓器連関において重要な役割を果たすことが推測されたが、確立された臨床検査指標がないため除外し

た。炎症系については、その程度の評価として一般的に使用されている CRP を選択した[26]。炎症性サイトカインは視床下部－下垂体－副腎系や他の内分泌系に関わる因子を変化させる。例えば、血清インターロイキン 6 の上昇により、アルギニン、バソプレシンが生成されることで、ナトリウム濃度のホメオスタシス異常が惹起される[28]。測定の簡便さから血清ナトリウム濃度を内分泌系の指標とした。血球系は白血球、赤血球、血小板の 3 系統で評価することができる。このうち赤血球は全身への酸素供給において重要な役割を果たすことを鑑みて、多臓器連関に関わる因子として血清ヘモグロビン値を採用した。侵襲に対する急性期の反応では代謝系も変化する。本解析では糖代謝に着目し血糖値を代謝系の指標とした。

主成分分析による検証では、上記から一部の指標を変更している。研究期間の一部で D ダイマーと NT-proBNP が測定不能であったため、凝固系については慣習的に使用されている血小板を、心血管系については溢水ではなく低還流の側面に着目し乳酸値を採用した。腎臓については近年血清クレアチニンと比較してより早期に腎障害を検知できるバイオマーカーとして注目されている血清 NGAL 値を採用した[45]。ネットワーク解析を用いた検証結果から、生存者と死亡者では血糖値および血清ナトリウム濃度は有意な差がなかった。臓器障害、臓器連関および多臓器クラスターの関係性を調査するにあたり、同等の臓器障害かつ臓器連関の状態が違う 2 群または同等の臓器連関かつ臓器障害の程度が違う 2 群の比較を行うことが必要であると考えたため、全生存者と死亡者と同等であることが予測される血糖値と血清ナトリウム濃度

の使用は、臓器障害、臓器連関および多臓器クラスターの関係性の解釈を困難にする
と考え、主成分分析を用いた検証からは除外した。本研究に用いた 6 指標に血清ヘモ
グロビン値を加えた 7 指標での解析では、臓器クラスターの検出ができず、結果とし
て 6 臓器による解析結果を用いて臓器障害、臓器連関および多臓器クラスターの関係
性を検証した。

臓器連関を実臨床に応用するためには、個人レベルにおいて SOFA スコアの
ように臓器連関を定量的に評価する必要がある。本研究で臓器連関の比較に用いたネ
ットワークマップは、トポロジカルな違いを評価することができる方法ではあるが、
各臓器同士の連関を集団解析により検出しており、生存者と死亡者の各群につきひと
つのマップのみ作成している。このため本研究で用いた方法により個人レベルでのネ
ットワークマップを作成することはできない。そこで個人レベルでの臓器連関の評価
を模索するため、各患者で主成分得点が算出可能な主成分分析による解析を追加した。
しかし結果として、主成分得点自体は臓器連関ではなくむしろ各臓器不全の程度に依
存する結果が得られ、個人レベルでのネットワークの指標として主成分得点を使用す
るにはさらなる解析が必要と考えられた。

ホメオスタシスを評価する際、pH などの指標のばらつきが利用されることと
同様に、主成分分析を用いた解析では、臓器システムより上位レベルの安定性の指標
として主成分得点のばらつきを使用した。私の知る限り、多臓器クラスターの安定性
を主成分得点により評価したのは本研究が初めてである。肺－腎臓－炎症系クラスタ

一では、全生存者と死亡者では各臓器の状態や主成分得点自体に有意な差があるにも関わらず、主成分得点のばらつきは同等であった。このクラスターでは生存者、死亡者ともに臓器連関が保持されており、臓器機能障害に対して多臓器クラスターの安定性を保つためにホメオスタシス機能が働き、結果としてある一定の範囲内に主成分得点が分布する結果になったと解釈した。一方この解釈は、生存者と死亡者を群間比較した結果得られたものであることに注意しなくてはならない。生存者と死亡者の主成分得点のばらつきの違いは、単に患者の重症度のばらつきの相違を示唆しているにすぎない可能性もある。臓器連関が破綻している患者でより主成分得点の逸脱が大きいのであれば、臓器連関により多臓器クラスターの安定性が保たれた結果、主成分得点が一定の範囲にコントロールされたという解釈の妥当性が担保されるが、本研究では個人レベルでの臓器連関の評価まで及んでいない。今後各患者で臓器連関の評価が可能になった場合、図 9B のように主成分得点で評価された多臓器クラスターの状態が極端に良い患者あるいは悪い患者で、臓器連関の破綻の有無が検証されるべきである。

肺－腎臓－炎症系クラスターおよび心血管系－肝臓－凝固系クラスターの主成分得点は全生存者で死亡者よりも有意に高かった。この結果は、臓器クラスターを構成する各臓器の障害が全生存者で軽度であったことを反映していることが、表 4 の固有ベクトルから推測できる。一方、図 9A に示されているように、臓器連関が保たれている肺－腎臓－炎症系クラスターでは、各臓器障害の程度によらず主成分得点のばらつきに差はなかったことは注目に値する。主成分得点の値自体に相違はあっても、

得点のばらつきが同等であった結果から、構成する臓器の状態に応じて多臓器クラスターの適切な状態が異なることが推察される。この推察は、生物において安定性を維持するためにホメオスタシスが再構成される、“allostasis”という概念と一致する[10]。集中治療領域での例を挙げると、急性呼吸窮迫症候群では、高二酸化炭素血症や低いpHを許容してまで、過剰な換気を避けることが強く推奨されている[50]。また、ICU患者で厳密に”正常化された”血糖値は、高い死亡率と関係していることも、重症患者においてホメオスタシスが再構成されている根拠のひとつであろう[51]。今後ビッグデータによる解析で、病態や臓器障害の程度に応じた”適切な”主成分得点の基準値や範囲が明らかになれば、その範囲からの得点の逸脱を評価することで多臓器クラスターの不安定性を評価することができ、クラスター内の臓器破綻を推定することが可能となるかもしれない。本研究結果は、主成分得点が個人レベルでの臓器連関を評価する際の手段になる可能性を示唆するものである。臓器の孤立と身体の安定性の関連を示した本研究結果はさらに、pHなど既存のホメオスタシス指標も臓器連関の指標となりうる可能性をも含蓄しており、さらなる検証が必要と考えられた。

本研究により臓器連関が身体の安定性において重要な役割を果たしていることが示唆されたが、臨床応用には多くの段階を残している。下記のごとく本研究の限界となっているが、第一に各臓器の状態を必要十分に反映する臨床検査指標が確立されていない点が挙げられる。少なくとも本研究のように1つの指標では十分に臓器の状態を評価したとは言えない。例として、腎機能においては血清クレアチニンに代わ

り、血清および尿中 NGAL 値が近年注目されているが、糸球体濾過能と尿細管機能を区別したうえで総合的に腎臓としての機能を評価しなくてはならない。尿中 L-FABP など他のバイオマーカーも複数組み合わせることで、多面的な機能を有する臓器機能をより正確に評価しうると考えられる。さらに臓器機能の流動性を加味すると時系列データによる評価が求められるだろう。各臓器機能の評価が確立したうえで、個人レベルでの臓器連関も評価しなくてはならない。本研究は集団解析であるため、各患者での臓器連関の評価には至っていない。時系列データ同士の相関を解析することで個人レベルでの臓器連関の評価が可能となりうる。個人レベルでの臓器機能、臓器連関が経時的に評価可能となれば、患者ごとにネットワークマップを作成することができ、重症患者の管理は飛躍的に向上することが期待される。

本研究は様々な限界を有する。まず、各臓器障害の程度の違いの影響を減らすために生存者と死亡者のマッチングを行っているが、対象としていない臓器の違いが得られた結果に影響している可能性がある。特に主成分分析による解析では、死亡者では生存者よりも有意に APACHE II スコアが高かった。しかし、APACHE II スコアは pH や体温など様々なホメオスタシスの指標を含んでおり、本研究結果に基づくと死亡者における高い APACHE II スコアは、死亡者の臓器連関破綻を反映していると解釈できる。2 つめは、選択した臨床検査指標が各臓器の多面的かつ流動的、非線形的な状態を十分に反映していない点である。本結果を一般化するには、複数の指標の組み合わせや時系列データによる評価がより望ましいと考えられる。3 つめは、単

臓器一臓器の連関や主成分得点のばらつきの違いは、集団同士の比較によって得られた点である。個人レベルにおいて同様の結果が得られるかさらなる検証が必要である。4つめは、臓器連関の有無を、設定した P 値を閾値として二分法で定性評価している点である。この欠点を補うため、ネットワーク解析による検証では相関係数を 2 乗した決定係数を連関の強さとして解釈し、死亡者と生存者での違いを示したが、臓器連関も各臓器の状態と同様、流動的かつ非線形的であり、十分に評価したとは言えない。臓器連関の臨床応用の際には連関の定性評価のみではなく、定量評価も必要である。5つめは、主成分得点を計算する際に、固有ベクトルの低い臓器は計算から除外しているため、各臓器クラスターに含まれない臓器の影響を考慮していない点である。最後に、本研究は単施設研究であるため、より多くの患者を含む多施設での検証が本結果の一般化には必要と考えられる。

第5章 結論

本研究はネットワーク解析と主成分分析の2つの方法を用いて、臓器連関が生命維持および身体の安定性に重要な役割を担うという概念を定量的に検証した。結果、死亡者でのみ臓器連関が破綻しており、全身の不安定と関連があることが示唆された。今後臓器連関の概念を臨床現場に応用するためには、個人レベルでの臓器連関評価が必要であり、さらなる検証が必要である。

謝辞

本研究を行う機会およびご指導ご鞭撻を賜りました、東京大学大学院医学系研究科 救急科学教室 森村尚登教授、東京大学医学部附属病院 救命救急センター 土井研人講師に深く感謝致します。また、本研究を進めるにあたり細部にわたるご指導を頂きました、国立国際医療研究センター病院 糖尿病研究センター糖尿病情報センター医療政策研究室長 杉山雄大先生、昭和大学発達障害医療研究所 脳画像研究室 青木悠太講師に心より厚く御礼申し上げます。また、本研究で使用した血液サンプリングにご協力頂いたすべての ICU スタッフに感謝致します。

参考文献

1. Buchman TG. The community of the self. *Nature*; 420: 246-251 (2002)
2. Vincent JL, Nelson DR, Williams MD. Is worsening multiple organ failure the cause of death in patients with severe sepsis? *Crit Care Med*; 39: 1050-1055 (2011)
3. Mayr VD, Dunser MW, Greil V, Jochberger S, Luckner G, Ulmer H, Friesenecker BE, Takala J, Hasibeder WR. Causes of death and determinants of outcome in critically ill patients. *Crit Care*; 10: R154 (2006)
4. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*; 22: 707-710 (1996)
5. Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med*; 23: 1638-1652 (1995)
6. Le Gall JR, Klar J, Lemeshow S, Saulnier F, Alberti C, Artigas A, Teres D. The Logistic Organ Dysfunction system. A new way to assess organ dysfunction in the intensive care unit. ICU Scoring Group. *JAMA*; 276: 802-810 (1996)
7. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Melot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA*; 286: 1754-1758 (2001)

8. Buckley TA, Gomersall CD, Ramsay SJ. Validation of the multiple organ dysfunction (MOD) score in critically ill medical and surgical patients. *Intensive Care Med*; 29: 2216-2222 (2003)
9. Godin PJ, Buchman TG. Uncoupling of biological oscillators: a complementary hypothesis concerning the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med*; 24: 1107-1116 (1996)
10. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*; 5: 374-381 (2009)
11. Goldman AW, Burmeister Y, Cesnulevicius K, Herbert M, Kane M, Lescheid D, McCaffrey T, Schultz M, Seilheimer B, Smit A, St Laurent G, 3rd, Berman B. Bioregulatory systems medicine: an innovative approach to integrating the science of molecular networks, inflammation, and systems biology with the patient's autoregulatory capacity? *Front Physiol*; 6: 225 (2015)
12. Ladyman J, Lambert J, Wiesner K. What is a complex system? *Eur J Philos Sci*; 3: 33-67 (2013)
13. Chovatiya R, Medzhitov R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. *Mol Cell*; 54: 281-288 (2014)
14. Taipale M, Tucker G, Peng J, Krykbaeva I, Lin ZY, Larsen B, Choi H, Berger B, Gingras AC, Lindquist S. A quantitative chaperone interaction network reveals the architecture of cellular protein homeostasis pathways. *Cell*; 158: 434-448 (2014)

15. Hartl FU. Cellular Homeostasis and Aging. *Ann Rev Biochem*; 85: 1-4 (2016)
16. Cho I, Jackson MR, Swift J. Roles of Cross-Membrane Transport and Signaling in the Maintenance of Cellular Homeostasis. *Cell Mol Bioeng*; 9: 234-246 (2016)
17. Plotnikov EY, Silachev DN, Popkov VA, Zorova LD, Pevzner IB, Zorov SD, Jankauskas SS, Babenko VA, Sukhikh GT, Zorov DB. Intercellular Signalling Cross-Talk: To Kill, To Heal and To Rejuvenate. *Heart Lung Circ*; 26: 648-659 (2017)
18. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med*; 356: 1545-1559 (2007)
19. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *J Hepatol*; 57: 692-694 (2012)
20. Grantham JJ, Mulamalla S, Swenson-Fields KI. Why kidneys fail in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*; 7: 556-566 (2011)
21. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*; 13: 818-829 (1985)
22. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*; 307: 2526-2533 (2012)
23. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med*; 358: 2148-2159 (2008)
24. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Working Group. KDIGO clinical guideline for acute kidney injury. *Kid Int Supple*; 2: 1-138 (2012)

25. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med*; 341: 586-592 (1999)
26. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*; 340: 448-454 (1999)
27. Kasapis C, Thompson PD. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. *J Am Coll Cardiol*; 45: 1563-1569 (2005)
28. Laragh JH. Atrial natriuretic hormone, the renin-aldosterone axis, and blood pressure-electrolyte homeostasis. *N Engl J Med*; 313: 1330-1340 (1985)
29. Joffe MM, Rosenbaum PR. Invited commentary: propensity scores. *Am J Epidemiol*; 150: 327-333 (1999)
30. Rosenbaum PR. Optimal matching for observational studies. *J Am Stat Assoc*; 84: 1024-1032 (1989)
31. Austin PC. Primer on statistical interpretation or methods report card on propensity-score matching in the cardiology literature from 2004 to 2006: a systematic review. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*; 1: 62-67 (2008)
32. Austin PC. Balance diagnostics for comparing the distribution of baseline covariates between treatment groups in propensity-score matched samples. *Stat Med*; 28: 3083-3107 (2009)
33. Tichy NM, Tushman ML, Fombrun C. Social network analysis for organizations. *Acad*

Manage Rev; 4: 507-519 (1979)

34. Rowley TJ. Moving beyond dynamic ties: A network theory of stakeholder influences. *Acad Manage Rev*; 4: 887-910 (1997)

35. Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med*; 38: S26-34 (2010)

36. Matuschak GM, Rinaldo JE. Organ interactions in the adult respiratory distress syndrome during sepsis. Role of the liver in host defense. *Chest*; 94: 400-406 (1988)

37. Girvan M, Newman ME. Community structure in social and biological networks. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 99: 7821-7826 (2002)

38. Radicchi F, Castellano C, Cecconi F, Loreto V, Parisi D. Defining and identifying communities in networks. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 101: 2658-2663 (2004)

39. Yoon J, Blumer A, Lee K. An algorithm for modularity analysis of directed and weighted biological networks based on edge-betweenness centrality. *Bioinformatics*; 22: 3106-3108 (2006)

40. Newman ME, Girvan M. Finding and evaluating community structure in networks. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*; 69: 026113 (2004)

41. Churchill GA, Doerge RW. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*; 138: 963-971 (1994)

42. Weil MH, Afifi AA. Experimental and clinical studies on lactate and pyruvate as indicators of the severity of acute circulatory failure (shock). *Circulation*; 41: 989-1001 (1970)

43. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*; 41: 580-637 (2013)
44. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 Update. *Crit Care Med*; 46: 997-1000 (2018)
45. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis*; 54: 1012-1024 (2009)
46. Ansari AR, Bradley RA. Rank-sum tests for dispersions. *Ann Math Statist*; 31: 1164-1173 (1960)
47. Colombo PC, Ganda A, Lin J, Onat D, Harxhi A, Iyasere JE, Uriel N, Cotter G. Inflammatory activation: cardiac, renal, and cardio-renal interactions in patients with the cardiorenal syndrome. *Heart Fail Rev*; 17: 177-190 (2012)
48. Hillege HL, Girbes AR, de Kam PJ, Boomsma F, de Zeeuw D, Charlesworth A, Hampton JR, van Veldhuisen DJ. Renal function, neurohormonal activation, and survival in patients with chronic heart failure. *Circulation*; 102: 203-210 (2000)
49. Rodgers JL, Nicewander WA. Thirteen ways to look at the correlation coefficient. *Am Stat*;

42: 59-66 (1988)

50. Fan E, Del Sorbo L, Goligher EC, Hodgson CL, Munshi L, Walkey AJ, Adhikari NKJ, Amato MBP, Branson R, Brower RG, Ferguson ND, Gajic O, Gattinoni L, Hess D, Mancebo J, Meade MO, McAuley DF, Pesenti A, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Rubin E, Seckel M, Slutsky AS, Talmor D, Thompson BT, Wunsch H, Uleryk E, Brozek J, Brochard LJ. An Official American Thoracic Society/European Society of Intensive Care Medicine/Society of Critical Care Medicine Clinical Practice Guideline: Mechanical Ventilation in Adult Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*; 195: 1253-1263 (2017)

51. Finfer S, Chittock DR, Su SY, Blair D, Foster D, Dhingra V, Bellomo R, Cook D, Dodek P, Henderson WR, Hebert PC, Heritier S, Heyland DK, McArthur C, McDonald E, Mitchell I, Myburgh JA, Norton R, Potter J, Robinson BG, Ronco JJ. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med*; 360: 1283-1297 (2009)