

令和元年6月7日現在

機関番号：24402

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H07021

研究課題名(和文) 心臓浮腫の多角的病態解析およびvisualizationを利用した重症度の評価

研究課題名(英文) Multi-dimensional analysis of cardiac edema and evaluation of severity using visualization.

研究代表者

池田 知哉 (Ikeda, Tomoya)

大阪市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：10620883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：浮腫の重症度判定のために、生化学的・分子生物学的、画像解析学的に評価法について検討した。浮腫の形成に関与すると考えられる、インターロイキン6(IL-6)、ミエリン塩基性タンパク(MBP)、神経特異エノラーゼ(NSE)で解析を行った。IL-6は頭部外傷例、NSEは頭部外傷や中毒例、MBPは中毒例において、それぞれ脳脊髄液中の濃度が高値を示した。中毒死の際に生じる浮腫の原因は、循環障害や炎症によるものより、神経傷害が主要病態である可能性が示唆された。また、CTによる下肢の画像解析によって、CT値分析による浮腫の客観的評価を行い、剖検時の指圧による主観的評価と同様の評価が可能である事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

浮腫の原因を生化学的・分子生物学的手法を用いて多角的に評価・検討することにより、浮腫の形成機序が、原因により異なることを示し、どのような病態が浮腫の主要要因であるか鑑別できる可能性を明らかにした。また、浮腫の初期変化や遷延的变化を肉眼病理学的所見のみから、その重症度を評価することは困難である。死亡時画像検査結果をvisualizationし、数値化することで、主観的評価であった浮腫の評価を客観的に行うことが可能であることを示した。本研究結果は、法医学分野のみならず、臨床医学分野における浮腫の重症度判定や予後予測への応用が考えられ、診断・治療の一助となりうる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：Biochemical, molecular biological, and image analysis evaluation methods were examined to determine the severity of edema. We analyzed interleukin 6 (IL-6), myelin basic protein (MBP), and nerve specific enolase (NSE), which are thought to be cause of edema. IL-6 showed high levels in cerebrospinal fluid in head trauma cases, NSE in head trauma and poisoning cases, and MBP in poisoning cases. The cause of edema at the time of poisoning death was suggested to be that nerve injury may be the main condition rather than circulatory disorder and inflammation. We also examined objective evaluation of edema by CT value analysis by image analysis of lower extremity by CT. It was clarified that the same evaluation as subjective evaluation by acupressure at autopsy was possible.

研究分野：法医学

キーワード：浮腫 免疫染色 血管傷害マーカー 炎症マーカー Computed Tomography

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

浮腫は、細胞外液である組織間液が増加し諸臓器を含めた臓器・組織が腫脹することと定義されているが、病態生理としては、これまで毛細血管の静水圧の上昇や血漿浸透圧の低下、血管透過性の亢進、組織間質の排出機構でもあるリンパ管液の流出低下などが推測されている。そのため、原因となる病態や、肉眼病理のみならず組織学的にも浮腫の形態は様々な様式をとることが明らかになっている。特に心臓・脳・肺は中枢神経系・循環器系・呼吸器系といった生命に直接関与する重要臓器として、あらゆる側面から、その病態に注目が集まっている。これまで浮腫の原因として、細胞膜破綻や微小血管障害が注目され、細胞膜の構造蛋白である occludin, claudin-5, ZO-1, JAM-1 の変異やケモカイン CCL2, NF-kappaB などの神経炎症マーカーなどについて検討が重ねられてきた (Hoffmann. 2009, 2010, 2011)。また、我々は脳浮腫や肺水腫の原因として炎症マーカーであるインターロイキン (IL: Interleukin-1), 単球走化性因子 (MCP: Monocyte Chemotactic Protein-1) に加え、浸透圧との関係からのアクアポリン (AQP s), パソプレッシン (抗利尿ホルモン), さらには細胞傷害により活性化される終末糖化産物受容体としての RAGE (Receptor for advanced glycosylation end products) や酸化物質としての 8-OHdG (8-hydroxy-2-deoxyguanosine) 構造蛋白の変化として C5b-9 (Complement membrane attack complex) など、体内水分バランスがそれらマーカーにより変化していることを、形態学的・分子生物学的・生化学的見地から明らかにしてきた (Wang. 2009, 2012, 2013)。特に心臓に関しては、生化学的手法から心房性・脳性ナトリウム利尿ペプチド (ANP・BNP), トロポニン I (cTnI)、低酸素誘導因子 1 (HIF-1) に関して検討を重ね、慢性うっ血性心不全などの慢性病態においては、低酸素虚血病態による微小血管透過性の増加により誘発された間質浮腫の蓄積が他の臓器に比べて高度である事を明らかにした (Zhao, 2009)。しかし、上記各因子がそれぞれどのような関係性を持ち、浮腫の発現に相互的に関与しているのかについては、明らかとなっていない。そこで今回、分子生物学的・血液生化学的・病理組織学的さらには、CTなどで撮影した心臓を含めた画像解析学的観点から、浮腫の原因・病態を明らかにし、心臓浮腫の重症度評価を visualization することを最終目標とする。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「心臓浮腫の多角的病態解析および浮腫の visualization を利用した重症度の評価」を行うことにある。

中枢神経障害、呼吸障害などによる様々な原因に伴い脳浮腫や肺水腫が発生することは既に多くの研究者らが報告し、その病態はで明らかにされつつある。しかしながら、心臓浮腫における発生原因やその機序、さらにはその程度の評価については不明な点が多い。脳浮腫・肺水腫同様、心臓浮腫も一次的に説明できるものではなく、その原因について一定の見解は得られていない。そこで今回、浮腫の原因を生化学的・分子生物学的手法を用いて多角的に評価・検討することにより、心臓浮腫の原因・病態を明らかにするとともに、死亡時画像検査結果を visualization し、数値化することで、重症度判定や予後予測に役立てることを本研究の目標とする。本研究結果は、法医学分野のみならず、臨床医学分野における心臓浮腫の診断・治療の一助となるものと期待される。

3. 研究の方法

(1) 心臓浮腫の形態学的変化について、肉眼解剖学的および病理組織学的検査に加え、生化学的・分子生物学的検査を行い、死因・疾患別の浮腫の程度を評価し、各病態における浮腫の発生機序について検討を行う。

(2) CT や超音波などの撮影装置および画像解析装置を用いて、心臓における浮腫の状態を CT 値などの違いから visualization させ、各病態における心臓浮腫の状態を 3 次元的に明らかにし、各死因・病態における水腫状態の違いや分布の違いについて分析を行う。

4. 研究成果

(1) 浮腫の形成機序に関与すると考えられる炎症、血管透過性亢進、酸化、細胞血管傷害、蛋白変性などの中から、炎症性サイトカインであるインターロイキン 6 (IL-6)、中枢神経系の髄鞘を構成する主要タンパクであるミエリン塩基性タンパク (MBP) および神経細胞由来の解糖系酵素である神経特異エノラーゼ (NSE) に注目し、生化学的および免疫組織科学的観点から、心臓浮腫の発生機序について解析を行った。生化学的検査の結果、IL-6 は、頭部外傷において、脳脊髄液中の濃度が高値を示し、右心血中では、やや高値を示すものの、非頭部外傷や窒息などにおいても高値を示しており、有意な差は認められなかった。NSE は、頭部外傷に伴う脳浮腫が認められる症例および中毒症例において、脳脊髄液中の濃度が高値を示した。一方、右心血中では、有意な差は認められなかった。MBP は、中毒症例において、脳脊髄液中の濃度が高値を示し、右心血中では有意な差は認められなかった。心臓における各種マーカーを用いた免疫染色の統計学的解析は終了していないものの、中毒死例において全般に染色性が濃く認められた。本結果は、中毒死の際に生じる浮腫の原因としては、循環障害や炎症によるものよりも、神経障害が主体の病態である可能性が示唆された。

(2) 全身循環状態の指標としての浮腫の評価法として CT 撮影結果を画像解析装置にて解析し、浮腫の状態に関する客観的評価を行った。下肢の浮腫を指圧所見で A 群 (無し): 44 例、B 群 (軽度): 36 例、C 群 (中等度以上): 36 例に分類し、CT 値 -50 H.U. 以上、 $+35$ H.U. 未満 (脂肪・筋肉でない水分と推定される領域) の水分占有率を測定した。さらに、CT 値を ($-50 \sim < -35$)、($-35 \sim < -20$)、($-20 \sim < -5$)、($-5 \sim < +5$)、($+5 \sim < +20$)、($+20 \sim < +35$) に細分類し検討した。その結果、CT 画像による水分占有率と指圧による主観的評価には相関関係が認められた。A~C 群における体積水分占有率の平均を P_A , P_B , P_C で評価すると、左右上下腿は $P_B < P_C$ 、左右上腿は $P_A < P_B$ で有意差を認めた ($p < 0.05$)。左右下腿の $P_A < P_B$ に有意差はなかった。浮腫について、指圧による評価と下肢の CT 値による評価で定量的解析を行った結果、それぞれ浮腫の程度に有意差が認められた。以上の結果により、これまで主観的に評価されてきた浮腫の状態について、visualization による評価が可能であることが示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 12 件)

Tani N, Ikeda T, Aoki Y, Shida A, Oritani S, Ishikawa T, Pathophysiological significance of clock genes BMAL1 and PER2 as erythropoietin-controlling factors in acute blood hemorrhage, Human Cell, 査読有、印刷中、2019、DOI: 10.1007/s13577-019-00248-2.

Matsusue A, Kubo SI, Ikeda T, Tani N, Maeda T, Kashiwagi M, Hara K, Waters B, Takayama M, Ikematsu N, Ishikawa T, VNTR polymorphism in the monoamine oxidase A promoter region and cerebrospinal fluid catecholamine concentrations in forensic autopsy cases,

Neuroscience Letter、査読有、701、2019、pp.71 - 76、DOI: 10.1016/j.neulet.2019.02.029. Epub 2019 Feb 19.

Ikeda T, Tani N, Aoki Y, Shida A, Morioka F, Oritani S, Ishikawa T、Effects of postmortem positional changes on conjunctival petechiae、Forensic Science Medicine and Pathology、査読有、15、2018、pp.13 - 22、DOI: 10.1007/s12024-018-0032-5. Epub 2018 Nov 3.

Matsusue A, Ikeda T, Tani N, Waters B, Hara K, Kashiwagi M, Takayama M, Ikematsu N, Kubo SI, Ishikawa T、Association between cytochrome P450 2D6 polymorphisms and body fluid methamphetamine concentrations in Japanese forensic autopsy cases、Forensic Science International、査読有、289、2018、pp.33 - 39、DOI: 10.1016/j.forsciint.2018.05.018. Epub 2018 May 18.

Matsusue A, Ishikawa T, Ikeda T, Tani N, Arima H, Waters B, Hara K, Kashiwagi M, Takayama M, Ikematsu N, Kubo SI、DRD2/ANKK1 gene polymorphisms in forensic autopsies of methamphetamine intoxication fatalities、LEGAL MEDICINE (Tokyo)、査読有、33、2018、pp.6 - 9、DOI: 10.1016/j.legalmed.2018.04.005.

Tani N, Ikeda T, Watanabe M, Toyomura J, Ohyama A, Ishikawa T、Prolactin selectively transported to cerebrospinal fluid from blood under hypoxic/ischemic conditions、PLOS ONE、査読有、13、2018、DOI: 10.1371/journal.pone.0198673. eCollection 2018.

Tani N, Ikeda T, Michiue T, Morioka F, Ishikawa T、Analysis of psychotropic drug-related deaths in south Osaka、Substance Abuse and Rehabilitation、査読有、9、2018、pp.79 - 90、DOI: 10.2147/SAR.S163491. eCollection 2018.

Ikeda T, Miyamoto K, Tani N, Oritani S, Michiue T, Morioka F, Ishikawa T、Forensic evaluation of sex estimation via measurements of adult index and ring finger lengths using postmortem computed tomography、Egyptian Journal of Forensic Sciences、査読有、8、2018、DOI: 10.1186/s41935-018-0075-5

Ikeda T, Tani N, Oritani S, Shida A, Aoki Y, Morioka F, Ishikawa T、Toxicological and biochemical analyses of an autopsy case involving oral overdose of multiple antidiabetic and antihypertensive drugs、Case Reports in Medicine、査読有、2018、DOI: 10.1155/2018/5864658. eCollection 2018.

Tani N, Ikeda T, Oritani S, Michiue T, Ishikawa T、Role of circadian clock genes in sudden cardiac death: A pilot study、Journal of Hard Tissue Biology、査読有、26、2017、pp.347 - 354、DOI: 10.2485/jhtb.26.347

Ikeda T、Estimating age at death based on costal cartilage calcification、The Tohoku Journal of Experimental Medicine、査読有、243、2017、pp.237 - 246、DOI: 10.1620/tjem.243.237.

Ikeda T, Tani N, Michiue T, Oritani S, Morioka F, Potente S, Ishikawa T、Postmortem histopathological examination of change due to systemic ischemia/hypoxia in the thyroid gland、Forensic Science and Criminology、査読有、2、2017、pp.1 - 5、DOI: 10.15761/FSC.1000118

〔学会発表〕(計 27 件)

池田知哉, 谷 直人, 宮本和典, 織谷茂樹, 信太亜里紗, 青木弥生, 石川隆紀、画像解析装置を用いた浮腫の客観的評価法の確立、第 103 次日本法医学会学術全国集会、2019

Aoki Y, Tani N, Ikeda T, Shida A, Morioka F, Ishikawa T、Analysis of lymph node immunomodulatory mechanisms in a viral infection model: Preliminary study、The 2nd Wakayama Medical University International Symposium of Forensic molecular pathology、2019

Shida A, Ikeda T, Tani N, Aoki Y, Morioka F, Ishikawa T、Significance of elevated levels of steroid hormones in the blood following cold exposure、The 2nd Wakayama Medical University International Symposium of Forensic molecular pathology、2019

Ikeda T, Tani N, Oritani S, Michiue T, Morioka F, Ishikawa T, Postmortem biochemistry and immunohistochemistry of cortisol with special regard to fatal hypothermia, 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2018

Tani N, Ikeda T, Oritani S, Michiue T, Morioka F, Ishikawa T, Evaluation of postmortem serum and cerebrospinal fluid prolactin levels in drug abusers, 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2018

Ikeda T, Tani N, Oritani S, Michiue T, Morioka F, Ishikawa T, Evaluation of differences in ketone body levels depending on blood collection sites, 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2018

Tani N, Ikeda T, Oritani S, Michiue T, Morioka F, Ishikawa T, Retrospective 10-year forensic autopsy investigation of psychotropic drug-related fatalities in southern Osaka and surrounding areas, 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2018

Matsusue A, Ishikawa T, Ikeda T, Michiue T, Waters B, Kashiwagi M, Takayama M, Hara K, Ikematsu N, Kubo S, DRD2/ANKK1 gene polymorphisms in forensic autopsies of fatal methamphetamine and psychotropic drug intoxication cases, 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine, 2018

谷 直人, 池田知哉, 青木弥生, 信太亜里紗, 織谷茂樹, 石川隆紀, ドラム式洗濯機内で死亡した小児の1剖検例, 第65回日本法医学会学術近畿地方集会, 2018

池田知哉, 谷 直人, 信太亜里紗, 青木弥生, 佐古田茂樹, 森岡郁哉, 石川隆紀, ノロウイルス及びロタウイルス重複感染に起因した出血性腸炎の1剖検例, 第65回日本法医学会学術近畿地方集会, 2018

Tani N, Ikeda T, Morioka F, Oritani S, Potente S, Michiue T, Ishikawa T, Post-mortem serum thyroid hormone levels as a potential marker of hypoxia/ischemia in autopsy cases, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Tani N, Ikeda T, Morioka F, Oritani S, Potente S, Michiue T, Ishikawa T, Prolactin concentration in blood and cerebrospinal fluid during low-oxygen conditions, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Oritani S, Ono M, Ikeda T, Tani N, Michiue T, Ishikawa T, High-performance, rapid drug screening method using a diatomaceous earth pretreatment column, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Miyamoto K, Oritani S, Ikeda T, Tani N, Morioka F, Potente S, Michiue T, Ishikawa T, Feasibility of height estimation using skull bone thickness as measured by computed tomography and image density values, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Michiue T, Ikeda T, Tani N, Oritani S, Ishikawa T, Estimation of blood fluidity in the heart and ascending aorta of the cadaver using tomography, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Ikeda T, Tani N, Morioka F, Oritani S, Potente S, Michiue T, Ishikawa T, Positional appearance of petechial hemorrhage in conjunctivae after death, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Ikeda T, Tani N, Morioka F, Oritani S, Potente S, Michiue T, Histopathological changes in the thyroid gland due to systemic ischemia/hypoxia, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Tani N, Ikeda T, Morioka F, Oritani S, Michiue T, Ishikawa T, Relationship between expression of clock genes and erythropoietin in hemorrhagic death/shock, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Michiue T, Ikeda T, Tani N, Ishikawa T, Virtual morphometry and radiographic densitometry of the brain using postmortem forensic computed tomography data in autopsy, 10th International Symposium on Advances in Legal Medicine, 2017

Ishikawa T, Tani N, Ikeda T, Morioka F, Oritani S, Michiue T, Relationship between expression of clock genes and erythropoietin in hemorrhagic shock and traumatic shock: A pilot study, 26 Fruhjahrstagung der Deutschen Gesellschaft fur Rechtsmedizin, 2017

²¹ Ishikawa T, Tani N, Ikeda T, Morioka F, Oritani S, Michiue T, Prolactin concentration in blood and cerebrospinal fluid during low-oxygen conditions, 26 Fruhjahrstagung der Deutschen Gesellschaft fur Rechtsmedizin, 2017

²² 池田知哉, 谷 直人, 森岡郁哉, 織谷茂樹, 道上知美, 石川隆紀, 糖尿病治療薬大量使用により重症低血糖症に陥った3剖検例, 第64回日本法医学会学術近畿地方集会, 2017

- 23 谷 直人, 道上知美, 織谷茂樹, 池田知哉, 森岡郁哉, 石川隆紀、低酸素状態における血液および脳脊髄液中プロラクチン濃度の変化について、第 35 回日本ヒト細胞学会学術集会、2017
- 24 Morioka F, Tani N, Ikeda T, Michiue T, Oritani S, Ikeda S, Ishikawa T、Significance of pancreatic interstitial bleeding and pancreatic hormone dynamics in hypoxic condition、第 35 回日本ヒト細胞学会学術集会、2017
- 25 谷 直人, 池田知哉, 森岡郁哉, 道上知美, 織谷茂樹, 石川隆紀、法医剖検例における血液・脳脊髄液中プロラクチン測定の意義、第 24 回法医病理セミナー兼第 1 回和歌山県立医科大学国際シンポジウム-法医分子病理学-、2017
- 26 池田知哉, 谷 直人, 道上知美, 織谷茂樹, 森岡郁哉, Potente S, 石川隆紀、Positional appearance of petechial hemorrhage in palpebral conjunctivae after death、第 24 回法医病理セミナー兼第 1 回和歌山県立医科大学国際シンポジウム-法医分子病理学-、2017
- 27 森岡郁哉, 谷 直人, 池田知哉, 道上知美, 織谷茂樹, 池田沙有子, 石川隆紀、臍臓における被膜下・間質内出血の意義 低酸素虚血の観点から、第 24 回法医病理セミナー兼第 1 回和歌山県立医科大学国際シンポジウム-法医分子病理学-、2017

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等：なし

6 . 研究組織

特記無し

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。