

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K10268

研究課題名（和文）足部白癬スクリーニングシステムの構築

研究課題名（英文）Construction of tinea pedis screening system

研究代表者

竹原 君江（Takehara, Kimie）

名古屋大学・医学系研究科（保健）・准教授

研究者番号：70709865

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：足部白癬は糖尿病足潰瘍のリスク要因であり、早期発見が重要である。本研究の目的は、足部白癬スクリーニングシステム構築のための理工学的アプローチによる白癬可視化技術を開発することである。

工学的アプローチでは、深層学習により足白癬領域を検出する画像処理手法を開発し、足白癬のある足底画像で1領域は確実に白癬領域を推定できた。

理学的アプローチでは、白癬菌が角層に侵入する際に分泌されるケラチナーゼに着目し、蛍光標識ケラチンを用いたヒト由来の白癬菌ケラチナーゼの可視化系を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

足部白癬は自覚症状が少なく見逃されていたり、白癬様の所見を発見しても、乾燥等と類似している場合があるため視診による判別も難しかった。先行研究では白癬の確実な診断法について検討したものはあるが、皮膚科受診していない足部白癬保有者のスクリーニング法の研究はされてこなかった。本研究では、AIによる視診で白癬により近い所見をピックアップし、白癬菌を精度よく判別できるキットを用いるという2段階のスクリーニングシステムが構築できる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：It is important to early detection of tinea pedis, because tinea pedis is a risk factor for diabetic foot ulcer. The purpose of this study is to develop a tinea pedis visualization technology by a science and engineering approach for constructing a tinea pedis screening system.

In the engineering approach, we developed an image processing method to detect the tinea pedis findings by deep learning, and at least one area could be reliably estimated as a tinea pedis finding on each sole image with tinea pedis.

In the science approach, we focused on the keratinase secreted when Trichophyton invades the stratum corneum, and developed a visualization system for human-derived Trichophyton keratinase using fluorescently labeled keratin.

研究分野：臨床看護

キーワード：フットケア 足白癬 スクリーニング 可視化技術 糖尿病足病変

1. 研究開始当初の背景

足部白癬は白癬菌が角層あるいは爪に侵入し亀裂や浸軟、爪の肥厚・変形などを引き起こす感染症である。足部白癬は、International Working Group on the Diabetic Foot による Guidance for prevention 2015 において、糖尿病足潰瘍予防のために治療を行うことが強く推奨されている。さらに、日本では人口の高齢化に伴い、2006 年の介護保険制度改革以降、高齢者の自立支援、尊厳の保持のため予防重視型システムへの転換を進めてきた（厚生労働省、2006）。転倒は高齢者の生活機能を低下させるきっかけの一つとして知られており、これまで運動による転倒予防プログラムなどが主に行われてきた¹⁾。近年、足部の問題が転倒リスクを高めることが報告されてきている²⁾。原田らの研究³⁾では、足白癬や爪の肥厚・変形を有している者の転倒経験が多いことが示された。爪白癬は進行により肥厚や変形を引き起こす。したがって、足部白癬の早期発見・治療は重要な課題といえる。

これまで、糖尿病患者や高齢者を対象としたフットケアについてはさまざまに提案され実施されてきた。その中で、足部白癬の早期発見については視診によるスクリーニングについて触れている程度である。しかしながら、研究代表者らが高齢者を対象に足部白癬の視診による判定を真菌学的検査と比較した結果、皮膚科医でも視診のみで同定することが難しいことが明らかとなり、視診のみによるスクリーニングには慎重を要することが示された⁴⁾。そもそも足部白癬は自覚症状に乏しく、他の疾患と所見が類似していることも少なくないため、患者自身が気づかずに受診行動を起こさなければ治療を開始することは難しい。患者自身が足部白癬を簡便に精度よくスクリーニングでき、受診行動につながるようなシステムが構築できれば、足部白癬の早期発見・治療が効果的に行われるのではないだろうか。

研究代表者はこれまでに、白癬菌が皮膚に侵入する際に分泌するケラチナーゼに焦点を当て、Skin Blotting の手法を用いた白癬可視化スクリーニングツール（以下、白癬スクリーニングツール）の開発を実験的に検証してきた。このツールは、白癬が疑われる部位にシートを貼付するだけで白癬菌を検出し可視化することを目標として開発中である。現在までに、実験的に、かつ少数の足白癬患者でのパイロットスタディで白癬菌が検出可能であることが確認できている。このツールを臨床応用できれば、足部白癬が簡便に精度よくスクリーニングでき、足部白癬スクリーニングシステムが効果的に働く可能性があると考えた。

2. 研究の目的

本研究は看護理工学的アプローチを用いて白癬の可視化技術を開発し、医療者あるいは患者自身が白癬の可視化によるフィードバックを受けて治療につながるような足部白癬のスクリーニングシステムを構築することを目的とした。足部白癬のスクリーニングシステムは、①視診により白癬疑い所見を効率よくピックアップする、②白癬スクリーニングツールにより精度よく足部白癬をスクリーニングする、という 2 段階から成る。そこで、本研究では、①AI を用いた視診による足白癬判断支援プログラムを開発すること、②ヒト由来の白癬菌ケラチナーゼ可視化技術を検討すること、の 2 点を目的とした。

3. 研究の方法

1) AI を用いた視診による足白癬判断支援プログラムの開発

一大学病院の糖尿病足外来受診者の調査足画像データ 238 枚のうち、足底画像全体が撮像され、直接鏡検にて足白癬ありと判定された画像 64 枚（37 人）を対象とした。まず、足白癬に詳しい看護師が白癬領域を指定した。次に、画像サイズが複数のカメラでの撮像により統一されていなかったため、最も小さい 1920×2560pixel へリサイズした。各画像から 256x256pixel の画像を切り出してデータセットを作成し、Unet ベースの深層学習手法を用いて白癬領域を学習させた。その後、各画像において同サイズ領域ごとに白癬領域を推定し、統合した。

2) ヒト由来の白癬菌ケラチナーゼ可視化技術の検討

まず、市販ケラチナーゼを希釈し、1 μ L をメンブレンにプロットした。FITC 標識したケラチンをコーティングしたスライドガラスに先のメンブレンを重ね、蛍光標識ケラチンの分解反応をさせた。そして、蛍光強度の低下を観察しケラチナーゼの検出感度を確認した。次に、白癬菌である *T. rubrum* IFM66221 をケラチン含有培地でスライド培養し、ケラチナーゼの産生を透明帯の形成で確認した。そして、透明帯が形成されたスライド培養から寒天シートを取り外し、メンブレンを重ねて寒天中のケラチナーゼをメンブレンに転写した。このメンブレンを FITC 標識したケラチンをコーティングしたスライドガラスに重ねて蛍光標識ケラチンの分解反応をさせた。その後、ケラチナーゼによる蛍光強度の低下を観察した。

4. 研究成果

1) AIを用いた視診による足白癬判断支援プログラムの開発

全画像における正解領域との一致度を示す dice 係数の各画像の平均は 0.45 ± 0.24 となった。本推定手法では人の判定よりも広い領域や胼胝、乾燥部などを推定することが多く課題はあるが、少なくとも 1 領域は各画像で確実に白癬領域を推定できており、判断支援利用の可能性が示唆された。典型的な推定例と検出困難例を図 1 に示す。

典型的な推定例



赤色：人が判断した白癬領域
青色：機械による推定領域

検出困難例



大幅に広く推定する場合

胼胝（たこ）を誤推定する場合

図 1 機械による推定領域の例

2) ヒト由来の白癬菌ケラチナーゼ可視化技術の検討

ケラチナーゼの検出感度は、5ng であった (図 2)。白癬菌ケラチナーゼの可視化については、スライド培養で透明帯が形成された部位に相当する位置に、蛍光強度の低下が認められた (図 3)。従って、*T. rubrum* が産生したケラチナーゼがメンブレンに転写され、蛍光標識ケラチンを分解したと考えられる。

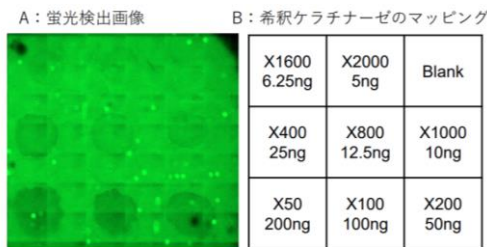


Fig. 1 ケラチナーゼの検出感度

A: キーエンス蛍光顕微鏡 (BZ-9000) による蛍光検出画像。画像処理ソフトによってコントラストを調整した。
B: メンブレンに滴下したケラチナーゼ希釈液のマッピング。10mg/mL の原液を希釈し 1 μ L をメンブレンに滴下した。上段は希釈倍率、下段は 1 μ L 中のケラチナーゼ量。

図 2 ケラチナーゼの検出感度

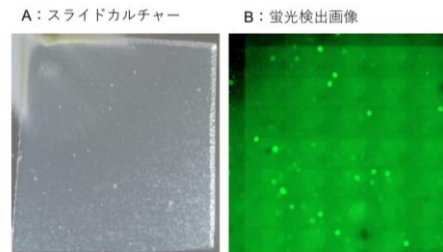


Fig. 2 白癬菌ケラチナーゼの検出

A: スライドカルチャーにより培養した *T. rubrum* IFM6221。接種位置は左上。接種位置から伸びた菌糸の先までケラチンが消化されて透明帯ができています。 B: キーエンス蛍光顕微鏡 (BZ-9000) による蛍光検出画像。画像処理ソフトによってコントラストを調整した。接種部位が暗くなり、透明帯部位が淡いながら蛍光が弱くなっている。

図 3 白癬菌ケラチナーゼの検出

以上より、1) AI を用いた視診による足白癬判断支援プログラムおよび 2) 足白癬ケラチナーゼ検出技術の実装可能性が示唆された。今後、1) については一致度をさらに上げるためのプログラム改良、2) については人から採取した角質を用い、白癬菌ケラチナーゼ検出技術の検討が必要である。

引用文献

- 1) 井口 茂, 松坂 誠慶, 陣野 紀代美. 在宅高齢者に対する転倒予防プログラムの検討. 理学療法科学. 2007;22(3):385-390.
- 2) Menz HB, Morris ME, Lord SR. Foot and ankle risk factors for falls in older people: a prospective study. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2006;61(8):866-870.
- 3) 原田 和弘, 岡 浩一郎, 柴田 愛, 他. 地域在住高齢者における足部に関する問題と転倒経験・転倒不安との関連. 日本公衛誌. 2010;57(8):612-623.
- 4) Goto T, Nakagami G, Takehara K, et al. Examining the accuracy of visual diagnosis of tinea pedis and tinea unguium in aged care facilities. J Wound Care. 2017;26(4):179-183.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野口 博史, 竹原 君江, 大江 真琴, 真田 弘美
2. 発表標題 糖尿病患者の足白癬判断支援のための足底写真画像からの白癬領域推定の試み
3. 学会等名 第8回看護理工学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹原 君江, 成田 雅, 本田 育美
2. 発表標題 糖尿病足潰瘍予防を目的とした足白癬スクリーニングツール開発に向けてのセラチナーゼ可視化可能性の検討
3. 学会等名 第50回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹原 君江, 成田 雅, 本田 育美, 峰松 健夫, 真田 弘美
2. 発表標題 活性化白癬菌の検出を目的としたセラチナーゼ可視化技術の検討 - 足白癬スクリーニングツール開発に向けて
3. 学会等名 第30回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 ヴィジュアルダーマトロジー編集委員会	4. 発行年 2020年
2. 出版社 学研メディカル秀潤社	5. 総ページ数 110
3. 書名 Visual D. 2020年1月号 Vol.19 NO.1	

1. 著者名 常深 祐一郎 他	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南山堂	5. 総ページ数 184
3. 書名 薬局. 2020年5月 Vol.71 No.6	

1. 著者名 ヴィジュアルダーマトロジー編集委員会	4. 発行年 2021年
2. 出版社 学研メディカル秀潤社	5. 総ページ数 未定
3. 書名 Visual D. 2021年8月号 Vol.20 NO.8	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	常深 祐一郎 (TSUNEMI Yuichiro) (00361478)	埼玉医科大学・医学部・教授 (32409)	
研究分担者	峰松 健夫 (MINEMATSU Takeo) (00398752)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・特任准教授 (12601)	
研究分担者	大江 真琴 (OE Makoto) (60389939)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・特任准教授 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	真田 弘美 (SANADA Hiromi) (50143920)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関