

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2008

課題番号：19209056

研究課題名（和文） 可溶性 CD14 サブタイプによる感染症迅速診断キットの開発

研究課題名（英文） The development of rapid infection diagnosis kit using soluble CD14 subtype

研究代表者

遠藤 重厚（ENDO SHIGEATSU）

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：30160394

研究成果の概要：イムノクロマトグラフィーを応用して簡易キット（Point of Care test：以下 POC テストと略す）を開発した。本法は、血清と血漿でデータの差異は殆ど生ぜず、どちらでも約 15 分で敗血症診断が可能となった。敗血症診断としてのカットオフ値を 1+とすると、感度 100%、特異度 56%、有効度 73%、カットオフ値を 2+とすると、感度 73%、特異度 84%、有効度 80%、カットオフ値を 3+とすると感度 47%、特異度 96%、有効度 78%であった。敗血症の早期診断及び本疾患の重症度のモニタリングに有用なキットを開発した。今後、このような簡便な敗血症診断キットが普及すれば敗血症治療成績の向上に寄与するものと思われる。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	16,000,000	4,800,000	20,800,000
2008 年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
年度			
年度			
年度			
総計	25,300,000	7,590,000	32,890,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：集中治療医学

1. 研究開始当初の背景

現在日本では、年間 30～50 万人の重症敗血症の患者が発生し、そのうち 10～20 万人が死亡していると考えられる。この数字は、現在日本における死因の第 2 位、第 3 位を占めている心疾患、脳血管疾患と同等かあるいはそれをも越える数字である。

CD14は、単球・マクロファージの細胞膜上に存在する蛋白質として見出された物

質であるが、血中にも可溶性蛋白質として存在する。我々はこれまで抗CD14抗体を利用した可溶性CD14の免疫科学的測定系を種々作成してきたが、このうち特定の抗CD14抗体を利用した測定系において、可溶性CD14分子の一部の分子、従来のCD14と分子量が異なる可溶性CD14サブタイプを発見した。この可溶性CD14サブタイプを測定することが現時点で感染症診断マーカー

で最も優れていることを確認した。

2. 研究の目的

可溶性 CD14 サブタイプの ELISA 法による定量法を開発し、感染症の診断に際して感受性・特異性に最も優れた炎症マーカーであることを見出したが、ELISA 法による測定では結果が得られるまでに約3時間を要する。さらに簡便で、かつ短時間に結果が得られる方法が開発されれば、ベッドサイドでの感染症の早期診断、治療の開始・中止時期を決定することが可能となる。

3. 研究の方法

本研究は岩手医科大学倫理委員会の承認を得て、さらに本人あるいはその家族の同意を得て行った。

迅速測定キットはイムノクロマトグラフィを原理とした血中sCD14-ST迅速検出キットである。キットはsCD14-STに特異的な抗体を金コロイドに結合したものを標識物として使用しており、メンブレンには異なる抗CD14-ST抗体が固相化する。また、コントロールライン用として抗ウサギγグロブリン抗体が固相化されている。

測定方法は、検体を希釈液により4倍希釈し、100μLをサンプルパットに滴下する。検体中のsCD14-STは金コロイド標識抗体と反応後、キャプチャー抗体によりトラップされ、さらに余った標識抗体がコントロールライン用抗体によりトラップされる。過剰な標識抗体はさらに検体により洗い流される。反応開始15分後、判定を行う。コントロールラインのバンドを確認することにより、反応が正しく行われているかを判定する。sCD14-STの量は、キャプチャー用抗体の部分に現れるバンドの強度を見本と比較することにより判定する。

4. 研究成果

患者検体をELISAによるsCD14-ST値とPOCテストで検討すると有意な相関関係がみられた。

迅速測定キットによる各種病態における結果は表1に示すが、敗血症診断としてのカットオフ値を1+とすると、感度100%、特異度56%、有効度73%、カットオフ値を2+とすると、感度73%、特異度84%、有効度80%、カットオフ値を3+とすると感度47%、特異度96%、有効度78%であった。このことからこのキットによる敗血症としては、2+とするのがもっとも有効である

ことが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- (1) 宮田美智子、佐藤信博、高橋学、小鹿雅博、遠藤重厚、白川嘉門、古迫正司. 敗血症診断における可溶性CD14-サブタイプの有用性と簡易診断キットの検討. 岩手医誌 59, 325-330 (2007)
- (2) 高橋学、佐藤信博、鈴木泰、小鹿雅博、遠藤重厚、若林剛、昆浩、諏訪部章. in situ hybridization法による敗血症早期診断. 岩手医誌 59, 17-28 (2007)
- (3) 遠藤重厚、佐藤信博、鈴木泰、小鹿雅博、高橋学、菊池哲、八重樫泰法. Sepsisにおけるサイトカインの変動と転帰. 化学療法の領域 23, 1554-1558 (2007)

[学会発表] (計4件)

- (1) 高橋学、佐藤信博、鈴木泰、小川雅彰、小鹿雅博、箱崎将規、遠藤重厚. 腹腔内感染症診断におけるハイブリゼップ法と血中sCD14値の検討. 第19回日本外科感染症学会. 2007年12月1日.
- (2) 遠藤重厚、佐藤信博、小鹿雅博、高橋学、箱崎将規、宮田美智子、菊池哲、小川雅彰、鈴木泰、白川嘉門、古迫正司. 敗血症診断におけるsCD14-STの有用性と簡易診断キットの検討. 第34回日本救急医学会. 2007年11月1日.
- (3) 箱崎将規、佐藤信博、小鹿雅博、小川雅彰、高橋学、鈴木泰、遠藤重厚、前沢千早、若林剛. サスペンションアレイシステムを用いた腹膜炎における末梢血サイトカイン、ケモカイン同時多項目定量の試み. 第44回外科代謝栄養学会. 2007年7月11日.
- (4) 遠藤重厚、佐藤信博、小鹿雅博、白川嘉門、古迫正司. 敗血症診断におけるsCD14-STの有用性と簡易診断キットの検討. 第80回日本感染症学会総会. 2007年4月21日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 重厚 (ENDO SHIGEATSU)
岩手医科大学・医学部・教授
研究者番号：30160394

(2) 研究分担者

佐藤 信博 (SATO NOBUHIRO)
岩手医科大学・医学部・講師
研究者番号：10244914

鈴木 泰 (SUZUKI YASUSHI)
岩手医科大学・医学部・講師
研究者番号：90306019

柴田 繁啓 (SHIBATA SHIGEHIRO)
岩手医科大学・医学部・助教
研究者番号：10326671

小鹿 雅博 (KOJIKI MASAHIRO)
岩手医科大学・医学部・助教
研究者番号：40347878

(3) 連携研究者