

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 12 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20590679

研究課題名（和文） DNase I を用いた新しい急性心筋梗塞診断方法の確立

研究課題名（英文） New method of diagnosis for acute myocardial infarction.

研究代表者

高塚 尚和 (TAKATSUKA HISAKAZU)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：40242490

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：心筋梗塞、DNase I、司法解剖、法医学

1. 研究計画の概要

本研究の目的は、司法及び行政解剖では急性心筋梗塞が疑われる症例が多いが、死亡前の健康状態が不明なことも多く、また死亡後時間が経過しているため心筋梗塞の診断に用いられている血液生化学のマーカー（白血球クレアチンキナーゼトロポニン T 等）を利用できないことが多い。

本研究の連携研究者らは、急性心筋梗塞では発症直後に DNase I の活性が上昇することをすでに報告していることから、本研究では

(1) DNase I の mRNA を測定することにより急性心筋梗塞の診断への応用

(2) DNase I の生物学的特性には解明されていない点があることからその特性の解明

をそれぞれ目標と実施している。

2. 研究の進捗状況

これまでの研究の進捗状況を項目別に記載する。

(1) DNase I mRNA の診断への応用であるがまず死後直後における DNase I mRNA の検出は、リアルタイム PCR 法を用いて試みたが、その後、職場を異動したため、同装置の利用が困難となり、現在は従来方法（PCR 反応後電気泳動を行う方法）で行っている。しかしこの方法では増幅された領域の塩基のシーケンスをその反応事に行っていないことから DNase I の領域を確実に増幅しているかどうかはわからず、検出感度も十分でないと考えられる。リアルタイム PCR 法で TaqMan PCR を用いる方法は検出感度もよく、かつ特異性も高いことから、実際の症例への適応を目指していたが、現在の研究環境では実施す

ることが困難である。また司法・行政解剖への応用を考えると当然診断の正確性が非常に高く求められることから、現在の状況ではこの DNase I mRNA を用いて新しい診断方法の確立を目指すこと自体困難であると思われる。

(2) DNase I の生物学的特性の研究に関しては連携研究者との連携が上手くいっており、以下の点について明らかにしている。DNaseI のエクソン 8 には、2317 番目のアライン/グアニンの置換により SNPs が存在し、前者をタイプ 1、後者をタイプ 2 と分類されている。そこで、この塩基置換により DNaseI の特性が、どのように変化するかを酵素活性を測定することにより明らかにした。その結果、酵素活性は、タイプ 1 と比較して、タイプ 2 が優位に高かったが、酸性に対しては、タイプ 2 と比較して、タイプ 1 が安定性であり、また、熱に対してもタイプ 2 と比較して、タイプ 1 が安定的であった。また、心冠動脈検査が施行された心筋梗塞患者 311 人に対して、DNaseI のタイプ 1 及びタイプ 2 の型判定を行ったところ、タイプ 2 の患者が優位に認められたことから、タイプ 2 の SNPs は、急性心筋梗塞を発症する際に関連があると考えられ、DNaseI の酵素活性そのものが心筋梗塞発症のメカニズムに重要な役割を演じている可能性が示唆された。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展していると考えている。

その理由としては、確かに研究環境が大きく変わったため、リアルタイム PCR 法を用いた研究を実施できなくなり、DNase I mRNA をベースとした急性心筋梗塞の診断法を確立すること自体が困難になったこと自体には

問題があると考えられるが、DNase I の生物学的特性を明らかにする研究に関しては連携が上手くいき、研究成果をすでに公表できていることから、研究全体としては概ね順調であろうと判断した。

4. 今後の研究の推進方策

DNase I の生物学的特性に関する研究については、全体に上手く推移していることから、今後の方策についてあらたに検討する必要はないと考えられる。しかし現状では、DNase I mRNA の検索のみによって診断方法を確立しようと固執することは、現在の研究環境では必ずしもよい結果が得られないであろうと考えられることから、以下のように対策を考え、昨年度の末から実施している。

急性心筋梗塞では、B 型ナトリウム利尿ペプチド (BNP) と N 末端プロ BNP (NT-proBNP) の血中濃度が上昇することがすでに知られている。それゆえ、BNP や NT-proBNP が診断に応用できないかを、司法解剖で急性心筋梗塞と診断された事例において検討するとともに、死後変化の影響の評価等についても検討している。最終的にはこれらのマーカーも考慮し、総合的な診断方法の確立を目指している。

5. 代表的な研究成果

(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 Fujihara J、Tabuchi M、Yasuda T、Fujita Y、Takeshita H、Rapid measurement of deoxyribonuclease I activity with the use of microchip electrophoresis based on DNA degradation, Anal Biochem, 413, 2011, 78-79、査読有

② Takeshita H、Soejima M、Koda Y、Yasuda T、Takatsuka H、Fujihara J、Gln222Arg (A2317G) polymorphism in the deoxyribonuclease I gene exhibits ethnic and functional differences、Clin Chem Lab Med、47、2009、51-55、査読有

③ Hasegawa M、Fujihara J、Takatsuka H、Chung HC、A case of sudden death after gingival injection of a therapeutic dose

of lidocaine、Forensic Toxicol、26、2008、41-44、査読有

[学会発表] (計 3 件)

① 木村かおりら、DNase II 遺伝子 exon 内 SNP 検索：酵素活性に及ぼす変異の影響、第 26 回日本法医学会中四国地方会、2009 年 10 月 17 日、山口

② 藤原純子ら、DNase I exon 内非同義置換 SNP 検索：酵素性状に及ぼす置換の影響、第 26 回日本法医学会中四国地方会、2009 年 10 月 17 日、山口

③ 藤原純子ら、DNase I exon 内 SNP 検索：アジア人において DNase I Glu 222 Arg のみが多型性を有する、第 93 次日本法医学会総会、2009 年 5 月 14 日、大阪

[図書] (0 件)

[産業財産権] (0 件)

[その他]
なし