

平成 22 年 03 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20790462  
 研究課題名（和文） 新規細胞傷害マーカー・テネイシンC（TN-C）による  
 急性心臓死の病理診断  
 研究課題名（英文） A novel diagnosis of acute cardiac death using Tenascin C (TN-C)  
 研究代表者  
 大津 由紀（OHTSU YUKI）  
 熊本大学・大学院生命科学研究部・技術専門職員  
 研究者番号：90404342

## 研究成果の概要（和文）：

死体血清中 TN-C 濃度を ELISA 法で測定した。死後 48 時間以内 101 例の血清中 TN-C 濃度は 24.0～1,000< ng/ml であり、臨床事例よりも高い事例が多かった。死因、死後経過時間、受傷（発症）から死亡までの時間、および急性炎症マーカーの C 反応性タンパク（CRP）との明らかな相関は認めなかった。炎症過程との関連について、特に急性心臓死が疑われる事例の心筋病理組織所見との相関を検討中である。

## 研究成果の概要（英文）：

Tenascin C (TN-C) was applied to postmortem serum samples and their levels were evaluated in 101 forensic autopsy cases within 48 postmortem hours. TN-C levels were 24.0-1,000< ng/ml in 101 forensic autopsy cases, most of which were quite higher than those of clinical levels. There were no relationship between the TN-C levels and autopsy data, such as cause of death, postmortem interval, agonal period time and serum CRP levels. Histopathology of cardiac tissues regarding their inflammation stages are now progressing.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：テネイシンC（TN-C）、急性心臓死、細胞傷害マーカー、法医診断学

## 1. 研究開始当初の背景

異状死体の死因究明のためには法医解剖率を上げることが最善の方法であり、監察医制度を持たない日本のほとんどの地方都市でも死体解剖保存法に基づく承諾解剖制度を利用した行政解剖が実施されている。しかし、日本における異状死体の解剖率を欧米諸国並みに上げることは現在の人的および経済的状况では不可能であり、大部分の異状死体の検屍検案がいわゆる警察医と呼ばれる一般臨床医に委ねられている。そのために、日本法医学会では死体検案認定医制度を設けて検案に携わる医師のための教育・研修制度の充実を図っている。このような現状の中で、法医解剖出来ない遺体における死因の診断精度を上げるための研究は社会医学としての法医学の重要な責務である。

異状死体の死因診断法としては外表検査に加えて、頭蓋腔内の出血を調べるための脳脊髄液検査や心臓内血液や尿を用いた簡易薬毒物検査などを実施する場合もあるが、ほとんどの場合、死因決定のための科学的な証拠を得られる場合は極めて希である。特に、外表所見のない内因性急死の中で心臓関連死を診断することは極めて困難である。最近の臨床医学における各種臨床検査法の発展には著しいものがあるが、死体検案における死因推定のための検査法についての研究は不十分である。

法医解剖の内の行政（承諾）解剖が年々増加するに伴って内因性急死の症例も増え、従来の病理組織学的検査や一般的な臨床検査に加えて臨床各科で有用な新たな臨床検査マーカーや画像診断などのデータが法医学領域における病理診断にも活用されている。

しかし、法医解剖のご遺体の場合、死後変

化の影響の検討を免れることができなく、また試料の採取や検査は剖検時に1回のみしか実施できないことから、その評価には臨床とは異なった視点からの検討が必須であり、種々の困難を伴うものである。

ところで、法医学領域において、内因性急死の約7割が心臓死であると言われている。急性心臓死、特に急性心筋梗塞の診断は重要であるが、急死の場合には、急激な発症の後における急激な死の経過を辿ることが多いために非常に診断が困難である。

心筋梗塞の臨床診断では、心筋傷害マーカーである心筋トロポニンT（cardiac Troponin T; cTnT）が繁用されている。健常者の血液中cTnTは0.06ng/ml以下と極めて微量であるが、急性心筋梗塞では通常の30~300倍の高い濃度に上昇するので、簡易で迅速なcTnT検出キットが開発され、臨床の現場における心筋梗塞の診断に繁用されている。それを受けて、同検査キットを死体検案における死因診断に応用する試みが行われているが、現段階ではcTnT検出キットを安易に死体血に応用することには大きな問題が考えられた。実際に、本研究者は、死体血における心筋トロポニンT検査キットの反応性について検討したところ、心筋梗塞だけでなく、死亡過程（死戦期）における心筋虚血に伴う二次的な心筋傷害や心筋の死後変化によってもcTnTが陽性となることを明らかにした。

そこで、cTnT以外で、急性心臓死の死因診断の新規のエビデンスと成り得る心臓に関する新たな臨床検査マーカーがないか検索していたところ、細胞外マトリックス糖蛋白の1つであるテネイシンC（Tenascin-C;

TN-C) を研究のターゲットとするに至ったものである。

臨床各科において各種疾患の診断に様々な臨床検査マーカー測定が応用されている。心筋傷害の指標として代表される臨床検査マーカーとして cTnT、心筋型脂肪酸結合蛋白(human heart fatty acid binding protein; H-FABP)、脳性ナトリウム利尿ペプチド(brain natriuretic peptide; BNP)、心筋由来クレアチニンキナーゼ(CK-MB)、乳酸脱水素酵素(LDH)などがあり、また炎症の指標としての C 反応性蛋白(C-reactive Protein; CRP)などが挙げられる。これらのマーカーを単独または複数の測定を組み合わせることによって精度の高い評価が可能となる。特に、循環器内科領域では急性心筋梗塞(Acute Myocardial Infraction; AMI)や急性・慢性の心不全などの臨床診断と病態(予後予測)診断に有用な臨床検査マーカーとして、近年では cTnT が極めて有用であるとされ、また最近では TN-C が AMI の新たな予後(左室リモデリング・心イベントなど)予測に有用な臨床検査マーカーとして報告されている。

しかし、現在のところ、法医学領域において、その TN-C の濃度測定や免疫組織化学染色、mRNA の RT-PCR などにより心筋梗塞などの死因診断に応用した研究は無く、これが法医学領域における心筋梗塞の早期診断マーカーとして応用できれば、急性心筋梗塞や急性循環不全などの死因を「EBM (evidence based medicine) に基づいた診断」として、法医解剖は勿論のこと、内因性急死した異状死体の検屍・検案にも多いに貢献するものである。

なお、TN-C の研究では、それ自体の発現に疾患(臓器)特異性はないものの、発現した場合には必ずどこかの臓器・組織に組織障害や炎症が起こっていることを報告してい

る。TN-C は細胞外マトリックス糖蛋白の 1 つであり、正常な心筋には発現しなく、また疾患特異性はないものの、AMI の様な病的な心筋における組織傷害と炎症の活動期や創傷治癒におけるコラーゲン線維形成に先行して一過性に限局した部位に発現する臨床検査マーカーである。

さらに、TN-C は、甲状腺腫瘍の種類(乳頭線癌、髄様癌、未分化癌など)を調べる目的で、腫瘍組織中の TN-C の mRNA をそれぞれの Primer を用いた RT-PCR (reverse transcription)で検討するなど、臨床の現場では腫瘍性疾患への応用が期待されている臨床検査マーカーでもある。

## 2. 研究の目的

近年、循環器内科領域では AMI や急性・慢性の心不全など臨床診断と病態(予後予測)診断に有用な臨床検査マーカーとして、「cTnT」が極めて有用であるとされ、また最近では細胞外マトリックス糖蛋白の 1 つで、組織傷害・炎症マーカーである「TN-C」が急性心筋梗塞の新たな予後予測(左室リモデリング・心イベントなど)に有用な臨床検査マーカーとして報告されている。もし、この TN-C が法医学分野においても応用できれば、急性心筋梗塞などの急性心臓死をエビデンスに基づいた死因診断として、法医解剖は勿論のこと、内因性急死した異状死体の検屍・検案にも貢献するものである。

そこで、この TN-C が法医学分野で応用できる「新規心筋細胞傷害マーカー」となり得るか否かを明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

熊本大学法医学分野において、法医解剖時に採取された死後経過時間 48 時間以内の症例 101 例について、心臓血血清中の TN-C 濃度について ELISA 法にて測定した。

また、年齢、性別、死後経過時間、死戦期及び死因などとの関係について検討した。

#### (1) ELISA 法による心臓血血清中 TN-C 濃度及び EIA 法による CRP 濃度の測定

心臓血血清中の TN-C 濃度を ELISA 法の「Human Tenascin-C Large (FN -C) Assay Kit-IBL、免疫生物研究所 IBL 社製」を、同血清中の CRP 濃度を EIA 法の「ニコカード CRP、LMS 社製」を用いて、それぞれ濃度を測定した。

#### (2) 検査結果と総合評価

で測定した各濃度の検査結果について、年齢、性別、死後経過時間、死戦期及び死因などとの関係について検討した。

### 4. 研究成果

死後経過時間 48 時間以内の法医解剖症例 101 例のうち、男性 64 名(63.4%)女性 37 名(36.6%)で、年齢 0.1 ~ 93 歳(53.8 ± 21.8 歳、median;58.0 歳)であった。内因死 54 例、外因死 47 例)の心臓血血清中の TN-C 濃度を ELISA 法で測定し、また合わせて同症例の CRP 濃度についても EIA 法にて測定を行った。それらの測定値と死因(図 1)、死後経過時間(21.2 ± 10.8h、median; 20.0h)(図 2) 受傷(発症)から死亡までの時間などとの関連について検討した。

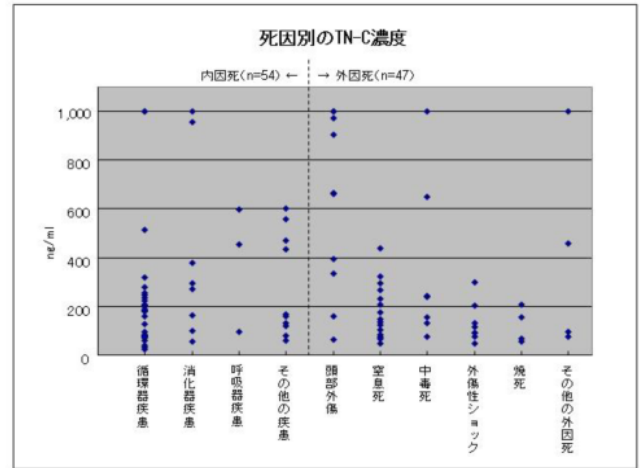


図 1. 死因別の TN-C 濃度の関係

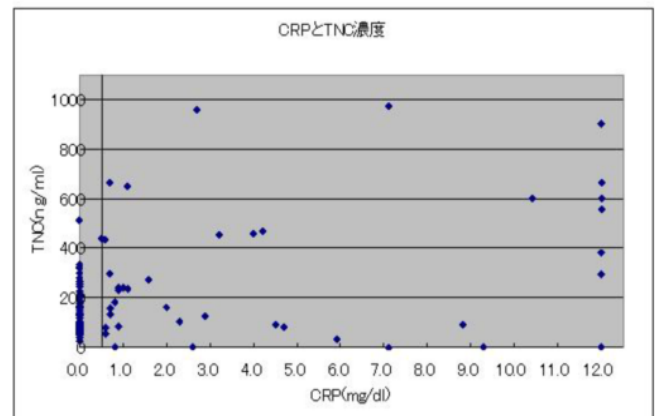


図 2. CRP 濃度と TN-C 濃度の関係

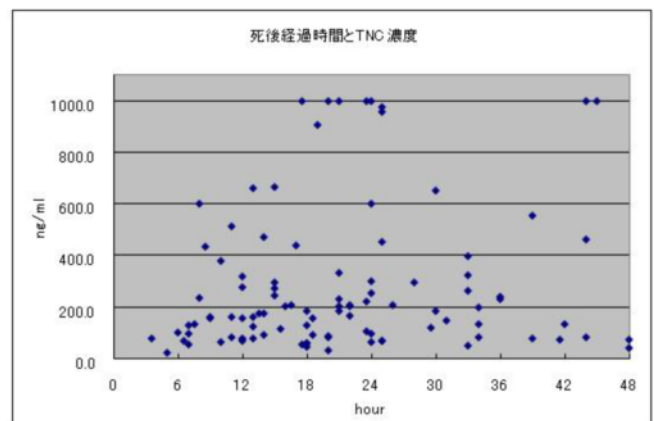


図 3. 死後経過時間と TN-C 濃度の関係

これまでに死体血における TN-C 濃度測定や検討を行った報告は無く、健常人血清中の TN-C 濃度は 23.4 ~ 74.8ng/ml と報告されている。今回測定した 101 例の心臓血血清中 TN-C 濃度は 24 ~ 1,000<ng/ml ( 281.9 ±278.5 ng/ml、median ; 162.0ng/ml ) であり、何れも健常人血清中より高値を示す症例が多かった。

死因を内因死、外因死の 2 つに大別し、さらに内因死を循環器疾患 ( n=31、215.9 ± 232.9ng/ml、median;182.6 ng/ml )、消化器疾患 ( n=8、402.7 ± 371.0ng/ml、median;284.1ng/ml )、呼吸器疾患(n=3、382.8 ± 259.5 ng/ml、median; 453.4ng/ml)、その他の疾患(n=10、163.4 ± 278.6 ng/ml、median; 211.5ng/ml)及び外因死を頭部外傷(n=10、665.0 ± 616.3ng/ml、median;358.2 ng/ml)、窒息死(溺死を含む)(n=16、141.5 ± 174.8ng/ml、median;111.0ng/ml)、中毒死(n=7、237.7 ± 356.2ng/ml、median; 340.7ng/ml)、外傷性ショック死(n=8、104.4 ± 131.9ng/ml、median;82.0ng/ml)、焼死(n=4、112.7 ± 121.6ng/ml、median;72.8 ng/ml)、その他の外因死(n=4、277.4 ± 407.7ng/ml、median;432.6ng/ml)であった(図1)。

また、死体血でも比較的安定であると報告されている CRP 濃度も合わせて測定したが、CRP 濃度 TN-C 濃度間に有意な相関関係はなく(図2)血清中 TN-C 濃度に大きな影響を与えると考えられる死後経過時間においても有意な相関関係はなかった(図3)。また、死因受傷(発症)から死亡までの時間については特徴的な傾向を見いだすことができなかったが、縊死および溺水などの死亡までの時間が短時間の症例では他の症例に比べて低値を示した。但し、何れの症例も健常人血清中よりもほぼ高値であり、何らかの死

後変化の影響が考えられ、死体血においては TN-C 測定値そのものでは心筋傷害の指標として用いられないことが明らかになった。

今後も継続してデータを解析し、心筋組織の免疫組織化学染色法や心筋からの TN-C の mRNA 検出など、TN-C 更なる応用の検討が必要である。

## 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 )

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

大津 由紀 ( OHTSU YUKI )

熊本大学・大学院生命科学研究部・技術専門職員

研究者番号 : 9 0 4 0 4 3 4 2