

令和 6 年 5 月 10 日現在

機関番号：17201

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17327

研究課題名(和文) 寒冷暴露時におけるコルチゾールの生理学的意義と凍死診断マーカーへの応用

研究課題名(英文) Physiological significance of cortisol during cold exposure and its application as a diagnostic marker for Hypothermia

研究代表者

池田 知哉 (Ikeda, Tomoya)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：10620883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：寒冷暴露(凍死)は特徴的所見に乏しく判定が困難な症例も多い。本研究目的は、「寒冷暴露に伴うコルチゾールの病態生理学的意義」を調べ、コルチゾールの動態が寒冷暴露の診断マーカーとなり得るか明らかにし、法医学上の凍死診断の一助とすることである。
血中コルチゾールを測定し各死因群を比較すると、凍死群では明らかにコルチゾール高値の結果が得られたことからコルチゾールの測定は凍死診断において有用であることを明らかにした。また、凍死時にコルチゾールが上昇する生理学的機序の一部について明らかにするとともに胃粘膜病変にコルチゾールが関与している可能性について示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、寒冷暴露に伴うストレス反応と、他のストレス要因に対する反応時のコルチゾールを定量的に比較評価することで、コルチゾールの上昇が特異的所見のない凍死の新たな客観的な診断基準の1つになることを明らかにできたことで、社会的意義としての死因鑑定精度の向上が期待できる。また、コルチゾール上昇の生理学的機序を検討し、胃粘膜出血にコルチゾールが関与している可能性を示唆することができたことで、法医診断的意義のみならず、臨床医学分野における低体温に伴う胃粘膜異常や免疫系異常の病態解明にも役立つものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Many cases of death due to cold exposure (hypothermia) are difficult to diagnose due to lack of characteristic findings. The purpose of this study was to investigate the pathophysiological significance of cortisol associated with cold exposure' and to clarify whether the dynamics of cortisol can serve as a diagnostic marker for cold exposure, and to assist in forensic diagnosis of freezing death.
When we measured blood cortisol and compared the cause of death groups, we found that cortisol levels were clearly higher in the death due to hypothermia group, so we concluded that measuring cortisol is useful in diagnosing death due to hypothermia. We also clarified part of the physiological mechanism by which cortisol increases during hypothermia. We also demonstrated the possibility that cortisol is involved in gastric mucosal lesions.

研究分野：法医学

キーワード：コルチゾール 凍死 ACTH 胃粘膜病変

1 . 研究開始当初の背景

これまで寒冷暴露の病理学的診断根拠については、多数の報告があるものの、体液中マーカの指標としては、ケトン体など一部のマーカに限定されている。これまでに、我々は、寒冷暴露時にヒトの下垂体内に空胞形成が認められることを確認し、その空胞内がリン脂質で満たされていることを認めた。これら寒冷暴露に伴う下垂体細胞内のリン脂質の形成は、ストレス細胞である ACTH 細胞を中心に出現していたことから、血中の ACTH を測定したところ、寒冷暴露に伴い血中 ACTH が上昇することを見出した。このことから、副腎皮質におけるコルチゾールが寒冷暴露に伴い変化することが予測される。しかし、寒冷暴露に伴う血中のコルチゾールと寒冷性の関与について検討された報告はない。そこで、今回我々は、各部における血液中の、ACTH およびコルチゾールの測定を行い、寒冷暴露における意義、つまり コルチゾールが寒冷暴露に伴うストレス変化に対して他のストレス反応よりも強く反応するのか、コルチゾールの変化が CRH - ACTH 依存性に起きているのか、コルチゾールの変化が寒冷暴露の肉眼・病理学的変化に関与しているかの3点が本研究の主たる問いである。

2 . 研究の目的

寒冷暴露（凍死）に伴う死亡の原因は、個人的要因（薬物、栄養状態、感染症など）と環境要因（温度・湿度）からなり、凍死は特徴的所見に乏しく判定が困難な症例も多い。血液検査による凍死を示唆する所見としてケトン体の上昇がいくつか報告されているが、低栄養などでもケトン体が増加することから栄養状態の乏しい寒冷暴露時の鑑別に適さず、新しい検査法が求められている。一方、これまでに我々は、寒冷暴露時にヒト下垂体内に空胞形成を認めており、ストレスホルモンである ACTH (adrenocorticotropic hormone) の分泌細胞が出現していることを明らかにした。この所見から、副腎皮質におけるコルチゾールが寒冷暴露に伴い変化することが予測される。そこで、本研究では、「寒冷暴露に伴うコルチゾールの病態生理学的意義」を調べ、コルチゾールの動態が凍死（寒冷暴露）の診断マーカーとなり得るかを明らかにし、法医学上の凍死診断の一助とすることを目的とした。

3 . 研究の方法

剖検時、得られたヒト副腎・胃粘膜および体液（左・右心臓内血液、総腸骨静脈血液など）を用いて、病理組織学的検査、血液・生化学的検査、分子生物学的検査を用いて包括的検討を行う。さらに基礎医学的観点から、コルチゾールの変化を ACTH 依存性であるのかを考慮にいれた、本研究の基礎的メカニズムの解析を行うべく、in vitro 細胞培養系を用いた方法で調べる。

生化学的検査

剖検時に採取した左・右心臓内血液および総腸骨静脈血液をから採取した血清を用いて、コルチゾールおよび ACTH の測定を行う。電気化学免疫測定 (ECLIA) 法もしくは酵素免疫測定法 (EIA, ELISA) などのキットを用いて測定し、各死因群間で比較する。

培養細胞実験

樹立された ACTH 分泌細胞株 (AtT20 マウス) およびコルチゾール分泌細胞株 (Y-1) を用い、

共培養法により，低温下における ACTH およびコルチゾール分泌様式を時間経過ごとに観察しその関連性について検討する．また，微細形態学的変化について，小胞体・リボソームを中心に，電子顕微鏡などを用いて検討する．

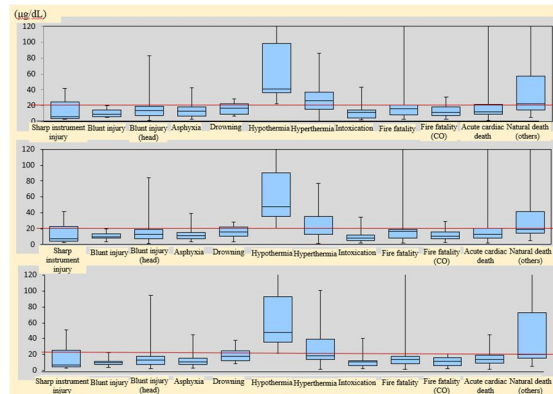
病理学的検査

ホルマリン固定した胃粘膜組織を用いて，パラフィン切片作製後，抗ヒトコルチゾール抗体，抗ガストリン抗体などを用いて免疫組織化学染色を行う．胃粘膜におけるコルチゾールおよびガストリン陽性細胞の局在の変化を調べる．

4．研究成果

(1) ACTH の上昇に伴うコルチゾールの上昇が予測されることから各血液採取部位（左心臓内血液・右心臓内血液・総腸骨静脈血液）におけるコルチゾールの変化について調査を行った．測定されたコルチゾール値は各血液採取部位においてそれぞれ相関関係を認め，採取部位による測定意義の優位性は認められなかった．

また，凍死と判断された症例群 12 例においては，他死因群（鋭器損傷 8 例，鈍器損傷（頭部 2 8 例・その他 9 例），窒息 2 8 例，溺死 1 2 例，熱中症 1 0 例，中毒 9 例，火災関連死 4 5 例，心臓突然死 2 0 例，その他病死 2 0 例）と比較して有意差をもってコルチゾール高値の結果が得られた．以上の結果から，コルチゾールの測定および高値は凍死に診断において新たなマーカーになりうることを示された．



(2) コルチゾールの変化が ACTH 刺激に伴うものなのか，副腎への寒冷暴露ストレスに伴う単独産生であるのかを ACTH とコルチゾールの値との相関性について血中からの測定値および培養細胞を用いて検討した．その結果，ACTH とコルチゾールの値には明らかな相関性は認められなかった．ただし，本結果は，ACTH が分泌され副腎に作用しコルチゾールが増加するまでの時間差や半減期等を考慮すると，ACTH とコルチゾールの関係性について完全に否定できるものではないことから，結果の解釈および新たな研究方法についての検討を継続する必要があるものと考えられた．

(3) 胃粘膜が得られた 182 例の剖検症例（凍死 12 例，鋭器損傷 8 例，鈍器損傷 32 例，窒息 26 例，溺死 11 例，熱中症 9 例，中毒 9 例，火災関連死 41 例，病死 33 例）を用いて胃粘膜に対しコルチゾールおよびガストリンの免疫染色を行い，核および細胞質の染色程度から 4 分類し検討した．その結果，他の死因よりも凍死症例では有意差をもって核および細胞質の両方がコルチゾール免疫染色で強く染色された．ガストリン免疫染色では，低体温死亡例とその他の死因との間に有意差は示されなかった．また，コルチゾールとガストリン染色の間に関連性は観察されなかった．これらの結果から，胃粘膜のコルチゾール染色は低体温死の診断に役立つ可能性があり，ガストリン染色は有用ではないことが示唆された．胃粘膜内のコルチゾールの蓄積は，寒冷暴露に対するストレス反応として分泌が亢進したことに起因すると考えられ，凍死でしばしば認めその原因が不明である胃粘膜の黒色点状出血と関連する可能性はあ

るものの、生理学的機序については不明であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tomoya Ikeda, Naoto Tani, Takaki Ishikawa
2. 発表標題 Examination of the possibility that cortisol and gastrin are involved in the mechanism of Wischnewsky spots
3. 学会等名 International Conference of Indo Pacific Association of Law Medicine and Science (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoya Ikeda
2. 発表標題 The significance of measuring cortisol in hypothermia cases
3. 学会等名 Forensic Sciences Research (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------