

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590601

研究課題名(和文) 蛋白分画波形を用いた栄養管理モニタリングを支援する客観的な指標の構築

研究課題名(英文) Construction of the Nutritional State Using Waveform Patterning of Protein Fraction Data to Support Nutritional Management Monitoring

研究代表者

片岡 浩巳 (KATAOKA, HIROMI)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：80398049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：一般的な検査室で安価に分析可能な蛋白分画検査の波形データを用いて、RTP、炎症蛋白、脂質分画などの組成量を定量レベルで推定できるシステムの構築を行った。これにより、褥瘡発生など、NSTの栄養管理モニタリングに必要とされる情報を的確かつ迅速に提供可能となることが証明できた。一方、これらのシステムの開発過程において、電気泳動分析における泳動条件によって、さまざまな物質の組成スペクトルをパターンとして把握できることが判明した。これらの情報からNST支援のみならず、メタボ健診や前立腺癌の確定診断などの診断支援システムの構築も可能であることが発見された。

研究成果の概要(英文)： A system capable of estimating the amount of rapid turnover protein (RTP), inflammation protein, and lipid fraction at a quantitation level was constructed using waveform data obtained from protein fraction analyses performed at a low cost in standard laboratories. This system provided accurate and prompt information necessary for nutritional management by the nutrition support team (NST), such as the occurrence of bedsores.

During the development of the above-mentioned system, the patterns in the composition spectrum of various substances were determined from the electrophoresis analysis conditions. Moreover, the information not only supported the NST, but also enabled the construction of diagnosis support systems such as those in metabolic syndrome checkup and the definite diagnosis of prostate cancer.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・医療社会学

キーワード：栄養管理モニタリング NST 蛋白分画 キャピラリー電気泳動法 分画波形 検査値推定 前立腺癌

1. 研究開始当初の背景

Nutrition Support Team (NST)による栄養管理を積極的に行うことは、敗血症や褥瘡の発生率を抑制し、外科手術後の治療成績を改善するなどの利点が報告されている。現在、栄養管理の客観的指標として、ALB やリンパ球などが利用されているが、最近になって Rapid turnover protein (RTP)が注目されている。

NST の対象患者は様々な疾患背景があるため、モニタリングすべき検査項目は、RTPに加え炎症蛋白や脂質なども同時に把握すべき検査項目であり、それらの時系列変化を捉え介入することが重要である。しかし、これらの検査項目を頻繁に測定することは経費負担が高く、実施が困難な問題があった。

2. 研究の目的

本研究では、一般的な検査室で安価に分析可能な蛋白分画検査の波形データに注目し、1回の検査で複数の検査情報を取り出すことができる検査の開発を目的とした。

この課題に対し、波形解析技術を駆使して蛋白分画成分以外に、RTP、炎症蛋白、脂質分画などの組成量を同時に定量レベルで推定することができるシステムの開発を目指した。さらに、電子カルテに記録された臨床経過記録との多次元マトリクス関係を解明し、NST の活動を支援するためのシステムを構築し、その有効性を検証することとした。

3. 研究の方法

一般的な臨床検査室で利用されている蛋白分画検査を用い、比較的分析精度の高いキャピラリー電気泳動法の波形情報から、複数の情報を取り出す方法を開発した。

キャピラリー電気泳動法として、臨床検査分野で一般的に利用されている Protein6(P6)と、CZE2000(CZE)による分析法を用いて検討を行った。

(1) データ収集と波形データの正規化

蛋白分画検査の波形生データをオンラインで収集するプログラムを開発し、内部標準物質やプレアルブミン領域までの波形を鮮明にデータ収集できる仕組みを新たに開発し、波形データベースを作成した。さらに、易動度と強度を補正するアルゴリズムを開発した。

健診群 3,000 件および NST による介入がある患者群を含む患者群 7,000 件を測定し、計測生波形データを収集した。さらに、電子カルテに記録された、病歴、薬歴、検査歴を結合後、匿名化処理を加えた研究用データベースを構築した。

収集した計測生波形データに対して易動度と強度を補正した(図1)。内部標準物質として N,N-dimethylformamide (DMF)を添加して測定した波形の易動度を正規化した後、クラスタリングを行い波形パターンのテンプレートを作成した。次に、DMFを添加しない

正規の分析法から得られた波形を Dynamic Time Warping (DTW)アルゴリズムでテンプレート波形とのマッチングによる補正法を確立した。易動度の正規化は、アルブミンのピーク位置を易動度 75 とし、DMF のピーク位置を易動度 300 となるように標準化し、さらに、総蛋白値が 7.0g/dl の時、曲線下面積が 100,000 となるように曲線下面積を補正した。

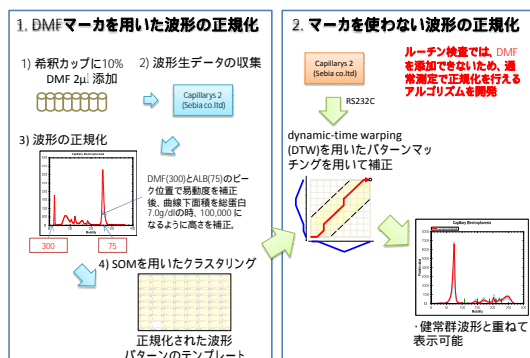


図1. 易動度と強度の正規化

(2) 波形データと検査項目との関係調査

次に、波形と同時に測定された検査データとの関係を、単回帰、あるいは重回帰分析を用いた方法と、診断の有無を目的変数とした多重ロジスティック回帰分析を用いて網羅的に解析を実施して検討した。

(3) 電気泳動の分析条件の違いによる評価

各社の電気泳動法は、緩衝液の組成や泳動電圧、キャピラリー径、測定波長が異なることから、それぞれの分析条件によって、物質の易動度が異なるため、それぞれの測定法に対する特性を明らかにした。

キャピラリー電気泳動装置の P6 および CZE について、易動度と強度を正規化した波形と、同時に測定された他の検査項目と各波形の易動度間の相関を網羅的に調査し、それぞれの波形に潜む特定の物質に関する情報の探索を行った。さらに、同一の緩衝液と泳動条件で、検出波長のみを変更して、200nm と 214nm にて検出可能な物質の違いを評価した。

(4) 褥瘡の兆候検出と推定検査値の関連調査

褥瘡の診断が行われた事例に関して、褥瘡発生イベント日より1週間前から2週間前までに遡った日付に測定した蛋白電気泳動検査による波形データを用いて、ロジスティック回帰および ROC 分析を用いて評価した。

(5) 網羅的解析による知識発見

NST に関係した病歴を含む電子カルテ記録を目的変数として、波形データとの関係について網羅的に ROC 分析を実施し、その特徴について検証を行った。

4. 研究成果

(1) 電気泳動の分析条件の違いによる評価

CZE と P6 について、易動度の正規化を行った波形と、同時に測定された検査値との相関結果を図 2 に示す。脂質成分の LDL と HDL に関しては、全く異なる易動度が検出された。CZE では、HDL が相関係数 0.8 を超える精度でアルブミンと 1 領域の間に検出されていたが、P6 では、アルブミンとプレアルブミン領域の間に位置し、相関係数が 0.5 を下回る結果となった。一方、LDL では、P6 の方が良好で、アルブミンの 1 側のテール領域に位置することが判明した。

この結果から、同じ蛋白分画を 6 分画に分離できる電気泳動法でも、電気泳動の諸条件の違いにより、波形パターンが大きく異なることが解った。

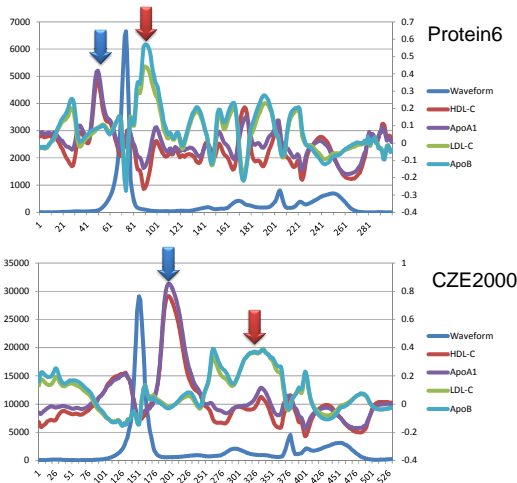


図 2、泳動条件による検出物質の違い

(2) 波形情報と NST 支援検査項目との関係

現在、各検査室で主流に利用されている、P6 を用いた場合の波形データと NST 支援に利用される検査項目との関係についての結果を示す。蛋白分画検査と同時に測定した検査項目を対象に、各易動度との相関係数を求めた。

RBP、preAlbumin、TTR との関係を図 3 に示す。いずれも、プレアルブミン領域に強い相関を示した。一方、TTR では 2 領域に負の相関があり、それぞれの特徴量のパターンにより、RBP と TTR 量の変化を分別して検出できることが示唆された。

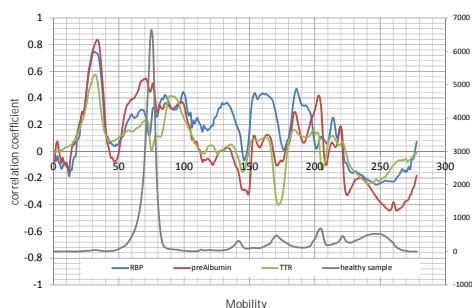


図 3、RBP,preAlbumin,TTR との関係

次に、目的変数を RBP、説明変数を波形の

各易動度の強度として、重回帰分析を実施した。学習データセットとは異なる検証用データセット 50 件を無作為に抽出し、プロットした図を図 4 に示す。RBP の推定モデルの精度は、 $r=0.78$ と良好な成績を得ることができた。

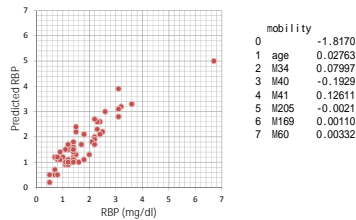


図 4、重回帰分析を用いた RBP の予測

トランスフェリン(Tf)と鉄(Fe)との関係を図 5 に示す。1 領域に強い相関がみられた。Tf と 1 分画の関係は、従来から知られている内容であるが、Fe などの関連物質との相関に関して、易動度が若干異なる興味深い結果が得られた。

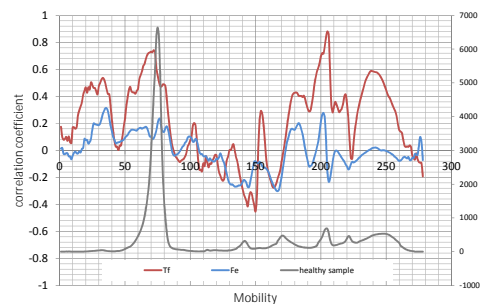


図 5、Tf との関係

この他、NST のモニタリングに必要な項目として、微量元素がある。亜鉛(Zn)と銅(Cu) に関しての関係を図 6 に示す。Zn も Cu も異なる易動度で、高い相関を示す領域があることが判明した。ただし、Zn に関しては、データ数が少なかったため今後前向き研究としての研究計画を作成し検証が必要と考えられた。

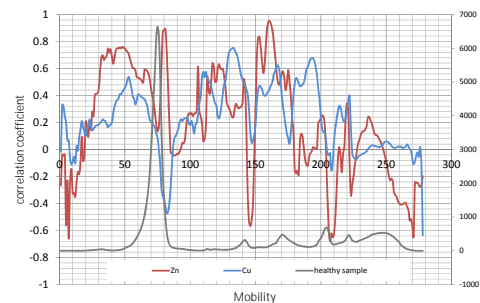


図 6、Zn,Cu との関係

CRP および SAA の炎症蛋白との関係を図 7 に示す。1 分画に高い相関を示し、1 分画に負の相関を示した。P6 では、CRP と SAA のパターンの差が大きくなかったが、CZE では、相関係数が P6 よりも高く、CRP と SAA の

パターンが異なる結果が得られた。

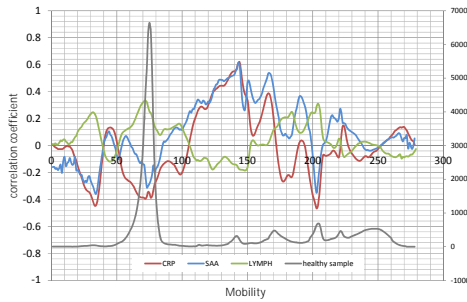


図7、CRP, SAA との関係

(3) 多波長分析による検出分析物のレンジ拡張

緩衝液や泳動電圧が同じ条件でも、検出波長が異なれば、検出できる物質も異なることが予想されたため、多波長分析を用いた場合の分析物のレンジ拡張の優位性の証明を目的とした検討を行った。

P6 について、200nm と 214nm の測定波長で計測した結果と、各易動度の最大相関係数をまとめた結果を表1に示す。各易動度の中で最も良好な相関を示す検査項目について相関係数順に検査名称を示した表である。一般的なルーチン検査では200nmが用いられているが、214nmの方が高い相関を持つ検査項目が多数検出された。一般の蛋白分画検査としては、主要で純粋な蛋白成分の6分画をより明瞭に分離する必要があるため200nmでの検出が有効と考えられるが、波形パターンの多様性を利用して、より多くの物質を把握する検査目的であれば、214nmでの検出あるいは、複数同時波長計測により、より多くの情報を収集した装置を開発することで、多様な物質の検出を一度に行うことができる測定系を作成できることが示唆された。

200nm	MAX(ABS(r))	214nm	200nm	MAX(ABS(r))	214nm
	0.917	IgG		0.573	Ht
IgG	0.913			0.572	Neu
	0.795	UIBC	ApoB	0.567	Hb
	0.787	Glb	RBP	0.565	
Glb	0.783			0.559	ApoB
	0.765	Tf		0.558	PG1
	0.727	IgA		0.558	Anti_Tg
IgA	0.719			0.556	Lym
	0.677	GA(q/dl)		0.555	AbdCirc
	0.651	TP		0.548	IgM
UIBC	0.641			0.548	WBC
TP	0.635		GA(q/dl)	0.525	
	0.614	RBP		0.520	EPO
TTR	0.602		Alb	0.517	
	0.597	TTR		0.515	Fe
	0.596	C3	Tf	0.513	
	0.592	Alb		0.512	C4
	0.591	sTfRIndx	C3	0.505	
	0.573	Bas			

表1、検出波長の違いから見た検出物質

(4) 褥瘡の兆候検出と推定検査値の関連調査

褥瘡の診断イベントが記録された日の1週間前から2週間前までに蛋白分画検査を実施した64件を陽性群とし、褥瘡が発生してい

ない群6,936件を陰性群として、ROC解析を行った。図8に各易動度毎にAUC値をプロットした図を示す。

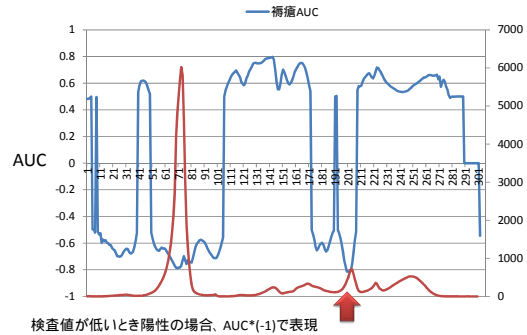


図8、褥瘡発生1週間前の検査診断特性

低値で陽性の場合、AUC値にマイナスとし、高値で陽性の場合、プラスとして表現した。プレアルブミン、アルブミン、1分画付近で良好なAUC値が得られた。さらに、1から2領域にかけて、高値で陽性で高いAUC値が得られた。この結果、炎症と栄養不良の両方のパターンとして同時検出が可能であることを示すことができた。

プレアルブミン、アルブミン、1分画付近の最良の検査診断特性を示す3点についてのROC分析の結果を図9に示す。1分画のTf領域が最も優れた検査診断特性が得られ、さらに、多重ロジスティック回帰分析を用いて、推定モデルを作成した場合は、年齢と易動度114(ALBと1の中間付近)、163(2近傍)、199(1)、216(2近傍)の5つのパラメータを用いることで、AUC=0.88の良好な検査診断特性が得られた。

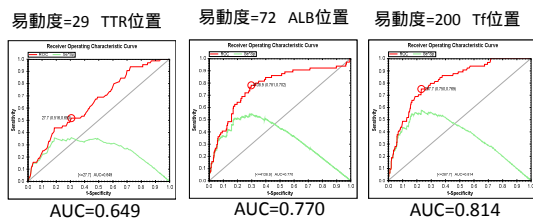


図9、褥瘡発生1週間前の最良易動度におけるROC分析結果

(5) 網羅的解析から発見された意外な検査診断特性

検査あるいは病歴情報と波形データに対して網羅的に関係を明らかにする過程において、前立腺癌と前立腺肥大の鑑別診断が非常に良好に検出できることが発見された。前立腺癌55件、前立腺肥大25件を対象に検証を実施した。

図10に、PSAとF/Tと波形との関係を示す。また、図11に前立腺癌と前立腺肥大の鑑別を目的とした場合の検査診断特性を示す。ROC分析では、一般的に実施されているF/Tが持つ検査診断特性よりも高い

性能を持つ易動度が検出された。NST 関連研究の網羅的解析の中から、研究の副産物として発見された。

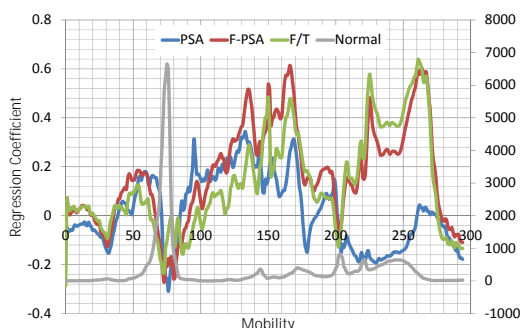


図 10、PSA,F/T との関係

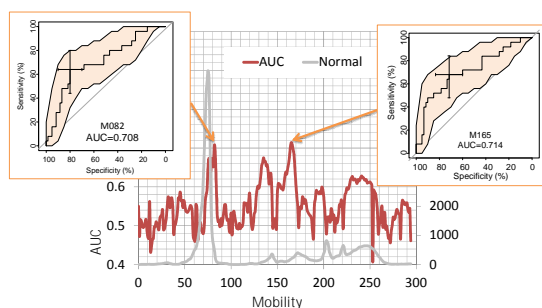


図 11、前立腺癌と前立腺肥大の鑑別診断に
関係する検査診断特性

(6) まとめと今後の展開

一般的な検査室で安価に分析可能な蛋白分画検査の波形データを用いて、RTP、炎症蛋白、脂質分画などの組成量を定量レベルで推定できるシステムの構築を行った。これにより、褥瘡発生など、NST の栄養管理モニタリングに必要なとされる情報を的確かつ迅速に提供可能となることが証明できた。また、前立腺癌と前立腺肥大の鑑別診断にも利用できることが判明した。

今回の研究では、蛋白分画検査の実施期間が短期であったため、NST モニタリングに必要な長期的な時系列変化の解析ができなかった。また、微量元素の Zn の間接的な検出の可能性が得られたが、Zn の検査数が少なかった点と、Zn 検査は、検体のサンプリングが特殊なため、改めて前向き研究としての検証実験を立案して実施する計画である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

片岡浩巳、データ 2 次利用の視点から見た臨床検査情報の活用、検査と技術、医学書院、Vol.40, No.3, pp209-213, 2012. (査読無)

片岡浩巳、畠山豊、奥原義保、杉浦哲朗、情報技術を駆使した日常検査データからのエビデンスの探索、臨床病理、60(7)、pp698

-706、2012. (査読無)

〔学会発表〕(計 6 件)

片岡浩巳、榊徹、鎌田雅行、斉藤邦明、山本康子、山田南実、矢部邦章、久原太助、畠山豊、奥原義保、執印太郎、杉浦哲朗、蛋白分画波形データを用いた前立腺癌と前立腺肥大症の検査診断特性、日本臨床検査自動化学会 第 45 回大会、パシフィコ横浜、横浜、2013.10.10-12

H. Kataoka, T. Sakaki, M. Kamada, K. Saito, Y. Yamamoto, K. Yabe, T. Hisahara, Y. Hatakeyama, Y. Okuhara, T. Shuin, T. Sugiura, Differentiating prostate cancer and prostatic hyperplasia by using capillary electrophoretic protein profiles, AACC, Houston, USA, 2013.7.28-8.1

片岡浩巳、畠山豊、岡田一真、高杉壮一、後藤祐介、石橋知明、大友和則、奥原義保、診療データベースの全組み合わせから計算した診断能データベースシステムの構築、第 31 回医療情報学連合大会、鹿児島産科イoyalホテル、鹿児島、2012.11.22

片岡浩巳、榊徹、久原太助、小倉克巳、畠山豊、奥原義保、杉浦哲朗、蛋白分画波形パターンを用いた栄養管理モニタリングの有用性、日本臨床検査自動化学会第 44 回大会、パシフィコ横浜、横浜、2012.10.11-13

H. Kataoka, T. Sakaki, T. Hisahara, Y. Hatakeyama, Y. Okuhara, T. Sugiura, Assessment of the nutritional state using waveform pattern of protein fractionation analysis, AACC, Los Angeles Convention Center, Los Angeles, USA, 2012.7.15-19

片岡浩巳、榊徹、桧垣宏美、久原太助、畠山豊、奥原義保、杉浦哲朗、臨床診断病名と血清蛋白分画波形の診断特性マトリクス関係の解明、第 43 回日本臨床検査自動化学会大会、パシフィコ横浜、横浜、2011.10.8

〔産業財産権〕

出願状況 (計 2 件)

名称：医療意思決定支援データベースおよび医療意思決定支援方法

発明者：片岡浩巳、畠山豊、奥原義保

権利者：国立大学法人高知大学、株式会社エイアンドティー

種類：特許

番号：2012-220076

取得年月日：2012 年 10 月 2 日

国内外の別：国内

名称：前立腺癌の鑑別診断に用いるためのデータベースおよび方法

発明者：片岡浩巳、杉浦哲朗

権利者：国立大学法人高知大学、株式会社エイアンドティー

種類：特許

番号：2012-249084

取得年月日：2012 年 11 月 15 日

国内外の別：国内

6 . 研究組織

(1)研究代表者

片岡 浩巳 (KATAOKA HIROMI)
高知大学・教育研究部医療学系・助教
研究者番号：80398049

(2)研究分担者

奥原 義保 (OKUHARA YOSHIYASU)
高知大学・教育研究部医療学系・教授
研究者番号：40233473

杉浦 哲朗 (SUGIURA TETSURO)
高知大学・教育研究部医療学系・教授
研究者番号：50171145

久原 太助 (HISAHARA TAISUKE)
高知大学・医学部附属病院・臨床検査技師
研究者番号：80457407