

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年4月29日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659846

研究課題名（和文） 集中治療患者の重症度診断リアルタイム・バイオマーカーの創出と診断機器開発研究

研究課題名（英文） Studies on real-time biomarker of illness severity in the patients of critical illness and development of the diagnosis machine

研究代表者

木戸 博 (KIDO HIROSHI)

徳島大学・疾患酵素学研究センター・教授

研究者番号：50144978

研究成果の概要（和文）：集中治療患者の重症度診断リアルタイム・バイオマーカーとして、血液中の lactate/ATP ratio (ATP-lactate energy risk score) を見出し、これまで世界で使用されてきた重症度マーカーの APACHE II よりも迅速で簡単な判断方法であることを見出した。

研究成果の概要（英文）：Blood ATP levels and lactate/ATP ratio are sensitive, real-time and easy to measure prognostic biomarkers of mortality at the time of the intensive care unit admission.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

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：集中治療室、ATP、乳酸、重症度、リアルタイム・バイオマーカー、予後判定、エネルギー代謝、代謝障害

1. 研究開始当初の背景

救急医療では疾患重症度をリアルタイムに示すバイオマーカーが、患者の仕分け、集中治療室での治療法の適否判定で求められている。生命体のバイアビリティはATP量と深く関係しており、呼吸による酸素の全て、栄養素の大部分が大量のATP産生に使用され、ATP量は細胞のバイアビリティに応じてリアルタイムに変化する。各種疾患のエネルギー代謝研究から、ATP産生低下時に体内に溜まる血中乳酸値とATP値を合わせて評価する新規バイオマーカー「ATP-Lactate Energy Risk Score, A-LES値（乳酸値/ATP値）」が極めて有効な指標であることを見出した。

実際に災害現場や集中治療室では、患者の重症度を正確にリアルタイムに測定する装置が待ち望まれているが、20年前に改訂版が出たAPACHE IIスコアに頼っているのが現状である。これはバイタルサインと医師が捕らえる患者の症状を点数化して指標にしている

が、刻々と変化する患者の重症度をリアルタイムに把握する指標とは言えないため、医療現場ではリアルタイム・リスク診断バイオマーカーが強く望まれていた。

なお研究過程では、以下の問題に遭遇してこれまでに取組んできた。①現在市販されているATP測定キットはいずれも細胞、組織からのATPの抽出効率が悪く、正確にATP量を測定できていない。②血液ATP濃度の正常値の報告、重症度との関係を示すデータは無く、新規バイオマーカーとして正常値を正確に把握する必要がある。

2. 研究の目的

申請者等は、代謝学を背景に長年インフルエンザの重症化機序の解析を続けてきたが、糖尿病を含めて、エネルギー(ATP)産生系に何らかの障害を持つ体質が重症化の背景にあることを突き止め、乳酸値/ATP値(A-LES値)が正確なバイオマーカーとして働くことを見出

した。本プロジェクトでは、新規バイオマーカー、A-LES 値の正常値の検索し、A-LES 値のリアルタイム・リスク診断バイオマーカーとしての有用性を各種疾患で検証する。具体的には以下の3項目の目的を設定して研究を実施した。

(1) 新規バイオマーカー、A-LES 値の正常値の検索：乳幼児、幼児、成人、高齢者(男女)の正常値を各群約100名を目標にデータ収集する。成人、高齢者については、平成22年度中に終了する予定で、目標とするデータを平成23年度内に収集する。

(2) A-LES 値、ケトン/ATP 値のリアルタイム・リスク診断バイオマーカーとしての有用性を、平成24年度末までに各種疾患で検証する。(3) ATPの抽出効率を改良したキットの開発を実施(特許PCT/JP2009-51364)して、業者に市販を委託している。この技術を背景に、ベッドサイドでATPを測定するポータブルタイプの測定装置の開発への取組を実施する。さらにすでに開発されている迅速乳酸測定装置と一体化した装置についても考案する。

3. 研究の方法

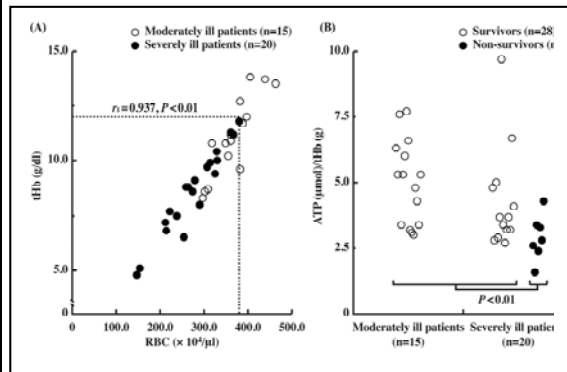
集中治療室で、患者の病態をリアルタイムに判定する方法として、生体のバイアビリティの根源的指標であるATPに注目した研究を3項目実施する。(1)リアルタイム・バイオマーカーの創出：検体の収集し易い末梢血を材料に、ATPレベルと代謝障害時に蓄積される各種生体物質、例えば乳酸、ケトン体、その他、と組み合わせ、疾患の病態と理論的に関係付けられるリアルタイム・バイオマーカーを創出する。(2)迅速診断型ATP測定キットと機器の開発：ATP量を正確に測定する改良型ATP測定キットを作成(特許/JP2009-51364)して、市場に出したことから、血液、組織のATP量を標準化する準備ができています。本研究ではこの成果を基盤に、ベッドサイドでATP測定できるキットと装置を、企業と開発する。(3)適応疾患の選択と重症度スコアの確定：疾患の病態を理論的に説明するリアルタイム・バイオマーカーでなければならないことから、適応疾患を選択して重症度との関係を明らかにする。年齢別正常値を決定する。

A-LES 値については、乳幼児、幼児、成人、高齢者(男女)の正常値の測定を完了させる。また各種感染症、肺血症、糖尿病を含めた各種代謝病、呼吸不全により酸素供給が低下する疾患、高熱持続性疾患などについて、疾患別リアルタイム・バイオマーカーを想定して、個々の疾患でA-LES値の重症度スコアを設定できるかを検討する。

4. 研究成果

(1) 血液の乳酸値、ATP 値、A-LES 値の正常値の調査

0歳～92歳の男女155名からなる母集団で調査を実施した。その結果、ATP値は60歳以後の低下する傾向が見られたが、全年齢を通して有意差は無く、男女差も見られなかった。また採血部位の末梢血、中心静脈血、動脈血間でのATP、乳酸値に変化は無かった。血液中のATPはほとんど赤血球に由来するため、その量はヘモグロビン値と並行関係にあり(図1A)、患者の重症度(中等度重傷者と重度重傷者、死亡例)は、ヘモグロビンを分母にした血液中のATP量



がよく表している。

図1、血液中のATP量とヘモグロビン値(A)、患者の重症度と血液中のヘモグロビン値当たりのATP量

次に、患者の重症度と血液中のATP値、A-LES値の比較を実施した。図2に示すように、患者の重症度をA-LES値で示すことで、ATP値でしめすよりもより鮮明に重症度が表され、集中治療室から退室した患者は全例でA-LES値の低下を、重症化して死亡した患者は、全例でA-LES値の著名な増加を観察できた。この現象は、例外は無かった。

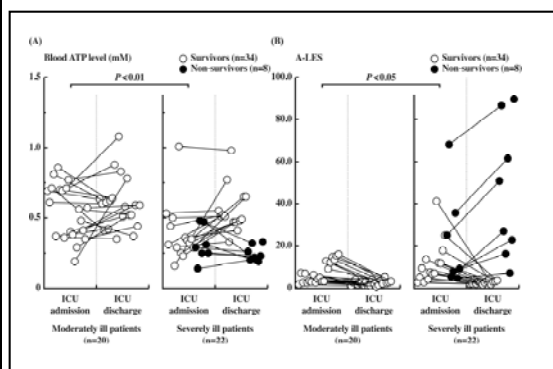


図2、集中治療室への入室時と退室時の患者の重症度をATP値(A)、A-LES値(B)で表す。

(2) 各種の重症化患者でのリアルタイム・バイオマーカーとしてのA-LES値の評価

各種の重症化患者でのリアルタイム・バイオマーカーとしてのA-LES値をAPACHE IIスコアと

比較して、有用性を検証した。集中治療室へ入室時と退出時のそれぞれのスコアの変化を、生存者と死亡例に分けて図3に示した。図3(B)で示すように、APACHE II スコアに比べて A-LES 値は大きく変動しており、リアルタイム・バイオマーカーとして有益であることが分かる。さらに図3(A)に示すように、検査項目が20を超える APACHE II に比べて、血液の乳酸値、ATP 値だけで、APACHE II に匹敵する予後判定ができることが Receiver operating characteristic (ROC) curve 解析から明確となった。ROC 解析は患者の予後を判定する解析方法で、20 項目に及ぶ APACHE II の解析結果と、わずか ATP と乳酸値のみを測定した値が匹敵することは注目に値する。

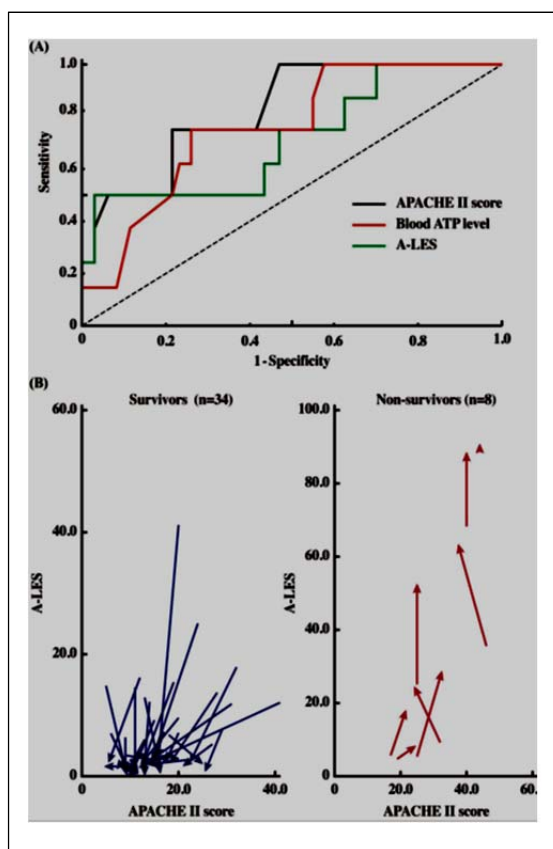
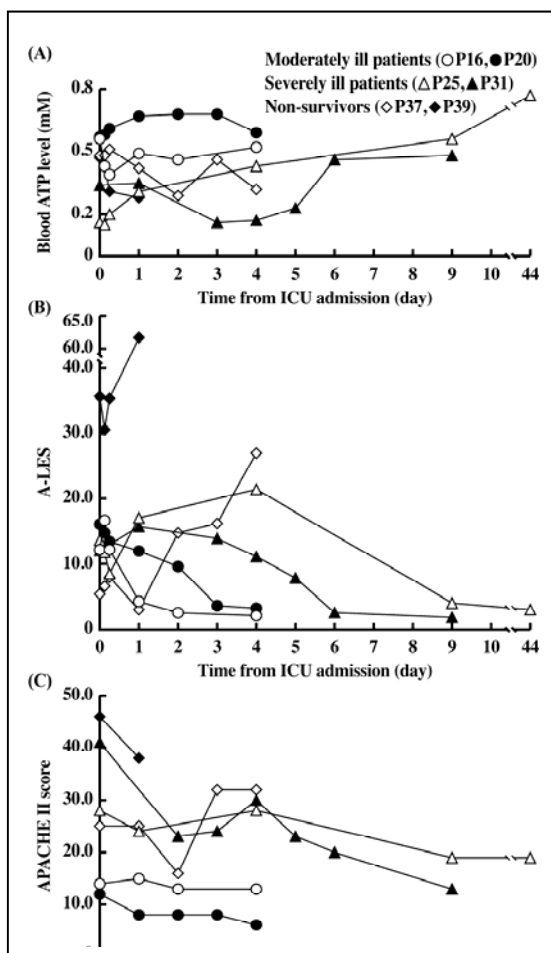


図3、APACHE II、血液 ATP、A-LES レベルの ROC 解析 (A)、APACHE II、A-LES 値の集中治療室への入室時と退室時の各スコア 1 の変化 (B)。

次に集中治療室に滞在している間の患者の重症度の変化をリアルタイムに表すマーカーを検索する目的で、APACHE II、血液 ATP、A-LES レベルの変化を追跡調査した。解析は、中等度重症患者、重症患者、死亡例患者の3群に分けて、それぞれの代表的患者を例に上記の3つのパラメーターで追跡調査を実施した。A は ATP 量で追跡調査を、B は A-LES で追跡調査を、C は APACHE II で追跡調査を実施した結

果である。図4に示すように、検討したこれらのパラメーターの中で A-LES 値が最も敏感に患者の重症度を反映するリアルタイムマ



カーであることが明らかになった。

図4、集中治療室に滞在している間の患者の重症度を反映するリアルタイムマーカーを検索した。評価は、中等度重症患者、重症患者、死亡例患者の3群に分けて APACHE II、血液 ATP、A-LES レベルで解析した。

以上から、A-LES 値は APACHE II に代わる簡便で敏感なリアルタイムマーカーとして、集中治療における患者の重症度診断に有用と判定した。

発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 3 件)

- ① Junji Chida, Rie Ono, Kazuhiko Yamane, Mineyoshi Hiyoshi, Masaji Nishimura, Mutsuo Onodera, Emiko Nakataki, Koichi Shichijo, Masatomi Matushita and Hiroshi Kido. Blood lactate/ATP ratio, as an alarm index and real-time biomarker in critical

illness. PLoS One 査読有、8(4),
2013,e60561.Doi:10.1371/journal.pone.0
060561

- ② Junji Chida, Kazuhiko Yamane, Tunetomo Takei, and Hiroshi Kido. An efficient extraction method for quantitation of adenosine triphosphate in mammalian tissues and cells. 査読有、Anal. Chim. Acta. 21(728)、2012、8-12.
- ③ Hai-Yan Pan, Hirotsugu Yamada, Junji Chida, Siye Wang, Mihiro Yano, Min Yao, Jianhua Zhu, and Hiroshi Kido. Upregulation of ectopic tyrosins in the myocardium by influenza A virus infection triggers acute myocarditis. Cardiovasc. Res. 査読有、89(3)、2011、595-603.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計3件)

①名称：病気の重症度の検査方法
発明者：木戸 博、西村 匡司、千田 淳司
権利者：徳島大学
種類：特許
番号：PCT/JP2011/002979
出願年月日：平成23年5月31日
国内外の別：国外

②名称：熱中症
発明者：木戸 博
権利者：応用酵素医学研究所株式会社
種類：特許
番号：特願2011-147227
出願年月日：平成24年7月1日
国内外の別：国内

③名称：熱中症に対する発症感受性や発症耐性の判定方法
発明者：木戸 博
権利者：応用酵素医学研究所株式会社
種類：特許
番号：PCT/JP2012/004209
出願年月日：平成24年6月28日
国内外の別：国外

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ier.tokushima-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木戸 博 (KIDO HIROSHI)

徳島大学・疾患酵素学研究センター・教授

研究者番号：50144978

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

西村 匡司 (NISHIMURA MASAJI)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：10172701

千田 淳司 (CHIDA JUNJI)

徳島大学・疾患酵素学研究センター・助教

研究者番号：20437651

