

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：35309

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460865

研究課題名(和文) CBC検査の白血球粒度分布パターンを用いた感染制御支援システムの構築

研究課題名(英文) Construction of infection control support system using leukocytes differential scattergram pattern of CBC

研究代表者

片岡 浩巳 (Kataoka, Hiromi)

川崎医療福祉大学・医療福祉マネジメント学部・教授

研究者番号：80398049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：「MRSA感染症における白血球粒度パターンを用いた抗生剤迅速効果判定法」MRSA感染患者への抗生剤の効果判定には、CBCスキヤッタグラムのパターンの差分変化量を見ることで投与後1日目に迅速に判定することが可能となった。

「CBC検査の白血球粒度分布パターンを用いたインフルエンザパンデミックの事前検知」インフルエンザに罹患しやすい患者は白血球スキヤッタグラムのパターンにより分類可能で、さらに、膨大な非発症集団の白血球スキヤッタグラムパターンの変化により、パンデミックの予測が可能となり、効率的な事前予防対策に力を注ぐことが可能となった。

研究成果の概要(英文)：'Rapid post-antibiotic effect assessment by leukocytes differential scattergram in patients with MRSA infection': The variations of scattergram patterns were useful to evaluate the effects of antibiotic therapy early as one day after the administration in patients with MRSA infection.

'Pre-detection of pandemic outbreak of influenza using leukocytes differential scattergram obtained by CBC': We evaluated leukocytes differential scattergram pattern of the white blood cells obtained by commonly performed CBC and applied the results to detect outbreak of influenza using the big data of non-onset population. This study indicated that patients vulnerable to influenza infection could be classified by the leukocytes differential scattergram pattern. Moreover, effective preventive measures against infection could be done by pre-detection of leukocytes differential scattergram pattern in a non-onset population.

研究分野：医療情報学

キーワード：CBC スキヤッタグラム MRSA 抗生剤治療 インフルエンザ パンデミック

1. 研究開始当初の背景

CBC 検査を用いた感染症の診断は、歴史的に古くから研究され、今日では、最も幅広く臨床に利用されている。一般的には、リンパ球や好中球などの白血球の分画値が利用されているため、各分画の白血球細胞の世代分布などの詳細な動きを読み取ることができない問題があった。一方、フローサイト法を用いた CBC 検査では、1 検体あたり数十万個もの細胞の形状を計測しており、これらの膨大なデータを用い、微妙なパターンの変化を捉えることで迅速診断や感染症パンデミックの予防に使える可能性が考えられていた。しかし、データ量が莫大なため、これらのデータを臨床で直接利用することは少なく、研究事例がほとんど無い状況であった。

2. 研究の目的

CBC 検査の計測生データから得られた白血球粒度パターンは、感染等の要因によりさまざまなパターンの変化が生じる。この白血球粒度パターンの特徴に注目し、感染制御に有用な知見の発見と感染制御支援のためのプロトタイプシステム構築を目標とする。具体的には、病院情報システムに蓄積された病歴や薬歴等の情報と、これまで約 60 万検体収集した白血球粒度データとの関係を多角的に解析し、感染症に罹患しやすい患者のパターン導出による予防対策、抗生剤投与の迅速効果判定、インフルエンザ流行の早期検知を課題とする。さらに、得られた知見を検証し、客観的な情報を迅速に提供するシステムを構築する。

3. 研究の方法

(1) MRSA 感染症における抗生剤迅速効果判定法

CBC 検査は、臨床検査の中でも最も頻繁に依頼される検査であり、フローサイト法を用い 1 検体あたり数万個の血液細胞などの粒子成分を計測する。CBC 検査の計測原理を図 1 に示す。フローセルを通過する粒子成分にレーザ光を照射し、通過する際に生じる側方蛍光と側方散乱光から、細胞の種類を同定する方法が用いられている。本研究では、血球計数検査(Sysmex XE-2100)から得られた計測生データの中で、DIFF チャンネルの計測生データを用いた。

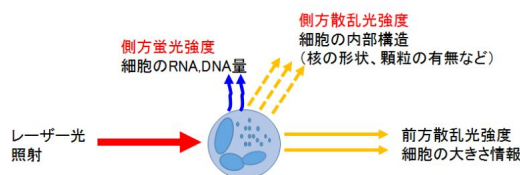


図 1、CBC 検査の計測原理

図 2 に DIFF チャンネルの計測データを 2 次元に展開した 2 次元スキャッターグラムと分類される細胞の位置関係の概要を示す。

DIFF チャンネルでは、リンパ球、単球、好中球、好酸球を分類することができる。一般的な病院情報システムでは、これらの分類後の細胞数のみが報告されるが、本研究では、個々の細胞の特徴を捉えた計測生データを用いた。これにより、各血球の幼若度などの特徴も把握することが可能である。この 2 次元スキャッターグラムをさらに、縦横 32×32 の 1024 区画に分割して、情報量を縮小して解析を実施した。

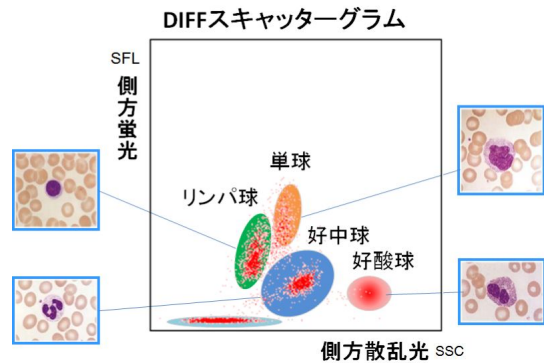


図 2、DIFF チャンネル スキャッターグラムのパターン

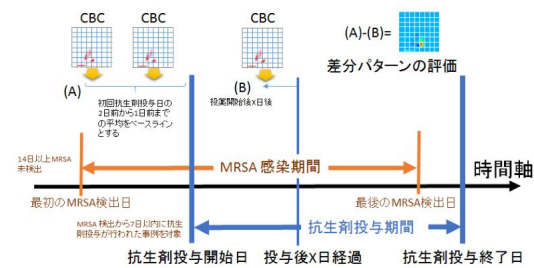


図 3、MRSA 検出と抗生剤投与の条件と差分パターン導出法

抗生剤	患者数
抗MRSA薬	
LZD (Linezolid, ザイボックス)	121
VCM (Vancomycin, パンコマイシン)	335
TEIC (Teicoplanin, タゴシッド)	6
ABK (Arbekacin, ハベカシン)	36
DAP (Daptomycin, キュピシン)	14
MRSAに使用すべきでない抗生剤	
MEPM (Meropenem Hydrate, メロペン)	159
SBT/ABPC (Sulbactam/Ampicillin, ユナシンス)	60

表 1、対象症例の投薬剤と患者数の内訳

図 3 に MRSA 検出と抗生剤投与の条件と差分パターンの導出法を示す。MRSA 検出イベントと抗生剤投与開始イベントの検出は、動的クールイベント検出法のアルゴリズム[1]を用いた。

MRSA が 14 日以内で連続検出された最初の検出イベント日から、7 日以内に抗生剤治療のクールが開始された事例を対象とし、抗生剤治療前と治療後 12 時間後、1 日後、2 日後、

8 日後の白血球粒度データを用いて、それらの時系列的なパターンの変化を解析した。

対象症例の投薬剤と患者数の内訳を表 1 に示す。CBC 検査が投薬開始前後に測定され、抗 MRSA 薬である LZD、VCM、TEIC、ABK、DAP、さらに、MRSA 感染症に使用すべきでない抗生剤 MEPM、SBT/ABPC が選択されてしまった症例について、差分パターンの比較を行った。また、仮に、VCM を選択した患者を成功群、SBT/ABPC を選択した患者を失敗群として、2 群の比較を差分比較と ROC 分析を用いて評価した。

(2) インフルエンザ流行の早期検知

インフルエンザ感染患者に共通した白血球パターン変化の導出

インフルエンザの病名がつけられ、かつ、インフルエンザ迅速抗原検査が陽性と検出されたイベント日を起点とした群を陽性群とし、インフルエンザの病名が無く、なんらかの病名がつけられたイベント日を起点とした群を陰性群とした。それらの、7 日前、3 日前、当日、7 日後、14 日後、30 日後の CBC 検査の DIFF チャンネルの計測生データを抽出後、32 × 32 の合計 1024 個のスカッタグラムマトリクスに展開し、それぞれの検査診断特性を計算した。イベント日の検出法は動的クールイベント検出法[1]のアルゴリズムを用いた。

各マトリクスの検査診断特性の AUC 値に対して、低値の時に陽性の場合マイナス符号、高値の時に陽性の場合プラス符号をつけ、これを AUC マトリクスパターンとして、それぞれの経過時間ごとの変化を可視化した。

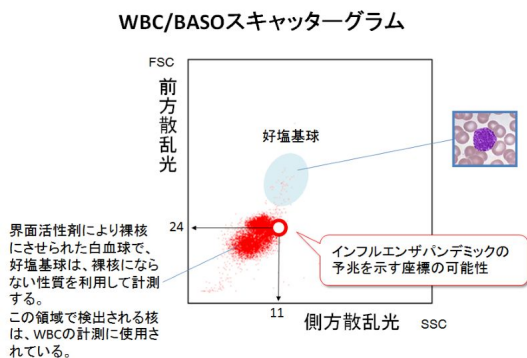


図 4、WBC/BASO チャンネルスカッタグラムにおける細胞出現部位

非発症集団を用いた流行の事前検知

インフルエンザウィルスが検出されることが無く、インフルエンザの病名がつけられてない外来患者群を対象に、CBC 検査の DIFF チャンネルおよび WBC/BASO チャンネル(図 4)の計測生データを抽出後、32 × 32 の合計 1024

個のスカッタグラムマトリクスに展開し、それぞれの時系列変動と、インフルエンザの罹患数が相関するスカッタグラム座標を探索した。

4. 研究成果

(1) MRSA 感染症における抗生剤迅速効果判定法

MRSA 感染症と診断され、投薬剤として VCM (成功群) あるいは SBT/ABPC (失敗群) が選択された場合の投与開始前と、1 日後の DIFF チャンネル粒度パターンを図 5 に示す。各患者の平均値のパターンを比較したが、大きなパターンの違いは観察できなかったため、差分パターンを用いた評価を行った。

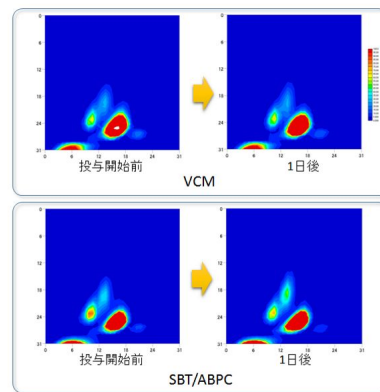


図 5、投薬開始前後の DIFF チャンネルパターン (平均値)

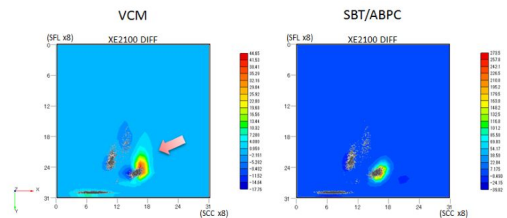


図 6、投薬後 1 日後の差分パターンの変化

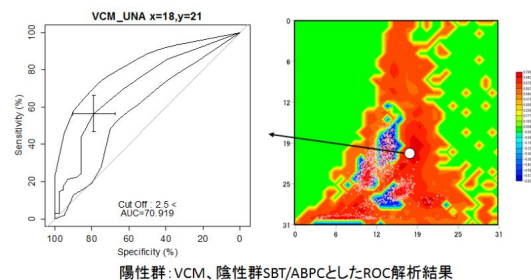


図 7、VCM と SBT/ABPC に対する AUC マトリクスパターン

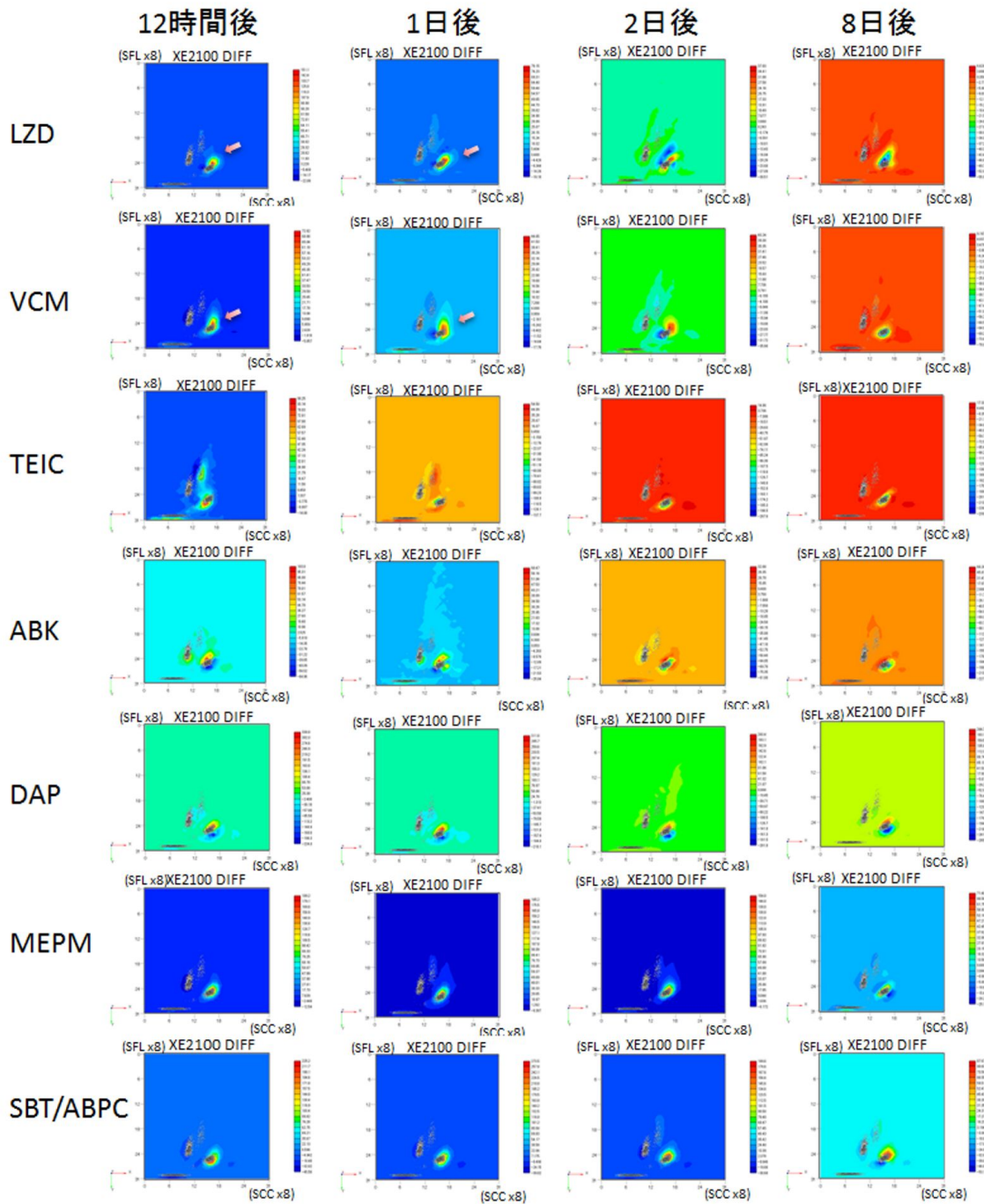


図 8、主要抗生剤の時系列的パターンの変化

各抗生剤投与 1 日後の粒度分布の差分パターンについて、VCM と SBT/ABPC を比較した (図 6)。1 日後の時点で、VCM では、好中球の若い細胞部分が増加したパターンが検出された一方で、SBT/ABPC では、このエリアの増加は認められず、Left Shift の特徴である単一の性状の細胞と考えられる分葉核球エリアの増加のみが認められた。

VCM と SBT/ABPC のパターンの違いについて、ROC 分析とその AUC 値を用いて、AUC マトリクス図を作成して、パターンの変化と情報が多く含まれるエリアの特定を行った (図 7)。X=18、Y=21 座標の ROC 分析では、AUC が 0.71 となった。

主要抗生剤、LZD、VCM、TEIC、ABK、DAP、

MEPM、SBT/ABPC を対象として行った抗生剤投薬後の差分パターンの時系列変化の結果を図 8 に示す。抗 MRSA 薬である、LZD、VCM、ABK、DAP は、投薬開始 12 時間後の時点で、若い好中球の増加の増加が認められ、分葉核球エリアの細胞も上昇し、2 日以降には、治療状態の白血球粒度パターンに推移する傾向が見られた。一方、TEIC に関してはサンプル数が 6 件と極端に少ない症例ではあったが、単球の増加傾向が認められ、他の抗生剤とは異なる動きが観察された。しかし、時系列的な白血球粒度パターンの動きを見ると、最も短期で良好な効果が観察された。

一方、MEPM、SBT/ABPC に関しては、単一パターンの分葉核球のみが優位なパターンが

続き、変化が認められない傾向があった。

(2) インフルエンザ流行の早期検知

インフルエンザ感染患者に共通した白血球パターン変化の導出

各スキャッタグラムマトリクスパターンの時系列的变化を比較したところ、発症7日前と発症30日後のパターンはほぼ同じパターンであり、感染の無い、安定した時期のスキャッタグラムパターンとして認識できる。リンパ球低値と比較的成熟した好中球が低値である傾向があった(図4)。

初回抗原検出日(診断日)の3日前から、リンパ球、単球、赤血球ゴースト、好中球領域が急激に減少する現象が検出された。初回抗体検出日当日では、リンパ球の低下と好中球と単球の増加が認められた。

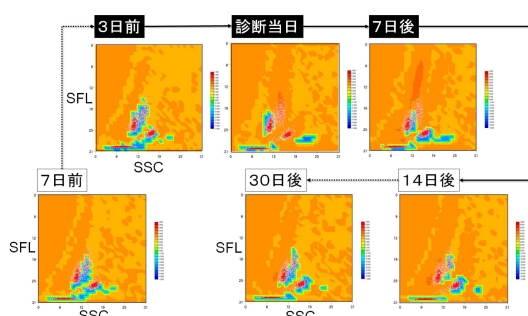


図9、インフルエンザ発症前後のDIFFチャンネルにおけるAUCパターン

非発症集団を用いた流行の事前検知

DIFFチャンネルとWBC/BASOチャンネルの全領域について、網羅的に関係を調べたところ、WBC/BASOチャンネルのSSC=11, FSC=24座標領域が最も相関性が高く、インフルエンザの発症数に同期した変化がみられる領域が確認された(図10)。この領域は、インフルエンザの最も検査診断特性の高い領域の近傍であった。それぞれの座標および、WBC/BASOチャンネルにおけるAUCは、SSC, FSC, AUC=(11, 24, 0.665), (11, 25, 0.652), (10, 24, 0.635), (10, 25, 0.624)であった。これらの座標は、比較的大きな核を持つ白血球領域の細胞であり、DIFFチャンネル側では比較的大きいサイズのリンパ球領域であることが示唆された。インフルエンザに対する最良のAUCは0.6程度であるが、他のウイルス感染症との関連も考慮する必要がある。

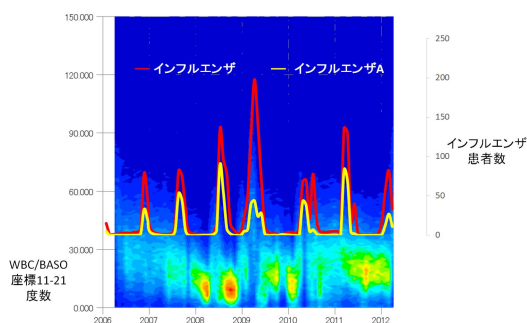


図10、インフルエンザ罹患数と同期する白血球粒度パターンの変化

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)

[雑誌論文](計4件)

1. CBC検査の白血球粒度分布パターンを用いたインフルエンザパンデミック、片岡浩巳、久原太助、畠山豊、奥原義保、松村敬久、杉浦哲朗、医療情報学、36、pp738-741、2016.
2. MRSA感染症における白血球粒度パターンを用いた抗生剤迅速効果判定法、片岡浩巳、畠山豊、奥原義保、久原太助、松村敬久、杉浦哲朗、医療情報学、Vol135、pp680-683、2015.
3. 自動血球計数装置のスキャッターグラムを用いた新たな診断的意義の確立、片岡浩巳、臨床検査、Vol.59, No.2, pp181-187, 2015.
4. 動的クールイベント検出法の開発とその適用事例の性能評価、片岡浩巳、畠山豊、奥原義保、医療情報学、Vol.34、pp316-319、2014.

[学会発表](計5件)

1. CBC検査の白血球粒度分布パターンを用いたインフルエンザパンデミックの事前検知、片岡浩巳、久原太助、畠山豊、奥原義保、松村敬久、杉浦哲朗、第36回医療情報学連合大会、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)、2016/11/24
2. Big Data Analysis in Clinical Laboratories、Hiromi Kataoka、The 10th International Conference of Clinical Laboratory Automation (Cherry Blossom Symposium2016)、Seoul(Korea)、2016/04/22
3. MRSA感染症における白血球粒度パターンを用いた抗生剤迅速効果判定法、片岡浩巳、畠山豊、奥原義保、久原太助、松村敬久、杉浦哲朗、第35回医療情報学連合大会、沖縄コンベンションセンター(沖

縄県・宜野湾市) 2015/11/4.

4. H. Kataoka, Y. Ochi, Y. Hatakeyama, Y. Okuhara, T. Hisahara, Y. Matsumura, T. Sugiura: Rapid evaluation of post-antibiotic effects by leukocytes differential scattergram, ISLH2015, Chicago(USA), 2015/5/20.
5. 動的クールイベント検出法の開発とその適用事例の性能評価、片岡浩巳, 畠山豊, 奥原義保、第34回医療情報学連合大会、幕張メッセ(千葉県・千葉市) 2014/11.

[産業財産権]

取得状況(計 1件)

名称: 治療イベントの効果を比較表示する方法

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: 第6058340号

取得年月日: 2016/12/16

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片岡 浩巳 (KATAOKA HIROMI)

川崎医療福祉大学・医療福祉マネジメント学部・教授

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