

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20334

研究課題名(和文) 頭部外傷における予後予測のためのbiomarkerの検討

研究課題名(英文) Tau protein as a diagnostic biomarker for diffuse axonal injury

研究代表者

富田 啓介(TOMITA, Keisuke)

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80568668

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：DAIは致死率が高く重篤な病態だが急性期の診断方法が確立されていない。神経軸索に存在するタウ蛋白がDAIの早期診断及び重症度評価に有用なバイオマーカーになりうるとの仮説をたてた。DAIモデルラットを用い、DAIの重症度と血清タウ蛋白濃度との関連を明らかにすること。DAIモデルラットは予め定められた高さより重りをラットの頭上に落として作成した。18匹のSprague-DawleyラットをSham群、mild群、severe群の3群に無作為にわけた。DAI作成後60分時点で検体を採取し、血清タウ蛋白濃度を測定した。血清タウ蛋白濃度はDAIの重症度が増すにつれて有意に高値を示した。

研究成果の概要(英文)：DAI is a severe TBI, associated with poor outcome whose mortality exceeds 40%. However, diagnostics of DAI has not yet been established, especially in the early phase after injury. We hypothesized that serum level of tau protein, which was localized in neuronal axons, would be a useful biomarker for diagnosis and severity assessment of DAI. To elucidate relationship between severity of DAI and serum tau protein concentration, using an animal model. We evaluated association between serum concentration of tau and severity of DAI using a rat model of DAI. DAI was induced by dropping a weight in the head from a predetermined height (mild DAI group; 1m, severe DAI group; 2m). Eighteen rats were divided into 3 groups, sham-operated (n=4), mild DAI (n=7) and severe DAI (n=7). Serum levels of tau protein were measured by enzyme linked-immunosorbent assay. The serum levels of tau at 60 minutes after injury were statistically different among three groups (sham < mild < severe, sham vs. mild, $p=0.024$; mild vs. severe, $p=0.018$).

研究分野：救急集中治療医学

キーワード：びまん性軸索損傷 タウ蛋白 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

びまん性軸索損傷 (diffuse axonal injury: DAI) は頭部に回転性の加速や減速が生じることで神経軸索に剪断力が発生し起こる頭部外傷である。特異的な治療方法がなく、致死率は 15% と非常に高く、生存者においてもその 40% 以上が重篤な後遺症を残すなど重篤な病態である。また DAI は病理組織学的でのみ確定診断が得られる病態であり、臨床上、特にその急性期においては DAI を診断することは困難である。

これまで急性期における DAI の診断のためのバイオマーカーの必要性が指摘されてきたが、いまだ確立されたものはない。2014 年に Shahim らは脳震盪を負ったプロアイスホッケー選手では神経軸索に特異的に存在するタウ蛋白の血中濃度が上昇していることや、血中タウ蛋白濃度が脳震盪症状の持続時間を予測しうることを報告している。

そこで我々は、頭部外傷患者において、血清中タウ蛋白濃度の測定が、DAI の早期診断および重症度評価において有用なバイオマーカーになりうるとの仮説をたて、DAI モデルラットを用いて検証することとした。

2. 研究の目的

異なる重症度の DAI モデルを作成し、急性期における血清タウ蛋白濃度を測定することで、DAI の重症度と血清タウ蛋白濃度との関連を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

13-14 週齢の雄の Sprague-Dawley ラットを用いて実験を行った。18 匹のラットを Sham 群 (n=4)、mild DAI 群 (n=7)、severe DAI (n=7) の 3 群に無作為にわけた。

DAI は Marmarou らの報告に従い以下のように作成した。塩酸メドミジン、ミダゾラム、酒石酸ブトルファノールの 3 剤を混合した麻酔薬の腹腔内投与による全身麻酔を実施後、頭皮を正中切開し頭蓋骨を露出させた。頭蓋骨骨折予防のためのスチールディスクを縫合と冠状縫合の間の正中線上に接着し、ラットを腹臥位にしてフォームベッド上に固定した。プレキシガラス製のチューブ内を通して、予め設定された高さから 450g の重りをラットの頭部に接着したディスク上に自由落下させることで DAI を作成した。

重りを落とす高さは Marmarou らの報告に従い、severe DAI 群を 2m、mild DAI 群を 1m と設定した。また sham 群は DAI 群と同様に全身麻酔を行った後に頭皮の切開は行なったが、頭部外傷を作成せずに創を縫合し飼育ケージに戻した。

DAI 受傷後、頭蓋骨に接着したディスクを外し、頭皮を縫合後に飼育ケージに戻した。受傷後 60 分の時点で再度麻酔薬を腹腔内投与し全身麻酔を実施。心臓採血を行い、検体を採取した後に犠死せしめた。血清を分離後、enzyme linked-immunosorbent assay (ELISA) 法にて血清タウ蛋白濃度の測定を行った。

なお、severe DAI 群 7 匹のうち、頭蓋骨骨折を伴った 2 匹は、頭蓋骨骨折に伴う局所的な頭部外傷が生じていると考えられ除外した。

4. 研究成果

受傷後 60 分時点の血清タウ蛋白濃度の平均値は、DAI の重症度が増すにつれて統計学的に有意に高値を示した (sham 群<mild DAI 群<severe DAI 群, sham 群 vs. mild DAI 群, $p=0.024$; mild DAI 群 vs. severe DAI 群, $p=0.018$)。

本研究の結果、血清タウ蛋白濃度が sham 群に比べて DAI 群で有意に上昇していることから、早期診断のためのバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。加えて、DAI の重症度に応じて血清タウ蛋白濃度が上昇していることから、頭部外傷受傷後早期に DAI の重症度を推測するためのバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

我々が検索しえた限り、DAI の早期診断のための有用性を評価されたバイオマーカーの報告はない。また DAI の予後予測のためのバイオマーカーとしては NSE(neuron specific enolase) や S-100B(S-100 calcium-binding protein B)が報告されているが、これらのバイオマーカーは頭部外傷を伴わない多発外傷症例でもその血中濃度が上昇することが報告されており、DAI の早期診断および予後予測のためのバイオマーカーとしては不十分であると考えられる。

本研究においては、受傷 60 分の時点で、DAI の重症度に応じて血清タウ蛋白濃度が上昇していることが示されており、DAI の早期診断ならびに急性期における予後予測のためのバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。今後、臨床検体当での研究を行い更なる評価を行う予定である。

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)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6．研究組織

(1)研究代表者

富田 啓介 (TOMITA, Keisuke)

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80568668

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

中田 孝明 (NAKADA, Takaaki)

千葉大学・医学部附属病院・講師