

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19840

研究課題名（和文）振動工学の概念に基づき血清の動的性質（モード）をNMRでとらえる新規検査法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel analytical method that detects dynamic property of serum based on the concept of vibration engineering using nuclear magnetic resonance

研究代表者

小池 薫 (Koike, Kaoru)

京都大学・医学研究科・名誉教授

研究者番号：10267164

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：臨床の現場では、発熱疾患の原因診断を行うために、さまざまな検査が行われる。我々は1回の血液検査を行うだけで、原因診断や予後予測ができないかを検討した。「方法」我々は救急外来を受診した患者から採取した血清を用いてNMR（核磁気共鳴）モード解析を行った。「結果」本検査は、救急外来を受診した発熱患者の血液培養の結果、細菌感染の存在の有無、感染部位（肺、尿路、胆道）を推測したり、生命予後を予測することに有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NMRメタボロミクスは血清等における複数の代謝産物を同時かつ網羅的に化学分析する手法で、近年注目されている。一方、我々が開発したNMRモード解析は、メタボロミクス等とは異なり、血清等の動的性質をNMRモードという物理量で評価する。NMRモード解析は、たった0.1mLの血清の1回のNMR実測値から数多くの臨床情報を引き出せる点が画期的である。本技術は、発熱に限らず、各種がん、認知症など、さまざまな重要疾患の早期診断、治療方針の決定、治療効果の判定、予後予測に応用できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Various medical examinations are carried out to discover the nature of a disease that causes fever in a clinical setting. We ascertained if the NMR mode analysis using serum that was performed only once could help diagnosing the cause of disease and predicting the prognosis of a febrile patient. We collected serum samples from febrile patients who visited emergency room and conducted the NMR mode analysis. This method may become a surrogate diagnostic tool to infer the result of blood cultures, the presence of bacterial infection, the site of infection and the prognosis in patients who visit emergency room.

研究分野：救急医学

キーワード：NMR 血清 発熱

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 人体のあらゆる臓器や細胞は、サイトカインやマイクロ RNA など数百種類以上のメッセージ物質を放出してダイナミックな情報交換を繰り返し、巨大な情報ネットワークを形成している。メッセージ物質は、血液を介して全身の臓器や細胞にさまざまな作用を引き起こし、人体の働きや病気の発生など、生命の根幹に関わる大切な役割を果たす。血液の液性成分である血清は、医療の現場で日常的に用いられる検体である。血清には膨大な種類の物質が存在し、メッセージ物質の情報のみならず、代謝や物質間相互作用の情報など、体内のあらゆる情報が満ちあふれている。しかし、現在の血清検査ではその一部しか利用されていない。血清中の物質を個々に、あるいは網羅的に調べる検査法は精力的に開発されているが、もし、一回の計測で、血清中の各物質や物質間相互作用に関する多彩な情報を、簡便に、迅速に、精度よく、引き出せる検査法が開発されれば、世界の医療の向上に大きく貢献するであろう。

(2) 振動工学の分野では、橋やトンネル等の耐震性や劣化を評価する際、加振検査を用いて建造物固有の動的性質(モード)を決定する。我々は、振動工学の概念を取り入れ、血清を超分子的構造を持つ液体ととらえる「核磁気共鳴(NMR)モード解析法」の基礎技術を開発した(表)。

	対象	インパルス	インパルス応答	解析結果
振動工学	建造物	加振	振動信号	振動モード
我々の技術	血清(超分子的構造)	ラジオ波照射	NMR 信号	NMR モード

血清中には多数の原子や分子が存在するが、水素原子は分子内/分子間相互作用における中心的な役割を果たし、血清の動的性質と密接に関係する。血清をプロトン NMR 計測して得られる信号は、血清中の水素原子の多様な存在状態を反映する。血清の動的構造特性を NMR モードとして決定できれば、NMR モードは新たな血清診断マーカーとなり得る。本法は NMR メタボロミクスなどの化学分析とは全く異なる。また安価な低磁場 NMR 装置でも実施可能である。

(3) 発熱時は多くのメッセージ物質が放出されるが、発熱は原因疾患の診断が難しい症状のひとつである。我々は発熱患者の診療に NMR モード解析が役立つか調べるために、初回診察時の患者血清を用いて予備的検討を行った結果、本法は疾患の早期診断、重症度予測に役立つ可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、発熱患者から血清検体を集めて NMR モード解析を行い、NMR モード値と発熱の原因疾患および重症度等に関連を見いだすことが可能か調べることを目的とした。

か。

3. 研究の方法

(1) 血清検体

聖隷浜松病院の救急外来を急病で受診した 20 歳以上 80 歳未満の患者で、救急外来受診時に体温が 38 以上の発熱を認めた 60 症例から採取された血清を用いて解析を行った。本研究を行うにあたり、京都大学医の倫理委員会(R1790)ならびに聖隷浜松病院(2959)から承認を得た。

(2) NMR を用いた計測と解析

検体の前処理・保存など

被験者より採取した血清は、遠心分離により細胞成分等の不溶成分を除去し、-80 に保存した。NMR 計測時に解凍して使用した。

NMR 測定試料の調整

解凍した血清に内部ロック用重水を加え、NMR 試料管に注入した。NMR 計測には 7 テスラ(300MHz) FT-NMR 装置(JEOL)を用い、プロトン(¹H)測定を行った。

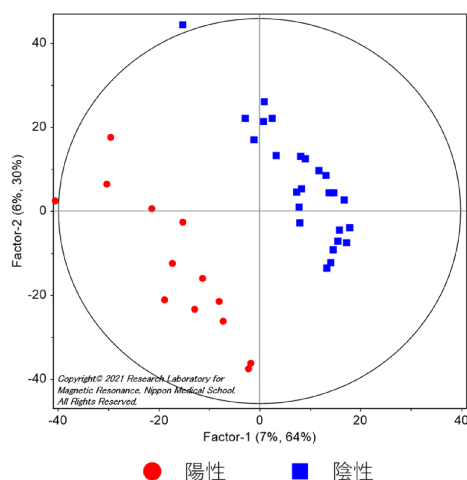
NMR 計測・解析

各血清を NMR 計測し、得られた FID 信号を時間周波数解析し、結果をスペクトログラム表示した後、数値列として出力し、PLS-DA 法による多変量解析を行なった(Journal of Oleo Science. 68(4). 369-378. 2019)。

4. 研究成果

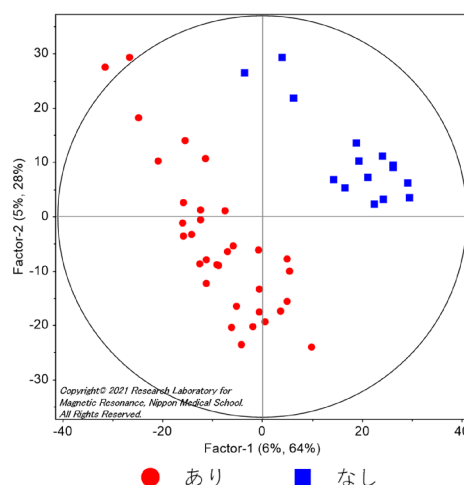
(1) 血液培養の結果に関する研究成果

血流感染が疑われる場合、早期診断が患者予後を決定する。血液培養はその診断ツールである。血液培養で陽性判定が得られると、感染性の病因の存在を確認でき、起病菌を同定し、その細菌に効く薬剤を選択して効果的な治療を開始することができる。血液培養の結果は、患者の予後の改善、入院日数の短縮、抗菌薬の適切な使用に役立つ。38 症例の血清検体を用いた、血液培養陽性 (+) 群 (13 例) 血液培養陰性 (-) 群 (25 例) における PLS-DA の解析結果では、スコアプロットにおいて、両群のスコア値がクラスターを形成して分布した。



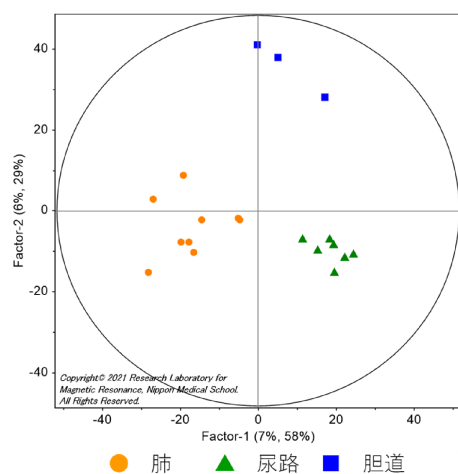
(2) 細菌感染の存在の有無に関する研究成果

発熱はさまざまな疾患により発生するが、発熱の原因の多くは、感染性、腫瘍性、炎症性に大別される。発熱の原因としては、感染性の頻度が最も高く、感染症では寒気・ふるえ、頻脈・動悸などの症状を発現することが多い。腫瘍性では、間欠熱（発熱期に平熱に下がり、再び発熱を繰り返す）を示したり、朝や夕方など毎日ほぼ同じ時刻に発熱することが多い。炎症性疾患には関節、結合組織、血管の病気が含まれ、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、巨細胞性動脈炎などがある。48 症例の血清検体を用いた、細菌感染あり (+) 群 (33 例) 細菌感染なし (-) 群 (15 例) における PLS-DA の解析結果では、スコアプロットにおいて、両群のスコア値がクラスターを形成して分布した。



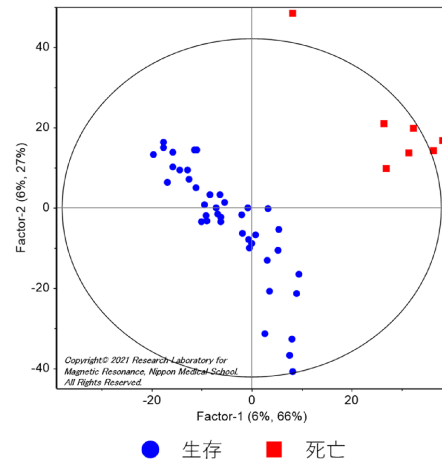
(3) 感染部位の違いに関する研究成果

救急外来を受診する発熱患者の原因は感染症であることが多い。感染源としては肺炎、尿路感染症が多く、腹腔・腸管感染症、血流感染を加えると 80%以上を占める。わが国の集中治療室における調査では、肺炎、尿路感染、腹腔内感染が重症感染症の 75%を占める結果となっている。日常臨床で肺炎を検索するには画像検査を行うが、レントゲン写真に映らない肺炎もある。また尿検査で検出できない尿路感染もある。もし血液検査を行うことによってこれらの診断を推定できるならば、誤った診断が下されることを未然に防げるかもしれない。本研究では肺炎、尿路感染、胆道感染で検討した。19 症例の血清検体を用いた、肺炎群 (9 例) 尿路感染群 (7 例) 胆道感染群 (3 例) における PLS-DA の解析結果では、スコアプロットにおいて、これら 3 群のスコア値がクラスターを形成して分布した。



(4) 生命予後の違いに関する研究成果

敗血症は重篤な感染症に対する生体反応で、組織障害や臓器障害を発症すると集中治療室入室しての全身管理が必要となる。日本における大規模な疫学研究は行われていないが、米国の統計では1,000人当たり3人に重症敗血症が発生し、その死亡率は28.5%で、年間に215,000人が死亡している。臓器不全と死亡率の相関では、1臓器不全では21.2%、2臓器では44.3%、3臓器で64.5%、4臓器不全では76.2%と報告されている。臓器別に見ると、腎臓、循環器、呼吸器の順に予後が不良である。もし来院時の血液検査で予後予測ができるならば、臨床現場に与える影響は大きい。48症例の血清検体を用いた生存群（41例）、死亡群（7例）におけるPLS-DAの解析結果では、スコアプロットにおいて、両群のスコア値がクラスターを形成して分布した。



以上の成果は、救急外来を受診する発熱患者の診断、治療、予後予測において、本法がサロゲートマーカー（surrogate marker：医学、薬学研究において診断・治療行為、薬効等の最終評価との関連を科学的に証明できるマーカー）となる可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	平川 慶子 (Hirakawa Keiko) (30165162)	日本医科大学・医学部・非常勤講師 (32666)	
研究分担者	柚木 知之 (Yunoki Tomoyuki) (50639094)	京都大学・医学研究科・講師 (14301)	
研究分担者	金涌 佳雅 (Kanawaku Yoshimasa) (80465343)	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授 (32666)	
研究分担者	増井 俊彦 (Masui Toshihiko) (20452352)	京都大学・医学研究科・准教授 (14301)	

	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
研究協力者	渥美 生弘 (Atsumi Takahiro)	聖隷浜松病院・救急科・部長	
研究協力者	中安 ひとみ (Nakayasu Hitomi)	聖隷浜松病院・救急科・医師	

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