

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21702

研究課題名(和文) 訪問看護師のための認知症に対応した誤嚥性肺炎リスクを判定する迅速診断キットの開発

研究課題名(英文) Development of a rapid diagnostic kit for determining the risk of aspiration pneumonia corresponding to dementia for visiting nurses

研究代表者

竹中 彰治 (Takenaka, Shoji)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：50313549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、特殊な機器を必要とせず患者の協力度に左右されない、在宅で病気発症のリスクを判定可能な科学的評価システムを開発し、地域包括ケアで活躍する訪問看護師のリスクアセスメント力を支援することである。指尖からの微量の血液から、CRP値を判定する迅速診断カセットを開発した。本カセットは、金コロイドの発色現象を利用したイムノクロマト法を原理としており、指尖から採取した10ulの全血をキャピラリーで採取するだけで判定でき、2mg/dlおよび6mg/dlを5分、4mg/dlを10分で測定可能である。測定には特別な機器を必要とせず、病院で行う測定値とも一致度は高い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

在宅高齢者のリスクマネジメントは、訪問看護師の経験によるところが大きい。これまでは、訪問時に持ち込める測定器に限られるため、看護師はフィジカルアセスメントを通して経験の中でリスクを見抜いてきた。しかし、「身体変化の気づき」は、熟練が必要である。特に、認知症高齢者や意思疎通が困難な高齢者は、心身の変化を聞き出すことが困難なため、評価はさらに難しい。本研究では、特別な測定機器を必要とせずに、指尖からの微量の血液から、CRP値を判定する迅速診断カセットを開発した。在宅高齢者の普段と違う様子に直面した時、「様子を見て良いか、すぐに病院に連れて行った方がよいか」という緊急性を判断するためのツールである。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop a scientific evaluation system that does not require special equipment and does not depend on the degree of cooperation of patients and can determine the risk of disease onset at home. And this study aimed to support the risk assessment ability of visiting nurses who are active in community-based comprehensive care. We have developed a rapid diagnostic cassette that determines the CRP value from a small amount of blood from the fingertip. This cassette is based on the principle of an immunochromatography method that utilizes the color development phenomenon of colloidal gold, and can be determined by 10 ul of whole blood collected from the fingertip with a capillary. This cassette can diagnose 20 mg and 60 mg/L in 5 minutes and 4 mg/L in 10 minutes. No special equipment is required for the measurement, and the value measured by this cassette was highly consistent with the clinical laboratory values performed in the hospital.

研究分野：歯科保存学

キーワード：誤嚥性肺炎 リスクアセスメント 訪問看護師 地域包括ケア 科学的評価

### 1. 研究開始当初の背景

在宅高齢者のリスクマネジメントは、訪問看護師の経験によるところが大きい。これまでは、訪問時に持ち込める測定器に限られるため、看護師はフィジカルアセスメントを通して経験の中でリスクを見抜いてきた。しかし、その評価は相当な観察トレーニングが必要で、“身体変化の気づき”は、熟練度により差を生じやすかった。さらに、認知症高齢者や意思疎通が困難な高齢者は、心身の変化を聞き出すことが困難なため、評価はさらに難しい。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、特殊な機器を必要とせず、患者の協力度に左右されない、在宅で病気発症のリスクを判定可能な科学的評価システムを開発し、地域包括ケアで活躍する訪問看護師のリスクアセスメント力を支援することである。つまり、感染症リスクの“見える化”による在宅看護 POCT (point of care testing; 臨床現場即時検査)の強化である。

POCT とは、ポータブル分析器や迅速診断キットを用いて医療現場で行うリアルタイム検査であり、病院の検査室あるいは外注検査センター以外の場所で行われるすべての臨床検査を包含している（日本内科学会雑誌 97: 25-31, 2008）。言い換えれば、患者や検体が動くのではなく、医療従事者が自在に動いて検査を行う機動性に富んだ検査システムのことである。POCT には、迅速検査、在宅検査、緊急検査があげられるが、本システムは在宅迅速検査を目的としている（図1）。

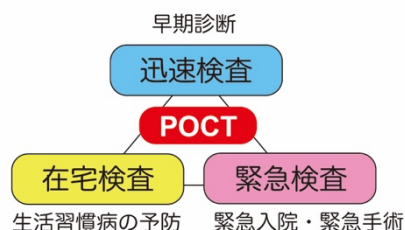


図1. POCT: 臨床現場即時検査  
(日本臨床検査自動化学会: POCT ガイドライン, 2013)

在宅看護 POCT における感染症リスクの“見える化”に必要な要件は、以下の5項目である。

- ・迅速検査
- ・簡便性
- ・随時性（検査技師不在でも対応可能）
- ・ベッドサイド検査が可能
- ・高齢者の協力度に依存しないこと

本研究では、指尖からの微量の血液から、CRP 値を判定する迅速診断カセットを開発することとした。

### 3. 研究の方法

#### (1) CRP 検出イムノクロマト試薬の開発

株式会社ホクドー（札幌ラボ）と共同で、抗 CRP 抗体と標準品（組換えタンパク、陽性ヒト血清）を用いて、CRP に特異的かつ濃度依存的にテストラインが生じるイムノクロマト試薬を開発した（図2）。



図2. CRP検出イムノクロマト試薬

本キットは、テストストリップ（イムノクロマト試薬）、反応用希釈液、濾過用フィルター、キャピラリーピペットで構成され、金コロイドの発色現象を利用したイムノクロマト法を原理としている。指尖から採取した 10 $\mu$ l の全血をキャピラリーで採取するだけで判定でき、2mg/dl（以上）および 6 mg/dl（以上）を 5分、4mg/dl（以上）を 10分で測定可能である。

実際の使用手順を図3に示す。試薬作製条件を表1に示す。

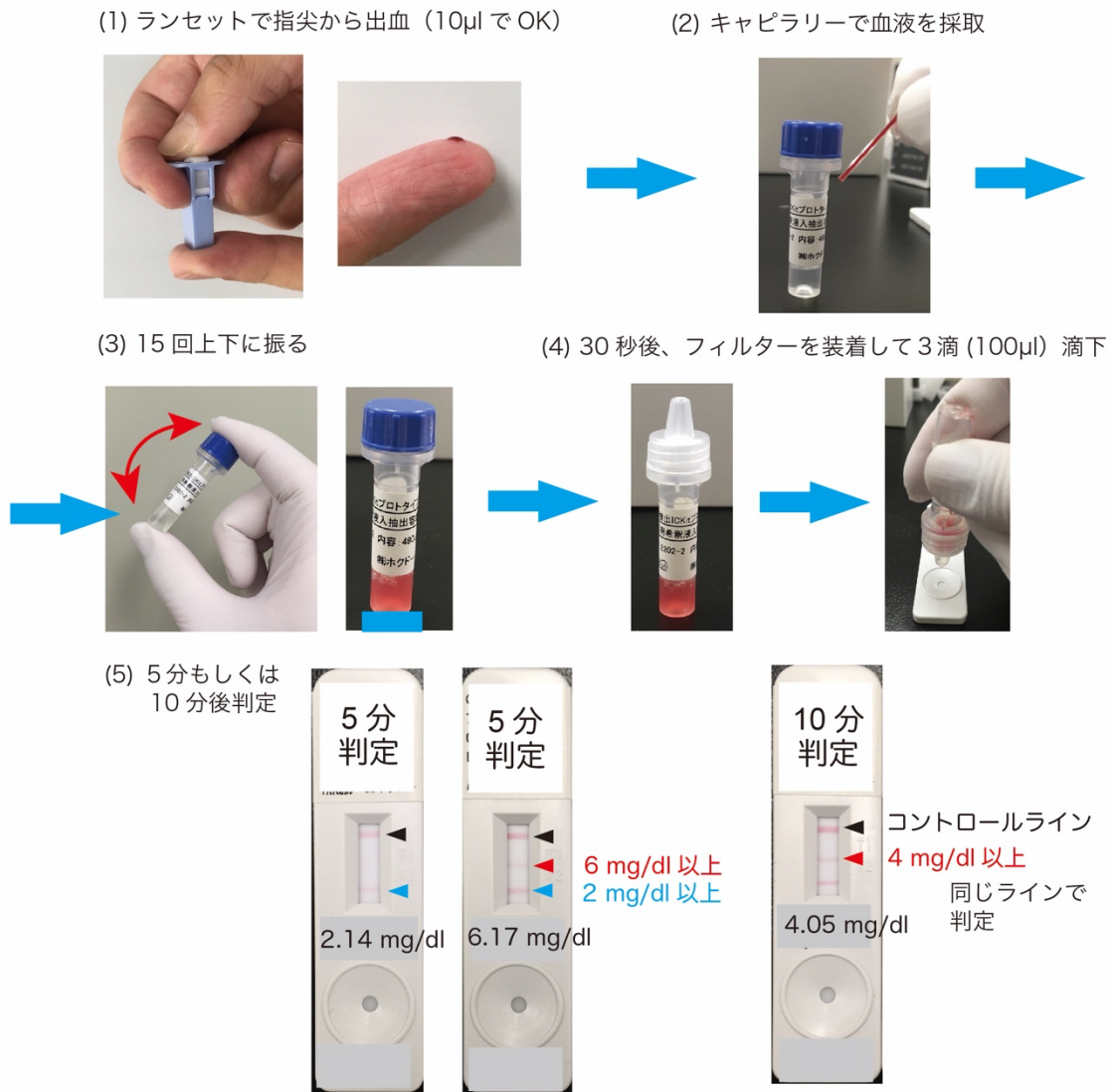


図3. 使用方法

下からテストライン1 (2mg/dl)、テストライン2 (6mg/dl [5分判定時]、4mg/dl [10分半定時])、コントロールラインの3本

表1. 試薬作製条件

感作金コロイド溶液	抗 CRP 抗体①、アビジン
コンジュゲートパッド	グラスファイバーパッド (Millipore 社)、 抗 CRP 抗体 1 感作金コロイド溶液、 アビジン感作金コロイド溶液、 超純水、金コロイド塗布バッファー
血漿分離パッド	血漿分離パッド (PALL 社)
サンプルパッド	グラスファイバーパッド (Millipore 社)
抗体固相メンブレン	ニトロセルロースメンブレン (Millipore 社) テストライン (抗 CRP 抗体②)、コントロール ライン (ビオチン標識 BSA)、ブロッキングバ ッファー (カゼイン)
希釈液	アルブミン+抗 CRP 抗体①含有緩衝液
全血希釈率	50 倍
抽出容器およびフィルター	血球分離素材 (フィルター素材) (ベセル社)

(2) CRP 検出イムノクロマト試薬の検査精度の検証

新潟大学医歯学総合病院呼吸器内科に肺炎の診断で入院した患者 30 名を対象として、検査のために採取した全血 (EDTA 加) の CRP 値を、CRP 検出イムノクロマト試薬 (以下、CRP カセット) を用いて判定した。得られた結果を、同日の定量値 (TBA-200FR, キヤノンメディカルシステム

ズ社)と比較し、一致度を  $\kappa$  係数により評価した。定量値は、血漿 (ヘパリン加) を用い、測定試薬は、CRP-ラテックス X2「生研」(デンカ社)を用いた。CRP カセットによる判定は、定量値を知らない2名の歯科医師が行った。定量値が 8-100mg/L の 96 検体を用いて解析を行った (新潟大学倫理審査委員会承認番号: 2020-0006)。

#### 4. 研究成果

CRP 定量法 (TBA-200FR) と定性法 (CRP カセット) の評価者ごとの一致性評価を図 4 に示す。二人の評価者による CRP カセットの判定は、定量値と一致度が高かった (評価者 1:  $\kappa$  係数= 0.778, 評価者 2:  $\kappa$  係数= 0.764)。ただし、 $<20$ ,  $20-40$  および  $>60$  での一致度は 83-96%であったが、 $40-60$  での一致度は、56% (評価者 1) および 64% (評価者 2) であり、 $40-60$  の一致性は低かった。また、評価者間的一致性は高く、識別性は高いと考えられた。現在、論文投稿準備中である。

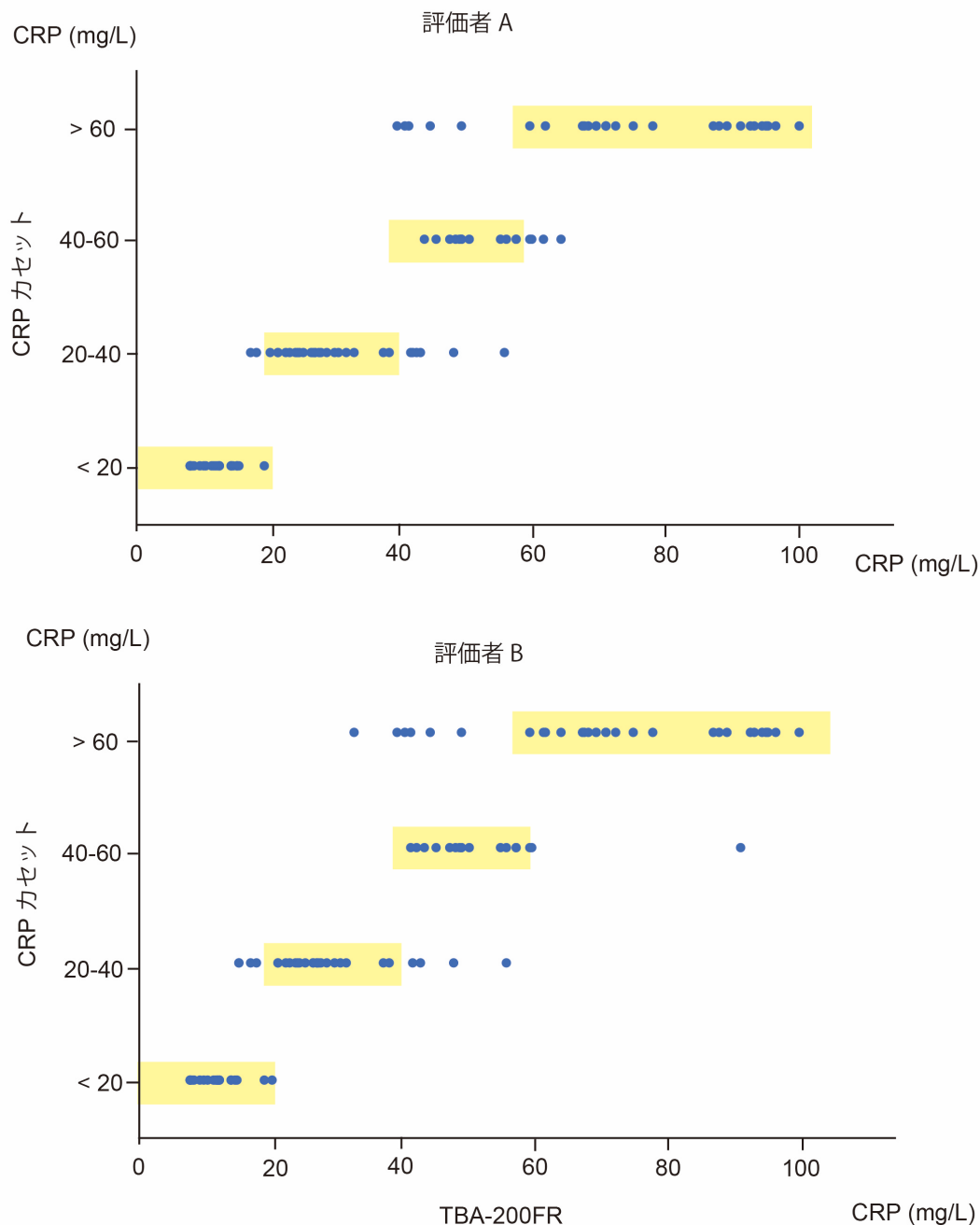


図 4. CRP 定量法と定性法の CRP 値の一致性

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takenaka S, Edanami N, Komatsu Y, Nagata R, Naksagoon T, Sotozono M, Ida T, Noiri Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Periodontal pathogens inhabit root caries lesions extending beyond the gingival margin: A next-generation sequencing analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 2349
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/microorganisms9112349	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takenaka S, Sotozono M, Ohkura N, Noiri Y	4. 巻 11
2. 論文標題 Evidence on the Use of Mouthwash for the Control of Supragingival Biofilm and Its Potential Adverse Effects	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antibiotics	6. 最初と最後の頁 727
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antibiotics11060727	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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	清水 詩子  (Shimizu Utako)  (10401762)	新潟大学・医歯学系・准教授   (13101)	
研究分担者	茂呂 寛  (Moro Hiroshi)  (40509452)	新潟大学・医歯学総合病院・准教授   (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	小泉 健  (Koizumi Takeshi)  (10793888)	新潟大学・医歯学総合研究科・特任助教    (13101)	
研究分担者	野村 由一郎  (Noiri Yuichiro)  (50218286)	新潟大学・医歯学系・教授    (13101)	

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