

令和元年6月20日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2018

課題番号：25460701

研究課題名(和文) 虚血変性アルブミンとParaoxonase-1による脳血管障害の血中マーカー開発

研究課題名(英文) Ischemia Modified Albumin is a possible marker of long-term hypoxia in respiratory disease.

研究代表者

木村 聡 (Kimura, Satoshi)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：30255765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：呼吸不全の評価には、血液ガス(PaO₂)や酸素飽和度(SaO₂)が用いられるが、これらは「その瞬間」に限られた酸素濃度を示すに過ぎない。慢性呼吸不全患者では、過去一定期間を遡った呼吸不全状態マーカーが求められている。

本研究では、Ischemia Modified Albumin (IMA)を候補と考えた。IMAは虚血状態においてN末端アミノ酸8個に非可逆的変性をきたしたアルブミンである。アルブミンの血中半減期は約1週間であるため、血糖値とグリコアルブミンの関係の如く、IMAが過去1週間の低酸素状態の指標に使える可能性がある。米国Touro大学と共同研究の結果、仮説が正しい可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

気管支喘息など慢性的な呼吸不全患者において、予期せぬ突然の容態急変はよく遭遇する現象である。自宅や外出中に起きた発作の重症度を反映する「長期低酸素血症のマーカー」はいまだ確立されておらず、外来患者に対し迅速かつ安価に測定できるマーカーが求められてきた。我々の検査法は、「比色法」という非常に簡単な原理で実施できるため、将来は自動分析機に搭載し緊急検査にも応用できる。今後は実際に多くの症例の検討を行い、慢性呼吸不全患者のQOL向上に貢献したい

研究成果の概要(英文)：Partial pressure of oxygen in arterial blood and oxygen saturation have been used as hypoxia markers. Since they represent only at the moment of measure, physicians cannot evaluate severity of hypoxia while patients are staying home.

Glyco-albumin represents degree of hyperglycemia in a recent week. With similar manner. Albumin is irreversibly altered to Ischemia-modified albumin (IMA) which can be assayed with colorimetric method. We found increased serum concentration of IMA in severe respiratory disease patients. With successful treatment, their IMA level decreased. Thus, we assume IMA could reflect long-term hypoxia.

研究分野：臨床検査医学

キーワード：慢性呼吸不全 低酸素血症 虚血変性アルブミン 比色法 血中マーカー

1. 研究開始当初の背景

脳血管障害の重要な予後因子である呼吸不全は、慢性、急性を問わず死亡の原因となる重大な病態である。通常、呼吸が維持されている患者において、重症度評価の目的で測定される血液ガスや酸素飽和度は、その瞬間の酸素濃度を示す指標であり、数日～数週間という長期間の低酸素状態を反映するものではない。慢性的な呼吸不全患者において、患者の容態急変はよく遭遇する現象であり、その予知には、一定期間内でどの程度の呼吸不全状態が存在していたかを把握することが有効と推定される。人体を気象条件に例えれば、ちょうど糖尿病における血糖値が「瞬間風速」を、グリコアルブミンや HbA1c が過去一定期間に遡った「平均風速」を反映するように、呼吸不全においても過去一定期間の重症度を反映する「平均風速」の指標が存在すれば、外来診療の限られた時間に患者の容態をよりの確に把握できると思われる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、過去一定期間の呼吸不全状態を反映する指標を見つけることにある。我々は過去における研究から、組織虚血マーカーである Ischemia Modified Albumin (IMA) と Paraoxonase-1 (PON1) の 2 つを候補と捉え、検討を行ってきた。IMA は、虚血状態において N 末端アミノ酸 8 個に非可逆的変性をきたしたアルブミンである。アルブミンの血中半減期は約 1 週間であるため、糖尿病における血糖値とグリコアルブミンの関係の如く、IMA が過去 1 週間の低酸素状態の指標に使える可能性がある。そこで、IMA の健常人における値の分布、個体内変動を明らかにするとともに、pilot study として実際の慢性呼吸不全患者における測定値の変動を追跡した。

3. 研究の方法

我々は昭和大学横浜市北部病院、および昭和大学藤が丘病院の倫理委員会の許可を得て、被験者の同意が得られている慢性呼吸不全患者（脳血管障害も含む）の血清を用い IMA や PON1 の値が呼吸不全で変動するかを検討した。

IMA については、低酸素血症やアシドーシスの条件下で、コバルトを始めとする二価の金属イオンに対するアルブミンの結合力が低下するという Christenson ら (Clin Chem 2001) の報告をもとに以下 (Nadhipuram et al Clin Chem 2003) のようなアッセイ系を用いた。すなわち、塩化コバルト水溶液に患者血清を混じ、アルブミンと結合させた後、結合に与らなかったコバルトを DTT で発色させ 470nm で比色定量するものである。測定は共同研究者である米国 Touro 大学生化学教室の Gugliucci 教授の研究室で行われた。

文書の同意が得られた 19 名の患者（男性 14 名、女性 5 名、平均年齢 57±15 歳）、さらに比較対照として健常人ボランティア 24 名（男女同数、48±17 歳）を対象とした。さらに健常成人 2 名においては 1 ヶ月間連日採血を行い、個体内変動幅を追跡した。

4. 研究成果

(1) 健常人と慢性呼吸不全患者との比較

血中 IMA 値は患者群で 0.48AU であったのに対し、健常人では 0.36AU と有意差を持って低値であった ($p=0.000138$)

(2) 酸素飽和度と IMA 値の相関

同一患者で時期を変え複数回採血し得た検体も含め、30 例で検討した結果、 $r=0.337$ と弱い相関を認めた。

(3) 動脈血中酸素分圧と血中 IMA 値の相関

17 例で検討が行われ、 $r=0.343$ と弱い相関を認めた。

(4) 健常成人における日間変動の範囲

28 日間の連続採血で確認を行った。測定法の再現性 (CV 5%) をこえるものはなかった。ただし採血後、検体はすぐにマイナス 30℃以下に深凍結が必要で、4℃の冷蔵条件で 72 時間を超える保存は外気の影響を受ける可能性が示唆された。

(5) 治療に伴う IMA 濃度の変化

有効な治療によって IMA 値の低下が認められる症例が多数を占めた。

肺炎の再燃を認めた症例では IMA 値の再上昇が観察された。

詳細は発表済みの論文を参照されたい (Kimura S: Clin Chem Lab Med. 2018)

(6) Paraoxonase-1 の変動

一方、Paraoxonase-1 (PON-1) は HDL 粒子の中に含まれるエステラーゼ作用を持つ酵素で、酸化ストレスの緩和に寄与するとされている。そこで我々は paraoxon を基質に用い、IMA と同じコバルト結合アッセイでその活性を測定した。15 例の脳出血 19

例の呼吸不全患者で、IMA とともに検討を行ったが、PON-1 については、どちらの病態においても有意な変動を検出することはできなかった。

(7) 今後の展望

以上の検討により、IMA に関しては、脳血管障害よりも長期的低酸素血症の指標として応用できる可能性が示唆された。冒頭に述べたように、慢性呼吸不全には有効な血中マーカーが見つかっていないため、今後は呼吸不全マーカーとしての応用を検討したい。そのため各種病態下における IMA 値の変動を確認するとともに、緊急検査項目として外来の診察前検査に応用できないかが次の課題となりえる。本測定系はコバルトを用いた比色法という生化学自動分析機で頻用されるアッセイ方法であるため、実用化されれば臨床への貢献が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Serum ischemia-modified albumin concentration may reflect long-term hypoxia in chronic respiratory disease: a pilot study.

Kimura S, Yamaguchi H, Shikama Y, Tateno H, Kawaguchi M, Kotani K, Menini T, Gugliucci A.

Clin Chem Lab Med. 2018 Jun 6. pii:

/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2018-0150/cclm-2018-0150.xml. doi: 10.1515/cclm-2018-0150.

[Epub ahead of print] No abstract available.

PMID: 29874191

(査読あり)

[学会発表] (計 4 件)

① 虚血変性アルブミン(IMA)の長期低酸素血症マーカーとしての可能性

山口勇人、**木村 聡**、川口将也、辻原佳人、鹿間裕介、楯野英胤、Alejandro Gugliucci:

第 65 回日本臨床検査医学会学術集会 2018 年 11 月 17 日 東京

臨床病理 Vol 66、suppl 1、2018、p.218

② Does Serum Ischemia-Modified Albumin Concentration Reflect Long-Term Hypoxia in Chronic Respiratory Disease? **Kimura S**, Yamaguchi H, Shikama Y, Tateno H, Yokoe T, Inoue D, Kawaguchi M, and Gugliucci A:

World Congress of World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine (WASPaLM 2017) November 16, 2017, Kyoto, Japan

③ Serum Ischemia-Modified Albumin Levels Increase in Respiratory Disease Patients with Hypoxia in recent Weeks; a Pilot Study. **Kimura S**, Shikama Y, Tateno H, Akitoshi T, Nakamura H, Fukuoka E, Suzuki K, Soga T, Yamaguchi H, Gugliucci A.

International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) World Lab
Durban, South Africa, October 22-27, 2017

④ Serum Ischemia-Modified Albumin Levels Reflect Long-term Hypoxia in Respiratory Disease;
a Pilot study. **Kimura S**, Shikama Y, Gugliucci A

Euro Med Lab 2017, Athens, Greece, June 11-15, 2017.

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

病院のホームページ構築状況を踏まえつつ、公開を進める予定である。

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：アレハンドロ・ググリウチ博士 (米国カリフォルニア州トウロ大学教授)

ローマ字氏名：Professor Alejandro C Gugliucci

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。