

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26670787

研究課題名(和文)核磁気共鳴データのパターン認識による解析を応用した敗血症重症化早期診断法の開発

研究課題名(英文)Development of early diagnosis of severe sepsis using pattern recognition analysis of NMR data

研究代表者

鈴木 崇生 (Suzuki, Takao)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：40328810

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：救急外来を受診した20歳以上の患者で、救急受診時に敗血症と診断された症例を対象とした。救急受診時に採取した血清をNMR測定した。NMRデータをフーリエ変換、位相補正、ベースライン補正等の処理を行い観測周波数範囲の信号強度分布としてデータを数値化した。続いて主成分分析(PCA)による「データの可視化」を行った後、PLS-DA法により解析を行った。「診断時重症敗血症」と「診断時非重症敗血症で重症化せず軽快」の2グループの識別が可能か否かの検討を行った。その結果、PLS-DA法によって2グループがそれぞれクラスター化する傾向が認められた。

研究成果の概要(英文)：We included sepsis patients aged 20 and over, and diagnosed in emergency department. Their serum samples were measured with Nuclear Magnetic Resonance (NMR). The NMR data were converted to the numerical data by Fourier transform, phase correction, baseline correction, and so on. The data were visualized by principal component analysis, and then analyzed with Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA). We could see the tendency of separation of "severe sepsis" and "non-severe sepsis" by clustering in the PLS-DA analysis.

研究分野：救急・集中治療

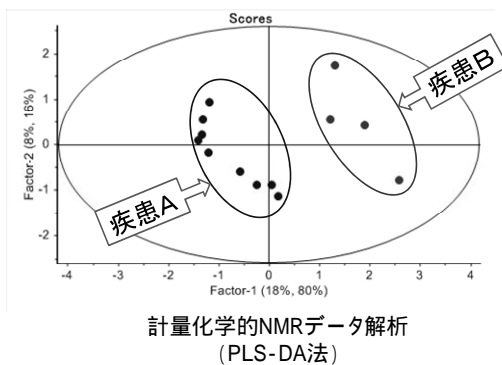
キーワード：敗血症診断 核磁気共鳴 パターン認識

1. 研究開始当初の背景

敗血症の病態は感染によって引き起こされる全身性炎症反応症候群 (SIRS) であり、それに続発する多臓器不全は集中治療領域における主要な死因の1つである。敗血症の治療が奏効し難い理由のひとつに、重症化して初めて本格的な治療が開始されるため、治療が後手に回ってしまうことが挙げられる。重症化の徴候をショックや臓器不全を呈するより前に感知し治療介入を行うことが出来れば、敗血症の予後を劇的に改善できる可能性がある。

我々はこれまでに、生体試料の計測値を「ひとつのデータとして一括処理する」解析技術を開発した。本技術では、従来のように試料中の個々の物質を同定・定量するのではなく、計測値全体を単一データとして取り扱って診断指標とするため、サンプルから得られるすべての情報を活用して、正確かつ高精度に鑑別することが可能となった。

我々はこの画期的な手法を用いて、酸化ストレスや麻酔薬の組織・細胞への影響を良好に検出した。さらに、従来は急性期に鑑別が困難であった疾患の早期鑑別にも成功した (下図、第114回日本小児学会学術集会にて報告)。また、健常高齢者と健常若年成人が、血清を用いて識別出来ることを示唆するデータも得ている。



本研究は、敗血症重症化の早期診断に、この手法の応用を試みるものである。

2. 研究の目的

我々が開発した「血清を NMR (nuclear magnetic resonance、核磁気共鳴) 計測し、パターン認識によるデータ解析を行う」という、従来とは全く異なる手法を用いることにより、救急受診時の血液検体で、重症化する敗血症が鑑別可能か検討し、これまでに無い「敗血症重症化の早期診断法」の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 対象

京都大学医学部附属病院救急外来、および神戸市立医療センター中央市民病院救急外来を受診した 20 歳以上の患者で、救急受診時に敗血症 (感染による全身性炎症反応症候群[SIRS]) と診断された症例を対象とした。本人もしくは代諾者より同意が得られない場合は研究より除外した。

(2) 検体

対象者より救急受診時に採取した血液の残余を使用した。

(3) NMR 計測

• 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、内部ロック用重水およびケミカルシフト確認用内部標準物質を加え、ガラス性 NMR 試料管に入れた。

• NMR 測定およびデータ収集

• NMR 装置は 7 テスラ (300MHz) FT-NMR 装置 (JEOL) にて行った。

• 測定は、核種はプロトン (^1H) について行った。

• 多検体の連続自動測定が可能なケモメ

トリクス用自動測定プログラムを用いて、次の2種の異なる測定を行った。それぞれの積算回数は400回を標準とした。

水信号消去 1次元測定（低分子量の成分や高分子の両成分が重なって検出される）

CPMG スピンエコー測定（主として低分子量の成分が検出される）

(4) NMR 計測値の数値化処理

• データの転送

NMR 装置本体の PC より raw データ (FID データ) を数値化処理専用の PC に転送した。

• NMR データの数値化処理

Alice2 for metabolome ver2.1 (JEOL) を用いて、NMR データをフーリエ変換、位相補正、ベースライン補正等の処理を行い、観測全帯域の信号強度分布値を測定データとし、正規化等の前処理を行った上で CSV 形式にて保存した。

(5) パターン認識による NMR データ解析と全データを用いたデータマイニング

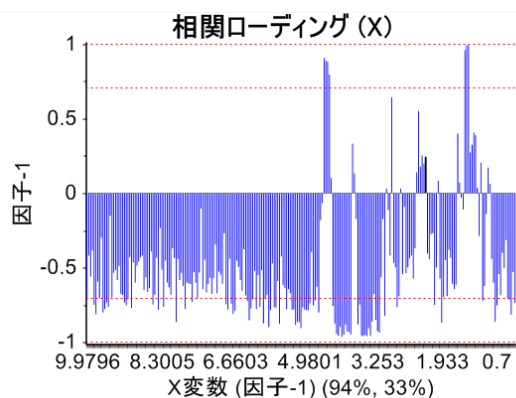
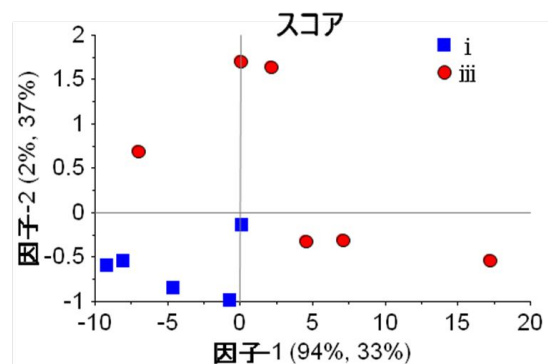
スペクトルデータ解析に用いるソフトウェアおよび解析手法と結果の検証について

- ソフトウェアは、Unscrambler[®] ver10.3 (CAMO) を使用した。
- 主成分分析 (PCA) によるデータの可視化を行った後、PLS-DA 法によるクラス分類を行った。
- 解析で得られた結果については、アルゴリズムで適用されている有意性の評価法に従って検証したほか、クロスバリデーションによる検証・評価を行った。

血清 NMR 計測値・臨床情報すべてを統合したデータの解析によるデータマイニングも行って、解析結果を総合評価した。

4. 研究成果

() 診断時重症敗血症、 () 診断時非重症敗血症で後に重症化、 () 診断時非重症敗血症で重症化せず軽快、の各グループの識別が可能か否かを解析する予定であったが、 () 診断時非重症敗血症で後に重症化、のグループの検体が十分集まらなかったため、この識別が可能か否かの検討を行った。その結果、少なくとも本研究の手法により、救急受診時の血清で重症敗血症と非重症敗血症を鑑別できる可能性が示された。



これは新たな重症敗血症の診断法につながる重要な成果であると考えられる。

5. 主な発表論文等

特になし。

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 崇生 (SUZUKI, Takao)

京都大学大学院医学研究科・講師

研究者番号：40328810

(2)研究分担者

小池 薫 (KOIKE, Kaoru)

京都大学大学院医学研究科・教授

研究者番号：10267164

平川 慶子 (HIRAKAWA, Keiko)

日本医科大学医学部・助教

研究者番号：30165162

佐藤 格夫 (SATO, Norio)

京都大学大学院医学研究科・講師

研究者番号：30409205

森山 剛 (MORIYAMA, Tsuyoshi)

東京工芸大学工学部・准教授

研究者番号：80449032